

ÇEŞİTLİ ANTİHİSTAMİNİKLER VE MORFİNİN ANALJEZİK ETKİLERİNDE ENDOJEN NO'İN ROLÜ

Ecz. Rüya Özmen



Kızım Deran'a

Yüksek lisans öğrenim döneminde bana katkıları olan Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Sayın İlker KANZIK'a,

Yüksek lisans tez çalışmam süresince büyük yardım ve desteğini gördüğüm tez danışmanın Prof. Dr. Sayın Nurettin ABACIOĞU'na,

Tez çalışmalarımın düzelenmesi ve sürdürülmesinde yardım ve desteğini gördüğüm Doç. Dr. Sayın İclal ÇAKICI'ya,

Çalışmalarıma katkı veren Uzm. Ecz. Sayın Bahar TUNÇTAN'a ve Ecz. Sayın Meltem SARIAHMETOĞLU'na teşekkür ederim.



İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
I. GİRİŞ VE AMAÇ	1
. GENEL BİLGİLER	2
II. 1. AĞRI	2
11.1.1. Ağrı Algılama Teorileri	2
a) Spesifite Teorisi	2
b) Kalıp Teorisi	3
c) Kapı Kontrol Teorisi	3
11.1.2. Ağrı Yolakları ve iletimi	3
II. 1.2.1. Periferik Nöronal Mekanizmalar	3
a) Periferik Sinir Lifleri	3
b) Nosisseptörler ve Uyaran Endojen Kimyasal Maddeler	4
c) Periferik Analjezik Mekanizmalar.....	6
II. 1.2.2. Santral Mekanizmalar.....	6
II. 1.3. Nöroregülatörler ve Ağrı	8
II. 1.3.1. Santral Opioidler: Endorfirt ve Enkefalinler	8
11.1.3.2. Nitrik Oksit	9
a) Genel (Tarihçe ve EDRF'nin NO Olarak Tammlanması ...	9
b) NO Sentezi	13
c) Sinir Sistemi ve NO	14
* Santral Sinir Sistemi	14

* Periferik Sinir Sistemi	16
d) NO ve Ağrı	18
II.1.3.3. Diğer Mediatörler	21
a) Peptid Yapılılar	21
* P Maddesi ..	21
* Nörötensin ...	22
- Somatostatin	22
* Bombelin	22
* Bradikinin	22
b) Amino Asit Yapılılar	22
* Glutamat	22
“ Gama amino bütirik asit (GABA)	23
c) Beyin Monoaminleri	23
* Serotonin (5-hidroksitriptamin, 5HT)	23
* Noradrenalin ...	23
* Dopamin .	24
* Asetikolin	24
II.1.4. Analjezik Aktivite Tayin Yöntemleri	24
II. 1.4.1. Narkotik Analjezikler için Analjezik	
Aktivite Tayin Yöntemleri	25
a) Mekanik Uyarı Testleri	25
b) Termal Uyarı Testleri.....	26
c) Elektriksel Uyarı Testleri	27
II.1.4.2. Nonnarkotik Analjezikler için Analjezik	
Aktivite Tayin Yöntemleri	28

a) Kıvrınma-Kramp Sendromu (Writhing)	
Testi ...	28
II.2. HİSTAMİN VE ANTİHİSTAMİNİKLER	29
II.2.1. Kimyasal Yapısı ve Sentezi	29
II.2.2. Etki Mekanizması	31
II.2.3. Nosispetif Yanıtların Kontrolünde	
Histaminerjik Nöronların Rolü	33
II.2.4. Antihistaminiklerin Analjezik Etkileri	
ve önerilen Mekanizmalar	34
II.2.4.1. Santral Mekanizmalar	36
a) Opioidlerle Etkileşme (Spesifik)	36
b) Histaminerjik Etki (non-spesifik)	38
c) Sedatif Etki	38
d) P Maddesi ile Etkileşme	39
II.2.4.2. Klasik Nörotransmitterlerle Etkileşme	39
a) Kolinerjik Sistem	39
b) Serotoninerjik Sistem	40
c) Noradrenerjik Sistem	41
d) Dopaminerjik Sistem	41
II.2.4.3. Periferik Etkiler	42
a) Prostaglandinler ve Bradikinin ile	
Etkileşme	42
II.3. ANALJEZİK İLAÇLAR	43
II.3.1. Nonsteroidal Antiinflamatuvar İlaçlar	43
a) Aspirin (Asetil Salisilik Asit)	44

II.3.2. Narkotik Analjezikler	46
II.3.2.1. Narkotik Analjeziklerin Analjezik	
Etki Yöreleri ve Mekanizmaları	46
II.3.2.2. Narkotik Analjezik Prototip: Morfin.....	47
a) Morfinin Farmakolojik Etkileri	48
b) Morfinin Kullanılışı	50
III. MATERİYAL VE YÖNTEM	51
III. 1 . MATERİYAL	51
III.1.1. Kullanılan Deney Hayvanları	51
III.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	51
III.2. YÖNTEM	51
III.2.1. Kıvrınma Aljezi (Writhing) Modeli	
ve Uygulama	51
III.2.2. İstatistiksel Analiz	52
IV. BULGULAR	53
IV.1. GENEL VERİLER	53
IV.2. ENDOJEN NİTRİK OKSİT ETKİLEŞMESİNİ	
YANSITAN BAZI VERİLER	55
a) Kombinasyonlar Arası Etkileşme 1	55
b) Kombinasyonlar Arası Etkileşme 2.....	56
c) Kombinasyonlar Arası Etkileşme 3.....	57
d) Kombinasyonlar Arası Etkileşme 4	57
e) Kombinasyonlar Arası Etkileşme 5.....	58
f) Kombinasyon 1 arası Etkileşme 6.....	59
II TARTIŞMA	73
ÖZET	77
SUMMARY	78

KAYNAKLAR	79
ÖZGEÇMİŞ	91



I. Giriş ve Amaç

Endotel kaynaklı gevsetici faktör ya da nitrik oksit (NO) olarak bilinen maddenin vücutta çok çeşitli aktivitelere sahip olduğu bugün oldukça iyi bilinen bir olgudur. Damar genişletici, aıtiagregan ve beyinde intraselüler ikinci haberci rolleri gibi önemli işlevlerinin yanısıra, prekürsörü ya da antagonistler inin deney hayvanlarındaki nosiseptif davranışlarda önemli değişikliklere yolaçtığıının belirlenmesi, NO'nun bir ağrı mediyatörü olarak ta ilgi çekmesine yolaçmıştır. Periferik ve santral kaynaklı ağrı mekanizmalarında oynadığı rolün, ağrı oluşturan bazı mediyatörlerce oluşan ağrıya karşı dengeleyici bir özelliği bulunduğu düşünölmektedir. Diğer yandan, aljezik mediyatörlerce salıverilmesi arttırılan bir madde olabileceğı görüsü de, bugün için önem kazanmıştır.

Bu çalışmanın amacı, p-BK ile oluşturulan abdominal kıvrınma test tekniğı kullanarak, morfin gibi santral etkili bir analjezik maddenin etkilerine NO'nun aracılık edip etmediğinin araştırmasıdır. Ayrıca, morfin analjesini potansiyel ize ettiği gösterilen bir antihistaminik madde olan mepiraminin morfinin bu etkisine katkısının bulunup bulunmadığının araştırılması da bu çalışmanın bir diğer amacıdır.

II. GENEL BİLGİLER

II.1. AĞRI

Ağrı sözcüğü, etimolojik olarak Latince POENE ve Yunanca POINE sözcüklerinden türemiştir. Bu sözcüklerin her ikisi de ceza; cezalandırmak anlamına gelmektedir'.

Ağrı, nosiseptif, başka bir anlatımla doku zedelenmesine bağlı bir duyudur.

- I. Akut ağrı: Herzaman nosiseptif nitelik gösterir. Ağrı ile bunu oluşturan lezyon arasında hem yer, hem de şiddet bakımından sıkı sıkıya ilişki vardır.
- II. Kronik ağrı: Olguların büyük bir kısmında nosi- septif nitelik gözlenir.
- III. Deaferentas'yon ağrısı: Periferik ve santral sinir sistemindeki ağrı yollarında oluşan bir bozukluğa bağlıdır.
- IV. Psikojenik ağrı: Organik bir neden olmaksızın ortaya çıkan somatik şikayetler seklindedir.

II.1.1. Ağrı Algılama Teorileri

Ağrı kalıbının elektrofizyolojik özelliğine dair kesin bir ortak görüş olmamakla beraber ağrı algılama ile ilgili üç teori Öne sürülmüştür. Bunlar;

- a) Spesifite
- b) Kalıp
- c) Kapı kontrol teorisidir.

a) Spesifite Teorisi

Ağrı duyusunu oluşturan uyarının, zedelenmiş yapıdan santral sinir sistemine (SSS) iletilmesi, oradan da kortekse ulaşması aynen işitme, görme

duyularında olduğu gibi ağrıya özgü yapılar olan reseptörler, periferik sinir lifleri, santral traktüsler ve ara çekirdek aracılığı ile olmaktadır.

b) Kalıp Teorisi

Bu teori, özel ağrı reseptörleri, sinirleri ve iletim sisteminin olmadığı fikrini öne sürer. Bu teoriye göre ağrı, spesifik olmayan periferik reseptörler ile sinir liflerinin -fazla sayıda sinir lifine yüksek frekanslı impuls deşarjı gelecek şekilde stimule edilmesi sonucu oluşur.

c) Kapı Kontrol Teorisi

1965'te Melzack ve Wall tarafından ileri sürülmüş olan bu teoriye göre ağrı, uyarıya bağlı olarak periferdeki sinir lifleri üzerinden iletilir. Sonuçta ağrı duyumsaması omurilikteki üç ağrı sisteminin etkilenmesi ile oluşur. Bunlar;

1. Dorsal kolon yapıları,
2. Santral ileti hücreleri,
3. Substantiya gelatinosa (SG)'dir³.

Bu teori de diğerleri gibi, mükemmel değildir.

II. 1.2. Ağrı Yolakları ve iletimi

II. 1.2.1. Periferik Nöronal Mekanizmalar

a) Periferik Sinir Lifleri

Sinir sisteminin önemli yükümlülüklerinden birisi zararlı uyarı ile ilgili bilgileri taşımak ve sonuçta bu durumun tedavi edilmesidir. Organ izmayı zararlı uyarılara karşı uyanık, tutan periferik sinir sistemi, SSS'ne ağırlı uyarının yer ve şiddeti ile ilgili bilgi iletir.

Araştırmacılar, insanı da içeren farklı türlerde tek sinir lifinden aldıkları bilgiler ışığında kütanöz duyarlılığı incelemişlerdir. Bu duyu lifleri organizmanın durumu ile ilgili bilgileri SSS'ne iletir, örneğin; derinin duyuusal kapasitesi söz

konusu olduğuunda uyarı, sıcaklık, serinlik, duyumsaması veya dokunma duyusunu oluşturabilir. Bir kütanöz sinirde, duyusal liflerin hemen hemen %50'si nosiseptif fonksiyona sahiptir. Bu lifler A grubu miyelinli delta lifleri ve C grubu miyelinsiz liflerdir. Kapsaisin alkaloidi, C grubu lifleri selektif olarak stimüle ederek santral ve periferik uçlardan transimmitter salıverilmesini sağladığından önemli bir araştırma aracı olarak kullanılmaktadır. Ağrı impulsları, dokulardan A ve C tipi duyusal sinir lifleri ile omurilik arka boynuzundaki ikinci nöronlara taşınırlar.

b) Nosiseptörler ve Uyaran Endojen Kimyasal Maddeler

Nosiseptör olarak adlandırılan acı ve ağrı reseptörleri, çıplak sinir uçlarıdır. Nosiseptör, zarar verici anlamına gelen Latince "Nocens" sözcüsünden kaynaklanmaktadır. Nosiseptörlerin aferentlerini A grubu delta lifleri ve C grubu lifler oluşturur. Nosiseptörler, kendilerini aktive eden uyarana göre termal nosiseptörler ve kemonosiseptörler olarak adlandırılır. Nosiseptörler, düz kas, kılcal damar ve eferent sempatik sinir liflerinden oluşan karmaşık bir biyokimyasal alanda yer alır. Bunların çeşitli fizyopatolojik değişimlere uğrayabilmelerinin yanısıra uyarılabilir- İlkleri de pekçok olası mekanizma tarafından etkilenir. Hayvanlarda ve insanlarda cildin ısıtılması gibi ağırlı uyarılarla, deneysel olarak nosiseptör varlığı gösterilmiştir. Bu tip deneysel çalışmalarda, cilt sıcaklığı ve deşarj frekansının arttığı gözlenmiştir. Nosiseptörler, yalnızca uyarıyı SSS'ne iletmekle kalmaz, uyarı şiddeti hakkında da bilgi verirler.⁵⁷

Aferent sinir uçlarının reseptif, yani uyarı alıcı özellikleri, yer aldıkları dokunun özelliklerine bağlıdır. Reseptör duyarlılığındaki farklılıklar, içinde bulundukları dokunun iletilen elemanın pozisyonundaki varyasyonları yansıtır. Örneğin; mekanik, kimyasal veya termal duyarlılık ayrı bir aferent sinir topluluğu ile ilgilidir. Diş pulpası, kornea gibi dokularda yalnızca ağrı duyumsaması oluşturmak mümkündür. Diğer dokularda ise, başka algısal olasılıklar nedeniyle analiz karması kl asır. Bazı aferent lifler normal organ fonksiyonları için önemli olabilir, fakat duyumsamaya katılmayabilir. Bazıları da, ağrı dışındaki diğer duyulara katılabilir. Hangi reseptörlerin ağrı duyusuna, hangilerinin diğer duyulara aracılık ettikleri anlaşılamamıştır.

Vissera, kas, eklem, bağ dokusu kaynaklı derin ağrının, kütanöz yapılardan kaynaklanan ağrıdan farklı nitelikte olduğu deneysel olarak gösterilmiştir.

Doku zedelenmesi ve inflamasyonu izleyen hiperaljezi, kısmen nosiseptörlerin duyarlılaşmasına dayanır. Dokunun zedelenmesi, inflamasyona aracılık eden veya hızlandıran bazı kimyasal maddelerin lokal olarak salıverilmesine neden olur. Bu kimyasal maddeler, bradikinin, prostaglandinler, lökotrienler, serotonin, histamin, P maddesi, tromboksan, PAF (trombosit aktive edici faktör) ve serbest radikallerdir. Bu maddelerin salıverildiği yerler mast hücrleri, damar yatakları ve diğer hücrelerdir. Sırasıyla önce histamin, kısa süre sonra bradikinin ve daha sonra da prostaglandinler ve diğer eikozanoidler salınır. Bu endojen aljezik maddeler, travma, inflamasyon, artrit, eklem tümörleri ve kronik iskemi nedeniyle oluşan hiperaljezi ve ağrıda rol oynarlar. Endojen maddelerin oluşturdukları uyarıcı etki, kısmen nosiseptif sinir mernbram üzerindeki direkt etkilerine, kısmen de vazodilatasyon veya vazokonstriksiyon şeklindeki vasküler etkileri nedeniyle lokal kapiller dolaşımı ve permeabiliteyi arttırmalarına bağlıdır.

Nöron dışı dokulardan salıverilen aljezik maddelerin yanısıra, bazı nosiseptif sinir uçlarının P maddesi içerdiği, bu maddenin de inflamasyon ve ağrıda rol aldığı gösterilmiştir. Sinir liflerinin uyarılması, periferik sinir uçlarından P maddesi salınımı sonucu kapiller permeabilite artışı, lokal ödem ve vazodil atasyona neden olur. Akson refleksi ve sempatik reflekslere bağlı olmayan zararlı bir uyarıya bağlı lokal reaksiyonlar, periferik sinir uçlarından P maddesi salıverilmesi ile açıklanmaktadır. Ayrıca kardiyovasküler ve ürogenital sistemler, kas, eklem, kornea, dis pulpası v.b. dokularda da çeşitli duyarlılıklarda nosiseptörler mevcuttur.

Son yıllarda, Nosiseptörlere spesifik bir peptid olan CGRP (kalsitonin geni ile ilgili peptid)'nin insanda güçlü bir vazodilatasyon oluşturduğu öne sürülmüştür. CGRP'nin enjeksiyon bölgesinde uzun süreli vazodilatasyon oluşturması, nörojenik vazodilatasyon mediyatörlerinden biri olabileceğini düşündürmektedir. Ancak aljezik potansiyeli bilinmemektedir.

Interlökin-8 ve tümör nekroza edici faktör, nosiseptörlerin duyarlılaştırılmasına neden olduğu belirtilen diğer endojen mediyatörlerdendir".

Nosiseptörlerin duyarlılıklarının siklik AMP ve siklik GMP arasındaki denge tarafından kontrol edildiği, endotal kökenli gevşetici faktörlerden (EDRF) biri olarak tanımlanan nitrik oksit, stimulusa bağlı olarak siklik GMP düzeylerini yükselttiği, bu nedenle de, ağrı mekanizmalarında rolü olabileceği son yıllarda gösterilmiştir.

c) Periferik Analjezik Mekanizmalar

Periferik analjezik etkili ilaçların prototipi olan aspirin ve bu grup ilaçlar, siklooksijenaz enziminin inhibisyonuna bağlı analjezik etkinlik gösterirler. Siklooksijenaz, arakidonik asidin metabolizma ürünleri olan tromboksan, prostasiklin ve prostaglandinlerin sentezini sağlayan enzimdir. Bu mediyatörlerin tümü, nosiseptörlerin uyarılma ve duyarlılaştırılmasına yani ağrı ve hiperalejiye katılmaktadır. Bu grup ilaçlar, antiinflamatuvar etkiye de sahip olmalarından dolayı iltihabın ana belirtileri olan ağrı, ödem, kızarıklık, sıcaklık artışı gibi lokal olguları giderebilirler. Siklooksijenaz enzim inhibitörü olan NSAİ ilaçlar (diklofenak, ibuprofen, indometazin, piroksikam, tenoksikam, metamizol, fenilbutazon) analjezik ve antiinflamatuvar etkileri yanısıra antipiretik etkiye de sahiptirler.

II.1.2.2. Santral Mekanizmalar

Omuriliğin gri cevheri reksedin laminalarına ayrılır. Lamina I'den VI'ya kadar olan yapılar, özellikle omurilikten gelen duyuyla ilgili olup arka boynuzda yer alırlar. Kalın miyelinli lifler iç kısımda, ince miyelinli lifler ise daha lateralde yer alır. Lamina II ve III SG (substantiya gelatinosa) olarak bilinir. Bu yapı, ağrı ile ilgilidir. Beynin üst düzeylerine iletilen ağrı omurilikte bulunan SG'dan kaynak alır.

Trigeminal sistem, ağız boşluğu ve yüzde çok fazla nosiseptör olmasından dolayı ağrıda önemli bir rol oynar. Bu sistem kompleks bir yapıdır. Trigeminal sinirin omurilikteki çekirdeği olan subnukleus kaudalis'teki nöronların ağrı iletiminde önemli rol oynadığı gösterilmiştir.

Nosiseptif uyarımların değişken derecelerdeki iletiminden, dört majör asendsn (çıkıcı) yolak sorumludur. Bunlar Lissauer Traktus, Leminiskal sistem, spinotalamik sistem ve diğer nosiseptif yollardır.

Retiküler formasyon, medulla ve pons uzantısı içinde bulunup, bilinçaltı birçok koordine hareketin yapılmasında ve sinir sistemi ile vücudun uyanık tutulmasında görevlidir. Retiküler eksitator sistemin (RES) bir parçası olup, kendi kendine uyarılma ve içten gelen inhibitör sinyaller ile denge durumundadır. Retiküler formasyon, beynin hemen tüm bölümlerine, talamik yol ile serebral korteksin bütün alanlarına, limbik sistem ve hipotalamusa sinyaller gönderir.

Talamus, beynin üçüncü ventrikülü boyunca yer almış gri cevher kitlesidir, RES içinde yer alır. Aktive edici sistemin esasını oluşturur. Sinaptik bir duraklamadan sonra her türlü uyarıyı kortekse gönderen bir istasyon görevi görür.

Desandan kontrol sistemleri, serebral korteks ve diğer supraspinal yapılardan inen inhibitör yolaklar, omurilik dorsal boynuzu ve ağrıyı iletmekle ilgili sinir hücre gövdeleri ile sinaps yaparlar ve ağrı duyumsamasını modifiye ederler. İnici inhibitör sistem, bir endojen ağrı kontrol mekanizmasıdır. Sistemin fonksiyonel bütünlüğü, biyolojik aminlerin salıverilmesine ve diğer nöromediyatör ve nöromodülatörlere bağlıdır.

Ağrı duyusu ve davranışı ile ilişkili santral bilgilendirme süreci hakkında bilgiler yeterli değildir. Ağrının nöronal temeli ve SSS'nde ağrı ile ilgili davranışın ne olduğunu anlamak için santral nöronların değarjlarının incelenmesine gerek vardır, iki tip santral nosiseptif nöron vardır;

1. Nosiseptif spesifik nöronlar (NS)

2. Multireseptif nöronlar (MR)

Araştırma bulgularına göre NS nöronların, uyarının ağırlı olduğu durumlarda kişinin uyarılmasını sağladıkları, MR nöronların ise ağırlı uyarının parametreleri hakkında bilgi taşıdıkları düşünülmektedir¹⁷.

III. 1.3. Nöroregülatörler ve Ağrı

Nöroregülatörler, SSS'nin kendi hücreleri arasındaki veya bu sistem ile endokrin sistem arasındaki iletişimde ulak olarak kullanılan kimyasal maddelere verilen addır².

II.1.3.1. Santral Opioidler: Endorfin ve Enkefalinler

70'li yılların başında morfin ve benzeri ilaçların etkilediği opiyatarjik reseptörlerin varlığının ortaya çıkması, beyindeki bazı bölgelerde elektriksel uyarım sonucu analjezi oluşması ve bu analjezinin opioid antagonistleri ile önlenebilmesi, SSS'de opioid benzeri bazı endojen mediyatörlerin var olduğunu göstermiştir. Elektrik stimülasyonu ile oluşmuş analjezi¹⁸ ile opioid analjezi arasında çapraz tolerans mevcuttur ve rialokson ile bloke edilir. Bu olgu, stimülasyon ile oluşturulmuş analjezinin endojen opioid sistemine bağlı olduğunu göstermektedir^{19,20,21}.

Enkefalinler dorsal boynuz laminalarında inhibitör özellikte mediyatörleridir. Bunların, primer aferentlerden gelen bilgiyi inhibe edici etkileri vardır^{22,23,24}. Naloksonun düşük dozlarda fare ve sıçanda hiperanaljezi oluşturması ağrı duyumunu modüle eden -endojen opioidlerin fizyolojik olarak salıverildiğini gösterir^{25,26}. δ -opioid reseptörlerinin spinal antinosisepsiyona aracı oldukları saptanmıştır^{27, 28}. Özellikle enkefalin ve dinorfin, omuriliğin dorsal boynuzunda nosiseptif uyanları düzenlemede rol almakta ve dinorfin, kappa reseptörleri ile ilişkili çeşitli tipte ağrıyı modüle etmektedir.^{29,30}

Öte yandan primer kronik bas ağrısında ve migren tipi ağrıyı izleyen kronik ağrılarda, plazma ve serebrospinal sıvıdaki (β -endorfinin azaldığı gözlenmiştir³¹. Endorfinerjik sistem aracılığı ile seks hormonlarının da, ağrı modülasyonuna katıldığı saptanmıştır³².

Periferik opioid peptidler hipofiz ve adrenal medullada bulunurlar. Analjezik etkisi en güçlü opioid olan β -endorfin hipofizde yaygın olarak bulunurken adrenal medullanın da proenkefalin taşıdığı bilinmektedir.

Hipofizektomi veya adrenal medullamn denervasyonu veya çıkarılması hallerinde strese bağılı analjezinin ortadan kalktığı gösterilmiştir^{23, 33}.

II.1.3.2. Nitrik Oksit

a) Genel (Tarihçe ve EDRF'nin NO Olarak Tanımlanması)

1980'de Furchgott ve Zawadzki, asetilkolinin neden olduğu vasküler gevşemenin endotel varlığına bağımlı olduğunu gösterdiler ve bu etkinin daha sonra EDRF (Endotel kaynaklı gevşeme faktörü) olarak tanımlanacak olan bir humoral faktör aracılığı ile oluştuğunu kanıtladılar³⁴. Bazı venleri, arterleri ve mikrodamarları da kapsayan pekçok vasküler preparatta gösterilmiş olan endotel bağımlı gevşemenin, asetilkolin, adenin nükleotidleri, trombin, P maddesi, kalsiyum iyonofor A23187 ve bradikinin gibi çeşitli maddelere cevaben ortaya çıktığı gösterilmiştir. Hipoksi, kan akımı artışı ve elektriksel stimülasyon gibi diğer bazı uyarılarda in vitro vasküler dokuda endotel bağımlı gevşemeye neden olmuşlardır. Nitrovazodilatörler, atrial natriüretik faktör, sığır retraktör penis inhibitör faktörü, β -adrenerjik agonistler ve prostasiklin gibi bazı ajanlar, endotel bağımlı mekanizma tarafından bir vasküler gevşeme oluştururlar³⁵.

EDRF'nin humoral doğasının ilk kez gösterildiği farmakolojik preparatlarda biyolojik aktif maddenin bir donörden alıcı bir test dokusuna taşındığı gösterilmiştir. Bu tip preparatlardan biri iki adet tavşan aort şeridinin "sandviç biyoeseyi"dir. Bu modelde EDRF'yi taşıyan intakt endotelli donör aort şeridi ile detektör roldeki endotelsiz şerit içteki intima tabakaları yüzyüze gelecek şekilde yerleştirilmiştir. intakt tavşan aortunun lümen perfüzyonu ile ilgili bir başka yaklaşım da, intakt aort endoteli üzerinden gelen perfüzyon sıvısının, endoteli çıkarılmış vasküler halkaların süperfüze edilmesinde kullanılması şeklindedir. Bu preparatlarda donör aortun asetikolin ile stimülasyonu sonucu alıcı dokularda gevşeme meydana gelmiştir^{36,37}. Son olarak, mikrotasıyıcılarda kültürü yapıp bir şırıngaya veya modifiye bir kromatografi kolonuna yığılmış olan vasküler endotel hücreleri perfüze edilmiş ve efluent, köpek koroner arter halkasının veya bir seri endoteli çıkarılmış tavşan aort şeritlerinin süper füzyonunda kullanılmıştır³⁸. Bu tip tekniklerin kullanılması, EDRF'nin çok kısa ömürlü bir madde olduğunu ve

oksijenlermiş fizyolojik tuz solüsyonunda yan Ömrünün saniyelerle ifade edildiğini ortaya çıkarmıştır. Bazal şartlarda da asetikolin ile stimülasyona bağlı olarak görüldüğü kadar EDRF salıverilmesi gözlemlenmiştir. EDRF'nin bu etkilerinin hemoglobin, metilen mavisi ve ditiyotreitöl, hidrokinon gibi ajanlarla inhibe edildiği ve bu etkilere çözünebilir guanilat siklazın stimülasyonunun aracılık ettiği bilinmektedir³⁹.

