

**T.C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI**

**SIÇANLARDA NİTRİK OKSİT DONÖRÜ S-NİTROZO-N-ASETİL-D,L-
PENİSİLAMİN İLE OLUŞTURULAN HİPERALJEZİ ÜZERİNE MANYETİK
ALAN STİMÜLASYONUNUN VE DEKSMEDETOMİDİN' İN ETKİSİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Ecz. ASENA TUĞBA ADA**

**SİVAS
MAYIS, 2008**

**T.C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI**

**SIÇANLARDA NİTRİK OKSİT DONÖRÜ S-NİTROZO-N-ASETİL-D,L-
PENİSİLAMİN İLE OLUŞTURULAN HİPERALJEZİ ÜZERİNE MANYETİK
ALAN STİMÜLASYONUNUN VE DEKSMEDETOMİDİN' İN ETKİSİ**

**TEZİ HAZIRLAYAN
Ecz. ASENSA TUĞBA ADA**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. TİJEN KAYA TEMİZ**

**SİVAS
MAYIS, 2008**

Bu tez Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi yönetim kurulunun 12/03/2002 tarih ve 2002/1 sayılı kararı ve Cumhuriyet Üniversitesi Rektörlüğünün 28/02/2002 tarih ve 463 sayılı yazısı ile uygun görülen tez yazım kılavuzuna göre hazırlanmıştır.

TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanmasında büyük emeği geçen tez danıŐmanım Prof.Dr. Tijen KAYA TEMİZ'e, emeklerini esirgemeyen Doç.Dr. İhsan BAĞCIVAN, Yrd. Doç.Dr. AyŐe DEMİRKAZIK ve ArŐ. Gör.Dr. Ahmet ALTUN'a katkılarından dolayı teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	vi
İNGİLİZCE ÖZET	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
ŞEKİLLER	xi
RESİMLER	xii
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	3
2.1 Ağrı Tanımı	3
2.2 Ağrı Sınıflandırılması	3
2.3 Ağrı Algılanması	5
2.4 Ağrı Yolakları	5
2.5 Ağrı ve Nosisepsiyonda Zamansal Sınıflama	13
2.6 Ağrı Oluşumundan Sorumlu Mediyatörler	15
2.7 Nitrik Oksit ve Ağrı İlişkisi	16
2.8 Manyetik Alan	17
2.9 Deksmetomidine	19
MATERYAL METOD ve YÖNTEMLER	21
3.1 Çalışmada Kullanılan Deney Hayvanları	21
3.2 Deney Düzenegi	21
3.3 Statik Manyetik Alan Uygulaması	23
3.4 Ağrının Ölçülmesi	24
3.5 Radyan Isı Tail Flick Testi	24
3.6 Plazma Substance P ve B-Endorfin Seviyelerinin Ölçülmesi	25
3.7 Deneylerde Kullanılan İlaçlar	25
3.8 Deney Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi	25
BULGULAR	27
TARTIŞMA	35
KAYNAKLAR	41

ÖZET:

Ağrı, çok sayıda subjektif ve öngörülemeyen faktörlerin bileşiminden ileri gelen, yüzyıllardır kişileri ve toplumları etkileyen bir duydur. Ağrı duyusunun tedavisinde alternatif yöntemler geliştirmek yüzyıllardır tıbbın en önemli amaçlarından biri olmuştur. Biz de bu bağlamda, Nitrik Oksit (NO) donörü olan S-Nitrozo N-asetil penisilamin (SNAP) ile oluşturulan hiperaleji üzerinde manyetik alan maruziyeti ve Deksmetomidin'in antinosiseptif etkilerini ile bu etkilerin mekanizmalarını araştırmayı amaçladık.

Çalışmamız iki bölümde yapıldı. Birinci bölümde; sıçanlar altışarlı 6 gruba ayrıldı. Sırasıyla birinci gruptaki sıçanlara (Sham grubu) 0.3 ml serum fizyolojik intraperitoneal (i.p), ikinci gruptaki sıçanlara (SNAP grubu) ise SNAP (2mg/kg) i.p. uygulandı. Üçüncü gruptaki sıçanlar (MF grubu) 6 gün boyunca manyetik alana (100 mT, 165 dk.) maruz bırakılırken, dördüncü gruptaki sıçanlar (SNAP+MF grubu) SNAP (2mg/kg) (i.p) uygulanmasından sonra manyetik alana maruz bırakıldı. Beşinci gruba (Deks grubu) 12.5 µg/kg Deksmetomidin i.p olarak uygulanırken, son gruba ise (SNAP+Deks grubu) SNAP ve Deksmetomidin'in ağrı üzerindeki etkileşimlerini tespit etmek için, 12.5 µg/kg Deksmetomidin (i.p) uygulamasından hemen önce SNAP (2mg/kg) i.p olarak uygulandı. Çalışmamızın ikinci bölümünde, Sham, SNAP, Deks, SNAP+Deks gruplarında, ilaç uygulamalarından 75 dakika sonra kan örnekleri intrakardiyak (i.k) olarak alındı. MF ve SNAP+MF gruplarında ise kan örnekleri uygulamalarının 4. gününde yine i.k olarak alındıktan sonra, serum substance P ve β-endorfin düzeyleri ELISA yöntemi ile ölçüldü.

SNAP (2mg/kg) i.p uygulamada zamana bağlı hiperalejik bir etki meydana getirdi. Buna karşın Deksmetomidin zamana bağlı güçlü bir antinosisepsiyon oluşturdu. SNAP+Deks grubunda, Deksmetomidin, SNAP tarafında oluşturulan hiperalejiyi anlamlı şekilde önlese de kuyruk çekme testi (tail flick testi) değerlerini Sham grubu seviyesine getiremedi. Manyetik alan uygulaması 3. ve 4. günlerde güçlü bir antinosisepsiyon meydana getirdi. SNAP+MF grubunda, manyetik alan uygulaması SNAP tarafından oluşturulan hiperalejiyi 3 ve 4. günlerde anlamlı şekilde azaltsa da

SNAP+MF grubunun 3. ve 4. gün tail flick değerleri MF ve Sham grupları ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak düşük bulundu.

Tek başına SNAP uygulanan grupta serum substance P düzeyleri anlamlı olarak yüksek bulundu. SNAP+MF ve SNAP+Deks gruplarında plazma substance P düzeyleri Sham grubu ile benzer olarak saptandı. Tek başına SNAP uygulaması plazma β -endorfin düzeylerinde anlamlı bir değişme meydana getirmedi. MF, SNAP+MF, Deks ve SNAP+Deks gruplarının plazma β -endorfin düzeyleri, Sham grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksekti.

Sonuç olarak, bu deliller ışığında çalışmamız; (1) SNAP'ın da diğer NO donörleri gibi spinal hiperaljeziyi tetiklediğini ve oluşan bu hiperaljezide substance P'nin önemli bir role sahip olduğunu, (2) Deksmetomidin'in i.p uygulamada zamana bağlı güçlü bir antinosiseptif etkisinin bulunduğunu ve bu etkide büyük ölçüde endojen opioidlerin rolü olduğunu, (3) Deksmetomidin'in SNAP tarafından oluşturulan hiperaljeziyi anlamlı şekilde azalttığını ve bu etkide substance P seviyelerini azaltmasının da etkisi olabileceğini, (4) manyetik alan uygulamasının zamana bağlı olarak antinosiseptif bir etkisinin bulunduğunu ve bu etkide substance P düzeylerinin azalması ile β -endorfin düzeylerinin artmasının önemli bir rol oynadığını, (5) SNAP enjeksiyonu ile oluşturulan hiperaljezinin manyetik alan uygulamasının 3. ve 4. günlerinde anlamlı şekilde azalırken, 4. günden sonra ortadan kalkması ise manyetik alan uygulamasının oluşturduğu analjezik etkiye tolerans geliştiğini, göstermektedir. Eğer uzun süreli manyetik alan uygulaması sırasında gelişen toleransın mekanizması aydınlatılabilir ve önlenilebilirse, manyetik alan uygulaması ağrı tedavisinde alternatif bir seçenek olarak kullanılabilir.

ANAHTAR KELİMELER: Hiperalezi, Manyetik Alan, SNAP, Deksmetomidin, Substance P, β -endorfin, Tail flick

SUMMARY:

Pain is a sensation arising from the combination of numerous subjective and unpredictable factors affecting individuals and societies for centuries. Developing alternative methods for the treatment of pain has been one of the most important objectives of medicine. We, in this context, also aimed at investigating the antinociceptive effects and mechanisms of this antinociception of exposure to a magnetic field and dexmedetomidine (Dex) on the hyperalgesia produced by S-Nitroso N-acetyl penicillamine (SNAP), which is a nitric oxide (NO) donor.

Our study was conducted in two phases. In phase 1, rats were divided into six groups with six rats in each group. Intraperitoneal (i.p.) saline (SF) 0.3ml was administered to the rats in the first group (Sham group), and SNAP (2mg/kg) i.p. was administered to the rats in the second group (SNAP group), respectively. While rats in the third group (MF group) were exposed to a magnetic field (100 mT, 165 min.) for 6 days, rats in the fourth group (SNAP+MF group) were exposed to the magnetic field following the i.p. administration of SNAP (2mg/kg). While 12.5 µg/kg dexmedetomidine i.p. was administered to the fifth group (Dex group), SNAP (2mg/kg) i.p. was administered to the last group (SNAP+Dex group) right before i.p. administration of 12.5 µg/kg dexmedetomidine with the purpose of effects of SNAP and dexmedetomidine on pain. In the second phase of our study, intracardiac (i.c.) blood samples were collected from Sham, SNAP, Dex, and SNAP+Dex groups 75 minutes after drug administrations. In MF and SNAP+MF groups however, i.c. blood samples were collected in the Day 4 of administrations, and serum substance P and β-endorphin levels were measured with ELISA method.

SNAP (2mg/kg) produced hyperalgesic effect with i.p. administration that was dependent on time. To the contrary, dexmedetomidine created a strong antinociceptive effect that was dependent on time. Although dexmedetomidine significantly prevented analgesia produced by SNAP in SNAP+Dex group, it failed to bring the tail flick latencies to those of the Sham group. Magnetic field application produced a strong antinociception in Days 3 and 4. While magnetic field application decreased hyperalgesia produced by SNAP in Days 3 and 4 significantly, tail flick values of

SNAP+MF in Days 3 and 4 were found to be significantly low as compared to MF and Sham groups.

In the group that only SNAP was administered to, substance P levels were found to be significantly high. Plasma substance P levels in SNAP+MF and SNAP+Dex groups were found to be similar to that of the Sham group. Administration of SNAP solely did not produce a significant change in plasma β -endorphin levels. Plasma β -endorphin levels in MF, SNAP+MF, Dex and SNAP+Dex groups were significantly high as compared to the Sham group.

In conclusion, our study have shown under the light of these evidence that; (1) like other NO donors, SNAP also triggers spinal hyperalgesia, substance P plays an important role in this hyperalgesia, (2) dexmedetomidine i.p administration has a strong antinociceptive effect dependent on time, and endogeneous opioids have an important role on this effect, (3) dexmedetomidine significantly decreases the hyperalgesia produced by SNAP, and decrease in the levels of substance P may have a role on this effect, (4) exposure to a magnetic filed also had an antinociceptive effect that was dependent on time, and decrease in substance P levels and increase in β -endorphin levels played an important role in this effect, and (5) while the hyperalgesia created with SNAP injection significantly decreased in Days 3 and 4 of the magnetic field application, it was disappeared after the fourth day indicating that a tolerance developed against the analgesic effect produced by exposure to magnetic field. In case the mechanism of tolerance developing with exposure to magnetic field for long periods of time can be understood and prevented, then magnetic field application can be used as an alternative option in the treatment of pain.

KEY WORDS: Hyperalgesia, Magnetic Field, SNAP, Dexmedetomidine, Substance P, β -endorphin, Tail flick

SİMGELER ve KISALTMALAR

SNAP: S -Nitrozo-N-Asetil-D,L-Penisilamin

MF: Magnetic field

NO: Nitrik Oksit

nNOS: Nöronal Nitrik Oksit Sentaz

iNOS: İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz

SSS: Santral sinir sistemi

cGMP: Siklik- guanezin monofosfat

cAMP: Siklik- adenzin monofosfat

CGRP: Calcitonin- Gene Related peptid

NMDA: N- metil D- aspartat

VİP: Vazointestinal peptid

TFL: Tail flick latency

SF: Serum fizyolojik

i.p.: İntraperitoneal

T: Tesla

G: Gauss

Hz: Herz

mT: Militesla

Deks. : Deksmetomidine

ŞEKİLLER

Şekil 1. Sham, SNAP (2 mg/kg), Deks (12.5 µg/kg) ve SNAP+Deks (2 mg/kg+12.5 µg/kg) gruplarında zamana bağlı tail flick süreleri.

Şekil 2. Tek başına manyetik alan uygulamasının 1-6. günlerde zamana bağlı ortalama tail flick süreleri.

Şekil 3. 7 günlük manyetik alan uygulaması boyunca, gün içerisinde elde edilen tail flick sürelerinin ortalama değerleri.

Şekil 4. SNAP+MF uygulamasının 6 gün boyunca günlere göre tail flick süreleri (A). Sadece SNAP, 3. ve 4. günlerde sadece MF ve 3. ve 4. günlerde SNAP+MF uygulanan gruplarda elde edilen tail flick süreleri (B).

Şekil 5. ELISA ölçümleri ile saptanan plazma substance P düzeyleri.

Şekil 6. ELISA ölçümleri ile saptanan plazma β-endorfin düzeyleri

RESİMLER

RESİM 1. Kan örneklerinin intrakardiyak olarak toplanması

RESİM 2. Tail Flick Testi Uygulaması

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Ağrı yüzyıllardır insanlığın hayat kalitesini azaltan ve çözüm arayışlarına iten önemli bir duydur. Esas olarak ağrı vücut için koruyucu bir mekanizmadır. Herhangi bir doku hasarlandığı zaman ortaya çıkar ve kişiyi ağrılı uyarana karşı bir reaksiyon göstermeye sevk eder. Ağrının nedenini anlayabilmek ancak ağrının mekanizmasını, ağrı tiplerini ve ağrı reseptörlerini aydınlatmakla mümkün olacaktır.

Nitrik oksit (NO) hem santral sinir sistemi (SSS) hem de periferel sinir sisteminde sinaptik aşırımda önemli rol oynayan bir mediatördür. NO santral sinir sisteminde nöronal nitrik oksit sentaz (nNOS) tarafından üretilir. Bu enzim SSS nöronlarında lokalize olmuştur ve intraselüler kalsiyum-kalmodulin kompleksinin aktivasyonuna ihtiyaç duyar. Ayrıca glialara yerleşmiş olan bir diğer NOS izoformu olan indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) endotoksinler ve sitokinlerle aktive edilebilir. L-arjininden sentezlenen NO, siklik guanozin monofosfat (cGMP) seviyelerini artıran solubl guanilat siklazı (sGS) aktive eder (1). En fazla kullanılan NOS inhibitörü N(G)-nitro-L-arjinin metil ester (L-NAME) birçok rat ağrı modelinde intraserebroventriküler (2), intraperitoneal (3), intravenöz (4, 5) veya intratekal (2, 6, 7) uygulamalarda antinosisepsiyonu artırmaktadır (6). Akut ve kronik ağrı modellerinin birçoğunda, NO'in spinal seviyedeki hiperaljeziye katkıda bulunduğuna dair pekçok kanıt vardır (8, 9). Ağrılı uyarın, NOS'un ve cGMP'nin spinal seviyedeki ekspresyonunu artırır (9). NOS ve GS inhibitörlerinin verilmesi analjezik etkilere neden olmaktadır (10). Bir NO donörü olan S-Nitrozo N-asetil penisilamin (SNAP) ağrı modellerinde hiperaljezi oluşturmak için intraperitoneal ve intraplantar olarak kullanılır. Siklik adenozin monofosfat'ın (cAMP) hiperaljeziyi modüle etmedeki rolüne ek olarak, dibütiril GMP veya nöronal sGS'ı aktive eden maddelerin (asetil kolin veya SNAP ve sodyum nitroprusiat gibi NO donörleri) lokal uygulanmasından sonra mekanik hiperaljezinin direkt blokajı da gözlenmiştir (11-14).

Ağrı duyusunun ortadan kaldırılmasının insanlık için önemli olması sebebiyle çağlar boyunca çeşitli kimyasallar ve alternatif yollar denenmiştir. Son yıllarda ağrının azalması hatta kesilmesi için gündemde olan konu evrenin temelinde olan manyetik alandır. Manyetik alan tedavisinin etkisi; eritrosit membran potansiyelinde ve dokunun

oksijen içeriğinde artma, kan damarlarında vazodilatasyon, lokal sıcaklık artışı olmadan ağrıda azalma yaptığı hipotezine dayandırılmaktadır (15). Fizik tedavi modaliteleri arasında yer alan manyetik alanın, tedavide kullanımı çok eskidir ancak yaygınlaşmamıştır (16). Manyetik alanın hayvanlar üzerinde analjezik etkilerinin olduğuna dair her geçen gün artan deliller bulunmaktadır (17). Manyetik alan psöriazis, tendonitis, romatoid artrit tarafından oluşturulan inflamatuvar ağrıyı azaltabilir (18). Manyetik antinosisepsiyon araştırmalarındaki en popüler ölçüm yollarından biri opioidler ile ilişkili ölçümlerdir (19). Bu araştırmaların birçoğu periferel opioid seviyelerinin ölçümü üzerine odaklanmıştır. Manyetik alana maruz bırakılıp opioid antagonistleri verilmesinin ardından antinosiseptif blokajın tam olmaması, opioid aracılı mekanizmalardan başka mekanizmaların da manyetik alan maruziyetinin etkilerine aracılık ettiğini göstermektedir (20).

Alfa-2 (α_2) adreno reseptör agonistleri ağrı tedavisinde sıklıkla kullanılan ajanlardır (21, 22). Yüksek selektif bir α_2 reseptör agonisti olan Deksmetomidin postoperatif sedasyon ve analjezi için gittikçe artan oranlarda kullanılmaktadır (23). Son dönemde transgenik farelerde yapılan çalışmalar Deksmetomidin'in sedatif ve analjezik özelliklerinden α_{2A} adreno reseptör subtipinin sorumlu olduğunu göstermektedir (24). Deksmetomidin'in beyin kökünde lokus seruleus etkilerine ek olarak, spinal korddaki α_2 reseptörleri de direkt olarak uyardığı gösterilmiştir, bu nedenle nöronların ateşlenmesini engellemektedir. Spinal kordun arka boynuzunda bulunan substansiya jelatinoza periferel A δ ve C lifleri tarafından uyarıldığında noziseptif nöronların ateşlenmesini inhibe eden ve aynı zamanda noziseptif bir nörotransmitter olan P maddesinin salınımını inhibe eden reseptörler içermektedir (25). Deksmetomidin'in nöropatik ağrı durumunda antihiperanaljezik etkiler ortaya çıkardığı da gösterilmiştir (26).

