

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**DENEYSEL AKUT AĞRI MODELİNDE TRAMADOL-AGMATİN
ETKİLEŞMESİ VE OLASI MEKANİZMALARININ ARAŞTIRILMASI**

Soner METE

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Fazilet AKSU

ADANA - 2008

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**DENEYSEL AKUT AĞRI MODELİNDE TRAMADOL-AGMATİN
ETKİLEŞMESİ VE OLASI MEKANİZMALARININ ARAŞTIRILMASI**

Soner METE

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Fazilet AKSU

Bu tez, Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından
TF2007YL4 no'lu proje olarak desteklenmiştir.

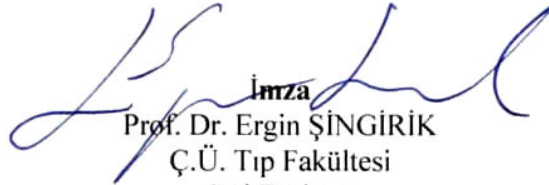
ADANA - 2008

KABUL VE ONAY FORMU

Ç.Ü. SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Tezli Yüksek Lisans Programı Çerçevesinde Soner METE tarafından yürütölmüş olan “Deneyisel Akut Ağrı Modelinde Tramadol-agmatin Etkileşmesi ve Olası Mekanizmalarının Araştırılması” adlı çalışma, aşğıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 25/01/2008


İmza
Prof. Dr. Ergin ŞİNGİRİK
Ç.Ü. Tıp Faköltesi
Jüri Başkanı


İmza
Prof. Dr. Fazilet AKSU
Ç.Ü. Tıp Faköltesi
Jüri Üyesi


İmza
Doç. Dr. Hayri ÖZBEK
Ç.Ü. Tıp Faköltesi
Jüri Üyesi

Yukarıdaki tez, Yönetim Kurulunun 31.01.2008 tarih ve 4123-22 sayılı kararı ile kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Halil KASAP
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, tezimin hazırlanmasında değerli öneri ve yapıcı eleştirileri ile beni destekleyen değerli hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Fazilet AKSU'ya, Bölüm Başkanımız Sayın Prof. Dr. Ergin ŞİNGİRİK'e, Bölümümüz Öğretim Üyelerine, araştırmamın tüm aşamalarında desteğini esirgemeyen Doç. Dr. Hayri ÖZBEK'e, çalışma arkadaşlarıma ve ayrıca emeği geçmiş tüm teknik ve idari personele yardımları ve katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Ayrıca, Yüksek Lisans çalışmalarımı sürdürebilmemde büyük bir özveri ile beni destekleyen aileme de teşekkürü borç bilirim.

Bu çalışma Ç.Ü. Araştırma Fonu tarafından, TF2007YL4 no'lu proje olarak desteklenmiştir.

Soner METE

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	viii
ÖZET	xi
ABSTRACT	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİ	3
2.1. Ağrı	3
2.1.1. Ağrı Mekanizmaları ve İletimi	3
2.1.2. Ağrı İletimi ile ilgili Nöronlar	5
2.2. Nosisepsiyon	6
2.2.1. Nosiseptif Prosesin Periferal Komponentleri	7
2.2.2. Primer Aferent Lif Transmitterleri	8
2.2.3. Nosiseptif Çıkıcı Sistemler	8
2.2.3.1. Spino-Talamik Yol	8
2.2.3.2. Spino-Retiküler Yol	9
2.2.3.3. Spino-Mezensefalik Yol	10
2.2.3.4. Dorsal Kolon Yolu	10
2.2.3.5. Spino-Hipotalamik Yol	10
2.2.4. Antinosiseptif İnici Sistemler	10
2.3. Ağrı İle İlgili Terimler	11
2.4. Ağrı Tipleri	12
2.4.1. Akut Ağrı	12
2.5. Ağrı Tedavisinde Kullanılan İlaçlar	16

3. TRAMADOL	17
3.1. Tramadol'ün Etki Mekanizması	18
3.1.1. Tramadol ve Opiaterjik Sistem	18
3.1.2. Tramadol ve Monoaminerjik Sistem	19
3.1.3. Tramadol ve Nitrerjik Sistem	19
4. AGMATİN	21
4.1. Agmatin'in Yapısı ve Fonksiyonları	21
4.2. Agmatin'in Etkileri	22
5. NİTRİK OKSİD	25
5.1. Nitrik Oksidin Sentezi	26
5.2. Nitrik Oksid Sentez İnhibitörleri	27
5.3. Nitrik Oksidin Santral Sinir Sistemindeki Fizyolojik Rolü	27
5.4. Nitrik Oksidin Analjezi Mekanizmalarındaki Rolü	28
6. NMDA RESEPTÖRLERİNİN AĞRIDAKİ ROLLERİ	30
6.1. İntraselüler Olaylar	30
7. GEREÇ VE YÖNTEM	32
7.1. Deney Hayvanı ve Barındırma Koşulları	32
7.2. Tail Flick Analjezi Ölçüm Testi	32
7.3. Kullanılan İlaçlar ve Uygulama Şekilleri	33
7.4. Deney Grupları ve Uygulama Sıraları	33
7.5. Sonuçların Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Analiz	34
8. BULGULAR	35
8.1. Tail-Flick Testinde Tramadol'ün Etkisi	35
8.2. Tail-Flick Testinde Agmatin'in Etkisi	36
8.3. Agmatin'in Tramadol Üzerine Etkisi	37
8.4. L-arjinin ve L-NAME'in Agmatin Yanıtları Üzerine Etkileri	38
8.5. L-arjinin ve L- NAME'in Agmatin + Tramadol Kombinasyonu Üzerine Etkisi	39
8.6. Tail Flick Testinde MK-801'in Etkisi	40
8.7. MK-801'in Agmatin, Tramadol ve Agmatin + Tramadol Kombinasyonu Üzerine Etkisi	41
9. TARTIŞMA	42

10. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	45
11. KAYNAKLAR	46
12. ÖZGEÇMİŞ	53

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	Spinal sinir ve lifleri.	4
Şekil 2.	Ağrı yolları ile ilgili bölgeler.	9
Şekil 3.	Doku hasarı ile periferik duyuşal liflerden salıverilen nörotransmitterler.	14
Şekil 4.	Tramadol'ün kimyasal yapısı	17
Şekil 5.	Agmatin'in kimyasal yapısı.	21
Şekil 6.	Agmatin ve ilişkili moleküllerin metabolik yolları.	22
Şekil 7.	Tramadol'ün akut ağrı üzerine etkisi.	35
Şekil 8.	Agmatin'in akut ağrı üzerine etkisi.	36
Şekil 9.	Agmatin'in Tramadol Üzerine Etkisi.	37
Şekil 10.	L-arjinin ve L-NAME'in Agmatin Yanıtları Üzerine Etkileri.	38
Şekil 11.	L-arjinin ve L- NAME'in Agmatin + Tramadol Kombinasyonu Üzerine Etkisi.	39
Şekil 12.	MK-801'in akut ağrı üzerine etkisi.	40
Şekil 13.	MK-801'in Agmatin, Tramadol ve Agmatin + Tramadol Kombinasyonu Üzerine Etkisi.	41

