



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**KOLOREKTAL DİSTANSİYON İLE İNDÜKLENEN
DENEYSEL VİSERAL AĞRI MODELİNDE NİKOTİNİN
ANALJEZİK ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hakan BALCI

**Samsun
Temmuz - 2016**



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**KOLOREKTAL DİSTANSİYON İLE İNDÜKLENEN
DENEYSEL VİSERAL AĞRI MODELİNDE NİKOTİNİN
ANALJEZİK ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hakan BALCI

**Danışman
Yrd. Doç. Dr. Fatih İLKAYA**

**Samsun
Temmuz - 2016**

TEŞEKKÜR

Tezimin konusunun belirlenmesinde, araştırma aşamasında, yön tayininde ve tamamlanmasında bana destek olan, bilgi ve becerisini benden esirgemeyen değerli hocam ve tez danışmanım sayın Yrd.Doç.Dr.Fatih İlkaya'ya minnettarım. Tezimin başlangıcından bitimine kadar olan sürede bana inanan ve her daim ellerini üzerimde hissettiğim değerli hocalarım Farmakoloji Anabilim Dalı başkanı sayın Doç.Dr.S.Sırrı Bilge ve Fizioloji Anabilim Dalı öğretim üyesi sayın Prof.Dr.Ayhan Bozkurt hocalarıma can-ı gönülden teşekkür ederim.

İlminden faydalanabilme fırsatını yakaladığım, yanında çalışmaktan mutluluk duyduğum ve de sevgi ve şefkatini bizden hiçbir zaman esirgemeyen emekli hocamız sayın Prof.Dr. Yüksel Kesim'e de çok teşekkür ederim.

Bu süreç içerisinde tüm yardımları ve güler yüzüyle desteklerini esirgemeyen değerli uzman hekimimiz Dr. Arzu Ağrı'ya da teşekkürü bir borç bilirim.

Tez süresi boyunca bana yardımcı olan ve birlikte çalışmaktan zevk aldığım asistan arkadaşlarım ve dostlarım Dr. Hasan Güzel, Arş. Gör. Bahar Akyüz, Dr. Deniz Gündoğdu Arslan, Arş. Gör. Özge Darakçı, Ecz. Caner Günaydın, Ecz. Ayşenur Zaimoğlu, Dr. Nusret Çiçekli, Ecz. Ferruh Karamangil ve Ecz. Ali Hosseinzadeh'e; teknik desteklerinden dolayı bölümümüz çalışanlarından Sn. Selami Türel ve manevi desteğini her daim üzerimde hissettiğim Sn. Elvan Yılmaz'a,

Bu günlere gelmemde büyük pay sahibi olan aileme ve dostlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma, PYO.TIP.1904.15.020 proje numarası ile Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından desteklenmiştir.

ÖZET

KOLOREKTAL DİSTANSİYON İLE İNDÜKLENEN DENEYSEL VİSERAL AĞRI MODELİNDE NİKOTİNİN ANALJEZİK ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Amaç: Nikotin, santral sinir sisteminde (SSS) nöronal uyarıcı bir etkiye sahip olan ve ligand kapılı iyon kanallı nikotinik asetilkolin reseptörleri (nAChR'ler) vasıtasıyla çeşitli etkileri meydana getirdiği bilinen bir ilaçtır. Nikotinin en önemli etkilerinden biri dopamin, glutamat, GABA ve diğer bir takım nörotransmitterlerin salıverilmesine neden olmasıdır. Bir nAChR agonisti olan nikotinin tail-flick ve hot-plate gibi bir takım ağrı testleri ile yapılan çalışmalarda nAChR'ler aracılığıyla antinosiseptif etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Fakat, kolorektal distansiyon ile indüklenen deneysel viseral ağrı modelinde nikotinin potansiyel antinosiseptif etkisi ve etki mekanizması henüz açıklığa kavuşturulamamıştır. Bu çalışmada çeşitli dozlarda uygulanan nikotinin antinosiseptif etkisi ve bu etkinin nikotinik, opioid ve GABA reseptör antagonistleri tarafından bloke edilip edilmediği araştırılmıştır.

Materyal ve Metot: Çalışmada kullanılan bütün sıçanlarda kolorektal distansiyon oluşturularak ağrılı uyarın meydana getirildi, bu uyarınları takiben “viseromotor yanıt (VMY)” olarak adlandırılan sıçanların abdominal eksternal kasında ölçülebilir bir kontraksiyon yanıtı oluşturuldu. VMY'ler eksternal oblik kasa yerleştirilen elektrotlardan elde edilen elektromyelografik (EMG) aktivite ile değerlendirildi. Kolorektal distansiyon, sıçanların kolonlarına yerleştirilen bir kolorektal aparat tarafından meydana getirildi.

Bulgular: Nikotinin çeşitli dozları (1,25, 2,5, 5 ve 10 mg/kg; i.v.) ile muamele edilen yetişkin erkek Sprague Dawley sıçanlarda doza bağımlı bir şekilde antinosiseptif etki gözlenmiştir. İntravenöz olarak uygulanan nikotin 1,2 ve 2,5 mg/kg dozlarında antinosiseptif etki gözlenmezken, 5 ve 10 mg/kg dozlarında antinosiseptif etki meydana gelmiştir. Bu testteki maksimum antinosiseptif etki ise 5 mg/kg dozunda gözlenmiştir. Nikotinin bu antinosiseptif etkisi selektif olmayan nikotinik reseptör antagonisti olan mekamilamin (0,25 mg/kg, i.v.) ve GABA_A reseptör antagonisti olan pikrotoksin (0,1 mg/kg, i.v.) tarafından engellenirken, selektif olmayan opioid reseptör antagonisti olan nalokson (1 mg/kg, i.v.) tarafından kısmen engellenmiştir.

Sonuç: Bu sonuçlar, nikotinin antinosiseptif etkisine nikotinerjik, GABAerjik ve kısmen de opioidderjik sistemin aracılık ettiğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Analjezi; kolorektal distansiyon; nikotin; viseral ağrı

HAKAN BALCI, Yüksek Lisans Tezi
Ondokuz Mayıs Üniversitesi - Samsun, Temmuz-2016

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE ANALGESIC EFFECT OF NICOTINE IN COLORECTAL DISTENSION INDUCED EXPERIMENTAL VISCERAL PAIN MODEL

Aim: It is well known that nicotine is a neuronal stimulating drug in the central nervous system (CNS) and elicits various effects through nicotinic acetylcholine receptors (nAChRs), which are ligand-gated cation channels. One of the effects of nicotine is the releasing of the neurotransmitters such as dopamine, glutamate, GABA and others. It has been reported that nicotine, an agonist of nAChRs, has an antinociceptive effect through nAChRs in hot plate and tail flick test. However, regarding the potential antinociceptive effect of nicotine in colorectal distension induced experimental visceral pain model and its mechanisms are not elucidated yet. In this study, we sought to evaluate the antinociceptive effects of various doses of nicotine and to determine whether these effects could be blocked by nicotinic, opioid and GABA receptor antagonists.

Material and Method: In all used rats in our study, the noxious stimulus is produced by colorectal distension (CRD), in pursuit of this noxious stimulus, visceromotor response (VMR) was obtained and measured by recording EMG (electromyography) activity gained from electrodes implanted into the external oblique muscles of the rats. To produce CRD, colorectal apparatus is placed in the colon of the rats.

Results: Adult Sprague Dawley rats were treated with various doses of nicotine (1.25, 2.5, 5 and 10 mg/kg; i.v.), and an antinociceptive effect was observed in a dose dependent manner. While the antinociceptive effects was not observed at 1.25 and 2.5 mg/kg, intravenously administered of nicotine induced an antinociceptive effect at 5 and 10 mg/kg, but maximal antinociception was observed at the dose of 5 mg/kg in this test. This antinociceptive effect of nicotine was attenuated by pretreatment with the non-selective nicotinic receptor antagonist mecamylamine (0.25 mg/kg, i.v.) and GABA_A receptor antagonist picrotoxin (0.1 mg/kg, i.v.). But the antinociceptive effect of nicotine was partially blocked by non-selective opioid receptor antagonist naloxone (1 mg/kg, i.v.)

Conclusion: The data indicate that nicotine can exert an antinociceptive effect that is at least mediated by the nicotinerigic, GABAergic and partially opioidergic system.

Keywords: Analgesia; colorectal distension; nicotine; visceral pain

HAKAN BALCI, Master Thesis
Ondokuz Mayıs University- Samsun, July-2016

SİMGELER ve KISALTMALAR

| | |
|----------------|---|
| μ-OR | : μ-opioid reseptörü |
| 5-HT | : 5 Hidroksitriptamin |
| ABT-594 | : (R) -5- (2-azetidiniimetoksi) -2-kloropiridin |
| ACh | : Asetilkolin |
| ACTH | : Adrenokortikotropik hormon |
| ANOVA | : Tek yönlü varyans analizi |
| AOAA | : Aminooksiasetik asit |
| CAT | : Kolin asetil transferaz |
| CGRP | : Calsitonin gene related protein =Kalsitonin gen ilişkili peptid |
| COX | : Siklooksijenaz |
| CPP | : Koşullandırılmış yer tercihi |
| CRF | : Kortikotropin salıveren faktör |
| DDT | : Dikloro difenil trikloroethan |
| DH | : Dorsal boynuz |
| DhβE | : Dihidro-β-eritrodin |
| DRG | : Korsal kök gangliyonu |
| EAA | : Eğri altında kalan alan |
| EMG | : Elektromiyografi |
| GABA | : Gama amino butirik asit |
| GAG | : γ-asetilenik GABA |
| GH | : Büyüme hormonu |
| Gly | : Glisin |
| GVG | : γ-vinil GABA |

| | |
|----------------|---|
| HPA | : Hipotalamus-hipofiz-adrenal |
| IASP | : International Association for the Study of Pain |
| i.c.v. | : İntraserebroventriküler |
| i.t. | : İntratekal |
| KO | : Knock-out |
| KRD | : Kolorektal distansiyon |
| LB4 | : Lökotrien B4 |
| LS | : Lokus seruleus |
| LTD | : Long-term depression=Uzun süreli depresyon |
| LTP | : Long-term potentiation =Uzun süreli potansiyalizasyon |
| Met-Enk | : Metionin-enkefalin |
| MLA | : Metillikakonitin |
| nAChR | : Nikotinik asetilkolin reseptörü |
| NIK | : Nikotin |
| NLX | : Nalokson |
| NMDA | : N-metil-D-aspartat |
| NO | : Nitrik oksit |
| NRGS | : Nukleus retikularis giganto sellularis |
| NRM | : Nukleus rafe magnus |
| NSAİİ | : Steroid olmayan antiinflamatuvar ilaçlar |
| NTX | : Naltrekson |
| PAG | : Periakuaduktal gri |
| PAM | : Pozitif allosterik modülatör |
| PENK | : Proenkefalin |
| PG | : Prostaglandin |
| POMK | : Proopiomelanokortin |

| | |
|-------------|---|
| PSL | : Siyatik sinir ligasyonu |
| RVM | : Rostral ventromediyal medulla |
| SP | : Substant P |
| THIP | : 4,5,6,7-tetrahidro izoksazol (5,4-b) piridin 3-ol |
| Tyr | : Tirozin |
| VMY | : Viseromotor yanıt |
| WDR | : Wide dynamic range = Geniş dinamik alan nöronları |



İÇİNDEKİLER

| | |
|--|----|
| ÖZET | iv |
| ABSTRACT | v |
| SİMGELER VE KISALTMALAR | vi |
| İÇİNDEKİLER | ix |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER | 3 |
| 2.1. Ağrının Tanımı | 3 |
| 2.2. Ağrının Sınıflandırılması..... | 4 |
| 2.2.1. Akut Ağrı..... | 4 |
| 2.2.2. Kronik Ağrı..... | 4 |
| 2.2.3. Viseral Ağrı..... | 5 |
| 2.3. Ağrının Mekanizması ve İletimi | 5 |
| 2.3.1. Ağrının İletimi..... | 9 |
| 2.3.2. Nosisepsiyonun Algılanmasında Rol Alan Düzenleyiciler | 10 |
| 2.4. İnen ve Çıkan Ağrı Yolakları | 10 |
| 2.4.1. Çıkan (asendan) Yol..... | 10 |
| 2.4.2. İnen (desendan) Yol | 13 |
| 2.5. Nikotinin Yapısı..... | 14 |
| 2.5.1. Nikotinin Kimyası ve Tütünün Kullanımı | 14 |
| 2.6. Nikotinin Farmokinetiği ve Farmakodinamiği..... | 15 |
| 2.6.1. Nikotinin Farmokinetiği | 15 |
| 2.6.2. Nikotinin Farmakodinamiği | 17 |
| 2.7. Nikotinin Etkileri | 17 |
| 2.7.1. Nikotinin Akut Etkileri | 18 |
| 2.7.2. Nikotinin Kronik Etkileri..... | 21 |
| 2.8. Nikotin ve Antinosisepsiyon | 23 |
| 2.8.1. Antinosiseptif Hedefler Olarak nAChR'ler | 24 |
| 2.8.2. nACh Pozitif Allosterik Modülatörler..... | 26 |
| 2.8.3. Periferik nACh Reseptörleri | 28 |
| 2.8.4. Omurilik Dorsal Boynuzunda Bulunan nAChR'ler | 30 |
| 2.8.5. Supraspinal nACh Reseptörleri..... | 31 |

| | |
|---|-----------|
| 2.9. Nikotin ve Endojen Opioid Peptidler | 35 |
| 2.10. Antinosisepsiyonun GABA _A erjik Mekanizması | 38 |
| 2.10.1. GABA _A Agonistleri; Antinosisepsiyon ve Etki Alanları | 38 |
| 2.10.2. GABA _A Antinosisepsiyonunun GABA _A Reseptör Antagonistleri Tarafından Modifikasyonu | 40 |
| 2.10.3. Nikotin Antinosisepsiyonunda GABA _A erjik Sistemin Rolü..... | 41 |
| 3. MATERYAL VE METOT | 43 |
| 3.1. Deney Hayvanları..... | 43 |
| 3.2. Cerrahi Yöntem..... | 43 |
| 3.2.1. Elektrotların Yerleştirilmesi..... | 43 |
| 3.2.2. İntravenöz Kalıcı Kataterin Yerleştirilmesi | 44 |
| 3.3. Kolorektal Distansiyon Oluşturulması | 45 |
| 3.4. Kullanılan İlaçlar | 48 |
| 3.5. Deney Grupları | 48 |
| 3.5.1. Nikotinin KRD ile Oluşturulan Viseral Ağrı Modelinde Antinosiseptif Etkisinin Araştırılması | 48 |
| 3.5.2. Nikotinin KRD ile Oluşturulan Viseral Ağrı Modelindeki Antinosiseptif Etkisinde Nikotinic Reseptörlerin Rolünün Araştırılması..... | 49 |
| 3.5.3. Nikotinin KRD ile Oluşturulan Viseral Ağrı Modelindeki Antinosiseptif Etkisinde GABA Reseptörlerin Rolünün Araştırılması | 49 |
| 3.5.4. Nikotinin KRD ile Oluşturulan Viseral Ağrı Modelindeki Antinosiseptif Etkisinde Opioiderjik Reseptörlerin Rolünün Araştırılması | 49 |
| 3.6. İstatistiksel Analiz | 50 |
| 4. BULGULAR | 51 |
| 4.1. Nikotinin KRD ile Oluşturulan Viseral Ağrı Modelinde Antinosiseptif Etkisinin Araştırılması..... | 51 |
| 4.2. Nikotinin KRD ile Oluşturulan Viseral Ağrı Modelinde Antinosiseptif Etkisinde Nikotinic Reseptörlerin Rolünün Araştırılması | 53 |
| 4.3. Nikotinin KRD ile Oluşturulan Viseral Ağrı Modelinde Antinosiseptif Etkisinde GABA Reseptörlerin Rolünün Araştırılması..... | 55 |
| 4.4. Nikotinin KRD ile Oluşturulan Viseral Ağrı Modelinde Antinosiseptif Etkisinde Opioiderjik Reseptörlerin Rolünün Araştırılması | 57 |

| | |
|--------------------------|----|
| 5. TARTIŞMA | 61 |
| 6. SONUÇ | 68 |
| KAYNAKLAR | 69 |
| ÖZGEÇMİŞ | 87 |



1. GİRİŞ

Ağrı kişilerin yaşam kalitesini önemli oranda düşüren yaygın bir semptom olup, sosyal ve ekonomik bir problemdir. İsveç'te yapılan bir epidemiyolojik çalışmada kronik ağrı prevalansı %54 civarında bulunmuştur (Björk ve ark., 2004). Ağrı tedavisinde sık kullanılan steroid olmayan antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ) hemen her ülkede en çok kullanılan ilk beş grup ilaç içine girmektedir. Amerika Birleşik Devletleri gibi birçok gelişmiş ülkede ağrı kesicilerin reçetesiz olarak kullanılması yaygındır. Türkiye'de 2007 yılında, "ağrı kesici" ve "antiromatizmal" olarak kullanılan ilaçlar, kullanılan tüm ilaçların %21,7'lik önemli bir kısmına karşılık gelmektedir (Sendika, 2001). Bu nedenle etkin ve rasyonel analjezik kullanımı çok önemlidir. Günümüzde ağrı duyusunun ve ağrı tedavisinde kullanılan ilaçların analjezik etki mekanizmalarının araştırılmasına yönelik deneysel ve klinik çalışmalara rağmen bu konudaki bilgilerimiz henüz sınırlıdır.

Sıçanlarda kolorektal distansiyonla (KRD) indüklenen viseral ağrı klinikte barsak, mesane ve uterus gibi içi boş organlardan kaynaklanan viseral ağrıyı taklit etmektedir (Nakamura ve Ferreira, 1988). KRD ratlarda (sıçanlarda) abdominal eksternal kaslarda kontraksiyon yanıtı (viseromotor yanıt, VMY) oluşturmaktadır. VMY abdominal eksternal oblik kasların kontraksiyonu sırasında oluşan EMG aktivitesinin hesaplanması ile değerlendirilir ve bu model viseral ağrı değerlendirmesinde oldukça objektif veri sağlar (Ness ve Gebhart, 1988; Möltner ve ark. 1998). Analjezik ilaçlar KRD ile oluşturulan viseromotor yanıtı (EMG aktivitesini) tamamen inhibe edebilirler ya da azaltabilirler.

Analjezik etkide nikotinerjik sistemin etkinliğini gösteren çalışmalar mevcuttur. Analjezik etkide en fazla rol alan nikotinic reseptör alt tipi $\alpha 4\beta 2$ ve $\alpha 7$ reseptörleridir. Nikotinic asetilkolin reseptörlerinin diğer alt-birimleri de ($\alpha 3\beta 2$, $\alpha 3\beta 4$, ve $\alpha 4\beta 4$ gibi) aynı zamanda sinir sisteminde ve nöronal olmayan bazı dokularda genişçe dağılım gösterirler. Özellikle talamus, serebral korteks, hipokampus ve nukleus rafe magnus gibi üst merkezlerde yer alan nikotinic asetilkolin reseptörleri analjezik mekanizmada önemli rol oynamaktadır (Zoli ve ark., 2006). Talamus ve rafe magnusda $\alpha 4$ ve $\beta 2$ genleri silinmiş sıçanlarda analjezik yanıtların azaldığı gözlenmiştir (Del Mar Arroyo-Jimenez ve ark., 1999). Ayrıca insanlarda yapılan bir çalışmada, nikotinin post operatif (cerrahi sonrası) ağrıda sigara içmeyen hastalara uygulandığında daha fazla

analjezik etki gösterdiği bulunmuştur. Bu çalışmada nikotinin analjezik etkisinin sigara içen bağımlılarda, tolerans geliştiğinden dolayı, daha az analjezik etki gösterdiği bulunmuştur (Acta, 2015).

Bu projenin amacı kolokteral distansiyonla indüklenen viseral ağrı modelinde nikotinin analjezik etkinliğini değerlendirmektir. Kolorektal distansiyonla indüklenen viseral ağrı modeli, deney hayvanlarında viseral ağrıyı değerlendirmede kullanılan ve iyi bilinen bir yöntem olduğundan sık kullanılmaktadır. Biz de daha önce bu modelde denenmemiş olan nikotinin analjezik etkisini ve etki mekanizmasını araştırmak istiyoruz.



2.GENEL BİLGİLER

2.1. Ağrının Tanımı

Günümüzde Uluslararası Ağrı Çalışma Derneği (International Association for the Study of Pain, IASP)'e göre ağrı: “Gerçek veya potansiyel doku hasarıyla ilişkili duysal ve emosyonel hoş olmayan oldukça subjektif bir deneyimdir”. Bu tanıma göre ağrı gerçek bir duyu değil algıdır ve duysal, duygusal ve bilişsel bileşenlerden oluşmaktadır. Bu bileşenler ağrının süre, şiddet ve yerleşim olarak algılanmasına, motivasyonel değişiklikler ve nahoşluk hissi oluşmasına, ağrıya bağlı korku, anksiyete ve farkındalık yaratılmasına neden olur (Loeser ve Melzack, 1999).

Ağrı ile ilgili terimler ve tanımları şunlardır (Makin ve ark., 1998):

Ağrı eşiği: Ağrıya neden olan en düşük uyarı şiddeti

Ağrı toleransı: Hastanın en yüksek şiddetli ağrı uyarımını tolere edebileceği sınır

Allodinia: Ağrılı olmayan uyarının neden olduğu ağrıdır. Ağrı eşiği düşüktür

Hiperaleji: Ağrılı uyarana karşı yanıtın artması

Hiperpati: Uyarı sonrası uzayan ağrı sendromu

Disestezi: Ağrıdan daha fazla rahatsızlık oluşturan istenmeyen duyu

Hiperestezi: Uyarana karşı duyarlılık artışı

Nosiseptör: Ağrılı uyarana karşı duyarlı spesifik reseptör

2.2. Ağrının Sınıflandırılması

Tablo 1. Ağrının sınıflandırılması (International Association for the study of pain (IASP)'ye göre) (Aydın, 2002'den).

| AĞRININ SINIFLANDIRILMASI | | |
|---------------------------|---------------------------|----------------------|
| Süresine göre | Kaynaklandığı dokuya göre | Mekanizmaya göre |
| Akut ağrı | Somatik ağrı | Nosiseptif ağrı |
| Kronik ağrı | Viseral ağrı | Nöropatik ağrı |
| | Sempatik ağrı | Deafferantasyon ağrı |
| | Periferel ağrı | Reaktif ağrı |
| | | Psikosomatik ağrı |

2.2.1. Akut Ağrı

Akut ağrı genellikle tanımlanabilir bir nedene bağlı olmakla birlikte geçicidir. Vücuda zarar veren bir olay gerçekleştiğinin göstergesidir. Neden olan lezyon ile ağrı arasında yer, şiddet ve zaman bakımından yakınlık mevcuttur. Akut ağrı travma sonrası, cerrahi müdahale ve bazı hastalıklarda görülür. Nosiseptif veya nöropatik kaynaklı oluşabilmektedir. Akut nosiseptif somatik ağrı fizyolojik ya da patofizyolojik olabilir. Fizyolojik ağrı birincil ve hızlı ağrı, patofizyolojik ağrı ise ikincil ve yavaş ağrı olarak bilinmektedir (Makin ve ark., 1998; Aydın, 2002; Dahl ve ark., 2005; Treatments, 2011).

2.2.2. Kronik Ağrı

Kronik veya sürekli ağrı, akut hastalık veya yaralanma durumunda ortaya çıkan ve 3 ila 6 ay arasında sürekli kendini tekrarlayan ağrı olarak tanımlanır (Treatments, 2011). Kronik ağrı sendromları yaralanma veya doku hasarı dışında herhangi bir yaralanma belirtisi olmadan kendiliğinden de oluşabilir. Stres, duyuşsal ve çevresel faktörler ağrının yoğunluğunu ve kalıcılığını artırabilir. Kronik ağrı tedavi sonlandırıldığında da devam edebilir. Ağrının şiddetinde kişinin algısı da önemlidir (Loeser ve Melzack, 1999).

2.2.3. Viseral Ağrı

Kimyasal uyarılar, organların ani gerilmesi, kan akımının azalması gibi etmenler viseral ağrı nedenidir. Yaygın, lokalizasyonu güç ve yansıyan tipte olabilir (Aydın, 2002). Somatik ağrıya göre daha iyi anlaşılır. Viseral organlar distansiyona oldukça duyarlıdır. Gastrointestinal ve ürogenital sistem, distansiyon yoluyla oluşan ağrıya oldukça hızlı yanıt verir. Ağrı etiolojisinde kısa süreli iskemi oluşması olumsuz bir faktördür. Buna rağmen iskemi iyi bilinen bir mekanizmadır. Önemli doku hasarının olduğu durumlarda az, az doku hasarının olduğu durumlarda ise çok şiddetli ağrı olabilir. Viseral ağrı; ağrı merkezinden uzak bir kaynağa iletilebilir. Segmental ve yüzeyseldir ve genellikle hiperaljezi gösterir (Makin ve ark., 1998).

2.3. Ağrının Mekanizması ve İletimi

Ağrılı uyarana karşı spesifik olan reseptöre nosiseptör denir. Nosiseptörler mekanik, termal ve/veya kimyasal uyarılarla aktive olurlar (Makin ve ark., 1998). 3 tip nosiseptör vardır (Patestas ve Gartner, 2006).

- 1- Mekanosensitif nosiseptör: Mekanik uyarılar veya doku yaralanmalarına karşı duyarlıdır. A-delta lifleri görev alır.
- 2- Termosensitif nosiseptör: Sıcak ve soğuk uyarılara karşı duyarlıdır. A-delta lifleri görev alır.
- 3- Polimodal nosiseptör: Mekanik, termal ve kimyasal zararlı uyarılara karşı duyarlıdır. C lifleri görev alır.

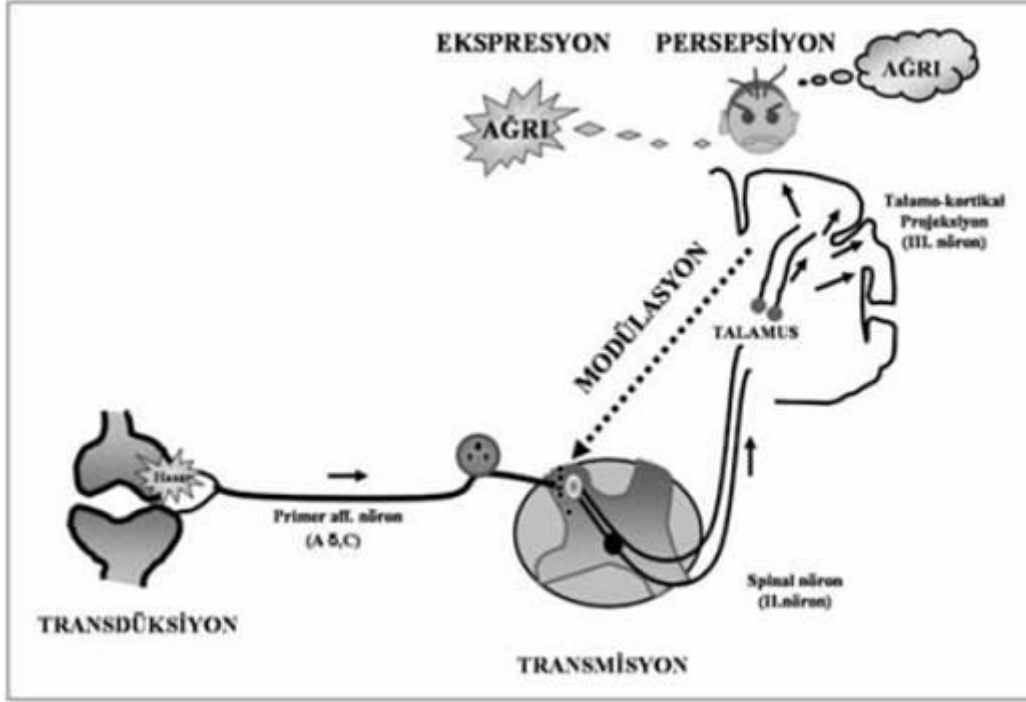
Vücudun herhangi bir bölgesindeki doku yaralanması sonucu uyarının bu nosiseptörler aracılığı ile alınıp santral sinir sistemine ulaştırılması, belirli bölge ve nöral yapılarda integre edilmesi, bu zararlı tehdidin algılanması buna karşı fizyolojik, biyoşimik ve psikolojik önlemlerin harekete geçirilmesine nosisepsiyon denir. Dolayısıyla nosisepsiyon doku hasarı ile ağrının algılanması arasında oluşan elektrokimyasal olaylar bütünüdür (Kayhan, 1997; Benjamin, 2000). Ağrı, nosisepsiyon içinde bir algılama olayıdır. Normal koşullarda ağrı ve nosisepsiyon hoş olmayan bir duygu olarak algılansa da amacı organizmayı zararlı saldırıdan korumak ve savunma mekanizması oluşturmaktır (Ertekin, 1993). Dolayısıyla nosiseptörler; periferik terminalleri ağrılı uyarılara hassas, primer afferentleri tüm deri ve deri altı dokularda bulunan, çıplak ve serbest sinir uçlarıdır (Kayhan, 1997). Miyelinsiz C lifleri ile

miyelinli A-delta liflerinin distal uzantılarından oluşmuşlardır ve 100-400 µm uzunluğundaki aksonal sonlanmalar küçük kan damarları ve mast hücreleri kenarında sonlanırlar (Cervero ve Laird, 2004)

Periferdeki bir uyarının ağrı olarak merkeze ulaşmasında bazı faktörler rol oynar. Bunlar; (Şekil 1)

1. Transdüksiyon: Periferde nosiseptörler tarafından algılanan ağrı sayesinde ortaya çıkar. Bir enerji şeklinin başka bir enerji şekline dönüşmesi durumudur. Örneğin; hissedilen her soğuk veya mekanik uyarın ağrılı değildir. Soğuk veya mekanik uyarının ağrılı duruma geçmesi için soğukluk derecesinin düşmesi veya mekanik şiddetin artması gerekmektedir. Nosiseptörler bu şekilde duyarlı hale geçerek ağrıya neden olurlar (Aldemir, 2000).

2. Transmisyon: Nosiseptörler tarafından alınan ağrı bilgisinin daha üst merkezlere taşınması olayıdır (Aldemir, 2000). Nosiseptif impulslar üst merkeze A-delta ve C lifleriyle taşınırlar. A-delta lifleri miyelinli, C lifleri ise miyelinsizdir. Bu yüzden A-delta lifleri C liflerinden daha hızlıdır. A-delta liflerinin uyarılmasıyla keskin ve batıcı bir ağrı oluşurken C lifleri ise gecikmiş yanıcı bir ağrı oluşturur. A-delta ve C lifleri yalnızca deri ve deri altı yapıların değil viseral organların uyarılarını da taşımaktadır (Cross, 1994; Kandel, 2000).



Şekil 1. Ağrı oluşum mekanizması (Erdine, 2003'den uyarlanmıştır)

3. Modülasyon: Genellikle omurilik seviyesinde meydana gelen bir olaydır. 1965 yılında Melzack ve Wall tarafından ileri sürülen kapı kontrol teorisinden önce spinal kord sadece bir ara durak olarak kabul edilirdi. Bu teori ile ağrılı uyarının omurilikte ciddi bir engel ile karşılaştığı ortaya çıkmıştır. Ağrılı uyarın spinal kord'da değişime uğramakta ve bu değişim sonucu üst merkezlere iletilmektedir (Erdine, 2000).