Biz bu çalışmada, NO donörü SNAP'la oluşturulan ağrı üzerinde manyetik alan stimülasyonunun ve Deksmetomidin'in oluşturduğu analjezik etki ile bu analjezik etkinin mekanizmasını araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Ağrının Tanımı

Ağrı (pain): Latince Poena (ceza, işkence, intikam) sözcüğünden gelmekte olup, Uluslararası Ağrı Teşkilatı, Toksonomi Komitesi tarafından yapılan ve bütün dünyanın kabul ettiği tanımı şu şekildedir;

Ağrı; vücudun belli bir bölgesinden kaynaklanan, kuvvetli bir doku harabiyetine bağlı olan yada olmayan, insanın geçmişte edindiği, subjektif, primitif protektif deneyimleri ile ilgili, sensoryal, hoş olmayan emosyonel bir duyum, davranış şeklidir (27). Ağrının doku hasarının bilinçsiz olarak farkına varılması şeklinde de tanımlanabileceği bildirilmiştir (28, 29).

Aynı alan için kullanılan ‘nosisepsiyonu’ ise şu şekilde tanımlamak mümkündür:

“Vücudun herhangi bir bölgesinde bir doku hasarı olduğu zaman, bu bölgede lokal olarak salınan mediyatörler ve aljezikler tarafından; özelleşmiş sinir uçları olan nosiseptörleri uyarmaları ile, algılanılmasının sağlanıp, santral sinir sisteminin belirli bölgelerinde nöral yapılarda değerlendirilip, zararlı uyarının algılanması ve buna karşı fizyolojik, biyoşimik ve psikolojik önlemlerin harekete geçirilmesine nosisepsiyon denir” (30).

Ağrı her zaman subjektif bir duygudur. Bireyler arasında büyük farklılıklar olduğu gibi, yaşanan çevre ve koşullarda ağrıya yanıtı değiştirebilir. Ağrı, kişiden kişiye farklılıklar gösterdiğinden hem değerlendirilmesi hem de tedavisi oldukça güçtür.

2.2 Ağrının Sınıflandırılması

Ağrı tanımında kullanılan sınıflandırmada, ağrının başlama süresi, mekanizması ve kaynaklandığı bölge dikkate alınmalıdır (31).

2.2.1 Ağrının başlama süresine göre sınıflandırılması

Akut Ağrı: Daima nosiseptif nitelikte olup, vücuda zarar veren bir olayın varlığını gösterir. Neden olan lezyon ile ağrı arasında yer, şiddet ve zaman bakımından yakın ilişki vardır. Travma, enfeksiyon, doku hipoksisi akut ağrı nedenleri arasındadır.

Kronik Ağrı: Çoğu kez nosiseptif nitelikte olup uyarıcı işlevi geçtikten sonra, kişinin hayat kalitesini değiştiren, kişileri anormal davranışlara iten, psikolojik etmenlerin rol oynadığı kompleks bir tablodur. Sempatik tonus artışı ve nöroendokrin fonksiyonda artış belirgindir (32).

2.2.2 Ağrının mekanizmalarına göre sınıflandırılması

Nosiseptif Ağrı: Vücutta doku hasarı olduğu zaman salınan mediyatörlerin özel sinir uçlarını uyarmasıyla meydana gelen ağrıdır.

Nöropatik Ağrı: Nonnosiseptif ağrı için en yaygın kabul gören terimdir. Nosiseptif ağrıdan en belirgin farkı, sürekli bir nosiseptif uyarının bulunmamasıdır (33). Santral veya periferik yaralanmaya sekonder yapısal veya fonksiyonel sinir sistemi adaptasyonlarının neden olduğu ağrıdır. Nöropatik ağrı metabolik hastalıklar sonucu ortaya çıkan ağrıyı da tanımlamak için kullanılır. Ağrı spontan olarak ortaya çıkabilir. Nöropatik ağrı opioid ilaçlara ve nörolitik işlemlere nosiseptif ağrıdan daha az yanıt verir. Sinir kompresyonuna veya inflamasyonuna bağlı mononöropati, şimşek çakar gibi nevraljiler, diyabetik polinöropatiler ve deafferantasyon ağrısı nöropatik ağrı çeşitleridir.

Reaktif Ağrı: Motor ya da sempatik afferentlerin refleks aktivasyonu ile nosiseptörlerin uyarılması sonucu oluşan miyofasyal ağrı reaktif ağrıya örnektir.

Psikosomatik Ağrı: Anksiyete ve depresyon gibi psikolojik sorunlarda doku hasarı varmış gibi algılama olmaktadır (29).

2.2.3 Ağrının kaynaklandığı yere göre sınıflandırılması

Somatik Ağrı: Somatik sinirlerden kaynaklanan, ani başlayan, keskin, iyi lokalize edilen ağrıdır.

Viseral ağrı: İç organlardan kalkan ağrılı uyarılar, otonom sisteme ait afferent yollarla taşınırlar. Kimyasal iritanlar, organların ani gerilmesi, aşırı kasılmalar ve kan akımının azalması nedenler arasında sayılabilir.

Sempatik ağrı: Sempatik sinir sisteminin aktivasyonu ile ortaya çıkan damarsal kökenli ağrılar bu tip ağrılara örnektir.

Periferik ağrılar: Kaslar, tendonlar veya bizzat periferik sinirlerden köken alan ağrılardır (29).

2.3 Ağrının Algılanması

Ağrının algılanması, klasik bilgilere göre “ağrı yolları” adı verilen, birbirleri ile sinaps yapan birinci, ikinci ve üçüncü nöronlar aracılığıyla periferden serebral kortekse iletilmesi ile oluşmaktadır. Ağrının duyulması (duyusal), algılanması (kognitif) ve ağrıya yanıt (afektif) komponentlerini içerir. Ağrının ilk algılanması, uyarı hipotalamusa geldiğinde, detaylı tanımlanarak algılanması ise parietal kortekse ulaştığında olmaktadır. Ağrı hissini; sadece impulsun kortekse iletilmesi değil, 4 ayrı sürecin bir sentezi olduğu kabul edilmektedir (34).

1-Transdüksiyon: Ağrılı uyarının ağrı reseptörünü stimüle etmesi,

2-Transmisyon: Ağrı impulsunun kortekse taşınması

3-Modülasyon: Santral sinir sistemi içerisinde iletilen ağrı bilgisinin, santral sinir sistemi içerisinde yer alan başka bir sistem ile selektif olarak inhibe edilmesine “ağrının modülasyonu” denir (35).

4-Persepsiyon: İletilen ağrı bilgisi ile sosyal, psikolojik ve humoral faktörlerin etkileşiminin değerlendirilip algılanması olarak kabul edilmektedir. Periferdeki reseptörden kortekse kadar iletilen ağrı bilgisi; posterior horn, talamus ve korteks’deki nöronların uygulanan ağrılı uyarın şiddeti ile orantılı yanıtlar vermesini sağlamaktadır (36).

Ağrı’nın; daha geniş bakış açısı ile nosisepsiyonun, nöroanatomi ve nörofizyolojisini bir bütünlük içinde anlayabilmek için, başlangıçtan itibaren basamaklar halinde ele almak uygun olacaktır.

2.4 Ağrı Yolları

2.4.1 Nosiseptörler ve primer afferent nöronlar

1. Nöronun nukleusu; Dorsal kökte (spinal) ve trigeminal ganglionlarda olup, periferik genel somatik afferent lifler;

a. Eksteroseptif; deriden ağrı, ısı dokunma hissi,

b. Proprioseptif: Kas, tendon, eklemlerden hissi bilgi getiren ve santral (dorsal boynuza giden) aksonlara sahiptir (37).

Ağrının periferik algılanmasında, mekanizmanın tetik noktaları; deri ve deri altında serbest sinir sonlanmaları olan nosiseptörlerdir. Stimulasyondan sonra primer afferent yollar olarak bilinen periferik nosiseptörler sinirsel impulsları santral sinir sistemine getirirler (38).

Nosiseptörler; deri ve deri altı bölgesinden başka; dış pulpası, kalp kası, iskelet kasları, kemik ve eklemlerde bulunur. Ayrıca visseral nosiseptörler adı verilen nosiseptörler; testisler, üreter ve biliyer sistem gibi bazı iç organlarda bulunurlar (39).

Visseral duyu reseptörlerini

- a. Yüksek eşikli nosiseptörler
- b. Şiddeti algılayan nosiseptörler
- c. Sessiz nosiseptörler, gibi sınıflamakta olasıdır.

Nosiseptörlerin işlevleri;

a. Transdüksiyon; Kimyasal, mekanik veya termal bir uyarının ağırlı uyarın biçimine dönüştürülmesi.

b. Transmisyon; Ağırlı uyarının üst merkeze iletilmesi

Nosiseptörlerin aktive edilmeleri, buldukları dokularda oluşan zararlı stimulusların, bu serbest sinir uçlarında da polarizasyonu başlatmaları ile olur. Çok değişik stimuluslar ve doğal uyarıların yüksek şiddete ulaşmaları ağrıya neden olmaktadır. Bu stimulusların ortak özellikleri dokuya zararlı olmalarıdır. Bu uyarılar:

1. Fizik hasara neden olan mekanik ve termal uyarılar,
2. Laktik asit birikimine neden olan iskemi,
3. Toksin, infeksiyon ve çeşitli kimyasal maddelerin neden olduğu

inflamasyon.

Son yıllarda hem ağırlı uyarıları algılayan reseptörlerin hem de ya ağrı uyandırarak veya ağrı hissinin iletimini etkileyerek mediyatör işlevi gören bir çok endojen maddenin varlığı saptanmıştır (40).

Nosiseptörler uyarılabilirlik nedenlerine göre sınıflandırılırlar:

- a. Mekanik nosiseptörler
- b. Mekanotermal nosiseptörler
- c. Polimodal nosiseptörler

Nosisepsiyonun başlatılması:

Nosiseptörler, buldukları yerdeki düz kaslar, kapillerler, efferent sempatik sinir uçları ile bir bütündürler. Bu bölgeye yapılacak mekanik “uyarılarla” veya “endojen aljezik maddelerin” ortaya çıkmasına neden olacak uyarılarla nosisepsiyon olayı başlatılır (41).

Mekanik uyarı, nosiseptörü fiziksel etki ile doğrudan uyaracak, uyarının ani ve ilk ağrı algılanmasını sağlamak üzere A delta lifleri ile taşınması gerçekleşecektir.

Nosiseptör'lerin uyarılması, herhangi bir zararlı uyaran veya iş sonucu doku hasarı oluşması ile ortaya çıkan ve endojen aljezik madde olarak adlandırılan kimyasal maddeler ile de olabilir. Kesin olarak gösterilememiş olmasına karşın, bu endojen maddelerin, nosiseptörleri aktive edip, periferik nosiseptif stimulusları, ağrı impulslarına dönüştürmelerinde şu mekanizmaların rol oynayabileceği kabul edilmektedir;

2.4.1.1 Nosiseptörlerin doğrudan aktive edilmesi

Fizik olarak, mekanik nosiseptörler eksite edilir. Oluşan doku hasarı sırasında hücre zarı permeabilitesi, hücre bütünlüğü bozulması ve lokal hücre yıkımı sonucu proteolitik enzimlerin açığa çıkması, hücre dışına çıkan maddelerin hızlı biyokimyasal reaksiyonları sonunda, bradikinin meydana gelir. Bradikinin, doğrudan nosiseptörü uyarır, damarlarda vazodilatasyon yapar ve hücre zarına etki edip prostaglandin oluşmasına yol açar. Prostaglandinler tek başına ağrı oluşturmazlar, nosiseptörleri diğer uyarılara karşı hassaslaştırırlar, lokal hiperemi ve vasküler permeabilite artışına neden olurlar.

Trombosit kaynaklı serotonin de nosiseptörü doğrudan aktive eder. Vasküler orijinli ağrıların patogenezinde rol alır. Hücre zarına etkisi ile de prostaglandin salgılanmasına yol açar.

Proteolitik enzimler de nosiseptörleri doğrudan aktive ederler.

Doku hasarı ile parçalanan hücrelerden intrasellüler potasyum (K⁺) iyonları da dışarı çıkar. Potasyum, doğrudan nosiseptör aktive edici özelliğe sahiptir.

Mast hücresinden salınan histamin nosiseptörü doğrudan aktive eder (42).

2.4.1.2 Nosiseptörlerin duyarlılığının artırılması

Doku travması sırasında doğrudan hücre membranına olan etki ile, ayrıca serotonin ve bradikinin'in hücre membranındaki fosfolipidler üzerine etkisi ile prostaglandinler ve lökotrienler serbestleşir. Prostaglandin ve lökotrienlerin oluşmasında araşidonik aside siklooksijenaz enziminin etkisi ile siklik endoperoksitler ve takiben prostaglandinler, lipooksijenaz enziminin etkisi ile lökotrienler oluşur.

Sempatomimetik aminler, prostaglandinler ve lökotrienler; nosiseptörlerin duyarlılığının artmasına neden olurlar (43).

2.4.1.3 Vazodilatasyon ve ekstrasvazasyon yaparak; ödemin yayılmasına ve hiperaljeziye yol açılması

Prostaglandinler, nosiseptör duyarlılığını artırmaları yanında lokal dolaşımında vazodilatasyonu artırarak daha fazla aljezik madde birikmesine yol açarlar.

P maddesi mast hücrelerinden histamin serbestleşmesine de yol açar

Sonuçta nosiseptörlerin doğrudan veya dolaylı aktivasyonlarının yanında, bölgede ödem ve inflamasyon artarak kısır döngü oluşur.

İlk uyarı devam etmezse, algojenik maddeler dokudaki deaktivasyon enzimleri ile yıkılır ve ağrı olayı biter (43).

2.4.2 Omurilik dorsal boynuz nöronal sistemi

Dorsal boynuz nöronları; ağrı algılanması olayının ikinci basamağı dorsal boynuzdaki nöronlardır. Bunların akson kollateralleri dorsal boynuz içine girip buradaki Rexed Laminalarındaki nöronlarla sinaps yaparlar (44).

Nosiseptif afferentler dorsal boynuzda değişik laminalarda başlıca üç nöron grubu ile sinaps oluştururlar:

a-Projeksiyon Nöronları: Periferden gelen duyuşsal bilgiyi beynin yüksek merkezlerine ulaştırırlar.

b-Eksitator Ara Nöronlar: Periferden gelen duyuşsal bilgi veya genellikle C ve A delta liflerinden gelen ağırlı impulsar ile aktive olurlar. Bu impulsarın, beyindeki merkezlere ulaşmasında aracı olan projeksiyon nöronlarının uyarılmalarını sağlarlar.

c-İnhibitör Ara Nöronlar: Yüksek merkezlere nosiseptif bilgi akışını düzenlerler. Geniş çaplı liflerle eksite olduklarında, projeksiyon nöronunda inhibisyon meydana getirirler (45).

Afferent inputların dorsal boynuz nöronlarındaki sonlanmalarının şekli, bazen klinik ağrı sendromlarının anlaşılmasını sağlar. Visseral afferentler ile, deride yer alan afferentlerin aynı ikinci nöronla sinaps yapmaları (konverjans), klinikte derin visseral yapılardan gelen ağrının vücut yüzeyinde hissedilmesi şeklindeki yansıyan (iletilen) ağrı'nın nöronal temelini açıklamaktadır.

Yapılan morfolojik ve elektrofizyolojik çalışmalar, dorsal boynuz nöron sisteminde, I. duyu hücrelerinin II. nöronlara ağrı bilgilerini aktarmada birden fazla nörotransmitterin rol aldığını göstermiştir (46).

a- Glutamat: A delta ve C lifleri terminal uçlarından salgılanmaktadır.

b- Nöropeptid: Özellikle C lifleri eksitasyonu ile meydana gelir.

- c- Substans P
- c-Nörokinin A
- d-Kolesistokinin

C liflerinin santral uçlarından, birden fazla nöropeptid aynı anda salgılanabilir. C liflerindeki nöropeptidler özellikle omuriliğe, ağrı olayını ve devamını bildirirken, periferdeki C lifi ucundan da salgılanarak, periferik dokunun bütünlüğünü korunmaya ve savunmaya yönelik olayları tetikler.

2.4.3 Nosiseptif çıkıcı yollar

Dorsal boynuzda I. Duyu siniri ile gelen nosiseptif bilgi, burada II. Duyu sinirine geçip, projeksiyon nöronları ile yukarıya iletilirler. A delta, C lifleri Medulla Spinalis'e girdikten sonra birkaç segment aşağıya ve yukarı doğru ilerleyerek "Lissauer Traktus"unun bir bölümünü oluştururlar. A delta ve C lifleri ile spinal kordun arka boynuzuna gelen impuls aynı segmentteki antero-lateral boynuz sempatik nöronlarını uyararak sempatik reflekse, anterior boynuzdaki motor nöronları uyararak da motor reflekse neden olur. Böylece oluşan spinal refleksi nosiseptif stimulusun segmental refleks cevabını oluştururlar (47).

Transmisyonunda asıl önemli olan, arka boynuzda gelen nosiseptif impulsun aynı segmentte substantia gelatinosa'yı çaprazlayarak karşı taraftaki anterolateral alanda spinotalamik trakt (STT) boyunca ilerlemesidir.

2.4.3.1 Spinotalamik yolak

1. nöronun sonlandığı spinal kord arka boynuzdaki segmentten başlayarak Talamus'a ulaşan 2. nöron ascendan sistem, transmisyonun önemli bir bölümünü oluşturur. Ağrının; yer, şiddet ve zaman gibi diskriminatif (ayırma) boyutları ile algılanmasını sağlar (48).

2.4.3.2 Spinoretiküler yolak

Bu sistem korteksi ve subkortikal yapıları (Limbik sistem ve diensefalon) genel bir uyanıklık içinde tutar ve zararlı uyarana karşı genel bir alarm hali yaratır (49).

2.4.3.3 Spinomezensefalik yolak

Bu yolun periaquaduktal bölgeye bağlantı yapması nosisepsiyon bakımından çok önemli görülmektedir. Çünkü burada analjezik etki sağlayan enkefalinerjik nöronlar vardır.

Periaquaduktal gri cevher, antinosiseptif mekanizmaların tetiklendiği en önemli bölgelerden biri gibi görünmektedir. 4. yolaktan sonrakiler ağırlı sinyalleri götürebilme yeteneğine sahiptirler. Gereksinimlere göre devreye girerler. Buna örnek olarak; ağrı cerrahisinde anterolateral traktusun kesilmesine rağmen bir süre sonra ağrıların yeniden algılanmasıdır (50).

2.4.3.4 Dorsal postspinal kolon sistemi

2.4.3.5 Spinoservikal yolak

2.4.3.6 Propriospinal multisinaptik çıkıcı sistem

Spinotalamik yolak'ın lateral kısmı: Neospinotalamik sistem, medial kısmı ile spinoretiküler ve spinomezensefalik yolak ise paleospinotalamik sistem olarak adlandırılır.

