

I

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SIÇAN FORMALİN TESTİNDE
VENLAFAKSİNİN LOKAL PERİFERAL
ANTİNOSESİPTİF ETKİSİ**

Tezi Hazırlayan

Gülay Sezer

Tezi Yöneten

Prof. Dr. Yalçın Tekol

**Farmakoloji Anabilim Dalı
Doktora Tezi**

**Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından SBY-05-01 nolu
proje ile desteklenmiştir**

**Mart 2007
KAYSERİ**

II

Prof. Dr. Yalçın TEKOL danışmanlığında **Gülay Sezer** tarafından hazırlanan “**Sıçan formalin testinde venlafaksinin lokal periferal antinosiseptif etkisi**” adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji Anabilim Dalında **Doktora** tezi olarak kabul edilmiştir.

02 / 03 / 2007

JÜRİ

İmza

Başkan : Prof. Dr. Yalçın Tekol
Üye : Prof. Dr. Nurhan Enginar
Üye : Prof. Dr. Aydın Erenmemişoğlu
Üye : Prof. Dr. Meral Aşçıoğlu
Üye : Prof. Dr. Bekir Çoksevrim

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulununtarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../.....

Enstitü Müdürü
Prof. Dr. Meral AŞÇIOĞLU

TEŞEKKÜR

Çalışmaların gerçekleştirilmesindeki katkılarından dolayı danışman hocam Sayın Prof. Dr. Yalçın Tekol'a teőekkürlerimi bir borç bilirim.

Venlafaksin plazma miktar tayini aşamasındaki katkılarından dolayı Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nden Sayın Doç. Dr. Erdal Din'e ve tayinin yapılmasında laboratuvar olanaklarından yararlanmamızda gösterdiği kolaylıktan dolayı GATA Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Tayfun Uzbay'a, analiz sırasındaki katkılarından dolayı Analitik Toksikoloji Bilim Dalı'ndan Sayın Doç. Dr. Hüsamettin Gül'e,

Projenin gerçekleştirilmesinde bilimsel katkılarından dolayı Tez İzleme Komitesi jüri üyelerinden Sayın Prof. Dr. Aydın Erenmemişoğlu ve Sayın Prof. Dr. Bekir Çoksevimi'e, Projeye maddi destek sağlayan Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne,

Hayatımın her aşamasında olduğu gibi bu dönemde de manevi desteklerinden dolayı anne ve babama,

Ayrıca çalışmalarda desteğini ve yardımlarını esirgemeyen meslektaşım ve eşim Uzm. Dr. Zafer Sezer'e teşekkür ederim.

SIÇAN FORMALİN TESTİNDE VENLAFAKSİNİN LOKAL PERİFERAL ANTİNOSİSEPTİF ETKİSİ

ÖZET

Antidepresanların analjezik etki mekanizmalarına yönelik yapılmış çalışmalar spinal ve supraspinal mekanizmalara yönelmekle birlikte son zamanlarda bir trisiklik antidepresan (TCA) olan amitriptilin lokal periferal olarak uygulanması ile sıçanda antinosiseptif etki oluşturduğu bildirilmiştir. Venlafaksin ise TCA'lardan farklı bir yapıya sahip nisbeten yeni bir antidepresandır. Amacımız sistemik analjezik etkinliği çeşitli çalışmalarda kanıtlanmış venlafaksin lokal olarak perifere uygulanması ile antinosiseptif etki gösterip göstermeyeceğini araştırmaktır. Bu amaçla formalin testinde Sprague Dawley erkek sıçanların (200-230 g) pençesine intraplantar (i.pl.) olarak 25 µl 50, 100, 200, 400 µg konsantrasyonlarda ve ayrıca sistemik olarak intraperitoneal (i.p) yoldan 5, 10, 20, 40 mg/kg dozlarında uygulama yaptık (n=6). Venlafaksin lokal periferal antinosiseptif etkisinde opyoidlerin ve adenozin A₁ reseptörlerinin rollerini araştırmak amacıyla farklı gruplara i.p. yoldan nalokson (opyoid reseptör antagonisti) ve CPT (A₁ reseptör antagonisti) uyguladık. İlaveten venlafaksin lokal periferal etkinliğini glutamat testi ile de araştırdık. Etkinin lokal olup olmadığını test etmek amacıyla lokal ve sistemik uygulamayı takiben çeşitli zamanlarda sıçanlardan alınan kan örneklerinde GC-MS aracılığı ile venlafaksin miktar tayini yaptık. Venlafaksin formalin testinde lokal olarak perifere uygulandığında 100, 200 ve 400 µg konsantrasyonlarında belirgin antinosiseptif etki gösterirken, sistemik olarak 20 ve 40 mg/kg dozlarında etkili olmuştur. Venlafaksin lokal periferal antinosiseptif etkisinde opyoiderjik sistemin rolü olmadığı, adenozin A₁ reseptörlerinin ise testin sadece 1. fazında rollerinin olduğu belirlenmiştir. Venlafaksin glutamat testinde lokal olarak 100 ve 200 µg konsantrasyonlarında pençeye uygulandığında etkili olurken, 20 mg/kg i.p. dozunun oluşturduğu sistemik etki ile 100 µg konsantrasyon ile oluşan etki farksızdır. Etkinin lokal olduğu kanda yapılan venlafaksin miktar tayini ile ispatlanmıştır.

Sonuçlar venlafaksin lokal olarak pençeye uygulandığında antinosiseptif etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Lokal uygulama ile uygulama yerinde oldukça yüksek konsantrasyonlara ulaşmak mümkün olup bir takım sistemik yan etkiler de bertaraf edilebilir. Böyle bir etkinlik ilerde bu ilacın jel yada krem şeklinde topikal analjezik olarak denenebileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Venlafaksin, lokal, periferal, antinosisepsiyon, formalin testi

**LOCAL PERIPHERAL ANTINOCICEPTIVE EFFECT OF VENLAFAXINE
ON RAT FORMALIN TEST**

ABSTRACT

Although the studies related with the mechanism of antinociception induced by antidepressants are directed to spinal and supraspinal mechanisms, it was recently shown that a tricyclic antidepressant drug, amitriptyline, has antinociceptive effect when applied locally to the periphery in rat. Venlafaxine is a new antidepressant drug that has different structure from TCA's. Our purpose was to investigate whether systemic analgesic effect has been proved drug, venlafaxine, has local peripheral antinociceptive action. For this purpose we applied different concentrations of venlafaxine solution (25 μ l 50, 100, 200, 400 μ g) to the male, 200-230 g Sprague Dawley rats' paws by intraplantar (i.pl.) injection and also different doses of venlafaxine systemically (5, 10, 20, 40 mg/kg) by intraperitoneal route (i.p.) in formalin test (n=6). To investigate the role of opioids and adenosine A₁ receptors on local peripheral antinociception induced by venlafaxine, we applied naloxone (opioid receptor antagonist) and CPT (adenosine A₁ receptor antagonist) to different groups. Additionally we investigate the local peripheral antinociceptive effect of venlafaxine on glutamate test. To check whether the effect is local or not, we obtained blood at different times after both the local and systemic application to determine the level of venlafaxine by GC-MS method. Venlafaxine induced antinociception at 100, 200 and 400 μ g concentrations by the local peripheral application and at 20, 40 mg/kg doses by the systemic application in formalin test. It was found that opioidergic system does not have a role in local peripheral antinociceptive effect of venlafaxine, however, adenosine A₁ receptors have a role only at the 1st phase of formalin test. Venlafaxine also have local peripheral antinociceptive effect on glutamate test at 100 and 200 μ g concentrations and the effects were similar induced by 100 μ g (i.pl.) and 20 mg/kg (i.p.). Our results showed that venlafaxine has antinociceptive effect when applied locally to the periphery. By the local application it may be possible to reach high levels at application site and also to get rid of some systemic side effects. Such an activity may led to trials for to use this drug as a gel and cream formulation for analgesia in clinics in the future.

Keywords: Venlafaxine, local, peripheral, antinociception, formalin test

İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK.....	I
KABUL ONAY SAYFASI.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
ÖZET.....	IV
ABSTRACT.....	V
İÇİNDEKİLER.....	VI
KISALTMALAR.....	VIII
TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ.....	X
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. AĞRI İLE İLGİLİ GENEL BİLGİLER.....	2
2.1.1. Ağrı iletimi.....	2
2.1.2. Ağrının Sınıflandırılması.....	5
2.1.3. Hayvanlarda Deneysel Ağrı Modelleri.....	7
2.1.4. Formalin Testi.....	8
2.1.5. Glutamat Testi.....	10
2.2. ANTİDEPRESAN ETKİLİ DROGLAR VE VENLAFAKSİN.....	11
2.2.1. Venlafaksin Kimyasal Yapısı.....	12
2.2.2. Venlafaksin Farmakokinetik Özellikleri.....	12
2.2.3. Venlafaksin Farmakodinamik Özellikleri.....	13
2.2.4. Venlafaksin Analjezik/Antinosiseptif Etkisi.....	16
2.3. ANTİDEPRESANLARIN ANTİNOSİSEPTİF/ANALJEZİK ETKİLERİ.....	18
2.4. TOPİKAL VE PERİFERAL ANALJEZİKLER.....	20
2.5. GAZ KROMATOĞRAFİSİ-KÜTLE SPEKTROSKOPİSİ.....	25
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	27
3.1. FORMALİN TESTİ UYGULAMASI.....	27
3.2. GLUTAMAT TESTİ UYGULAMASI.....	30
3.3. PLAZMA VENLAFAKSİN MİKTAR TAYİNİ.....	31
3.3.1. Çalışma Koşulları.....	31
3.3.2. Plazmadan Ekstraksiyon Ve Kalibrasyon Eğrisinin Çizdirilmesi.....	32
3.3.3. Duyarlılık.....	33
3.3.4. % Ekstraksiyon Verimi.....	33
3.3.5. Kesinlik.....	34

VII

3.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....	34
4. BULGULAR.....	35
4.1. FORMALİN TESTİ BULGULARI.....	35
4.1.1. Lokal Periferal Venlafaksin Uygulanan Gruplar.....	35
4.1.2. Sistemik Venlafaksin Uygulanan Gruplar.....	37
4.1.3. Venlafaksinin Lokal Periferal Antinosisepatif Etkisi Üzerine Nalokson ve CPT....	38
4.2. GLUTAMAT TESTİ BULGULARI.....	40
4.3. PLAZMA VENLAFAKSİN MİKTAR TAYİNİ SONUÇLARI.....	41
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	45
6. KAYNAKLAR.....	54
EKLER	
ÖZGEÇMİŞ	

VIII

KISALTMALAR

- α -adrenoreseptör; Alfa adrenoreseptör
AMP; Adenozin monofosfat
AMPT; α -metil-p-tirozin
AMPA; α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolpropiyonik asid
ATP; Adenozin trifosfat
BSS; Bağlı standart sapma
cAMP; Siklik AMP
CGRP; Kalsitonin geni ile ilgili peptid
CPT; 8-siklo-pentil-1,3-dimetilksantin
CYP; Sitokrom P450
 δ ; Delta
EAA; Eksitator amino asid
EDTA; Etilendiamintetraasetik asid
g; Gram
GABA; Gama amino bütirik asid
GC; Gaz kromatografisi
GC-MS; Gaz kromatografisi-kütle spektroskopisi
He; Helyum
5-HT; Serotonin
IC₅₀; Medyan inhibitör konsantrasyon
IL-1 β ; İnterlökin-1 beta
İmp; İmipramin
i.p.; İntraperitoneal
i.pl.; İntraplantar
i.t.; İntratekal
i.v.; İntravenöz
 κ ; Kappa
KKH; Kronik konstrüktif hasar
LOD; Limit of detection
LOQ; Limit of quantification
 μ ; Mü
 μ l; Mikrolitre

μ M; Mikromolar
 μ mol; Mikromol
m/z; Kütle/iyon
MAO; Monoamin oksidaz
MS; Kütle spektroskopisi
NaOH; Sodyum hidroksit
NDV; N-desmetilvenlafaksin
NLX; Nalokson
NMDA; N-metil-D-aspartat
NSAİ; Nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlar
NGF; Sinir büyüme faktörü
ODV; O-desmetilvenlafaksin
pCPA; P-klorofenilalanin
PGE₂; Prostaglandin E2
p.o.; Per oral
s.c.; Subkütan
SCAN; Toplam iyon taraması
SF; Serum fizyolojik
SIM ; Selected ion monitorisation, seçilmiş iyon taraması
SSRİ; Seçici serotonin geri alım (reuptake) inhibitörü
SSNİ; Seçici serotonin/noradrenalin geri alım (reuptake) inhibitörü
TCA; Trisiklik antidepresan
TNF; Tümör nekroz faktörü
VFX; Vfx; Venlafaksin
VR-1; Vanilloid reseptör-1

TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2.1. Hayvanlarda deneysel ağrı modelleri.....	7
Tablo 2.2. Antidepresanların sınıflandırılması.....	11
Tablo 2.3. Duloksetin ve venlafaksinin çeşitli reseptörler ve monoamin oksidaz enzimi için IC ₅₀ değerleri.....	14
Tablo 3.1. Formalin testindeki gruplar.....	29
Tablo 3.2. Glutamat testinde gruplara drog injeksiyon zaman, yol ve miktarları.....	30
Tablo 4.1. Ekstraksiyon verimi ve % bağıl standart sapma değerleri	43
Şekil 2.1. Nosisepsiyon ve ağrı yolları.....	5
Şekil 2.2. Venlafaksin ve metaboliti ODV'nin kimyasal yapısı.....	12
Şekil 2.3. Rodentlerde periferel ağrı iletiminde adenozerjik ve purinerjik reseptörlerin rolü...24	
Şekil 2.4. Gaz kromatografisinin şematik olarak gösterilmesi.....	26
Şekil 3.1. Kullanılan GC-MS cihazının fotoğrafı.....	32
Şekil 4.1. Lokal periferel olarak uygulanan venlafaksinın sıçan formalin testinde pençeyi sallama davranışı üzerine antinosiseptif etkisi.....	36
Şekil 4.2. Lokal periferel olarak uygulanan venlafaksinın sıçan formalin testinde pençeyi yalama ve ısırma davranışı üzerine antinosiseptif etkisi.....	36
Şekil 4.3. Lokal periferel ve sistemik olarak uygulanan venlafaksinın sıçan formalin testinde pençeyi sallama davranışı üzerine etkileri.....	37
Şekil 4.4. Lokal periferel ve sistemik olarak uygulanan venlafaksinın sıçan formalin testinde pençeyi yalama ve ısırma davranışı üzerine antinosiseptif etkileri.....	38
Şekil 4.5. Sıçan formalin testinde pençeyi sallama davranışı üzerinde lokal periferel olarak uygulanan venlafaksinın oluşturduğu antinosisepsiyona nalokson ve CPT'nin etkileri.....	39
Şekil 4.6. Sıçan formalin testinde pençeyi ısırma ve yalama nosisepatif davranışı üzerinde lokal periferel olarak uygulanan venlafaksinın oluşturduğu antinosisepsiyonda nalokson ve CPT'nin etkileri.....	39
Şekil 4.7. Lokal periferel ve sistemik olarak uygulanan venlafaksinın sıçan glutamat testinde pençeyi sallama sayısı üzerine etkisi.....	40
Şekil 4.8. Lokal periferel ve sistemik olarak uygulanan venlafaksinın sıçan glutamat testinde pençeyi yalama ve ısırma süresi üzerine etkisi.....	41
Şekil 4.9. Plazma venlafaksin kalibrasyon eğrisi.....	42
Şekil 4.10. Venlafaksin ve internal standart olan imipramin katılmış plazmadan ekstraksiyon sonrası GC-MS'te SIM modunda elde edilen kromatogram.....	43
Şekil 4.11. İmipramin için total iyon spektrumu.....	44
Şekil 4.12. Venlafaksin için total iyon spektrumu.....	44

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Antidepresanların analjezik etkileri uzun zamandır bilinmekte ve özellikle trisiklik antidepresanlar nöropatik ağrı, postherpetik nevralji gibi kronik ağrılı durumlarda sistemik olarak kullanılmaktadırlar. Ancak bunların antikolinergik, adrenolitik ve antihistaminik etkilerine bağlı olarak ortaya çıkan bir takım sistemik yan etkileri kullanımlarını oldukça kısıtlamaktadır. Nisbeten yeni bir antidepresan olan venlafaksin ile çeşitli hayvan modellerinde, diyabetik ve diğer nöropatili hastalarda yapılan çalışmalarda sistemik uygulama ile güçlü analjezik etkisinin olduğu gösterilmiştir. Ancak sistemik uygulamada venlafaksin ile bulantı, kusma, uyku hali, ağız kuruluğu gibi istenmeyen etkiler bildirilmiştir.

Antidepresanların analjezik etki mekanizmalarına yönelik yapılan çalışmalarda santral mekanizmaların aracılık ettiği düşünülürken son zamanlarda yapılan çalışmalarda bazı antidepresanların analjezik etkilerinde periferal mekanizmaların da rolü olduğu bildirilmiştir. Amacımız sistemik analjezik etkinliği çeşitli modellerde gösterilen venlafaksin, sıçanlarda formalin ve glutamat testinde lokal olarak perifere uygulanması sureti ile antinosiseptif etki gösterip göstermeyeceğini ve böyle bir etki varsa olası bazı mekanizmaları araştırmaktır. Lokal periferal uygulama sayesinde uygulama yerinde oldukça yüksek konsantrasyonda drog bulunmasına olanak sağlanırken sistemik yan etkiler de bertaraf edilmiş olunabilir. Böylece ileride bu madde klinikte krem ya da jel formülasyonunda lokal olarak çeşitli ağrı durumlarında uygulanma olanağı bulabilir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. AĞRI İLE İLGİLİ GENEL BİLGİLER

Ağrı, vücudun belli bir bölgesinden kaynaklanan, doku harabiyetine bağlı olan veya olmayan, kişinin geçmişteki deneyimleriyle de ilgili hoş olmayan emosyonel ve sensoryal bir duyumdur. Doku hasarıyla ilgili informasyonu alan özel reseptörler olan nosiseptörlerin uyarılması sonucu meydana gelen sinyallerin santral sinir sisteminde algılanmasına ise nosisepsiyon denir. Ağrı nosisepsiyon içinde bir algılanma şeklidir ve mekanik, termal ve kimyasal olmak üzere çeşitli uyarılar neticesinde oluşur (1, 2).

2.1.1. Ağrı İletimi

Deriden ağrı impulsları iki tip sinir tarafından alınır; bunlardan miyelinli, ileti hızı 5-30 m/sn olan, küçük çaplı A δ (delta) lifleri “hızlı” ya da “ilk” oluşan ağrıda rol alırlar. İleti hızı 0.5-2 m/sn olan, miyelinsiz C lifleri (dorsal kök C lifleri) ise “yavaş” ve “gecikmiş” daha yaygın ağrı tipinde rol alırlar (2, 3). Nosiseptör olarak adlandırılan ağrı reseptörleri tüm deri ve deri altı dokularında bulunan somatik duyusal liflerin çıplak ve serbest uçlarıdır. A δ liflerinin serbest uçları genellikle duyarlı oldukları uyarının tipine göre mekanik ve termal nosiseptörler adını alırlar. Bu nosiseptörlerin uyarılması keskin, iğneleyici ve iyi lokalize edilebilen bir ağrı meydana getirir. C liflerinin uçları olan nosiseptörler ise C polimodal nosiseptörler olarak bilinir. Şiddetli mekanik, aşırı sıcak, soğuk ve doku travmasından kaynaklanan kimyasal (H⁺, K⁺, histamin, bradikinin, P maddesi, CGRP v.b) uyarılara cevap olarak daha donuk, daha yaygın bir ağrı meydana

getirirler (2, 4, 5). Doku hasarını ya da inflamasyonu takiben oluşan ya da salınan çok sayıdaki kimyasal maddeler periferel duyuşal sinir sonlanmalarını uyarabilirler. H^+ , ATP, glutamat, serotonin (5-HT), histamin, bradikinin gibi maddeler doğrudan duyuşal sinirleri uyarırken, prostaglandinler, prostasiklin, IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8 gibi sitokinler ve tümör nekroz faktörü (TNF) diğer uyarınların etkisine sinir sonlanmalarının duyarlılığını artırırılar. Bradikinin, taşikininler ve sinir büyüme faktörü (NGF) duyuşal nöronlar, çevredeki inflamatuvar hücreler ve sempatik sinirler üzerinde düzenleyici etkilere sahiptirler. Duyuşal nöronları uyarın bazı ajanlar bunu doğrudan iyon kanalları üzerinden yapabilirler. Örneğin H^+ ; aside duyarlı iyon kanalları aracılığı ile, ATP; P2X reseptörleri aracılığı ile, glutamat; iyonotropik glutamat reseptörleri aracılığı ile uyarırken diğer bazı ajanlar G-proteinine kenetli metabotropik reseptörleri uyararak hücre içi mesajcı sistemleri uyarırılar. Bunlardan başka duyuşal sinir sonlanmaları ağrı transmisyonunu inhibe edecek çok sayıda nörotransmittere duyarlı reseptörleri de içeriiler. Bu reseptörlerin çoğu başlangıçta dorsal spinal kordda bulunmuşlardır, ancak bazıları dorsal kök gangliyon hücrelerinin hücre gövdelerinde sentezlenerek presinaptik olarak yerleşmek üzere perifere ve bazıları da santrale taşınırlar. Sinir ligasyonu ile nöroreseptörlerin aksonal transportu, ligasyonun distalinde ve proksimalinde reseptörlerin birikmesi ile gösterilebilmiştir. μ -, δ - ve κ - opyoid reseptörleri ile kannabinoid respptörleri bu yolla gösterilmiştir. Diğer inhibitör reseptörlerden GABA_A reseptörleri direkt olarak periferel sinirlerde görülmüşlerdir (6-8).

A δ ve C lifleri omuriliğe girince ikiye ayrılırlar. Nosiseptif sinir uçlarının santral terminalleri dorsal boynuz gri cevherinin marjinal zonu (Lamina I) ile substantia jelatinozada (Lamina II) yer alan nöronlarla sinaps yaparlar. Bazı A δ liflerinin uzantıları ise daha derinde lamina V hücrelerine ulaşır (2). Substantia jelatinozanın transmisyon hücrelerindeki liflerle impulsalar ağrının integrasyonunda esas yer olan talamusa taşınır. Talamustan 3. sıra sinirler impulsaları serebral kortekse taşır ve böylece ağrının algılanması sağlanır. Orta beyin ve beyin sapından inici yolaklar dorsal horn transmisyonunda önemli inhibitör etki gösterirler (3, 8). Nosiseptif afferentlerin çoğu dorsal boynuzun süperfasiyal bölgesinde sonlanırken özellikle A δ lifleri dorsal boynuzda daha derinlere sokulabilir. İmmünohistokimyasal çalışmalarıla biyolojik aktif maddelerin çoğunun süperfasiyal dorsal boynuzda nisbeten yüksek konsantrasyonda bulundukları gösterilmiştir. Bu maddelerden bazıları primer afferent liflerden, bazıları dorsal boynuzdaki intrinsik sinirlerinden, bazıları da hücre gövdeleri beyin sapında bulunan

akson terminallerinden türeler (3). Dorsal boynuzda bulunan nöronlar başlıca 3 grupta incelenebilirler;

1) Projeksiyon nöronları (santral geçiş hücreleri): Bunlar uyarıldıklarında meydana gelen uyarılar anterolateral efferent sisteme geçer ve ağrı olayı üst merkezlerde algılanır. Bu nöronların aktivitesi bir takım daha küçük ara nöronlarla kontrol edilir. Projeksiyon nöronları iki grupta incelenebilir. Lamina I'de bulunan A δ ve C lifleri ile uyarılan projeksiyon nöronları, nosiseptif spesifiktir. Lamina I ve V'deki ikinci grup projeksiyon nöronları ise hem nosiseptörlerle hem de düşük eşikli mekanoreseptörlerle uyarıldıklarından WDR (wide dynamic range) nöronlar adını alırlar.

2) Lokal Eksitator Ara Nöronlar: Bunlar gelen duysal enformasyonu ya da ağırlı sinyalleri projeksiyon nöronuna geçirir ve uyarılmalarına yol açar. Genellikle C ve A δ liflerinden gelen sinyallerle uyarılan olan bu lokal ara nöronlar sinyalleri projeksiyon nöronuna geçirmekle görevlidir.