Bu tip biyoesey tekniklerin kullanılması ile superoksit anyonlarının (O_2^- ...), EDRF'nin dayanıksızlığına katkıda bulunduğu ortaya konulmuştur. Zira EDRF'nin etkileri SOD ilavesiyle uzatılmış, Fe^{2+} ve hiperoksi ile de inhibe edilmiştir. EDRF inhibitörü olarak tanımlanan birçok maddenin, kendi redoks özellikleri sonucu solüsyonda O_2^- meydana getirdikleri gösterilmiştir. Aslında SOD, bu maddelerin EDRF üzerindeki inhibitör etkilerini zayıflatmıştır. Gözlemler O_2^- 'yi giderme yetisine sahip bir madde olan sitokrom-C'nin, bu redoks bileşiklerinin EDRF üzerindeki etkilerini azaltabildiğini ve O_2^- oluşturucu bir bileşik olan pirogallol'ün bir inhibitör olarak etki ettiğini teyid etmiştir. Bununla birlikte O_2^- oluşması, bütün EDRF inhibitörlerinin etkilerini açıklamaz^{40, 41}.

EDRF'nin trombosit agregasyonunu da inhibe ettiği, agreg'e edilmiş trombositlerin disagregasyonuna neden olduğu ve her iki etkisinde de prostasiklin ile sinerjik davrandığı gösterilmiştir. Ayrıca EDRF, endotel tabakasına, ekstrasellüler matrikse ve kollajen fibrillere trombosit sdezyonunu da inhibe etmektedir^{42,43}.

İlk çalışmalar, EDRF'nin bir arakidonik asit lipoksijenaz veya bir sitokrom P-450 enzim sistemi ürünü olabileceğini veya aktif mevkiinde bir karbonil grubu taşıyan bir bileşik olma olasılığını düşündürüyordu. Fakat bu görüşler EDRF'nin kimyasal yapısını aydınlatıcı nitelikte değildi. Furchgott, 1986'da EDRF ile asitlenmiş NO_2^- arasındaki davranış benzerliklerine dayanarak EDRF'nin NO olabileceğini ortaya attı. Ignarro da aynı zamanlarda EDRF'nin NO veya onunla ilişkili bir türü olabileceğini ileri sürdü^{44,45}.

Memeli hücrelerinden NO oluşması ile ilgili ilk deneysel kanıt, vasküler endotel hücrelerinden EDRF salıverilmesinin gösterilmesiyle ilgilidir. NO , direkt

olarak kemilüminasans ürünü olarak ölçülebilmektedir. Buna kanıt oluşturan bir deneyde, domuz aortik endotel kültür hücrelerinden bradikinin ile indüklenen konsantrasyon bağımlı NO saliverilmesi oranı bir yandan kemilüminasans yöntemi ile ölçülürken diğer yandan, simültane olarak vasküler şeritlerde oluşturdıkları gevşeme cevabı bakımından da değerlendirilmiştir. Gerek kemilüminasans ve gerekse biyoessey ile yapılan ölçümler NO'nun trombosit agregasyon ve adezyonunun inhibisyonunu sağlayacak etkinlikte olduğu göstermiştir^{35,46}.

Pekçok vasküler preparattan EDRF'nin biyolojik etkilerini oluşturmaya yeter miktarda NO salındığı gösterilmiştir. Sülfanilik asitin, NO ile diazotizasyonu ve N-(1-naftil)-etilen diaminle reaksiyonuna dayanan bir deneyde sığır arterinden, NO veya bir labil nitrozo türünün saliverildiği gösterilmiştir. Pulmoner arter veya pulmoner ven segmentlerinin A23187 ile perfüzyonu sonucu, biyoessey dokularında NO bağımlı gevşetici cevaplar ve vasküler sGMP düzeylerinde artış da gösterilmiştir³⁵ Asetikolin, A23187 veya P maddesi ile stimüle edilmiş perfüze tavşan aortunda da benzer cevaplar oluşmuştur. Daha sonraları, NO ile hemoglobin arasındaki reaksiyona dayanılarak spektrofotometrik eşey kullanılmasıyla da, vasküler kültür hücrelerinden NO saliverildiği gösterilmiştir. İzole perfüze tavşan kalbinde yapılan çalışmalarda asetilkolin ve bradikininin vazodilatör etkilerinin gözlenmiş olması, bu preparatlardan NO saliverildiğine işaret etmektedir.

Tüm bu bulgular, EDRF'nin NO olduğu fikrini desteklemektedir. Bununla birlikte EDRF'nin kimyasal kimliğiyle ilgili münakaşalı durumlar da vardır. EDRF'nin NO olduğuna dair pekçok bulgu olmakla beraber, birçok araştırma sonucu da bu görüşe soru işareti getirmektedir. Bu karşıt görüşler, EDRF yarı ömründeki varyasyonlar, NO ve EDRF'nin anyon değiştirici kolonlara bağlanmasındaki farklılıklar, EDRF ile NO'nun düz kas preparatlarına etkilerindeki farklar, EDRF'nin stabilizasyonu ve ayrıca NO'nun kimyasal metotlarla belirlenebilir miktarları ile biyolojik aktivitesi arasındaki zayıf korelasyon ile ilgili gözlemlerdir³⁵.

EDRF'nin yarı ömründeki geniş çaplı varyasyonlar, muhtemelen O_2 ve O_{2-} nin değişik koşullarda NO inaktı vasyonuna, göreceli katkıları ile açıklanabilir. Oksijenin, NO ile hızlı bir reaksiyonla NO_2 oluşturduğu, NO_2 'nin ise solüsyonda nitrit (NO_2^-) ve nitrat (NO_3^-) meydana getirdiği ve hem nitritin hem de nitratın trombosit ve vasküler şeritlerde etkisiz olduğu bilinmektedir. Aynı zamanda NO'nun O_2 ile binleşip NO_{3-} meydana getirdiği de gösterilmiştir. Buna göre bu yarı ömür farklılıklarının laboratuvaradan laboratuvara değişiklik gösteren deneysel şartlar nedeniyle ortaya çıkmış olabileceği düşünülmüştür. Günümüze kadar, 37°C'deki fizyolojik solüsyonlarda NO kimyasıyla ilgili sistematik çalışma yürütülemediği³⁵.

Bazı araştırmacılar, EDRF'nin yalnızca vasküler düz kasları gevşettiğini, NO'nun ise vasküler, trakeal ve taenia coli düz kaslarında gevşeme oluşturduğunu bildirmişlerdir. Hiçbir çalışma grupları, NO ve EDRF'nin karşılaştırılmış eşit-etkili oranlarını gösteren bulgu sunmadığından, bu sonuçların analizi, hayli zordur. Kobay trakea şeridinin, tavşan aortik şeridine oranla NO'ın infüzyonuna 30 kere daha az duyarlı olduğunun gösterilmiş olması yanında, kültürdeki sığır hücreleriyle gerçekleştirilen çalışmalar, gevşeme oluşması için gerekli EDRF miktarının, bu hücrelerce salınıveren miktarın üzerinde olduğuna işaret etmiştir^{47,48}.

Endotel bağımlı gevşemede, NO'dan başka mekanizmaların varlığı da halen söz konusudur, örneğin; bazı arterlerin endotellerinin asetilkolin ile stimülasyonu sonucunda hiperpolarize olan bitişik düz kas hücrelerinin kendi gevşemelerine katkıda bulundukları düşünülebilir. Bu hiperpolarizasyonun, endotel kaynaklı hiperpolarize edici faktör olarak adlandırılan bir faktörün salınmasıyla olduğu öne sürülmüştür. Endotel kaynaklı hiperpolarize edici faktörün, hemoglobin ve metilen mavisi tarafından etkilenmediği ve bu yönden NO'dan farklı olduğu gösterilmiş olmasına rağmen yakın zamanlarda NO'nun bazı arterlerin hiperpolarizasyonuna neden olduğu da rapor edilmiştir. Endotel ve düz kas hücrelerinin hiperpolarizasyonunun fonksiyonel anlamı, şimdiye kadar yapılan çalışmalarla aydınlatılabildiği değildir⁴⁹.

b) NO Sentezi

Eski alışmalar, N_2^- , NO_3^- , NH_3 ve hidroksilamin gibi bileşiklerin, NO kaynağı olduğunu öne sürüyordu. 1988'de bir amino asit olan L-arjinin, NO'nn vasküler endotel hücrelerinden sentezinin bir prekürsörü olarak gösterildi. Deneyden nceki 24 saat, L-arjinin yokluğunda kültürü yapılmış endotel hcrelar iyi e yapılan çalışmalar, bu hücrelerden bradikinn veya A23187'ntn meydana getirdiği EDRF salıverilmesinde L-arjinin ile geri döndürülebilen fakat D-arjininle etkilenmeyen bir azalma olduğunu göstermiştir. Geri dns yalnızca L-arjinin infüzyonu ile oluşması, NO oluşumunun yalnızca serbest L-arjinine bağımlı olduğunu sonucunu vermiştir.

Bu bulgular, L-arjininin NO sentezinin prekürsörü olduğuna dair koşullara bağlı bir kanıt oluşturmakla birlikte "Mass spektrofotometre ve [^{13}N] L-arjinin kullanılmasıyla yapılan alışmalar, L-arjininin terminal guanidonitrojen atomundan (veya atomlarından) ^{15}NO oluştuğunu göstermiştir. Başka alışmacılar da endotel hücreler inden L-arjinin tarafından NO_2 oluşturulduğunu rapor etmişlerdir.

Endotel homojenatları, NADPH bağımlı ve L-NMMA ile inhibe edilen bir mekanizma ile L-arjininden sitrullin oluşturmaktadır. L-arjinini anyon değiştirici kromatografi ile tüketilmiş endotel hücre sitozolünde, L-arjinin-bağımlı bir siklik GMP artışı görülmüş ve bu artışın aynı zamanda konsantrasyon bağımlı, NADPH gereksindinli olup, [3H] arjininden [3H] sitrullin oluşmasının da katkısıyla oluştuğu gösterilmiştir. Hem [3H] sitrllin üretimi, hem de, s-GMP artışı L- NMMA tarafından inhibe edilmiş, D-NMMA tarafından ise edilememiştir. Tüm bu bulgular, NO ve sitrllinin aynı enzimatik reaksiyonun ortak ürünü olduğunu ortaya çıkarmıştır. Ek olarak, [3H] sitrllin oluşması ve sGMP artışının Ca^{2+} şeltrleriyle inhibe edilmiş olması, NO sentaz adı verilen enzimin Ca^{2+} - bağımlı olduğunu göstermiştir. Ayrıca endotel hücre sitozolnden NO sentezinin, kalmodulin bağlayıcı peptidler ve antagonistlerle inhibe edilmiş olması ve bu etkinin kalmodulin ile geri döndürülmüş olması, endotel hücrelerde NO sentazın Ca^{2+} -bağımlı stimulasyonuna kalmodulinin aracılık ettiğini ortaya koymuştur^{35,50}.

O₂ ve mass spektrofotometre kullanılarak yapılmış olan çalışmalarda,- bu enzimin hem NO hem de sitrulline moleküler oksijen kattığının gösterilmiş olması bu enzimin bir dioksijenaz olduğunu ortaya çıkarmıştır⁵¹.

c) Sinir Sistemi ve NO

* Santral Sinir Sistemi

Asetilkolin, glutamat ve glisin gibi nörotransmitterlerce, beyindeki ve kısmen de serebellumdaki iletme, artmış s-GMP düzeylerinin katıldığı uzun zamandır bilinmektedir. 1974'te, glutamatın, Ca²⁺ gereksinimli bir prosesle, serebellar dilimlerde s-GMP akümülyasyonuna neden olduğu gösterilmiştir. Çeşitli -hücre tiplerinin bir karışımından oluşan serebellar hücre süspansiyonlarında da, glutamatla oluşan bir s-GMP akümülyasyonu gösterilmiş, fakat son derece saflaştırılmış purkinje hücreleri preparatlarında bu akümülyasyon oluşmamıştır⁵².

1977'de fare serebral korteks homojenatlarında NO'nin çözülebilir guanilat siklazı stimüle ettiği gözlemlenmiştir. Aynı yıl, tavşan önbeyininin çözülebilir fraksiyonunun, çözülebilir guanilat siklazı aktive eden, düşük moleköl ağırlıklı bir madde içerdiği ve bu maddenin etkisinin, hemoglobinle inhibe olduğu öne sürülmüştür. Bu aktivatörün, nitrozaminlerle ilişkili olduğu veya aynı allosterik bölgede etkili olduğu düşünülmüştür. Sıçan serebellumunda da benzer bulgular bildirilmiştir. 1982'de nöroblastoma hücrelerinde çözülebilir guanilat siklazm endojen aktivatörü L-arjinin olarak tanımlandı. Bu gözlemler, L-arjininin keşfedilmesiyle birlikte; L-arjinin:NO yolağının vasküler endoteldeki gibi, SSS'de de varlığı ile ilgili araştırmalara yol açmıştır.

Sıçan sinaptosomal sitozolüne NADPH varlığında L-arjinin ilavesi, çözünebilir guanilat siklazm stlmülyasyonunun da katkısıyla bir NO ve sitrullin oluşumu ile sonuçlanmıştır. Bu proseslerin her ikisi de hemoglobin ve L-NMMA ile İnhibe edilmiş fakat L-kanavarılın ile İnhibe olmamıştır. Bu veri, sıçan beyininin NO sentaz enzimini özel bir muameleye tabi tuttuğunu göstermiştir. Bu enzim, serbest Ca²⁺ konsantrasyonuna bağımlı bulunmuş fakat sinaptozomlardaki serbest Ca²⁺ konsantrasyonlarında etkisiz olduğu, ancak yaklaşık 400 nM'lık

Ca^{2+} konsantrasyonunda ise tamamen etkili olduğu gösterilmiştir. Vasküler endotel ve trombositlerdeki gibi bu sistemde de Intraselüler Ca^{2+} artışı, NO sentezinin stimölasyonu için bir fizyolojik mekanizma teşkil ediyor olabilir. Ayrıca bu enzim de, vasküler endotelde olduğu gibi sitrulline $^{18}\text{O}_2$ -'yi birleştirmektedir.

Sıçan serebellar hücrelerinin NMDA ile stimölasyonu sonucunda EDRF benzeri bir maddenin salıverilmesi eşliğinde, bir s-GMP yükselmesi görölmüştür. Bu alışmada, NMDA'ya cevaben EDRF benzeri madde salıveren hücreler s-GMP düzeyleri artan hedef hücreleri değıldir. Sıçan serebellar şeritlerinde s-GMP'nin NMDA'ya cevaplarının L-arjininle artıp, L-NMMA ile inhibe olması, bu cevabın aslında NÖ aracılıklı olduğunu göstermektedir. Daha yakınlarda, fareye intraserebral olarak uygulanan L-NMMA'mh, NMDA, kuiskualat, kainat, harmalin ve pentilenetetrazol ile oluşan s-GMP artışını inhibe ettiğinin gösterilmesi, L-arjinin:NO yolağının bu bileşiklerle invivo olarak oluşturulmuş s-GMP artışına aracılık, ettiğini ortaya ıkarmıřtır³.

ilginç olarak, NO sentaz etkinliği için gerekli olan fizyolojik Ca^{2+} düzeylerinin beyin özölabilir guanilat siklazın inhibe ettiği ortaya çıkarılmıştır. Buna göre, NO oluşturmak üzere uyarılmış olan bu hücrelerde guanilat siklazı aktive etmeyen, yalnız efektör hücrelerde bu aktivasyonu sağlayan bir kontrol mekanizması olduğu öne sürölabilir.

Beyinde bir NÖ sentaz karakterize edilmiş ve bu enzimin L-NMMA, L-NİÖ ve LNA tarafından yarışmalı olarak inhibe edildiği gösterilmiştir. Beyindeki NO sentaz da tıpkı endotel ve trombositteki gibi, bir kofaktör olarak, yalnızca NADPH gereksindinlidir. Sığır beyin sitozölünün de, NO sentaz içerdiği bildirilmiştir. Günümüzde, sıçan serebellumundan izole edilen bu enzimin, kalmodölün bağımlı olduğu gösterilmiştir. Değışik beyin bölümlerinin sitozolik preparatları, NO sentazın en çok serebellumda ve sırasıyla hipotalamus, ortabeyin, striatum ve hipokampusta bulunduğu, medulla oblangata da ise en düşük aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. Aynı zamanda, astrositlerin bradikinin ve ardından da A231 87 ile stimölasyonu sonucunda NO salın verdiği görölmüştür. Serebellumdaki temel nöronlar oldukları gösterilmiş olan granöl hücreleri de, bu dokuda, eksojen NMDA reseptör agonistlerine cevaben NO salıverirler.

Antikorların kullanıldığı histokimyasal çalışmalar, NO sentazın öncelikle nöronlarda olmak üzere SSS'de geniş oranda oluştuğunu . göstermiştir³⁵ .

Beyindeki çözülebilir guanilatsiklazı stimüle eden bir transdüksiyon mekanizması gibi davranan L-arjinin:

NO yolağı için değişik mediyatör sistemler gösterilmemiştir.

NO, eksitator amino asitlerin, beyinin gelişme, öğrenme ve hafıza fonksiyonları üzerindeki uzun süreli etkileri kadar kısa süreli etkilerinde de rol oynuyor olabilir. Bu yolağın, diğer bazı nörotransmitterlerin s-GMP artısının eşlik ettiği biyolojik etkilerine aracılık ediyor olması olasıdır.

L-arjinin: NO yolağı aynı zamanda SSS'nin patolojisinde de rol oynuyor olabilir. Aşırı NMDA reseptör aktivasyonu ve bunun sonucu oluşan Ca^{2+} artısının, NO üretimiyle artan glutamat nörotoksitesine ortak olması söz konusudur.

s-GMP'nin yüksek düzeyleri, immünohistokimyasal olarak NO sentaz varlığının gösterilmediği retinadaki, foto reseptör hücrelerinin yıkımına da neden olmaktadır. Bu etki hayvanlardaki bazı kalıtsal hastalıkların patojenezini açıklayabilir. s-GMP'nin tutarılarda bir rol oynadığı öne sürülmüştür. Zira ilaçla oluşturulan konvülsiyonlar başlamadan önce bu nükleotidin çeşitli beyin bölgelerindeki düzeyleri yükselmektedir. Ayrıca, s-GMP analoglarının hipokampus infüzyonu,-piramidal nöronlardaki epileptiform etkiyi uzatmıştır. Hem eksitator amino asit reseptör antagonistleri hem de glutamat inhibitörleri, antiepileptik etkiye sahip olup, beyni, glutamat aracılıklı olduğu düşünülen iskemik hasara karşı korurlar³⁵.

*** Periferik Sinir Sistemi**

Nonadrenergik, nonkolinerjik (NANK) sinirler, gastrointestinal kanal, viserada, solunum yolları ve diğer sistemlerdeki düz kasların otonomik innervasyonunun önemli bir bileşenini meydana getirmektedir. Bu sinirlerce salıverilen nörotransmitterin doğası tartışmalıdır. Adenozin veya ATP gibi purinler, P

maddesi veya vazoaaktif intestinal peptid gibi nöropeptidler ve sığır retraktör penis kası inhibitör faktörü olası adaylar olarak önerilmiştir³⁵.

Sıçan anokoksigeus kası motor noradrenerjik bir inervasyona sahiptir. Noradrenerjik sinirler guanetidin ile bloke edildiğinde bu preparatın alan stimülasyonu ile hızlı gelişen, güçlü bir gevşeme meydana gelmiştir. NO'yu da içeren nitrovazodilatörlerce taklit edilmiş olan bu cevap, hemoglobin ve anoksi ile bloke edilmiş olup Ca^{2+} bağımlı olduğu gösterilmiştir. Yakınlarda, L-NMMA'nın, SNP'ye etkisi olmaksızın, sıçan anokoksigeus kasındaki NANK-aracılıklı gevşemeyi inhibe ettiği kanıtlanmıştır. Bu etki, L-arjininle engellenmiş veya geri döndürülmüştür. Benzer etkileri gözlemiş olan Gillespie, L-NMMA'nın aynı zamanda dokuda, L-arjininle geri döndürülebilir bir ton artışına da neden olduğunu bildirmiştir. Fare anokoksigeus kasının NANK aracılıklı gevşemesi, ikincisi birincisinden 30-50 kere daha potent olmak üzere L-NMMA ve L-NAME tarafından bloke edilmiştir. Hem sıçan hem de fare anokoksigeus preparatlarında noradrenerjik stimülasyonla oluşan kontraktıl cevaplar, L-NMMA- veya LNA varlığında artmıştır³⁵.

Köpek ileokolonik kavşağındaki NANK sinirlerinin stimüle edilmesiyle, biyolojik etkileri, kimyasal dayanıksızlığı, O_2 - ve hemoglobin ile inaktive edilmesi LNA ile inhibe olması ve L-arjininle güçlendirilebilmesi nedenleriyle NO olduğu belirlenen bir faktör salınmaktadır. Buna göre NO'ya bazı NANK nörotransmisyonunun biyolojik mediyatörü gözü ile bakılabilir³⁵.

NO'nun diğer sistemlerde muhtemel bir nöromodulator rolü de öne sürülmüştür. L-NMMA, kobay ileumu ve pulmoner arterinde ve köpek mezenterik arter segmentlerinde, sinir kaynaklı kontraksiyonları arttırmıştır. Ayrıca bu madde, köpek serebral arter şeritlerinde transmural sinirin stimülasyonu ile oluşan gevşeme cevaplarını baskılamış veya kobay teniakoli'sinde transmural stimülasyonla oluşan gevşetici cevapları kısmi olarak inhibe etmiştir. NO'nun sinirlerden salınan vazodilatator bir transmitterin etki veya salıverilmesini modüle mi ettiği yoksa, bu sinirlerden efektör düz kaslara bir transmitter olarak mı etki gösterdiğinin açıklığa kavuşması için daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir.

Asetilkolinin periferik analjezik etkisinin NO aracılığı ile olduğu öne sürülmüştür⁵³. Asetilkolin, L-arjinin ve SNP bir hayvan modelinde analjezi oluşturmuşlar, LNMMA, asetilkolin ve L-arjininle oluşan analjeziyi engellemiştir. Ayrıca asetilkolinle oluşan analjezi bir S-6MP fosfodiesteraz inhibitörü ile kuvvetlendirilmiştir. Bunun, nosiseptörlerde veya onlarla yakın işbirliği olan hücrelerde NO oluşmasının sonucu olup olmadığı veya L-arjinin: NO yolağının, sinir sistemine nosiseptif bilgiyi girişi kontrol edip etmediği henüz aydınlığa kavuşturulmamıştır³⁵.

d) NO ve Ağrı

NO'nun endotel kaynaklı gevşetici faktör olarak kabul edilmesinden sonra, beyinde bir intrasellüler ikinci haberci olarak hareket ettiğinin gösterilmesi ile sadece damar genişletici olmadığı, vücutta daha pek çok aktiviteye sahip bir mediyatör olduğu anlaşılmıştır. EDRF prekürsörü olarak bilinen S-nitrozosisteinin intravenöz yoldan verildiğinde deney hayvanlarında nosiseptif davranışlarda önemli değişikliklere yol açtığı ve bu etkilerin bilateral vagotomi ile ortadan kalktığı gösterilmiştir⁵⁴. Bu bulgu, EDRF'nin (NO'nun) periferik nosiseptif mekanizmalarda bir rolü olabileceğini göstermektedir. Kalbe gelen vagal aferent sinirlerin kardiyak ağrıya katıldıkları ve bradikinin, serotonin, adenosin veya histamin gibi çeşitli aljezik maddeler tarafından aktive edildikleri bilinmektedir. Bu maddeler, miyokarddan iskemi sırasında salıverilir ve EDRF salıverilmesi aracılığıyla oluşturdukları belirgin vazodilatasyon ile koroner kan akımını arttırmaları ve bu arada, koroner ağrıya da neden olurlar. Bu çalışmada varılan sonuç, muhtemelen bu maddelerin aljezik etkilerine, endojen EDRF salıverilmesinin, (koroner kan akımı üzerindeki dengeleyici etkiye benzer şekilde hareket ederek) aksi yönde katkıda bulunduğudur,

Periferik analjezikler ya Nosiseptörlerin duyarlılaştırılmasını önleyerek, ya da varolan hiperanaljeziyi direkt antagonize ederek etki ederler, örneğin, nonsteroidal anti inflamatuvar (NSAİİ) ilaçların analjezik etkileri lokal olarak salıverilen prostaglandinlerin sentezini bloke etmeleriyle, dolayısıyla, ağrı reseptörlerinin duyarlılaştırılmasını engellemeleriyle açıklanır. Diğer yandan opiyatlar, inflamatuvar hiperanaljezik durumlarda direkt etkiye sahiptirler. Sıçan

pençesine morfin veya asetilkolin injeksiyonu sonucu, ağrı reseptörlerinin sayısının azaltılmasının, L- arjinin-nitrik oksit - S-GMP yolağının aktivasyonuna bağlı olduğu öne sürülmüştür. Opiyatların analjezik etkilerine santral ve spinal olduğu kadar, periferik bir mekanizmanın da aracılık, ettiği bilinen bir olgudur. Ancak bu mekanizmanın moleküler temelleri yeni yeni ortaya konmaktadır. Sıçan pençe hiperaljezi testinde, asetilkoline bağlı analjeziye NG-s-GMP yolağının aracılık ettiği gösterilmiştir⁵³. Opiyatların ve asetilkolinin lokal etkilerinin benzerliğine bağlı olarak araştırmacılar L-arjinin-NG-s-GMP yolağının morfine bağlı periferik analjezide rolü olup olmadığını incelemişlerdir. Bir çalışmada, Randal-Sel itto sıçan pençe basıncı testinin bir modifikasyonu kullanılmıştır. Bu yöntemle, morfin analjezisinin L-NMMA, L-NIO veya metilen mavisini tarafından inhibe edildiği, MY5445 ile de potansiyelize edildiği gözlemlenmiştir. Sonuç olarak, nitratların anti-anjinal etkilerinin yalnızca vazodilatatör etkilerine bağımlı olmadığı, sGMP sistemin uyarılması yoluyla oluşan analjezik etkileriyle de ilintili olduğu yorumlanmıştır⁵⁰. Bir başka araştırmada dipiron ve mirseninin, deneysel olarak oluşturulmuş hiperaljeziyi, endojen s-GMP'yi stimüle ederek azalttıkları gösterilmiştir. Aynı çalışmada, L-NMMA ve metilen mavisinin bu analjeziklerin etkisini doza bağlı olarak ortadan kaldırdıkları anlaşılmıştır.