ÇİZELGELER DİZİNİ

Tablo 1.	Sinir liflerinin özellikleri ve fonksiyonları.	7
Tablo 2.	Periferal duyarlılıkta oluşan nöroaktif maddeler	7
Tablo 3.	Kullanılan ilaçlar ve uygulama şekilleri.	33
Tablo 4.	Deney grupları ve uygulama sıraları.	33

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ADC	Arjinin Dekarboksilaz
ADMA	N-N-Dimetil Arjinin
ADP	Adenozin Difosfat
α	Alfa
AMPA	Alfa-Amino-3-Hidroksi-5-Metilisokzasole-4-PropionikAsit
ARAS	Assendan Retiküler Aktive Edici Sistem
ATP	Adenozin Trifosfat
Ca^{+2}	Kalsiyum
CGRP	Kalsitonin Geni ile İlgili Peptin
DAO	Diamin Oksidaz
δ	Delta
D-NAME	N^{G} -Nitro-D-Arjinin-Metilester
EAA	Eksitator Amino Asitler
EDRF	Endotelyum Kaynaklı Gevşetici Faktör
eNOS	Endotelyal Nitrik Oksid Sentaz
ED	Endorfin
EK	Enkefalinerjik
FAD	Flavin Adenin Dinükleotid
FMN	Flavin Mononükleotid
GABA	Gamma Aminobütirik Asit
H^{+}	Hidrojen İyonu
IASP	Uluslararası Ağrı Araştırmaları Örgütü (International Association for the Study of Pain)
I_1	İmidazolin 1 Reseptörü
IL-4	İnterlökin-4
IL-10	İnterlökin-10
IL-1 β	İnterlökin-1 β
i.c.v.	İntraserebroventriküler

iNOS	İndüklenebilir Nitrik Oksid Sentaz
i.p.	İntraperitoneal
κ	Kappa
K^+	Potasyum
L-NA	N^G -Nitro-L-Arjinin
L-NAA	N-Amino-L-Arjinin
L-NAME	N-Nitro-L-Arjinin Metilester
L-NIO	N-İminoetil-L-Ornitin
L-NMMA	N^G -Monometil-L-Arjinin
MK-801	Dizosilpin Hidrojen Maleat
μ	Mü
NA	Noradrenalin
NADP	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NADPH	İndirgenmiş Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NANK	Non-Adrenerjik Non-Kolinerjik
NMDA	N-Metil D-Aspartat
nNOS	Nöronal Nitrik Oksid Sentaz
NO	Nitrik Oksid
$NO^\cdot$	Nitrik Oksid Radikali
NO^+	Nitrosonyum Katyonu
NO^-	Nitroksil Anyonu
NOS	Nitrik Oksid Sentaz
NSAİİ	Non-Steroidaİ Antiinflatuvar İlaçlar
NPY	Nöropeptid Y
O_2^-	Süperoksid Anyonu
O_2	Moleküler Oksijen
ODC	Ornitin Dekarboksilaz
PC12	Hücre Kültürü
PG	Prostaglandin
PTIO	2(4-karboksifenil)4,4,5,5-tetrametilimidazolin-1-oksil
S.E	Standart Hata
SCI	Spinal Kord Yaralanması

SDMA	N-N-Dimetil-L-Arjinin
SERCA	Sarkoplazmik Endoplazmik Retikulum Ca^{+2} – ATPaz
SG	Substantia Gelatinosa
sGMP	Siklik Guanozin 3',5'-Monofosfat
SOD	Süperoksid Dismutaz
SP	P maddesi
SSAT	Spermin Spermidin N-Açıl Transferaz
TGF- β	Transforme Edici Büyüme Faktör- β
TIPDAM	Tıbbi Bilimler Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi
TNF- α	Tümör Nekrozis Faktör- α
VIP	Vazoaktif İntestinal Peptid
VPL	Ventral Posterolateral
WDR	Geniş Dinamik Aralık
5-HT	5-Hidroksitriptamin
5-HT _{1A}	Serotonin Reseptörü
5-HT _{2A}	Serotonin Reseptörü
5-HT ₃	Serotonin Reseptörü

ÖZET

Deneyssel Akut Ağrı Modelinde Tramadol - Agmatin Etkileşmesi ve Olası Mekanizmalarının Araştırılması

Santral analjezik etkili bir ilaç olan tramadol'ün etkilerini kısmen opiaterjik, noradrenerjik ve serotonerjik mekanizmalarla gösterdiği kabul edilmektedir. Bu alanda devam eden çalışmalar, tramadol'ün etkisinde henüz aydınlatılmamış başka mekanizmaların da olabileceğine işaret etmektedir. Fakat bu mekanizmalar tam olarak henüz belirlenememiştir. Diğer taraftan, beyinde yeni bir nörotransmitter olarak saptanan agmatin adlı biyojenik aminin nöropatik ağrıda antiallodinik ve antihiperaljezik etkiler gösterdiği ve morfin analjezini artırdığı bildirilmektedir.

Bu çalışmanın amacı, farelerde akut analjeziyi ölçmek için kullanılan yöntemlerden biri olan tail flick testi kullanılarak agmatin ve agmatin-tramadol kombinasyonunun olası antinosiseptif etkilerini ve etki mekanizmalarını araştırmaktır. Bu amaçla nitrerjik sistemin katkısını araştırmak için L-arjinin ve L-NAME gibi nitrik oksid modülatörleri ve glutamat-NMDA reseptörlerinin katkısını incelemek için de NMDA reseptör blokörü MK-801 kullanılmıştır.

Tüm deneylerde Balb/c erkek fareler kullanıldı. Antinosiseptif etki tail flick testi kullanılarak belirlendi. İlaçlar 30 dakikalık aralıklarla uygulandı. Son ilaç uygulanmasından 30 dakika sonra tail flick testi yapıldı. Tail flick latensileri (TFL) saniye olarak kaydedildi ve sonuçlar anlamlılıklarına göre değerlendirildi. Sonuçların istatistiksel analizi tek yönlü ANOVA, post-hoc Student Newman-Keuls testi kullanılarak yapıldı.