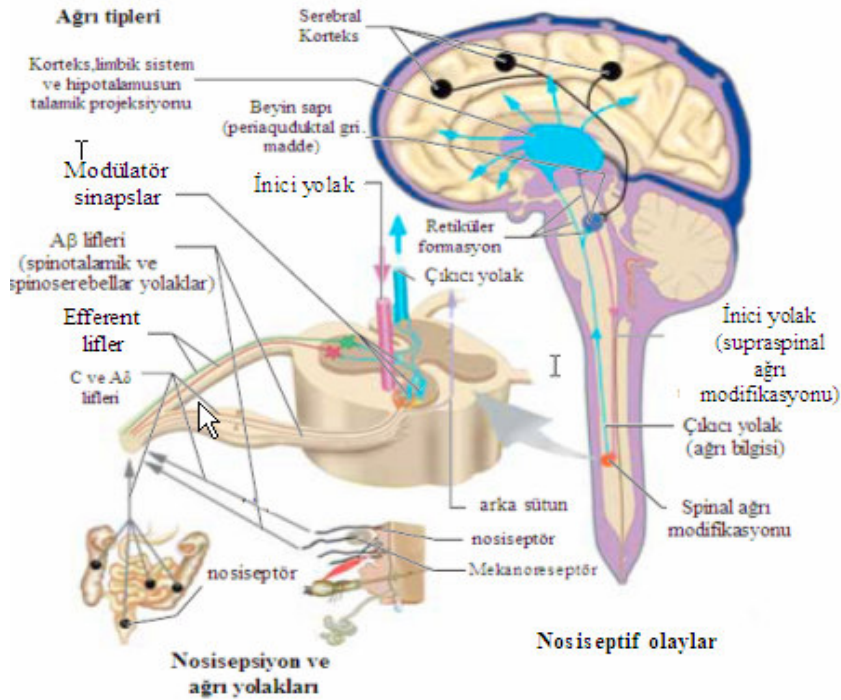
3) İnhibitör Ara Nöronlar: Daha yüksek merkezlere ağırlı enformasyon çıkışını düzenlemede önemli rol alırlar. Genellikle geniş çaplı miyelinli A-beta (A β) grubu afferent liflerle uyarılırlar ve nosiseptif sinyalleri iletmezler. Bu ara nöronlar geniş çaplı liflerle uyarıldıklarında projeksiyon nöronunda inhibisyon meydana getirirler (2).

Omuriliğe girişte ağrı sinyalleri neospinotalamik yol ve paleospinotalamik yol olmak üzere iki yol ile beyine iletilirler. Neospinotalamik yol, hızlı tip A δ lifleri ile başlıca mekanik ve akut termal ağrıyı iletirler. Bunlar esas olarak arka boynuzda Lamina I'de sonlanırlar ve burada neospinotalamik yolun ikinci nöronlarını uyarırlar. Bu nöronlar hemen anteriyor komissürden medulla spinalisin karşı tarafına geçerek çapraz yapan uzun lifler verirler ve anterolateral kolonlar içinde yukarı doğru giderler. Neospinotalamik yolun birkaç lifi beyin sapının retiküler bölgelerinde sonlanır, ancak çoğu talamusa kadar gider. Bu yolak ağrının yer, şiddet ve zaman gibi ayırt ettirici boyutları ile algılanmasını sağlar. Paleospinotalamik yol ise ağrıyı bilhassa periferik yavaş, kronik tip C lifleri ile iletir. Bazı sinyaller yine de A δ lifleri ile de taşınabilir. Bu yolda periferik liflerin hemen hemen tamamı lamina II ve III'de sonlanır. Liflerin az bir kısmı talamusa gider, geri kalan kısmı ise *i*) medulla, pons ve mezensefalonun retiküler nükleuslarında, *ii*) mezensefalonun inferiyor ve superiyor kolliküllerinin derininde bulunan tektal alanlar veya *iii*) periakvaduktal gri bölgede sonlanırlar (9).

Substantia jelatinosada birinci nöron ucu ve ikinci nöronun başka, ağrı ile ilgili olan üçüncü bir yapı olan enkefalinerjik ara nöronlar vardır. Söz konusu ara nöronlar

presinaptik uçla aksoaksonik sinaps yaparlar ve salıverilen enkefalinler aracılığı ile hem presinaptik hem de postsinaptik inhibisyon yaparlar. Nosisepsiyon ile ilgili tüm bu yolaklar Şekil 2.1.'de gösterilmiştir.

Ağrılı durum ya da ağrı sendromu i) ağrının duyulması ve algılanması (ağrının duyusal ve kognitif fonksiyonları) ii) ağrıya karşı reaksiyon (ağrının afektif komponenti) komponentlerinden oluşur (2).



Şekil 2.1. Nosisepsiyon ve ağrı yolakları (10).

2.1.2. Ağrının Sınıflandırılması

Ağrı subjektif bir duyu olarak niteliğine, kaynaklandığı bölgeye, mekanizmasına, süresine, şiddetine ve nedenine bağlı olarak farklı kategorilerde sınıflandırılabilir. Niteliğine göre ağrı; 1-batıcı ağrı (Aδ lifleri aracılığı ile) 2-yanıcı ağrı (C tipi sinir lifleri) 3-sancılı ağrı (C tipi sinir lifleri) olarak ayrılır. Kaynaklandığı bölgeye göre ağrı ise; 1-somatik ağrı 2-visseral ağrı 3-yansıyan ağrı 4-projekte ağrı 5-psikojenik-fonksiyonel ağrı olarak sınıflandırılabilir. Somatik ağrı yüzeysel veya cilt ağrısı ve derin ağrı olmak üzere iki biçimde algılanır. Somatik sinirlerden kaynaklanır. Ağrı ani olarak başlar, keskindir,

iyi lokalize edilir ve tanısı kolaydır. Visseral ağrının kaynağı ise iç organlardır. Göğüs ve karın boşluklarından kaynaklanan bütün gerçek visseral ağrılar sempatik sinirlerdeki duysal sinir lifleriyle iletilir. Bu lifler C tipi olduğundan yanıcı ve sancı tipindeki ağrıyı iletilebilir. Yansıyan ağrı visseral organlardan kaynaklanarak derideki bölgelere yansıma şeklinde algılanır. Algılamanın olduğu yöreler, visseral organları inerve eden sinirlerin çıktığı aynı spinal segmentlerden çıkan sinirlerle inerve edilir. Projekte ağrı ise bir ağrı yolu içindeki liflerin direkt uyarılması sonucu oluşur. Psikojenik ağrı ise ya ağrıyı açıklayabilecek organik bir neden olmaksızın ortaya çıkan somatik şikayetler şeklinde olur ya da varolan organik lezyona göre şiddet süre bakımından orantısız derecede abartılmış bir ağrı şeklinde olur (2, 5). Mekanizmalarına göre ağrıları sınıflandırdığımızda; 1- nosiseptif ağrı; fizyopatolojik olayların deri, kas, bağ dokusu, iç organlarda yaygın olarak bulunan ve nosiseptör adı verilen özel ağrı algılayıcılarını uyarmasıyla ortaya çıkar. Somatik veya visseral doku hasarına bağlıdır. 2- nöropatik ağrı (nörojenik ağrı); somatosensoryal sistemin anormal uyarılmasına bağlı olarak ortaya çıkan ağrılar için kullanılan bir terimdir. Periferik sinir travması ya da metabolik hastalıklar sonucu ortaya çıkar. Nöropatik ağrıya alkolizm, kanser, bazı nörolojik hastalıklar, damar hastalıkları, sinir sıkışması, bazı enfeksiyon hastalıkları (zona gibi), böbrek yetmezliği ve şeker hastalığı gibi birçok farklı durum neden olabilir. Ağrı eşiği düştüğü için normalde ağrısız olan uyarı ağrı yapabilir, bu duruma allodini denir. Uyarıya yanıt hem sürekli hem de amplitüd bakımından abartılı olabilir, bu duruma da hiperaljezi denir. 3- deafferantasyon ağrısı; periferik ve santral sinir sistemi yaralanmaları sonucunda somatosensoryal uyarıların iletiminin merkezi sinir sistemine akışının kesilmesi ile ortaya çıkar. 4- reaktif ağrı; motor ya da sempatik afferentlerin refleks aktivasyonu sonucu nosiseptörlerin uyarılmasına bağlı olarak çıkar. Miyofasyal ağrılar reaktif ağrılar arasında sayılabilir (2).

Süresine göre ağrı akut ve kronik olarak ayrılır. Akut ağrı sınırlı sürede etkinlik gösteren ve uyarının ortadan kalmasına bağlı olarak yok olan ağrı tipidir. Akut ağrı çoğu kez organizmaya uyarıcı fonksiyon olarak hizmet eder ve daima nosiseptif niteliktedir. Kronik ağrı ise sabit veya aralıklı tekrarlayan bir özellik gösterir ve çoğu olguda nosiseptif niteliktedir (5).

Şiddetine göre ağrı ise 1- ani başlayan, kıvrandıracak kadar şiddetli olan ve zaman zaman azalıp kaybolan kolik biçimi ağrılar, 2- ağrı şiddeti az olan ve ekseriya dolgunluk hissi

veya sızı olarak tanımlanan künt ağrılar ve 3- kanser ağrıları gibi dayanılmayacak kadar şiddetli ve sürekli olarak duyumsanan kemirici ağrılar olarak tanımlanabilmektedir (2, 5).

2.1.3. Hayvanlarda Deneysel Ağrı Modelleri

Hayvanlar ağrıyı sözel olarak ifade edemediklerinden verilen stimuluslara karşı oluşan motor, vejetatif veya davranışsal reaksiyonlar gözlemlenerek değerlendirilir. Bu reaksiyonlar; sesler çıkarma ve motor aktivitede, spontan aktivitede (kuyruk çekme, tırmanma), vejetatif aktivitede (taşıkardi, kan basıncında yükselme, defekasyon) ve davranışlarda (kaçma, saldırma, anormal yeme ve sosyal davranışlar) oluşan değişikliklerdir. Deneysel hayvanlarında insanlarda gözlenen fizyolojik ve patolojik tabloların benzerlerini içeren çeşitli deneysel ağrı modelleri tanımlanmıştır ve analjeziklerin etkilerinin değerlendirilmesinde bu modellerden faydalanılmaktadır. Tablo 2.1’de gösterilmiştir.

Tablo 2.1. Hayvanlarda deneysel ağrı modelleri (1, 11).

A- Spinal Reflekslerin Ölçümlerine Dayanan Testler	
	<ul style="list-style-type: none"> • Kuyruk Çekme Testi (Tail Flick Test, termal) • Kuyruk Daldırma Testi (Tail Immersion Test, termal) • Pençe Çekme Testi (Paw Withdrawal Test, termal) • Pençeye Basınç Testi (Paw Pressure Test, mekanik) • Flinch-jump Test (elektriksel) • Tooth-Pulp Stimulation Test (elektriksel)
B- Davranışsal Niteliklerin Değerlendirildiği Testler	
(Supraspinal duyuşsal yollar)	
	<ul style="list-style-type: none"> • Hot-plate Testi (termal) • Tail-Clip (=tail pinch) Testi (mekanik) • Asetik Asit Kıvrınma Testi (kimyasal) • Vokalizasyon Testi (elektriksel, mekanik)
C-İnflamatuvar Ağrının Değerlendirildiği Testler	
a) Lokal inflamasyon modelleri	
	<ul style="list-style-type: none"> • Formalin Testi • Karragenin İnjesiyon Testi • Freund’s Adjuvanı Testi • Ürat Artrit Modeli
b) Genel İnflamasyon Modeli	
	<ul style="list-style-type: none"> • Poliartrit Modelleri
D- Visseral Ağrı Modelleri	
	<ul style="list-style-type: none"> • Kimyasal Stimuluslarla (kapsaisin, hardal yağı) Oluşturulanlar

Drogların etkilerinin değerlendirilmesinde akut ve kronik olmak üzere iki tip ağrı modeli geliştirilmiştir (1, 11). Kısa süreli uyaran kullanılarak oluşturulan akut ağrı modelleri

“fazik ağrı modelleri” olarak nitelendirilmektedir ve termal, mekanik veya elektriksel uyarı kullanılarak yapılan hot plate, tail flick, kuyruğun, pençenin veya dental pulpanın elektrikle uyarılması gibi testler bu sınıfa girmektedir. Diğer taraftan uzun süreli uyaran kullanılarak oluşturulan kronik ağrı modelleri ise “tonik ağrı modelleri” olarak tanımlanmakta ve formalin, hipertonic salin, EDTA, kapsaisin, asetik asit gibi maddelerin injeksiyonu ile yapılan testler bu sınıfa girmektedir (11). Fazik bir test travmatik hasar sonrası oluşan akut ağrı için uygun bir model olabileceken, tonik test kronik ağrının temsilcisidir (12,13).

2.1.4. Formalin Testi

Formalin % 37’lik formaldehit solüsyonudur. Deneysel ağrı modeli oluşturmak için testlerde % 0.002-15 konsantrasyonlarda dilüe formaldehit solüsyonu kullanılır. Sıçan, fare, kedi ve maymunda kullanılan bir yöntemdir. Tonik ağrı oluşturmak amacıyla hayvanın pençesinin plantar kısmına subkütan (s.c.) yoldan yani intraplantar (i.pl.) olarak injekte edilir. Bazı çalışmalarda pençenin dorsal kısmına da injekte edilebilmektedir. Ayrıca trigeminal bölge için de kullanılabilir. İnjesiyondan sonra hayvanın belirli zamanlarda pençesini yalama ve ısırma süresi kaydedilerek ve sallaması sayılarak değerlendirilir. Ayrıca skorlandırma sistemi de kullanılabilir. Skorlamada; 0. normal duruş, 1. injeksiyon yapılan pençe üzerine basıyor ama rahat değil, 2. injeksiyon yapılan pençe üzerine basmıyor, 3. pençeyi yalıyor ve sallıyor şeklinde puanlar verilerek değerlendirme yapılabilmektedir. Oluşan nosiseptif davranışların şiddeti uygulanan formalin konsantrasyonuna bağlıdır (13). Pençeye s.c. olarak formalin injeksiyonunu takiben hayvanda pençeyi sallama, yalama, ısırma gibi spesifik davranışsal değişiklikler oluşur ve bunlar farklı orijinli iki faz içerir (14, 15).

Hemen oluşan ve kısa süren 1. fazı kısa süreli bir ağrısız dönem izler yani Faz 1 ve 2 hayvanın nosiseptif davranış göstermediği interfaz ile ayrılır. İnterfazdan sonra daha uzun bir faz olan 2. faza geçilir (12, 13). 1. Faz (akut faz) injeksiyondan hemen sonra başlar, formalin injeksiyonundan sonra yaklaşık 5-10 dakika sürer, fazın sonuna doğru cevaplar azalır. Daha çok nosiseptif C ve daha az oranda A δ liflerinin kimyasal olarak uyarılması sonucu olduğu bildirilmektedir. 2. Faz (tonik faz) formalin injeksiyonundan yaklaşık 10-15 dakika sonra başlar ve 1 saatte sonlanır. 1. fazda P maddesi, bradikinin ve eksitator amino asitler (EAA) olan glutamat ve aspartat salınımı, 2. fazda ise histamin, 5-HT, prostaglandinler, bradikinin ve EAA salınımı söz konusudur. 2. fazda periferik ve

inflatuar olayların yer aldığı bildirilmektedir. 1. fazın periferdeki nosiseptörlerin doğrudan stimülasyonuna, 2. fazın ise inflamatuvar olaylar ve buna bağlı olarak oluşan santral sensitizasyon sonucu oluştuğu düşünülmektedir (11, 14, 15). Ancak 2. fazın santral ya da periferel orijinli olduğu tartışma konusudur, bazı araştırmacılar 2. fazın, 1. fazdaki sinirsel uyarılar ile santral olayların tetiklenmesiyle ilgili olduğunu bildirirken yapılan bazı çalışmalarla bunun imkansız olduğu bildirilmektedir. Formalinin afferent liflerde oluşturduğu bifazik etki, hızlı etkili maddelerle (s.c. lidokain, i.v. remifentanil) 1. fazda bloke edilirken, 2. fazda baskılanmamaktadır. Bu araştırmacılara göre 2. faz 1. faz sonucu oluşmamakta, açık bir şekilde periferel mekanizmalardan kaynaklanmaktadır. Opyoidler 2. fazda daha etkili olmak üzere her iki fazda da etkili antinosiseptifler, indometazin gibi nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ) ile steroidler ise sadece 2. fazı etkilemektedirler (11, 14, 16-19).

Ortam sıcaklığı formalin testinde hem nosiseptif cevabı hem de ödem oluşumunu etkileyebilmektedir. Formalinin injeksiyon bölgesi de formale cevabı etkiler. Pençenin dorsal kısmına formalin injeksiyonu, plantar kısma injeksiyonla oluşandan daha az nosiseptif etki oluştururken, distal plantar bölgeye injeksiyon proksimal tarafına göre yine daha az etki oluşturur. Ayrıca intradermal injeksiyon s.c injeksiyona göre daha az ağrı oluşturur. Ağrı cevabının yaşa bağlı olarak da azaldığı bildirilmektedir (20). Formalin testi hot-plate ve tail-flick testleri gibi fazik ağrı modellerine göre klinik ağrı modeli olarak daha çok tatmin edicidir. Bu testte en çok sıçan ve fare kullanılır ancak kedi, tavşan, primatlar, kobay, kümes hayvanı ve timsah üzerinde de uygulanmıştır. Kullanılan formalin hacmi çalışmaya göre 20-150 mikrolitre (μ l) arasında değişmektedir ve en çok % 1-5 konsantrasyon aralığı tercih edilmektedir. Trigeminal bölgedeki ağrıyı değerlendirmek için kullanılan orofasiyal formalin testinde ise üst dudağa injeksiyon yapılarak hayvanın bu bölgeyi kaşınması için harcadığı zaman değerlendirilir (12, 14, 17-19). Bifazik cevap tüm formalin konsantrasyonlarında gözlenir. İnterfazdaki ağrısız geçen dönemin ise başlangıçtaki ağrı ile tetiklenen otoanaljezinin yansıması olduğu bildirilmektedir. İnterfazdaki ağrı düzeyi formalin konsantrasyonundan bağımsızdır ve çevrenin sıcaklığından etkilenebilir. Formalin testinde ağrıyı değerlendirirken tek bir davranıştan ziyade davranışların kombinasyonunu alarak değerlendirme yapmak daha doğru sonuç verir (20).

2.1.5. Glutamat Testi

Eksitator amino asitler olan glutamat ve aspartat memeli santral sinir sisteminde duyuşal nörotransmitterlerdir. Yakın zamanda yapılan çalışmalar ekzojen olarak uygulanan glutamatın periferel glutamat reseptörlerini uyararak primer afferent C liflerini depolarize ettiğini ve ağrı davranışları oluşturduğunu bildirmektedir (15, 21).

Glutamatın i.pl. olarak fare arka pençesine injeksiyonu çabuk başlayan ve yaklaşık 15 dakika kadar kısa süren nosisepsiyon ve doza bağılı olarak ödem oluşumu ile sonuçlanır. Bu nosiseptif cevap büyük oranda NMDA ve non-NMDA reseptörleri ve glisin modölatör bölgesi ile ilgilidir (22, 23). Periferel deriye glutamat uygulanması izole spinal kord-kuyruk preparatında nosiseptif refleks aktivitesini uyarmaktadır. Bu da periferel glutamatın primer afferent C liflerini depolarize etmesi ile uyumludur. Sıçan pençesinde tüysüz deride miyelinsiz aksonlarda ve dorsal kök gangliyon hücre gövdelerinde önemli oranda NMDA, AMPA ve kainat reseptörleri histokimyasal boyama ile gösterilmiştir. Glutamat antagonistlerinden MK-801 ve CNQX periferel inflamasyon ile oluşan nosiseptif davranış ve hiperalejiyi önlemişlerdir (15, 21).

Ayrıca glutamat daha düşük konsantrasyonları ile termal veya mekanik hiperaleji oluşturmak amacıyla da pençeye injekte edilerek çalışılabilir (25). Farede yapılan bir çalışmada i.pl. uygulanan glutamatın oluşturduğu nosisepsiyonun kapsaisine duyarlı lifler ve duyuşal nöronlardan salınan nörokininler ile NK₂ ve daha az oranda NK₁ reseptörlerin uyarılması aracılığı ile olduğu gösterilmiştir. Ayrıca bradikinin B₁ reseptörlerinin uyarılması da oluşan bu nosisepsiyonda etkilidirler (22). Sıçanın tüylü derisine uygulanan glutamatın C ve A δ liflerinde oluşturduğu uyarılma lokal morfin uygulanması ile azaltılmış ve morfinin bu etkisi nalokson ile geri çevrilebilmiştir (26). Periferel bölgelerde glutamat C lifleri üzerindeki NMDA ve non-NMDA iyonotropik glutamat reseptörlerini uyararak, özellikle inflamasyon durumlarında nosisepsiyonda fasilitasyona yol açarken, adenozinin C lifleri üzerindeki A₁ reseptörleri aracılığı ile nosisepsiyonu inhibe ettiği bildirilmiştir. Sıçan pençesine glutamat injeksiyonu ile kapsaisine duyarlı primer afferentlerden adenozin salındığı periferel mikrodiyaliz aracılığı ile gösterilmiştir (25).

2.2. ANTİDEPRESAN ETKİLİ DROGLAR VE VENLAFAKSİN

Venlafaksin depresyon tedavisinde kullanılan bir ilaçtır. Günümüzde majör depresyon tedavisinde kullanılan ilaçlar etki mekanizmalarına göre başlıca iki ana gruba ayrılırlar; I- Sinaptik aralığa salıverilmiş olan noradrenalin ve/veya 5-HT'nin presinaptik uca geri alımını (re-uptake) inhibe edenler II- Biyojenik aminleri yıkan monoamin oksidaz (MAO) enzimini inhibe edenler.

Birinci gruptaki ilaçlar etki mekanizmaları, farmakolojik etki profilleri ve kimyasal yapıları bakımından 1) Trisiklik antidepresanlar (TCA) 2) Seçici 5-HT Geri Alım İnhibitörleri (SSRİ) 3) Seçici 5-HT/Noradrenalin Geri Alım İnhibitörleri (SSNİ) gibi sınıflara ayrılmışlardır (27). Bu sınıflandırma Tablo 2.2.'de özetlenmiştir.

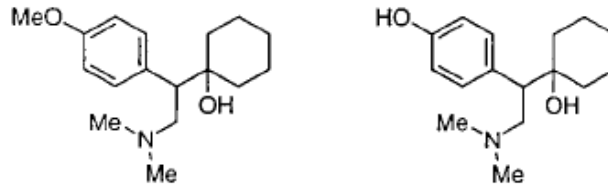
Tablo 2.2. Antidepresanların sınıflandırılması (27).

1- Trisiklik Antidepresanlar (TCA): Amitriptilin, imipramin, desipramin, doksepin, nortriptilin
2- Seçici 5-HT Geri Alım İnhibitörleri (SSRİ): Fluoksetin, paroksetin, sertralin, sitalopram, fluvoksamin
3- Seçici 5-HT/Noradrenalin Geri Alım İnhibitörleri (SSNİ): Venlafaksin, milnasipran, duloksetin
4- MAO inhibitörleri: Moklobemid, tranilsipromin

Trisiklik antidepresanlar sinaptik aralıktan 5-HT ve noradrenalinin geri alımını baskılayıcı etkilerinin yanı sıra, muskarinik, α -adrenerjik, histaminerjik (H_1 ve H_2) reseptörleri de antagonize ederler. 1950'lerden beri kullanılan TCA'lara depresif hastaların ancak yaklaşık % 60-65 nin yanıt vermesi, klinik etkinliğin 2-3 haftadan önce belirginleşmemesi, tedavi indekslerinin dar olması ve antikolinerjik, adrenolitik ve antihistaminik etkilerine bağlı olarak oluşan ciddi yan etkileri 80'li yıllarda yeni antidepresan ilaçların geliştirilmesine yol açmıştır. Ancak kimyasal yapıları farklı, istenmeyen etki çeşidinin daha azaldığı ama klinik yanıtın çıkış süresinin değişmediği öne sürülen bu yeni ilaç grubu TCA'lara göre antidepresan tedaviye çok önemli katkılar getirememiştir. Bunlar 5-HT geri alımını seçici olarak baskıladıkları için "seçici 5-HT geri alım inhibitörleri" ve kısaca SSRİ başlığı altında yeni bir kuşak oluşturmuşlardır. Son kuşak olarak da TCA'lar gibi hem 5-HT hem de noradrenalin geri alımını inhibe eden ama onlar gibi diğer sistem ve reseptörleri etkilemedikleri öne sürülen "seçici 5-HT/ Noradrenalin geri alım inhibitörleri" (SSNİ) sentezlenmiştir (27, 28).

2.2.1. Venlafaksinin Kimyasal Yapısı

Feniletilamin yapısında, tersiyer, bisiklik bir bileşik olan olan venlafaksin kimyasal yapı olarak diğer antidepresanlardan farklıdır. Kimyasal formülü; 1-[2-(dimetilamino)-1-(4-metoksifenil)-etil]sikloheksanol'dür (29-31). $C_{17}H_{22}NO_2$. HCl tuzunun molekül ağırlığı 313.87, sudaki çözünürlüğü 572 mg/ml, partiyon katsayısı (oktanol/su): 0.43, erime noktası ise 215-217 °C'dir (29). Venlafaksin, R(-) ve S(+) enantiyomerlerinin eşit miktarlarda bir araya gelmesinden oluşan rasemik bileşiktir (32). Aynı grupta bulunan venlafaksin ve milnasipran tersiyer, duloksetin ise sekonder amin yapısındadır (27, 28).