Spinotalamik sistem, filogenetik gelişimlerine, talamusta sonlanmalarına ve beynin diğer bölgeleri ile ilişkilerine göre farklılık gösteren iki ayrı ana yoldan oluşmaktadır. Neospinotalamik yol ve paleospinotalamik yol N-STT, filogenetik olarak daha yenidir. Kalın liflerden oluşur. Talamusun lateral çekirdeklerine gelir. Burada nosiseptif sistemin 3. nöronu ile sinaps yaparak nosiseptif bilgiyi somatosensoryal kortekse ulaştırır. Kalın liflerden oluştuğu için impuls hızlı iletilir. Bu sistem ağırlı uyarının lokalizasyonu, başlangıcı, süresi ve şiddeti hakkında detaylı bilgi verir (51).

P-STT, paramedyan assendan sistem olarak da adlandırılmaktadır. Filogenetik olarak daha yaşlı olup, ince liflerden meydana gelmektedir. N-STT'nin medialinde seyrederek yukarı çıkar. Multisinaptik yapıdadır. Taşıdığı impulsu formatio reticularis'e, periaquaduktal gri maddeye hipotalamus'a, limbik sisteme ve medial talamus'a projekte ederek nosiseptif impulsun supraspinal refleks cevabını oluşturur.

Neospinotalamik sistem, ağrının duyuşal (diskriminatif yönünü, paleospinotalamik sistem ise motivasyon (afektif) yönünü oluşturmaktadır (52).

2.4.4 Serebral korteks

Ağrı olayında serebral korteksin görevi yeterince anlaşılammış olmasına karşın şu şekilde bilgi sunmak mümkündür: Primer somato-sensoryal korteks parietal lobda, postsentral girus'un 3.,1. ve 2. alanlarındadır (53).

Serebrum'da ağrı ile ilgili bölümler:

- 1. ve 2. duysal alanlar
- Frontal lob, özellikle 9. ve 12. alanlar
- Posterior parietal bölgeler

Beynin bu çeşitli bölümlerini birbirine bağlayan assosiyasyon lifleridir.

1. Duyusal alan (Postsentral girus): Bu kortikal bölgenin ağrının duysal (diskriminatif) boyutu ile ilgili olduğu söylenebilir.

Posterior parietal ve frontal bölgeler ise, ağrının sembolizasyonu ile ilgili görünmektedir.

Frontal lobun 9.ve 12. alanları; ağrı ile birlikte motivasyon reaksiyon etkilenimini sağlar (53, 54).

Kültürel değerler, anksiyete, dikkat, telkin ve geçmiş deneyimler gerek ağrı eşiğini ve gerekse ağrıya karşı reaksiyonları saptayan önemli etmenlerdir. Ağrı olayındaki bu karmaşık ilişkilerin en azından kısmen kortikal mekanizmalarla ortaya çıktığı ve özellikle frontal lobun, bu üst düzeydeki işlevlerde rol aldığı düşünülmektedir.

2.4.5 Santral sinir sistemindeki ağrı kontrol sistemi

Ağrılı uyarana oldukça farklı yanıtlar alınmaktadır. Bu durum santral sinir sisteminde, ağrıya yanıtta etki edecek bazı etkenlerin olduğunu düşündürmektedir. Patrick Wall ve Ronald Melzack 1965 yılında, ağrı algılanmasının modülasyonunu sağladığını ileri sürerek Kapı Kontrol Teorisini açıkladılar (55).

Periferik nöronlar dorsal boynuzda gelen periferik uyarı, bu bölgedeki “kapı-kontrol sistemi”nin düzenlenmesi ile üst merkezlere çıkacağı şekli alır. Bu düzenlemeyi “Kapı-Kontrol” bölgesinde bulunan inhibitör ve eksitatör ara nöronlar yapar. Bu ara nöronlardan gelen impulslar arasında oluşan denge, yukarı merkeze gidecek mesajın şekillenmesini sağlar. Bu şekillenmede bazı hümorale etkenlerde rol alır. Dorsal boynuz hücrelerini, periferden gelen nosiseptif uyarılardan başka, nosiseptif olmayan düşük eşikli, periferik, myelinli primer afferentler ve supraspinal inisi sistemler modüle etmektedir (56).

Periferden gelen nosiseptif impulslar, kapı kontrol sistemine geldiğinde eksitatör ara nöronların aktive olmasına neden olmakta, bu aktivasyon ile hem inhibitör ara nöron inhibe edilmekte, hem de projeksiyon nöronu uyarılmakta ve sonuçta ağrılı uyarılar santral sinir sistemine ulaşmaktadır (57).

Ancak bu olayın bir diğere yönü daha vardır; A grubu geniş, myelinli liflerin aynı zamanda aktivasyonu; kapı kontrol sistemindeki inhibitör ara nöronların aktive olmasına neden olup projeksiyon nöronlarını inhibe etmekte ve ağırlı uyarıların geçişini durdurmaktadır (58)

Ancak olay sadece kapı kontrol sisteminin etkinliğı ile değıl, "dorsal inhibitör kontrol", "kognitif kontrol" gibi etkilemeler ile bütün uyarıların algısının son şeklini vermede, beyin üst merkezlerinin son sözü söylediğı kabul edilmektedir.

Kapı kontrol teorisi çeşitli yönleri ile eleştirilmiş olmasına karşın klinik uygulamada, ağırlı alan üzerine ya da ağrıyı algılayan sinirler üzerine TENS veya epidural aralığa elektrot yerleştirilmesi uygulanması sonucunda ağrı tedavisi yapılabilmektedir (59).

Supraspinal nöronların, nosiseptif uyarı üzerine olan regülasyon etkisi beyin sapındaki bazı bölgelere yapılan elektriksel stimülasyon ile ortaya çıkan, belirgin analjezik etki ile kanıtlanabilir.

Beyin sapı stimülasyonunun, spinal kord dorsal boynuzdaki nosiseptif nöronları inhibe etmesi ve bu inhibisyonun dorsolateral funikulus kesileri ile ortadan kaldırılması inisi bir inhibitör sistemin varlığına işaret etmektedir.

İnici inhibitör sistemin komponentlerini şöylece sunmak olasıdır:

Mezensefalik periakvaduktal gri cevherde yer alan enkefalinerjik nöronlar: Bunlar serebral korteks ve hipotalamus ile bağlantılıdır. Muhtemelen hipotalamik kökenli nöronlar endorfin taşımaktadırlar. Enkefalinerjik mezensefalik nöronlar bulbusta nukleus rafe-magnus ve nukleus reticularis gigantoseülularis'te bulunan serotoninerjik nöronlarla sinaps yaparlar (60).

Böylece diensefalik endorfin ve mezensefalik enkefalin nöronları bulbustaki serotonin nöronlarını eksite ederler. Bu bölge enkefalinler ve opioid reseptörlerden zengin olup, elektrik stimülasyonu ve opioid mikroenjeksiyonu ile uyarılmaktadır. Giderek bu nöronlarda, omurilik dorsolateral fasikulus içinden inerek; Dorsal boynuz nosiseptif projeksiyon nöronları üzerine presinaptik ve postsinaptik bağlantılarla inhibisyon meydana getirirler (61)

2.5 Ağrı ve Nosisepsiyonda Zamansal Sınıflama

2.5.1 Kontrol mekanizmaları

Bir doku zedelenmesi olduğu zaman ortaya çıkan ağrı, aynı kalite ve lokalizasyonu göstermez. nce, çok kısa süreli keskin bir ağrı duyulur. Bu lokalize ve bir anlıktır. Bunu daha az lokalize olan, hatta yayılan ve daha uzun devam eden ikinci bir ağrı ve hiperaljezi izler. Bu durumu özellikle derin doku zedelenmelerini takiben izleriz. Bunlar dakikalar ve saatlerle sürebilir. Eğer ağrıyı oluşturan neden devam ediyorsa ve bir patolojik ağrı durumu yaratılmış ise, bu günlerce hatta aylarca sürer.

İlk ve ikinci durumlarda, ağrı yanıtının süresi ve değişkenliği, kısmen periferik ve kısmen dorsal boynuz nosiseptif ve antinosiseptif mekanizmaları ile etkilenir (62).

Oysa nc döneme girildiğinde, yani patolojik bir ağrı ortaya çıktığında, olayın periferle ilişkisi kalmaz ve dorsal boynuz hücreleri veya santral sinir sisteminin başka hücreleri, örneğin talamik hücreler arasındaki mekanizmalarla ağrı olayı devam eder. Buna en tipik örnek deafferantasyon ağrısıdır (63).

Doku zedelenmesine karşı ağrı şeklinde yanıt verilmesi ve bunun zamansal değişimi rastgele değildir. Sadece mental işlemlere dayandırılmaz. Dorsal boynuzda ulaşan bir afferent sinyal; periferden gelen diğer sinyaller (C lifi ve A Beta lifi) ve beyinden aşağıya inen impulslarla birlikte değerlendirilir. Buna göre yeni bir nosiseptif enformasyon olayı meydana gelir (64).

Bu olayda en az 3 farklı zaman aşaması ve buna bağlı 3 farklı dorsal boynuz mekanizması vardır.

2.5.2 Hızlı kapı kontrolü

Periferden gelen, doku zedelenmesine karşı gelişen çok hızlı ve çok kısa süreli bir etki mekanizmasıdır. Afferent liflerden gelen; nosiseptif olan ve olmayan impulsların çok kısa süreli olarak dorsal boynuzda entegrasyonunu ve kontrolunu sağlar (65).

nce çok yoğun gelen, A-Delta ile ulaşan impulslar ve özellikle geniş çaplı afferentlerle de gelen impulslarda terminal uçlarda glutamat serbest bırakılır. Glutamat ile projeksiyon nöronlarına ilk ağrılı sinyaller ulaştırılır. Beyin, periferdeki ağrılı olayı algılar (66).

Ancak periferdeki ağrının algılanmasından sonra, A-Delta ve C liflerinden gelen impulslarla beraber A-Beta liflerinden gelen impulsların karşılıklı etkileşimi başlar. Hızlı ileten geniş çaplı liflerin eksitasyonu, daha önce ve daha yoğun olarak projeksiyon nöronlarını inhibe ettiği için ağrılı impulsların sürekliliği kesilir. Burada periferik ağrılı

olaydan haberdar olduktan sonra supraspinal inisi inhibitör ve hızlı etki eden aminoasit transmitterlerin salgılanması ile de ağrının kontrol edildiği görülür (67).

En çok serotonin, noradrenalin, enkefalin ve GABA gibi inhibitör transmitterler etkili olurlar.

2.5.3 Yavaş duyarlılık kontrolü

Akut doku zedelenmesinden sonra, dorsal boynuz projeksiyon nöronlarında daha geç beliren ve daha uzun süren bir nosiseptif eksitabilite artışı ortaya çıkar.

Bu sürecin önemli bir özelliği de, zedelenmiş yerin uzağından gelen ve ağırlı olmayan uyarılara da, dorsal boynuz nosiseptif hücrelerinin yanıt vermesidir. Yani bu hücrelerin hem reseptif alanı genişlemiştir, hem de modalite özelliği artmıştır.

Bu fenomen, klinik olarak derin doku zedelenmesinde, o bölgenin dışına geniş olarak yayılan, yavaş başlangıçlı duyarlılığın karşısı olabilir. Klinik terimle sekonder hiperaljezi olarak ifade edilebilir (68).

Bu dönemde egemen olan afferent girdiler, C-liflerinin santral uçlarından sağlanır. Yavaş etkili nöropeptid transmitterler, devamlı olarak santral geçiş hücrelerini eksite ederler. Bunlar arasında P maddesi, nörokinin-A kolesistokinin ve Calcitonin-Gen Related peptid (CGRP) sayılabilir (69).

Nöropeptidlerin meydana getirdiği uzamış depolarizasyon yanı sıra, A-Delta ve Beta liflerinden gelen Glutamat ile; dorsal boynuz nöronlarındaki postsinaptik reseptör olan NMDA (N-Metil D-Aspartat) reseptörleri devamlı olarak eksite edilir.

Projeksiyon nöronlarındaki eksitabilite artışı o düzeye gelir ki, kendi reseptif alanları dışından gelen kollateral geniş çaplı liflerdeki impulslarla da aktive olurlar ve hiperaljezik alan genişlemiş olur (70).

Böylesi uzamış bir hiperaljezik duruma karşı, antinosiseptif mekanizma, ağırlıklı olarak enkefalin, endorfin ve somatostatin gibi yavaş ve uzun etkili suprasegmental ve segmental spinal nöronal sistemlerle oluşturulmaya çalışılır.

Gerçektende bu uzamış hipereksitabilite hali morfin ve benzeri eksojen opioidlerle (Narkotik analjeziklerle) giderilebilmektedir.

Bu dönemde ağırlı bölgeye karşı spinal fleksör refleksler artar, çizgili kaslarda tonik kasılmalar meydana gelir. Artık bu dönemde sinir sistemi daha az özel, daha az lokalize edici ve daha az kesin bir zamanlama ile ağrı için yeniden organize olmuştur (71).

2.5.4 Uzamış bağlantı kontrolü

Yukarıda belirtildiği gibi, eğer periferik sinirler veya dorsal kökler kesilirse, kesilme yerinden dorsal boynuza doğru bir takım yavaş nöronal eksitabilite ve nöronal metabolik değişimler meydana gelir. Bu etkiler afferentlerin sonlandığı hücrelerde; çoğu kez ara nöronlarda gözlenir (72).

Bir dorsal kök veya aynı segmente ait sinirin kesilmesinden sonraki günlerde, presinaptik ve postsinaptik inhibisyon mekanizmaları kollabe olur, ve sonuç olarak projeksiyon hücrelerinde çok belirgin bir eksitabilite artışı olur. Öylesine bir artış olur ki, önceden kendisini etkilemeyen daha uzak alanlardaki sağlam kalan afferentlerden gelen ağrısız impulslarla bile nosiseptif eksitasyon oluşur. Bu yavaş değişimleri tetikleyen mekanizma tam bilinmemekle beraber, kesilen sinirlerin santral uçlarından akan bazı biyoşimik maddelerin etkisi ile olabilir. C-Lifi santral uçları bu konuda sorumlu tutulur (73).

2.6 Ağrı Oluşumundan Sorumlu Mediyatörler

Doku harabiyetine bağlı olarak ortaya çıkan ağrı, ağrının algılanmasını gerçekleştiren özel oluşumlar olan “nosiseptör”lerin hasara uğramış inflamasyonlu bölgede lokal olarak salınan mediyatörler tarafından uyarılması ile algılanılır. Aljezik olarak da tanımlayabileceğimiz mediyatörleri değişik açılardan bakarak aşağıda verildiği gibi değerlendirmek olasıdır (74).

Nöromediyatörler kimyasal olarak üç grupta incelenirler;

1-Aminoasit yapısında olanlar (GABA, glisin, glutamik asit, aspartik asit).

2-Amin yapısında olanlar (Dopamin, noradrenalin, adrenalin, serotonin, asetilkolin, histamin).

3-Peptid yapısında olanlar (P maddesi, endojen opioid peptidler, somatostatin, vazoaktif intestinal peptid-VİP).

Bu nöromediyatörlerin dokulardaki muhtemel dağılımı ise şöyledir:

- İnen kontrol sisteminde; noradrenalin, serotonin, dopamin, enkefalin,
- İternöronlarda; GABA, asetilkolin, P maddesi, somatostatin, enkefalin,
- Primer afferent terminallerinde; Somatostatin ve P maddesi.
- Dokudan salınan mediyatörler; serotonin, histamin, potasyum, lökotrienler ve prostaglandinler,
- Plazmadan salınan; kininler,
- Sinir uçlarından salınan; P maddesi

Bu oluşumu şöyle açıklamak da olasıdır;

Değişik nedenlerden oluşan hücre hasarı sonunda, araziidonik asit ortaya çıkar (kimyasal mediyatörlerin lokal salımı). Bu mediyatör “Lipooksijenaz” ve “Siklooksijenaz” enzimleri ile dönüşüme uğrar (75). Bu olayın sonucunda “Levis’in üçlü cevabı” olan:

1. Travmatik kızarıklık,
2. Çevreleyen kızarıklık,
3. Lokal ödeme neden olan olay başlatılır.

Majör rolü prostaglandinler oynar. Bu mekanizma ile uyarılan nosiseptörlerden kalkan impulslar, nosiseptif duyu yolları ile kortekse iletilip ağrı olarak algılanılması gerçekleşir (76).

2.7 Nitrik Oksit (NO) ve Ağrı İlişkisi

Nitrik oksit (NO) son yıllarda tanımlanan ve birçok biyolojik olayda önemli rolü olan çok kısa yarı ömürlü bir serbest radikaldir. Önceleri vasküler sistemde endotel kaynaklı gevşetici faktör olarak tanımlandı. Nitrik oksit ve diğer bir son ürün olan sitrüllin, argininden NO-sentaz (NOS) enzimi aracılığı ile sentez edilir. NOS’un genetik olarak farklı üç izoformu tespit edilmiştir. Bunlar; düşük miktarda üretilerek vasküler tonusu ayarlayan konstitutif endotelial izoform (eNOS), yine düşük miktarda üretilen sinaptik şekillenme ve nörotransmisyonu düzenleyen bir konstitutif nöronal izoform (nNOS) ve yüksek miktarda üretilerek immün/inflamatuvar olaylarda rol alan ve hücre aracılı immun cevapta etkili bir komponent olan uyarılabilir izoform (iNOS) tür (77, 78).

NO fizyolojik konsantrasyonlarda hemen hemen tüm organ sistemlerinde değişik biyolojik etkilere sahiptir. NO gastrointestinal sistem düz kası, hava yolları düz kası ve kavernoöz dokulardaki vasküler düz kasların gevşemesinde önemli bir mediyatördür. NO merkezi sinir sisteminde hafızanın şekillenmesini de içeren çeşitli fonksiyonları bir nörotransmitter olarak destekler (79).

N-metil-D-aspartik asit reseptörlerinin aktivasyonu hücrede bir takım yeni olaylara yol açmaktadır. Bu olaylar hücre içerisinde ağırlı uyarılara karşı hassasiyeti artırmaktadır. N-metil-D-aspartik asit reseptör kanalı dinlenme halinde magnezyum ile bloke edilmektedir. NMDA reseptörünün harekete geçmesi; nörokinin reseptörlerinin hareketine ve magnezyum blokajının ortadan kalkarak hücre içerisine kalsiyum girmesine, onkojen indüksiyonuna, NO ve sekonder messengerlerin sentezine,

fosfolipaz, polifosfoinosit, cGMP, eikasanoidler ve protein kinaz C gibi maddelerin aktivasyonuna, yol açmaktadır (80).

Nitrik oksit akut nosisepsiyonda fazla önemli değildir ancak kronik ağrılı durumlarda induksiyonu önem taşır. NO'nun ağrı üzerinde bir pozitif feedback mekanizma oluşturduğu da düşünülmektedir. NO'nun enflamatuvar hiperaljezideki rolünü anlamak için yapılan bir çalışma, düşük NO seviyelerinin PGE2'nin indüklediği cAMP bağımlı hiperaljeziyi, yüksek NO seviyelerinin ise cGMP bağımlı hiperaljeziyi güçlendirdiğini ortaya koymaktadır (81).

