

T.C.
CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı

NÖROPATİK AĞRIDA REAKTİF OKSİJEN TÜRLERİNİN
ROLÜ VE ANTİOKSİDANLARIN ANALJEZİK ETKİLERİ

UZMANLIK TEZİ
Dr. Ayşe Eda BAYRAM

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. E. Alp YENTÜR

MANİSA 2009

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimimin başladığı ilk günden bugüne kadar bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, desteklerini hiçbir koşulda esirgemeyen, meslek yaşantımda daima örnek alacağım ve emeklerini karşılıksız bırakmamaya çalışacağım değerli hocam Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Melek ÇİVİ'ye ve tez hocam Doç. Dr. E.Alp YENTÜR'e, en ümitsizliğe kapıldığım anlarda güç toplamamı, kaldığım yerden daha da güçlü bir şekilde devam etmemi ve mesleğime yeni bir bakış açısıyla bakmamı sağlayan Doç. Dr. İsmet TOPÇU'ya, tez çalışmam süresince desteğini her an yanında hissettiğim Doç. Dr. Ece ONUR'a, tezimin hazırlanmasında büyük emekleri olan Prof. Dr. Osman ÖZTÜRK, Uzm. Dr. Beyhan CENGİZ ÖZYURT, Dr. Canan UYSAL , Dr. Mehmet ÇALKAN, Dr. İlkay ARAS, Dr. Gülçağ GÜRAL ve Dr. Öznur BAMBAL'a, mesleğimi öğrenme ve geliştirme safhalarında emekleri olan anabilim dalımızdaki öğretim üyelerine, asistanlık eğitimim esnasında beraber çalıştığım, hayatı büyük bir aile gibi paylaştığım değerli asistan arkadaşlarıma, beraber çalıştığımız anestezi teknisyeni, hemşire ve personellere, doğduğum andan bu yana elimi hiç bırakmayan, aldığım her kararda sonuna kadar beni destekleyen anneme ve babama, diğer yarım, canım kardeşime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. A. Eda BAYRAM

İÇİNDEKİLER

I. GİRİŞ	1
II. GENEL BİLGİLER	4
III. GEREÇ VE YÖNTEM	26
IV. BULGULAR	31
V. TARTIŞMA	43
VI. SONUÇ	47
VII. ÖZET	49
VIII. SUMMARY	51
IX. KAYNAKLAR	53

I. GİRİŞ

Ağrı duyusu, olası hasara karşı vücudu uyarmak için sinyal üreten, sinir sisteminin hayati fonksiyonlarından biridir.¹ Ağrı, IASP (International Association for the Study of Pain)'e göre, varolan veya olası doku hasarına eşlik eden veya bu hasar ile tanımlanabilen, hoş olmayan, emosyonel ve sensoryel deneyimdir.²

Ağrının temel öğeleri nosisepsiyon, ağrı oluşumu, ağrı algılanması, acı çekme ve ağrıya bağlı davranışlar olarak sıralanabilir. Ağrı algılamasının birçok sensoryel, emosyonel ve davranışsal etkenlerden etkilenen karmaşık bir olay olduğu unutulmamalıdır. Ağrı fizyolojik ve fizyopatolojik ya da klinik olarak değerlendirilebilir.³

Akut ağrı, periferde ağrılı uyaranların nosiseptörleri uyarmasıyla ve beynin bunu ağrılı ve zararlı bir uyaran olarak algılamasıyla karşımıza çıkar. Vücut, enflamasyon veya sinir hasarlanmasıyla karşı karşıya kaldığında ağrı, koruyucu bir işlev görür ve potansiyel harabiyete karşı uyarı sistemi olarak karşımıza çıkar. A-delta (δ) ve C lifleri etkin hale gelir ve dokunma, basınç gibi diğer sensoryel duylara ait yolların aktivasyonu da buna eşlik eder. Bu durumda ağrı geçicidir ve kolay lokalize olur.

Kronik ağrıda süreçler farklı seyrederek klinik ağrıya yol açar. A-delta (δ) ve C liflerinin yanısıra, A-beta (β) lifleri de aktif hale geçebilir. Ağrı artık patolojiktir. Periferik ve santral sensitizasyon ortaya çıkar. Ağrı uyaran ortadan kalktıktan sonra da devam eder ve hasar görmemiş alanlara yayılabilir.

Ağrı, mekanizmalarına göre deafferantasyon ağrısı, reaktif ağrı, nosiseptif ağrı, nöropatik ağrı, psikosomatik ağrı olarak da sınıflandırılabilir.¹

Deafferantasyon ağrısı, periferik ya da merkezi sinir sistemi lezyonlarına bağlı somatosensoryel uyaranların merkezi sinir sistemine iletiminde kesilme ile ortaya çıkmaktadır.^{1,4}

Nosiseptif ağrı, ağrılı uyarıya verilen uygun fizyolojik cevap olarak tanımlanabilir. Bir başka deyişle doku hasarına fizyolojik bir yanıttır. Hasarlı doku çevresindeki periferik nosiseptörlerin normal aktivasyonu sonucu oluşur,

ve yine normal fonksiyonlu sensorinöral yollar ile santral sinir sistemine taşınır. Hasarlı doku ve çevre dokuda ağrı, duyarlılık ortaya çıkar. İyileşme süreci ile birlikte ağrı giderek kaybolur. Genellikle nosiseptif ağrının, tahmin edilen doku hasarı ile orantılı olduğuna inanılır. Bu tip ağrılara somatik ve visseral ağrılar örnek gösterilebilir.^{1,4}

Reaktif ağrı, motor ya da sempatik afferentlerin refleks aktivasyonu sonucu gelişen nosiseptör uyarılmasına bağlı olarak ortaya çıkar. Bu tip ağrılara miyofasyal ağrılar örnek gösterilebilir.^{1,4}

Psikosomatik ağrı, psikososyal sorunların arttığı durumlarda izlenen ağrı olarak tanımlanan somatizasyon ve hipokondriazis gibi durumlardır.^{1,4}

Nöropatik ağrı, IASP'nin tanımına göre sinir sisteminde primer lezyon veya disfonksiyonun neden olduğu ya da başlattığı ağrıdır.¹ Fizyolojik ağrıdan farklı olarak, nöropatik ağrı, eksternal uyaran olmaksızın ve/veya normalde zararsız kabul edilen bir uyaran karşısında artmış spontan ağrı ile karakterizedir.⁵⁻⁷ Somatosensoryel sistemin anormal uyarılması söz konusudur. Nöropatik ağrı normal nosiseptif yollardan geçer ve çoğunlukla direkt doku hasarı yolu ile başlatılır. Bu sorun periferik veya santral somatosensoryel sinir sisteminde meydana gelen travma, enflamasyon, iskemi, metabolik ve neoplastik bozukluklar gibi hasarlar sonucunda gelişebilmektedir.

Nöropatik ağrının, ilaç tedavisine yanıtı oldukça yetersiz olup, günümüzde halen tartışma konusudur.⁸ Nöropatik ağrı tedavisinde analjezik, trisiklik antidepresan ve bazı antikonvülsan ilaçların kullanılmalarına karşın, alınan yanıtlar ve ilaçların etkinlikleri belirgin değişiklikler göstermektedir.⁸⁻¹⁰ En güçlü analjezikler olarak nitelendirebileceğimiz, morfin ve diğer opioid ilaçların etkinlikleri bile tartışmalıdır ve bu ilaçların ciddi yan etkilerinin belirgin olarak ortaya çıktığı yüksek dozlarıyla etkinlik gösterebildikleri kabul edilmektedir.⁸⁻¹¹ Bu nedenlerle nöropatik ağrı tedavisi için yeni ve etkin ilaçlara gereksinim duyulduğu çok açıktır.

Oksidatif stres ve serbest oksijen radikalleri (SOR), yapılan çalışmalarda Alzheimer, Parkinson, hasara veya yaşlanmaya bağlı beyin disfonksiyonu gibi patolojilerle ilişkilendirilmiştir.^{12,13} SOR ve kronik ağrı etiyojisi ile ilişkili birçok yayın olmasına karşın, spinal kordda oksidatif strese bağlı hasarın nöropatik ağrı mekanizmasındaki yerine dair sınırlı sayıda yayın

bulunmaktadır. Sıçanlarda kronik konstriksiyon hasarı (CCI) modeli ile oluşturulan nöropatik ağrı için ısıya bağlı hiperaljezinin antioksidanların sistemik enjeksiyonu ile azaldığı izlenmiştir.^{14,15} SOR fazlalığı ağrıya neden olmaktadır ve nöropatik ağrıda arka boynuz hücrelerinin sensitizasyonu önemli rol oynamaktadır.¹⁵ SOR, santral sensitizasyonu etkilemektedir. SOR miktarında azalma sağlanmasının nöropatik ağrı davranışını azalttığı gösterilmiştir.¹⁵

N-asetil-sistein (NAC), klinik uygulamada mukolitik ajan olarak kullanılmasının yanısıra, glutatyon üretiminin hız-sınırlayıcı bileşenidir. Nöropatik ağrı oluşturulan sıçanlarda NAC tedavisinin glutatyon bileşeni olan sisteini artırarak glutatyon düzeylerini koruduğu ve antihiperalezik etki oluşturduğu izlenmiştir.^{16,17}

Fenil-N-tert-butilnitron (PBN), indüklenebilir nitrik oksit (iNO) sentaz genini inhibe ederek etkili olduğu düşünülen bir antioksidan ajandır.¹⁸ Son dönemde yapılan bir çalışmada spinal sinir ligasyonu (SNL) ile sıçanlarda oluşturulan CCI modelinde PBN uygulanması sonrasında mekanik allodini azalması saptanmıştır.¹⁹

İnsanlarda izlenen nöropatik ağrı oluşumuna benzer deneysel hayvan modellerinin avantajı, hem periferik hem de santral sinir sistemine ait patolojileri moleküler ve sellüler mekanizmalarla açıklayabiliyor olmalarıdır.²⁰

Bu çalışmada deneysel nöropatik ağrı modelinde reaktif oksijen türlerinin rolü ile NAC ve PBN'in antioksidan ve dolayısıyla analjezik etkilerinin tespit edilip, karşılaştırılarak incelenmesi amaçlanmıştır.

II. GENEL BİLGİLER

II.1. Ağrı

Subjektif bir algılama olması nedeniyle pekçok tanımı bulunan ağrı için tüm dünyada kabul edilen ve IASP tarafından yapılan en son tanım, varolan veya olası doku hasarına eşlik eden veya bu hasar ile tanımlanabilen, hoş olmayan, emosyonel ve sensoryel deneyim olduğudur.²

II.2. Ağrı Sınıflaması

Ağrı sınıflandırılırken sıklıkla, başlama süresi, mekanizması ve kaynaklandığı bölge dikkate alınmaktadır.

II.2.1. Kaynaklandığı Dokuya Göre Ağrı

Somatik ağrı, somatik sinir kökenli, iyi lokalize edilen, başlangıcı ani ve keskin, tanısı kolay ağrıdır.

Visseral ağrı, yavaş başlangıçlı, yansıyabilen, künt, sızlayıcı, kolik veya kramp tarzında ağrıdır.

Sempatik ağrı, sempatik sinir sistemi aktivasyonu ile ortaya çıkar. Yanma tarzındadır. Ağrı olan bölgede solukluk, trofik değişiklikler ve üşüme izlenebilir. (Damar kökenli ağrılar, kompleks rejyonel ağrı sendromu)

II.2.2. Duyum Şekline Göre Ağrı

- Ani, keskin, batıcı
- Yavaş artan
- Künt, bazen yanıcı

II.2.3. Etiyopatogenezine Göre Ağrı

- Mekanik
- Enflamatuar

II.2.4. Başlama Süresine Göre Ağrı

Akut ağrı, lezyon ve ağrı arasında zaman, yer ve şiddet bakımından yakın ilişki bulunan; doku hasarıyla ani şekilde başlayıp, yara iyileşmesi süresince giderek azalan ve kaybolan; başlangıcı genellikle 6 aydan kısa süreli olan ağrı tablosudur. Süre 3-6 ayı aşarak kronik özellik kazanabilir. Bu tablo, otonom sinir sistemi aktivasyonuna bağlı taşikardi, hipertansiyon, solukluk gibi belirtileri de kapsar. (Postoperatif ağrı, myokard infarktüsü, renal kolik vb.)

Kronik ağrı, doku hasarından sonra oluşan; 6 ayı aşan sürelerle devamlılık gösteren; hastalığın ya da hasarın iyileşme sürecinin bitmesine rağmen devam eden; hastadan ağrının lokalizasyonu ve süresi ile ilgili yeterli bilginin alınmadığı ağrıdır. Kronik ağrılı hastalarda, akut ağrıda görülen otonomik yanıtlar görülmez. Kronik ağrı, yaşam kalitesini etkileyerek hastalarda davranış bozukluklarına varan sorunlara neden olabilir. (Travma sonucu oluşan sinir hasarının geç sonuçları, dejeneratif, otoimmün, neoplastik hastalıklar, psikojenik etkenler vb.)

II.2.5. Mekanizmaya Göre Ağrı

Nosiseptif ağrı, deri, kas, bağ doku ve iç organlardaki nosiseptörlerin fizyopatolojik olaylarla uyarılmaları sonucu gelişir. Sızlama, zonklama, bıçak batması veya basınç hissi şeklinde tanımlanıyorsa somatik doku hasarı düşünülür. Visseral doku hasarını düşündüren şikayetler, obstrüksiyona bağlı ise kramp şeklinde, organ kapsülünü ve mezenteriy de etkilemişse sızlama, zonklama şeklinde tanımlanır. Nosiseptif ağrı, opioid ilaçlara ve periferik sinirleri denerve eden girişimlere iyi yanıt verir.

Nöropatik ağrı, somatosensoryal sistem uyarı iletiminde bozulma ile ortaya çıkar. Nöropatik ağrı fizyopatolojik mekanizmalar, periferik ve santral mekanizmalar olmak üzere iki gruba ayrılır. Nöropatik ağrı ayrıntılı olarak ilerleyen kısımlarda anlatılmıştır.

Reaktif ağrı, motor ya da sempatik afferentlerin refleks aktivasyonu sonucu nosiseptörlerin uyarılması ile algılanılır.

Deafferantasyon ağrısı, somatosensoryal iletimde hasarlanma ve sonucunda merkezi sinir sistemine uyarı akışının kesilmesi ile ortaya çıkar.

Psikosomatik (Psikojenik) ağrı, anksiyete, depresyon gibi durumlarda ağrı olarak tanımlanan duygulardır.

II.3. Nöropatik Ağrı

Nörofizyolojide ağrı, nosiseptif ve nöropatik ağrı olarak ikiye ayrılır.

Nosiseptif ağrı, nosiseptörlerin inflamasyonuna sekonder ortaya çıkar. Hastalığın ciddiyeti ile ağrı şiddeti eşdeğerdir.

Nöropatik ağrı ise, sinir sisteminin herhangi bir bölümünün, hasar olsun ya da olmasın, gelişen disfonksiyonuna bağlıdır. Nöropatik ağrı, eksternal uyaran olmaksızın ve/veya normalde zararsız kabul edilen bir uyaran karşısında artmış spontan ağrı ile karakterizedir.⁵⁻⁷ Somatosensoryel sistemin anormal uyarılması söz konusudur. Nöropatik ağrı normal nosiseptif yollardan geçer ve çoğunlukla direkt doku hasarı yolu ile başlatılır.

Nöropatik ağrı, günlük yaşam kalitesini düşüren, tıbbi bakım ihtiyacının arttığı uzun bir süreçtir.

II.4. Nöropatik Ağrı ile İlgili Tanımlar

Nöropatik ağrılı hastalarda altta yatan mekanizmalar değişkenlik gösterse de ağrı ve duyu değişiklikleri benzerlik gösterir. Hastalar sıklıkla yanıcı, batıcı ağrı, parestezi, dizestezi, allodini ve hiperaljezi şikayetleri ile başvurur. Nöropatik ağrılı hastalar dokunma, basınç, soğuk, sıcak gibi uyarılara artmış yanıt verirler. Ciddi dizestezi olan hastalar tipik olarak korunmuş refleks, distal ağrı ve ısı duyusunda kayıp, propiosepsiyon ve vibrasyon duyusunda azalma gösterirler.²¹⁻²⁵

II.4.1. Hiperaleji

Normalde ağrılı olan uyarana (mekanik/termal) verilen cevabın artmış olmasıdır.¹ Periferik sensitizasyon sonucu ortaya çıkar. Sinir, arka kök, arka kordon zedelenmeleri sonrasında, multipl fonksiyonel, yapısal, nörokimyasal ve moleküler değişiklikler sonucu oluşur. Kronik ağrıda izlenen hiperalejiden sorumlu mekanizmanın peroksit oluşumu ile sonuçlanan nitrik oksit (NO) ve

süperoksit radikalleri ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür.¹⁵ Hastaların günlük aktivitesini ciddi derecede etkilemez.

II.4.2. Allodini

Normalde ağrılı olmayan uyarının (sıklıkla mekanik etki/soğuk/sıcak) ağrıya yol açmasıdır.¹ Yaşam kalitesi açısından bakıldığında dinamik mekanik allodini hastalar için en rahatsızlık verici allodini tipidir. Allodini oluşumundan periferik nosiseptör sensitizasyonu, inhibitör kontrollerin kaybı, C liflerin ektopik deşarjları sorumlu tutulmaktadır.

II.4.3. Dizestezi

Rahatsız edici, herhangi bir uyarın olmaksızın oluşan, yanma gibi ağrılı histir. Santral sensitizasyon sonucu ortaya çıkar.^{21,22,26}

II.4.4. Parestezi

Rahatsız edici olmayan, karıncalanma gibi ağrısız histir. Ektopik deşarj sonucu ortaya çıkar. Kendiliğinden veya uyarı ile gelişebilir ve duyu kaybı eşlik edebilir.

