



T.C
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

DİYABETİK NÖROPATİ OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA
MİRTAZAPİN'İN ANTİNOSESİPTİF ETKİSİ VE
MUHTEMEL ETKİ MEKANİZMASI

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. MURAT BÜYÜKŞEKERCİ

KAYSERİ 2005



T.C
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

DİYABETİK NÖROPATİ OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA
MİRTAZAPİN'İN ANTİNOSİSEPTİF ETKİSİ VE
MUHTEMEL ETKİ MEKANİZMASI

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. MURAT BÜYÜKŞEKERCİ

Tez Danışmanı

Prof. Dr. AYDIN ERENMEMİŞOĞLU

KAYSERİ 2005

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
KISALTMALAR	ii
TABLolar LİSTESİ	iii
ŞEKİLLER LİSTESİ	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vii
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1. AĞRININ TANIMI	4
2.2. AĞRI TERMİNOLOJİSİ.....	5
2.3. AĞRININ PERİFERİK MEKANİZMALARI	6
2.4 AĞRININ MODULASYONU	10
2.5. AĞRININ SINIFLANDIRILMASI.....	12
2.6. NÖROPATİK AĞRI.....	13
2.7. DİYABETİK NÖROPATİ.....	14
2.8. MİRTAZAPİN.....	15
3.GEREÇ VE YÖNTEM	19
3.1.DENEY HAYVANLARI	19
3.2.SENSORİOMOTOR PERFORMANS	19
3.3. NOSİSEPTİF TEST	20
3.4. İLAÇLAR	21
3.5. DENEYSEL DÜZEN	22
3.6.PROTOKOL GRUPLARI	22
3.7.İSTATİKSEL ANALİZ	23
4.BULGULAR	24

5.TARTIŞMA	32
6.SONUÇLAR	39
7.KAYNAKLAR	40
EKLER	
ÖZGEÇMİŞ	

TEŐEKKÖR

Erciyes Őniversitesi Tıp Fakóltesi Farmakoloji Anabilim dalındaki uzmanlık eğitimim sırasında bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım değerli hocalarım; Anabilim Dalı BaŐkanı Prof.Dr. Yalçın Tekol ve Yrd.Doę.Dr. Hőlyya Gőltekin ile tezimin yŐrőtőlmesinde katkıları nedeniyle tez yőneticim Prof.Dr. Aydın Erenmemişoğlu'na ve ayrıca uzmanlık eğitimim boyunca her konuda ilgi ve yardımlarını esirgemeyen tőm Farmakoloji Anabilim Dalı ęalıŐanlarına teŐekkőr ederim.

Dr. Murat BőyőkŐekerci
Kayseri, 2005

KISALTMALAR

Ach	: Asetil Kolin
ARI	: Aldoz Redüktaz İnhibitörü
CCK	: Kolesistokinin
CYP	: Sitokrom p 450 enzimleri
GABA	: Gaba amino butirik asit
IASP	: Uluslararası Ağrı Çalışma Birliği
IL	: Interlökin
i.p.	: İntraperitonal
MAOI	: Monoamin oksidaz inhibitörü
NaSSA	: Noradrenalin spesifik serotonin antidepresan
MİR	: Mirtazapin
MET	: Metergolin
NAL	: Nalokson
NGF	: Sinir Büyüme Faktörü
NA	: Noradrenalin
NK	: Nörokinin
NRM	: Nukleus Raphe Magnus
NSAİ	: Non steroid anti inflamatuvar ilaç
NO	: Nitrik oksit
NPY	: Nöropeptid Y
PAG	: Periakuvaduktal Gri Madde
STZ	: Streptozotosin
SSRI	: Selektif serotonin geri alım inhibitörü
TNF	: Tümör nekroz faktör
TSA	: Trisiklik antidepresan
5HT	: Serotonin

TABLolar LİSTESİ

Tablo 1. Ağrı Terminolojisi.....	5
Tablo 2. Duyusal liflerin sınıflandırılması	8
Tablo 3. Ağrı iletim ve modülasyonunda rol alan kimyasal ileticiler	9
Tablo 4. Ağrının sınıflandırılması	12
Tablo 5. Deneylerde kullanılan droglar.....	21
Tablo 6. Çalışmadaki deney hayvanı grupları	23
Tablo 7. Drogların sensorimotor performans üzerine etkileri	25
Tablo 8 Streptozosin injeksiyonunun kan glukoz düzeyi ve kilo üzerine etkisi	26
Tablo 9 STZ öncesi ve sonrası hot plate değerleri	28

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.	Ağrı algılanması ve onu izleyen olaylar	6
Şekil 2.	Ağrı algılamada etkili faktörler	7
Şekil 3.	Deride nosiseptörlerin yerleşimi	7
Şekil 4.	Ağrı yolları- Modülasyon	10
Şekil 5.	Hiperaleji allodini	11
Şekil 6.	Nöropatik ağrı tedavisi	14
Şekil 7.	Mirtazapinin kimyasal yapısı.....	16
Şekil 8.	Etil alkol ve polietilenglikolün hot plate değerleri	26
Şekil 9.	Hot –plate testinde streptozosinin (STZ) nosiseptif etkisi.....	27
Şekil 10.	Mirtazapinin diyabetik olmayan sıçanlarda antinosiseptif etkisi	28
Şekil 11.	Mirtazapinin diyabetik olan ve olmayan sıçanlarda antinosiseptif etkisi...	29
Şekil 12.	Nalokson, Metergolin ve BRL 44408 'in antinosiseptif etkisi.....	30
Şekil 13.	Mirtazapinin diyabetik sıçanlarda nalokson, metergolin ve BRL 44408 ile birlikte verildiğinde antinosiseptif etkisi	31
Resim 1.	Rota –Rod Cihazı	20
Resim 2.	Hot-plate Cihazı	21

DİYABETİK NÖROPATİ OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA
MİRTAZAPİN'İN ANTİNOSİSEPTİF ETKİSİ VE
MUHTEMEL ETKİ MEKANİZMASI

ÖZET

Amaç: Streptozosin ile diyabet oluşturulmuş sıçanlarda gelişen nöropatik ağrıya yeni nesil bir antidepresan olan mirtazapinin antinosiseptif etkisinin ve bu etkinin muhtemel mekanizmasının araştırılmasıdır.

Materyal ve metod: Çalışmada 88 adet sıçan kullanıldı. Deney hayvanları her grupta 4 erkek 4 dişi olacak şekilde 8'erli 11 gruba ayrıldı; 1. grup kontrol, 2. grup mirtazapin 5 mg.kg⁻¹, 3. grup mirtazapin 10 mg.kg⁻¹, 4. grup mirtazapin 15 mg.kg⁻¹, 5. grup mirtazapin 15 mg.kg⁻¹ + nalokson 1 mg.kg⁻¹, 6. grup mirtazapin 15 mg.kg⁻¹ + metergolin 2 mg.kg⁻¹, 7. grup mirtazapin 15 mg.kg⁻¹ + BRL 44408 4 mg.kg⁻¹, 8. grup nalokson 1 mg.kg⁻¹, 9. grup metergolin mg.kg⁻¹, 10. grup BRL 44408 4 mg.kg⁻¹ ve 11. grup streptozosin 50 mg.kg⁻¹ verilen sıçanlardan oluşmaktaydı . Hot-plate cihazında kontrol ölçümleri alınan sıçanlara diyabet oluşturmak üzere 50 mg.kg⁻¹ streptozosin i.p. intra peritoneal) yoldan injekte edildi. Üçüncü gün sonunda kuyruk venlerinden alınan venöz kanda glukometre cihazı ile kan glukoz düzeyi ölçüldü. Kan glukoz düzeyi 240 mg.kg⁻¹ ve üzerinde tespit edilen sıçanlar çalışmaya dahil edildi ve kan glukoz düzeyi bu değerlerin altında bulunan sıçanlar çalışmadan çıkarıldı.Yaklaşık 15 ila 22 günlük bekleme döneminden sonra sıçanlarda hiperaljezi gelişip gelişmediğini kontrol amacıyla hot-plate cihazında nosiseptif değerlendirilme yapıldı. İlk alınan kontrol ölçümlerine göre hot-plate latanslarında %20 ve üstünde azalma görülen sıçanlarda nöropati geliştiği varsayıldı. Bu değerlerin altında latans gösteren sıçanlar çalışmadan çıkarıldı. Nöropati gelişen sıçanlara yukarıda belirtilen drog veya drog kombinasyonları i.p. yoldan injekte edildi ve hot-plate cihazında 3. ölçümleri alındı.

İstatiksel analizler, hot-plate ölçümleri arasındaki varyansların homojenite testi yapıldıktan sonra Scheffe testi ve ikili kıyaslamalarda independent sample t-testi

kullanılarak yapıldı. Analizlerde $p < 0.05$ anlamlı olarak kabul edildi. Testler SPSS 11.0 yazılım programı kullanılarak yapıldı.

Bulgular: Streptozosin uygulanan hayvanların büyük çoğunluğunda (%75) gelişen hiperglisemi ve kilo kaybı anlamlıydı ($p < 0.05$). Ayrıca streptozosin tek başına i.p. yoldan injekte edildiğinde belirgin bir antinosiseptif etki göstermedi. Mirtazapinin 5 mg.kg^{-1} dozu belirgin antinosiseptif etki göstermezken 10 mg.kg^{-1} ve 15 mg.kg^{-1} dozları anlamlı analjezik etki gösterdi. Tek başına uygulanan nalokson 1 mg.kg^{-1} , metergolin 2 mg.kg^{-1} ve BRL 4 mg.kg^{-1} dozlarında antinosieptif açıdan etkisiz bulundu. Mirtazapinin 15 mg.kg^{-1} dozu ile birlikte uygulanan bu drogların herbiri mirtazapinin antinosiseptif etkisini anlamlı derecede antagonize etti.

Sonuç: Diyabetik nöropatiye bağlı gelişen ağrıda mirtazapinin belirgin bir antinosiseptif etkinlik gösterdiği ve bu etkinin oluşmasında adrenerjik, serotonerjik ve opioidlerjik sistemlerin katkıda bulunabileceği söylenebilir.

Anahtar kelimeler: Antinosisepsiyon, Diyabetik nöropati, Mirtazapin

THE ANTINOCICEPTIVE EFFECT OF MIRTAZAPINE IN DIABETIC NEUROPATHIC RATS AND POSSIBLE MECHANISM OF ACTION

SUMMARY

The Aim: The purpose of this study was to investigate the antinociceptive effect of new generation antidepressant mirtazapine in streptozocin induced diabetic rats with neuropathy and the possible mechanism of this effect.

Material and methods: 88 rats were used in this study. The animals were separated into 11 groups; 8 in each of whose 4 male and 4 female; 1. group control, 2. group mirtazapine 5 mg.kg⁻¹, 3. group mirtazapine 10 mg.kg⁻¹, 4. group mirtazapine 15 mg.kg⁻¹, 5. group mirtazapine 15 mg.kg⁻¹ + naloxon 1 mg.kg⁻¹, 6. group mirtazapine 15 mg.kg⁻¹ + metergolin 2 mg.kg⁻¹, 7. group mirtazapine 15 mg.kg⁻¹ + BRL 4 mg.kg⁻¹, 8. group naloxon 1 mg.kg⁻¹, 9. grup metergoline 2 mg.kg⁻¹, 10. group BRL 4 mg.kg⁻¹ and 11. grup streptozotocin 50 mg.kg⁻¹. Streptozotocin 50 mg.kg⁻¹ was injected to rats to induce diabetes after recording hot-plate control latencies. The blood glucose levels were measured from the venous sample by a glucometer at the end of the 3rd day. The rats with blood glucose levels 240 mg.kg⁻¹ and higher were included in the study while others were excluded. After a 15 or 22 interval period a nociceptive test was performed on hot-plate to evaluate whether hyperalgesia was induced in diabetic rats. The rats whose hot-plate latencies were 20% and more lower according to first control values were accepted as neuropathic. The other rats whose values were lower than this were excluded. The neuropathic rats were injected by the drugs as described above and the hot-plate latencies were recorded for the 3rd time.

The statistical analysis was carried out by Dunnett test after homogeneity test variabilities between hot-plate values while comparing two groups independent sample t-test was used. SPSS 11.0 software program was used to perform these analyses.

Findings: Streptozotocin injection induced a significantly hyperglycemia in most of the rats (75%) and weight loss (p<0.05). Streptozotocin injected i.p. alone didn't display any antinociceptive effect. While mirtazapine 5 mg.kg⁻¹ did not show any

antinociceptive effect, 10 mg.kg⁻¹ ve 15 mg.kg⁻¹ of the same drug displayed a significant antinociceptive effect. When given alone either naloxon 1 mg.kg⁻¹, metergoline 2 mg.kg⁻¹ or BRL 44408 4 mg.kg⁻¹ were ineffective. But each of these drugs antagonized the antinociceptive effect of mirtazapine (15 mg.kg⁻¹) significantly (p<0.05) when given combined by this drug.

Results: It is postulated that mirtazapine displayed a significant antinociceptive effect in neuropathic pain seconder to diabet and adrenergic, serotonergic and opiodergic systems may take role in this effect.

Key words: Antinociception, Diabetic neuropathy, Mirtazapine

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Nöropatik ağrı, periferik veya santral sinir sisteminin bir kısmının zedelenmesi, fonksiyonunun bozulması veya uyarılabilirliğinin değişmesi ile ilgili bir ağrıdır. Nosiseptif ağrıdan en belirgin farkı, sürekli bir nosiseptif uyarının bulunmamasıdır. Nöropatik ağrıyı diğer ağrı türlerinden ayıran başlıca özellikler: spontan hoş olmayan duyuların yanı sıra keskin, batıcı, elektrik çarpması nitelikte oluşu, ağrılı alanlarda duysal bozukluk veya kayıp olması, uyarılara karşı değişmiş yanıtlar bulunması ve sempatik sinir sistemi tutulumunda ise otonomik disfonksiyon oluşudur (1).

Diabetes Mellitus hiperglisemi ile karakterize, ön planda karbonhidrat metabolizmasının bozulduğu bir hastalıktır. Diyabet akut ve kronik komplikasyonlarla seyreder. İnsulinin keşfinden önce akut komplikasyonlar hasta için ölümcül bir tablo oluştururken, tedavideki gelişmelerle, günümüzde morbidite ve mortalite üzerine akut komplikasyonların etkisinin oldukça azalması sağlanmıştır. Böylece, hastaların yaşam süreleri uzamış ve kronik komplikasyonların önemi göreceli olarak artmıştır. Bugün için gerek Tip 1, gerekse Tip 2 diyabet tedavisinde ana sorun ve hedef, kronik komplikasyonları tedavi etmek ve daha önemlisi hastayı bu komplikasyonlardan korumaktır (2).