2. 8 Manyetik Alan

2. 8.1 Manyetik alanın tanımı

Manyetizma belirli bazı taşların (manyetit), demir tozlarını çekmesinin gözlenmesiyle başlamıştır. Manyetizma sözcüğü bu taşların çok bulunduğu Anadolu'da ki Manisa yöresinin adından kaynaklanır. Dünyanın kendisini de doğal bir mıknatıs olduğu ve bir pusulanın ibresine belirli bir yön verdiği çok eski zamanlardan beri bilinmektedir(82).

Oersted 1820 yılında, içinden akım geçen telin etrafında bir manyetik alan oluştuğunu ve alan içine konmuş bir pusulanın yön değiştirdiğini gözlemiştir. Bir tel çok sayıda bükülerek adına kangal (coil) denilen düzenekler oluşturulur. Bu düzeneğin ortasındaki boşluğa demir bir çekirdek konulursa akımın manyetik alan etkileri saptanır. Elektrik yüklü bir çubuk nasıl çevresinde bir elektrik alan oluşturuyorsa, içinden akım geçen bir tel veya mıknatıs da çevresinde manyetik alan oluşturur. Temel manyetik alan vektörü B'ye manyetik indüksiyon veya manyetik akı yoğunluğu denir. B için en uygun ad manyetik alan şiddetidir. Fakat manyetizmanın gelişmesinde başak bir H vektörü kullanıldığından karışıklığı önlemek amacıyla B'ye manyetik indüksiyon denilmeye devam edilmiştir. B manyetik alan şiddetinin birimi SI birim sisteminde tesla (T) ve cgs birim sisteminde Gauss (G) tur. $1 T = 10^4 G$ dir.

B manyetik alan vektörü kendi alan çizgilerine şu şekilde bağlıdır.

1. Manyetik alan çizgilerinin herhangi bir noktadaki teğetinin yönü, o noktadaki manyetik alan vektörü B'nin yönünü verir.

2. Manyetik alan vektörünün büyüklüğü birim kesitten geçen manyetik alan çizgilerinin sayısı ile orantılıdır. Alan çizgilerinin sık olduğu yerlerde B şiddetli, seyrek olduğu yerlerde zayıftır. (83, 84).

2.8.2 Selenoidin manyetik alan şiddeti

İçinde i akımı geçen ve bir helis boyunca sık olarak sarılmış düzeneğe selenoid denir. Helisin uzunluğu yarıçapına göre büyük olarak alınmıştır.

Selenoidde oluşan toplam manyetik alan, sarımların tek tek oluşturduğu manyetik alanların vektörel toplamına eşittir. Sarımlardan yeterince uzakta bulunan noktalardaki B manyetik alan selenoidin eksenine paraleldir. (85).

2.8.3 Yerkürenin manyetik alanı

Yerküre teorik ve deneysel açıdan incelemeye değer büyüklükte bir manyetik alana sahiptir. Dipol eksenini ile dönme eksenini birbirleriyle 11.5 derecelik bir açı yaparlar. Dipol ekseninin dünyanın yüzeyi ile iki noktada kesişir. Bunlardan jeomanyetik kuzey kutup kuzeybatı Greenland'a, güney manyetik kutup ise Antartika'da bulunmaktadır. Genel olarak yer manyetik alanına ait kutup çizgileri, güney yarıkürede dışa, kuzey yarıkürede içe yönelmişlerdir.

Dünyamızın üstünde bulunan herhangi bir noktadaki manyetik alan, ideal olarak düşündüğümüz bir dipol alanından hem şiddet hem de yön olarak farklıdır. Yöreyle ilgili olmaksızın gözlenen yer manyetik alanı zamana bağlı bir değişim gösterir. 100 senede oluşan değişim önemlidir. Zaman içindeki bu değişime rağmen, yer manyetik alanının bir manyetik dipol ile temsil edilen yapısındaki değişim, değişim zamanının yerkürenin yaşına göre çok küçük olması nedeniyle çok yavaştır. Yeryüzündeki kayalar katı hale dönüştükleri andan itibaren yeryüzündeki manyetik değişimleri özlerinde saklamışlardır (86).

2.8.4 Değişken manyetik alanın biyolojik etkileri

Değişken manyetik alana maruz kalan insanda, vücut içi molkeküllerin elektriksel olarak yüklü olması sebebiyle elektrik akımlarının oluştuğu görülür. Doğurulmuş elektrik akım yoğunluğu hücresel düzeyde etkilidir. İç doku akım yoğunluğu ile dış manyetik alan şiddeti arasında ilişki kurmak zordur, fakat manyetik alanın dokularda tehlike sınırlarında akım doğurduğu çeşitli çalışmalarda belirlenmiştir. Tüm vücut değişken manyetik alan etkisinde kaldığında aşağıda belirtilen etkiler gözlenmiştir:

50/60 Hz'de 0.5 – 5 mT üzerindeki manyetik alan veya 3 Hz'de 10- 100 mT lik manyetik alanın vücut içinde oluşturduğu 1- 10 mA/ m² lik akım yoğunluğu ikinci derece biyolojik etikler meydana getirir.

50/60 Hz'de 5 – 50 mT üzerindeki manyetik alan veya 3 Hz'de 100- 1000 mT lik manyetik alanın vücut içinde oluşturduğu 10- 100 mA/ m² lik akım yoğunluğu, görmeyi içeren dokular ve sinir sisteminde tedavi edici etkileri vardır. Ayrıca kırık kemiğin yeniden birleşmesini kolaylaştırıcı etkisi vardır.

50/60 Hz'de 50 – 500 mT üzerindeki manyetik alan veya 3 Hz'de 1- 10 T lik manyetik alanın vücut içinde oluşturduğu 100- 1000 mA/ m² lik akım yoğunluğu, uyarılabilir dokuları stimüle eder.

50/60 Hz'de 500 mT den büyük manyetik alan veya 3 Hz'de 10 T den büyük manyetik alanın vücut içinde oluşturduğu 1000 mA/ m² lik akım yoğunluğu, ekstra sistoller, ventriküler fibrilasyon ve akut sağlık riski meydana getirir (86, 87)

2.9 Deksmetomidin

Alfa-2 reseptör agonisti olan Deksmetomidin solunum depresyonu yapmadan sedasyon, anksiyolizis ve analjezi sağlamaktadır. Adrenerjik reseptörlerin farmakolojik tipleri arasında alfa-1 ve alfa-2 reseptörler bulunmaktadır ve alfa-2 reseptörler tüm vücutta yerleşmişlerdir. Sempatik sinir sonlanmalarında lokalize olan presinaptik alfa-2 adreno reseptörlerin stimülasyonu norepinefrin salınımını inhibe eder(88). Santral sinir sistemindeki postsinaptik reseptörlerin alfa-2 agonistler ile aktivasyonu sempatik aktiviteyi ve kan basıncı ile kalp hızını azaltır. Bu da anksiyetenin giderilmesi ve sedasyona yol açarken, Deksmetomidin'in spinal korddaki alfa-2 adreno reseptörlere bağlanması analjezi sağlar (89, 90)

Medetomidinin farmakolojik olarak aktif d-izomeri olan Deksmetomidin'in moleküler ağırlığı 236.7 ve moleküler formülü C₁₃ H₁₈ N₂.HCl'dir. pKA 7,1 ve pH 4,5- 7 arasında olan Deksmetomidin berrak, renksiz, izotonik bir solüsyondur. Yaklaşık 6 dakikalık bir dağılım yarı ömrü ile hızlı bir dağılım fazı, ortalama 2 saatlik bir eliminasyon yarı ömrü vardır. Radyoaktif isaretlenmiş dozunun %95'i idrarla ve %4'ü dışkıda metabolize edilmiş olarak elimine edilir. Major atılım metabolitleri glukoronoidlerdir. Deksmetomidin %94 oranında plazma proteinlerine bağlanır. Plazma proteinlerine bağlanan Deksmetomidin hidroklorür fraksiyonu hepatik yetersizliği olan deneklerde sağlıklı deneklere göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde azalmıştır. Deksmetomidin hidroklorürün bağlanma yerine fentanil, ketorolak,

teofilin, digoksin ve lidokainin geçme olasılığı in vitro olarak araştırılmış ve Deksmetomidin hidroklorürün plazmada proteine bağlanmasında önemsiz bir değişimin olduğu gösterilmiştir. Fenitoin, warfarin, ibuprofen teofilin ve digoksinin bağlanma yerine Deksmetomidin hidroklorürün geçmesi de in vitro olarak araştırılmış ve Deksmetomidin hidroklorürün bu bileşiklerin hiçbirinin yerine geçmesinin anlamlı derecede olmadığı düşünölmüştür. Deksmetomidin hidroklorürün bu ilaçların plazmada proteine bağlanmasında klinik olarak anlamlı değişimlere yol açması muhtemel değildir (91).

3. MATERYAL METOD VE YÖNTEMLER

3.1 Çalışmada Kullanılan Deney Hayvanları

Bu çalışmada, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları ve Araştırma Laboratuvarından alınan 180–200 gram ağırlığında 72 erişkin Wistar albino sıçan kullanıldı. Hayvanlar yedişerli gruplar halinde, krom-nikelden yapılmış olan, yiyeceklerine ve içme sularına 24 saat boyunca serbestçe ulaşabildikleri kafeslere alındılar. İçme suları günde 2 kez değiştirildi. Çalışma süresince oda sıcaklığı 23 ± 1 °C'de tutuldu ve hayvanlar, 12 saat karanlık 12 saat aydınlık olacak şekilde muhafaza edildi. Deneyler hayvanların aydınlıkta tutulduğu zaman dilimi olan saat 8⁰⁰ ile 14⁰⁰ arasında yapıldı. Tüm deneyler Cumhuriyet Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Etik Kurulunun onayı alınarak yapıldı (etik kurul karar no ve tarih: 50/194, 07.06.2007).

3.2 Deney Düzenegi

Çalışmamız iki bölümde yapıldı. Birinci bölümde, denekler her birinde 6'şar adet sıçan olmak üzere 6 gruba ayrıldı.

Birinci grubun sham grubu olmasına karar verildi. 0, 15, 45, 75, 105, 135 ve 165. dakikalarda tail flick süreleri ölçülmeden önce her bir deneğe 0.3 ml serum fizyolojik (SF) i.p olarak uygulandı (Sham grubu).

İkinci gruba, SNAP (2mg/kg) i.p olarak verilerek hiperaljezi oluşturuldu ve birinci grupla aynı dakikalarda tail flick süreleri ölçüldü. SNAP uygulanan sıçanlarda giderek artan oranlarda davranışlarında hırçınlık, kasılma, ön ayakları ile başlarına vurma gibi stres hareketleri gözlemlendi. Bu hareketler fiziksel olarak ağrı oluşması şeklinde yorumlandı (SNAP grubu).

Üçüncü grupta, manyetik alanın ağrı üzerine etkisini gözlemlemek için, ratlar ardi ardına 7 gün boyunca günde 165 dakika olacak şekilde manyetik alana maruz bırakıldılar. Her gün 0, 15, 45, 75, 105, 135 ve 165. dakikalarda tail flick süreleri ölçüldü. Cihaz 15 dakika çalışma, 15 dakika dinlenme periyotları ile çalışacak şekilde

ayarlandı. Tail flick sürelerinin ölçümleri cihazın dinlenme periyodu başladığı anda yapıldı (MF grubu).

Dördüncü grupta, SNAP ve manyetik alanın ağrı üzerindeki etkileşimlerini saptayabilmek için, sıçanlara manyetik alan maruziyetinden önce her gün 2mg/kg SNAP i.p olarak uygulandı. Üçüncü grupla aynı dakikalarda tail flick süreleri ölçüldü (SNAP+MF grubu).

Beşinci grupta, Deksmetomidin'in ağrı algısı üzerindeki etkilerini incelemek için 12.5 µg/kg Deksmetomidin intraperitoneal olarak uygulandı. Dördüncü grupla aynı dakikalarda tail flick süreleri ölçüldü (Deks grubu).

Altıncı grupta, SNAP ve Deksmetomidin'in ağrı üzerindeki etkileşimlerini tespit etmek için, sıçanlara 12.5 µg/kg Deksmetomidin i.p uygulanmadan hemen önce 2mg/kg SNAP i.p olarak uygulandı. Beşinci grupla grupla aynı dakikalarda tail flick süreleri ölçüldü (SNAP+Deks grubu).

Çalışmanın ilk bölümde elde edilen veriler ışığında, ikinci bölümünde de denekler her birinde 6'şar adet sıçan olmak üzere 6 gruba ayrıldı.

Birinci gruptaki sıçanlara, plazma bazal Substance P ve β-endorfin seviyelerini saptamak amacı ile 0.3 ml serum fizyolojik (SF) i.p olarak uygulandı ve uygulamadan 75 dakika sonra intrakardiyak olarak kan örnekleri toplandı. SNAP uygulaması maksimum hiperaljezik etkisini 75. dakikada göstermişti.

İkinci grupta, SNAP'ın indüklediği hiperaljezide substance P ve β-endorfinin rolünü saptamak amacı ile 2 mg/kg SNAP intraperitoneal olarak uygulandı ve kan örnekleri uygulamadan 75 dakika sonra intrakardiyak olarak toplandı.

Üçüncü grupta, manyetik alan uygulamasının plazma substance P ve β-endorfin seviyeleri üzerine etkisini saptamak amacı ile ratlar birbirini takip eden 4 gün boyunca manyetik alana maruz bırakıldı. 4. gün manyetik alan uygulamasının antinosiseptif etkisinin maksimuma ulaştığı zamandı. 4. günün sonunda kan örnekleri intrakardiyak olarak toplandı.

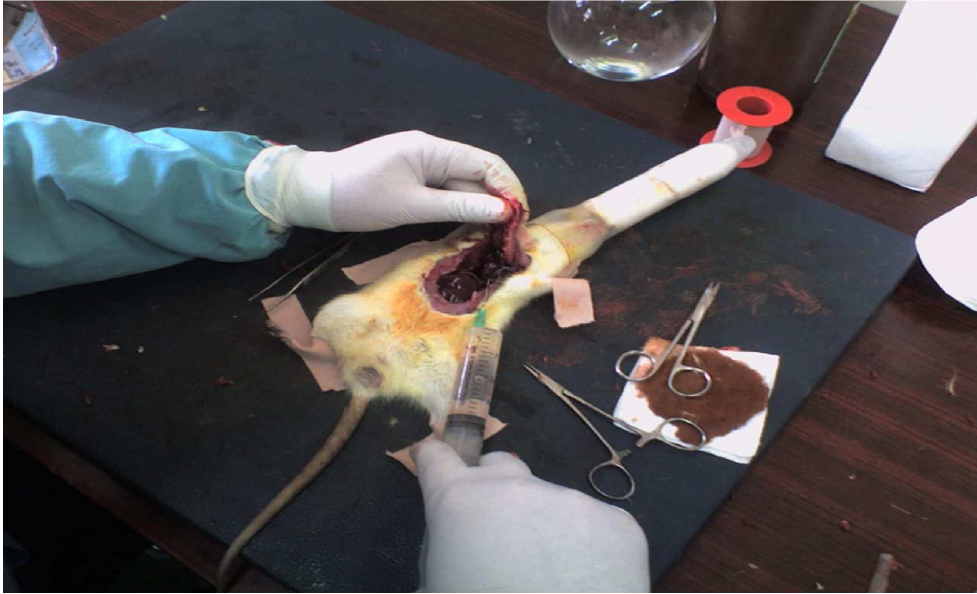
Dördüncü grupta, SNAP enjeksiyonu sonrasında manyetik alan uygulamasının plazma substance P ve β-endorfin seviyeleri üzerine etkisini saptamak için manyetik alan uygulamasından önce her gün sıçanlara intraperitoneal olarak 2 mg/kg SNAP enjekte edildi ve tekrarlayan 4 gün boyunca manyetik alan uygulaması yapıldı. 4. Günün sonunda kan örnekleri intrakardiyak yolla toplandı.

Beşinci grupta, tek başına Deksmetomidin enjeksiyonunun plazma substance P ve β -endorfin seviyeleri üzerine etkisini saptamak için, sıçanlara 12.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ Deks i.p uygulandı ve kan örnekleri uygulamadan 75 dakika sonra intrakardiyak olarak toplandı.

Son grupta ise SNAP enjeksiyonu sonrasında ” uygulamasının plazma substance P ve β -endorfin seviyeleri üzerine etkisini saptamak için, sıçanlara 12.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ Deksmetomidin i.p uygulanmadan hemen önce 2mg/kg SNAP i.p olarak uygulandı ve kan örnekleri uygulamadan 75 dakika sonra intrakardiyak olarak toplandı.

Kan örnekleri içlerinde EDTA olan Lavender Vacutaner tüplerinde toplandı. Örnekler içlerinde proteinazların aktivitesini önlemek için aprotinin (0.6 TIU/mL kan) bulunan santrifüj tüplerine aktarıldı, 1600 x g hızında 15 dakika santrifüj edildi ve çalışmaya kadar -70°C de saklandı.

Resim 1. Kan örneklerinin intrakardiyak olarak toplanması



3.3 Statik Manyetik Alan Uygulaması

Araştırmada manyetik alan oluşturmak üzere alternatif akım sağlayan güç kaynağı ve bir adet selenoidden oluşan özel tasarlanmış bir cihaz kullanıldı. Manyetik alanı oluşturan selenoid, yalıtkan bir fiber çatıdan oluşup 210 mm. çapında 400 mm uzunluğunda ve silindir şeklindedir. Bu silindir üzerine 1.4 mm. kalınlığında yalıtılmış bakır telden 1400 sarım sarıldı. Bu şekilde yapılan selenoid, çıkış voltajı değişebilen bir güç kaynağına bağlandı. Bu çalışma gücü $B=200$ G olan statik ve yatay oluşturulan manyetik alan ile yapıldı. Manyetik alan şiddeti PHYWE marka dijital teslametre ile

ölçüldü. Selenoidin merkezindeki yoğunluk 100 mT olarak ölçüldü. Cihazın en uzak bölgelerinde kontrol hayvanlarla ölçülen boş alanların yoğunlukları da hesaba katılarak, ortalama manyetik alan yoğunluk değerinin 0.4 (± 0.1) G olmasına karar verildi. Selenoidin içinde ve sarmalların arasında homojen manyetik alana sahip, 3mm kalınlığında şeffaf pleksiglaslardan yapılmış (400x170x130 mm) boyutlarında kafesler oluşturuldu. Bu özel kafesler 6 adet sıçan barındırabilen, bu sıçanların rahatça hareket edip manyetik alana maruz kalabilecek şekilde ayarlandı. Hayvanlar günde 165 dakika manyetik alana maruz kaldı. Bu süre zarfında cihazın çalıştığı ve durduğu periyotlar vardı. Hayvanlar bir hafta boyunca altışarlı iki grup halinde sabah 9:00 ile 11:45 arasında manyetik alana maruz kaldılar. Manyetik alanın yönü daima kuzey- güney doğrultusunda tutuldu ve selenoidin sıcaklığı sık sık ölçülerek 23 °C de tutuldu.