Şekil 2.2.. Venlafaksin ve metaboliti olan O-desmetilvenlafaksin (ODV) kimyasal yapısı (33)

2.2.2. Venlafaksinin Farmakokinetik Özellikleri

Venlafaksin oral yoldan uygulandığında tüm türlerde gastrointestinal kanaldan iyi bir şekilde absorbe olur. Bununla birlikte insandaki biyoyararlanımının % 10-45, sıçandakinin % 12.6, maymundakinin % 6.5 olması büyük ölçüde ilk geçişte eliminasyona uğradığını gösterir. Köpektaki biyoyararlanımı çok daha yüksektir (% 59.8) (34-36). Venlafaksin vücutta yüksek oranda dağılma kapasitesine sahiptir ve düşük oranda proteine bağlanır. İnsanda plazma proteinlerine venlafaksin % 27 ± 2 oranında ve metaboliti olan ODV ise % 30 ± 12 oranında bağlanır. Sağlıklı bir erişkinde dağılımın kararlı durum hacmi ise yaklaşık 6-7 l/kg'dır. Pik zamanı venlafaksin için 2 ± 0.4 saat, ODV için 2.8 ± 0.8 saattir (34, 37). Venlafaksin tüm türlerde karaciğerde büyük ölçüde biyotransformasyona uğrar. Demetilasyon ve konjugasyon ortak metabolik yolak olmakla birlikte idrardaki metabolitler türler arasında farklılık göstermektedir (35). Venlafaksinin insandaki majör metaboliti olan ODV'ye biyotransformasyonu % 89 CYP2D6, % 10 CYP2C19 ve % 1 CYP2C9 sitokrom enzimleri aracılığı ile olur (32). Venlafaksinin sıçandaki yarılanma ömrü 1 saat, insandaki 5 saattir ve ODV'nin insandaki yarılanma ömrü ise 11 saattir. Venlafaksinin bundan başka 2 majör metaboliti N-desmetilvenlafaksin (NDV) ve N,O-didesmetilvenlafaksindir (33). NDV oluşumu ise

CYP3A4, CYP2C19 ve CYP2C9 enzimleri ile olur (32). Venlafaksinın uygulanan dozunun maymunda % 0.3, farede % 13.8, köpekte % 8, sıçanda % 2 ve insanda % 5 oranında idrarla metabolize olmadan atıldığı bildirilmektedir. İdrarda gözlenen esas metabolitler; farede % 14.5 oranında N,O didesmetil venlafaksin, sıçanda % 14.9 oranında sis-1,4-dihidroksisiklohegzil-venlafaksin, köpekte % 19.7 oranında ODV glukuronat, maymunda % 13.1 oranında N,N,O-tridesmetil-venlafaksin ve insanda % 29.4 oranında ODV'dir (35, 36). Sıçanlara 2 hafta boyunca venlafaksin uygulandıktan sonra serumda, beyin parenkimasında ve ayrıca beyinden toplanan diyalizatlarda venlafaksinın oldukça değişik miktarlarda bulunduğu tespit edilmiştir. Bunda lipid çözünürlüğü, proteine bağlanma oranı ve molekül ağırlığı gibi faktörler rol oynar. Serumdaki venlafaksin düzeyinin beyin parenkimasındakinden 3 kat daha düşük olduğu bulunmuştur. Kan ve beyin arasında yakın farmakokinetik korelasyon olduğu bildirilmektedir (37). Ekskresyon büyük oranda böbrekler yolu ile olur. İntragastrik yoldan sıçan ve fareye uygulanan radyoaktif venlafaksin türevinin büyük kısmı 24 saat içerisinde, köpek, maymun ve insanda (oral yoldan) ise 48 saat içerisinde idrarda gözlenmiştir (35).

2.2.3 Venlafaksinın Farmakodinamik Özellikleri

Venlafaksinın antidepresan etkisini beyinde sinir ucundan 5-HT ve noradrenalinin nöronal geri alımını inhibe etmek suretiyle gösterdiği bildirilmektedir. Az oranda da dopaminin nöronal geri alımını bloke eder. Ancak bu etkisinin antidepresan etkisine katkısı olup olmadığı tam olarak bilinmemektedir. 5-HT geri alımını noradrenalin geri alımına göre 3 kat, dopamin geri alımına göre ise çok daha fazla oranda inhibe eder. Bazı kaynaklarda TCA'lardan farklı olarak kalp hücrelerinde hızlı sodyum (Na^+) kanalları üzerine etkisi olmadığı bildirilmektedir (30). Ancak izole kobay ventriküler miyositlerinde yapılan çalışmada konsantrasyona bağlı olarak ve sınıf I antiaritmiklerden ve TCA'lardan farklı bir şekilde istirahat durumundaki Na^+ kanallarını bloke ettiği gösterilmiştir (38). Ayrıca TCA'lar gibi α -adrenerjik, muskarinik, histaminerjik ve serotonerjik reseptörlerle etkileşmediği bildirilmekle birlikte bazı kaynaklara göre az da olsa antikolinerjik etkiye sahiptir (30, 39, 40). Venlafaksin ve duloksetinin aşağıdaki reseptörler için medyan inhibitör konsantrasyon (IC_{50}) değerinin 1 mikromaldan (μM) büyük olduğu bildirilmiştir. Parantez içlerindeki harfler reseptörün ait olduğu canlıyı tanımlamaktadır; sıçan R, sığır S, fare F, insan İ, kobay K harfleri ile belirtilmiştir;

adenozin A₁ (R), -A₂ (S), adrenerjik - α_{1A} (R), - α_{1B} (R), - α_{2A} (İ), - α_{2B} (F), - β_1 (R), - β_2 (R), dopamin D₁ (R), GABA_A (S), glutamat AMPA, kainat, NMDA, MK-801 bağlanma yeri (R), nörokinin-NK₁ (R), -NK₂ (İ), -NK₃ (R), histamin -H₂ (K), opyoid - μ (R), - δ (R), - κ (K), somatostatin (R), nörotensin (R), nöropeptid Y (İ) (41).

Tablo 2.3. Duloksetin ve venlafaksinin çeşitli reseptörler ve monoamin oksidaz (MAO) enzimi için IC₅₀ değerleri tabloda verilmiştir. 5-HT₄ reseptör alttipi kobay striatumuna, diğerleri ise insana aittir (41).

Reseptör Alt-tipi	IC ₅₀ (nM)	
	Duloksetin	Venlafaksin
5-HT _{1A}	>5000	>1000
5-HT _{1B}	3959 ± 810	>1000
5-HT _{1D}	>3000	>1000
5-HT _{1E}	3733 ± 618	>1000
5-HT _{1F}	4447 ± 30	>1000
5-HT _{2A}	504 ± 87	2230 ± 723
5-HT _{2B}	2100 ± 206	>10000
5-HT _{2C}	916 ± 190	2004 ± 808
5-HT ₄	>1000	>10000
5-HT ₆	419 ± 89	2792 ± 431
5-HT ₇	2261 ± 206	>10000
Muskarinik	3000	>10000
Dopamin D ₂	14000	>10000
α_1 adrenerjik	8300	>10000
α_2 adrenerjik	8600	>10000
Histamin H ₁	2300	>10000
MAO A	87000	>100000
MAO B	18000	>100000

Bütün bunlar TCA'larla kıyaslandığında venlafaksinin geniş tedavi indeksine sahip olması ve daha az yan etkiyle iyi bir antidepresan etkinliğe sahip olması gerektiğini öne

sürer. Antidepresan olarak kullanıldığında diğer antidepresanların etkisi 3-4 haftada başlarken venlafaksinın etkisi 2 hafta gibi daha kısa zamanda başlar (30). Antidepresanların çoğunun kronik uygulama sonrası β -adrenerjik reseptörleri down-regüle ettikleri gösterilmiştir ve bu etki antidepresanların klinik etkinliklerinin başlaması ile ilişkilendirilmiştir (30, 33). Venlafaksin antidepresanlar arasında tek doz uygulama sonrası β -adrenerjik reseptörleri down-regüle etmesi bakımından tektir. Antidepresan etkisinin diğer ilaçlara göre çabuk başlamasında bu özelliğinin katkısı olabileceği konusunda fikirler öne sürülmüştür (30). Venlafaksinın enantiyomerleri arasında in vitro stereoselektiflik gözlenmiştir. (S) izomer primer olarak 5-HT geri alımını inhibe ederken, (R) izomer hem noradrenalin hem de 5-HT geri alımını inhibe etmektedir (32). Birçok antidepresan gibi venlafaksin de farmakolojik olarak aktif bir metabolite sahiptir. Metaboliti olan ODV venlafaxinden daha uzun yarılanma ömrüne sahiptir ve venlafaksinın terapötik etkisinde katkısı vardır (28, 33). Venlafaksinın minör metabolitleri olan NDV ve N,O-didesmetilvenlafaksin zayıf noradrenalin ve 5-HT geri alım inhibitörleridir ve terapötik etkileri önemsizdir (33). Venlafaksin 75-225 mg/gün dozlarında uygulandığında imipramin, klomipramin, trazodon ve fluoksetin kadar etkili bir antidepresandır. Yüksek dozlarda etkideki artış bu dozlarda ortaya çıkan ikinci bir etki mekanizması varlığı ile uyumludur. Preklinik çalışmalar 150 mg/gün ve daha yüksek dozlarda noradrenalin geri alım inhibisyonunun kliniğe yansıdığını bildirmektedir. 225 mg/gün dozunda uygulandığında antidepresan etkisi SSRİ'lerle gözlenenden % 50 daha fazladır. Düşük dozlarda venlafaksinın antidepresan etki profili SSRİ'ler gibidir. Eğer hasta cevap vermiyorsa ikinci mekanizma yani noradrenalin geri alımının inhibisyonu mekanizması aktif olana kadar doz artırılarak yanıt alınabilir (30). Venlafaksin çoğu hasta tarafından TCA'lara göre daha iyi tolere edilir. Yüksek doz sıklıkla bulantı ve kusma oluşturduğundan zehirlenmeyi de önleyebilir. Venlafaksin ile en sık karşılaşılan yan etkiler bulantı (% 18.5), baş dönmesi (% 14.8) ve uyku halidir (% 12.6). Birkaç hafta kullanıldıktan sonra SSRİ'ler gibi ejakülasyon bozukluğu ve impotens gibi seksüel disfonksiyonlara neden olabilir. 225 mg/gün gibi daha yüksek dozlarda hipertansiyon, terleme ve tremor gibi SSRİ'lardan farklı etkiler oluşturabilir. Hipertansiyon muhtemelen noradrenalin geri alımın inhibisyonu sureti ile olabilir. Klinik denemelerde hastaların % 3'ünde gelişen hipertansiyon % 1'inden daha azının ilacı bırakmasını gerektirmiştir. 225 mg/gün dozda 2 mmHg, 375 mg/gün dozda uygulandığında ise 7.5 mmHg kan basıncı artışı gözlenmiştir. Bu nedenle 225 mg/gün veya daha fazla doza devam eden hastaların

tedavinin ilk iki ayı boyunca tansiyonlarını kontrol ettirmeleri gerekir. Dik doz cevap eğrisine sahip olması, antidepresan etkinin hızlı bir şekilde ortaya çıkması, geniş terapötik indekse sahip olması ve hospitalize majör depresyonlu hastalarda plasebo ve fluoksetine kıyasla çok daha fazla etkili olması venlafaksinın avantajlarıdır. Dezavantajları ise kan basıncını yükseltme potansiyeli ve günde 2 kez kullanılması gerektiğidir (28, 30, 42). İn vitro ve klinik çalışmalar göz önüne alındığında venlafaksinın plazma proteinlerine düşük oranda bağlanması ve in vitro olarak zayıf sitokrom P450 (CYP) izoenzim inhibitörü olması nedeniyle potansiyel drog etkileşim olasılığı çok azdır. Venlafaksin in vitro olarak CYP2D6 enzimini çok zayıf şekilde inhibe eder. Ancak kinidin ve bazı antipsikotikler gibi CYP2D6 enzim inhibitörleri ile venlafaksinın ODV'ye dönüşümü azalabilir fakat bu antidepresan etkiyi pek değiştirmez (43). Yüksek dozlarda gözlenen QRS uzaması ve proaritmik etkisinin kalpteki hızlı Na⁺ kanallarını blokasyonundan kaynaklanabileceği öne sürülmüştür. Bu nedenle CYP2D6 enzim inhibitörleri ile kombine uygulandığında venlafaksinın yıkılımı azalarak kalpteki istenmeyen etkileri ortaya çıkabilir (38).

2.2.4. Venlafaksinın Analjezik/Antinosiseptif Etkisi

Antineoplastik ilaç olan vinkristin ile sıçanlarda oluşturulan nöropatik ağrıda venlafaksinın doza bağlı olarak hiperaljeziyi inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu etkisinde spinal ve supraspinal mekanizmaların aracılık edebileceği öne sürülmüştür (44).

Sıçan kronik konstrüktif hasar (KKH) modelinde ise venlafaksin 22 mg/kg p.o. yoldan tekrarlı uygulama ile sedasyon oluşturmaksızın kronik ağrı oluşumunu engellemiş, gelişen nöropatik ağrı sonrasında uygulandığında ise antinosiseptif etki göstermiştir. Amitriptilin ise bu modelde 10 ve 30 mg/kg per oral (p.o.) uygulama ile sedatif etki de göstererek ağrı oluşumunu engellemiştir (45). Bir akut termal nosisepsiyon modeli olan hot-plate testinde fareye 30 mg/kg dozunda i.p. venlafaksin uygulandığında oluşan antinosiseptif etki nalokson (non selektif opyoid reseptör antagonisti), nor-BNI (selektif κ_1 reseptör antagonisti) ve naltrindol (δ reseptör antagonisti) ile inhibe edilirken B-FNA (selektif μ_1 ve μ_2 antagonisti) ve naloksonazin (selektif μ_1 antagonisti) ile değişmemiştir. Aynı çalışmada antinosiseptif etki yohimbin (selektif α_2 -adrenerjik antagonisti) ile azalırken, fentolamin (α_1 - α_2 adrenerjik antagonisti) ya da metergolin (non selektif serotonin reseptör antagonisti) ile değişmemiştir. α_2 agonist olan klonidin ve κ_1 , κ_3 , δ -opyoid reseptör agonistleri ile kombine uygulandığında venlafaksinın etkisi potansiyalize

olmuştur. Bu sonuçlara dayanarak venlafaksin farede hot-plate testinde oluşturduğu antinosiseptif etkide α_2 , κ_1 , κ_3 , δ reseptörlerinin rol aldığı bildirilmiştir (46). Mononöropatik sıçanlara 1 saat ara ile 5 kez 10 mg/kg s.c. olarak uygulanan venlafaksin 5. uygulamadan sonra özellikle 10 mg/kg dozunda belirgin antihiperalezik etki oluşturmuştur. P-klorofenilalanin (pCPA; 5-HT sentez inhibitörü) ve α -metil-p-tirozin (AMPT; noradrenalin sentez inhibitörü) venlafaksin antihiperalezik etkisini belirgin ölçüde inhibe etmişlerdir. 1 mg/kg nalokson ile etki değişmemiştir. Bu veriler venlafaksin etkili olmak için noradrenerjik ve serotonerjik sistemlere ihtiyaç duyduğunu ancak TCA'ların aksine endojen opyoid sistemlerle etkileşmediğini göstermiştir (47). Venlafaksin faredeki antidepresan etkisinin ise non-selektif opyoid reseptör antagonisti olan naloksonun yüksek dozu (2 mg/kg s.c.) ile inhibe edildiği bildirilmiştir (48). Fareye venlafaksin ile birlikte uygulanan kafeinin hot-plate testinde antinosiseptif etkiyi azaltması, venlafaksin antinosiseptif etkisinde adenozerjik sistemin rolünün olabileceğini düşündürmektedir (49).

Venlafaksin insanda analjezik etkisine ilişkin ilk veri olarak sertralin ile fayda görememiş nöropatik ağrılı hastaya venlafaksin uygulanması ile ağrının dinmesinden bahsedilmiştir (40). Başka bir gözlemede amitriptilinin diyabetik nöropatik ağrılı hastalarda oldukça etkili olduğu ancak bazı hastalarda neden olduğu sedasyon ve postural hipotansiyon gibi yan etkilerinin tolere edilemediği bildirilmektedir. Bu hastalara günde 2 kez olmak üzere 37.5 mg venlafaksin uygulanması 2-8 günde oldukça etkili olmuştur. Bazı hastalarda neden olduğu bulantı tedaviyi bırakmaya neden olmamıştır (50). Bir başka gözlemede ise bir çok analjezik uygulanmış ancak fayda görmemiş periferik diyabetik nöropatili bir hastaya venlafaksin gabapentin ile kombine uygulanmasının oldukça faydalı olduğu bildirilmiştir (51).

Randomize, çift kör olarak migrenlilerde yapılan çalışmada venlafaksin de amitriptilin kadar etkili bulunmuştur. Amitriptilinin neden olduğu ağız kuruluğu, uyku hali, sedasyon, konsantrasyon güçlüğü gibi yan etkiler bazı hastalarca çalışmayı bırakmalarına neden olurken, venlafaksin ile sıkça gözlenen bulantı ve kusma ancak ilk üç gün antiemetik metoklopiramid kullanılarak hastaların venlafaksinden faydalanmaları sağlanabilmiştir (52).

2.3. ANTİDEPRESANLARIN ANTİNOSİSEPTİF/ANALJEZİK ETKİLERİ

Antidepresanların analjezik etki gösterdikleri uzun zamandır bilinmektedir. Son dönemlerdeki klinik çalışmalarla; nörojenik ağrı sendromlarında (ağrılı diyabetik nöropati, postherpetik nevralji, başağrıları, fasiyal ağrı), romatolojik hastalıklarda (romatoid artrit) ve kanser ağrısında etkili oldukları gösterilmiştir. Analjezik etkileri antidepresan etkilerinden bağımsızdır. Depresif olmayan gönüllülerde de analjezik etki göstermelerine, analjezik etkilerinin antidepresan etkilerinden çok daha kısa sürede başlamasına ve analjezik etki oluşturdukları dozlarının antidepresan dozlarından çok daha küçük olmasına bağlanmaktadır (53).

Sistemik olarak uygulanan antidepresanlar klinikte çeşitli kronik ve nöropatik ağrı durumlarında kullanılmaktadır. Nosisseptif, inflamatuvar ve nöropatik ağrı ile ilgili hayvan çalışmalarında, antidepresana, kullanılan teste, uygulama yoluna ve uygulama süresine bağlı olarak antinosiseptif etki göstermişlerdir. Antidepresanlar analjezik olarak kullanılmalarına rağmen etki mekanizmaları tam olarak bilinmemektedir. Analjezik etki mekanizmalarına yönelik yapılan çalışmalar spinal ve supraspinal mekanizmalara odaklanmasına rağmen son zamanlarda antidepresanların periferik analjezik etkilerinin de olabileceği öne sürmüştür. Bu etkileri antidepresanların topikal formülasyonlarının analjezik olarak kullanılma olasılığını ortaya koymuştur (54). Antidepresanların analjezik/antinosiseptif etkilerine aracılık edebilecek çeşitli santral mekanizmalar (nörotransmitterler, reseptörler ve iyon kanalları) aşağıda özetlenmiştir;

- **5-HT ve Noradrenalin:** Serotonerjik ve α -adrenerjik reseptör antagonistleri çeşitli testlerde antidepresanlarla oluşan antinosisepsiyonu inhibe etmişlerdir. Benzer şekilde santral noradrenalinin α -metil-p-tirozin ve 5-HT'nin p-klorofenilalanin ile deplesyonu antidepresanların antinosiseptif etkisini inhibe etmiştir (54, 55). İmipramin ve desipramin gibi TCA grubu antidepresanlarla yapılan çalışmalarda antinosiseptif etkilerinde santral α_1 ve 5-HT₂ reseptörlerinin rolü olduğu gösterilmiştir (55, 56). Diğer taraftan amitriptilin, sibutramin, paroksetin ile yapılan çalışmalarda antinosiseptif etkide α_2 adrenerjik reseptörlerinin önemli rolü olduğu bildirilmektedir (57). α_{2A} adrenerjik reseptörü silinmiş farede amitriptilinin antinosiseptif etkisinin ortadan kalktığı bildirilmiştir (58). Ayrıca özellikle TCA antidepresanlar bazı α -adrenerjik, histaminerjik, serotonerjik, muskarinik ve nikotinik reseptörleri inhibe ederler ve bir çok yan etkilerinin oluşmasında bu inhibisyon rol oynar. Bu mekanizmaların santral

yolla ağrıyı da etkileyebileceği düşünölmekle birlikte yapılan çalışmalar muskarinik ve nikotinik reseptörler için agonistik etkili maddelerin analjezik etkili olduklarını göstermiştir (3).

- **Opyoidler:** TCA ve diğer bazı antidepresanların analjezik etkileri opyoid reseptör antagonisti nalokson ile inhibe edilirken, enkefalinaz inhibitörleri ile artırılmıştır (46, 59, 60). Akut radyoligand bağlanma çalışmalarında antidepresanlar opyoidleri bağlandıkları yerden uzaklaştırırken, kronik antidepresan uygulaması ile opyoid reseptör dansitesinin değiştii ve beynin bazı bölgelerinde endojen opyoid düzeyinin arttığı bildirilmiştir. Yani antidepresanlar hem doğrudan hem de dolaylı yollarla opyoid reseptörlerini etkileyebilmektedirler (54). Ancak antidepresanların antinosiseptif etkileri ve bu etkide rol alan mekanizmaların uygulanan maddeye ve teste bağlı olarak değişebildiği bildirilmiştir (60). Örneğin imipraminin farede oluşturduğu antinosiseptif etkide GABA_B reseptörlerinin rolü olduğu antagonist uygulanarak gösterilirken (61), fluoksetinin diyabetik nöropatili farede oluşturduğu antinosiseptif etkisi nalokson ve atropin ile antagonize edilebilmiştir (62).

- **Eksitatör Amino Asit (EAA) Reseptörleri:** Kronik ağrıda santral sensistizasyon yer alır ve EAA reseptörlerinin rolü vardır. Antidepresanlar NMDA reseptörlerine bağlanarak NMDA'nın oluşturduğu Ca⁺² akümülyasyonunu azaltırlar. Bununla birlikte antidepresanlara kronik maruziyet NMDA reseptörüne bağlanmayı değiştirir. Spinal NMDA ile oluşun hiperaljezi spinal uygulanan antidepresanlarla inhibe edilebildiğinden spinal analjezide önemli bir mekanizma olabilecekleri öne sürölmektedir (54).

- **Adenozinerjik Sistem:** Adenozin spinal ve supraspinal analjezik etki gösteren bir maddedir. Yapılan çalışmalar adenozinin sistemik antinosiseptif etkisinin dorsal boynuzda pre- ve postsinaptik inhibitör etkiler gösteren A₁ reseptör aktivasyonu aracılığı ile olduğunu öne sürmektedir. Opyoidlerin etkilerinde bile adenozinin rolü olduğuna dair deliller vardır. Morfinin sinirlerden adenozin saldığı ve adenozin reseptör antagonistlerince morfinin analjezik etkisinin antagonize edilebildiği bildirilmektedir (54, 63, 64). TCA grubu antidepresanlar da beyin sinaptozomal preparatlarında adenozin geri alımını inhibe ederler (65). Metilksantinlerin nosiseptif ve nöropatik ağrı modellerinde antidepresanların etkilerini azalttıkları gösterilmiştir (54, 66).

- **İyon Kanalları:** Antidepresanların µM konsantrasyonlarda sinir preparatlarında Na⁺, Ca⁺² ve K⁺ kanal aktivitelerini değiştirdikleri bilinmektedir (54). TCA'ların Na⁺ kanal blokör aktivitesinin olduğu ve amitriptilinin intratekal (i.t.) uygulama sonrası

bupivakainden daha uzun süreli ve daha potent spinal anestezi etki gösterdiği bildirilmiştir (67). Na⁺ kanal blokörleri olan antikonvülsan ilaçlar, lokal anestezi etki ve Ca²⁺ kanal blokörleri grubu ilaçlar kronik ağrı modellerinde analjezik etki göstermişlerdir. Ancak antidepresanlar Ca²⁺ kanallarından L-tipini bloke ederken, analjezik etki N-tipi Ca²⁺ kanal blokörlerinde gözlenmiştir. K⁺ kanalları için antikor oligonükleotidlerin santral olarak uygulanması suretiyle K⁺ kanalları sentezinden sorumlu genin inhibisyonu ile amitriptilin ve desipraminin analjezik etkileri inhibe edilmiştir (54). Amitriptilin ve desipraminin santral analjezik etkisinde çeşitli tiplerdeki K⁺ (voltaja bağımlı, K_{ATP} ve Ca²⁺'a bağımlı) kanallarının açılmasının rolü olduğu bildirilmektedir (68). Venlafaksin kanal blokör aktivitesi olmadığı bildirilmesine rağmen (30), izole kobay ventriküler miyositlerindeki Na⁺ kanallarını konsantrasyona bağlı olarak inhibe ettiği gösterilmiştir (38).