Nöropati, diyabetin önemli kronik komplikasyonlarından biridir. Diyabetik nöropati, tanıyı izleyen 20 yıl içerisinde, bu hastaların yaklaşık %50'sinde ortaya çıkmaktadır (3). Diyabetik nöropatinin önemi son yıllarda daha iyi anlaşılmaya başlanmış olmakla birlikte alt ekstremitelerde ağrı ve parestezi ile diyabet arasındaki ilişki olduğu yaklaşık 200 yıldır bilinmektedir. Genellikle simetrik duysal periferik nöropati şeklinde görülmektedir.

Nöropatik ağrının tanı ve tedavisi son yıllarda klinisyen ve araştırmacıların ilgi odağı olmuştur. Bu hastalığın tedavisinde halen yeterli başarı oranlarına ulaşamamış olması bu ilginin nedenlerinden olabilir. Nöropatik ağrı mekanizmalarının ve olası tedavi modalitelerinin çalışılabildiği hayvan ve gönüllü modellerinin geliştirilmesi de araştırmacıların ilgisinin bu konuya yoğunlaşmasına neden olmuştur.

Nöropatinin başarılı bir şekilde tedavi edilmesi için her şeyden önce erken tanı, vakanın doğru bir şekilde tanımlanması ve etkili bir tedavi programının uygulanması gerekmektedir. Bu da çoğu zaman sistemik droglar, fizik tedavi desteği, davranışsal tedavi modaliteleri ve invazif girişimleri içerir. Ne yazık ki çoğu vakalarda opioid ve NSAİ'lere cevap çok zayıftır. Halen nöropati tedavisinde TSA'lar (amitriptilin), SSRI (fluoksetin), venlafaksin, antikonvülzanlar (karbamazepin, fenitoin), amantadin, tramadol, oksikodon, gabapentin, bupropion ve kapsaisin gibi farklı gruptan droglar kullanılmaktadır (1).

Her ne kadar diyabetik nöropati tedavisi için alternatif droglar mevcut olsa da bunların kullanım alanları, gerek etkinliklerinin istenen seviyede olmaması ve gerekse bazı gruplar için trisiklik antidepressanlar (TSA) yan tesirlerinin fazla oluşundan dolayı sınırlıdır. Bu sebeple tedavide yan tesiri nispeten az ve etkinliği yüksek droglar araştırılmaktadır.

Antidepressanlar (özellikle trisiklikler ve aynı zamanda SSRI'ler) depresyonlu olmayan hastalarda da şiddetli ağrılarda analjezik olarak geniş ölçüde kullanılırlar.

Mirtazapin (Org 3770) yeni ve farklı bir etki mekanizması olan bir antidepresandır. Diğer antidepresan ilaçlara göre daha az ciddi yan etkileri vardır ve onlardan daha iyi tolere edilir (4).

Literatürde Mirtazapin'in antinosiseptif etkisini inceleyen çok az sayıda çalışma vardır (5,6). Buna karşılık mirtazapin'in diyabetik nöropatik ağrı üzerindeki etkisini araştıran bir çalışma mevcut değildir. Farelerde yapılan bu çalışmalarda termal uyarana karşı mirtazapinin doza bağlı antinosiseptif etki gösterdiği ve bunun serotonin-noradrenalin aracılığıyla gerçekleştiği ve muhtemelen opioid sistemin de rol aldığı öne sürülmüştür.

Bizler bu çalışmada diyabetik nöropati oluşturulmuş sıçanlarda mirtazapinin antinosiseptif etkisinin olup olmadığını ve varsa bu etkiye aracılık eden nöromediatörleri araştırmayı amaçladık. Halen kullanılmakta olan droglardan daha az yan etki profili olması ve daha iyi tolere edilebilmesinden dolayı mirtazapinin diyabetik nöropatide ortaya çıkan ağrı tedavisinde alternatif bir drog olabileceğini düşündük.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.AĞRININ TANIMI

Varoluşundan bu yana insanoğlunun “ağrı” çektiği ve ağrıyı yok edebilmek için de savaş verdiğine şüphe yoktur. Büyük olasılıkla bu savaş sonsuza kadar da sürecektir. Çünkü “ağrı” canlıların ve özellikle insanların ayrılmaz ve vazgeçilmez bir parçasıdır. Ağrının ne olduğunu herkesin bilmesine rağmen, asırlardır yeterli bir tarifi yapılamamıştır. Bunun da en önemli nedeni, eskilerin “ağrıyı çeken bilir” deyiminde kendisini bulan önemli özelliği, yani tamamen kişisel (subjektif) olmasıdır (7).

Latince “poena” (ceza, intikam, işkence) sözcüğünden gelmekte olan ağrı, kompleks ve nahoş bir algılama olup, hastayı doktora getiren en önemli nedendir. Uluslararası Ağrı Araştırmaları Birliği (IASP)’nin tanımına göre; “Ağrı, gerçek veya potansiyel doku hasarı ile birlikte olan veya böyle bir hasar gibi tanımlanan, nahoş bir duyusal veya emosyonel deneyimdir” (8). Yine aynı derneğin sınıflandırma komitesi ağrıyı bir deneyim olarak tanımlamıştır. Bu, kişiler ile tek tek konuşmadıkça, hiç bir kişi diğerinin deneyimini bilemez gerçeğini ortaya koyar. Çünkü ağrının kendisini objektif olarak ölçmek mümkün değildir. Bu nedenle hekim hastanın ağrı yakınmasına güvenmeli ve yardım edebilmek için hastaya inanmalıdır (9).

Peki ama “ağrı” neden vardır? Ağrı, organizmanın düzenli çalışmasını ve yaşamını sürdürmesini sağlayan çok önemli fonksiyon yürütmektedir. Ağrı “uyarıcıdır”;

vücutta herhangi bir yerde ağrı varsa, orada mutlaka -yolunda gitmeyen- bir şeyler vardır. Hücre düzeyinde dahi olsa dokuda fonksiyonel veya organik bozukluk meydana geldiği zaman, uyarı merkezleri harekete geçerek ağrı şeklindeki bir uyarıyı beyne göndererek tüm vücut mekanizmalarını elinde tutan bu organdan gereğinin yapılmasını ister. Ağrı “koruyucu” ve “önleyicidir”. Ağrı “öğreticidir”; ütüden eli yanan çocuk yakıcı objelerden uzak durmayı öğrenecektir. Kısacası ağrı, özellikle uyarıcı fonksiyonu sayesinde erken tanı ve tedaviye olanak sağlayarak birçok bozukluğun düzeltilmesi ve hatta hayatın kurtarılmasında önemli rol oynamaktadır (7).

2.2 AĞRI TERMİNOLOJİSİ

IASP, 1979 yılında ağrı ile ilgili bir terminoloji yayınlamıştır (Tablo1). Bu terimler ve karşılıkları aşağıda belirtilmiştir.

Tablo 1: Ağrı terminolojisi

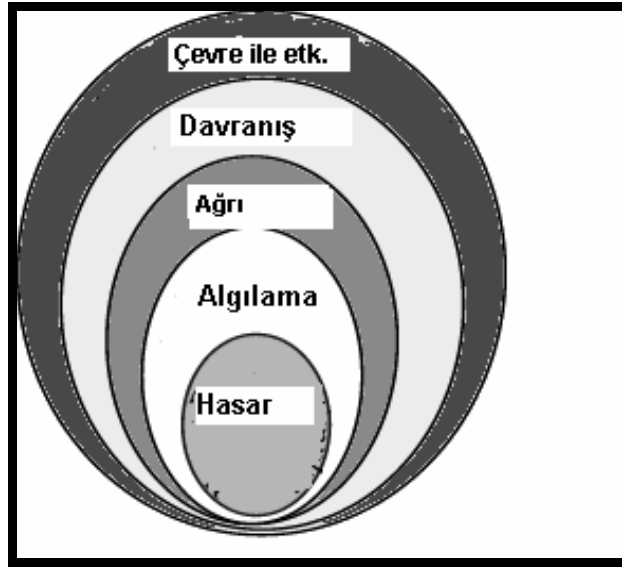
Allodini	Genellikle ağrılı olmayan bir stimülusun neden olduğu ağrı
Analjezi	Ağrılı stimülasyonun oluşturduğu ağrının yokluğu
Anesthesia Dolorosa	Bir anestetik bölge veya alanda oluşan ağrı
Kozalji	Travmatik bir sinir lezyonundan sonra devam eden yanıcı ağrı
Santral ağrı	Bir santral sinir sistemi lezyonu ile birlikte olan ağrı
Disestezi	Hoş olmayan anormal duyu (his)
Parestezi	Anormal duyu
Hiperalezi	Ağrılı stimülusa karşı duyarlılığın ve cevabın artması
Hiperestezi	Stimülasyona karşı duyarlılığın artması
Hiperpati	Hiperalezi ve aşırı reaksiyonla karakterize ağrılı sendrom
Hipoalezi	Ağrılı stimülusa karşı duyarlılığın ve cevabın azalması
Hipoestezi	Stimülasyona karşı duyarlılığın azalması
Nöralji	Bir sinire yayılan ağrı
Nörit (is)	Sinir enflamasyonu.
Nöropati	Bir sinirdeki patolojik değişiklik veya fonksiyonundaki bozukluk
Nosiseptör	Ağrılı veya potansiyel olarak ağrılı stimülusa karşı duyarlı spesifik reseptör
Ağrı eşiği	Kişide ağrıya neden olan en küçük stimülusun şiddeti
Ağrı tolerans seviyesi	Kişinin tolere etmeye hazır olduğu, ağrıya neden olan en büyük stimülus.

2.3 AĞRININ PERİFERİK MEKANİZMALARI

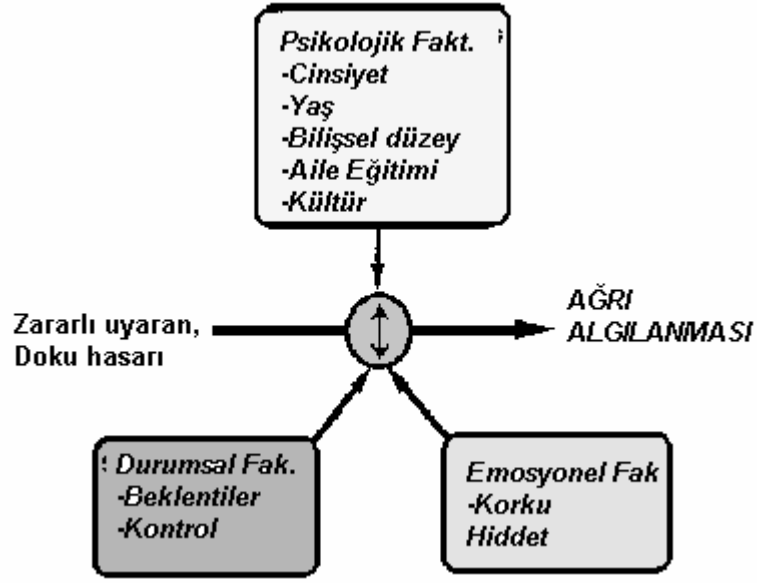
Nörofizyolojide ağrı sıklıkla “nosisepsiyon” sözcüğü ile tanımlanır. Nosisepsiyon Latince *noci* (zarar,hasar) kelimesinden türemiştir. Fakat bu iki kelime (ağrı ve nosisepsiyon) tamamen aynı şeyi ifade etmezler. Nosisepsiyon, bedenin bir bölgesinde bir doku hasarı olduğu zaman, bunun özelleşmiş sinir uçları ile (nosiseptör) alınıp, santral sinir sistemine götürülmesi, belirli bölge ve nöronal yapılarda düzenlenerek bu zararlı tehdit durumunun (zararlı uyarı) algılanması ve buna karşı gereken fizyolojik, biyoşimik ve psikolojik önlemlerin harekete geçirilmesidir. Ağrı, nosisepsiyon içinde bir algılama olayıdır. Her nosisepsiyon ağrı ile sonuçlanırken her ağrı nosisepsiyon sonucu oluşmaz (bazı nöraljilerde olduğu gibi) (8). Ağrı kompleks bir algılama deneyimidir ve iki komponenti vardır. Bunlar:

- 1 - Fizyolojik (fiziksel) veya periferik komponent
- 2 - Psikolojik veya santral komponent

Ağrı mekanizmasını iç içe girmiş halkalar gibi düşündüğümüzde merkezde sinir hasarı veya uyarısı sonra ağrının algılanması, ızdırap, ağrı davranışı, ve son olarak da çevre ile etkileşim gelecektir. Bu son iki durum sadece klinik olarak gözlenebilir (Şekil 1,2).



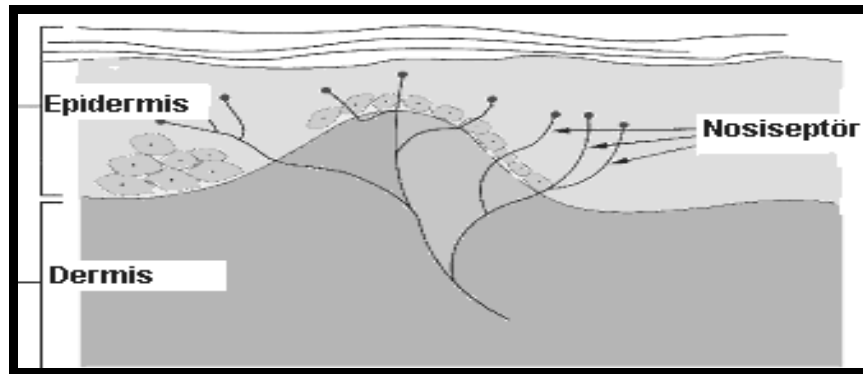
Şekil 1: Ağrı algılanması ve onu izleyen olaylar (Kaynak 8 ‘den alınmıştır.)



Şekil 2. Ağrı algılamada etkili faktörler (Kaynak 8 den alınmıştır)

Ağrı Reseptörleri

Deride ve diğer dokulardaki ağrı reseptörlerinin hepsi serbest sinir uçlarıdır (Şekil 3). Bunlar derinin yüzeysel tabakalarında ve periosteum, arteriyel duvarlar, eklem yüzleri, kafatasının falks ve tentoriumu gibi bazı internal dokularda yaygın olarak bulunurlar. Diğer derin dokuların çoğunda ağrı sonlanmaları oldukça seyrek durumdadır. Yine de herhangi bir yaygın doku hasarı bu seyrek reseptörlerden doğan duyuların sumasyonu ile bu bölgelerde, yavaş-kronik-sızdı tipinde bir ağrı oluşturabilir (10).



Şekil 3: Deride Nosiseptörlerin yerleşimi (Kaynak 7'den alınmıştır)

“Nosiseptör“ olarak adlandırılan ağrı reseptörleri, küçük miyelinli (A delta) ve miyelinsiz (C) sinir liflerinin serbest uçlarında bulunmakta ve ağrılı uyarana yanıt vermektedir.