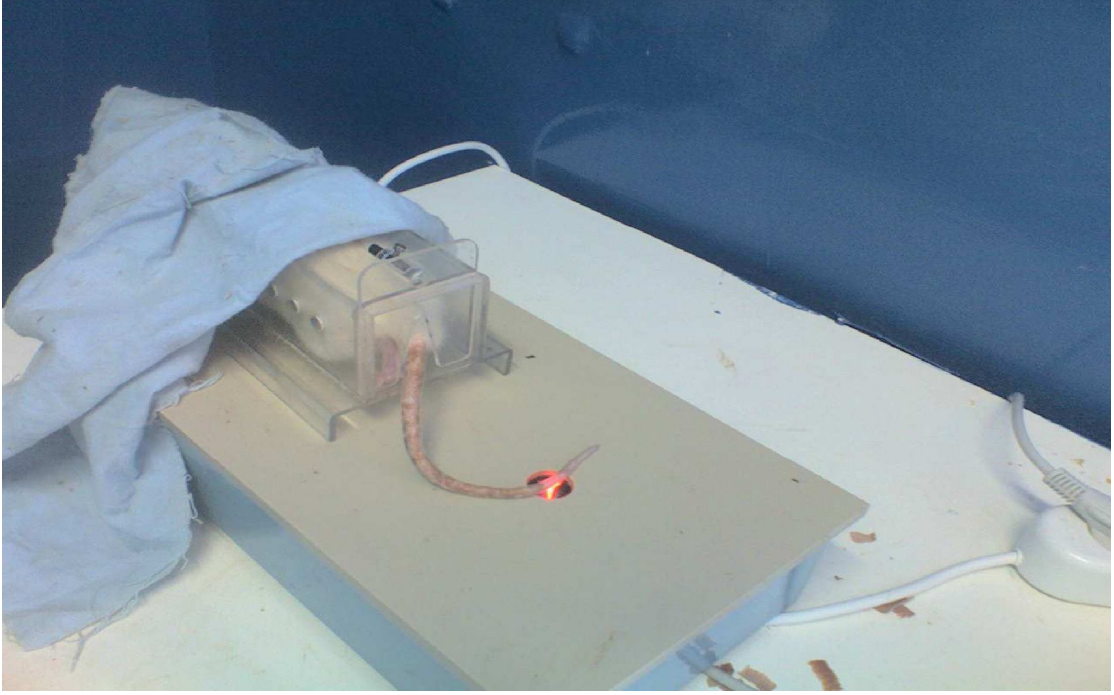
3.4 Ağrının Ölçülmesi

Ağrının ölçülmesi ısı yayan tail flick testi ile yapıldı (May TF 0703 Tail-Flick Unit, Commat, Ankara, Turkey) . Bu testte, hayvanın kuyruğunun distal 3cm'lik kısmı cihazın ısı yayan kaynağına tutuldu ve 0, 15, 45, 75, 105, 135 ve 165. dakikalarda tail flick süreleri (TFL) elde edildi. Her TFL verisi, her hayvan için ölçülen iki değer aritmetik ortalamasıyla elde edildi. Cihazdan çıkan ısı yoğunluğu, TFL ölçümlerinin temel noktası 3.88 ± 0.4 sn. olacak şekilde ayarlandı. Hayvanların için yapılan temel TFL ölçümlerinde 3.4 ün aşağısındaki ve 4.2'nin üstündeki değerler kabul edilmedi. Sıçanların kuyruklarının zarar görmemesi için cihazın ısı yayma süresi maksimum 10 saniye olarak ayarlandı ve 10 saniyeden daha uzun süre ısı uyarısına yanıt vermeyen hayvanlar çalışmadan çıkarıldı.

3. 5 Radyan Isı Tail Flick Testi

Radyan ısı kullanılan Tali-Flick testi: Bu testi ilk olarak 1940 yılında Hardy ve ark insanlar üzerinde uygulamışlardır. D'Amour ve Smith 1941 yılında bu testi, hayvanın kuyruğuna termal radyasyon uygulamasıyla, hayvanın şiddetli şekilde kuyruğunu çekmesi olarak tanımlamışlardır. Tail-Flick süresi, bu hareketin oluşmasına kadar geçen reaksiyon süresi olarak tanımlanır. Kuyruğun çekilmesiyle ışık kaynağı ve süre durur. Reaksiyon süresinin uzaması analjezik etki olarak yorumlanır. Kuyruğun 20 sn den fazla ışık kaynağına maruziyeti, ciltte oluşabilecek yanık nedeniyle tavsiye edilmemektedir. Tail-Flick testi, spinobulbo- spinal nöral yapıların katıldığı kompleks bir refleksdir (92).

Resim 2. Tail Flick Testi Uygulaması



3. 6 Plazma Substance P Ve β -Endorfin Seviyelerinin Saptanması

Plazma substance P ve β -endorfin seviyeleri sıçanlar için uygun substance P ve β endorfin ELISA kitleri kullanılarak ölçüldü. Minimum saptanabilen substance P seviyesi 0.06 ng/ml iken bu değer β -endorfin için 0.17 ng/ml idi.

3. 7 DeneYlerde Kullanılan İlaçlar

S-Nitroso-N-acetyl-DL-penicillamine (SNAP), Sigma (St. Louis, MO, USA)

Deksmedetomidine, Abbott (N. Chicago, USA)

Ratlara uygulanan tüm ilaçlarda çözücü olarak distile su kullanıldı, ilaç solüsyonları deneyin yapılacağı sabah taze olarak hazırlandı ve intraperitoneal olarak uygulandı. SNAP -20 °C de muhafaza edildi.

3.8 Deney Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Çalışmamızda parametrik olmayan bir istatistik yöntemi kullanıldı. İki den fazla grup içeren çalışmalarda istatistiksel anlam için Kruskal- Walls testi uygulandı. ($p < 0.05$), devamında ise verilerin kendi aralarında karşılaştırılması için Dunnett'in çoklu

testi uygulandı. İki grubu karşılaştırmak içinde Mann–Whitney U-test kullanıldı ($p<0.05$).

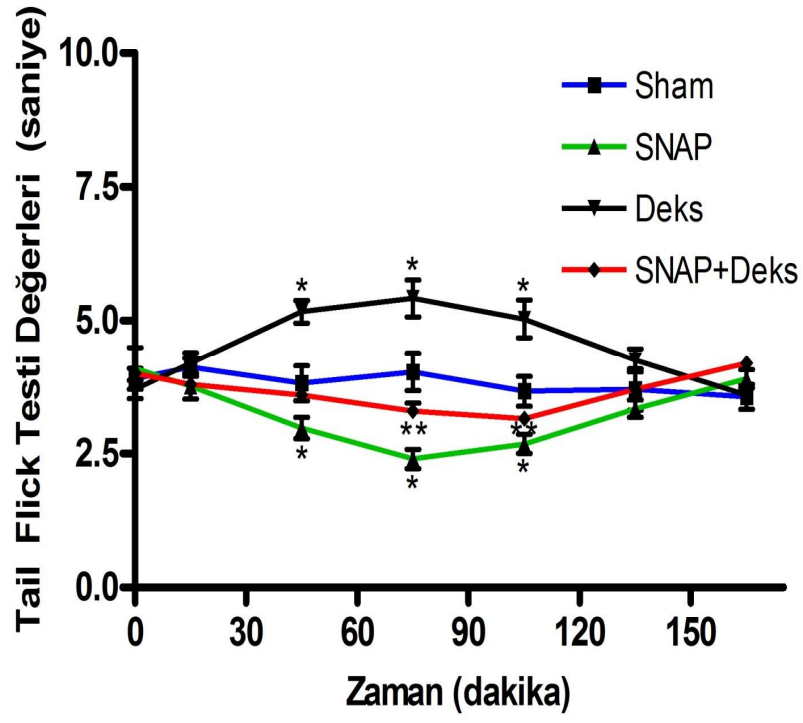
4. BULGULAR

Çalışmaya başlamadan önce kontrol hayvanlarında yapılan kuyruk çekme testi (tail flick testi) ölçümlerinin ortalaması 3.8 ± 0.4 idi. Meydana gelebilecek değişikliklerin uygulanan ilaçlar ya da manyetik alandan değil uygulamanın kendisinden kaynaklanabilmesi ihtimalini ortadan kaldırmak için kontrol hayvanlarına 0.3 ml serum fizyolojik verilerek kuyruk geri çekme süreleri tekrar ölçüldü (Sham grubu). Serum fizyolojik uygulamasının tail flick sürelerini değiştirmediği gözlemlendi ($p > 0.05$).

Sıçanlara intraperitoneal olarak 2 mg/kg dozunda SNAP uygulanması sham grubu ile karşılaştırıldığında, tail flick sürelerinde belirgin bir azalma meydana getirdi ($p < 0.05$). Bu bulgu hiperaljezinin meydana geldiğinin bir kanıtıdır. Hiperaljezik etki SNAP uygulamasından 45 dakika sonra istatistiksel olarak anlamlı hale geldi ($p < 0.05$), 75. dakikada ise maksimum hiperaljezik etki oluştu. 105. dakikadan itibaren kuyruk geri çekme süreleri yükselmeye başladı ve 165. dakikada sham grubu ile benzer seviyeye ulaştı (Şekil 1).

Sıçanlara 12.5 µg/kg dozunda Deksmetomidin uygulanması Sham grubu ile karşılaştırıldığında, tail flick sürelerinde bir artış meydana getirdi. Bu artış Deksmetomidin uygulamasından 45 dakika sonra istatistiksel olarak anlamlı hale geldi, 75 dakika sonra ise maksimuma ulaştı. 105. dakikadan itibaren tail flick süreleri düşmeye başladı ve 165. dakikada Sham grubu değerleri ile benzer seviyeye ulaştı.

Deksmetomidin'in SNAP tarafından oluşturulan hiperaljezi üzerine etkisini gözlemlemek için 12.5 µg/kg Deksmetomidin i.p olarak uygulanmadan hemen önce 2 mg/kg SNAP i.p olarak enjekte edildi. SNAP+Deks grubunda, Sham grubu ile kıyaslandığında tail flick süreleri belirgin şekilde azaldı. Bu azalma 75. dakikada istatistiksel olarak anlamlı hale geldi ($p < 0.05$). 105. dakikadan sonra değerler yükselerek 165. dakikada sham grubu değerleri ile benzer seviyeye ulaştı (Şekil 1). Fakat SNAP+Deks grubunun tail flick değerleri SNAP grubu ile karşılaştırıldığında, anlamlı olarak yüksek oldukları saptandı ($p < 0.05$) (Şekil 1).

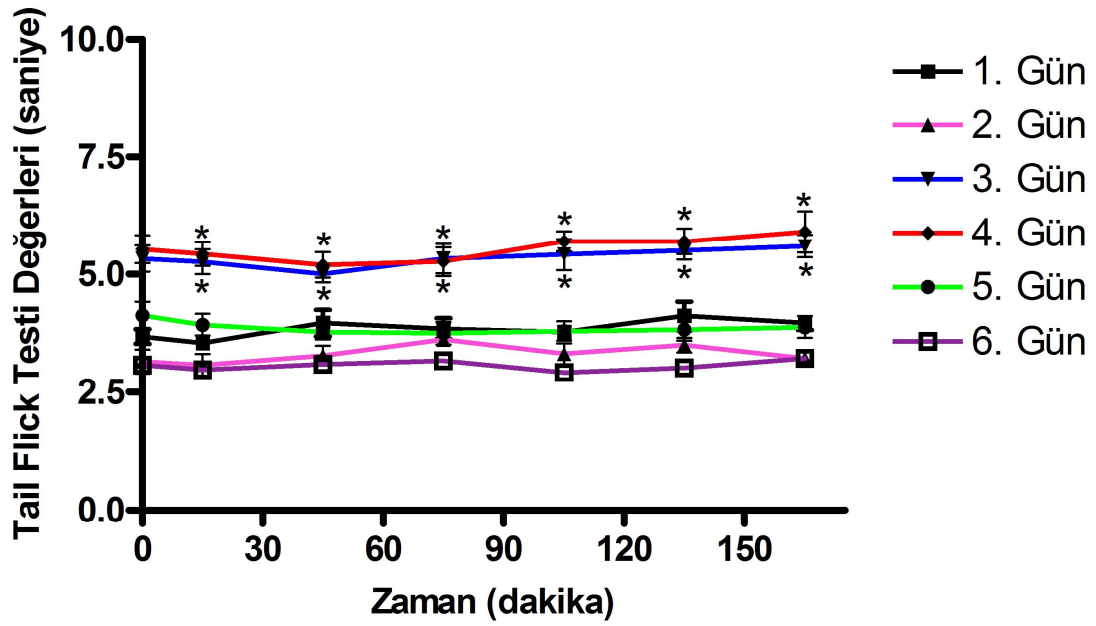


Şekil 1. Sham, SNAP (2 mg/kg), Deks (12.5 µg/kg) ve SNAP+Deks (2 mg/kg+12.5 µg/kg) gruplarında zamana bağlı tail flick süreleri.

* Aynı zaman noktasında diğer tüm gruplardan farklı (p<0.05)

** Aynı zaman noktasında SNAP ve Sham grubundan farklı (p<0.05)

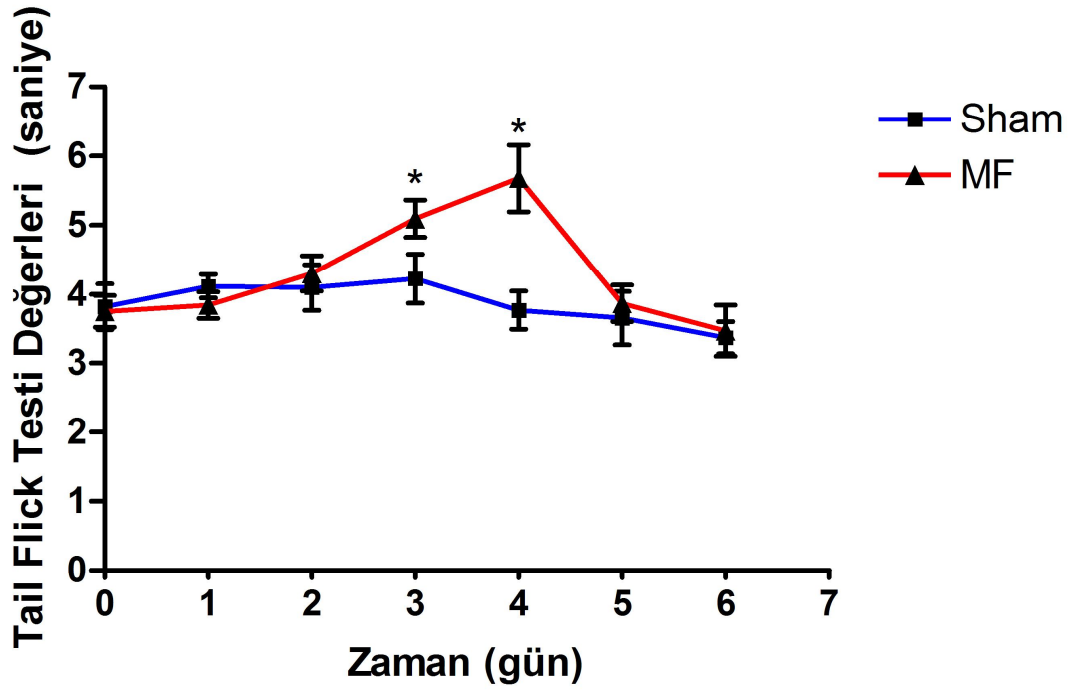
Manyetik alan uygulamasının ağrı algısı üzerindeki etkilerini saptamak için sıçanlar 6 gün boyunca günde 165 dakika manyetik alana maruz bırakıldılar. Etkinin gün içerisinde değişip değişmediğini gözleyebilmek için tail flick testi ölçümleri belirli zaman aralıklarında yapıldı (0, 15, 45, 75, 105, 135, 165). Çalışma sonunda tail flick testi ölçüm değerlerinin aynı gün içerisinde, başlangıç değerlerine göre anlamlı şekilde değişmediği gözlemlendi ($p>0.05$) (Şekil 2).



Şekil 2. Tek başına manyetik alan uygulamasının 1-6. günlerde zamana bağlı ortalama tail flick süreleri.

* 3. ve 4. günlerde elde edilen tail flick süreleri 1, 2, 5 ve 6. günlerde elde edilen tail flick sürelerinden istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklı ($p<0.05$).