2.4. TOPİKAL VE PERİFERAL ANALJEZİKLER

Akut nosiseptif, inflamatuvar ve nöropatik ağrı bir dereceye kadar primer afferent nöronların periferik uyarılmasına dayanmaktadır. Bazı drogların topikal uygulama gibi lokal uygulanmaları ağrının olduğu bölgede drogun yüksek konsantrasyonda bulunmasına olanak sağlarken, sistemik istenmeyen etkilere ve drog etkileşimlerine daha az neden olmaktadır. Ayrıca sistemik uygulamada olduğu gibi terapötik aralıkta doz titrasyonuna gerek kalmamaktadır. Duyusal nöronların aktivasyonu çok sayıda mediyatörleri içerdiğinden özellikle değişik mekanizmalar üzerinden etkili ajanları kombine etmek daha kullanışlı olabilir. Topikal analjezikler gelecekteki drog geliştirmelerinin ümit verici alanı olarak görülmektedir (8). Topikal analjezik olarak kullanılmakta olan ve kullanılabilecekleri öne sürülen bazı droglar şunlardır;

I- NSAİİ; İnsanlarda NSAİİ'lar topikal olarak uygulandıklarında kütanöz ve çizgili kas ağrı modellerinde analjezi oluşturmuşlardır. İskelet-kas ve yumuşak doku hasarlarında ve romatizmal durumlarda yapılan çalışmalarda jel, sprey gibi farmasötik şekillerde topikal olarak uygulanmaları oldukça etkili olmuştur (8, 69, 70).

II- Opyoidler; Morfinle periferik analjezi dış cerrahilerinde, intraartiküler uygulama ile diz ameliyatlarında ve artrit durumlarında gösterilmiştir. Sinoviyal lökosit miktarını azalttığından olası antiinflamatuvar etkisinin ağrıyı dindirmede katkısı olabileceği öne sürülmüştür. Bu şekilde uygulama ile hiçbir yan etki bildirilmediğinden ve ayrıca

oppyoidlerin neden olduğu santral istenmeyen etkiler gözlenmediğinden kronik artrit durumlarında oppyoidler ümit verici yeni intraartiküler ajanlar olarak görülebillerler. Somatik bölgelere yanık nedeniyle oluşan ağrılı ülserlerde ve deri lezyonlarında topikal uygulandığında da pek az yan etki ile fayda sağlanmıştır (8, 71, 72).

III- Kapsaisin; Kapsaisin küçük çaplı duyuşal afferent lifleri selektif olarak uyarır, desensitize eder ya da bu liflerde nörotoksik etki gösterir. İnsanlara akut intradermal kapsaisin uygulaması ise yanma hissi ve kabarıklık oluşmuş ve bu alanda mekanik ve termal uyarıya karşı hiperaljezi gelişmiştir. Normal deriye tekrarlı kapsaisin uygulanması ile bu etkilere karşı desensitizasyon gelişmesi topikal kapsaisinin insanda terapötik amaçla kullanılmasına temel teşkil eder. Piyasalarda % 0.025 ve 0.075'lik topikal preparatları mevcuttur ancak Türkiye'de henüz preparatı yoktur (8, 73). Topikal kapsaisin postherpetik nevralkji, diyabetik nöropati ve osteoartrit gibi durumlarda tek başına tedavi olmaktan çok diğere yaklaşımlara adjuvan olarak görülmektedir (73, 74).

IV- Lokal anestezipler; Sinir hasarını ya da kronik inflamasyonu takiben voltaj bağımlı Na⁺ kanallarının ekspresyonunda, dağılımında ve fonksiyonunda değışiklikler olduğu ve bunun da primer afferent nöronların aşırı derecede ateşlenmesine ve ağrı oluşumuna neden olduğu bildirilmektedir. Lokal anestezipler sistemik uygulandıklarında da ağrı durumlarında etkilidirler ancak yan etkileri bu şekilde kullanımlarını kısıtlamaktadır. Lokal anesteziplerin topikal formülasyonları topikal anestezipler olarak akut minor cerrahi girişimler için yaygın şekilde kullanılmaktadırlar ve postherpetik nevralkji gibi kronik ağrı durumlarında etkili olduklarına dair raporlar vardır. Lidokainin % 5'lik jel şeklindeki topikal preparatının postherpetik nevralkjide sistemik yan etki göstermeksizin etkili olduğu bildirilmektedir (8, 75)

V- Antidepresanlar; Antidepresanların lokal periferik analjezik etkilerine yönelik bilgiler oldukça yeni olduğu için mekanizmalarına yönelik çalışmalar da oldukça azdır ve henüz sadece birkaç grup antidepresan ilacın lokal periferik analjezik etkinliğı çalışılmıştır (8, 54). Son zamanlarda tonik ağrı modeli olan formalin testinde ve kronik konstrüktif hasar ile oluşturulan nöropatik ağrı modelinde lokal olarak periferik uygulanan amitriptilin ve desipramin gibi bazı antidepresanlar antinosiseptik etkili bulunmuşlardır (76-79). TCA grubu bir antidepresan olan ve ekzema tedavisinde krem şeklinde kullanılan doksepinin krem formülasyonunun kronik nöropatik ağrılı hastalarda lokal olarak uygulanması ile analjezik etki gösterdiği bildirilmiştir (80). Ayrıca oral mukozal ağrısı olan kanser hastalarında yapılan çalışmada doksepin gargara şeklinde

uygulandığında analjezik etki oluşturmuştur (81). Amitriptilin-ketamin içeren kremin topikal olarak uygulanması ile periferel nöropatide etkili olduğu bildirilmiştir (82). Antidepresanların periferel antinosiseptif/analjezik etkilerine aracılık edebilecek olası mekanizmalar (nörotransmitterler, reseptörler, iyon kanalları) şunlardır;

- **5-HT ve Noradrenalin:** Periferel duyuşal sinir terminallerinde aminler mevcuttur ve burada bulunan α_1 , α_2 ve 5-HT_{1, 2, 3, 4} reseptörleri aracılığı ile ağrıyı fasilite edici etkiye sahip oldukları bildirilmektedir (54). 5-HT'nin primer afferent nöronlar üzerinde direkt etkisi ile oluşturduğu hiperaljeziye 5-HT_{1A} reseptörlerinin aracılık ettiği bildirilmektedir. İntradermal olarak pençeye injekte edilen 5-HT ve 5-HT_{1A} agonisti sıçanda mekanik uyarı ile oluşan pençe çekme testinde hiperaljezi oluşturmuşlardır ve 5-HT'nin bu etkisi 5-HT_{1A} reseptör antagonisti ile azalmıştır. Primer afferent nöronlarda 5-HT_{1A} ve 5-HT₃ reseptörlerinin varlığı da gösterilmiştir. 5-HT₃ reseptör aktivasyonunun ağrıdan, 5-HT_{1A} reseptörünün ise hiperaljeziden sorumlu olabileceği düşünülmektedir (83). Formalin testinde fentolamin (α_1 ve α_2 blokörü), propranolol (5-HT₁ antagonisti), ketanserin (5-HT₂ antagonisti), trosetron (5-HT₃ antagonisti) ve GR 113808 A (5-HT₄ antagonisti) amitriptilinden daha az olmak üzere nosiseptif davranışları inhibe etmişlerdir. Antidepresanların periferel antinosiseptif etki mekanizmalarını tam olarak aydınlatılabilmek için ilgili reseptörü çıkarılmış yani knock out hayvanlarla ya da belirtilen reseptöre spesifik oligonükleotid antiserumlarla çalışmak gerekir (54).

- **Opyoidler:** Periferdeki opyoid reseptörleri ve onların ağrıyı baskılayıcı etkileri özellikle inflamasyon durumunda önemlidir. Visseral afferentlerde yapılan elektrofizyolojik çalışmalarla TCA grubu antidepresanların periferel etkilerinin olduğu ve bu etkilerinin nalokson ile bloke edilebildiği gösterilmiştir (84). Ancak sıçan formalin testinde amitriptilinin lokal olarak pençeye injeksiyonu ile oluşan periferel antinosiseptif etki nalokson ile değişmemiştir (54, 76).

- **Eksitatör Amino Asit (EAA) Reseptör Antagonizması:** Son zamanlarda EAA reseptör antagonistlerinin periferel olarak uygulandıklarında formalin testinde antinosiseptif etki oluşturdukları bildirilmiştir (85). Ancak antidepresanların antinosiseptif etkilerinde tek mekanizma olarak görülmemelerinin nedeni; formalin testinde lokal periferel olarak uygulanan EAA reseptör antagonistlerinin pençeyi yalama ve ısırma davranışını azaltırken pençeyi sallama davranışı üzerine etkisiz kalmalarıdır. Oysaki antidepresanlar her iki davranışı da inhibe etmektedirler (54, 77, 79, 85).

- **Adenozin:** Sistemik olarak uygulanan antidepresanların antinosiseptif etkilerinin metilksantinler ile azaltılması periferik etkilerinin de kafein ile değişip değişmeyeceği fikrini akla getirmiştir. Kafeinin amitriptilin ile kombine uygulanması sıçan formalin testinde, diyabetik nöropati ve spinal sinir ligasyon modelinde amitriptilinin lokal periferik antinosiseptif etkisini azaltmıştır, ancak desipramininkini değiştirmemiştir. Amitriptilinin analjezik etkisinin adenozin reseptör antagonistleri ile azalması ve lokal amitriptilin uygulanması ile periferde adenozin düzeyinin arttığının gösterilmesi ile analjezik etkide lokal salınan adenozinin ve/veya adenozin A₁ reseptörlerinin aktivasyonunun rol alabileceği bildirilmektedir (66, 76, 78).

- **İyon Kanalları:** Lokal anestezipler ve antikonvülsan ilaçlar gibi Na⁺ kanal blokörlerinin periferik uygulanmaları ile kronik ağrı modellerinde analjezi oluşturmaları bu mekanizmanın antidepresanların periferdeki analjezik etkilerine aracılık edebilme olasılığını akla getirmiştir. Ancak amitriptilinin pençeye lokal injeksiyonundan sonra yapılan testlerde normal pençe reaksiyonlarında değişiklik olmaması, analjezik etkilerinde böyle bir mekanizmanın primer etkili olamayacağını düşündürmüştür (76).

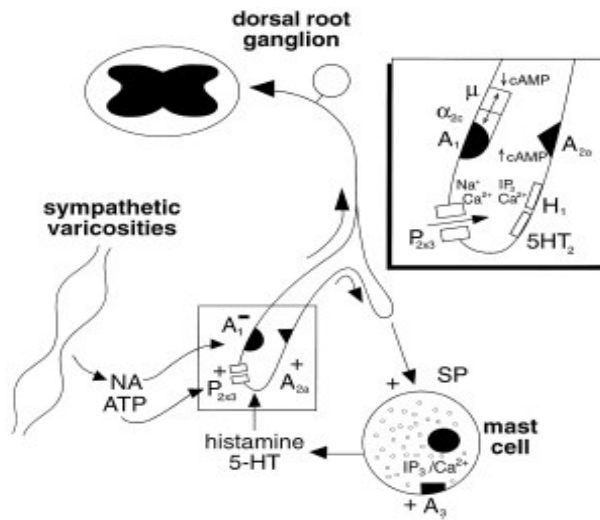
- **Diğer Reseptörler:** Histamin ve asetilkolin periferik ağrı sinyallerini facilitate edebildiklerinden bunlara ait reseptörlerin blokajı periferik analjezide rol oynayabilir. Bu olasılıktan dolayı yapılan çalışmalarda mepiramin (Histamin H₁ reseptör antagonisti), atropin (muskarinik reseptör antagonisti) ve mekamilaminin (nöronal nikotinik reseptör antagonisti) sıçan formalin testinde pençeyi sallama davranışını amitriptilinden daha az etkiledikleri veya hiç etkilemedikleri bildirilmiştir. Bundan dolayı bu mekanizmaların antidepresanların periferik antinosiseptif etkilerinde rolleri olsa da esas mekanizmalar olamayacakları ancak kesin bir şeyler söyleyebilmek için reseptöre yönelik moleküler teknikler gerektiği bildirilmektedir (54, 76).

VI- Glutamat reseptör antagonistleri; Glutamat reseptör antagonistlerinin sistemik ve spinal uygulanmaları çeşitli ağrı durumlarında analjezi oluşturmaktadır. Ancak istenmeyen motor ve diğer bazı etkileri kullanımını kısıtlayabilmektedir. Periferik sinir terminallerinde çeşitli glutamat reseptörlerinin varlığı gösterilmiştir. Formalinin oluşturduğu nosisepsiyonda ve ayrıca diz eklemine uygulanan kaolin ve karragenin ile oluşan hiperanaljezide, iyonotropik ve metabotropik reseptör antagonistlerinin lokal uygulanmaları etkili olmuştur. Periferik glutamat reseptörlerinin ağrıya katkıları inflamasyon ya da sinir hasarı gibi durumlarda daha da belirgindir (8, 85).

VII- GABA agonistleri; Davranış deneylerinde GABA_A reseptör agonisti olan musimolün lokal periferel uygulanması düşük dozda formalinin etkisini baskımlarken daha yüksek dozlarda artırmaktadır. Diğer taraftan GABA_B reseptör agonisti baklofen ile formalin testinde antinosiseptif etki göstermiştir. GABA analoğu olan gabapentin sistemik olarak kronik nöropatik ağrı durumlarında etkilidir. Formalin testinde lokal periferel olarak uygulanan gabapentinin etkili olduğu bildirilmiştir (8, 86).

VIII- Alfa adrenerjik agonistler; Primer afferentlerde α_{2C} -, μ - ve A₁ reseptörlerinin üçlü reseptör kompleksi oluşturarak antinosisepsiyona aracılık edebilecekleri bildirilmektedir (87). α_{2} -Adrenoreseptör agonisti olan klonidin farenin kuyruğuna lokal olarak uygulandığında antinosiseptif etki göstermiştir (88). Buna zıt olarak noradrenalinin deriye lokal olarak uygulanması ağrıya neden olur. Lokal klonidinin etkisi sempatik sinirlerden noradrenalin salınımını presinaptik olarak inhibe etmesi ve ayrıca duysal sinir terminalleri üzerindeki etkisi ile ilgili olabilir (8).

IX- Adenozin; Adenozinin periferel etkileri rodentlerde davranışsal yaklaşımlarla tanımlanmıştır. Bu etkiler aktive edilen reseptör tipine bağlı olarak değişir. Lokal olarak sıçanın pençesine uygulanan A₁ reseptör agonistleri mekanik hiperaljezi modelinde ve formalin testinde antinosisepsiyon oluşturmuştur. Buna zıt olarak A₂ reseptör agonistlerinin lokal uygulanması her iki modelde de ağrıyı artırmıştır. A₃ reseptör agonistinin lokal uygulanması ile formalinle oluşana benzer ağrı oluşmaktadır (63, 89).



Şekil 2.3. Rodentlerde periferel ağrı iletiminde adenozin A₁, A₂, A₃ ve P_{2X3} purino reseptörlerinin rolü (63).

Sıçan pençesine lokal olarak adenozin A₁ reseptör agonistleri uygulandığında nosiseptif ağrı modellerinde, inflamatuvar ve nöropatik ağrıda antinosiseptif etki oluşturmuştur. Benzer şekilde adenozin kinaz inhibitörlerinin lokal olarak uygulanması ile lokal adenozin düzeyindeki artış inflamatuvar ve nöropatik ağrı modelinde antinosiseptif etki oluşturmuştur. Endojen adenozinerjik sistemlerin kafein, opyoidler, noradrenalin, 5-HT ve TCA grubu antidepresanlar ile oluşan antinosiseptif etkiye aracılık ettikleri bildirilmektedir (63).

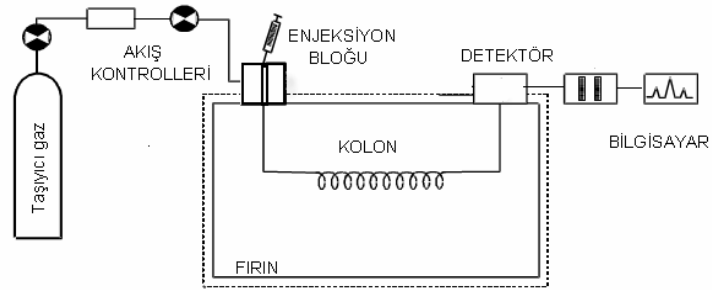
Veriler adenozin A₁ reseptör agonistlerinin ya da adenozin kinaz inhibitörlerinin topikal formülasyonlarının geliştirilmesinin faydalı olabileceğini göstermektedir. Adenozin, A₁ reseptörleri dışındaki reseptörlere daha düşük afinite gösterse de adenozinin yıkımını azaltmaya yönelik yaklaşımlar mast hücreleri üzerindeki A_{2B} ve A₃ reseptörlerinin de uyarılmasına ve ağrıyı fasilite etmelerine neden olabileceğinden adenozin kinaz inhibitörlerinin periferal uygulanmaları sınırlanmaktadır (8, 63).

Pençeye formalin injeksiyonu ile formalin konsantrasyonuna bağlı olarak adenozin salındığı mikrodializ çalışmaları ile gösterilmiştir. Adenozin esas olarak düşük formalin konsantrasyonlarında miyelinsiz duyuşal afferent sinir terminallerinden, yüksek konsantrasyonda ise 1. fazda miyelinsiz duyuşal afferent sinir terminallerinden ve 2. fazda ise sempatik postgangliyonik sinir terminallerinden salınır. Mast hücrelerinin herhangi bir fazda adenozin salınımına katkısı olmadığı bildirilmiştir (90).

2.5. GAZ KROMOTOGRAFİSİ-KÜTLE SPEKTROSKOPİSİ

Kromotografi bir ayırma ve saflaştırma yöntemi olup, hareketli bir fazın (mobil faz) sabit bir faz (stasyoner faz) üzerinden geçirilmesiyle hareketli fazın akış yönünde karışımın çözünürlük, adsorpsiyon ve uçuculuk gibi özelliklerden yararlanılarak bileşenlerine ayrılmasıdır. Gaz kromatografisi (GC) ise bir kromatografik yöntem olup mobil faz olarak inert bir gaz, stasyonier faz olarak da sütuna doldurulmuş katı bir madde (adsorban) veya adsorplama gücü bulunmayan bir toz madde üzerindeki uçucu olmayan bir sıvı kullanılmaktadır. GC ile karışımlardaki kaynama noktası çok yakın olan bir çok maddenin ayrılması mümkündür. Ancak maddelerin uçucu olması ve buharlaştığı sıcaklık derecesinde bozulmaması gerekmektedir. GC çok etkili bir ayırım olanağı sağlaması, bileşenlerin teşhisindeki duyarlılık, ayrılmanın hızlı oluşu ve büyük bir grup

maddeye uygulanabilmesi bakımından 1950'li yıllardan beri kullanılan oldukça popüler bir tekniktir. GC'de hareketli faz olarak azot, hidrojen, helyum, argon ve karbondioksit gibi gazlar kullanılabilir. Helyum pahalı olmasına rağmen termal iletkenliğinin yüksek olması, yoğunluğunun düşük olması ve akış hızının fazla olması nedeniyle yaygın olarak kullanılır. GC ile kalitatif ve kantitatif amaçlı çalışmalar yapılabilir ve genellikle 10^{-9} - 10^{-2} g arasında maddeler alete enjekte edilebilir (91).



Şekil 2.4. Gaz kromatografisinin şematik olarak gösterilmesi

Spektroskopi ise elektromanyetik radyasyon (ışınım) ile atom ve moleküller arasındaki etkileşmeyi inceler. Gaz halindeki bir maddenin yüksek enerjili bir elektron demetiyle (70 eV) bombardımanı sonucu oluşan yüklü atom veya grupların kütle/yük oranına göre saptanması kütle spektroskopisinin (MS) esasını oluşturur. Molekülden bir elektron çıkmasıyla oluşan iyon ana iyon adı verilir ve M^+ veya P^+ ile gösterilir. Bu iyon 10^{-6} saniye parçalanmadan kalabilirse dedektöre ulaşarak ana piki verir. Spektrumdaki en uzun pike ya da miktarı (bağıl bolluğu) en fazla olan parçaya ait olan pike temel pik denir. Temel pik her molekül için karakteristik olup esas bölünmenin nereden olduğunu gösterir. Kütle spektroskopisi kantitatif tayin dışında yapı aydınlatılmasında ve molekül ağırlığının saptanmasında da kullanılır. Birçok imalatçı firma gaz kromatografilerini hızlı tarama yapabilen çeşitli kütle spektrometrelerine doğrudan bağlanmış olarak piyasaya sürmektedirler (91, 92).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi'nden alınan 200-230 g ağırlığındaki erkek Sprague Dawley sıçanlar üzerinde yapıldı. Deneysel her bir hayvan sadece bir kez kullanıldı. Sıçanlar her bir grupta 6 hayvan olacak şekilde formalin testi için 13, glutamat testi için 5 ve venlafaksin plazma miktar tayini için 5 gruba ayrıldılar. Ağrı ile ilgili çalışmalar Ekim-Şubat döneminde, 21-24 °C oda sıcaklığında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji ABD'da bulunan laboratuarda gün içinde 09:00-14.00 saatleri arasında yapıldı. Sıçanlar birer birer formalin ve glutamat testlerine alındılar. Plazma venlafaksin miktar tayinine yönelik çalışmalar ise anabilim dalımızdaki hayvan odasında yetiştirdiğimiz erkek Sprague Dawley sıçanlardan alınan kan örnekleri ile Ankara GATA Analitik Toksikoloji Bilim Dalı laboratuvarında çalışıldı. Çalışmalarda yapılan tüm işlemler için Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulundan onay alındı.

3.1. FORMALİN TESTİ UYGULANMASI

Çalışmaya başlamadan 1 hafta kadar önce sıçanlar Anabilim Dalımızdaki hayvan odasına getirilerek ortam değişikliğinden etkilenmeleri engellendi. Çalışmalardan 1 saat öncesinde ise hayvanlar laboratuvar ortamına alışmaları için çalışmanın yapılacağı laboratuvara getirildiler. İnjesiyon yapılmadan önce sıçanlar teker teker 28x28x28 cm ebatlarındaki şeffaf, üst kısmı açık, pleksiglastan yapılmış gözlem kutularına 20 dakikalığına alınarak bu ortama alışmaları sağlandı. Bu sürenin sonunda lokal venlafaksin gruplarındaki her bir sıçana intraperitoneal (i.p) yoldan serum fizyolojik (SF)

injekte edilerek gözlem kafesine konuldu. 13 dakika sonra hayvanların arka sol pençelerinin plantar yüzüne subkütan yoldan yani intraplantar (i.pl.) olarak SF'te çözünmüş venlafaksin HCl (Wyeth İlaç Firması, ABD) solüsyonundan 50, 100, 200 ve 400 µg konsantrasyonlarında 25 µl hacminde injekte edildi. İnjesiyon 0.4 mm çapında 13 mm boyundaki iğne uçları (Hayat Tıbbi Aletler, İstanbul) ve Hamilton şırınga aracılığı ile yapıldı. Venlafaksin injeksiyonundan 7 dakika sonra aynı pençenin injeksiyon yapılan yerin çok yakın bir bölgesine 25 µl hacminde % 5'lik formalin solüsyonu (% 37'lik formaldehit çözeltisinin SF ile seyreltilmesi ile hazırlanan) i.pl. olarak injekte edildi. Formalin injeksiyonundan hemen sonra hayvan gözlem kafesine alınarak 60 dakika boyunca davranışları gözlemlendi. Bu davranışlar injeksiyon yapılan pençeyi kaldırıp indirmesi, sallaması ve pençeyi yalaması-ısırmaması olarak tanımlandı. Her 4 dakikalık zaman dilimlerinde ayağını kaldırıp indirmesi ve sallaması toplam sayı olarak ifade edilirken, yalaması ve ısırması toplam süre olarak ifade edildi. Formalin injeksiyonundan sonraki yaklaşık ilk 12 dakika 1. faz ve 16.-60. dakikalar arası ise 2. faz olarak nitelendirildiğinden, veriler bu şekilde değerlendirildi. Sawynok ve arkadaşlarının kullandığı formalin testinde (76) bazı modifikasyonlar yapılarak formalin testi uygulandı. Çalışmada kontrol grubuna i.p. olarak SF injekte edildikten 13 dakika sonra venlafaksin grubunda olduğu gibi aynı pençeye aynı yöntemle i.pl. olarak 25 µl SF injekte edildi. 7 dakika sonra aynı konsantrasyon ve hacimdeki formalin solüsyonu pençeye injekte edilerek nosiseptif davranışlar aynı şekilde kayıt edildi.

Sistemik venlafaksin grubuna venlafaksin formalin testindeki sistemik etkisini tayin etmek amacıyla 5, 10, 20 ve 40 mg/kg dozlarında i.p. olarak venlafaksin uygulandı. Sistemik uygulamadan 13 dakika sonra pençeye i.pl. olarak tıpkı diğer gruplarda olduğu gibi 25 µl SF injekte edildi ve 7 dakika sonra da formalin solüsyonu injekte edilerek gözlem kafesine konuldu. Nosiseptif davranışlar 60 dakika kayıt edildi.