Tramadol ve agmatin, kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında farelerin TFL yanıtlarını anlamlı bir şekilde artırdı. Agmatin tramadol'ün antinosiseptif etkisinde bir artışa neden oldu. L-arjinin ve L-NAME, agmatinin TFL yanıtlarında değişikliğe neden olmadı. Öte yandan agmatin + tramadol kombinasyonunun antinosiseptif etkisi L-arjinin tarafından azaltılırken L-NAME tarafından artırıldı. MK-801, ne agmatin ve tramadol'ün tek kullanıldıklarında ne de agmatin + tramadol kombinasyonunun etkilerini değiştirmede.

Bu sonuçlardan elde edilen bilgilere göre, akut ağrıda tek başına yeterli analjezik etkisi olmayan agmatin, tramadol'ün antinosiseptif etkisini artırmaktadır ve bu etkide nitrerjik sistemin veya NMDA reseptörlerinin aracılık etmediği söylenebilir. Ayrıca, agmatine-tramadol ve/veya agmatin-tramadol-L-NAME kombinasyonları gelecekte ağrının tıbbi tedavisi için etkili bir terapötik yaklaşım olarak önerilebilir.

Anahtar sözcükler: Agmatin, Akut ağrı, Nitrerjik Sistem, NMDA, Tramadol

ABSTRACT

Tramadol - Agmatine Interaction and Investigation of Possible Mechanisms in Experimental Acute Pain Model

A central analgesic agent tramadol has been declared to act by partially opiateergic, noradrenergic and serotonergic mechanisms. Although ongoing studies show that some other mechanisms may also involve in the effect of tramadol, but the precise mechanism has not been determined yet. On the other hand, agmatine, suggested as a new neurotransmitter in the brain has been showed that to elicit antiallodynic and antihyperalgesic effects in the neuropathic pain and to enhance morphine antinociception.

The aim of the present study was to investigate the possible effects of agmatine and agmatine-tramadol combination on nociception by using the tail-flick method, an acute analgesic test in mice. We also evaluated the mechanism of the potentiating effect of agmatine on tramadol-induced antinociception by pretreatment with nitric oxide modulators such as L-arginine and L-NAME and NMDA receptor blocker MK-801.

Male Balb/c mice were used in all experiments. The antinociceptive effect was determined in mice by using tail-flick test. Drugs were administered in 30 min interval. Tail-flick test was performed 30 min after the last drug injection. Tail-flick latencies (TFL) were record as second and the results were expressed as the mean $\pm$ SEM. One-way analysis of variance followed by a post-hoc Student Newman-Keuls test was used for the statistical analysis.

Tramadol and agmatine significantly increased the TFL of mice when compared to the control group. Agmatine enhanced the antinociceptive effect of tramadol. L-arginine and L-NAME did not change the TFL of agmatine, but L-arginine decreased whereas L-NAME enhanced the antinociceptive effect of agmatine + tramadol combination. MK-801 pretreatment did not changed the TFL of agmatine, tramadol or agmatine-induced potentiation of the tramadol effect.

Our results demonstrate that agmatine combination with tramadol produces an antinociceptive enhancement and this effect does not seem to be mediated via nitrergic system or NMDA receptors. Administration of agmatine-tramadol and/or agmatine-tramadol-L-NAME combinations may also provide an effective therapeutic strategy for future medical treatment of pain.

Key words: Agmatine, Acute pain, Nitrergic System, NMDA, Tramadol

1. GİRİŞ

Ağrı ve ağrının giderilmesi insanoğlunun var oluşundan beri önemli bir uğraşı alanı olmuştur. Bilimin ve bilimsel yöntemlerin gelişmesine paralel olarak ağrı mekanizmalarının anlaşılması ve analjezi yöntemlerinin geliştirilmesi, araştırmacıların en büyük ilgi alanlarından biri olmaya devam etmektedir¹.

Çok sayıda bilinen ve henüz bilinmeyen faktörün rol aldığı ve çoğu durumda nedeninin klinik olarak tespit edilemediği ağrı tedavisinde günümüzde farmakolojik açıdan opioidler ve opioid olamayan yardımcı ilaçlar (adjuvan) olarak iki gruba ayırabileceğimiz ilaçlar kullanılmaktadır². Narkotik analjezikler olarak da anılan opioidlerin bağımlılık ve tolerans yapması yanında solunum depresyonu, konstipasyon gibi kullanımını kısıtlayan ciddi yan tesirleri bulunmaktadır³. Romatizmal hastalıklar yanında genel bir analjezik olarak da yaygın kullanılan nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ) ise ciddi gastrointestinal yan tesirleri yanında böbrek hasarı da yapmaktadırlar^{3,4}. Analjezik olarak en fazla kullanılan bu ilaçların yan tesirlerinin ciddiliği araştırmacıları alternatif yeni ilaçlar üzerinde çalışmalara yönlendirmektedir. Araştırmalar, analjezik etkili yeni ilaçların bulunmasına yönelik olmanın yanı sıra analjezik etkisi olmayan ancak bir analjeziğin etkisini artırabilecek dolayısıyla daha düşük dozlarda kullanılarak yan tesirlerini azaltabilecek yardımcı ilaçların bulunması üzerine de yoğunlaşmaktadır.

Ağrının oluşumu, iletimi, algılanması, inhibisyonu çok sayıda ve karmaşık periferik ve santral mekanizmaları içermektedir ve endojen birçok nörotransmitter ve reseptör sistemleri bu mekanizmalar içinde yer almaktadır. Glutamat, aspartat gibi eksitator aminoasitler, NMDA ve non-NMDA reseptörleri; P maddesi, nörokinin A, CGRP gibi peptidler; siklooksijenaz ve lipoksijenaz ürünleri; enkefalinler ve endorfinler gibi endojen opioid sistemleri, μ , κ gibi opioid reseptörleri; GABAerjik, α -adrenerjik, serotonerjik, adenosinerjik sistem ve reseptörleri, nitreerjik sistem ağrının transmisyonu ve modülasyonunda rol alan endojen sistemlerdir. Günümüzde kullanılan birçok analjeziğin etki mekanizmalarında bu sistemlerin biri veya çoğunlukla birden fazlası rol oynamaktadır^{5,6}.

