

TC.
CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı

**NÖROPATİK AĞRI MODELİNDE RATLARDA PREGABALİN VE
PHEYNL-N-T-BUTYL NİTRONE' UN ANALJEZİK ETKİLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ
Dr. İlkay ARAS

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Emin Alp YENTÜR

MANİSA 2010

ÖNSÖZ

Tez hocam Prof. Dr. Alp YENTÜR'e yardımları için çok teşekkür ederim.

Dr. İlkey ARAS

İÇİNDEKİLER

I. GİRİŞ	1
II. GENEL BİLGİLER	3
III. GEREÇ VE YÖNTEM.....	28
IV. BULGULAR.....	34
V. TARTIŞMA	49
VI. SONUÇ	54
VII. ÖZET.....	55
VIII. SUMMARY	57
IX. KAYNAKLAR.....	59

I.GİRİŞ

Uluslararası Ağrı Çalışma Derneği (International Association for the Study of Pain, IASP)' ne göre ağrı, "gerçek veya potansiyel doku hasarıyla ilişkili, duyuşsal ve emosyonel hoş olmayan subjektif bir deneyimdir" (1).

Nöropatik ağrı; periferik veya santral sinir sisteminin primer bir lezyon veya disfonksiyonu sonucu ortaya çıkan ağrı olarak tanımlanır (1). İyi tedavi edilmeyen nöropatik ağrı duygu durum ve uyku bozukluklarına yol açmakta, hastaların iş ve sosyal hayatlarında engellere neden olmakta ve hayat kalitesini düşürmektedir. Bu nedenle toplum sağlığı açısından önemi giderek artmaktadır(2).

Nöropatik kaynaklı ağrının tedavisi oldukça zordur. Patofizyolojiyi daha iyi anlamak ve yeterli bir tedavi sağlamak için günümüzde çeşitli hayvan modelleri ile çalışmalar yapılmaktadır. Bu modeller ile yapılan araştırmalar yeni tedavi seçeneklerini gündeme getirmiştir.

Oksidatif stres; alzheimer, iskemi, multiple skleroz, epilepsi, spinal kord hasarı gibi nörolojik hastalıklarda ve ağrıda önemli rol oynar (3). Yakın zamanda yapılan çalışmalar reaktif oksijen moleküllerinin (ROS), genelde spinal mekanizma boyunca, nöropatik ağrıda önemli rol oynadığını göstermektedir (4).

Pheynl-N-t-butyl nitron (PBN) oksijen radikallerini indükleyerek daha az reaktif hale getirir, bu da farmakolojik etkinin temeli olarak gösterilmektedir. Buna rağmen bu bilgi için çok fazla güçlü delil bulunmamaktadır.

Bir GABA analogu olan pregabalinin nöropatik ağrıda etkinliği çok sayıda kontrollü çalışmada kanıtlanmıştır. Gabapentine benzer fakat

tolerabilitesi ve etkinliği daha yüksek bir molekdr. Gabapentin ile karşılaştırıldığında önemli farkları; lineer farmakokinetiği (verildiği dozla doğrusal orantıda kana geçiş), yüksek biyoyararlanımı (verilen dozun % 90'dan fazlası kana geçmekte) ve daha uzun yarı ömrüdür (5).

Bu çalışmada, nöropatik ağrı gelişiminde serbest oksijen radikallerinin rolü ile PBN' nin bunu engellemesindeki etkisi ve PBN ile pregabalinin nöropatik ağrı tedavisindeki yerleri araştırılmıştır.

II. GENEL BİLGİLER

IASP' ye göre ağrı, “gerçek veya potansiyel doku hasarıyla ilişkili, duyusal ve emosyonel hoş olmayan oldukça subjektif bir deneyimdir”. Bu tanımlamada ağrının subjektif, emosyonel ve psikolojik yönlerinin bir araya getirildiği belirgindir. Bu nedenlerle ağrılı uyarana karşı yanıt kişiden kişiye değişmekte, hatta aynı kişide bile farklı olabilmektedir (1).

II.1. AĞRI SINIFLAMASI

II.1.1. Süreye Göre Sınıflama

II.1.1.1. 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. Beraberinde otonom sinir sistemi aktivasyonuna bağlı olarak taşikardi, hipertansiyon gibi bulgular gözlenebilir. Nedenleri arasında, travma, enfeksiyon, doku hipoksisi ve enflamasyon sayılabilir. Postoperatif akut ağrı en iyi örnektir.

II.1.1.2.Kronik Ağrı

Akut bir hastalık tablosundan veya makul bir iyileşme sürecinden sonra ağrının devam etmesiyle kronik ağrı meydana gelmektedir. Bu süreç 1 -6 ay arasında değişmektedir. Kronik ağrı nosiseptif, nöropatik veya her ikisi birden olabilir. Kronik ağrılı çoğu hastada, akut ağrıdaki kadar otonomik yanıtlar yoktur. Ancak uyku düzensizliği ve affektif bozukluklar çarpıcıdır. Çok karşılaşılan kronik ağrı çeşitleri kas iskelet sistemi bozuklukları, kronik viseral hastalıklar, periferik sinir, sinir kökleri veya arka kök ganglion lezyonları

(kozalji, fantom ekstremite ağrısı, postherpetik nevralsi), SSS lezyonları (inme, spinal kord hasarı, multipl skleroz) ve kanser gibi durumlarda görölmektedir (1).

II.1.2. Kaynaklandığı Bölgeye Göre Ağrı Sınıflaması

II.1.2.1. Somatik Ağrı

Yüzeyel ve derin olarak sınıflanabilir. Yüzeyel somatik ağrı cilt, ciltaltı dokuları ve müköz membranlardan gelen uyarılarla gelişir. Çok iyi lokalize edilir ve keskin, batıcı, zonklayıcı veya yanıcı özelliktedir. Derin somatik ağrı ise kaslardan, tendonlardan, eklemlerden veya kemiklerden kaynaklanmaktadır. Künt ve sızlayıcıdır, iyi lokalize edilemez (1,6).

II.1.2.2. Viseral Ağrı

İç organlardan kalkan ağrılı uyarılar, otonom sisteme ait afferent yollarla taşınırlar. Kolon, rektum ve mesaneden kalkan uyarılar sakral parasempatik sinirlerle medulla spinalise taşınır. Farenks, trakea ve özofagusun üst kısmından kalkan uyarılar, glossofaringeus ve vagus sinirleri ile, geri kalan bütün organlardan kalkan uyarılar sempatik sinirlerle medulla spinalise taşınırlar. Kimyasal iritanlar, organların ani gerilmesi, aşırı kasılmalar ve kan akımının azalması nedenler arasında sayılabilir. Viseral ağrı yaygın, lokalizasyonu güç, yansıyan tipte olabilir. Kan basıncı ve nabız sayısında değişme, kas rijiditesi ve hiperestezi ile birlikte.

II.1.2.3. Sempatik Ağrı

Sempatik sinir sistemi aktivasyonu ile ortaya çıkan sempatik ağrıya damarsal kökenli ağrılar, refleks sempatik distrofi örnek verilebilir. Bu ağrılar yanma tarzındadır. Hasta ağrıyan bölgede soğukluk ve üşümeden yakınır. Zamanla distrofik değişiklikler gelişebilir (1,6).

II.1.3.Mekanizmalara Göre Ağrı Sınıflaması

II.1.3.1. Deafferantasyon Ağrısı

Periferik ya da merkezi sinir sistemindeki lezyonlara bağlı duysal uyarıların merkezi sinir sistemine iletimini kesilmesi ile ortaya çıkan ağrılardır(1).

II.1.3.2. Reaktif Ağrı

Motor ya da sempatik afferentlerin refleks aktivasyonu sonucu nosiseptörlerin uyarılmasına bağlı olarak ortaya çıkar. Bu tip ağrılara miyofasyal ağrılar örnek gösterilebilir (7).

II.1.3.3. Psikosomatik Ağrı

Anksiyete ve depresyon gibi psikolojik sorunlarda doku hasarı varmış gibi algılama olmaktadır.

II.1.3.4. Nosiseptif Ağrı

Ağrılı uyarıya verilen uygun fizyolojik cevap olarak tanımlanabilir. Doku hasarına fizyolojik bir yanıt olarak duyulan ağrıdır. Hasarlı doku ve çevre dokuda ağrı ve duyarlılık ortaya çıkar ve ağrı, iyileşme süreci ile birlikte, tedricen azalarak kaybolur. Hasarlı doku çevresinde lokalize olan periferik nosiseptörlerin normal aktivasyonundan meydana gelir, normal fonksiyonlu sensorinöral yollar aracılığı ile santral sinir sistemine taşınır. Genellikle nosiseptif ağrının, tahmin edilen doku hasarı ile orantılı olduğuna inanılır. Fizyopatolojik olayların, ağrı algılayıcıları olan nosiseptörleri uyarmasına bağlı olarak ortaya çıkar. Bu tip ağrılara somatik ve visseral ağrılar örnek gösterilebilir (8,9).

II.1.3.5. Nöropatik Ağrı

Nöropatik ağrı; periferik veya santral sinir sisteminin primer bir lezyon veya disfonksiyonu sonucu ortaya çıkan ağrı olarak tanımlanır. Sinir

sisteminin disfonksiyonu veya primer lezyonu sonucu, inflamatuvar ağrının aksine genellikle sinir hasarından uzunca bir süre sonra ortaya çıkar. Fizyolojik ağrıya karşın, nöropatik ağrı eksternal uyaran olmaksızın ve/veya normalde zararsız bir uyaran karşısında artmış spontan ağrı ile karakterizedir. Somatosensoryel sistemin anormal uyarılması söz konusudur. Nöropatik ağrı normal nosiseptif yollardan geçer ve çoğunlukla direkt doku hasarı yolu ile başlatılır (1,7).

II.2. NÖROPATİK AĞRI

Nöropatik ağrı, Uluslararası Ağrı Çalışmaları Birliği (International Association for the Study of Pain) tarafından sinir sistemindeki birincil bir lezyonun ya da işlev bozukluğunun başlattığı ya da yol açtığı ağrı” olarak tanımlanmıştır (10,11). Nöropatik ağrı sendromları heterojendir, tek bir etyoloji veya özel bir anatomik lezyonla açıklanamazlar. Nosiseptif ağrı, periferik nosiseptörlerin aktivasyonu sonucu gelişen ve ağrılı stimulusa karşı korunma mekanizması oluşturan bir alarm sistemidir.

Nöropatik ağrı, sağlıklı normal primer afferentlerin uyarılmasıyla ortaya çıkan, organizmayı tehdit eden tehlikeleri haber vererek onu korumaya yönelik nosiseptif ağrıdan farklıdır ve bir nöral disfonksiyon bulgusudur.

İyi tedavi edilmeyen nöropatik ağrı duygu durum ve uyku bozukluklarına yol açmakta, hastaların iş ve sosyal hayatlarında engellere neden olmakta ve hayat kalitesini düşürmektedir. Bu nedenle toplum sağlığı açısından önemi giderek artmaktadır (2).

II.2.1.Nöropatik Ağrı Semptomları

Ağrı dışındaki semptomlar arasında tanıdaki önemi nedeniyle allodini ve hiperaljezi aranmalıdır. Allodini ağrısız uyaranlara verilen ağrı cevabıdır. Aynı şekilde nahoş duyu algılanması ise dizestezi olarak tanımlanır. Allodini mekanik ve termal uyaranlarla ortaya çıkar. Mekanik uyaranlar sonucu gelişen allodiniden A beta lifleri veya yüksek eşikli mekanoreseptörler (HTM)

sorumludur. Allodininin gelişmesinde santral sensitizasyon gereklidir. Hiperaleji ise periferik reseptörlerin sensitizasyonuna bağılı olup ağırlı uyarana verilen cevabın artışıdır ve lezyon bölgesinde gelişir. Hiperalejinin aynı bölgede daha geniş alanlara yayılması ile tanımlanan sekonder hiperaleji gene santral sensitizasyon sonucudur. Diğer semptomlardan hiperpati allodini ve hiperalejinin bir varyantıdır. Hiperpati deriden gelen ani ve patlayıcı bir ağırlı cevabıdır. Lezyon bölgesindeki deride ağırlı uyarımına karşı artmış bir duyusal eşik vardır ve uyarımın şiddeti bu eşiği geçince ortaya çıkar. Hiperpati periferik ve santral deafferentasyon bulgusudur ve nöropatik ağırlıda sinir lifi kaybı varsa görülür (11). Nöropatik ağırlı semptomları arasında refere (yansıyan) ağırlı ve anormal ağırlı yayılımı vardır. Normalde ağırlının şiddeti, süresi ve yayılım alanı arasında bir bağlantı vardır ve derin ağırlıda şiddetin artışı ile deride yansıma görülür. Buna karşın travmatik sinir yaralanmasında ağırlı her hangi bir innervasyon alanına veya dermatoma bağımlılık göstermez. Bu tür ağırlı yayılımı medulla spinaliste ağırlı uyarıları kodlayan dorsal boynuz hücrelerinde değışimlere bağılıdır. Bu hücreler dış laminalarda bulunurlar ve ağırlı inputun devamıyla bunların reseptif alanları genişler, uyarılma eşikleri düşer. "Wide Dynamic Range" (WDR) nöronlar ise derin laminalarda bulunurlar ve ağırlı, ağırsız stimuluslarla uyarılabilirler. Ağırlı stimulusun devamı ile bunların orta kısmında bulunan ve ağırlı uyarılara cevap veren alanlar genişlediği gibi bunlar birbiri üzerine yayılırlar. Bu şekilde bir ağırlı uyarın birkaç WDR nöronu aktive ettiği gibi stimulus şiddeti arttıkça daha fazla WDR nöron aktive olur ve ağırlının yayılımı görülür (12,13).

II.2.2. Nöropatik Ağırlı Epidemiyolojisi

Ülkemizde nöropatik ağırlı insidansı ile ilgili yeterli veri olmamakla birlikte, batı toplumlarında yapılan çalışmalarda insidans %2-3 olarak bildirilmektedir (14). Kronik ağırlı olgularda ise insidansın %25'lere kadar çıkabildiği bilinmektedir. Toplumda bu kadar sık görülmesine rağmen, etyolojide rol oynayan nedenlerin çeşitliliği, bu hastalıkların diğer semptomları

ile tablonun karışması, bazen de noziseptif ağrılı durumlara eşlik etmesi nedeni ile nöropatik ağrı tanısı sıklıkla atlanabilmektedir. Nöropatik ağrılı hastalarda kronik ağrının yanı sıra uyku bozuklukları, depresyon ve duygu durum bozuklukları ile sağlıkla ilgili yaşam kalitesinde azalma sıklıkla karşılaşılan diğer problemlerdir. Hepsi birlikte, hastanın günlük iş ve ev yaşantısındaki performansını olumsuz etkilemekte olup genel yaşam kalitesini ciddi düzeyde bozmaktadır.

II.2.3. Nöropatik Ağrı Nedenleri

Periferik sinir hastalıkları nöropatik ağrının en sık nedenidir. Nöropatik ağrı birçok jeneralize, simetrik polinöropatinin belirgin özelliklerinden biridir. Birçok hastada tüm araştırmalara rağmen, özellikle küçük liflerin başlıca tutulduğu durumlarda, polinöropatinin nedeni anlaşılabilir ve idiyopatik veya kriptojenik duysal polinöropati tanısı konur. Ancak saptanabilen ağrılı polinöropatiler içindeki en sık nedendir (15). Nöropatik ağrı idiyopatik polinöropatilerin % 65-80'inde, diabet ve AIDS hastalarının üçte birine yakın oranda görülür, fakat paraprotein ilişkili nöropatilerde nadirdir. Nöropatik ağrının diğer sık görülen nedenleri tablo 1' de gösterilmiştir.

Tablo 1: Nöropatik Ağrı Nedenleri (15)

Periferik nöropatik ağrı nedenleri	Santral nöropatik ağrı nedenleri
Akut inflamatuvar demiyelinizan PNP	Spinal stenoza bağlı kompresif miyelopati
Kronik inflamatuvar demiyelinizan PNP	HIV miyelopatisi
Alkolik PNP	Multiple skleroz ile ilişkili ağrı
Kemoterapiye bağlı PNP	Parkinson hastalığı ile ilişkili ağrı
Kompleks bölgesel ağrı sendromu	Postiskemik miyelopati
Tuzak nöropatileri	Postradyasyon miyelopatisi
HIV duysal nöropati	Poststrok ağrı
İyatrojenik nöraljiler	Posttravmatik omurilik hasarı ağrısı
İdyopatik duysal nöropati	Sirengomiyeli
Tümörün sinire bası veya infiltrasyonu	
Beslenme yetersizliğine bağlı nöropatiler	
Ağrılı diyabetik nöropati	
Fantom ekstremitte ağrısı	
Postherpetik nöralji	
Postradyasyon pleksopatisi	
Radikülopati	
Toksik nedenli nöropatiler	
Trigeminal nöralji	
Posttravmatik nöraljiler	

II.2.4. Nöropatik Ağrı Mekanizmaları

Nöropatik ağrının patofizyolojisi karmaşıktır ve henüz tam olarak anlaşılammıştır. Nöropatik ağrının olası nedenleri, periferik sensitizasyon, ektopik deşarjlar, santral sensitizasyon, inhibitör kontrollerin kaybıdır.