Venlafaksin formalin testindeki etkisinde opyoid reseptörlerin rolünü araştırmak amacıyla bir grup hayvana i.p. yoldan 2 mg/kg nalokson HCl (Sigma) SF'te çözülerek injekte edildi. 13 dakika sonra daha önce belirtildiği şekilde hayvanın pençesine i.pl. olarak venlafaksin (25 µl , 200 µg) ve 7 dakika sonra formalin injekte edildi. Burada naloksonun formalin testinde tek başına etki gösterip göstermediğini test etmek amacıyla ayrı bir kontrol grubu da oluşturularak, i.p. 2 mg/kg nalokson injeksiyonundan sonra pençeye venlafaksin yerine i.pl. olarak 25 µl SF injekte edildi.

Venlafaksinın formalin testindeki lokal periferik etkisinde adenozinin rolünü araştırmak amacıyla diğer bir grup hayvana adenozin A₁ reseptör antagonisti olan CPT (8-siklopentil-1,3-dimetilksantin, Sigma) i.p. olarak 2 mg/kg dozunda uygulandı. 13 dakika sonra daha önce belirtildiği şekilde hayvanın pençesine venlafaksin (25 µl, 200 µg) ve 7 dakika sonra da formalin injekte edilerek cevaplar kaydedildi. CPT'nin formalin testinde tek başına etki gösterip göstermediğini test etmek amacıyla ayrı bir kontrol grubu da oluşturuldu. Bu gruba i.p. olarak 2 mg/kg CPT injeksiyonundan sonra pençeye venlafaksin yerine i.pl. olarak 25 µl SF injekte edildi. CPT 0.1 N NaOH çözeltisinin 0.1 ml'si ile çözüldükten sonra SF ile seyreltildi. Yapılan ön denemelerde aynı konsantrasyonda NaOH içeren çözelti SF'ten farklı cevap oluşturmadığı için kontrol grubu olarak SF injekte edilen grup esas alınmıştır. Formalin testindeki tüm gruplar Tablo 3.1.'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Formalin testindeki gruplar. Her bir gruptaki hayvan sayısı 6'dır.

Kontrol grubu;

SF i.p.....13 dak.....25 µl SF i.pl.....7 dak.....formalin i.pl

Lokal Venlafaksin (VFX) Grupları;

SF i.p.....13 dak.....25 µl 50 µg VFX i.pl.....7 dak.....formalin i.pl.

SF i.p.....13 dak.....25 µl 100 µg VFX i.pl.....7 dak.....formalin i.pl.

SF i.p.....13 dak.....25 µl 200 µg VFX i.pl.....7 dak.....formalin i.pl.

SF i.p.....13 dak.....25 µl 400 µg VFX i.pl.....7 dak.....formalin i.pl.

Sistemik VFX Grupları;

VFX 5 mg/kg i.p.....13 dak.....25 µl SF i.pl.....7 dak.....formalin i.pl.

VFX 10 mg/kg i.p.....13 dak.....25 µl SF i.pl.....7 dak.....formalin i.pl.

VFX 20 mg/kg i.p.....13 dak.....25 µl SF i.pl.....7 dak.....formalin i.pl.

VFX 40 mg/kg i.p.....13 dak.....25 µl SF i.pl.....7 dak.....formalin i.pl.

Opyoid Reseptör Antagonisti Nalokson (NLX) Grubu;

2 mg/kg NLX i.p.....13 dak.....25 µl SF i.pl.....7 dak.....formalin i.pl.

NLX+VFX Grubu;

2 mg/kg NLX i.p.....13 dak.....25 µl 200 µg VFX i.pl.....7 dak.....formalin i.pl.

Adenozin A₁ Reseptör Antagonisti (CPT) Grubu;

2 mg/kg CPT i.p.....13 dak.....25 µl SF i.pl.....7 dak.....formalin i.pl.

CPT+VFX Grubu;

2 mg/kg CPT i.p.....13 dak.....25 µl 200 µg VFX i.pl.....7 dak.....formalin i.pl.

3.2. GLUTAMAT TESTİ UYGULANMASI

Venlafaksin formalin testinde lokal periferik antinosiseptik etkisi gösterildikten sonra glutamat testinde de etki gösterip göstermeyeceğini araştırmak amacıyla bir başka grup hayvan üzerinde formalin testine benzer şekilde çalışma yapıldı. Çalışmalardan 1 saat önce hayvanlar laboratuvar ortamına alışmaları için çalışmanın yapılacağı laboratuvara getirildiler. İnjesiyonlara başlamadan önce sıçanlar teker teker 28x28x28 cm ebatlarındaki şeffaf, üst kısmı açık, pleksiglastan yapılmış gözlem kutularına 20 dakikalığına alınarak bu ortama alışmaları sağlandı. Takiben her bir sıçana i.p. yoldan SF injekte edilerek gözlem kafesine konuldu. 13 dakika sonra lokal venlafaksin grubuna venlafaksin SF’te çözülerek hazırlanmış 25 µl hacminde 50, 100 ve 200 µg konsantrasyonlardaki çözeltilerinden sol arka pençeye i.pl. olarak injekte edildi. İnjesiyondan 7 dakika sonra % 10’luk NaOH çözeltisi ile pH’sı 7.4’e ayarlanan 35 µl 5 µmol (mikromol) L-glutamik asid HCl (Sigma) çözeltisinden pençeye venlafaksin injeksiyonu yapılan bölgenin yakınına injekte edildi. İnjesiyonu takiben gözlem kafesine alınan sıçanın 15 dakika boyunca her 5 dakikadaki injeksiyon yapılan pençeyi sallama sayısı ve bu ayağı yalama- ısırma süresi kaydedildi. Ayrıca sistemik venlafaksin grubunda da i.p. yoldan 20 mg/kg venlafaksin injeksiyonundan sonra aynı prosedür takip edilerek hayvan değerlendirildi. Bu veriler kontrol grubu olarak venlafaksin yerine 25 µl SF ve sonrasında glutamat solüsyonu uygulanan grup ile karşılaştırılarak değerlendirildi. Glutamat testi uygulanan gruplar Tablo 3.2’de gösterildi.

Tablo 3.2. Glutamat testinde gruplara drog injeksiyon zaman, yol ve miktarları (n=6).

Kontrol Grubu:	
SF i.p.	13 dak.....25 µl SF i.pl.....7 dak.....35 µl 5 µmol L-glutamik asid i.pl.
Lokal Venlafaksin (VFX) Grupları:	
SF i.p.	13 dak.....25 µl 50 µg VFX i.pl.....7 dak...35 µl 5 µmol L-glutamik asid i.pl.
SF i.p.	13 dak.....25 µl 100 µg VFX i.pl.....7 dak...35 µl 5 µmol L-glutamik asid i.pl.
SF i.p.	13 dak.....25 µl 200 µg VFX i.pl.....7 dak...35 µl 5 µmol L-glutamik asid i.pl.
Sistemik VFX Grubu:	
20 mg/kg i.p VFX... 13 dak.....	25 µl SF i.pl.....7 dak.....35 µl 5 µmol L-glutamik asid i.pl.

Tüm ağrı çalışmalarında, her bir hayvanın eşit sayıda injeksiyona maruz kalması için lokal injeksiyon yapılan gruplara da tıpkı sistemik injeksiyon yapılan gruplardaki gibi eşit hacimde i.p. olarak venlafaksin ya da antagonistler yerine SF injekte edildi. Ağrı ile ilgili çalışmalarda belirtilen doz ve konsantrasyonlar ilgili drogların tuz ağırlıkları

üzerinden hesaplandı. Deney sonrası hayvanlara servikal dislokasyon sureti ile ötenazi uygulandı.. Küçük laboratuar hayvanları için oldukça uygun olan bu yöntem ile hayvan acı hissetmeksizin hızlı bir şekilde ölüm gerçekleşmektedir (93). Çalışmalarda kullanılan demirbaş ve sarf malzemelerin listesi Ek.1’de verildi.

3.3. PLAZMA VENLAFAKSİN MİKTAR TAYİNİ

Venlafaksin sıçanın pençesine 25 µl 200 µg konsantrasyonunda injekte edilerek bir grup sıçandan (n=6) 12 dakika sonra, diğer grup sıçandan (n=6) ise 45 dakika sonra kan alındı. Sistemik uygulamada ise 20 mg/kg i.p. olarak venlafaksin injekte edilerek bir gruptan (n=6) 25 dakika sonra, diğer gruptan (n=6) 45 dakika sonra kan alınmıştır. Kör olarak kullanmak amacıyla diğer bir grup sıçandan (n=6) herhangi bir drog injeksiyonu yapılmaksızın kan alındı. Kan belirtilen süreler sonrasında hafif eter anestezisi altında intrakardiyak olarak heparinlenmiş injektör aracılığı ile alınarak 5000 rpm’de 10 dakika santrifüjlendi. Sonra plazma kısmı ayrılarak -20 °C’de analiz süresine kadar saklandı. Ayrılan plazmalardaki venlafaksin miktar tayini GC-MS aracılığı ile yapıldı.

3.3.1. Çalışma Koşulları

GC-MS çalışmaları Ankara GATA Analitik Toksikoloji Bilim Dalı laboratuarında yapıldı. GC-MS’de kullanılan DB5 kapiller kolonun (J&W Scientific) boyu 25 m, kalınlığı 0.20 mm ve iç film kalınlığı ise 0.1 µm’dir. Başlangıç kolon sıcaklığı 80 °C olup sonrasında 10 dakika süreyle 20 °C’lik artışlarla 200 °C’ye çıkıldı. Detektör sıcaklığı 300 °C, enjeksiyon bloğunun sıcaklığı ise 280 °C olarak uygulandı. GC-MS kapiller kolonu içerisinde taşıyıcı gaz olarak helyum (He) gazı kullanıldı ve 1 ml/dakika sabit akış hızında çalışıldı. Kolon sıcaklığı 200 °C’de 5 dakika bekleme sonrası numuneler enjekte edildi ve her bir numune için analiz süresi 15 dakika olarak belirlendi. Öncelikle toplam iyon taraması (SCAN) modunda, venlafaksin ve internal standart olarak kullanılan imipraminin alıkonma zamanları (retansiyon zamanı) ve m/z değerleri belirlendi. Venlafaksin alıkonma zamanı 11.23 dakika, imipraminin alıkonma zamanı ise 12.02 dakika olarak tespit edildi. Kör plazma ile yapılan çalışmalarda venlafaksin ve imipraminin alıkonma zamanlarına uyan zamanlarda karışan pik olmadığı tespit edildi. Venlafaksin için m/z değerleri, yoğunluk oranı en fazla olan hedef iyon olarak 58 ve

diğer iyon 134, imipramin için ise hedef iyon olarak 234 ve diğer iyon 235 olarak belirlendi. Numune analizleri SIM (Selected Ion Monitorisation, seçilmiş iyon taraması) modunda gerçekleştirildi. Kütle spektrometrisi, 70 eV, elektron-impakt (EI) modunda kullanıldı.



Şekil 3.1. GATA Analitik Toksikoloji Bilim Dalı laboratuvarında kullanılan GC-MS cihazının fotoğrafı.

3.3.2. Plazmadan Ekstraksiyon Ve Kalibrasyon Eğrisinin Çizdirilmesi

Kalibrasyon eğrisi çizdirmek için 1 ml kör plazma cam tüp içerisine konuldu. Üzerine internal standart olan imipraminin metanoldeki 1 mg/ml konsantrasyonundaki stok çözeltisinden yine metanol ile seyrelterek hazırlanan 10 µg/ml konsantrasyondaki çözeltisinden 100 µl (alete uygulanmadan önceki son konsantrasyonu 5 µg/ml olacak şekilde) eklendi. Venlafaksin metanoldeki 1 mg/ml konsantrasyonundaki stok çözeltisi metanol ile seyreltilerek 0.05, 0.2, 1, 2, 5, 10 ve 20 µg/ml konsantrasyonlarda bir seri çözeltileri elde edildi. Bu çözeltilerin her birinden ayrı ayrı tüplere 100 µl (alete uygulanmadan önceki son konsantrasyonları 0.025, 0.1, 0.5, 1, 2.5, 5, 10 µg/ml olacak şekilde) hacminde eklendi. 30 saniye vortekslendikten sonra çözelti üzerine 200 µl 0.1 M NaOH eklenerek 1 dakika süreyle vortekslendi. Üzerine 3 ml sikloheksan:etilasetat (7:1, v/v) çözeltisinden katılarak tekrar 1 dakika boyunca vortekslendi. Elde edilen karışım

3.000 devir/dakika hızında 5 dakika süreyle santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında üst faz temiz bir cam tüpe aktarılarak çeker ocak altında saf azot gazı ile kuruluğa kadar uçuruldu (94). Kalıntıya 200 µl metanol eklenerek 30 saniye vortekslendi ve cam viyaller içerisine aktarılarak GC-MS'in otoenjektör (Combi-PAL, İsviçre) kısmına konuldu. Alete bu çözeltiden 2 µl hacminde splitless modunda injekte edildi. Venlafaksin uygulanan hayvanlardan alınmış plazmalara da aynı konsantrasyonda imipramin eklenerek aynı işlemler yapıldı ve alete uygulandı. Çözeltilerin hazırlanmasında belirtilen konsantrasyonlar baz ağırlıkları üzerinden hesaplandı.

Kalibrasyon eğrisi venlafaksin konsantrasyonunun, imipramin konsantrasyonuna oranı ile venlafaksine ait pik alanının imipramine ait pik alanına oranının kıyaslanmasıyla oluşturuldu. Eğri GC-MS yazılımı içerisinde bulunan Labsolutions programı (GC-MS solution Version 1.01, Shimadzu) ile çizdirildi. Hesaplamalar esas olarak lineer regresyon esasına dayanmaktadır.

3.3.3. Duyarlılık

Bir cihazın ya da bir yöntemin duyarlılığı numune derişimindeki farkları ayırt edebilme kabiliyetinin bir ölçüsüdür. Duyarlılığı kalibrasyon eğrisinin eğimi ve ölçüm aracının kesinliği olmak üzere iki faktör sınırlar. Duyarlılık, venlafaksinın gözlenebilme sınırı (limit of detection, LOD) ve alt tayin sınırı (limit of quantification, LOQ) değerlerini içermektedir. Alt tayin sınırı bir maddenin doğru ve kesin olarak ölçülebildiği en düşük miktardır. Elde edilen kromatogramlarda venlafaksin sinyal piklerinin gürültü (noise) ile karışmaması için değerlendirmede LOD ve LOQ göz önüne alınmıştır. Gürültü olarak venlafaksin piki çevresindeki bazal çizgi üzerindeki pikler alınmış ve bu gürültü piklerinin alanlarının standart sapmaları hesaplanmıştır. Bu değerlerin hesaplanmasında aşağıdaki formüller uygulanmıştır (95);

$$\text{LOD} = 3 \times \text{Standart Sapma} / \text{Eğim}$$

$$\text{LOQ} = 10 \times \text{Standart Sapma} / \text{Eğim}$$

3.3.4. % Ekstraksiyon Verimi

% Ekstraksiyon verimi (recovery), venlafaksinın metanolde çözünmüş ve 200 µl metanol solüsyonundaki son konsantrasyonları 0.025, 1 ve 5 µg/ml olacak şekilde 100 µl hacminde tüpe eklenmiş konsantrasyonlarının oluşturduğu piklerin eğri altı alanları ile aynı konsantrasyonların plazmaya eklendikten ve ekstraksiyon yapıldıktan sonra elde

edilen piklerinin eğri altı alanları oranlanıp yüzdesi alınarak hesaplandı. Her ölçüm üçer defa tekrarlandı.

3.3.5. Kesinlik

Bulunan değerlerin kesinliği ise % Bağıl Standart Sapma (BSS) (% Relative Standard Deviation) ile değerlendirildi. Kesinlik aynı yolla elde edilen deney verilerinin arasındaki uyum derecesine denir. Kesinlik aynı zamanda rasgele veya belirsiz hataların bir ölçüsüdür. Kesinlik için sayısal ölçüt olarak bağıl standart sapmayı verebiliriz. BSS'nin aşağıda verilen formülündeki aritmetik ortalama venlafaksin plazmadaki üç farklı konsantrasyonunda (0.025, 1 ve 5 µg/ml) oluşturduğu piklerin alanlarının, imipraminin oluşturduğu (5 µg/ml) pikin alanına oranlarının ortalamasıdır. % BSS'nin hesaplanması aşağıdaki formüle göre yapılmıştır (96);

$$\% \text{ BSS} = (\text{Standart sapma} / \text{aritmetik ortalama}) \times 100$$

3.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Çoklu grupların kıyaslanması; formalin testinde grupların 1. fazda kendi aralarında ve 2. fazda kendi aralarında olmak üzere ve glutamat testinde gruplar arasında fark olup olmadığına tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile baktıktan sonra F'nin p değerinin <0.05 olduğu durumlarda (yani grup ortalamalarından en az birinin diğerinden farklı çıktığı durumlarda), farkın hangi gruplar arasında olduğunu test etmek amacıyla; varyansların homojen olduğu durumlarda Tukey HSD testi, homojen olmadığı durumlarda ise Tamhane T2 testi uygulandı.

Antagonist uygulanan gruplarda ya da plazma düzeyi kıyaslanmasında olduğu gibi iki bağımsız grup arasında fark olup olmadığı ise Student's t testi analiz edildi. Testlerde $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilerek ağrı ile ilgili çalışmalarda veriler aritmetik ortalama \pm standart hata olarak, plazma düzeyi tayin çalışmalarındaki veriler ise aritmetik ortalama \pm standart sapma olarak ifade edildi. Analizler SPSS 11.0 programı aracılığı ile bilgisayar ortamında yapıldı (97).

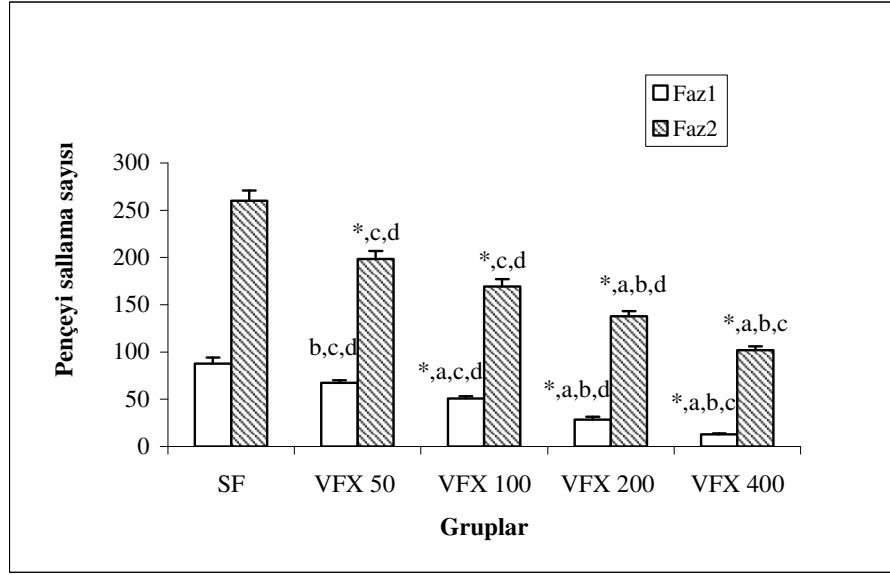
4. BULGULAR

4.1. FORMALİN TESTİ BULGULARI

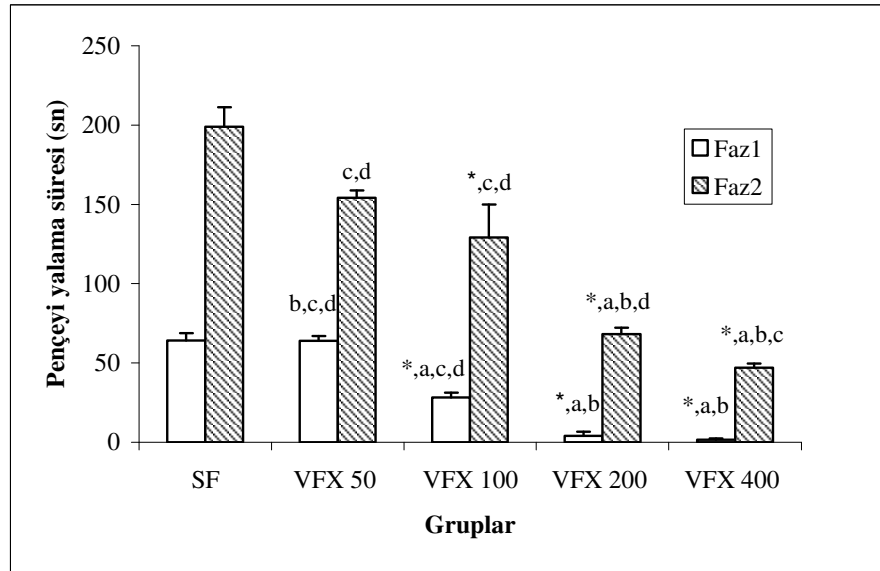
% 5'lik 25 µl dilüe formalin solüsyonu sıçan pençesine uygulandığında 60 dakika boyunca pençeyi sallama ve yalama-ısıрма nosiseptif davranışları oluşturdu. Çalışmada formalin injeksiyonunu takiben ilk 12 dakikada oluşan nosiseptif davranışlar Faz 1, 16.-60. dakikalar arasında oluşan nosiseptif davranışlar ise Faz 2 olarak değerlendirildi.

4.1.1. Lokal Periferik Venlafaksin Uygulanan Gruplar

Venlafaksin lokal olarak perifere uygulandığında 50 µg konsantrasyonda kontrol grubu ile kıyaslandığında sadece pençeyi sallama nosiseptif davranışının 2. fazını anlamlı şekilde inhibe etti ($p<0.05$). 100, 200 ve 400 µg konsantrasyonlarda ise her iki nosiseptif davranışı da her iki fazda anlamlı şekilde inhibe etti ($p<0.05$). 50 ve 100 µg konsantrasyonlar arasında her iki nosiseptif davranışların sadece 1. fazlarında anlamlı farklılık bulunurken 50 µg ve 100 µg ile 200 ve 400 µg konsantrasyonlar arasında her iki nosiseptif davranışların her iki fazında da anlamlı farklılık görüldü ($p<0.05$). 200 ile 400 µg konsantrasyonlar arasında sadece pençeyi yalama nosiseptif davranışının 1. fazında anlamlı fark görülmedi ($p>0.05$). Venlafaksin lokal olarak uygulandığında konsantrasyona bağlı olarak antinosiseptif etki oluşturdu. Gruplara ait veriler Şekil 4.1 ve 4.2'de görülmektedir.



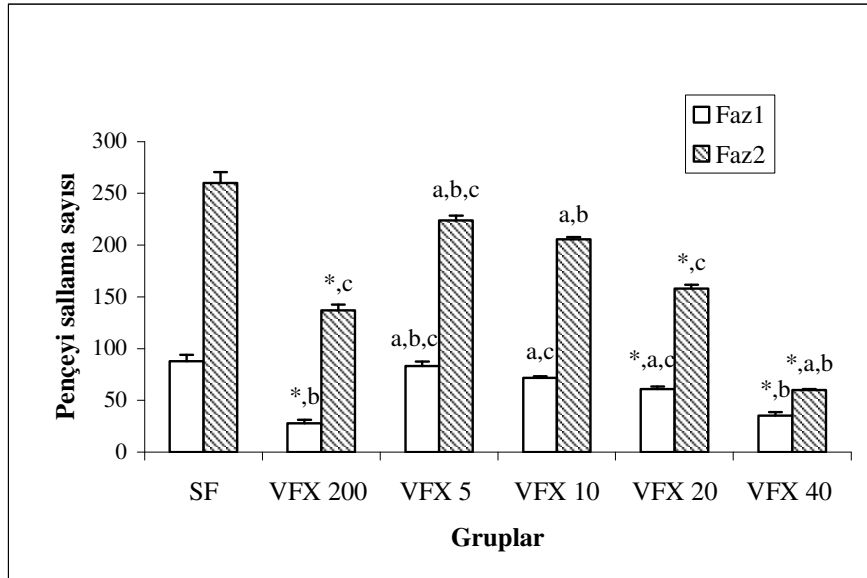
Şekil 4.1. Lokal periferal olarak (i.pl.) çeşitli konsantrasyonlarda (25 µl 50, 100, 200 ve 400 µg) uygulanan venlafaksin (VFX) sıçan formalin testinde pençeyi sallama sayısı üzerine etkisi. Değerler ortalama±standart hata olarak verilmiştir (n=6). * kontrol, a VFX 50, b VFX 100, c VFX 200, d VFX 400 gruplarına kıyasla fark istatistiksel olarak anlamlı (p<0.05).