II.5. Epidemiyoloji

Kronik nöropatik ağrı klinikte sık rastlanan bir durumdur.²⁷ Ağrı, fiziksel ve sosyal fonksiyonlarda gerileme, anormal ruh değişiklikleri ve yaşam kalitesinde düşüşe neden olur. Yapılan araştırmalar nöropatik ağrının psikososyal sonuçlarından olan depresyonun zayıf tedavi uygulamaları ile ilişkili olduğunu göstermiştir.²⁸

ABD’de nöropatik ağrıdan etkilenmiş olan kişilerin sayısı bilinmemektedir, ancak bu sayının 2-6 milyon arasında olduğu düşünülmektedir.^{29,30}

Nöropatik ağrısı olan 602 hastanın katıldığı çok merkezli bir çalışmada çoğu orta-şiddetli derecede nöropatik ağrı çeken hastaların ayda 5.5 iş günü kayba uğradıkları saptanmıştır.³¹

Nöropatik ağrının bir alt grubu olarak kabul edilen kronik ağrının hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde nüfusun yaklaşık %20'sini etkilediği düşünülmektedir.³²

Dünyada 100 milyondan fazla diyabet hastası olduğu düşünülmektedir, sık rastlanan bir diyabet komplikasyonu olan diyabetik nöropatinin ise hastaların %50-60'ını etkilediği saptanmıştır.³³

Herpes zoster sadece ABD'de her yıl 800.000'e yakın hastada görülebilmektedir; 50 yaşından büyük herpes zoster enfeksiyonu olan hastalarda postherpetik nevralji oranı %25-50 arasında değişmektedir.³⁴

Kronik bel ağrısı olan hastalarda nöropatik ağrı sıktır. Bel ağrısı olan hastaların %34-57'sinde nöropatik ağrı olduğu saptanmıştır.³⁵⁻⁴⁰

II.6. Etiyoloji

Nöropatik ağrının iki majör tipi vardır, uyarı kaynaklı ve uyarıdan bağımsız (spontan) ağrı. Uyarı kaynaklı ağrı mekanik, kimyasal, termal uyarılarla oluşan hiperaljezi ve allodini ile karakterizedir. Uyarıdan bağımsız ağrı paroksizmal veya persistan olabilir, batıcı ve yanıcı olarak tariflenebilir.²³

Sinir sistemindeki disfonksiyon, periferik sinir sisteminde ise "periferik", santral sinir sisteminde ise "santral" nöropatik ağrı olarak isimlendirilir. Disfonksiyonun bulunduğu yere göre nöropatik/nörojenik ağrının en sık nedenleri:⁴¹

Periferik

- i. Travmatik sinir hasarı (iatrojenik nedenler dahil)
- ii. İskemik nöropati
- iii. Sinir basısı/tuzak nöropati
- iv. Polinöropati (herediter, metabolik, toksik, inflamatuvar, infeksiyöz, paraneoplastik, nutrisyonel, amiloidoza veya vaskülite bağlı)
- v. Pleksus hasarı
- vi. Kök basısı
- vii. Amputasyon sonrası fantom ağrı
- viii. Postherpetik nevralji
- ix. Trigeminal ve glossofaringeal nevralji

x. Kanser-ilişkili nöropati

xi. Skar ağrısı

Santral

i. İnme (infarkt veya hemoraji)

ii. Multipl skleroz

iii. Spinal kord hasarı

iv. Syringomyeli

II.7. Patofizyoloji

Nöropatik ağrının anlaşılmasında ana sorun semptomların ve belirtilerin mekanizmalara çevrilememesidir. Bu karmaşıklığın nedeni bir semptomun (örneğin soğuk allodini) birçok mekanizmaya bağlı olarak oluşabilmesi veya bir mekanizmanın birçok semptomu yol açabilmesidir.⁴² Nöropatik ağrının olası nedenleri, periferik sensitizasyon, ektopik deşarjlar, santral sensitizasyon, inhibitör kontrollerin kaybıdır.^{10,22,23,27,43,44}

II.7.1. Normal Ağrı İletimi

Ağrı iletiminde yer alan endojen ve nöral mekanizmalar, nosisepsiyon, spinal ve supraspinal sistemler ve inen kontrol mekanizmaları ile ilgili tanımlar son 20 yıl içinde açıklanabilir hale gelmiştir.

II.7.1.1. Nosisepsiyon

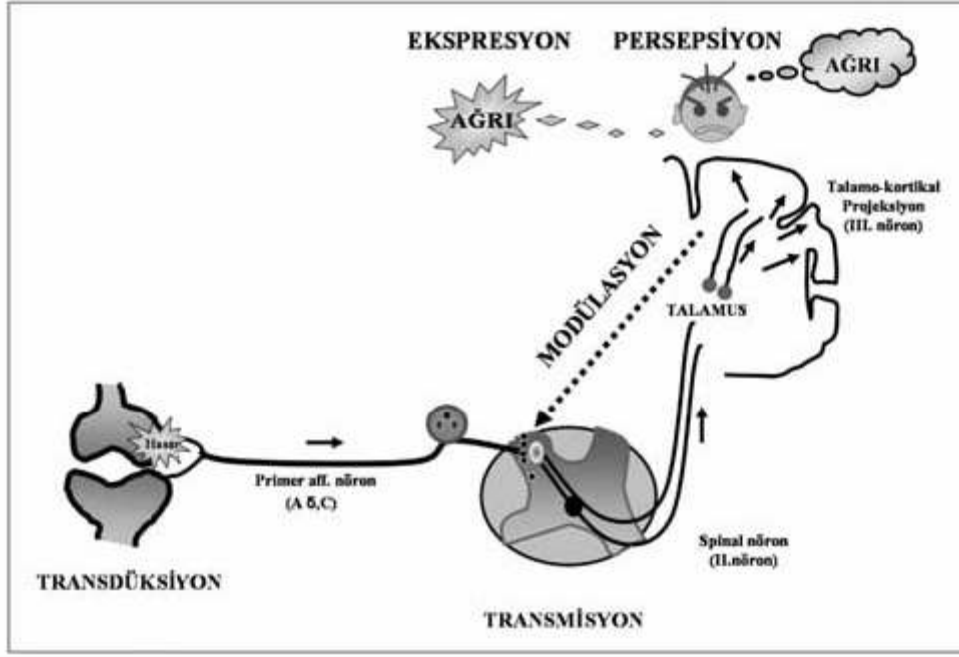
Nosiseptörler, zararlı veya uzadığında zararlı olabilecek uyarılara (termal, mekanik, kimyasal) duyarlı olan alıcı yapılardır, ağrı algılanmasında rol alırlar.

Bir duyu sistemi olarak nosiseptif sistem, nöronlarının uyarılma eşiğinin diğer duyu sistemlerinden daha yüksek olmasıyla ve hassaslaşabilmesi ile ayrılır. Şöyle ki uyarılma eşiği dokunmaya ve basınca karşı olan cevap eşiğinden yüksek, doku hasarı için gereken düzeyden düşüktür ve yeterli güçteki tekrarlayan uyarılar nosiseptif nöronların hassasiyetini artırır.

II.7.1.2. Nosisepsiyon Mekanizmaları

Ağrı ileti sisteminin tümünü anlatan nosisepsiyon 4 fizyolojik olayı içerir. (Şekil 1) Nosiseptörler bu mekanizmanın ilk iki basamağında görevlidirler.

Şekil 1-Ağrı Oluşum Süreçleri ⁴⁵



1. Transdüksiyon, nosiseptörler düzeyinde, hasar yaratıcı uyarının duysal sinir lifinde elektriksel aktiviteye dönüştürülmesi olayıdır. Nosiseptörler, buldukları yerdeki düz kaslar, kapillerler, efferent sempatik sinir uçları ile bir bütündür. Dolayısıyla bu bölgelere gelen, mekanik veya endojen aljezik madde salınımına yol açacak herhangi bir uyarı ile nosisepsiyon başlatılır.

• Nosiseptörlerin direkt olarak aktive edilmesi

Fiziksel olarak, mekanik nosiseptörler eksite edilir. Oluşan doku hasarı sırasında hücre zarı permeabilitesi bozulur, lokal hücre yıkımı meydana gelir ve proteolitik enzimler açığa çıkar. Takip eden bir dizi biyokimyasal reaksiyon sonucunda oluşan bradikinin, direkt olarak nosiseptörü uyarır, damarlarda vazodilatasyon yapar ve hücre zarına etki ederek prostaglandinlerin oluşmasına yol açar. Prostaglandinler tek başlarına ağrı oluşturmazlar,

nosiseptörleri diğer uyarılara karşı hassaslaştırırlar, lokal hiperemi ve vasküler permeabilite artışına neden olurlar.

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

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

Mast hücresinden salınan histamin de nosiseptörü doğrudan aktive etme özelliğine sahiptir.

• **Nosiseptörlerin duyarlılığının artırılması**

Doku travması sırasında doğrudan hücre membranına olan etki ve ayrıca serotonin ve bradikinin'in hücre membranındaki fosfolipidler üzerine olan etkileri ile prostaglandinler ve lökotrienler oluşur. Sempatomimetik aminler, prostaglandinler ve lökotrienler, nosiseptörlerin duyarlılığının artmasına neden olurlar.

• **Hiperaleji oluşturulması**

Prostaglandinler, nosiseptör duyarlılığını arttırmalarının yanısıra lokal dolaşımda vazodilatasyona neden olurlar ve dolayısıyla daha fazla aljezik madde birikimine yol açarlar. Sonuçta nosiseptörlerin doğrudan veya dolaylı aktivasyonlarının yanında, bölgede ödem ve inflamasyon da artarak kısır döngü oluşur. İlk uyarı devam etmezse, algojenik maddeler dokudaki deaktivasyon enzimleri ile yıkılır ve ağrı biter.

2. Transmisyon, elektriksel uyarının primer afferent nosiseptif sinir lifleri aracılığıyla spinal korda iletilmesini kapsar.

Ağrılı uyarıların periferden serebral kortekse transmisyonunu sağlayan üç-nöron yolları:

i. Spinal korda ulaşan primer duysal afferent nöronlar (A-delta, C)

Afferent nosiseptif iletiler medulla spinalis arka boynuzuna, hızlı iletimli, ince, myelinli A-delta (δ) ve yavaş iletimli, myelinsiz C lifleri ile taşınır.

A- δ lifleri duysal afferent liflerin en incesidir, akson çapları 2-7 μ m ve iletim hızları 10-30 m/sn arasında değişir. Bu afferentler sıcaklık, ağrı, kaba temas ve basınç fonksiyonunda görev alırlar. Sonlanmaları medulla spinaliste

temel olarak lamina I (marginal nukleus) ve II'de (substantia gelatinosa) ve daha az olarak da lamina V'te olur.

C lifleri myelinsizdir, 1-5 µm arasında çapa ve 2.5 m/sn'den daha yavaş iletim hızına sahiptirler. Sıcaklık ve (A-δ lifleri ile birlikte) ağrıda afferent aktarımı sağlar. C liflerinin sonlanmaları medulla spinaliste temel olarak lamina I ve II'de olur.

ii. Spinal korddan beyin sapı ve talamusa uzanan çıkan kontrol sistemi (spinal nöron-II.nöron)

Medulla spinalis arka boynuzu hücre tiplerine, afferent bağlantılara ve histokimyasal özelliklerine göre laminalara ayrılır. Arka boynuz 10 laminaya ayrılmıştır (Şekil 2)

Lamina I, küçük çaplı afferent liflerden gelen ağırlı impulsı alır. A-δ ve C liflerinden gelen, cilt yanığı veya ezilme (mekanik bası) ile oluşan ve A-alfa (α) ve A-beta (β) liflerinden gelen (düşük eşik değerli mekanik, dokunma ve termoreseptörlerden gelen) ağrı oluşturmayan diğer hızlı iletimli impuls bu laminaya ulaşır.

Lamina II ve III, substantia gelatinosa olarak adlandırılır. Ciltten gelen bir çok afferent lif bu bölgede sonlanır. Bu iki tabaka aslında duyu sinirleri tarafından taşınan uyarıların beyne iletilmesini sağlayan lamina V-T hücrelerine uyarı geçişini düzenleyen bir ara sistemdir. Substantia gelatinosa T hücreleri üzerinde frenleyici bir etki gösterir ve inhibitör bir mekanizma gibi hareket eder.

Lamina IV, lokalize cilt alanlarından gelen, ağrı oluşturmayan duysal impulsı taşıyan, kalın kutaneal afferent lifleri alır. Hücreler, hafif cilt basısı ve miyelinli A-β liflerinin stimülasyonu ile eksite edilirler. Düşük eşik değere sahiptirler ve hafif uyarılara yanıt verirler.

Lamina V'deki hücreler ağırlı uyarılara karşı çok hassastırlar. Vissera, kas, kan damarı ve derin dokulardan A-δ ve C lifleri ile gelen uyarıları alırlar. Bu nedenle lamina V visseral duysal uyarıların ulaştığı alan olarak kabul edilir. Hem substantia gelatinosa hem de üst merkezlerle ilişki içindedir. Spinotalamik traktus orjinini büyük oranda bu hücreler oluşturur.

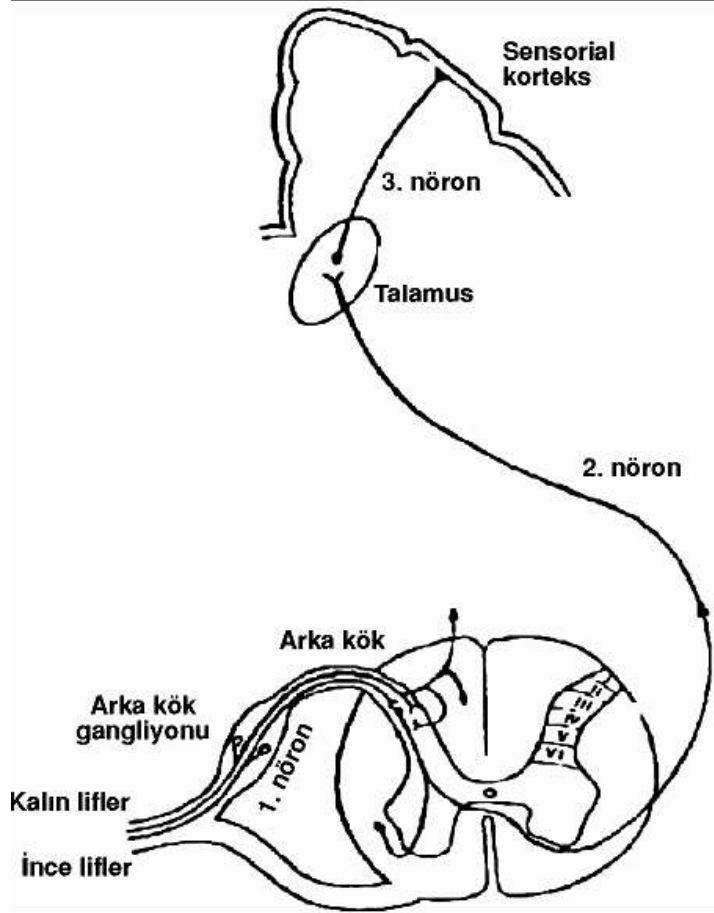
Lamina VI'daki yanıtlar ağrısız uyarılarla ilgilidir. A-β ve gama (γ) lifleri bu tabakada sonlanır. Kas, tendon ve eklem kaynaklı proprioepsiyon duyusu

bu liflerle taşınır. Hareket, bu tabaka hücrelerini aktive eder. Visseral duyular da bu tabakada algılanır.

Lamina VII – IX laminaları ön boynuzun parçasıdır. Bu hücreler ağrı iletimini sağlayan çıkan (ascending) yollara katılır.

Lamina X'daki hücreler santral kanal etrafında yoğunlaşmıştır, yüksek şiddetteki uyarılara cevap verirler. Bu hücreler, medulla spinaliste nosiseptif bilgiyi beyne getiren multisinaptik bir zincir oluşturur.

Şekil-2 Ağrı yolları ⁴⁵



Spinotalamik yol, Lamina I, V, VII ve VIII nöronlarından köken alır ve klasik olarak ağrıyı ileten en önemli yol olarak kabul edilir. Spinotalamik yol lateral ve mediyal olarak ikiye ayrılır. Lateral spinotalamik yol aksonları çoğunlukla Lamina I ve Lamina V'ten kaynaklanır. Ağrı duyusunun yeri, süresi ve yoğunluğunun algılanması ile ilgilidir. Mediyal spinotalamik yol aksonları ise Lamina VII ve VIII'den kaynaklanır. Ağrılı uyarana karşı gelişen otonomik yanıtlardan ve hoş olmayan emosyonel persepsiyonlardan sorumludur.

Spinoretiküler yol, hücreleri Lamina I, V ve VII'den kaynaklanır. Anterolateral ascending sistemde ilerler ve çaprazlaşmış dorsal boynuz aksonlarından oluşur. Bu yolun ağrıya karşı otonom reaksiyonlardan sorumlu olduğu düşünülmektedir.

Spinomezensefalik yol, anti-nosiseptif inen (descending) yolların aktivasyonunda önemli rol oynar. Kaynaklandığı Lamina I ve II'deki nosiseptif projeksiyon nöronları mezensefalik periaquaduktal gri cevhere kadar yükselir ve burada mezensefalik bağlantılarla sinaps yapar. Periaquaduktal gri cevherde analjezik etki sağlayan nöronların varlığı spinomezensefalik yolun bu bölgeye bağlantı yapmasını nosisepsiyon açısından önemli kılmaktadır. Çünkü burada analjezik etki sağlayan enkefalinerjik nöronlar bulunmaktadır.

iii. Nöronların talamokortikal projeksiyonu (III.nöron)

Son on yıla kadar korteksin nosisepsiyon ile ilişkisi olduğu gösterilememiş olmasına rağmen, ağrı bilgisinin kortekste aktivasyona neden olduğu kabul edilmiştir.

Bu görüş 1991 yılında pozitron emisyon tomografi (PET) ve fonksiyonel manyetik rezonans görüntüleme (fMRI) ile yapılan çalışmalarda korteksin nosisepsiyon ile ilişkisinin açıkça ortaya konmasıyla doğrulanmış, kortekste pek çok bölgenin, nosiseptif uyarı ile aktive olduğu saptanmıştır.⁴⁶

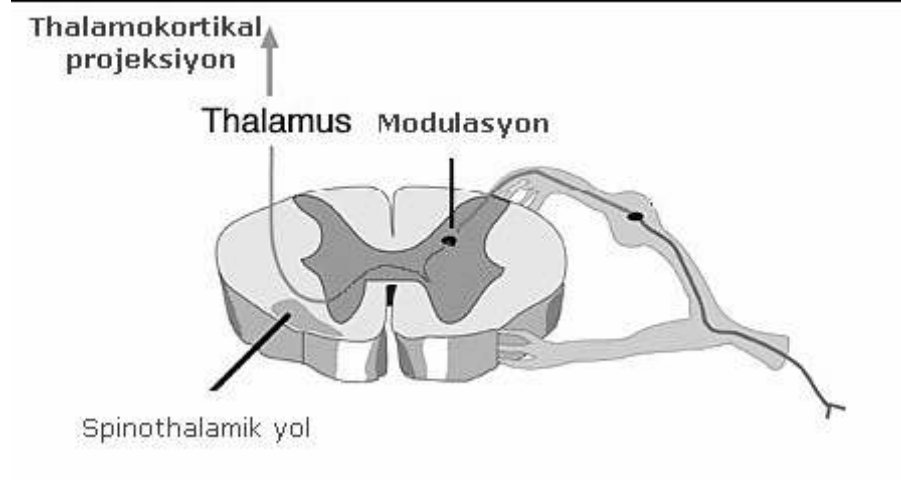
Hatta akut ve kronik ağrı görüntülerinin farklı olduğu ileri sürülmüştür.⁴⁷

Nosiseptif uyarının aktive ettiği bölgeler, primer–sekonder korteks anterior singulat korteks ve prefrontal kortektir. Primer somato-sensoryal korteks parietal lobda, postsentral girus'un 3,1 ve 2. alanlarındadır.