Nosiseptörler iletim hızları, miyelinizasyon durumları, uyarılma eşikleri ve aktive oldukları uyarı tipine göre sınıflandırılırlar (Tablo 2).

Tablo 2: Duyusal liflerin sınıflandırılması

Duyusal reseptör	Uyarılma eşiği	İleti hızı	Duyusal fonksiyon	Miyelinizasyon
C- lifleri	Yüksek	0.5-2 m/sn	Kimyasal, mekanik termal uyarı	Miyelinsiz
A- δ	Yüksek	2-20 m/sn	Kimyasal, mekanik termal uyarı	Hafif miyelinli
A- β	Düşük	20-50 m/sn	Hafif dokunma, basınç, vibrasyon.	Miyelinli

Ağrı iletiminde rol alan kimyasal ileticiler

Herhangi bir kimyasal maddenin iletilmesi için çeşitli özelliklere sahip olması gerekir. İletici maddenin 2. sıra spinal nöronla primer afferent sinapta bulunması, ağrılı uyarılarla aktive olması, her nöron üzerinde nosiseptör primer afferentte yaptığı etkiyi göstermesi, bütün terminallerden salgılanması, bu maddenin etkisini bloke edecek ve yine spinal nöronlar üzerinde etki gösterecek bir antagoniste sahip olması gereklidir. Bugüne dek yapılan çalışmalarda bütün bu özelliklerin tümüne sahip bir iletilici madde saptanamamıştır. Ancak bu özelliklere yaklaşan, ağrının santral sinir sisteminde iletim ve modülasyonunda rol alan bir çok nörokimyasal maddenin varlığı saptanmış bulunmaktadır (Tablo 3).

Tablo 3: Ağrı iletim ve modülasyonunda rol alan kimyasal ileticiler

Nörotransmitter	Reseptör	Nosiseptif etki
Noradrenalin	α -2	inhibitör
Serotonin	5-HT1 (5HT3)	inhibitör
Asetilkolin	Nikotinik	inhibitör
Nitrik oksit	(-)	eksitatör
Gama amino butirik asit (GABA)	GABA _B	inhibitör
Glisin	Glisin A	İnhibitör (?)
Glutamat	NMDA, AMPA	eksitatör
Aspartat	NMDA, AMPA	eksitatör
Enkefalin	μ , κ , δ	inhibitör
Dinorfin	μ , κ , δ	inhibitör
Endorfin	μ , κ , δ	inhibitör
P Maddesi	NK-1	eksitatör
Nörotensin	(-)	inhibitör
Somatostatin	(-)	inhibitör
Sitokinler (IL-1 β , IL-6, TNF)	(-)	eksitatör
Kalsitonin geni ile ilişkili peptid (CGRP)	(-)	eksitatör
Nöropeptid Y	(-)	inhibitör
Sinir Büyüme Faktörü (NGF)	(-)	eksitatör
Kolesistokinin	CCK-B	eksitatör
Adenozin	A-1, A-2	eksitatör
Nosiseptin	ORL-1	inhibitör

2.4 AĞRININ MODULASYONU

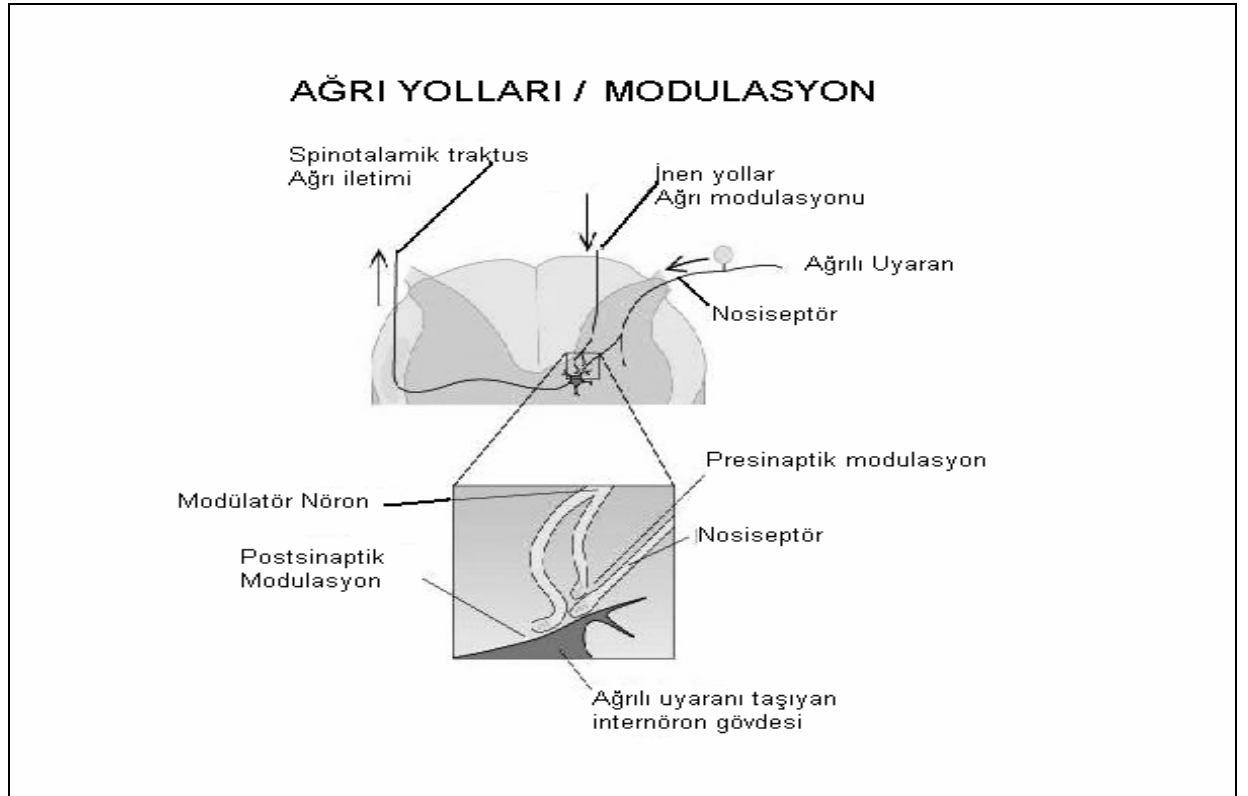
Doku hasarını (travma sonucu veya ameliyat gibi) takiben ağrı yollarında kişinin ağrı duyumunu devam ettirecek ve hatta artıracak bir takım değişiklikler meydana gelir.

Bunlar:

-Doku hasarının olduğu bölgede (Periferal sensitizasyon)

-Omurilik arka boynuz hücrelerinde (Santral sensitizasyon) oluşur

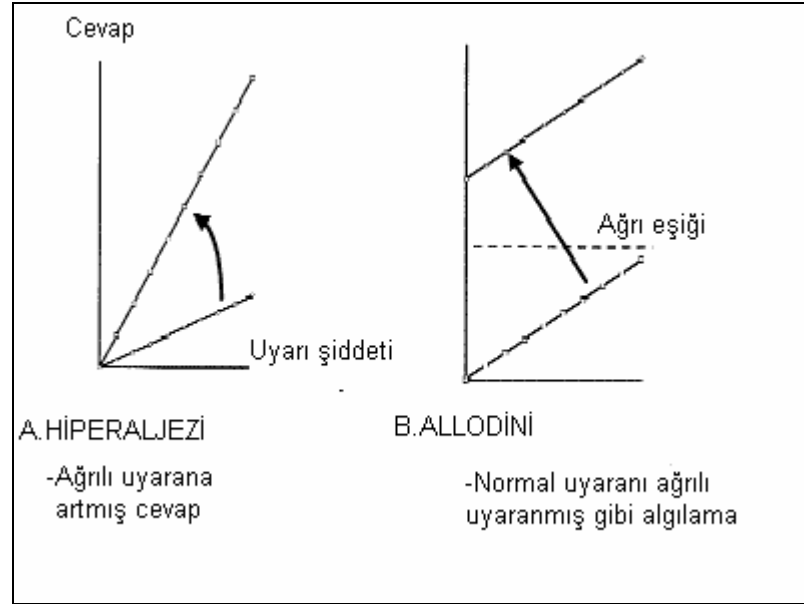
Bu mekanizmalar normal fizyolojik olaylardır ve kişiyi daha ağır zarardan korunmaya iter. Ağrının modülasyonu periferde nosiseptör çevresinde, merkezi sinir sistemi (MSS)'inde omurilik arka boynuzunda veya supraspinal yapılarda gerçekleşir (Şekil 4). Bu modülasyon sonucu ağrı inhibe edilebileceği gibi artırılabilir de (8,11).



Şekil 4: Ağrı yolları / modülasyon (Kaynak 8 'den alınmıştır)

Nosiseptörler ve onların nöronları tekrarlayan uyarılar sonucu duyarlı hale gelirler (sensitizasyon). Sensitizasyon zararlı uyarana karşı artmış bir cevap şeklinde ortaya çıkabileceği gibi, zararsız bir uyarıyı da kapsayacak şekilde daha geniş bir uyarı aralığına karşı cevap geliştirme şeklinde de kendini gösterebilir (8). Hiperaleji (hafif

zararlı bir uyarı ile bile duyulan ağrı), allodini (normalde zararlı kabul edilmeyen uyarılarda duyulan ağrı) ve hiçbir uyarı olmaksızın duyulan spontan ağrı süregen ağrılar içinde incelenmektedir (Şekil 5).



.Şekil 5: Hiperaleji ve allodini

Periferden duyuşal liflerce (C ve A- λ) taşınan ağrı impulşları omurilik arka boynuzuna dorsal köklerden girdikten sonra burada birtakım değişiklere (modulasyon) maruz kalır. Bu etkiler ağrılı uyarıların üst merkezlere iletimini kolaylaştıracak (fasilitasyon) şekilde olabileceği gibi tam tersine engelleyecek (inhibitör) veya azaltacak şekilde gerçekleşebilir.

2.5 AĞRININ SINIFLANDIRILMASI

Ağrı subjektif bir duyu olarak niteliklerine, kaynaklarına, sürelerine ve nedenlerine göre en az 5 farklı kategoride sınıflandırılabilir (10) (Tablo 4).

Tablo 4: Ağrının sınıflandırılması

I-Niteliklerine göre	1-Batıcı Ağrı (miyelinli A-δ lifler) 2-Yanıcı Ağrı (miyelinsiz C lifler) 3-Sancılı Ağrı (miyelinsiz C lifleri)
II-Kaynaklarına göre	1-Somatik Ağrı 2-Viseral Ağrı 3-Yansıyan Ağrı 4-Projekte Ağrı 5-Psikojenik Ağrı
III-Sürelerine göre	1-Akut Ağrı 2-Kronik Ağrı
IV-Şiddetlerine göre	1-Kolik Ağrı 2-Künt Ağrı 3-Kemirici (kanser) Ağrısı
V-Nedenlerine göre	1-Baş ağrısı 2-Nevralji 3-Kas-iskelet Ağrısı 4-Karın Ağrısı vb.

2.6 NÖROPATİK AĞRI

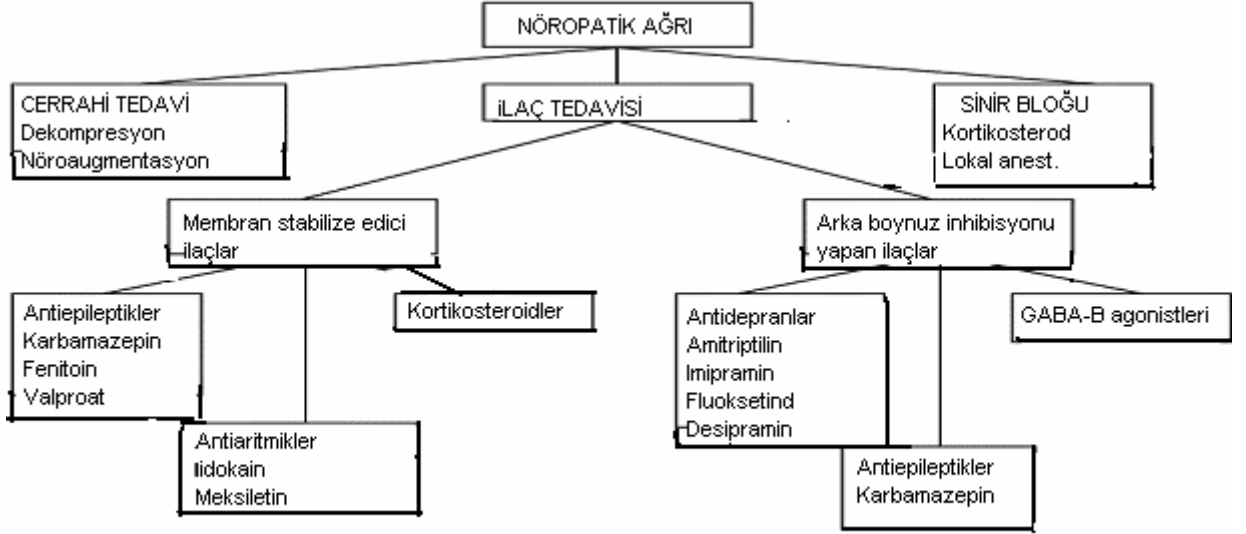
Nöropatik ağrı, periferik veya santral sinir sisteminin bir kısmının zedelenmesi, fonksiyonun bozulması veya uyarılabilirliğinin değişmesi ile ilgili bir ağrıdır. Nosiseptif ağrıdan en belirgin farkı, sürekli bir nosiseptif uyarının bulunmamasıdır. Sorunu başlatan bir malfonksiyondur ve periferik sinir travması veya metabolik hastalık sonucunda oluşabildiği gibi, santral nedenlerden de köken alır. Nöropatik ağrı hasardan veya oluşan hasarın şiddetinden bağımsız olarak devam edebilir ve hatta haftalar, aylar, yıllar içinde şiddetlenebilir. Ağrının yanlış tanımlanması, yanlış lokalize edilmesi,

algılamanın gecikmesi ve yayılma söz konusudur. Nöropatik ağrıyı diğer ağrı türlerinden ayıran başlıca özellikler: spontan hoş olmayan duyuların yanı sıra keskin, batıcı nitelikte, elektrik çarpması ya da yanıcı ağrı oluşu, ağrılı alanlarda duysal bozukluk veya kayıp, uyarılara karşı değişmiş yanıtlar ve sempatik sinir sistemi tutulumunda ise otonomik disfonksiyon oluşudur (1). Bu noktada şunu hatırlamakta fayda vardır ; ağrı hoş gitmeyen herhangi bir algılamadır ve mutlaka nosiseptör aktivasyonu ile oluşması gerekmez. A-β liflerinin şiddetli ve devamlı stimülasyonu da ağrılı parestezilere sebep olabilir (11).