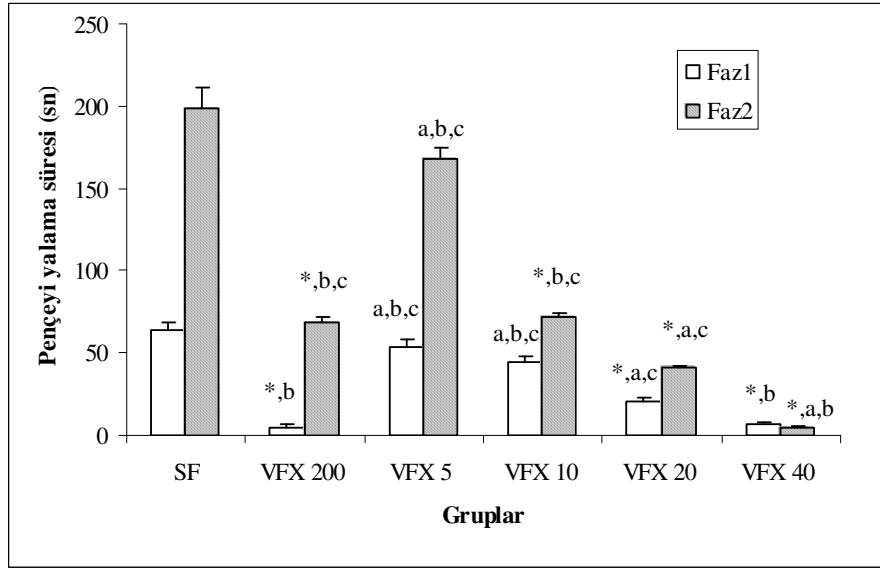
Şekil 4.2. Lokal periferal olarak (i.pl.) çeşitli konsantrasyonlarda (25 µl 50, 100, 200 ve 400 µg) uygulanan venlafaksin (VFX) sıçan formalin testinde pençeyi yalama ve ısırma süresi üzerine etkisi. Değerler; ortalama±standart hata olarak verilmiştir (n=6). * kontrol, a VFX 50, b VFX 100, c VFX 200, d VFX 400 gruplarına kıyasla fark istatistiksel olarak anlamlı (p<0.05).

4.1.2. Sistemik Venlafaksin Uygulanan Gruplar

Venlafaksin sistemik olarak i.p. yoldan 5 mg/kg dozunda uygulandığında nosiseptif davranışlar açısından her iki fazda da kontrolden farksızdır ($p>0.05$). 10 mg/kg dozunda ise sadece pençeyi yalama-ısıırma süresini kontrole göre 2. fazda anlamlı şekilde azalttı ($p<0.05$). 20 ve 40 mg/kg dozlarında ise her iki nosiseptif davranışı her iki fazda da kontrole göre anlamlı şekilde inhibe etti ve etkileri kıyaslandığında kendi aralarında da anlamlı farklılık vardır ($p<0.05$). Lokal olarak uygulanan 200 µg/pençe konsantrasyonunun oluşturduğu etki ile sistemik 20 ve 40 mg/kg (i.p.) dozlarının oluşturdukları etkiler kıyaslandığında; lokal uygulama ile sistemik 20 mg/kg dozunda uygulama arasında pençeyi sallama davranışının sadece 1. fazında ve yalama davranışının her iki fazında anlamlı farklılık gözlenirken, lokal uygulama ile sistemik 40 mg/kg dozunda uygulama arasında pençeyi sallama ve yalama davranışlarının sadece 2. fazlarında anlamlı farklılık gözlendi ($p<0.05$). Veriler Şekil 4.3 ve 4.4'de görülmektedir.



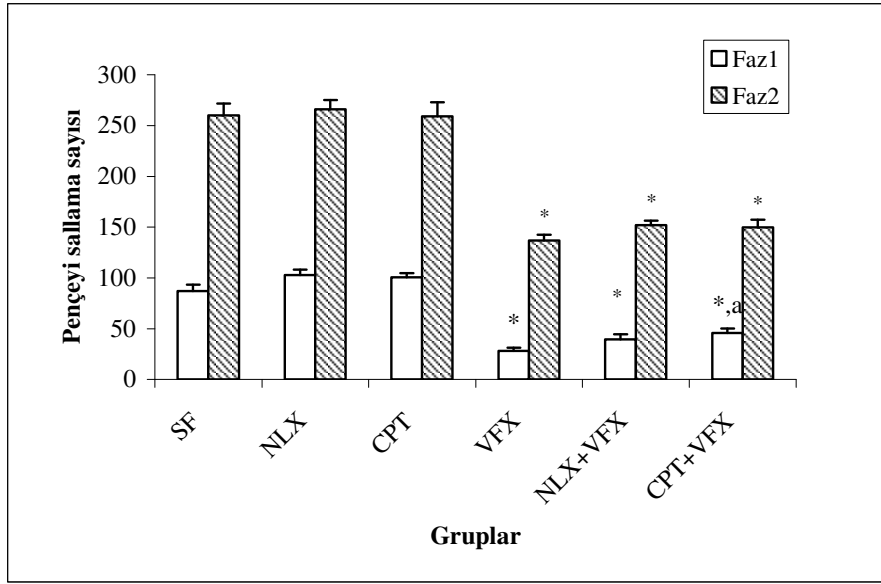
Şekil 4.3. Lokal periferik olarak (i.pl.) 25 µl 200 µg konsantrasyonda ve sistemik olarak 5, 10, 20 ve 40 mg/kg (i.p.) dozlarında uygulanan venlafaksin (VFX) sıçan formalin testinde pençeyi sallama sayısı üzerine etkileri. Değerler, ortalama±standart hata olarak verilmiştir (n=6). * Kontrol, a VFX 200, b VFX 20 ve c VFX 40 grubuna göre fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$).



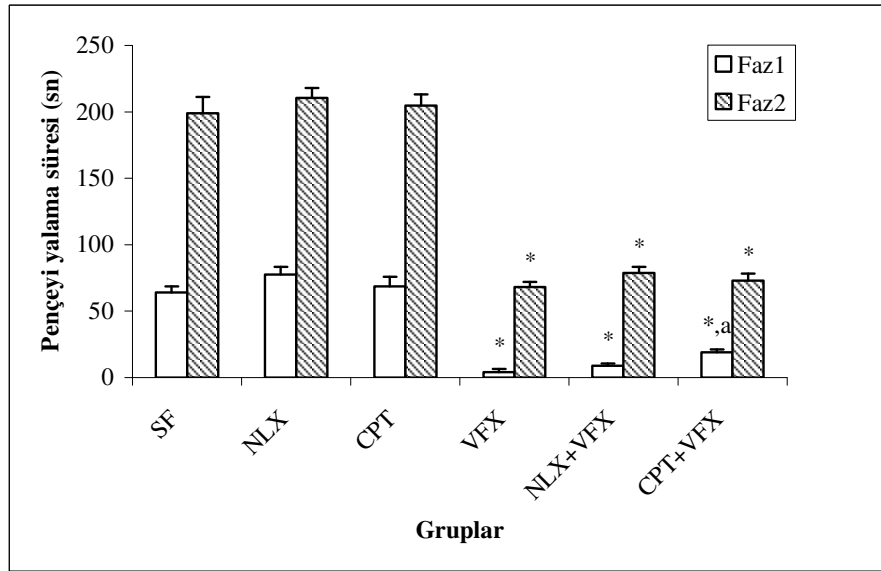
Şekil 4.4. Lokal periferal olarak (i.pl.) 25 µl 200 µg konsantrasyonda ve sistemik olarak 5, 10, 20 ve 40 mg/kg (i.p.) dozlarında uygulanan venlafaksin (VFX) sıçan formalin testinde pençeyi yalama ve ısırma süresi üzerine etkileri. Değerler; aritmetik ortalama±standart hata (n=6). * Kontrol, a VFX 200, b VFX 20 ve c VFX 40 grubuna göre fark istatistiksel olarak anlamlı (p<0.05).

4.1.3. Venlafaksinin Lokal Periferal Antinositif Etkisi Üzerine Nalokson ve CPT'nin Etkileri

2 mg/kg dozunda i.p olarak tek başlarına uygulanan nalokson ve CPT grupları kontrol grubuna göre anlamlı farklılık oluşturmadılar (p>0.05). Nalokson ile ön muamele lokal periferal olarak 200 µg konsantrasyonda uygulanan venlafaksin etkisini anlamlı şekilde değiştirmezken (p>0.05), CPT uygulanan grupta venlafaksin uygulanan gruba kıyasla her iki nosiseptif davranış açısından sadece 1. fazlarda anlamlı farklılık gözlemlendi (p<0.05). Uygulamalara ait veriler Şekil 4.5 ve 4.6'da görülmektedir.



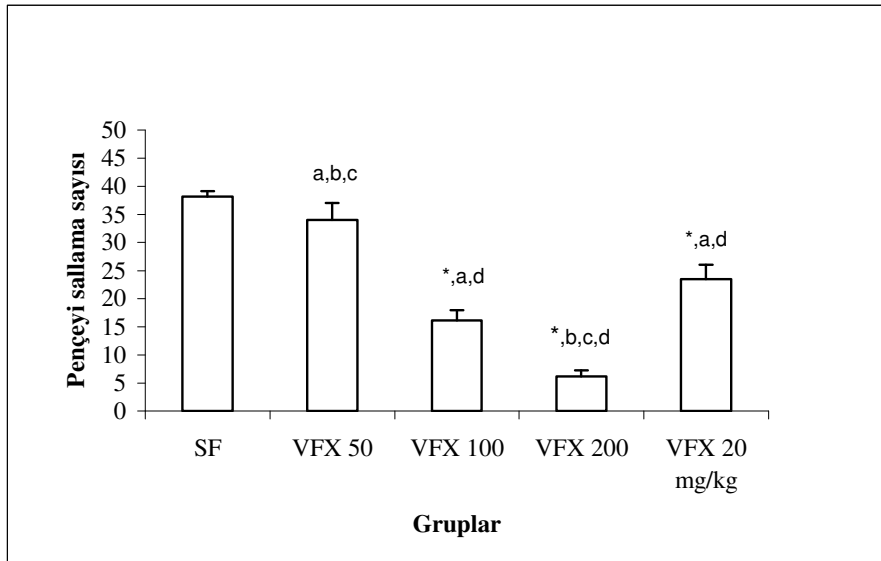
Şekil 4.5. Sıçan formalin testinde pençeyi sallama sayısı üzerinde lokal periferal olarak (i.pl.) 25 µl 200 µg konsantrasyonunda uygulanan venlafaksin (VFX) oluşturduğu antinosisepsiyona 2 mg/kg i.p. nalokson (NLX) ve 2 mg/kg i.p. CPT'nin etkileri. Değerler; ortalama±standart hata olarak verilmiştir (n=6). * Kontrol, a VFX grubuna göre fark istatistiksel olarak anlamlı (p<0.05).



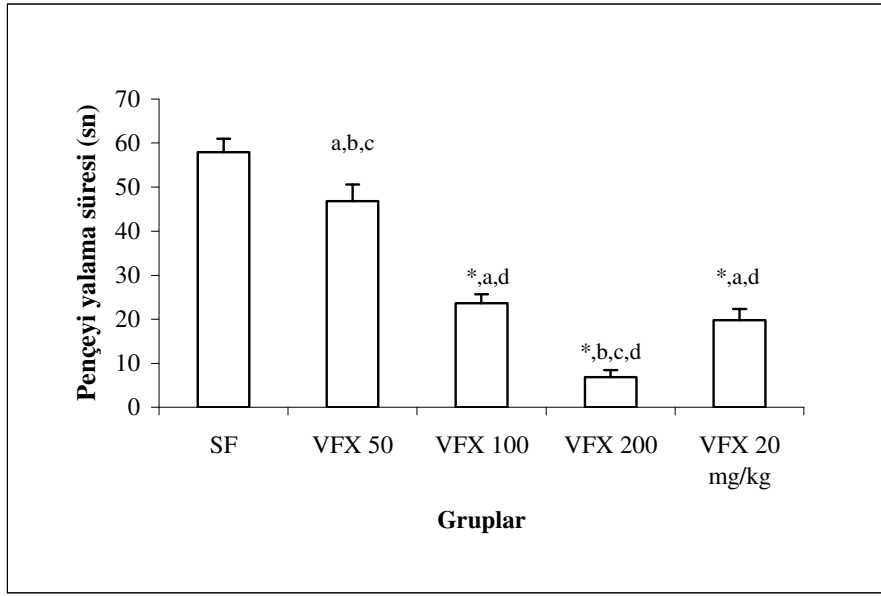
Şekil 4.6. Sıçan formalin testinde pençeyi ısırma ve yalama süresi üzerinde lokal periferal olarak (i.pl.) 25 µl 200 µg konsantrasyonunda uygulanan venlafaksin (VFX) oluşturduğu antinosisepsiyona 2 mg/kg i.p. nalokson (NLX) ve 2 mg/kg i.p. CPT'nin etkileri. Değerler; ortalama±standart hata olarak verilmiştir (n=6). * Kontrol, a VFX grubuna göre fark istatistiksel olarak anlamlı (p<0.05).

4.2. GLUTAMAT TESTİ BULGULARI

35 µl 5 µM glutamat solüsyonunun sıçan pençesine injeksiyonu yaklaşık 10 dakika süren pençeyi sallama ve yalama-ısıрма nosiseptif davranışlarını oluşturdu. Lokal periferik (i.pl.) olarak 25 µl 50 µg konsantrasyonunda uygulanan venlafaksin kontrol grubuna kıyasla her iki nosiseptif davranışta yaptığı inhibisyon istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p<0.05$). 100 ve 200 µg konsantrasyonlarda lokal olarak perifere ve 20 mg/kg dozunda sistemik olarak (i.p.) uygulanan venlafaksin her iki nosiseptif davranışı da kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde inhibe etti ($p<0.05$). 100 ile 200 µg venlafaksin uygulanan gruplar arasında ve 200 µg ile 20 mg/kg i.p uygulanan gruplar arasında anlamlı derecede farklılık gözlenirken, 100 µg uygulanan grup ile 20 mg/kg i.p. uygulama yapılan grup arasındaki fark anlamsızdı. Veriler Şekil 4.7. ve 4.8'de görülmektedir.



Şekil 4.7. Lokal periferik olarak çeşitli konsantrasyonlarda (25µl 50, 100 ve 200 µg) ve sistemik (i.p.) olarak 20 mg/kg dozunda uygulanan venlafaksin (VFX) sıçan glutamat testinde pençeyi sallama sayısı üzerine etkisi. Değerler; ortalama±standart hata olarak verilmiştir. (n=6) * Kontrol, a VFX 200, b VFX 100, c VFX 20 mg/kg, d VFX 50 grubuna göre fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$).

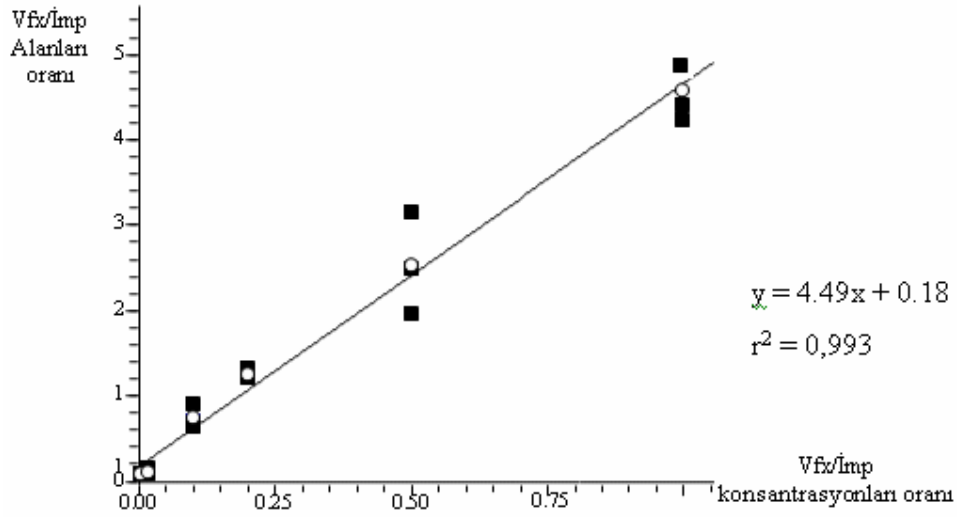


Şekil 4.8. Lokal periferal olarak çeşitli konsantrasyonlarda (50, 100 ve 200 µg) ve sistemik (i.p.) olarak 20 mg/kg dozunda uygulanan venlafaksin (VFX) sıçan glutamat testinde pençeyi yalama ve ısırma süresi üzerine etkisi. Değerler; ortalama±standart hata olarak verilmiştir. (n=6) * Kontrol, a VFX 200, b VFX 100, c VFX 20 mg/kg, d VFX 50 grubuna göre fark istatistiksel olarak anlamlı (p<0.05).

4.3. PLAZMA VENLAFAKSİN MİKTAR TAYİNİ SONUÇLARI

Kalibrasyon eğrisi 0.025 µg/ml ve 5 µg/ml konsantrasyon aralıklarındaki değerleri kapsayacak şekilde doğrusallık gösterdi. Kalibrasyon eğrisinin regresyon denklemi ise $y = 4.49x + 0.18$ olarak hesaplandı. Elde edilen eğrinin r^2 değeri 0.993, r değeri ise 0.996 bulundu (Şekil 4.9).

Retansiyon zamanları ve hedef iyonları gösteren kromatogramlar ise Şekil 4.10., 4.11. ve 4.12.'de görülmektedir.



Şekil 4. 9. Plazma venlafaksin kalibrasyon eğrisi (Vfx:Venlafaksin, İmp:İmipramin)

% Ekstraksiyon verimi hesabı sonuçlarına göre plazmaya uyguladığımız ekstraksiyon yöntemi ile üç farklı noktada yapılan ölçümler sonucunda ekstraksiyon veriminin % 81 ± 3 olduğu bulundu. Bu noktalarda yapılan ölçümlerde % BSS değerleri ise % 1.63 – 4.84 arasında bulundu. Veriler tablo 4.1'de görülmektedir.

Gözlenebilme sınırı (LOD) ve alt tayin sınırı (LOQ) ise aşağıdaki formüllere göre hesaplanarak bulundu.

$$\text{LOD} = 3 \times \text{Standart Sapma} / \text{Eğim}$$

$$\text{LOQ} = 10 \times \text{Standart Sapma} / \text{Eğim}$$

$$\text{LOD} = 3 \times 0.011 / 4.49$$

$$\text{LOQ} = 10 \times 0.011 / 4.49$$

$$\text{LOD} = 7 \text{ ng/ml}$$

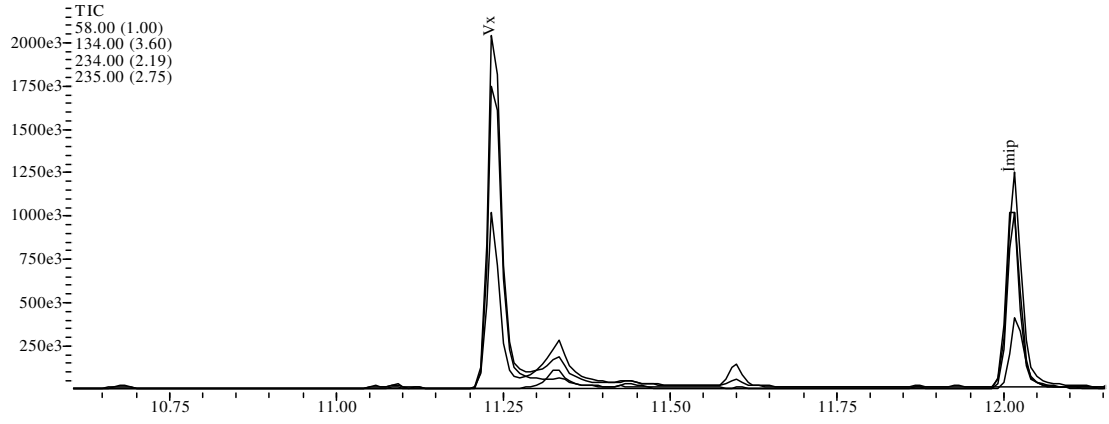
$$\text{LOQ} = 0.025 \text{ } \mu\text{g/ml} = 25 \text{ ng/ml}$$

Eğim; lineer regresyon eğrisinin eğimi (4.49)

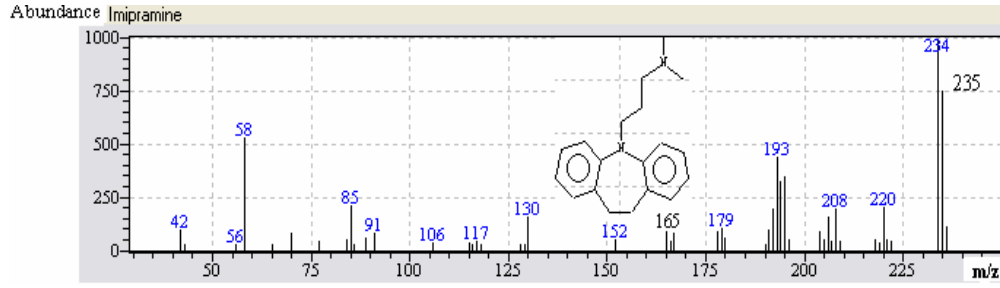
Gözlenebilme sınırı 7 ng/ml, alt tayin sınırı ise 25 ng/ml bulundu. Venlafaksin lokal olarak uygulandığı gruplardan alınan plazmalardaki venlafaksin düzeyleri alt tayin sınırı olan 25 ng/ml'nin altında bulunduğundan ölçülemedi. Venlafaksin sistemik olarak uygulandığı gruplardaki plazma düzeyleri ise sistemik uygulamanın 25. dakikasında $1.74 \pm 0.18 \text{ } \mu\text{g/ml}$, 45. dakikasında ise $1.00 \pm 0.67 \text{ } \mu\text{g/ml}$ olarak ölçüldü. Sistemik venlafaksin uygulamasını takiben 25. dakika ve 45. dakikalarda alınan plazmalarda tespit edilen venlafaksin miktarları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p > 0.05$).

Tablo 4.1. Ekstraksiyon verimi ve % bağıl standart sapma değerleri (Vfx; Venlafaksin, İmp; İmipramin)

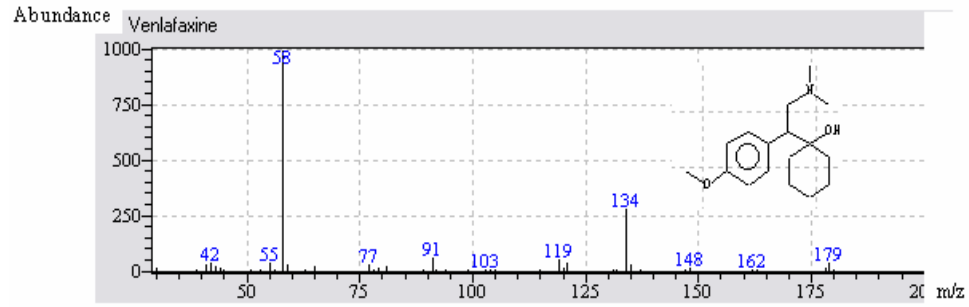
Vfx konsantrasyonu (µg/ml)	Vfx/İmp pik alanları oranları	Plazmada Vfx/İmp pik alanları oranları	Ekstraksiyon Verimi (%)	% Bağıl Standart Sapma
0.025	0.09	0.07	78	2,42
1	1.51	1.22	81	1,63
5	5.43	4.54	84	4,84



Şekil 4.10. 5 µg/ml konsantrasyonlarında venlafaksin ve internal standart olan imipramin katılmış plazmadan ekstraksiyon sonrası GC-MS'te SIM modunda elde edilen kromatogram.



Şekil 4.11. İmipramin için total iyon spektrumu m/z (kütle/iyon yükü) değerleri. Hedef m/z değerleri; 234 ve 235.



Şekil 4.12. Venlafaksin için total iyon spektrumu; m/z (kütle/iyon yükü) değerleri. Hedef m/z değerleri; 58 ve 134.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Çalışmada lokal olarak periferik uygulanan venlafaksin formalin ve glutamat testlerinde lokal periferik antinosiseptik etki gösterdiği ve oluşan etkinin sistemik uygulamadan farklı olmadığı görülmüştür. Venlafaksin formalin testindeki lokal periferik antinosiseptik etkisinde opioid reseptörlerinin rollerinin olmadığı, adenosin A₁ reseptörlerinin ise sadece 1. fazda önemli role sahip olduğu bulunmuştur. Lokal ve sistemik uygulamayı takiben alınan kan örneklerinden plazmada yapılan miktar tayininde lokal uygulamada plazmada venlafaksine rastlanmaması ise etkinin tamamen lokal olduğunu doğrulamıştır.

Yapılan deneysel ve klinik çalışmalarda venlafaksin sistemik uygulama ile diyabetik ve diğer nöropatik ağrı durumlarında ve deneysel ağrı modellerinde oldukça güçlü analjezik etki gösterdiği bildirilmiştir (98-102). Antihiperalezik etkisinin doza bağlı ve kronik uygulamada akut uygulamaya göre daha belirgin olduğu gösterilmiştir (47, 103).