II.2.4.1. Periferik Sensitizasyon

Periferik siniri etkileyen hastalıklar demiyelinizasyon ve/veya aksonal kayıp şeklinde histolojik değişikliklere yol açar. İnflamatuvar sürecin bir parçası olarak demiyelinizasyon ve aksonal hasar bölgelerine makrofaj, lenfosit ve mast hücreleri gibi çeşitli immün sistem hücreleri göç eder. Nosiseptif uyarının kendisi de nörojenik bir inflamasyon cevabı oluşturarak; P maddesi, nörokinin A, Calcitonin Gene Related Peptid (CGRP), bradikinin, noradrenalin, histamin salgılanmasına yol açar. Bu peptidlerin salgılanması sensoriyal ve sempatik sinir liflerinde uyarılmada değişikliğe, damarlarda genişlemeye, plazma proteinlerinin ekstravazasyonuna ve inflamatuvar hücrelerin çeşitli kimyasal mediyatörler salgılanmasına yol açar. Bu şekilde serotonin, P maddesi, nitrik oksit, siklooksijenaz ve lipooksijenaz yollarındaki inflamatuvar mediyatörlerin salgılanması ile nosiseptörler uyarılır ve periferik sensitizasyonu meydana getirirler. Periferik sinir zedelenmesi sinir büyüme faktörünün perifere gidişini engelleyerek dorsal kök gangliyondaki duyusal nöronları etkileyerek sodyum kanallarının ekspresyonunu etkiler. Sodyum kanal ekspresyonundaki artışa bağlı olarak ortaya çıkan ektojik aktivite, sensoriyal nöronlar ve sempatik efferent lifler periostal nosiseptörlerin etkilenmesi ile nosiseptif, spinal sinir ve köklere bası ile nöropatik ağrı gelişebilir (16,17,18,19). Bu nedenle nöropatik ağrı tedavisinde sodyum kanal blokörleri (karbamazepin, trisiklik antidepresanlar) önemli fayda sağlarlar (19,20).

II.2.4.2. Ektojik Deşarj

Sinir hasarı sonrası ortaya çıkan demiyelinizasyon nedeniyle sinir lifi boyunca ektojik uyarılar yayılmaya başlar. Bu ektojik deşarjlar hasar sonrası çok uzun süre (aylar, yıllar) sürebilir. Hasar bölgesinde nöroma oluşur ve bu da ektojik deşarjlara neden olur. Anterograd aksoplazmik transport ile hücre içerikleri nöromada birikir ve böylece bu bölgede reseptör sayısında ve kimyasal mediyatör miktarında artış olur. Bu bölgede sodyum iyon kanalları ve alfa adreno reseptörler mevcuttur.

Nöromaya bağıli ektopik aktivite artışında sodyum kanal akümülyasyonunun rolü olduğu gösterilmiştir. Sensitize nöronlar periferel sensitizasyon ile zararsız uyarılar ağrı oluşturabilmekte ve ağrılı uyarı ile gelişen ağrıda artmaktadır (21).

II.2.4.3. Santral Sensitizasyon

Periferik sinir yaralanması sonucu medulla spinalise devamlı akan input nöroplastik reorganizasyona yol açar. Substans P (SP), glutamat, CT-gene related peptide (CGRP), gama amino butirik asit (GABA) ve nörokinin A gibi nörotransmitterlerin salgılanması santral sensitizasyon ve disinhibisyonda temel basamaktır. Bu transmitterler primer afferent liflerin dorsal boynuz sonlanmalarında pre-post sinaptik etki gösterirler. Sensitizasyon kaskadı primer afferent input sonucu presinaptik SP, glutamat ve CGRP salgılanmasıyla başlar. Post sinaptik membranda glutamat AMPA reseptörlerine, SP nörokinin reseptörlerine bağlanır ve intrasellüler Ca iyonları salınımı başlar. Normalde istirahat potansiyelinde Mg iyonları ile tıklalı bulunan NMDA reseptörü iyon kanalı Mg tıkacının kalkışı ve NMDA reseptör aktivasyonu ile ağılarak hücre içine Ca girmeye başlar. Ca iyonları ikincil mesajlar yolu ile proteinkinaz C, fosfolipaz C, nitrik oksit (NO) sentetaz aktivasyonu ve erken gen indüksiyonuna yol açar. Proteinkinaz C NMDA reseptörünü fosforilize ederek Mg blokajını devamlı kaldırır, NO presinaptik membrana geri dönerek diğer reseptörleri sensitize eder. Aynı zamanda nosiseptif afferentlerin uzun süren aktivasyonu sonucu gelişen hücre ölümlünden sorumludur. Artan fosfolipaz C, prostoglandin (PG)'lerin artışına yol açar ve PG'ler komşu nöronlarda eksitabilite artışı, reseptif alanların genişlemesi, sekonder hiperaljezinin oluşması gibi olaylara yardım ederler. Erken onkogenlerden proto-onkogen, c-fos ve c-jun sensitizasyonunun devamından sorumludurlar (13,17,22).

II.2.4.4. İnhibitör Kontrollerin Kaybı

Nöropatik ağrı oluşumunda korteksten spinal korda inen inhibitör kontrollerin kaybı önemli yer tutar. Desenden yollar ile nosiseptif iletimi ayarlayan ana merkezler; somatosensoryel korteks, talamus, hipotalamus, orta beyinde periakuaduktal gri madde, medullada raphe magnus çekirdeği ve spinal kord arka boynuzdaki ara bağlantılardır. Beyin sapından medulla spinalise inen çok önemli iki tane inhibitör yol bulunur. Bunlar, mesensefalonda periakuaduktal gri bölgeden başlayıp majör nörotransmitter olarak serotonini kullanan ikinci yollardır. Serotonerjik nöronlar bu inen inhibitör yolda rostro-ventral medullada daha yoğun bulunurken (bu bölgede Raphe magnus çekirdeği bulunur), noradrenerjik nöronlar ise dorsolateral pontin tegmentum bölgesinde daha yoğun olarak bulunurlar. Periakuduktal bölgede serotonin, noradrenalin reseptörlerinin yanı sıra opioid reseptörlerde bulunurlar. Nöropatik ağrı tedavisinde kullanılan antidepresanlar, serotonerjik ve noradrenerjik etkileri ile inen inhibitör yollara etkileri ile nöropatik ağrıyı dindirirler. Aynı şekilde nöropatik ağrı tedavisinde kullanılan opioid ilaçlar; periakuaduktal gri bölgedeki opioid reseptörlerini aktive ederler ve enkefalin salınımına yol açarlar. Enkefalinlerde morfin reseptörü alt tiplerine bağlanarak etkilerini gösterirler, nöropatik ağrının azaltılmasına yol açarlar.

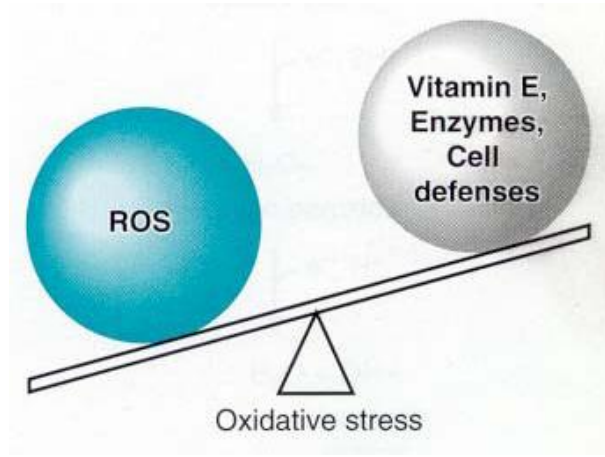
Eksitatör ve inhibitör inputlar periferden beyine hangi bilginin gidişini belirler. İnhibitör etkiler spinal korddaki inhibitör internöronlardan kaynaklanır ve bunlar gama amino bütirik asit (GABA) ve glisin gibi nörotransmitterler ile fonksiyon görürler. Bu inhibitör kontrollerden biri veya hepsinin bozulması veya kaybı ile dorsal boynuz nöronu afferent inputa cevap olarak abartılı şekilde ateşlenir ve hastada allodini ortaya çıkar (12,23).

II.2.5. Nöropatik Ağrıda Reaktif Oksijen Molekülleri

Oksidatif stres; alzheimer, iskemi, multiple skleroz, epilepsi, spinal kord hasarı gibi nörolojik hastalıklarda ve ağrıda önemli rol oynar. Muhtemelen periferik sinirlerin sıkışması, ektopik nöronal aktiviteye neden olan primer afferent liflerdeki hücresel değişiklikleri başlatır. Ağrı; hasarlanan bölgeden

spinal korda ve spinal korddan beyine mesaj taşıyan fizyolojik olarak bütünleşmiş sinirsel yapıları etkileyerek reaktif oksijen moleküllerinin(ROS) aşırı oluşmasına neden olur (24). Dorsal kökte ROS artışının nöropatik farelerde santral sensitizasyona katkıda bulunduğu görülmüştür (25). ROS miktarında azalma sağlanmasının nöropatik ağrı davranışını azalttığı gösterilmiştir (26).

Oksidatif stres vücudun antioksidan savunması ile hücrelerin lipid tabakasının peroksidasyonuna neden olan serbest radikal üretimi arasındaki dengesizlik olarak tanımlanabilir.



Serbest radikal, eşlenmemiş elektron içeren atom veya moleküldür. Genelde elektronlar atom veya molekülde eşlenik olarak bulunmaları nedeniyle molekül stabildir ve reaktif değildir. Ancak, moleküle bir elektron ilavesi ya da bir elektron kaybı onu reaktif hale getirir. Bu reaksiyon sonucu süperoksit radikali (O_2^-), perhidroksil radikali (OH), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve oldukça reaktif hidroksil radikali (OH) oluşur.

SOR oluşumunda elektron transport zinciri, enzimatik tepkimeler (ksantin oksidaz, NO yolu, eikasonoid metabolizması), enzimatik olmayan tepkimeler (Haber-Weis ve Fenton reaksiyonları, katekolaminler) dış etkenler (radyasyon, toksik kimyasallar, hava kirliliği, antibiyotikler, sigara, alkol) önemli oynar.

Reaktif oksijen molekülleri oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için birçok savunma mekanizmaları vardır. Bu mekanizmalar

antioksidanlar olarak bilinirler. Endojen ve ekzojen antioksidanlar olarak tanımlanırlar.

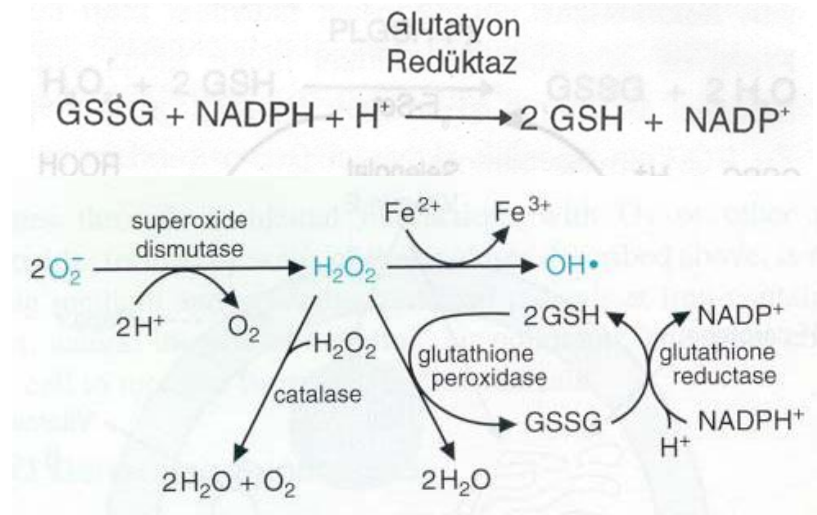
Endojen antioksidanlar, enzim ve enzim olmayanlar olmak üzere iki sınıfa ayrılırlar.

Enzim olan endojen antioksidanlar şunlardır: 1) Süperoksit dismutaz (SOD). 2) Glutasyon peroksidaz (GSH-Px). 3) Glutasyon S-Transferazlar (GST). 4) Katalaz (CAT). 5) Mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi. 6) Hidroperoksidaz.

Enzim olmayan endojen antioksidanlar şunlardır: 1) Melatonin. 2) Seruloplazmin. 3) Transferrin. 4) Miyogloblin. 5) Hemogloblin. 6) Ferritin. 7) Bilirubin. 8) Glutasyon. 9) Sistein. 10) Metiyonin. 11) Ürat. 12) Laktoferrin. 13) Albümin.

Eksojen antioksidanlar

Eksojen antioksidanlar, vitaminler, ilaçlar ve gıda antioksidanları olmak üzere sınıflandırılabilirler.



• Glutasyon (GSH)

GSH, hücreleri oksidan hasara karşı koruyan hücre içindeki de en önemli antioksidan bileşiktir. Karaciğer başta olmak üzere pek çok dokuda glutamat, sistein ve glisinden sentezlenir. Sentezde γ -glutamil sistein sentaz

ve GSH sentaz enzimleri katalizördür. GSH'nin, hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil ($\cdot OH$), süperoksit ($O_2\cdot$), alkoksil ($RO\cdot$) radikalleri ile direkt olarak etkileşime girerek hücreyi serbest radikallere karşı koruduğu bildirilmektedir (27). GSH redükte ve okside olmak üzere iki şekilde bulunur. GSH'nin redükte formu oksidatif hasara karşı korumada çok önemli rol oynar. Oksidan aracılı doku hasarı okside GSH (GSSG) miktarında artmayla sonuçlanabilir ve GSH/GSSG oranı değişebilir (27).

Ayrıca proteinlerdeki sülfhidril (-SH) gruplarını redükte halde tutar ve bu grupları oksidasyona karşı korur, böylece fonksiyonel proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonunu engeller. GSH yabancı bileşiklerin detoksifikasyonunu ve amino asitlerin membranlardan transportunu da sağlar.

- **Koenzim Q 10**

Koenzim Q10 mitokondriyal elektron taşıma zincirinin bileşeni olan, membran stabilizasyonunda rol oynayan güçlü bir antioksidandır (28). Koenzim Q10'nun antioksidan özelliği Mellors ve Tappel tarafından keşfedilmiştir. Yapılan deneysel çalışmalarda koenzim Q10'un iskemi reperfüzyon hasarı tedavisinde etkili olduğu bulunmuştur (29,30).

- **Lipid Peroksidasyonu ve MDA Oluşumu**

İskemi reperfüzyonda en büyük hasar lipid peroksidasyonu ile gerçekleşir. Lipid peroksidasyonu kuvvetli bir radikal olan hidroksil radikali etkisi ile zar yapısındaki fosfolipidlerde mevcut olan poliansature yağ asidi zincirindeki alfa metilen gruplarından (PUFA) (örneğin araşidonik asit veya linolenik asit) bir hidrojen atomunun uzaklaşması ile başlar ve yağ asidi zinciri radikal niteliği kazanır. Lipid radikalleri dayanıksız olup bir takım değişikliğe uğrar. Başta molekül içi çift bağ aktarımı ile dien konjugatları oluşmaktadır. Oksijenle reaksiyona girerek lipid peroksit radikali (LOO) oluşur. Bu LOO radikali zardaki diğer poliansature yağ asidini etkileyerek yeni radikaller oluşturup kendisi aldığı hidrojen atomu ile lipid hidroperoksitlerine dönüşür. Lipid peroksidasyonu lipid hidroperoksitlerinin malondialdehit (MDA) ve diğer karbonil bileşiklerine dönüşmesi ile sona erer (31). Zar yapısı bozulduğu için

geçirgenlik artar, transmembran proteinlerinde hasar oluşturur (31). Lipid membranın destrüksiyonu hücrede iyon ve enzim dengesizliğine neden olur. Bu da Ca^{+2} akımına, hücre ödemi ve nekroza yol açar.

II.2.6. NO(Nitrik Oksit) ve Ağrı

Nitrik oksit (NO) son yıllarda tanınan, birçok biyolojik olayda önemli rolü olan, çok kısa yarı ömürlü bir serbest radikaldir. NO ve diğer bir son ürün olan sitrüllin, argininden NO sentaz (NOS) enzimi aracılığıyla sentezlenir. NOS'in genetik olarak farklı üç izoformu tespit edilmiştir. Bunlar; düşük miktarda üretilerek vasküler tonüsü ayarlayan bir konstitutif endotelial izoform (eNOS), yine düşük miktar üretilen sinaptik şekillenme ve nörotransmisyonu düzenleyen bir konstitutif nöronal izoform (nNOS) ve yüksek miktarda üretilerek, immün/inflamatuar olaylarda rol alan ve hücre aracılı immün cevapta etkili bir komponent olan uyarılabilir form (iNOS)'dur. nNOS ve eNOS izoenzimleri NO üretimi için Ca^{++} kalmodulin kompleksine bağımlıdır, buna karşın iNOS bundan bağımsızdır (32).