Son yıllarda ağrı tedavisinde önemli bir yer edinen, opioidlerle karşılaştırılabilecek düzeyde analjezik etkisi olan ancak onların bağımlılık ve tolerans gibi yan tesirlerini

göstermeyen bir analjezik ilaç olan tramadol'ün etki mekanizması da araştırmaların ilgi konusu olmuştur^{7,8}. Kısmen opiaterjik, noradrenerjik, serotonerjik mekanizmalarla etki gösterdiği bildirilen bu ilacın etki mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır⁹. Öte yandan santral sinir sisteminde yeni bir nörotransmitter olarak ilgi çeken agmatin-ağrı ilişkisi de son yıllarda ilgi çeken konulardan birisidir¹⁰.

Bu çalışmada fare tail-flick yöntemiyle oluşturduğumuz akut ağrı modelinde L-arjinin metabolizmasında yer alan agmatin'in analjezik etkisini, bu maddenin tramadol analjezisi üzerine etkilerini ve bu etkilerde nitreerjik ve glutamat-NMDA sistemlerinin rollerini araştırmayı planladık. Elde edilen sonuçların ağrı tedavisinde alternatif yardımcı ilaçlar konusundaki araştırmalara katkıda bulunacağını düşünmekteyiz.

2. GENEL BİLGİ

2.1. Ağrı

Ağrı çok faktörlü kompleks bir olgudur ve yıllar boyunca bilim insanları tarafından yapılan değişik tanımlardan sonra günümüzde, Uluslararası Ağrı Çalışma Derneği (International Association for the Study of Pain, IASP) tarafından yapılmış olan tanım en fazla kabul gören ağrı tanımı olmuştur. IASP' ye göre ağrı, “gerçek veya potansiyel doku hasarıyla ilişkili, duyuşsal ve emosyonel hoş olmayan oldukça sübjektif bir deneyimdir”. Bu tanıma göre ağrı gerçek bir duyu değil, algıdır ve duyuşsal (sensoryal), duyuşsal (etkilenen, emosyonel) ve bilişsel bileşenlerden oluşmaktadır. Bu bileşenler ağrının şiddet, süre ve yerleşim olarak algılanmasını (duyuşsal), motivasyonsal değişiklikler ve nahoşluk hissi duyulmasını (duyuşsal), ağrıya bağlı korku, anksiyete ve farkındalık yaratılmasını (bilişsel) sağlar⁵.

Çok bileşenli ve kişinin deneyimleri ile ilgili bir olgu olan ağrı'nın başlaması, algılanması, iletimi ve ağrıya karşı verilen cevap bir dizi karmaşık mekanizmalar sonucu gelişir:

2.1.1. Ağrı Mekanizmaları ve İletimi

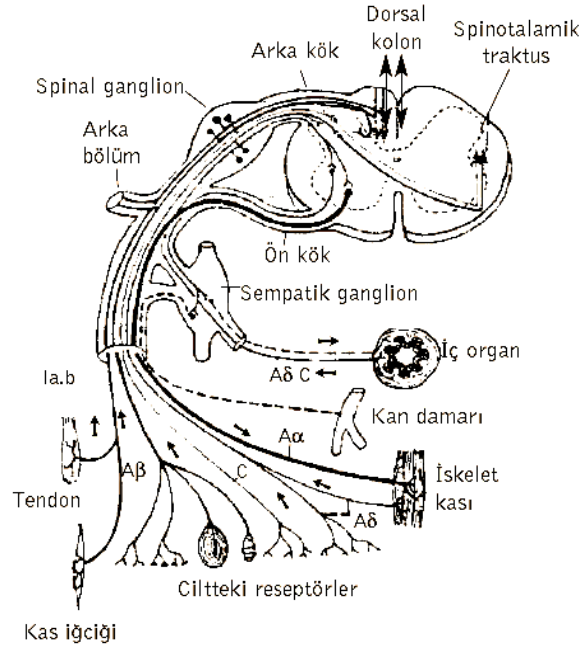
Nosiseptif süreçlerin başlangıç noktası primer aferent nosiseptörlerdir⁷. Bunlar mekanik, termal ve kimyasal uyarılara yanıt veren sinir uçlarıdır. Nosiseptörün yanıt özelliklerine bağlı olarak spinal korda doğru bir yayılım meydana gelir. Ağrı bilgisinin yayılımı ile ilgili reseptörler iki sınıfta ele alınabilir: A-delta mekanotermal ve C polimodal nosiseptörler. Birçok ağrı tipi primer aferent nöronların, özellikle C polimodal nosiseptörlerin uyarılması ile başlar. Ancak nosiseptör aktivasyonu sürecinde başka etkenler de işin içine girer. Örneğin, cildin çizilmesi bu bölgede inflamatuvar süreçleri de başlatır ve buna bağlı çeşitli maddeler salgılanır. Normal koşullarda mekanik, termal ve kimyasal uyarılar yüksek eşik değerdeki nosiseptörleri harekete geçirirler. Klinikte ise ağrılı uyarı, uzamış travma ve doku harabiyetine bağlıdır. Doku harabiyeti inflamasyona ve dolayısıyla nosiseptörlerin daha fazla uyarılmasına yol açar. Ağrılı uyarı dört aşamada üst merkezlere doğru bir yol izler. Bu aşamalar transdüksiyon, transmisyon, modülasyon ve persepsiyon'dur¹.

a. Transdüksiyon: Bir enerjinin başka bir enerjiye dönüşmesidir. Örneğin her sıcak uyaran ağırlı değildir. Sıcak bir uyarının ağırlı hale geçebilmesi için belirli bir derecenin üzerine çıkması gerekir. Nosiseptörler normal bir sıcaklığa karşı duyarsız kalırken sıcaklığın artışı ile duyarlı hale geçerler¹.

b. Transmisyon: Nosiseptörler tarafından algılanan ağrı bilgisinin daha üst merkezlere doğru iletilmesidir. Bu iletimde miyelinli A-delta lifleri ve miyelinsiz C lifleri etkin rol üstlenirler. Miyelinli A-delta lifleri hızlı ileten, sensitizasyona açık, termal ve mekanik uyarılarla uyarılan liflerdir. Miyelinsiz C lifleri ise polimodal bir özellik gösteren, her türlü uyarana karşı duyarlılığı olan, yavaş ileten liflerdir. Diğer sinir lifleri de çeşitli biçimlerde ağırlı uyarının iletimine katılırlar¹ (Şekil 1).

c. Modülasyon: Başlıca omurilik seviyesinde cereyan eden bir olaydır. Geçmişte spinal kord sadece bir ara durak olarak kabul edilirdi. Ancak 1965 yılında Melzack ve Wall tarafından ileri sürülen Kapı Kontrol Teorisi ile ağırlı uyarının omurilikte ciddi bir engel ile karşılaştığı ortaya çıkmaktadır. Ağırlı uyaran spinal kord düzeyinde bir değişime uğramakta ve bu değişim sonucunda daha üst merkezlere iletilmektedir¹.

d. Persepsiyon: Omurilikten geçen uyarının çeşitli çıkan yollar aracılığı ile üst merkezlere doğru iletilip ağrının algılanmasıdır¹.