Sıçanlarda tail-flick refleksinin, N-metil-D-aspartat (NMDA) veya L-arjininin intratekal verilmesinden sonra hızlı ve doza bağlı olarak kolaylaştırıldığı gösterilmiştir. Aynı etki, D-arjininin intratekal uygulamasıyla elde edilememiştir, Diğer yandan tail-flick refleksinde, NMDA'nın neden olduğu maksimum fasilitasyonun önceden L-NAME veya metilen mavisini uygulanmasıyla tamamen ortadan kalktığı gösterilmiştir. Bu çalışma spinal nosisepsiyona endojen NO ve guanilat siklazın direkt katıldığı gösteren ilk çalışmadır⁵⁶. Serebellar nöronlarda sentezlenen NO'nun NMDA tipi glutamat reseptörlerinin etkisi altında sıçan beyinde ağrı mekanizmalarına karışabileceği anlaşılmıştır. Serebellar NO sentaz enziminin özellikle L-NAME tarafından inhibisyona son derece duyarlı olduğu öne sürüldüğünden Babbedge ve arkadaşları farede formaline bağlı pençe yalama testinde L-NAME ve L-NMMA'nın antinosiseptif etkilerini karşılaştırmışlardır. Bulgular SSS'de L-NAME ve L-NMMA'nın sitoplazmik enzimlere erişme yeteneklerinde veya enzim ile etkileşme

yeteneklerindeki bir farklılığı göstermektedir. L-NAME NO'nun santral biyolojik etkinliğini çalışmak için daha uygun biyokimyasal etkinliğe sahiptir. Intraserebroventriküler yoldan veya intraperitoneal yoldan verildiğinde belirgin antinosiseptif aktivite göstermiştir⁵⁸,

β -endorfin güçlü antinosiseptif özelliği olan bir endojen opioid peptiddir. İntraserebroventriküler yoldan verilen β -endorfinin μ -opioid reseptörlerini stimüle ederek mefenkefalin salıvermesine yol açtığı ve anti-nosispatif etki oluşturduğu bilinmektedir. Bu antinosiseptif etkinin L-arjinin tarafından güçlendirildiği, N-nitroarjinin metil esteri tarafından ise antagonize edildiği gösterilmiştir. Farede tail-flick cevabının β -endorfince inhibisyonu, önceden L-arjinin verilmesiyle ortadan kalkmaktadır. Ancak, morfin, enkefalin vs. gibi μ , α ve κ -opioid reseptör agonistlerinin oluşturduğu inhibisyon etkilenmemektedir⁵⁹. Ancak Kawabata ve arkadaşları, L-tirozinin suda çözülebilir şekli olan L-tirozin metil esterinin intraperitoneal yoldan verilmesinin tail-flick testinde doza bağlı antinosisepsiyona yol açtığı ve bu etkinin nalokson tarafından antagonize edilidiğini göstermişlerdir. L-tirozin metil esteri santral -opioid reseptörlerini aktive eder. L-tirozinin bu etkisi hem opioidlere, hem de L-arjinine benzer bir antinosiseptif etkidir. Çünkü L-tirozin bir endojen metenkefalin salı verici olan kyotorfin (L-tirozil-L-arjinin)in amino asid bileşenlerinden birisidir⁶⁰.

P maddesi güçlü ödem oluşturucu bir mediyatördür. Mast hücre aktivasyonu sonucu ortaya çıkar ve endotel hücrelerine mikrovasküler permeabiliteyi arttırmaya yönelik direkt etkiye sahiptir. Sıçanda P maddesinin oluşturduğu ödem üzerine, L-MAME ve L-NMMA'nın inhibitör etkili oldukları gösterilmiştir. Bu inhibitör etki, L-arjinin verilmesinden sonra tersine dönmektedir. D-NAME ise etkisiz bulunmuştur. Bu bulgular, endojen NO'nun, lokal olarak kutanöz kapillerlerde oluştuğunu ve mikrovasküler kan akımını arttırıcı etki yaptığını göstermektedir. Bu etki ise, inflamatuvar ödem oluşumunu düzenlemede endojen NO'nun rolü olduğunu ortaya çıkarmaktadır. Ancak araştırmacılar, NO'nun etki mekanizmasının bundan farklı olabileceği görüşünü de kabul etmektedirler⁶¹. Zaten deneysel olarak hayvan dokularında özellikle inflamasyon sırasında amonyak oksidasyonu sonucu ara ürün olarak NO

oluştugu kanıtlanmıştır⁶². NO, lipopolisakkarit veya sitokinler tarafından aktive edilen makrofajlarda da oluşur. Ayrıca karagenin gibi deneysel İnflamasyon oluşturucu maddelerin ve inflamatuvar mediyatörlerin (LTB₄.) polimorfo nükleer lökositlerden NO sentezi ve salıverilmesine yol açtıkları veya salıverilmesini arttırdıkları bilinmektedir. O halde, akut bir inflamatuvar reaksiyon bölgesindeki tüm koşullar NO oluşması için hazırdır. Bu durum, bu bileşiğe bir inflamatuvar mediyatör rolünü vermektedir. Gerçekten de L-NMMA ve L-NAME'nin sıçanlarda karageninle oluşturulan pençe ödeminde vasküler geçirgenlik artışı ve ödem oluşunu inhibe ettikleri gösterilmiştir. L-arjininin bu inflamatuvar cevapları arttırdığı ve LNAME ve L-NMMA'nın etkilerini ortadan kaldırdığı fakat D-arjininin bu etkileri oluşturmadığı gözlemlenmiştir. Bulgular, İnflamasyonun tipine ve seyrine bağlı olarak NO'nun akut İnflamasyon bölgesinde salıverildiğini ve bu ödem oluşumunu düzenlediğini kanıtlamaktadır⁶³.

II.1.3.3. Diğer Mediatörler

a) Peptid Yapılılar P Maddesi

P maddesi, ilk tanımlanan polipeptid yapıdaki nörotransmitter'lerden biri olup sinirsel dokuda geniş bir dağılım gösteren ama özellikle dorsal boynuz nöronlarında bulunan bir nörotransmitterdir^{1 6};

- Uygun nöronlar ve onların uçlarında mevcuttur,
- Bu nöron uçlarına taşındığı kanıtlanmıştır,
- Dorsal kök sinirlerin stimülasyonu ile salıverilir,

Spinal nöronlarda eksitatör etkisi vardır.

Ağrı prosesindeki rolü tam olarak bilinmemekle beraber ağırlı uyarıyı modüle ettiği kesinlikle saptanmıştır. Bu maddenin dorsal kök nöronlardan salıverilmesi ile ağırlı uyarıya neden olduğu, sinir hücrelerinde yavaş bir depolarizasyonla nöronları aksite ettiği öne sürülmektedir.

* Nörotensin

Ağrının regülasyonunda rolü olan bir beyin peptitidir. P maddesinin izolasyonu sırasında bir yan ürün olarak elde edilmektedir. Bu maddenin oluşturduğu analjezi opioid sistemlerle ilgili değildir¹⁹.

* Somatostatin

Sıçanlarda, spinal somatostatin uygulanmasıyla nosiseptif basınç eşiğinin arttığı gösterilmiştir. İyontoforetik uygulanan bu madde hem inhibisyon hem de fasilitasyon ortaya çıkarmaktadır¹⁵.

* Bombezin

SG'de bombezin bağlanma bölgeleri tanımlanmıştır, Spinal nöronları depolarize ederek, intratekal injeksiyon yoluyla sıçan ve farelerde ısırma ve tırmalama davranışlarına neden olduğu gösterilmiştir¹¹³.

* Bradikinin

Bradikinin nöronları hipotalamus içinde tanımlanır ve uzantıları yoluyla çevreye yayılır. Bradikinin, primer duyu sinirleri direkt olarak stimüle ederek veya hücre manibranlarında deformasyona neden olarak fosfolipazı aktive eder¹⁶, fosfolipaz, fosfolipidlerden arakidonik asit sentezlemesini sağlar ki, bu asit, bir seri enzimatik reaksiyonla prostaglandinlere dönüşür. Prostaglandinlerin sinir uçlarında aljezik etki oluşmasına neden oldukları düşünülmektedir¹⁶.

b) Amino Asit Yapılılar

* Glutamat

Glutamat, en yüksek konsantrasyonlarda primer duyu sinir dallarında yer alan bir nöroregülatördür. Glutamat, beyin sapı ve omurilik çekirdeğinden salıverilmekte ve postsinaptik nöronal membran reseptörlerini etkileyerek, hızlı depolarizasyona neden olmaktadır. Glutamik asit, kortikal fonksiyonu deprese eden bir nörotransmitter olan GABA'nın prekürsörüdür.

Glutamatm ağrı modulasyonundaki esas rolü henüz tam olarak aydınlatılmış değildir.

* Gama amino bütirik asit (GABA)

Farmakolojik çalışmalar GABAA ve GABAB olmak üzere 2 farklı GABA reseptörü olduğunu göstermiştir. GABA'nın sinir uçlarının depolarizasyonunu sağlayan presinaptik inhibitör etkili bir mediyatör olduğu, postsinaptik olarak da hiperpolarizasyonu inhibe ettiği düşünülmektedir. Yani GABA'nın, tıpkı opioidler gibi omurilik nöronlarında postsinaptik etki gösterdiği, ayrıca hiperpolarizasyon yapan diğer maddeler üzerinde selektif etkileri olduğu düşünülmektedir^{2,15,26}.

c) Beyin Monoaminleri

* Serotonin (5-hidroksitriptamin, 5HT)

5HT, beyindeki nöromediyatör ve nöromodülatör görevi etraflı olarak incelenmiş bir monoamindir^{24,64}. 5HT'nin hem santral hem periferik etkilerinin migren patofizyolojisinde rolü olduğu ileri sürülmüştür⁶⁵. Spinal düzeyde 5HT analjezisinde rol oynayan reseptör tipinin 5-HT-, reseptörleri olduğu gösterilmiştir⁶⁶.

Dorsal boynuz yüzeysel tabakaları serotonin yönünden oldukça zengin olup bu maddenin büyük bir kısmı beyin sapından türetilmektedir.

* Noradrenalin

Omurilik dorsal boynuzu, beyin sapından gelen noradrenerjik yolların inhibitör kontrolü altındadır. α -adrenoreseptör agonistlerinin sistemik ve intratekal injeksiyonu nosispetif cevapları deprese eder^{8,22}. Morfin analjesinde beyin sapından kaynaklanan desandan noradrenerjik nöronlar aktive olur ve NA biyosentez ve metabolizması hızlanır. Sıçan omuriliğinde α agonistleri ile oluşan analjezinin, P maddesi ile bloke edildiği ve noradrenerjik analjezinin P maddesi ile uzun süreli blokajının morfin ve nalokson ile ortadan kalktığı bildirilmiştir^{67,68}.

Beyin sapının PAG bölgesinde, NE salınımı morfin analjesini potansiyelize ediyor olabilir. Benzer şekilde NE salıverilmesi omurilikde aferent ağrı liflerinden motor nöronlara, dorsal köklere veya çeşitli spinal çıkan yollara irmpuls iletimini inhibe ediyor olabilir¹⁶.

* Dopamin

SSS'nde yaygın olarak bulunan bir katekolamindir. Dopaminergic mekanizmalar ağrıyı modüle edici bir role sahiptirler. Dopaminin intraserebral enjeksiyon yoluyla uygulanmasında morfin analjesini arttırdığı gösterilmiştir. L-dopa uygulaması ise ağrının artmasına yardım etmektedir.

• Asetilkolin

Astilkolinin endojen opiyat sistemle etkileşim içinde, hiperaljezik aktive ortaya çıkardığı gösterilmiştir¹⁶. Asetilkolin ve türevleri SSS'ne uygulandıklarında antinosiseptif etkiye sahip oldukları görülmüştür⁸.

II.1.4. Analjezik Aktivite Tayin Yöntemleri

Ağrı, insanlarda gerçek veya muhtemel bir doku zedelenmesinin eşliğinde, hoş gitmeyen duymusal veya duygusal bir olgu olarak tamamlanmıştır. Hayvanlarda ise, hayvan olguyu sözle ifade edemediğinden ağrının kelimesi kelimesine tanımlanması olanaksız olup, fizyolojik veya davranışsal değişikliklerden hareketle hayvanda ağrı varlığından sözedilebilir. Hayvanlarda, ağrıyı nicel ve nitel olarak sözle tanımlama yeteneği olmamakla birlikte, aynı veya benzer ağrı uyarılarında insanlarda oluşan motor davranış ve fizyolojik cevapların aynılarını sergi lerler ⁶⁹ .

Ağrı tanımlanması ve ölçülmesi çok zor olan bir prosestir. Ağrı, acı veren bir uyarıya, insan ya da hayvan organizmasının rahatsız edici bir durum bulunduğu şeklinde karşıt uyarı biçiminde oluşturduğu yanıt olarak algılanır⁷⁰.

Analjezik aktivite tayin yöntemleri, tayin edilen ilacın tipine göre şu şekilde kategorize edilir;

- i) Narkotik analjeziklerin tayin yöntemleri
- ii) Narkotik olmayan analjeziklerin tayin yöntemleri.

Bu yöntemler, hayvanlarda kullanılan uyarım tipine göre ise 4 kategoriye ayrılır;

- i) Mekanik uyarı testleri
- ii) Termal uyarı testleri
- iii) Elektriksel uyarı testleri
- iv) Kimyasal uyarı testleri⁷⁰ .

Bir davranış incelenmesi modelinde kullanılacak ağrı oluşturunca uyarının seçimi son derece önemlidir. Bu uyarıcının sahip olması gereken nitelikleri şöyle sıralayabiliriz;

- i) Uyarıcı ile doğal, hızlı başlayıp hızlı seyreden, sayılabilmesi odası bir uyarı oluşmalıdır,
- ii) Uyarı, primer aferent sinir liflerinin sınırlı gruplarını eksite etmeli ve acılı uyarının bulunduğu bölgede yalnızca tercihli olarak duyarlı olan reseptörleri aktive etmelidir.
- iii) Acı veren uyarı, ağrı duyarlılık bölgesinde doku hasarına neden olmamalıdır⁶⁹ .

II-1.4.1. Narkotik Analjezikler için Analjezik Aktivite

Tayin Yöntemleri

a) Mekanik Uyarı Testleri

En yaygın ve eski olanı kuyruk sıkıştırma (Tail- clip) testidir. Bu yöntem yüksek merkezlerle ilgili, refleks mekanizmaları da içermesi bakımından tercih edilir. Bu testte, bir grup fareye test maddesi belli dozda subkutan veya

intravenöz yoldan enjekte edilir. Yarım saat sonra hayvanların kuyrukları bir arter pensi ile 30 sn süreyle sıkıştırılır. Analjezik madde uygulanmamış hayvalarda, geriye dönme, canını acıtan pensi yerinden çıkarmaya çalışma şeklinde bir tavır gözlenir. Analjezik uygulanmış hayvan grupları ise farklı tavır içinde olmaktadır¹.

Mekanik stimulus, sıçan ayağının inflamasyonsuz plantar yüzeyine uygulanan basıncın ölçümünün de yapılabildiği ikili bir şırınga sisteminin pistonu ile basınç uygulama şeklinde de gerçekleştirilmektedir . Kaudal basınç testi olarak adlandırılan bu yöntemle oluşturulan ağrıya hayvan ciyaklama veya çırpınma şeklinde cevap verir⁷¹. Bu tip testlerde narokotlk analjezik bileşikler, ciyaklamanın oluşması için gereken basınç miktarını yükseltici (ağrı eşik düzeyini artırıcı) bir etki göstermektedirler⁷⁰. Kaudal basınç testi günümüzde beyin stimilasyonu, stres veya oplolderln mikroenjekslyonu ile oluşan ağrının değerlendirilmesinde kullanılmaktadır⁶⁹.

b) Termal Uyarı Testleri

Bu tip testlerin çoğu hayvanın sıcak bir yüzey üzerine yerleştirilmesi veya kuyruğunun sıcak likit banyosuna daldırılması esasına dayanmaktadır.

Hot-plate adı verilen sıcak yüzey kullanma yöntemi en eski yöntemlerden bir olup 1944'te Woolfe ve MacDonald tarafından tanımlanmıştır. Eddy ve Lelmbach tarafından modifiye edilmiş olan bu testte ısının 55°C'de tutulduğu ve morfin ve diğer narkotik analjeziklerin analjezik aktivite™ lerinin.bu biçimde tanımlandığı gösterilmiktir. Bu yöntemde sıcaklık, aseton veya etil formatlı çözeltiyle 55°C'de sabitleştirilerek farelerin reaksiyon verme zamanı ölçülmüştür. 1974'te Anker tarafından, nonnarkotik analjeziklerin de bu yöntemle 50°C'lik hot-plate'te zayıf bir etkileri saptanmışsa da bu sonuçlar çok varyasyon göstermiştir⁷².

Bu yöntemle termal uygulamaya farelerin davranış cevabı, ayağını yalama veya aparattan dışarı atlama seklinde olmaktadır. Bunun dışında zıplama, cifte atma ya da danseder gibi rahatsızlıklarını belli eden hareketleri de kaydedilmiştir¹.

Bu testin farede asetilsal isilik asit ve parasetapol gibi, sıçanda ise parasetamol gibi zayıf analjeziklere duyarlı olduğu gösterilmiştir⁷².

Sıçan kuyruğunda "maksimum tolere edilebilen sıcaklık testi" de kullanılan termal yöntemlerden biridir. Bu testin temeli sıçanın kuyruğunun, bir termostat, vasıtasıyla ısısı sürekli arttırılan likit banyoya daldırılmasıdır. Hayvanın bu uyarıya cevabı kuyruğunu çekme şeklinde olmaktadır. Bu metotta, kuyruğu çekme sıcaklığı ve kuyruğu çekme zamanı ölçüm faktörü olarak saptanmakta, hayvanın kuyruğunu banyodan geri çektiği anın kaydedilmesi ile maksimum tolere edilen sıcaklık belirlenmektedir⁷³.

Yeni bir analjeziyometrik prosedür de "tavşanın kulağını çekme testidir. Tavşan kulaklarının radyant ısıya cevaben hızlı, kısa süreli veya sürekli bir hareket göstermesi ve bu hareketlerin poligrafta kaydedilmesi esasına dayanır.⁷⁴

c) Elektriksel Uyarı Testleri

1962'de Evans, 1964'te Evans ve Berger bu yöntemle sıçanda bir ürkeklik ve sıçrama saptamışlardır. 1968'de watzman ve Buckley tarafından albino farelerde denemiş olan yöntemde sürekli artan güçteki elektrik stokları hayvanın ayaklarına uygulanır. Sürekli artış gösteren akım, cevap görülme eşiğine kadar sürdürülür. Eşik, arka ayaklarda tonik gerilme veya atlayıp sıplamanın oluşmasını sağlayan minimum voltaj olarak tanımlanmıştır. Morfin 5 mg/kg dozda subkutan uygulandığında kontrol grubunun eşiğini 220 volt'tan 317 volta yükseltmiştir⁷¹.

Biri elektriksel stimülasyon testi de 1961'de weitzman ve 1962'de weitzman ve Ross tarafından, Rhesus maymunların gasserian genglionları üzerine elektrotlar vasıtasıyla artan şiddette elektrik verilmesi şeklinde uygulanmıştır. Bu uygulamada, bir levyeye basmaya eğitilmiş olan hayvanın bu basma hareketi ile her basışında bir adım olmak üzere stimulus gücü düşmüştür. Bu yolla tolere edilen elektriksel uyarılma düzeyi saptanmış, morfin bu tahammül edilen uyarı düzeyinde artış oluşturmuştur⁷⁰.

Çene kaslarından elektromyografik kayıt yapmak yoluyla çene açma refleksinin, ölçülmesine dayanan ve 1964'te Mitchell tarafından

gerçekleştirildiği bildirilen davranış ölçüm testinde elektriksel stimülasyon dişe uygulanmıştır. Bu basit refleks testleri, hayvanların maruz kaldıkları ağrı düzeyini kontrol edebildiklerini göstermiştir⁷⁰.

Mekanik, elektriksel veya termal tipteki her stimülasyonun, öncelikle kutan bölgeler olmak üzere vücut yüzeyinin çeşitli bölgelerine nispeten yüksek güçte uygulanmasının ağrı doğurduğu gösterilmiştir. Uyarı genellikle supramaksimal ve güçlü nosiseptif nitelikte olmaktadır.

II.1.4.2. Nonnarkotik Analjezikler için Analjezik Aktivite Tayin Yöntemleri

a) Kıvrınma-Kramp Sendromu (Writhing) Testi:

Abdominal kıvrınma, nonnarkotik analjeziklerin aktivitelerinin aydınlatılması için en yaygın olarak kullanılan, rodentler için karakteristik bir ağrı testidir. Writhing, kimyasal bir uyarı ile oluşan, hayvanda bir gerinme, karnın içeri çekilmesi, gövdenin bir yana yatması, arka ayağın çekilmesi ve karnın yere değmesi (op istotorçus) şeklinde tanımlanan bir kıvrınma hareketidir. Her kıvrınma hareketi bir pozitif cevap olarak kaydedilir. Bu metot, aynı zamanda bu grup ilaçların pik aktiviteye ulaşma zamanlarının saptanması için de kullanılır^{1,75}.

Kıvrınma sendromunun ortaya çıkması analjezikler ve stimüle edici dozlarda antihistaminiklerle engellenmektedir.

Bu metotta genellikle p-benzokinon ağrı oluşturunca kimyasal olarak intraperitoneal yoldan uygulanmaktadır. Intrevenöz ve subkutan uygulanması writhing oluşturmamaktadır⁹⁴. P-benzokonin uygulanması, aktivitesine bakılacak olan analjezik maddenin subkutan uygulamasından 30 dk. sonra yapılır. Kıvrınma enjeksiyondan 3-10 dk. sonra başlayıp, 1 st veya daha fazla devam eder.

Asetik asit veya fenilkinon gibi kimyasallarla oluşturulan kıvrınmaya karşı analjezik koruma metodu geniş kullanım sahasına sahiptir. Asetik asidin %1-2-3'lük konsantrasyonları ile oluşturulan abdominal kıvrınma, enjeksiyondan

5 dakika sonra başlamakta, 30 dakikada pik düzeye ulaşmaktadır ve uygulamadan 120 dakika sonraya kadar bile sürebilmektedir. Asetik asidin intraperitoneal uygulamasını takiben oluşan kıvrınma sonrası periyotta, lokomotor aktivitenin depresyonu ortaya çıkmakta ve bu durum narkotik ve nonnarkotik analjeziklerle antagonize edilmektedir⁷⁶.

Değişik maddelerle elde edilen abdominal kıvrınma cevaplarının varyasyonlar gösteriyor olmasına rağmen anti inflamatuvar analjezik aktivitenin karakterize edilmesinde bu model son derece kullanışlıdır⁷⁰.

Farede kıvrınma modelinde, oluşan ağrının bradikinin aracılığı olduğu gösterilmiştir. Bradikinin, biyolojik aktif bir nonapeptid olup doku hasarı veya acı veren stimulasyon sonucu salınır ve vazodilatasyon, ödem ve ağrı oluşturur, Kininaz I ve II'nin inhibe edildiği kıvrınma modeli çalışmaları kimyasal irritanın uygulanmasını takiben, bradikinin salınması ile ağrı cevabında bir artma ve ağrı süresinde uzama oluştuğunu göstermiştir⁷⁷. Bradikininin, intradermal, intraarteriyel ve intraperitoneal uygulanmasını takiben ağrı oluşturduğu da deneysel olarak gösterilmiştir⁸.

II.2. HİSTAMİN VE ANTİHİSTAMİNİKLER

Endojen polipeptidler, prostaglandinler ve lökotrienlerle birlikte, "otakoidler" veya "lokal hormonlar" olarak adlandırılan gruba dahil bir biyolojik aktif amin olan histamin, allerjik ve inflamatuvar reaksiyonların önemli bir mediyatörü olmasının yanında gastrik asit sekresyonunda da önemli bir role sahiptir. Santral sinir sisteminde nörotransmitter olarak bir fonksiyon gösterdiği de ortaya çıkarılmıştır^{78,79}.

II.2.1. Kimyasal Yapısı ve Sentezi

Histamin (HA), 2-(4 -imidazol) etilamin'dir. HA, memelilerin dokularında, bir amino asit olan L-histidinin, histidindakarboksilaz (HDC) enzimi katalizörlüğünde dekar- boksilasyonu ile oluşur. Bu reaksiyon kofaktör olarak ' piridoksine gereksinim gösterir. Oluşan histamin ya depolanır ya da çabuk olarak inaktive edilir⁷⁸.

Histamin, bir imidazol halkası ve 2 metilen grubu taşıyan bir amino gruptan oluşur. Hidrofilik bir yapıya sahiptir. Tüm histamin reseptörlerinde farmakolojik aktivite gösteren histamin biçimi, monokatyonik N-H tautomeridir. 3 tip histamin reseptörü değişik histamin analoglarıyla aktive olabilmektedirler. Buna göre 2-metilhistamin 1-histamin tercihan H_1 reseptör aracılığıyla cevaplar oluştururken, 4 (5)-metilhistaminin, H_2 reseptörler üzerinde tercihli bir etkisi söz konusudur. (R) α -metilhistamin ise H_3 reseptörleri için özgün bir histamin analogudur⁷⁹.

1907'de sentezi yapılan histamin, ilk defa 1927'de Dale ve arkadaşları tarafından memeli dokularından izole edilebilmiştir. Bu da, HA'nın vücudun normal yapısal bir maddesi olduğunu göstermiştir. Zaten histaminin adım aldığı örek kökenli "histos" sözcüğü de doku anlamına gelmektedir^{78,80}.

Kwiatkowski, beynin gri maddesinde, beyaz maddeye oranla daha fazla HA konsantrasyonu saptamış, White da, bu aminin lokal sentezinin beyinde olduğunu ortaya çıkarmıştır. Histaminin kandan beyine oldukça zayıf bir geçişi olması nedeniyle lokal olarak sentezlenmek zorunluluğu vardır. L-histidinin (HIS) kedilere, sıçanlara veya farelere uygulanmasını takiben, beyinde in vivo radyoaktif histamin oluşumu gösterilmiştir. Histaminin biyosentezi; HIS'in hücre içine taşınması, ve bu maddenin HDC ile dekarboksilasyonu olmak üzere iki basamaktan oluşur^{78,80}.

Histaminin içeren tüm memeli dokuları, HDC aracılığı ile histidinden histamin sentezi eme kapasitesine sahiptir. Histamin pekçok dokuda mast hücreleri ve kanda ise bazofillerde öncelikle depolanırlar. Bu hücreler histamin desentezlerler⁷⁹.