NO diğer radikallerle beraber dinitrojenioksit (N_2O_3), nitrojendioksit (NO_2), peroksinitrat ($ONO^{\circ}O$) gibi yüksek toksisiteli ürünlerin meydana gelmesinden sorumludur. Bu reaksiyonlar NO' nun indirek indirekt etkileri olarak açıklanır ve iNOS ekspresyonunun sonucudur. Hem reaktif nitrojen radikalleri, hem ROS yüksek oranda reaktif kimyasallardır. Nörodejeneratif hastalıklar, ağrı, inflamasyon, kardiyovasküler bozukluklar gibi çeşitli patolojik durumlarda yer alırlar. Ayrıca ROS, sinir hasarına ve hasarlanmış sinirlerin iyileşmesindeki gecikmeye bağlı ortaya çıkan hiperaljeziyi destekler (33).

Omurilik arka boynuzunda ağırlı impulsların NO tarafından potansiyelize edildiğini, NOS inhibitörlerinin antinosiseptif etkilerinin olduğunu, öte yandan çeşitli bileşiklerin analjezik etkilerine NO'in aracılık ettiğini ileri süren çalışmalar bulunmaktadır (34).

Yapılan çalışmalarda iNOS'un inflame dokularda aşırı miktarda salındığı görülmüştür (35). Bu durum inflamatuvar ve nöropatik ağrı modellerinde ağrıya duyarlılığın gelişimine katkıda bulunmaktadır (36). Bu

bulgular iNOS inhibitörlerinin inflamatuvar ve nöropatik ağrı sendromlarında tedavide potansiyel olabileceklerine dair tartışmaları başlatmışlardır (37).

NO' nun iNOS ve nNOS tarafından aşırı üretiminin ağrı ve inflamasyon gibi patolojik süreçlerden sorumlu olabileceği düşünülmektedir (38).

II.2.7. Nöropatik Ağrı Tedavisine Yaklaşım

Altta yatan nedene bakılmaksızın tüm ağrılı nöropatilerde ağrı tedavisi benzer özellikler taşımaktadır. Semptomatik tedavi çok nadir olarak tam düzelme sağlar. En iyi halde mevcut tedaviler ağrıda % 30-50 arasında bir azalma sağlayabilmektedir. Hasta takiplerinde ağrı skalalarının kullanılması önem taşır. Birçok randomize kontrollü çalışma yol gösterici olmaktadır (39). Plasebonun etkinliği anımsanmayacak ölçüde yüksek bulunmuştur. Basit analjeziklerin etkisi genellikle çok kısıtlıdır ve ek tedaviler gerekmektedir. Tedavide temel hedef en düşük dozla başlamak, dozun yavaşça yükseltilmesi ve tolere edilebilecek en yüksek doza çıkılmasıdır. İlaçların hızlı titre edilmesi yan etkilerin ortaya çıkmasına ve etkin doza ulaşılmadan tedavinin kesilmesine neden olmaktadır. Genellikle yeterli ve uygun dozda ilaçlar verilemez ve ağrının tedavisi etkin bir şekilde yapılamaz (40). Tedavi başarısızlığının nedenleri:

- 1- Tanıdaki yetersizlik.
- 2- Nöropatik ağrı mekanizmasının tam anlaşılabilmesi.
- 3- Ağrıyı arttıran nedenlerin göz ardı edilmesi (depresyon, anksiyete).
- 4- Uygun olmayan tedavi seçeneklerinin kullanılması.
- 5- Yetersiz takip ölçütleridir.

Nöropatik ağrı tedavisi, neden olan hastalık sürdükçe devam edilmesi gereken bir tedavi değildir. Örneğin diyabetik nöropatik ağrıda olduğu gibi, diyabet sürdüğü halde, medikal tedaviyle ağrılar ortadan kaldırılıp belli bir tedavi süresi sonunda tedavi sonlandırılabilir. Bununla birlikte

tedavinin 3 aydan kısa sürede sonlandırılmaması, bazen de yıllarca devam etmenin gerekebileceği bilinmelidir.

II.2.7.1. Karbamazepin

Yapı olarak trisiklik antidepresanlara benzeyen karbamazepin, voltaj kapılı sodyum kanallarının aktivitesini engelleyerek aksiyon potansiyellerinin yüksek frekanslı sürekli ateşlenmelerini azaltır. Periferik duyarlılaşma üzerine etkinliği yüksek olmakla birlikte santral duyarlılaşma üzerine etkin değildir. Bu nedenle, trigeminal nevralji gibi periferik mekanizmaların ön planda olduğu nöropatik ağrıda ve erken evre tedavisinde etkinliği yüksek olabilmekle birlikte kronik ağrıda yüksek etkinliğe sahip değildir. Dar bir tedavi penceresine sahip olması ve kan düzeyi tayini ile takibinin gerekliliği, kullanımında kısıtlayıcı etkenlerdir. Ayrıca somnolans, dengesizlik, kusma, cilt reaksiyonları, hiponatremi, lökopeni ve karaciğer fonksiyon bozuklukları gibi yan etkiler diğer sınırlayıcı özellikleridir. Bununla birlikte, etkili olduğu takdirde düşük dozlarda kullanıldığında kullanımı daha güvenlidir.

II.2.7.2. Okskarbazepin

Okskarbazepin, karbamazepinin bir keto analogudur. Daha iyi tolerabilite, güvenlik ve farmakokinetik profile sahiptir. Voltaj kapılı sodyum kanallarının aktivasyonunu engelleyici etkisi yanı sıra okskarbazepin N ve P tipi kalsiyum kanallarını da inhibe eder ve glutamaterjik transmisyonu azaltır. Böylelikle, sodyum kanalları ve kalsiyum kanalları üzerindeki inhibitör etkisiyle periferik ve santral duyarlılaşmayı engeller. Bu nedenle, nöropatik ağrıda karbamazepine göre daha yaygın kullanım alanı vardır. Karbamazepine göre yan etkileri daha azdır. Kan düzeyi yönünden çok geniş tedavi penceresi olması ve kan düzey tayiniyle takibinin gerekmemesi, kullanımı için kolaylık oluşturmaktadır.

II.2.7.3. Antidepresanlar

Antidepresanlar trisiklik antidepresanlar, selektif seratonin gerialım inhibitörleri (SSRI) ve seratonin-noradrenalin gerialım inhibitörleri (SNRI) alt gruplarına sahiptir. Trisiklik antidepresanlar ve SNRI grubu antidepresanlar nöropatik ağrı tedavisinde daha potent etkili antidepresanlardır. SSRI grubu antidepresanların nöropatik ağrıda etkinliği ise daha zayıftır. Amitriptilin (Laroxyl), Venlafaksin (Efexor), Duloksetin (Cymbalta), nöropatik ağrı üzerine etkinliği en iyi bilinen antidepresanlardır. Venlafaksin özellikle santral ağrıda etkin bir antinevraljik antidepresandır. Henüz ülkemizde bulunmayan duloksetin (Cymbalta) SNRI grubundan bir antidepresan olup venlafaksine benzemektedir.

II.2.7.4. Tramadol

Tramadol santral etkili sentetik non-narkotik analjeziktir. Mu opioid reseptörlerine bağlanma eğilimi düşük olup noradrenalin ve serotonin gerialımını zayıf olarak inhibe eder.

II.2.7.5. Gabapentin

Gabapentinin esas etkinliği N-tipi kalsiyum kanalları üzerine inhibe edici etkisindedir. Yüksek tolerabilitesi ve etkinliği nedeniyle nöropatik ağrı kronik tedavisinde yaygın kullanım bulmuştur. Uykuyu arttırıcı etkisi, gece ağrıların daha yoğun olduğu nöropatik ağrı durumunda tedaviye olumlu katkı sağlayan bir etkidir.

II.2.7.6. Lamotrijin

Lamotrijin yeni bir antiepileptiktir ve voltaja duyarlı sodyum kanallarına etki ederek nöronal membranları stabilize eder ve glutamat başta olmak üzere nörotransmitter salınımını baskılar. Değişik nöropatik ağrı durumlarında çift kör çalışmalar yapılmıştır ve analjezik etki açısından farklı sonuçlar elde

edilmiştir. Çoğu çalışma nöropatik ağrı tedavisinde etkinliğini desteklemektedir. Genellikle iyi tolere edilir, ancak başlıca yan etkisi döküntü, uyuklama, dengesizlik ve çift görmedir. Yavaş doz titrasyonu ile yan etki olasılığı belirgin azalmaktadır.

II.2.7.7. Topiramate

Geniş etki spektrumu olan yeni bir antiepileptiktir. Voltaj kapılı sodyum kanalları, kalsiyum kanalları ve glutamat aracılı nörotransmisyonu baskılar. Yapılan çalışmalar başlıca diabetik nöropatilerde etkinliğini göstermiştir. En sık görülen yan etkileri diare, iştah azalması, bulantı, dizines ve somnolanstır. Düşük dozlarda başlanıp yavaş titre edilmeli ve ağrı kontrolü sağlandığında doz artırılması durdurulmalıdır.

II.2.7.8. Lokal Anestezikler

Lokal anestezikler, Na kanallarını bloke edip akson membranındaki aksiyon potansiyelini inhibe ederek analjezik etki oluşturan, santral ve periferik nöropatik ağrılarda kullanılan ilaçlardır. Lidokain ve diğer lokal anestezikler (markain, bupivakain, meksiletin ve diğerleri) akut nöropatik ağrıda etkilidir. Oral formlarının olmaması nedeniyle nöropatik ağrı tedavisinde kullanımları sınırlıdır.

II.2.7.9. Opioidler

Santral ve periferik sinir yaralanmalarına bağlı kronik ağrılı hastalarda kullanılır. En sık yan etkileri konstipasyon, sedasyon, bulantı ve kimyasal bağımlılıktır. Madde kötüye kullanımı ya da intihar girişimi öyküsü olan hastalarda opioid analjezikler dikkatle kullanılmalıdır. Alternatif yaklaşımlarla tedavide başarısız olduğunda uzun etkili opioid analjeziklerin kullanımı düşünülmelidir (41).

II.2.7.10. Alfa-2 adrenerjik agonistler (Klonidin ve tizanidin)

Analjezik etkileri infra ve supraspinal düzeyde alfa adrenerjik reseptörleri bloke ederek noradrenerjik inhibisyonu stimüle etmelerine bağlıdır. Klonidin en sık kullanılan α_2 adrenerjik agonisttir. Ancak istenmeyen sedatif etki, ağız kuruluğu, postüral hipotansiyon sık görülür.

II.2.7.11. Pheynl-N-t-butyl nitron (PBN)

Fenil N – tert – Bütilnitron (PBN) nitron ailesinden olup, serbest radikalleri etkisiz hale getirmede kullanılmaktadır (4).

PBN oksijen radikallerini indükleyerek daha az reaktif hale getirir bu da farmakolojik etkinin temeli olarak gösterilmektedir. Buna rağmen bu bilgi için çok fazla güçlü delil bulunmamaktadır. Ama yine de araştırmacılar yaptıkları hayvan deneylerinde serbest radikal varlığını PBN 'nin farmakolojik etkisinde olduğunu kanıt olarak varsaymaktadır. Hastalık sırasında oluşan serbest radikallerin etkisizleştirilmesini göstermeye yönelik bir çok çalışma yapılmaktadır (4).

Yapılan çalışmalarda PBN'in Nitrikoksit Sentaz (NOS) ve Nitrik Oksit (NO) formunu inhibe eden gen üzerinde inhibisyon yaptığı ve transkripsiyon faktörü NF-kB aktivasyonu üzerine inhibitör etkisi, bir çok sitokin geni ve apoptozisle ilişkilendirilmiş genler üzerinde eksprese edici etkisi gösterilmiştir (4). Kim ve ark. tarafından son dönemde yapılan bir çalışmada PBN in analjezik etkisini gen transkripsiyonu ile değil, ROS uzaklaştırılmasını sağlayarak gösterdiği düşünülmektedir (24).

II.2.7.12. Pregabalin

Pregabalin, santral nöral ağ içinde epilepsi, anksiyete, nöropatik ağrı gibi durumlarda aktivite gösteren, yeni tanımlanmış etki mekanizması olan bir bileşiktir (42).

Pregabalin pek çok ülkede periferik nöropatik ağrı durumlarında ve parsiyel başlangıçlı epilepsisi olan yetişkinlerde ek tedavi olarak ve aynı zamanda Avrupa ülkelerinde santral nöropatik ağrı ve yaygın anksiyete bozukluğunda endikedir (43).

Bir GABA analogu olan pregabalin yeni bir seçenek olarak ülkemizde mevcut olup nöropatik ağrıda etkinliği çok sayıda kontrollü çalışmada kanıtlanmış. Gabapentine benzer fakat tolerabilitesi ve etkinliği daha yüksek bir moleküldür. Gabapentin ile karşılaştırıldığında önemli farkları lineer farmakokinetiği (verildiği dozla doğrusal orantıda kana geçiş), yüksek biyoyararlanımı (verilen dozun % 90'dan fazlası kana geçiyor) ve daha uzun yarı ömrüdür (2).

Voltaja duyarlı kalsiyum kanalları vasıtasıyla kalsiyum iyonlarının nöronlara girişi, veziküllerin hücre membranına yapışmalarını ve nörotransmitterlerin sinaptik aralığa salımını tetikler. Belirli patolojik durumlarda, örneğin anormal nöron ateşlemesinin olduğu epilepside ya da nöronların hasar gördüğü nöropatik ağrıda, bu nöronların fazla eksite edilmesi ile sonuçlanır. Fazla eksite edilmiş nöronlarda, kalsiyum iyonlarının içeriye fazla akışı norepinefrin, glutamat ve substans P'yi içeren nörotransmitterlerin geniş ve sürekli salımına yol açmaktadır (42).

Pregabalin δ -aminobutirik asidin (GABA) yapısal bir analogudur. Hayvan modellerinde antikonvülzan analjezik ve anksiyolitik etki gösteren "voltaja duyarlı kalsiyum kanallarının" (VGCC), "alfa-2-delta" alt üniteleri için yüksek potentli bir ligandır (44). Pregabalinin voltaja duyarlı kalsiyum kanallarının (VGCC) alfa-2-delta alt ünitesine ve de "L taşıyıcı sistemi" olarak adlandırılan geniş nötral aminoasit taşıyıcısına bağlanması, bileşiğin farmakolojik aktivitesi için önemlidir. Hipereksite nöronların kalsiyum kanallarının alfa-2-delta alt ünitesine güçlü şekilde bağlandıktan sonra, depolarizasyonla indüklenmiş kalsiyum akışını ve bu şekilde glutamat, noradrenalin ve substans P'yi de içerecek şekilde pek çok eksitatuvar nörotransmitterlerin salımını azaltır (42).

Pregabalin oral uygulama sonrası, geniş nötral aminoasit taşıyıcısı aracılığıyla barsaklardan absorbe edilir (45). Pregabalin sıçanlarda yüksek oral biyoyararlanıma (%83) sahiptir; önemli oranda metabolize olmamakta, maksimum etkisini 2-4 saatte göstermektedir (46). Plazma proteinlerine bağlanmaz. Pregabalin hem kan-beyin bariyeri hem de barsakta geniş aminoasitlerin transportundan sorumlu L taşıyıcı sisteminin bir substratıdır (45).

Pregabalinin, sinir ligasyonu, enjekte edilmiş immun antijen, herpes enfeksiyonu, artrit, diyabet, cerrahi ve termal hasarla indüklenen ağrı dahil nöropatik ve inflamatuvar ağrısı olan hayvan modellerindeki nosiseptif davranışları azalttığı gösterilmiştir. Ancak, duyuşal olarak akut nosisepsiyonu etkilememiştir (47).

II.2.8. Hayvanlarda Nöropatik Ağrı Modelleri

Deneyşel ağrı araştırmalarında amaç ya ağrının özelliklerini, doğasını açıklamaktır yada herhangi bir maddenin ağrının algılanması üzerine olası etkisinin araştırılmasıdır. Hayvanlarda ağrı eşiğinin ve analjezinin değerlendirilmesi oldukça zordur. Ağrı araştırmalarında insandan sonra en çok kullanılan sıçan ve farelerdir (48).

Hayvan araştırmalarında sürdürülen nöropatik ağrı modelleri total ve parşiyel denervasyon, santral sinir sistemi ve sistemik ilaç uygulamaları ile geliştirilen modeller olarak sınıflandırılabilir.