Nöropatik ağrı mekanizmalarının nosiseptif ağrıdan en önemli farkı santral ve periferik mekanizmaların rolüdür. Etyoloji, mekanizma ve semptomlar arasındaki ilişki oldukça karmaşıktır. Aynı semptomlu iki hastada, ağrı farklı mekanizmalarla meydana gelmiş olabilir. Sonuçta bir hasta için birden fazla mekanizma işleyebilmekte ve bunlar zaman içinde değişebilmektedir. Nöropatik ağrı uyarandan bağımsız, spontan bir ağrı olarak ortaya çıkabildiği gibi, hipersensivite sonrası ya da duysal nöronların değişikliği sonrasında da oluşabilir (1).

Nöropatik ağrı inme, multipl skleroz gibi SSS hastalıkları sonucu gelişebileceği gibi mekanik zedelenme, diyabetik nöropati veya herpes zoster enfeksiyonu gibi periferik sinir hasarı sonucu da oluşabilir. Bu tip ağrının altında yatan patofizyolojik mekanizmalar yeterince anlaşılammış olmakla birlikte zedelenmiş duysal nörondaki spontan aktiviteler bir faktör olabilir.

Nöropatik ağrı tanı ve tedavisi son yıllarda klinisyen ve araştırmacıların ilgi odağı olmuştur. Bu artmış ilginin birçok nedeni bulunmaktadır. Sinir sisteminde oluşan zedelenmeler sonrasında ortaya çıkan ağrı sendromlarının farkına varılması ve nöropatik ağrılı hastaların tedavisinde halen yeterli başarı oranlarına ulaşılamamış olması bu ilginin önemli nedenlerindedir (1). Halen bu tip ağrının tedavisinde farklı yaklaşımlar söz konusudur (Şekil 6). Bu tedavi yöntemleri başlıca üç ana başlık altında toplanabilir; i) cerrahi tedavi ii) ilaç tedavisi iii) sinir bloğu tedavisi. İlaç tedavisinde çok farklı guplardan birçok çeşit kullanılmaktadır. Antidepresan ilaçlardan amitriptilin başta olmak üzere; imipramin, fluoksetin, desipramin klinikte halen nöropatik ağrı tedavisinde kullanılmaktadırlar.



Şekil 6: Nöropatik ağrıda tedavi yaklaşımları (Kaynak 13'den alınmıştır)

2.7 DİYABETİK NÖROPATİ

Diabetes mellitus insülin sekresyonu yokluğuna veya dokuların insüline duyarlılığında azalmaya bağlı karbonhidrat, yağ ve protein metabolizması bozukluğunun eşlik ettiği bir sendromdur. Tip I diyabet insülin sekresyonu yokluğuna bağlı olup insüline bağımlı diyabet adını alır. Tip II diyabet ise hedef dokuların insülinin metabolik etkilerin duyarlılıklarının azalmasına bağlı olarak gelişir ve insüline bağımlı olmayan diyabet adını alır (3).

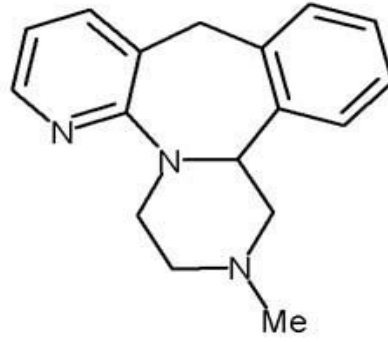
Diyabet akut ve kronik komplikasyonlarla seyreder. İnsülinin keşfinden önce akut komplikasyonlar hasta için ölümcül bir tablo iken, tedavideki gelişmelerle, günümüzde morbidite ve mortalite üzerine akut komplikasyonların etkisinin oldukça azalması sağlanmıştır, böylece, hastaların yaşam süreleri uzamış ve kronik komplikasyonların önemi göreceli olarak artmıştır. Nöropati, diyabetin önemli kronik komplikasyonlarından biridir. Diyabetik nöropatinin önemi son yıllarda daha iyi anlaşılmasına başlanmış olmakla birlikte, alt ekstremitelerde ağrı ve parestezi ile diyabet arasında ilişki olduğu yaklaşık 200 yıldır bilinmektedir. Hatta 1864 yılında da Calvi nöropatiye diyabetin yol açtığını kanıtlayana dek, diyabet sinir sisteminin bir hastalığı olarak tarif edilmiştir (2).

Diyabetik nöropatinin patogenezi tam olarak açıklanamamış değildir. Ancak tek nedene dayalı bir etyolojiden bahsedilemeyeceği, olayın metabolik, vasküler ve otoimmün nedenler gibi birçok yönünün olduğu bilinmektedir (2). Kronik komplikasyonların oluşumunda hiperglisemi tek değil, ama en önemli etkidir. Çünkü normoglisemik kişilerin %98'inde diabetin mikrovasküler komplikasyonları görülmemektedir. Ayrıca hiperglisemik Pima kızılderililerinin % 55'inde gözlenen nodüler glomeruloskleroz, bu kabilenin normoglisemik üyelerinde görülmemektedir (12). İnsanlarda ve deney hayvanlarında yapılan çalışmalar, progresif sinir harabiyetinin hipergliseminin şiddeti ve süresi ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Streptozosin ile indüklenen diabetik farelerde kötü metabolik kontrol sonucunda 2-3 hafta içinde yaygın distal sinir kaybı, multipl proksimal sinir infarktları gelişmiştir. Non enzimatik protein glikolizasyonu, glukoz bağımlı gen indüksiyonu ve polyol yolu aktivasyonu, glukoz toksisitesi için potansiyel mekanizmalar olarak suçlanmaktadır (13).

Tedavi: Diyabet komplikasyonlarının tedavisi ve kontrolünün temelleri; sıkı glisemi kontrolü, vücut ağırlığının kontrolü ve lipid düzeylerinin kontrolüdür. Normogliseminin sağlanmasıyla nöropatiye bağlı ağrı hızla azalır ve diğer belirtilerde de aylar içinde iyileşme olur.

2.8 MIRTAZAPİN

Mirtazapin (Org 3770) yeni ve farklı bir etki mekanizması olan bir antidepresandır. Mirtazapin(şekil 7) optimal antidepresan etkinlik ve kabul edilebilir tolerabilite hedeflenerek geliştirilen yeni bir antidepresan ilaçtır. Etki mekanizması trisiklik antidepresanlardan (TSA), selektif serotonin geri alım inhibitörlerinden (SSRI) ve monoaminooksidaz inhibitörlerinden (MAOI) farklıdır ve “*bir noradrenerjik ve spesifik serotonerjik antidepresan*” (NaSSA) olarak tanımlanabilir. Mirtazapin potent ve doğrudan etkili bir alfa 2 adrenoseptör antagonistidir. Noradrenerjik oto ve heteroreseptörlerinin blokajı sonucu noradrenerjik ve serotonerjik iletiyi güçlendirir (4).



Şekil 7 : Mirtazapinin kimyasal yapısı

Mirtazapinin noradrenerjik ileti üzerindeki etkileri gerek in vitro gerekse in vivo yapılan bir çok çalışmada araştırılmıştır. Bu çalışmalarda mirtazapinin noradrenerjik ileti ile etkileşiminin temelde pre ve postsinaptik α - 2 adrenoseptörlerin seçici blokajı yoluyla olduğu gösterilmiştir (4).

Presinaptik etkiler in vitro klasik noradrenalin salınım deneyleri kullanılarak araştırılmıştır. Mirtazapin merkezi sinir sisteminde seçici presinaptik α 2-adrenoseptör antagonizması yapar. Aynı zamanda, periferik sinir sisteminde de presinaptik α 2-adrenoseptör antagonisti olarak etki eder. Bunun yanında, noradrenalin geri alımını inhibe etmez ve β -adrenerjik reseptör alt tiplerini yeterince bloke etmez. Mirtazapin serotonerjik 5-HT2 reseptör alttiplerine yüksek oranda affinite gösterir. Buna karşın, 5-HT1 reseptör alttipleri için düşük bir affiniteye sahiptir. Öte yandan, davranışsal etkileşim çalışmaları mirtazapinin güçlü antiserotonerjik etkilerinin bulunduğunu göstermiştir (4).

Mirtazapinin dopaminerjik D1 ve D2 reseptörlerine belirgin bir affinitesi yoktur. Merkezi ve periferik muskarinik kolinerjik reseptörlerine de affinitesi düşüktür . α 1-adrenoseptörlere affinitesi presinaptik α 2 reseptörlerine göre göreceli olarak düşüktür (4).

Mirtazapin histamin H1 reseptörlerine yüksek bir affinite gösterir. Bu durum sonucu mirtazapinin sedasyona yol açması beklenirken, öte yandan α 1-adrenoseptörlerinin noradrenerjik aktivasyonuna ve bu yolla uyarılma artışına da yol açar. Bu ters etkileşim depresyonlu hastalarda görülen geçici sedasyon sıklığının düşük olma nedenini açıklar. Mirtazapin aynı zamanda sıçanlarda derin uykuya neden olur.

Bununla birlikte, uykunun histamin reseptörleriyle etkileşim ile ne derece ilişkili olduğu çok açık değildir. Derin uykunun kontrolünde daha ziyade 5-HT2 (muhtemelen 5-HT2A) reseptörleriyle etkileşimin etkili olduğu düşünülmektedir (14).

Terapötik doz aralığında mirtazapinin lineer bir farmakokinetiği vardır. Oral uygulamadan sonra iyi absorbe edilir ve plazma pik konsantrasyonuna 2 saat içinde ulaşır. Eliminasyon yarı ömrü 20-40 saattir. Serum proteinlerine non spesifik bir şekilde bağlanır. Proteinlere bağlanma fareler, sıçanlar ve köpekler için % 70-72, tavşanlar ve insanlar için yaklaşık % 85 tir . Mirtazapinin terapötik penceresinin geniş olması ve plazma proteinlerine göreceli olarak düşük affiniteyle bağlanması sonucu birlikte uygulanan diğer ilaçlarla fazla bir etkileşime girmemektedir. (4).

Ana bileşik hepatik yolla metabolize edilir. Biyotransformasyonunda bir çok sitokrom P450 enzimleri rol oynar. Metabolitlerinden yalnızca demetil mirtazapin farmakolojik olarak aktif metabolittir. Bununla birlikte, bu metabolitin etkinliği ana bileşikten 3-4 kez daha azdır. Çok sayıdaki çalışmadan elde edilen bilgiler mirtazapinin tolerabilitesinin iyi olduğunu göstermiştir. Herhangi bir yan etkiden yakınan hasta yüzdesi mirtazapin ile tedavi edilen hastalar için % 65 dir ve bu oran plasebo uygulanan ve amitriptilin ile tedavi edilen hastalara göre istatistiksel olarak daha düşüktür (sırasıyla % 76 ve % 87). Daha da ötesi, yan etkiler nedeniyle ilacı erken dönemde bırakan hasta oranı mirtazapin için amitriptiline göre daha düşüktür (sırasıyla % 4.9 ve %9.1). Bunun yanısıra, mirtazapinin gerek trazodon ve gerekse klomipramine göre hastalar tarafından daha iyi tolere edildiği söylenebilir.

Klinik olarak, sersemlik, aşırı sedasyon, iştah artışı, ağız kuruluğu ve kilo artışı oranı plaseboya göre mirtazapin ile tedavi edilen hastalarda anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur (4). Yan etkilerin sıklığı değişik çalışmalarda farklı oranlarda bildirilmektedir.

Mirtazapin ile tedavi edilen hastalar arasında en sık bildirilen yan etki somnolansdır. Özellikle ilk bir hafta içinde ve hastaların yaklaşık % 40-50' sinde ortaya çıkar. Bu yan etkiye karşı giderek tolerans gelişir. Hastaların çoğunda somnolans 21 gün

ya da daha kısa sürer. Hastaların % 10' unda 70 günden uzun sürdüğü bildirilmiştir. Uyku öncesinde verilmesi bu etkinin azaltılması açısından önemli olabilir.

İştah artışı sıklıkla tedavinin ilk haftası ortaya çıkar ve giderek azalır. Hastaların yaklaşık % 17' sinde görülür. 5 hafta sonra vakaların ancak % 1' inde ya da daha azında iştah artışı gözlenir. Çoğu hastada 15 mg ya da daha düşük dozlarda ortaya çıkar. Doz 30 mg ve daha yüksek olduğunda iştah artışının azaldığı belirtilmektedir. Kadın hastalarda iştah artışının erkeklere oranla 2-3 kat daha sık olduğuna dikkat çekilmektedir. Tedavi süresince vücut ağırlığının yaklaşık % 7' si kadar bir ağırlık artışı olduğu ve kilo artışına karşı tolerans gelişmediği ileri sürülmektedir.

Amitriptilin ile karşılaştırıldığında; mirtazapinin antikolinergik, kardiyak ve nörolojik semptomlar açısından daha güvenilir olduğu tesbit edilmiştir. Görme bozukluğu, anormal akomodasyon, konstipasyon, ağız kuruluğu, çarpıntı, taşikardi, tremor ve vertigo amitriptilin ile tedavi edilen hastalar arasında mirtazapin ile tedavi edilenlere göre anlamlı derecede daha sık ortaya çıkmıştır (4,14).

Diğer yan etkilerin oranının % 5 den az olduğu belirtilmektedir. Kontrollü çalışmalarda vakaların % 1 den daha azında döküntü ve kaşıntı ortaya çıktığı tesbit edilmiştir.

Mirtazapin ile tedavi sırasında vital ve laboratuvar bulgularında belirgin bir değişiklik gözlenmediği tesbit edilmiştir. Amitriptilin ile karşılaştırmalı olarak yapılan çalışmalarda mirtazapinin kan basıncı açısından daha tolere edilebilir olduğu ve tedavi sırasında kan basıncında önemli bir artış olmadığı gösterilmiştir. Kan basıncı ve nabız değişimlerinin tedavi gören hastaların % 5' den daha azında ortaya çıktığı ileri sürülmektedir (4).

3.GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. DENEY HAYVANLARI VE ÇEVRE KOŞULLARI

Araştırmamızdaki deneylerde Anabilim Dalımızda üretilen Sprague-Dawley türü 170-225 g ağırlığında sıçanlar kullanıldı. Deneye 125 adet rat ile başlandı.Fakat gerek diyabet oluşuktan hemen sonra gerekse nöropati gelişim sürecinde 27 adet hayvan öldü. 88 adet sıçanın oluşturduğu, her grupta 4 erkek 4 dişi olmak üzere toplam 8 sıçandan oluşan 11 adet deney grubu düzenlendi.

Hayvanlar 30-50 cm büyüklüğünde, paslanmaz çelik kafeslerde muhafaza edildi. Standart yem (Aytekinler,Türkiye) ile beslendi ve içme suyu olarak da çeşme suyu kullanıldı.