Gastrointestinal sistemde bakteriyel aracılıklı olarak oluşan histamin hızla metabolize olur ve idrarla elimine edilir⁷⁹.

Histamin, hayvansal dokularda olduğu gibi bitkilerde de oluşur. Bu madde bazı venomların ve sokucu hayvan sekresyonlarının içeriğinde yer alır⁷⁸.

II.2.2. Etki Mekanizması

Histamin biyolojik etkisini, yüzeysel membran veya içinde yerleşmiş olan spesifik reseptörleri üzerinden gösterir. Değişik karakterde 3 tip histamin reseptörü vardır. Bunlar H₁, H₂ ve H₃ reseptörler olarak adlandırılırlar. Endotel ve düz kas hücrelerinde bulunan H₁ reseptörlerin aktivasyonu ile fosfoinozitol hidrolizinde bir artışla beraber intraselüler kalsiyum düzeyinde yükselme ortaya çıkar. Gastrik mukoza, kalp kası hücreleri ve bazı immün hücrelerdeki H₂ reseptörlerin uyarısı ise intraselüler sAMP düzeylerinde bir artışa öncülük eder. H₃ reseptörleri ise SSS'nin çeşitli bölümlerinde var olup uyarılmalarıyla histaminerjik nöronlardan histamin salımında azalma görülür. Bu azalmanın Ca²⁺ influksunda azalma aracılığı ile olması muhtemeldir^{78, 79}.

Hücre yüzeyindeki H₁ reseptörlerin intraselüler kalsiyum iyonları düzeyinde artışla cevaplanan uyarısının mekanizması şu şekilde izah edilmektedir; Dokuların çoğunda H₁ stimülasyonu sonucu fosfatidilinozitol-4-5-bisfosfat'ın hidrolizi yoluyla inozitol-1,4,5-trifosfatın (IP₃) ve 1,2-diasilgliserol oluşur. Inozitol-1,4,5trifosfat hücre içine salınması, intraselüler kalsiyum depolarından mobilizasyona neden olur. Membran ortamı içinde tutulan 1,2-diasilgliserol, protein kinaz C'yi aktive eder. Pekçok dokuda inozitol- 1,4,5 trifosfattan inozitol-1,3,4,5- tetrafosfat oluşur. Bu molekül, kalsiyum içeri girişini kontrol edici bir role sahip olup intraselüler depoların tekrar dolmasını sağlar. İntraselüler kalsiyumun bu artışı sonucu hücrede karakteristik cevaplar meydana gelir^{80,81,82}. H₁ reseptörlerinin aracılık ettiği histamin etkileri barsak düz kasında kontraksiyon, bronkokonstriksiyon ve H₂ reseptörlerinin de katılımıyla kardiyovasküler sistemde sistolik ve diastolik kan basıncında düşme, kalp hızında artış ve bu kan basıncındaki değişiklik sonucu arteriol ve prekapiller sfinkterlerde direkt vazodilatasyon olarak sıralanabilir. Histaminin indüklediği vazodilatasyon, en azından kısmen EDRF salınması aracılığı ile olmaktadır. Histaminin duyu sinirleri uçlarına kuvvetli stimulan bir etkisi olduğu ve bu etkinin de H₁ reseptörler üzerinden olduğu gösterilmiştir. Histaminin bu stimulan etkisi, böcek sokmalarıyla oluşan ürtiker cevaplardan sorumludur^{78, 81}. Histaminin bu etkileri, reseptörce çalıştırılan Na⁺, K⁺ ve Ca²⁺ iyonlarına geçirgen iyon kanallarını

açarak depolarizasyon ve voltaj bağımlı Ca^{+} kanal aktivasyonu ile oluşturuyor gibi görünmektedir⁸¹.

Histamin, pekçok hücrede s-AMP'nin güçlü bir stimülamdır. Bu etkisi kısmen SSS'nde de gösterilmiştir. Farmakolojik çalışmalar bu etkinin H^2 -reseptörler üzerinden olduğunu göstermiştir. Hücre membranının adenil siklazının, H^2 -reseptör aktivasyonu ile direkt stimülasyonu kobay kalp kasında ve beyinde gösterilmiştir. Kalp, mide gibi H^2 -reseptör aracılıklı biyolojik cevapların olduğu pekçok dokuda aynı zamanda, seçici olarak H^2 - reseptöre bağlanmış histamin duyarlı adenilat siklaz karakterize edilmiştir. Siklik AMP tarafından taklit edilen ve fosfodiesteraz inhibitörleriyle potensiyeye edilen birçok H^2 - reseptör aracılıklı s-AMP'nin H^2 - reseptörlerde histaminin universal ikinci taşıyıcısı olduğu gösterilmektedir. H^2 - reseptör aracılıklı histamin etkilerinin çoğu, s-AMP'nin (siklik adenosin-3',5'-monofosfat) artmış düzeylerinin katkısıyla oluşmaktadır. Kalsiyum ve s-AMP, reseptör işgali ve son etki arasında bir intraselüler ikinci taşıyıcı fonksiyonu göstermektedirler. Fizyolojik cevaplar, fosfodiesteraz tarafından s-AMP inaktivasyonu sonucu ortadan kalkmaktadır^{80,81,82}.

Bu mekanizmalar yoluyla, H^2 -reseptör aracılıklı histamin etkilerini genel olarak şöyle sıralayabiliriz:

- Kalp kasında pozitif inotrop ve kronotrop etki,
- Düz kaslarda gevşeme,
- Gastrik asit sekresyonunun düzenlenmesi,

Eskiden hipersensitivite reaksiyonlarının aracı bir mediyatörü olarak bilinmesine rağmen yakın araştırmalar, histaminin, immün cevapların modülatörü olarak bir role sahip olduğunu öne sürmektedir. Histamin, H^2 -reseptörler üzerine etkiyle bazofil kemotaksizini ve gerek bazofiller gerekse mast hücrelerinden kendi salıverilmesini inhibe edebilmektedir^{80,81,82}.

II. 2.3. Nosispetif Yanıtların Kontrolünde Histaminerjik Nöronların Rolü

Son yıllardaki deneysel araştırmalardan elde edilen bilgiler, SSS'deki histaminerjik nöronların ağrının kontrolünde rol oynadığına işaret etmektedir⁸⁰⁻⁸⁴.

Sıçan veya farelere intraserebroventriküler yoldan uygulanan histamin, H₂ reseptörlerini aktive ederek kıvrınma (writhing) veya sıcak plak (hot-plate) test teknikleriyle oluşturulan nosispetif cevapları zayıflatmaktadır. Histaminin dorsal rafe nöronlarına injeksiyonu da benzer bir etki gözlenmiştir. Ağrı algılanmasının histaminerjik kontrolünün, nosispetif kontrolde rolü olan mezensefalik periventriküler gri madde ve omurilik dorsal boynuzunun dış tabakalarındaki H₁ ve H₂ reseptörleriyle ilintili olması olasıdır⁸⁴. Bununla birlikte H₁ reseptör antagonistleri ile yapılan çalışmalar bu mekanizmaya açıklık getirememiştir⁸³. Bu sınıftan bazı bileşikler histaminin kendisi gibi supraspinal düzeyde antinosiseptif aktivite göstermişler, ancak spinal düzeyde tail-flick test tekniğinde etkisiz bulunmuşlardır. Ek olarak, bu bileşikler H₁, reseptörleri yanında muskarinik ve serotoninerjik reseptörleri ve monoamin uptake sistemlerini de bloke etmektedirler. H₂ antagonist ve agonistleri, yüksek dozda intraserebroventriküler yoldan uygulandıklarında, antinosiseptif cevaplar oluştururlar. Ancak bir H₃ antagonisti olan tiyoperamidin, farelerde nosispetif yanıtlarda bir değişiklik yapmadığı gözlenmiştir.

Strese bağlı antinosisepsiyonun oluşmasında, bu etkinin HDC inhibitörü α -FMH veya H₁-antagonisti difenhidramin ile inhibe olması nedeniyle beyin histamininin bir rolü olduğu kabul edilmiştir. Ancak simetidinle bu inhibisyon sağlanamamıştır. Bununla birlikte başka araştırmacılar ise simetidin ve beyine geçebilen zolantidin gibi H₂ antagonistlerini etkili, H₁ antagonisti olan klorfeniramini ise etkisiz bulmuşlardır.

Morfin, histamin veya t-MeHA (t-meti1-histamin) düzeylerini etkilememekte fakat fare beyinde HA turnoverini arttırmaktadır. Bununla birlikte reseptör antagonistleri ve bir HDC inhibitörünün etkileri, beyin histamininin morfin analjezisindeki rolünü doğrulamamaktadır.

II.2.4. Antihistaminiklerin Analjezik Etkileri ve önerilen Mekanizmalar

1939'lara kadar olan deneysel bulgular, histaminin kutan ağrı mediyatörü olabileceğini ileri sürmüştür. Hayvan deneylerinde, antihistaminiklerin subakutan uygulanmasını takiben hayvanlarda kısırtma, iğneleme kesme gibi uyarılarla ağrısız cevap oluşmadığı gösterilmiştir⁸³. Prometazin ve prilaminin köpeklere intratekal uygulanması, spinal anestsizik bir etki oluşturmuştur. Bunu izleyen yıllarda, antihistaminik ilaçların büyük bir kısmının lokal anesteziye sahip olduğu gösterilmiştir. Antihistaminikler, diş çekiminde, korneal cerrahide, dış kulak iltahabında, boğaz ağrısında, hemoroidde, ayrıca gastroskopi, Uretral katerizasyon gibi işlemlerde ve arı sokmasında lokal anestezi amaçla kullanılmıştır^{88,85}.

1946'da Dews ve Graham, antihistaminiklerin ilk antinosiseptif araştırmasını gerçekleştirmiş ve prilaminin sıçanda 12 mg/kg dozda hafif analjezik etki, 100 mg/kg dozda ise narkotik sayılacak kadar kuvvetli bir analjezik etki oluşturduğunu göstermişlerdir.

Yapılan çalışmalarda, H-antagonistler ile hayvan analjezimetresi çelişkili sonuçlar doğurmuştur. Pekçok çalışma, antihistaminiklerin analjezi oluşturma olasılığı veya arabuluculuk fonksiyonuna işaret ederken, bazıları ise bunların gerçekte analjezik antagonist olduklarını düşündürmüştür. Cins, tür, ırk, beslenme, yaşam koşulları, günlük siklus, sosyal faktör ve stres gibi faktörlerin göz önüne alınmamış olması çalışma sonuçlarının yorumlanmasını güçleştirmiştir¹⁰².

Çalışmaların çatışan sonuçları;

- Ağrı prosesinin çok çeşitli değişik uyarıyla oluştuğuna,
- Çeşitli sistemlerin, ağrı mekanizmasını karışık yollardan modüle ettiğine işaret etmiştir⁸³.

Hidroksizinin geniş bir doz aralığında, "termal kap", "hot plate", "asetik asit writhing" ve "tail pinch" testlerinde etkisi gösterilmiş, "tail-shock" metodu ile ise yüksek oranda uyumsuz sonuçlar elde edilmiştir^{86,87}.

Tripelenaminin düşük dozlarıyla analjezik etki görülmemiştir⁸⁹, fakat 11 mg/kg veya üzerindeki dozlarında, "hot-plate" ve "tail-pinc" modellerinde analjezik etkisi ortaya çıkmıştır⁸⁹.

Difenhidramin'in düşük dozda intravenöz uygulanması ile "elektriksel diş uyarı" ve "fenilbenzokinin kıvrınma" modellerinde analjezi oluşturduğu kaydedilmiştir⁸³. Bu maddenin 20 mg/kg ve üzerindeki dozları da "kuyruk şoku", "hot-plate" ve "elektriksel uyarı" metodlarında etkili olmuştur. Fakat, "kuyruğa fiske vurma", "kuyruk sıkıştırma" ve "termal kap" çalışmalarında etkisiz olduğu bildirilmiştir⁸³.

Klorfeniramin, orfenadrin, prometazin vs prilamin standart testlerin iki veya daha çoğunda analjezik, aktivite göstermişlerdir⁸⁵.

Antazolin ve sinarizin, elektriksel diş uyarısı yöntemiyle tavşanda, siproheptadin kuyruk sıkıştırma yöntemi ile sıçanda, sikilzin hot-plate yöntemiyle sıçanda ve simetidin, kuyruk sıkıştırma, kıvrınma yöntemleriyle farede analjezik etki oluşturmamışlardır^{88, 89}.

Langfort, ağırlı pençe ödeminin oluşturduğu hareket yeteneğinde azalmaya dayanan objektif bir yöntemle yaptığı çalışmada, ağırlı uyarının oluşturduğu bu cevabın giderilmesindeki orfeniraminin aspirinden yaklaşık 23 kez daha potent olduğunu gözlemlenmiştir⁹⁰.

Sıçanlarda intraserebroventriküler enjeksiyonla "hot-plate" test tekniğinde dimaprit ve 4 mst-HA'nın ağrı eşiğini anlamlı olarak yükselttiği, dimaprit analogu olan SKF 91487'nin etkisiz olduğu bulunmuştur. Hg-antagonistlerinden simetidin ve ranitidinin de, ağrı eşiğini yükselttiği, ancak bu etkinin spesifik H₂ reseptör blokajına bağlı olmadığı saptanmıştır⁹¹.

Histaminerjik ve seratoninerjik santral yolların nosisepsiyonda rolü olduğunu ve antihistaminiklerin bunların cevaplarını modüle edebildiğini gösteren çok sayıda bulgu mevcuttur. Antihistaminiklerin, analjezik etkisi için önerilen birçok mekanizma spekülâtif kalmaktadır. Bu maddelerin histaminerjik sistemlerle, sempatik sinir sistemi biyolojik aminleriyle, bradikinin, prostaglandin, P maddesi ve opioidlerle ve ayrıca sGMP ve sAMP ile etkileşmelerinin analjezik etkiye neden olabileceği öne sürülmektedir^{83,92}

II.2.4.1. Santral Mekanizmalar

a) Opioidlerle Etkileşme (Spesifik)

Endojen opioidlerin, gerek nosisepsiyonun kontrolü ve modülasyonuna ve gerekse çeşitli ilacın antinoseptif etkisine katıldığına dair güçlü bulgular mevcuttur. Pekçok çalışmada, antihistaminiklerle opioid analjesinde güçlenme olduğu gösterilmiştir. Bunu, anti histaminiklerin, opioidlerin opioid reseptörlere allosterik bağlanma ortamı hazırlıyor olmaları veya H-antagonistlerinin opioidleri, nonspesifik reseptörlere bağlanma yerlerinden ayırıp, spesifik opioid reseptörlerine bağlanabilecek opioid düzeylerine yükseltiyor olabilecekleri şeklinde açıklayan iki teori mevcuttur. Kobay ileumunda yapılan çalışmalarda çeşitli anti histaminiklerin opioid reseptörlere afinite gösterdikleri belirlenmiştir⁹³.

Opioidlerle antihistaminikler arasındaki etkileşimin davranışsal olduğu saptanmıştır. Sıçanlarda yapılan çalışmalarda, tripelenaminle, pentazesinin morfin benzeri sübjektif etkilerinin güçlendiği ve pekçok H₁ -antagonistinin, morfin, kodein ve fentanil etkileri üzerine bir antikataleptik etki oluşturduğu gösterilmiştir. Beyindeki histamin ve H₁, H₂reseptörlerinin morfine tolerans ve fiziksel bağımlılık gelişmesinde rol oynadıklarını gösteren pekçok çalışma bulgusu mevcuttur. Bunlardan biri de maymunlarda çalışılmış olup, bu çalışmada, difeniramin ve tripelenaminin hayvanda ilaç-arayıcı davranış kalıbını oluşturduğu saptanmıştır. Bu maddeler giderek, ödüllendirici beyin uyarı (öforijenik etki) eşiğini de düşürmüşlerdir^{94,95}.

Kronik morfin ve metadon tedavisi sonucunda, sıçanların hipotalamus, beyin kökü ve serabralkorteks histamin konsantrasyonlarında anlamlı bir azalma gösterilmiştir.

Bunların yanında anti histatminiklerin opioid mekanizma ile etkileşmediğine işaret eden pekçok çalışma da mevcuttur. Saf antagonist olan nalokson, antihistaminik analjesini güçlendirmiş, tripelenaminin yüksek dozlarıyla oluşturduğu etkisini bloke etmiştir. Tripelenamin, pentazosinin morfin yoksunluk veya bağımlılığı üzerindeki inhibitör etkisini arttırmamıştır. Ha antagonistlerinin morfin analjesini bloke ettiği, Ha agonistlerinin ise, antihistaminik anajeziyi arttırdığı, fakat morfin analjezinde bu artışı sağlamadığı gösterilmiştir. Bu veriler, antihistaminiklerin, endorfin salınması sonucunda veya opiyaterjik reseptörler aracılığı ile antinosiseptif etki gösterdiklerini ileri süren teoriyi desteklememektedir. Fakat Havdala tarafından ortaya atılan ve antihistaminiklerin, analjezi oluşturmada en az iki ayrı sistem üzerinden etki yaptıklarına dair görüş bu verilerden az da olsa destek bulmaktadır. Hanig ise antihistaminiklerin yeni bir opioid benzeri etkiye sahip olmaları veya morfin için opiyat reseptörden ayrı bir ek reseptör yerinin varolması olasılığını öne sürmüştür⁸³.

Opiyaterjik etkilerin, antihistaminikler tarafından güçlendirilmesinde değişmiş dağılım faktörlerinin de katkısı bulunabileceği olasılığı da araştırılmış, sonuçta, literatür açısından karsıt, çatısmalı sonuçlar ortaya çıkmıştır. Vadlamani ve arkadaşları, morfin-tripelenamin almış hayvanlarda, yalnızca morfin alan hayvanlardan daha yüksek bir beyin-plazma morfin konsantrasyonu saptamışlardır. Bluhm ve arkadaşlarının çalışması ise, bunu olurlayıcı bir öneriyle sonuçlanmamıştır. Bu çalışmada, narkotiklerle, antihistaminiklerin eş zamanlı uygulamasının, antinosiseptif etki süresinde artış yaptığı gözlemlenmiş, ancak Bluhm, antihistaminiklerle, opioid analjezinin başlama eğilimi ve süresinde bir değişiklik görülmediğini belirtmiştir. Diğer araştırmacılar, farmakokinetik etkileşmeye işaret eden sonuç elde edememişlerdir. Antihsitamin iklerin metabolizmayı inhibe ediyor veya analjeziklerin dağılımını değiştiriyor olması

olasılığı, antihistaminiklerle görülen analjezik etkiyi açıklamaya yeterli olamamaktadır⁸³.

b) Histaminerjik Etki (non-spesifik)

Schwartz ve diğer araştırmacıların SSS'ndeki histamini aydınlatmaya yönelik bulguları ışığında, histaminin santral bir nörotransmitter olduğu bilinmektedir. Histaminin, bu sistemde, yüksek oranda sentezlenir, spesifik nöronal sistemlerde tutulur, depolar izasyonla salıverilir, hedef sinirlerin aktivitesini etkiler ve spesifik bir enzim tarafından inaktive edilir⁸⁷. Histaminin, hem santral hem de periferik sinir sistemlerindeki fizyofarmakolojik rolü henüz çok az anlaşılabilmektedir. Telensefalon, talamus, ortabeyin ve hipotalamusta yüksek düzeyde histaminerjik aktivite varlığı ve nöronal histamin çevrim (turnover) oranında bölgesel farklılıklar olduğu sıklıkla gözlenmiştir⁸³.

Histaminin Nosiseptörleri uyurabildiği ve primer aferent sinirlerde tanımlanmış olan reseptörleri bilinmektedir. Vestibular sinir polisinyaptik nöronları sinaptik iletiminin, difenhidraminle inhibe olduğuna dair bulgular bulunmaktadır⁹⁸.

Serebral bölgede, H₁ reseptörlerinin tanımlanmış olması yanında, beyin dokularının diğer histamin reseptörlerini de içerdiği düşünülmektedir. Arrang, sıçan serebral korteksinde, daha önce karakterize edilen H₁, ve H₂'den farklı sınıftan reseptörler aracılığıyla bir etkiyle histaminin kendi salıverilmesini inhibe ettiğini göstermiştir. Elektro- fizyolojik çalışmalar ve bağlama çalışmaları farklı histaminerjik mekanizma ile H₃ reseptör varlığını öne sürmüştür. SSS'deki bu yeni histaminerjik mekanizma ile ilgili bir çalışmada da histaminle oluşturulan tidal solunum hacmi artışının, difenhidraminle antagonize edilemediği gözlemlenmiş ve histaminin nosiseptif ve diğer etkilerinin, bu farklı histaminerjik mekanizma ile ilişkili olabileceği önerilmiştir⁸³.

c) Sedatif Etki

Anksiyete, postoperatif ağrının derecesinde predominant bir rol oynamaktadır ve antihistaminiklerin anksiyolitik etkilerinin, SSS, subkortikal bölgelerindeki aktivitenin baskılanması nedeni ile olabileceği ileri sürülmüştür.

Ancak bu açıklama, yeterli olamamaktadır. Zira yapılan çalışmalarda klorpromazin, prometazin ve diğer fenotiazinler gibi trankilizanlarla analjezi veya potensiyalizasyon görülmemiş, amfetaminlerin ise, morfin analjesini arttırdıkları gösterilmiştir. Ayrıca, analjezi ile davranışsal, depresyon arasında bir korelasyon olmadığı da diazepam, meprobamat ve barbitüratların zayıf aktiviteleriyle vurgulanmıştır. Mattila, antihistaminiklerin analjezik etkilerinin, ne antihistaminik etki ile ne de, sedasyon ile bağıntılı olmadığını göstermiştir. Kan-beyin engelini kolaylıkla aşamayan ve periferik H₁, reseptörlere büyük bir afinite gösteren antihistaminiklerin, analjezik etkiden yoksun olmaları muhtemeldir⁸³.

Ruhsal durum, ağrı algılamasını değiştirebilmektedir. Bir çalışmada, hidroksizinin, amitriptilin kadar anti-depresif etki gösterdiği saptanmıştır. Aynı zamanda pekçok sınıftan psikoaktif bileşiğin H₁, reseptörleri antagonize ettiği ve bunun sedatif yan etkilerinden dolayı olabileceği öne sürülmüştür⁸³.

d) P Maddesi ile Etkileşme

P maddesinin, ağrı yolağının eksitator bir transmitteri olduğunu gösteren bulgular mevcuttur. Ayrıca P maddesi ve histamin salıverilmesi arasında bir konsantrasyon cevap ilişkisi olduğu da gözlemlenmiştir. P maddesi, güçlü bir histamin liberatörü olup, bu madde ile, sıçan arka pençesinde oluşturulan vazodilatasyonun, antihistaminiklerle %50 oranında inhibe olduğu gösterilmiştir.

II.2.4.2. Klasik Nörotransmitterlerle Etkileşme

a) Kolinerjik Sistem

Pekçok çalışma, analjezide bir kolinerjik mekanizma varlığını öne sürmüştür. Asetikolin, hem morfin, hem de s-GMP'nin etkileriyle ilgili nörotransmitterlerden biri olup, kolinerjiklerin beyindeki analjezik etkileri de araştırmalara konu teşkil etmiştir. Kolinerjiklerin antinöreseptif etkilerinin, morfin antagonistleriyle azalma göstermeleri nedeniyle, opiyat reseptörleri aracılığı ile olduğu düşünülmüştür. Ayrıca antihistaminiklerin, antikolinerjik etkiye sahip oldukları da bilinmektedir. Bir çalışmada, tripelenaminin oluşturduğu antinöresepsiyon, kendi başına antinöresepsif etkili olmayan atropin ile büyük

ölçüde arttırılmıştır. Pilocarpin, fizostigmin ve diğer atropin, türevlerinin de, abdominal kıvrınma cevaplarında etkili bir blok oluşturduğu gösterilmiştir. Sıçanlarda, bir seri H₁, antiagonistinin etkilerini tanımlamak amacıyla yapılmış pekçok farmakolojik test ile, difenhidramin, prometazin ve azatadinin düşük dozlarda, makul tizin, siproheptadin, prilamin, klorfeniramin ve klemastinin daha yüksek dozlarda antimuskarinik etki gösterdikleri, ancak astemizol, ketotifen ve terfenadinin ise böyle bir aktiviteleri olmadığı saptanmıştır⁸³.

b) Serotoninerjik Sistem

Serotoninerjik sistem de noisepsiyon düzenlenmesine katılmaktadır. 5HT hem aljezik, hem de analjezik ikili bir etki profiline sahiptir. SHT'nin bu dual etkisi, sıçanlarla yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Bulgular, serotoninin santral spinal noisepatifinhibisyona neden olurken, lokal spinal noisepatif refleksleri uyarıcı bir etki oluşturduğu işaretini vermektedir. Bir reuptake inhibitörü olan fluoksetin ve bir reseptör antagonisti olan kulpazin gibi anti serotoninerjik ilaçların, sıçanlarda, dolaşımdaki β - endorfin düzeyini arttırdıkları gösterilmiştir. Sıçan ve farelerde yapılan çalışmalarda, intratekal 5HT uygulamasının, termal ve kimyasal uyarılarla oluşturulmuş ağrıya karşı bir analjezi oluşturduğu gözlenmiştir, ilginçtirki, siproheptadin ve sinazerin gibi antiserotonin antihistaminikler, 5HT'nin bu analjezik etkisini bloke etmektedir⁹⁹. Migren atağı süresince, 5HT'ye süpersensivite oluşması ve bu aminin plazma düzeylerinde düşme görülmesi 5HT'nin vasküler başarısında bir rolü olduğuna işaret etmektedir. Geniş olarak kullanılan siproheptadinin de, morfin analjezini arttırdığı gösterilmiştir. Bir deneysel 5HT antagonisti ve antihistaminik olan mianserin de hayvan çalışmalarında, siproheptadin benzeri bir analjezik etkisi rapor edilmiştir⁸³.

Siproheptadin ve pizotifenin düşük dozlarda, prometazin, difenhidramin ve prilsminin ise daha yüksek dozlarda antiserotonin bir aktiviteye sahip oldukları gösterilmiştir. Astemizol, ketotifen, terfenadin, klemastin, azatadin ve mekuitizinin bu tip aktiviteleri kaydedilmemiş olup, klorfeniraminin ise güçsüz bir antiserotonin aktivitesi gözlenmiştir.

c) Noradrenerjik Sistem

Otonomik eferent sempatik sinir liflerinin, çeşitli mekanoreseptörlerin eksitabilitesinin düzenlenmesinde rol oynadıkları bilinmektedir. Noradrenalinin (NA) yalnız başına hayvan deneylerinde analjezik etki oluşturduğu gösterilmiştir. Çeşitli hayvanların otonomik sinirlerinde histamin varlığı da saptanmıştır. Her ne kadar sempatik sinirlerin histamin içeriği ile adrenerjik transmitter miktarları arasında bir oran mevcut değilse de, bu sinirler, özellikle histamince zengin görünmektedirler. Bu da, histamin oluşumu ile postsinaptik adrenerjik nöronlar arasında fonksiyonel bir ilişki olduğunu düşündürmektedir. A7 çekirdeğinde yer alan spinal çıkışlı katekolaminergik nöronların, sıçanlarda nucleus raphe magnus (NRM) tarafından oluşturulan analjeziye aracılık ettiği gösterilmiştir.