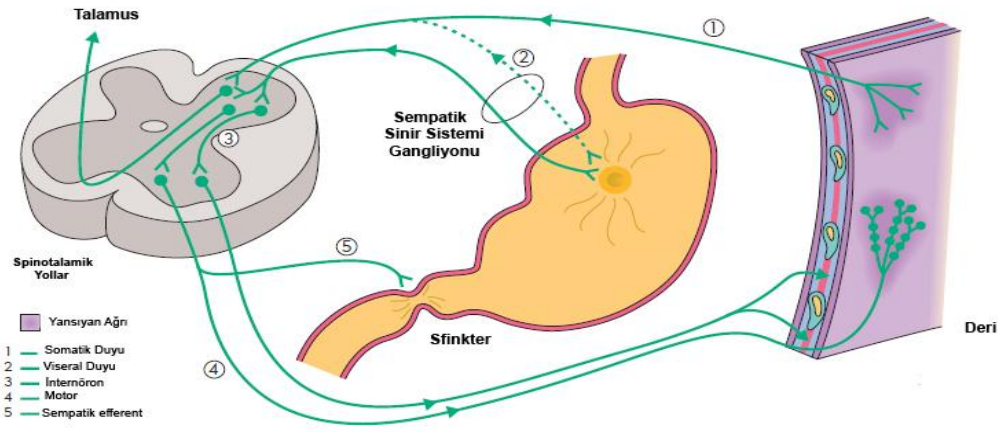
4. Persepsiyon: Omurilikten çıkan uyarının çıkan yollar aracılığı ile üst merkezlere iletilip ağrının algılanması olayıdır. Bu yollar spinotalamik, spinoretiküler ve spinomezensefalik yoldur (Aldemir, 2000).

Viseral ağrının mekanizmasıyla ilgili 2 teori öne sürülmüştür;

Birinci teoride; viseral ağrı da somatik ağrı tanımlamasında kullanılan nosiseptörlerle innerve olmaktadır. İç organları innerve eden duyuşal reseptörlerin 2 farklı tipi vardır. 1. sınıf reseptörler doğal uyarınlara karşı yüksek derecede eşige sahiptir. Kalp, damar, akciğer ve solunum yolları, yemek borusu, safra sistemi, ince barsak, kolon, üreter, mesane ve uterusu bulundukları tespit edilmiştir. 2. sınıf reseptörler ise doğal uyarınlara karşı düşük derecede eşige sahiptir. Bu reseptörler homojen dağılırlar. Düşük frekansta normal sinyaller oluştururken yüksek frekansta ağrı

sinyalleri oluşturur. Kalp, özofagus, kolon, mesane ve testiste buldukları tespit edilmiştir.

İkinci teoride ise; iltihap varlığında aktif hale geçen afferent liflerin iç organlarda afferent innervasyonu oluşturması savunulmaktadır. Bu teoriye göre sessiz nosiseptörler viseral afferent liflerden işlevsel olarak farklıdır ve çoğunlukla doku yaralanması ve inflamasyon gibi uyarılarla ilgilidir. Bu yeni sınıf duyuşal reseptörler kronik viseral ağrının sinyalizasyonuna, spinal reflekslerin uzun vadeli değışikliklerine ve iç organların otonomik kontrolünün bozulmasına katkıda bulunmaktadır (Cervero, 1993) (Şekil 2).



Şekil 2. Viseral ağrı mekanizması (Hudspith, 2006'dan uyarlanmıştır)

Sessiz nosiseptörler viseral ağrıda klinik öneme sahip olmasına karşın sayısal üstünlüğü tartışmalıdır. Kolon ve mesanedeki sessiz viseral afferentlerin toplam afferent innervasyonunun %80-90'ına karşılık geldiği düşünülmesine karşın bunun %40-45'i geçmediği kanıtlanmıştır. Normal şartlar altında viseral nosiseptörler kolay uyarılabilir değildir. Bu nedenle inflamasyon ya da yaralanmadan sonra iç organlardaki aktivasyona yanıt olarak oluşan deşarjlar süre ve büyüklük bakımından akut hasar sonrasında olduğundan daha fazla olur (Cervero, 1993).

2.3.1. Ağrının İletimi

C Lifleri: Miyelinsiz liflerdir. Uzunlukları 0,23-1,5 µm arasında değişmektedir. Kimyasal, termal ve mekanik uyarılara yanıt vermektedir. Birden fazla biçimde uyarılmaları nedeniyle polimodal lifler olarak bilinmektedirler. İletim hızı 2,5 m/s'den küçüktür (Schofield, 2005).

A-delta Lifleri: 1,5-2 µm uzunlukta, miyelinli hızlı tepkili nöronlar olmakla birlikte iletimleri de oldukça hızlıdır. İletim hızı 2 m/s'den büyüktür. İyi lokalize, keskin, batıcı ve güçlü ağrılardan sorumludurlar. A-delta lifleri, C lifleriyle benzer görev üstlenmektedirler. Fakat A-delta lifleri sadece termal ve mekanik uyarılara karşı duyarlıdır ve daha hızlı tepki verirler. İlk ağrı hissi A-delta lifleri aracılığıyla olur, devamında ise C lifleri tarafından iletilir. A-delta ve C lifleri deride çok sayıda bulunur. Fakat C lifleri iç organlar, kaslar ve viserlerde daha baskındır. Her iki lif de omuriliğin dorsal boynuzu içindeki nöronlarla sinaps yaparak beyne ulaşırlar (Schofield, 2005).

Dorsal Boynuz Mekanizması

A-delta ve C lifleri dorsal boynuz spinal korddan girerler. Dorsal boynuz kökleri katmanlı bir yapıya sahiptir (Schofield, 2005). Bunlardan en yüzeyseli lamina I'dir ve dorsal boynuz lamina VI'ya kadar uzanır. Miyelinsiz C lif nosiseptörleri lamina II'de sonlanmaktadır. Kısa miyelinli A-delta lifleri ise lamina I'de sonlanmaktadır. Hafif dokunuş ve titreşim gibi zararlı olmayan uyarıları ileten düşük eşikli geniş lifli mekanoreseptörler lamina III ve IV'de son bulur. Dorsal boynuzda bilgi iletimi dorsal boynuz nöronları olarak bilinen 2. sıra nöronlar ile gerçekleştirilir. Bunlar nosiseptif spesifik nöronlar ve geniş dinamik alan nöronlarıdır. Bu nöronlar dorsal boynuzda diferansiyel dağılım ve afferent giriş için farklı yanıt özelliklerine sahiptir (Hudspith, 2006).

a) Nosiseptif spesifik nöronlar: Lamina I'de lokalize olmuşlardır. Yüksek eşikli ve zarar verici uyarılara selektif olarak yanıt verirler. Alıcı hedefler genelde küçüktür ve deri ile kaslardan oluşur (Aydın, 2002; Hudspith, 2006).

b) Geniş dinamik alan nöronları (wide dynamic range) (WDR): Lamina V ve çevresinde lokalize olmuşlardır. Nosisseptif nöronların yaklaşık %20'si lamina I ve II'de bulunmaktadır. WDR nöronları zararlı ve zararsız uyarılara yanıt verirler. A-delta lifleri içermektedirler. Zararsız seviyedeki dokunsal uyarıda ağrı sinyali oluşturmaz. Uyarı takiben nöron aktivitesi eşik seviyesini aşarsa zararlı olmayan dokunsal uyarı ağrılı olarak algılanır ve allodiniye sebep olur (Hudspith, 2006).

2.3.2. Nosisepsiyonun Algılanmasında Rol Alan Düzenleyiciler

Santral uyarılmada P maddesi (SP), glutamat, bradikinin, serotonin, nörokinin A, gama amino butirik asit (GABA), kalsitonin geni ile ilişkili peptid (CGRP) gibi nörotransmitterlerin salıverilmesi önemli rol oynar. Bu transmitterler primer afferent liflerin dorsal boynuz sonlanmalarında pre-post sinaptik etki oluştururlar. Sensitizasyon, primer afferent input sonucu presinaptik SP, glutamat ve CGRP salgılanmasıyla birlikte başlar. Postsinaptik membranda glutamat; AMPA reseptörlerine, SP ise nörokinin reseptörlerine bağlanarak intraselüler Ca^{++} iyonlarının salıverilmesini sağlar. Ca^{++} ise proteinkinaz C, fosfolipaz C, nitrik oksit (NO) sentetaz aktivasyonuna ve erken gen indüksiyonuna neden olur. Protein kinaz C, NMDA reseptörünü fosforilize ederek Mg^{++} blokajını sürekli olarak kaldırır. Artan fosfolipaz C, prostaglandin (PG)'lerin artmasına yol açarak nosisseptif duyarlılığı ve lokal dolaşımda vazodilatasyonu artırır. Böylece sekonder hiperaljeziye neden olabilir (Attal ve Bouhassira, 1999; Serra, 1999; Matthews, 2004).

2.4. İnen ve Çıkan Ağrı Yolakları

2.4.1. Çıkan (Asendan) Yol

1-Spinotalamik yol: Anterolateral sistemde bulunan direk ağrı yolağıdır. Dorsal boynuzda lamina I ve II'nin primer afferent uçlarından yükselir. Spinotalamik sistem kökenli hücreler lamina I ve IV-VI'da ağırlıklı olarak bulunur. Sadece nosisseptif uyarılar değil termal ve dokunsal uyarılar da anterolateral sistemden geçerek talamusun kontralateral ventral posterior çekirdeğinde sonlanır. Spinotalamik yol anatomik olarak 2 farklı bölgeden oluşur. Lateral spinotalamik yol ve çok ufak olan anterior spinotalamik yoldur. Lateral spinotalamik yol nosisseptif ve termal uyarıları iletirken anterospinotalamik yol ise dokunsal uyarıları iletmektedir. Dolayısıyla anterior ve

lateral spinotalamik yolların ikisi birlikte nosiseptif, termal ve dokunsal uyarıları beyin üst merkezine iletirler (Hudspith, 2006; Patestas ve Gartner, 2006).

2-Spinoretiküler yol: Nosiseptif, termal ve dokunsal uyarıları talamusa indirekt olarak ulaştırır. Spinoretiküler sistem hücreleri dorsal boynuzun derin katmanlarına ve ventral boynuzun ise lamina VII ve VIII bölgelerine yerleşmiştir. Spinoretiküler yol bilgiyi beyin sapına bilateral olarak iletir, uyarılma ve uyanıklık sağlamada görevli bölgedir. Böylece yaralanma gibi zararlı uyarılar sonrasında organizmayı uyarır. Retiküler yapıya gelen uyarıdan sonra retikülotalamik lifler yoluyla talamustaki intralaminar çekirdeklere bilateral olarak uzanır (Hudspith, 2006; Patestas ve Gartner, 2006).

3-Spinomezensefalik yol: Spinomezensefalik kökenli hücreler ağırlıklı olarak dorsal boynuzun lamina I ve IV-VI bölgelerinde bulunur. Periakuaduktal gri madde ve beyin sapındaki rafe çekirdeğinde sonlanır. Ağrının emosyonel bileşiminde spinomezensefalik lifler önemli rol oynamaktadır (Hudspith, 2006; Patestas ve Gartner, 2006).

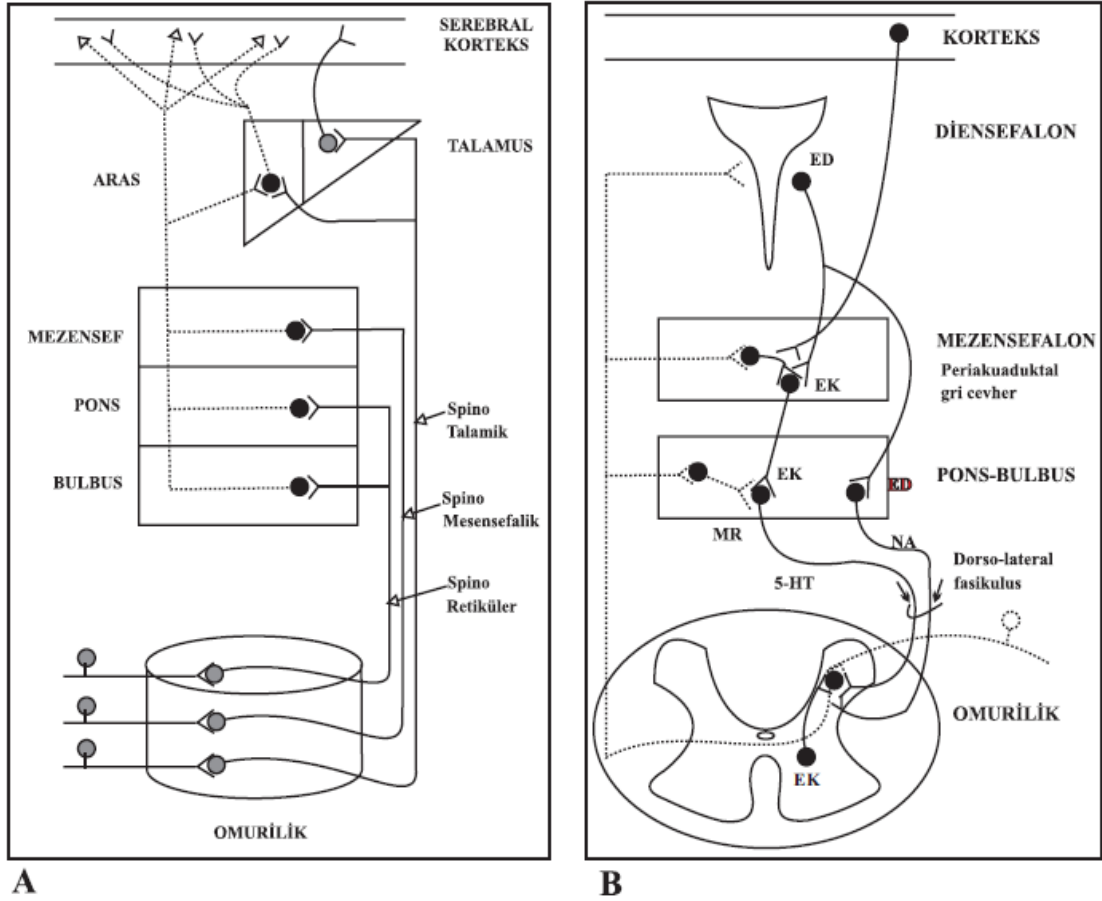
4-Spinotektal yol: Superior kollikulusun derin katmanlarında sonlanır. Periferden aldığı uyarıyı superior kollikulus'a ulaştırır (Patestas ve Gartner, 2006).

5-Spinohipotalamik yol: Spinohipotalamik lifler hipotalamusta nöronlarla sinaps yapar. Bu yolak nosisepsiyona otonomik ve refleks yanıtları verir (Patestas ve Gartner, 2006).

6-Spinolimbik yol: Bilgiyi spinoretiküler yol aracılığıyla beyin sapından çıkararak medial talamusa, hipotalamusa ve diğer limbik sistem yapılarına iletir (Hudspith, 2006).

7-Spinoservikotalamik yol: Lateral funikulusun dorsalinden çıkan ve spinal dorsal boynuzda lamina IV'den köken alan hücrelere sahip olan nöronlardan oluşur. Lifler C1 ve C2 düzeyini geçmeden önce lateral servikal nükleusta son bulur (Hudspit, 2006).

8-Postsinaptik dorsal kolon yolu: Dorsal kolon yolu lifleri dorsal boynuzda lamina III'den köken alır. Dorsal kolonların genellikle titreşim, propriosepsiyon ve dokunma gibi zararsız duyular ile ilgili bilgileri iletmekle görevli olduğu kabul görmüştür. Dorsal kolonun uyarılması normalde ağrının aksine titreşim duyusunun algılanmasını sağlar (Hudspith, 2006) (Şekil 3).



Şekil 3. Ağrı yolları ile ilgili bölmeler **A.** Çıkan ağrı yolları, **B.** İnen ağrı yolları (“Ağrı ve Tedavisi” isimli kitaptan alınmıştır) **ARAS:** Assendan retiküler aktive edici sistem, **ED:** Endorfin, **EK:** Enkefalin, **NA:** Noradrenalin, **5-HT:** 5 Hidroksitriptamin

2.4.2. İnen (Desendan) Yol

Beindeki retiküler formasyonu terk eden lifler inen liflerdir. Substantia gelatinosa içindeki internöronlarla sinaps yaparlar. Periferel sinirlerden gelen iletileri düzenlerler. Böylece nosiseptörlerden spinal kord yoluyla yukarı yollanan mesajlar üzerinde bir filtre ve parsiyel inhibitör rol oynar. İnen sinir lifleri retiküler formasyon içindeki periakuaduktal gri maddeden (PAG) köken alır.

İmpuls spinal korddaki dorsolateral alanın alt kısmına geçerek spinal kordun substantia gelatinosa liflerindeki internöronlar ve taşıyıcı nöronlarla birlikte bağlantı kurar. İnen yollarda serotonin en önemli nörotransmitterdir. İnen ağrı yolağında endorfin, enkefalin ve dinorfin gibi endojen opioidler ve noradrenalin (Schofield, 2005) önemli rol oynar. Aynı zamanda inhibitör aminoasitler (GABA-glisin), purinler (adenosin) ve inhibitör nöropeptitler (galanin, nöropeptit-Y) görev alır (Matthews, 2004).

İnen ağrı yolağındaki mekanizmalar 3 başlık altında incelenir:

1.Spinal inhibisyon: Spinal kordun dorsal boynuzunda presinaptik internöronlar ile olur. Spinal inhibitör internöronların aktive olması primer afferent nöronun aktive olması ile başlar. GABA, opioid peptitler ve glisin bu sistemde görev alan nörotransmitterlerdir. Bu internöronlar presinaptik olarak spinal kordun dorsal boynuzunda primer afferent nöronun santral ucundan eksitator nörotransmitterlerin sinaptik boşluğa saliverilmesini engellerler (Beaulieu, 2008).

2.Supraspinal inhibisyon: Bu sistem orta beyinde periakuaduktal gri madde (PAG) ve lokus seruleus (LS)' tan köken alır. PAG rostral yapılardan inhibe edici impulsları almakla birlikte spinal kordun arka boynuzuna inen inhibe edici impulsları gönderir. PAG'dan spinal korda inen serotonerjik lifler medullada nukleus rafe magnusa (NRM) uğrayarak arka boynuzuna inerler ve lamina-I, II ve V'de son bulurlar. PAG'ın ventrolateral bölümünden köken alan nöronlar opioid sistem ile dorsal bölümünden köken alan nöronlar ise non-opioid sistem ile ilişkilendirilmektedir. LS'den köken alan nöronlar ise noradrenerjiktirler, medullada nukleus retikularis giganto sellularisten (NRGS) geçerek spinal korda inerler. Bu sistemin nöronları (PAG ve LS) dorsolateral funikulus içinde arka boynuzuna inerler. Bu nörotransmitterler 5-hidroksitriptamin (5-HT) ve opioid peptitlerdir (Aida ve Shimoji, 2003).

3.Periferik inhibisyon: İmmün sistem ve sensoryal nöron etkileşimi ile gerçekleşir (Brack ve ark., 2001). İnflamasyonun erken evresinde proinflamatuvar sitokinleri açığa çıkaran immün hücreler geç evrede analjezik mediatörler üretir ve böylece analjeziye katkıda bulunur. Opioid peptitler, antiinflamatuvar sitokinler ve somatostatin bu sistemin mediatörleridir. Antiinflamatuvar sitokinler (IL-4, IL-10, IL-3) proinflamatuvar sitokinlerin üretim ve salıverilmelerini inhibe eder ve siklooksijenaz (COX) enzim ürünlerinin, sempatik aminlerin, lökotrien B₄'ün (LB₄) azalmasını sağlayarak inflamasyonu kısmi olarak engellerler. Böylece periferik analjezi oluştururlar (Machelska ve Stein, 2000).

2.5. Nikotinin Yapısı

Nikotin, sigarada bulunan polonyum, radon, metanol, toluen, kadmiyum, bütan, DDT (Dikloro difenil trikloroethan), hidrojen siyanür, aseton, naftalin, arsenik, amonyak, karbon monoksit gibi 3.885 toksik maddeden biridir. Nikotin bazı bitki türlerinin yapraklarında bulunan bir alkaloiddir ve birincil ticari kaynağı tütün bitkisinin (*Nicotinia tabacum* ve *Nicotinia rustica*) kurutulmuş yapraklarıdır. Kimyasal formülü C₁₀H₁₄N₂ ve molekül ağırlığı 162.23'dür. Kimyasal yapısı 3-(1-metil-2-pirrolidinil) piridin'dir ve Pinner tarafından ortaya çıkarılmıştır (Kees ve ark., 1983). Asetilkolin (ACh), nikotinin bağlandığı reseptörün doğal agonistidir. ACh vücutta kolin ve asetil CoA'dan kolin asetilaz (kolin asetil transferaz, CAT) ile sentezlenir.

2.5.1. Nikotinin Kimyası ve Tütünün Kullanılması

Sigara dumanı içinde 500 kadar değişik gaz tabiatlı bileşim bulunmaktadır. Bunlar azot, karbon monoksit, karbondioksit, amonyak, hidrojen siyanür gibi maddelerdir. Bu gazlardan oluşan faz sigaranın %95 ini meydana getirmektedir. Partikül fazı ise %5 kadar olup 3500 kadar değişik kimyasal madde tarafından meydana getirilmektedir. Bu fazın en önemli maddelerinden biri ise nikotin isimli alkaloiddir. Diğerleri nornikotin, anetabine, anabasedindir. Partikül safhasında su ile birleşen muhtevaya katran adı verilir. Bunlar arasında polinükleer aromatik hidrokarbonlar, N-nitrosaminler ve diğer aromatik aminler bulunmaktadır. Ancak tütünün alışkanlık ortaya çıkaran bölümü ise nikotindir. Nikotin bir tersiyer amin olup piridin ve pirolidin halkalarını içerir. Aynı zamanda nikotinin iki adet steroizomeri de bulunmaktadır. S-nikotin aktif izomerdir ve kolinerjik reseptörlere bağlanır. Aynı zamanda tütünde de

bulunur. Sigara içerirken rasemizasyon olur ve sigara dumanında R-nikotin oluşur. Oluşan bu az miktardaki R-nikotin ise kolinerjik reseptörler üzerinde zayıf antagonizma gösterir.

2.6. Nikotinin Farmakokinetiği ve Farmakodinamisi

2.6.1. Nikotinin Farmakokinetiği

Nikotin tütünün yanmasının distilasyonu sonucunda elde edilir. Damlacıklar tarzında nikotin ihtiva eden katran (TAR) akciğere çekilerek ufak hava yollarında ve akciğer alveollerinde depolanır. Nikotin zayıf bir alkaloiddir. Hücre zarından ortamın pH'sına bağlı olarak emilmektedir. Tütün dumanının (Amerikan sigaralarında) pH'sı 5.5 (asidik) olduğu için bu pH'da nikotin iyonize formdadır, membranları geçemez ve dumanın içindeki nikotin dudak mukozasından emilemez. Bunun yanı sıra pipo ve puro ile alınan sigara dumanının pH'sı 8.5 tir (alkali). Bu pH'da nikotin non-iyonize formda bulunur ve ağızdan emilir. Bir kez sigara dumanı ufak hava yollarından geçip akciğer alveollerine ulaştıktan sonra burada fizyolojik olarak pH seviyesini emilebilecek duruma getiren imkanı bulur ve süratle emilir. Emildikten sonra da dolaşıma karışır ve değişik dokulara ulaşır. Nikotinin beyine ulaşması için 10-19 saniye yeterlidir. Bu esnada arteriyel kanda bulunan nikotinin, venöz kandakinden altı kat fazla olmasından dolayı beyinde yüksek konsantrasyona ulaşır. Nikotinin plazmadaki seviyesi beyindeki gibi yüksek olup süratle azalır. Bu azalma ile periferik alanlar doyurulurken, bir taraftan da nikotin elimine edilir. Bir gün içinde birden çok kere sigara içildiğinde doyum noktalarında inip-çıkmalar (osillasyonlar) olur. Nikotinin yarı ömrü ise 2 saattir. 6-8 saatten sonra birikim yapmaya başlar. Bu birikim yapmanın başlamasından sonra da gece boyunca nikotin seviyesinde bir korunma olur. Gün içinde nikotinin plazma seviyesi 20-40 ng/ml arasında değişir. Buna rağmen insanların kullandıkları sigaraya bağlı olarak plazma nikotin seviyesi ve sigaradan alınan nikotin miktarında değişkenlikler olur. Sigara içenler her sigara dumanını çektiklerinde “Puff Volume (sigara nefesi)” tutmak, çabuk boşaltmak suretiyle bu durumu manipüle ederler. Her sigara iiminde çekilen duman sayısı, dumanın çekilişi ile bu manipülasyon kontrol edilir. Nikotin sakızlarındaki nikotin, tütünün çiğnenmesi veya enfiye çekilmesi ile nikotin ağızdan emilir. Plazma nikotin konsantrasyonu yavaşça yükselir ve 30 dakikada doruk seviyeye ulaşır ve takiben 2 saat sonra da düşer. Nikotin sakızlarında; sakız

çiğnendikçe nikotin saliverilmesi olur, bu yüzden de bu metotta sakızdan nikotinin tam ekstraksiyonu olmaz (2 mg sakız %53,4 mg sakız ise %72 lik bir salınım miktarı sağlıyor). Bu durumda önemli bir miktar nikotin de ağızdan yutulur. Nikotinin sistemik dozu düşük olur. Sakız çiğnemekle ulaşılan nikotin seviyesi, her zaman sigara içildiği zamanki nikotin seviyesinden çok düşüktür (McNabb, 1984; Benowitz ve ark., 1987). Transdermal nikotin bantları 16-24 saatte 15-22 mg nikotin nakleder (Benowitz, 1995). Nikotin yavaş emilir ve plazma seviyesi yavaşça 6-10 saatte yükselir. 7-8 saatlerde sabit seviyede kalır ve son 6 saatte düşer; bant kullanımında nikotin dozu ile nikotinin plazma seviyesi arasında 2-3 kata kadar varan bireysel farklılıklar olur. Ortalama plazma nikotin seviyesi bant kullanıldığında ağır sigara içenlerle kıyaslandığında daha düşük bulunur. Transdermal nikotin emilimine derinin kan akımı da etki eder (Benowitz, 1995). Vazokonstriktörler emilimi düşürürken, vazodilatatörler nikotinin transdermal emilimini arttırırlar. Sigara içimi transdermal bant kullanımına göre daha fazla nikotin sağlar, nazal sprey yolu ile nikotin emilimi 5-6 kat daha fazla olmaktadır. Nazal spreydeki nikotin çabuk emilir fakat plazma seviyesi sigara içenlerle kıyaslandığında düşük bulunur. Sigara içimi gibi, arteryel nikotinin plazma seviyesi venöz kandakinden 2-3 kat daha fazla bulunur. Arter kanında doyuma venöz kandan 20 dakika önce ulaşılır (Gourlay ve Benowitz, 1997). Nikotinin %70-%80 kadarı oksidasyon yolu ile kotinine metabolize olur (Benowitz ve ark., 1982). Nikotinin kotinine dönüşünde en önemli enzim CYP2A6 enzimidir. Kotinin akabinde 3-hikroksikotinin'e dönüşür ve bu idrarda bulunan nikotin metabolitidir. CYP2A6 aynı zamanda kotinine oksidasyonundan da sorumludur. Çok zaman bu madde nikotin alımının bir belirleyicisi olarak da kullanılmaktadır (Zevin ve ark. 1997). Birey sigara içtiğinde veya nikotin ilaçları kullandığında plazma nikotin seviyesinin en önemli belirleyicisi nikotin klirensi olur. Nikotinin renal klirensi idrarın pH'sına bağlıdır (asit idrarda klirens artar, alkali idrarda klirens azalır). Total nikotinin %2-%35 kadarı böbrekler yoluyla itrah edilir (Benowitz ve Jacob, 1985).

2.6.2. Nikotinin Farmakodinamiği

Nikotin reseptörlerinin aktivasyonu asetilkolin, norepinefrin, dopamin, serotonin, β -endorfin, glutamat ve diğer nörotransmitterlerin salıverilmesini aktive eder. Nikotin aynı zamanda büyüme hormonu (GH) ve adrenokortikotropik hormon (ACTH) salıverilmesini de kolaylaştırır. Nikotinin bağımlılık ortaya çıkarma özelliğinin onun fizyolojik ödüllendirme sistemlerine etki etmesinden ve bu etkisini dopamin salıverilmesine etki ederek ortaya çıkarmasından ileri geldiği gösterilmiştir (Corrigall ve Coen, 1994).

Düşük dozlarda sigara kullanılması halinde nikotin sempatik aktivasyonu sağlayarak kemoreseptörleri aktive eder. Beyine doğrudan da etki eder. Bunun sonucunda kalp atım sayısında bir artma meydana gelir ve kan basıncı yükselir. Yüksek dozlarda nikotin doğrudan periferik sinir sistemine etki etmek suretiyle ganglionik stimulasyon yapar ve adrenal bezden katekolamin salıverilmesi artar. Yüksek dozda nikotin hipotansiyon ile bradikardiye yol açar. Burada gangliyonik blokaj olmaktadır. Nikotin kullanımını takiben tolerans gelişir. Nikotine karşı gelişen tolerans durumu onun birçok etkisini de kapsar. Kardiyovasküler ve toksik etkileri (baş dönmesi, bulantı, yorgunluk) kapsar. Kalp atım sayısının artması bir tolerans etkisidir, fakat tam kesin söylenmez. Tolerans gelişiminin yarı ömrünü Porchet ve ark. 35 dakika olarak tayin etmiştir (Benowitz ve ark., 1988).

2.7. Nikotinin Etkileri

Nikotinik asetilkolin reseptör (nAChR) ailesi SSS'de protein alttıplerinin homomerik ve heteromerik komplekslerinden (α_{2-10} ve β_{2-4}) oluşur (Frølund ve ark., 2005; Zoli ve ark., 2006). Yapılan in situ hibridizasyon çalışmaları ile beyinde α_4 , β_2 ve α_7 alttip mRNA'larının yaygın dağılım gösterdiği, farklı omurgalı türlerinde yerleşimleri farklılık gösterse de bu α_7 ve $\alpha_4\beta_2$ içeren nAChR'lerinin varlığı gösterilmiştir (Zoli ve ark., 2006). Hipotalamus-hipofiz-adrenal (HPA) aksının ağrı iletimi ve aktivasyonu ile ilişkili olan bu reseptörler kemirgenlerde beyinin çeşitli bölgelerinde bulunmaktadır. Nikotin-kaynaklı antinosepsiyona özellikle α_7 ve $\alpha_4\beta_2$ nAChR alttıplerinin aracılık ettiği bildirilmiştir. Bu veri, tail-pinch testi kullanılarak yapılan değerlendirme de farelerde hem $\alpha_4\beta_2$ nAChR antagonisti olan MLA (metillikakonitin) hem de α_7 nAChR antagonisti olan dihidro- β -eritrodin (Dh β E)

tarafından nikotin-kaynaklı antinosisepsiyonun suprese edildiğini gösteren başka bir çalışma ile uyumludur. Buna karşılık, kortikosteron seviyesindeki nikotin kaynaklı artış Dh β E tarafından suprese edilirken, MLA tarafından suprese edilememiştir (Kiguchi ve ark., 2011) (Tablo 2). Bu bulgular $\alpha_4\beta_2$ nAChR reseptörlerinin hem nikotin-kaynaklı antinosisepsiyonda hem de kortikosteron artışında önemli bir rol üstlendiğine işaret ederken, α_7 nAChR reseptörleri ise sadece nikotin-kaynaklı antinosisepsiyonda görev aldığına vurgu yapmaktadır (kortikosteron seviyelerinde artışa neden olmaz). Endojen opioid sistem, nikotin-kaynaklı antinosisepsiyona aracılık etmesine rağmen kortikosteron seviyelerindeki nikotin-kaynaklı artışa etki etmemektedir. Bu sonuçlara göre, yazarlar endojen opioid sistemin $\alpha_4\beta_2$ nAChR reseptörlerine yakın yerleşim göstermediği, bu sistemin α_7 nAChR reseptörlerinin yakınında yerleşim gösterebileceği sonucuna varmışlardır (Kiguchi ve ark. 2011).