Sıçanların bulunduğu ortam 20⁰ C derece olacak şekilde klima ile havalandırıldı. Sabah saat 7:00 dan akşam 19.00'a kadar 12 saat gündüz ve 12 saat gece olacak şekilde ışık sistemi kuruldu. Deney hayvanları çalışmadan bir saat kadar önce deney laboratuarına getirilip ortam şartlarına adaptasyon için bekletildi.

3.2.SENSORİOMOTOR PERFORMANS

Deneye alınacak hayvanların motor aktivitesini değerlendirme ve deneyde kullanılacak ilaçların kas gevşetici veya sedatif etkilerinin olup olmadığını belirlemek için hayvanlara “rota-rod testi” (15) uygulandı.

Anabilim dalımızda bulunan MAY 972 rotarod aleti 5 tane diskle bölümlere ayrılan, dakikada 16 devirle dönen bir silindir metal çubuktan oluşmaktadır. Deneye alınacak hayvanların, sensorimotor aktiviteleri bu cihazla test edildi. Her hayvan önce alete alıştıırılarak silindir çubuk üzerinde yürümeyi öğrendikten sonra test edildi. Cut-off zamanı (rod üzerinde durması gereken minimum süre) 120 sn olarak belirlendi.



Resim 1: Lokomotor aktivitenin ölçüldüğü Rota-rod cihazı

3.3 NOSİSEPTİF TEST

İlk kez Woolfe ve McDonald (1944) tarafından tarif edilen ve daha sonra Eddy ve arkadaşları tarafından (1953) modifiye edilen Hot-Plate yöntemi bugünkü son halini almıştır (16).

Hot-Plate cihazı; termal ısı kaynağı, zamanlayıcı ve güç kaynağından oluşur. Bir kenarı 20 cm uzunlukta kare bir tabla üzerinde cam fanusu bulunan ve tablası elektrikle istenilen ısı derecesine ayarlanabilen bir cihazdır. Tabla istenilen ısı derecesine (52.5⁰C) getirildikten sonra deney hayvanı tablaya konularak aynı anda süreye basılarak hayvanın hareketleri gözlemlendi. Literatürde belirtilen hareketler (arka ayağını sallama, hızla çekme, kafesten zıplama) gözlemlendiğinde ise süre durduruldu. Bu cihazın hayvanın ayağını çekme süresi 0.1 saniyelik hassasiyetle ölçtüğü bilinmektedir.

Uygulanan ilaçların analjezik / antinosiseptif etkinliğini ölçme, bu süreyi istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artırmaları esasına dayanmaktadır.



Resim 2: Nosiseptif ölçümlerin alındığı termal ağrı ölçer Hot-plate cihazı

3.4 DENEYDE KULLANILAN DROGLAR

Çalışmamızda kullanılan droglar ve dozları tablo 6 da belirtilmiştir. Çalışma için seçilen droglar 0,3-0,45 ml/sıçan hacimde verilecek şekilde i.p. yolla injekte edilmiştir. Solusyonlar uygulamadan hemen önce taze olarak hazırlandı. STZ ve nalokson serum fizyolojik (SF) içerisinde mirtazapin %10'luk polietilenglikol, metergolin ve BRL 44408 ise %10'luk etilalkol içerisinde çözüldü.

Tablo 5: .Deney hayvanlarına injekte edilen drog dozları (mg.kg⁻¹)

DROG	GRUP	DOZ
Streptozosin	Diabetojenik	50
Mirtazapin	Antidepresan	5-10-15
Nalokson	Opioid antagonist	1
BRL 44408	α -2 antagonist	4
Metergolin	5-HT antagonist	2

3.5 DENEYSEL İŞLEMLER

Deneyde kullanılacak 88 adet sıçan ilk önce her grupta 4 erkek 4 dişi olmak üzere toplam 8 adet sıçan olacak şekilde gruplara ayrıldı. Deneyin ilk aşamasında gruplardaki sıçanların bazal hot-plate ölçümleri alındı. Daha sonra deney hayvanlarına diyabet oluşturmak üzere STZ 50 mg. kg⁻¹ i.p yoldan injekte edildi. Yaklaşık 3 ila 5. günlerde kuyruk veninden alınan kanda glukometre cihazı (Accu-chek Active) ile kan glukoz düzeyleri ölçüldü. Bu değerleri 240 mg.dl⁻¹ ve üzeri olanlar çalışmaya dahil edildi.

İki ila üç haftalık bekleme periyodundan sonra deney hayvanlarında nöropatik ağrıya bağlı hiperaljezi gelişip gelişmediği kontrol edildi. Bu ikinci kontrol ölçümleri hot-plate bazal değerlerine göre %20 azalmış olanlarda diyabetik nöropatinin bir belirtisi olan hiperaljezi gelişmiş kabul edildi ve çalışmaya dahil edildi. Bu değerlerin üzerinde değere sahip hayvanlar çalışmadan çıkarıldı. Hiperaljezi gelişmiş sıçanlara daha önce belirlenen gruplardaki droglar uygun şekilde injekte edilerek hot-plate cihazında alınan ölçümler kontrol gruplarıyla istatistiksel olarak kıyaslandı.

3.6 PROTOKOL GRUPLARI

Çalışmada kullanılan deney hayvanlarına (88 adet) uygulanacak drog veya drog kombinasyonlarına göre her grupta 4 erkek 4 dişi olacak biçimde 11 grub oluşturuldu. (Tablo 7).

Tablo 6: Çalışmadaki deney hayvanı grupları n=8

GRUPLAR	DROGLAR
Grup 1	Kontrol (sf)
Grup 2	Mirtazapin 5 mg. kg ⁻¹
Grup 3	Mirtazapin 10 mg. kg ⁻¹
Grup 4	Mirtazapin 15 mg. kg ⁻¹
Grup 5	Nalokson 1 mg. kg ⁻¹
Grup 6	Metergolin 2 mg. kg ⁻¹
Grup 7	BRL 44408 4 mg. kg ⁻¹
Grup 8	Mirtazapin 15 mg. kg ⁻¹ + Nalokson 1 mg kg ⁻¹
Grup 9	Mirtazapin 15 mg. kg ⁻¹ + Metergolin 2 mg kg ⁻¹
Grup 10	Mirtazapin 15 mg. kg ⁻¹ + BRL 44408 4 mg kg ⁻¹
Grup 11	Streptozosin 50 mg. kg ⁻¹

3.7 İSTATİKSEL ANALİZ

İstatiksel analizde önce ANOVA testi kullanılarak hot-plate testinde deney hayvanlarından kaydedilen hot-plate latans veriilerinin normal dağılıma uygunluğu belirlenbilmesi için çalışma grubundaki değişkenlerin normal dağılıma uygun olduğu test edildi. Daha sonra 11 grubun antinosiseptif ölçüm değerleri kontrol grubuyla kıyaslanırken Dunnet testi kullanıldı. Anlamli çıkan grup içi değerlerin ikili kıyaslamasında da independent sample t-testi kullanıldı. $p < 0.05$ anlamli olarak kabul edildi (17).

4. BULGULAR

-Streptozosin 50 mg. kg⁻¹ i.p. yoldan injekte edilen hayvanların yaklaşık %75'inde hiperglisemi (diyabet) gelişti. Yine bu hayvanların diyabet sonrası vücut ağırlıkları diyabet öncesine göre anlamlı derecede düşüktü.

-Rota-rod cihazında yapılan testlerde i.p yoldan uygulanan drogların deney hayvanlarında lokomotor aktivitede bozukluğa yol açmadığı gözlemlendi.

-Hot-plate analjezi ölçme cihazında kontrol grubu ile kıyaslandığında mirtazapin 10 ve 15 mg. kg⁻¹ anlamlı olarak antinosiseptif etki gösterdi. Bununla birlikte aynı koşullarda mirtazapin 5 mg. kg⁻¹ i.p. analjezik yönden etkisizdi.

-Daha önce hot-plate testinde etkili olduğu gösterilen mirtazapin 15 mg. kg⁻¹ bu sefer çeşitli gruplardan farklı antagonistlerle kombine uygulandı. Opioderjik antagonist nalokson (1 mg. kg⁻¹), serotonerjik antagonist metergolin (2 mg. kg⁻¹) ve adrenerjik antagonist BRL 44408 (4 mg. kg⁻¹) mirtazapin ile birlikte uygulandıklarında bu drogun antinosiseptif etkisini tam olmasa da anlamlı olarak inhibe ettiler.

-Gerek nalokson (1 mg. kg⁻¹) ve gerekse metergolin (2 mg. kg⁻¹) ve BRL 44408 (4 mg. kg⁻¹) tek başlarına uygulandıklarında hot-plate analjezimetre ile elde edilen sonuçlar kontrol grubuna göre farklı bulunmadı.

4.1 Drogların sensorimotor performans üzerine etkileri:

Mirtazapin (5 mg. kg⁻¹, 10 mg. kg⁻¹ve 15 mg. kg⁻¹), nalokson (1 mg. kg⁻¹), metergolin (2 mg. kg⁻¹) ve BRL 44408 (4 mg. kg⁻¹) i.p injekte edildikten 30 dk sonra rota-rod cihazında yapılan ölçümlerde drogların hiçbirinin sensorimotor aktiviteyi istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde değiştirmediği gözlendi. (Tablo 7)

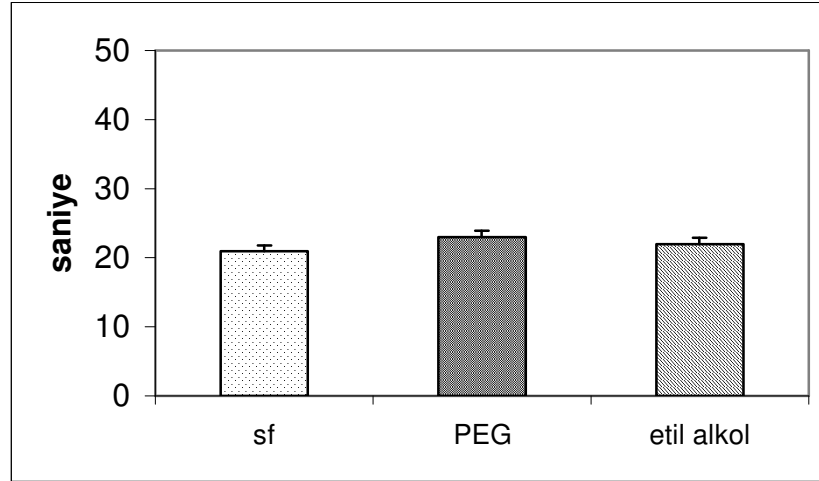
Tablo 7: Drogların sensorimotor performans üzerine etkileri.

Aritmetik ortalama± standart hata n=8 (p>0.05)

Drog (mg. kg ⁻¹)	Rod üzerinde 2 dk durabilen hayvan %'si	Grubun rod üzerinde durabildięi süre (sn)
Kontrol	100	120±1.8
Mirtazapin 5	100	120±0
Mirtazapin 10	97	118±1
Mirtazapin 15	91	117±3
Nalokson 1	100	120±0
Metergolin 2	98	119±2.5
BRL 44408 4	94	112±3.1

4.2 Drog çözülmesinde kullanılan maddelerin hot plate değerleri:

Metergolinin çözümünde kullanılan polietilenglikol (%10'luk) ve BRL 44408'in çözümünde kullanılan etilalkolün (% 10 'luk) hot plate cihazında alınan ölçüm değerleri kontrol grubundan farklı bulunmadı. (Şekil 8)



Şekil 8: Polietilenglikol (PEG, 0.03 cc) ve etil alkol (0.03 cc)'ün hot plate cihazında alınan ölçüm değerlerinin sf grubu ile karşılaştırılması.

Aritmetik ortalama± standart hata (n=8) (p>0.05) (Dunnet test)

4.3 Streptozosin injeksiyonunun kan glukoz düzeyi ve kilo üzerine etkisi:

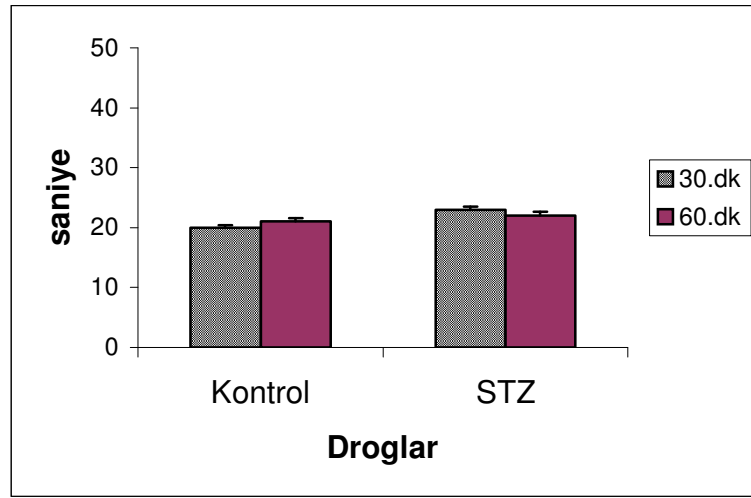
Streptozosin (50 mg.kg⁻¹) i.p injeksiyonundan 3 gün sonra deney hayvanlarının venöz kanlarında yapılan ölçümlerde hayvanların yaklaşık % 75'inde diyabet geliştiği gözlemlendi. Diyabet gelişen hayvanlarda nöropati gelişimi için beklenen süre içerisinde (21 gün) aynı zamanda anlamlı derecede kilo kaybı gelişti. (Tablo 8)

Tablo 8: Sıçanlara STZ (50 mg.kg⁻¹) injeksiyonundan önce ve sonra (3 gün) venöz kanda ölçülen glikoz değerleri (mg.dl⁻¹). STZ (50 mg.kg⁻¹) injeksiyonundan önce ve 21 gün sonra hayvanların vücut ağırlıkları (gr) Aritmetik ortalama ± standart hata (* p<0.05 diyabet öncesi ile kıyaslandığında) (t test)

	STZ öncesi	STZ sonrası
Kan glukoz düzeyi	115±1.12	384±1.23*
Ağırlık	186± 1.24	145±1.35*

4.4 Streptozosin injeksiyonunun nosiseptif eşięe etkisi:

STZ (50 mg.kg⁻¹ i.p) injekte edilen deney hayvanlarının 30 ve 60. dakikalarda hot-plate ölçüm cihazında ölçümleri yapıldı. Bu ölçümler sonucunda STZ 50 mg. kg⁻¹, serum fizyolojik injekte edilen kontrol grubuna göre hot-plate latans değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik yapmadı (Şekil 9)



Şekil 9. Hot –plate testinde streptozosinin (STZ) nosiseptif etkisinin kontrol grubuyla karşılaştırılması .
Aritmetik ortalama± standart hata (n=8) (p>0.05) (standart t test)