Total periferik nörektomiye bağılı nöropati: Deneylerde sıçan veya nadiren fare kullanılır. Uygulamada siyatik sinir orta uyluk seviyesinde açığa çıkartılır. Siyatik sinir trifurkasyonun proksimalinden 3.0 – 5.0 dikiş materyali (katküt) ile sıkıca bağlanır. Sinir bağılandığı alanın distalinden kesilir (48). Nörektomi uygulamalarında siyatik sinir krioprobe ile dondurulabilir veya elektrokoter, makas, bisturi ile kesilir. Böylece bu uygulamada arka pençenin tam denervasyonu gelişir. Bu modelin en karakteristik özelliğı, ototomi oluşmasıdır. Ancak aşırı duyarlılığına verilen yanıtın her zaman ototomi

davranışı olmayışı, bu nöroma modelinin kullanımını kısıtlayan nedenlerden en önemlisidir.

Siyatik sinirin total kesisi ve yeniden dikilmesini takiben gelişen nöropati modeli: Sinirin makasla kesilip hemen sonra 7.0 veya daha ince dikiş malzemesiyle epinöral kılıf uç uca getirilerek dikilmesiyle oluşur. Bu uygulamaya alternatif olarak geliştirilen bir diğer modelde kesilen siyatik sinirin distali siyatik sinirin dalı olan tibiyal sinirle birleştirilir. Uygulamayı takiben erken dönemde pençede parsiyel denervasyon gelişir. Ayrıca ototomi, hiperaljezi, allodini sınırı ve kontralateral duyuşal değişimler izlenir. Olguların % 75'inde zamanla siyatik sinir liflerinde rejenerasyon başlar ve buna bağlı olarak pençede duyarlılık değişimlerinin oluştuğu alanlarda düzelmeler saptanabilir (49).

Spinal dorsal rizotomi modeli: Birkaç seviyeden uygulamaya bağlı gelişen nöropati modelinde girişimin seviyesine uygun olarak ön veya arka pençelerde ototomi gelişebilir. Bu uygulamalar sırasında spinal kord ve dorsal kök hasarı oluşturulmaması gerekir. Ototomiden başka ayna imajı bulgusu ve allodini, hiperaljezi hatları saptanabilir.

Sıçanlara uygulanan parsiyel denervasyon ile oluşturulan dört farklı periferik nöropatik ağrı modeli olan; kronik konstriksiyon hasarına bağlı nöropati modeli (KKH) (50); parsiyel siyatik sinir ligasyonuna bağlı nöropati modeli (PSSL) (51); spinal sinir ligasyonuna bağlı nöropati modeli (SSL) (52) araştırmalarda en sık kullanılan yöntemlerdir.

Kronik konstriksiyona bağlı nöropati modeli: Spontan ağrıya ek olarak allodini ve hiperaljezi gösteren bir hayvan modeli olarak ilk kez Bennett ve Xie tarafından bildirilmiştir (50). Bu modelde sinir hasarı, sıçanların siyatik siniri çevresinde, siyatik sinir trifurkasyonunun proksimalinde, gevşek düğümler atılarak konstriktif ligaturasyon sağlanması yolu ile oluşturulur. Uygulamada 4.0 krome katküt ile siyatik sinire 1 mm aralıklarla 4 ayrı gevşek düğüm atılır. Bu düğümler sadece siyatik siniri sıkıştırır. Sinirin dolaşımını dolayısı ile beslenmesini sağlayan vasa nervosumları sıkıştırmaz. Böylece ligasyon, kan akımını azaltır, fakat

durdurmaz. Bu şekilde en az birkaç hafta devam edecek olan intranöral ödeme neden olur. Kontralateral yapılan yalancı operasyon uygulaması sensoryal değişimlere yol açmadığı gibi KKH uygulamasında oluşan değişimlere eşlik etmez. Kontrol olarak yalancı operasyon tarafının kullanılması, tek taraflı KKH yönteminin kontralateral sensoryal abnomalitelere oluşurmadığının izlenmesini sağlar. KKH modeli hasarın distalindeki miyelinli liflerde ve hasarlı sahanın proksimalindeki az kullanılan sinir liflerinde dejenerasyona yol açar. Uygulama sonucunda % 50'inin üzerinde denekte gelişen ağrı duyusu belirtileri, ödem ve atrofik değişiklikler hasarı takiben 2 ila 7 gün içinde gözlenmeye başlar; 10-14 gün içersinde en yüksek seviyeye ulaşır yaklaşık iki ay civarında ortadan kaybolur. KKH'lı sıçanlar, etkilenen arka pençeyi sallama ve sık yalama gibi spontan ağrıyı işaret eden davranışlar, beraberinde cinsel istekte azalma ve kilo kaybı gibi sistemik belirtiler gösterirler (50,51).

Parsiyel siyatik sinir ligasyon modeli: KKH'nin modifikasyonu olarak Seltzer ve Shir tarafından tanımlanmıştır. Girişim için önce sıçanlarda siyatik sinir dikkatli bir şekilde ortaya çıkarılarak çevre dokulardan ayrılır. Uygulamada kullanılan 8.0 veya daha ince dikiş materyali siyatik sinirin dorsal yüzünden sinir kalınlığının üçte biri veya yarısını alacak şekilde geçirildikten sonra gevşekçe bağlanır. Böylece sinirin parsiyel ligasyonu sağlanır. Bu model, genellikle ototomi davranışı içermeyen spontan ağrı bulguları oluşmasını sağlar. KKH modelinden farklı olarak PSSL modeli, her iki arka pençede hiperestezi oluşmasına neden olmuştur.

Santral sinir sistemine ve sistemik ilaç uygulamasına bağlı nöropatik ağrı modelleri:

Steorotaksi yöntemiyle santral sinir sisteminin motor alanlarına çok az hacimde penisilin, tetanoz toksini, kobalt, alüminyum oksit, striknin gibi maddelerin injeksiyonu ile epilepsi sonucu nöropati modeli geliştirilmiştir (53,54).

Çeşitli nöropatik ağrı modellerinde farklı davranış anormallikleri izlenir. Sık uygulanan nöropatik ağrı modellerinde davranışsal gözlemlerin farklılıkları tablo 2’de kısaca özetlenmiştir (50,52,54).

Tablo 2

Ağrı modeli	Ototomi	MH	SıH	MA	SoA	Taraf
KKH	+	+	+	+	+	Unilateral
PSSL	-	+	+	+	-	Bilateral
SSL	-	?	+	+	+	Bilateral
KN	+	?	-	+	?	Bilateral

MH: Mekanik Hiperalezi,

SıH: Sıcak Hiperalezi,

MA: Mekanik allodini,

SoA: Soğuk Allodini

III. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda ağırlıkları 230-250 gram arasında değişen, toplam 24 adet Wistar-Albino cinsi dişi ratlar kullanıldı deney hayvanları “Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Merkezi Deney Hayvanları Biriminden” temin edildi. Deney hayvanları standart kafeslerde barındırılıp, yem ve su alımı serbest bırakıldı. Çalışma başlangıcında Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulundan onay alındı.

III.1. Deney Grupları

Hayvanlar kafeslerde en fazla 6'lı olacak şekilde, 12 saat aydınlık-12 saat karanlıkta, ısı standardize edilmiş şartlarda barındırıldı. Sıçanlar randomize olarak dört gruba ayrıldı. Operasyondan 24 saat önce tüm ratların soğuk allodini, termal ve mekanik hiperaljezi açısından davranış değerlendirmeleri yapıldı. Tüm ratlara ait bazal değerler kaydedildi.

Operasyondan 12 saat önce beslenmeleri kesilen ancak su içmelerine izin verilen sıçanların tümünde eter inhalasyonu ile anestezi uygulandı. Anestezi indüksiyonu sonrasında Bennet ve Xie tarafından tanımlanan kronik konstriksiyon hasarına (KKH) bağlı nöropati modeli (SSL yöntemi) uygulandı (50).

Sıçanların sağ uyluğunu kaplayan tüyler traş edildikten sonra uyluğun orta kısmından m. Biceps femoris boyunca yapılan künt diseksiyon ile siyatik sinire ulaşıldı. Açığa çıkarılan siyatik sinire 1 mm aralıklarla 4 ayrı yerden 4/0 katküt ile gevşek düğümler atıldı. İnsizyon tabakalar halinde 3/0 ipekle kapatıldı. Sıçanlarda nöropatik ağrı gelişmesi açısından 15 gün beklendi.

Grup 1: Siyatik sinir ligasyonu uygulandıktan 15 gün sonra intraperitoneal 2 ml serum fizyolojik uygulandı.

Grup 2: Siyatik sinir ligasyonu uygulandıktan 15 gün sonra intraperitoneal 30 mg/kg pregabalin uygulandı.

Grup 3: Siyatik sinir ligasyonu uygulandıktan 15 gün sonra intraperitoneal 100 mg/kg PBN uygulandı.

Grup 4: Cerrahi işlem uygulandı ancak siyatik sinir ligasyonu yapılmadı.
(sham)

III.2. Davranışsal Etkilerin Araştırılması

Tüm gruplarda cerrahi işlem öncesi yapılan bazal davranış değerleri kaydedildi. Hiçbir sıçanda termal hiperaljezi, soğuk allodini, mekanik allodini ve mekanik hiperaljezi saptanmadı. Cerrahi girişimden sonraki 15. Günde ilaç uygulanmasından hemen sonra 1, 3, 5 ve 7. saatlerde analjezimetre ile mekanik hiperaljezi ve Dynamic plantar eisteziometre ile mekanik allodini; 30, 60 ve 90. dakikalarda sıcak/soğuk tabla ile termal hiperaljezi ve soğuk allodini değerlendirmesi yapılarak kaydedildi.

III.2.1. Mekanik Hiperaljezi :

Randall ve Selitto metodu kullanılarak analjezimetre (37215 Analgesy-meter, Ugo Basile. Italy) ile değerlendirildi (55). Mekanik uyaran hayvanın pençesine (metatarsallar arasında bir noktaya) yerleştirildikten sonra bir pedal yardımıyla giderek artan oranda basınç uygulandı. Uygulamanın sonlandırılma noktası olarak hayvanın göstereceği tepki davranışı alındı. Basınç ölçümleri 1, 3, 5 ve 7. saatlerde kaydedildi. Sonuçlar ortalama ağırlık gram (g) \pm SE olarak ifade edildi.

III.2.2. Termal Hiperaleji:

Hot-plate testi (35100 - Hot/Cold Plate, Ugo Basile, Italy) ile değerlendirildi. Sıçanın sıcak tablanın yüzeyine bırakılmasından arka ayağını çekmesine kadar olan süre tesbit edildi. Doku hasarı oluşturulmaması amacıyla 20 saniyelik cut-off süresi belirlendi. 30 °C ısıda pençe çekme süreleri saniye olarak kaydedildi. Sonuçlar ortalama $sn \pm SE$ olarak ifade edildi.

III.2.3. Soğuk Allodini:

Pençelerin soğuk hassasiyetinin saptanması amacıyla soğuk tabla testi (35100 - Hot/Cold Plate, Ugo Basile, Italy) uygulandı. Tüm sıçanlar ölçümden önce adapte olmaları amacıyla soğuk ısıda (5 ± 0.5 °C) tutuldu, 5 dakikalık adaptasyon süresi sonrasında 4°C ısıdaki cold plate üzerine konulan ratların pençe çekip, tutma süreleri kaydedildi. Sonuçlar ortalama $sn \pm SE$ olarak ifade edildi.

III.2.4. Davranış Analizi:

Davranış analizi için Dinamik Plantar Esteziometre cihazı (37450 - Dynamic Plantar Aesthesiometer, Ugo Basile, Italy) kullanıldı. Cihaz aracılığı ile sıçan ayağını çekene dek sağ pençeye 10 sn süre içinde 0,1 g artışlarla 0 dan 50 g'a kadar basınç uygulandı (56). Sıçanın ayağını çektiği esnada uygulanan basınç (g) kaydedildi.

III.3. Biyokimyasal Değerlendirme

Bir gecelik açlık sonrası deney hayvanları eter anestezisi altında sakrifiye edildi. Ratların siyatik sinirleri çıkarıldı ve soğuk izotonik NaCl solüsyonu ile yıkandı. Kan ve diğer dokulardan temizlenip kurulandıktan sonra dokular homojenize edilinceye kadar derin dondurucuda (-80 °C) saklandı.

Doku Homojenat Eldesi:

Dondurulmuş olan dokular analiz günü kademeli olarak çözündürüldü. Siyatik sinirlerin her biri hassas terazide tartılıp ağırlıkları kaydedildi. Ağırlıklarınının 100 katı pH= 7,2 Tris- tampon ile buz üzerinde 12.000 rpm'de 3 dakika süre ile homojenizatör (IKA T25 basiz U.K) homojenize edildi.

Süpernatantta ise total glutatyon, MDA, koenzim Q10 ve lowry yöntemi ile protein çalışıldı. Değerler gr doku proteini başına verildi.

HPLC ile MDA, total glutatyon ve koenzim Q10 ölçümünde Chromosystems Diaagnostics'e ait kit sistemi ve Shimadzu marka HPLC cihazı (japonya) kullanıldı.

III.3.1. Lipid Peroksidasyonu Değerlendirilmesi (MDA)

MDA analizinde 20 µl homojenata derivatizasyon reaktifi eklendi, 15 saniye vortekslendi ve 60 dakika boyunca 95 °C de inkübe edildi. Örnekler inkübasyon sonrasında 2-8 °C'ye kadar soğutulup 10.000 g'de 5 dakika santrifüj edildi. Elde edilen süpernatanttan 500 µl alınıp üzerine 500 µl reaktif eklendi. HPLC ile analiz aşamasında mobil akış hızı 0,8-1 ml /dk olan yaklaşık 30 °C deki kolon sistemine hazırlanan örnekten 20 µl enjekte edildi ve elde edilen eluattaki MDA'nın ölçümü eksitasyon dalga boyu 515 nm, emisyon dalga boyu 553 nm olarak ayarlanmış olan floresan dedektör ile yapıldı. Örneklerden elde edilen MDA piklerinin integratör programı ile alanları hesaplandı ve internal standardının pikleri ile karşılaştırılarak MDA konsantrasyonları hesaplandı.

III.3.2. Koenzim Q10 Değerlendirmesi

Koenzim Q10 analizinde 200 µl örneğe dilüsyon reaktifi eklendi, kristalizasyon oluşana dek 2-8 °C de beklendi. 10 saniye vortekslendi ve 1 ml Internal Standart eklendi. 10 saniye daha vortekslendi ve 2 ml ekstraksiyon solüsyonu eklendi. 2 dakika vortekslendi ve 3000 g'de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatant kısmından 1,5 ml alındı 150 ul etanol içinde

resuspansiyon yapıldı. HPLC ile analiz aşamasında mobil akış hızı 0,8-1,2 ml /dk olan yaklaşık 30 °C deki kolon sistemine hazırlanan örnekten 50 µm enjekte edildi ve elde edilen eluattaki Koenzim Q10'nun ölçümü 275 nm olarak ayarlanmış olan UV detektör ile yapıldı. Örneklerden elde edilen koenzim Q10 piklerinin integratör programı ile alanları hesaplandı ve internal standardının pikleri ile karşılaştırılarak koenzim Q10 konsantrasyonları hesaplandı.

III.3.3. Redükte Glutasyon Değerlendirmesi

Glutasyon analizinde reaksiyon tüpüne 100 µl örnek üzerine 200 µl solusyon eklendi. 10 saniye vorteksledi. Sonra örnek iki kısma ayrıldı. Total glutasyon ölçümü için 50 µl dilüe örnek üzerine 100 µl internal standart, 20 µl indirgeyici solusyon ve 100 µl derivatize edici solusyon eklendi. 20 dakika boyunca 60 °C de inkübe edildi. Üzerine 100 µl presipite edici solusyon eklendi. 2-8 °C de 10 dakika inkübe edildikten sonra 10.000 g de 10 dakika boyunca santrifüj edildi. 100 µl süpertanant 200 µl reaksiyon solüsyonuna eklendi. HPLC ile analiz aşamasında mobil akış hızı 1ml /dk olan yaklaşık 30 C deki kolon sistemine hazırlanan örnekten 50 ul enjekte edildi ve elde edilen eluattaki total glutasyon ölçümü eksitasyon dalga boyu 385 nm, emisyon dalga boyu 515 nm olarak ayarlanmış olan floresan dedektör ile yapıldı. Örneklerden elde edilen total glutasyon piklerinin integratör programı ile alanları hesaplandı ve internal standardının pikleri ile karşılaştırılarak total glutasyon konsantrasyonları hesaplandı.