3. Modülasyon, spinal kordun arka boynuzunda duysal uyarının nörokimyasal işlemlere uğramasıdır. Modülasyon sonucunda duysal uyarın değişmez, baskılanır ya da kuvvetlenir. (Şekil-3)

4. Algılama, çıkan spinal yollar aracılığıyla spinal kord arka boynuzundan talamik çekirdeklere ve duysal kortekse iletilen uyarınların ağrı olarak tanımlanmasıdır.^{48,49}

Şekil-3 Talamokortikal projeksiyon



II.7.1.3. İnhibisyon sistemi

Nosiseptif uyarıyı işleyen sistem dışında inhibe eden ayrı bir mekanizma da mevcuttur. İnhibisyonu sağlayan özel bir sistem vardır (endojen analjezi sistemi) ve bu sistemi aktive eden nosiseptif uyarılardır. Nosiseptif sistem aktive olduğunda sürekli olarak inhibe edici sistemin kontrolündedir. Çünkü afferent impuls eksitasyona paralel olarak spinal ve supraspinal seviyede inhibisyonu başlatmaktadır. Bir başka deyişle spinal kord nöronlarının eksitasyon derecesini, afferent uyarı ile inhibisyon arasındaki etkileşim belirler.⁵⁰ Ayrıca afferent impulsun inhibisyonu biraz gecikmeli de olsa periferde de olmaktadır. Kısaca, nosiseptif impuls endojen analjezi sistemi ile hem santralde (spinal ve supraspinal) hem de periferde inhibe edilmektedir.

İnhibisyonda opioidler (endorfin, enkefalin, dinorfin, orfanin FQ), inhibitör amino asitler (gamaaminobutirik asit-GABA, glisin) ve monoaminler (NA, 5-HT), purinler (adenosin) ve inhibitör nöropeptidler (galanin, nöropeptid Y) rol oynarlar.⁵¹

• Spinal (segmental) inhibisyon

Spinal kord dorsal boynuzunda presinaptik yerleşim gösteren inhibitör internöronlar ile gerçekleştirilir. Segmental inhibitör internöronların aktivasyonu primer afferent nöronun aktivasyonu ile başlar. Spinal inhibisyonda rol oynayan nörotransmitterler GABA, opioid peptidler ve

glisindir. Spinal inhibitör internöronlar, presinaptik olarak spinal kord dorsal boynuzunda primer afferent nöronun santral ucundan eksitatuvar nörotansmitterlerin sinaptik aralığa salınımlarını sınırlarlar.⁵⁰

• **Supraspinal inhibisyon**

Bu sistemin orta beyinde iki ana kaynak bölgesi vardır, periaquaduktal gri madde (PAG) ve lokus seruleus (LC).⁵² PAG hem rostral yapılardan inhibe edici impulsları alır, hem de spinal kord arka boynuzuna inen inhibe edici impulslar gönderir. PAG'nin rostral yapılardan aldığı impulslar limbik sistemden, talamustan, hipotalamustan, bilişin olduğu frontal ve insular korteksden kaynaklanmaktadır ve bu gelen impulslar beta endorfinerjiktir (Kortikal inhibisyon). PAG'dan spinal korda inen serotoninergic lifler medullada nukleus rafe magna (NRM) uğrayarak arka boynuza inerler ve lamina I, II ve V'de sonlanırlar. PAG'ın ventrolateral bölümünden kaynaklanan nöronlar opioid sistem ile, dorsal bölümünden kaynaklananlar ise nonopioid sistem ile ilişkilidir. Lokus seruleus kökenli nöronlar noradrenerjiktirler, medulladan nukleus retikularis gigante sellularisden (NRGS) geçerek spinal korda iner. İnen inhibe edici sistemin nöronları (PAG ve LC) dorsolateral funikulus içinde arka boynuza inerler ve nörotansmitterleri noradrenalin , 5-HT ve opioid peptidlerdir.

• **Periferik inhibisyon**

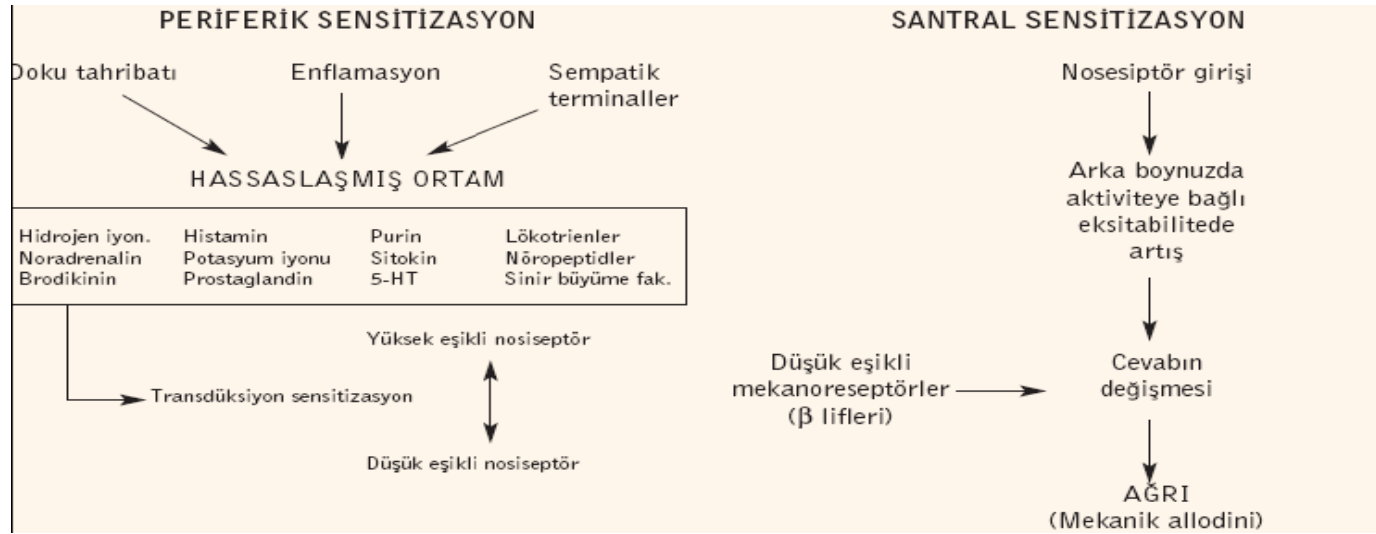
İmmun sistem-sensoryal nöron etkileşimi ile gerçekleşmektedir.⁵³ İnflamasyonun erken döneminde proinflamatuvar sitokinleri (PIC) açığa çıkaran immun hücreler, geç dönemde analjezik mediatörler üreterek analjeziye katkıda bulunurlar. Periferik inhibisyonun mediatörleri, opioid peptidler, antiinflamatuvar sitokinler (AIC) ve somatostatindir. AIC'ler (IL-4, IL-10, IL-3) PIC'lerin üretimlerini ve salınımlarını inhibe ederek siklooksijenaz (COX) ürünlerinin, sempatik aminlerin, lökotrien B₄'ün (LB₄) azalmasını dolayısıyla inflamasyonun sınırlanmasını sağlarlar ve periferik analjezi oluşumuna katkıda bulunurlar. Opioid peptidler periferde inflamatuvar dokudaki immun hücrelerde sentez edilir ve kortikotropin salınan hormon (CRH) ve interlekin-1'in (IL-1) tetiklemesi ile açığa çıkarılır (santral sinir sisteminde - hipofizde- olduğu gibi). Salınan opioid peptidler, primer sensoryal afferent nöronlarda mevcut olan veya sayısı artan veya aktifleşen opioid reseptörlere bağlanırlar ve intrasellüler bazı mekanizmaları aktive ederek periferik opioid

analjeziyi sağlarlar. Spinal opioid analjezik mekanizmada olduğu gibi periferde de voltaja bağlı kalsiyum kanallarını inhibe ederler.^{54,55}

II.7.1.4 Nositseptif sistem sensitizasyonu

Reseptör aktive olduğunda fonksiyonel değişiklikler oluşur. Doku hasarı hem yaralanma bölgesinde (primer hiperaljezi) hem de çevresindeki bölgede (sekonder hiperaljezi) hiperaljeziye neden olur. Bu durum, ağrı eşliğinde düşme, normalde ağrı oluşturmayan (nonnoxious stimülüs) stimülusun ağrıya neden olması (allodini) ve ağrılı stimülusa karşı aşırı cevaba (hiperpati) neden olur. Sensitizasyon ve hiperaljezinin mekanizması bilinmemekte, bu konuda hem santral hem de periferik mekanizmalar sorumlu tutulmaktadır . (Şekil-4)

Şekil-4 Sensitizasyon mekanizmaları



II.7.2. Nöropatik Ağrı Mekanizmaları

II.7.2.1. Periferik Sensitizasyon

Periferik siniri etkileyen hastalıklar demiyelinizasyon ve/veya aksonal kayıp şeklinde histolojik değişikliklere yol açar. İnflamatuar sürece bağlı olarak demiyelinizasyon ve aksonal hasar bölgelerine makrofaj, lenfosit ve mast hücreleri gibi çeşitli immün sistem hücreleri göç eder. Nositseptif 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 algılanması sensoryal ve sempatik sinir liflerinde uyarılma değişikliğine, damarlarda genişlemeye, plazma proteinlerinin ekstravazasyonuna ve inflamatuvar hücrelerin çeşitli kimyasal mediatörler salgılamasına yol açar. Bu şekilde serotonin, P maddesi, nitrik oksit, siklooksijenaz ve lipooksijenaz yollarındaki inflamatuvar mediatörlerin salgılanması ile nosiseptörler uyarılır ve periferik sensitizasyonu meydana getirirler. Periferik sinir zedelenmesi sinir büyüme faktörünün (NGF) perifere gidişini engelleyip dorsal kök gangliondaki duyuşal nöronları etkileyerek sodyum kanallarının ekspresyonunu etkiler. Sodyum kanal ekspresyonundaki artışa bağılı olarak ortaya çıkan ektoşik aktivite ve sensoriyal nöronlarla sempatik efferent liflerin periostal nosiseptörleri etkilemesi sonucunda nosiseptif; spinal sinir ve köklere bası ile nöropatik ağrı gelişebilir.^{23,27,56,57} Bu nedenle nöropatik ağrı tedavisinde sodyum kanal blokörleri (karbamazepin, trisiklik antidepresanlar) önemli fayda sağlarlar.⁵⁸⁻⁶⁰

II.7.2.2. Ektoşik Deşarjlar

Sinir hasarı sonrası ortaya çıkan demiyelinizasyon nedeniyle sinir lifi boyunca ektoşik uyarılar yayılmaya başlar. Bu ektoşik deşarjlar hasar sonrası aylar, yıllar sürebilir. Ayrıca, aksonun zedelendiğı yerlerde membran hipereksitabilitesi oluşur. Bu durum da ektoşik deşarjların oluşmasına yol açar.²⁶

II.7.2.3. Santral Sensitizasyon

Periferik sinir hasarı sonrası aşırı miktardaki sensoriyal uyarı santral sinir sistemine ulaşarak dorsal boynuz reseptif alanında değişikliklere yol açar. Bu değişiklikler sonucu hipereksitabl hale gelen nöronlar spontan aksiyon potansiyeli oluştururlar ve bu anormal yüksek frekanslı aktivite ağrıya katkıda bulunur.⁶¹ Nöropatik ağrının hayvan modellerinden edinilmiş önemli miktarlarda deneysel kanıtlarla, NMDA (N-Metil-D- Aspartat) reseptörlerinin aktivasyonunun önemli bir rolünün rolü olduğu bildirilmiştir⁶² ve bir NMDA reseptör antagonisti olan ketaminin intravenöz infüzyonunun kullanıldığı çalışmalarda, nöropatik ağrılı hastalarda ağrının şiddetinin azaltıldığı gösterilmiştir.^{62,63} Normal istirahat membran potansiyelinde NMDA reseptör

kanalları, magnezyum ile bloke durumdadır. NMDA reseptörünün uyarılmasıyla magnezyum blokajı ortadan kalkar ve kalsiyum hücre içine girmeye başlar. Kalsiyum iyonlarının hücre içine girmesi santral sensitizasyonun devam etmesini sağlar.⁶⁴

II.7.2.4. İnhibitör Kontrollerin Kaybı

Nöropatik ağrı oluşumunda korteksten spinal korda inen inhibitör kontrollerin kaybı önemli yer tutar. Descending 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 serotonini majör nörotransmitter olarak kullanan ikinci yollardır. Seratoninerjik nöronlar bu inen inhibitör yolda rostro-ventral medullada daha yoğunken (bu bölgede Raphe magnus çekirdeği bulunur), noradrenerjik nöronlar ise dorsolateral pontin tegmentum bölgesinde daha yoğun olarak bulunurlar. Periakuduktal bölgede seratonin, noradrenalin reseptörlerinin yanı sıra opioid reseptörler de bulunurlar. Nöropatik ağrı tedavisinde kullanılan antidepressanlar, seratoninerjik ve noradrenerjik etkileri ile inen inhibitör yolaklar üzerinden nöropatik ağrıyı dindirirler. Aynı şekilde nöropatik ağrı tedavisinde kullanılan opioidler, periakuaduktal gri bölgedeki opioid reseptörlerini aktive ederler ve enkefalin salınımına yol açarlar. Enkefalinler morfin reseptörü alt tiplerine bağlanarak nöropatik ağrının azaltılmasına yol açarlar. Eksitator ve inhibitör inputlar periferden beyine hangi bilginin gideceğini 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.^{65,66}

II.7.3. Nöropatik Ağrı ve Oksidatif Mekanizmaların İlişkisi

Oksidatif stres ve serbest oksijen radikalleri, yapılan çalışmalarda Alzheimer, Parkinson, hasara veya yaşlanmaya bağlı beyin disfonksiyonu gibi

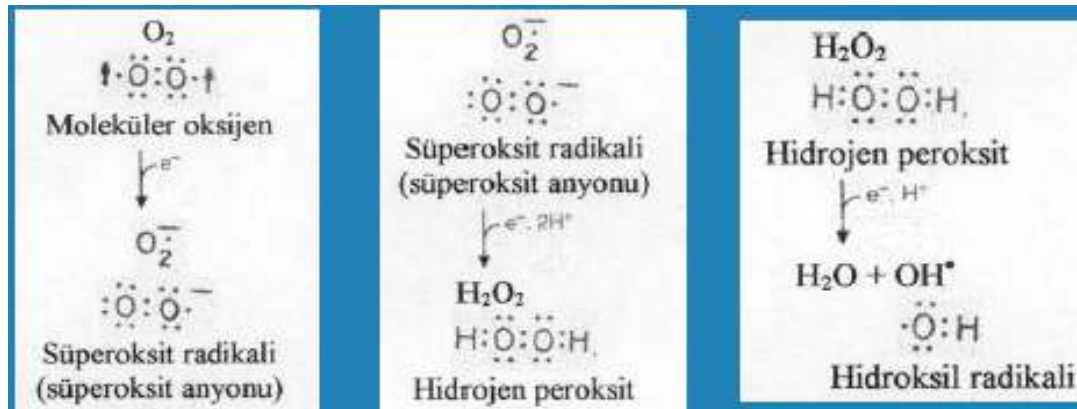
patolojilerle ilişkilendirilmiştir.^{12,13} SOR ve kronik ağrı etiyojisi ile ilişkili birçok yayın olmasına karşın, spinal kordda oksidatif strese bağlı hasarın nöropatik ağrı mekanizmasındaki yerine dair sınırlı sayıda yayın bulunmaktadır. SOR fazlalığı ağrıya neden olmaktadır ve nöropatik ağrıda arka boynuz hücrelerinin sensitizasyonu önemli rol oynamaktadır. SOR, santral sensitizasyonu etkilemektedir. SOR miktarında azalma sağlanmasının nöropatik ağrı davranışını azalttığı gösterilmiştir.¹⁵

SOR, sahip olduğu paylaşılmamış elektron nedeniyle kimyasal olarak reaktif bir metabolit haline gelen molekül olarak tanımlanabilir.

Oksidatif stres hücrelerde aşağıdaki üç yoldan biri sonucu ortaya çıkar (i) oksidan madde oluşumunda artış (ii) antioksidan korumada azalma (iii) oksidatif hasar tamirinde bozulma. Mitokondrial solunum, çevresel etkenler, zincir reaksiyonları, uzamış hipoperfüzyon, iskemi, yetersiz reperfüzyon ile SOR'leri üretilir. Patolojik durumlarda SOR'leri, artmış üretime veya bozulmuş atılıma bağlı olarak yükselir ve sitoplazmik ödemden hücre ölümüne kadar değişen oranda hücre hasarına neden olur. Özellikle artmış SOR uzaklaştırılması, hücre yaşamının devam ettirilmesi açısından önemlidir.⁶⁷

Hücre hasarına yol açan SOR'leri, oksijen (O₂) atomları içeren reaktif anyonların kendisi veya serbest radikal oluşturan moleküller veya kimyasal olarak serbest radikalleri aktive eden moleküller olabilir. En önemli ve sıklıkla üzerinde çalışılan SOR'leri, hidroksil (OH[•]), süperoksit (O^{-•}), hidrojen peroksit (H₂O₂) ve peroksinitrit (PN)'tir. (Şekil-5)

Şekil-5 SOR oluşma mekanizmaları



In vivo SOR üretiminin ana kaynağı aerobik solunumdur. Aerobik solunum dışındaki diğer olası kaynaklar, yağ asitlerinin peroksisomal β oksidasyonu, patojenler veya lipopolisakkaritlerle fagositozun stimülasyonu, arjinin metabolizması ve spesifik doku enzimlerini kapsamaktadır. Normal koşullarda SOR'leri, enzimatik antioksidanlar olan süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, glutatyon peroksidaz ve nonenzimatik antioksidanlar olan glutatyon, vitamin C ve vitamin E ile hücrelerden temizlenir.

SOD, iki $O^{\cdot -}$ molekülünü, H_2O_2 ve O_2 'e çevrilmesini katalize eden enzimdir. Bu detoksifikan reaksiyondaki net yarar $O^{\cdot -}$ molekülünden daha az toksik olan H_2O_2 'in üretilmesidir.