4.5 STZ injeksiyonu ve hiperaljezi gelişimi:

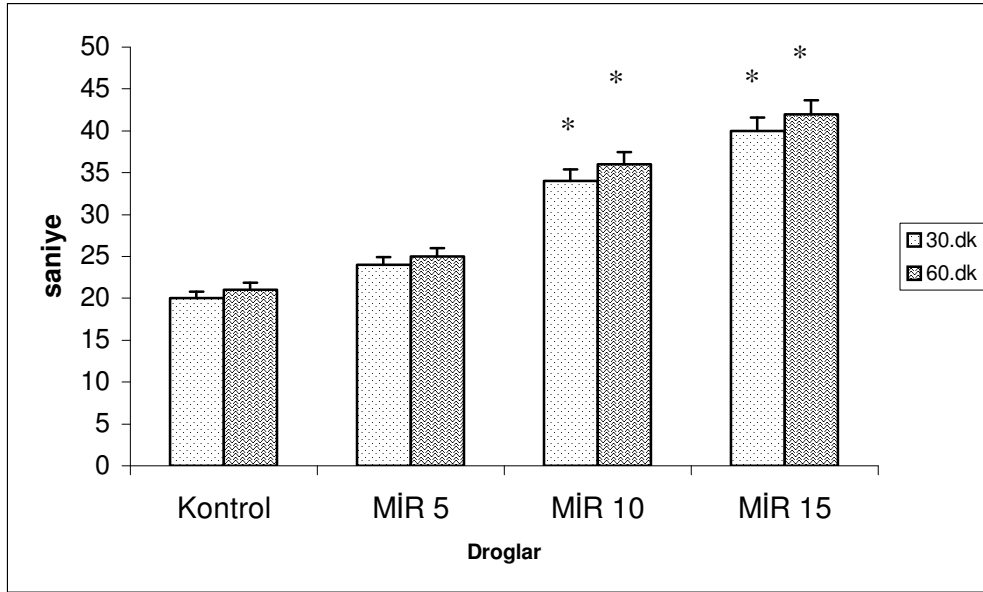
Deney hayvanlarına diyabet oluşturmak üzere STZ injeksiyonundan önce ve yaklaşık 3 hafta sonra hot plate değerleri tablo 9' daki gibidir. İlk ölçümle 3 hafta sonraki ölçüm arasındaki fark yaklaşık %20 kadardır. Bu da sıçanlarda hiperaljezi geliştiğinin bir göstergesi olarak kabul edilmiştir.

Tablo 9 : Streptozosin (STZ) injeksiyonu öncesi ve 3 hafta sonrası hot plate ölçüm değerleri.
Aritmetik ortalama± standart hata * p<0.05 (t test)

Grup	Hot plate değerleri (sn)
STZ öncesi	21 ± 3.21
STZ sonrası (3. hafta)	17 ± 2.43*

4.6 Mirtazapinin diyabetik olmayan sıçanlardaki antinosiseptif etkisi:

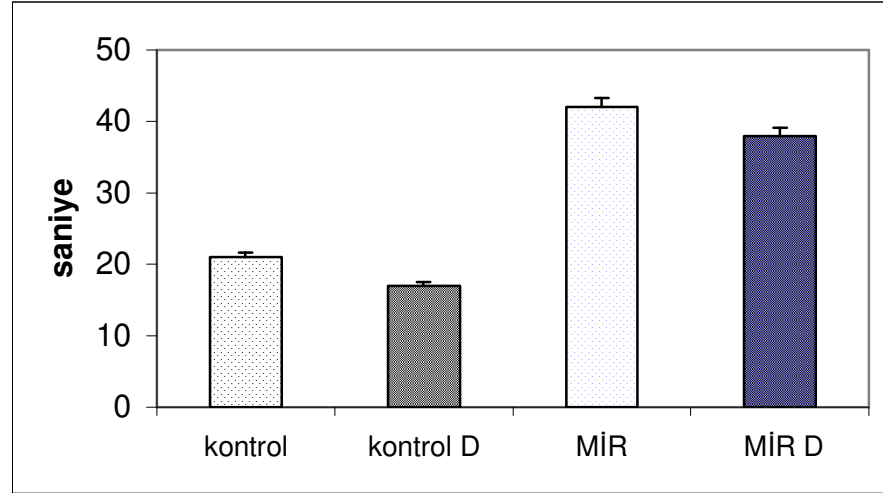
Mirtazapin (5, 10, 15 mg.kg⁻¹) uygulanan sıçanlardan 30 ve 60. dakikalarda ölçüm alındı. 10 ve 15 mg.kg⁻¹ doza maruz kalmış grupta hot plate latans değerleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede farklıydı. (p< 0.05). 30 ve 60. dakikalarda gözlenen bu etki zamana göre birbirinden farklı bulunmadı. Diğer doz düzeyindeki (5 mg.kg⁻¹) yanıtlar ise kontrol grubundan farklı değildi. (Şekil 10)



Şekil 10: Hot plate testinde mirtazapinin (MİR 5 , 10, 15 mg.kg⁻¹) nosiseptif eşik üzerine etkisi.
Aritmetik ortalama± standart hata (n=8) (*p<0.05 kontrol grubuna göre) (Dunnet test)

4.7 Diyabetik olan ve olmayan sıçanlarda mirtazapinin antinosiseptif etkisi:

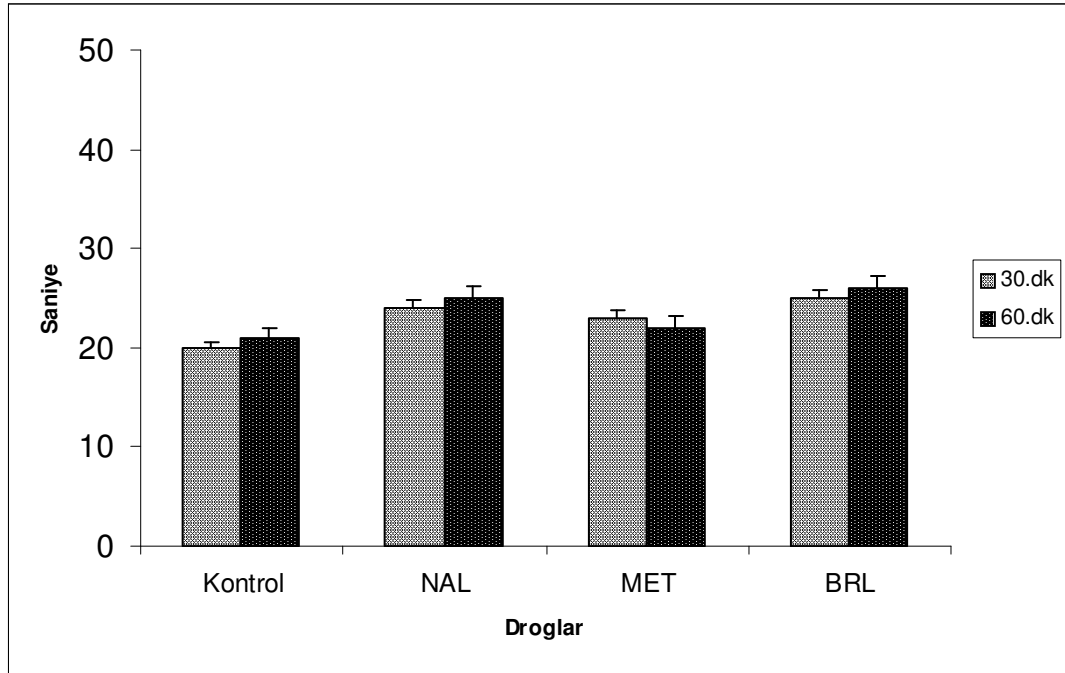
Mirtazapin diyabetik olan ve olmayan hayvanlarda antinosiseptif etki göstermiştir. Diyabetik sıçanlardaki etkisi hiperaljeziye de bağlı olarak azalmıştır ve istatistiksel olarak anlamlıdır. (Şekil 11)



Şekil 11: Mirtazapinin (MİR, 15 mg.kg⁻¹) hot plate cihazında diyabetik (D) ve normal sıçanlarda antinosiseptif etkisi. Aritmetik ortalama± standart hata (n=8) (p<0.05) (Dunnet testi)

4.8 Diyabetik sıçanlarda opioid , adrenerjik ve serotonerjik antagonistlerin antinosiseptif etkisi :

Deney hayvanlarına i.p. yoldan injekte edilen opioid antagonist nalokson (1 mg.kg⁻¹) , serotonerjik antagonist metergolin (2 mg.kg⁻¹) ve adrenerjik antagonist BRL 44408 (4 mg.kg⁻¹) kontrol grubuna kıyasla tek başına antinosiseptif etki göstermediler. p>0.05 (Şekil 12)

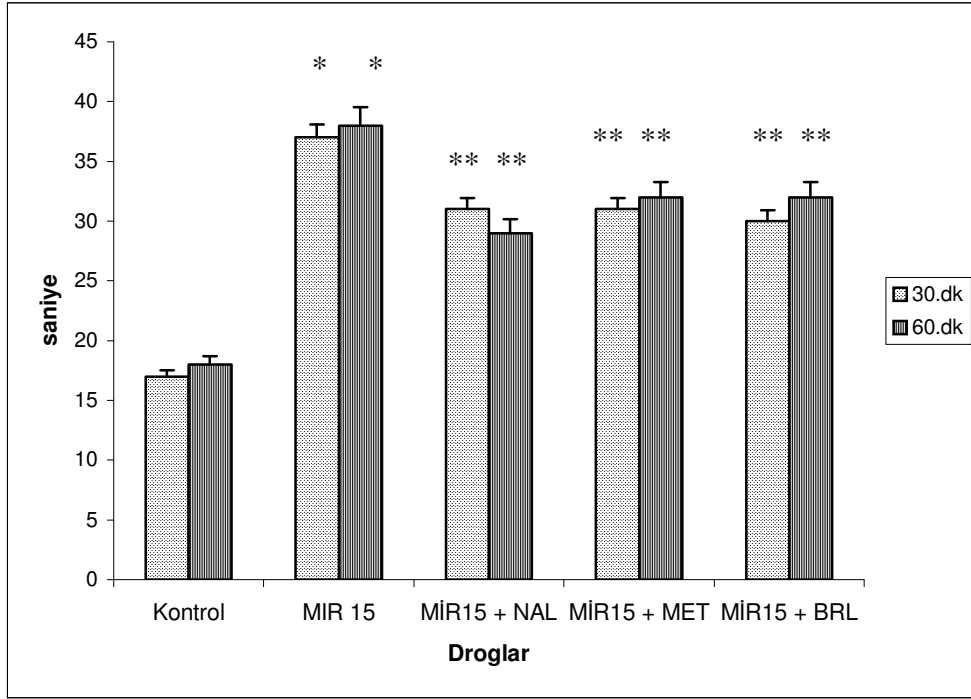


Şekil 12 Diyabetik sıçanlarda hot-plate testinde nalokson 1 mg. kg⁻¹, (NAL) metergolin 2 mg. kg⁻¹, (MET) ve BRL 4 mg. kg⁻¹, in antinosiseptif etkisi (30 ve 60 dk sonra)

Aritmetik ortalama ± standart hata p>0.05 n=8 (Dunnet test)

4.9 Diyabetik sıçanlarda mirtazapinin antinosiseptif etkisine opioid, serotonin ve adrenerjik antagonistlerin etkisi:

Deney hayvanlarına 15 mg.kg⁻¹ Mirtazapin injeksiyonundan 30 dk önce 1 mg.kg⁻¹ Nalokson , 2 mg.kg⁻¹ Metergolin ve 4 mg.kg⁻¹ BRL 44408 injeksiyonu hot-plate testinde mirtazapinin antinosiseptif etkisini anlamlı derecede antagonize etmiştir. (Şekil 13). Ancak kontrol grubuyla kıyaslandığı zaman mirtazapin ve diğer antagonist drogların kombinasyonu yine de antinosiseptif etki göstermiştir. (p<0.05) (Şekil 13)



Şekil 13. Diyabetik sıçanlarda Hot-plate testinde mirtazapinin 30 ve 60. dakikalardaki antinosiseptif etkisine nalokson (1 mg.kg^{-1}) metergolin (2 mg.kg^{-1}) ve BRL (4 mg.kg^{-1})'nin etkisi.

Aritmetik ortalama \pm standart hata. * $p < 0.05$ kontrol grubuyla kıyaslandığında. ** $p < 0.05$ (Dunnet test) mirtazapin 15 mg.kg^{-1} ile kıyaslandığında. $n=8$

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, STZ ile diyabet oluşturulan sıçanlarda gelişen nöropatik ağrıda mirtazapinin antinosiseptif / analjezik etkinliği araştırıldı.

Bizler bu çalışmada, insanda çeşitli hastalıklar ve durumlar neticesinde belirli bir süreç sonucunda ortaya çıkan nöropati durumunu deneysel olarak taklit etmeye çalıştık ancak bu şüphesiz klinikteki gözlenen hiperaljezi / nöropatinin tam bir simülasyonu olamaz. Bununla birlikte deneysel nöropati geliştirme, araştırma laboratuvarlarında sıkça başvurulan bir yöntemdir ve klinik tabloyu taklit etme açısından gerçeğe yakın bir yoldur. Ayrıca siyatik sinir bağlama yolu ile nöropati geliştirme oldukça sık kullanılan bir yöntemdir (18). Fakat invaziv bir yöntem olduğu da akıldan çıkarılmamalıdır.

Deneysel düzeyde yapılan araştırmalarda, diyabet oluşturmak için çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. STZ injeksiyonu ile diyabet oluşturulması bu yöntemlerden oldukça sık kullanılanıdır (19). Bu çalışmada da deney hayvanlarına STZ injekte edilmek suretiyle diyabet oluşturuldu ve i.p yoldan uygulanan 50 mg. kg⁻¹ STZ'den 3 hafta sonra sıçanların yaklaşık %75'inde diyabet oluştu. Kan glukoz değerleri 240 mg. kg⁻¹ ve yukarısında olanlar diyabetik olarak kabul edildi (20). Bu nedenle biz de bu değerlerin üstünde kan glukoz değerine sahip olan sıçanları diyabetik gruba dahil ederken, diğerlerini çalışma dışı bıraktık. Tüm sıçanlara aynı yoldan ve aynı dozda STZ uygulandığı halde sıçanların bir kısmında diyabet gelişmemesi şaşırtıcıdır. Literatürde STZ'nin diyabet oluşturma oranı verilmemekle birlikte hemen hemen bütün çalışmalarda diyabet gelişmeyen vakaların olduğu bildirilmektedir (21,22).