III.3.4. NO Değerlendirilmesi

Doku homojenat örneklerinde nitrik oksid üretiminin göstergesi olarak, stabil nitrik oksid metabolitleri olan nitrit (NO_2^-) ve nitrat (NO_3^-) ölçümü Griess reaksiyonu kullanılarak spektrofotometrik olarak yapıldı (57). Nitrik oksid ölçümünde oluşabilecek interferansları elimine etmek için plazma Somogy reaktifi (58) ile deproteinize edildi. Deproteinize edilen örneğin bir kısmı ile nitrit tayini yapıldı. Deproteinize edilen örneğin kalan miktarı, nitratın nitrite

indirgenmesi için, bakır kaplanmış kadmiyum granülleri ile 90 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası Griess reaksiyonu ile tekrar nitrit tayini yapıldı. Bu yapılan deproteinize örnekteki ölçüm nitrit + nitrat konsantrasyonu olarak kaydedildi. Nitrit + nitrat miktarı total nitrik oksit konsantrasyonunun göstergesi olarak kullanıldı. Sonuçlar; homojenat NO seviyesi protein değerine bölünerek mikromol/gr doku proteini olarak verildi.

III.4. İstatistiksel Değerlendirme

Davranışsal ve biyokimyasal değerlerin analizinde veriler, ortalama \pm standard sapma (SE) olarak belirtildi. Gruplar arası karşılaştırmada Mann-Whitney U testi, grup içi değerlendirmelerde Wilcoxon signed ranks test ve Freidman testi kullanıldı. $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

IV. BULGULAR

IV.1. Davranışsal Etkiler

Siyatik sinir ligasyonundan sonra sıçanların sağlık durumlarının iyi, ağırlıklarında değişme olmadığı gözlemlendi. Tüm gruplarda cerrahi işlem öncesi yapılan bazal davranış değerleri kaydedildi. Hiçbir sıçanda nöropatik ağrı düşündürecek bulguya rastlanmadı.

Cerrahi sonrasında sham grubu hariç diğer 3 gruptaki hayvanlarda lezyonun olduğu taraftaki ayak parmaklarının hafif deforme olduğu gözlemlendi. Bu gruplarda 2. ve 7. günde başlayan ağrı duyusu belirtileri 14. günde en yüksek seviyeye ulaştı. Sıçanlar etkilenen arka pençeyi sallama ve sık yalama gibi spontan ağrıyı işaret eden davranışlar gösterdiler. Sham grubu ratlarda postoperatif dönemde bu şekilde davranış değişikliğine rastlanmadı.

IV.1.1. Hot-Plate ve Cold Plate ile Termal Hiperalezi ve Soğuk Allodini Değerlendirmesi

Sham ve SF grubu karşılaştırıldığında, SF grubundaki tüm ratlarda termal hiperalezi ve soğuk allodini gerçekleştiği gözlenmiştir ve yapılan ölçümler istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) saptanmıştır. (Grafik 1 ve 2)

Tablo 3: Hot plate

Hot plate ölçüm zamanları (dk)	SF	Sham	P Değeri
30. dk (sn)	5,83 ± 1,12	19,16 ± 1,16	0,004*
60. dk (sn)	6,00 ± 1,04	19,66 ± 0,81	0,003*
90. dk (sn)	6,08 ± 1,11	20,00 ± 0,00	0,002*

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

*P<0.05, anlamlı olarak kabul edildi.

Tablo 4: Cold Plate

Cold plate ölçüm zamanları (dk)	SF	Sham	P Değeri
30. dk (sn)	11,50 ± 0,83	19,83 ± 0,40	0,002*
60. dk (sn)	13,16 ± 0,98	19,66 ± 0,81	0,003*
90. dk (sn)	13,83 ± 3,12	19,83 ± 0,40	0,011*

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

*P<0.05, anlamlı olarak kabul edildi.

SF ve pregabalin grubu karşılaştırıldığında, pregabalin grubundaki tüm ratlarda termal hiperaljezi için yapılan ölçümlerde, 30, 60 ve 90. dakikalarda ısıya dayanıklılığın anlamlı olarak uzadığı saptanmıştır (p<0.05). Aynı iki grup soğuk allodini açısından karşılaştırıldığında ise pregabalin grubundaki ratlarda 30. ve 60. dakikalarda yapılan ölçümlerde ayak çekme süresinin SF grubuna göre anlamlı olarak uzadığı görüldü (p<0.05) (Grafik 1 ve 2).

Tablo 5: Hot plate

Hot plate ölçüm zamanları (dk)	SF	Pregabalin	P Değeri
30. dk (sn)	5,83 ± 1,12	8,33 ± 0,81	0,006*
60. dk (sn)	6,00 ± 1,04	9,50 ± 0,54	0,003*
90. dk (sn)	6,08 ± 1,11	8,50 ± 0,54	0,007*

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

*P<0.05, anlamlı olarak kabul edildi.

Tablo 6: Cold Plate

Cold plate ölçüm zamanları (dk)	SF	Pregabalin	P Değeri
30. dk (sn)	11,50 ± 0,83	13,00 ± 0,89	0,016*
60. dk (sn)	13,16 ± 0,98	14,83 ± 0,75	0,012*
90. dk (sn)	13,83 ± 3,12	13,33 ± 0,51	0,445

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

*P<0.05, anlamlı olarak kabul edildi.

SF ve PBN grubu karşılaştırıldığında, PBN uygulanan ratlarda termal hiperaljezinin ölçüm yapılan tüm dakikalarda SF grubuna göre anlamlı derecede uzadığı saptanmıştır (p<0.05). Soğuk allodini için bu iki grup karşılaştırıldığında ise PBN grubunda 60. ve 90. dakikalarda soğuğa dayanıklılığın SF grubuna göre azaldığı izlendi (p<0.05) (Grafik 1 ve 2).

Tablo 7: Hot plate

Hot plate ölçüm zamanları (dk)	SF	PBN	P Değeri
30. dk (sn)	5,83 ± 1,12	8,16 ± 1,21	0,006*
60. dk (sn)	6,00 ± 1,04	7,75 ± 1,33	0,034*
90. dk (sn)	6,08 ± 1,11	7,83 ± 1,03	0,019*

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

*P<0.05, anlamlı olarak kabul edildi.

Tablo 8: Cold Plate

Cold plate ölçüm zamanları (dk)	SF	PBN	P Değeri
30. dk (sn)	11,50 ± 0,83	11,25 ± 1,72	0,505
60. dk (sn)	13,16 ± 0,98	10,00 ± 1,04	0,004*
90. dk (sn)	13,83 ± 3,12	11,08 ± 1,35	0,018*

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

* P<0.05, anlamlı olarak kabul edildi.

Pregabalin ve PBN grupları arasında yapılan karşılaştırmada ise 60. dakikada pregabalin grubunda termal hiperaljezi yönünden tedaviye yanıtın PBN' ye göre daha iyi olduğu görülmüştür (p<0.05) (Grafik 1 ve 2).

Tablo 9: Hot plate

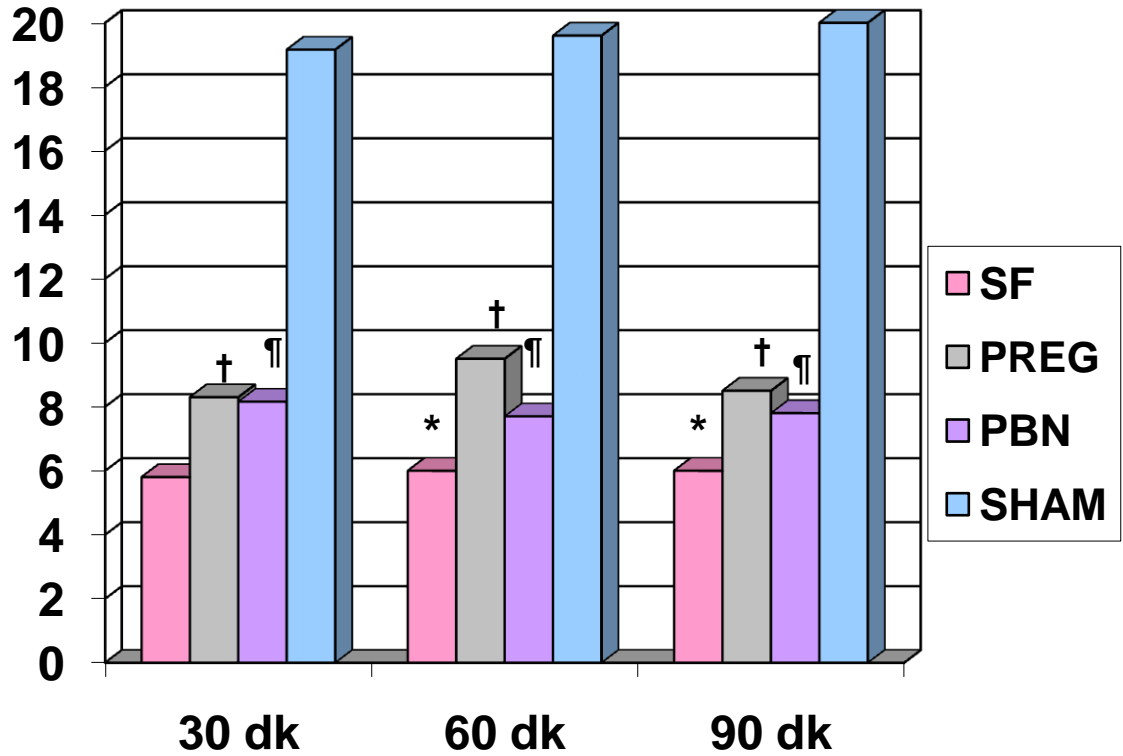
Hot plate ölçüm zamanları (dk)	Pregabalin	PBN	P Değeri
30. dk (sn)	8,33 ± 0,81	8,16 ± 1,21	0,451
60. dk (sn)	9,50 ± 0,54	7,75 ± 1,33	0,026*
90. dk (sn)	8,50 ± 0,54	7,83 ± 1,03	0,215

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

* P<0.05, anlamlı olarak kabul edildi.

Grafik 1- Termal Hiperalezi Açısından Gruplararası Karşılaştırması

Saniye (sn)



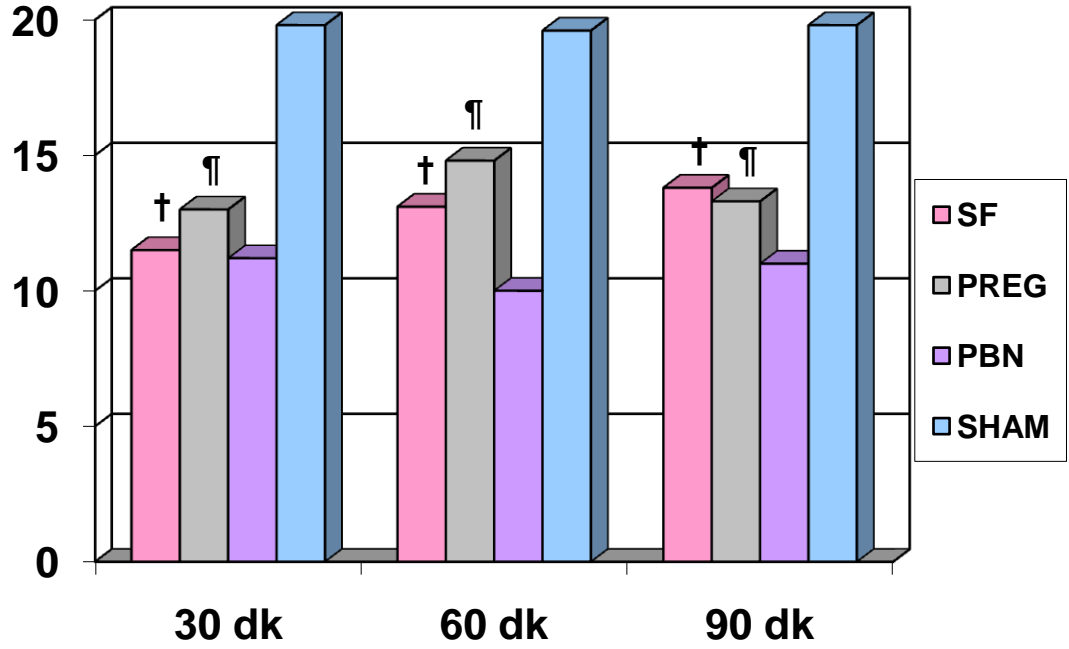
* SF grubunun sham grubu ile karşılaştırılması (p<0.05)

† Pregabalin grubunun SF ile karşılaştırılması (p<0.05)

‡ PBN grubunun SF ile karşılaştırılması (p<0.05)

Grafik 2- Soğuk Allodini Açısından Gruplararası Karşılaştırması

Saniye (sn)



†SF grubunun sham grubu ile karşılaştırılması ($p<0.05$)

¶ Pregabalin grubunun SF grubu ile karşılaştırılması ($p<0.05$)

IV.1.2. Analjezimetre ile Mekanik Hiperalezi Değerlendirmesi

KKH uygulanan SF grubu ile ligasyon yapılmayan sham grubu mekanik hiperalezi açısından karşılaştırıldığında, tüm ölçümlerde (1, 3, 5, 7.) SF grubunda mekanik hiperalezinin anlamlı olarak arttığı saptanmıştır ($p<0.05$) (Grafik 3).

Tablo 10

Analjezimetre ölçüm zamanları (sa)	SF	Sham	P Değeri
1. sa (g)	10,66 ± 2,13	14,08 ± 1,11	0,007*
3. sa (g)	11,16 ± 2,13	14,00 ± 0,83	0,019*
5. sa (g)	10,58 ± 2,33	14,50 ± 0,70	0,008*
7. sa (g)	10,33 ± 2,06	14,16 ± 0,93	0,018*

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

* P<0.05, anlamlı olarak kabul edildi.

SF ve pregabalin grupları mekanik hiperaljezi açısından karşılaştırıldığında, pregabalin grubunda 1, 3 ve 7. saatlerde mekanik eşik değerinin anlamlı derecede yükseldiği saptandı (p<0.05) (Grafik 3).

Tablo 11

Analjezimetre ölçüm zamanları (sa)	SF	Pregabalin	P Değeri
1. sa (g)	10,66 ± 2,13	13,58 ± 1,62	0,028*
3. sa (g)	11,16 ± 2,13	13,58 ± 1,02	0,043*
5. sa (g)	10,58 ± 2,33	12,33 ± 1,36	0,194
7. sa (g)	10,33 ± 2,06	12,16 ± 1,32	0,088*

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

* P<0.05, anlamlı olarak kabul edildi.

SF ve PBN uygulanan gruplar arasında yapılan karşılaştırılmada ise mekanik hiperaljezi açısından anlamlı fark saptanmadı.

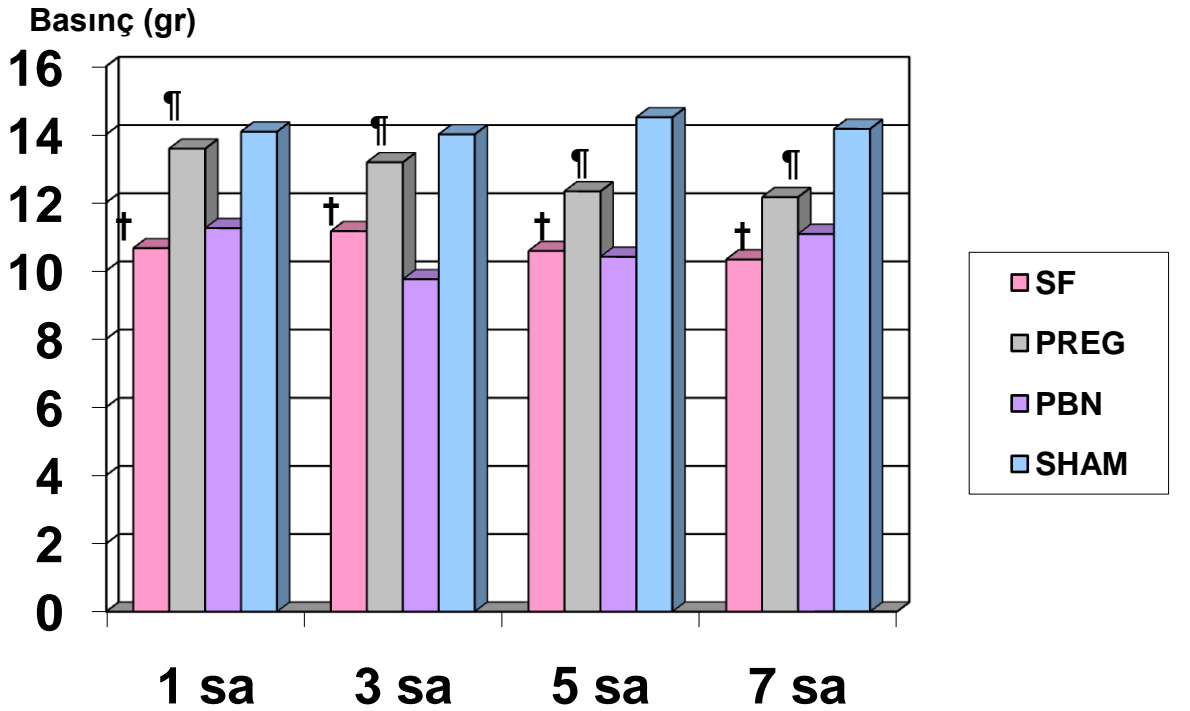
Tablo 12

Analjezimetre ölçüm zamanları (sa)	SF	PBN	P Değeri
1. sa (g)	10,66 ± 2,13	11,25 ± 1,83	0,809
3. sa (g)	11,16 ± 2,13	9,75 ± 1,89	0,256
5. sa (g)	10,58 ± 2,33	10,41 ± 1,85	0,870
7. sa (g)	10,33 ± 2,06	11,08 ± 2,10	0,467

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

* P<0.05, anlamlı olarak kabul edildi.