2.7.1. Nikotinin Akut Etkileri

Antinosiseptif Etkileri

Sistemik nikotin uygulaması, tail-flick (Taylor ve ark., 2006), tail immersiyon (Mendizábal ve ark., 2005; Kieffer ve ark., 2006), hot-plate (Budzyńska ve ark., 2004; Mendizábal ve ark., 2005; Taylor ve ark., 2006) ve tail-pinch (sıkıştırma) (Maeda ve ark., 2008; Kiguchi ve ark., 2011) testlerinde kemirgenlerde termal ve mekanik stimülasyonlar tarafından oluşturulan ağrıyı baskılamaktadır. Bir nAChR agonisti olan ABT-594'ün nukleus rafe magnus (Decker ve ark., 1998) içerisine mikroinjeksiyonu ve intratekal uygulanan nikotin (Maeda ve ark., 2008), sırasıyla hot-plate ve tail-pinch testlerinde antinosiseptif etkiler meydana getirmiştir. Sistemik nikotin ile indüklenen antinosisepsiyon sadece nAChR antagonisti olan mekamilamin tarafından değil, aynı zamanda opioid reseptör antagonisti olan nalokson (NLX) (Budzyńska ve ark., 2004; Maeda ve ark., 2008; Kiguchi ve ark., 2011) tarafından da antagonize edilir. Ayrıca, nikotin ve morfinin indüklediği antinosisepsiyon morfine toleranslı farelerde (40 mg/kg, 4 gün boyunca günde 2 kez) azalmaktadır (Kiguchi ve ark., 2011). İlaveten nikotinin, yabani tip farelerle kıyaslandığında μ -opioid reseptörü bulunmayan farelerde ağrıyı azaltmada daha az potent olduğu bildirilmiştir. (Kieffer ve ark., 2002) Bu durum da, proenkefalinden türev alan endojen opioid peptitlerin nikotin-aracılı antinosisepsiyonla ilişkili olabileceğini göstermektedir. Sonuç olarak bu bulgular, endojen opioid sistemin

nikotinin antinosiseptif etkilerine aracılık etmekte önemli rol oynayabileceğine işaret etmektedir. Nöropatik ağrı allodini, hiperaljezi ve spontan ağrı ile karakterize olan nörojenik ağrının bir şeklidir. Nöropatik ağrı, merkezi ya da periferel sinir sisteminin hasarı sonrasında ortaya çıkar ve sinir hasarını takiben bu duruma nöroenflamasyon aracılık eder. Nikotin-nAChR sisteminin inflamasyonun negatif bir düzenleyicisi olarak hareket ettiğini öne süren kanıtlar giderek artmaktadır. Gerçekten de, sıçanlarda siyatik sinirin kronik konstriksiyon hasarı sonucu meydana gelen nöropatik ağrının yanı sıra antiviral (dideoksisitidin) ve antikanser (oksaliplatin) ajanlar tarafından da indüklenen nöropatik ağrı sistemik olarak uygulanan nikotin (1,5 mg/kg, i.p.) tarafından suprese edilir (Zanardelli ve ark., 2013). Ayrıca, intratekal olarak uygulanan nikotin yada epibatidinin (nAChR agonisti) kısmi siyatik sinir ligasyonu (PSL) yapılan farelerde termal ve mekanik hiperaljeziyi ertelediği gösterilmiştir (Rashid ve Ueda, 2002).

Kiguchi ve ark. nikotinic asetilkolin reseptörlerinin α_4 ve α_7 altbirimlerinin protein seviyelerinin PSL'yi takiben upregüle olduğunu bildirmişlerdir. α_4 ve α_7 altbirimleri için imünoreaktivite, hasarlı sinirde hem makrofajlardan köken alan kemik iliği hem de nörofiller üzerinde lokalize edilmiştir. PSL-indüklü taktil allodini ve termal hiperaljezi perinöral(lokal) olarak uygulanan nikotin (20 nmol, PSL sonrası 4 gün boyunca günde bir kez) tarafından büyük oranda azaltılmaktadır ve nikotinin bu etkisi eş zamanlı olarak uygulanan mekamilamin tarafından bloke edilebilmektedir. Verilen nikotin santral sinir sisteminde endojen opioid peptitlerin salınımına neden olur. Bu sonuçlar, lokal olarak uygulanan nikotinin immün hücrelerden opioid peptit salınımının indüklenmesi sonucu oluşan nöropatik ağrıyı azalttığını göstermektedir. Fakat, PSL-indüklü nöropatik ağrı üzerine lokal olarak uygulanan nikotinin etkileri son nikotin tedavisinden sonra en az 11 gün devam etmektedir (Kobayashi ve ark., 2012). Böylece nöropatik ağrının nikotin-kaynaklı supresif etkisinde opioid peptitlerden türev alan immün hücrelerin rolünü ve bunun altında yatan mekanizmaları aydınlığa kavuşturmak için daha fazla çalışmaya gerek duyulmaktadır.

HPA Aksını Aktive Edici Etkileri

Nikotin, kemirgenlerde HPA aksının aktivasyonu sonucu stres-kaynaklı hormon olan kortikosteronun dolaşımdaki seviyesini artırır (Mellon ve Bayer, 1999; Brown ve ark., 2006; Kiguchi ve ark., 2011). Nikotin nukleus traktus solitarius üzerine etki eder ve hipotamik paraventriküler nukleusta noradrenalin salınır, sonuçta da

CRF salınımı stimüle edilir. CRF hipofiz üzerine etki ederek adrenal korteksin zona fasikülata tabakasında kortikosteronun sentezini ve sekresyonunu aktive eden adrenokortikotropik hormonun sekresyonunu indükler (Armario, 2010). Yamamoto ve ark. tek başına uygulanan nikotinin farelerde doza-bağımlı bir şekilde CORT seviyesini artırdığını rapor etmişlerdir (Kiguchi ve ark., 2011). Kortikosteron seviyesinde meydana gelen nikotin-kaynaklı bu artış mekamilamin (nAChR antagonisti) tarafından inhibe edilirken NLX (opioid reseptör antagonisti) tarafından inhibe edilememektedir. Ayrıca, kortikosteron seviyesindeki nikotin-kaynaklı artış morfine toleranslı farelerde azalmamıştır (40 mg/kg, s.c. , 4 gün boyunca günde 2 kez). Tüm bunlarda HPA aksının nikotin kaynaklı aktivasyonu üzerinde endojen opioid sistemin etkisi olmadığını düşündürmektedir (Tablo 2). Bu sonuçlar Mellon ve Bayer (Mellon ve Bayer, 1999) tarafından gösterilen sonuçlarla uyumludur, şöyle ki bir opioid reseptör antagonisti olan naltrekson (NTX) sıçanlarda kortikosteron seviyelerindeki morfin kaynaklı artışı suprese etmesine rağmen epibatidin-kaynaklı artışı bloke etmemektedir.

Tablo 2. Nikotinin akut etkileri. **Nalokson (NLX):** Opioid reseptör antagonisti, **Mekamilamin:** nAChR antagonisti, **Metilkakonitin (MLA):** $\alpha 7$ nAChR antagonisti, **Dihidro- β -eritrodin (DH β E):** $\alpha 4\beta 2$ nAChR antagonisti, **CORT:** Kortikosteron

| | Antinosepsiyon | | CORT seviyesi | |
|---|----------------|---------|---------------|---------|
| | Morfin | Nikotin | Morfin | Nikotin |
| Nalokson (NLX) | ↓ | ↓ | ↓ | → |
| Mekamilamin | → | ↓ | → | ↓ |
| Morfin Toleransı | ↓ | ↓ | ↓ | → |
| Dihidro- β -eritroidin (DH β E) | → | ↓ | → | ↓ |
| Metilkakonitin (MLA) | → | ↓ | → | → |

↓ ↓ : antagonizm ya da supresyon
 → → : etkisiz

2.7.2. Nikotinin Kronik Etkileri

Psikolojik Bağımlılık

Memelilerde nikotin üzerine gözlemlenen psikolojik bağımlılık kriz ve ödül davranışıyla karakterizedir. Nikotinin ödüllendirici etkileri kendi kendini idare edebilme ve koşullandırılmış yer tercihi olarak deney hayvanlarında kendini göstermektedir. Son kanıtlar, dinorfin/k-opioid–reseptör sistemide dahil olmak üzere stres aktivasyonunun nikotin gibi bağımlılık yapan ilaçların ödüllendirici etkilerini modüle ettiğini göstermektedir. Ya tekrarlayan zorla yüzme stresi tarafında ya da U50,488 (selektif kappa (k-) reseptör agonisti) uygulanmasıyla (5 veya 10 mg / kg, ip) ile k-reseptörünün aktive edilmesi nikotin ile uyarılmış CPP’yi önemli ölçüde güçlendirir. Nikotin ile uyarılmış güçlendirilmiş CPP, k-reseptör antagonisti olan nor-binaltorfimin’in sistemik injeksiyonu (10 mg/kg, i.p.) ya da amigdala içerisine lokal injeksiyonu (2.5 µg) tarafından stres yokluğunda nikotin ödüllendirmesini etkilemeksizin bloke edilir. Bu sonuçlar göstermektedir ki, amigdala’da ki dinorfin/k-opioid sisteminin aktivasyonu nikotinin ödül etkilerinin potansiyalizasyonu ile ilişkilidir, örneğin fiziksel bağımlılık gelişmesi gibi (Schindler ve ark., 2012). Aslında akut psikososyal stresin sigara içenlerde sigara krizini artırdığı bildirilmiştir (Childs ve Dewit, 2010). Aksine travmatik bir olaya maruz kalanların ortalama sayısı (ciddi yaralanmalar, ölüm tehdidi, korkunç ölüm ve yaralanmalara şahit olma gibi) nikotine bağımlı olmayan bireylere oranla bağımlı bireylerde önemli derecede yüksektir (Elliott ve ark., 2014). Bu sonuçlar stresli olayların insanlarda nikotin-bağımlılık riskini yükselttiğini göstermektedir. Obez (sigara) içiciler obez olmayan içicilere oranla önemli ölçüde daha az sigara içme eğilimi gösterirler ve obez olmayan içicilerle karşılaştırıldığında obez insanlarda nikotin içeren sigaraların hazzal etkileri azalmıştır (Strasser ve ark., 2005). Benzer şekilde, kontrol gurubu ile karşılaştırıldığında yüksek yağ içeren diyetle maruz bırakılan farelerde nikotin ile uyarılmış CCP’nin daha düşük seviyeleri gözlemlenmiştir (Strasser ve ark., 2005). Bu çalışma, obez deneklerde azalmış nikotin mükafatının kanıtı olabilir ve obezitedeki bu azalmış nikotin mükafatına endojen opioid sistem üzerinden beslenme alışkanlığının aracılık edebileceği öne sürülmüştür.

Fiziksel Bağımlılık

Nikotin üzerine olan fiziksel bağımlılık insanlarda sinirlilik, anksiyete, konsantrasyon eksikliği ve insomnia (Gust ve ark., 1991) dahil bir çok yoksunluk belirtileri ile kendini gösterirken, deney hayvanlarında bu bağımlılığın göstergeleri ise dış gıcırdatma, çiğneme, kıvrınma, vücudu sallama, pitosiz ve seminal ejakulasyondur (Malin, 2001). Nikotinin yoksunluk belirtileri opioid-yoksunluk belirtileri ile yakından benzerlik gösterir (Malin, 2001). Morfin-yoksunluk belirtilerinden birinin kortikosteron seviyelerindeki artış olduğu ve kemirgenlerde opioid-reseptör antagonistlerinin morfin yoksunluğuna neden olduğu bildirilmiştir (Nishida ve ark., 1994; Maeda ve ark., 2011). Morfin yoksunluğu sonucu meydana gelen kortikosteron artışına nikotin tarafından HPA aksının aktivasyonuna benzer bir şekilde nukleus solitary tract'taki (Laorden ve ark., 2009) adrenerjik $\alpha 2$ hücrelerin aktivasyonu neden olur (Armario, 2010). Endojen opioid sistemin nikotin-kaynaklı aktivasyonunun fiziksel bağımlılık gelişimiyle ilişkili olabileceğini gösteren kanıt mevcuttur. Örneğin opioid reseptör antagonisti olan NLX sıçanlarda nikotin yoksunluk sendromuna neden olmakta (Lake ve ark., 1993) ve nikotin bağımlılığı μ -opioid reseptörleri olmayan farelerde azalmaktadır (Kieffer ve ark., 2002). Eğer nikotin fiziksel bağımlılığı endojen opioid sistem vasıtasıyla gelişirse, o vakit NLX nikotin yoksunluğuna neden olabilir. Dolayısıyla, kortikosteron artışında dahil opioid yoksunluk belirtileri NLX-kaynaklı nikotin yoksunluğunu değerlendirmek için yararlı olabilir. Ueno ve ark. (Ueno ve ark., 2014) tekrarlayan şekillerde nikotin uygulamasına maruz kalan farelerde NLX'in CORT seviyelerinde bir artış meydana getirdiğini ve bu artışın büyüklüğünün nikotin tedavisinin gün sayısına ve dozuna bağlı olduğunu bildirmiştir. Dahası, nikotin ile beraber eş zamanlı uygulanan NTX (Naltrekson, opioid reseptör antagonisti) doza bağımlı bir şekilde NLX-kaynaklı CORT artışını inhibe eder, bu sonuçta nikotine karşı fiziksel bağımlılık gelişiminin NTX tarafından suprese edildiğini gösterir (Tablo 3). Bu sonuçlar endojen opioid sistem aktivasyonunun nikotine karşı fiziksel bağımlılık gelişimine aracılık ettiğini göstermektedir. Yamamoto ve ark. (Yamamoto ve ark., 2011) endojen opioid sistem üzerinde nikotinin etkilerine nAChR'lerin non- $\alpha 4\beta 2$ alttipinin aracılık ettiğini belirtti. Ueno ve ark. (Ueno ve ark., 2014) farelerde nikotin fiziksel bağımlılığı ile birlikte endojen opioid sistem ve nAChR alttipi arasındaki ilişkiyi açıklığa kavuşturdu. Bu araştırmacıların deneyinde, tekrarlayan nikotin tedavisi ile $\alpha 7$ nAChR antagonisti olan

MLA'nın eş zamanlı uygulaması NLX-kaynaklı CORT artışını bloke etti. Bu sonuçta nikotin fiziksel bağımlılık gelişiminin inhibe edildiğini göstermektedir. Fakat, $\alpha 4\beta 2$ nAChR antagonisti olan DH β E eş zamanlı olarak tekrarlayan nikotin ile birlikte uygulandığında CORT seviyelerinde NLX kaynaklı bir artış gözlenmiştir. Bu durum da nikotin fiziksel bağımlılık gelişimini göstermektedir (Tablo 3). Bu sonuçlar, fiziksel bağımlılık gelişmesine neden olan endojen opioid sistem üzerinde nikotinin etkilerine $\alpha 7$ nAChR aktivasyonunun aracılık ettiğini göstermektedir.

Tablo 3. Nikotinin kronik etkileri. **Naltrekson (NTX):** Opioid reseptör antagonisti, **Mekamilamin:** nAChR antagonisti, **Metillikakonitin (MLA):** $\alpha 7$ nAChR antagonisti, **Dihidro- β -eritroidin (Dh β E):** $\alpha 4\beta 2$ nAChR antagonisti

| Nikotin beraberinde alınan tedavi | Nalokson ile presipite edilmiş yoksunluk |
|---|---|
| Naltrekson (NTX) | - |
| Dihidro- β -eritroidin (DH β E) | + |
| Metillikakonitin (MLA) | - |

2.8. Nikotin ve Antinosisepsiyon

Nikotinic asetilkolin reseptörleri yeni analjezikler için uygun hedefler olabilir. nAChR'lerin antinosiseptif özellikleri nispeten yeni bulgular olsa da, nikotin ve antinosisepsiyon arasındaki ilişki yeni bir şey değildir. Bir takım araştırmacılar tarafından 16. yy'ın başlarında frenginin sebep olduğu ağrının tütün kullanımını takiben azaldığı bildirildi (Corti, 2007). Fakat, tütünün major bir bileşeni olan nikotin, kedilerde antinosisepsiyon meydana getirdiği bulunana kadar antinosisepsiyon ile ilişkilendirilmemişti (20.yy'la kadar) (Davis ve ark., 1932). Yeni bir çalışmada beyin sapının çeşitli bölgelerine mikroinjekte edilen nikotinin pronosiseptif ya da antinosiseptif etkilere sebep olabileceği bildirilmiştir (Hamann ve Martin, 1992). İlaveten, nikotin-kaynaklı antinosisepsiyonun non-selektif nöronal nAChR antagonisti olan mekamilamin tarafından bloke edildiği gösterilmiştir. (Sahley ve Berntson, 1979). Hem sigara içenlerde hem de sigarayı bırakanlarda nikotin soğuk basınç testi sonucu meydana gelen akut ağrıyı azalttığı için, insanlarda nikotinin antinosiseptif etki

meydana getirdiği tespit edimiştir (Fertig ve ark., 1986). Bu sonuçlar nikotinin antinosiseptif bir madde olarak gelişimini desteklese de, onun bağımlılık oluşturma potansiyelinin endişe verici olduğunu gosteren kanıtlar da mevcuttur. (Henningfield ve ark., 1985; Kottke ve ark., 1989). Dahası, sıçanlarda tekrarlayan nikotin uygulamasının nikotinin antinosiseptif etkilerine karşı tolerans gelişimini indüklediği gosterilmiştir. (Reynoso ve ark., 1998). Bu endişelere rağmen, antinosiseptif hedefler olarak nAChR'ler aktif araştırma alanları haline gelmiştir.

2.8.1. Antinosiseptif Hedefler Olarak Nikotinic Asetilkolin Reseptörleri

1974'te Ekvator Cumhuriyeti'nde deney sırasında John Daly ve Charles Myers *Phyllobates anthonyi* kurbağasının deri ekstresinin opioidlerin gostergesi olarak bir Straub kuyruk yanıtını indüklediğini bulmuştur (Garraffo, 2000; Garraffo ve ark., 2009). Fakat, daha sonra Daly bir opioid reseptör antagonisti olan naloksonun ekstre-kaynaklı Straub-kuyruk yanıtını bloklamadığını gostermiştir (Spande ve ark., 1992; Garraffo ve ark., 2009). Zamanla epibatidin olarak aktif bir bileşik izole edilmiş (Spande ve ark., 1992) ve sonrasında da kemirgenlerde nAChR'lerin aracılık ettiği antinosepsiyonu indüklediği gosterilmiştir (Rupniak ve ark., 1994; Sullivan ve ark., 1994). Epibatidin α_7 , $\alpha_4\beta_2$ ve nöromusküler $\alpha_1\beta_1\delta\gamma$ 'da dahil olmak üzere bir şok nAChR alttipine bağlanan bir nAChR agonistidir (Sullivan ve ark., 1994). Hot-plate testinde epibatidinin antinosiseptif etkisinin morfine oranla 100-kat daha fazla olduğu gosterilmiştir (Spande ve ark., 1992). Her ne kadar epibatidinin antinosiseptif etkileri umut verici olarak gözükse de, aynı zamanda vücut sıcaklığında ve lokomotor aktivitede doza bağımlı azalma gibi bir takım yan etkileri indüklemektedir (Sullivan ve ark., 1994). İlavenen, epibatidin kemirgenlerde kan basıncını yükseltir ve sensitizasyon oluşturabilir (Sullivan ve ark., 1994). Epibatidinin non-selektif nAChR agonist özellikleri, farklı alttıpteki nAChR'lerinin onun antinosiseptif ya da yan etkilerine aracılık edebilme olasılığını yükseltir (Bannon ve ark., 1998).

$\alpha 4\beta 2$ nAChR'ler

Yapılan çalışmalarda öncelikle alzheimer hastalığına yeni bir tedavi amacı ile birlikte $\alpha 4\beta 2$ nAChR'ler üzerine odaklanılmıştır (Garraffo, 2000; Garraffo ve ark., 2009). Fakat, araştırmacılar epibatidin ile çalıştıkları ilaçlar arasında yapısal benzerlikler olduğunu keşfettiler (Garraffo ve ark., 2009). Bu durumu $\alpha 4\beta 2$ nAChR'ler için daha yüksek bir seçiciliğe sahip ve epibatidin ile yakın ilişkili bir bileşen olan (R) - 5- (2-azetidiniometoksi) -2-kloropiridin (ABT-594)'in gelişimi takip etmiştir (Bannon ve ark., 1998; Garraffo ve ark., 2009). ABT-594'ün bir çok ağrı modelinde (akut ve kronik) nikotin ve morfine göre güçlü antinoseptif etki gösterdiği bildirilmiştir (Bannon ve ark., 1998; Kesingland ve ark., 2000; Lynch ve ark., 2005). Epibatidin ve nikotinin antinoseptif etkilerine benzer bir şekilde ABT-594'ün meydana getirdiği antinosepsiyonun mekamilamin tarafından engellendiği bulunmuştur (Bannon ve ark., 1998; Lynch ve ark., 2005). Ayrıca, özellikle epibatidin ile karşılaştırıldığında ABT-594'ün kardiyovasküler sistem üzerinde yan etkilere sahip olmadığı (Holladay ve ark., 1998) ve farelerde fiziksel bağımlılık belirtilerine neden olmadığı gösterilmiştir. Dolayısıyla, prelinik veriler ABT-584'ün kronik ağrı hastaları için umut verici terapötik bir ilaç olabileceği görüşünü desteklemektedir.

$\alpha 5$ -içeren ve $\alpha 3\beta 4$ nAChR'ler

$\alpha 5$ -içeren nAChR'leri, $\alpha 3\beta 4$ ve $\alpha 7$ homomerik reseptörlerini içerirler. $\alpha 5$ reseptörleri tek başlarına veya beta alt birimleri ile oluşturdukları kompleksler fonksiyonel olarak işlevsel değildir. Bunlar $\alpha 4\beta 2$, $\alpha 3\beta 4$ ya da $\alpha 3\beta 2$ nAChR alt tipleri ile ilişkili olabilirler ve bu reseptör komplekslerinin hem farmakolojilerini hem de fizyolojilerini değiştirir (Ramirez-Latorre ve ark., 1996; Wang ve ark., 1996; Gerzanich ve ark., 1998). $\alpha 5$ reseptörü olmayan fareler yabani tip farelerle karşılaştırıldığında daha düşük nikotin-kaynaklı antinosepsiyon gösterir (Jackson ve ark., 2010). Bundan başka, $\alpha 5$ reseptörü olmayan farelerde epibatidin-kaynaklı antinosepsiyonun tamamen ortadan kalktığı bildirilmiştir (Jackson ve ark., 2010). Fakat, $\alpha 5$ nAChR altbiriminin diğer ağrı modellerinde antinosepsiyona katkısını değerlendirmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Yapılan bir çalışmada $\alpha 3\beta 4$ nAChR alttipinin daha çok otonomik gangliada eksprese edildiği ve bu reseptöre selektif bir antagonist olan konotoksin AuIB'nin nikotin-aracılı antinosepsiyon üzerinde bir etkiye sahip olmadığı

gösterilmiştir (Jackson ve ark., 2013).

$\alpha 7$ nAChR'ler

$\alpha 4\beta 2$ 'ye ek olarak, $\alpha 7$ homomerik nAChR alt tipi antinosisepsiyon için diğer bir hedef noktasıdır. $\alpha 7$ nAChR selektif agonisti olan kolinin, sistemik ve intratekal injeksiyonunun antinosisepsiyon meydana getirdiği bildirilmiştir (Damaj ve ark., 1998; Wang ve ark., 2005; Freitas ve ark., 2013). İlâveten, supraspinal $\alpha 7$ içeren nAChR'lerin antinosiseptif etkiye sahip olduğunu gösteren kanıtlar mevcuttur (Hamurtekin ve Gurun, 2006; Bagdas ve ark., 2011). Tüm bu sonuçlara rağmen, $\alpha 7$ nAChR aracılı antinosisepsiyon üzerine farklı bulgular da vardır. Öyle ki, Gao ve ark. bazı $\alpha 7$ agonistlerinin antinosiseptif etki meydana getirdiğini, diğerlerinde ise bir etkinin meydana gelmediğini göstermişlerdir (Gao ve ark., 2010). Selektif bir $\alpha 7$ nAChR antagonisti olan ve kan beyin bariyerini geçemeyen bileşik Q ((S) -5- (piridin-2-yl) -N-(kinüklidin-3-yl) tiyofen-2-karboksamid) 50 mg/kg dozda sıçanlarda antinosiseptif etki göstermiştir (Gao ve ark., 2010). Böylece, periferik $\alpha 7$ nAChR'ler $\alpha 7$ -aracılı antinosisepsiyona katkıda bulunabilir. İlâveten, $\alpha 7$ nAChR agonistlerinin bir altbiriminin spinal 5-HT₃ reseptör aktivitesini antagonize ettiği bildirilmiştir (Macor ve ark., 2001; Broad ve ark., 2002). İnflamasyon ya da yaralanma sonrasında, supraspinal inen yollar vasıtasıyla 5-HT₃ reseptör aktivasyonu antinosisepsiyona katkıda bulunur (Suzuki ve ark., 2002; Oatway ve ark., 2004). 5-HT₃ reseptör inhibisyonu ile birlikte $\alpha 7$ nAChR'lerin aktivasyonu, sinerjistik bir antinosiseptif etkiye neden olabilir. İlâveten $\alpha 7$ reseptör aktivasyonunun omurilikte serotonin salınımını inhibe ettiği, bunun sonucunda da potansiyel olarak antinosisepsiyonu artırdığı gösterilmiştir (Fürst, 1999; Cordero-Erausquin ve Changeux, 2001).

2.8.2. nAChR Pozitif Allosterik Modülatörleri

Nikotinik asetilkolin reseptörlerin aktivasyonu için alternatif bir yaklaşım pozitif allosterik modülatörlerden (PAM) yararlanmaktır. Bunlar bir reseptörün inaktif durumdan aktif duruma geçmesi için gerekli olan enerjiyi azaltarak agonist ile uyarılmış yanıtları artıran moleküllerdir (Bertrand ve Gopalakrishnan, 2007). PAM'lar 2 kategoriye ayrılabilir: Tip I olanlar reseptör fonksiyonunu artırırken reseptörün desensitizasyon özelliklerini etkilemez. Tip II'ler ise desensitizasyonu azaltarak reseptör aktivasyonunu uzatırlar (Bertrand ve Gopalakrishnan, 2007). Çeşitli antinosiseptif testlerde,

bir Tip II $\alpha 7$ PAM'ı olan PNU-120596'nın, Tip I $\alpha 7$ PAM'ı olan NS-1738'e göre çok daha efektif bir şekilde yaralanmadan 6 saat sonraki nosiseptif davranışı azalttığı gösterilmiştir (Freitas ve ark., 2013). Bu gözlem, endojen kolinerjik sinyallerin reseptör desensitizasyonunu önemli ölçüde indüklediğini ve bu duruma geçişin sınırlanmasının nosiseptif sinyalizasyonu inhibe edebileceğini düşündürmektedir. Bir $\alpha 7$ nAChR agonisti ile PNU-120596'nın birlikte uygulanmasının PAM ya da tek başına uygulanan $\alpha 7$ agonisti ile karşılaştırıldığında antinosiseptif etkileri artırdığı bulunmuştur (Freitas ve ark., 2013). Buna ek olarak, selektif bir $\alpha 7$ antagonisti olan MLA'nın sistemik injeksiyonunun $\alpha 7$ PAM-aracılı antinosepsiyonu engellediği gösterilmiştir (Freitas ve ark., 2013). Bu veriler $\alpha 7$ agonisti ve Tip II PAM'ın kombine uygulamasının enflamatuar ağrı için etkili bir tedavi yöntemi olabileceğini düşündürmektedir. Diğer bir yararlı yaklaşım ise $\alpha 4\beta 2$ nAChR'lerini daha selektif bir şekilde hedefleyen yeni ilaçların geliştirilmesidir. Bu yaklaşımın avantajı $\alpha 4\beta 2$ reseptörlerinin antinosiseptif etkisinin insanlarda daha önceden kanıtlanmış olmasıdır (Rowbotham ve ark., 2009). A-366833, akut, nöropatik ve inflamatuvar ağrı modellerinde önemli antinosiseptif etkiler meydana getirdiği gösterilen, yeni geliştirilmiş bir $\alpha 4\beta 2$ -seçici agonistidir (Ji ve ark., 2007; Nirogi ve ark., 2011). Bu bulgular selektif bir $\alpha 4\beta 2$ agonisti olan ve sistemik uygulanan isproniklin'in antinosiseptif etkilere neden olmadığını gösteren Gao ve ark.'nın yapmış oldukları çalışmalarla tezattır (Gao ve ark., 2010).

Pozitif allosterik modülatörler, $\alpha 4\beta 2$ nAChR'lerin aktive edilmesi için alternatif bir yaklaşım sağlamaktadır. Son bulgular ABT-594 ile birlikte Tip I PAM olan NS9283'ün kombine uygulamasının terapötik potansiyelini göstermektedir (Lee ve ark., 2011). NS9283'ün desensitizasyon kinetiklerini etkilemeksizin asetilkolin akışını artırdığı bildirilmiştir (Grupe ve ark., 2013). Çeşitli ağrı modellerinde NS9283, ABT-594'ün potensini artırdığı bulunmuştur. (Lee ve ark., 2011; Zhu ve ark., 2011). Bu önemlidir, çünkü ABT-594 ve NS9283 kombinasyonu her iki ilacın antinosiseptif etkileri için terapötik aralığı artırmaktadır. Gao ve ark.'nın pozitif allosterik modülatörlerden biri olan Bileşik 2B ile yaptıkları bir çalışmada çok yüksek dozlar kullanmalarına rağmen nosiseptif davranışlarda bir azalma olduğunu bulmuşlardır (Gao ve ark., 2010). NS9283 uygulamasının spinal sinir ligasyon modelinde mekanik allodiniyi azaltmadığı gösterilmiştir (Lee ve ark., 2011). Bu sonuçlar tek başına uygulanan PAM'ın terapötik etkinliği ve potensi hakkındaki kaygıları artırmaktadır.

Fakat, bir PAM + agonist yaklaşımı $\alpha 7$ ve $\alpha 4\beta 2$ nAChR'ler de dahil olmak üzere birden fazla nAChR alt-tipleri için terapötik olarak etkili olabilir.