Katalaz, SOD tarafından başlatılan detoksifikasyon reaksiyonunu, H_2O_2 'i, su (H_2O) ve O_2 'e çevirerek tamamlayan enzimdir.

Glutatyon peroksidaz, katalaz gibi H_2O_2 'in ayrıştırılmasını ve ayrıca organik peroksitlerin parçalanmasını sağlamaktadır.

Vitamin E, major liposolubl antioksidandır ve membranların oksidatif hasardan korunmasında hayati rol oynar.

Vitamin C, suda çözünen bir antioksidandır ve birçok reaksiyondan kaynaklanan radikallerin indirgenmesinde rol almaktadır.

Glutatyon, bir tripeptiddir (glutamil-sisteinil-glisin) ve redükte formu (GSH) serbest radikallere karşı intrasellüler korumanın belki de en önemli bileşenidir. Moleküldeki sistein aminoasidinin sülfhidril grubu (-SH) indirgeme özelliğine sahiptir. Hücrede H_2O_2 oluştuğunda -SH grubundaki hidrojenler, H_2O_2 'e aktarılır ve H_2O molekülüyle beraber yükseltgenmiş glutatyon (GSSG) ortaya çıkar, bu reaksiyon glutatyon peroksidaz ile katalizlenmektedir. Hücre içindeki glutatyon redüktaz enzimi ile GSSG molekülü NADPH kullanılarak tekrar GSH'a dönüşür.

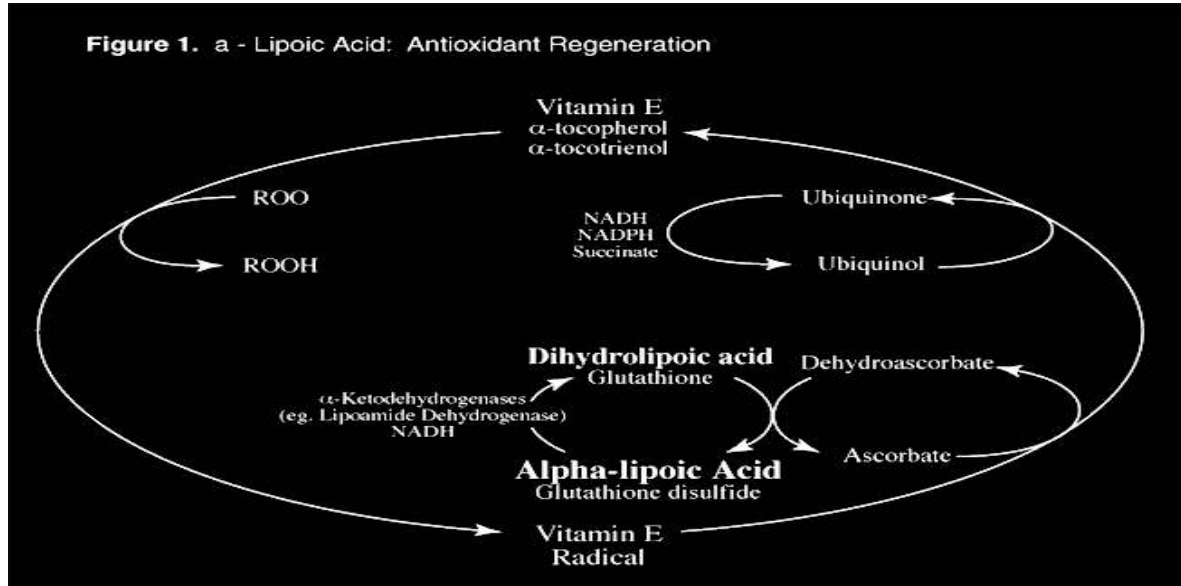
Ksantin oksidaz (XO), hasarlanmamış dokularda bir dehidrojenaz olarak bulunur ve $O^{\cdot -}$ oluşumunu katalize eder. Pürinlerin yıkılım yolunda, hipoksantinden ksantin ve ksantinden ürik asit oluşumu basamaklarında elektron akseptörü olarak moleküler oksijenden (O_2) daha çok NAD^+ kullanır. Oksijensizliğe bağlı olarak ADP'nin ATP'ye fosforilasyonunun azaldığı durumlarda (iskemi vb.) ADP yıkılır ve pürin bazı, ksantin oksidazın bir oksidaz olarak etkili olmasıyla hipoksantine dönüştürülür. Ksantin oksidazın oksidaz olarak aktivite göstermesi durumunda hipoksantin ksantine ve ksantin

ürük aside dönüşürken O_2 kullanılmakta ve H_2O_2 'e indirgenmektedir. İskemi durumunda oksijen seviyesi düşük olduğu için önemli hasar oluşmaz ancak oksijen seviyesi reperfüzyon sırasında normale dönünce iskemi yerinde ksantin oksidaz etkisiyle fazla miktarda hidrojen peroksit (H_2O_2) ve süperoksit radikali ($O^{\cdot-}$) oluşur, sonuçta iskemi/reperfüzyon hasarı denen durum ortaya çıkar.

Koenzim Q (insanlarda CoQ10), uzun yıllardır mitokondrial biyoenerji sistemleri üzerindeki anahtar rolü ile bilinir. Sonraki çalışmalarla diğer subsellüler fraksiyonlarda ve plazmada varlığı gösterilmiş ve antioksidan rolü kapsamlı olarak araştırılmıştır. Dahası son veriler CoQ10'un hücre sinyalizasyonu, metabolizması ve transportu ile ilişkili genleri etkilediğini göstermiştir. CoQ10 endojen olarak sentezlenebilen lipidde çözünür tek antioksidandır.

Redükte formu olan ubikinol protein ve DNA oksidasyonunu inhibe eder ancak en çok lipid peroksidasyonu üzerine olan etkisi üzerinde çalışılmıştır. Ubikinol, hücre membran lipidlerinin ve aynı zamanda lipoprotein lipidlerinin peroksidasyonunu inhibe eder. (Şekil-6)

Şekil-6 Lipid peroksidasyonu



II.8. Nöropatik Ağrı Tedavisine Yaklaşım

Farmakolojik tedavilerin çoğunluğu nöropatik ağrının oluşumundan sorumlu hızlı Na⁺ kanalları ve ektojik deşarjları azaltmaya odaklanmıştır. Literatürde nöropatik ağrı tedavisini gösteren bir algoritma bulunmamaktadır ve mevcut kanıtlar bir ilacın diğerine üstünlüğünü desteklememektedir. İlaç seçimi deneyime ve beklenen yan etkilere göre yapılmalıdır.⁶⁸ İlaçlara yanıt değişken olduğu için ağrı yoğunluğunda azalma iyi yanıt olarak kabul edilir.

II.8.1. Trisiklik Antidepresanlar (TAD)

Plasebo kontrollü çalışmalarda nöropatik ağrı tedavisinde etkili olduğu kanıtlanan ilk ilaç grubudur. Nöropatik ağrıya yanıt depresyondan daha hızlıdır ve depresyon için alınan dozlardan daha düşük dozlarda ortaya çıkmaktadır. Amitriptilin en yaygın kullanılan antidepresandır, özellikle diyabet ve postherpetik nevraljide ağrıyı azaltır.

TAD'ların en sık görülen yan etkileri antikolinerjik etkiler, postural hipotansiyon, refleks taşikardi, sedasyon, kilo alma, denge ve bilişsel bozukluklardır. Genelde yan etkileri yaşlı hastalarda daha yüksek sıklıktadır.

II.8.2. Selektif Serotonin Geri Alım İnhibitörleri (SSRI)

Nöropatik ağrı tedavisinde TAD'lar kadar etkili değildir. Ancak yan etkileri daha azdır. Diyabetik nöropati ve radiküler ağrıda yararlı olduğu gösterilmiştir. Venlafaksin, fluoksetin, paroksetin, sitalopram en çok kullanılanlardır. En sık yan etkileri, ajitasyon, sersemlik, terleme, sedasyon, gastrointestinal sistem yakınmalarıdır.

II.8.3. Benzodiyazepinler (BDZ)

Anksiyolitik, antikonvülzan santral kas gevşetici etkileri mevcuttur. En sık kullanılanları klonazepam, midazolam, alprazolamdır. Nöropatik ağrı tedavisinde kullanımı konusunda yeterli kanıt yoktur. Analjezik ya da psikotropik ilaçlarla kombine kullanılmaktadır.

II.8.4. Antiepileptikler

Etki mekanizmaları GABA inhibitör sistem aracılığıyla direkt veya indirekt aktivasyon ve Na⁺ kanal blokajı üzerindedir. Ayrıca arka kök ganglion hücrelerinin deşarjında azalma, nosiseptif nöronların tekrarlayıcı ateşlenme eşliğinin yükseltilmesi ve sinaptik transmisyonun inhibisyonu gibi etkilere sahiptir. En sık kullanılanlar karbamazepin, klonazepam, fenitoin, primidon, valproat, felbamat, gabapentin, lamotrijindir. Karbamazepin trigeminal nevraljide, lamotrijin santral ağrıda, gabapentin diyabetik nöropatide ve postherpetik nevraljide daha yararlıdır.⁶⁹

II.8.5. 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.8.6. Tramadol

Akut ve kronik ağrıda uygun santral etkili bir analjeziktir. Noradrenalin ve serotonin geri alım inhibitörüdür ve major metaboliti bir μ opioid agonistidir. Diyabetik nöropatili hastalarda yapılan bir çalışmada ağrının giderilmesinde, allodini ve yaşam kalitesi üzerinde yararlı etkileri olduğu gösterilmiştir.⁷⁰

II.8.7. 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.⁷¹

II.8.8. 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, postural hipotansiyon sık görülür. Morfinin yetersiz kaldığı nörojenik ağrılarda, nöropatik kanser ağrısında kullanılmaktadır.

II.9. Nöropatik Ağrı Tedavisinde Antioksidan Etkili İlaç Kullanımı

SOR'lerinin birçok nörodejeneratif hastalıkta hasara veya yaşlanmaya sekonder olarak biriktiği ve sorumlu olduğu saptanmıştır.^{12,13} KKH modeli oluşturulan nöropatik ağrılı ratlarda sistemik antioksidan enjeksiyonunun termal hiperaljeziyi azalttığı gösterilmiştir.¹⁴ Benzer şekilde bir antioksidan olan 4-hidroksi-2,2,6,6-tetrametilpiperidin-1-hidroksil (TEMPOL) enjeksiyonunun SOD aktivitesi üzerinden KKH olan nöropatik ağrılı ratlarda termal hiperaljeziyi azalttığı saptanmıştır.¹⁵ Tipik bir antioksidan olmayan Trilazad'ın membran stabilizasyonu yoluyla lipid peroksidasyonunu azalttığı izlenmiştir.

Aslında mukolitik bir ajan olarak kullanılan ve sistein donörü olması nedeniyle KKH oluşturulan nöropatik ratlarda intraperitoneal uygulama sonrasında glutatyon seviyelerini koruyarak nöroprotektif olduğu saptanan^{16,17} NAC ile ilgili Naik ve ark. yaptığı son dönemdeki bir çalışmada, ısıya bağlı hiperaljezide anlamlı azalma sağladığı ve ilgili sinirde oksidatif stres göstergesi olan lipid peroksidasyon yıkım ürünü malonildialdehid (MDA) seviyelerinde artışa neden olduğu saptanmıştır.⁶⁷

Kim ve ark. tarafından son dönemde yapılan bir çalışmada PBN'in analjezik etkisini gen transkripsiyonu ile değil, ROS uzaklaştırılmasını sağlayarak gösterdiği düşünülmektedir.

Nöropatik ağrıda NAC ve PBN etkileri açısından karşılaştırmalı çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada deneysel nöropatik ağrı modelinde oksijen radikallerinin rolü, NAC ve PBN'in antioksidan ve dolayısıyla analjezik etkileri tespit edilip, karşılaştırılarak değerlendirilmeye çalışılacaktır.

III. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu deneysel tez çalışması, Celal Bayar Üniversitesi ve Dokuz Eylül Üniversitesi Hayvan Etik Kurulları'nın onayları alındıktan sonra, ağırlıkları 200-250 gr arasında değişen, Wistar albino cinsi, 24 erişkin erkek sıçan üzerinde DEÜTF Hayvan Araştırmaları Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Çalışma, Celal Bayar Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklendi. Deneysel nöropatik ağrı modeli olarak siyatik sinir ligasyonu (SSL) yöntemi seçildi. Çalışmaya kadar sıçanlar ısı ve nem oranı standardize edilmiş alanda, su ve yiyecek alımlarına izin verilerek tutuldu. Sıçanlar randomize olarak dört gruba ayrılarak cerrahi işlem uygulandı. Cerrahi işlem sonrası, sıçanlar, sabit oda ısısında (25 ± 2 °C) ve 12 / 12 saatlik aydınlık / karanlık siklusu altında, temiz su ve dengeli sıçan yiyeceğine rahat ulaşmaları sağlanarak 15 gün boyunca izlendi.

III.1. Anestezi

Operasyondan 12 saat önce beslenmeleri kesilen ancak su içmelerine izin verilen sıçanların tümünde cerrahi girişim ve doku örneklerinin alınması sırasında eter inhalasyonu ile anestezi uygulandı. Sham grubuna ait bir rat eter anestezisi sonrasında exitus oldu.

III.2. Deney Grupları

Sıçanlar, randomize olarak biri kontrol grubu olmak üzere dört gruba ayrıldı. Cerrahi işlem uygulanmadan 24 saat önce tüm ratların soğuk allodini, termal ve mekanik hiperaljezi açısından davranış değerlendirmeleri sıcak/soğuk tabla, analjezimetre ve Von Frey monofilamanları kullanılarak yapıldı, tüm ratlara ait bazal değerler kaydedildi. Hiçbir ratta nöropatik ağrı bulgusuna rastlanmadı. Anestezi indüksiyonu sonrasında Bennet ve Xie tarafından tanımlanan kronik konstriksiyon hasarına (KKH) bağlı nöropati modeli (SSL yöntemi) uygulandı.⁷²

Grup I (n=6): Sağ uyluğu kaplayan tüyler traş edildikten sonra uyluğun orta kısmından biceps femoris boyunca yapılan kör diseksiyon ile siyatik sinire ulaşıldı. Siyatik sinir trifurkasyonunun proksimalinden itibaren yaklaşık 7 mm.lik kısım komşu dokulardan serbestleştirildi. Siyatik sinire, hasar oluşturulacak segment 4-5 mm uzunlukta olacak şekilde 4/0 krome katküt ile 1 mm aralıklarla 4 ayrı gevşek düğüm atıldı. Konstriksiyon derecesi, süperfisiyal epinöral dolaşımı durdurmayaacak sıkılıkta ayarlandı. İnsizyon tabakalar halinde 3/0 ipek ile kapatıldı (SSL yöntemi). İşlemden 15 gün sonra intraperitoneal (IP) 10 mL serum fizyolojik (SF) uygulandı.

Grup II (n=6): SSL tekniği ile cerrahi işlem uygulandıktan 15 gün sonra tek doz 300 mg/kg NAC, IP olarak uygulandı.

Grup III (n=6): SSL tekniği ile cerrahi işlem uygulandıktan 15 gün sonra tek doz 100 mg/kg PBN, IP olarak uygulandı.

Grup IV (n=5): SSL tekniğine benzer şekilde cerrahi işlem uygulandı ancak siyatik sinir ligasyonu yapılmadı.

III.3. Deneysel İşlemler

Operasyondan sonra ratlar ısı ve nem oranı standardize edilmiş alanda su ve yiyecek alımlarına izin verilerek 15 gün izlendi. 15. günde ilaç uygulamalarıyla birlikte davranış değerlendirmelerine başlandı, ilaçlar uygulandıktan 24 saat sonra biyokimyasal değerlendirme amacıyla doku örnekleri alındı.

III.4. Davranışsal Etkilerin Araştırılması

Tüm gruplarda cerrahi işlem öncesi yapılan bazal davranış değerleri kaydedildi. Hiçbir sıçanda nöropatik ağrı düşündürecek bulguya rastlanmadı. İlaç uygulanmasından hemen sonra (0.saat) ve takip eden 1, 3, 5 ve 7. saatlerde analjezimetre ile mekanik hiperaljezi ve duyumsal değerleyici alet takımı (Von Frey monofilamanları) ile davranış analizi; 0, 30, 60 ve 90. dakikalarda sıcak/soğuk tabla ile termal hiperaljezi ve soğuk allodini değerlendirmesi yapılarak kaydedildi.

III.4.1. Mekanik Hiperalezi

Randall-Sellito metodu kullanılarak analjezometre ile yapılan basınç ölçümleri 0, 1, 3, 5 ve 7. saatlerde kaydedildi.⁷³ Sonuçlar ortalama ağırlık gram (g) ± SE olarak ifade edildi.

III.4.2. Termal Hiperalezi

Pençelerin sıcak hassasiyetinin saptanması amacıyla sıcak tabla testi uygulandı. Doku hasarı oluşturulmaması amacıyla 20 saniyelik cut-off süresi belirlendi. 30°C ısıdaki hot plate üzerine konulan ratların pençe çekme süreleri saniye (sn) olarak kaydedildi. Sonuçlar ortalama sn ± SE olarak ifade edildi.

III.4.3. Soğuk Allodini

Pençelerin soğuk hassasiyetinin saptanması amacıyla daha önce tanımlanmış şekilde soğuk tabla testi uygulandı.^{74,75} 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 ± SE olarak ifade edildi.

III.4.4. Davranış Analizi

Fareler üstü camla kaplı delikli bir tel zeminin üzerine yerleştirildi ve deneye başlamadan en az 15 dakika önceden ortama alışmaları, olası stress gelişmemesi açısından sağlandı. Güçleri logaritmik olarak yaklaşık eşit aralıklarla artan von Frey monofilamentleri (3.65, 3.87, 4.10, 4.31, 4.52, 4.74, 4.92, 5.16...) ile ölçüm yapıldı. İlk uyarı standard olarak 4.31 filament ile yapıldı. Sıçanların en hassas noktalarından olan arka ayak pençelerinin 3. ve 4. parmak plantar yüzeylerine filament hafifçe bükülene kadar 2-3 saniye boyunca basınç uygulandı. Farenin ayak pençesini hızla çekmesi pozitif yanıt olarak kabul edildi. Pozitif yanıt alındığında, bir küçük numaralı filamentte geçilirken, yanıt alınmadığında bir büyük numaralı filament ile devam edildi. Deneklerin her birinin beş defa uygulanan filamentlerin üçüne yanıt verdiği güç, eşik değeri olarak kabul edildi.⁷⁶⁻⁷⁸ Sonuçlar ortalama filament numarası no ± SE olarak ifade edildi.