Grafik 3- Mekanik Hiperaljezi Açısından Gruplararası Karşılaştırma



† SF grubunun sham grubu ile karşılaştırılması (p<0.05)

†† Pregabalin grubunun SF grubu ile karşılaştırılması (p<0.05)

IV.1.3. Dinamik Plantar Esteziometre ile Mekanik Allodini Değerlendirilmesi

SF ve sham grubu karşılaştırıldığında, SF grubundaki ratların davranışlarında mekanik allodini açısından anlamlı olarak hasasiyet artışı saptandı ($p<0.05$)(Grafik 4).

Tablo 13

Dinamik Plantar Esteziometre (gram)	SF	Sham	P Değeri
1. sa	28,81±3,13	43,06±3,40	0,053 *
3. sa	30,23±1,69	43,48±2,82	0,004 *
5. sa	29,98±1,40	41,70±2,26	0,035 *
7. sa	24,78±1,77	42,20±1,43	0,008 *

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

sa: saat, SF: serum fizyolojik.

* $P<0.05$, anlamlı olarak kabul edildi

SF ve pregabalin uygulanan gruplar karşılaştırıldığında, pregabalin grubunda dinamik plantar esteziometre ile elde edilen sonuçlara göre 1, 3, 5 ve 7. saatlerde anlamlı olarak düzelme saptandı($p<0.05$) (Grafik 4).

Tablo 14

Dinamik Plantar Esteziometre (gram)	SF	Pregabalin	P Değeri
1. sa	28,81±3,13	38,51±4,96	0,005 *
3. sa	30,23±1,69	37,51±4,79	0,004 *
5. sa	29,98±1,40	37,05±4,93	0,004 *
7. sa	24,78±1,77	38,11±4,16	0,025 *

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

sa: saat, SF: serum fizyolojik.

* P<0.05, anlamlı olarak kabul edildi

SF ve PBN grupları arasında yapılan karşılaştırmada ise tüm saatlerde anlamlı fark saptanmadı.

Tablo 15

Dinamik Plantar Esteziometre (gram)	SF	PBN	P Değeri
1. sa	28,81±3,13	28,36±2,62	0,936
3. sa	30,23±1,69	22,76±3,72	0,688
5. sa	29,98±1,40	25,71±3,93	0,626
7. sa	24,78±1,77	33,45±4,35	0,807

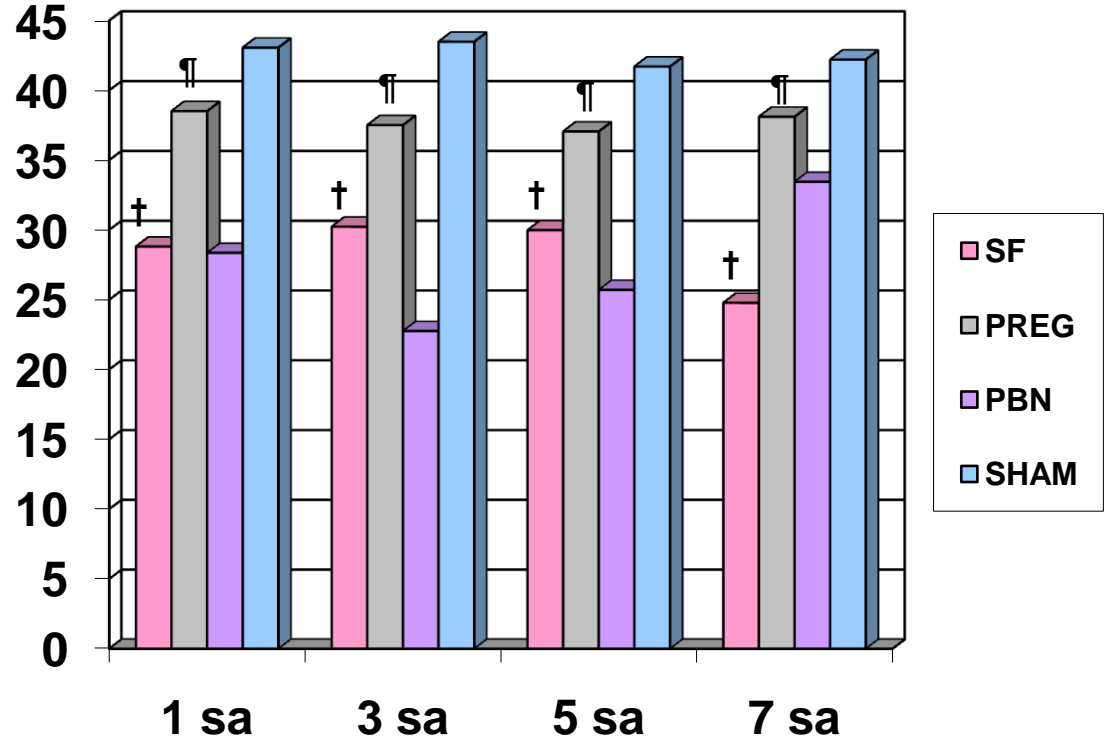
Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

sa: saat, SF: serum fizyolojik.

* P<0.05, anlamlı olarak kabul edildi

Grafik 4- Davranış Değerlendirmesi (Dinamik Plantar Esteziyometer)

Basınç (gr)



† SF grubunun sham grubu ile karşılaştırılması ($p < 0.05$)

†† Pregabalin grubunun SF grubu ile karşılaştırılması ($p < 0.05$)

IV.2. Biyokimyasal Değerlendirme

Dört gruptaki ratların cerrahi olarak alınan sinir dokularında biyokimyasal olarak MDA, glutatyon, koenzim Q10 ve NO değerlerine bakıldı.

SF ve sham grubu karşılaştırıldığında biyokimyasal değerler açısından NO ve MDA SF grubunda anlamlı olarak yüksek saptanırken, glutatyon ve Koenzim Q10 değerlerinde düşme olduğu görüldü.

Tablo 16

Biyokimyasal Değerler	SF	Sham	P Değeri
NO	30,57±24,10	1,92±1,42	0,004*
MDA	28,88±28,34	2,34±2,09	0,010*
Glutasyon	3735,37±2670,75	24673,56±15352,51	0,006*
Koenzim Q 10	3,94±1,49	35,41± 29,70	0,004*

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

* P<0.05, anlamlı olarak kabul edildi

Pregabalin ve SF grupları karşılaştırıldığında, Pregabalin grubunda NO düzeyinde anlamlı olarak düşük saptanmasına karşılık MDA; Glutasyon ve Koenzim Q10 değerlerinde bir fark saptanmadı.

Tablo 17

Biyokimyasal Değerler	SF	Pregabalin	P Değeri
NO	30,57±24,10	5,17±2,40	0,004*
MDA	28,88±28,34	9,40±9,57	0,109
Glutasyon	3735,37±2670,75	3341,05±1327,65	0,631
Koenzim Q10	3,94±1,49	5,23±3,04	0,378

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

* P<0.05, anlamlı olarak kabul edildi.

SF ve PBN grupları karşılaştırıldığında ise PBN grubunda NO ve MDA değerlerinde anlamlı olarak düşme saptanırken, koenzim Q 10 anlamlı olarak yüksek bulundu.

Tablo 18

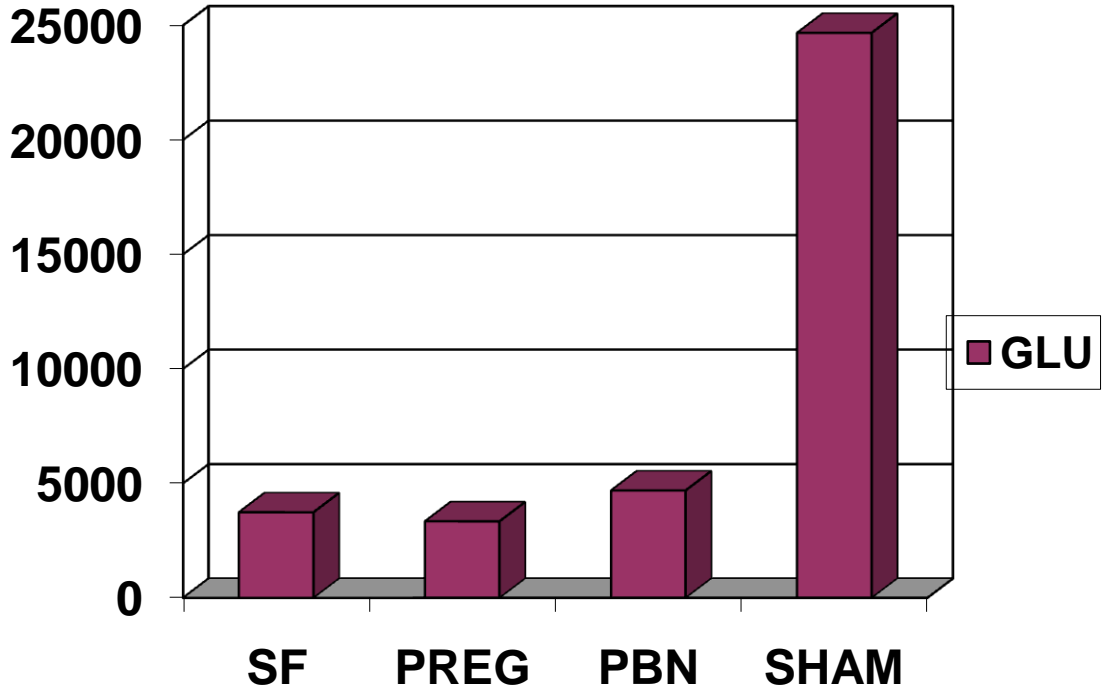
Biyokimyasal Değerler	SF	PBN	P Değeri
NO	30,57±24,10	5,45±088	0,004*
MDA	28,88±28,34	2,50±1,61	0,004*
Glutasyon	3735,37±2670,75	4688,11±2633,70	0,423
Koenzim Q10	3,94±1,49	12,44±8,06	0,025*

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

* P<0.05, anlamlı olarak kabul edildi.

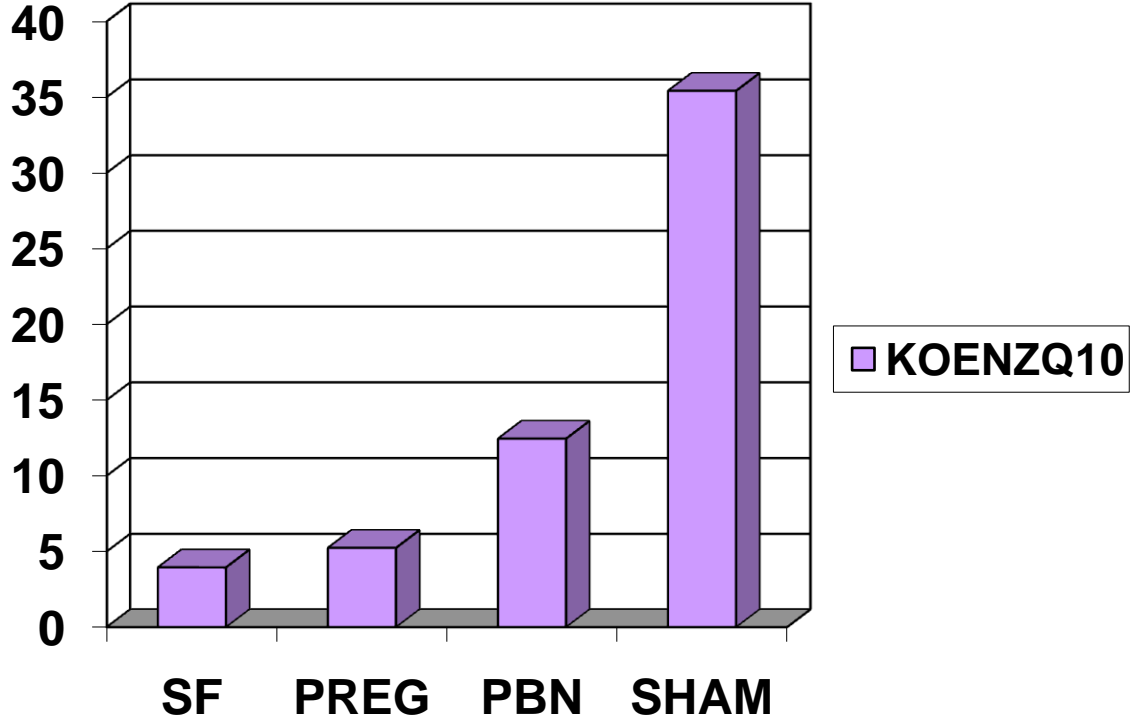
Grafik 5- Glutasyon Değerlendirmesi

Doku glutasyon
konsantrasyonu
(mmol/gr doku)



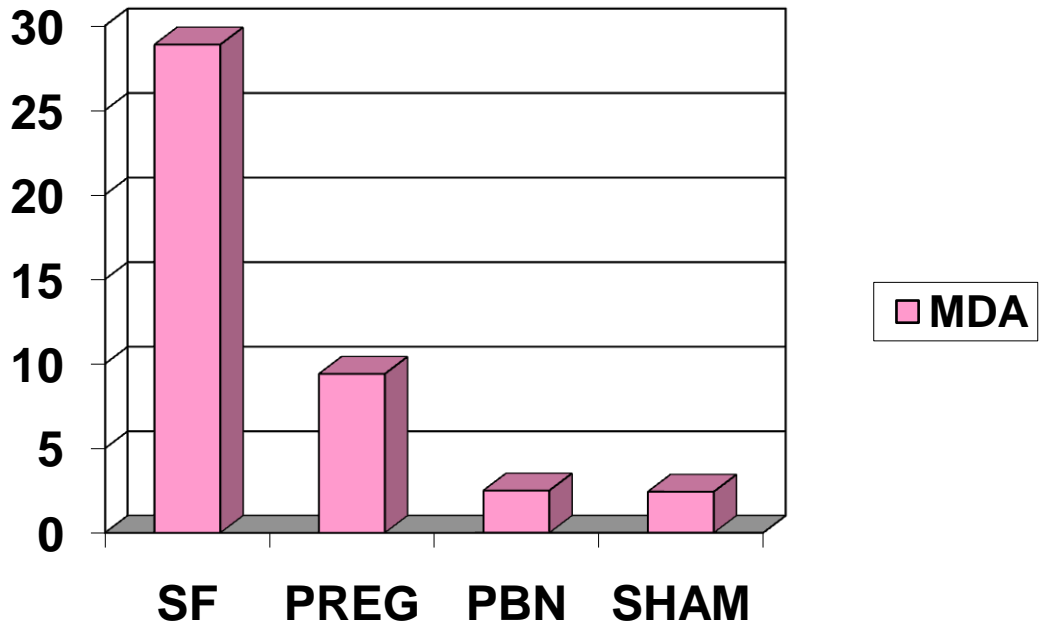
Grafik 6- Koenzim Q 10 Değerlendirilmesi

Doku koenzim Q10
konsantrasyonu
(mmol/gr doku)