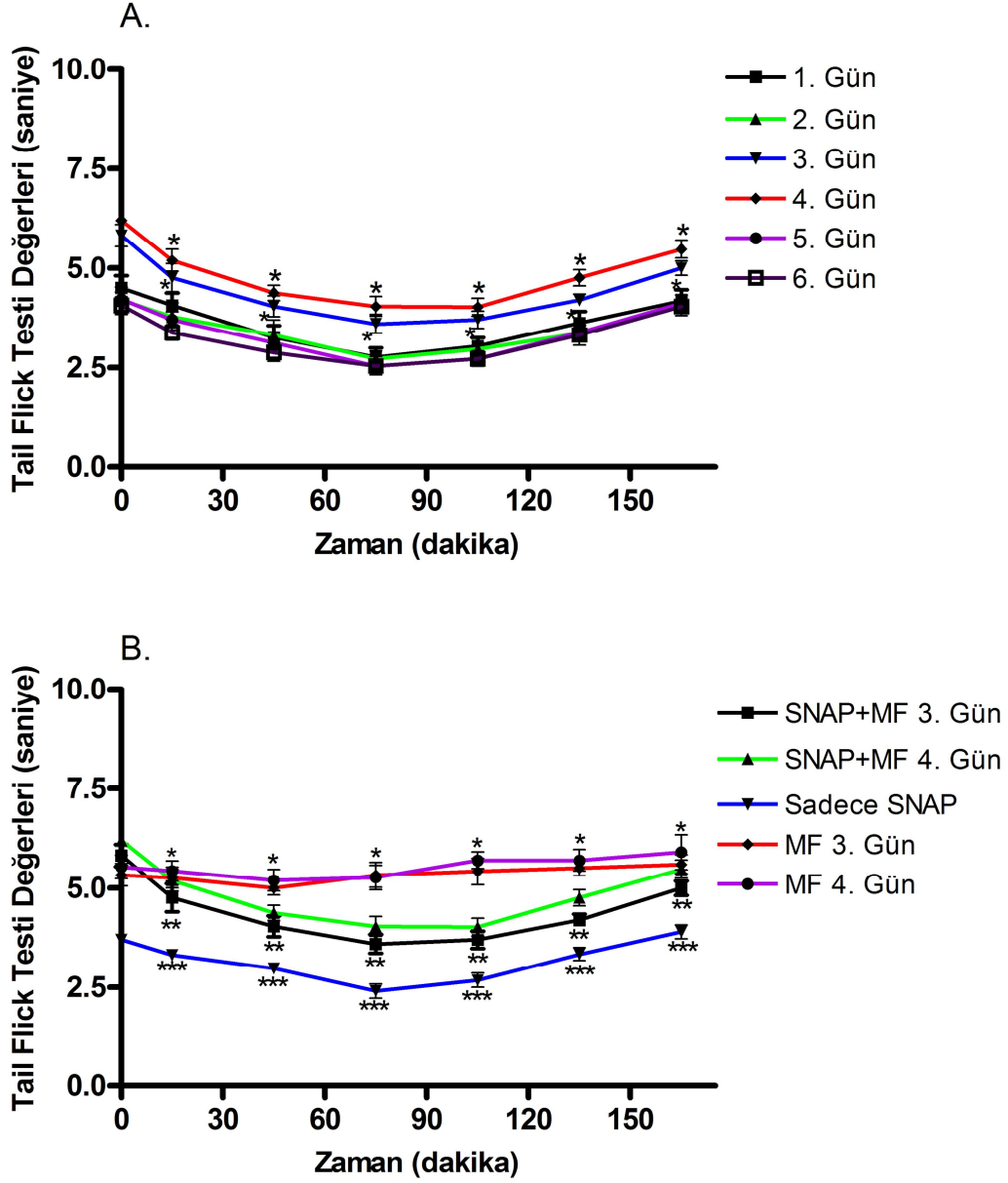
Altı günlük manyetik alan maruziyeti süresince, ilk iki gün tail flick testi ölçümlerinin ortalama değerleri sham grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak farklı değildi ($p>0.05$). 3. gün tail flick testi ölçüm değerleri hızla yükselmeye başladı ve 4. gün değerler maksimuma ulaştı. Manyetik alan uygulamasının 3. ve 4. günündeki değerler sham grubu değerleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olarak şekilde yüksekti ($p<0.05$). 4. günden itibaren değerler hızla azalarak 6. gün sham grubu hayvanları ile aynı seviyeye geriledi (Şekil 3).



Şekil 3. 7 günlük manyetik alan uygulaması boyunca, gün içerisinde elde edilen tail flick sürelerinin ortalama değerleri.

* MF grubu değerleri, aynı günde elde edilen sham grubu değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklı ($p<0.05$).

Manyetik alan uygulamasının SNAP tarafından oluşturulan hiperaljezi üzerine etkisini gözlemlemek için, 2 mg/kg SNAP her gün manyetik alan uygulanmasından önce intraperitoneal olarak uygulandı ve sıçanlarda tail flick testi sürelerine bakıldı. SNAP+MF grubu, Sham ve MF grubu ile karşılaştırıldığında tail flick testi ölçüm değerlerini belirgin şekilde düşük olduğu görüldü ($p<0.05$). Fakat SNAP+MF grubunun 3 ve 4. günlerdeki tail flick testi ölçüm değerleri sadece SNAP grubu ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti ($p<0.05$) (Şekil 4).



Şekil 4. SNAP+MF uygulamasının 6 gün boyunca günlere göre tail flick süreleri (A). Sadece SNAP, 3. ve 4. günlerde sadece MF ve 3. ve 4. günlerde SNAP+MF uygulanan gruplarda elde edilen tail flick süreleri (B).

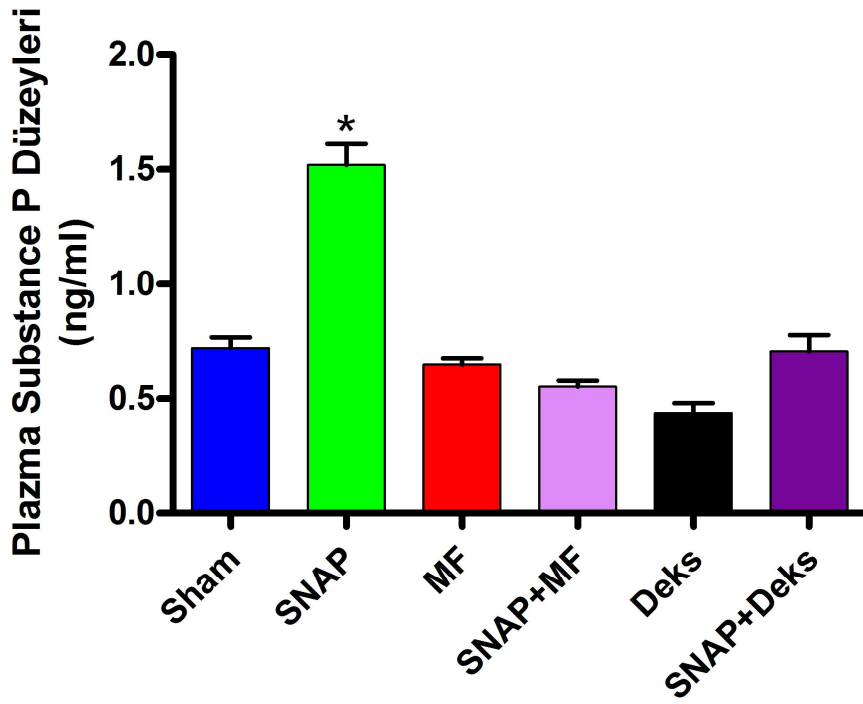
* 3-4. gün ölçülen MF grubu tail flick süreleri, aynı zaman noktasında ölçülen SNAP ve 3-4. gün ölçülen SNAP+MF grubu tail flick sürelerinden istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklı ($p < 0.05$).

** 3-4. gün ölçülen SNAP+MF grubu tail flick süreleri aynı zaman noktasında ölçülen SNAP ve 3-4. gün ölçülen MF grubu tail flick sürelerinden istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklı ($p < 0.05$).

*** SNAP grubu tail flick süreleri aynı zaman noktasında ölçülen MF grubu ve 3-4. gün ölçülen SNAP+MF grubu tail flick sürelerinden istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklı ($p < 0.05$).

Tek başına SNAP uygulaması (2 mg/kg) plazma substance P seviyelerini diğer tüm gruplar ile kıyaslandığında belirgin şekilde artırdı ($p < 0.05$). Hem manyetik alan uygulaması hem de manyetik alan uygulamasından önce SNAP enjeksiyonu ise plazma substance P seviyelerinde anlamlı bir değişikliğe neden olmadı ($p > 0.05$). Tek başına

Deksmetomidin uygulaması (12.5 µg/kg), sham grubu ile karşılaştırıldığında plazma substance P düzeylerinde bir azalma meydana getirdi. Fakat bu azalma istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). SNAP+Deks grubunun plazma substance P değerleri Sham, Deks, MF ve SNAP+MF gruplarının plazma substance P değerlerinden daha yüksek olmasına rağmen bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$) (Şekil 5).

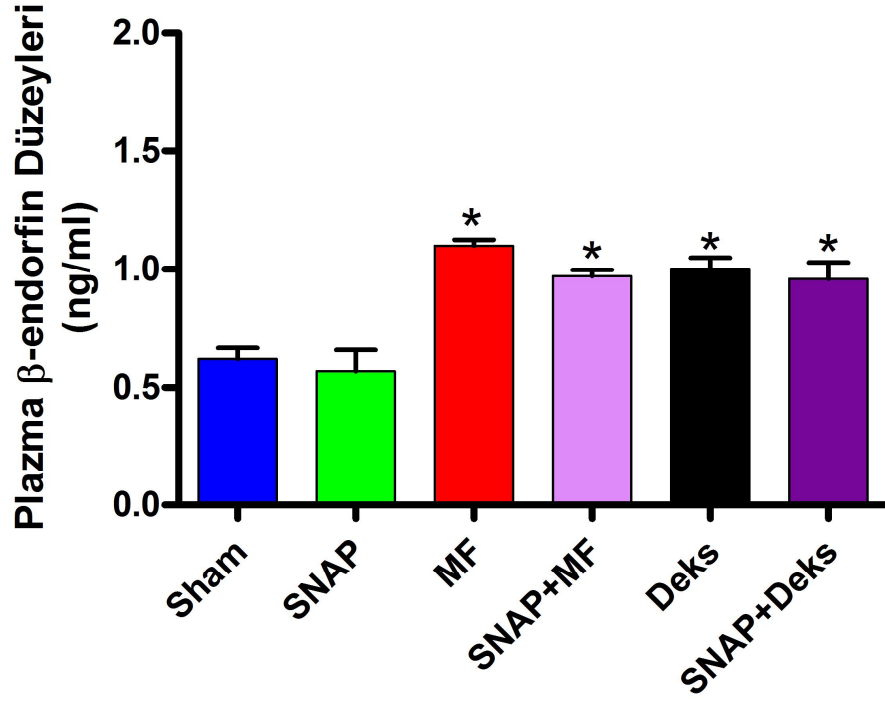


Şekil 5 ELISA ölçümleri ile saptanan plazma substance P düzeyleri.

* SNAP grubu diğer gruplardan istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklı ($p<0.05$).

MF grubu, SNAP+MF grubu, Deks grubu ve SNAP+Deks grubu, Sham grubu ile karşılaştırıldığında, plazma β -endorfin düzeylerinin anlamlı şekilde yüksel olduğu saptandı ($p<0.05$). SNAP grubu ile Sham grubu plazma β -endorfin düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık yoktu. MF grubunun plazma β -endorfin düzeyleri Deks,

SNAP+Deks ve SNAP+MF gruplarının plazma β -endorfin düzeylerinden daha yüksek olsa da aralarında istatistiksel bir farklılığın olmadığı saptandı ($p>0.05$) (Şekil 6).



Şekil 6 ELISA ölçümleri ile saptanan plazma β -endorfin düzeyleri

* MF, SNAP+MF, Deks ve SNAP+Deks grupları sadece SNAP uygulanan grup ve sham grubundan istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklı ($p<0.05$)

5. TARTIŞMA

Akut ve kronik ağrı yakınmasına yönelik tedavi uygulamaları yüzyıllardır tıbbın ve araştırmacıların başlıca ilgi alanı olmuştur. Ağrı çok sayıda sübjektif ve öngörülemeyen ve/veya tanımlanamayan faktörlerin bileşiminden ileri gelmektedir. Buna göre ağrı, organik bir bozuklukla ilişkili veya ilişkisiz bir psikolojik stres haline işaret eden bir semptom ya da bundan kaynaklanan bir reaksiyonun dışı vurumu olarak düşünülebilir. Ağrı, emosyonel durumu ve karakter özelliklerini etkileyebilir, dikkat düzeyinde değişikliklere yol açabilir (93). Hem kişilerin hem de toplumların yaşamlarını bu denli etkileyen ağrının oluşum, iletim ve algılanma mekanizmalarının son derece karışık olması, periferik ve santral sinir sisteminde bu iletimden sorumlu birçok değişik molekülün bulunması ağrının incelenmesini ve anlaşılmasını bir kat daha zorlaştırmaktadır.

NO hem santral sinir sistemi hem de periferik sisteminde sinaptik aşırımda önemli rol oynayan bir mediatördür (94). NO'in L-arjininden sentezlenmesi birçok hücrede gerçekleşebilirse de bu sentez esas olarak küçük ve orta boy duysal nöronlarda meydana gelmektedir. Kalsiyum ya da diğer faktörlerin NOS'u aktive etmesinin ardından guanilat siklaz devreye girer ve hücresel süreçler aktive edilmiş olur (95). NO'in periferik, spinal ve supraspinal seviyede hem pronosiseptif hem de antinosiseptif süreçlerde görev aldığı gösterilmiştir (96, 97). Akut ve kronik ağrı modellerinin birçoğunda oldukça fazla sayıda kanıt NO'in spinal seviyedeki hiperaljeziye katkıda bulunduğunu göstermektedir (98, 99). Ayrıca ağrılı uyaranlar NOS'un ve cGMP'nin spinal seviyedeki ekspresyonunu artırmaktadır (99). NOS ve guanilat siklaz inhibitörlerinin verilmesi analjezik etkilere neden olmaktadır (100). Nitrik oksit hakkındaki bu araştırmalar ışığı altında bizim çalışmamızda, ağrının spinal düzeyde modülasyonunu araştırmak amacı ile hiperaljezi oluşturmak için bir nitrik oksit donörü olan SNAP kullanıldı.

SNAP NO/cGMP yolağının güçlü bir aktivatörüdür. Bu konuda yapılan çalışmalara bakıldığında, SNAP'ın kardiyak kontraktilete, diyabetteki intimal proliferasyon, akciğer kanseri, damar yataklarının kapasitansı ve rezistansı üzerine etkilerinin ayrıntılı bir şekilde araştırıldığı birçok çalışma görülmektedir (101–104).

NO'in ağrı modülasyonu üzerindeki etkisi iyi bilinmekle birlikte, önemli bir nitrik oksit donörü olan SNAP ile yapılmış çok az sayıda ağrı çalışması bulunmaktadır (105). Yapılan sınırlı sayıdaki bu çalışmalar SNAP'ın nosisepsiyondaki santral ve periferik etkileri üzerine odaklanmaktadır. Biz çalışmamızda NO donörü olan SNAP'ı 2mg/kg dozunda ve intraperitoneal olarak, hiperaljezi oluşturmak amacıyla kullandık. Ağrı modülasyonunda medulla spinalis düzeyindeki etkiyi gözlemleyebilmek için ölçüm metodu olarak da tail flick testini kullandık. SNAP, NO donörleri ile yapılan diğer analjezi çalışmalarına paralel olarak doza ve zamana bağlı hiperaljezik bir etki meydana getirdi. Bizim bulgularımız da diğer çalışmalardan elde edilen bulguları destekler nitelikte, NO'in spinal düzeyde ağrı aktarımında görevli bir nöromediatör olabileceğini ve SNAP'ın spinal düzeydeki etkisi ile hiperaljezi meydana getirebileceğini göstermektedir. SNAP bu hiperaljezik etkiyi ya direkt nöromediatör rolü oynayarak ya da medulla spinalisin ilgili segmentlerinde NOS ekspresyonunu artırarak yapıyor olabilir.

Opioidler gibi α_2 agonistler de güçlü analjezik etkinlikleri olan maddelerdir. Sistemik veya intratekal uygulamalarında daha yüksek etki elde edilmesi, reseptörlerinin yoğun olarak bulunduğu spinal kord üzerindeki önemli etkilerini doğrulamaktadır (106). α_2 agonistler spinal korda dorsal kök gangliyonundaki snaptik transmisyonu engelleyerek antinosiseptif etkinlik göstermektedirler (107, 108). Deksmetomidin sedatif etkileri de olan oldukça yüksek afiniteli bir α_2 agonisttir (109, 110). Biz de çalışmamızda analjezik etkisi iyi bilinen bu ajanı, SNAP tarafından oluşturulan hiperaljezi üzerinde test ettik. Deksmetomidin sıçanlarda zamana bağlı güçlü bir antinosisepsiyon meydana getirdi. Bu antinosiseptif etki 45. dakikada anlamlı hale geldi ve 105. dakikaya kadar devam etti. 105. dakikadan sonra antinosisepsiyon azalarak 165. dakikada ortadan kalktı. SNAP+Deks grubunda ise, sham grubu ile karşılaştırıldığında 75–105 dakikalarda anlamlı bir hiperaljezi meydana geldi. Fakat SNAP+Deks grubunun tail flick değerleri, SNAP grubunun tail flick değerleri ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksek bulundu. Bu bulgular göstermektedir ki; santral etkileri iyi bilinen Deksmetomidin spinal mekanizmalar ile de güçlü bir antinosisepsiyon meydana getirebilmektedir. Deksmetomidin, SNAP tarafından oluşturulan hiperaljeziyi kısmen önleyebilmekle birlikte tail flick değerlerini Sham grubu değerlerine getirememektedir. SNAP ve Deksmetomidin etkilerini farklı mekanizmalar yoluyla gösteriyor olabilirler.

Ağrı duyusunun tedavisi ile ilgili arayış insanlık tarihi kadar eskidir ve belki de bu sonu gelmeyecek bir arayıştır. Bu uzun arayış boyunca insanlar ağrı tedavisi konusunda değişik yöntemler denemişlerdir. Günümüzde ağrı tedavisinde alternatif yaklaşımlardan biri de manyetik alan uygulamasıdır. Statik, sinüzoidal ve spesifik dalgalı manyetik alan uygulamalarının oryantasyon, öğrenme, ağrı algılanması ve anksiyete ile ilişkili davranış değişiklikleri gibi insan ve hayvan davranışlarını etkilediği gösterilmiştir (111, 112). İnsanlar da dahil olmak üzere (113) bir çok hayvan türünde yapılan çalışmalarda manyetik alan uygulamasının ağrı algılanmasını etkilediği ortaya konulmuştur (114, 115). Fizik tedavi modaliteleri arasında yer alan manyetik alanın, tedavide kullanımı çok eskidir, fakat yaygınlaşmamıştır (116). Manyetik alan uygulaması psöriazis, tendonitis, romatoid artrit gibi inflamatuvar hastalıklarda oluşan ağrıyı azaltabilmektedir (117).