Diyabetik nöropati diyabetin sık görülen komplikasyonlarından biri olup hastaların yaşam kalitesini düşürmektedir. Diyabetik nöropati gelişmiş vakalarda termal, kimyasal ve mekanik hiperaljezi gözlemlendiği bildirilmektedir (23). STZ ile oluşturulmuş deneysel diyabette termal aljezi gelişimi konusunda literatürde farklı görüşler vardır. Bir grup araştırmacı deneysel diyabette termal duyarlılıkta bir değişiklik olmadığını savunurken diğer bir grup araştırmacı ise termal hiperaljezinin geliştiğini ileri sürmektedir (24). Biz ise yaptığımız çalışmada diyabetli sıçanlarda termal hiperaljezinin geliştiğini hot-plate cihazını kullanarak belirledik (Tablo 10). Gelişen termal hiperaljeziyi de diyabetik nöropatinin bir göstergesi olarak kabul ettik. Literatürde deneysel diyabetik nöropatinin, STZ ile oluşturulan diyabet gelişimini takiben 2 veya 3 hafta içerisinde oluştuğu gösterilmiştir (25). Biz de yaklaşık 3 hafta sonra hot-plate ölçümlerini değerlendirerek sıçanlarda diyabetik nöropatinin geliştiğini tespit ettik. Nöropati gelişen sıçanların kontrol hot-plate değerleri istatistiksel olarak anlamlı şekilde kontrol değerlere göre düşüktü (Tablo 9).

Bilindiği gibi hayvan deneylerinde ağrı ölçümü bir nosiseptif uyaran verilerek yapılmaktadır. Bu ağrılı uyaran termal, mekanik veya kimyasal nitelikte olabilmektedir. Bu farklı uyaranların bazı deneylerde bazı ilaçlar için farklı sonuçlar verebileceği gösterilmiştir. Örneğin amitriptilin termal uyaranlarla oluşturulan ağrının tedavisinde kimyasal uyaranla oluşturulan ağrının tedavisine göre daha başarılı olduğu gösterilmiştir (26). Son dönemde Signe ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada farklı ağrı modelleri kullanılarak antidepresan ilaçların antinosiseptif etkileri değerlendirilmiştir. Amitriptilin, duloksetin, mirtazapin ve sitalopram (3-30 mg.kg⁻¹ arası dozlarda) akut bir ağrı modeli olan kuyruk çekme testinde etkisiz bulunmuşlardır. Halbuki duloksetin ve mirtazapin hot-plate testinde anlamlı bir antinosiseptif etki göstermişlerdir. Siyatik sinir bağlama yöntemi ile oluşturulan nöropatik ağrı modelinde ise mirtazapin ve sitalopram termal hiperaljeziyi anlamlı olarak hafifletmiş; amitriptilin ve duloksetin tamamen geriye çevirmiştir. Yine aynı çalışmada amitriptilin, mirtazapin ve duloksetin mekanik hiperaljeziyi önlemişlerdir (6). Farklı ağrı modellerinde antidepresan ilaçların antinosiseptif etkilerinin değişiklik göstermesi olağan bir durumdur. Çünkü bu metodlar ağrı yollarının farklı bölümlerini değerlendirmektedir. Sözelimi kuyruk çekme testi spinal refleksi ölçerken hot plate testinde ağrının supraspinal yollar ile iletimi değerlendirilmektedir (16). Dolayısıyla bu yollardaki kimyasal iletiler ve bunları düzenleyen drogların etkisi de farklı olabilecektir. Diyabetik sıçanlarda oluşturduğumuz

termal ağrı modelinde mirtazapin ile elde ettiğimiz sonuçlar bahsedilen çalışmayla uyumlu görünmektedir. Literatürde antidepresanlarla yapılan deneylerde daha çok hot-plate testinin kullanıldığı görülmektedir (10). Biz de sunulan bu çalışmada deney hayvanlarına termal uyaran verme esasına dayanan hot-plate testini kullandık.

Bu çalışmada sıçanlarda hot-plate testinde mirtazapinin belirgin bir antinosiseptif etkinliği olduğu gösterilmiştir. 5 ila 15 mg.kg⁻¹ doz aralığında uygulanan mirtazapin doza bağımlı bir antinosiseptif etkinlik göstermiştir (Şekil 10). Schreiber ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada mirtazapin 10 mg.kg⁻¹ dozunda antinosiseptif etkinlik gösterirken 15 mg.kg⁻¹ dozunda kısmen etkisiz bulunmuştur (5). Bu çalışmada deney hayvanı olarak fare kullanılmıştır. Bizim çalışmamızda ise sıçan kullanılmıştır. Aradaki bu farklılık kullanılan hayvan türüne bağlı olabilir. Çok sayıda makale ve kontrollü klinik çalışmada, farklı antidepresan ilaçların nörojenik ağrı sendromları ağırlı diyabetik nöropati, postherpetik nöralji, başağrıları, fasial ağrı, romatizmal hastalıklar ve kanser ağrılarındaki analjezik etkinlikleri gösterilmiştir. Bu klinik çalışmalar antidepresan ilaçların psikotrop etkilerinden bağımsız intrinsik bir analjezik aktivitelerinin olduğunu göstermektedir. Biz diyabetik hayvanlarda mirtazapinin antinosiseptif etkisini incelemek için 15 mg.kg⁻¹ dozunu seçtik.Çünkü yaptığımız ön deneme çalışmalarında bu doz en etkili antinosiseptif etkiyi göstermişti.

Ağrı tedavisinde kullanılmalarına rağmen bu ilaçların analjezik etkinin mekanizması ve yeri henüz bilinmemektedir. Nosisepsiyonun modülasyonuna etkisi muhtemelen santral yol ile olabilir, fakat spinal ve / veya supraspinal yapıların katılımı henüz bilinmemektedir. Bugünkü bilgilerimize göre, antidepresanların ağrı kesici etkileri serotonerjik, adrenerjik ve opioidlerjik mekanizmaları içerebilir ve bu etkileri çeşitli ileticiler ve iyon kanalları tarafından modüle edebilir. Örneğin analjezik / antinosiseptif etkisi etrafıca araştırılmış ve klinik kullanımda nöropati tedavisinde kendine yer bulmuş olan amitriptilinin bu etkisini farklı mekanizmalar aracılığı ile yaptığı ileri sürülmektedir. Bazı araştırmacılar amitriptilinin ağrı kesici etkinliğinin ağrı ile ilgili yollarda serotonin etkinliğini artırmasına bağlı olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Bu muhtemel mekanizmaya, kronik ağırlı hastalarda görülen serotonerjik disfonksiyon kanıt olarak gösterilmektedir (27). Depresyon ve kronik ağrı sendromunun sıklıkla birlikte bulunuşu, beyin serotonin düzeyindeki değişikliklerin tartışılmasına

neden olmuştur. Kronik ağrıda beyin serotonin seviyelerinin değiştiği ve özellikle dorsal raphe nükleusunda serotonin düzeyinin azaldığı öne sürülmüştür (28).

Yine aynı drogun analjezik / antinosiseptif mekanizmasında endojen opioid reseptörlerin, ATP'ye bağlı potasyum, sodyum ve kalsiyum kanallarının, adenzin reseptörlerinin, GABA reseptörlerinin ve diğer reseptörlerin rolleri farklı çalışmalarla ortaya konmuştur (29,30).

Mirtazapin ile oluşturulan antinosiseptif etki naloksonla (opioiderjik sistem katılımı), non-selektif serotonin antagonist metergolin (serotonerjik sistem katılımı) ve α -2 adrenerjik antagonist BRL 44408 (adrenerjik sistem katılımı) ile kısmen antagonize edilmiştir (şekil 13). Mirtazapin ile birlikte uygulanan bu antagonist ilaçların dozları belirlenirken daha önce yapılan çalışmalarda kullanılan dozlar esas alınmıştır (5,31, 32). Seçilen dozlarda beklenen cevaplar alınmış yani opioiderjik, adrenerjik ve serotonerjik sistemlerin katılımı gösterilmiştir. Gerek yeterli cevap alındığı için gerekse daha fazla deney hayvanı kullanmamak için antagonist drogların daha yüksek dozunu kullanmadık. Zaten ön denemelerde uyguladığımız dozların yeterli olduğunu tespit etmiştik. Mirtazapinin farmakolojik profili mianserin ile benzerlik göstermektedir ve bu drogun antinosiseptif etkinliğinin opioid sistem aracılığıyla olduğu daha önce gösterilmiştir (33). Schreiber ve arkadaşları tarafından farelerde yapılan ve hot-plate cihazı kullanılan bir çalışmada mirtazapinin doza bağımlı antinosiseptif etki gösterdiği sonucuna ulaşılmıştır (5). Yine aynı araştırmacılar bu etkinin mekanizmasını da araştırmışlardır. Sonuçta mirtazapinin antinosiseptif etkisine serotonerjik, adrenerjik ve opioiderjik reseptörlerin aracılık ettiğini öne sürmüşlerdir. Bazı araştırmacılar da endojen opioidlerin antinosiseptif etki mekanizmasındaki rolünü araştırmışlar ve antidepresanların opioid reseptörler üzerinde direkt etkileri olduğunu ve analjezik etkilerine kısmen opioid reseptörlerin aktivasyonunun aracılık ettiğini öne sürmüşlerdir (34). Bir çok çalışmada da trisiklik antidepresanların morfinin etkisini önemli ölçüde potansiyalize ettiği gösterilmiştir. Bir trisiklik antidepresan ilaç olan klomipraminin (imipramin'in değil) antinosiseptif etkisinin opyat antagonistleri olan nalokson ve naltrekson ile antagonize edilmesi de bu teze kanıt olarak gösterilmektedir. Ayrıca trisiklik antidepresanların morfinle hem farmakodinamik hem de farmakokinetik etkileşme sonucu onun eliminasyon yarılanma ömrünü ve oral yoldan alındığında biyoyararlanımı artırdıkları bilinmektedir (35).

Daha önce yapılan birçok çalışmada yeni nesil antidepresanların antinosiseptif etki ve mekanizmaları çalışılmıştır. Antidepresanların çoğu analjezik etki göstermeyen dozdaki opioidlerle birlikte uygulandıklarında bu drogların etkilerini artırmışlardır. Bununla birlikte tek başlarına verildiklerinde de çoğu antidepresan, opioid sistem aracılığı olmaksızın antinosiseptif etki göstermişlerdir. Tek başına uygulanan nalokson literatürle uyumlu olarak antinosiseptif etkinlik göstermemiştir (36). Ancak mirtazapinin 15 mg.kg⁻¹ dozuyla birlikte uygulandığında bu ilacın antinosiseptif etkinliğini anlamlı derecede azaltmıştır. Bu da mirtazapinin analjezik etkisinin kısmen opioid reseptörleri aracılığı ile olduğunu düşündürmektedir. Bazı araştırmacılar da endojen opioidlerin antinosiseptif etki mekanizmasındaki rolünü araştırmışlar ve antidepresan ilaçların opioid reseptörler üzerinde direkt etkileri olduğunu ve analjezik etkinliklerine kısmen opioid reseptörlerin aktivasyonunun aracılık ettiğini öne sürmüşlerdir (30). Bir serotonin (potent), noradrenalin (orta), ve dopamin (zayıf) reuptake inhibitörü olan venlafaksin, antinosiseptif etkisini ikili bir mekanizmayla hem opioidlerjik hem de adrenerjik (α_2) sistem aracılığıyla göstermektedir (37).

Mirtazapinin antinosiseptif etkisi farmakolojik profilinden kaynaklanmaktadır. Mirtazapin selektif olarak 5-HT₂ ve 5-HT₃ tipi reseptörleri bloke eder ve santral α_2 oto ve hetero adreno reseptörleri bloke etmek suretiyle noradrenerjik ve serotonerjik nörotransmisyonu artırır (4). Net etki post sinaptik 5-HT-1 reseptörlerinin uyarılmasıdır. Bizim çalışmamızda selektif olmayan 5-HT antagonisti metergolin hot plate testinde kontrolden farklı bulunmadı. Fakat mirtazapinle birlikte uygulandığında ise bu ilacın antinosiseptif etkisini kısmen bloke etti (Şekil 13). Serotonerjik nöronlar adrenerjik nöronlarla beyin sapından dorso lateral funikulus boyunca omuriliğe inerler ve arka boynuzda sonlanır. Burada ağrının modülasyonunda rol alarak arka boynuzda ağrılı uyarılara karşı kapı mekanizmasını oluşturur. Periakvaduktal gri madde ve nucleus rafe magnus gibi beyin bölgelerinin elektriksel uyarımı lokal endojen 5-HT ve noradrenalin salınım ile analjezi üretir (inici inhibitör yolak). Bu olay, uyarı ile üretilen analjezi, serotonerjik (metizerjid) ve adrenerjik (fentolamin) antagonistlerce tersine çevrilebilir. Dorsolateral funikulusta oluşturulan lezyon ile de bu inici serotonerjik adrenerjik sistem aracılı inhibitör yolak devre dışı kalabilir. Nitekim bir serotonin antagonisti olan metergolin de mirtazapinin etkisini bahsedilen bu mekanizma ile antagonize etmiş

olabilir. Çok sayıda çalışmada antidepresanların ağrı kesici etkinliklerinin ağrı ile ilgili yollarda serotonin etkinliğini artırmalarına bağlı olabileceği ileri sürülmüştür (38). Bu muhtemel mekanizma ile ilgili olarak, Sikuteri ve arkadaşları, kronik ağrılı hastalarda serotonerjik disfonksiyon olduğunu ileri sürmüşlerdir (39). Sternbach ve arkadaşları da depresyon ve kronik ağrı sendromunun her ikisi için yaygın patojenezden dolayı beyin serotonin düzeyindeki değişiklikleri tartışmışlar ve kronik ağrıda beyin nörotransmitter seviyelerinin değiştiğini ve özellikle dorsal raphe nükleusunda serotonin düzeyinin azaldığını öne sürmüşlerdir (40). Yapılan bir çok araştırmada serotonin antagonistlerinin analjezik etkinliği büyük ölçüde azalttığı gösterilmiştir. Bir serotonin antagonisti olan metergolin de mirtazapinin analjezik / antinosiseptif etkisini kısmen antagonize etmiştir. Nitekim sadece trisiklik antidepresanların değil aynı zamanda selektif serotonin blokörlerinin de analjezik / antinosiseptif etkinliği olduğu gösterilmiştir (41).

Mirtazapinin antinosiseptif etki mekanizmasında serotonerjik, opioidlerjik sistemden başka adrenerjik sistemde rolü araştırıldı. α -2 adrenerjik antagonist bir drog olan BRL tek başına etkisizdi (Şekil 12). Bununla birlikte mirtazapin ile birlikte uygulandığında bu drogun etkisini kısmen geriye çevirdi (Şekil 13).

α -2 adreseptör agonistleri opioidlerin birçok etkilerini paylaşırlar; sedasyon, analjezi, santral sempatik akımın azaltılması gibi. Hayvan ve insan deneyleri ile klonidin (α -2 agonist) tek başına analjezik etki göstermekle kalmayıp aynı zamanda opioidlerin analjezik etkisini potansiyalize etmekte ve morfinle kısmi bir çapraz tolerans göstermektedir (42).