Çalışmamızda venlafaksin formalin testinde sistemik uygulamayı takiben doza bağlı olarak antinosiseptik etki göstermiştir. İntraperitoneal olarak uygulanan 20 ve 40 mg/kg dozları her iki fazda, her iki nosiseptik davranışı istatistiksel olarak anlamlı derecede inhibe etmiştir. Literatürde venlafaksin ile formalin testinde yapılmış çalışmalara diğer ağrı testlerine göre çok daha az rastlanmaktadır. Halbuki antidepresanların antinosiseptik etkilerinin değerlendirilmesinde formalin testinin hot-plate gibi akut testlere göre daha hassas ve güvenilir sonuçlar verdiği bildirilmektedir (56). Ayrıca uzun süreli bir ağrı

modeli olan formalin testinin bazı özellikleri bakımından insandaki travma sonrası oluşan ağrıyı taklit ettiği bildirilmektedir (18).

Sıçanlarda yapılan bir çalışmada 10 ve 30 mg/kg i.p. venlafaksin 50 µl % 5'lik formalin injeksiyonu ile oluşan pençeyi yalama-ısıрма davranışlarını ikinci fazda azalttığı bildirilmiştir (104). Sıçanlara 50 µl % 2.5'lik formalin injeksiyonu ile yapılan başka bir çalışmada ise 20 mg/kg s.c. venlafaksin Faz 1'i istatistiksel olarak anlamlı şekilde ve Faz 2'yi ise tamamen inhibe ettiği bildirilmiştir. Bu çalışmada % 2.5'lik formalin kullanılmış olmasına, formalin injeksiyonu ile oluşan nosiseptif davranışlardan sadece pençeyi yalama ve ısırma davranışına odaklanılmış olmasına ve ayrıca formalin injeksiyonunu takiben ilk 5 dakika 1. Faz, 20. ve 30. dakikalar arası ise 2. Faz olarak alınmış olmasına rağmen sonuçları bizim verilerimizle uyumludur. Venlafaksin formalin testindeki bu sistemik etkisi i.t. olarak uygulanan selektif 5HT_{1A} reseptör antagonisti olan WAY-100635 ile Faz 1'de değişmezken, Faz 2'de kısmen inhibe olmuştur (105). Sıçanlar üzerinde yapılan bir başka çalışmada ise 50 µl % 5'lik formalin injeksiyonu ile oluşan nosiseptif davranışlardan sadece pençe sallama davranışı dikkate alınarak yapılan değerlendirmede 30 ve 100 mg/kg i.p venlafaksin ikinci fazda anlamlı şekilde inhibisyon yaptığı bildirilmiştir (106).

Venlafaksin sıçanlarda i.p. 10 mg/kg'dan düşük dozlarında SSRİ gibi davrandığı, 30 mg/kg ve daha yüksek dozlarda ise dual inhibitör gibi davrandığı bildirilmektedir (106). Benzer sonuç Lang ve ark. tarafından 1996 yılında kronik konstrüktif hasar oluşturulmuş sıçanlar üzerinde yapılan çalışmada 30 ve 100 mg/kg venlafaksin termal hiperaljeziyi maksimum oranda geri çevirmesi ile desteklenmektedir (45). Ayrıca venlafaksin bir inflamatuvar ağrı modeli olan karragenin injeksiyonu ile oluşan termal hiperaljeziyi doza bağlı olarak 10, 30 ve 100 mg/kg i.p. dozları ile geri çevirebilirken, mekanik hiperaljeziyi ancak 30 ve 100 i.p. dozları inhibe edebilmiştir (107, 108). Marchand'ın 2003 yılında yaptığı çalışmada elde ettiği veriler ise bunu desteklememektedir, ancak bu çalışmada düşük dozlar kronik olarak uygulanmıştır (47, 103). 5-HT ve noradrenalinin sinir ucuna geri alımını inhibe eden drogların (dual inhibitörler) sadece birini inhibe edenlere göre deneysel hayvan modellerinde daha geniş bir ağrı dindirme potansiyeline sahip oldukları bildirilmiştir (106, 107, 109). Tüm bu verilere zıt olarak sistemik olarak uygulanan amitriptilin ve mirtazepin sıçan formalin testinde 2. fazda pençeyi sallama davranışını beklenmedik bir şekilde artırırken, yalama ve ısırma davranışlarını azaltmışlardır (110).

Nöropatik ağrının oluşmasında periferel mekanizmaların rol alması topikal yaklaşımların faydalı olabileceğini öne sürmüştür. Primer afferent duyuşal nöronlar prostanoidler, bradikinin, ATP, histamin, 5-HT gibi inflamatuvar maddelerle uyarılabildiklerinden bu maddelerin etkilerinin inhibe edilmesi analjeziklerin geliştirilmesinde strateji olabilir. Periferel sinir sonlanmalarında opyoid, α -adrenerjik, kolinerjik, adenoşin ve kannabinoid reseptörleri gibi inhibitör nöroreseptörler de bulunduğundan bu reseptörler için agonist maddeler drog geliştirilmesinde önemli hedeflerdir. Şu anda NSAİİ, opyoidler, kapsaisin, lokal anestetikler ve α -adrenerjik reseptör agonistleri bazı klinik durumlarda kullanılmaktadırlar. Ayrıca topikal olarak bir kaç antidepresanın ve glutamat reseptör antagonistlerinin kullanımına ilişkin bazı klinik veriler de vardır (8).

Antidepresanlar ise kronik ağrının tedavisinde 40 yıldan fazla bir zamandır kullanılmaktadırlar. Başlangıçta bu etkileri spinal kord ve supraspinal düzeydeki santral mekanizmalara atfedilmiştir. Son zamanlarda tonik ağrı modeli olan formalin testinde ve kronik konstrüktif hasar ile oluşturulan nöropatik ağrı modellerinde lokal olarak perifere uygulanan amitriptilin ve desipramin gibi bazı antidepresanlar antinosiseptif etkili bulunmuşlardır (76-79). TCA grubu bir antidepresan olan doksepinin ekzema tedavisinde kullanılan krem formülasyonunun kronik nöropatik ağrılı hastalarda lokal olarak uygulanması ile analjezik etki gösterdiği bildirilmiştir. Topikal % 3.3'lük doksepin ve % 0.025'lik kapsaisin tek başlarına ve kombine uygulanarak yapılan çalışmada tek uygulama yapılan gruplarda 2. haftadan, kombine uygulanan grupta ise ilk haftadan itibaren belirgin analjezi gözlenmiştir (80). Ayrıca yakın zamanda oral mukozal ağrısı olan kanserli veya kanser tedavisi gören hastalarda yapılan çalışmada ise gargara şeklinde uygulanan doksepin analjezik etki oluşturmuştur (81). % 2 amitriptilin-% 1 ketamin içeren kremin topikal olarak uygulanması ile periferel nöropatide etkili olduğu bildirilmiştir. Periferel analjezik etkiye NMDA reseptör antagonizmasının ve adenoşinin katkısı olabileceği öne sürülmüştür (82). Doksepin, amitriptilin, desipramin ve fluoksetin dışındaki antidepresan grupları ile lokal periferel analjezik etkiye yönelik çalışmalara literatürde rastlanmamıştır.

İlk defa bizim çalışmamızda venlafaksinın lokal olarak perifere uygulanması sureti ile antinosiseptif etkinliği araştırılmıştır. Venlafaksin formalin testinde lokal olarak perifere uygulandığında konsantrasyona bağılı olarak antinosiseptif etki göstermiştir. Venlafaksin 100, 200 ve 400 μ g konsantrasyonlarında uygulandığında belirtilen tüm nosiseptif davranışları inhibe etmiştir.

İnce miyelinli ve miyelinsiz kütanöz duyusal liflerin periferdeki uçlarında opyoid reseptörlerinin varlığı bilinmektedir. Dorsal kök ganglionları opyoid reseptörlerine özgü mRNA'lar içerirler ve sentezlendiklerinde hem periferde hem de santrale doğru gönderilirler ve periferde opyoidlerin etkileri inflamasyondan hemen sonra gözlenir. Ekzojen opyoidlerin periferel antinosiseptif etkileri ise çok sayıdaki davranış çalışmaları ile özellikle de inflamasyon modellerinde gösterilmiştir (8). Visseral afferentlerde yapılan elektrofizyolojik çalışmalarla TCA grubu antidepresanların periferel etkilerinin olduğu ve bu etkilerinin nalokson ile bloke edilebildiği gösterildiğinden (84), venlafaksinın sıçan formalin testinde oluşturduğu lokal periferel antinosiseptif etkisinde opyoiderjik sistemin rolünü araştırmak amacıyla venlafaksin injeksiyonu öncesi sistemik olarak opyoid reseptör antagonisti olan nalokson uygulanmıştır. Ancak nalokson uygulanması ile venlafaksinın lokal periferel antinosiseptif etkisinde belirgin bir değişme meydana gelmemiştir. Nalokson tek başına uygulandığında da formalin testinde nosiseptif cevabı etkilememiştir. Verilerimizle uyumlu olarak yapılan çalışmalarda venlafaksin sistemik olarak 10 mg/kg dozlarında s.c. olarak 1 saat ara ile 5 kez mononöropatik ve diyabetik nöropatili sıçanlara uygulandığında antihiperalezik etki göstermiştir ve bu etkisi 1 mg/kg i.v. nalokson ile değişmemiştir (47, 103). Bazı araştırmacılara göre sistemik nalokson formalin testinde tek başına uygulandığında hiperalezi oluşturabiliyor, bazılarına göre analjezi yapabiliyor ve bazılarına göre de herhangi bir etki oluşturmayabilir (111-114). Bizim çalışmamızda da nalokson 2 mg/kg dozunda i.p. olarak uygulandığında sıçan formalin testinde tek başına anlamlı etki oluşturmamıştır. Bu da testte belirgin bir endojen opyoid salınımlarının olmadığını düşündürmüştür. Formalin testinde venlafaksinın lokal olarak periferde uygulanmasıyla oluşturduğu antinosiseptif etkide opyoid reseptörlerinin rolü olmadığı tespit edilmiştir. Diğer çalışmalardan elde edilen veriler venlafaksinın sistemik uygulama ile antinosiseptif etki gösterebilmek için noradrenerjik ve serotonerjik sistemlere ihtiyaç duyduğunu ancak TCA'ların zıttına endojen opyoid sistemlerle etkileşmediğini göstermiştir (103). TCA'lar opyoid reseptörlerine düşük de olsa bağlanma afinitesine sahiptirler ve antidepresan etki oluşturan dozları ile elde edilen plazma ve santral dokudaki düzeylerinin opyoid reseptörlerini etkileyecek düzeyde olduğu bildirilmiştir. TCA'ların etkilerindeki opyoiderjik mekanizmaların monoaminerjik etkilerinden kaynaklanan dolaylı bir etki ile de olabileceği düşünülmektedir (115). Farede formalin testinde ve kuyruğun elektriksel uyarılması ile oluşan nosisepsiyonda TCA'ların oluşturduğu antinosiseptif etkilerde

opyoiderjik, serotonerjik ve noradrenerjik sistemlerin rolü olduğu bildirilmiştir. Ancak antidepresanların antinosiseptif etkileri ve bu etkide rol alan mekanizmaların uygulanan maddeye ve teste bağlı olarak değişebildiği bildirilmiştir (60). Örneğin imipraminin farede oluşturduğu antinosiseptif etkide GABA_B reseptörlerinin rolü olduğu antagonist uygulanarak gösterilmiştir (61). Fluoksetinin diyabetik nöropatili farede oluşturduğu antinosiseptif etki ise nalokson ve atropin ile antagonize edilebilmiştir (62). Venlafaksindeki farklılık; TCA'lara benzemeyen yapısı, antimuskarinik, antihistaminik ve α -blokör etkisinin olmaması ve bir de TCA'lardan farklı bir şekilde 5-HT ve noradrenalin geri alım transportörlerine bağlanıyor olması olabilir (47, 116). Bunlara zıt olarak farede hot-plate testinde venlafaksin ile yapılan bir çalışmada oluşan antinosiseptif etkide α_2 adrenerjik ve κ_1 -, κ_3 - ve δ - opyoiderjik reseptörlerinin rol aldığı bildirilmiştir (46).

Adenozinin i.v. olarak insana uygulandığında ağrı oluşturduğu önceden bildirilmiştir. Diğer taraftan adenozin analoglarının hayvanlarda periferel ve i.t. uygulama ile antinosiseptif etki oluşturdukları gösterilmiştir. Periferel ve spinal bölgelerde adenozin ve ATP ağrı transmisyonu üzerinde çoklu etkilere sahiptirler. Rodentlerde periferel sinir terminallerinde A₁ reseptörlerinin aktivasyonu duyuşal sinir terminallerinde cAMP yapımını azaltarak antinosisepsiyon oluştururken, A₂ reseptör aktivasyonu cAMP düzeyini artırarak pronosiseptif ve ağrıyı artırıcı etki gösterirler. A₃ reseptör aktivasyonu mast hücrelerden histamin ve 5-HT salarak ağrı oluşturur. Spinal kordda, akut nosiseptif inflamatuvar ve nöropatik ağrı testlerinde A₁ reseptörlerinin aktivasyonu antinosiseptif etki oluşturmuştur. Bu etkisi motor performansı etkileyen dozlarından daha düşük dozları ile gözlenmiştir. Antinosisepsiyon K⁺ kondüktansının artması sonucu intrinsik nöronlardaki inhibisyondan ve duyuşal sinir terminallerinin presinaptik inhibisyonu sureti ile P maddesi ve muhtemelen glutamat salınımının inhibisyonundan kaynaklanmaktadır (63). A₁ reseptör agonisti olan R-PIA formalin testinde farenin pençesine lokal olarak uygulandığında antinosiseptif etki gösterirken, A₂ reseptör agonisti olan APEC aljezik etki oluşturmuştur. Veriler periferel A₁ reseptörlerinin lokal antinosiseptif etkiden, A₂ reseptörlerinin ise aljezik etkiden sorumlu olduğunu gösteriyor (8, 89). Esasen A₁ reseptörleri sinaptik transmisyonda inhibitör etkilerde baskın olurken, A₂ reseptörleri eksitator niteliktedirler. Sıçana lokal olarak uygulandığında mekanik hiperaljezi yapmaktadır ve bu etkisi A₂ reseptör antagonistince azalmaktadır (64). Ekzojen adenozin sıçan formalin testinde her iki fazda da pençeyi sallama nosiseptif

davranışını muhtemelen periferik A_2 reseptör aracılığı ile artırmaktadır. Endojen adenozin formalinin oluşturduğu inflamatuvar ağrıda A_1 ve A_2 reseptörlerini uyararak yer alıyor. Nosisepsiyon açısından adenozin A_1 ve A_2 reseptörlerinin uyarılması görünüşte zıt etki yapıyor (117). Periferde μ , A_1 ve α_2 reseptörlerinin üçlü kompleks şeklinde antinosisepsiyona aracılık edebilecekleri de bildirilmiştir (87). Amitriptilin lokal olarak pençeye uygulanması ile formalin testinde oluşturduğu antinosiseptif etkisinin kafein ve A_1 reseptör antagonisti olan CPT tarafından kısmen de olsa azaltılmış olması, venlafaksin etkisinde de adenozerjik sistemin rolünün olup olamayacağı fikrini akla getirmiştir. Amitriptilin ve diğer birtakım antidepresanların sinir ucuna adenozin geri alımını inhibe ettikleri yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (65). Üstelik formalin enjeksiyonu ile periferde adenozin salındığı da tespit edilmiştir. Salınan adenozinin amitriptilin tarafından geri alımının inhibisyonunun, lokal periferik antinosiseptif etkisindeki mekanizmalardan biri olabileceği öne sürülmüştür. Ancak venlafaksin sinir ucundan adenozin geri alımını inhibe edip etmediğine dair literatürde bilgiye rastlanmamıştır. Daha önceden yaptığımız bir çalışmada venlafaksin sistemik uygulama ile farede hot-plate testinde oluşturduğu antinosiseptif etkisi kafein tarafından azaltılmıştı (49). Tüm bu sonuçlara dayanarak venlafaksin sıçan formalin testinde oluşturduğu lokal periferik antinosiseptif etkisinde adenozin A_1 reseptörlerinin rolünü araştırmak amacıyla venlafaksin i.pl. enjeksiyonundan önce adenozin A_1 reseptör antagonisti olan CPT'yi uyguladık. Venlafaksin formalin testinde oluşturduğu antinosiseptif etki adenozin A_1 reseptör antagonisti CPT tarafından 1. fazda anlamlı derecede inhibe edilirken, 2. fazdaki bu inhibisyon istatistiksel olarak anlamlı değildir. Yani adenozin A_1 reseptörleri 2. fazda değil ancak 1. fazda venlafaksin antinosiseptif etkisine aracılık etmektedirler. 1. fazın periferdeki nosiseptörlerin direkt uyarılması sonucu olduğu bildirildiğinden (11, 18) venlafaksin enjeksiyonu ile periferdeki adenozin A_1 reseptörlerinin bir şekilde uyarılmış olabileceğini düşünüyoruz.

Bir eksitator amino asit olan glutamat deriye uygulandığında ağrı davranışları oluşturur (21). Sıçan pençesine ya da eklem boşluğuna NMDA ve non-NMDA glutamat reseptör agonistlerinin uygulanması hiperaljezi ve allodiniye neden olarak ağrıyı artırmıştır. Pençede oluşan inflamasyonda C ve A- δ liflerinden lokal olarak glutamat salındığı bildirilmektedir (8, 15). İlâveten sempatik afferentler üzerindeki glutamat reseptörlerinin uyarılması ile noradrenalin ve postgangliyonik efferentlerden ATP, nöropeptid Y gibi diğer maddelerin salınımı ve ayrıca postgangliyonik efferentler üzerinde bulunan

NMDA, AMPA ve kainat reseptörlerinin uyarılması ve bunların inflamasyon gibi durumlarda ekspresyonlarının artması gibi dolaylı mekanizmalar da rol alırlar (8). Sıçan formalin testinde de periferik NMDA ve diğer glutamat reseptörlerinin nosiseptif davranışlara katkıda buldukları bildirilmiştir. Formalin testinde mikrodiyaliz yöntemi ile injeksiyon öncesi ve sonrası sıçan pençesinin plantar kısmındaki glutamat ve aspartat düzeyleri ölçüldüğünde injeksiyondan hemen sonra injeksiyon yapılan pençeye kontralateral tarafta herhangi bir artış gözlenmezken ipsilateralde artış gözlenmiştir. Bu da formalin injeksiyonu ile oluşan nosisepsiyon ve inflamasyonda periferik glutamat ve aspartat salınımının rol aldığını gösteriyor (15). Sıçan pençesinden glutamat injeksiyonunu takiben kapsaisine duyarlı primer afferentlerden adenosinin de salındığı periferik mikrodiyaliz aracılığı ile gösterilmiştir (25). Pençeye glutamat solüsyonunun injeksiyonunu takiben çabucak başlayan nosiseptif davranışların, glutamatın hızlı bir şekilde çevre dokular tarafından geri alınmasından dolayı yaklaşık 15 dakika kadar sürdüğü bildirilmiştir (24). Bizim çalışmamızda da pençeye glutamat injeksiyonunu takiben hızlı bir şekilde başlayan ve yaklaşık 10 dakikada sona eren nosiseptif davranışlar gözlenmiştir. Ancak şimdiye kadar pençeye glutamat injeksiyonu ile yapılan çalışmalarda sadece pençe yalama davranışı dikkate alınırken ilk kez bizim çalışmamızda pençeyi sallama nosiseptif davranışı da dikkate alınmıştır. Glutamat testinde venlafaksin lokal olarak pençeye uygulandığında konsantrasyona bağlı olarak 100 ve 200 µg konsantrasyonlarda ve ayrıca sistemik olarak 20 mg/kg i.p dozunda uygulandığında belirgin antinosiseptif etki oluşturmuştur. Lokal olarak perifere uygulanan venlafaksin 100 µg konsantrasyonun ve sistemik 20 mg/kg i.p dozunun oluşturduğu antinosiseptif etki arasında fark bulunmamıştır. 200 µg konsantrasyonda oluşturduğu antinosiseptif etki ise sistemik 20 mg/kg i.p dozunun oluşturduğundan belirgin derecede fazladır. Hem glutamat testinde hem de formalin testinde belirgin antinosiseptif etki gösteren venlafaksin periferdeki bu etkisine, glutamerjik reseptörler üzerindeki doğrudan ve/veya dolaylı antagonistik etkisinin de aracılık edebileceğini düşünüyoruz..

Formalin testinde kullanılan hayvanın türü, ırkı ve cinsiyeti, uygulanan formalinin konsantrasyonu, formalinin pençenin dorsal ya da ventral yüzüne injekte edilmesi, injeksiyon sayısını azaltmak için uygulanacak drogun formalin solüsyonu içine karıştırılıp injekte edilmesi, nosiseptif davranışları değerlendirme kriterleri (sadece pençeyi yalama ve ısırma davranışı ya da pençeyi sallama sayısının değerlendirilmesi) ve değerlendirme süresi, ortam sıcaklığındaki aşırı değişimler, hayvana injeksiyonu

kolaylaştırmak için anestezi yapılması gibi bir çok faktör formalin testinde cevapları oldukça etkilemektedir (16, 20).

Çalışmalarımızda mümkün olduğu kadar doğru yanıt elde edebilmek için venlafaksini formalin solüsyonunun (Sawynok ve ark. 1999, yöntemini modifiye ederek) veya glutamat solüsyonunun içine katmadan diğer bir deyişle kokteyl tarzında karıştırmaksızın, formalin veya glutamat enjeksiyonlarından önce uygulandı. Çalışmada tüm nosiseptif davranışlar (pençeyi yalama, ısırma ve sallama) kaydedilerek cevaplar bir bütün olarak ele alınmaya çalışıldı. Çalışmada venlafaksin antinosiseptif etkisinde pençeyi yalama-ısırma ve sallama davranışları açısından bir farklılık olmadığı, sonuçların paralel olduğu görülmüştür. Bazı çalışmalarda pençeye enjeksiyon halotan anestezisi altında yapılmakta ve anestezik etki tamamen ortada kalkınca deneye tabi tutulmakta, ancak bu şekilde formalin testinin ilk fazı gözlemlenemeyebilmektedir. Bu nedenle bizim çalışmalarımızda ağrı testlerinde diğer bazı araştırmacılar gibi herhangi bir anestezik madde kullanmaksızın enjeksiyon yapıldı.

Yapılan lokal periferik uygulamalarla elde edilen antinosiseptif etkide venlafaksin sistemik etkisinin olup olmadığını araştırmak ve şayet varsa sistemik uygulamayla oluşan plazma konsantrasyonları ile kıyaslamak amacıyla lokal ve sistemik uygulamayı takiben belirli zamanlarda sıçanlardan alınan kan örnekleri ile plazmadaki venlafaksin miktarını tayin ettik. Lokal uygulamayı takiben 12. ve 45. dakikalarda yani 1. fazda 5. dakikaya ve 2. fazda 37. dakikaya tekabül eden zamanlarda alınan kan örneklerinde venlafaksin tayin limitinin (25 ng/ml) altında kaldığı için bulunmadığı sonucuna varılmıştır. Sistemik uygulama sonrası ise 25. (1. fazda 5. dakika) ve 45. dakikalarda (2. fazda 25. dakika) alınan kan örneklerinde sırasıyla $1.74 \pm 0.18 \mu\text{g/ml}$ ve $1.00 \pm 0.67 \mu\text{g/ml}$ konsantrasyonda venlafaksin tespit edilmiştir. Veriler lokal olarak pençeye venlafaksin enjeksiyonu ile formalin ve glutamat testinde oluşan antinosiseptif etkinin lokal olduğunu teyid etmektedir.

Sonuç olarak formalin ve glutamat testlerinde venlafaksin lokal periferik olarak uygulanması sistemik uygulama ile kıyaslanabilecek düzeyde antinosiseptif etki göstermiştir. Bu etkisinde opyoid reseptörlerinin önemli bir rolü saptanamazken, adenosin A₁ reseptörlerinin rolü olabileceği gösterilmiştir. Ayrıca venlafaksin glutamerjik reseptörler üzerinde doğrudan ve/veya dolaylı inhibitör bir etkisi olabileceği düşünülmüştür.

Bu veriler ışığında venlafaksin kronik ağrı durumlarında krem ya da jel şeklinde lokal olarak perifere uygulanmak suretiyle faydalı olabilir. Hasta tarafından kullanımı oldukça kolay bir uygulama şekli olan lokal periferel uygulama sayesinde uygulama yerinde oldukça yüksek konsantrasyonda ilaç bulunmasına olanak sağlamak mümkün olurken aynı zamanda sistemik yan etkiler de bertaraf edilmiş olunabilir. Ancak daha kesin bir şeyler söyleyebilmek için bu konuda yapılacak klinik denemelere ihtiyaç vardır.