Şekil 1. Spinal sinir ve lifleri¹.

2.1.2. Ağrı İletimi İle ilgili Nöronlar

A-delta ve C lifleri omuriliğe girince hemen ikiye ayrılırlar. Birkaç segment yukarı aşağıya devam ederek Lissauer traktusunun bir kesimini oluştururlar. Bunların akson kollateralleri de dorsal boynuz içine girer. Nosisepatif sinir uçlarının bu santral terminalleri dorsal boynuz gri cevherinin marjinal zonu (lamina-I) ile substantia gelatinosa (lamina-II)'da yer alan nöronlarla sinaps yaparlar. Bazı A-delta liflerinin uzantıları daha derinde bulunan lamina-V hücrelerine ulaşır^{11,14,27}.

Ağrılı uyarıyı taşıyan periferik liflerin hücre cismi, yani ağrı yolunun 1. nöronu arka kök ganglionlarında yer alır. Buradan kalkan lifler spinal korda girer ve substantia gelatinosa'da (SG) arka boynuz hücreleri ile sinaps yapar (2. nöron). Yani ağrı iletiminde ikinci durak spinal korddur. Substantia gelatinosa'da enkefalinerjik ara nöronlar bulunmaktadır. Ağrı yolunun 3. nöronu talamustadır^{11,14,27}.

Arka boynuzdaki nöronlar 3 çeşittir.

a. Projeksiyon nöronları (santral geçiş hücreleri); oluşan sinyal ve impulsları anterolateral aferent sistemden üst merkezlere iletirler. Projeksiyon nöronlarını başlıca iki grupta incelemek olasıdır. Lamina I'de yoğun olarak bulunan ve sadece A-delta ve C-lifleri ile uyarılan projeksiyon nöronları “**nosisepatif spesifik=NS**”dır. Lamina I ve V'de bulunan ikinci grup projeksiyon nöronları, hem nosiseptörlerden hem de düşük eşikli mekanoreseptörlerden lif uyarımı alan “**wide dynamic range=WDR**” nöronlarıdır²⁷.

b. Eksitatuvar nöronlar; ağrılı uyarıyı projeksiyon nöronlarına ileterek eksite olmalarını sağlarlar²⁷.

c. İnhibitör nöronlar; geniş çaplı liflerle uyarıldıklarında projeksiyon nöronlarında inhibisyona neden olurlar. Genellikle C ve A delta liflerinden gelen sinyallerle aktive olan bu ara nöronlar, ağrılı sinyalleri projeksiyon nöronuna geçirirler. Ağrılı uyarıları üst merkezlere geçirmede, dorsal boynuzda başlıca iki tip nörotransmitter rol almaktadır. Bunlar glutamat ve nöropeptidlerdir^{11,14,27}.

Glutamat; A-delta terminal uçlarından ve motor nöronlara sinaps yapan aferentlerden salgılanan eksitator bir aminoasittir^{27,28}. Dorsal boynuz projeksiyon hücrelerinde çok kısa süreli veya çok uzun süreli depolarizasyon yaratabilir. Çok kısa etkisini, “ligand-gated” Na/K iyonlarını açması ile uzun süreli depolarizasyon etkisini N-Metil, D-Aspartat (NMDA) kullanarak gerçekleştirir.

Nöropeptidler; Özellikle C lifleri eksitasyonu ile oluşurlar ve projeksiyon hücrelerinde çok yavaş ve çok uzun süreli depolarizasyona yol açarlar. Bu nöropeptidler arasında; P maddesi, nörokinin-A, kolesistokinin ve kalsitonin geni ile ilgili peptid (CGRP) sayılabilir. C lifleri uçlarından birden fazla nöropeptid salgılanabilir^{28,29}.

2.2. Nosisepsiyon

Ağrı, kapsülsüz sinir sonlarının aktivasyonu sonucu doku yaralanmasıyla oluşur. Bedenin bir bölgesindeki doku yaralanmasında uyarının özelleşmiş sinir uçları ile (nosiseptör) alınıp, santral sinir sistemine götürülmesi, belirli bölge ve nöral yapılarda integre edilmesi, bu zararlı tehdidin (noksioz uyarı) algılanması, buna karşı fizyolojik, biyoşimik ve psikolojik önlemlerin harekete geçirilmesidir. Nosisepsiyon, doku hasarı ile ağrının algılanması arasında oluşan karmaşık elektrokimyasal olaylar serisinin bütünüdür^{11,13,17}. Ağrı, nosisepsiyon içinde bir algılama olayıdır⁵. Latince “noci” zarar veya zedelenme anlamındadır. Travmatik veya zararlı stimulasyona nöral cevaptır. Tüm nosiseptif uyarılar ağrı oluşturur, fakat tüm ağrılar nosisepsiyondan kaynaklanmaz¹². Aslında nosiseptörler periferik terminalleri ağırlı uyarılara hassas primer aferent ve tüm deri, deri altı dokularında bulunan çıplak ve serbest sinir uçlarıdır¹³. Miyelinsiz C lifleri ile miyelinli A-delta (δ) liflerinin distal uzantılarından oluşmuşlardır ve 100–400 μ m uzunluğundaki aksonal sonlanmalar, küçük kan damarları ve mast hücreleri kenarında sonlanırlar¹⁸. A-delta liflerinin uçları genellikle uyarıldıkları tipe göre termal veya mekanik nosiseptörler adını alır ve 30 m/sn hızda ileti oluştururlar. Dolayısıyla bu nosiseptörlerin aktivasyonu keskin, iğneleyici ve iyi lokalize edilebilen bir ağrı oluşturur. C liflerinin uçları, “polimodal nosiseptör” adını alır ve şiddetli mekanik, kimyasal, aşırı sıcak ve soğuk uyarılarla aktive olurlar. C lifleri, inflamasyonda olduğu gibi gecikmiş, yanıcı ve inatçı karakterdeki ağrıdan sorumludurlar. İmpulsları 0.5-2 m/sn gibi çok yavaş olarak ilerletirler. Dolayısıyla daha donuk, daha yaygın ağrı ve hiperestezi oluştururlar^{1,5}. Sinir liflerinin özellikleri ve fonksiyonları Tablo 1'de özetlenmektedir.