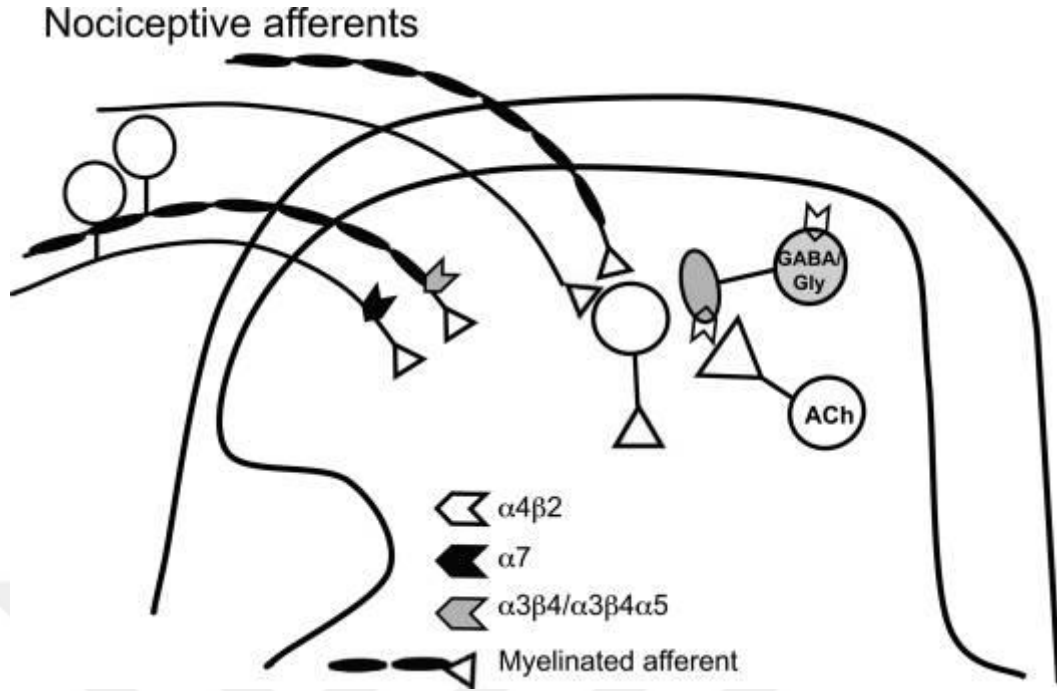
2.8.3. Periferal nAChR'ler

Nikotinik reseptörler inflamasyonun başladığı yaralı periferal bölgelerde bulunmaktadır. nAChR'ler ağırlıklı olarak dorsal kök gangliyon (DRG) nöronlarında eksprese edilir ve yenidoğanlarda özellikle büyük çaplı hücrelerde yaygın olarak bulunur. Bu nöronlar nosiseptif ve non-nosiseptif duyuşal bilgileri taşıyan, hem A δ hem de A β liflerini içermektedir (Genzen ve ark., 2001; Dubé ve ark., 2005). $\alpha 7$ nAChR'lerin glutamat salıverilmesini ve dorsal boynuzda uzun süreli potansiyalizasyonu (LTP) artırdığı bildirilmiştir (Genzen ve McGehee, 2003). Yenidoğanlarla karşılaştırıldığında, yaşlı sıçanlardaki $\alpha 7$ nAChR-eksprese edilen DRG'ler de sadece miyelinsiz (C lifi) nosiseptörler bulunur (Şekil 4). C liflerinin aksine, myelinli nosiseptörlerde $\alpha 7$ eksprese edilmez, ancak bu nosiseptörler daha çok $\alpha 3\beta 4\alpha 5$ ya da $\alpha 3\beta 4$ nAChR alt tiplerini içerirler (Rau ve ark., 2005). İnsanlardaki miyelinsiz nosiseptör aksonları $\alpha 3\beta 4\alpha 5$ altipi üzerinden uyarılabilirliği artıran nAChR'leri içerirler. Bu nAChR'ler pronosiseptiftir, çünkü nAChR antagonisti olan mekamilamin ve nöropatik ağrı tedavisinde kullanılan amitriptilinin her ikisinde benzer şekilde uyarılabilirliğin nikotin-kaynaklı artışını inhibe ederler (Lang ve ark., 2003; Freysoldt ve ark., 2009). $\alpha 3\beta 4\alpha 5$ eksprese edilen duyuşal nöronlar büyük olasılıkla $\alpha 5$ alt biriminin pronosiseptif etkilerinin altında yatan temeli oluşturmaktadır (Vincler ve Eisenach, 2005) (Şekil 4).

$\alpha 4\beta 2$ ve $\alpha 7$ reseptörleri için selektif olan nikotinik agonistlerin periferal uygulanmasının (intraplantar) antinosisepsiyon meydana getirdiği bulunmuştur (Bannon ve ark., 1998; Rueter ve ark., 2003; Gurun ve ark., 2009). Bu antinosisepsiyona periferal terminaller üzerindeki nikotinik reseptörlerin katkıda bulunabileceği düşünülmektedir. Pronosiseptif etkiye sahip olan DRG nöronları üzerindeki $\alpha 7$, $\alpha 3\beta 4\alpha 5$ ve $\alpha 3\beta 4\alpha$ nAChR'lerin aktivasyonu sonucu meydana gelen antinosisepsiyon şaşırtıcıdır. Bu antinosiseptif etkinin mekanizması açıklığa kavuşturulamamıştır ve daha fazla çalışmaya gerek duyulmaktadır. Özellikle $\alpha 7$ reseptörlerinin aktivasyonu sonrası meydana gelen antinosisepsiyonla ilgili olarak, yaralanma veya inflamasyon sonrası periferdeki non-nöronal hücrelerin antinosisepsiyona katkıda bulunduğu

düşünülmektedir. Sinir hasarı durumlarında veya inflamatuvar ağrı modellerinde, $\alpha 7$ -aracılı antihiperalejinin periferdeki immün yanıtlarda meydana gelen azalma ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir (Osborne-Hereford ve ark., 2008; Gahring ve ark., 2010; Rowley ve ark., 2010). Wang ve ark. (2003) tarafından sitokin salıverilmesinin makrofajlar üzerindeki $\alpha 7$ aktivasyonu tarafından inhibe edildiği gösterilmiştir. Makrofajların yanısıra, keratinositler ve lenfositler gibi diğer bir takım non-nöronal periferel hücrelerde de $\alpha 7$ alttipinin eksprese edildiği ve bunların anti-inflamatuvar etkilerinin büyük olasılıkla mevcut antinosepsiyona katkıda bulunabileceği bildirilmiştir (Gahring ve Rogers, 2005). Bu anti-inflamatuvar etkiler $\alpha 7$ nAChR'lere yönelik tedavi yaklaşımlarını desteklesede, uzun vadede immün supresyonun boyutuna dair daha fazla araştırmaya gerek duyulmaktadır.

Periferik hücrelerde $\alpha 9/\alpha 10$ gibi diğer bir takım nAChR alttipleri de eksprese edilmektedir. Lenfositlerin yanı sıra DRG nöronlarında da $\alpha 9/\alpha 10$ alttiplerinin eksprese edildiği gösterilmiştir (Lips ve ark., 2002; Peng ve ark., 2004). Alfa-konotoksinler olan RgIA ve Vc1.1, diğer nAChR'ler ile karşılaştırıldığında bu alttip için son derece selektif antagonistlerdir. Nöropatik ağrı modellerinde etkinlikleri gösterilmiş olmasına rağmen, etki mekanizmaları üzerindeki tartışmalar klinik olarak bu ilaçların geliştirilmesinin önüne geçmektedir. Bazı araştırmacılar bu ilaçların duyuşal afferentler üzerindeki presinaptik GABA_B aktivasyonuna neden olarak N-tipi Ca⁺² inhibisyonuna yol açtığını ve böylece antinoseptif mekanizmaya katkıda bulunduğunu bildirilmiştir (Callaghan ve ark., 2008). İlaveten, sıçanlarla karşılaştırıldığında RgIA'nın insanlardaki $\alpha 9/\alpha 10$ nAChR'ler için 300-kat daha az potent olduğu bulunmuştur (Azam ve McIntosh, 2012). Fakat yine de, RgIA ve Vc1.1'in GABA_B reseptörler üzerindeki bağımsız etkileri ve anti-inflamatuvar etkileri nedeniyle antinoseptif olarak ümit vaat ettiği ileri sürülmüştür (Vincler ve ark., 2006).



Şekil 4. Nikotinik Reseptörler. Nikotinik reseptörler inen nosiseptif bilgileri modüle ederler. Miyelinsiz nosiseptif afferentler $\alpha7$ nAChR'leri eksprese ederken, omurilik dorsal boynuzundaki myelinli nosiseptif lifler $\alpha3\beta4 / \alpha3\beta4\alpha5$ nAChR'leri eksprese ederler (Lang ve ark., 2003; Rau ve ark., 2005). Her ikisi de nosisepsiyonu artırmak için görev yapabilmektedir. Buna karşılık, $\alpha4\beta2$ nAChR'ler aracılığıyla GABA ve glisin transmisyonunun tonik kolinerjik modülasyonu, bazal inhibitör tonu ve gelen nosiseptif aktivitenin etkisini ayarlamak için önemlidir.

2.8.4. Omurilik Dorsal Boynuzunda Bulunan nAChR'ler

İntratekal uygulanan nikotin veya epibatidinin tail flick testinde doza bağımlı bir şekilde antinosiseptif etki meydana getirdiği bulunmuştur (Jurna ve ark., 1993; Damaj ve ark., 1998). Bu bulgular, intratekal uygulanan nikotin veya epibatidinin (Rogers ve Iwamoto, 1993; Hama ve ark., 2001) algolojik yanıtlarının (Khan ve ark., 1998) akut ağrı üzerine bir etkisinin olmadığını gösteren veya sadece sinir hasarı sonrası antinosiseptif etkinin meydana geldiğini (Rashid ve Ueda, 2002) belirten diğer bulgularla çelişmektedir. Bu karışıklıklar nAChR alt tiplerinin çeşitliliğini ve bu reseptörlerin gelen duyuşal afferentler arasında ve spinal devre içindeki etkilerini yansıtan intratekal uygulamadan kaynaklanmaktadır. Yenidoğanda dorsal boynuz (DH) nöronların bir alt birimi, nAChR alt tiplerinin çok az derecede üst üste çakışması ile somatik $\alpha7$ nAChR'leri ve eşit sayıda non- $\alpha7$ nAChR'leri içerir. NK1 reseptör-pozitif

projeksiyon nöronların yanı sıra lokal eksitator DH nöronları da farelerde 3 gen arasındaki kenetlenme ile $\alpha 3$, $\beta 2$, ve $\alpha 7$ için gen bölgelerine sahiptir (Cordero-Erausquin ve ark., 2004), ki bu durum yenidoğanda spinal $\alpha 7$ için pronosiseptif bir rolü desteklemektedir. Fakat, bu bulgular yetişkinlerde doğrulanmamıştır. Yetişkin farelerde intratekal uygulanan $\alpha 7$ nAChR agonistlerinin hem akut hem de persistent inflamatuvar modellerinde antinosiseptif oldukları gösterilmiştir (Damaj ve ark., 2000; Freitas ve ark., 2013). Ayrıca $\alpha 7$ antinosepsiyonu bir kolit modelinde de gösterilmiştir (Abdrakhmanova ve ark., 2010). Böylece mevcut bulguların çoğu $\alpha 7$ nAChR'lerin spinal nöronlar üzerinde pronosiseptif değilde antinosiseptif etkiye sahip olduğu fikrini desteklemektedir (Şekil 3). Duyu afferentlerinin aksine omurilik dorsal boynuzundaki lokal inhibitör internöronlar $\alpha 4\beta 2$ nAChR'ler için gen bölgeleri içerirler (Cordero-Erausquin ve ark., 2004) ve DH nöronlar üzerindeki GABAerjik etkinliği artıran sinaptik terminallerde muhtemelen nikotinin antinosiseptif etkilerine katkıda bulunan fonksiyonel $\alpha 4\beta 2$ nAChR'ler eksprese edilir (Genzen ve McGehee, 2005). Bu $\alpha 4\beta 2$ nAChR'lerin aktivasyonu da inhibitör girdilerin uyarıcı uzun süreli depresyon (LTD) etkisini azaltır, böylece de patolojik eksitasyonu önlemek için inhibitör etkinin normal dengesini korur (Genzen ve McGehee, 2005). Omurilikteki glisinerjik iletim nosisepsiyonunun diğer bir önemli inhibitör düzenleyicisidir. Hem GABA hem de glisinerjik nöronlar $\alpha 4\beta 2$ nAChR'ler için gen bölgeleri içerirler (Cordero-Erausquin ve ark., 2004). Glisinerjik transmisyon spinal bölümlerdeki presinaptik $\alpha 4\beta 2$ nAChR'ler ve mekanik olarak ayrılmış spinal lamina II nöronlar tarafından artırılmaktadır (Kiyosawa ve ark., 2001). Fakat, spinal $\alpha 4\beta 2$ nAChR'ler sadece antinosiseptif hedefler değildir, aslında normal duyu eşiklerinin korunmasında önemli bir rol oynamaktadır. GABAerjik ve glisinerjik etkilerin endojen asetilkolin tarafından artırıldığı gösterilmiştir (Rashid ve ark., 2006) (Şekil 4). Ayrıca mekanik ve termal eşikler $\beta 2$ reseptörü bulunmayan farelerde daha düşüktür (Yalcin ve ark., 2011). Henüz tanımlanmamış olan diğer nAChR alttiplerinin spinal devreler içindeki varlığı olasıdır. Yetişkin sıçanlarda nAChR'lerinin varlığı $\alpha 4\beta 2$ veya $\alpha 7$ alt tiplerinin selektif antagonistlerinin duyarlı olmadığı süperfizyal dorsal boynuzdaki inhibitör terminaller üzerinde gösterilmiştir (Takeda ve ark., 2003). Nosiseptif etkisi iyi bilinmeyen ve $\alpha 4\beta 2$ nAChR'ler ile birlikte bulunan $\alpha 6$ veya $\alpha 5$ gibi diğer altbirimler spinal inhibitör nöronlar arasında bulunmuştur (Cordero-Erausquin ve ark., 2004). İlaveten, inhibitör nöronların bir alt birimi

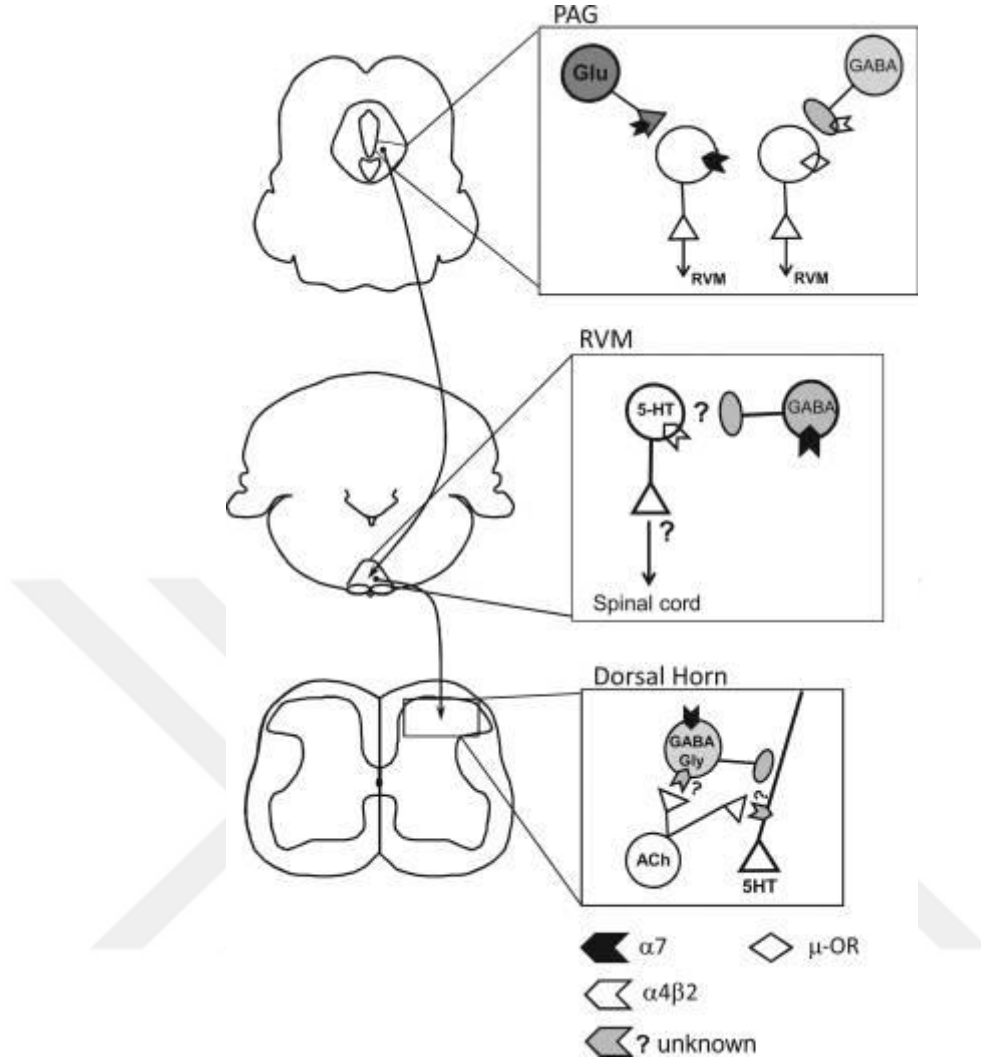
potansiyel terapötik hedef olarak umut verici olan ve supraspinal alanlarda nadir olarak bulunan $\alpha 2$ alttipi için gen bölgeleri içerir.

2.8.5. Supraspinal nAChR'ler

Lokal spinal inhibitör etkilere ek olarak rostral (supraspinal) alanlar nosisepsiyon üzerinde güçlü etkiler meydana getirirler ve bu alanlardan bazıları nAChR'leri içerirler. $\alpha 4$ veya $\beta 2$ reseptör alttipi olmayan farelerde antinosiseptif etkiler nerdeyse ortadan kaldırıldığı ve rostral ventromediyal medulla (RVM) nöronlarda bu etkilere artan c-fos ekspresyonu tarafından eşlik edildiği için selektif $\alpha 4\beta 2$ agonisti olan ABT-594'ün antinosiseptif etkileri için etki alanının beyin sapındaki RVM olduğu ileri sürülmüştür (Bannon ve ark., 1998; Bitner ve ark., 1998). Bu etki nAChR antagonisti olan mekamilamin tarafından engellendiği ve bu antagonistin tek başına bir etkisi olmadığı için bu durum $\alpha 4\beta 2$ reseptörlerinin aktivasyonudur, desentisizasyonu değil denilebilir, ki bu aktivasyon sonucu antinosiseptif etki oluşmaktadır (Bannon ve ark., 1998). Tüm bu bulgulara rağmen RVM'de nAChR antinosisepsiyonunun hücresel mekanizması tam olarak anlaşılammıştır. RVM'de serotonin markerları ile $\alpha 4$ immünohistokimyasal boyamaları çakıştığı ve serotonerjik nöronların seçici ablasyonu sonrası $\alpha 4$ boyamaları azaldığı için bu etkilere serotonin sinyal mekanizmasında dahil olmaktadır (Bitner ve ark., 1998; Cucchiaro ve Commons, 2003). Ancak serotonerjik RVM nöronların bu etkileri nasıl oluşturdukları bilinmemektedir. İlaveten, noradrenerjik hücre gruplarının yanı sıra dorsal rafe'de ki serotonerjik nöronlar üzerindeki $\alpha 4\beta 2$ reseptörlerinin ABT-594'ün sistemik etkilerine katkısı açıktır (Bitner ve ark., 1998; Cucchiaro ve Commons, 2003) (Şekil 5). Sonuç olarak ise sinir hasarı sonrası $\alpha 4\beta 2$ reseptörlerinin katkısı göz ardı edilemez (Rashid ve Ueda, 2002; Rashid ve ark., 2006; Matsumoto ve ark., 2007; Yalcin ve ark., 2011).

$\alpha 4\beta 2$ nAChR'lere ilaveten lokal inhibitör RVM nöronlar $\alpha 7$ nAChR'leri eksprese edebilirler ve bunların nosiseptif modülasyonda oynadıkları roller bilinmemektedir (Dehkordi ve ark., 2007). RVM nosisepsiyon üzerinde kompleks etkiler meydana getirir ve aslında kısmende olsa serotonerjik projeksiyonlar aracılığıyla nosisepsiyonu kolaylaştırabilir (Porreca ve ark., 2001; Suzuki ve ark., 2002; Godínez-Chaparro ve ark., 2012). İnen projeksiyonlar aracılığıyla spinal serotonin miktarında medyana gelen azalma aynı zamanda serotonerjik terminaller ve lokal internöronlardan gelen akso-aksonal girdiler üzerinde bulunan multipl nAChR alttipleri tarafından

modüle edilir (Cordero-Erausquin ve Changeux, 2001). Selektif bir $\alpha 7$ nAChR agonisti olan kolinin intraserebroventriküler uygulaması akut, inflamatuvar ve nöropatik ağrıda antinoseptif etki gösterir ve selektif bir $\alpha 7$ antagonisti bu etkileri engellemektedir (Wang ve ark., 2005; Hamurtekin ve Gurun, 2006; Hamurtekin ve ark., 2007; Bağdas ve ark., 2011). Böylece supraspinal $\alpha 7$ nAChR'ler antinoseptif etkilidirler, fakat etki alanları bilinmemektedir. Diğer güçlü bir aday ise RVM aracılığıyla bilgiyi limbik ve homeostatik merkezlerden omuriliğe ileten ortabeyin PAG'dır. PAG, $\alpha 7$ dahil bir çok nAChR'leri içerir ve bu bölgeye lokal olarak uygulanan nikotin antagonistleri antinosepsiyon meydana getirir (Guimara ve Prado, 1994; Baddick ve Marks, 2011). İlginçtir ki, son bulgular $\alpha 7$ nAChR'lerinin PAG-RVM nöronlarının farklı bir popülasyonu üzerinde eksprese edildiğini düşündürmektedir. Ayrışmış PAG nöronlarda GABAerjik terminaller üzerindeki $\alpha 4\beta 2$ nAChR'leri salıverilmeyi artırır (Nakamura ve Jang, 2010). Bu durum yaşlı hayvanlarda bunu teyit etmek için ve de etkilenen nöronları tanımlamak için önemli olacaktır. İlaveten, eksitatör sinaptik transmisyonun bu bölgedeki nAChR'ler tarafından modüle edilip edilmediği bilinmemektedir. PAG'da $\alpha 2$ nAChR altbirim mRNA'ları bulunmasına rağmen bunların naseptif etkileri gösterilememiştir (Ishii ve ark., 2005).



Şekil 5. Nikotinik reseptörler inen ağrı modülatör yollarını modüle eder. PAG: son bulgular ventrolateral PAG nöronların bir alt kümesinin (vlPAG) kendi somataları üzerinde $\alpha 7$ nAChR'lerinin eksprese edildiğini ve bu popülasyonun μ -opioid reseptörlerin (μ -OR) eksprese edildiği nöronlardan farklı olduğunu göstermektedir. Spesifik olarak vlPAG projeksiyon nöronlarının %50 (33/69) 'si asetilkoline (ACh) yanıt verdi. Yanıtlar selektif bir $\alpha 7$ antagonisti olan MLA tarafından bloke edildi (n = 15). Farklı bir deneyde vlPAG projeksiyon nöronlar arasında 4 yanıt sınıfı gözlemlendi: sadece nAChR yanıtları (8/41), zayıf ya da hiç olmayan nAChR yanıtları tarafından eşlik edilen μ -OR yanıtları (13/41), hem nAChR hem de μ -OR yanıtları (4/41), ya da her iki tip içinde yanıtın olamaması (16/41)(yayınlanmamış gözlemler). Buna ek olarak, presinaptik $\alpha 7$ nAChR'nin aktivasyonu RVM'de ki nAChR + nöronlardaki glutamaterjik etkileri artırdı. Buna karşılık, nAChR + vlPAG projeksiyon nöronlardaki GABAerjik girdilerin nikotin kaynaklı modülasyonu çok azdı. Sağ panelde, somatik nAChR eksikliğinde vlPAG projeksiyon nöronlarının büyük

bölümünde presinaptik nAChR'lerinin inhibitör etkileri modüle ettiği varsayılmaktadır. Bu olguya aracılık eden presinaptik nAChR'ü karakterize edilememiştir, fakat PAG ile ilgili bir önceki çalışmaya dayanarak bu reseptör büyük olasılıkla $\alpha 4\beta 2$ nAChR'dir (Nakamura ve Jang, 2010). Presinaptik ve somatik $\alpha 7$ nAChR'lerin vIPAG'da varsayımsal ağrı-inhibisyon nöronların eksitasyonuna katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Bu durum $\alpha 7$ nAChR aracılı analjezi için supraspinal bir mekanizma olabilir. RVM: RVM supraspinal antinosisepsiyon için iyi belgelenmiş bir alan olmasına rağmen bunun altında yatan etkenler hala iyi anlaşılabilir değildir. İmmünohistokimyasal çalışmalar $\alpha 4\beta 2$ nAChR alt tipi ve 5-HT markerlarının beraber lokalize olduğunu göstermektedir (Bitner ve ark., 1998). Fakat, elektrofizyolojik yaklaşımlar bu bulguyu doğrulamamaktadır. İlavenen, $\alpha 4\beta 2$ içeren 5HT RVM nöronların spesifik projeksiyon hedefleri, özellikle inen ağrı modülatör yollarının ortamı içindeki durumu bilinmemektedir. $\alpha 7$ nAChR'ler RVM'de GABA internöronlar üzerinde eksprese edilmiştir (Dehkordi ve ark., 2007). RVM'nin nikotin antinosisepsiyon ile olan ilişkisi davranış çalışmaları aracılığıyla gösterilmiş olsa bile, hücrel mekanizmaların araştırılması için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Spinal Dorsal Boynuz: Tonik endojen kolinerjik ton, ne $\alpha 4\beta 2$ ne de $\alpha 7$ nAChR'lerin aracılık etmediği inen girdilerden serotonin salıverilmesini modüle eder. Bu reseptörler serotonerjik terminallerle akso-aksonik bağlantı kuran GABAerjik internöronların yanı sıra inen serotonerjik girdiler üzerinde de lokalize olmuştur. Non-toksik mekanizma aracılığıyla 5-HT salıverilmesinin ilave modülasyonuna inen serotonerjik girdiler ile akso-aksonik bağlantı kuran GABAerjik internöronların somataları üzerinde lokalize olan $\alpha 7$ nAChR'ler tarafından aracılık edilir. Normal ve patolojik durumlarda bu modülasyonun nosisepsiyon üzerine olan etkisi daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyar

2.9. Nikotin ve Endojen Opioid Peptidler

Nikotinin norepinefrin, dopamin, asetilkolin, serotonin, glutamat ve GABA gibi nörotransmitterlerin salıverilmesine neden olduğu bilinmektedir (Jensen ve ark., 2005). Nikotin tarafından nAChR'nin aktivasyonu reseptörlerde sodyum ve kalsiyum iyonlarının akışıyla sonuçlanan konformasyonel bir değişikliğe neden olur. Katyonların geçişi sinir uçlarında (sonlanmalarında) depolarizasyona neden olmakta ve voltaj bağımlı N-tipi kalsiyum kanalları aracılığıyla kalsiyum girişini uyarmakta, böylece nörotransmitter salıverilmesini harekete geçirmektedir (Haass ve Kübler, 1997). Nörotransmitterlerin yanısıra, nikotinin aynı zamanda endojen opioid peptidlerin salıverilmesini de indüklediğini gösteren kanıtlar mevcuttur (Tablo 4). Örneğin, radyoimmünoassay test ile yapılan bir değerlendirmede akut nikotin uygulamasının (1 mg/kg s.c. , 1 saat sonra) hipotalamustaki β -endorfin miktarını azalttığı gösterilmiştir.

Ancak hipotalamustaki proopiomelanokortinin (β -endorfin prekürsörü) mRNA ekspresyonu, akut nikotin uygulamasını takiben değişmemektedir (Gudehithlu ve ark., 2012). Araştırmacılar olayları opioid peptidlerin degravasyonunun ve salıverilmesinin artması şeklinde yorumlamaktadırlar. Hipotalamus; hipokampus ve striatumun endorfinerjik terminal alanları ile birlikte beyinde β -endorfin üreten hücrelerin esas merkezidir. 6 saat boyunca nikotine (6-8 μ M) maruz bırakılan uygun koşullardaki primer fetal hipotalamik hücre kültürleri içerisinde β -endorfin immünoreaktivitesi artış göstermektedir (Boyadjieva ve Sarkar, 1997). Akut nikotin uygulaması (0,3 mg/kg, s.c.); dorsal rafe, pontin retiküler formasyon, gigantoselüler retiküler formasyon, lokus koruleus, duyusal trigeminal nukleus ve ventrolateral medulla oblongatanın kaudal kısmında dahil olmak üzere nukleus akumbenste (beynin ödül merkezi) ve alt beyin sapında Tyr-Gly-Gly [proenkefalinden(PENK) türev alan opioid peptitlerin ektranöronal bir metaboliti] seviyelerini artırmaktadır. Nikotinin, santral amigdala'da, serebellumun flokulonodüler lob'unda, ventrolateral medullanın kaudal kısmında ve spinal kordun intermediolateral hücre kolonunda natif (doğuştan) metionin-enkefalin (Met-Enk) seviyelerinde önemli bir azalma meydana getirdiği bildirilmiştir (Houdi ve ark., 1991). Ayrıca Isola ve ark. akut nikotinin (1 mg/kg, s.c.) striatal dinorfin 1-13 miktarında artışa neden olduğunu ve prodinorfin mRNA seviyelerinin uzun bir süre (0.5-24 saat) striatumda arttığını bulmuşlardır (Isola ve ark., 2009). Nikotinden bir saat sonra prodinorfin mRNA artışını takiben dinorfin 1-13 seviyesi de artış göstermiştir. Artan dinorfin 1-13 seviyesi bifazik etki meydana getirmiştir; nikotinden 1 saat sonra, dinorfin 1-13 seviyesi artış göstermiş, fakat 2-4 saat arasında kontrol seviyesine yakın bir değere gerilemiştir. Daha sonra, dinorfin 1-13 seviyesi 6.saate kadar tekrar yükselmiş, 12-14 saatlerinde maksimum seviyeye ulaşmış ve 48.saatte ise kontrol seviyesine yaklaşmıştır. Yazarlar dinorfin 1-13 seviyesinin bizafik etkisini, dinorfin 1-13 salınımını hızlandırmak ve düşük seviyelerde sonradan ortaya çıkan bozulma ile sonuçlanma şeklinde yorumlamaktadırlar. Bu sonuçlar birlikte ele alındığında nikotinin farmakolojik ve fizyolojik bazı etkilerine endojen opioid peptitlerin aracılık edebildiği sonucuna varılabilmektedir. Kiguchi ve ark. nikotin (5 mg/kg, s.c.) uygulamasından 2 saat sonra PENK mRNA seviyelerinin lumbar spinal kordta önemli ölçüde arttığını bildirmişlerdir, ancak dorsal kök gangliyonunda böyle bir artış söz konusu olmamıştır ve 4.saatte ise kontrol seviyesine gerilemiştir (Kiguchi ve ark., 2008). PENK mRNA

seviyelerindeki bu artış bir nAChR antagonisti olan mekamilamin (3 mg/kg s.c., nikotinden 15 dak. önce) tarafından inhibe edilmiştir. Fakat, proopiomelanokortin ve prodinorfin mRNA seviyelerinde nikotin uygulamasını takiben bir artış meydana gelmemiştir. Lumbar spinal kordun dorsal boynuzunda, nikotin uygulamasından 30 dakika sonra immünohistokimyasal olarak Met-Enk immünoaktivitesinde önemli ölçüde azalma meydana gelmekte, bu durumda presinaptik terminallerden Met-Enk salınımının gerçekleştiğini göstermektedir. Nikotin uygulamasından 2 saat sonra Met-Enk immünoaktivitesi kontrol seviyesine geri dönmüştür. Bu sonuçlar, nikotinin opioid peptid salınımını teşvik ettiğini ve spinal kordta endojen opioid sistemi aktive ettiğini göstermektedir.