Manyetik antinözeptasyon araştırmalarında mekanizmaya yönelik en popüler ölçüm metodlarından biri opioidler ile ilişkili ölçümlerdir (118). Bu araştırmaların birçoğu periferik opioid seviyelerinin ölçümü üzerine odaklanmıştır. Manyetik alana maruz bırakılıp opioid antagonistleri verilmesinin ardından antinözeptif blokajın tam olmaması, opioid aracılı mekanizmalardan başka mekanizmaların da manyetik alan maruziyetinin etkilerine aracılık ettiğini göstermektedir (119). Manyetik alan uygulaması egzersiz tedavisi ile beraber uygulandığında ağrı kontrolü sağlayarak ve hareket açıklığını artırarak yaşam kalitesini artırmaya katkıda bulunmaktadır (120). Bao ve ark. 2006 yılında, sıçanlarda uzun dönem manyetik alan maruziyetinin nözeptasyon üzerindeki etkileri ile bu etkide β -endorfin ve substance P'nin rollerini araştıran bir çalışma yapmışlardır. Bu çalışmada sıçanlar 14 gün boyunca günde 6 saat manyetik alana maruz bırakılmış ve bu uygulamanın nözeptasyon üzerindeki etkisini tespit etmek için tail flick yöntemi kullanılmıştır. Manyetik alan uygulaması ile ilk 2 gün analjezik etkinin oluşmadığı, 3. ve 4. günlerde anlamlı antinözeptif etkinin meydana geldiği, 4. günden sonra bu etkinin azalarak 7. günün sonunda tamamen ortadan kalktığı gösterilmiştir. Bu çalışmadaki manyetik alana maruz kalma süresi bizim çalışmamızdan fazla olmakla birlikte, bizim çalışmamızda da benzer şekilde ilk 2 gün analjezik etkinin gözlenmediği, 3. gün analjezik etkinin meydana geldiği ve 4. günün sonunda maksimuma ulaştığı ve 4. günden sonra değerlerin hızla azalarak 6. günün sonunda sham grubu değerleri ile benzer seviyelere ulaştığı bulundu. Tao ve arkadaşlarının çalışmasında tail flick süreleri her günün sonunda tek bir zaman noktasında ölçülürken, bizim çalışmamızda ölçümler her gün 7 değişik zaman noktasında (0, 15, 45, 75, 105,

135, 165. dak) ölçüldü. Böylece nosisepsiyondaki değişiklikler hem farklı günlerde hem de aynı gün içerisinde farklı zaman noktalarında saptanmış oldu. Gün içerisinde yapılan tail flick ölçümleri başlangıç değerleri ile karşılaştırıldığı zaman anlamlı bir farklılık olmadığı gözlemlendi. Bu durum manyetik alan uygulamasının nosisepsiyon üzerindeki etkisinin, akut bir etki olmaktan ziyade, subakut bir etki olduğunu göstermektedir. Antinosiseptif etkinliğin ilk 2 gün görülmemesi de oluşan bu antinosiseptif etkinin yavaş geliştiği düşüncesini desteklemektedir. 3. ve 4. günlerde antinosiseptif etkinliğin görülmesi, bu etkiden opioidlerin sorumlu olabileceğini, 4 günden sonra etkinin aniden ortadan kalkması ise etkinin opioid toleransı ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda manyetik alan uygulamasının SNAP ile oluşturulan hiperaljezi üzerindeki etkisini araştırmak için manyetik alan uygulaması öncesi sıçanlara SNAP enjeksiyonu yapıldı. SNAP+MF uygulamasının ilk 2 günü sham grubu ile karşılaştırıldığında, anlamlı bir hiperaljezi meydana geldi. Meydana gelen bu hiperaljezik etki SNAP grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık olmadığı gözlemlendi. Bu bulgu SNAP'ın ilk 2 günde oluşturduğu hiperaljezinin manyetik alan tarafından engellenemediğini göstermektedir. SNAP+MF grubunun 3. ve 4. gün ölçülen tail flick değerleri, SNAP grubu tail flick değerleri ile karşılaştırıldığında, anlamlı olarak yüksekti. Bu da manyetik alan uygulamasının SNAP'ın oluşturduğu hiperaljeziyi 3. ve 4. günlerde anlamlı ölçüde önlediğini göstermektedir. Fakat SNAP+MF grubunun 3. ve 4. gün elde edilen tail flick değerleri, MF grubundan 3. ve 4. gün elde edilen tail flick değerleri ile karşılaştırıldığı zaman, anlamlı derecede düşük oldukları saptandı. Bu bulgular manyetik alandan önce uygulanan SNAP'ın hiperaljezik etkisini hala gösterdiğini, fakat manyetik alanın antinosiseptif etki gösterdiği 3. ve 4. günlerde, SNAP'ın hiperaljezik etkisini yenecek kadar güçlü bir antinosisepsiyon meydana getirmiş olduğunu göstermektedir. Bu iki uygulamanın zıt etkilerini aynı zaman periyodunda gösterebilmeleri, farklı mekanizmalar yoluyla bu etkilerini ortaya çıkarıyor olabileceklerini düşündürmektedir.

Substance P ağrının özellikle medulla spinalis seviyesindeki modülasyonunda etkili olduğu düşünülen peptid yapılı bir moleküldür. Tüm duysal nöronların medulla spinalise giriş yaptığı nokta olan dorsal kök gangliyonundaki ağrı aktarımından sorumlu nöronların substance P tarafından ateşlendiği gösterilmiştir (121). Substance P içeren primer afferent nöronları kapsaisin ile hasarlanan hayvanlarda ağrılı uyarılara karşı duyarsızlık geliştiği gözlenmiştir (122). Substance P'nin sadece medulla spinalis düzeyinde ağrının aktarımından sorumlu olmayıp, periferel terminal nöronlara da

taşındığı gösterilmiştir (123). Diğer taşıkininler ile birlikte substance P'nin de ağrının periferel sinir sisteminden santral sinir sistemine aktarılmasında önemli bir rolü olduğu aşikârdır (124). Substance P'nin ağrı modülasyonundaki bu önemli rolünden yola çıkarak biz de çalışmamızda plazma substance P düzeylerini ölçtük. Sadece SNAP uygulanan grupta plazma substance P değerleri anlamlı olarak yüksekti. MF grubu, SNAP+MF grubu, Deks grubu ve SNAP+Deks grubunda ise plazma substance P düzeyleri sham grubu ile benzer bulundu. Sadece SNAP uygulanan grupta, substance P düzeylerinin literatürle uyumlu şekilde anlamlı olarak yüksek çıkması, SNAP'ın oluşturduğu hiperalejide substance P'nin önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Bizim çalışmamızda, SNAP+MF grubunun 4. gün elde edilen tail flick değerleri, MF grubunun tail flick değerlerinden daha düşük olmasına rağmen, yani SNAP kısmen de olsa hiperalejik bir etki göstermesine rağmen, yine 4. gün ölçülen plazma substance P düzeylerinde buna paralel bir artışın meydana gelmemesi, SNAP'ın etki mekanizmasında sadece substance P'nin değil, başka faktörlerin de rol oynayabileceğini göstermektedir. SNAP grubunun plazma substance P düzeyleri yüksek iken, SNAP+MF ve SNAP+Deks grubunda substance P düzeylerinin azalması, manyetik alan ve Deksmetomidin uygulamalarının SNAP tarafından artırılan substance P düzeylerini azalttığını göstermektedir. MF ve Deks gruplarında substance P düzeylerinin değişmemiş bulunması, manyetik alan ve Deksmetomidin'in substance P üzerindeki etkisinin salıverilme ve/veya salıverildikten sonra reseptör düzeyinde olabileceğini göstermektedir. Collin ve ark. (125) bir α_2 reseptör agonisti olan S-12812-4 isimli maddenin medulla spinaliste substance P salınımını azaltarak antinosiseptif etki meydana getirdiğini göstermişlerdir. Bu çalışma bizim Deksmetomidin üzerindeki bulgularımızı doğrular niteliktedir.

Birçok çalışma endojen opioid sisteminin aktivitesinin ağrılı uyaranlar ile değişebileceğini ortaya koymaktadır (126-130). Poliartritteki kronik ağrının santral sinir sisteminin aktivitesi, hipofizyal β -endorfin, metionin-enkefalin ve dinorfin havuzlarındaki değişiklikler ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir (100, 117). Kameyama ve ark. (101) ağrılı uyaran ve akut stres durumlarının opioid reseptörlerini artırdığını göstermişlerdir. Ağrı ile olan bu yakın ilişkisinden dolayı, biz de çalışmamızda plazma β -endorfin seviyelerini ELISA yöntemi ile ölçtük. Tek başına SNAP uygulanan grupta, plazma β -endorfin seviyeleri değişmedi. MF ve SNAP+MF gruplarından, 4. gün elde edilen kan örneklerinde ölçülen β -endorfin düzeyleri, sham grubu B-endorfin düzeyleri ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksekti. Aynı şekilde Deks ve SNAP+Deks

gruplarının plazma β -endorfin düzeyleri, Sham grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksekti. MF, SNAP+MF, Deks ve SNAP+Deks gruplarının plazma β -endorfin düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu. SNAP grubunda plazma β -endorfin düzeylerinin değişmemesi, SNAP'ın etkisinde endojen opioidlerin rolü olmadığını göstermektedir. MF grubunda plazma β -endorfin düzeylerinin belirgin şekilde yükselmesi, β -endorfinin manyetik alan uygulaması ile meydana gelen antinosisepsiyonda önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Antinosiseptif etkinliğin, manyetik alan uygulamasının 4. gününden itibaren giderek azalması ve 6. günde sham grubu değerlerine dönmesi ise opioid toleransı savını doğrular niteliktedir. Aynı şekilde Deks grubunda plazma β -endorfin düzeylerinin yüksek bulunması, Deksmetomidin'in etkisinde β -endorfinin önemli bir role sahip olduğunu göstermektedir. Flacke ve ark. (133) tekrarlayan Deks uygulamalarının tolerans benzeri bir tablo ortaya çıkardığını göstermişlerdir. Bu çalışma bizim Deksmetomidin'in opioidlerle ilişkisine dair bulgularımızı destekler niteliktedir.

Sonuç olarak, bu deliller ışığında çalışmamız; (1) SNAP'ın da diğer NO donörleri gibi spinal hiperaljeziyi tetiklediğini ve oluşan bu hiperaljezide substance P'nin önemli bir role sahip olduğunu, (2) Deksmetomidin'in i.p uygulamada zamana bağlı güçlü bir antinosiseptif etkisinin bulunduğunu ve bu etkide büyük ölçüde endojen opioidlerin rolü olduğunu, (3) Deksmetomidin'in SNAP tarafından oluşturulan hiperaljeziyi anlamlı şekilde azalttığını ve bu etkide substance P seviyelerini azaltmasının da etkisi olabileceğini, (4) manyetik alan uygulamasının zamana bağlı olarak antinosiseptif bir etkisinin bulunduğunu ve bu etkide substance P düzeylerinin azalması ile β -endorfin düzeylerinin artmasının önemli bir rol oynadığını, (5) SNAP enjeksiyonu ile oluşturulan hiperaljezinin manyetik alan uygulamasının 3. ve 4. günlerinde anlamlı şekilde azalırken, 4. günden sonra ortadan kalkması ise manyetik alan uygulamasının oluşturduğu analjezik etkiye tolerans geliştiğini, göstermektedir. Eğer uzun süreli manyetik alan uygulaması sırasında gelişen toleransın mekanizması aydınlatılabilir ve önlenebilirse, manyetik alan uygulaması ağrı tedavisinde alternatif bir seçenek olarak kullanılabilir.

6. KAYNAKLAR

1. Meller, S.T. , Gebhart, G.F. (1993). Nitric oxide (NO) and nociceptive processing in the spinal cord, *Pain* 52: 127–136.
2. Przewlocka, B., Machelska, H., Przewlocki, R. (1994). Involvement of the nitric oxide pathway in nociceptive processes in the central nervous system in rats, *Regulation of Peptide*. 1: 75–76.
3. Hao, J. X., Xu, X.J. (1996). Treatment of a chronic allodynia-like response in spinally injured rats: effects of systemically administered nitric oxide synthase inhibitors, *Pain*. 66: 313–319.
4. Haley, J. E. , Dickenson, A. H. , Schachter, M. (1992). Electrophysiological evidence for a role of nitric oxide in prolonged chemical nociception in the rat, *Neuropharmacology*. 31: 251–258.
5. Yonehara, N. , Takemura, M. , Yoshimura, M., Iwase, K., Seo, H.G. , Taniguchi, N. , Shigenaga, Y. (1997). Nitric oxide in the rat spinal cord in Freund's adjuvant- induced hyperalgesia, *Japanese Journal of Pharmacology*. 75 : 327–335.
6. Machelska, H., Labuz, D., Przewlocki, R., Przewlocka, B. (1997). Inhibition of nitric oxide synthase enhances antinociception mediated by mu delta and kappa opioid receptors in acute and prolonged pain in the rat spinal cord. *Journal of Pharmacology. Exp. Ther.* 282 : 977–984.
7. Roche A. K., Cook, M., Wilcox, G.L., Kajander, K.C.A. (1996). Nitric oxide synthesis inhibitor (L-NAME) reduces licking behavior and Fos labeling in the spinal cord of rats during formalin-induced inflammation , *Pain*. 66 : 221-341.
8. Meller, S.T., Gebhart, G.F. (1993). Nitric oxide (NO) and nociceptive processing in the spinal cord. *Pain*. 52: 127–136.
9. Lam, H. H., Hanley, D.F., Trapp, B.D., Saito, S., Raja, S., Dawson, T.M., Yamaguchi, H. (1996). Induction of spinal cord neuronal nitric oxide synthase (NOS) after formalin injection in the rat hind paw. *Neuroscience Letters*. 210: 201–204.

10. Meller, S.T., Pechman, P.S., Gebhart, G.F., Maves, T.J. (1996b) Nitric oxide mediates the thermal hyperalgesia produced in a model of neuropathic pain in the rat. *Neuroscience*. 50: 7-10.
11. Wang, J. F., Khasar, S. G., Ahlgren, S. C. and Levine, J. D. (1996). Sensitization of C-fibres by prostaglandin E2 in the rat is inhibited by guanosine 5'-O-(2-thiodiphosphate), 2',5'-dideoxyadenosine and Walsh inhibitor peptide. *Neuroscience*. 71: 259-263.
12. Duarte, I. D. G., Lorenzetti, B. B. and Ferreira, S. H. (1990). Peripheral analgesia and activation of the nitric oxide-cyclic GMP pathway *European Journal of Pharmacology*. 186: 289-293.
13. Ferreira, S. H., Duarte, I. D. G., Lorenzetti, B. B. (1991). The molecular mechanism of action of peripheral morphine analgesia: stimulation of the cGMP system via nitric oxide release. *European Journal of Pharmacology*. 201: 121-122.
14. Ferreira, S. H., Lorenzetti, B. B., Faccioli, L.H. (1992). Blockade of hyperalgesia and neurogenic oedema by topical application of nitroglycerin. *European Journal of Pharmacology*. 217: 207-209.
15. Leclaire, R., Bourgoignie, J. (1991). Electromagnetic treatment of shoulder peri-arthritis: A randomized controlled trial of the efficiency and tolerance of magnetotherapy. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*. 72: 284-287.
16. Rush, P. J., Shore, A. (1994). Physician perception of the value of physical modalities in the treatment of musculoskeletal disease. *British Journal of Rheumatology*. 33: 566-568.
17. Thomas, A. W., Kavaliers, M., Prato, F. S., Ossenkopp, K. P. (1997a). Antinociceptive effects of a pulsed magnetic field in the land snail, *Cepaea nemoralis*. *Neuroscience Letters*. 222:107-110.
18. G. Balcavage, W. X., Vesper, D. N., Swez, J. A., Wetzel, B. J., Chamberlain, J. K., Fox, M. T. (2000). Experiments showing that electromagnetic fields can be used to treat inflammatory diseases. *Biomed Science Instruments*. 36:7-13.
19. Papi, F., Luschi, P., Limonta, P. (1992). Orientation-disturbing magnetic treatment affects the pigeon opioid system. *Journal of Experimental Biology*. 166: 169-179.
20. Thomas, A. W., Kavaliers, M., Prato, F. S., Ossenkopp, K. P. (1992c). Pulsed magnetic field induced "analgesia" in the Land Snail, *Cepaea nemoralis*, and the effects of m, d, and k opioid receptor agonists/antagonists. *Peptides*. 18:703-709.

21. Kerr, F., Lippman, H. H. (1974). The spinothalamic tract as demonstrated by anterolateral cordotomy and commissural myelotomy in: Bonica JJ, ed. Advances in neurology. Vol 4. New York: Raven Press, 144-156.
22. Willis, W. D. (1984). The origin and destination of pathways involved in transmission. In Wall PD, Melzack, R, eds. Textbook of pain. New York: Churchill Livingstone, 88-89.
23. Willis, W. D. Jr. (1985). The pain system. The neural basis of nociceptive transmission in the mammalian nervous system. Pain Headache 1985;8:1-346.
24. Hylden, J. L., Hayashi, H., Bennett, G. J. (1986). Lamina I mesencephalic neurons in the cat ascend via the dorsolateral funiculi. Somatosens Res, 4(1): 31-41.
25. Dennis, S. G., Melzack, R. (1977). Pain signalling systems in the dorsal and ventral spinal cord. Pain. 4 (2): 97-132.
26. Noordenbos. W. (1959). Pain. Amsterdam: Elsevier.
27. Merskey, H. (1986). Classification of Chronic Pain. Descriptions of chronic pain syndromes and definitions. Pain (suppl). 3:345-356.
28. Yücel, A. (1997). Akut ağrı nörofizyolojisi. Hasta kontrollü analjezi (PCA). İstanbul: MER Matbaacılık ve Yayıncılık, 5-19
29. Morgan, G. E., Mikhail, M. G. (1996). Pain Management. In: Clinical Anesthesiology, second ed. New Jersey, Prentice – Hall International. Inc: 274-316
30. Merskey H. (1996). Classification and diagnosis of fibromyalgia. Pain Res Manage. 1:42-44.
31. Merskey, H. M., Bogduk, N. (1994). Classification of Chronic Pain second ed., Seattle: IASP. Press, 211-8.
32. Türkoğlu, M. (1993). Ağrının tanımlanması ve ölçümü. Ağrı ve tedavisi. Yegül (Ed) i. İzmir: Yapım matbaacılık, 19-99.
33. Raj, P. P. (2000). Ağrı taksonomisi, Erdine S (ed). Ağrı birinci baskı, İstanbul; Alemdar ofset, 12-20.
34. Hardy, J. D. Wolff, H.G., Goodel, H. (1952). Pain sensations and reactions. Baltimore: Williams&Wilkins.
35. La Motte, R. H., Campbell, J. N. (1978). Comparison of responses of warm and nociceptive C fiber afferents in monkey with human judgments of thermal pain. Journal of neurophysiology. 41:509-528.
36. Güzeldemir, M. E. (1999- 2000). GATA Anestezioloji A.D Ders notları.

37. Melzack, R., Wall, P. D. (1965) Pain mechanisms: A new theory *Science*. 150:971-979
38. Sackman, J. E. (1991). Pain: Its perception and alleviation in dogs and cats. *Compend Contin Educ. Pract. Vet.* , 11: 887- 897.
39. Yaksh, T. L., Hammond, D. L., (1982). Peripheral and central substrates in the rostral transmission of nociceptive information. *Pain*. 13:1-85.
40. Dubner, R., Bennett, G. J. (1983). Spinal and trigeminal mechanism of nociception. *Annual Review of Neuroscience*. 6:381-418
41. Willis, W. D. (1985) *The pain system: The neural basis of nociceptive transmission in the mammalian nervous system*. Basel:Karger.
42. Machelska, H., Cabot, P. J., Mousa, S. A. et al. (1998). Pain control in inflammation governed by selectins. *Nat Med*, 4:1425-1428.
43. De Camilli, P., Mirsky, R. (1997). Neuronal and glial cell biology. *Current opinion Neurobiology*. 7:595-597.
44. Cervero, F., Iggo, A., Ogawa, H. (1976). Nociceptor driven dorsal horn neurones in the lumbar spinal cord of the cat. *Pain*. 2 (1):5-24.
45. Dubner, R. (1992) Hyperalgesia and expanded receptive fields. *Pain*. 48 :3-4.
46. Willis, W. D., Westlund K. N. (1997). Neuroanatomy of the pain system and of the pathway that modulate pain *Journal of Clinical Neurophysiology*. 14 (1):2-31
47. Kerr, F., Lippman, H. H. (1974). The spinothalamic tract as demonstrated by anterolateral cordotomy and commissural myelotomy in: Bonica JJ, ed. *Advances in neurology*. Vol 4. New York: Raven Press, 144-156.
48. Willis, W. D. (1984). The origin and destination of pathways involved in transmission. In Wall PD, Melzack R, eds. *Textbook of pain*. New York: Churchill Livingstone. 88-89.
49. Willis, W. D., Jr. (1985) *The pain system. The neural basis of nociceptive transmission in the mammalian nervous system*. *Pain Headache*. 8:1-346.
50. Hylden J. L., Hayashi, H., Bennett, G. J. (1986). Lamina I mesencephalic neurons in the cat ascend via the dorsolateral funiculi. *Somatosensory Receptors*. 4(1): 31-41.
51. Dennis, S. G, Melzack, R. (1977) Pain signalling systems in the dorsal and ventral spinal cord. *Pain*. 4(2):97-132.
52. Noordenbos, W. (1959). *Pain*. Amsterdam:Elsevier,
53. D6-Penfield, W., Rasmussen, T. (1950). *The cerebral cortex of man*. New York: Mcmillan.