Tablo 1. Sinir liflerinin özellikleri ve fonksiyonları

Grup	Çap (µ)	Miyelin	Fonksiyon
A	20-12	+	Motor (eferent), duyusal
A	12-16	+	Motor, aferent (proprioseptif, dokunma)
A	8-2	+	Sensoryal (ağrı, ısı, dokunma)
A	5-2	+	Otonom (eferent pregangliyoner)
B	3	+	Sensoryal (ağrı, ısı, dokunma)
C	1.2	-	Otonom (postgangliyoner sempatik)

Normal fizyolojik koşullarda ağrı ve nosisepsiyon, hoş olmayan bir algılama olarak görülse de amacı organizmayı zararlı bir saldırıdan korumak ve ilgili savunma mekanizmalarını ortaya çıkarmaktır¹⁴.

2.2.1. Nosiseptif Prosesin Periferik Komponentleri

Periferik çıplak sinir uçlarının uyarılması, nörotransmitter salınımına yol açar^{19,20}. P maddesi (SP) ve diğer taşıkininlerin (Tablo 2) lokal salınımı, vazodilatasyon ve plazma ekstravazasyonuna yeter miktarda iseler ödem oluşur²¹. Vazodilatasyonu takiben histamin ve bradikinin, kan hücrelerinden lokal olarak salınır ve ikisi de nosiseptörleri sonraki uyarılar için sensitize edebilir (hiperaljezi). Doku yaralanması ve SP, mast hücrelerini aktive eder.

Tablo 2. Periferik duyarlılıkta oluşan nöroaktif maddeler

Madde	Kaynak	Sinir sonundaki etkileri
P maddesi	Sinir terminalleri	Sensitizasyon
Bradikinin	Plazma kininojen	Aktivasyon
Histamin	Trombositler, mast hücresi	Aktivasyon
Protonlar (↓ pH)	İskemi, zedelenmiş hücreler	Aktivasyon
Prostaglandinler	Araşidonik asit, zedelenmiş hücreler	Sensitizasyon
Lökotrienler	Araşidonik asit, zedelenmiş hücreler	Sensitizasyon
İnterlökinler, TNF-α	Mast hücreleri	Aktivasyon-Sensitizasyon

2.2.2. Primer Aferent Lif Transmitterleri

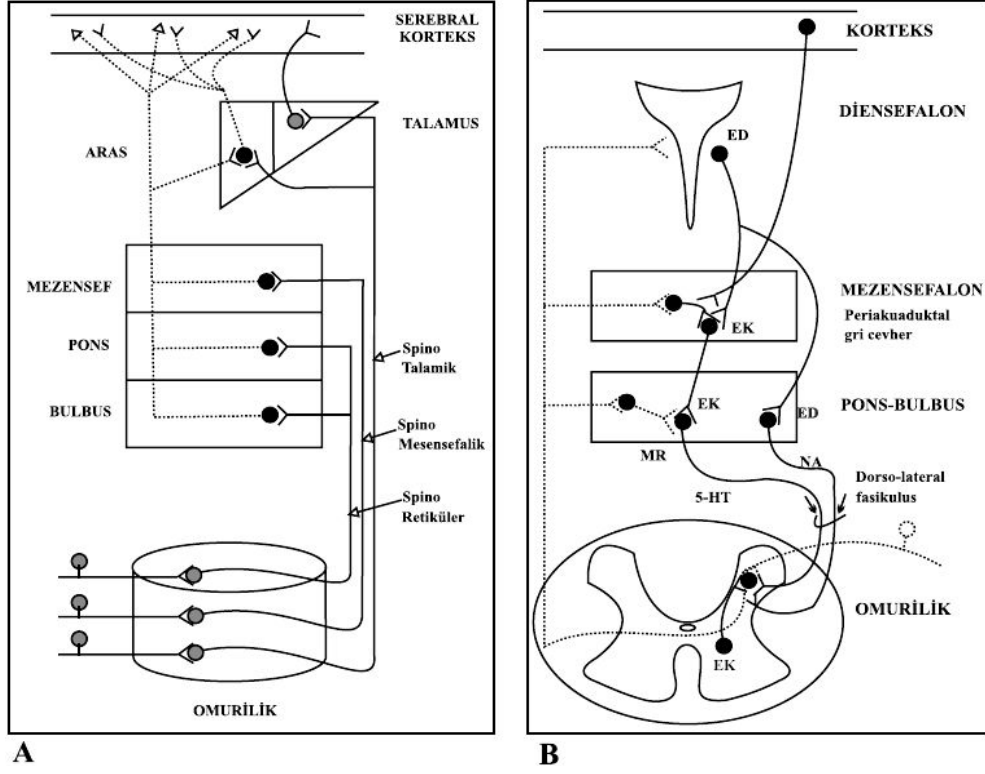
Küçük liflerin çoğu eksitator amino asitleri (EAA), aspartat, glutamat ve nöropeptidleri (P maddesi, kalsitonin geni ile ilgili peptid, kolesistokinin, galanin, somastatin vb.) içerir. Bu maddeler sıklıkla aynı aferent terminalde toplanmışlardır^{12,21,22}. Eksitator amino asitler hem geniş hem de küçük çaplı primer aferent liflerde bulunurlar ve eklem inflamasyonunda kronik veya akut nosiseptif uyarı sonucu A-beta (β) liflerince aktive edilen düşük akımlı elektrik aktivitesi sonucu salındıkları gösterilmiştir. Eksitator amino asit reseptörlerinin, N-metil-D-aspartat (NMDA) ve non-NMDA (AMPA/kainat ve metabotropik) reseptörleri gibi postsinaptik ve spinal dorsal boynuz hücrelerinde bulunan birçok alt tipi vardır^{23,24}. Çeşitli çalışmalarda, hem NMDA hem de non-NMDA reseptör agonistlerinin intratekal olarak uygulanmasında nosiseptif davranış olduğu bildirilmiştir^{25,26}. Sinirle inerve edilen periferik hedefler, aferent liflerin çapından çok peptid içeriği ile ilgilidir. Aslında sinirler yeni periferik dokuları tekrardan uyardıklarında peptid içerikleri değişmiş gibi gözüktür (aferent aksonun fenotip transmitteri değişir). Nosiseptif dorsal boynuz nöronlarının büyük kısmı, P maddesi içeren sinapsların önemli kısmıyla bağlantılıdır³¹.

2.2.3. Nosiseptif Çıkıcı Sistemler

Spinotalamik ve spinoretiküler yol uzun yıllardır çok iyi bilinmektedir. Diğer yollar yeni tanımlanmıştır veya uzun yıllar önce tanımlanmalarına rağmen, yeni kabullenilmiştir (Şekil 2). Bu yolları şöyle tanımlayabiliriz^{12,14,15,27}.