Tablo 4. Opioid peptidlerin artan salınımı ve deşregasyonu **POMK:** Proopiomelanokortin, **NİK:**

Nikotin, **Tyr:** Tirozin, **Giy:** Glisin, **↑:** Artış, **↓:** Azalma, **→:** Değişiklik yok

| Tedavi | Miktardaki değişiklik | Beyin bölgesi |
|---|--|---|
| Endorfinler NİK 1 mg/kg s.c. in vivo | β -endorfin ↓ POMK mRNA → | Hipotalamus Striatum Hipokampus Prefrontal korteks Hipotalamus Prefrontal korteks |
| NİK 6-18 μ M in vitro | β -endorfin ↑ Uygun ortam | Hipotalamik hücre kültürü |
| Enkefalinler NİK 0.3 mg/kg s.c. in vitro | Tyr-Gly-Gly ↑ Ekstranöronal metabolitler Met-enkefalin ↓ | Nukleus akumbens Aşağı beyin sapı Amigdala Serebellum Medulla Omurilik |
| Dinorfinler NİK 1 mg/kg s.c. in vivo | Dinorfin 1-13 ↑ Bifazik patern Prodinorfin mRNA ↑ Uzamiş süre | Striatum Kaudata putamen Nukleus akumbens Hipokampus Hipotalamus Kaudate putamen Nukleus akumbens |

2.10. Antinosisepsiyonun GABA_Aerjik Mekanizması

Memelilerde, santral sinir sisteminde önemli bir inhibitör nörotransmitter olan GABA'nın antinosisepsiyon mekanizmasındaki rolü son zamanlarda ilgi odağı olmaktadır. GABA_Aerjik yolların opioidlerin antinosisepsiyonunda rol oynadığı bilinmektedir. Akut morfin uygulamasını takiben nosiseptif bilginin işlendiği farklı beyin ve omurlilik bölgelerindeki GABA seviyesinin değiştiği (Kuriyama ve Yoneda, 1978), kronik morfin uygulaması sonrasında ise GABA reseptörüne bağlanmanın değiştiği bildirilmiştir (Sivam ve ark., 1982). İlginçtir ki; i.c.v. olarak (Zonta ve ark., 1981), ya da doğrudan PAG içerisine (Zambotti ve ark., 1982), yahutta nukleus rafe dorsalis'e (Romandini ve Samanin 1984) uygulanan GABA_Aerjik ilaçların paradoksal olarak morfin antinosisepsiyonunu azalttığı gösterilmişken, sistemik uygulanan bu ilaçların tam tersine opiat antinosisepsiyonunu artırdığı bulunmuştur (Sawynok, 1984; Sivam ve Ho, 1985). Ek olarak, GABA_Aerjik ilaçların kendilerinin de antinosiseptif etki meydana getirdiği gösterilmiştir (DeFeudis, 1982; Sawynok, 1984; Sivam ve Ho, 1985) ve böylece yeni non-opioid antinosiseptifleri geliştirme olasılığı ilgi konusu haline gelmiştir. Örneğin, bir GABA_A agonisti olan THIP'in insanlarda analjezik etki meydana getirdiği gösterilmiştir (Følsgård ve ark., 1983; Kjaer ve Nielsen, 1983). Klinikte çoğunlukla antispastik bir ilaç olarak kullanılan (Young ve Delwaide, 1981), trigeminal nöraljinin tedavisinde de yararlı olabilen (Fromm ve ark., 1984) GABA_B reseptör agonisti baklofenin spastisite ile ilişkili olan ağrıyı azalttığı bulunmuştur (Pinto ve ark., 1972).

2.10.1. GABA_A Agonistleri; Antinosisepsiyon ve Etki Alanları

Sistemik musimol ve THIP injeksiyonunun tail-flick, hot-plate tail-immersiyon, paw-pressure, artrit ağrı, writhing (kıvrınma), grid şok ve şok titrasyon testerinde antinosiseptif etki meydana getirdiği gösterilmiştir (Christensen ve Larsen, 1981; Hill ve ark., 1981; Kendall ve ark., 1982; Sawynok ve LaBella, 1982; Andree ve ark., 1983; Sivam ve Ho, 1983; Vaught ve ark., 1985). Ancak, musimol (Sawynok ve LaBella, 1982) ve THIP'in (Vaught ve ark., 1985) her ikisinin antinosiseptif ve sedatif dozlarının farklı olmadığı bildirilmiştir.

Fakat, diazepam ve fenobarbital gibi kuvvetli sedatif ilaçların sistemik injeksiyonunun etkin bir antinosiseptif etki meydana getiremediği (Levy ve Proudfit, 1977; Sawynok ve LaBella, 1982), dolayısıyla da musimol ve THIP in antinosiseptif etkisinin sedatif etkiden bağımsız olduğu gösterilmiştir (Vaught ve ark., 1985).

GABA_A agonistlerinin asıl etki bölgelerinin spinal alanlardan ziyade beyin bölgeleri olduğu görülmektedir. Çünkü tail immersiyon testinde spinal kesi yapılan hayvanlarda THIP tarafından meydana getirilen antinosisepsiyonun azaldığı bildirilmiştir (Zorn ve Enna, 1985). Bu sonucu, nosiseptif bilginin işlenmesinde önemli bir alan olan ventrolateral PAG içerisine gerçekleştirilen THIP mikroinjeksiyonunun hot-plate testinde antinosisepsiyon meydana getirdiğini gösteren bir takım bulgular desteklemektedir (Retz ve Holaday, 1984). İ.c.v olarak uygulanan musimol (0.1-0.5 µg)'ün pinch-vokalizasyon testinde antinosiseptif etki meydana getirdiği bulunmuştur (Liebman ve Pastor, 1980). Substantia nigra içerisine musimolün bilateral mikroinjeksiyonunun (0.6 µg) hem hot-plate hem de tail-flick testlerinde antinosiseptif etki meydana getirdiği gösterilmiştir (Baumeister ve Frye, 1986).

Intratekal (i.t.) injeksiyon sonrası elde edilen veriler spinal etki alanının antinosiseptif etki meydana getirmede katkısı olduğunu ileri sürmektedir. Yapılan bir çalışmada, THIP'in (5 µg) kısa bir süre için hot-plate latens sürelerini artırıp tail-flick latens sürelerini etkilemediği gözlemlenirken, musimolün (0.25-0.5 µg) tail-flick latenslerini artırıp hot-plate latenslerini değiştirmediği bulunmuştur (Hammond ve Drower, 1984). Musimolün bu etkisinin (THIP'in değil) bir motor fonksiyon bozukluğundan ayrı olabileceği düşünölmüştür (Hammond ve Drower, 1984). Başka bir çalışmada ise i.t. olarak uygulanan musimol ve THIP'in her ikisinin de motor fonksiyonları değiştirmeksizin antinosisepsiyon meydana getirdiği gösterilmiş (Christensen ve Larsen, 1981) ve etki alanlarının omurilikte olduğu sonucuna varılmıştır. Bu nedenle bazı bulgular GABA_A agonistleri için supraspinal etki alanlarının yanı sıra spinal etki alanlarının da olduğunu göstermektedir.

Kronik THIP uygulamasının, morfin (Andree ve ark., 1983; Vaught ve ark., 1985) ve baklofen (Vaught ve ark., 1985) antinosisepsiyonuna karşı çapraz

tolerans geliştirmesinin yanı sıra THIP antinosisepsiyonuna da tolerans geliştirdiği bulunmuştur. Morfine karşı meydana gelen tolerans THIP'in antinosiseptif etkisini hot-plate testinde azaltmasına rağmen (Andree ve ark., 1983), musimolün writhing (kıvrınma) testindeki etkisini değiştirmediği ifade edilmiştir (Sivam ve Ho, 1983). Dolayısıyla uygulanan ağrı testine göre THIP'in ve musimolün tolerans etkisinde bir farklılık olabileceği düşünülmektedir [i.t. injeksiyonu takiben THIP ve musimolün hot-plate ve tail-flick testlerinde farklı etkiler gösterdiği bulunmuştur (Hammond ve Drower, 1984)]. THIP ve morfin arasında karşılıklı olarak gelişen çapraz tolerans, bu ilaçların antinosiseptif etki meydana getirmek için ortak bir yolağı kullanabileceğini ifade etmektedir (Andree ve ark., 1983). Fakat, yapılan çalışmalar sonucu THIP ve baklofen arasında çapraz tolerans gelişmesine karşın, bu ilaçların etkilerini oldukça farklı mekanizmaları aktive ederek gösterdiği bulunmuştur.

2.10.2. GABA_A Antinosepsiyonunun GABA_A Reseptör Antagonistleri Tarafından Modifikasyonu

Musimoln antinosiseptif etkisinin hot-plate testinde (Sawynok ve LaBella, 1982) ve musimolün bu etkisinin potensiyalizasyonunun writhing testinde (Sivam ve Ho, 1983) bikukulin tarafından antagonize edildiği bildirilmiştir. Bikukulin hot-plate (Sawynok ve Dickson, 1983), , tail immersiyon (Sivam ve Ho, 1983), tail-flick ve writhing (Spaulding ve ark., 1979; Sivam ve Ho, 1983) testlerinde antinosiseptif etki göstermekte ve bu durum musimolün etki potansiyelini açıklayabilmektedir. Bikukulinin GABA_A agonistleri tarafından meydana getirilen antinosiseptif etkiyi bloklamada yetersiz kalmasının sebebi açık değildir. Bikukulinin subkonvülsif dozlarının kullanımı elzem olsada, THIP'in diğer davranışsal etkileri bu dozlarda bikukuline duyarlıdır, bu durum da yetersiz dozun bir açıklama olamayacağı kanaatini gün yüzüne çıkarmaktadır. Buna ek olarak, i.c.v. ya da PAG içine (Zambotti ve ark., 1982) mikroinjeksiyonu takiben musimolün, morfinin antinosiseptif etkisini inhibe etmesinin santral olarak uygulanan bikukulin tarafından bloke edilmesi musimolün modülatör etkisinde bikukulin-duyarlı reseptörlerin ilişkisini göstermektedir. THIP ve musimolün GABA_B reseptörlere afinitesi mevcuttur, fakat bu durum antinosisepsiyonun nedenini açıklamak için yeterli değildir. Çünkü bu etki sadece

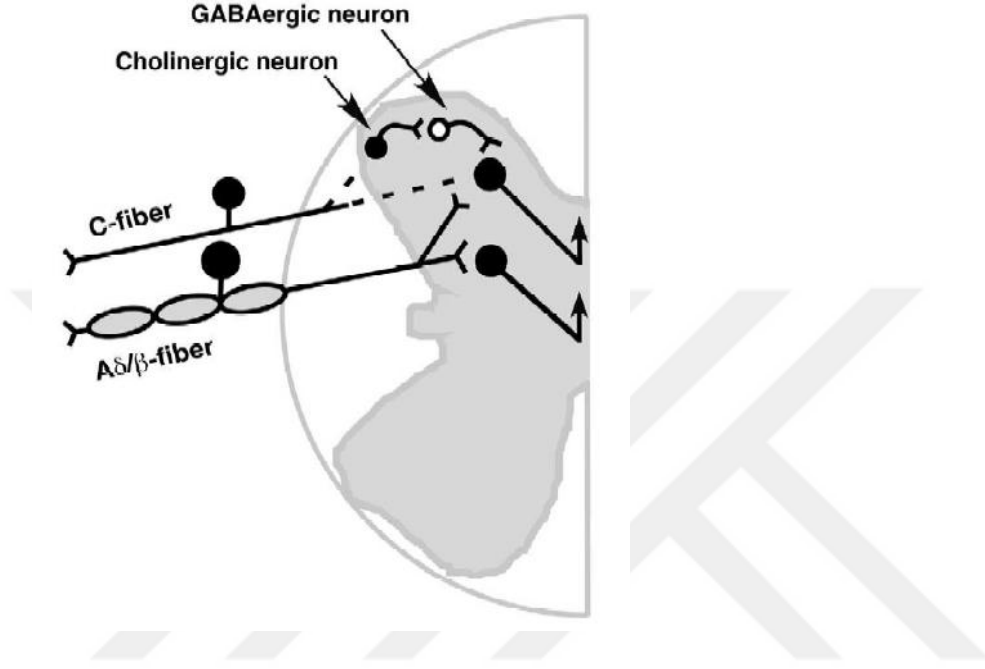
yüksek dozlarda görülmekteyken farklı etki mekanizmalarına sahip bir dizi ilaç tarafından GABA_A ve GABA_B agonistlerinin etkileri diferansiyel bir şekilde değiştirilebilmektedir.

Pikrotoksinin THIP ya da musimol antinosisepsiyonu üzerine etkisi yoktur (Sawynok ve LaBella, 1982; Vaught ve ark., 1985). Bikukulinde olduğu gibi, pikrotoksin tail-flick, hot-plate ve writhing testlerinde intrinsik-antinosiseptif aktiviteye sahiptir (Spaulding ve ark., 1979; Sivam ve Ho, 1983). GABA reseptörleri üzerinden meydana gelen etkilerin GABA_A antagonistlerin intrinsik aktiviteleri ile ilişkili olup olmadığı net olarak bilinmemektedir. Çünkü bu reseptörleri etkileyen agonistler antinosiseptif etki meydana getirmektedir. Antagonistin antinosiseptif mekanizması göz önünde bulundurulduğunda spinal transeksiyonun tail-flick testinde (Spaulding ve ark., 1979) pikrotoksinin etkisini engellemesi supraspinal bir etkinin varlığını ileri sürmekte, fakat morfin toleransının writhing testinde (Sivam ve Ho, 1983) pikrotoksin ya da bikukulinin etkilerini değiştirmemesi opioid sistemden bağımsız bir etkinin mevcudiyetini düşündürmektedir.

2.10.3. Nikotin Antinosisepsiyonunda GABAerjik Sistemin Rolü

Normal fizyolojik koşullar altında, myelinsiz C liflerinin yanı sıra myelinli A δ / β lifleride nosiseptif bilgiyi omurilikteki ikinci sıra nöronlara iletmektedir. Aynı zamanda nosiseptif transmisyon üzerinde kolinerjik-GABAerjik sistem vasıtasıyla primer aferent lifler (C-lifler) aracılı feedback inhibitör etki meydana gelmektedir. Kolinerjik-GABAerjik sistemin maksimum aktivasyonu sebebiyle ekzojen nikotinin antinosiseptif etkinliğe sahip olduğu gösterilmiştir (Rashid ve ark., 2002). Ayrıca, GABA_A antagonistleri tarafından (pikrotoksin gibi) GABAerjik sistem vasıtasıyla spinal nAChR'lerinin nosisepsiyon üzerindeki inhibitör etkisinin ortadan kalktığı bulunmuştur. Dolayısıyla selektif GABA_A reseptör antagonisti pikrotoksinin Rashid ve ark. (2002) tarafından yapılan çalışmada i.t. uygulanan nikotinin antinosiseptif etkisini engellendiği bildirilmiştir. Sinir hasarından sonra C-liflerinin retraksiyonu sebebiyle nosiseptif transmisyon üzerinde feedback inhibitör etkinin azaldığı gösterilmiştir. GABA agonistlerinin yanı sıra ekzojen nikotinin de kaybolan

inhibitör tonusu stimüle etmek için GABAergic nöronları aktive ettiği ve böylece de nöropatik ağrıda antinosisseptif etkiyi ortaya çıkardığı gösterilmiştir (Rashid ve ark., 2002) (Şekil 6).



Şekil 6. Spinal GABAergic stimülasyon vasıtasıyla intratekal nikotinin antinosisseptif etki mekanizması (Rashid ve ark., 2002'den alındı)

3. MATERYAL ve METOT

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi. Deney Hayvanı Etik Kurulu'nun 24.04.2015 tarih ve HEK/197 sayılı kararı ile onay alındıktan sonra deneylere başlandı.

3.1. Deney Hayvaları

Çalışmada, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezinde (DEHAM) yetiştirilen ve Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalında adaptasyonu gerçekleştirilen, 250-300 gram ağırlığında olan, yem ve suya erişimin serbest olduğu, sıcaklığın 22 ± 1 °C olarak ayarlandığı, 12:12 saat gece-gündüz siklusunun mevcut olduğu ortamda tutulan, erkek Sprague Dawley sıçanlar kullanıldı. Çalışmalar Helsinki Deklarasyonu'na ve "Uluslararası Ağrı Araştırmaları Derneği (IAPS)"nin öngördüğü etik kurallara uygun olarak gerçekleştirildi.

3.2. Cerrahi Yöntem

3.2.1. Elektrotların Yerleştirilmesi

Ketamin (100 mg/kg, i.p) ve klorpromazin (0.75 mg/kg, i.p) ile anestezi altına alınan sıçanların orta abdominal sol lateral bölgelerinde, çapraz cilt kesisini takiben künt diseksiyon yapılarak sol eksternal abdominal kas görünür hale getirildi. Elektromiyografik (EMG) aktivitenin kaydedilmesi amacıyla 80 µm çapındaki iki adet bipolar nikrom elektrot (Driver-Harris, Cedex, Fransa) eksternal oblik kasa inguinal ligamentin hemen üstünde kalacak şekilde, 0.5-1 cm aralıklarla paralel şekilde yerleştirildi. Elektrotun diğer ucu cilt altından ilerletilerek sıçan ense kısmına ağızlaştırıldı ve kafatası kemiğine implante edilen vidaların arasında kalacak şekilde akrilik jel ile dondurulup sabitlendi (Şekil 7).



A



B

Şekil 7. A. Elektrotların Karın İçi Görünümü **B.** Elektrotların Kafatasına Sabitlenmiş Görünümü

3.2.2. İntravenöz Kalıcı Kateterin Yerleştirilmesi

İntravenöz ilaç uygulaması için kateter yerleştirilmesi ketamin anestezisi altında gerçekleştirildi. Hayvanların ön boyun bölgesi tıraş edilerek temizlendi. Klavikula üstünde sağ ön boyun üzerinde 1 cm uzunluğunda medyan dikey bir kesi açıldı. Juguler ven belirgin bir şekilde disseke edilerek 4-0'lık ipek suturlar yardımıyla izole edildi. Daha önceden 10 G ve 50 G (Gauge) polietilen tüplerden hazırlanan ve içerisine salin doldurulmuş olan kateter juguler ven içerisinde yaklaşık 1,5 cm'lik mesafe katedecek şekilde ilerletildi ve sutur yardımıyla sabitlendi. Kateterin terminal ucu ise cilt altından ilerletilmek suretiyle ense kökünden dışarıya çıkartılarak ağızlaştırıldı. (Şekil 8).

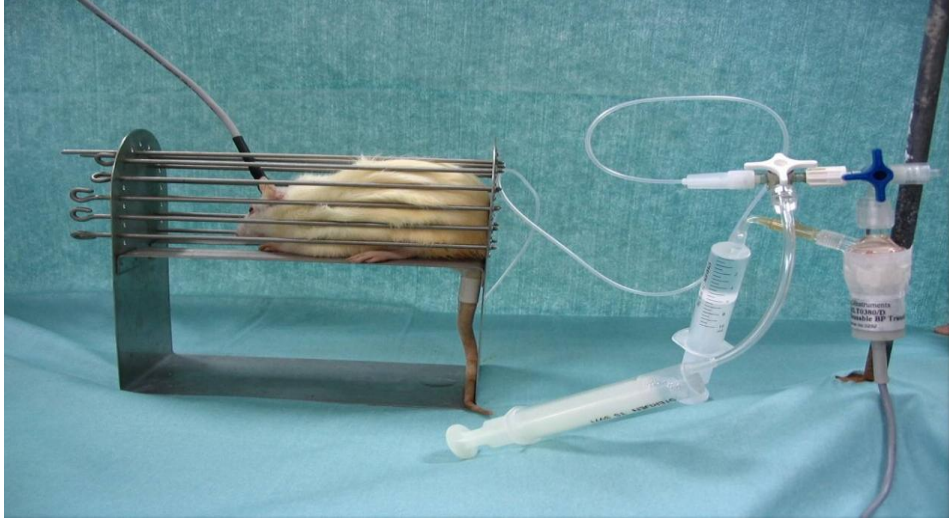


Şekil 8. Sol eksternal jugüler vene kalıcı kateterin yerleştirilmesi

Cerrahiden sonra sıçanlar bir hafta boyunca seperatörlü kafeslerde yiyecek ve içeceğe erişim serbest olarak bekletildi. Bir haftalık iyileşme sürecinde sıçanlar her gün 3 saat süreyle bollman kafeslerinde bekletilerek deney şartlarına alışması sağlandı. Deneyler 12 saat süren açlığı takiben yapıldı.

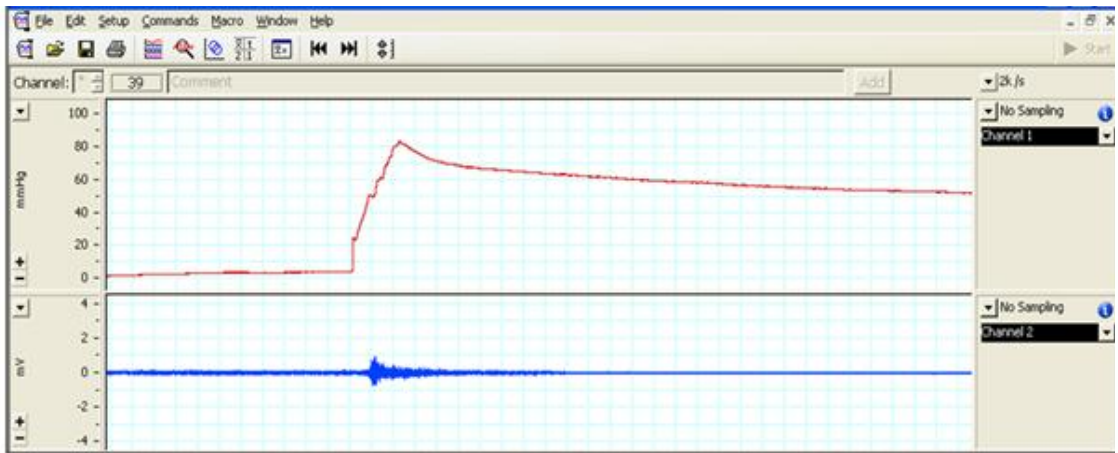
3.3. Kolorektal Distansiyon Oluşturulması

Şıçanlarda kolorektal distansiyon (KRD) oluşturmak için KRD aparatı hazırlandı. Esnek plastik tüpün (tygon) 6-7 cm uzunluğundaki uç kısmına prezervatif balon geçirildi. Balonun uç ve son kısmı iple sıkıca tüpe bağlanıp hava sızması önleildi. KRD aparatı şıçanların rektum ve çıkan kolonuna yerleştirildi ve rektumdan kaymasının engellenmesi için tüpün anüsden dışarıda kalan kısmı şıçan kuyruğuna flaster ile sabitlendi. Sıçanlar bollman kafeslere uyanık halde konuldu ve deney boyunca kafeslerde bekletildi. KRD aparatının diğer ucu bir T borusu yardımıyla basıncı sağlamak için kullanılan enjektöre ve basınç değişikliklerini görmek için bridge amplifier'e (ML221, ADInstruments, Australia) bağlı "basınç transduser"ine (MLT380, ADInstruments, Australia) bağlandı (Şekil 9).



Şekil 9. Deney düzeneği

Viseromotor yanıt eksternal oblik kasların kontraksiyonunu sırasında eksternal oblik kasa yerleştirilen elektrotlardan elde edilen EMG aktivitesi ile değerlendirildi. EMG sinyalleri Powerlab veri kazanım sistemine (ML870/P, PowerLab 8/30) bağlı bioamplifier (ML132, ADInstruments, Australia) ile amplifiye edildi. Veri kazanım software (Chart v 5.02, ADInstruments, Australia) kullanılarak basınç değişikliklerini takip eden ilk 20 saniyedeki EMG sinyallerinin integralleri alındı. Kolorektal basınç oluşturmak için aparatın ucundaki balon hava ile şişirilerek intrakolonik basınç 0 mmHg'den 80 mmHg'ye çıkarıldı. Maksimum viseromotor yanıt 80 mmHg'de gözlemlendiği için EMG aktivitesi bu basıncın ilk 20 saniyelik sinyallerin integralleri alınarak hesaplandı ve veri analizi için kullanıldı (Şekil 10).



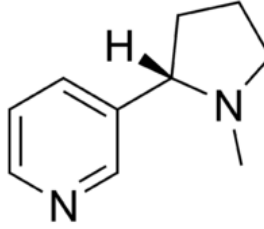
Şekil 10. Kolorektal distansiyon modelinde distansiyona karşı gelişen EMG yanıtı

Deney günü ilaçların uygulanmasından önce ortalama bazal yanıtı tespit etmek için 5'er dakikalık aralıklarla 5 kez KRD uygulandı. İlaçların uygulanmasından önce 5'er dakika arayla uygulanan 5 KRD serisindeki 80 mmHg'lik basınca karşı oluşan EMG yanıtlarının ortalaması % 100 viseromotor yanıt (0. dakika) olarak kabul edildi. İlaçların uygulanmasından sonra KRD 10., 20., 30., 40., ve 50. dakikalarda tekrarlandı.

3.4. Kullanılan İlaçlar

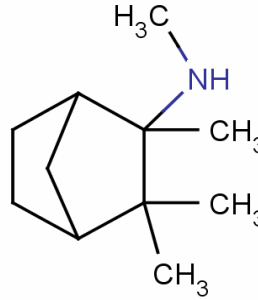
Tüm ilaçlar intravenöz (i.v.) olarak uygulandı.

1. Nikotin hidrogen tartrat [Sigma, St. Louis, MO, USA]: Kolinerjik (nikotinerjik) reseptör agonisti



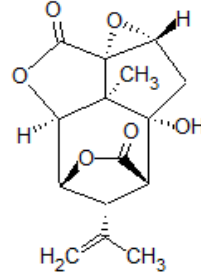
$C_{10}H_{14}N_2$: 162.23156 g/mol

2. Mekamilamin [Sigma, St. Louis, MO, USA] : Seçici olmayan nikotinik reseptör antagonisti



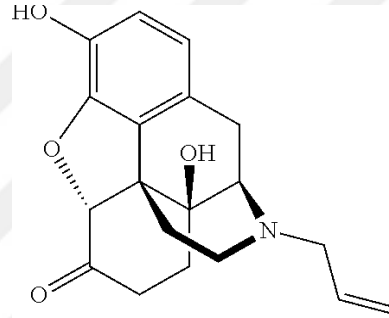
$C_{11}H_{21}N$: 167.29114 g/mol

3. Pikrotoksin [Sigma, St. Louis, MO, USA]: Selektif GABA_A antagonisti



C₁₅H₁₆O₆ : 292.28394 g/mol

4. Nalokson [Sigma, St. Louis, MO, USA]: Seçici olmayan opioid reseptör antagonisti



C₁₉H₂₁NO₄ : 327.37434 g/mol

3.5. Deney Grupları

3.5.1. Nikotinin KRD İle Oluşturulan Viserel Ağrı Modelinde Antinosiseptif Etkisinin Araştırılması

5 kez kontrol VMY'larının alınmasından sonra nikotin (1.25, 2.5, 5 ve 10 mg/kg, iv) uygulandı. Enjeksiyondan sonra her bir grup için 10., 20., 30., 40. ve 50. dakikalarda kolorektal distansiyon uygulanarak nikotinin viseromotor yanıtlar üzerine etkisi değerlendirildi.

3.5.2. Nikotinin KRD ile Oluşturulan Viseral Ağrı Modelindeki Antinosiseptif Etkisinde Nikotinic Reseptörlerin Rolünün Araştırılması

Seçici olmayan nikotinic reseptör antagonisti **mekamilamin** (0.25 mg/kg, i.v), nikotin (5 mg/kg, iv)'den 10 dakika önce uygulandı. Nikotin uygulandıktan sonra 10.,20., 30., 40. ve 50. dakikalarda KRD uygulanarak oluşan viseromotor yanıtlar değerlendirildi. Mekamilamin için literatürde kullanılan en ufak etken dozu seğildi.

3.5.3. Nikotinin KRD ile Oluşturulan Viseral Ağrı Modelindeki Antinosiseptif Etkisinde GABA Reseptörlerinin Rolünün Araştırılması

GABA_A reseptör antagonisti **pikrotoksin** (0.1 mg/kg i.v) nikotin (5 mg/kg, i.v)'den 10 dakika önce uygulandı. Nikotin (5 mg/kg, iv) uygulandıktan sonra 10.,20., 30., 40. ve 50. dakikalarda KRD uygulanarak oluşan viseromotor yanıtlar değerlendirildi. Pikrotoksin için konvülsiyon oluşturmayan dozu seğildi.

3.5.4. Nikotinin KRD ile Oluşturulan Viseral Ağrı Modelindeki Antinosiseptif Etkisinde Opioiderjik Reseptörlerin Rolünün Araştırılması

Nalokson (1 mg/kg, i.v), nikotinin (5 mg/kg, i.v)'den 10 dakika önce uygulandı. Nikotin (5 mg/kg, i.v) uygulandıktan sonra 10.,20., 30., 40. ve 50. dakikalarda KRD uygulanarak oluşan viseromotor yanıtlar değerlendirildi. İlavaten nalokson (1 mg/kg, i.v) nikotin (5 mg/kg, i.v) ile birlikte eş zamanlı uygulandıktan sonrada 10.,20., 30., 40. ve 50. dakikalarda KRD uygulanarak oluşan viseromotor yanıtlar değerlendirildi. Nalokson dozu için morfinin analjezik etkisini döndürdüğü doz seğildi.

3.6. İstatistiksel Analiz

Her bir grup için 6-10 sıçan kullanılan çalışmada, tüm değerler ortalama \pm standart hata şeklinde verildi. KRD'ye karşılık gelen viseromotor yanıt (VMY) % kontrol olarak ifade edildi. 80 mm Hg'deki VMY (ilaç uygulamadan); %100 olarak kabul edildi. Ayrıca uygulanan bir ilacın VMY üzerindeki etkilerinin analizi için eğri altında kalan alan (EAA), MS. Excel programı kullanılarak hesaplandı. EAA, ilaç uygulamadan sonraki VMY ile bazal VMY arasındaki değişikliklere göre, ikizkenar yamuk kuralınca zamana karşı çizilerek hesaplandı ($EAA = \Sigma \text{Yanıt} \times 50 \text{ dk}$).

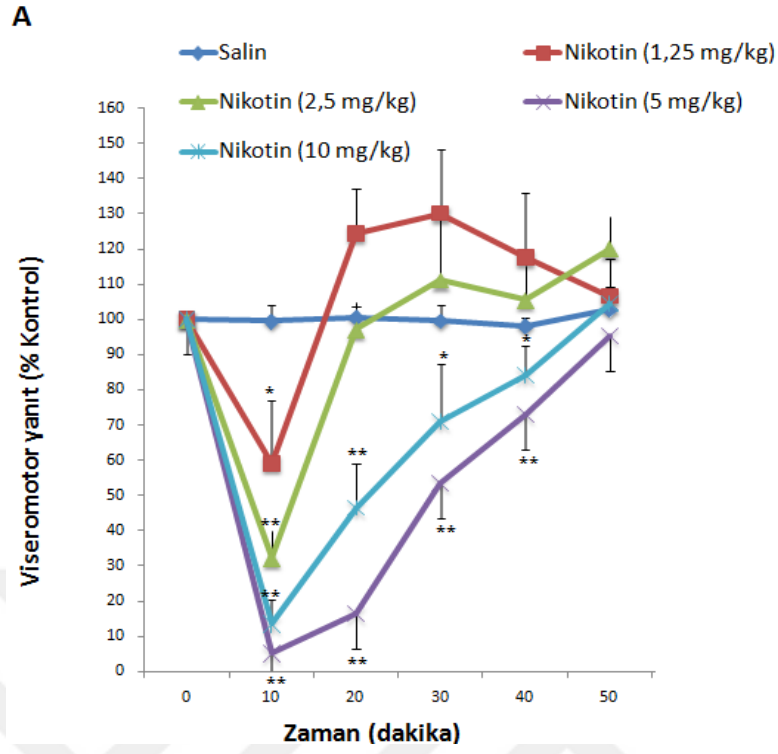
İstatistiksel analizler SPSS (Versiyon 21) yazılımı kullanılarak yapıldı. Verilerin normal dağılımı kontrol edildikten sonra grupların karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi (ANOVA), post-hoc test için de Tukey-Kramer testi kullanıldı. $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. İstatistiksel değerlendirme EAA üzerinden yapıldı.