1965'te Isaac ve Goth antihistaminiklerin, noradrenalinin kardiyovasküler etkilerini güçlendirdiğini ve NA'nın reuptake'ini azalttıklarını ortaya çıkarmışlardır. Brown da sıçan ön beyin sinaptozomlarında, antihistaminiklerin NA uptake'ine etkileri üzerine çalışmış ve prilamin ile difenhidraminin bu uptake'te ufak bir etkilerini saptamıştır^{83, 100}.

d) Dopaminerjik Sistem

Bu sistemle ilgili bir çalışmada prometazin, difenhidramin, metiamid ve simetidin dopamin (DA) uptake'i üzerinde etkileri olmadığı görülmüştür. Ancak diğer bir çalışmada difenhidraminin daha yüksek konsantrasyonda, striatumdaki dopamin uptake'ini inhibe ettiği ortaya çıkarılmıştır. Diğer pekçok araştırma da, klorfeniraminin hem santral, hem de periferik amin uptake mekanizmasını bloke etme konusunda çok aktif olduğunu göstermiştir.

Tüm verilerin ışığında özet olarak, ağrı girişini ayarlayan direkt serotoninerjik bir yolağın var olduğunu, çeşitli antihistaminiklerin NA, DOPA ve SHT'nin sinaptozomlardaki uptakelerini bloke ettiğini ve aminlerin, artan bir geçerlilikle henüz tam olarak anlaşılamamış mekanizmalarca oluşan santral ağrı cevaplarında bir azalmaya neden olduklarını söyleyebiliriz^{83,101,102}.

II.2.4.3. Periferik Etkiler

Ağrı verici uyarıyla aktive olan özgün periferik reseptörler pekçok dokuda tanımlanmıştır. Bu periferik reseptörlerin spesifik olarak, A delta miyelinli ve C grubu miyelinsiz yavaş iletimli liflerle ilgili oldukları gösterilmiştir ¹⁰³.

Anti histaminiklerin analjezik etkilerinin, ya duyu sinirlerinin terminal yapılarındaki histamin reseptörlerinin bloke edilmesi, ya da histamin salıverilmesinin önlenmesi biçiminde oluştuğu düşünülmektedir. Sinomenin, 48/80 bileşiği ve irgapirin gibi histamin libere ettirici maddelerin uygulanmasıyla, deriden histamin salıverilme derecesinin ağrı eşiği düzeyi ile direkt bağlantılı olduğu ve bu histamin liberatörlerinin, süregelen bir subkutan uygulanmasıyla, mast hücrelerinin boşaldığı ve analjezi oluştuğu, farelerde hot-plate veya Haffner-Hesse tekniklerinin kullanılması suretiyle gösterilmiştir ¹⁰⁴.

a) Prostaglandinler ve Bradikinin ile Etkileşme

Yüksek güçte bir aljezik ajan olan, bradikinin, inflamatuvar ağrı oluşumunda önemli role sahiptir ¹⁰². Histamin, H₁ reseptörleri stimülasyonu aracı ilikli olarak fosfo lipaz A₂ aktivasyonunu sağlar ve arakidonik asit ile bu metabolizma yolu ürünleri olan prostaglandinlerin (özellikle PGE₂ ve PGI₁) sentez ve salıverilmesine yol açar. Antihistaminikler histaminin bu etkisini azaltmaktadırlar. Ayrıca, nonsteroidal antiinflamatuvar ajanların, prostaglandinlerin aktivitesine duyarlı ağrı reseptörlerini inhibe ettikleri gösterilmiştir.

Histaminin intrasisternal uygulamasının beyin fosfolipid çevriminde (turnover) doz-bağımlı bir artış oluşturduğu da öne sürülmüştür. Mast hücrelerinden spesifik olarak, histamin salıverdiren 48/80 bileşiği vasıtasıyla, bu etkiye aracılık eden yerlerin ekstra nöronal histamin değil, yalnızca nöronal histaminle ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bir çalışmada da, mepiraminin yüksek konsantrasyonunun, asetilkolin etkisini azattığı gözlenmiştir. Bu çalışmayı yapan araştırmacı, histaminin H₁, reseptörler üzerinden etkiyerek prostaglandin salıverilmesine neden olduğunu ve ağrı liflerini uyardığını öne sürmüştür ¹⁰³.

II.3. Analjezik İlaçlar

II.3.1. Nonsteroidal Antiinflamatuvar ilaçlar

Salisilatlar ve bu aktiviteye sahip diğer ilaçlar romatizmal hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Ancak, salisilatların ağrıda diğer gruplara nazaran daha geniş bir kullanımı vardır. Uzun süreli kullanımları ile tolerans gelişmez ve opioid anajeziklere nazaran daha az bir toksisiteye sahiptirler. Salisilatların, ağrıyı giderici etkileri, peri ferik etkileri ile oluyorsa da, SSS'ye direkt etkileri de sözkonusudur.

Tüm aspirin benzeri ilaçlar antipiretik, analjezik ve antiinflamatuvar etkiye sahiptir; ancak, aktiviteleri arasında önemli farklar vardır, örneğin asetaminofen antipiretik ve analjezik olduğu halde çok zayıf bir antiinflamatuvar etkiye sahiptir. Bu etki farklılıkları anlaşılamamış olmakla birlikte, hedef dokulardaki enzimlerin farklı duyarlılıkları ile açıklanması olasıdır. Antiinflamatuvar, analjezik ve antipiretik ilaçlar, kimyasal bakımdan çoğu organik asit olmakla beraber farklı bileşiklerdir. Fakat kesin terapötik etkileri ve yan etkileri benzerdir. Prototipiaspirin olan bu grup ilaçlar bu nedenle aspirin benzeri veya nonsteroidal anti inflamatuvar ilaçlar (NSAİİ) olarak adlandırılmaktadırlar.

Bu grup ilaçlar, prostaglandinlerin biyosentezinden sorumlu bir enzim olan siklooksijenazi inhibe ederek, etkirler. Bu ilaçlar prostaglandinlerin direkt etkileri ile oluşan hiperaljezi veya ağrıya etki etmez, prostaglandinlerin sentezini inhibe ederek, ağrı oluşumunu engellerler. Vücut ateşinin yükselmesine aracılık eden, bir mekanizmanın da hipotalamusta prostaglandinlerin aktivasyonu ile siklik AMP aracılıklı olduğu bilinmektedir. Aspirin benzeri ilaçlar PGE₂ sentezini inhibe ederek bu cevapları baskılatmaktadırlar.

Inflamasyon üç fazda oluşan bir olgudur; 1- lokal bir vazodilatasyon ve kapiler permeabilite artışının görüldüğü akut faz, 2- lökosit ve fagositik hücrelerin infiltrasyonu ile karakterize edilen subakut faz, 3- doku dejenerasyonu ve fibrozisin görüldüğü kronik poliferatif faz. Histamin bradikinin, 5-HT, lökotrienler, PAF, prostaglandinler gibi pakçok inflamasyon mediyatörü tanımlanmıştır.

Bunlardan prostaglandinler, kan akımını artırarak lökositlerin yangılı bölgeye göçüne neden olmakta, lökotirenler ise arakidonik asit metabolizmasının lipoksijenaz yolağının bir ürünleri olup güçlü kemotaktik özellik göstermektedir. Aspirin benzeri ilaçlar hücre göçünü inhibe edebilmekte ancak, lipoksijenazi inhibisyonuna da karışıyor gibi görünmemektedirler. Bu grup ilaçların antiromatizmal etkilerini yalnızca prostaglandin sentezini inhibe etmeleriyle açıklamak çok güçtür. Bunlar nötrofillerin aktivasyon ve fonksiyonunu da direkt inhibe edebilmektedirler ¹⁰⁵.

a) Aspirin (Asetil Salisilik Asit)

Aspirin bir salisilik asit esteridir. Oral yoldan alınan aspirin hızla absorbe edilir. 30 dakikadan az bir zamanda etkin bir plazma konsantrasyonuna ulaşır. Tek bir dozda verilışinden yaklaşık 2 saat sonra pik değerine ulaşır. Absorbsiyon oranı mukozal yüzeylerdeki pH, gastrik boşalma zamanı ve kısmen de, tablet olarak verilmişse parçalanma ve çözünme oranı gibi faktörlere bağlıdır. Salisilat absorbsiyonu pasif diffüzyonla olmakta ve gastro-intestinal membrandan geçen asetilsalisilik asit, gastrik pH'dan etkilenmektedir. pH yükseldikçe daha fazla iymize olmakta ve pH'nın yükselmesi salisilat çözünürlüğü arttırmaktadır. Noniyonize salisilik asit gastrik lümendeki mukozal hücrelere girdiğinde intrasellüler pH'da iynoyze türlerine çözüneceğinden büyük miktarda salisilat birikmesi olabilir ve gastrik mukozal zedelenmeye neden olabilir. Salisilat absorbsiyondan sonra, pekçok vücut dokusuna ve transsellüler sıvılara dağılır. Bu dağılım pH ile bağlantılıdır. Aspirin plasental engeli de geçer.

Pekçok dokuda yeralan aspirin biyotransformasyonu kısmen hepatik endoplazmik retikulum ve mitokondride olmaktadır. Aspirinin plazma yarı ömrü ortalama 15 dakikadır. Aspirinin normal genel kullanım dozundaki dağılım hacmi, ortalama 170 ml/kg'dır. Yüksek terapötik kullanımında ise, plazma proteinlerine bağlanma bölgelerinin doygunluğu nedeniyle 500 ml/kg civarına kadar yükselmektedir. Aspirin, gastrointestinal mukoza ve karaciğerde esterazlarla hidrolize edilir ve asetik asit ile salisilat oluşur. Plazma, karaciğer ve eritrosimmerde hidrolize uğradığından aspirin, plazmada çok kısa bir süre yer

alır. Bu nedenle aspirinin plazma konsantrasyonları her zaman düşüktür. Salisilatlar konjugatlara dönüştürülerek böbreklerce, itrah edilirler.

Aspirinin etkisi, prostaglandinlerin enzimatik oluşumunu inhibe etmesine bağlanmaktadır¹⁴. Prostaglandinlerin, inflamasyon ve ateş patogeneğinde rol oynadıkları pekçok araştırma ile gösterilmiştir. Aspirin inflamasyonda rolü olan lökotrienler gibi eikozanoidlerin oluşumunu inhibe etmemekte, diğer inflamatuvar mediyatörlerin sentezini de etkilememektedir. Romatoid artritteki terapötik etkisinin sahip olduğu başka bir etki mekanizması ile gerçekleştiği düşünülmektedir.

Aspirin, daha çok hafiften orta dereceye kadar olan ağrılarda etkili olmaktadır. Genellikle başğarı, miyalji ve artralji ağrılarında kullanılmaktadır.

Aspirin yüksek vücut hararetini hızla ve etkili olarak düşürmektedir. Toksik dozlarda ise piretik etki göstermektedir.

Aspirinin yüksek dozlarında veya uzun kullanımında medulla üzerinde depresan bir etkisi oluşur. Toksik dozları ise dolaşım kollapsından vazomotor depresyona giden etkisi yanında santral solunum felcine de neden olabilmektedir. Terapötik dozlarda, elektrolit ve asit-baz dengesinde belirgin bir değişikliğe neden olmaktadır. Sıradan tedavi dozlarında, kardiyovasküler sisteme önemli bir etkisi olmamakla birlikte, yüksek dozlarda periferik damarlar genişlemekte, toksik dozlarda ise dolaşımın deperasyonu ve santral vazomotor paraliz görülmektedir. Salisilatların yüksek dozları, norkardiyojenik pulmoner ödem de oluşturabilmektedir.

Aspirin, epigastrik acıya, bulantı ve kusmaya hatta peptik ülsera neden olabilmektedir. Yüksek dozlu kullanımı ile gastrik kanamaya öncülük edebilen aspirinin oluşturduğu bu kanama ağrısız seyretmektedir.

Aspirin, doz bağımlı bir hepatik hasara ve Reye's sendromunda gözlenen şekilde ensefalopatiye de yol açabilmektedir. Aspirinin viral infeksiyonla birlikte mitokondri zedelenmesine yolaçtığı sanılmaktadır.

Aspirinin su ve tuz retansiyonuna neden olabildiği ve renal fonksiyonda akut bir düşme oluşturabildiği ve uzun süreli kullanımının nefrotoksisiteye yol açtığı bildirilmiştir. Ayrıca aspirinin şıradan nedenlerle kullanılan dozlarının kanama süresini uzattığı da bilinmektedir. Bu etkisinin, trombosit siklooksijenazının asetilasyonu ve TXA₂ oluşumunda azalma ile olduğu düşünülmektedir^{2,105}.

II.3.2. Narkotik Analjezikler

II.3.2.1. Narkotik Analjeziklerin Analjezik Etki Yörelere ve Mekanizmaları

Bu grup ilaçlar SSS'de spinal bölge, ortabeyin talamik ve kortikal bölgeleri de kapsayan geniş bir ağrı analjezik yolağında etki göstermektedirler. Nosiseptif spinal refleksler, morfinin substantia gel atinosadaki etkileri ile baskılanmaktadır. Morfin veya diğer opioidlerin spinal intratekal veya epidural injeksiyon yoluyla ağrının giderilmesini sağladıkları ve bu yolla kronik ağrı çeken pekçok hastanın fayda gördüğü bilinmektedir.

Morfin sistemik uygulanmasında, orta beyinde (periakvaduktal gri madde) spinal, limbik, hipotalamik ve prefrontal kortikal bölgelerin fonksiyonunu düzenleme etkisini göstermektedir. Buna göre, opioidlerin analjezik etkilerinde rol oynayan pekçok etki bölgesi mevcuttur. Ancak opioidler, beyin dışındaki nosiseptif ağrı yolağında etki göstermezler. Oysa nonsteroidal antiinflamatuvar analjezikler, bu yolla etkili olabilmektedirler. 1988'den beri yapılan çalışmalar periferik dokularda da opioid reseptörleri bulunduğunu, opioidlerin santral olduğu kadar periferik bir ağrı dindirme etkilerinin de olabileceğini ortaya çıkarmıştır^{106,107}.

Morfin bir agonist olarak, sinir sisteminde essiz bir dağılıma sahip spesifik reseptörlere bağlanmaktadır. Opioidler, sinir membranının iyonik permeabilitesini azaltmakta, hiperpolarizasyona neden olmakta ve bunun sonucunda nöronal sistemdeki eksitabiliteyi deprese etmektedirler.

Diğer yandan, opioidlerin kalsiyum uptake'ini ve sinir uçlarına bağlanmayı azaltarak etki gösteriyor olmaları da olasıdır. En geçerli temel etki, dominant nöronal yapılardaki nosiseptif bilgi transmisyonunun bloke edilmesi şeklindedir.

Bu görüşlerin ışığında, nosiseptif sistemlerin pekçok nörotansmitterden yararlandığı ortaya çıkmaktadır. Omurilik düzeyinde P maddesi, enkefalinler ve serotonin; medulla ve ortabeyin ağrı yolağında serotoninergik, adrenerjik, kolinerjik ve dopaminerjik sistemler ve periaquaduktal gri maddede, retiküler aktive edici sistem nosiseptif sistemlere karışmaktadır. Amfetamin, dopamin gibi adrenerjik ajanlar ağrıyı yok etme eğilimi göstermekte, kolinerjik ve serotonin i nergik ajanlarsa şiddetlendirme eğiliminde olmaktadır.

5 ile 12'nin üzerinde değişik sınıftan opioid reseptörü mevcuttur. Ancak bunlardan 4 tanesi etki mekanizmalarının tanımlanmasında esas alınmaktadır. Bunlardan birisi, stereospesifik olmayan öksürük baskılayıcı reseptördür. Diğer üçü ise stereospesifik opioid reseptörleri olup, mü, kappa ve sigma olarak adlandırılmaktadır. Bu stereospesifikite hem morfin benzeri agonistlere, hem de nalokson gibi antagonistlere karşı gösterilmektedir. Morfin ve benzer, opioidlerin analjezik etkileri, mü ve kappa reseptörleri aracılığı ile olmaktadır. Ayrıca, mü reseptörleri solunum depresyonu ve pupilla konstriksiyonundan da sorumludur. Ek olarak kappa reseptörlerine bağlanma, analjezi oluşturma yanında sedasyondan ve opioidlerle oluşan depersonalizasyondan da sorumlu olmaktadır^{13,25,27,107}.

II.3.2.2. Narkotik Analjezik Prototip: Morfin

Opium (Afyon) içinde en yüksek oranda bulunan alkaloiddir. Morfin, hidroklorür veya sülfat tuzu şeklinde yapılır. Ya afyondan veya kurutulmuş haşhaş kapsülünden hazırlanan haşhaş konsantresinden ekstraksiyonla elde edilir. Genellikle 10-15 mg dozda intramusküler veya ciltaltından enjeksiyon yoluyla uygulanır. Opiyotun diğer alkaloidleri ise tedavide kullanışlı olan kodein ile terapötik kullanıma sahip olmayan papaverin ve tebaindir¹⁰⁶.

a) Morfinin Farmakolojik Etkileri

Morfinin SSS üzerindeki doz bağımlı etkilerini, analjezi, sedasyon, mental bulanıklık ve öfori olarak sayabiliriz, Morfin aynı zamanda, solunum ve öksürük refleksini baskılamakta ve konstipasyon, pupiller konstriksiyon, bulantı, kusma ve antidiüretik hormon salıverilmesi gibi etkilere yol açmaktadır. Bu etkilerin hepsi, intramusküler, intravenöz veya oral yoldan morfinin uygulanmasını takiben doza bağımlı olarak ortaya çıkmaktadır¹⁰⁷.

Analjezi: Morfinin en önemli etkisidir. Morfin hemen hemen tüm ağrı cevaplarında azalma yapmakta, hatta tüm omurilik düzeyinin altında da nosiseptif refleksleri baskılamaktadır. Morfin yalnızca ağrıyı azaltmakla kalmayıp, ağrı eşiğini yükseltici etkiye de sahiptir. Kişinin rahatlayıp kendini daha iyi hissetmesini sağlar. Morfinin ağrıyı yok etme ve nosisepsiyonu değiştirme etkilerine rağmen diğer duyuşal modellerde etkisi yoktur (Pupiller konstriksiyon nedeniyle görmenin keskinliğinde düşme yapıyor olabilir ancak bu görme sistemi üzerine direkt bir etki ile değildir). Ağrının morfinle geçmesi, bu maddenin, endişe, gerginlik gibi durumları gidermesi ile sıkı sıkıya bağlantılıdır. Morfin endişeyi gidererek kişinin teskin olmasını, rahatlamasını hatta ağrısını unutmamasını sağlar; ruh durumunu yükselterek öfori oluşturur. Ruh durumundaki bu yükselme, kendini iyi hissetme, enerjide artma ve hareketlilik kazanma ile karakterize edilebilir. Morfin yüksek kortikal fonksiyonları etkiler ve konsantrasyon zorluğuna neden olur. Dışsal bir uyarı yok ise morfin sedasyona neden olur ve çevreye ilgisizlik, rüya dolu bir uyku hali oluşturur. Morfin aynı zamanda karakteristik biçimde bir libido azalmasına ve seksüel performansta düşmeye yol açar. Morfin, tüm bu nöronal etkilerine rağmen, selektif bir kas gevşetici veya antiepileptik etkiye sahip olmayıp nöbetleri engelleyici bir tesiri de yoktur. Ancak opioid uygulamasıyla, nöbetlerin eşiğinde bir düşme görülmektedir.

Solunum Depresyonu: Morfin ve diğer opiyatlar solunum hızı ve derinliğini azaltmakta, benzer şekilde solunumun dakikadaki hacmi de düşmektedir. Bu solunum depresyonu, uyku ile sinerjiktir. Morfinin oluşturduğu solunum depresyonu, doz bağımlı ciddi bir majör yan etkisidir ve doz arttıkça öldürücü olabilir.

Bu depresyon büyük ölçüde karbondioksit duyarlılığı arttırmakta ve hipoksi gel istirmektedir. Bu durumda, solunan havadaki ani bir oksijen artışı, asidoz ve SSS depresyonu nedeniyle solunum durmasına yol açabilir.

Öksürük Refleksinin Depresyonu: Morfin ve opioidlerin pek çoğu solunum üzerine etkilerinden bağımsız olarak öksürük refleksinin azalmasına hatta yok olmasına neden olmaktadır, öksürük baskılanması, stereospesifik olmayan opiyat reseptörleri aracılığı ile olmaktadır.

Bulantı ve Kusma: Morfin, medulladaki kemoreseptör tetikleyici bölgeyi stimüle ederek bulantı ve hatta bazı hastalarda kusma oluşturmaktadır. Yüksek dozlarında, kusma merkezini depreşe etmekte ve kusmayı azaltmaktadır.

Pupil Konstriksiyonu (Miyosiz): Pupil konstriksiyonu, morfinin ve tümümü kapsamamakla birlikte, pekçok opioidin karakteristik bir etkisi olup okulomotor çekirdek üzerindeki santral etkilerine bağlıdır. Morfinin, pupiller kaslar üzerinde de küçük bir etkisi vardır.

Antidiüretik Hormon Salgılanması: Morfin, antidiüretik hormon, adrenokortikotropik hormon, prolaktin, büyüme hormonu ve gonadotropik hormon gibi pekçok hormonun salgılanması depreşe etme gibi karmaşık bir endokrin etkiye sahiptir.

Morfinin Toksik Etkileri: Yan etkileri: Farmakolojik etkilerine bağlı olarak konstipasyon, safra koliği, bronkokonstriksiyon, histamin liberasyonuna bağlı olarak ciltte kasıntı ve ürtiker, sfinkter ve detrusor kasım kastığı için de işeme güçlüğü ve "İdrar retansiyonu gelişir. Majör yan etkileri ise farmakolojik etkilerinde anlatılmıştır. Ayrıca morfinin bağımlılık oluşturma ve tolerans gelişmesine bağlı yoksunluk sendromu oluturma gibi sorunları da vardır.

Akut zehirlenme: Doz aşımına bağlı olarak oluşan akut zehirlenme, koma, toplu iğne başına benzer pupil ve solunum depresyonu ile karaktersizedir. Bu tabloda kardiyovasküler fonksiyon bozukluğu da yera1maktadır. Tedavisi solunum ve kardiyovasküler fonksiyonların desteklenmesi ve özgün bir antagonist olan nalokson uygulanması ile olmaktadır¹⁰⁷.

b) Morfinin Kullanılışı

a) Ameliyat öncesi endişenin giderilmesi, analjezi oluşturma ve anestezi gereksiniminin azaltılmasında, ameliyat sonrası ise yine analjezi amacıyla,

b) Kırık, büyük doku travması ağrılarında, böbrek taşı gibi ağrılı durumlarda ve metastatik kemik karsinoması gibi çeşitli ağrılarının tedavisinde,

c) Ameliyat sonrası ağrılarının ve postoperatif dönemdeki acil-rahatsızlıklarının giderilmesinde kullanılır. Komplikasyon yoksa postoperatif ağrı genellikle 1-2 günlük bir morfin uygulamasıyla rahatlatılabilmektedir^{2,107}.

III. MATERYAL VE YÖNTEM

III. 1. MATERYAL

III.1.1. Kullanılan Deney Hayvanları

Deneylerde kullanılan 16-24 gram ağırlığındaki her iki cinsten albino fareler Serum Ciftliginden sağlanmıştır.

III.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Morfin hidroklorür	(TMO-İstanbul)
p-Banzokinon	(Sigma)
L-Arjinin	(Sigma)
N-Nitro mono metil L-arjinin (L-NMMA)	(Sigma)
Mepiramih maleat	(Sigma)

III.2. YÖNTEM

III.2.1. Kıvrınma Aljezi (Writhing) Modeli ve Uygulama

Analjezik aktivite tayininde, p-benzokinon (p-BK.) tarafından oluşturulan kıvrınma (writhing) testi kullanılmıştır⁸. Farelerde aljezi oluşturmak amacıyla p-BK, serum fizyolojik içinde 0.2 mg/ml olacak şekilde çözülerek 0,25 cc hacimde intreperitonal (i.p.) olarak uygulanmıştır. Kontrol grubuna p-BK uygulanmasından 30 dakika önce sadece 0,05 cc serum fizyolojik uygulanmıştır. Deney gruplarına ise p-BK enjeksiyonundan 15 dakika önce L-NMMA (50 mg/kg), 30. dakika önce morfin (0.13 mg/kg) ve mepiramin (5.6, mg/kg), 15 dakika önce L-arjinin (50 mg/kg) tek başlarına ya da kombine halde subkütan olarak uygulanmıştır. Kombinasyonlar: morfin + mepiramin, mepiramin+L-NMMA, mepiramin+L-arjinin, morfin + L-NMMA, morfin + L-arjinin, morfin + L-arjinin + L-NMMA, morfin + mepiramin + L-NMMA, morfin + mepiramin + L-arjinin,

mepiramin + L + arjinin + L-NMMA şeklindedir. Kombinasyonlarda morfin ve mepirarnin p-BK'dan 30 dakika önce, diğer uygulamalar ise p- BK'dan 15 dakika önce subkütan olarak yapılmıştır.

p-BK, morfin, mepirarnin, L-arjinin, L-NMMA serum fizyolojik içinde çözülerek günlük olarak hazırlanmıştır.

p-BK injeksiyonundan sonra 30 dakika süreyle hayvanlar gözlenmiş ve kıvranma sayıları kaydedilmiştir. Sözedilen kıvranma hareketi hayvanın bedenini gererek karnını konkavlaştırıp bir tarafa bükülmesi ve arka ayaklarını sürükleyerek tekrar toplanması şeklindedir. Kıvranma sayısı üzerinde test maddelerinin gösterdiği inhibitör edici etkiler % koruma olarak değerlendirilmiş ve bu değerler aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Koruma} = 100 - \left(\frac{\text{Deney}}{\text{Kontrol}} \times 100 \right)$$

III.2.2. İstatistiksel Analiz

Gerek kontrol, gerekse deney gruplarında gözlenen kıvranma sayısı ortalama $\pm$ ortancaların standart hataların ortalaması şeklinde ifade edilmiştir. Her deney grubu kendi kontrolü ile ortalamalar arası farkın önemlilik t testi (student t testi) kullanılarak karşılaştırılmıştır. Morfin ve mepirarnin için ED₅₀ değerleri probit regresyon ile hesaplanmıştır.