Etkin olmayan dozda morfin ile birlikte verilen klonidinin sıçanlarda hot-plate testinde antinosiseptif etki gösterdiği bildirilmiştir (43).

Sistemik veya intraspinal olarak verilen α -2 agonistlerin antinosiseptif etkilerinin inisiyatif inhibitör yolak üzerine etkiden ziyade spinal düzeyde direkt etkiye bağlı olduğu yönünde görüşler vardır (44). Noradrenerjik akson terminallerinden salınan noradrenalin salınım yerlerinden daha uzak yerlere difuze olurlar ve presinaptik α -2 reseptörlere bağlanırlar. Bu presinaptik α -2 reseptörler ilaçların hedef yerlerini teşkil ederler. Aynı zamanda noradrenalinin ekstrasinaptik salınımı da presinaptik α -2 otoreseptörler tarafından modüle edilir. α -2 adrenerjik reseptör agonisti klonidin ve

deksmedetomidin, nöronal uyarıya bağlı salınan noradrenalin miktarını artırırken, α -2 adrenerjik reseptör antagonisti yohimbin ve BRL azaltmıştır (45).

Amitriptilin ve doksepin analjezinin α -2-adrenoseptor antagonisti RX 821002 tarafından ortadan kaldırıldığını fakat α -1 adrenoseptor antagonisti prazosin tarafından etkilenmediği bildirilmiştir. Bu bulgulara dayanılarak trisiklik antidepresanların analjezik etkilerinde α -2 adrenoseptörlerin rolünün olabileceği öne sürülmüştür (46). Ghelardini ve arkadaşları ise, amitriptilin ve imipramin tarafından oluşturulan antinosisepsiyonda α -2 adrenoseptörlerin rolünü abdominal kasılma ve hot-plate testlerinin kullanımı ile farelerde araştırmışlar ve amitriptilin ve imipramin tarafından oluşturulan antinosisepsiyonun rezerpin ve yohimbin tarafından önlendiğini ancak nalokson, atropin ve prazosin tarafından önlemediğini gözlemişlerdir.

Böylece α -2 adrenerjik agonistlerin antinosiseptif etkilerinin kısmen de olsa nosiseptif iletiyi spinal korda taşıyan primer aferent liflerin presinaptik modülasyonu yoluyla gösterdiği söylenebilir. Ayrıca α -2a adrenerjik reseptör antagonisti BRL'nin uygulanmasıyla amitriptilin ve imipramin'in oluşturduğu antinosisepsiyonun önlenmesi, ancak α -2b/c adrenoseptör antagonisti ARC 239'un etkisiz olması ile antidepresan ilaçların antinosiseptif etkilerinde α -2a adrenoseptörlerin aktivasyonunun önemli olduğu öne sürülmüştür.

STZ ile oluşturulan diyabetik nöropatiye bağlı gelişen ağrı tedavisinde yeni nesil bir antidepresan olan mirtazapinin etkili bir antinosisepsiyon sağladığı söylenebilir. Bu etkinin mekanizmasında muhtemelen birçok farklı nöromedyatör sistem birbirleriyle etkileşmektedir. Biz mirtazapinin diyabetik nöropati oluşturulmuş sıçanlarda antinosiseptif etkisi olduğunu düşünüyoruz. Bu etkiye adrenerjik, serotonerjik ve opioid sistemler katkıda bulunuyor olabilirler. Şüphesiz bu etkiye aracılık eden diğer sistemlerin de araştırılması ayrı bir çalışma konusu olacaktır.

6.SONUÇ

-Yeni nesil antidepresan bir ilaç olan mirtazapin gerek normal gerekse deneysel diyabetik nöropati oluşturulmuş sıçanlarda hot plate analjezimetre cihazında antinosiseptif etki göstermiştir.

-Bahsedilen ilacın analjezik / antinosiseptif etkisi bir opioid antagonisti olan naloksonla, bir serotonerjik reseptör antagonisti metergolinle ve de bir adrenerjik reseptör antagonisti olan BRL 44408 ile kısmen antagonize edilmiştir.

-Bu bulgulardan yola çıkarak mirtazapinin analjezik / antinosiseptif etkisinde opioid, serotonerjik ve adrenerjik sistemlerin rol aldığı söylenebilir. Şüphesiz bu etkiye aracılık eden başka reseptör ve / veya mekanizmalar olabilir.

KAYNAKLAR

- 1) Yücel A. Nöropatik ağrıda periferik ve santral mekanizmalar. Ağrı 2002; 14 (1): 17-22
- 2) Salman S. Diyabetik nöropati. Ağrı 2002; 14(3): 7-15
- 3) G.İliçin, S.Ünal, K. Biberoglu. Diabet Mellitus. Temel İç Hastalıkları. Güneş Kitabevi, Ankara 1996; 21-26.
- 4)Y. Ağargün , S. Ebrinç. Mirtazapin: Bir gözden geçirme. Klinik Psikofarmakoloji Bülteni 1998; 8 (2): 59-68
- 5) Schreiber S, Rigai T, Katz Y. The antinociceptive effect of mirtazapine in mice is mediated through serotonergic, noradrenergic and opioid mechanisms. Brain Research Bulletin 2002 ; 58: 601-605
- 6)Bomholt SF, Mikkelsen JD, Blackburn-Munro G. Antinociceptive effects of the antidepressants amitriptyline, duloxetine, mirtazapine and citalopram in animal models of acute, persistent and neuropathic pain. Neuropharmacology 2005; 48 (2); 252-263
- 7)H. Cuhruk. Ağrı felsefesi ve cerrahi anestezi. Anesteziyoloji ve Reanimasyon. Antıp A.Ş.Yayınları, Ankara 1999; 469-476.
- 8) Ertekin C. Ağrının nöroanatomisi ve nörofizyolojisi. Ağrı ve Tedavisi. Yapım Matbaacılık, İzmir 1996; 1-18
- 9) Arthur Guyton, John E. Hall. (Türkçesi. Çev. Editörü H . Çavuşoğlu) Somatik Duyular. Tıbbi Fizyoloji 10. Baskı. Tavashlı Matbaacılık, Ankara 2001; 48: 552-563

- 10) Fox A, Christopher E, Gentry C, et al. Critical evaluation of the streptozotocin model of painful diabetic neuropathy in the rat. *Pain*. 1999; 81: 307-316
- 11) Morgan G, Maged S. Pain Management. *Clinical Anesthesiology*. Division of Prentice Hall, London 1996; 274-285
- 12).G. Erdoğan. Diabetes Mellitusun Komplikasyonları. *Klinik Endokrinoloji* .Güneş Yayınevi. Ankara 2003; 293-301
- 13) Thomas E, Charles C, Robert C. Diabetes Mellitus. *Cecil Essentials of Medicine* (Türkçesi Çev. Editörü H. Çavuşoğlu). W.B.Saunders Company, Toronto 2002; 597-598.
- 14) Nutt D.J. Mirtazapine Abstract. *Eur Pschy* 1996; 11(4) : 207
- 15) Rosland J.H., Hunskar S., Hole K. Diazepam attenuates morphine antinociception test-dependently in mice. *Pharmacol.Toxicol*. 1990; 66: 382-386
- 16) M. Kesim, E. Duman, M. Kadioğlu. Hayvanlarda deneysel akut ağrı modelleri. *Ağrı* 2002; 14:16-21
- 17) K Sümbüloğlu, V. Sümbüloğlu. *Biyostatistik*. Hatiboğlu Yayınevi, Ankara 1990, 48-69
- 18) Rochelle W, Michael J, Robert R. Anti-inflammatory interleukin-10 therapy in CCI neuropathy decreases thermal hyperalgesia, macrophage recruitment, and endoneurial TNF- α expression. *Pain* 1998; 74: 35-42
- 19) Jayesh B, Balaraman R, Rajani G. Effect of bis[curcumino]oxovanadium complex on non-diabetic and streptozotocin-induced diabetic rats . *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 2004; 18: 211-217
- 20) Hwang HJ, Kim SW, Lim JV. Hypoglycemic effect of crude exopolysaccharides produced by a medicinal mushroom *Phellinus baumii* in streptozotocin-induced diabetic rats. *Life Sciences* 2005; 76: 3069-3080
- 21) Maryam E, Akram E, Hamidreza Z. Effect of *Salvia officinalis* L. leaves on serum glucose and insulin in healthy and streptozotocin-induced diabetic rats. *Eur J Phar* 2004; 514: 34-43
- 22) Lawson SR, Gabra BH, Nantel F. Effects of a selective bradykinin B₁ receptor antagonist on increased plasma extravasation in streptozotocin-induced diabetic rats: Distinct vasculopathic profile of major key organs. *Eur J Phar*. 2005; 514: 69-78

- 23)** James J, Micheal F, Elizabeth A. An adenosine kinase inhibitor attenuates tactile allodynia in a rat model of diabetic neuropathic pain. *Eur J Phar.* 1999; 364: 141-146
- 24)** Malcangio M, Tomlinson DR. A pharmacologic analysis of mechanical hyperalgesia in streptozotocin / diabetic rats. *Pain* 1998; 76: 151-157
- 25)** Fox A, Eastwood C, Gentry C, et al. Critical evaluation of the streptozotocin model of painful diabetic neuropathy in the rat. *Pain.* 1999; 81: 307-316
- 26)** Casas J, Gibert-Rahola J, Chover AJ. Test-dependent relationship of the antidepressant and analgesic effects of amitriptyline. *Methods Find Exp Clin Phar* 1995; 17(9): 583-8
- 27)** Fuxe K, Ogren SO, Agnati LF, et al. Chronic antidepressant treatment and central 5-HT synapses. *Neuropharmacology* 1983 ; 22: 389-400
- 28)** Johansson F ,Von Knorring L, Sedvall G. Changes in endorphins and 5 HIAA in cerebrospinal fluid as a result of treatment with a SSRI in chronic pain patients. *Psychiatry Res* 1980; 2 (2): 167-172
- 29)** A. Yücel. Nöropatik ağrıda periferik ve santral mekanizmalar. *Ağrı* 2002; 14(1): 17-22
- 30)** Zurek J, Nadeson R, Goodchild C. Spinal and supraspinal components of opioid antinociception in streptozotocin induced diabetic neuropathy in rats. *Pain* 2001; 90:57-63.
- 31)** Khasar S, Green P, Chou B. Peripheral nociceptive effects of α_2 -adrenergic receptor agonists in the rat. *Neuroscience* 1995; 66 (2) : 427-432
- 32)** Wang JW, Lundeberg T, Chuan L. Antinociceptive role of oxytocin in the nucleus raphe magnus of rats, an involvement of μ -opioid receptor. *Regulatory Peptides* 2003; 115: 153-159
- 33)** Schreiber S, Backer M, Pick C. The antinociceptive effect of venlafaxine in mice is mediated through both opioid and serotonergic mechanisms. *Neuroscience Letters.* 1999; 273: 85-88.
- 34)** Sierralta F, Pinardi G, Mendez M. Interreaction of opioids with antidepressant-induced antinociception. *Psychopharmacology* 1995; 122 (4): 374-8
- 35)** Godfroy F, Butler SH. Do acute or chronic tricyclic antidepressants modify morphine antinociception in rats? *Pain* 1986; 25 (2): 233-44.
- 36)** Yaksh T.L. Spinal opiate analgesia: Characteristics and principles of action. *Pain* 1981; 11: 293-346

- 37) Flacke J, Flacke W.E. The use of α -2 adrenergic agonists during general anesthesia. *Anaesth Pharmacol Rev.* 1993; 33: 268-283
- 38) Eisenach JC, Gebhart GF. Intrathecal amitriptyline. Antinociceptive interreactions with intravenous morphine and intrathecal clonidine, neostigmine, and carbamylcholine in rats. *Anesthesiology* 1995; 83 (5): 1036-45
- 39) Sicuteri F, Anselmi B. The serotonin theory of migraine. *Adv Neurol* 1992; 41: 383-394
- 40) Sternbach RA, Janouwwsky DS. Effects of altering brain serotonin activity on human chronic pain. *Adv Pain Res Ther* 1996; (1): 601-606
- 41) Tasmuth T, Hartel B, Kalso E. Venlafaxine in neuropathic pain following treatment of breast cancer. *Eur J Pain.* 2002; 6: 17-24
- 42) Yaohui L, Sandra C. Alteration of spinal protein kinase C expression and kinetics in morphine but not clonidine tolerance. *Bioc Phar* 1999; 58 (3): 493-501
- 43) Özdoğan UK, Janne L, Scheinin M. Influence of prazosin and clonidine on morphine analgesia, tolerance and withdrawal in mice . *Eur J Phar* 2003; 460: 2-3
- 44) Zurek J.R, Nadeson R, Goodchild C.S. Spinal and supraspinal components of opioid antinociception in streptozotocin induced diabetic neuropathic rats. *Pain.* 2001; 90: 57-63
- 45) Umeda E., Satoh T, Nagashima H. α -2a subtype of presynaptic α -2-adrenoceptors modulates the release of noradrenaline from rat spinal cord. *Brain Res Bull.* 1996; 42: 129-132
- 46) Gray AM, Pache DM. Do α -2 adrenoceptors play an integral role in the antinociceptive mechanism of action of antidepressant compounds? *Eur J Phar* 1999; 378: 161-8

EKLER

Ek1.1 KULLANILAN KİMYASAL MADDELER

- Etil Alkol
- Polietilenglikol (Merck)
- Streptozosin (Sigma)
- Mirtazapin (Sigma)
- Nalokson (Sigma)
- Metergolin (Sigma)
- BRL 44408 (Sigma)

Ek1.2. ARAÇ VE GEREÇLER

- Analjezik Hot-Plate MAY
- Rota-rod MAY 972 Activity Meter
- ACCU_CHEK Active Glukometer
- ACCU-CHEK Active Glukostick
- Hassas terazi (Shimadzu Libror AEU 120)
- Buzdolabı (Arçelik)
- Cam laboratuvar malzemeleri (beher, mezür vb.)

ÖZGEÇMİŞ

1973 yılında Kayseri’de doğdu.İlk öğrenimini Kayseri Ahmet Baldöktü İlkokulunda, orta ve lise öğrenimini Kayseri Nuh Mehmet Küçükçalık Anadolu Lisesinde tamamladı.1991 yılında Ege Üniversitesi Tıp Fakültesine girdikten sonra 1994 yılında Hacettepe Tıp Fakültesi’ne yatay geçiş yaptı ve 2000 yılında mezun oldu.2001 yılından beri de Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı’nda araştırma görevlisi olarak görev yapmaktadır.

**TC.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA**

..... ait
..... adlı çalışma, jürimiz
tarafından..... Anabilim Dalı'nda
Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih :
İmza

Başkan İmza

Üye İmza

Üye İmza

Üye İmza

Üye İmza