III.5. Biyokimyasal Değerlendirme-SOR ve Antioksidan Enzim Aktivitesi Araştırılması

Tüm gruplara ilaç uygulamasından 24 saat sonra servikal dislokasyon uygulandı. Biyokimyasal değerlendirmede kullanılmak amacıyla hasarlı alanın proksimali ve distalinden 5 mm uzaklıkta, yaklaşık 1,5 cm uzunluğunda siyatik sinir segmenti çıkartılarak 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. Siyatik sinirlerin herbiri hassas terazide tartılıp ağırlıkları kaydedildi. Ağırlıklarının 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 ve Coenzim Q10 çalışıldı. Değerler gr doku başına verildi. HPLC ile MDA, total glutatyon ve coenzim Q10 ölçümünde Chromosystems Diaognostics'e ait kit sistemi ve Shimadzu marka HPLC cihazı (Japonya) kullanıldı.

III.5.1. 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.5.2. Redükte Glutatyon Değerlendirmesi

Glutatyon analizinde reaksiyon tüpüne 100 µL örnek üzerine 200 µL solusyon eklendi. 10 saniye vortekslendi. 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 süpernant 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.5.3. Koenzim Q10 Değerlendirmesi

Koenzim Q10 analizinde 200 µL örneğe dilüsyon reaktifi eklendi, kristalizasyon oluşana dek 2-8°C'de beklendi. 10 saniye vorteksledi ve 1 mL Internal Standart eklendi. 10 saniye daha vorteksledi ve 2 mL ekstraksiyon solüsyonu eklendi. 2 dakika vorteksledi ve 3000 g'de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernant 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 µL enjekte edildi ve elde edilen eluattaki Koenzim Q10'un 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.6. İstatistiksel Değerlendirme

Davranışsal ve biyokimyasal değerlerin analizinde veriler, ortalama ± 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 anlamlı olarak kabul edildi.

IV. BULGULAR

IV.1. Davranışsal Gözlemler

Uygulama sonucunda %50'nin üzerinde denekte ağrı duyusu belirtileri, ödem ve atrofik değişiklikler hasarı takiben 2 ile 7 gün içinde gözlenmeye başladı. 10-14 gün içerisinde en yüksek seviyeye ulaştı, KKH'lı 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. Analjezimetre ile Mekanik Hiperalezi Değerlendirmesi

Siyatik sinir ligasyonu sonrası SF uygulanan ratlarla, sham grubu ratlar karşılaştırıldığında, ölçüm yapılan tüm saatler süresince SF grubunun mekanik eşik değerinin anlamlı derecede düşük ($p<0.05$) saptandı. (Grafik 1)

Ligasyon sonrası SF uygulanan ratlar ve NAC uygulanan ratlar karşılaştırıldığında, NAC grubunda 3, 5 ve 7. saatlerde mekanik eşik değerinin anlamlı derecede ($p<0.05$) yükseldiğini gösterdi. (Tablo-1) Benzer şekilde SF ve PBN grupları arasında yapılan karşılaştırmada, PBN grubunda mekanik eşik değerinin 1, 3, 5 ve 7. saatlerde anlamlı derecede ($p<0.05$) yükseldiği izlendi. (Tablo-2) NAC ve PBN grupları arasında yapılan karşılaştırmada mekanik hiperalezi açısından fark anlamlı değildi.

Tablo-1 Mekanik Hiperaljezi Açısından NAC-SF Karşılaştırması

Analjezimetre ölçüm zamanları (sa)	SF	NAC	P DEĞERİ
0. sa (g)	6,25 ± 1,66	9,08 ± 2,57	0,036
1. sa (g)	6,83 ± 2,06	10,6 ± 3,06	0,019
3. sa (g)	6,41 ± 2,13	11,2 ± 2,99	0,012 *
5. sa (g)	6,66 ± 1,63	10,83 ± 2,9	0,020 *
7. sa (g)	6,5 ± 1,73	10,75 ± 2,9	0,010 *

Değerler ortalama ± standart hata olarak verilmiştir. sa: saat, g: gram, SF: serum fizyolojik

* $P < 0.05$, anlamlı olarak kabul edildi

* NAC uygulanan KKH'lı ratlarda SF grubu ratlara göre 3, 5, 7. saatlerde anlamlı derecede düzelme izlendi

Tablo-2 Mekanik Hiperaljezi Açısından SF-PBN Karşılaştırması

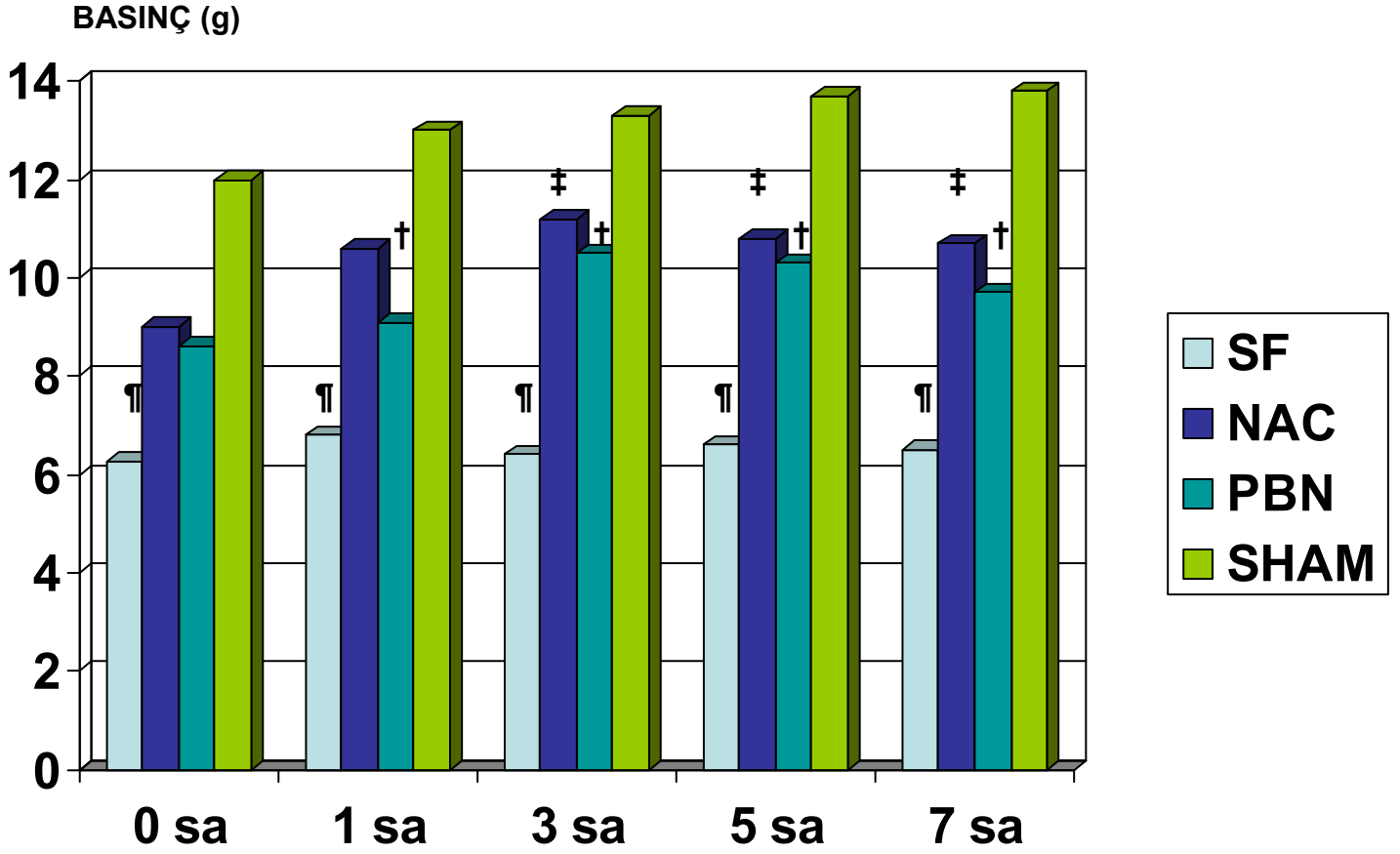
Analjezimetre ölçüm zamanları (sa)	SF	PBN	P DEĞERİ
0. sa (g)	6,25 ± 1,66	8,66 ± 1,77	0,036
1. sa (g)	6,83 ± 2,06	9,1 ± 1,86	0,036 *
3. sa (g)	6,41 ± 2,13	10,5 ± 1,96	0,024 *
5. sa (g)	6,66 ± 1,63	10,3 ± 2,71	0,025 *
7. sa (g)	6,5 ± 1,73	9,75 ± 2,6	0,027 *

Değerler ortalama ± standart hata olarak verilmiştir. sa: saat, g: gram, SF: serum fizyolojik.

* $P < 0.05$, anlamlı olarak kabul edildi

* PBN uygulanan KKH'lı ratlarda SF grubu ratlara göre 1, 3, 5, 7. saatlerde anlamlı derecede düzelme izlendi

Grafik-1 Mekanik Hiperaleji Açısından Gruplararası Karşılaştırma



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

‡ SF grubunun NAC grubu ile karşılaştırılması ($p < 0.05$)

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

IV.1.2 Sıcak/Soğuk Tabla ile Termal Hiperalezi ve Soğuk Allodini Değerlendirmesi

SF uygulanan KKH'lı ratlarla, ligasyon uygulanmayan sham grubu ratlar karşılaştırıldığında, SF grubunun ölçüm yapılan tüm saatler süresince termal hiperalezi ve soğuk allodini geliştiğini gösterecek şekilde anlamlı olduğu ($p<0.05$) saptanmıştır. (Grafik-2 ve Grafik 3)

Ligasyon sonrası SF uygulanan ratlar ve NAC uygulanan ratlar karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmazken, SF ve PBN grupları arasında yapılan karşılaştırmada, PBN grubunda soğuk allodininin 0, 60 ve 90. dakikalarda, termal hiperalezinin 60. dakikada anlamlı derecede ($p<0.05$) düzeldiği izlendi. (Tablo-3, Tablo-4) NAC ve PBN grupları arasında yapılan karşılaştırmada, PBN grubunda NAC grubuna göre 60. ve 90. dakikalarda anlamlı derecede ($p<0.05$) soğuk allodini iyileşmesi izlendi. (Tablo-5)

Tablo-3 Soğuk Allodini Açısından SF-PBN Karşılaştırması

Cold plate ölçüm zamanları (dk)	SF	PBN	P DEĞERİ
0. dk (sn)	8,5 ± 1,11	11,8 ± 2,13	0,016*
30. dk (sn)	10,33 ± 0,9	10,0 ± 4,42	0,134
60. dk (sn)	10,7 ± 0,93	13,1 ± 0,98	0,006 *
90. dk (sn)	9,83 ± 0,98	13,8 ± 3,12	0,005 *

Değerler ortalama ± standart hata olarak verilmiştir. dk: dakikat, sn: saniye, SF: serum fizyolojik.

* $P<0.05$, anlamlı olarak kabul edildi

* PBN uygulanan KKH'lı ratlarda SF grubu ratlara göre 0, 60 ve 90. dakikalarda anlamlı derecede düzelme izlendi

Tablo-4 Termal Hiperaleji Açısından SF-PBN Karşılaştırması

Hot plate ölçüm zamanları (dk)	SF	PBN	P DEĞERİ
0. dk (sn)	4,33 ± 1,08	5,50 ± 1,51	0,167
30. dk (sn)	7,16 ± 1,86	5,83 ± 1,12	0,169
60. dk (sn)	6,0 ± 1,04	7,91 ± 1,42	0,029 *
90. dk (sn)	7,0 ± 1,54	7,08 ± 1,11	0,321

Değerler ortalama ± standart hata olarak verilmiştir. dk: dakika, sn: saniye, SF: serum fizyolojik.

* $P < 0.05$, anlamlı olarak kabul edildi

* PBN uygulanan KKH'lı ratlarda SF grubu ratlara göre 60. dakikada anlamlı derecede düzelme izlendi

Tablo-5 Soğuk Allodini Açısından NAC-PBN Karşılaştırması

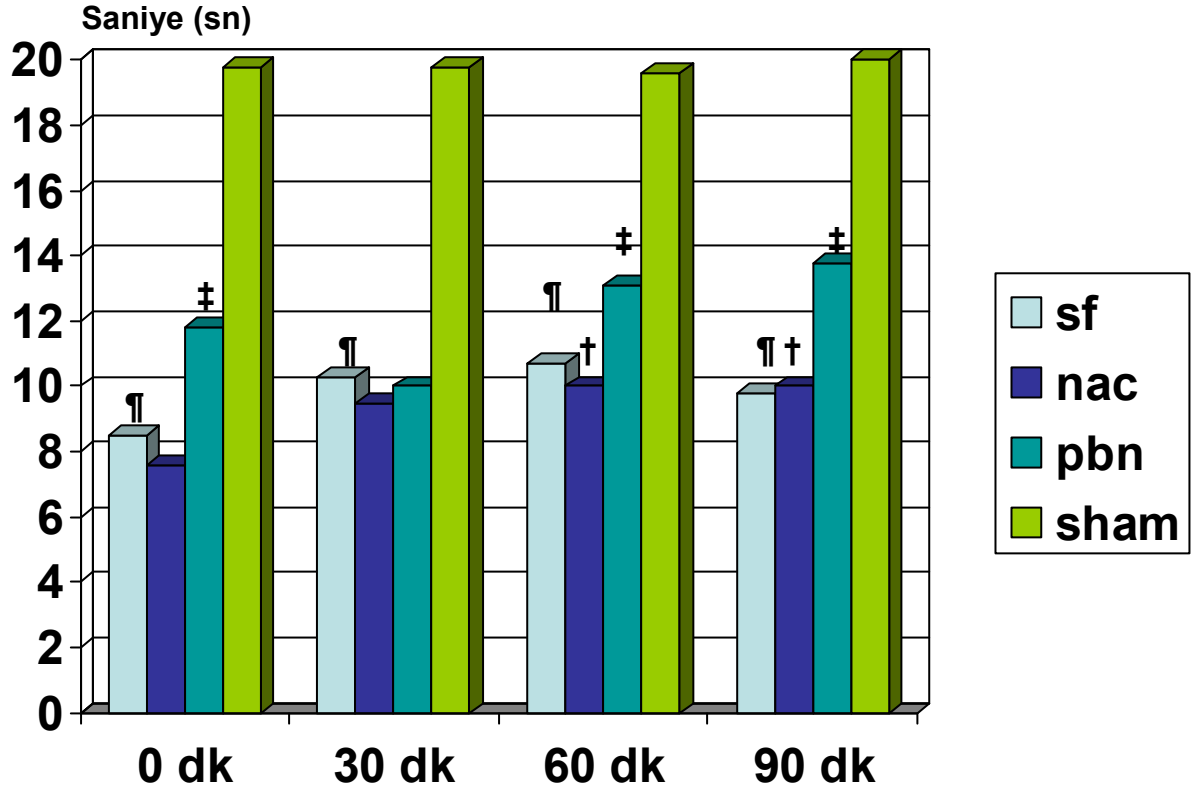
Cold plate ölçüm zamanları (dk)	NAC	PBN	P DEĞERİ
0. dk (sn)	7,6 ± 1,86	11,8 ± 2,13	0,010
30. dk (sn)	9,58 ± 1,48	10,0 ± 4,42	0,086
60. dk (sn)	10,0 ± 1,7	13,1 ± 0,98	0,006 *
90. dk (sn)	10,0 ± 1,41	13,8 ± 3,12	0,007 *

Değerler ortalama ± standart hata olarak verilmiştir. dk: dakika, sn: saniye.

* $P < 0.05$, anlamlı olarak kabul edildi

* PBN uygulanan KKH'lı ratlarda NAC grubu ratlara göre 60 ve 90. dakikalarda anlamlı derecede düzelme izlendi

Grafik-2 Soğuk Allodini Açısından Gruplararası Karşılaştırma

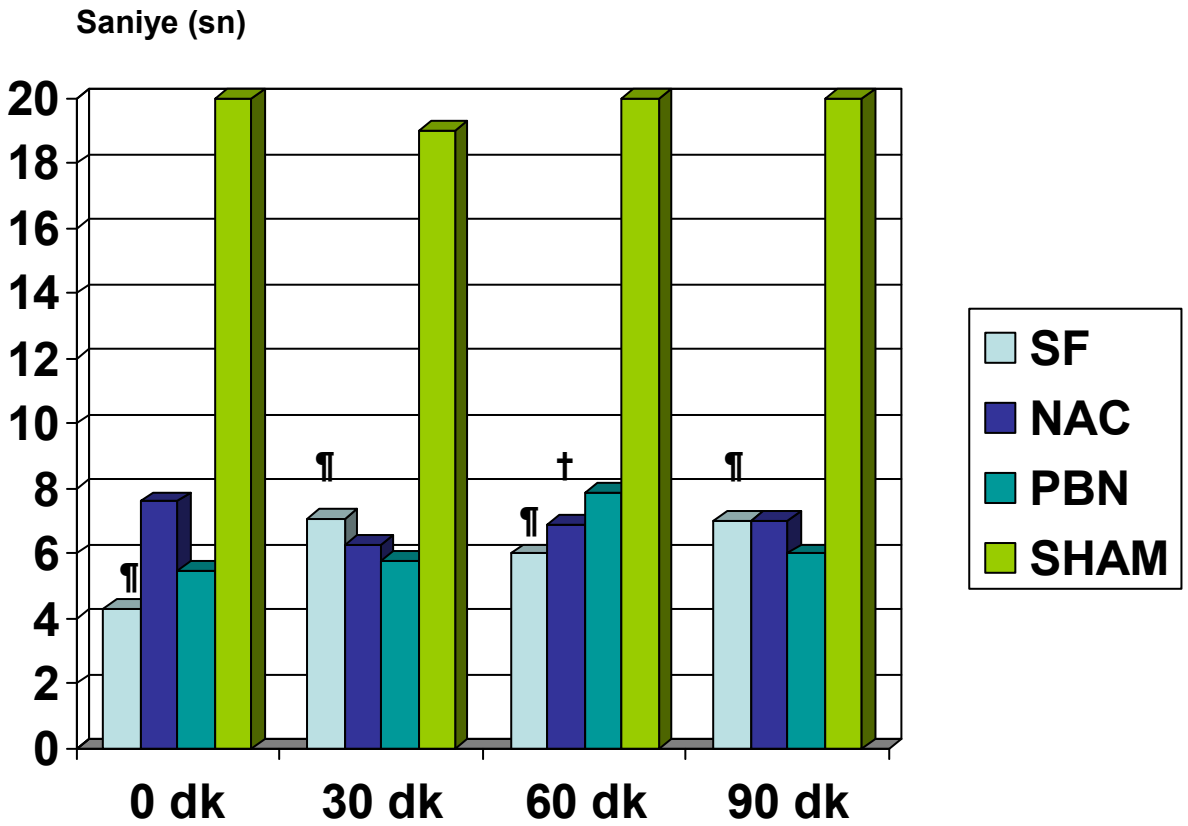


¶ SF grubunun sham grubu ile karşılaştırılması ($p < 0.05$)

‡ PBN grubunun SF grubu ile karşılaştırılması ($p < 0.05$)

† PBN grubunun NAC grubu ile karşılaştırılması ($p < 0.05$)

Grafik-3 Termal Hiperalezi Açısından Gruplararası Karşılaştırması



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

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

IV.1.3. Davranışsal Etkilerin Araştırılması (Von Frey ile)

SF uygulanan ratlarla, ligasyon uygulanmayan sham grubu ratlar karşılaştırıldığında, SF grubunun davranışları nöropatik ağrı açısından anlamlı olarak (p<0.05) saptanmıştır. (Grafik -4)

Ligasyon sonrası SF uygulanan ratlar ve NAC uygulanan ratlar karşılaştırıldığında, NAC grubunda sadece 3. saatte anlamlı düzelmeye saptanırken, SF ve PBN grupları arasında yapılan karşılaştırmada, PBN grubunda 1, 3, 5 ve 7. saatlerde anlamlı derecede düzelmeye (p<0.05) izlendi. (Tablo-6) NAC ve PBN grupları arasında yapılan karşılaştırmada 5. saatte fark anlamlıydı (p<0.05). (Tablo-7)

Tablo-6 Von Frey Monofilamentler ile SF-PBN Karşılaştırması

Von Frey ölçüm zamanları (sa)	SF	PBN	P DEĞERİ
0. sa (no)	4,71 ± 0,13	4,93 ± 0,17	0,044 *
1. sa (no)	4,80 ± 9,81E-02	5,15 ± 0,24	0,008 *
3. sa (no)	4,71 ± 0,18	5,48 ± 0,34	0,004 *
5. sa (no)	4,79 ± 0,21	5,41 ± 0,39	0,009 *
7. sa (no)	4,80 ± 0,15	5,17 ± 0,22	0,007 *

Değerler ortalama ± standart hata olarak verilmiştir. sa: saat, no: filament numarası, SF: serum fizyolojik.