IV. BULGULAR

IV. 1. GENEL VERİLER

Bu çalışmada, farelerde para-benzokinon (p-BK) ile oluşturulan kıvranma aljezi modelinde histamin-1 (H-t) reseptör blokörü olan mepiramin'in oluşturduğu antinosiseptif etki, ED₅₀ değeri bakımından, % antinosiseptif aktivite cinsinden ve morfinin ED₅₀ değeri ile relatif potens cinsinden karşılaştırılmış ve ortaya çıkan antinosiseptif etkide endojen nitrik oksidin (NO) katkısı araştırılmıştır.

Farelerde, p-BK injeksiyonundan sonra elde edilen ortalama kıvranma sayısı, kontrol grubu için 42.0 ± 4.7 (n=26) olarak, bulunmuştur. Kontrol grubuna p-BK injeksiyonundan 30 dakika önce, 0.05 cc, subkütan serum fizyolojik injeksiyonu yapılmıştır.

Laboratuvarımızda yapılan tez ve araştırmalarda saptanmış olan morfin ve mepiramin E D₅₀ değerleri bu çalışma için de esas alınmıştır^{108,109}. Daha önceki çalışmalarda, bu değerler morfin için 0.13 ($0.08-0.2$) mg.kg⁻¹ ve mepiramin için 5.6 ($1.2-27.2$) mg.kg⁻¹ olarak saptanmış idi. Morfin ve mepiramin arasındaki relatif potens de 43.1 olarak hesaplanmıştır.

Bu çalışmada da morfin, p-BK injeksiyonundan 30 dakika önce subkütan olarak 0.13 mg.kg⁻¹ dozda uygulanmış ve ortalama kıvranma sayısı 13.4 ± 4.0 olarak ve % antinosiseptif aktivite değeri de 68.1 olarak saptanmıştır. Diğer yandan, mepiramin ayrı prokolla 5.6 mg.kg⁻¹ dozda uygulandığında ortalama kıvranma sayısı 26.7 ± 4.2 ve % antinosiseptif aktivite değeri 36.4 olarak saptanmıştır. Bu değerler bakımından, mepiraminin morfine göre relatif potens ise 56.9 olarak hesaplanmıştır. Morfin ve mepiraminin ED₅₀ değerleri ile alınan bu sonuçlar, daha önceki araştırmalarda elde edilen sonuçlar ile uyumludur.

Bu bulguların yanısıra, endojen nitrik oksidin etkisini araştırmak bakımından L-arjinin (L-arj., NO prekürsörü) ve L-arjinin analogu olarak da NO-monometil L- arjinin (L-NMMA, NO-sentaz inhibitörü) in kıvranma aljezi

modelindeki kontrol değerleri, yukarıdaki anlatılan prökola uygun bir biçimde saptanmıştır. Buna göre, L-arj için ortalama kıvranma sayısı 27.4 ± 2.7 ve antinosiseptif aktivite & 34.7, L-NMMA için ise, kıvranma sayısı 38.9 ± 7.6 ve antinosiseptif aktivite % 7.4 olarak hesaplanmıştır. L-NMMA hariç olmak üzere morfin, mepiramin ve oluşturdıkları antinosiseptif aktivite, kıvranma sayısı olarak kontrole göre istatistiksel anlamlı bulunmuştur. Bu bulgulara alt tüm veriler Tablo 1 ve Sekil 1'de yer almaktadır.

Yukarıda anlatılan uygulama protokollarının içinde yer alan L-arjinin ve L-NMMA, farelere 50 mg.kg^{-1} dozda subkütan enjeksiyonla uygulanmıştır.

L-arjinin içinde önce 100 mg.kg^{-1} lik daha sonra da 50 mg.kg^{-1} dozlar denemiştir, ilk doz 61.7 ± 12.2 (6) İlk bir kıvrama sayısı oluşturmuş ve bu değer p-BK ile indüklenen kıvranma aljezi cevaplarından $p < 0.05$, istatistiksel anlamlı olarak farklı bulunmuştur. 50 mg.kg^{-1} lik doz uygulandığında ise, bu dozda, 27.4 ± 2.7 (10 lik bir kıvranma sayısı oluşmuş ve bu dozda ilk dozun tersine % 34.7'lik bir antinosiseptif aktivite oluşmuştur. Bu dozdaki kıvranma sayısının, p-BK kontrol değeri ile karşılaştırılmasında $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı olduğu görölmektedir. L-arjinin p-BK aljezi modelinde oluşturduğu etkilerin doz bağımlı ve farklı komponentleri içerir olduğu gözlenmektedir. 100 mg.kg^{-1} lik dozda oluşturduğu aljezi'nin nedenleri bu çalışmada araştırmaya konu olmamış ve sadece 50 mg.kg^{-1} dozda meydana gelen, antinosiseptif etki incelenmiştir.

Diğer yandan, L-NMMA için hem 50 ve hem de 100 mg.kg^{-1} lik dozlar denenmiş ve her iki dozda da elde edilen etki kalıbı p-BK aljezisinde gerek kontrolden, ve gerekse birbirinden farksız ve istatistiksel anlamsız olarak antinosiseptif etki oluşturmuştur. Sonuç, miktar olarak daha düşük olan 50 mg.kg^{-1} lik doz uygulanmış ve bu doz için kıvranma sayısı 38.9 ± 7.6 olarak saptanmıştır.

Mepiraminin oluşturduğu antinosiseptif aktivitede endojen NO rolünün araştırılması için Tablo 2 ve 3'de yer alan ikili ve üçlü kombinasyon protokollerine göre kıvranma sayılarında meydana gelen değişiklikler ölçölmüş ve p-BK kontrol

kıvrınma sayısından istatistiksel olarak farklılaşmadığı ortalamalar arası farkın t testi ile hesaplanmıştır.

Tablo 2 ve Şekil 2,3 ve 4 ikili kombinasyonlara ilişkin toplu değerleri göstermektedir.

Tablo 3 ve Şekil 5 üçlü kombinasyonlara ilişkin toplu değerleri göstermektedir.

Tablo 4, 5, p-BK ile indüklenen kıvrınma aljezi modeline endojen nitrik oksidin rolü açısından morfin, mepiramin, L-arjinin ve L-NMMA'nın tek başlarına ve birbirleriyle oluşturdukları ikili ve üçlü kombinasyonların kıvrınma sayıları bakımından karşılaştırmalarını göstermektedir.

Tablo 6, 7 ise, yukarıda anlatılan benzeri tür uygulanmada agonistlerin ikili ve üçlü kombinasyonlar biçimindeki kıvrınma sayılarının birbiriyle etkileşmesini göstermektedir.

IV. 2. ENDOJEN NİTRİK OKSİT ETKİLEŞMESİNİ YANSITAN BAZI VERİLER

a) Kombinasyonlar Arası Etkileşme 1:

Morfi n+Mepiramin+L-arjinin

2.7±1.7 (n=6)

p<0.05 S

Morfin + Mepiramin

9.8 ±1.7 (n=10)

Morfi n+Mepiramin+L-NMMA

4.3±2.8 (n=6)

p<0.09 S

(Morfin+mepiramin) kombinasyonu ile oluşturulan antinosiseptif aktivite %76.7 olarak hesaplanmaktadır. (Morfin+mepiramin+L-arjinin) kombinasyonu ile bu oran %93.6'ya yükselmektedir. Bu değerler itibariyle ikili kombinasyonla elde

edilen % koruyucu etkinin, üçlü kombinasyonla % 22 oranında arttığı saptanmaktadır. Meydana gelen artış da kıvranma sayıları cinsinden karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmaktadır. Diğer yandan, üçlü kombinasyondaki L-arjinin yerine L-NMMA verildiğinde, antinoseptif aktivitenin % 89.8 olduğu hesaplanmıştır. Bu değer, (Morfin+mepiramin) kombinasyonu ile karşılaştırıldığında $p<0.09$ düzeyinde istatistiksel anlamlılık göstermekle beraber (Morfin+mepiramin+L-arjinin) kombinasyonu ile sağlanan % koruma cevabında ancak % 4'lük bir azalma sağlanmış ve iki üçlü kombinasyon arasında da istatistiksel anlamlı bir fark gözlenmemiştir.

Bu veriler bakımından, morfinin tek başına oluşturduğu antinoseptif etkinin (Tablo 1) mepiramin ile potansiyel ize edildiği görülmektedir. Bu potansiyel izaâyının L-arjinin varlığında daha da güçlendiğinin saptanması endojen NO'nun etkisine dair bir kanıt olarak kabuledilebilir.

b) Kombinasyonlar Arası Etkileşme 2:

Morfin+L-arjinin/Morfin+L-arjinin+L-NMMA	$p<0.04$ S
'4.7*2.6 (n=12)	15.9*4.4 (n=8)

(Morfin+L-arjinin) kombinasyonu ile oluşturulan antinoseptif aktivite % 88.8 olarak hesaplanmaktadır. (Morfin+L-arjinin+L-NMMA) kombinasyonu ile bu oran %62.1'e düşmektedir. Bu antagonist etkininde %30 düzeyinde gerçekleştiği hesaplanmıştır. Meydana gelen antagonist etki kıvranma sayısındaki artış bakımından istatistiksel anlam göstermektedir. Bu bulgu, Tablo 4'de de görüleceği üzere morfin analjezisinde NO prekürsörü L-arjininin katkısı bulunduğunu göstermektedir. Morfinin $E D_{50}$ dozunda tek başına oluşturduğu %88.1'lik antinoseptif etkisi L-arjininle kombinasyondan sonra %88.8'e yükselmiş ve artışın da istatistiksel anlamlı %30.4 olduğu hesaplanmıştır. Bu bulgudan hareketle, L-NMMA'nın (Morfin+L-arjinin) kombinasyonuna üçüncü bileşik olarak katılması ve antagonist etkinin % 30 olarak gerçekleşmesi morfin analjezisinde endojen NO'nun iştirak ettiğine kanıt oluşturmaktadır.

c) Kombinasyonlar Arası Etkileşme 3:

Mepiramin+L-arjinin/Mepiramin+L-arjinin+L-NMMA $p < 0.09$ S

10.9 ± 4.9 (n=8) 23.4 ± 4.2 (n = 6)

(Mepiramin+L-arjinin) kombinasyonu ile oluşturulan antinosispetif aktivite % 74 olarak hesaplanmaktadır.

(Mepiramin+L-arjinin+L-NMMA) ile bu oran % 44.3'e düşmektedir. Antinosispetif aktivitede meydana gelen azalma % 40.1'dir ve $p < 0.09$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlıdır. Tablo 4'de de gösterildiği üzere, mepiraminin tek başman oluşturduğu % 63.6'lık antinosispetif aktivite (mepiramin+L- arjinin) kombinasyonu ile % 74'e yükselmekte ve istatistiksel anlamlı %14.1'lik bir potensiyalizasyonun bulunduğu görülmektedir. Bu bulgu, (mepiramin+L-arjihin+L-NMMA) kombinasyon bulgusu ile beraber değerlendirildiğinde, L—NMMA'nın oluşturduğu antagonist etki göz önüne alınarak gerek mepiraminin tek başına ve gerekse L-arjininle kombine antinosispetif etkisinde, endojen NO'nun rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Yine Tablo 4' de de gösterildiği üzere, mepiraminin tek başına oluşturduğu %63.6'lık antinosispetif etki (mepiramin+L-NMMA) kombinasyonu ile istatistiksel anlamlı olarak %14.8'e düşmektedir. Bu da, mepiraminin etkisinde % 76.7'lik bir azalmayı ve etkide endojen NO'nun bir katkısı olabileceğini telkin etmektedir.

d) Kombinasyonlar Arası Etkileşme 4:

Morfin+L-NMAA/Morfin+L-arjinin+L-NMMA $p < 0.0001$ S

45.8 ± 3.2 (n~9) 15.9 ± 4.4 (n=8)

(Morfin+L-NMMA) kombinasyonu ile aljezi potensiyalizasyonu oluşmaktadır. P-BK ile indüklemen kıvrınma aljesizinde kıvrınma sayısı 42 ± 4.7 olarak saptanmıştır. KombinasTM yon uygulamasıyla meydana gelen aljezi potensiyalizasyonu %9.1 olmuştur. (Tablo 2, Sekil 2).

Diğer taraftan, tek başına morfin uygulamasıya %68.1'lik antinosiseptif aktivite oluşurken, tek başına L- NMMA uygulaması % 7.4'lük bir korumam sağlamıştır (Tablo 1). İlk değer p-BK kıvranma sayısı ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı olurken, ikincisi anlamsızdır. (Mor- fin+L-NMMA) kombinasyonu ile elde edilen değer, tek başına morfinin ve L-NMMA'nın antinosiseptif aktiviteleriyle karşılaştırıldığında, morfinin etkisi istatistiksel anlamlı olarak inhibe etmekte ve L-NHMA'nın etkisiyle anlamlı bir farklılık oluşturmamaktadır (Tablo 2.3). (Morfin + L-arjinin) kombinasyonu %88.8'lik bir antinosiseptif aktiviteyi 4.7 ± 2.6 'lık bir kıvranma sayısı ile oluşturmaktadır (Tablo 2).

Yukarıda verilen ikili ve üçlü kombinasyonun etkileme profiline bakıldığında, ikili kombinasyonda morfinin antinosiseptif aktivitesinin L-NMMA'ca tümüyle ortadan kaldırıldığı, buna karşın, üçlü kombinasyonda bulunan L-arjininin aljezi potensiyalizasyonunu istatistiksel anlamlı bir biçimde geri döndürdüğü görülmektedir. Bu bulguların tümü morfinin bu aljezi modelindeki atksinde endojen NO'nun sorumlu olduğunu telkin etmektedir.

e) **Kombinasyonlar Arası Etkileşme 5:**

Mepiramin+L-NMMA/Mepiramin+L-arjinin+L-NMMA $p < 0.07$ S

3 5.8 ± 2.0 (n=8) 23.4 ± 4.2 (n=6)

Mepiramin, p-BK-aljezi modelinde farelerde %36.4 lük aljezi oluşturmaktadır (Tablo 1). L-NMMA ise istatistiksel anlamsız olarak ancak, %7.4'lük bir etki sağlamaktadır (Tablo 1). (Mepiramin+L-NMMA) kombinasyonunda meydana gelen antinosiseptif etki, mepriamin tek başına oluşturduğu etki ile karşılaştırıldığında, antinosiseptif aktivitede % 7.1'lik bir azalma oluşturmakta, bu da $p < 0.09$ düzeyinde istatistiksel anlam göstermektedir (Tablo 4). ikili ve üçlü kombinasyonlar birbiri ile karşılaştırıldığında, ikili kombinasyona L-arjinin ilavesi, antinosiseptif aktiviteyi tekrardan % 14.8'den % 44.3 e yükseltmekte, yani % 32.3 oranında düzeltmektedir. Bu da, kıvranma sayıları bakımından $p < 0.07$

istatistiksel olarak anlamlıdır. Diğer yandan, üçlü kombinasyon ile mepiraminin tek başına oluşturduğu kıvranma sayıları birbiri ile karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel anlamlı bir fark görülmemektedir (Tablo 5).

Bu bulguların tümü, mepiraminin bu modeldeki antinosiseptif etkisinde endojen NO'nun rolünün bulunduğu izlenimini vermektedir.

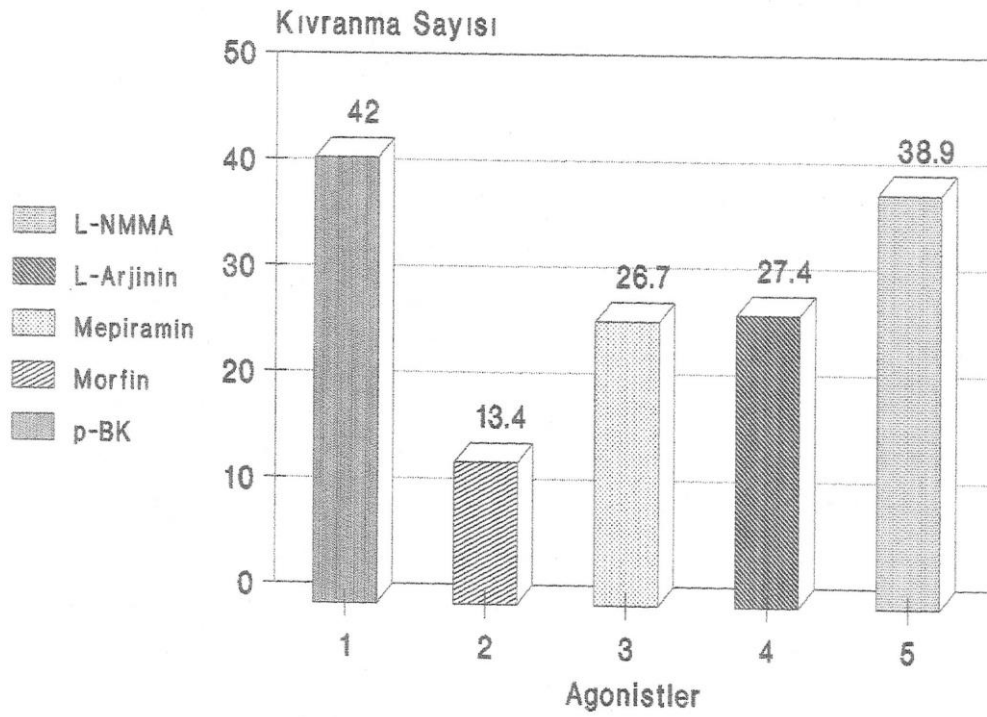
f) Kombinasyonlar Arası Etkileşme 6:

Morfin+L-arjinin/Mepiramin+L-arjinin $p<0.05$ S

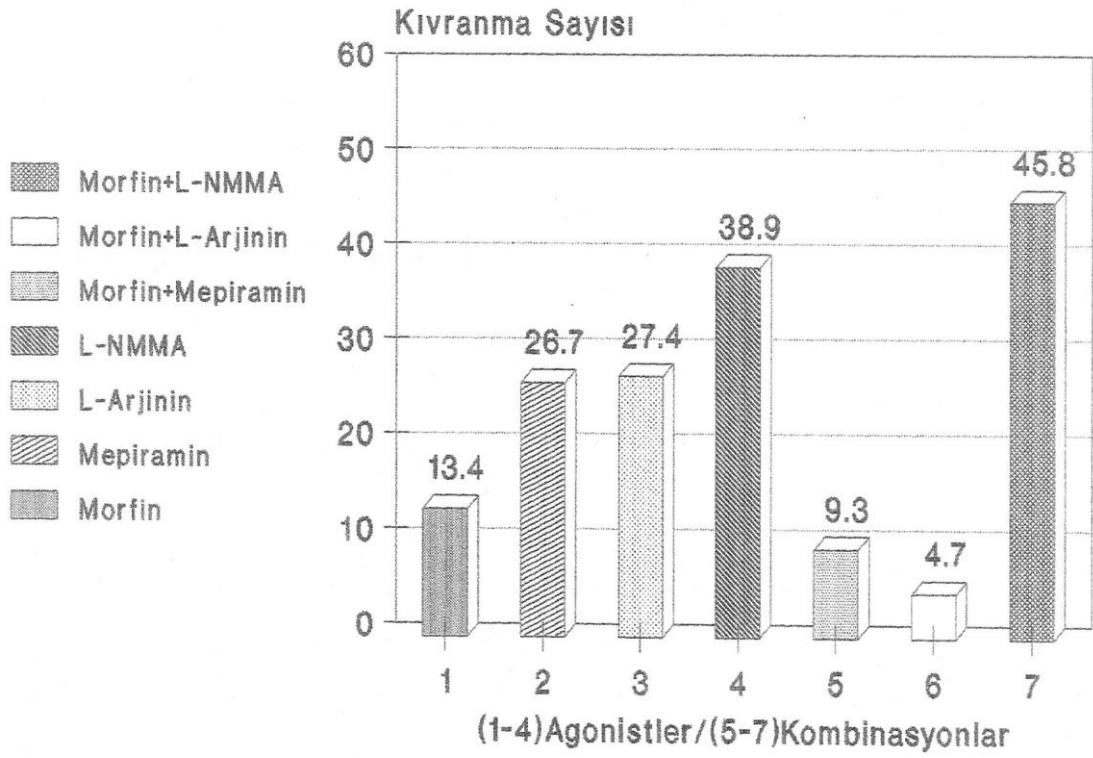
4.7±2.6 (n=12) 10.9±4.9 (n=8)

(Morfin+L-arjinin) ve (mepiramin+L-arjinin) kombinasyonu sırası ile 4.7±2.6 ve 10.9±4.9'luk kıvranma sayısı oluşturmaktadır. Bunlar, yine sırası ile, %88.8 ve %74'lük antinosiseptif aktivite oluşturmaktadır. Her bir kombinasyon, sırası ile morfin, mepiramin ve L-arjininin tek başlarına oluşturdukları kıvranma sayıları ile karşılaştırıldıklarında $p<0.05$ düzeyinde istatistiksel anlamlı farklar göstermektedir. Bu bulgu NO prekürsörü olan L-arjininin gerek morfin ve gerekse mepiraminin antinosiseptif etkisinde katkı yaptığını göstermektedir (Tablo 4).

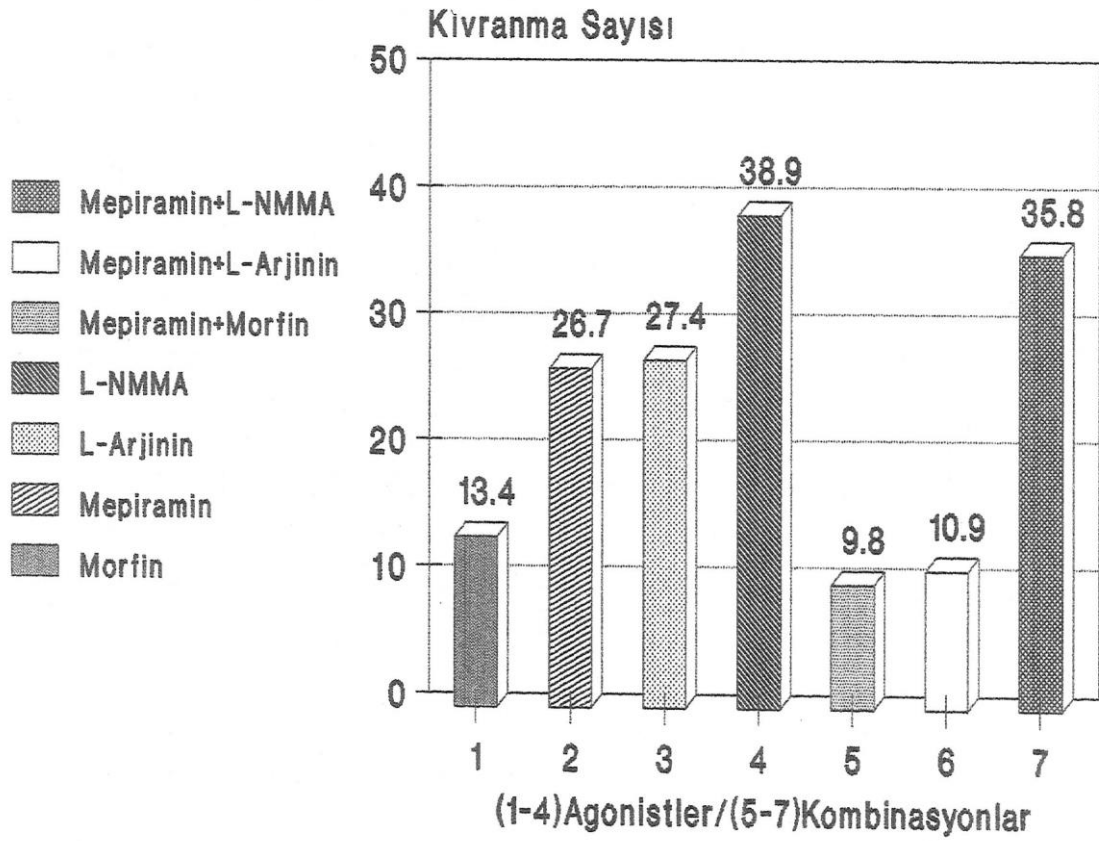
Her iki kombinasyon, kıvranma sayıları bakımından birbiriyle karşılaştırıldığında, aralarında istatistiksel bir fark bulunmaması da bu modeldeki etkilerinden endojen NO'nun sorumlu olduğunu telkin etmektedir (Tablo 6).