2.2.3.1. Spino-Talamik Yol

Nosiseptif uyarı geldiğinde lamina I, V ve VII. nöronlarından köken alır, orta hattı geçer, anterolateral çıkıcı sistem içinde ilerler ve spinal kordun karşı tarafında, talamusun VPL (ventral posterolateral) çekirdeğinde (3. nörona) sonlanır. Bu nükleus vücudun özel bölgeleri için bölümlere ayrılmıştır. Her bölge kendi primer duyu korteksinin bölümüne projekte olur. Talamusdan çıkan uzantılar da kortekse giderek postsentral gyrusda sonlanır. Bu yol ağrının yer, şiddet ve zaman gibi özellikleri ile birlikte algılanmasını sağlar (arousal). Bu tanımlayıcı yolak, ağrının yeri hakkındaki bilgiyi bilinç düzeyine ulaştırır³².



Şekil 2: Ağrı yolları ile ilgili bölgeler³² A: Çıkan ağrı yolları, B: İnen ağrı yolları. ARAS: Assendan retiküler aktive edici sistem, ED: Endorfin, EK: Enkefalinergic, NA: Noradrenalin, 5-HT: 5-Hidroksitriptamin.

2.2.3.2. Spino-Retiküler Yol

Anterolateral çıkıcı sistem içinde ilerler ve çapraz yapmış dorsal boynuz aksonlarından oluşur. Bulbus ve ponsdaki retiküler çekirdek gruplarına uzanır veya kollateraller verir. Spinal kordun iki tarafındaki sağ ve sol talamus intralaminar çekirdeklerine çıkar. Daha sonra nöronal bilgi singulat gyrusun ön parçası (emosyon), amigdala (hafıza ve emosyon), hipotalamus (emosyon ve emosyona vasküler yanıt) gibi birçok beyin bölgesine ulaşır. Acı yolağı olarak isimlendirilir. Korteksi ve subkortikal yapıları (limbik sistem ve diensefalon) genel bir uyanıklık içinde tutmak ve zararlı uyarana karşı genel bir alarm hali yaratmakla görevlidir³².

2.2.3.3. Spino-Mezensefalik Yol

Dorsal boynuz lamina I ve V'teki nosiseptif projeksiyon nöronları anterolateral sistem içinde yer alır ve spino-retiküler yola çok yakın olarak mezensefalik periaquaduktal gri cevhere dek yükselir. Bu beyin kökündeki parabrakial nükleus'a giden yolakla aynı veya ilgili olabilir. Ön beyindeki parabrakial çekirdek, amigdala, hipotalamus ve diğer limbik sistem yapılarına projekte olur. Bu yolun periaquadukta'ya bağlantı yapması nosisepsiyonda çok önemlidir. Çünkü burada analjezik etki sağlayan enkefalinerjik nöronlar vardır. Periaquaduktal gri cevher antinosiseptif mekanizmaların tetiklendiği en önemli bölgelerden biridir³².

2.2.3.4. Dorsal Kolon Yolu

Damarsal (visseral) nosisepsiyonu ve aynı zamanda somatik dokunma ve pozisyon duyusunu talamusa taşıdığı sanılmaktadır³⁰.

2.2.3.5. Spino-Hipotalamik Yol

Retiküler formasyonda sinaps yapmayan, yeni tanımlanmış bir yoldur. Deri, dudak, genital organlar, gastrointestinal traktus, intrakranial kan damarı, dil ve korneadan emosyonel önem taşıyan bilgiyi direkt olarak hipotalamusa taşır²².

2.2.4. Antinosiseptif İnici Sistemler

Özellikle endojen opioid peptidlerin keşfi ile ağırlı uyaranlara karşı spinal ve supraspinal düzeyde enkefalinerjik ve monoaminerjik bir inhibisyon varlığı gösterilmiştir³². Bunlar 3 gruba ayrılırlar:

1. Mezensefalik periaquaduktal gri cevherde yer alan enkefalinerjik nöronlar'dır. Bunlar serebral korteks ve hipotalamus ile bağlantı içindedirler. Muhtemelen hipotalamus kökenli nöronlar endorfin taşımaktadır. Mezonsefalon'da, Sylvius kanalının çevresine yerleşmiş nöronların oluşturduğu periaquaduktal gri cevherden başlayan yol, bulbustaki retiküler formasyona giderek nükleus rafe magnus ve nükleus retikülaris gigantosellularisteki serotoninerjik nöronlarla sinaps yaparlar. Böylece diensefalik endorfin ve mezonsefalik enkefalin nöronları bulbustaki serotonin nöronlarını uyarırlar. Buradan kalkan uyarılar da m. spinalis arka boynuzu ve trigeminal sinirin

sensoriyal çekirdeğine giderek presinaptik ve postsinaptik bağlantılarla inhibisyon oluşturur^{12,14,19}. Supraspinal inhibisyondan sorumludurlar¹².

2. Retiküler formasyonun bazı çekirdeklerinden başlayıp, m. spinalis arka boynuzunda sonlanan noradrenerjik nitelikteki lifler. Bunların temel nörotransmitteri noradrenalindir. Bu yolların başlangıcındaki opioid reseptörlerin aktivasyonu ile supraspinal analjezi elde edilir^{12,14}.
3. Antinosiseptif spinal segmental mekanizmada özellikle spinal yerleşimli enkefalinergik nöronlar rol oynar. Dinorfin taşıyan nöronlar bu bölgede yoğundur.

Tüm bu monoaminerjik ve enkefalinergik antinosiseptif etkiler; hücresel düzeyde, lamina I ve II'de bulunan nosiseptif projeksiyon nöronları üzerinde K⁺ iyonu membran iletkenliğini arttırarak ve hiperpolarizasyon oluşturarak ortaya çıkar. Ayrıca genel bir inhibitör madde olarak gama amino butirik asit (GABA)'ın da antinosiseptif mekanizmalara katıldığı düşünülmektedir. Projeksiyon nöronları üzerinde hızlı ve kısa süreli inhibisyon, en çok monoaminerjik transmitterler, GABA ve kısmen de enkefalin ile olmaktadır. Daha uzun süreli inhibisyon endorfin, kısmen enkefalin ve somatostatin ile oluşmaktadır. Glisin ve GABA'nın medulla spinalisdeki segmental ağrı inhibisyonunda önemli rolleri vardır. Bunlar dışında somatostatin ve bombesin gibi nöropeptidler de inhibitör etki yapar¹⁴.

2.3. Ağrı İle İlgili Terimler

Allodini: Genellikle ağrılı olmayan (non-noxious) bir stimülusun neden olduğu ağrı.

Analjezi : Normalde ağrı oluşturabilecek bir stimülasa karşı ağrı yokluğu.