6. KAYNAKLAR

- 1- Kesim M, Duman E, Kadioğlu M, Yarış E. Hayvanlarda deneysel akut ağrı modelleri. Ağrı 2002;14(3):16-21
- 2- Ertekin C, Tırkoğlu M. Ağrının nōroanatomi ve nōrofizyolojisi, ağrının tanımlanması ve ölçümü. Yegül İ., Ağrı ve Tedavisi Kitabı'ndan, İzmir, Yapım Matbaacılık,1993:1-28
- 3- Fürst S. Transmitters involved in antinociception in the spinal cord. Brain Res Bull 1999;48(2):129-141
- 4- Clark MR, Treisman GJ. Neurobiology of pain. Pain and Depression 2004;25:80-88
- 5- Abacıoğlu N. Aljezi, inflamasyon, pirezis ve NSAİİ. Bökesoy TA, Çakıcı İ, Melli M., Farmakoloji Ders Kitabı'ndan. Ankara, Gazi Kitabevi, 2000:473-484
- 6- Dickenson AH. Pain and analgesia. In: Webster RA (eds). Neurotransmitters, Drugs and Brain Function. Chichester, John Wiley Sons Ltd, 2001:453-474
- 7- Nestler EJ, Hyman SE, Malenka RC. Molecular neuropharmacology: a foundation for clinical neuroscience. McGraw Hill, USA,2001:433-452
- 8- Sawynok J. Topical and peripherally acting analgesics. Pharmacol Rev 2003;55:1-20
- 9- Guyton CA, Hall EJ. Textbook of Medical Physiology, Tıbbi Fizyoloji (10 baskı), Çavuşoğlu H. (çeviri editörü). Nobel Tıp ve Yüce Yayınları, 2001:552-559
- 10- Rohkamm R. Color Atlas of Neurology. Stuttgart, Georg Thieme Verlag, 2004:118
- 11- Bars DL, Gozariu M, Codden SW. Animal models of nociception. Pharmacol Rev 2001;53(1):597-65

- 12- Clavelou P, Dallel R, Orliaguet T, Woda A, Roboissou P. The orofacial formalin test in rats: effects of different formalin concentrations. *Pain* 1995;62:295-301
- 13- Gaumont I, Arsenault P, Marchand S. The role of sex hormones on formalin induced nociceptive responses. *Brain Res* 2002;958:139-145
- 14- Tjolsen A, Berge OG, Hunskaar S, Rosland JH, Hole K. The formalin test: an evaluation of the method. *Pain* 1992;51(1):5-17
- 15- Omote K, Kawamata T, Kawamata M, Namiki A. Formalin induced release of excitatory amino acids in the skin of the rat hind paw. *Brain Res* 1998;787(1):161-164
- 16- Yashpal K,Coderre TJ. Influence of formalin concentration on the antinociceptive effects of anti-inflammatory drugs in the formalin test in rats: separate mechanisms underlying the nociceptive effects of low- and high-concentration formalin. *Eur J Pain* 1998; 2:63-68
- 17- Dickenson AH, Sullivan AF. Peripheral origins and central modulation of subcutaneous formalin-induced activity of rat dorsal horn neurons. *Neurosci Lett* 1987;83:207-211
- 18- Dallel R, Raboissou P, Clavelou P, Saade M, Woda A. Evidence for a peripheral origin of the tonic nociceptive response to subcutaneous formalin. *Pain* 1995;61:11-16
- 19- Hunskaar S, Fasmer OB, Hole K. Formalin test in mice, a useful technique for evaluating mild analgesics. *J Neurosci Meth* 1985;14:69-76
- 20- Abbot FV, Franklin KBJ, Westbrook RF. The formalin test: scoring properties of the first and second phases of the pain response in rats. *Pain* 1995;60:91-102
- 21- Dua J, Koltzenburg M, Carlton SM. Glutamate-induced excitation and sensitization of nociceptors in rat glabrous skin. *Pain* 2001;89:187-198
- 22- Beirith A, Santos ARS, Calixto JB. The role of neuropeptides and capsaicin sensitive fibres in glutamate induced nociception and paw oedema in mice. *Brain Res* 2003;969:110-116
- 23- Rosa KA, Gadotti VM, Rosa AO, Rodrigues ALS, Calixto JB et al. Evidence for the involvement of glutamergic system in the antinociceptive effect of ascorbic acid. *Neurosci Lett* 2005;381(1-2):185-188
- 24- Beirith A, Santos ARS, Calixto JB. Mechanism underlying the nociception and paw oedema caused by injection of glutamate into the mouse paw. *Brain Res* 2002;924(2):219-228
- 25- Aumeerally N, Allen G, Sawnok J. Glutamate evoked release of adenosine and regulation of peripheral nociception. *Neuroscience* 2004;127:1-11

- 26- Tian YL, Guo G, Cao DY, Zhang Q, Wang HS, et al. Local application of morphine suppresses glutamate-evoked activities of C and A-delta afferent fibers in rat hairy skin. *Brain Res* 2005;1059:28-34
- 27- Eroğlu L. Depresyon ve mani tedavisinde kullanılan ilaçlar. Bökesoy TA, Çakıcı İ, Melli M., *Farmakoloji Ders Kitabı'ndan*. Ankara, Gazi Kitabevi, 2000:306-311
- 28- Eşkazan E, Kayaalp SO. Duygu durum bozukluklarında kullanılan ilaçlar. Kayaalp SO., *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji Kitabı'ndan*. 10. Baskı, Ankara, Hacettepe Taş Yayınevi, 2002:896-906
- 29- Maryadele JO, Smith A, Heckelman PE. *The Merck Index*. 13 th ed. Whitehouse Station, NJ, USA, Merck & Co Inc, 2001;1770-1771
- 30- Horst WD, Preskorn SH. Mechanism of action and clinical characteristics of three atypical antidepressants: venlafaxine, nefazodone, bupropion. *J Affect Disorders* 1998;51:237-254
- 31- Wang CP, Howell SR, Scatina J, Sisenwine SF. The disposition of venlafaxine enantiomers in dogs, rats, and humans receiving venlafaxine. *Chirality* 1992;4:84-90
- 32- Gex-Fabr M, Rudaz R, Balant-Gorgia AE, Brachet A, Veuthey JL, et al. Steady-state concentration of venlafaxine enantiomers: model-based analysis of between-patient variability. *Eur J Clin Pharm* 2002;58(5):323-331
- 33- Sanchez C, Hyttel J. Comparison of the effects of antidepressants and their metabolites on reuptake of biogenic amines and receptor binding. *Cell Mol Neurobiol* 1999;19(4):467-489
- 34- Bladessarini RJ. Drugs and the treatment of psychiatric disorders, depression and anxiety disorders. In: Hardman JG, Limbird LE, Gillman AG (eds). 10 th ed. McGraw Hill., USA, 2001: 451-474
- 35- Howell SR, Husbands GEM, Scatina JA, Sisenwine SF. Metabolic disposition of ¹⁴C-venlafaxine in mouse, rat, dog, rhesus monkey and man. *Xenobiotica* 1993;23(4):349-359
- 36- Howell SR, Hicks DR, Scatina JA, Sisenwine SF. Pharmacokinetics of venlafaxine and O-desmethylvenlafaxine in laboratory animals. *Xenobiotica* 1994;24(4):315-327
- 37- Wikell C, Hjorth S, Apelqvist G, Kullingsjö J, Lundmark J. Sustained administration of the antidepressant venlafaxine in rats: pharmacokinetic and pharmacodynamic findings. *N-S Arch Pharmacol* 2001;363(4):448-455
- 38- Khalifa M, Dalea P, Turgeon J. Mechanism of sodium channel block by venlafaxine in guinea pig ventricular myocytes. *J Pharmacol Exp Ther* 1999;291(1):280-284

- 39- Maj J, Rogoz Z. Pharmacological effects of venlafaxine, a new antidepressant, given repeatedly, on the α_1 -adrenergic, dopamine and serotonin systems. *J Neural Transm* 1999;106:197–211
- 40- Songer DA, Schulte H. Venlafaxine for the treatment of chronic pain. *Am J Psychiatry* 1996;153(5):737
- 41- Bymaster FP, Dreshfield-Ahmad LJ, Threlkeld PG, Shaw JL, Thompson L, et al. Comparative affinity of duloxetine and venlafaxine for serotonin and norepinephrine transporters in vitro and in vivo, human serotonin receptor subtypes, and other neuronal receptors. *Neuropsychopharmacology* 2001;25(6):871-880
- 42- Masand PS, Gupta S. Long-term side effects of newer generation antidepressants: SSRIs, venlafaxine, nefazodone, bupropion, and mirtazapine. *Ann Clin Psychiatry* 2002;14(3):175-181.
- 43- Rotzinger S, Bourin M, Akimoto Y, Coutts RT, Baker GB. Metabolism of some second and fourth-generation antidepressants: iprindole, viloxazine, bupropion, mianserin, maprotiline, trazodone, nefazodone, and venlafaxine. *Cell Mol Neurobiol* 1999;19(4):427-442
- 44- Marchand F, Alloui A, Pelissier T, Hernandez A, Authier N, et al. Evidence for an antihyperalgesic effect of venlafaxine in vincristine induced neuropathy in rat. *Brain Res* 2003;980:117–120
- 45- Lang E, Hord AH, Denson D. Venlafaxine hydrochloride (Effexor) relieves thermal hyperalgesia in rat with an experimental mononeuropathy. *Pain* 1996;68:151-155
- 46- Schreiber S, Backer MM, Pick CG. The antinociceptive effect of venlafaxine in mice mediated through opioid and adrenergic mechanisms. *Neurosci Lett* 1999;273:85-88
- 47- Marchand F, Alloui A, Chapuy E, Jourdan D, Pelissier T, et al. Evidence for a monoamine mediated, opioid-independent, antihyperalgesic effect of venlafaxine, a non-tricyclic antidepressant, in a neurogenic pain model in rats. *Pain* 2003;103:229–235
- 48- Berrocoso E, Rojas CMO, Mico JA. Non-selective opioid receptor antagonism of the antidepressant-like effect of venlafaxine in the forced swimming test in mice. *Neurosci Lett*. 2004;363(1):25-28
- 49- Yaba G, Sezer Z, Tekol Y. Interaction between venlafaxine and caffeine on antinociception in mice. *Pharmazie* 2006;60(1):60-62
- 50- Kiayias JA, Vlachou ED, Papadodima EL. Venlafaxine HCl in the treatment of painful peripheral diabetic neuropathy. *Diabetes Care* 2000;23(5):699
- 51- Lithner F. Venlafaxine in treatment of severe painful peripheral diabetic neuropathy. *Diabetes Care* 2000;23(11):1710-1711

- 52- Bulut S, Berilgen MS, Baran A, Tekatas A, Atmaca M ve ark. Venlafaxine versus amitriptyline in the prophylactic treatment of migraine: randomized, double-blind, crossover study. *Clin Neurol Neurosur* 2004;107:44-48
- 53- Rybicka KI, Plaznik A. Analgesic effects of antidepressant drugs. *Pharmacol Biochem Behav* 1998;59(2):331-338
- 54- Sawynok J, Esser MJ, Reid AR. Antidepressants as analgesics: an overview of central and peripheral mechanisms of action. *J Psych Neurosci* 2001;26(1):21-29
- 55- Yokogawa F, Kiuchi Y, Ishikawa Y, Otsuka N, Masuda Y, et al. An investigation of monoamine receptors involved in antinociceptive effects of antidepressants. *Anaesth Analg* 2002;95:161-168
- 56- Otsuka N, Kiuchi Y, Yokogawa F, Masuda Y, Oguchi K, et al. Antinociceptive efficacy of antidepressants: assessment of five antidepressants and four monoamine receptors in rats. *J Anesth*. 2001;15:154-158
- 57- Gray MA, Pache DM, Sewell RDE. Do α_2 -adrenoceptors play an integral role in the antinociceptive mechanism of action of antidepressant compounds? *Eur J Pharmacol* 1999;378:161–168
- 58- Özdoğan UK, Lahdesmaki J, Mansikka H, Scheinina M. Loss of amitriptyline analgesia in α_{2A} -adrenoceptor deficient mice. *Eur J Pharmacol* 2004;485:193–196
- 59- Schreiber S, Backer MM, Kaufman JP, Pickb CG. Interaction between the tetracyclic antidepressant mianserin HCl and opioid receptors. *Eur Neuropsychopharm* 1999;8:297–302
- 60- Valverde O, Mico JA, Maldonado R, Mellado M, Rahola JG. Participation of opioid and monoaminergic mechanisms on antinociceptive effect induced by tricyclic antidepressants in two behavioral tests in mice. *Prog Neuro-Psychoph* 1994;18(6):1073-1092
- 61- Zarrindast MR, Valizadeh S, Sahebgharani M. GABA receptor mechanism and imipramine-induced antinociception in ligated and non-ligated mice. *Eur J Pharmacol* 2000;407:65–72
- 62- Anjaneyulu M, Chopra K. Possible involvement of cholinergic and opioid receptor mechanisms in fluoxetine mediated antinociception response in streptozotocin-induced diabetic mice. *Eur J Pharmacol* 2006;538:80–84
- 63- Sawynok J. Adenosine receptor activation and nociception. *Eur J Pharmacol* 1998;317:1-11
- 64- Rang HP, Urban L. New molecules in analgesia. *Br J Anaesth* 1995;75:145-156
- 65- Phillis JW, Wu PH. The effect of various centrally active drugs on adenosine uptake by the central nervous system. *Comp Biochem Physiol* 1982;72:179-187

- 66- Ulugol A, Karadag HC, Tamer M, Firat Z, Aslantas A ve ark. Involvement of adenosine in the anti-allodynic effect of amitriptyline in streptozotocin-induced diabetic rats. *Neurosci Lett* 2002;328:129–132
- 67- Chena YW, Huang KL, Liua SY, Tzenga JI, Chua KS, et al. Intrathecal tricyclic antidepressants produce spinal anesthesia. *Pain* 2004;112:106–112
- 68- Galeotti N, Ghelardini C, Bartolini A. Involvement of potassium channels in amitriptyline and clomipramine analgesia. *Neuropharmacology* 2001;40:75–84
- 69- Kvien TK, Viktil K. Pharmacotherapy for regional musculoskeletal pain. *Best Pract Res Cl Rh* 2003;17(1):137–150
- 70- Kuritzky L, Weaver A. Advances in rheumatology: coxibs and beyond. *J Pain Symptom Manag* 2003;25(2S):6-20
- 71- Zeppetella G, Paul J, Ribeiro MDC. Analgesic efficacy of morphine applied topically to painful ulcers. *J Pain Symptom Manag* 2003; 25(6):555-558
- 72- Twillman RK, Long TD, Cathers TA, Mueller DW. Treatment of painful skin ulcers with topical opioids. *J Pain Symptom Manag* 1999;17(4):288-292
- 73- Kayaalp SO. Türkiye İlaç Kılavuzu 2005 Formüleri. İstanbul, Turgut Yayıncılık, 2005:508
- 74- Bernstein JE, Korman NJ, Bickers DR, Dahl MV, Milikan LE. Topical capsaicin treatment of chronic postherpetic neuralgia. *J Am Acad Dermatol* 1989;21:265-70
- 75- Gammaitoni AR, Alvarez NA, Galer BS. Safety and tolerability of the lidocaine patch 5%, a targeted peripheral analgesic: a review of the literature. *J Clin Pharmacol* 2003;43(2):111-117
- 76- Sawynok J, Reid AR, Esser MJ. Peripheral antinociceptive action of amitriptyline in the rat formalin test: involvement of adenosine. *Pain* 1999;80:45-55
- 77- Esser MJ, Sawynok J. Acute amitriptyline in a rat model of neuropathic pain: differential symptom and route effects. *Pain* 1999;80:643-653
- 78- Esser MJ, Sawynok J. Caffeine blockade of the thermal antihyperalgesic affect of acute amitriptyline in a rat model of neuropathic pain. *Eur J Pharmacol* 2000;399:131-139
- 79- Sawynok J, Esser MJ, Reid AR. Peripheral antinociceptive actions of desipramine and fluoxetine in an inflammatory and neuropathic pain test in the rat. *Pain* 1999;82:149-158
- 80- McCleane G. Topical application of doxepin hydrochloride, capsaicin and a combination of both produces analgesia in chronic human neuropathic pain: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Br J Clin Pharmacol* 2000;49(6):574-579

- 81- Epstein JB, Truelove EL, Oien H, Allison C, Le ND, et al. Oral topical doxepin rinse: analgesic effect in patients with oral mucosal pain due to cancer or cancer therapy. *Oral Oncol* 2001;37(8):632-637
- 82- Lynch ME, Clark AJ, Sawynok J, Sullivan MJ. Topical amitriptyline and ketamine in neuropathic pain syndromes: an open-label study. *J Pain* 2005;6(10): 644-649
- 83- Taiwo YO, Levine JD. Serotonin is a directly acting hyperalgesic agent in the rat. *Neuroscience* 1992;48(2):485-490
- 84- Su X, Gebhart GF. Effects of tricyclic antidepressants on mechanosensitive pelvic nerve afferent fibers innervating the rat colon. *Pain* 1998;76(1-2):105-114
- 85- Davidson EM, Carlton SM. Intraplantar injection of dextrometorphan, ketamine or memantine attenuates formalin-induced behaviors. *Brain Res* 1998;785:136-142
- 86- Carlton SM, Zhou S. Attenuation of formalin-induced nociceptive behaviors following local peripheral injection of gabapentin. *Pain* 1998;76(1-2):201-207
- 87- Aley KO, Levine JD. Multiple receptors involved in peripheral α_2 , μ and A_1 antinociception, tolerance, and withdrawal. *J Neurosci* 1997;17(2):735-744
- 88- Dogrul A, Uzbay TI. Topical clonidine antinociception. *Pain* 2004;111:385-391
- 89- Karlsten R, Gordh T, Post C. Local antinociceptive and hyperalgesic effects in the formalin test after peripheral administration of adenosine analogues in mice. *Pharmacol Toxicol* 1992;70:434-438
- 90- Liu XJ, White TD, Sawynok J. Involvement of primary sensory afferents, postganglionic sympathetic nerves and mast cells in the formalin-evoked peripheral release of adenosine. *Eur J Pharmacol* 2001;429:147-155
- 91- Ergenç N, Gürsoy A, Ateş Ö. İlaçların Tanınması ve Kantitatif Tayini. 4. baskı, İstanbul, İstanbul Üniversitesi Yayınları, 1989:141-349
- 92- Kılıç E, Köseoğlu F, Yılmaz H. Enstrümantal Analiz İlkeleri. 1. baskı, Ankara, Bilim Yayıncılık, 2000:11-701
- 93- Waynforth HB. Experimental and Surgical Technique In The Rat. Methods of euthanasia. Academic Press United States Edition, San Diego, 1988:236
- 94- Rudaz S, Stella C, Balant-Gorgia AE, Fanali S, et al. Simultaneous stereoselective analysis of venlafaxine and O-desmethylvenlafaxine enantiomers in clinical samples by capillary electrophoresis using charged cyclodextrins. *J Pharmaceut Biomed* 2000;23:107-115

- 95- Bermejo-Barrera P, Fernandez-Sanchez LM, Aboal-Somoza M, Anllo-Sendin RM, Bermejo-Barrera A. Indirect atomic absorption spectrometry IAAS as a tool for the determination of iodide in infant formulas by precipitation of AgI and redissolution with cyanide. *Microchem J* 2001;69:205-211
- 96- Bhatt J, Jangid A, Venkatesh G, Subbaiah G, Singh S. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS-MS) method for simultaneous determination of venlafaxine and its active metabolite O-desmethyl venlafaxine in human plasma. *J Chromatogr B*, 2005;829:75-81
- 97- Özdamar K. SPSS ile Biyoistatistik. 4. baskı, Eskişehir, Kaan Kitabevi, 2001:313-331
- 98- Pernia A. Venlafaxine for the treatment of neuropathic pain. *Letters* 2000;19(6):408-410
- 99- Tasmuth T, Hartel B, Kalso E. Venlafaxine in neuropathic pain following treatment of breast cancer. *Eur J Pain* 2002;6:17-24
- 100- Enggaard TP, Klitgaard NA, Gram LF, Arendt-Nielsen L, Sindrup SH. Specific effect of venlafaxine on single and repetitive experimental painful stimuli in humans. *Clin Pharmacol Ther* 2001;69(4):245-251
- 101- Sumpton JE, Moulin DE. Treatment of neuropathic pain with venlafaxine. *Ann Pharmacother* 2001;35(5):557-559
- 102- Rowbotham MC, Goli V, Kunz NR, Lei D. Venlafaxine extended release in the treatment of painful diabetic neuropathy: a double-blind, placebo-controlled study. *Pain* 2004;110:697-706
- 103- Marchand F, Alloui A, Chapuy E, Hernandez A, Pelissier T, Ardrif D, et al. The antihyperalgesic effect of venlafaxine in diabetic rats does not involve the opioid system. *Neurosci Lett* 2003;342(1-2):105-108
- 104- Iyengar S, Webster AA, Luecke SKH, Xu JY, Simmons RMA. Efficacy of duloxetine, a potent and balanced serotonin-norepinephrine reuptake inhibitor in persistent pain models in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 2004;311(2):576-584
- 105- Bonnefont J, Chapuy E, Clottes E, Alloui A, Eschalier A. Spinal 5-HT_{1A} receptors differentially influence nociceptive processing according to the nature of the noxious stimulus in rats: effect of WAY-1635 on the antinociceptive activities of paracetamol, venlafaxine and 5-HT. *Pain* 2005;114:482-490
- 106- Pedersen LH, Nielsen AN, Blackburn-Munro G. Antinociception is selectively enhanced by parallel inhibition of multiple subtypes of monoamine transporters in rat models of persistent and neuropathic pain. *Psychopharmacology* 2005;182:551-561

- 107- Jones CK, Eastwood BJ, Need AB, Shannon EB. Analgesic effects of serotonergic, noradrenergic or dual reuptake inhibitors in the carrageenan test in rats: Evidence for synergism between serotonergic and noradrenergic reuptake inhibition. *Neuropharmacology* 2006;52:1172-1180
- 108- Arıcıoğlu F, Buldanlıoğlu U, Salanturoğlu G, Özyalçın SN. Evaluation of antinociceptive and anti-inflammatory effects of venlafaxine in the rat. *Ağrı* 2005;17(4):41-46
- 109- Mochizucki D. Serotonin nad noradrenaline reuptake inhibitors in animal models of pain. *Hum Psychopharmacol Clin Exp.* 2004;19:15-19
- 110- 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;48:252–263
- 111- Zhao CS, Tao YX, Tall JM, Donovan DM, Meyer RA, et al. Role of μ -opioid receptors in formalin-induced pain behaviour in mice. *Exp Neurol* 2003;184:839-845
- 112- Song S. The dual effects of naloxone on morphine analgesia: Dose-related different responses on formalin-induced nociception. *J Pain* 2005;6(3) Suppl 1:21
- 113- North MA. Naloxone reversal of morphine analgesia but failure to alter reactivity to pain in the formalin test. *Life Sci* 1978; 22(4):295-302
- 114- Taylor BK, Peterson MA, Basbaum AI. Continuous intravenous infusion of naloxone does not change behavioral, cardiovascular, or inflammatory response to subcutaneous formalin in the rat. *Pain* 1997;69:171-177
- 115- Isenberg KE, Cicero TJ. Possible involvement of opiate receptors in the pharmacological profiles of antidepressant compounds. *Eur J Pharmacol* 1984;103:57-63
- 116- Beique JC, Lavoie N, Montigny C, Debonnel G. Affinities of venlafaxine and various reuptake inhibitors for the serotonin and norepinephrine transporters. *Eur J Pharmacol* 1998;349:129-132
- 117- Doak GJ, Sawynok J. Complex role of adenosine in the genesis of the response to subcutaneous formalin in the rat. *Eur J Pharmacol* 1995;281(3):311-318

EKLER

EK.1: Kullanılan demirbaş ve sarf malzemeler

GC-MS (Shimadzu)

Hamilton Şırınga (Hamilton, İsviçre)

İğne ucu (Hayat, İstanbul)

Hassas Terazi (Shimadzu)

Terazi (Sartorius)

pH metre (Hanna Instruments)

Santrifüj (Hettich EBA 3S), satrifüj (Nüve)

Etüv (Nüve)

Vorteks (Elektromag)

Çeker ocak (Şimşek Labortechnik)

Derin dondurucu (Sanyo Biomedikal)

Mikropipet (Troff Lab)

Gözlem Kafesi, kronometre, ayna, beher, cam tüp, eppendorf tüpleri, azot

Formaldehit (Merck, Almanya)

Venlafaksin HCl, % 99,9 (Wyeth Reference Standarts, ABD)

CPT (Sigma, Almanya)

Nalokson HCl (Sigma, ABD)

L-Glutamik asit HCl (Sigma, ABD)

İmipramin HCl (Sigma, ABD)

Metanol, extra pure (Merck, Almanya)

Sikloheksan, ACS reagent (Sigma, ABD)

Etil asetat, extra pure (Merck, Almanya)

Sodyum Hidroksit (Merck, Almanya)

Serum Fizyolojik (Biosel, Türkiye)

ÖZGEÇMİŞ

1977'de Kayseri'de doğdu. İlk öğrenimini Güven Türk İlköğretim Okulu'nda, orta kısmı Sami Yangın Anadolu Ticaret Lisesi'nde ve liseyi TED Kayseri Koleji'nde tamamladı. 1995 yılında Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'ne girdi. 1999 yılında mezun olarak aynı yıl Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans programına başladı. 2002 yılında yüksek lisansı tamamlayarak doktora programına başladı. 2000 yılından beri Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak görev yapmaktadır.

Telefon: 0-352-4374937 (23830)

E-mail: gulayy@erciyes.edu.tr