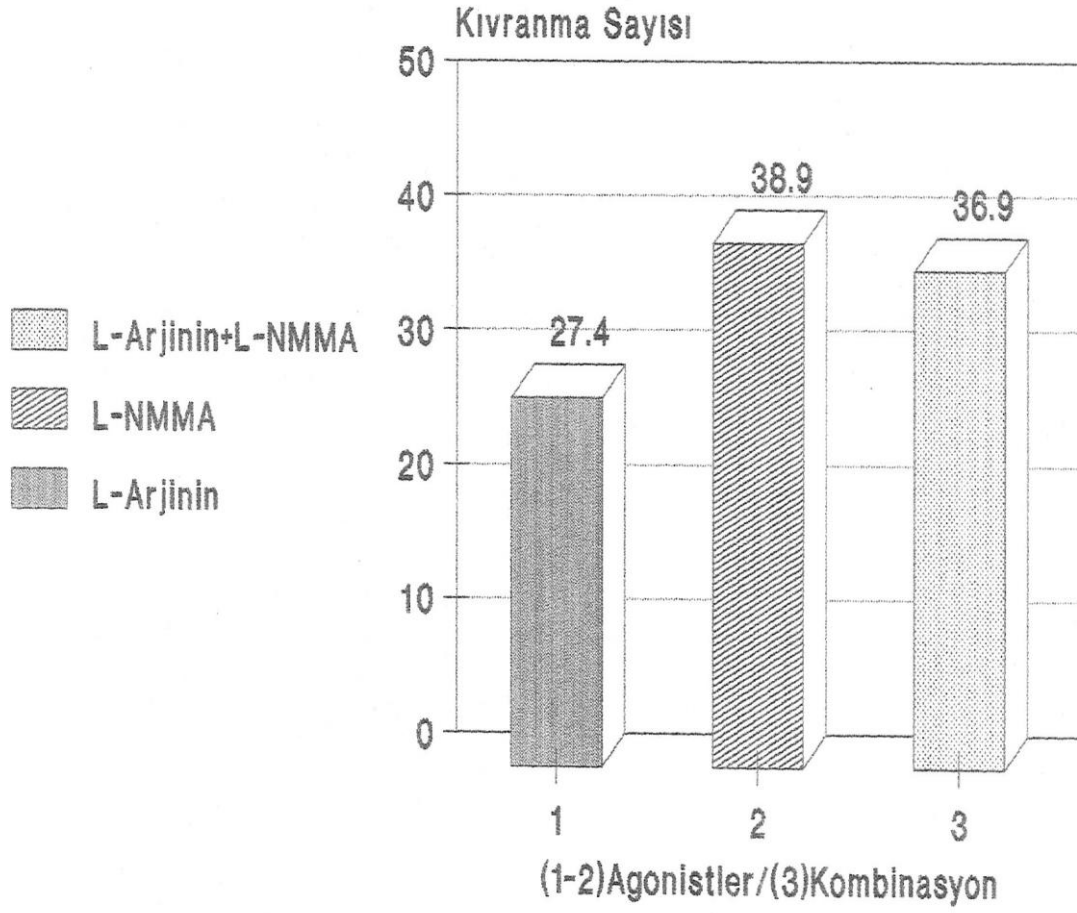
Şekil 1.Farede p-BK ile İndüklenen Kıvrınma Aljezi Modelinde Agonist Kıvrınma Sayıları



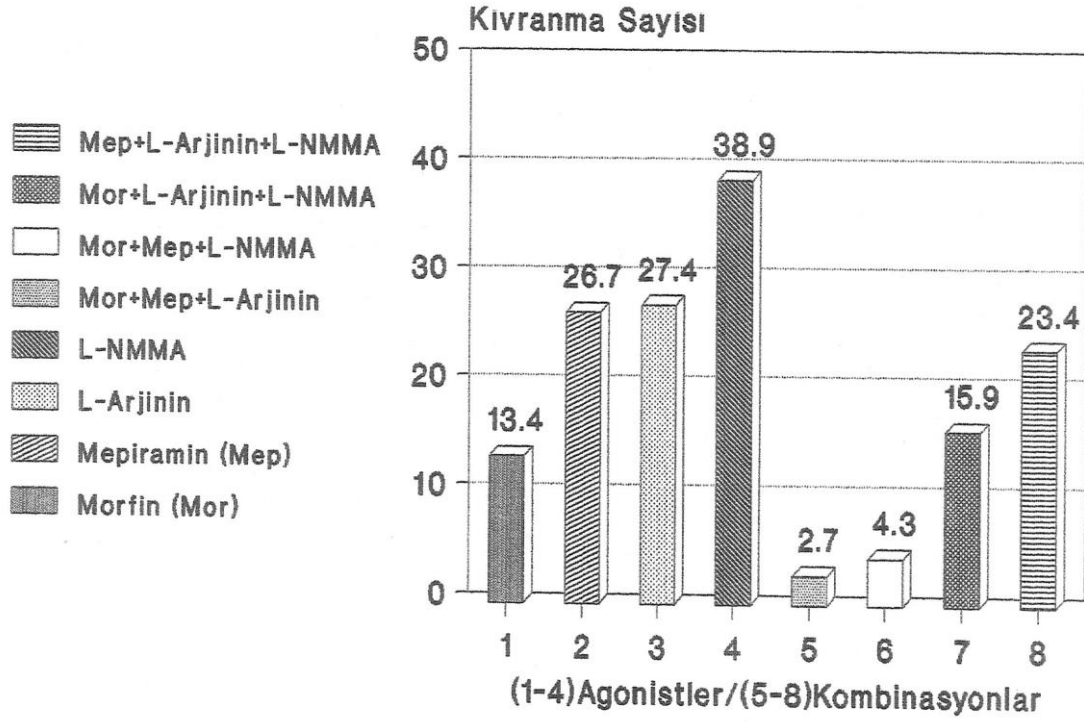
Şekil 2. Farede p-BK ile İndüklenen Kıvrınma Aljezi Modelinde Morfin ile Kombinasyon Kıvrınma Sayıları



Şekil 3. Farede p-BK ile İndüklenen Kıvrınma Aljezi Modelinde Mepiramin ile Kombinasyon Kıvrınma Sayıları



Şekil 4. Farede p-BK ile İndüklenen Kıvrınma Aljezi Modelinde L-Arjinin+L-NMMA Kombinasyon Kıvrınma Sayısı



Şekil 5. Farede p-BK ile İndüklenen Kıvrınma Aljezi Modelinde Üçlü Kombinasyon Kıvrınma Sayıları

Tablo 1. Farede pagonist

-BK ile indüklenen kıvranma aljezi modelinde kıvranma sayıları ve % antinosiseptif aktivite

Uygulama	n	Kıvranma Sayısı	% Antinosiseptif Aktivite
p-BK	2	42	4.7
Morfin	1	13.	4.0
Mepiramin	1	26.	4.2
L-arjinin	1	27.	2.7
L-NMMA	1	38.	7.6

Değerler ortalama (X) $\pm$ ortalamanın standart hatası (OSH) olarak gösterilmiştir.

n-Deney sayısı, * $p < 0.05$, p-BK grubu ile karşılaştırıldığında

Tablo 2. Farede p-BK ile indüklenen kıvranma aljezi modelinde ikili kombinasyon kıvranma sayıları ve % antinosiseptif aktivite

Uygulama	n	Kıvranma Sayısı	% Antinosiseptif Aktivite
p-BK	26	42 $\pm$ 4.7	
Morfin ¹⁾ + mepiramin ²⁾	10	9.8 $\pm$ 1.7*	76.7

Morfin+L-arjinin ³⁾	12	4.7	±	2.6*	88.8
MorJini +L-NMMA ⁴⁾	9	45.8	±	3.2	-9.1
Mepiramin+L-arjinin	8	10.9	±	4.9*	74.1
Mepiramin+L-NMMA	8	35.8	±	2.0	14.8
L-arjinin+L-NMMA	8	36.9	±	2.1	12.2

Değerler ortalama (X) ± ortalamanın standart hatası (OSH) olarak gösterilmiştir.

n-Deney sayısı, 1) ED₅₀ = 0.13 mgkg⁻¹ , 2) ED₅₀-5.6 mgkg⁻¹ ,

3) 50 mg.kg⁻¹, 4) 50 mg. Kg⁻¹ * p<0.05, p-BK grubu ile karşılaştırıldığında

Tablo 3. Farede p-BK ile indüklenen kıvranma aljezi modelinde üçlü kombinasyon kıvranma sayıları ve % antinosiseptif aktivite

Uygulama	n	Kıvranma % Sayısı	Antinosiseptif Aktivite
P-BK	28	42±4.7	
Mor+ ¹⁾ mep ²⁾ +L+arj ³⁾	6	2.7 ± 1.7 *	93.6
Mor+mep+L-NMMA ⁴⁾	6	4.3 ± 2.8*	89.8
Mor+L-arj+L-NMMA	8	15.9 ± 4.4*	62.1

Mep+L-arj+L-NMMA 6 23.4 ± 4.2* 44.3

Değerler ortalama (X) ± ortalamanın standart hatası (OSH). olarak gösterilmiştir.

n=Deney sayısı, 1) Morfin, ED₅₀ 0.13 mg kg⁻¹,

2) Mepiramin, ED₅₀-5.6 mgkg⁻¹, 3) L-arjinin, 4)* p<0.05, p-BK grubu ile karşılaştırıldığında

Tablo 4. Farede p-BK ile indüklenen kıvranma aljezi modelinde endojen nitrik oksidin rolü açısından, tek başına agonist uygulamalar ile bunların birbirleriyle oluşturdukları ikili kombinasyonların kıvranma sayıları bakımından etkileşimleri

		Mepiramin	L-Arjinin	L-NMMA
Morfin	13.4±4.0(10)	9.8±1.7* ^{1) 4)}	4.7±2.6 ^{2) 7)}	45.8*3.2* ^{3) 10)}
		(10)	(12)	(9)
Mepiramin	26.7*4.2(10)		1 0.9±4.9* ^{5) 8)}	35.8±2.0 ^{6) 11)}
			(8)	(8)
L-arjinin	27.4±2.7(10)			36.9*2 .1* ^{9) 12)}
L-NMMA	38.9±7.6(10)			(8)

Değerler ortalama (X) ± ortalamanın standart hatası (OSH) ve deney sayısı (n) olarak gösterilmiştir. p<0. 05, S (istatistiksel anlamlı); p<0.05, M.S. (istatistiksel anlamsız)

*1) Morfin/Morfin+Mepiramini (N.S);

*2) Morfin/Morfin+L-arjinin p<0.09(S);

- *3) Morfin/Morfin+L-NMMA;
- *4) Mepiramin/Morfin+Mepiramin (S);
- *5) Mepiramin/Mepiramin+L-arjinin(S);
- *6) Mepiramin/Mepiramin+L-NMMA $p<0.09$ (S);
- *7) L-arjinin/morfin+L-arjinin (S);
- * 8) L-arjin in/mepiramin+L -arjinin (S);
- *9) L-arjinin/L-arjinin+L-NMMA (N.S);
- *10) L-NMMA/morfin+L-NMMA (N.S);
- *11) L-NMMA/mepiramin+L-NMMA (N . S) ;
- *12) L-NMMA/L-arjinin+L-NMMA (N.S)

Tablo 5. Farede p-BK ile indüklenen kıvranma aljezi modelinde endojen nitrik oksidin rolü açısından, tek başına agonist uygulamalar ile bunların birbirleriyle oluşturdukları üçlü kombinasyonların kıvranma sayıları bakımından etkileşimleri

Uygulama	Kıvranma	Kıvranma sayısı	Üçlü Kombinasyonlar
Morfin,	13.4±4.0(13)	2.7±1.7(6)	Morfin+Mepiramin+L - Arjinin ^{*1) 4) 7)}
Mepiramin		4.3±2.8(6)	
L-arjinin	26.7±4.2(10)	15.9±4.4(8)	Morfin+Mepiramin+L-L-NMMA ^{*2) 8) 10)}
L-NMMA	27.4±2.7(10)	23.4±4.2(6)	Morfin+L-Arjinin +L-NMMA ^{3) 8) 11)}
	38.9±7.6(10)		Mepiramin+L-Ar jinin+L-NMMA ^{6) 9) 12)}

Değerler ortalama (X) $\pm$ ortalamanın standart hatası (OSH) ve deney sayısı (n) olarak gösterilmiştir.

p<0.05, S (istatistiksel anlamlı); p>0.05, N.S (istatistiksel anlamsız)

- 1) Morfin/Morfin+Mepramin+L-arjinin (S);
- *2) Morfin/Morfin+Mepiramin+L-NMMA (S);
- *3) Morfin/Morfin+L-arjinin+L-NMMA (NS);
- *4) Mepiramin/Morfin+Mepiramin+L-arjinin (S);
- *5) Mepiramin/Morfin+Mepiramin+L-NMMA (S);
- *6) Mepramin/Mepiramin+L-arjinin+L-NMMA (N.S);
- *7) L-arjinin/Morfin+Mepiramin+L-arjinin (S) ;
- *8) L-arjinin/Morfin+L-arjinin+L-NMMA (S);
- *9) L-arjinin/Mepiramin+L-arjinin+L-NMMA (N.S);
- *10) L-NMMA/morfin+mepiramin+L-NMMA (S);
- *11) L-NMMA/Morfin+L-arjinin+L-NMMA (S);
- *12) L-NMMA/mepiramin+L-arjinin+L-NMMA (N.S)

Tablo 6. Farede p-BK ile indüklenen kıvranma aljezi modelinde endojen nitrik oksidin rolü açısından, morfin, mepiramin, L-arjinin ve L-NMMA'nın birbirleriyle oluşturdukları ikili kombinasyonlarla elde edilen kıvranma sayılarının birbiriyle etkileşimleri

KOMBİNASYON		
	MepiraminL-Arjinin	L-NMMA
Morfin 9.8±1.7 (10)	4.7 ± 2.6 ¹⁾ (12)	45.8±3.2 ^{*2), 6)} (9)
Mepiramin	1 0.9±4.9 ^{*3) 7) 10)} (8)	35.8±2 .0 ^{*4) 8) 11) 13)} (8)
L-arjinin		36.9±2.1 ^{*5) 9) 12) 14) 15)} (8)

Değerler ortalama (X) ± ortalamanın standart hatası (OSH) ve deney sayısı (n) olarak gösterilmiştir.

p<0.05, S (istatistiksel anlamlı); p>0.05, NS (istatistiksel anlamsız)

*1) Morfin+Mepiramin/morfin+L-arjinin (NS);

*2) Morfin+mepiramin/Morfin+L-NMMA (S);

*3) Morfin+mepiramin/mepiramin+L-arjinin (NS);

*4) Morfin + Mepiramin/Mepiramin+L-arjinin (S);

*5) Morfin+Mepiramin/L-arjinin+L-NMMA (S);

- *6) Morfin+L-arjinin/Morfin+L-NMMA (S);
- *7) Morfin+L-arjinin/Mepiramin+L-arjinin (N.S) ;
- *8) Morfin+L-arjinin/Mepiramin+L-NMMA (S);
- *9) Morfin+L-arjinin/+L-arjinin+L-NMMA (S);
- *10) Morfin+L-NMMA/mepiramin+L-NMMA (S);
- *11) Morfin+L-NMMA/Mepi ramin+L-NMMA (S);
- *12) Morfin+.L-NMMA/L-arjinin+L-NMMA .p<0.05 (N.S);
- *13) Mepiramin+L-arjinin/mepiramin+L-NMMA p<0.02 (S);
- *14) Mepiramin+L-arjinin / L - arjinin + L - MMMA (S)
- *15) Mepiramin+L-NMMA/L-arjinin+L-NMMA p<0.Ö9 (N.S)

Tablo 7. Farede p-BK ile indüklemen kıvranma aljezi modelinde endojen nitrik oksidin rolü açısından, morfin, mepiramin, L-arjinin ve L-NMMA'nın birbirleriyle oluşturdukları üçlü kombinasyonlarla elde edilen kıvranma sayılarının birbiriyle etkileşimleri

	KOMBİNASYON		
	Mepiramin+L-Arjinin	Mepiramin +L-NMMA	L-arjinin +L-NMMA
Morfin	2.7±1.7 (6)	4.3±2.8* ⁶⁾ (6)	1 5.9±4.4* ^{1) 2) 6)} (9)
Mepiramin			23.4±4.2* ^{3) 4)} (6)

Değerler ortalama (X) $\pm$ ortalamanın standart hatası (OSH) ve deney sayısı (n) olarak gösterilmiştir.

p<0.05, S (istatistiksel anlamlı); p<0.05, NS (istatistiksel anlamsız)

* 1) p <0.05, Morfin+Mepiramin+L-arjinin/morfin+L-arjinin+L-NMA(S);

*2) p <0.05, Morfin+mepiramin+L-NMMA/Morfin+L-arjinin+L-NMMA(5);

*3) p <0.05, Morfin+mepiramin+L-arjinin/mepiramin+L-arjinin+L-NMMA (S) ;

*4) p<0.05, Morfin+Mepiramin+L-NMMA/Mepiramin+L-arjinin+L-NMMA (S);

*5) p <0.05, Morfin+Mepiramin+L-arjinin/Morfin+Mepiramin + L-NMMA(S);

*6) p <0.05, Morfin+L-arjinin+L-NMMA/Mepiramin+L-arjinin+L-NMMA (S)

V. TARTIŞMA

Antihistaminiklerin analjezik etkilerine ilişkin önemli ölçüde çalışma, yayın kanıt literatürde yer almaktadır^{83,91}. Bu çalışmalara konu olan tüm antihistaminik bileşikler için analjezik etki veya antinosiseptif aktivite gösterilememiş olmasına karşın, bu teze konu olan mepiramin için ağrı cevabını ortadan kaldıracı aktivite söz konusudur. Mepiraninin yanı sıra difenhidramin, hidroksizin, orfenadrin, fenilteloksamin, prometazin, metdilazin ve tripelenamin için gerek klinik ve gerekse değişik hayvan türlerinde yapılan çalışmalarda analjezik veya analjezik adjuvan etki gösterilmiştir⁸³⁾.

Antihistaminiklerin analjezik etkilerine ilişkin mekanizmaya yönelik çalışmalar birden fazla olayın bu etkide rolü bulunduğunu telkin etmektedir.

Santral etkiler bakımından, spesifik opioid ve nonspesifik histaminerjik mekanizmalarla antihistaminiklerin sedatif komponentlerinin ve P maddesinin histamin ile etkileşmesine ilişkin roller birincil planda düşünülmüştür.

Klasik nörotransmitterlerle etkileşmeler çerçevesinde, antihistaminiklerin analjezik etkilerini aydınlatma yönünden kolinerjik, serotoninerjik, noradrenerjik ve dopaminerjik sistemlerin rolleri çeşitli araştırmalara konu olmuştur.

Periferik analjezik antihistaminiklerin rolleri ise bradikin, prostaglandinler, antiirifla-matuvar, spazmolitik ve lokal anestezi etkiler yönünden incelenmiştir.

Bu temel inceleme alanları dışında, farmakokinetik faktörler ve yapı-aktivite ilişkilerinin antihistaminik analjezisinde rollerini değerlendiren az sayıda çalışma ve bulgu bulunmaktadır.

Antihistaminiklerin analjezik etkilerine mekanizma bakımından yaklaşımda önemle üzerinde durulması gereken alan, siklik nükleotidlerin katkısıdır.

Bilindiği üzere, siklik nükleotidler ikincil ulak histaminerjik nörotransmisyonunda önemli bir rol oynamaktadır. Antihistaminik analjezisinde de siklik nükleotidlerin aktivasyonunun önemli bir olası yolak olması söz konusudur. s-AMP ve s-GMP'nin sinaptik fonksiyonlardaki spesifik rolleri deneysel bulgularla önemli ölçüde aydınlatılmış ve desteklenmiştir⁹⁷. 1971'de s-AMP'nin morfin analjezisini antagonize ettiği Loh ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir³³. Bilindiği üzere histamin beynin çeşitli bölgelerine s-AMP akümüleyonunu en potent biçimde stimüle eden ajanlardan birisidir^{97,110}. Histamine ait bu etkinin gerek, insan gerekse hayvanlarda gösterilmesinin yanı sıra, s-AMP'nin histamin salıverilmesini inhibe ettiği gösterilmiştir⁸³. H₁-, "antihistaminiklerin kobay hipokampus dilimlerinde histaminlerin s-AMP stimüleyonunu parsiyel olarak antagonize düklenen ettiği 1975'de bildirilmiştir⁸³. Hippokampal dilimlerideki H₁-reseptör aracılıklı s-AMP akümüleyonuna neden olan bu uyanmada güçlü bir biçimde eksternal kalsiyum içeriğine bağılı olarak geliştiğı de 1983'deki bir çalışmayla gösterilmiştir⁸³. Sonuç olarak H₁-reseptör stimüleyonunun kalsiyum translokasyonunu başlattığı ve bunda, s-AMP akümüleyonunu, s-AMP'nin sentez veya yıkımını etkilemek suretiyle modüle ettiği biçiminde bir hipotez ileri sürülmüştür⁸³. Diğer yandan, opiat aktivite ile kalsiyum arasında zıt bir ilişki olduğu uzun zamandan beri bilinmektedir. D-vitamini eksikliği yaratılan sıçanlarda gerek basal ağrı eşiğinde ve gerekse morfinin analjezik etkisinde artış gözlenmiştir⁸³. Yine bir başka çalışmada da, prostaglandinler indüklenen sıçan pense ödeminde, s-AMP/kalsiyumun hiperlajeziye katkısı incelenmiş ve gerek s-AMP ve gerekse kalsiyum iyonoforu (A23187)nun doz bağımlı hiperlajezi meydana getirdiğı saptanmıştır⁸³. Bunun yanı sıra, bu iyonofurun, morfin antinosepsiyonunda kalsiyumun antagonist etkisini de artırdığı gözlenmiştir⁸³. Bu literatür bulgular pek çok biyolojik sistemde nosiseptif uyarılara neden olan temel etmenin, kalsiyum trans lokasyonuyla ve sonuçta s-AMP düzeylerindeki artışla ilgili olduğunu telkin etmektedir.

Bu tez çalışmasında mepiramin için gözlemlenen antinoseptif etkinin kısmen s-AMP akümüleyonunu antagonize edici etkilerine bağlamak olasıdır. Nitekim, morfin ve mepiramin kombinasyonunda istatistiksel anlamsız olmakla

beraber morfine göre kıvranma sayılarında görülen dalta da azalma kısmen bu görüşü telkin etmektedir (Tablo 4).

Antihistaminiklerle siklik nüleotidlerin antinosiseptif aktivitedeki ortak rolleri veya etkileşimleri bakımından üzerinde önemle durulması gereken komponentin s-GMP olduğu kuskusuzdur.

Histaminle indüklenen s-GMP artışlarında H_1 -reseptörlerinin ve kalsiyumun katkısı bulunmaktadır⁸³. H_1 antagonistlerinden tripelenaminin s-GMP salıverilmesini artırdığı gösterilmiştir⁸³. Colten ve arkadaşları da s-GMP'nin analjezinin santral regülatörü olduğunu ileri sürmüşlerdir. Diğer yandan aynı araştırma grubu, s-GMP analjezinin nalokson ile inhibe edilememesini s-GMP'nin dışındaki etkisini ortaya çıkaran yolağın dışındaki bir inhibitör ağrı yolağını modüle etmesine bağlamışlardır⁸³. Bunun yanı sıra kalsiyum ön uygulamasının s-GMP antinosisepsiyonunda doz-bağımlı bir potensiyalizasyon oluşturur iken, morfin antinosisepsiyonunda ise doz-bağımlı bir antagonizma gösterdiği saptanmıştır⁸³.

Mepiraminin oluşturduğu antinosiseptif aktivitenin mekanizmasında endojen NO'nun rolünün bulunduğu ve antinosisepsiyona L-arjinin/NO/s-GMP'nin aracılık yapabileceğine ilişkin kanıtların bu tez kapsamında elde edildiğini speküle etmek olasıdır.

Nitrik oksit, L-arjininin terminal guanido nitrojen atomlar indarf birisinin oksidasyonu sonucu oluşan bir ara ürün olup, guanil siklazin prostetik hem grubuna bağlanarak enzimi aktive edip s-GMP sentezin sağlar. NO oluşumu, NO sentez tarafından katalizlenir.

Bu çalışma kapsamında kullanılan L-arjinin 50

mg kg⁻¹ dozda % 34.7 antinosiseptif aktivite oluştururken, endojen NO prekürsörü olan bu madde, morfin ve mepiramınle beraber kombine olarak uygulandığında her iki maddenin tek başına meydana getirdiği % antinosiseptif aktivite dalta da fazla potansiyalize etmiştir. Bu bulgu, gerek morfin ve gerekse

mepiramin analjezisi bakımından gelişen cevapta L- arjinin/NO sisteminin rolü olacağını telkin etmektedir. Diğer yandan NO-sentaz inhibitörü olan L-NMM nin tek başına uygulamasında oluşan kıvranma sayısını p-BK ile indüklenen kıvranma sayısına yaklaşık olarak eşit olması ve yanı sıra gerek morfin ve gerekse mepiraminle kombine olarak uygulandığında bu bileşiklerin tek başlarına oluşturduğu antinosisepsiyonu anlamlı olarak ortadan kaldırması morfin ve mepirami'ne ilişkin analjezik etkide endojen NO'nun rolü bulunduğu savını desteklemektedir. Bir diğer kanıt da Tablo 5 ve 7'de gösterildiği üzere üçlü kombinasyonların morfin, mepiramin, L-arjinin ve L-NMMA'nın tek başına oluşturdukları kıvranma sayısı değerleri ile kendi aralarındaki karşılaş- tırlarda gerek morfin ve gerekse mepiraminin etkileri bakımından antinosiseptif aktiviteye hem nitrik oksit sentazın doğrudan katkısının bulunduğunu gösterilmiş olmasıdır.

Bu çalışma bakımından, s-GMP'nin antinosisepsiyonda bir etkisinin olup olmadığı açıklıkla speküle edilemez. En azından s-GMP düzeylerinde artışa neden olabilecek MY5445 gibi bir fosfodiesteraz enzim inhibitörüne gereksinim bulunmaktadır.

Sonuç olarak bir H₁ antagonisti olan mepiraminin. kıvranma aljezisindeki antinosiseptif aktivitesinde. endojen NO'in rolü bulunduğu söylenebilir.

ÖZET

Bu çalışmada, farede parabenzokinon ile oluşturulan kıvranma aljezisinde gerek morfin ve gerekse mepiraminin oluşturdukları % antinosiseptif aktivitede endojen nitrik oksitin rolü araştırılmıştır.

Morfin ($0.13 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) , mepiramin ($5.6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) ,

L-arJi'nin ($50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) ve L-N-Monometi L-arjininin ($50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) p-BK kıvranma aljezisindeki etkileri, tek başlarına ve ikili, üçlü kombinasyonlar biçiminde denenmiştir.

Elde edilen sonuçların, genel değerlendirilmesi yapıldığında L-arjinin, morfin ve mepiraminin % antinosiseptif aktivitesini potansiyal ize etmektedir; bunun yanısıra, L-NMMA'nın meydana getirdiği inhibisyonlar, her iki bileşiğin etkisinde endojen NO'un rolü olabileceği hususunu telkin etmektedir.

SUMMARY

In this study, the role of endogenous nitric oxide in % antinociceptive activity of morphine and mepyramine has been assessed by p-BQ induced writhing algela model in mice.

The effects of morphine (0.13 mg.kg^{-1}), mepyramine (5.6 mg.kg^{-1}), L-arginine (50 mg.kg^{-1}) and L-N-Monomethylarginine (50 mg.kg^{-1}) in the abdominal constriction of mice induced by p-BQ were evaluated by single s. c. admin.1 str ati ons and, as double and **trited** combinations.

Prosents results generallay Indlcate that, L- arginine potantiates the % antinociceptive activity of both morphine and mepyramine. In additlon to that, L-NMMA Inhibitis the antinociceptive activity of both compounds

The overall results show that there is an evidance of endogenous NO plays a role in the antinociceptive activity of morphine and mepyramine.