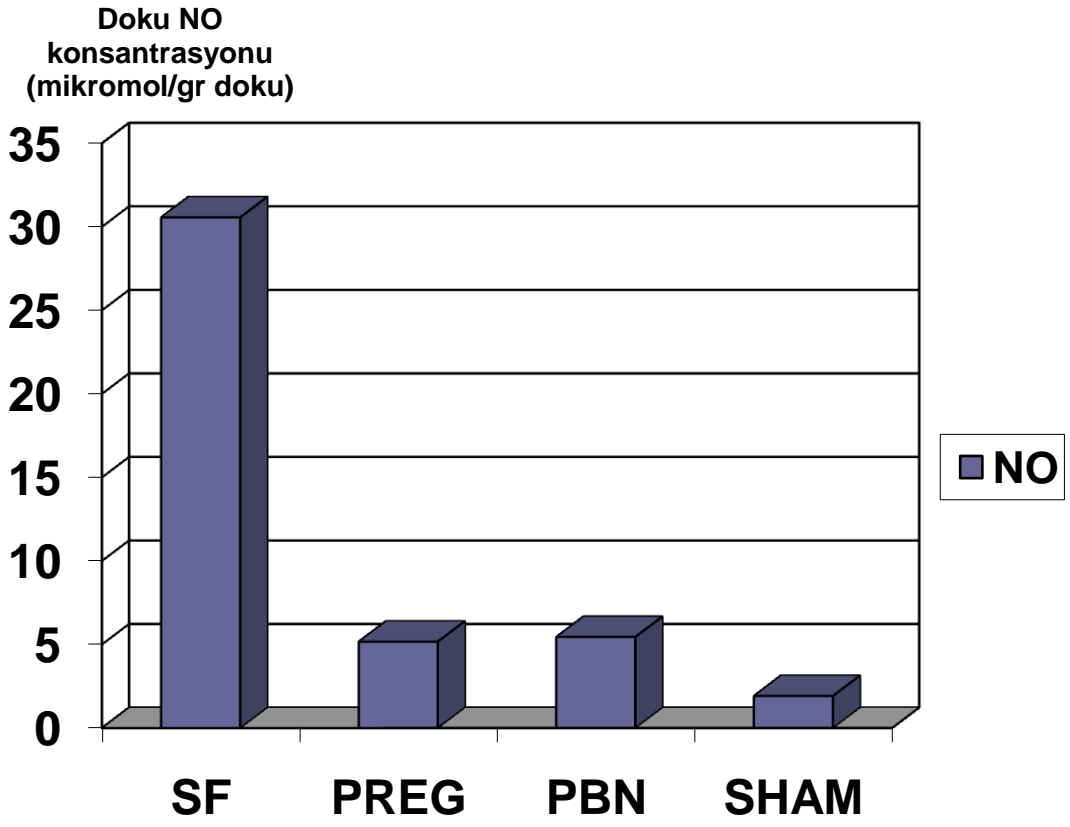


Grafik 7- MDA Değerlendirilmesi

Doku MDA
konsantrasyonu
(mmol/gr doku)



Grafik 8- NO Değerlendirilmesi



V. TARTIŞMA

Nöropatik ağrı, sinir sisteminin bir bölümünün hasarı ve/veya disfonksiyonu sonucu oluşmaktadır. Patofizyolojisinin daha iyi anlaşılması ve yeterli tedavi sağlanması için günümüzde çeşitli hayvan modelleri ile çalışmalar yapılmaktadır. Son yıllarda yapılan birçok deneysel ve klinik çalışma bu tanı ve tedavisi zor olan hastalık grubuna yaklaşımımızı kolaylaştırmasına rağmen, nöropatik ağrı tedavisi hala zorluklar göstermektedir.

Ağrı araştırmalarında insandan sonra en çok kullanılan sıçan ve farelerdir. Hayvanlarda ağrı eşiğinin ve analjezinin değerlendirilmesi oldukça zordur. Önemli olan hayvanın davranışlarını doğru değerlendirerek hayvanın ağrıyı ne zaman algıladığını tespit edebilmektir.

Tüm nöropatik ağrı modelleri içinde siyatik sinirin kronik konstriktif hasarı (KKH) en yaygın kullanılan yöntemdir. Biz de çalışmamızda siyatik sinire KKH oluşturarak nöropatik ağrı geliştirdik, nöropatik ağrıda oksidatif stres ve antioksidanların rolünü ve pregabalin ile PBN'nin analjezik etkilerini karşılaştırdık.

Siyatik sinir ligasyonu yapılan ratlarda sham grubuna göre mekanik hiperaljezi, mekanik allodini, soğuk allodini ve termal hiperaljezi bulguları saptanması, kullanılan nöropatik ağrı modelinin (siyatik sinir ligasyonunun) başarılı olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda kullandığımız pregabalin güçlü bir şekilde VGCC (voltaja duyarlı Ca kanalları) 'lerine bağlanarak kalsiyum girişini ve bu şekilde eksitatuvar nörotransmitterlerin salınımını azaltır. Pregabalin inflamatuvar ağrılı durumlarda nöropeptidlerin salınımını suprese ederek duyuşsal nöronlarda analjezi oluşturabilir (örn. substans P, kalsitonin geniyle ilişkili peptid) (42).

Yaptığımız çalışmada pregabalin uyguladığımız grupta termal hiperaljezi değerlendirilmesinde tüm saatlerde belirgin düzelme saptandı. Chen ve ark. yaptığı bir çalışmada nöropatik ağrı modeli oluşturulmuş ratlarda pregabalinin, allodini, termal hiperaljezi ve ektopik deşarjlar üzerine olan etkileri incelenmiştir ve en belirgin değişiklik pregabalin'in ektopik deşarjlar üzerine olan inhibitör etkisi olarak bulunmuştur. Ayrıca, pregabalin'in analjezik etkisinin, ektopik deşarjları azaltıcı etkisi ile paralellik gösterdiği ortaya konmuştur (59). Çalışmamızda kullandığımız davranış testlerinden diğeri dinamik plantar esteziometre ile mekanik allodini değerlendirilmesidir. Pregabalinin KKH'a bağlı nöropatik ağrı oluşturulan sıçanlarda mekanik eşik değerin yükselttiği saptandı.

Analjezimetre ile mekanik hiperaljezi değerlendirilmesinde de pregabalin mekanik eşik değeri anlamlı olarak yükselirken, PBN' nin mekanik hiperaljeziye etkisinin olmadığı görüldü. Yapılan başka bir çalışmada pregabalinin i.v. (5-50 mg/kg) ve intratekal (3.8-60 µg arasında değişen dozlarda) uygulamalarının fotokimyasal yolla indüklenen iskemik sinir lezyonunda doza bağımlı biçimde taktil allodiniyi suprese ettiği gösterilmiştir (47).

Vinkristin, streptozosin ve sinir hasarının indüklediği mekanik allodini; formalin, karragenan, substans P, NMDA ve termal hasarın indüklediği hiperaljezi ve cerrahinin indüklediği mekanik allodininin de içinde yer aldığı çeşitli nöropatik ağrı kemirgen modellerinde pregabalin antiallodinik ve antihiperaljezik aktiviteler gösterilmiştir (60). Dong Woo Han ve ark. yaptığı başka bir çalışmada pregabalinin antiallodinik etkisi olduğu saptanmıştır (61).

Bizim çalışmamızda pregabalinin termal hiperaljezi, soğuk allodini, mekanik hiperaljezi ve mekanik allodini açısından etkili olduğu saptanmış, bu sonuçların daha önce yapılan çalışmalarla uyumlu olduğu görülmüştür.

Araştırmamızda kullandığımız diğeri ilaç PBN' dir. Hayvan modellerinde, PBN'in mekanik allodiniye yardımcı olduğu ve davranışsal nöropatik ağrı gelişimini inhibe ettiği ileri sürülmektedir. Sonuçlar ROS temizleyicilerinin nöropatik ağrıda etkili analjezik ilaçlar olabileceklerini göstermektedir (62).

PBN oksijen radikallerini indükleyerek daha az reaktif hale getirir ve bu farmakolojik etkinin temeli olarak gösterilmektedir. Buna rağmen bu bilgi için çok fazla güçlü delil bulunmamaktadır. Yine de araştırmacılar yaptıkları hayvan deneylerinde serbest radikal varlığını PBN' nin farmakolojik etkisinde olduğunu kanıt olarak varsaymaktadırlar (4). Xiu Gao ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada nöropatik ve inflamatuvar ağrı modeli oluşturularak hiperaljezi ve artmış pNR1 ekspresyonu gösterilmiş. Sistemik PBN enjeksiyonu (100mg/kg) her iki ağrı modelinde de bir saat sonra hiperaljeziyi azaltmış ve spinal pNR1 artışı bloke etmiştir. Çalışma verileri nöropatik ve inflamatuvar ağrıda NMDA reseptör aktivasyonu ile ROS'i ilişkilendirmiştir (63). Bizim çalışmamızda PBN uygulanan ratlar kontrol grubuyla karşılaştırıldığında termal hiperaljezide tüm ölçümlerde (30,60,90 dk) anlamlı derecede düzelmeye saptanırken, soğuk allodini, mekanik hiperaljezi ve mekanik allodini de düzelmeye saptanmadı. Kim ve ark. yaptığı bir çalışmada siyatik sinirin bağlanması 3 gün sonra mekanik allodini gelişen ratlara sistemik PBN enjeksiyonu yapılmış ve mekanik allodinide hafifleme gözlenmiştir. Sonuçta PBN verilmesiyle nöropatik ağrı davranışlarının önlenmiş olduğu gösterilmiştir. Buna göre PBN spinal mekanizmalarda antiallodinik etki gösterdiği öne sürülmüştür (64).

Çalışmamızda PBN' nin yalnızca termal hiperaljezide etkili olduğu, soğuk allodini, mekanik hiperaljezi ve mekanik allodini de etkisinin olmadığı saptandı.

Bu çalışmada mekanik allodini, mekanik hiperaljezi, soğuk allodini ve termal hiperaljezide PBN ve pregabalin karşılaştırıldığında pregabalinin daha etkili olduğu gözlemlendi.

Biyokimyasal olarak siyatik sinir dokusunda glutatyon düzeyi ölçüldü. Glutatyon bir antioksidandır ve hücreleri serbest radikaller gibi toksinlerden korur ve nöropatolojilerde seviyesi azalır. Glutatyon seviyelerinin spinal kordda, dorsal kök ganglionlarındaki azalışı oksidatif stres duyarlılığının artışına hiperaljeziye bağlıdır. Çalışmamızda SF grubunda sham grubuna göre glutatyon değeri anlamlı olarak düşük saptandı. Glutatyon azalmasına

sebeup olarak oksidatif strese bağlı tüketime gösterilebilir. SF ve PBN grubu karşılaştırıldığında PBN grubunda glutasyon düzeyi daha yüksek saptandı ama fark anlamlı değildi. PBN' nin antioksidan özelliğinden dolayı oksidatif stresin azalmasına bağlı glutasyon düzeyi yüksek saptanmış olabilir. Devarapali ve ark. yaptığı çalışmada siyatik sinir gümüş tel ile bağlanarak nöropatik ağrı oluşturulmuştur. Siyatik sinir, spinal kord, dorsal kök ganglionu ve ventral kökte süperoksit dismutaz ve glutasyon peroksidaz gibi enzimler belirgin şekilde artarken, glutasyon ve katalaz düzeyleri anlamlı ölçüde baskılanmıştır. Siyatik sinir, spinal kord ve dorsal kök ganglionundaki stres markerlarının ve antioksidan enzimlerin farklı olması tüm bölgelerin oksidatif strese eşit duyarlılıkta olmadığını göstermiştir (3).

Çalışmamızda biyokimyasal olarak ölçtüğümüz diğer parametre NO' dur. SF grubunda NO sham grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptandı. SF'de yüksek saptanması nöropatik ağrıda nitrik oksitin rolü olduğunu göstermektedir. Pregabalın ve PBN uyguladığımız gruplarda NO düzeyi anlamlı olarak azaldı. Bu sonuç pregabalın ve PBN' nin nöropatik ağrıda NO mekanizmasını baskılayarak etkili olabileceğini düşündürmektedir. Yapılan çalışmalarda nitrik oksit blokajı nöropatik hayvan modellerinde ağrının azalmasına yol açmaktadır. Guan ve ark. yaptığı bir çalışmada farelere L5 sinir seviyesinden tek taraflı nöropatik ağrı oluşturulmuş. Farelere NOS inhibitörü uygulanmış ve nöropatik ağrıya bağlı oluşan mekanik hipersensitiviteyi belirgin biçimde tersine çevirdiği görülmüştür (65).

Oksidatif stresde lipid peroksidasyonu ile oluşan MDA SF grubunda sham grubuna göre daha yüksek saptandı ancak anlamlı fark izlenmedi. PBN grubunda SF' e göre anlamlı olarak düşük saptandı. Bu sonuçlar nöropatik ağrıda MDA düzeyinin arttığını ve PBN nin antioksidan özelliği olduğunu gösterdi. Pregabalinde anlamlı olmamasına rağmen SF grubuna göre düşük saptandı. Bu da bize PBN kadar olmasada pregabalinin de oksidatif stres üzerine etkisi olabileceğini düşündürdü.

Koenzim Q10 mitokondriyal elektron taşıma zincirinin bileşeni olan, membran stabilizasyonunda rol oynayan güçlü bir antioksidandır (28).

Çalışmamızda SF grubu Sham grubuyla karşılaştırıldığında koenzim Q10 düzeyi anlamlı olarak düşükken, PBN grubunda anlamlı olarak yüksek saptandı. Pregabalin grubunda da SF' e göre yüksek saptanmasına rağmen fark anlamlı değildi.

Biyokimyasal sonuçlar nöropatik ağrıda reaktif oksijen radikallerinin rolü olduğunu göstermektedir. Ayrıca PBN ve pregabalinin her ikisinin de oksidatif stres üzerine etkili olduğu ancak PBN' nin pregabaline göre etkisinin daha fazla olduğu saptanmıştır. Buna karşılık global değerlendirmede pregabalinin tek başına analjezik etkisi PBN'ye göre daha güçlü bulunmuştur.

VI. SONUÇ

Bu çalışmada, önceden nöropatik ağrı tedavisindeki etkinliği bilinen pregabalinin Ca kanal blokajı yolu ile hem termal hiperaljezi ve mekanik hiperaljezi hem de soğuk allodini ve mekanik allodini de etkili olduğu ortaya konulurken, PBN'nin antioksidan mekanizma ile termal hiperaljezide etkili oldu buna karşılık soğuk allodini, mekanik allodini ve mekanik hiperaljezide etkisiz kaldığı gösterildi.

Sonuç olarak PBN'in, pregabalin kadar kapsamlı olmasa da nöropatik ağrı tedavisinde etkili olabileceği, diğer bir deyiş ile ROS temizleyicilerinin Ca kanal blokerlerine alternatif değil, ancak birlikte kullanılacak aditif veya sinerjist etkiye sahip ajanlar olabileceği kanısına varılmıştır.

VII. ÖZET

Bu çalışmada, serbest oksijen radikallerinin nöropatik ağrı gelişimindeki rolü ile PBN nin bunu engellenmesindeki etkisi ve PBN ile pregabalinin nöropatik ağrı tedavisindeki yerleri araştırılmıştır.

Çalışmamızda ağırlıkları 230-250 gram arasında değişen Wistar-albino cinsi 24 adet dişi ratlar kullanıldı. Sıçanlar randomize olarak dört gruba ayrıldı. Operasyondan 24 saat önce tüm ratların soğuk allodini, termal ve mekanik hiperaljezi, mekanik allodini açısından davranış değerlendirmeleri yapıldı. Tüm ratlara ait bazal değerler kaydedildi. Eter anestezisi altında ratlara siyatik sinir ligasyonu ile kronik konstriksiyon hasarı oluşturularak nöropatik ağrı geliştirildi. IV. Gruba sham operasyonu yapıldı. Cerrahi girişiminden sonra 15. Günde grup 1' e intraperitoneal 2 ml SF, grup 2' ye intraperitoneal 30 mg/kg pregabalin, grup 3'e 100mg/kg PBN uygulandı. İlaç uygulamasından sonra 1, 3, 5 ve 7. saatlerde analjezimetre ile mekanik hiperaljezi ve Dynamic plantar eisteziometre ile mekanik allodini; 30, 60 ve 90. dakikalarda sıcak/soğuk tabla ile termal hiperaljezi ve soğuk allodini değerlendirmesi yapılarak kaydedildi. Bir gecelik açlık sonrası deney hayvanları eter anestezisi altında sakrifiye edildi. Ratların siyatik sinirleri çıkarıldı ve soğuk izotonik NaCl solüsyonu ile yıkandı. Kan ve diğer dokulardan temizlenip kurulandıktan sonra dokular homojenize edilinceye kadar derin dondurucuda (-80 °C) saklandı. Dondurulmuş olan dokular analiz günü kademeli olarak çözündürüldü. HPLC ile MDA, total glutatyon, koenzim Q 10 ve Griess reaksiyonu kullanılarak spektrofotometrik NO ölçümleri yapıldı.

Siyatik sinir ligasyonu yapılan ratlarda sham grubuna göre mekanik hiperaljezi, mekanik allodini, soğuk allodini ve termal hiperaljezi bulguları

saptanması, kullanılan nöropatik ağrı modelinin (siyatik sinir ligasyonunun) başarılı olduğunu göstermektedir.

Pregabalinin termal hiperaljezi, mekanik hiperaljezi, soğuk allodini ve mekanik allodini de etkili olduğu saptanırken, PBN' nin yalnızca termal hiperaljezide etkili olduğu saptandı.