* $P < 0.05$, anlamlı olarak kabul edildi

* PBN uygulanan KKH'lı ratlarda SF grubu ratlara göre 0, 1, 3, 5 ve 7. saatlerde nöropatik ağrı davranış değişiklikleri açısından anlamlı derecede düzelme izlendi

Tablo-7 Von Frey Monofilamentler ile NAC-PBN Karşılaştırması

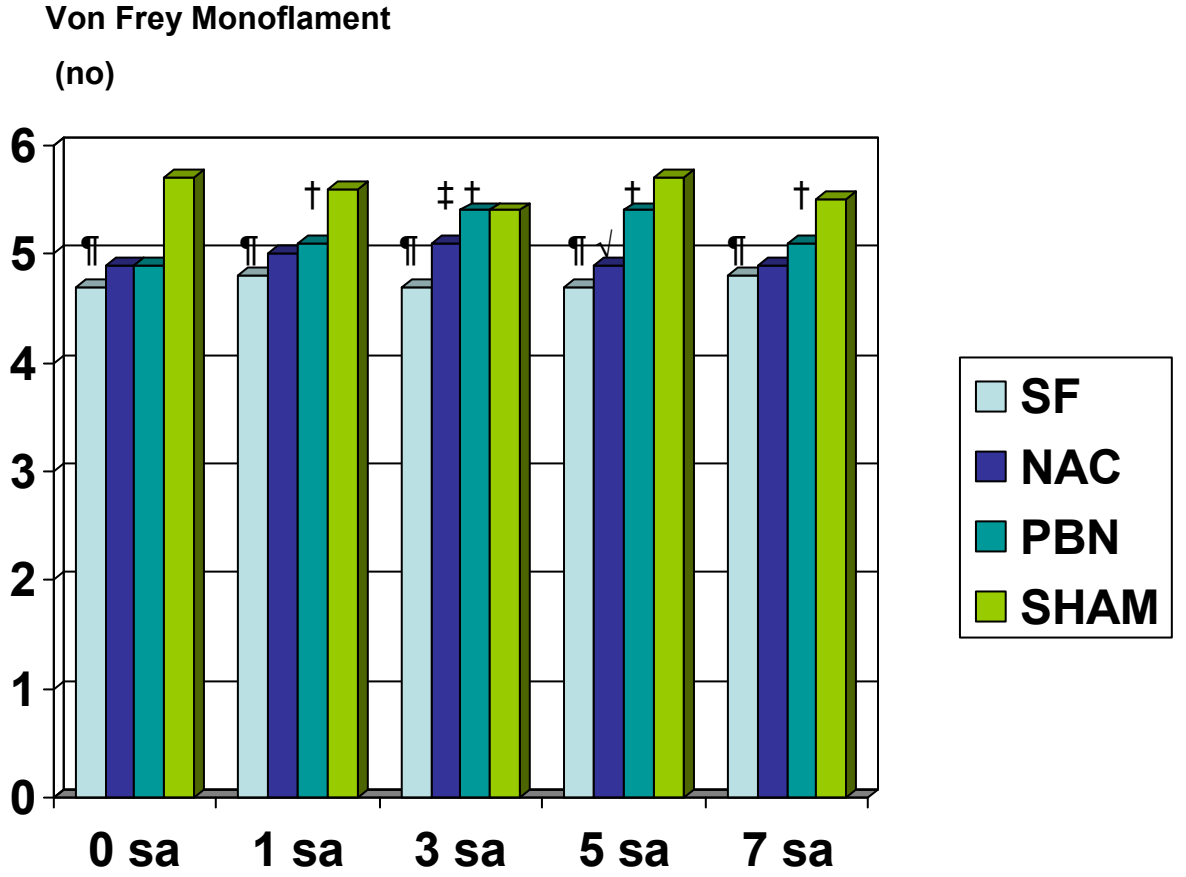
Von Frey ölçüm zamanları (sa)	NAC	PBN	P DEĞERİ
0. sa (no)	4,90 ± 0,36	4,93 ± 0,17	0,684
1. sa (no)	5,06 ± 0,41	5,15 ± 0,24	1,000
3. sa (no)	5,19 ± 0,43	5,48 ± 0,34	0,251
5. sa (no)	4,96 ± 0,25	5,41 ± 0,39	0,050 *
7. sa (no)	4,98 ± 0,26	5,17 ± 0,22	0,565

Değerler ortalama ± standart hata olarak verilmiştir. sa: saat, no: filament numarası.

* $P < 0.05$, anlamlı olarak kabul edildi

* PBN uygulanan KKH'lı ratlarda NAC grubu ratlara göre 5. saatte anlamlı derecede düzelme izlendi

Grafik-4 Davranış değerlendirmesi (Von Frey monofilamanları ile)



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

± NAC grubunun SF grubu ile karşılaştırılması ($p < 0.05$)

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

√ PBN grubunun NAC grubu ile karşılaştırılması ($p < 0.05$)

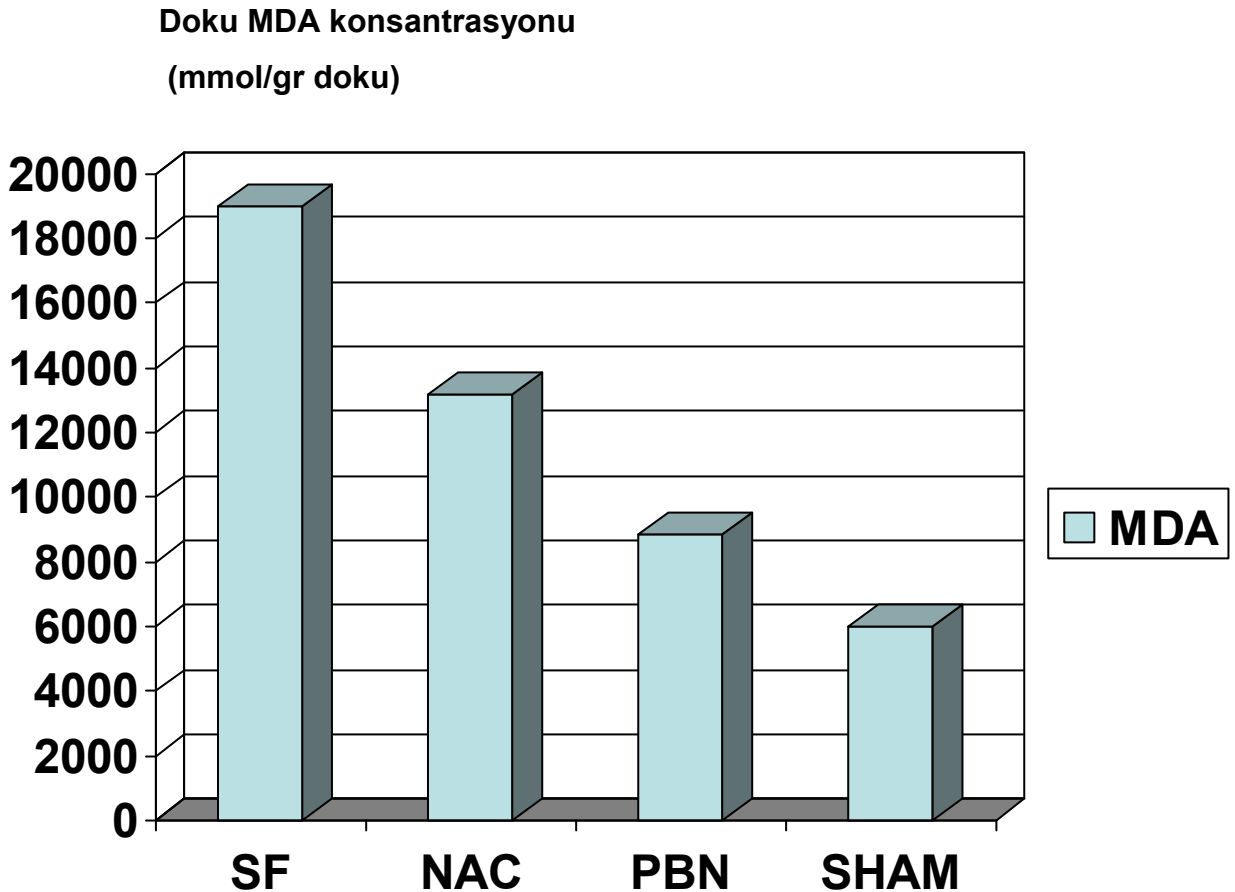
IV.2. Biyokimyasal Değerlendirme

IV.2.1. MDA Değerlendirmesi

Siyatik sinir ligasyonu sonrası SF uygulanan ratlarla, ligasyon uygulanmayan sham grubu ratlar karşılaştırıldığında, SF grubunda MDA düzeylerinin anlamlı olarak ($p<0.05$) arttığı saptandı. Benzer şekilde NAC ve sham grubu karşılaştırmasında da NAC grubunda MDA düzeyinde anlamlı ($p<0.05$) artış izlendi. MDA düzeylerinin birbirine yakın düzeylerde olduğu PBN ve sham grupları karşılaştırılmasında fark anlamlı değildi.

Ligasyon sonrası SF uygulanan ratlar ve NAC uygulanan ratlar karşılaştırıldığında MDA düzeyleri açısından anlamlı fark saptanmazken, SF ve PBN grupları arasında yapılan karşılaştırmada, PBN grubunda anlamlı derecede ($p<0.05$) MDA düşüşü izlendi. NAC ve PBN grupları arasında yapılan karşılaştırmada fark anlamlı değildi. (grafik-5)

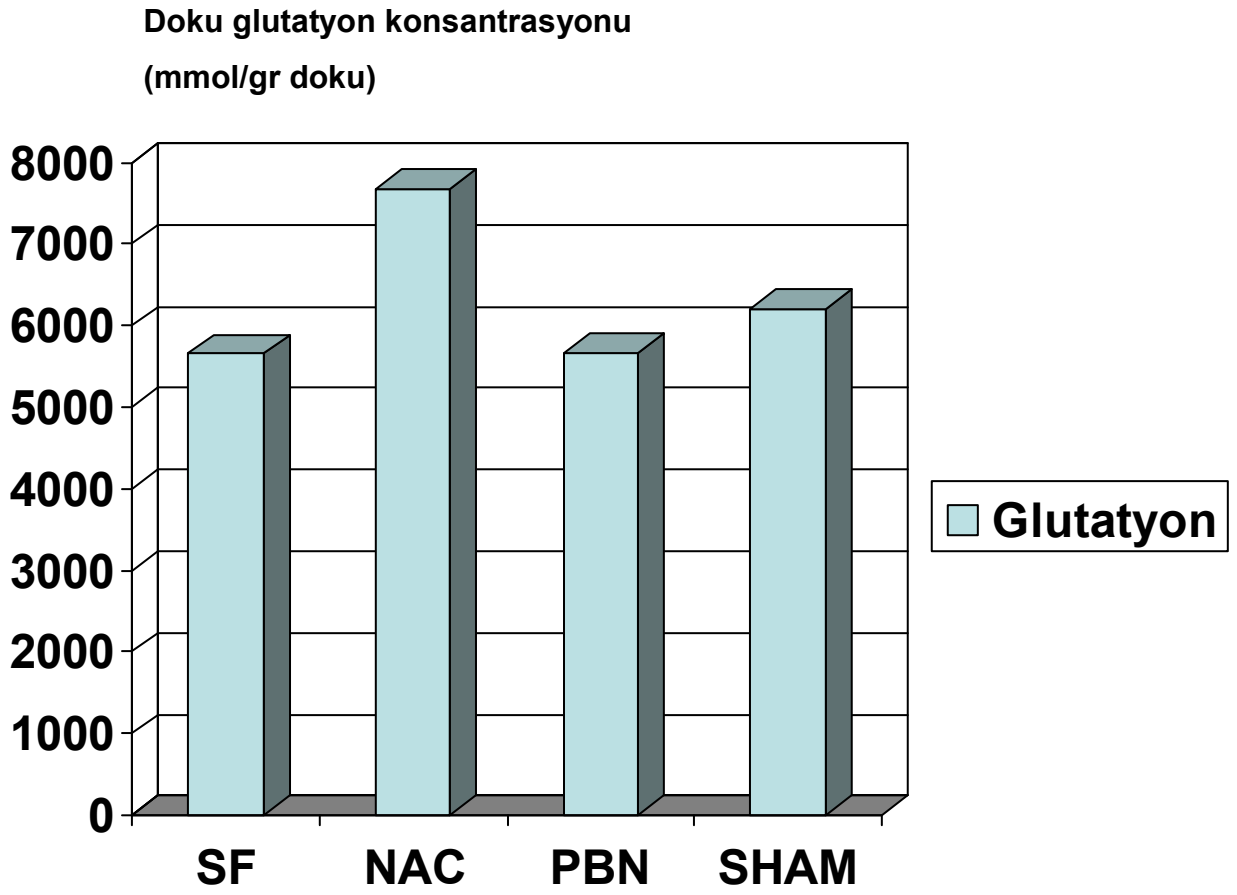
Grafik-5 MDA değerlendirme



IV.2.2. Glutatyon Değerlendirmesi

Siyatik sinir ligasyonu uygulanmayan sham grubu ratlarla ve diğer gruplar birbirleriyle karşılaştırıldığında, Glutatyon d¼zeyi açısından fark anlamlı değildi. (grafik-6)

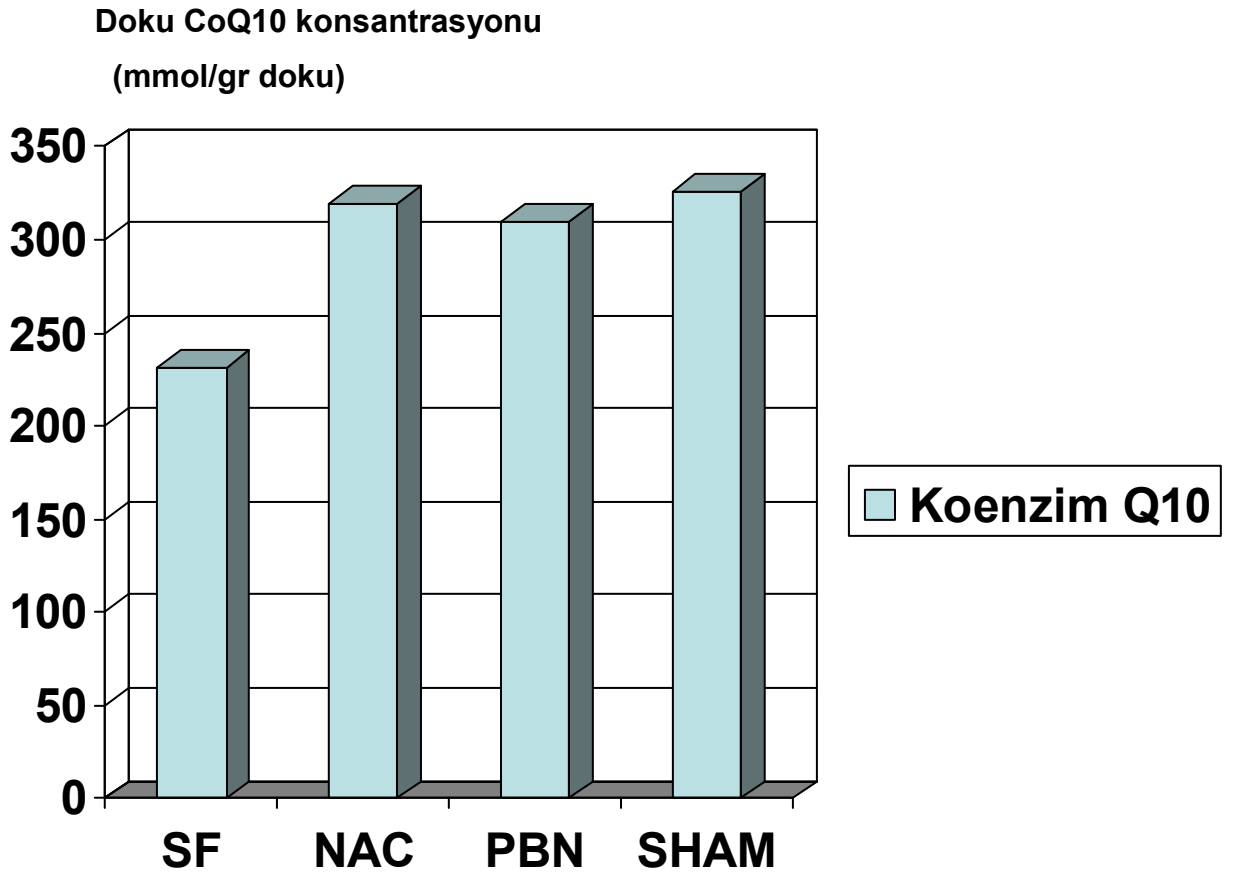
Grafik-6 Glutatyon değerlendirmesi



IV.2.3. Koenzim Q10 Değerlendirmesi

Siyatik sinir ligasyonu uygulanmayan sham grubu ratlarla karşılaştırıldığında, en çok SF grubunda ve en az PBN grubunda olmak üzere tüm gruplarda Koenzim Q10 düzeylerinde azalma izlendi ancak fark anlamlı değildi. (grafik-7)

Grafik-7 Koenzim Q10 değerlendirmesi



V. TARTIŞMA

Ratlarda nöropatik ağrı üzerine olan bu çalışmanın temel bulguları (i) SSL ile oluşturulan deneysel nöropatik ağrı modelinde soğuk allodini ve mekanik hiperaleji açısından sistemik antioksidan PBN ile düzelmenin sağlanması (ii) KKH'lı ve sistemik antioksidan uygulanmayan ratlarda malonildialdehid (MDA) düzeylerinin anlamlı derecede yükselmesi (iii) PBN tedavisi ile MDA düzeylerinde anlamlı derecede azalmanın sağlanmış olmasıdır.