4. BULGULAR

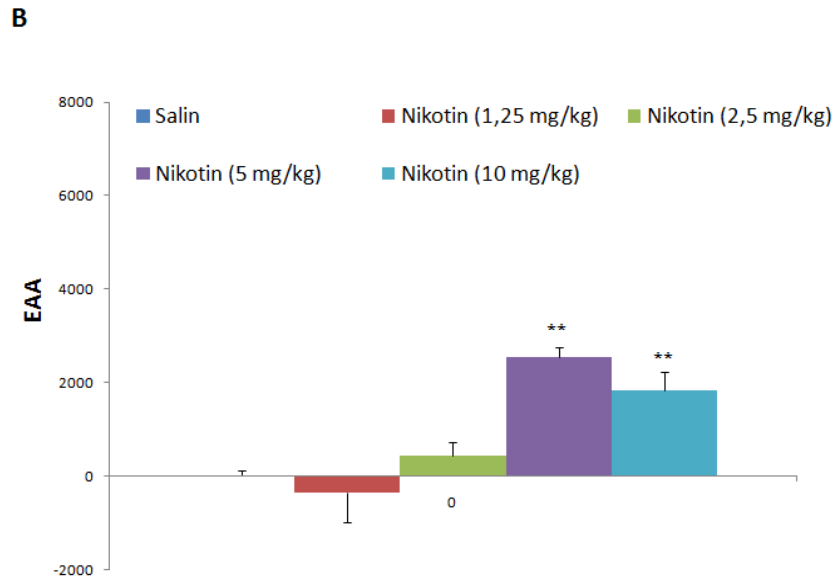
4.1. Nikotinin KRD İle Oluşturulan Viseral Ağrı Modelinde Antinosisepatif Etkisinin Araştırılması

Nikotin 1.25 ve 2.5 mg/kg dozlarında uygulandığında kontrol grubu (salin) ile karşılaştırıldığında viseromotor yanıtarda anlamlı bir değişiklik meydana getirmezken, 5 ve 10 mg/kg dozlarında uygulandığında viseromotor yanıtarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma meydana getirdi (** p<0,001).





Şekil 11. Farklı dozlarda uygulanan nikotinin viseromotor yanıtı etkisi, * $p < 0.05$ ve ** $p < 0.001$ Salin grubuna göre

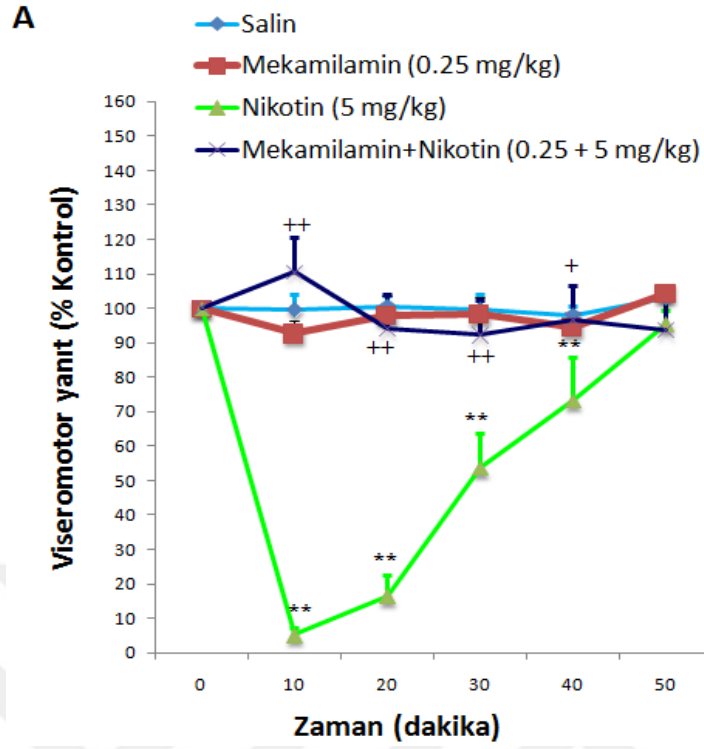


Şekil 12. Zamana bağlı viseral yanıtındaki değişikliklerin eğri altında kalan alan (EAA) değerleri ** $p < 0.001$ Salin grubuna göre

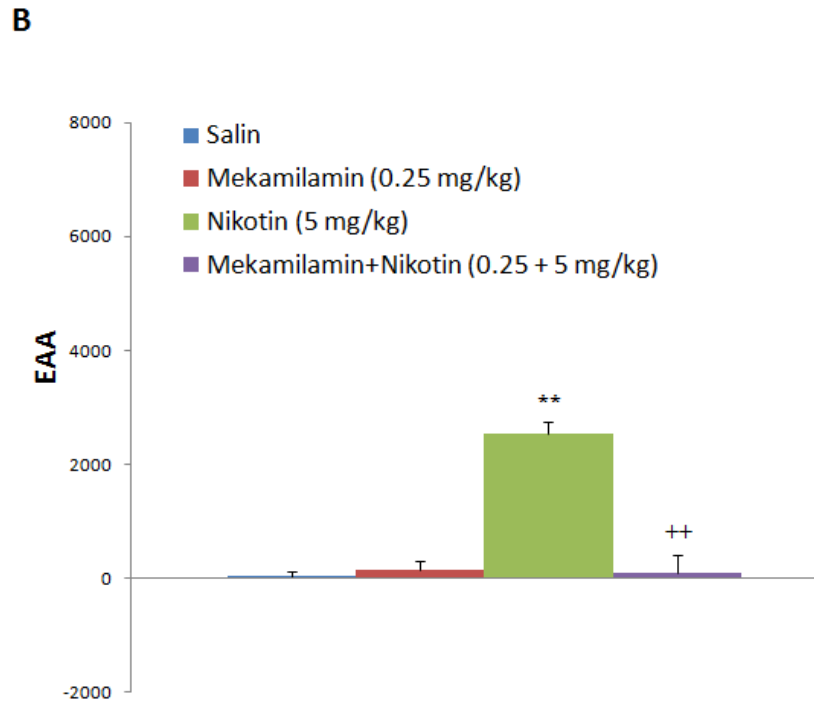
4.2. Nikotinin KRD ile Oluşturulan Viseral Ağrı Modelindeki Antinosiseptif Etkisinde Nikotinic Reseptörlerin Rolünün Araştırılması

Mekamilamin 0.25 mg/kg i.v uygulandığında nikotinin (5 mg/kg, i.v) antinosiseptif etkisini engelledi (++ $p < 0.001$). Mekamilamin (0.25 mg/kg, i.v) tek başına uygulandığında herhangi bir etki göstermedi.





Şekil 13. Mekamilaminin nikotin antinosepsiyonuna etkisi, +p< 0.05 ve ++p< 0.001 Nikotin (5 mg/kg) grubuna göre

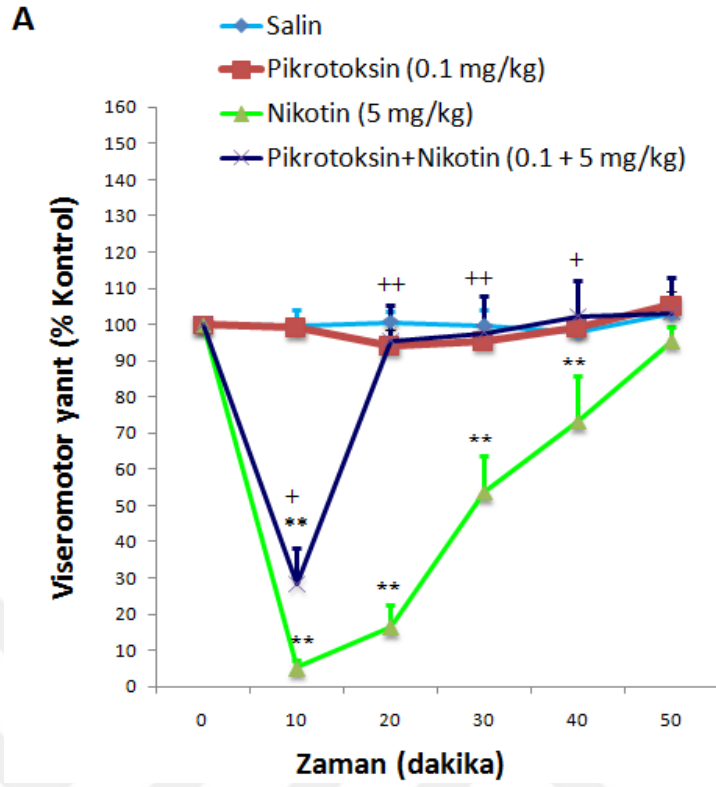


Şekil 14. Zamana bağlı viseral yanıtta değişikliklerin eğri altında kalan alan (EAA) değerleri **p< 0.05 Salin grubuna göre, ++p< 0.001 Nikotin (5 mg/kg) grubuna göre

4.3. Nikotinin KRD ile Oluşturulan Viseral Ağrı Modelindeki Antinosiseptif Etkisinde GABA Reseptörlerinin Rolünün Araştırılması

0.1 mg/kg dozunda i.v uygulanan pikrotoksin 10. dakikada nikotinin antinosiseptif etkisi üzerinde kısmen bir azalma meydana getirirken, 20. Dakikadan sonra nikotinin antinosiseptif etkisi anlamlı olarak engelledi. Pikrotoksin (0.1 mg/kg, i.v) tek başına uygulandığında ise herhangi bir etki göstermedi.

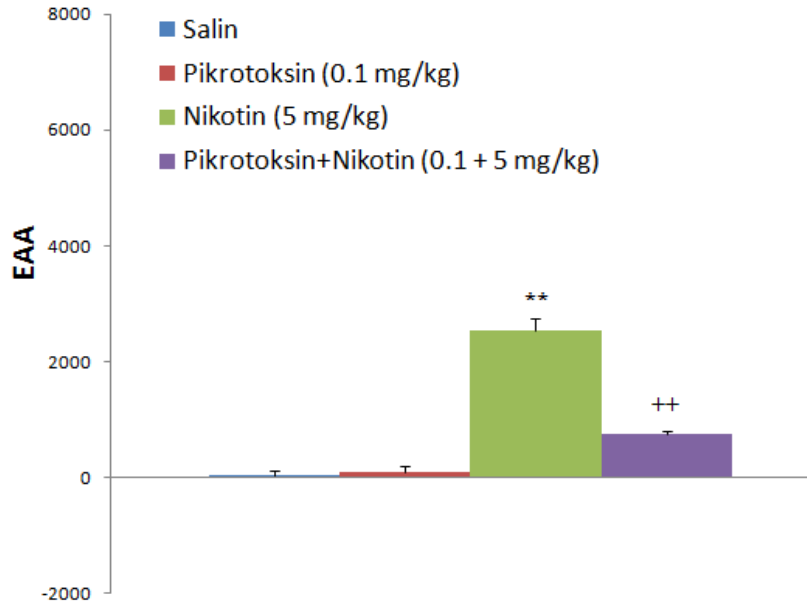




Şekil 15. Pikrotoksinin nikotin antinosepsiyonuna etkisi

**p<0.001 Salin grubuna göre, +p< 0.05 ve ++p< 0.001 Nikotin (5 mg/kg) grubuna göre

B



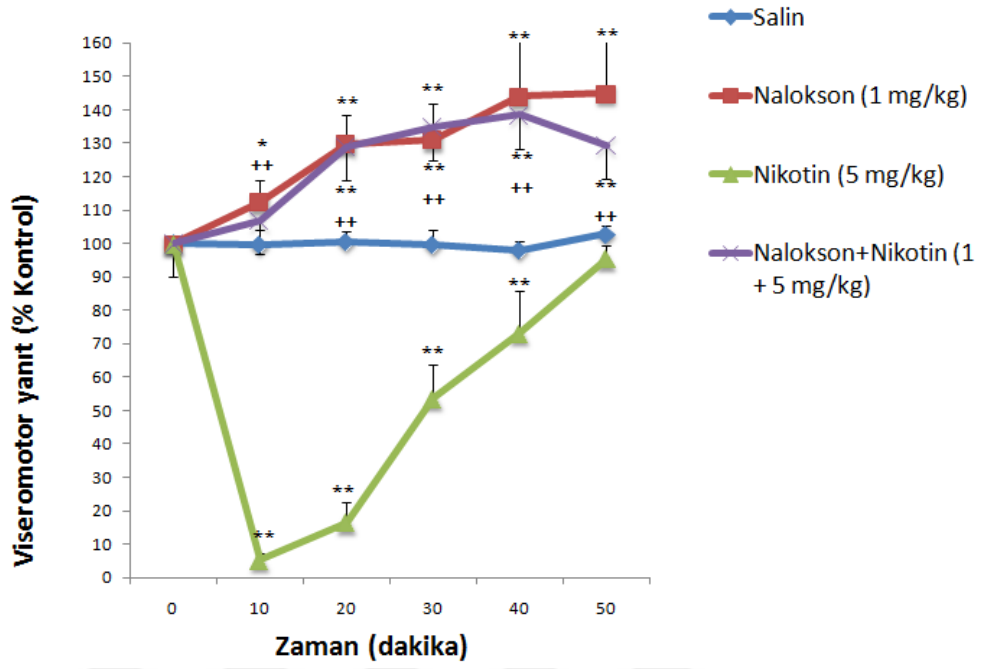
Şekil 16. Zamana bağlı viseral yanıtta değişikliklerin eğri altında kalan alan (EAA) değerleri

**p<0.001 Salin grubuna göre, ++p< 0.001 Nikotin (5 mg/kg) grubuna göre

4.4. Nikotinin KRD ile Oluşturulan Viseral Ağrı Modelindeki Antinosiseptif Etkisinde Opioiderjik Reseptörlerin Rolünün Araştırılması

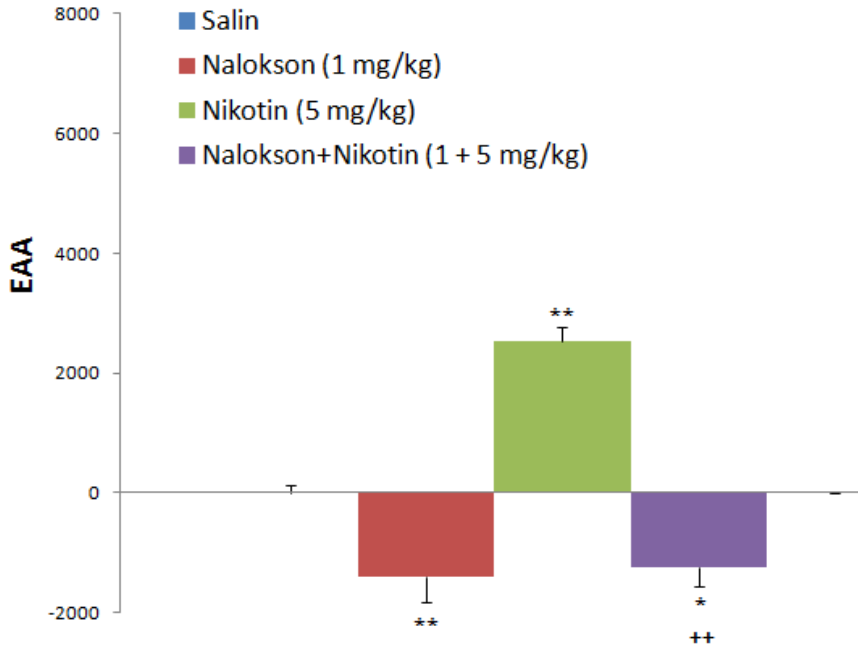
Nikotinden 10 dakika önce verilen nalokson (1 mg/kg, i.v), nikotinin (5 mg/kg, i.v) antinosiseptif etkisini engelledi, ancak hiperaljezi meydana getirdi. (Şekil 17 ve 18) Ancak nikotin ile eş zamanlı olarak verildiğinde ise nikotinin antinosiseptif etkisini kısmen engelledi (Şekil 19 ve 20) Nalokson (1 mg/kg, i.v) tek başına uygulandığında ise hiperaljizik etki meydana getirdi.



A

Şekil 17. Nalokson ön uygulamasının nikotin antinosepsiyonuna etkisi,

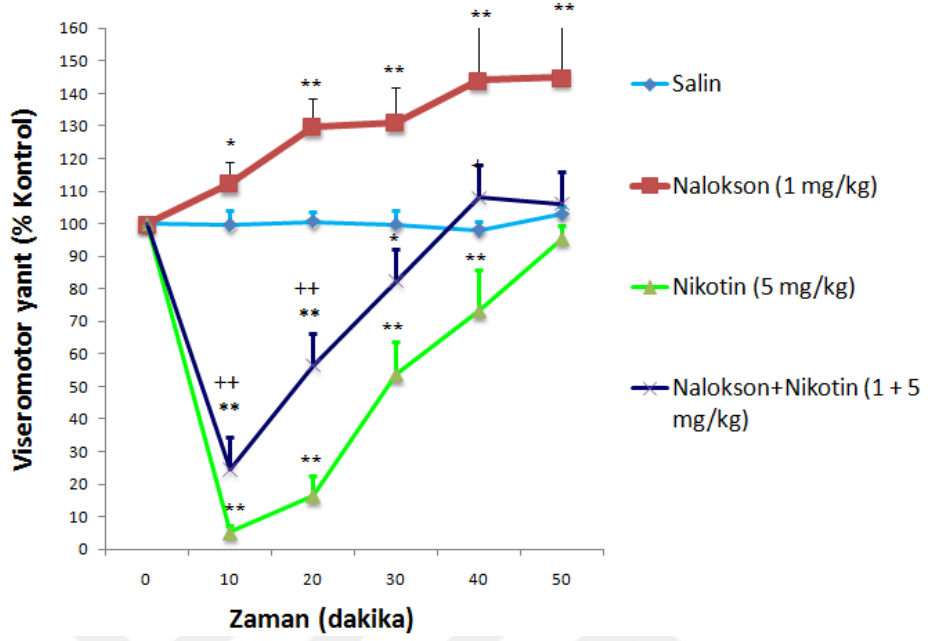
**p<0.001 Salin grubuna göre, ++p< 0.001 Nikotin (5 mg/kg) grubuna göre

B

Şekil 18. Zamana bağlı viseral yanıtta değişikliklerin eğri altında kalan alan (EAA) değerleri,

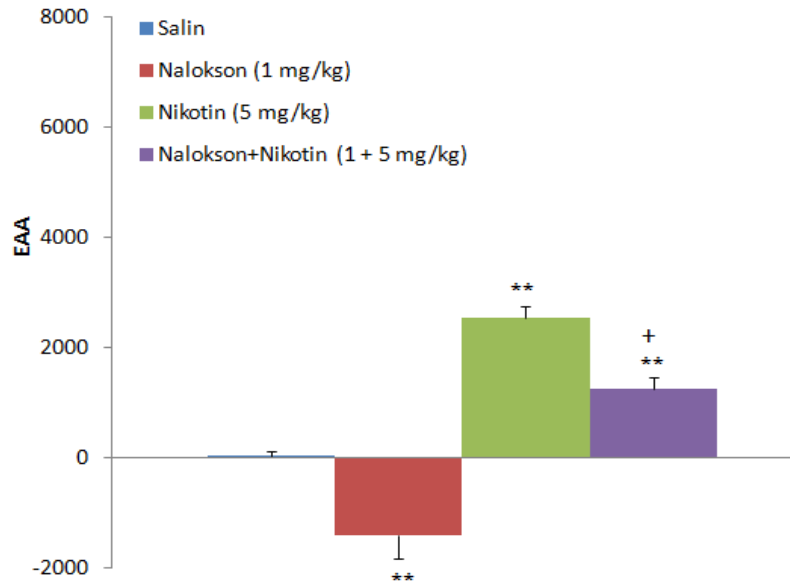
*p<0.05 ve **p<0.001 Salin grubuna göre, ++p< 0.001 Nikotin (5 mg/kg) grubuna göre

A



Şekil 19. Eş zamanlı nalokson uygulamasının nikotin antinosepsiyonuna etkisi
* $p < 0.05$ ve ** $p < 0.001$ Salin grubuna göre, ++ $p < 0.001$ Nikotin (5 mg/kg) grubuna göre

B



Şekil 20. Zamana bağlı viseral yanıtta değişikliklerin eğri altında kalan alan (EAA) değerleri
** $p < 0.001$ Salin grubuna göre

Tablo 5. Tek başına uygulanan agonist ve antagonistlerin EAA (Eğri altındaki alan) üzerine etkileri.
** p < 0.001; salin grubuna göre

| İlaç (doz) | EAA (ortalamlar ± S.E.M.) |
|--------------------------|---------------------------|
| Saline (0.1 ml/100 g) | 6 ± 111 |
| Nikotin (1.25 mg/kg) | -341 ± 638 |
| Nikotin (2.5 mg/kg) | 440 ± 286 |
| Nikotin (5 mg/kg) | 2538 ± 220** |
| Nikotin (10 mg/kg) | 1827 ± 405** |
| Mekamilamin (0.25 mg/kg) | 143 ± 150 |
| Nalokson (1 mg/kg) | -1399 ± 435** |
| Pikrotoksin (0.10 mg/kg) | 93 ± 101 |

5. TARTIŞMA

Ağrı pek çok hastalığın en sık görülen belirtilerinden biridir. Ağrı iletiminin çeşitli mekanizmalar aracılığıyla gerçekleşmesi ve karmaşıklığı sebebiyle viseral ağrı önemini korumaktadır. Birçok çalışmada nAChR agonisti olan nikotinin çeşitli ağrı durumlarında (nöropatik, somatik, viseral ağrı gibi) antinosiseptif etki gösterdiği bildirilmiştir. Nikotinin antinosiseptif etki mekanizması birçok ağrı modelinde araştırılmış olsa da, KRD ile indüklenen viseral ağrı modelindeki etkisi ve olası etki mekanizmaları bugüne kadar yeterince çalışılmamıştır. Biz de çalışmamızda KRD ile indüklenen viseral ağrı modelinde çeşitli dozlardaki nikotinin (1.25, 2.5, 5 ve 10 mg/kg; i.v.) sıçanlarda antinosiseptif etkisini ve olası etki mekanizmalarını araştırdık.

Çalışmamızda nAChR agonisti olan nikotin i.v. olarak uygulandığında, KRD ile indüklenen viseral ağrı modelinde 5 ve 10 mg/kg dozlarında anlamlı olarak antinosiseptif etki meydana getirmiştir ($p < 0.001$). Nikotinin antinosiseptif etkisi non-selektif nAChR antagonisti olan mekamilamin, ve GABA_A reseptör antagonisti olan pikrotoksin ile engellendi. Non-selektif opioid reseptör antagonisti olan nalokson sonrası nikotinin antinosiseptif etkisi tamamen döndü ve hiperaljezik etki meydana geldi. Nalokson, nikotin ile eş zamanlı uygulandığında ise nikotinin antinosiseptif etkisini kısmen engelledi. Çalışmamızda nalokson hariç i.v. uygulanan tüm antagonistler tek başına bir etki göstermezken, nalokson hiperaljezik etki meydana getirdi.

Nikotinin antinosiseptif etkisi fare, sıçan ve tavşan gibi bir çok kemirgen hayvanların yanı sıra ve kedi ile köpek gibi hayvan türlerinde gösterilmiştir (Ghelardini ve ark., 1997). İlaveten, insanlarda da gösterildiği çalışmalar mevcuttur (Pomerleau ve ark., 1984; Girdler ve ark., 2005). Nikotinin antinosiseptif etkinliği daha çok hot-plate testi ve tail-flick testi (Biala ve ark., 2004) gibi termal stimülasyon kullanılarak oluşturulan somatik ağrı modellerinde gösterilmiş olsada, tail-pinch testi gibi mekanik stimülasyon (Kiguchi ve ark., 2008) ve formalin test (Zarrindast ve ark., 1999) kimyasal stimülasyon kullanılarak oluşturulan çeşitli ağrı modellerinde de ele alınmıştır. Örneğin, Ki-Yung Han ve ark., asetik-asit ile indüklenen viseral ağrı modelinde yaptıkları bir çalışmada i.c.v. ve i.t. olarak uygulanan nikotinin kıvrınma sayısını azalttığını tespit etmişlerdir (Han ve ark., 2005). Ancak viseral ve somatik ağrı mekanizmalarının farklılık gösterdiği bilinmektedir. Viseral ve kutaneal reseptörler

arasında önemli farklılıklar vardır. Viserlerdeki reseptör sayısı ciltteğine göre çok daha azdır ve somatik ağrıyı ileten reseptörlere oranla farklı bir aktivasyon mekanizmasına sahiptir. Mesela, uterus serviksini, mezenterin ya da diğer viseral organların kesilmesi ve yakılması ağrı oluşturmazken gerilme, viseral organlardaki kimyasal hasar ve iskemi viseral ağrıya neden olur. Bu ağrı genellikle yaygındır ve zor lokalize edilir (Raj, 2004).

Viseral ağrıyı taklit etmede kullanılan karın kıvrınma testi her ne kadar viseral ağrı modeli olarak karşımıza çıksa da testin subjektif olması ve de sadece kimyasal hasarla gelişen viseral ağrıyı taklit etmesi barsak, mesane ve uterus gibi içi boş viseral organların distansiyonu sonucu gelişen viseral ağrıyı yansıtmamaktadır. Bu sebeple sıçanlarda kolorektal bölgede meydana getirilen gerilim sonucu oluşan viseral ağrı, viseral ağrı mekanizmasının daha net anlaşılmasına katkıda bulunmaktadır.

Nikotinin doza bağlı antinosiseptif etkileri, uygulanan ağrı testi, uygulama yolu, tür, yaş, cins ve enjeksiyonu takip eden zaman da dahil olmak üzere bir dizi faktöre bağlı olabilir. Block ve ark'ları tarafından yapılan bir çalışmada teste tabi tutulan sıçanların % 40'ından fazlasında nikotinin (1 mg/kg) antinosiseptif etkisi gözlenmemiştir (Block ve ark., 1993). Ayrıca, yüksek dozdaki nikotinin toksik eşige yakın olabileceği ve viseromotor yanıtları etkileyen lokomotor aktiviteyi suprese edebileceği düşünülmüştür. Diğer taraftan, yapılan çalışmalarda tail flick latenslerinin anestezisi altında bile genel lokomotor aktiviteden bağımsız olduğu bulunmuştur (Wang ve ark., 1990; Campbell ve Welch, 2001). Çalışmamızda, maksimum antinosisepsiyonun gözlendiği 5 mg/kg dozundaki nikotinin lokomotor aktivite üzerine herhangi bir etkisini gözlemedik. Sadece 10 mg/kg dozundaki nikotin, teste tabi tutulan hayvanlarda konvülsiyon meydana getirdiği için mekanizma çalışmalarında nikotinin 5 mg/kg dozu kullanıldı. Öyle ki farelerde nikotinik agonistlerin postoperatif ağrı üzerine olan antinosiseptif etkilerinin ele alındığı bir çalışmada 7 mg/kg dozundaki nikotinin nöbet ve ölümlere neden olduğu bildirilmiştir (Rowley ve ark., 2008).

Yapılan çalışmalarda farklı yollar vasıtasıyla uygulanan nikotinin, her antinosiseptif etki meydana getirdiği gösterilmiştir. Kiguchi ve ark. tarafından yapılan çalışmada subkutan olarak uygulanan nikotinin antinosiseptif etki meydana getirdiği bulunmuştur. Yine aynı araştırmacılar tarafından i.t. olarak uygulanan nikotinin de farelerde ağrı eşiğini yükselttiği gösterilmiştir (Kiguchi ve ark., 2008). Campbell ve ark.'nın yaptıkları çalışmada ise i.p. olarak uygulanan nikotinin de hem tail flick hem de

hot-plate testlerinde antinosiseptif etki gösterdiği ortaya konmuştur (Campbell ve ark., 2006). Ki-Yung Han ve ark.'nın formalin test ile yaptıkları başka bir çalışmada ise i.c.v. olarak uygulanan nikotinin asetik asit ile oluşturulan kıvrınma sayılarını azalttığı tespit edilmiştir (Han ve ark., 2005). Bu çalışmada da i.v. olarak uygulanan nikotinin diğer veriliş yollarında olduğu gibi analjezik etki meydana getirdi. Buda çeşitli yollar vasıtasıyla uygulanan nikotinin antinosiseptif etkili olduğunu göstermektedir.

Nikotinin meydana getirdiği antinosisepsiyonda, nosiseptif yollardaki ve santral sinir sisteminin belirli bölgelerindeki (talamus, medulla, nukleus rafe, omurilik) nAChR'lerinin aktivasyonunun görev aldığını gösteren güçlü bulgular mevcuttur (Iwamoto ve Marion, 1993). nAChR'lerinin aktivasyonunun endojen opioid peptitlerin yanı sıra asetilkolin, noradrenalin, serotonin ve glutamat salınımını artırdığı iyi bilinmektedir. Bu süreçlerin büyük oranda ekstraselüler kalsiyuma bağlı olduğu bilinmekte ve nikotinin antinosiseptif etkisi için santral sinir sisteminin farklı bölgelerindeki olası bir mekanizmayı ortaya çıkarabileceği düşünülmektedir. Houdi ve ark., nAChR'lerinin aktivasyonu sonrası beta-endorfin ve enkefalinlerin biyosentez ve salınımındaki artış ile kolinerjik ve opioid mekanizmalar arasında yakın ilişki olduğunu göstermiştir (Houdi ve ark., 1991). Bu sonuca destek olarak, bazı çalışmalarda talamus ve omurilik gibi nosiseptif kontrolde yer alan çeşitli santral sinir sistemi bölgelerinde μ -opioid reseptörlerinin ve nAChR'lerinin ko-lokalize olduğu gösterilmiştir (Mansour ve ark., 1995).

Nikotinerjik sistemin nikotinin antinosiseptif mekanizmasında rol aldığını gösteren çalışmalar mevcuttur. Nikotinin meydana getirdiği antinosiseptif etkinin non-selektif nAChR antagonisti olan mekamilamin tarafından hot-plate ve tail-flick testlerinde engellendiği rapor edilmiştir (Marubio ve ark., 1999). İlaveten Dulu ve ark.'nın farelerde yapmış oldukları başka bir çalışmada da formalin ile indüklenen viseral ağrı modelinde de nikotinin antinosiseptif etkisinin mekamilamin tarafından engellendiği gösterilmiştir (Dulu ve ark., 2014). KRD ile indüklenen viseral ağrı modelinde nikotinin antinosiseptif etki mekanizmalarında nikotinerjik sistemin rolünün araştırıldığı bir çalışma literatürde yoktur. Bu çalışmada, mekamilamin (0.25 mg/kg) sıçanlarda nikotinin antinosiseptif etkisi engellenmiştir ($p < 0.001$). Gerek somatik gerekse de viseral ağrı modellerinde nikotinin nikotinerjik reseptörler üzerinden etki gösterdiği görülmektedir.

Çalışmamızda düşük dozda kullanılan mekamilamin (0.25 mg/kg) nikotinin antinosiseptif etkisini engelliyor olmasına rağmen, tek başına uygulandığında herhangi bir etki meydana getirmemiştir. Ancak daha yüksek dozda kullanılan mekamilaminin (0.5 ve 1 mg/kg) tek başına antinosiseptif etki meydana getirdiğini gösteren bulgular literatürde mevcuttur. Öyle ki Pamela ve ark. formalin test ile yaptıkları bir çalışmada mekamilaminin tek başına uygulanması sonucu antinosiseptif etkili olduğunu göstermişlerdir. Yüksek dozda uygulanan mekamilamin sonucu meydana gelen bu antinosiseptif etkide glisin, GABA ve NMDA (N-metil-D-aspartat) reseptörlerinin ve diğer mekanizmaların rolü olabileceği savunulmuştur. Bunun yanı sıra düşük dozda uygulanan mekamilaminin (0.25 mg/kg) hiperaljezik etki meydana getirdiği, düşük dozlarda nikotinic aktiviteyi baskılayarak hiperaljeziye sebep olabileceği gösterilmiştir (Flood ve ark., 2002). Ancak çalışmamızda 0.25 mg/kg dozda kullanılan mekamilamin hiperaljezik etki meydana getirmedi. Mekamilaminin hiperaljezik etki göstermemesinin nedeni çalışmamızın farklı bir ağrı modeli kullanılarak yapılmasından kaynaklanıyor olabilir.