Glutasyon düzeyi SF grubunda shama göre düşük bulunurken, PBN grubunda SF'e göre yüksek saptandı. Koenzim Q10 düzeyinde SF grubu Sham grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı olarak düşükken, PBN grubunda anlamlı olarak yüksek saptandı. MDA düzeyi ise SF grubunda daha yüksek saptanırken, PBN grubunda daha düşük saptandı. Bu sonuçlar nöropatik ağrıda oksidatif stresin arttığını ve PBN' nin antioksidan özelliğini göstermiştir. Ölçtüğümüz diğer biyokimyasal parametre NO' dur. SF grubunda shama göre NO düzeyi artarken, PBN ve pregabalin uygulandığında azaldığı saptandı. Bu sonuç da pregabalin ve PBN' nin nöropatik ağrıda NO mekanizmasını baskılayarak etkili olabileceği düşünülmüştür.

Sonuç olarak PBN'in, pregabalin kadar kapsamlı olmasa da nöropatik ağrı tedavisinde etkili olabileceği, diğer bir deyiş ile ROS temizleyicilerinin Ca kanal blokerlerine alternatif değil, ancak birlikte kullanılacak aditif veya sinerjist etkiye sahip ajanlar olabileceği kanısına varılmıştır.

VIII. SUMMARY

The objectives of this study were to examine the role of reactive oxygen species and oxidative stress in peripheral neuropathy and the effects of PBN to hinder the neuropathic pain. The role of PBN and pregabalin were also investigated on neuropathic pain treatment in rats.

Twenty-four adult female Wistar albino rats weighing 230-250 g were included in the study. Rats were randomly divided into 4 groups. Group IV had the sham procedure. Group I, II and III were the groups that neuropathy was induced by CCI of the right sciatic nerve ligation under ether inhalation anaesthesia. 24 hours before the ligation of the sciatic nerve, all rats were investigated using nociceptive behavioural tests. For each rat, the basal values of behavioural tests, mechanical, thermal and cold stimuli, that were measured by analgesimeter, mechanical allodyni dynamic plantar eisteziometer and hot/cold plate, were recorded. On the 15th day of sciatic nerve ligation, intraperitoneal administration of the drugs was performed. 2 ml saline group I, 30 mg/kg pregabalin to group II and 100 mg/kg PBN to group III respectively. Mechanical hyperalgesia and dynamic plantar eisteziometer mechanical allodynia were performed the following 1, 3, 5 and 7th hours while the tests for cold allodynia and thermal hyperalgesia were performed. 30, 60 and 90. minutes after the administration. Sciatic nerves from CCI induced and sham operated rats were obtained on the 16th day of the surgery. A segment of sciatic nerve, approximately 1,5 cm in length, 5 mm proximal and 5 mm distal to the injured site was used for preparing the homogenate for biochemical estimation. The tissues were then analysed for free radical and antioxidant enzyme activities (Coenzyme Q10, glutathion, malondialdehyde) by using HPLC and by using Griess reaction spectrophotometric NO measurements were estimated.

When compared with the sham group, behavioural tests, mechanical, thermal and cold stimuli confirmed the development of neuropathic pain after the sciatic nerve ligation in saline group. That shows the success of neuropathic pain model (sciatic nerve ligation). Data suggest that either pregabalin was effective of thermal hyperalgesia, mechanical hyperalgesia, cold and mechanical allodynia where PBN was only effective thermal hyperalgesia.

Glutathione levels of ligated sciatic nerves in saline group were decreased compared to non-ligated sciatic nerves (sham group). Coenzyme Q10 level significantly decreased in the ligated sciatic nerves compared to sham group while MDA level were significantly increased in PBN group. While MDA level were increased in saline group, were decreased in PBN group. These results show that oxidative stress increases in neuropathic pain and PBN has antioxidant feature. The other biochemical parameter which was measured NO level. It is determined that according to sham, NO levels were increased in saline group and decreased when PBN and pregabalin were administered. According to this result it is thought that pregabalin & PBN are effective in neuropathic pain by suppressing the NO mechanism.

In conclusion, PBN can be effective in treatment of neuropathic pain. Though its effects are not as inclusive as pregabalin, in other words, ROS cleaners are not an alternative to Ca channel blockers but are agents that can be used together with Ca channel blockers to make an additive or synergistic effect.

IX. KAYNAKLAR

- 1) Önal SA: Ağrı. Önal SA. (editör). Algoloji. 1. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2004: 1- 20.
- 2) Galer BS, Gianas A, Jensen MP: Painful diabetic polyneuropathy: epidemiology, pain description, and quality of life. *Diabetes ResClin Pract* 2000; 47: 123-128.
- 3) Deverapali Varija, K.P. Kumar.Prolonged constriction of sciatic nevre affecting oxidative stressors antioksidant enzymes in rat. *Indian J Med Res*, 2009; 129: 587-592
- 4) Kotake Y. Pharmacologic properties of phenyl N-tert-butylnitron. *Antioxidants and Redox Signaling* 1999; 1: 481-99.
- 5) Blommel ML, Blommel AL: Pregabalin: an antiepileptic agent usefulfor neuropathic pain. *Am J Health Syst Pharm*. 2007; 64: 1475-82.
- 6) Ertekin C: Ağrının Nöroanatomisi ve Nörofizyolojisi. Yegül İ. (editör). Ağrı ve Tedavisi.1. Baskı. İzmir: Yapım Matbaacılık, 1993: 1 – 18.
- 7) Erdine S: Ağrı Mekanizmaları. Erdine S. (editör). Ağrı. 2. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2002: 20 – 29.
- 8) Portenoy RK, Kanner RM. Definition and assesment of pain: Pain Management: Theory and practise. Philadelphia. F.A. Davis,1996; 3-18.
- 9) Hunt S.P., Pini A., Evon G.: Induction of Clas-like protein spinal cord neurones following sensory stimulation.*Nature* 1997; 328: 632-634.
- 10) Max MB. Clarifying the definition of neuropathic pain. *Pain* 2002; 96: 406-7.
- 11) Merskey H, Bogduk N, editors. International association for the study of pain. IASP pain terminology. Classification of chronic pain. 2rd ed. IASP Press; 1994.

- 12) Attal N, Bouhassira D. Mechanisms of pain in peripheral neuropathy. *Acta Neurol Scand* 1999; 73 (Suppl 1): 12-24.
- 13) Baron R. Peripheral neuropathic pain: From mechanisms to symptoms. *Clin J Pain* 2000; 16: 12-20.
- 14) Moulin DE, Clark AJ, Gilron I, et al. Pharmacological management of chronic neuropathic pain- consensus statement and guidelines from the Canadian Pain Society. *Pain Res Manage* 2007; 12: 13-21.
- 15) Holland NR: Idiopathic painful sensory neuropathy. *J Clin Neuromusc Dis* 2001; 2: 211-220.
- 16) Dworkin RH, . Advances in neuropathic pain: diagnosis, mechanisms and treatment recommendations. *Arch Neurol* 2003; 60: 1524-34.
- 17) Serra J. Overview of neuropathic pain syndromes. *Acta Neurol Scand* 1999; 100 (Suppl 173): 7-11
- 18) Zimmermann M. Pathobiology of neuropathic pain. *Eur J Pharmacol* 2001; 429: 23-37.
- 19) Jensen TS, Baron R. Translation of symptoms and signs into mechanisms in neuropathic pain. *Eur J Pharmacol.* 2001; 429: 1-11.
- 20) Sindurp SH, Jensen TS. Pharmacologic treatment of pain in polyneuropathy. *Neurology* 2000; 55: 915-20.
- 21) Berker E: Nöropatik Ağrı ve Fizyopatolojik Mekanizmalar. *Türkiye Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Dergisi* Mart 2005; 1-5
- 22) Moriyama T, Higashi T, Togashi K. Sensitization of TRPV1 by EP1 and IP reveals peripheral nociceptive mechanism of prostaglandins. *Mol Pain.* 2005; 1: 3.
- 23) Beydoun A, Backonja M. Mechanistic stratification of antineuralgic agents. *Journal of Pain and Symptom Management.* 2003; 25: 18-30.
- 24) Kim HK, Kim JH, Gao X, Zhou JL, Lee I, Chung K, et al. Analgesic effect of vitamin E is mediated by reducing central sensitization in neuropathic pain. *Pain* 2006; 122: 53-62.
- 25) Park ES, Gao X, Chung JM, Chung K. Levels of mitochondrial reactive oxygen species increase in rat neuropathic spinal dorsal horn neurons. *Neurosci Lett* 2006; 391: 108-11.

- 26)** Tal M. A novel antioxidant alleviates heat hyperalgesia in rats with an experimental painful peripheral neuropathy. *Neuro Report* 1996; 7: 1382-4.
- 27)** Meister A, Anderson ME. Glutathione. *Annu Rev Biochem* 1983; 52: 711-760.
- 28)** Folkers K, Langsjoen P, Willis R, Richardson P, Xia LJ, Ye CQ, et al. Lovastatin decreases coenzyme Q levels in humans. *Proc Natl Acad Sci* 1990; 87: 8931-4.
- 29)** Portakal O, Inal-Erden M. Effects of pentoxifylline and coenzyme Q10 in hepatic ischemia/reperfusion injury. *Clin Biochem* 1999; 32: 461-6.
- 30)** Ostrowski RP. Effect of coenzyme Q10 (CoQ10) on superoxide dismutase activity in ET-1 and ET-3 experimental models of cerebral ischemia in the rat. *Folia Neuropathol* 1999; 37: 247-51.
- 31)** Tamer L, Polat G, Eskandari G, Ercan B, Atik U. Serbest radikaller. *Mersin Üniv Tıp Fak Der*, 2000; 1 (1): 52-58.
- 32)** Mustafa B. Çekmen, Mehmet Turgut, Yusuf Türköz ve ark. Nitrik oksit (NO) ve nitrik oksit sentetaz (NOS)' in fizyolojik ve patolojik özellikleri. *Türkiye Klinikleri J Pediatri* 2001; 10(4): 226-35
- 33)** A. Miclescu and T. Gordh. Nitric oxide and pain: something old, something new. *Acta Anaesthesiol Scand* 2009; 53: 1107-1120.
- 34)** Garthwaite J. Concepts of neural nitric oxide-mediated transmission. *Eur J Neurosci* 2008; 27: 2783–802.
- 35)** Gühring H, Tegeder I, Lötsch J, Pahl A, Werner U, Reeh PW, Rehe K, Brune K, Geisslinger G. Role of nitric oxide in zymosan induced paw inflammation and thermal hyperalgesia. *Inflamm Res* 2001; 50: 83–8.
- 36)** De Alba J, Clayton NM, Collins SD, Colthup P, Chessell I, Knowles RG. GW274150, a novel and highly selective inhibitor of the inducible isoform of nitric oxide synthase (iNOS), shows analgesic effects in rat models of inflammatory and neuropathic pain. *Pain* 2006; 120: 170–81.
- 37)** Sung CS, Wen ZH, Chang WK, Ho ST, Tsai SK, Chang YC. Intrathecal interleukin-1b administration induces thermal hyperalgesia by activating

- inducible nitric oxide synthase expression in the rat spinal cord. *Brain Res* 2004; 1015: 145–53.
- 38)** Salerno L, Sorrenti V, Di Giacomo C, Romeo G, Siracusa MA. Progress in the development of selective nitric oxide synthase (NOS) inhibitors. *Curr Pharm Des* 2002; 8: 177–200.
- 39)** Eisenberg E, River Y, Shifrin A, Krivoy N: Antiepileptic drugs in the treatment of neuropathic pain. *Drugs*. 2007; 67: 1265-89.
- 40)** Harden N, Cohen M: Unmet needs in the management of neuropathic pain. *J Pain Symptom Manage*. 2003; 25: S12-7.
- 41)** Baron R. Neuropathic pain the long path from mechanisms to mechanism-based treatment. *Intern J Pain Med Palliative Care* 2001; 1: 2-14.
- 42)** Kavoussi R. From molecule to medicine. *European Neuropsychopharmacology* 2006; 16: S128-S133.
- 43)** Cada DJ, Levien T, Baker DE. Pregabalin. *Hospital Pharmacy* 2006; 41(2): 157- 172.
- 44)** Brodie MJ. Pregabalin as adjunctive therapy for partial seizures. *Epilepsia* 2004; 45(Suppl 6): 19-27.
- 45)** Jezyk N, Li C, Stewart BH, Wu X, Bockbrader HN, Fleisher D. Transport of pregabalin in rat intestine and Caco-2 monolayers. *Pharm Res* 1999; 16: 519-26.
- 46)** Welty, D, Wang, Y, Busch, JA, Taylor, CP, Vartanian, MG, Radulovic, LL Pharmacokinetics (PK) and pharmacodynamics (PD) of CI-1008 (pregabalin) and gabapentin in rats with maximal electroshock. *Epilepsia* 1997, 38 (Suppl.8): Abst 1.110.
- 47)** Guay DRP. Pregabalin in Neuropathic Pain: A More "Pharmaceutically Elegant" Gabapentin? *Am Geriatr Pharmacother* 2005;3:274-287.
- 48)** Arıcıoğlu F. Ağrı araştırmalarında kullanılan hayvan modelleri. *Klinik gelişim dergisi* 2007; 20(3): 28-35.
- 49)** Wall PD, Devor M, Inbal M, Scadding JV, Schonfeld D, Seltzer Z, Tomkiewicz MM Autotomy following peripheral nerve lesion: Experimental anesthesia dolorosa. *Pain* 1979; 7: 103 –113.

- 50)** Bennett GJ, Xie YK. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain* 1988; 33, 87-107.
- 51)** Seltzer Z, Beilin B, Ginzburg R, Paran Y and Shimko T. The role of injury discharge in the induction of neuropathic pain behavior in rats. *Pain* 1991; 46: 327-336
- 52)** Kim SH, Chung JM. An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in rat. *Pain* 1992; 50: 355-363.
- 53)** Zeltzer R, Seltzer Z. A practical guide for the use of animal models in the study of neuropathic pain. J Boivie P Hansson and U Lindblom (Eds). *Touch Temperature and Pain in Health and Disease: Mechanisms and Assessments, Progress in Pain Research and Management*. IASP Press, Seattle ABD, 1994; 3: 295 - 338.
- 54)** Bennett GJ. Animal models of neuropathic pain. GF Gebhart, DL Hammond and TS Jensen (Eds). *Proceedings of the 7th World Congress on Pain. Progress in Pain Research and Management*. IASP Press, Seattle ABD, 1994; 2: 495 – 510.
- 55)** Randall LO, Selitto JJ. A method for measurement of analgesic activity on inflamed tissue. *Arch Int Pharmacodyn* 1957; 111: 409-419.
- 56)** Özsoylar O, Akçali D, Cizmeci P, Babacan A et al. Percutaneous pulsed radiofrequency reduces mechanical allodynia in a neuropathic pain model. *Anesth Analg* 2008; 107(4): 1406-11.
- 57)** Cortas NK, Wakid NW. Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method. *Clin Chem* 1990; 36: 1440-1443.
- 58)** Somogy M. A method for the preparation of blood filtrates for the determination of sugar. *J Biol Chem* 1930; 86: 55
- 59)** Chen SR, Xu Z, Pan HL. Stereospecific effect of pregabalin on ectopic afferent discharges and neuropathic pain induced by sciatic nerve ligation in rats. *Anesthesiology* 2001; 95: 1473-1479.

- 60)** Frampton JE, Scott LJ. Pregabalin In the Treatment of Painful Diabetic Peripheral Neuropathy. *Drugs* 2004; 64 (24): 2813-2820.
- 61)** Dong Woo Han, Tae Dong Kweon, Jong Seok Lee and Youn-Woo Lee. Antiallodynic Effect of Pregabalin in Rat Models of Sympathetically Maintained and Sympathetic Independent Neuropathic Pain. *Yonsei Medical Journal* 2007; 48: 41-47
- 62)** Chung JM. The role of reactive oxygen species (ROS) in persistent pain. *Mol Interv* 2004; 4: 248–9.
- 63)** Xiu Gao, Hee Kee Kim, Jin Mo Chung, Kyungsoon Chung. Reactive oxygen species (ROS) are involved in enhancement of NMDA-receptor phosphorylation in animal models of pain. *Pain* 2007; 131: 3: 262-271
- 64)** Kim HK, Park SK, Zhou JL, Tagliatela G, Chung K, Coggeshall RE, et al. Reactive oxygen species (ROS) play an important role in rat model of neuropathic pain. *Pain* 2004; 111(1-2): 116-24.
- 65)** Guan Y, Yaster M, Raja SN, Tao YX. Genetic Knockout and pharmacologic inhibition of neuronal nitric oxide synthase attenuate nerve injury-induced mechanical hypersensitivity in mice. *Mol Pain* 2007; 3: 29.