54. Whitsel, B. L., Petrucelli, L. M., Werner, G. (1985). Symmetry and connectivity in the map of the body surface in somatosensory area II of primates. *Journal of Neurophysiology*. 32: 170-183.
55. Melzack, R., Wall, P. D. (1965). Pain mechanisms: A new theory. *Science*. 150:971-979
56. Gebhart, G. F. (1986). Modulatory effects of descending systems on spinal dorsal horn neurons. In Yaksh TL, ed. *Spinal afferent processing*. New York: Plenum pres. 391-416.
57. Budai, D., Fields, H. L. (1998). Endogenous opioid peptides acting at mu-opioid receptors in the dorsal horn contribute to midbrain modulation of spinal nociceptive neurons. *Journal of Neurophysiology*. 79 (2) : 677-678.
58. Jensen, T. S., Yaksh, T. L. (1992). The antinociceptive activity of excitatory amino acids in the rat brain system: an anatomical and pharmacological analysis. *Brain Research*. 569(2):255-267.
59. Hammond, D. L. (1986). Control systems for nociceptive afferent processing: the descending inhibitor pathway. In Yaksh TL, ed. *Spinal afferent processing*. New York: Plenum Pres. 363-390.
60. Maione, S., Marabese, I., Leyva, J., et al. (1998). Characterization of m.Glu.Rs which modulate nociception in the PAG of the mouse. *Neuropharmacology*. 37(12):1475-483.
61. Vaughan, C. W., Christie, M. J. (1997). Presynaptic inhibitory action opioids on synaptic transmission in the rat periaqueductal grey in vitro. *Journal of Physiology*. 498 (Pt 2): 463- 472.
62. Tasker, R.R., Tsuda, T., Hawrylyshyn, P. (1983). Clinical neurophysiological investigation of deafferentation pain. In: Bonica JJ Lindblom, Iggo A, eds. *Advances in pain research and therapy*. New York:Raven Pres, 5: 713-738.
63. Cervero, F., Iggo, A., Ogawa, H. (1976). Nociceptor-driven dorsal horn neurones in the lumbar spinal cord of the cat., *Pain*.2 (1): 5-24.
64. Dubner, R. (1992) Hyperalgesia and expanded receptive fields. *Pain*. 48:3-4.
65. Michaelis, E.K. (1998). Molecular biology of glutamate receptors in the central nervous system and their role in excitotoxicity, oxidative stress and aging. *Neurobiology*. 54 (4): 369-415.
66. Ozawa, S., Kamiya, H., Tsuzuki, K. (1998). Glutamate receptors in the mammalian central nervous system. *Neurobiology*. 54(5):581-618.

67. Radhakrishnan, V., Henry, J. L. (1993). Excitatory amino acid receptor mediation of sensory inputs to functionally identified dorsal horn neurons in cat spinal cord. *Neuroscience*. 55 (2): 531- 544.
68. Woolf, C. J., Ma, Q. P., (1996). Allchorne A et al. Peripheral cell types contributing to the hyperalgesic action of nerve growth factor in inflammation. *Journal of Neuroscience*. 16: 2716- 2723
69. Mendell, L. M. (1966). Physiological properties of unmyelinated fiber projection to the spinal cord. *Experimental Neurology*. 16 (3): 316-332.
70. Woolf, C. J. (1983). Evidence for a central component of post-injury pain hypersensitivity. *Nature*. 306 (5944): 686-688.
71. Woolf, C. J. (1996). Windup and central sensitization are not equivalent (editorial). *Pain*. 66 (2-3): 105-108.
72. Bach, S., Noreng, M. F., Tjelliden, N. U. (1988). Phantom limb pain in amputees during the first 12 months following limb amputation, after preoperative lumbar epidural blockade. *Pain*. 33 (3): 297-301.
73. Woolf, C. J., Ma, Q. P., Allchorne A et al. (1996). Peripheral cell types contributing to the hyperalgesic action of nerve growth factor in inflammation. *Journal of Neuroscience*. 16:2716-2723.
74. Gren, P. G., Strausbaugh, H. J., Levine, J. D. (1998). Annexin I is a local mediator in neural-endocrine feedback control of inflammation. *Journal of Neurophysiology*. 80: 3120-3126.
75. Devor, M. (1996). Pain mechanisms and pain syndromes. In: Campbell JN, ed. *Pain updated review*. Seattle: IASP press, 103-112.
76. Dray, A. (1997). Peripheral mediators of pain. In: Dickenson A, Besson JM, eds. *The pharmacology of pain*. New York: Springer, 27-41.
77. Moncada, S., Palmer, R. M., Higgs, E. A. (1991). Nitric oxide: Physiology, pathophysiology pharmacology. *Pharmacology Review*. 43: 109-142
78. Ignarro, L. J., Cirino, G., Casini, A., Napoli, C. (1999). Nitric oxide as a signaling molecule in the vascular system: an overview. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 34:879-886.
79. Wass, C., Archer, T., Palsson, E., et al. (2006). Effects of phencyclidine on spatial learning and memory: Nitric oxide-dependent mechanisms. *Behavioural Brain Research* issue. 1:147-153.
80. Erdine, S. (2003).

80. Ağrı Mekanizmaları: Ağrı Sendromları ve Tedavisi 2. baskı. İstanbul: Gizben Matbaacılık, 33-42.
81. Aley, K. O., Mc Carter, G., Levine, D. J. (1998). Nitric Oxide Signaling in Pain and Nociceptor Sensitization in the Rat. *Journal of Neuroscience*. 18: 7008-14.
82. Putinas, J., Michaelson, S. M. (1989). Humoral responsiveness of mice exposed to a 500 mT, 60 Hz magnetic field. *Bioelectromagnetics*. Vol.15 p :20-24.
83. Dacha, M., Accorsi, A., et al. Studies on the possible biological effects of 50 Hz. Electric and magnetic fields: Evaluation of some glycolytic enzymes, glycolytic flux, energy and oxide-reductive potentials in human erythrocytes exposed in vitro to power frequency fields.
84. Dutta, S. K., Ghosh, B., Blackman, C. F. (1989). Radiofrequency radiation-induced calcium ion efflux enhancement from human and other neuroblastoma cells in culture. *Bioelectromagnetics*. Vol. 10: p. 197-202
85. Gordon, E. M., Sharpe, P. T., et al. (1987). Normalizing the thermal effects of radiofrequency radiation. Body mass versus total body surface area. *Bioelectromagnetics* Vol. 8: p. 111-118.
86. Rusovan, A., Kanje, M. (1991). Stimulation of regeneration of the rat static nerve by 50 Hz sinusoidal magnetic fields. *Experimental Neurology* Vol. 112 : p. 312-316.
87. Sahlin, K., Edström L. et al. (1981). Effects of lactic acid accumulation and ATP decrease on muscle tension and relaxation. *American Journal of Physiology* Vol. 240: p. C121- C126
88. Lawlis G. F., Selby D., Hinnant D., McCoy C. E. (1985). Reduction of postoperative pain parameters by presurgical relaxation instructions for spinal pain patients. *Spine*. 10: 649.
89. Eisenach J. C., Shafer S. L., Bucklin B. A., Jackson C., Kallio A. (1994). Pharmacokinetics and pharmacodynamics of intraspinal dexmedetomidine in sheep. *Anesthesiology*. 80: 1349- 59.
90. Pertovaara A., Kauppila T. (1990). The effect of medetomidine, an alpha-2 adrenoceptor agonist, in various pain tests. *European Journal of Pharmacology*. 179: 108- 14.
91. Bhana N., Goa K. L., McClellan K. J. (2000). *Dexmedetomidine* Drugs, 59: 263-8
92. Mendell L. M. (1966). Physiological properties of unmyelinated fiber projection to the spinal cord. *Experimental Neurology*. 16(3): 316- 332.

93. Ely T. (2003). Conotoxins reveal significant psychopharmacological effectiveness: the future of pain management. *Journal of Psychology and Behavioural Sciences*.
94. Herdegen, T., Rudiger, S., Mayer, B., Bravo, R. And Zimmermann, M. (1994). Expression of Nitric Oxide Synthase and Colocalisation with Jun, Fos and Krox Transcription Factors in Spinal Cord Neurons Following Noxious Stimulation of the Rat Hindpaw. *Molecular Brain Research*, 22: 245 – 258
95. Verge, V. M. K., Xu, Z., Xu, X-J., Wiesenfelt-Hallin, Z., Hokfelt, T. (1992). Marked increase in nitric oxide synthase mRNA in dorsal root ganglia after peripheral axotomy: in situ hybridization and functional studies. *Proceeding of the National Academy of Sciences. USA*; 89: 11617-11621
96. Ferreira, S. H., Duarte, I. D. G. and Lorenzetti, B. B. (1991). The Molecular Mechanism of Action of Peripheral Morphine Analgesia: Stimulation of the cGMP System via Nitric Oxide Release. *European Journal of Pharmacology*. 201: 121 – 122.
97. Machelska, H., Labuz, D., Przewlocki, R. and Przewlocka, B. (1997). Inhibition of Nitric Oxide Synthase Enhances Antinociception Mediated by *Mu*, *Delta* and *Kappa* Opioid Receptors in Acute and Prolonged Pain in the Rat Spinal Cord. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 282: 977 –984.
98. Meller, S. T., Gebhart, G. F., (1993). Nitric oxide (NO) and nociceptive processing in the spinal cord. *Pain*. 52, 127–136.
- 99 .Lam, H. H., Hanley, D. F., Trapp, B. D., Saito, S., Raja, S., Dawson, T. M., Yamaguchi, H., (1996). Induction of spinal cord neuronal nitric oxide synthase(nNOS) after formalin injection in the rat hind paw. *Neuroscience Letters*. 210, 201–204.
100. Meller, S. T., Pechman, P. S., Gebhart, G. F., Maves, T. J., (1992). Nitric oxide mediates the thermal hyperalgesia produced in a model of neuropathic pain in the rat. *Neuroscience*. 50, 7-10.
101. Daniel, R. G., Ignacio, C., Fernandez, Pablo P., Ordenes, Adriana V., Treuer, E., Mauricio, P. B. (2008) Differential role of S-nitrosylation and the NO–cGMP–PKG pathway in cardiac contractility. *Nitric Oxide*. 18: 3, 157-167
102. Tong, X., Ying, J., Pimentel, D. R., Trucillo, M., Adachi, T., Cohen, R. A. (2008) High glucose oxidizes SERCA cysteine-674 and prevents inhibition by nitric oxide of smooth muscle cell migration. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 44; 2, 361-369
103. Kuang, H., Huai-Ren, C., Cheng-Tao, H., Hsing, I. C. (2008) Effects of nitric oxide donor and nitric oxide synthase inhibitor on the resistance, exchange and

- capacitance functions of the canine intestinal vasculature. *Vascular Pharmacology*, 48, 122–128
104. Chen, G. G., Lee, T. W., Xu, H., Yip, J. H., Li, M., Mok, T. S., Yim, A.P. (2008). Increased inducible nitric oxide synthase in lung carcinoma of smokers. *Cancer*. 112: 372–81.
105. Cunha, F. Q., Teixeira, M. M., Ferreira, S. H. (1999). Pharmacological modulation of secondary mediator systems--cyclic AMP and cyclic GMP--on inflammatory hyperalgesia. *British Journal of Pharmacology*. 127 (3): 671-8
106. Yaksh T. L, Howe J. R, and Harty G. J (1984) Pharmacology of spinal pain modulatory systems. *Adv Pain Res Ther*. 7:57–70.
107. Kalso, E. A., Sullivan, A. F., Mcquay, H. J., Dickenson, A. H. and Roques, B. P. (1993). Cross-tolerance between *mu* opioid and *alpha-2* adrenergic receptors, but not between *mu* and *delta* opioid receptors in the spinal cord of the rat. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 265: 551–558
108. Murata, K., Nakagawa, I., Kumeta, Y., Kitahata, L. M. and Collins, J. G. (1989). Intrathecal clonidine suppresses noxiously evoked activity of spinal wide dynamic range neurons in cats. *Anesthesia and analgesia*. 69: 185–191
109. Ebert, T. J., Hall, J. E., Barney, J. A., et al. (2000). The effects of increasing plasma concentrations of dexmedetomidine in humans. *Anesthesiology*. 93: 382–94
110. Hall, JE., Uhrich, TD., Barney, JA., Arain, SR., Ebert, TJ. (2000) Sedative, amnestic, and analgesic properties of small-dose dexmedetomidine infusions. *Anesthesia and analgesia*. 90: 699–705
111. Persinger, M. A., Richards, P. M., Koren, S. A., (1997). Differential entrainment of electroencephalographic activity by weak complex electromagnetic fields, *Perceptual and Motor Skills*. 84; 527-536.
112. Sartucci, F., Bonfiglio, L., Del Seppia, C., Luschi, P., Ghione, S., Murri, L. and Papi, F. (1997). Changes in pain perception and pain-related somatosensory evoked potentials in humans produced by exposure to oscillating magnetic field, *Brain Research*. 769: 362-366
113. Ghione, S., Del Seppia, C., Mezzasalma, L., Emdin, M., Luschi, P. (2004). Human head exposure to a 37 Hz electromagnetic field: effects on blood pressure, somatosensory perception, and related parameters, *Bioelectromagnetics*. 25 167–175.

114. Del Seppia, C., Mezzasalma, L., Choleris, E., Luschi, P., Ghione, S. (2003). Effects of magnetic field exposure on open field behaviour and nociceptive responses in mice. *Behavioural Brain Research*. 144 1–9.
115. Choleris, E., Del Seppia, C., Thomas, A.W., Luschi, P., Ghione, S., Moran, G.R., Prato, F.S. (2002). Shielding, but not zeroing of the ambient magnetic field reduces stress-induced analgesia in mice, *Proceedings of the Royal Society of London, Series B*. 269: 193–201
116. Rush, P. J., Shore A. (1994). Physician perception of the value of physical modalities in the treatment of musculoskeletal disease. *British Journal of Rheumatology*. 33: 566-568
117. Balcavage, W. X., Vesper, D. N., Swez, J. A., Wetzel, B. J., Chamberlain, J. K., Fox M. T. (2000). Experiments showing that electromagnetic fields can be used to treat inflammatory diseases. *Biomed Sci Instrum*. 36: 7–13.
118. Papi, F., Luschi, P., Limonta, P. (1992). Orientation-disturbing magnetic treatment affects the pigeon opioid system. *Journal of Experimental Biology*. 166: 169–179.
119. Thomas, A.W., Kavaliers, M., Prato, F.S., Ossenkopp, K.P. (1997). Pulsed magnetic field induced “analgesia” in the Land Snail, *Cepaea nemoralis*, and the effects of m,d, and k opioidreceptor agonists/antagonists. *Peptides*. 18: 703–709
120. Evre 2 Subakromial Sıkışma Sendromunda Manyetik Alan Tedavisinin Etkinliği Mustafa Yelkovan, Nurten Eskiuyurt, Ahmet Öncel, Ayşegül Çakmak, İstanbul Üni. , İstanbul tıp fakültesi, Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon, Anabilim Dalı, Çapa, İstanbul
121. Randic, M., Miletic, V. (1977). Effect of substance P in cat dorsal horn neurones activated by noxious stimuli. *Brain Research*. 128:164-169
122. Yaksh, T.L., Farb, D.H., Leeman, S.E. (1979). Intrathecal capsaicin depletes substance P in the rat spinal cord and produces prolonged thermal analgesia. *Science*, 206: 481- 483
123. Brimijoin, S., Lundberg, J. M., Brodin, E. (1980). Axonal transport of substance P in the vagus and sciatic nerves of the guinea pig. *Brain Research*, 191:443-457
124. Iversen L. L., (1982). Substance P. *British Medical Bulletin*. 38: 277-282.
125. Collin, E.; Frechilla, D.; Pohl, M.; Bourgoin, S.; Mauborgne, A.; Cesselin, F. (1994). Differential effects of the novel analgesic S12813-4, on the spinal release of substances P and calcitonin gene-related peptidelike materials in the rat. *Naunyn-Schmiedeberg Arch. Pharmacol*. 349: 387–393;

126. Xiuqi Bao, Yijun Shi, Xiaolin Huo, Tao Song (2006). *Bioelectromagnetics*. 27:467-472
127. Millan, M. J., Przewlocki, R., Jerlicz, M. H., Gramsch, C., Herz A. (1981). Stress-induced release of brain and pituitary P-endorphin: Major role of endorphins in generation of hyperthermia not analgesia. *Brain Research*. 208: 325-338. .
128. Millan, M. J., Millan, M. H., Czkonkowski, A., Pilcher, C. W. T., Hüllt, V., Colpaert, F. C., Herz A. (1986a). A model of chronic pain in the rat: Response of multiple opioid systems to adjuvant-induced arthritis. *The Journal of Neuroscience*.6: 899-906.
129. Millan, M. J., Millan, M. H., Czkonkowski, A., Pilcher, C. W. T., Hüllt, V., Colpaert, F. C., Herz A. (1986b). Functional response of multiple opioid systems to chronic arthritic pain in the rat. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 467: 182-193.
130. Terman, G. W., Shavit, Y., Lewis, J.-W., Cannon, J.-T., Liebeskind J. T. (1984). Intrinsic mechanisms of pain inhibition: Activation by stress. *Science*. 226: 1270-1272.
131. Millan, M. J., Millan M. H., Pilcher T., CzJonkowski A., Herz A., Colpaett F. C. (1985). Spinal cord dynorphin may modulate nociception via a K-opioid receptor in chronic arthritic rats. *Brain Research*. 340: 156-159
132. Kameyama, T., Nabeshima T., Matsumo K, and Suzuki M. (1984). Different changes induced by electric footshock of opioid agonist and antagonist receptors in rat brain. *Neuroscience Letters*, 49: 307-312
133. Flacke, J. W.; Flacke, W. E. (1993). The use of α_2 -adrenergic agonists during general anaesthesia. *Anaesth. Pharmacol. Rev.* 1:268 –283.