Nikotinin antinosepsiseptif etkileri ile opioidlerjik sistem arasındaki ilişki pek çok hayvan çalışmasında gösterilmiştir (Tripathi ve ark., 1982; Zarrindast ve ark., 1997). Öyle ki, naloksonun hayvan çalışmalarında nikotinin antinosiseptif etkisini azalttığını gösteren bulgular mevcuttur (Tripathi ve ark., 1982; Aceto ve ark., 1993). Nikotinin adrenal kromafin hücrelerden met-enkefalin salıverilmesine neden olduğu bulunmuş (Eiden ve ark., 1983) ve böylece endojen opioidlerin sıçanlarda nikotin antinosisepsiyonu ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür (Molinerio ve Del Rio, 1987). Naloksonun hot-plate ve tail flick testleri ile yapılan somatik ağrı modellerinde morfin analjezisine benzer şekilde nikotinin antinosiseptif etkisini azalttığını gösteren bulgular mevcuttur (O'Callaghan ve Holtzman, 1975; Ginawi, 1991).

Çalışmamızda, KRD ile oluşturulan viseral ağrı modelinde nikotinin antinosiseptif etkisi aynı zamanda opioid reseptör antagonisti olan nalokson tarafından kısmen engellenmiştir. Bu sonuçlar yabanıl tip ve μ -opioid reseptör (μ -OR) geni ya da met-enkefalin prokürsörü olan preenkefalin (ppENK) geni bulunmayan knock-out (KO) farelerle yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlarla uyumludur. Öyle ki, nikotin kaynaklı antinosisepsiyonun büyüklüğünün yabanıl tip farelerle karşılaştırıldığında MOR ya da ppENK KO farelerde daha az olduğu saptanmıştır (Wewers ve ark., 1999;

Berrendero ve ark., 2002; Berrendero ve ark., 2005; Galeote ve ark., 2006). Bu sonuçlar da, nikotinin nAChR'lerini aktive ederek endojen opioid peptitlerin salınımını uyardığı ve böylece antinosiseptif etki oluşturduğunu düşündürmektedir. Ancak çalışmamızda nikotinden 10 dakika önce uygulanan nalokson hiperaljezik etki meydana getirmiştir. Dolayısıyla nikotin antinosepsiyonunun nalokson tarafından engelleniyor olması, bu engellenmenin naloksonun nikotinin salt antinosiseptif etkisini döndürmekten ziyade hiperaljeziye neden olmasından kaynaklandığını düşündürmektedir.

Literatürde naloksonun hiperaljezik etki meydana getirdiğini gösteren kanıtlar mevcuttur. Ramabadran ve ark. subkutan olarak uyguladıkları düşük dozdaki naloksonun (0.3 mg/kg) farelerde hiperaljezi meydana getirmediğini, ancak daha yüksek dozlarda naloksonun (1 ve 3 mg/kg) hiperaljezik etki oluşturduğunu göstermiştir (Ramabadran ve ark., 1989). Aynı şekilde Laulin ve ark.'nın yapmış oldukları çalışmada da 1 mg/kg dozunda uygulanan naloksonun sıçanlarda hiperaljezik etki meydana getirdiği tespit edilmiştir (Laulin ve ark., 2002). Yine yapılan başka bir çalışmada da naloksonun morfin analjezisini blokladığı doz olan 1 mg/kg dozunda sıçan ve farelerde hiperaljezik etki oluşturduğu gösterilmiştir (Carmody ve ark., 1979). Çalışmamızda tek başına uygulanan naloksonun (1 mg/kg) hiperaljezik etki meydana getirdiğini, aynı zamanda nikotinden (5 mg/kg) 10 dakika önce verilen naloksonunda (1 mg/kg) hiperaljezik etki meydana getirdiğini gözlemledik. Tüm bu sonuçlarda salt antagonist olarak naloksonun, nikotinin antinosiseptif etkisini engelliyor şeklinde yorum yapmayı güçleştirir.

Yapılan çalışmalarla nikotinin doğrudan omurilikteki inhibitör nöronlar olan GABA_Aerjik nöronları aktive ettiği ve santral sensitizasyon ile ağrı iletimini inhibe ettiği gösterilmiştir (Raj, 2004; Kiguchi ve ark., 2008; Dulu ve ark., 2014). Dolayısıyla bu çalışmada da, GABA_Aerjik nöronların nikotin kaynaklı antinosepsiyonla ilişkisi araştırılmıştır. Çalışmamızda, nikotinden (5 mg/kg) 10 dakika önce i.v. uygulanan 0.1 mg/kg pikrotoksinin KRD ile indüklenen visceral ağrı modelinde nikotinin antinosiseptif etkisini azalttığı ($p < 0.001$), ancak aynı dozda tek başına uygulandığında ise herhangi bir etki meydana getirmediği gözlenmiştir. Pikrotoksin, GABA_A resptörleri ile ilişkili klor kanallarının internal bölgelerine bağlanan ve GABA'nın hiperpolarizasyonu artırıcı etkisini inhibe eden konvülsif bir bitkisel alkaloiddir (Biala ve ark., 2004). Pikrotoksin, pikrotin ve pikrotoksininin bir karışımıdır ve pikrotoksinin hem GABA hem de glisin

reseptörlerini bloklarken, pikrotin ise GABA reseptörleri üzerinde etki göstermez, sadece glisin reseptörlerini bloke eder (Wonnacott, 1997).

Birçok çalışmada, GABA reseptörlerine bağlanarak antinosiseptif etki meydana getiren ilaçların antinosiseptif etkilerinin pikrotoksin tarafından engellendiği bulunmuştur (Marubio ve ark., 1999; Zarrindast ve ark., 1999; Berrendero ve ark., 2002). Öyle ki gabapentinin viseral ağrıdaki antinosiseptif etkisinin ve etki mekanizmasının araştırıldığı bir çalışmada 0.75 ve 1 mg/kg dozlarında pikrotoksinin gabapentinin antinosiseptif etkisini engellemediği, sadece toksik dozunun (1.5 mg/kg) asetik asit ile indüklenen viseral ağrı modelinde viseral kontraksiyonları azalttığı gösterilmiş, ilaveten aynı dozda tek başına uygulanan pikrotoksinin de herhangi bir antinosiseptif etki meydana getirmediği bulunmuştur (Berrendero ve ark., 2005). Fakat KRD ile indüklenen viseral ağrı modelinde nikotin antinosisepyonu ile pikrotoksin arasındaki etkileşim şimdiye kadar araştırılmamıştır. Ancak nikotin ile pikrotoksin arasındaki ilişkinin gösterildiği çalışmalar mevcuttur. Örneğin, GABA_Aerjik sistemin nöropatik ağrıda nikotin-kaynaklı antinosisepyon ile olan ilişkisinin araştırıldığı bir çalışmada parsiyel siyatik sinir ligasyonu yapılan fareler üzerinde i.t olarak uygulanan nikotinin (10 nmol) antinosiseptif etkisinin GABA_A reseptörlerine bağlandığı gösterilen pikrotoksin (0.1 nmol; i.t.) tarafından engellendiği bulunmuştur (Galeote ve ark., 2006). Bu sonuç bizim sonuçlarımızla uyumludur. Keza biz de çalışmamızda pikrotoksinin subkonvülsif bir dozunun (0.1 mg/kg) KRD ile indüklenen viseral ağrı modelinde nikotinin (5 mg/kg) antinosiseptif etkisini geri çevirdiğini gösterdik (p<0.001).

Pikrotoksinin hiperalezi ile ilişkisinin ele alındığı çalışmalar da mevcuttur. Formalin test ile yapılan bir çalışmada pikrotoksinin (20 ve 30 µg/rat) intrahipokampal enjeksiyonunun ağrı eşiğini anlamlı derecede yükselterek hiperalezik etki meydana getirdiği gösterilmiştir (Wewers ve ark., 1999). Benzer şekilde, Naik ve ark. yapmış oldukları başka bir çalışmada ise nöropatik ağrıda dorsal kök ganglionlarına uygulanan pikrotoksinin doza bağımlı bir şekilde uzun süren hiperalezik etki meydana getirdiğini rapor etmişlerdir (Balfour, 1982). Ueda ve ark. ise i.t. olarak uyguladıkları pikrotoksinin (0.1 nmol) sham-farelerde hiperalezik etki gösterdiğini bildirmişlerdir (Galeote ve ark., 2006). Çeşitli ağrı modellerinde pikrotoksinin göstermiş olduğu hiperalezik etki bizim çalışmamızla bağdaşmamaktadır. Keza biz bu çalışmada gerek tek başına uygulanan subkonvülsif dozdaki pikrotoksinin (0.1 mg/kg) gerekse de nikotin öncesinde uygulanan

pikrotoksinin herhangi bir hiperaljezik etki meydana getirmediğini gözlemledik.

İntravenöz uygulanan pikrotoksin, desendan antinosiseptif sistemleri ihtiva eden nukleus rafe dorsalis ve periaquaduktal gri (PAG) içindeki nöronların disinhibisyonunun aktivasyonu yoluyla spinal nosiseptif nöronları inhibe etmektedir. GABA_A reseptör antagonisti olan pikrotoksinin subkonvülsif bir dozunun i.v. uygulanması sonucunda kedilerde omuriliğin dorsal boynuzundaki WDR nöronlar üzerinde antinosiseptif etki meydana getirdiği bulunmuş ve yapılan immünohistokimyasal çalışmalar sonucu pikrotoksinin bu antinosiseptif etkisinin desendan antinosiseptif sistem üzerindeki GABA_A reseptör inhibisyonunun kaldırılmasıyla PAG/DRD nöronların aktivasyonu sonucu meydana gelebileceği ifade edilmiştir (Dani, 2001).

Tatsuo ve ark. GABA_A reseptör antagonisti olan pikrotoksinin subkonvülsif dozlarda (0.12-1.0 mg/kg; i.p.) doza bağımlı bir şekilde sıçanların tail-flick latenslerini anlamlı derecede artırdığını göstermiş, 0.12 mg/kg dozun altındaki dozlarda ise herhangi bir antinosiseptif etki meydana getirmediğini bulmuşlardır. İlaven fenobarbital, midazolam veya etanol tarafından meydana getirilen hiperaljezik etkiyi pikrotoksinin (0.12 mg/kg) geri çevirdiğini göstermişlerdir (Law ve Loh, 1999). Bu sonuçlar bizim sonuçlarımızla uyumludur. Çünkü biz de çalışmada kullandığımız pikrotoksin dozunun (0.1 mg/kg) tek başına KRD ile indüklenen viseral ağrı modelinde herhangi bir antinosiseptif etki meydana getirmediğini gösterdik. İlaven, yapılan birçok ağrı çalışmasında kullanılan subkonvülsif pikrotoksin dozunun 0.1-1 mg/kg arasında olduğu görülmektedir. Ancak çalışmamızda 0.5 ve 1 mg/kg dozlarındaki pikrotoksinin sıçanlara i.v. uygulanması sonucunda hayvanlarda şiddetli konvülsiyon meydana geldiği ve akabinde hayvanların öldüğü gözlenmiştir. 0.25 ve 0.30 mg/kg dozlarında ise hayvanlarda sadece konvülsiyon meydana gelmiştir. Tüm bu bilgiler ışığında çalışmada kullanılan pikrotoksin dozu konvülsiyonun gözlemlenmediği doz olan 0.1 mg/kg olarak belirlendi. Bu sonuçlar da, pikrotoksinin uygulama yeri ve dozuna göre çeşitli etkiler meydana getirdiğini göstermektedir.

6. SONUÇ

Sonuç olarak kolorektal distansiyonla indüklenen viseral ağrı modelinde nikotin antinosiseptif etki gösterdi. Nikotinin bu antinosiseptif etkisi seçici olmayan nikotinic reseptör antagonisti olan mekamilamin ve GABA_A reseptör antagonisti olan piktotoksin ile engellenirken, seçici olmayan opioid reseptör antagonisti olan nalokson tarafından ise kısmen engellenmiştir. Çalışmamızda nalokson hariç i.v. uygulanan tüm antagonistler tek başına bir etki göstermezken, nalokson hiperaljezik etki meydana getirdi. Elde ettiğimiz bu sonuç nikotinin antinosiseptif etkisine nikotinerjik, GABAerjik ve kısmen de opioidderjik sistemin aracılık ettiğini düşündürmektedir. Mevcut bulgular viseral ağrı mekanizmasının anlaşılmasına ve irritabl barsak sendromu gibi viseral ağrının eşlik ettiği klinik durumlar için etkili analjezik geliştirilmesine ve halen kullanımda olan analjeziklerin viseral ağrıdaki mekanizmalarının aydınlatılmasına ışık tutabilir.

KAYNAKLAR

- Abdrakhmanova Galya R, AlSharari S, Minhø Kang, M, Damaj I, and Hamid Akbarali I. $\alpha 7$ -nAChR-mediated suppression of hyperexcitability of colonic dorsal root ganglia neurons in experimental colitis. *Am J Physiol* 2010; 299: G761-G68.
- Aceto Mario D, Susan Scates M, Ji Z, and Edward Bowman R. Nicotine's opioid and anti-opioid interactions: proposed role in smoking behavior. *Eur J Pharmacol* 1993;248: 333-35.
- Aida S, and Shimoji K. Descending pathways in spinal cord stimulation and pain control. *J Pain* 2003; 101-17.
- Aldemir T. Ağrı sendromları. Erdine S (ed). Ağrı, Birinci baskı, İstanbul;Alemdar Ofset: 2000;714-63.
- áMartin Garraffo H. Alkaloids from frog skin: the discovery of epibatidine and the potential for developing novel non-opioid analgesics. *Nat Prod Rep* 2000;17: 131-35.
- Andree T, Kendall DA, and Enna SJ. THIP analgesia: cross tolerance with morphine. *Life Sci* 1983;32: 2265-72.
- Armario A. Activation of the hypothalamic–pituitary–adrenal axis by addictive drugs: different pathways, common outcome. *Trends Pharmacol Sci* 2010;31: 318-25.
- Attal N., and Bouhassira D. Mechanisms of pain in peripheral neuropathy. *Acta Neurol Scand* 1999;100: 12-24.
- Aydın O. Ağrı ve ağrı mekanizmalarına güncel bakış. 2002.
- Azam L, and Michael McIntosh J. Molecular basis for the differential sensitivity of rat and human $\alpha 9\alpha 10$ nAChRs to α -conotoxin RgIA. *J Neurochem* 2012;122: 1137-44.
- Baddick Christopher G, and Michael Marks J. An autoradiographic survey of mouse brain nicotinic acetylcholine receptors defined by null mutants. *Biochem Pharmacol* 2011;82: 828-41.
- Bagdas D, Fusun Ak S, Hamurtekin E, Sonal S, and Sibel Gurun M. The antihyperalgesic effect of cytidine-5'-diphosphate-choline in neuropathic and inflammatory pain models. *Behav Pharmacol* 2011;22: 589-98.
- Balfour DJK. The effects of nicotine on brain neurotransmitter systems. *Pharmacol Ther* 1982;16: 269-82.
- Bannon AW, Decker MW, Holladay MW, Curzon P, Donnelly-Roberts D, Puttfarcken PS, Bitner RS, Diaz A, Dickenson AH, and Porsolt RD. Broad-spectrum, non-

- opioid analgesic activity by selective modulation of neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *Sci* 1998;279: 77-80.
- Baumeister Alan A, and Gerald Frye D. Involvement of the midbrain reticular formation in self-injurious behavior, stereotyped behavior, and analgesia induced by intranigral microinjection of muscimol. *Brain Res* 1986;369: 231-42.
- Beaulieu P., Rice ASC. Applied physiology of nociception. In: Rowbotham D.J., Walker SM, Macintyre PE, editors. *Acute pain*. 2 rd Ed. London, Arnold: 3-16. 2008.
- Benjamin WJ. Pain Mechanisms: Anatomy, physiology and neurochemistry. *Pract Pain Manag* 2000;3: 117-45.
- Benowitz Neal L, Jacob P 3rd, and Chin Savanapridi. Determinants of nicotine intake while chewing nicotine polacrilex gum. *Int J Clin Pharmacol Ther* 1987;41: 467-73.
- Benowitz Neal L, and Jacob P. Nicotine renal excretion rate influences nicotine intake during cigarette smoking. *J Pharmacol Exp Ther* 1985;234: 153-55.
- Benowitz NEAL L, Jacob PIII, REESE Jones T, and Rosenberg J. Interindividual variability in the metabolism and cardiovascular effects of nicotine in man. *J Pharmacol Exp Ther* 1982;221: 368-72.
- Benowitz NL. Nicotine patches. *BMJ* 1995;310: 1409-10.
- Berrendero F, Brigitte Kieffer L, and Maldonado R. Attenuation of nicotine-induced antinociception, rewarding effects, and dependence in μ -opioid receptor knock-out mice. *J Neurosci* 2002;22: 10935-40.
- Berrendero F, Mendizábal V, Robledo P, Galeote L, Bilkei-Gorzo A, Zimmer A, and Maldonado R. Nicotine-induced antinociception, rewarding effects, and physical dependence are decreased in mice lacking the preproenkephalin gene. *J Neurosci* 2005;25: 1103-12.
- Bertrand D, and Gopalakrishnan M. Allosteric modulation of nicotinic acetylcholine receptors. *Biochem Pharmacol* 2007;74: 1155-63.
- Grażyna B, Budzyńska B, and Kruk M. Naloxone precipitates nicotine abstinence syndrome and attenuates nicotine-induced antinociception in mice. *J Pharmacol Rep* 2004;57: 755-60.
- Bitner Scott R, Arthur Nikkel L, Curzon P, Stephen Arneric P, Anthony Bannon W, and Michael Decker W. Role of the nucleus raphe magnus in antinociception produced by ABT-594: immediate early gene responses possibly linked to neuronal nicotinic acetylcholine receptors on serotonergic neurons. *J Neurosci* 1998;18: 5426-32.

- Blendy Julie A, Strasser A, Carrie Walters L, Kenneth Perkins A, Patterson F, Berkowitz R, and Lerman C. Reduced nicotine reward in obesity: cross-comparison in human and mouse. *Psychopharmacol* 2005;180: 306-15.
- Block Robert C, Christina Chin WY, Wen-hsien W, and Vlasta Zbuzek K. Nicotene-induced analgesia in rats: The role of calcium and the diversity of responders and nonresponders. *Life Sci* 1993;53: PL195-PL200.
- Boyadjieva Nadka I, and Dipak Sarkar K. The secretory response of hypothalamic β -endorphin neurons to acute and chronic nicotine treatments and following nicotine withdrawal. *Life Sci* 1997;61: A59-A66.
- Broad Lisa M, Felthouse C, Zwart R, Gordon McPhie I, Kathy Pearson H, Peter Craig J, Wallace L, Richard Broadmore J, John Boot R, and Keenan M. PSAB-OFP, a selective $\alpha 7$ nicotinic receptor agonist, is also a potent agonist of the 5-HT 3 receptor. *Eur J Pharmacol* 2002;452: 137-44.
- Cabot Peter J, Carter L, Gaiddon C, Zhang Q, Schäfer M, Philippe Loeffler J, and Stein C. Immune cell-derived beta-endorphin. Production, release, and control of inflammatory pain in rats. *Eur J Clin Invest* 1997;100: 142.
- Cabot Peter J, Carter L, Schäfer M, and Stein C. Methionine-enkephalin-and Dynorphin A-release from immune cells and control of inflammatory pain. *J Pain* 2001;93: 207-12.
- Callaghan B, Haythornthwaite A, Berecki G, Clark RJ, Craik DJ, and Adams DJ. Analgesic α -conotoxins Vc1. 1 and Rg1A inhibit N-type calcium channels in rat sensory neurons via GABAB receptor activation. *J Neurosci* 2008;28: 10943-51.
- Campbell C, and Welch SP. The role of minoxidil on endogenous opioid peptides in the spinal cord: a putative co-agonist relationship between K-ATP openers and opioids. *Eur J Pharmacol* 2001;417: 91-98.
- Campbell C, Emory Taylor R, and Tizabi Y. Antinociceptive effects of alcohol and nicotine: involvement of the opioid system. *Brain Res* 2006;1097: 71-77.
- Carmody John J, Peter Carroll R, and Morgans D. Naloxone increases pain perception in rats and mice. *Life Sci* 1979;24: 1149-52.
- Cepeda-Benito A, Reynoso J, and McDaniel EH. Associative tolerance to nicotine analgesia in the rat: Tail-flick and hot-plate tests. *Exp Clin Psychopharmacol* 1998;6: 248.
- Cervero F, and Laird J. Understanding the signaling and transmission of visceral nociceptive events. *J Neurobiol* 2004;61: 45-54.
- Cervero V, Laird JMA. Visceral pain. *Lancet* 1993;353: 2145-48.

- Childs E, and Wit HD. Effects of acute psychosocial stress on cigarette craving and smoking. *Nicotine Tob Res* 2010;ntp214.
- Christensen AV, and Larsen JJ. Antinociceptive and anticonvulsive effect of THIP, a pure GABA agonist. *Pol J Pharmacol Pharm* 1981;34: 127-34.
- Cordero-Erausquin M, and Jean-Pierre C. Tonic nicotinic modulation of serotonergic transmission in the spinal cord. *Exp Oncol* 2001;98: 2803-07.
- Cordero-Erausquin M, Pons S, Faure P, and Changeux J-P. Nicotine differentially activates inhibitory and excitatory neurons in the dorsal spinal cord. *J Pain* 2004;109: 308-18.
- Corrigall William A, and Coen KM. Dopamine mechanisms play at best a small role in the nicotine discriminative stimulus. *Pharmacol Bio Behav* 1994;48: 817-20.
- Corti C. A history of smoking. Trans: Kessinger Publishing; 2007.
- Cucchiario G, and Commons KG. Alpha 4 nicotinic acetylcholine receptor subunit links cholinergic to brainstem monoaminergic neurotransmission. *Synapse* 2003;49: 195-205.
- Imad DM, Edwin Meyer M, and Billy Martin R. The antinociceptive effects of $\alpha 7$ nicotinic agonists in an acute pain model. *Neuropharmacol* 2000;39: 2785-91.
- Damaj MI, Fei-Yin M, Dukat M, Glassco W, Glennon RA, and Martin BR. Antinociceptive responses to nicotinic acetylcholine receptor ligands after systemic and intrathecal administration in mice. *J Pharmacol Exp Ther* 1998;284: 1058-65.
- Dani John A. Overview of nicotinic receptors and their roles in the central nervous system. *Biol Psychiatry* 2001;49: 166-74.
- Davis L, Pollock LJ, and Stone T. Visceral pain. *J Surg Gynaecol Obstet* 1932;55: 418-27.
- Francis Vincent D. GABA-ergic analgesia—A naloxone-insensitive system. *Pharmacol Res Commun* 1982;14: 383-90.
- Dehkordi O, Millis RM, Dennis GC, Jazini E, Williams C, Hussain D, and Jayam-Trouth A. Expression of alpha-7 and alpha-4 nicotinic acetylcholine receptors by GABAergic neurons of rostral ventral medulla and caudal pons. *Brain Res* 2007;1185: 95-102.
- Desarmenien M, Feltz P, Occhipinti G, Santangelo F, and Schlichter R. Coexistence of GABAA and GABAB receptors on A δ and C primary afferents. *Br J Pharmacol* 1984;81: 327-33.

- Dominiak P, Kees F, and Grobecker H. Changes in peripheral and central catecholaminergic and serotonergic neurons of rats after acute and subacute administration of nicotine. *Klin Wochenschr* 1983;62: 76-80.
- Dubé Gilles R, Kathy Kohlhaas L, Lynne Rueter E, Carol Surowy S, Meyer MD, and Clark Briggs A. Loss of functional neuronal nicotinic receptors in dorsal root ganglion neurons in a rat model of neuropathic pain. *Neurosci Lett* 2005;376: 29-34.
- Dulu Thomas D, Titus Kanui I, Philemon Towett K, Geoffrey Maloiy M, and Klas Abelson SP. The effects of oxotremorine, epibatidine, atropine, mecamlamine and naloxone in the tail-flick, hot-plate, and formalin tests in the naked mole-rat (*Heterocephalus glaber*). *In vivo* 2014;28: 39-48.
- Dunlap K. Functional and pharmacological differences between two types of GABA receptor on embryonic chick sensory neurons. *Neurosci Lett* 1984;47: 265-70.
- Eiden Lee E, Giraud P, Jitendra Dave R, Adair Hotchkiss J, and Affolter H-U. Nicotinic receptor stimulation activates enkephalin release and biosynthesis in adrenal chromaffin cells. *Nat* 1983;312: 661-63.
- Ertekin C. Ağrının nöroanatomi ve nörofizyolojisi. Ağrı ve tedavisi, Yegül İ.(Ed), Yapım Matbaacılık, İzmir: 1993;1-17.
- Färber T, Stratz W, Brückle M, Späth D, Pongratz J, Lautenschläger I, Kötter B, Zöller H, Peter G, Neeck R, Alten W, Müller L. Efficacy and tolerability of tropisetron in primary fibromyalgia-a highly selective and competitive 5-HT₃ receptor antagonist. *Scand J Rheumatol* 2000;29: 49-54.
- Fertig Joanne B, Ovide Pomerleau F, and Sanders B. Nicotine-produced antinociception in minimally deprived smokers and ex-smokers. *Addict Behav* 1986;11: 239-48.
- Flood P, James Sonner M, Diane G, and Kristen Coates M. Isoflurane hyperalgesia is modulated by nicotinic inhibition. *J Anesthesiol* 2002;97: 192-98.
- Følsgård S, Sillesen H, Jacobsen E, and Kehlet H. Analgesic, Respiratory and Endocrine Responses in Normal Man to THIP, a GABA-Agonist. *Acta Anaesthesiol Scand* 1983;27: 10-12.
- Freitas K, Negus SS, Ivy Carroll F, and Damaj MI. In vivo pharmacological interactions between a type II positive allosteric modulator of $\alpha 7$ nicotinic ACh receptors and nicotinic agonists in a murine tonic pain model. *Br J Pharmacol* 2013;169: 567-79.
- Freitas K, Sudeshna G, Ivy Carroll F, Aron Lichtman H, and Imad Damaj M. Effects of alpha 7 positive allosteric modulators in murine inflammatory and chronic neuropathic pain models. *Neuropharmacol* 2013;65: 156-64.

- Freysoldt A, Fleckenstein J, Lang PM, Irnich D, Grafe P, and Carr RW. Low concentrations of amitriptyline inhibit nicotinic receptors in unmyelinated axons of human peripheral nerve. *Br J Pharmacol* 2009;158: 797-805.
- Fromm Gerhard H, Christopher Terrence F, and Amrik Chattha S. Baclofen in the treatment of trigeminal neuralgia: Double-blind study and long-term follow-up. *Ann Neurol* 1984;15: 240-44.
- Fürst S. Transmitters involved in antinociception in the spinal cord. *Brain Res* 1999;48: 129-41.
- Gahring LC, and Rogers SW. Neuronal nicotinic acetylcholine receptor expression and function on nonneuronal cells. *AAPS J* 2005;7: E885–E94.
- Gahring Lorise C, Amber Osborne V, Reed M, and Rogers SW. Research Neuronal nicotinic alpha7 receptors modulate early neutrophil infiltration to sites of skin inflammation. 2010.
- Galeote L, Brigitte Kieffer L, Maldonado R, and Berrendero F. Mu-opioid receptors are involved in the tolerance to nicotine antinociception. *J Neurochem* 2006;97: 416-23.
- Gao B, Hierl M, Clarkin K, Juan T, Nguyen H, Van der Valk M, Deng H, Guo W, Lehto SG, and Matson D. Pharmacological effects of nonselective and subtype-selective nicotinic acetylcholine receptor agonists in animal models of persistent pain. *J Pain* 2010;149: 33-49.
- Garraffo HM, Spande TF, and Williams M. Epibatidine: from frog alkaloid to analgesic clinical candidates. A Testimonial to true grit. *Heterocycles* 2009;79: 207-17.
- Genzen Jonathan R, and McGehee DS. Short-and long-term enhancement of excitatory transmission in the spinal cord dorsal horn by nicotinic acetylcholine receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100: 6807-12.
- Nicotinic modulation of GABAergic synaptic transmission in the spinal cord dorsal horn. *Brain Res* 2005;1031: 229-37.
- Genzen Jonathan R, Van Cleve W, and McGehee DS. Dorsal root ganglion neurons express multiple nicotinic acetylcholine receptor subtypes. *J Neurophysiol* 2001;86: 1773-82.
- Gerdle B, Jonas B, Henriksson C, and Bengtsson A. Prevalence of current and chronic pain and their influences upon work and healthcare-seeking: a population study. *J Rheumatol* 2004;31: 1399-406.
- Gerzanich V, Fan W, Kuryatov A, and Lindstrom J. $\alpha 5$ subunit alters desensitization, pharmacology, Ca^{++} permeability and Ca^{++} modulation of human neuronal $\alpha 3$ nicotinic receptors. *J Pharmacol* 1998;286: 311-20.

- Ghelardini C, Nicoletta G, Barlocco D, and Bartolini A. Antinociceptive profile of the new nicotinic agonist DBO-83. *Drug Dev Res* 1997;40: 251-58.
- Ginawi OT. Morphine analgesia in normal and alloxanized mice. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1991;318: 13-20.
- Girdler Susan S, Maixner W, Naftel HA, Stewart PW, Rebecca Moretz L, and Kathleen Light C. Cigarette smoking, stress-induced analgesia and pain perception in men and women. *J Pain* 2005;114: 372-85.
- Godínez-Chaparro B, López-Santillán FJ, Orduna P, and Granados-Soto V. Secondary mechanical allodynia and hyperalgesia depend on descending facilitation mediated by spinal 5-HT 4, 5-HT 6 and 5-HT 7 receptors. *Neurosci* 2012;222: 379-91.
- Gordon Debra B, June Dahl L, Miaskowski C, McCarberg B, Knox Todd H, Judith Paice A, Arthur Lipman G, Bookbinder M, Steve Sanders H, and Dennis Turk C. American pain society recommendations for improving the quality of acute and cancer pain management: *J Pain* 2005;165: 1574-80.
- Gotti C, Zoli M, and Clementi F. Brain nicotinic acetylcholine receptors: native subtypes and their relevance. *Trends Pharmacol Sci* 2006;27: 482-91.
- Gourlay Steven G, and Neal Benowitz L. Arteriovenous differences in plasma concentration of nicotine and catecholamines and related cardiovascular effects after smoking, nicotine nasal spray, and intravenous nicotine. *Clin Pharmacol Ther* 1997;62: 453-63.
- Grupe M, Anders Jensen A, Ahring PK, Jeppe Christensen K, and Grunnet M. Unravelling the mechanism of action of NS9283, a positive allosteric modulator of (α 4) 3 (β 2) 2 nicotinic ACh receptors. *Br J Pharmacol* 2013;168: 2000-10.
- Gudehithlu KP, Duchemin A-M, Gopi Tejwani A, Herbert Neff N, and Hadjiconstantinou M. Nicotine-induced changes of brain β -endorphin. *Neuropeptides* 2012;46: 125-31.
- Guimara Ana Paula C, and Prado WA. Antinociceptive effects of carbachol microinjected into different portions of the mesencephalic periaqueductal gray matter of the rat. *Brain Res* 1994;647: 220-30.
- Gurun Mine S, Renee P, Eisenach JC, and Vincler M. The effect of peripherally administered CDP-choline in an acute inflammatory pain model: the role of α 7 nicotinic acetylcholine receptor. *Anesth Analg* 2009;108: 1680-87.
- Haass M, and Wolfgang K. Nicotine and sympathetic neurotransmission. *Cardiovasc Drugs Ther* 1997;10: 657-65.