Deneysel nöropatik ağrı oluşturulması için mevcut birçok yöntem bulunmaktadır. Tüm nöropatik ağrı modelleri içinde siyatik sinirin kronik konstriktif hasarı (KKH) en yaygın olarak kullanılan yöntemdir çünkü, nöropatik ağrıda olması beklenen davranış patolojilerinin (ototomi, mekanik hiperaleji, termal hiperaleji, mekanik allodini, soğuk allodini) tamamını izlenebilir kılar ve nöropatik ağrılı hasta tablosu oluşturur.^{72,74,75} Bu modelde allodini ve hiperaleji gibi nöropatik ağrının davranışsal belirtilerinin kolaylıkla ortaya çıktığı defalarca gösterilmiştir.^{72,79-81} Bu nedenle çalışmamızda siyatik sinirde KKH oluşturulmasını tercih ettik.

Siyatik sinir ligasyonunu (SSL) takiben SF uygulanan kontrol grubu ratlarla sham grubu karşılaştırıldığında, kontrol grubunda nöropatik ağrıya ait termal ve mekanik hiperaleji, soğuk allodini bulgularının saptanmış olması, cerrahi girişimimizin başarılı olduğunu doğrulamıştır.

Nöral hasar ve nörodejeneratif hastalıkların fizyopatolojisinde oksidatif hasarın etkileri uzun süredir araştırılmaktadır. Nöral fonksiyona zarar veren birçok serbest oksijen radikali (SOR) bulunmaktadır. Sinir hasarı sırasında gelişen primer afferent uyarı değişiklikleri, spinal kordda ektojik uyarılara neden olarak intrasellüler kalsiyum ve mitokondrial solunum artışına ve dolayısıyla SOR üretiminde fazlalığa yol açabilir. Aşırı SOR, fazla üretime veya yıkım yetersizliğine bağlı olarak hücre içinde birikebilir. SOR miktarında azalma sağlanmasının nöropatik ağrı davranışını azalttığı gösterilmiştir.¹⁵

Oksidatif hasara karşı antioksidan proteinler, endojen bir koruma sağlamaktadırlar bu nedenle de sitoproteksiyon ve nöronal iyileşme

mekanizmaları hakkında fikir sahibi olmak için önemli ipucu kaynakları olabilirler. En önemli endojen antioksidanlar, superoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz ve katalaz olarak sayılabilir.

Sinir dokusu antioksidan enzimler olan katalaz ve SOD açısından fakir bir yapıya sahiptir. SSL yapılan ratların siyatik sinirlerinde superoksit dismutazın anlamlı derecede arttığı buna karşın katalaz düzeyinin değişmediği gösterilmiştir.⁶⁷ Ayrıca Rosenfeld ve ark. da siyatik aksotomi sonrasında siyatik sinirde süperoksit dismutaz miktarının arttığını göstermişlerdir.⁸² Bu bilgiler, KKH oluşturulan ratlarda endonöral oksidatif strese bağlı değişikliklerin sinir disfonksiyonuna neden olduğunu düşündürmüştür.¹⁹

Redükte glutatyon, sitoplazmada bulunan yüksek moleküler ağırlıklı bir serbest radikal avcısıdır. Glutatyonun özellikle mitokondride azalması, nöronların toksik uyarılara ve oksidatif strese olan duyarlılığını artırır. Redükte glutatyon düzeylerinde azalmanın, oksidatif strese karşı nöron duyarlılığında artış ve hiperaljezi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.⁶⁷ Glutatyon, SOR ve oksidatif strese karşı temel savunuculardan olduğu için düzeyinde artış, koruyucu olarak kabul edilebilir. Bu nedenle çalışmamızda önemli bir endojen antioksidan olarak birçok görevi bulunan redükte glutatyonun nöropatoloji ve hiperaljezi ile sonuçlanan KKH'dan etkilenip etkilenmediğini araştırdık. Çalışmamızda redükte glutatyon düzeyleri, istatistiksel olarak anlamlı bulunmamış olsa da, KKH oluşturularak SF uygulanan kontrol grubunda sham grubuna göre daha düşük saptanmış olması, nöropatik ağrı etiyopatogenezinde oksidatif stres mekanizmalarının etkili olabileceğini düşündürmüştür.

Periferik sinir sistemi, santral sinir sistemine benzer şekilde lipidler açısından zengin bir kaynağa sahiptir ve serbest radikal-ilişkili lipid peroksidasyonunun önemli bir hedefi olabilir.¹⁴ Lipid peroksidasyonunun yıkım ürünü ve en önemli göstergelerinden olan MDA'in KKH yaratılan ratların siyatik sinirlerinde anlamlı derecede arttığı saptanmıştır.⁶⁷ Benzer şekilde Sayan ve ark., rat siyatik sinirinde 2 saatlik iskemiye takip eden 3 saatlik reperfüzyonun lipid peroksidasyonunda artışla sonuçlandığını saptamışlardır.⁸³ Bu bulgular, siyatik sinirde KKH'in sonucu olarak endonöral lipid peroksidasyonunun arttığını düşündürmüştür. Çalışmamızda KKH

oluşturularak SF uygulanan kontrol grubunda sham grubuna göre anlamlı derecede MDA artışının olması, rat siyatik sinirindeki serbest radikal oluşumuna bağlı olabilir. Bu bulgu, antioksidan PBN'nin sistemik uygulanması sonrasında sinir dokusu MDA değerlerinde anlamlı derecede azalma olmasıyla desteklenmiştir.

Koenzim Q10 mitokondriyal elektron taşıma zincirinin bir bileşenidir. Membran stabilizasyonunda rol oynar ve güçlü bir antioksidandır. Yapılan deneysel çalışmalarda koenzim Q10'un iskemi reperfüzyon hasar tedavisinde etkili olduğu bulunmuştur.^{84,85} Koenzim Q10'nun antioksidan özelliği Mellors ve Tappel tarafından keşfedilmiştir. Çeşitli çalışmalarda koenzim Q10'un lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği, SOR'lerine karşı α - tokoferol kadar etkili olduğu, geçici serebral iskemiden sonra koenzim Q9 ve koenzim Q10'un doku seviyelerinin azaldığı gösterilmiştir.⁸⁶⁻⁸⁸ Koenzim Q10 azalması ikincil hasar gelişiminin göstergesidir.⁸⁹ Nörodejeneratif hastalıklarda da oksidatif mekanizmalara bağlı olarak düzey değişikliği olup olmadığı araştırılmıştır, Parkinsonlu hastaların trombositlerinden izole edilen mitokondrilerde koenzim Q10 seviyelerinin düşük olduğu gösterilmiştir.⁹⁰ Çalışmamızda sham grubu ile karşılaştırıldığında en çok SF grubunda ve en az PBN grubunda olmak üzere tüm gruplarda Koenzim Q10 düzeylerinde azalma izlendi ancak fark anlamlı değildi.

Aslında mukolitik bir ajan olarak kullanılan NAC'in, sistein donörü ve glutatyon üretiminin hız-sınırlayıcı bileşeni olması nedeniyle KKH oluşturulan nöropatik ratlarda intraperitoneal uygulama sonrasında glutatyon seviyelerini koruyarak nöroprotektif olduğu saptanmıştır.^{16,17} NAC ile ilgili olarak Naik ve ark. yaptığı son dönemdeki bir çalışmada, NAC'in ısıya bağlı hiperaljezide anlamlı azalma sağladığı gösterilmiştir.⁶⁷ Çalışmamızda NAC uygulanması sonrası 3., 5. ve 7. saatlerde mekanik hiperaljezide anlamlı düzelleme saptanmıştır. NAC grubu için çalışmamızda siyatik sinir MDA düzeyleri SF grubuna göre daha düşüktü ancak anlamlı fark saptanmadı.

PBN'in, indüklenebilir nitrik oksit sentetaz (iNOS) gen indüksiyonunu inhibe ederek ve transkripsiyon faktör N aktivasyonu yaparak SOR avcılığı yapan bir antioksidan ajan olduğu düşünülmüştür.¹⁸ Ancak, analjezik etkisinin enjeksiyon sonrası 1. saatte başlıyor olması gen indüksiyonuna bağlı analjezi fikrinden uzaklaşılmasına neden olmuştur. Kim ve ark. tarafından son

dönemde yapılan bir çalışmada ise PBN'in analjezik etkisini gen transkripsiyonu ile değil, ROS uzaklaştırılmasını sağlayarak gösterdiği düşünülmüştür.¹⁹ Bizim çalışmamızda PBN, mekanik hiperaljezide 1.,3.,5. ve 7. saatlerde anlamlı derecede düzelme sağlamıştır, bu durum Kim ve ark. tarafından yapılan çalışma ile de uyumludur. Çalışmamızda ayrıca PBN uygulanan nöropatik ağrılı ratlarda Von Frey monofilamentleri ile yapılan davranış analizlerinde 1.,3.,5. ve 7. saatlerde; soğuk allodinide 60. ve 90. dakikalarda ve termal hiperaljezide 60. dakikada anlamlı derecede düzelme izlenmiştir. NAC ile karşılaştırıldığında Von Frey monofilamentleri ile yapılan davranış analizlerinde 1.,3.,5. ve 7. saatlerde; soğuk allodinide 60. ve 90. dakikalarda anlamlı derecede farklılığın olması ve siyatik sinir MDA düzeylerinde NAC grubu ratlara göre anlamlı derecede düşüşün olması nedeniyle KKH oluşturulan nöropatik ağrılı ratlarda PBN tedavisinin NAC tedavisine daha üstün olabileceği düşünüldü.

Eğer çalışmamızda NAC ve PBN anti-hiperaljezik etkilerini SOR oluşumunu önleyerek yapmışsa, SOR oluşumu ile ilgili şu sorulara yanıt aranmalıdır: (i) nöropatik ağrı açısından hangi spesifik SOR'leri önemlidir? (ii) aşırı SOR oluşumunun kaynakları nelerdir (iii) SOR'leri hangi mekanizmalarla ağrı oluşturmaktadır. Bu nedenle her iki ilaç mekanizmalarının detaylı analizi için daha ileri çalışmalar gerekmektedir.

Sonuç olarak çalışmamızda, siyatik sinir biyokimyasal incelemelerinde lipid peroksidasyon yıkım ürünü olan MDA'in kontrol-SF grubunda anlamlı derecede yükselmiş olması, uygulanan sistemik antioksidan ajanlardan PBN ile anlamlı derecede MDA düşüşünün saptanması, SSL yapılarak oluşturulan KKH'da oksidatif mekanizmaların rolü açısından doğrulayıcı olarak düşünülmüştür. Ayrıca, nöropatik ağrı bulgularından soğuk allodini ve mekanik hiperaljezide sistemik PBN enjeksiyonları ile düzelmenin sağlanmış olması ve bu düzelmenin NAC grubuna göre daha anlamlı olması, PBN tedavisinin NAC tedavisine daha üstün olabileceği düşündürmüştür.

VI. SONUÇ

Ağrı, fiziksel ve sosyal fonksiyonlarda gerileme, anormal ruh değişiklikleri ve yaşam kalitesinde düşüşe neden olur. Uzun süredir üzerinde çalışılmasına karşın nöropatik ağrının etiopatogenezine dair net sonuçlara varılamamıştır. Nöropatik ağrının anlaşılmasında ana sorun semptomların ve belirtilerin mekanizmalara çevrilememesidir. Bu karmaşıklığın nedeni bir semptomun birçok mekanizmaya bağlı olarak oluşabilmesi veya bir mekanizmanın birçok semptomu yol açabilmesidir.

Nöropatik ağrının, ilaç tedavisine yanıtı günümüzde halen tartışma konusudur. Literatürde nöropatik ağrı tedavisi için bir algoritma bulunmamaktadır ve mevcut kanıtlar bir ilacın diğerine üstünlüğünü desteklememektedir. İlaç seçimi, deneyime ve beklenen yan etkilere göre yapılmalıdır. İlaçlara yanıt değişken olduğu için ağrı yoğunluğunda azalma iyi yanıt olarak kabul edilir. Bu nedenlerle nöropatik ağrı tedavisi için yeni ve etkin ilaçlara gereksinim duyulduğu çok açıktır.

Birçok nörodejeneratif hastalıkta hasara veya yaşlanmaya sekonder olarak biriktiği ve sorumlu olduğu düşünülen serbest oksijen radikalleri (SOR) ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır ve yapılmaya devam etmektedir. NAC, rutin kullanımda mukolitik etkisinden faydalanılan bir ajandır ancak, sistein donörü olması nedeniyle antioksidan ve nöroprotektif olduğu saptanmıştır. Benzer şekilde PBN, antioksidan etkisi saptanmış bir ajandır.

DeneySEL nöropatik ağrı modelinde oksijen radikallerinin rolü, NAC ve PBN'in antioksidan ve dolayısıyla analjezik etkilerinin araştırılıp, karşılaştırıldığı bu çalışmada sonuç olarak:

1. Siyatik sinir ligasyonu (SSL) ile oluşturulan deneySEL nöropatik ağrı modelinde nöropatik ağrıya ait semptomlar elde edilmiştir.
2. Kronik konstriktif hasarlı (KKH) ve sistemik antioksidan uygulanmayan ratlarda malonildialdehid düzeyleri anlamlı derecede yükselmiş olması ve PBN tedavisi uygulanan KKH'lı ratlarda siyatik sinir malonildialdehid düzeylerinde anlamlı derecede azalma sağlanmış olması, SSL

yapılarak oluşturulan KKH'da oksidatif mekanizmaların rolü açısından doğrulayıcı olarak düşünülmüştür

3. Soğuk allodini ve mekanik hiperaljezi açısından sistemik antioksidan PBN ile düzelme sağlanmıştır. Nöropatik ağrı bulgularından soğuk allodini ve mekanik hiperaljezide sistemik PBN enjeksiyonları ile düzelmenin sağlanmış olması ve bu düzelmenin NAC grubuna göre daha anlamlı olması, PBN tedavisinin NAC tedavisine daha üstün olabileceği düşündürmektedir.

VII. ÖZET

Bu çalışmada deneysel nöropatik ağrı modelinde reaktif oksijen türlerinin rolü ile NAC ve PBN'in antioksidan ve dolayısıyla analjezik etkilerinin tespit edilip, karşılaştırılarak incelenmesi amaçlanmıştır.

Deney, ağırlıkları 200-250 gr arasında değişen, Wistar albino cinsi, 23 erişkin erkek sıçan üzerinde gerçekleştirildi. Sıçanlar randomize olarak 4 gruba ayrıldı. IV. gruba sham operasyonu uygulandı. I., II. ve III. grupta siyatik sinir ligasyonu (SSL) tekniği ile kronik konstriktif hasar (KKH) oluşturularak nöropatik ağrı geliştirildi. I. gruptaki hayvanlara ilaç uygulanmadı sadece SF verildi bu sayede nöropatik ağrıya ait bulguların izlenmesi ile cerrahi girişimin başarısı da doğrulandı. Cerrahi girişimden 24 saat önce tüm gruplardaki hayvanların sıcak/soğuk tabla, analjezimetre ve Von Frey monofilamanları ile davranış değişiklikleri açısından bazal değerleri kaydedildi. Cerrahi girişimden 15 gün sonra grup I'e 10 mL SF, grup II'ye 300 mg/kg NAC, grup III'e 100 mg/kg PBN tek doz olarak uygulandı. İlaç uygulanmasından hemen sonra (0.saat) ve takip eden 1, 3, 5 ve 7. saatlerde analjezimetre ile mekanik hiperaljezi ve duyumsal değerleyici alet takımı ile davranış analizi; 0, 30, 60 ve 90. dakikalarda sıcak/soğuk tabla ile termal hiperaljezi ve soğuk allodini değerlendirmesi yapılarak kaydedildi. Tüm gruplara ilaç uygulamasından 24 saat sonra servikal dislokasyon uygulandı. Biyokimyasal değerlendirmede kullanılmak amacıyla hasarlı alanın proksimali ve distalinden 5 mm uzaklıkta, yaklaşık 1,5 cm uzunluğunda siyatik sinir segmenti çıkartılarak 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, siyatik sinirlerin herbiri hassas terazide tartılıp ağırlıkları kaydedilerek homojenize edildi. Süpernatantta ise total glutatyon, MDA ve Coenzim Q10 çalışıldı. Değerler gr doku başına verildi. Glutatyon, MDA ve koenzim Q10 ölçümleri HPLC ile yapıldı.

SSL yapılan ve SF verilen kontrol grubu (Grup I) ile sham grubu (Grup IV) karşılaştırıldığında, Grup I'de nöropatik ağrı semptomlarına ait davranış

testleri tüm saatler için anlamlıydı. Bu sonuç, uygulanan cerrahinin nöropatik ağrı oluşturma açısından başarılı olduğunu gösterdi. Sham grubu ile karşılaştırıldığında Grup I'de siyatik sinir MDA düzeyi anlamlı derecede yüksekti, Koenzim Q10 düzeylerinde ise azalma saptandı ancak fark anlamlı değildi. PBN uygulanan KKH'lı ratların (Grup III) siyatik sinir MDA düzeylerinde anlamlı derecede düşüş sağlandı ve ayrıca, nöropatik ağrı bulgularından soğuk allodini ve mekanik hiperaljezide sistemik PBN enjeksiyonları ile düzelme izlendi. Nöropatik ağrıya ait semptomlarda düzelme ve MDA seviyesinde düşüş, PBN grubunda NAC grubuna göre daha anlamlıydı.