KAYNAKLAR

1. TURNER,R.A.: Analgesics. Chapter 8. in. "Screening Methods in Pharmacology" (TURNER,R.A.ed.) Academic Press New York, and London, 100 (1965).
2. KAYAALP,S.O.: Narkotik (Opioid) Analjezikler "Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji" 5.Baskı Cilt 2, Feryal Matbaacılık, Ankara, 1916 (1990).
3. PROCCACI,P.,- MARESCA,M.: Evalution of the Comcept of Pain, Adv.Pain Res.Ther., 20, 1-17 (1992).
4. MARCRAE,W.A., DAVI ES,H.T.D., CROMBI E,I.K.:Pain Paradigms and Treatment, Pain, 49, 289—291 (1992).
5. CAMPBELL,J.N., RAYA,S.N., COHEM,R.H., MANNING,D.C., KAHN,A.A., MEYER,R.A.: Peripheral Neural Mechanisms of Noci cepti on , Texbook of Pain (WALL,P.D., MELZACK , R.. Ed.) Second Edition, Churchill Livinstone, New York, 22 (1 989) .
6. LEMBECK, DONNERER.Y.: The Mide Spectrurrr of Functions of Çapsaicin-Ssnsi ti ve Nociceptive Afferents. Adv.Pain Res. Ther., 20, 45”54 (1992).
7. MAC IEWICZ,R., MARTIN.: Pain: Pathophysiology and Management in "Harrison’s Principles of Internal Medicine" Twelfth ed., (MILLSON,Y.D., BRAUNMALD et al.ed.) Mac raw~Hill New York, 193 (1991).
8. LENZ,F.A.: Ascending Modulation of Thalamic Furiction and pain, Adv.Pain Res.Ther., 20, 177—196 (1992).
9. GEBHART,G.F., NESS,T.J.: Central Mechanisms of Visceral Pain, Can.J.Physiol., 69, 627”634 (1991).
10. DUBNER.R.: I.Introductory Remarks: Basic. Mechanisms of Pain Associated Mithg Deep Tissues, Can.J.Physiol. Pharmacol., 69, 607”609 (1991).
11. CÜNHA,F.Q., POOLE,S., LORENZETTI,B.B., FERREIRA,S.H.: The Pivotal Role of Tumour Necrosis Factor α in the Development of Inflammatory

Hyperalgesia, Br.J.Pharmacol., 107, 660-664 (1992).

12. CÜNHA, F.Q., LORENZETTI, B. B., POOLE, S., - FERREIRA, S. H.: Interleukin-6 as a Mediator of Sympathetic Pain, Br.J.Pharmacol., 104, 765-767 (1991).
13. BASBAUM, A. I., LEVINE, J. D.: Opiate Analgesia-How Central Is a Peripheral Target, The New Eng.J.Med., 325(16), 1168-1169 (1991).
14. GELGOR, L., BUTKOW, N., MITCHELL, D.: Effects of Systemic Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs on Nociception During Tail Ischaemia and on Reperfusion Hyperalgesia in Rats, Br.J. Pharmacol., 105, 41-46 (1992).
15. WILLIS, W.D.: The Origin and Destination of Pain Pathways Involved in Pain Transmission, in "Textbook of Pain" Second Ed., (WALL, P.D., MELZACK, R. Ed.) Churchill Livingstone, New York, 112 (1989).
16. STIMMEL, B.: Pain Analgesic and Addiction in, "The Pharmacologic Treatment of Pain" First ed., Raven Press, New York, 1 (1983).
17. ZIMMERMANN, M.: Basic Concepts of Pain and Pain Therapy, Arznei-Forsch/Drug Res., 34(11) 9a, 1053-1059 (1984).
18. MAYER, D.J., JOLLE, T.L., AKIL, H., CARRER, B., LIEBESKIND, J.C.: Analgesia from Electrical Stimulation in the Brainstem of the Rat, Science, 174, 1351-1354 (1971).
19. SYNDER, S.: Brain Peptides as Neurotransmitters, Science, 209, 976-983 (1980).
20. SYNDER, S.: Drug and Neurotransmitter Receptors in the Brain, Science, 224, 22-31 (1984).
21. WATKINS, L.R., MAYER, D.J.: Organization of Endogenous Opiate and Nonopiate Pain Control Systems, Science, 216, 1185-1192 (1982).
22. KAMATA, K., OGATA, K., MEYAMA, T.: Modification of Antinociceptive Action of Morphine by Dopamine Agonist and Antagonist in Mice, Jap.J.Pharmacol.,

38,113-115 (1985).

23. LEWIS, J., MANSOUR, A., KHACHATURIAN, H., WATSON, S. J., AKIL, H.: Opioid and Pain Regulation in "Neurotransmitters and Pain Control" First ed., (AKIL, H., LEWIS, J. W., eds.) Vol. 1, Karger, New York, 129 (1987).
24. YAKSH, T. L., AIMONE, L. D.: The Central Pharmacology of Pain Transmission in "Neurotransmitters and Pain Control" First ed., (AKIL, H., LEWIS, J. W., eds.) Vol. 1, Karger, New York, 129 (1987).
25. CARMODY, J. J., CARROLL, P. R., MORGAN, D.: Naloxone Increases Pain Perception in Rats and Mice, *Life Sci.*, 24, 1149-1152 (1979).
26. NARTOLINI, A., GHELARDINI, C., MALCANGI, M., FANTETTI, L., MALMBERG, A., GIOTTI, A.: Physiological Analgesia Is Obtainable by Potentiating Presynaptic Mechanisms Involved in Central Pain Control, *Adv. Pain Res. Ther.*, 20, 81-92 (1992).
27. KALSO, E. A., SULLIVAN, A. F., MCQUAY, H. J., DICKENSON, A. H.: Spinal Antinociception by Tyr-D-Ser(OMe)-Gly-Phe-Leu-Thr, a Selective δ -Opioid Receptor Agonist, *Eur. J. Pharmacol.* 216, 9-10 (1992).
28. BASBAUM, A. I., LEVINE, J. D.: Opiate Analgesia-More Central Is a Peripheral Target, *New Eng. J. Med.*, 325(16), 1168-1169 (1991).
29. GUTSTEIN, H. B., BRONSTEIN, D. M., AKIL, H.: (S)-endorphin Processing and Cellular Origins in Rat Spinal Cord, *Pain*, 51, 241-247 (1992).
30. NAHIN, R. L., HYLDEN, J. L. K., HUMPHREY, E.: Demonstration of Dynorphin A 1-8 Immunoreactive Axons Contacting Spinal Cord Projection Neurons in a Rat Model of Peripheral Inflammation and Hyperalgesia, *Pain*, 51, 135-243 (1992).
31. BACH, F. W., LANGEMARK, M., SECKER, N. H., ØLESEN, J.: Plasma- and Cerebrospinal Fluid [3-endorphin in Chronic Tension-type Headache, *Pain*, 51, 163-168 (1992).
32. GEBHART, G. F., NESS, T. J.: Central Mechanisms of Visceral Pain, *Can. J. Physiol.*, 69, 627-634 (1991).

- 33- IHIERNEY,6., CARMODY,J., JAMIESON ,D . : Stress Analgesia: the Opioid Analgesia of Long Swims Suppresses the Non- opioid Analgesia Induced by Short Swims in Mice, *Pain*, 46, 89-95 (1991).
- 34- FURCHGÖTT,R.F. and ZAWADZKI,J.V.: The Obligatory Role of Endothelial Cells in the Relaxation of Arterial Smooth Muscle by Acetylcholine. *Nature (Lond.)* 288: 373- 376 (1980).
- 35- MÖNCADA, S . , PALMER , R . M . J .., and HIGGS , E . A . : Nitric Oxide: Physiology, Pathophysiology, and Pharmacology, *Pharmacological Reviews*, USA, 109-134 (1991).
- 36- GRIFFITH,T.M., EDMAROS,D.H . , LEWIS,M.J., NEWBY,A.C., and MENDERSON,A.H.: The Nature of Endothelium-derived Vascular Relaxant Factor. *Nature (Lond.)* 329:442-445 (1 987) .
- 37- RUBANYI,G.M.,LOREN2,R.R., and VANHOUTTE, P.M.: Flow-induced Release of Endothelium-derived Relaxing Factor(5): Inactivation by Catecholamines. *Am.J.Physiol.*, 249: H95-H101 (1985).
- 38- GRYGLEWSKI,R.J., MOCADA.S., and PALMER,R.M.J.: Bioassay of Prostacyclin and Endothelium-derived Relaxing Factor (EDRF) from Porcine Aortic Endothelial Cells. *Br.J.Pharmacol.*, 87: 685-694 (1986a).
39. RAPÛPORT,R.M., MURAD, F. : Agonist Induced Endothelium- derived Relaxation in Rat Thoracic Aorta May be Mediated Though Cyclic GMP. *Circ.Res.*, 52:352-357(1983).
- 40- MONCADA,S.,PALMER,R.M.J. and GRYGLEWSKI,R.J.:Mechanism of Action of Some Inhibitors of Endothelium"derived Re1axing Factor. *Proc.Natl.Acad.Sci. USA*, 83: 9164-9168 (1986a).
- 41- MARTIN,W., SMITH.J.A. and WH ITE , D . G. : The Mechanisms by Which Haemoglobin Inhibits the Relaxation of Rabbit Aorta Induced by Nitrovasodi1ators, Ni trio Oxide, or Bovine Retractor Penis Inhibitory Factor. *Br.J. Pharmacol.*, 89: 563-571 (1986).
- 42- RADOMSKI,M.W., PALMER,R.M.J. and MONCADA,S.: The Role of Nitric

Oxide and cGMP in Platelet Adhesion to Vascular Endothelium. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 148:1482-1489 (1987c).

- 43- RADOMSKI, M.W., PALMER, R. M.J. and MONCADA, S.: Endogenous Nitric Oxide Inhibits Human Platelet Adhesion to Vascular Endothelium. *Lancet*, 2: 1057-1058 (1987d).
- 44- FURCHGÖTT, R.F.: Studies on Relaxation Rabbit Aorta by Sodium Nitrite: the Basic for the Proposal The the Acid-Activatable Inhibitory Factor From Retractor Penis is Inorganic Nitrite and the Endothelium-derived Relaxing Factor is Nitric Oxide In Vasodilation: Vascular Smooth Muscle, Peptides, Autonomic Nerves and Endothelium (VANHOUTTE, P.M. ed.) Raven Press, New York 401-414 (1988).
- 45- IGNARRIELLO, L., BYRNS, R.E. and WOOD, K.S.: Biochemical and Pharmacological Properties of Endothelium-derived Relaxing Factor and its similarity to Nitric Oxide Radical. In Vasodilation: Vascular Smooth Muscle, Peptides, Autonomic Nerves and Endothelium (VANHOUTTE, P.M., ed.) Raven Press, New York 427-436 (1988).
- 46- RADOMSKI, M.W., PALMER, R.M.J., and MONCADA, S.: Comparative Pharmacology of Endothelium-derived Relaxing Factor, Nitric Oxide and Prostacyclin in platelets. *Br.J.Pharmacol.*, 92: 181-187 (1987a).
- 47- ANGUS, J.A., and COCKS, T.M.: Endothelium-derived Relaxing Factor. *Pharmacol.Ther.*, 41: 303-351 (1989).
- 48- FURCHGÖTT, R.F.: Endothelium-derived Relaxing Factor: some Old and New Findings. In Nitric Oxide from L- Arginine: A Bioregulatory System, (S.MONCADA and E.A.HIGGS Ed.) Elsevier Amsterdam, 5-16 (1990).
- 49- TARE, M., PARKINGTON, H. C., COLEMAN, H.A., NEILD, T.O., and DUSTING, G.J.: Actions of Endothelium-derived Nitric oxide Include Hyperpolarization of Vascular Smooth Muscle. In Nitric Oxide from L-Arginine: A Bioregulatory System, (S.MONCADA and E.A.HIGGS Ed.) Elsevier Amsterdam, 73-80 (1990).

50. HIBBS, J.B.Jr., TAINTOR, R. R., and VAVRIN, Z.: Macrophage Cytotoxicity: Role for L-Arginine deiminase Activity and Imino Nitrogen Oxidation to nitrite. *Science*, 235: 473-476 (1987a).
51. LEONE, A.M., PALMER, R.M.J., KNOWLES, R.G., FRANGIS, P.L., AS'GTÖN, D. S., and MONCADA, S.: Constitutive and Inducible Nitric Oxide Synthases are L-Arginine N^e-, C^e-dependent dioxygenases. *J. Biol. Chem.* Submitted, (1991).
52. OARTHMAITE, J.: Nitric Oxide Synthesis, Linked to Activation of Excitatory Neurotransmitter Receptors in the Brain: In Nitric Oxide from L-Arginine: A Bioregulatory System, (S. MONCADA and E.A. HIGGS Ed.) Elsevier Amsterdam, 115-137 (1990).
53. DUARTE, I.D.G., LORENZETTI, B.B., and FERREIRA, S.H.: Acetylcholine Induced Peripheral Analgesia by the Release of Nitric Oxide. In Nitric Oxide from L-Arginine: A Bioregulatory System, (S. MONCADA and E.A. HIGGS Ed.) Elsevier Amsterdam, 165-170 (1990).
54. MELLER, S.T., LEWIS, S.J., BATE, S.J.N., BRODY, M.J. and GEBHART, G.F.: Is There a Role for an Endothelium-derived Relaxing Factor in Nociception? *Brain Res.*, 531 : 342-345 (1990).
55. FERREIRA, S.H., DUARTE, I.D.G., and LORENZETTI, B.B.: The Molecular Mechanism of Action of Peripheral Morphine Analgesia: Stimulation of the cGMP System via Nitric Oxide Release. *Eur. J. Pharmacol.*, 201: 121-122 (1991).
56. DUARTE, I.D.G., SANTOS, I.R., LORENZETTI, B.B., FERREIRA, S.H.: Analgesia by Direct Antagonism of Nociceptor Sensitization Involves the Arginine-Nitric Oxide, cGMP Pathway. *Eur. J. Pharmacol.*, 217: 225-227 (1992).
57. MELLER, S.T., DYKSTRA, C., and GEBHART, G.F.: Production of Endogenous Nitric Oxide and Activation of Soluble Guanylate Cyclase are Required for N-methyl-D-aspartate-produced Facilitation of the Nociceptive tail-flick Reflex. *Eur. J. Pharmacol.*, 214: 93-96 (1992).

- 58- BABBEDGE , R . C . , HART, S. L., MOORE, P.K.: Anti-nociceptive vs Activity of Nitric oxide Synthase Inhibitors in the Mouse: Dissociation Between the Effect of L-NAME and L- NMMA. J.Pharm.Pharmacol., 45: 77-79 (1993).
- 59- XU,J.Y. and TSENG.L.F.: Increase of Nitric Oxide by t-arginine Potentiated fJ-endorphin~but not p, 8-or k~ oploid Agonist-Induced Antinociception in the mouse. Eur.J. Pharmacol., 236: 137-142 (1993).
- 60- KAWABATA,A., KASAMATSU,K., and TAKAGI,H.:L-Tyrosine- Induced antinociception in the mouse: Involvement of Central 8-opioid Receptors and the bo-splina 1 Noradrenergic System. Eur.J.Pharmacol., 233: 255-260 (1993).
- 61- HUGHES,S.R., WILLIAMS,T.J., and BRAIN,S.D. :Evidence that Endogenous Nitric Oxide Modulates Oedema Formation Induced by Substance P. Eur.J.Pharmacol., 191: 481-484 (1990) .
- 62- KUBRINA,L.N . , MORDVINTSEV,P. I . , and VANIN,A.F. :Nitric Oxide Formation in Animal Tissues During Inflammation.-B.Eksp.Biol.Med., 107(1): 35-38 (1989).
- 63- IALENÎM ,A. , IANARD,A., MÖNCADA,S., and DIRÓSA.M.: Modulation of Acute Inflammation by Endogenous Nitric Oxide. Eur.J.Pharmacol., 211 : 177-182 (1992).
- 64- HAMON,M., BOURGOIN.S., GOLAN,H., HALI,M.D., GOETZ,-C., ARTAUD.F., HORN., A.S.: Biochemical Evidence for the 5-HT Agonist Properties of p (8-Hydroxy-2-(D -n-propyl) amine) tetrallin in the Rat Brain. Eur.J.Pharmacol., 100: 263-276 (1984).
- 65- LANCE,J.W.:Possible Role Serotonin in the Migraine Syndrome, Adv.Pain Res.Ther., 20: 225-231 (1992).
- 66- SCHMAUSS,C., HAMMOND,D.L., OCHI,J.W., YAKSH,T.L.: Pharmacological Antagonism of the antinociceptive Effects of Serotonin in the Rat Spinal Cord, Eur . J.Pharmacol. , 90: 349-357 (1983),
- 67- LANCE-P.W., SAWYER,J.: Substance P-Induced Long-Term Blockade of

Spinal Adrenergic Analgesia: Reversal by Morphine and Naloxone, J.Pharm.Exp.Therap., 240:972-977 (1987).

- 68- S UĞRU E, M. E. , Mc'INDEWAR, I: Effect of Blockade of 5-Hydrox tryptamin Re-uptake on Drug-Induced Antinocception in the Rat,J.Pharm.Pharmacol., 28: 447-449 (1976).
- 69- DUBNER.R.:Methods of Assessing Pain in Animals in"Textbook of Pain" (MALL.P.D., MELZACK , R . Ed .) ,704:247-255.
- 70- DÖMER,F.R.: Techniques for Evaluation of Analgetics in "Animal Experiments in Pharmacological Analysis", First- ed,, (DOMER,F.R.ed.) Charles C.Thomas Publisher, Springfield, 275, (1971).
71. GLASSMAN™ J. M.: Agents. with Analgesic Activity and Dependence Liability in "Screening Methods in Pharmacology", First ed. (Turner,R.A. Hebborn,P.Eds.) Academic Press, New York-London, 227, (1971).
72. TIOLSEN,A., ROSLAND,J .H., BERGE,O.B., and HOLE,K.: The Increasing-Temperature hot plate Test: An Improved Test of Nociception in Mice and Rats, Elsevier, New York, J.Pharmacol.Met., 25: 241-250 (1991).
73. FARRE,A.J., COLUMBO,M., GUTIERREZ,B.: Maximum Tolerated Temperature in the Rat Tail: A Broadly Sensitive Test of Analgesic Activity, Meth and Find Exp.Clin. Pharmacol . , 11 (5): 303-307 (1989).
74. McCALLISTER-L.W., LIPTON.J.M., GIESECKE,A.H.,CLARK,JR. AND W.6.: The Rabbit Earwithdrawal Test: A New Analgesiometric Procedure, Pharmac.Biochem.Behav.,25:481-482 (1986).
75. OKUN,R., LIDDON,S.C., AND LASAGNA,L.: The Effects of Aggregation, Electric Shock, and Adrenergic Blocking Drugs on Inhibition of the "Writhing Syndrome" J.Pharmacol.Exptl. Therap., 139: 107-109 (1963).
76. SINGH,P.P. , JUNNARKAR,A.Y., AND VARMA,R.K.: A Test for Analgesics:Incoordination in writhing Mice, Meth and Find Exp.Clin.Pharmacol., 9(1): 9-11 (1987).
77. CHAU,T.T., LEWIN,A.C., WALTER,T.L., CARLSON,R.P., AND

- WEICHMAN,B.M.: Evidence for a Role of Bradykinin in Experimental Pain Models, Agents and Actions, 34:1/2(1991) .
78. BURKHALTER,A., FRICK,Ö.L.: Histamine, Serotonin and the Ergot Alkaloids. Section IV. in Basic and Clinical Pharmacology, Fifth ed . (Katzung,B.6.ed.), pp.229-239, Appleton and Lange, San Mateo, (1989).
 79. GARRISON,J.C. :Histamine,Bradykinin, 5 "Hydroxytryptamine, and Their Antagonist. Chapter 23. In:Goodman and Gilman's "The Pharmacological Basis of Therapeutics". Eighth Edition, Bergamon Press, 575-588 (1990).
 80. SCHWARTZ, J.C. , ARRANG, J . M. , GARBARG , M . , POLLARD , H ., AND RUAT,M.:Histaminergic Transmission in the Mammalian Brain The American Phys.Soc., Vol.71(1), (1991).
 81. HILL.S.J.:Distribution, Properties and Functional Characteristics of Three Classes of Histamine Receptor, Pharma.Rew., 42(1): 45~83 (1990).
 82. HAAKSMA.E.E.J., LEURS, R., TIMMERMAN, H. :Histamine Receptors:Subclasses and Specific Ligands, Pharmac.Ther., 47: 73-104 (1990).
 83. RUMORE,M.M., SCHLICHTING,D.A.:Analgesic Effects of Antihistaminics, Life Sciences, 36: 403-416 (1985).
 - 84- BOUTHENET,M.I., RUAT, M , SALLES,N., GARBARG,M.,SCHWARTZ, J. C. : A Detailed Mapping of Histamine H₁™ receptors in guinea-pig Central Nervous System Established by Autoradiography With[125I] Lofepipramine, Neuroscience, 26: 553-600 (1988).
 - 85- LANDAU,S.W., NELSON,W.A. AND GAY.L.N.: Antihistaminic properties of Local Anesthetics and Anesthetic Properties of Antihistaminic Compounds, J.Allergy, 22: 19-30 (1951).
 - 86- MORICHI,R.,- PEPEV.G.: A Study of the Potentiation of Morphine Antinociception by Meprobazine in the Rat, Brit.J.Pharmacodyn, 62: 391-392 (1978).

87. WELLER,C.P., SULMAN,F.ö.: Drug Action on tail-shock- induced Vacoli zati on in Mice and its Relevance to Analgesia, Eur.J.Phârma., 9: 227-234 (1970).
- 88- MESTRICK , M . L . , SPROTTO , G . R . : The Effect of An ti h i s tarni nes on the Analgesic Response in the Morphine,treated Rat, Fed.Proc., 40: 282 (1981).
- 89- YEHjS.Y.: The Effect of Tripelenamine and Other Antihistaminic Drugs on Pentazocine Analgesia in the Rat, Fed.Proc., 42: 1 017 (1 983)-.
- 90- LANGFORD,F.D., HOLMES.P.A., EMELE,J.F.: Enjective Method for Evaluation of Ana 1gesic/Anti-inf1ammatory Activity. J.Pharm.Sci. , 61: 75-78 (1 972).
- 91- NETTÌ,C., GUIDOBOND.F., SIBILIA,V.,VÍLLA,I.,CA2ZAMALLI, E., PECILE.A.: Central Effects of Histamine H_K Receptor Agonists and Antagonists oln Nociception in the Rat. Agent and Actions, 23(3/4): 247-249 (1988).
- 92- ROBERT.E., GREENGARD,P.: Regulation by Histamine of Cyclic Nucleotide Levels in Sympathatic Ganglia, J.Pharmacol.Exp.Therap., 207(3): 767-778 (1978).
93. KACHUR,J.F., TAGASHIRA,E., DEWEY,W.L.: Opioid Tripelen- amine Interactions in non-tolerant (NT) and Morphine™ tolerant (MT) guinea-pig i'iea, Fed.Proc., 42: 1168 (1 983) .
- 94- BHARGAVA , H . N . : Mechanism of Toxicity and Rationale for Uss of the Cornbination of Pentazocine and Pyribenzamine in Morphine-Dependent Subjects, C1 in.Toxicol.,18(2):175-188 (1981),
- 95- TAGASHIRA,E., KAHCUR.J.F., DEWEY,W.L.:Cr oss-phys ica 1Dependence of Combinations of Pentazocine and Tri palenamine with Morphine, Fed.Proc., 42:1168(1 983).
- 96- GARBAR8, M. , ARRANG, J . M . , DUCHEMIN,A.M.,QUACH, T . T . , ROSE ,C , AND S'CHMARTZ, J .C . : CNS Receptors-From Molecular

Pharmacology to Behavior, Mandel.P. and Defeudis,F.V. eds. Raven Press, New York, p.421-428 (1983).

- 97- COOPER, J. R., BLOOM, F. E., AND ROTU, R. H. : The Biochemical Basis of Neuropharmacology, 4th ed., p.352-357, Oxford University Press, New York, (1982).
- 98- TAKATANI,N., ITO,H., MATSUOKA,I., SASA,S., AND TAKAORI,S.:Inhibitory Effect of Diphenhydramine on Vestibular Nucleus neurons. The 62nd Kindai Branch Meeting of the Japan Pharmacol. Society, 5/1/83.
- 99- RIEZENH. V.:Different Central Effects of the 5-HT Antagonists Mianserin and Cyproheptadine. Arch.Intern. Pharmacodyn., 198: 256-269. (1972).
- 100-BROWN,P.A., VERNIKOS,J.: Antihistamine Effect on Synaptosomal Uptake of Serotonin, Nociceptin and Dopamine, Eur.Pharmac., 65: 89-92 (1980).
- 101-CARLSSON,A., LINDQVIST,M.: Central and Peripheral Monoaminergic Membrane-pump Blockade by Some Addictive Analgesics and Antihistamines, J.Pharm.Pharmac.,21: 460-464 (1969).
- 102-SYMCHOWICZ,S., KORDUBA,C.A., VEALS.J.:Inhibition of Dopamine Uptake Into Synaptosomes of Rat Corpus Striatum by Chlorpheniramine and Structural Analogs, Life Sci., 10 (1): 35-42 (1971)..
- 103-JUAN,H.: Dependence of Histamine-evoked Nociception of prostaglandin Release. Agents and Actions, 11(6/7): 706-709 (1981).
- 104-ROSENTHAL, J. R. : Histamine as the Chemical Mediator for Cutaneous Pain, J.Invest.Derm., 69 (1): 98-105 (1977) .
105. PAPANICOLAOU,D.: Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs, Nonopioid Analgesics, Drugs used in Gout in "Basic&Clinical Pharmacology"¹¹, Fifth ed., (KATZUNG, B. G. ed.) Prentice Hall, New Jersey, 491, (1992).
- 106-BLOOM.F.E.: Neurohumoral Transmission and the Central Nervous System, Chapter 12, in "Goodman and Gilman's the Pharmacological Basis

- of Therapeutics", Eighth Ed., (GOODMAN GILMANS, A., RALL, W. T., NIES, A. S., TAYLOR, P., Eds.) Pergamon Press, New York, 244-268 (1990).
- 107-SMITH, C. M.: Opioid Analgesics-Agonists and Antagonists, "Text Book of Pharmacology" (SMITH, C. M., REYNARD, M., Ed.) W. B. Saunders Company, Philadelphia, 226-250 (1992) . .
- 108-ABACIOGLU, N., BEDİZ, A., ÇAKICI, İ., TUNÇTAN, B., KANZİK, İ.: Antihistaminic Effects of H₁-, H₂- and H₃- Antihistaminics in Mice, Gen. Pharmac., 24(5): 1173-1176 (1993).
- 109-BEDİZ, A.: Bazı Antihistaminiklerin Ağrıdaki Rolü, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji ABD Yüksek Lisans Tezi, Ankara (1991).
- 110-SCHWARTZ, J. C., GARBARG, M., LEBRECHT, U., NOWAK, J., POLLARD, R. D., ROSE, C., QUACH, T., MORGAN, J. L., ROY, J.: Advances in Histamine Research, Vol. 33, pp. 71-91, (Uvnas, B., and Tasek, K. Eds.) Pergamon Press, Oxford (1981).

ÖZGEÇMİŞ

1954 yılında Ankara'da doğdum. Ankara üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nden 1976 yılında mezun oldum. Kısa süreli eczane mesul müdürlüğü dışında mesleğimle ilgili çalışmadım. Evliyim ve bir kızım var.