- Hama Aldric T, Kenneth Lloyd G, and Menzaghi F. The antinociceptive effect of intrathecal administration of epibatidine with clonidine or neostigmine in the formalin test in rats. *J Pain* 2001;91: 131-38.
- Hamann Scott R, and Martin WR. Opioid and nicotinic analgesic and hyperalgesic loci in the rat brain stem. *J Pharmacol* 1992;261: 707-15.
- Hammond Donna L, and Drower EJ. Effects of intrathecally administered THIP, baclofen and muscimol on nociceptive threshold. *Eur J Pharmacol* 1984;103: 121-25.
- Hamurtekin E, Bagdas D, and Gurun MS. Possible involvement of supraspinal opioid and GABA receptors in CDP-choline-induced antinociception in acute pain models in rats. *Neurosci Lett* 2007;420: 116-21.
- Hamurtekin E, and Gurun MS. The antinociceptive effects of centrally administered CDP-choline on acute pain models in rats: the involvement of cholinergic system. *Brain Res* 2006;1117: 92-100.
- Ki-Jung H, Choi S, Lee J-Y, Lee H-K, Shim E-J, Kwon M-S, Seo Y-J, and Suh H-W. Antinociceptive effect of nicotine in various pain models in the mouse. *Arch Pharm Res* 2005;28: 209-15.
- Henningfield Jack E, Miyasato K, and Jasinski DR. Abuse liability and pharmacodynamic characteristics of intravenous and inhaled nicotine. *J Pharmacol* 1985;234: 1-12.
- Hill Ronald C, Maurer R, Buescher H, and Roemer D. Analgesic properties of the GABA-minetic THIP. *Eur J Pharmacol* 1981;69: 221-24.
- Holladay Mark W, James Wasicak T, Lin N-H, He Y, Keith Ryther B, Anthony Bannon W, Michael Buckley J, David Kim JB, Michael Decker W, and David Anderson J. Identification and initial structure-activity relationships of (R)-5-(2-azetidylmethoxy)-2-chloropyridine (ABT-594), a potent, orally active, non-opiate analgesic agent acting via neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *J Med Chem* 1998;41: 407-12.
- Houdi Abdulghani A, Pierzchala K, Marson L, Palkovits M, and Glen Van Loon R. Nicotine-induced alteration in Tyr-Gly-Gly and Met-enkephalin in discrete brain nuclei reflects altered enkephalin neuron activity. *Peptides* 1991;12: 161-66.
- Hölzl R, Möltner A, Claus Neidig W, and Erasmus L-P. Somatovisceral interactions in visceral perception: abdominal masking of colonic stimuli. *Integr Physiol Behav Sci* 1998;33: 264-79.
- Hudspith MJ, Siddall PJ, Munglani R, Hemmings HC. In: Hemmings HC, Hopkins PM. *Foundations of Anesthesia*. *Physiol Pain* 2006;267-85.

- Hughes John R, Steven Gust W, Skoog K, Robert Keenan M, and James Fenwick W. Symptoms of tobacco withdrawal: a replication and extension. *Arch Gen Psychiatry* 1991;48: 52.
- Ishii K, Jamie Wong K, and Sumikawa K. Comparison of $\alpha 2$ nicotinic acetylcholine receptor subunit mRNA expression in the central nervous system of rats and mice. *J Comp Neurol* 2005;493: 241-60.
- Isola R, Zhang H, Gopi Tejwani A, Norton Neff H, and Hadjiconstantinou M. Acute nicotine changes dynorphin and prodynorphin mRNA in the striatum. *Psychopharmacol* 2009;201: 507-16.
- Iwamoto ET, and Marion L. Adrenergic, serotonergic and cholinergic components of nicotinic antinociception in rats. *J Pharmacol* 1993;265: 777-89.
- Jackson Kia J, Marks MJ, Vann RE, Chen X, Gamage TF, Warner JA, and Imad Damaj M. Role of $\alpha 5$ nicotinic acetylcholine receptors in pharmacological and behavioral effects of nicotine in mice. *J Pharmacol* 2010;334: 137-46.
- Jackson Kia J, Sarah Sanjakdar S, Pretal Muldoon P, Michael McIntosh J, and Imad Damaj M. The $\alpha 3\beta 4^*$ nicotinic acetylcholine receptor subtype mediates nicotine reward and physical nicotine withdrawal signs independently of the $\alpha 5$ subunit in the mouse. *Neuropharmacol* 2013;70: 228-35.
- Jensen Anders A, Frølund B, Liljefors T, and Krosgaard-Larsen P. Neuronal nicotinic acetylcholine receptors: structural revelations, target identifications, and therapeutic inspirations. *J Med Chem* 2005;48: 4705-45.
- Ji J, Bunnelle WH, Anderson DJ, Faltynek C, Dyhring T, Ahring PK, Rueter LE, Curzon P, Buckley MJ, and Marsh KC. A-366833: a novel nicotinonitrile-substituted 3, 6-diazabicyclo [3.2. 0]-heptane $\alpha 4\beta 2$ nicotinic acetylcholine receptor selective agonist: Synthesis, analgesic efficacy and tolerability profile in animal models. *Biochem Pharmacol* 2007;74: 1253-62.
- Jurna I, Krauss P, and Baldauf J. Depression by nicotine of pain-related nociceptive activity in the rat thalamus and spinal cord. *Clin Investig* 1993;72: 65-73.
- Kandel Eric R. From nerve cells to cognition: The internal cellular representation required for perception and action. *Prin Neurol Sci* 2000;1: 381-403.
- Kayhan Z. *Klinik Anestezi*. 2. Baskı İstanbul: Logos Yayıncılık: 1997;759-87.
- Kendall DA, Browner M, and Enna SJ. Comparison of the antinociceptive effect of gamma-aminobutyric acid (GABA) agonists: evidence for a cholinergic involvement. *J Pharmacol* 1982;220: 482-87.
- Kesingland AC, Gentry CT, Panesar MS, Bowes MA, Vernier J-M, Cube R, Walker K, and Urban L. Analgesic profile of the nicotinic acetylcholine receptor

- agonists,(+)-epibatidine and ABT-594 in models of persistent inflammatory and neuropathic pain. *J Pain* 2000;86: 113-18.
- Khan Imran M, Buerkle H, Taylor P, and Yaksh TL. Nociceptive and antinociceptive responses to intrathecally administered nicotinic agonists. *Neuropharmacol* 1998;37: 1515-25.
- Kiguchi N, Kobayashi Y, Maeda T, Tominaga S, Nakamura J, Fukazawa Y, Ozaki M, and Kishioka S. Activation of nicotinic acetylcholine receptors on bone marrow-derived cells relieves neuropathic pain accompanied by peripheral neuroinflammation. *Neurochem Int* 2012;61: 1212-19.
- Kiguchi N, Maeda T, Kobayashi Y, Saika F, and Kishioka S. Involvement of inflammatory mediators in neuropathic pain caused by vincristine. *Int Rev Neurobiol* 2009;85: 179-90.
- Kiguchi N, Maeda T, Tsuruga M, Yamamoto A, Yamamoto C, Ozaki M, and Kishioka S. Involvement of spinal Met-enkephalin in nicotine-induced antinociception in mice. *Brain Res* 2008;1189: 70-77.
- Kishioka S, Nishida S, Fukunaga Y, and Yamamoto H. Quantitative properties of plasma corticosterone elevation induced by naloxone-precipitated withdrawal in morphine-dependent rats. *Jpn J Pharmacol* 1994;66: 257-63.
- Kiyosawa A, Katsurabayashi S, Akaike N, Ping Pang Z, and Akaike N. Nicotine facilitates glycine release in the rat spinal dorsal horn. *J Physiol* 2001;536: 101-10.
- Kjaer M, and Nielsen H. The analgesic effect of the GABA-agonist THIP in patients with chronic pain of malignant origin. A phase-1-2 study. *Br J Clin Pharmacol* 1983;16: 477-85.
- Kottke Thomas E, Brekke ML, Solberg LI, and Hughes JR. A randomized trial to increase smoking intervention by physicians: Doctors Helping Smokers, Round I. *Jama*. 1989;261: 2101-06.
- Kuriyama K, and Yoneda Y. Morphine induced alterations of γ -aminobutyric acid and taurine contents and l-glutamate decarboxylase activity in rat spinal cord and thalamus: Possible correlates with analgesic action of morphine. *Brain Res* 1978;148: 163-79.
- Labuz D, Schmidt Y, Schreiter A, Rittner HL, Mousa SA, and Machelska H. Immune cell-derived opioids protect against neuropathic pain in mice. *J Clin Invest* 2009;119: 278-86.
- Lanas A, and Diwan V. Targeting peripheral opioid receptors to promote analgesic and anti-inflammatory actions. 2013.

- Lang Philip M, Burgstahler R, Sippel W, Irnich D, Schlotter-Weigel B, and Grafe P. Characterization of neuronal nicotinic acetylcholine receptors in the membrane of unmyelinated human C-fiber axons by in vitro studies. *J Neurophysiol* 2003;90: 3295-303.
- Laulin J-P, Maurette P, Corcuff J-B, Rivat C, Chauvin M, and Simonnet G. The role of ketamine in preventing fentanyl-induced hyperalgesia and subsequent acute morphine tolerance. *Anesth Analg* 2002;94: 1263-69.
- Law P-Y, and Horace Loh H. Regulation of opioid receptor activities. *J Pharmacol* 1999;289: 607-24.
- Lee C-H, Zhu C, Malysz J, Campbell T, Shaughnessy T, Honore P, Polakowski J, and Gopalakrishnan M. $\alpha 4\beta 2$ neuronal nicotinic receptor positive allosteric modulation: an approach for improving the therapeutic index of $\alpha 4\beta 2$ nAChR agonists in pain. *Biochem Pharmacol* 2011;82: 959-66.
- Levy Richard A, and Herbert Proudfit K. The analgesic action of baclofen [beta-(4-chlorophenyl)-gamma-aminobutyric acid]. *J Pharmacol* 1977;202: 437-45.
- Liebman Jeffrey M, and Pastor G. Antinociceptive effects of baclofen and muscimol upon intraventricular administration. *Eur J Pharmacol* 1980;61: 225-30.
- Lips KS, Pfeil U, and Kummer W. Coexpression of $\alpha 9$ and $\alpha 10$ nicotinic acetylcholine receptors in rat dorsal root ganglion neurons. *Neurosci* 2002;115: 1-5.
- Lloyd Kenneth G, Arbilla S, Beaumont K, Briley M, De Montis G, Scatton B, Langer SZ, and Bartholini G. Gamma-Aminobutyric acid (GABA) receptor stimulation. II. Specificity of progabide (SL 76002) and SL 75102 for the GABA receptor. *J Pharmacol* 1982;220: 672-77.
- Loeser John D, and Melzack R. Pain: an overview. *The Lancet* 1999;353: 1607-09.
- Lutfy K, Maria Brown C, Nerio N, Aimiwu O, Tran B, Anghel A, and Theodore Friedman C. Repeated stress alters the ability of nicotine to activate the hypothalamic–pituitary–adrenal axis. *J Neurochem* 2006;99: 1321-27.
- Lynch James J, Carrie Wade L, Joseph Mikusa P, Michael Decker W, and Honore P. ABT-594 (a nicotinic acetylcholine agonist): anti-allodynia in a rat chemotherapy-induced pain model. *Eur J Pharmacol* 2005;509: 43-48.
- Machelska H, and Stein C. Pain Control by Immune-Derived Opioids. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2000;27: 533-36.
- Macor John E, Gurley D, Lanthorn T, Loch J, Robert Mack A, Mullen G, Tran O, Wright N, and John Gordon C. The 5-HT 3 antagonist tropisetron (ICS 205-930) is a potent and selective $\alpha 7$ nicotinic receptor partial agonist. *Bioorg Med Chem Lett* 2001;11: 319-21.

- Maeda T, and Kishioka S. Chapter 13 PPAR and pain. *Int Rev Neurobiol* 2009;85: 165-77.
- Maeda T, Kiguchi N, Kobayashi Y, Ikuta T, Ozaki M, and Kishioka S. Leptin derived from adipocytes in injured peripheral nerves facilitates development of neuropathic pain via macrophage stimulation. *Proc Natl Acad Sci* 2009;106: 13076-81.
- Malin David H. Nicotine dependence: studies with a laboratory model. *Pharmacol Bio Behav* 2001;70: 551-59.
- Malin David H, Ronald Lake J, Victoria Carter A, Scott Cunningham J, and Owen Wilson B. Naloxone precipitates nicotine abstinence syndrome in the rat. *Psychopharmacol* 1993;112: 339-42.
- Mannelli Lorenzo DC, Zanardelli M, and Ghelardini C. Nicotine is a pain reliever in trauma-and chemotherapy-induced neuropathy models. *Eur J Pharmacol* 2013;711: 87-94.
- Mansour A, Charles Fox A, Akil H, and Stanley Watson J. Opioid-receptor mRNA expression in the rat CNS: anatomical and functional implications. *Trends Neurosci* 1995;18: 22-29.
- Martin F, Luisa Laorden M, and Milanés M. Morphine withdrawal regulates phosphorylation of cAMP response element binding protein (CREB) through PKC in the nucleus tractus solitarius-A2 catecholaminergic neurons. *J Neurochem* 2009;110: 1422-32.
- Marubio Lisa M, Del Mar Arroyo-Jimenez M, Cordero-Erausquin M, Léna C, Le Novère N, De Kerchove d'Exaerde A, Huchet M, Imad Damaj M, and Changeux J-P. Reduced antinociception in mice lacking neuronal nicotinic receptor subunits. *Nature* 1999;398: 805-10.
- Matsumoto M, Xie W, Inoue M, and Ueda H. Evidence for the tonic inhibition of spinal pain by nicotinic cholinergic transmission through primary afferents. *Mol Pain* 2007;3:1.
- Matthews EA, Dickenson AH. Pain pharmacology. In: Dolin SJ, Padfield NL, editors. *Pain medicine manual*. 2 rd Ed. Edinburg, Butterworth-Heinemann: 2004;21-28.
- McNabb McKENDREE E. Chewing nicotine gum for 3 months: what happens to plasma nicotine levels? *Can Med Assoc J* 1984;131: 589.
- Mellon Daniel R, and Barbara Bayer M. The effects of morphine, nicotine and epibatidine on lymphocyte activity and hypothalamic-pituitary-adrenal axis responses. *J Pharmacol* 1999;288: 635-42.

- Molinero MT, and Del Rio J. Substance P, nicotinic acetylcholine receptors and antinociception in the rat. *Neuropharmacol* 1987;26: 1715-20.
- Bowery NG. Baclofen: 10 years on. *Trends Pharmacol Sci* 1982;3: 400-03.
- Nakamura M, and Sergio Ferreira H. Peripheral analgesic action of clonidine: mediation by release of endogenous enkephalin-like substances. *Eur J Pharmacol* 1988;146: 223-28.
- Nakamura M, and Sung Jang I. Presynaptic nicotinic acetylcholine receptors enhance GABAergic synaptic transmission in rat periaqueductal gray neurons. *Eur J Pharmacol* 2010;640: 178-84.
- Ness TJ, and Gebhart GF. Colorectal distension as a noxious visceral stimulus: physiologic and pharmacologic characterization of pseudoaffective reflexes in the rat. *Brain Res* 1988;450: 153-69.
- Newberry NR, and Nicoll RA. Comparison of the action of baclofen with gamma-aminobutyric acid on rat hippocampal pyramidal cells in vitro. *The Journal of physiology* 1985;360: 161.
- Nicotine for Postoperative Analgesia: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Acta Anaesthesiol Scand* 2015 Jan;59: 115-22.
- Nirogi R, Jayarajan P, Abraham R, Shanmuganathan D, Abdul Rasheed M, Kumar Royapalley P, and Goura V. Antinociceptive activity of $\alpha 4\beta 2^*$ neuronal nicotinic receptor agonist A-366833 in experimental models of neuropathic and inflammatory pain. *Eur J Pharmacol* 2011;668: 155-62.
- O'Callaghan James P, and Stephen Holtzman G. Quantification of the analgesic activity of narcotic antagonists by a modified hot-plate procedure. *J Pharmacol* 1975;192: 497-505.
- Oatway Mark A, Chen Y, and Lynne Weaver C. The 5-HT₃ receptor facilitates at-level mechanical allodynia following spinal cord injury. *J Pain* 2004;110: 259-68.
- Osborne-Hereford Amber V, Rogers SW, and Gahring LC. Neuronal nicotinic $\alpha 7$ receptors modulate inflammatory cytokine production in the skin following ultraviolet radiation. *J Neuroimmunol* 2008;193: 130-39.
- Patestas MA, and Gartner LP. Ascending sensory pathways. *A Textbook of Neuroanatomy* 2006;118-33.
- Peng H, Ferris RL, Matthews T, Hiel H, Lopez-Albaitero A, and Lustig LR. Characterization of the human nicotinic acetylcholine receptor subunit alpha (α) 9 (CHRNA9) and alpha (α) 10 (CHRNA10) in lymphocytes. *Life Sci* 2004;76: 263-80.

- Pinto O, De S, Polikar M, and Debono G. Results of international clinical trials with Lioresal. *Postgrad Med J* 1972; 48Suppl 5: 18-23.
- Pomerleau Ovide F, Dennis Turk C, and Joanne Fertig B. The effects of cigarette smoking on pain and anxiety. *Addict Behav* 1984;9: 265-71.
- Porchet Heave C, Benowitz NL, and Sheiner LB. Pharmacodynamic model of tolerance: application to nicotine. *J Pharmacol* 1988;244: 231-36.
- Porreca F, Shannon Burgess E, Luis Gardell R, Todd Vanderah W, Philip Malan T, Michael Ossipov H, Douglas Lappi A, and Lai J. Inhibition of neuropathic pain by selective ablation of brainstem medullary cells expressing the μ -opioid receptor. *J Neurosci* 2001;21: 5281-88.
- Raj PP. Visceral pain. *Agri: Agri (Algoloji) Dernegi'nin Yayin organidir.* *Agri* 2004;16: 7-20.
- Ramabadran K, Bansinath M, Turndorf H, and Puig MM. The hyperalgesic effect of naloxone is attenuated in streptozotocin-diabetic mice. *Psychopharmacol* 1989;97: 169-74.
- Ramirez-Latorre J, Yu CR, Qu X, Perin F, Karlin A, and Role L. Functional contributions of $\alpha 5$ subunit to neuronal acetylcholine receptor channels. 1996.
- Rashid Harunor Md, Furue H, Yoshimura M, and Ueda H. Tonic inhibitory role of $\alpha 4\beta 2$ subtype of nicotinic acetylcholine receptors on nociceptive transmission in the spinal cord in mice. *J Pain* 2006;125: 125-35.
- Rashid Harunor Md, and Ueda H. Neuropathy-specific analgesic action of intrathecal nicotinic agonists and its spinal GABA-mediated mechanism. *Brain Res* 2002;953: 53-62.
- Rau Kristofer K, Johnson RD, and Cooper BY. Nicotinic AChR in subclassified capsaicin-sensitive and-insensitive nociceptors of the rat DRG. *J Neurophysiol* 2005;93: 1358-71.
- Retz KC, and Holaday L. Microinjection of THIP, a GABAergic agonist, into the ventrolateral periaqueductal gray matter of the rat: Effects on analgesia. In *Soc Neurosci Abstr* 1984;107.
- Rittner Heike L, Brack A, Machelska H, Mousa SA, Bauer M, Schäfer M, and Stein C. Opioid Peptide-expressing Leukocytes Identification, Recruitment, and Simultaneously Increasing Inhibition of Inflammatory Pain. *Am J Physiol* 2001;95: 500-08.
- Rogers Dennis T, and Iwamoto ET. Multiple spinal mediators in parenteral nicotine-induced antinociception. *J Pharmacol* 1993;267: 341-49.

- Romandini S, and Samanin R. Muscimol injections in the nucleus raphé dorsalis block the antinociceptive effect of morphine in rats: apparent lack of 5-hydroxytryptamine involvement in muscimol's effect. *Br J Pharmacol* 1984;81: 25-29.
- Rowbotham MC, Duan WR, Thomas J, Nothhaft W, and Backonja MM. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial evaluating the efficacy and safety of ABT-594 in patients with diabetic peripheral neuropathic pain. *J Pain* 2009;146: 245-52.
- Rowley TJ, McKinstry A, Greenidge E, Smith W, and Flood P. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of choline in a mouse model of postoperative pain. *Br J Anaesth* 2010;105: 201-7.
- Rowley Thomas J, Payappilly J, Lu J, and Flood P. The antinociceptive response to nicotinic agonists in a mouse model of postoperative pain. *Anesth Analg* 2008;107: 1052-57.
- Rueter Lynne E, Kathy Kohlhaas L, Curzon P, Surowy CS, and Meyer MD. Peripheral and central sites of action for A-85380 in the spinal nerve ligation model of neuropathic pain. *J Pain* 2003;103: 269-76.
- Rupniak NMJ, Patel S, Marwood R, Webb J, Traynor JR, Elliott J, Freedman SB, Fletcher SR, and Hill RG. Antinociceptive and toxic effects of (+)-epibatidine oxalate attributable to nicotinic agonist activity. *Br J Pharmacol* 1994;113: 1487-93.
- Erdine S. Ağrı sendromları ve tedavisi. 2. Baskı. İstanbul, Gizben matbaacılık: 2003;33-43.
- Cross SA. Pathophysiology of Pain. *Mayo Clin Proc* 1994;69: 375-83.
- Sahley Tony L, and Gary Berntson G. Antinociceptive effects of central and systemic administrations of nicotine in the rat. *Psychopharmacol* 1979;65: 279-83.
- Sawynok J, and Dickson C. Involvement of GABA in the antinociceptive effect of γ -acetylenic GABA (GAG), an inhibitor of GABA-transaminase. *Gen Pharmacol* 1983;14: 603-07.
- Sawynok J, and LaBella FS. On the involvement of GABA in the analgesia produced by baclofen, muscimol and morphine. *Neuropharmacol* 1982;21: 397-403.
- Sawynok J. GABAergic mechanisms in antinociception. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 1984;8: 581-86.
- Schäfer M, Carter L, and Stein C. Interleukin 1 beta and corticotropin-releasing factor inhibit pain by releasing opioids from immune cells in inflamed tissue. *Proc Natl Acad Sci* 1994;91: 4219-23.

- Schofield P, Drago R. The anatomy and physiology of pain. *Beyond pain*: 1-25.
Sendikası, İlaç Endüstrisi İşverenleri. 2001. Endüstrinin 2000 yılı verileri, İEİS Aylık Rapor: 2005;20-1.
- Serpell Mick G, Makin A, and Harvey A. Acute pain physiology and pharmacological targets: the present and future. *Acute pain* 1998;1: 31-47.
- Serra J. Overview of neuropathic pain syndromes. *Acta Neurol Scand* 1999;100: 7-11.
- Sivam SP, and Ho IK. GABAergic drugs, morphine and morphine tolerance: a study in relation to nociception and gastrointestinal transit in mice. *Neuropharmacol* 1983;22: 767-74.
- GABA in morphine analgesia and tolerance. *Life Sci* 1985;37: 199-208.
- Sivam Subbiah P, Nabeshima T, and Ing Ho K. An analysis of GABA receptor changes in the discrete regions of mouse brain after acute and chronic treatments with morphine. *J Neurochem* 1982;39: 933-39.
- Smith Jeffrey S, Abigail Schindler G, Martinelli E, Gustin RM, Bruchas MR, and Chavkin C. Stress-induced activation of the dynorphin/ κ -opioid receptor system in the amygdala potentiates nicotine conditioned place preference. *J Neurosci* 2012;32: 1488-95.
- Spande Thomas F, Martin Garraffo H, Edwards MW, Herman Yeh JC, Pannell L, and Daly JW. Epibatidine: a novel (chloropyridyl) azabicycloheptane with potent analgesic activity from an Ecuadoran poison frog. *J Am Chem Soc* 1992;114: 3475-78.
- Spaulding Theodore C, Little J, McCormack K, and Fielding S. The antinociceptive effects of GABA agonists and antagonists in mice. *Brain Res* 1979;4: 711.
- Sullivan James P, Decker MW, Brioni JD, Donnelly-Roberts D, Anderson DJ, Bannon AW, Kang C-H, Adams P, Piattoni-Kaplan M, and Buckley MJ. (+/-)-Epibatidine elicits a diversity of in vitro and in vivo effects mediated by nicotinic acetylcholine receptors. *J Pharmacol* 1994;271: 624-31.
- Sullivan JP, Briggs CA, Donnelly-Roberts D, Brioni JD, Radek RJ, McKenna DG, Campbell JE, Arneric JSP, Decker MW, and Bannon AW. Epibatidine can differentially evoke responses mediated by putative subtypes of nicotinic acetylcholine receptors (nAChRs). *Med Chem Res* 1994;4: 502-16.
- Suzuki R, Morcuende S, Webber M, Stephen Hunt P, and Dickenson AH. Superficial NK1-expressing neurons control spinal excitability through activation of descending pathways. *Nat Neurosci* 2002;5: 1319-26.
- Takeda D, Nakatsuka T, Papke R, and Gu JG. Modulation of inhibitory synaptic activity by a non- $\alpha 4\beta 2$, non- $\alpha 7$ subtype of nicotinic receptors in the substantia gelatinosa of adult rat spinal cord. *J Pain* 2003;101: 13-23.

- Treatments. Part I: Pain types & chronic pain classification. Acpa consumer guide to pain medication and. 1 rd Ed. Rocklin. J Am Chronic Pain 2011;9-10.
- Tripathi HL, Martin BR, and Aceto MD. Nicotine-induced antinociception in rats and mice: correlation with nicotine brain levels. J Pharmacol 1982;221: 91-96.
- Ueda M, Iida Y, Tominaga A, Yoneyama T, Ogawa M, Magata Y, Nishimura H, Kuge Y, and Saji H. Nicotinic acetylcholine receptors expressed in the ventralposterolateral thalamic nucleus play an important role in anti-allodynic effects. Br J Pharmacol 2010;159: 1201-10.
- Ueno K, Kiguchi N, Kobayashi Y, Saika F, Wakida N, Yamamoto C, Maeda T, Ozaki M, and Kishioka S. Possible involvement of endogenous opioid system located downstream of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor in mice with physical dependence on nicotine. J Pharmacol Sci 2014;124: 47-53.
- Ueno K, Maeda T, Kiguchi N, Kobayashi Y, Ozaki M, and Kishioka S. Availability of serum corticosterone level for quantitative evaluation of morphine withdrawal in mice. Drug Discov Ther 2011;5: 71-75.
- Vaught JL, Pelley K, Costa LG, Setler P, and Enna SJ. A comparison of the antinociceptive responses to the GABA-receptor agonists THIP and baclofen. Neuropharmacol 1985;24: 211-16.
- Vincler Michelle A, and Eisenach JC. Knock down of the $\alpha 5$ nicotinic acetylcholine receptor in spinal nerve-ligated rats alleviates mechanical allodynia. Pharmacol Bio Behav 2005;80: 135-43.
- Vincler M, Wittenauer S, Parker R, Ellison M, Olivera BM, and McIntosh J M. Molecular mechanism for analgesia involving specific antagonism of $\alpha 9\alpha 10$ nicotinic acetylcholine receptors. Proc Natl Acad Sci 2006;103: 17880-84.
- Walsh K, Elliott JC, Shmulewitz D, Aharonovich E, Strous R, Frisch A, Weizman A, Spivak B, Grant BF, and Hasin D. Trauma exposure, posttraumatic stress disorder and risk for alcohol, nicotine, and marijuana dependence in Israel. Compr Psychiatry 2014;55: 621-30.
- Wang F, Gerzanich V, Wells GB, Anand R, Peng X, Keyser K, and Lindstrom J. Assembly of human neuronal nicotinic receptor $\alpha 5$ subunits with $\alpha 3$, $\beta 2$, and $\beta 4$ subunits. J Biol Chem 1996;271: 17656-65.
- Wang H, Yu M, Ochani M, Ann Amella C, Tanovic M, Susarla S, Hua Li J, Wang H, Yang H, and Ulloa L. Nicotinic acetylcholine receptor $\alpha 7$ subunit is an essential regulator of inflammation. Nature 2003;421: 384-88.
- Wang Q, Mao L, and Han J. Characterization of inhibition of spinal nociceptive reflex by stimulation of the arcuate nucleus of the hypothalamus in the pentobarbital-anesthetized rat. J Pain 1990;41: 101-08.

- Wang Y, Su D-M, Wang R-H, Liu Y, and Wang H. Antinociceptive effects of choline against acute and inflammatory pain. *Neurosci* 2005;132: 49-56.
- Wewers Mary E, Dhatt RK, Snively TA, and Tejwani GA. The effect of chronic administration of nicotine on antinociception, opioid receptor binding and met-enkephalin levels in rats. *Brain Res* 1999;822: 107-13.
- Wonnacott S. Presynaptic nicotinic ACh receptors. *Trends Neurosci* 1997;20: 92-98.
- Ipek Y, Charlet A, Cordero-Erausquin M, Tessier L-H, Picciotto MR, Schlichter R, Poisbeau P, Freund-Mercier M-J, and Barrot M. Nociceptive thresholds are controlled through spinal β 2-subunit-containing nicotinic acetylcholine receptors. *J Pain* 2011;152: 2131-37.
- Yamamoto A, Kiguchi N, Kobayashi Y, Maeda T, Ueno K, Yamamoto C, and Kishioka S. Pharmacological relationship between nicotinic and opioid systems in analgesia and corticosterone elevation. *Life sciences* 2011;89: 956-61.
- Young RR, and Delwaide PJ. Drug therapy: spasticity (second of two parts). *N Engl J Med* 1981;304: 96-99.
- Kayhan Z. 'Klinik Anestezi. 2.Baskı. İstanbul, Logos Yayıncılık.: 1997;759-87.
- Zambotti F, Zonta N, Parenti M, Tommasi R, Vicentini L, Conci F, and Mantegazza P. Periaqueductal gray matter involvement in the muscimol-induced decrease of morphine antinociception. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1982;318: 368-69.
- Zarrindast M-R, Khoshayand M-R, and Shafaghi B. The development of cross-tolerance between morphine and nicotine in mice. *European Neuropsychopharmacol* 1999;9: 227-33.
- Zarrindast M-R, Pazouki M, and Nassiri-Rad S. Involvement of Cholinergic and Opioid Receptor Mechanisms in Nicotine-Induced Antinociception. *Pharmacol Toxicol* 1997;81: 209-13.
- Zevin S, Jacob P, and Benowitz N. Cotinine effects on nicotine metabolism. *Clin Pharmacol Ther* 1997;61: 649-54.
- Zhu Chang Z, Chin C-L, Rustay NR, Zhong C, Mikusa J, Chandran P, Salyers A, Gomez E, Simler G, and Geisha Lewis L. Potentiation of analgesic efficacy but not side effects: co-administration of an $\alpha 4\beta 2$ neuronal nicotinic acetylcholine receptor agonist and its positive allosteric modulator in experimental models of pain in rats. *Biochem Pharmacol* 2011;82: 967-76.
- Zonta N, Zambotti F, Vicentini L, Tammiso R, and Mantegazza P. Effects of some GABA-mimetic drugs on the antinociceptive activity of morphine and β -endorphin in rats. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1981;316: 231-34.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Hakan BALCI

Doğum Yeri: Samsun

Doğum Tarihi: 25.11.1988

Medeni Hali: Bekar

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl):

- Samsun 100. Yıl Lisesi 2002-2005
- Samsun Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü 2007-2011
- Samsun Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Bilimsel Hazırlık Programı 2011-2012
- Samsun Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans 2012-2016

E-posta: hbalci88@gmail.com