Sonuç olarak, oluşturulan deneysel nöropatik ağrı modelinde, oksidatif mekanizmaların ve serbest oksijen radikallerinin KKH ve nöropatik ağrı etiyopatogenezinden sorumlu olabileceği, soğuk allodini ve mekanik hiperaljezi açısından düzelme ve biyokimyasal olarak siyatik sinir MDA düzeylerinde anlamlı derecede düşüş sağlamış olması nedeniyle sistemik antioksidan PBN ile iyileşmenin sağlanabileceği, bu düzelmenin NAC grubuna göre daha anlamlı olması nedeniyle PBN tedavisinin NAC tedavisine daha üstün olabileceği düşünülmüştür.

VIII. SUMMARY

The objectives of this study were to examine the role of reactive oxygen species and oxidative stress in peripheral neuropathy and behavioural pain responses in experimentally induced chronic constriction injury (CCI) of sciatic nerve of rat. Effects of N-acetyl-L-cysteine (NAC) and phenyl-N-tert-butyl nitrone (PBN) administered intraperitoneally, were also investigated on CCI-induced neuropathic pain in rats.

Twenty-three adult male Wistar albino rats weighing 200-250 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 by sciatic nerve ligation (SNL) 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 analgesiometer, Von Frey monofilaments and hot/cold plate, were recorded. On the 15th day of the sciatic nerve ligation, intraperitoneal administration of the drugs was performed, 10 mL saline to Group I, 300 mg/kg NAC to Group II and 100 mg/kg PBN to Group III, respectively. Mechanical hyperalgesia and behavioural analysis were performed immediately after the administration (0. hour) and the following 1, 3, 5 and 7th hours while the tests for cold allodynia and thermal hyperalgesia were performed 0, 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, Glutathione, Malondialdehyde) by using HPLC.

When compared with the sham group (Group IV), behavioural tests, mechanical, thermal and cold stimuli confirmed the development of neuropathic pain after the CCI in saline group (Group I). The

malondialdehyde (MDA) levels of ligated sciatic nerves in saline group were significantly increased compared to non-ligated sciatic nerves (sham operated). Coenzyme Q10 levels decreased in the ligated sciatic nerves but the difference was not significant. Intraperitoneal administration of PBN resulted in significant reduction of mechanical hyperalgesia and cold allodynia and increase in sciatic nerve MDA levels when compared with the CCI-induced neuropathic rats that were given saline. When compared with NAC group (group II), the reduction of mechanical and cold allodynia and the decrease in sciatic nerve MDA levels was more significant in PBN group (group III).

In conclusion, the present study suggests that oxidative stress is probably responsible for the nerve dysfunction. This study identifies MDA as important determinants of neuropathological and behavioural consequences of CCI-induced neuropathy, and PBN may be a potential candidate for alleviation of neuropathic pain as it relieves SNL-induced mechanical hyperalgesia and cold allodynia.

IX. KAYNAKLAR

1. Merskey H, Bogduk N. Classification of chronic pain: descriptions of chronic pain syndromes and definitions of pain terms 2nd ed. Edited by Merskey H, Bogduk N. IASP Press, Seattle, 1994.
2. Merskey H. Pain terms: a list with definitions and notes on usage. *Pain* 1979;6:249-52.
3. Apkarian AV. Human brain mechanisms of pain perception and regulation in health and disease. *European Journal of Pain* 2005;9:463-84.
4. Portenoy RK, Kanner RM. Definition and assesment of pain. *Pain management: Theory and Practice*. Edited by Kanner RM. F.A.Davis, Philadelphia, 1996;3-18.
5. Jensen TS, Gottrup H, Sindrup SH, Bach FW. The clinical picture of neuropathic pain. *European Journal of Pharmacology* 2001;19:429:1-11.
6. Nicholson BD. Diagnosis and management of neuropathic pain: a balanced approach to teratment. *Journal of the American Academy Nurse Practitioners* 2003;15;12:3-9.
7. Carter GT, Galler BS. Advances in the management of neuropathic pain. *Physical Medicine and Rehabilitation Clinics of North America* 2001;12:447-59.
8. MacFarlane BV, Wright A, O'Callaghan J, Benson HA. Chronic neuropathic pain and its control by drugs. *Pharmacology and Therapeutics* 1997;75:1-19.
9. Watson CP. The treatment of neuropathic pain: antidepressants and opioids. *The Clinical Journal of Pain* 2000;16;2:49-55.
10. Woolf CJ, Mannion RJ. Neuropathic pain: aetiology, symptoms, mechanisms, and management. *Lancet* 1999;353:1959-64.
11. Benedetti F, Vighetti S, Amanzio M, Casadio C, Oliaro A, Bergamasco B, et al. Dose-response relationship of opioids in nociceptive and neuropathic postoperative pain. *Pain* 1998;74:205-11.

12. Balazs L, Leon M. Evidence of an oxidative challenge in Alzheimer's brain. *Neurochemical Research* 1994;19:1131-7.
13. Lewen A, Matz P, Chan PH. Free radical pathways in CNS injury. *Journal of Neurotrauma* 2000;17:871-90.
14. Khalil Z, Liu T, Helme RD. Free radicals contribute to the reduction in peripheral vascular responses and the maintenance of thermal hyperalgesia in rats with chronic constriction injury. *Pain* 1999;79:31-7.
15. Tal M. A novel antioxidant alleviates heat hyperalgesia in rats with an experimental painful peripheral neuropathy. *Neuro Report* 1996;7:1382-4.
16. Mayer M, Noble M. *N*-acetyl-L-cysteine is pluripotent protector against cell death and enhancer of trophic factor-mediated cell survival in vitro. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 1994;91:7496-500.
17. Seaton TA, Cooper JM, Schapira AH. Free radical scavengers protect dopaminergic cell line from apoptosis induced by complex I inhibitors. *Brain Research* 1997;777:110-8.
18. Kotake Y. Pharmacologic properties of phenyl *N*-*tert*-butylnitron. *Antioxidants and Redox Signaling* 1999;1:481-99.
19. 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;111:1116-24.
20. Le Bars D, Gozariu M, Cadden SW. Animal models of nociception. *Pharmacological Reviews* 2001;53:597-652.
21. Woolf CJ, Mannion RJ. Neuropathic pain: aetiology, symptoms, mechanisms and management. *Lancet* 1999; 353:1959-64.
22. Baron R. Peripheral neuropathic pain: from mechanisms to symptoms. *The Clinical Journal of Pain* 2000;16:12-20.
23. Serra J. Overview of neuropathic pain syndromes. *Acta Neurologica Scandinavica* 1999;100:173:7-11.
24. Jensen PG, Larson JR. Management of painful diabetic neuropathy. *Drugs Aging* 2001;18:737-49
25. Janig W, Baron R. The role of sympathetic nervous system in neuropathic pain: Clinical observations and animal models. *Neuropathic*

- pain : Pathophysiology and treatment. Progress in pain research and management Vol 21. Edited by Hanson PT, Fields HL, Hill RG. IASP Press, Seattle, 2001, 61-63.
26. Nordin M, Nyström B, Wallin U, Hagbarth KE. Ectopic sensory discharges and paresthesiae in patients with disorders of peripheral nerves, dorsal roots and dorsal columns. *Pain* 1984;20:231-45.
 27. Dworkin RH. Advances in neuropathic pain: diagnosis, mechanisms and treatment recommendations. *Archives of Neurology* 2003;60:1524-34.
 28. Haythornthwaite JA, Benrud-Larson LM. Psychological aspects of neuropathic pain. *The Clinical Journal of Pain* 2000;16;2:101-5.
 29. Berger A, Dukes EM, Oster G. Clinical characteristics and economic costs of patients with neuropathic disorders. *The Journal of Pain* 2004;5:143-49.
 30. Foley KM. Opioids and chronic neuropathic pain. *The New England Journal of Medicine* 2003;348:1279-81.
 31. McDermott AM, et al. The burden of neuropathic pain: results from a cross-sectional survey. *European Journal of Pain* 2006;10:127-35.
 32. Breivik H. Opioids in chronic non-cancer pain, indications and controversies. *European Journal of Pain* 2005;9:127-30.
 33. Arezzo JC. New developments in the diagnosis of diabetic neuropathy. *American Journal of Medicine* 1999;107:9-16.
 34. Schmader KE. Epidemiology and impact on quality of life of postherpetic neuralgia and painful diabetic neuropathy. *The Clinical Journal of Pain* 2002;18(6):350-4.
 35. Freynhagen R, et al. Screening of neuropathic pain components in patients with chronic back pain associated with nerve root compression: a prospective observational pilot study (MIPORT). *Current Medical Research and Opinion* 2006;22(3):529-37.
 36. Bowsher D. The management of central post-stroke pain. *Postgraduate Medical Journal* 1995;71(840):598-604.
 37. Andersen G, et al. Incidence of central post-stroke pain. *Pain* 1995;61(2):187-93.

38. Atroshi I, et al. Prevalence of carpal tunnel syndrome in a general population. *The Journal of the American Medical Association* 1999;282:153-8.
39. Nicholson B. Differential diagnosis: Nociceptive and neuropathic pain. *American Journal of Managed Care* 2006;12:256-62.
40. Kaki AM, et al. Identifying neuropathic pain among patients with chronic low-back pain: use of the Leeds Assessment of Neuropathic Symptoms and Signs Pain Scale. *Regional Anesthesia and Pain Medicine* 2005;30:422 e1-e9.
41. Hansson PT. Neuropathic pain: Definition, diagnostic criteria, clinical phenomenology, and differential diagnostic issues. *Pain 2008-An updated review: Refresher Course Syllabus*. Edited by Lopes JC, Raja S, Schmelz M. IASP Press, Seattle, 2008, 271-75.
42. Jensen TS. Management of neuropathic pain. *Pain 2008-An updated review:Refresher Course Syllabus*. Edited by Lopes JC, Raja S, Schmelz M. IASP Press, Seattle, 2008, 271-75.
43. Zimmermann M. Pathobiology of neuropathic pain. *European Journal of Pharmacology* 2001;429:23-37.
44. Jensen TS, Baron R. Translation of symptoms and signs into mechanisms in neuropathic pain. *European Journal of Pharmacology* 2001;429:1-11.
45. Mitchell RVD, Smith G. The control of acute post-operative pain. *British Journal Anaesthesia* 1988;63:58-62.
46. Treede RD. The cortical representation of pain. *Pain* 1999;79:105-11.
47. Borsook D, Becerra L. Neuroimaging of pain. *Pain*. Edited by Bountra C, Munglani R, Schmidt WK. Marcel Dekker, New York, 2003, 149-59.
48. Katz N, Ferrante FM. Nociception. Postoperative pain management. Edited by Ferrante FM, VadeBoncour. Churchill Livingstone, New York, 1993, 485-516.
49. Fields HL. *Pain*. McGraw Hill, New York, 1987, 13-16.
50. Beaulieu P, Rice ASC. Applied physiology of nociception. Acute pain. Edited by Rowbotham DJ, Macintyre PE. London, Arnold, 2003, 3-16.

51. Matthews EA, Dickenson AH. Pain Pharmacology. Pain medicine manual 2nd ed. Edited by Dolin SJ, Padfield NL. Edinburg, Butterworth-Heinemann; 2004, 21-8.
52. Aida S, Shimoji K. Descending pathways in spinal cord stimulation and pain control. Pain. Edited by Bountra C, Munglani R, Schmidt WK. New York, Marcel Dekker, 2003, 101-17.
53. Rittner HL, Brack A, Machelska H. Opioid peptide expressing leukocytes identification, recruitment and simultaneously increasing inhibition of inflammatory pain. *Anesthesiology* 2001;95:500-8.
54. Machelska H, Stein C. Pain control by immune-derived opioids. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 2000;27:533-6.
55. Machelska H, Stein C. Immune mechanisms in pain control. *Anesthesia Analgesia* 2002;95:1002-8.
56. Siddal PJ, Cousins MJ. Spine update: Spinal pain mechanisms. *Spine* 1997;22:98-104.
57. Yoshimura M, North RA. Substantia gelatinosa neurones hyperpolarized in vitro by enkefalin. *Nature* 1983;305:529-30.
58. Jensen TS. Anticonvulsants in neuropathic pain: rationale and clinical evidence. *European Journal of Pain* 2002;6:61-8.
59. Sindurp SH, Jensen TS. Pharmacologic treatment of pain in polyneuropathy. *Neurology* 2000;55:915-20.
60. Beydoun A. Neuropathic pain : From mechanisms to treatment strategies. *Journal of Pain and Symptom Management* 2003;25:1-3.
61. Attal N, Bouhassaria D. Mechanism of pain in peripheral neuropathy. *Acta Neurologica Scandinavica* 1999;100;173:12-24.
62. Eide PK, Jorum E, Stubhaug A. Relief of post-herpetic neuralgia with the N-methyl-D-aspartic acid receptor antagonist ketamine: a double blind, cross over comparison, with morphine and placebo. *Pain* 1994; 58:347-54.
63. Leung A, Wallace MS, Ridgeway B. Concentration effect relationship of intravenous alfentanil and ketamine on peripheral neurosensory thresholds, allodynia and hyperalgesia of neuropathic pain. *Pain* 2001;91:177-87.

64. Brill S, Sedgwick PM, Hamann W. Efficiency of intravenous magnesium in neuropathic pain. *British Journal of Anaesthesia* 2003;91:302-6.
65. Beydoun A, Backonja M. Mechanistic stratification of antineuralgic agents. *Journal of Pain and Symptom Management* 2003;25:18-30.
66. Backonja M. Defining neuropathic pain. *Anesthesia Analgesia* 2004;98:67.
67. Naik KA, Tandan SK et al. Role of oxidative stress in pathophysiology of peripheral neuropathy and modulation by *N*-acetyl-L-cysteine in rats. *European Journal of Pain* 2006;10:573-79.
68. İrdesel J. Nöropatik ağrı tedavisi. *International Journal of Medical Sciences* 2005;1:41-52.
69. Ahmad M, Goucke CR. Management strategies for the treatment of neuropathic pain in the elderly. *Drugs Aging* 2002;19:929-45.
70. Harati Y, Gooch C, Swenson M, Edelman S, Greene D, Raskin P, et al. Double-blind randomized trial of tramadol for the treatment of the pain of diabetic neuropathy. *Neurology* 1998;50:1842-6.
71. Baron R. Neuropathic pain the long path from mechanisms to mechanism-based treatment. *International Journal of Pain Medicine and Palliative Care* 2001;1:2-14.
72. Bennett GJ, Xie YK. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensations like those seen in man. *Pain* 1988;33:87-107.
73. Randall LO, Sellito J. A method for measurement of analgesic activity of inflamed tissue. *Arch Int Pharmacodyn* 1957;111:209-19.
74. Jasmin, L., Kohan, L., Franssen, M., Janni, G., and Goff, J.R. 1998. The cold plate as a test of nociceptive behaviors: description and application to the study of chronic neuropathic and inflammatory pain models. *Pain*. 75:367–382.
75. Choi, Y., Yoon, Y.W., Na, H.S., Kim, S.H., and Chung, J.M. 1994. Behavioral signs of ongoing pain and cold allodynia in a rat model of neuropathic pain. *Pain*. 59:369–376.
76. Ulugol A, Dokmeci D, Guray G, Sapolyo N, Ozyigit F, Tamer M. Antihyperalgesic, but not antiallodynic, effect of melatonin in nerve-

- injured neuropathic mice: Possible involvements of the L-arginine-NO pathway and opioid system. *Life Sciences* 2006;78:1592-7.
77. Gustafsson H, Flood K, Berge OG, Brodin E, Olgart L, Stiller CO. Gabapentin reverses mechanical allodynia induced by sciatic nerve ischemia and formalin- induced nociception in mice. *Experimenta Neurology* 2003; 182:427-34.
 78. Hao JX, Blakeman KH, Yu W, Hultenby K, Xu XJ, Wiesenfeld-Hallin Z. Development of a mouse model of neuropathic pain following photochemically induced ischemia in the sciatic nerve. *Experimental Neurology* 2000;163:231-8.
 79. Decosterd I, Woolf CJ. Spared nerve injury: an animal model of persistent peripheral neuropathic pain. *Pain* 2000;87:149-58.
 80. Kim SH, Chung JM. An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat. *Pain* 1992;50:355-63.
 81. Seltzer Z, Dubner R, Shir Y. A novel behavioral model of neuropathic pain disorders produced in rats by partial sciatic nerve injury. *Pain* 1990;43:205-18.
 82. Rosenfeld J, Cook S, James R. Expression of superoxide dismutase following axotomy. *Experimental Neurology* 1997;147:37-47.
 83. Sayan H, Ugurla B, Babul A, Take G, Erdoğan D. Effects of L-arginine and NG-Nitro-L-Arginine methyl ester on lipid peroxide, superoxide dismutase and nitrate levels after experimental sciatic nerve ischemia-reperfusion in rats. *International Journal of Neuroscience* 2004;114:349-64.
 84. Portakal O, Inal Erden M. Effects of pentoxifylline and coenzyme Q10 in hepatic ischemia/reperfusion injury. *Clinical Biochemistry* 1999;32:461-6.
 85. 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 Neuropathologica* 1999;37:247-51.
 86. Mellors A, Tappel AL. The inhibition of mitochondrial peroxidation by ubiquinone and ubiquinol. *Journal of Biological Chemistry* 1966;241:4353-6.

87. Takayanagi R, Takeshige K, Minakami S. NADH- and NADPH-dependent lipid peroxidation in bovine heart submitochondrial particles. Dependence on the rate of electron flow in the respiratory chain and an antioxidant role of ubiquinol. *Biochemical Journal* 1980;192:853-60.
88. Lemke M, Frei B, Ames BN, Faden AI. Decreases in tissue levels of ubiquinol-9 and -10, ascorbate and alphanatocopherol following spinal cord impact trauma in rats. *Neurosci Letters* 1990;108:201-6.
89. Yoshida S, Abe K, Busto R, Watson BD, Kogure K, Ginsberg MD. Influence of transient ischemia on lipid-soluble antioxidants, free fatty acids and energy metabolites in rat brain. *Brain Research* 1982;245:307-16.
90. Shults CW, Haas RH, Passov D, Beal MF. Coenzyme Q10 levels correlate with the activities of complexes I and II/III in mitochondria from parkinsonian and nonparkinsonian subjects. *Annals of Neurology* 1997;42:261-4.