Anesteziya Dolorosa: Bir anestetik bölge veya alanda oluşan ağrı.

Kozalji : Travmatik bir sinir lezyonundan sonra devam eden yanıcı ağrı.

Santral ağrı : Bir santral sinir sistemi lezyonu ile birlikte olan ağrı.

Disestezi : Hoş olmayan (istenmeyen) anormal duyu (his).

Parestezi : Anormal duyu.

Hiperaljezi : Ağrılı stimülasa karşı duyarlılığın ve cevabın normal cevaptan artması.

Hiperestezi : Stimülasyona karşı duyarlılığın artması.

Hiperpati : Hiperaljezi ve aşırı reaksiyonla karakterize ağrılı sendrom.

Hipoaljezi : Ağrılı (noxious) stimülasa karşı duyarlılığın ve cevabın azalması.

Hipoestezi : Stimülasyona karşı duyarlılığın azalması.

Nöralji : Bir sinire yayılan ağrı.

Nörit (is) : Sinir inflamasyonu.

Nöropati : Bir sinirdeki patolojik değişiklik veya fonksiyonundaki bozukluk.

Nosiseptör : Ağrılı veya potansiyel olarak ağrılı stimülusa karşı duyarlı spesifik reseptör.

Noxious : Doku hasarı oluşturan stimülus.

Ağrı eşiği : Kişide ağrıya neden olan en küçük stimülusun şiddeti.

Ağrı tolerans seviyesi : Kişinin tolere etmeye hazır olduğu, ağrıya neden olan en büyük stimülus.

2.4. Ağrı Tipleri

Ağrı süresine, niteliğine (akut, kronik), kaynağına (somatik, visseral, yansıyan, projekte, psikojenik), şiddetine (şiddetli, künt, kemirici vs), nedenine (nevralji, baş ağrısı, iskelet-kas ağrıları vs), fizyopatolojisine (nosiseptif, nörojenik) göre çeşitli şekillerde sınıflandırılmıştır.

Süresine göre ağrı ikiye ayrılır: Akut ağrı, kronik ağrı. Çalışmamızda kullandığımız model akut ağrı tanımına uymaktadır, bu nedenle aşağıda akut ağrı hakkında kısaca bilgiler verilmiştir:

2.4.1. Akut Ağrı

Akut ağrı “cerrahi, travma veya akut hastalığa eşlik eden kimyasal, termal veya mekanik stimülusa beklenen normal fizyolojik yanıt olarak” tanımlanmaktadır³⁶. Doku hasarı, inflamasyon ve sinir lezyonları sonrasında allodini ve hiperaljezi gibi nosisepsiyon durumları sıklıkla gözlenmektedir. Allodini normalde zararsız bir uyarıyla oluşan ağrı durumu iken, hiperaljezi zararlı bir uyarıya karşı oluşan artmış ağrı reaksiyonudur³⁴.

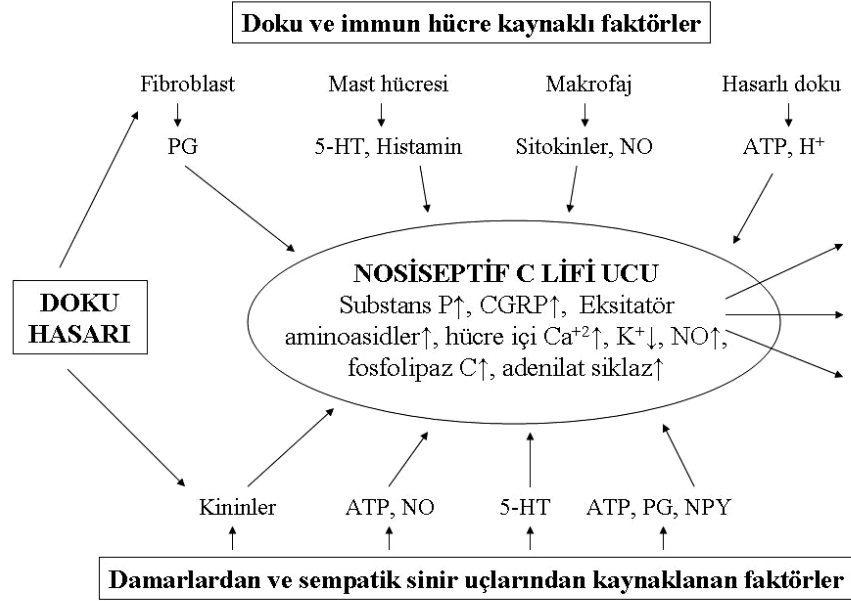
Akut ağrının algılanmasında, anatomik olarak ağrıyı periferden serebral kortekse taşıyan üç nöronlu sinir yolları rol oynamaktadır. Primer aferent nöronlar arka kök gangliyonunda bulunur, lokalizasyonu her omurilik seviyesinde vertebral foramenler içindedir. Her bir nöron aksonunun bir ucu inerve ettiği periferik dokuda, diğer ucu ise omuriliğin arka boynuzundadır. Arka boynuzda primer aferent nöron ikinci sıradaki nöronla sinaps yapar ve bu ikinci nöronun aksonları orta hattı geçip kontralateral spinotalamik traktustan yukarı çıkarak talamusa ulaşır. İkinci sıradaki nöronlar talamik

nükleusta üçüncü sıradaki nöronlarla sinaps yaparlar, bu üçüncü nöronların uzantıları ise internal kapsül ve korona radiata'dan geçerek serebral korteksin postsantral girusuna ulaşır³⁶. Nöreseptif uyarıları ileten üç büyük yükselen yolak vardır⁶. Tractus spinotalamicus, tractus spinoreticularis ve tractus spinomesencephalicus. Bu üç yolak ağrı komponentlerinin değişik şekilde algılanmasında rol oynamaktadır^{6,33,35}.

Nöksioz (zararlı) uyarıları algılayıp ileten reseptörlere “nöreseptör” adı verilir. Bu reseptörler spesifik modalitedeki enerjiyi aksiyon potansiyellerine dönüştürür. Nöreseptörler sıklıkla kapsüle olmamış “serbest sinir uçları” olarak adlandırılır ve doku hasarı için tehdit oluşturan veya doku hasarına yol açan stimulus ile aktive olurlar. Tüm nöreseptörler küçük çaplı miyelinli A delta (A δ) veya miyelinsiz sinir lifleriyle (C lifleri) inerve olur^{36,37}. Sonuçta ağrı, yüksek eşikli, ince, az miyelinli (A-delta) ve miyelinsiz (C lifleri) liflerle iletilirler³⁶.

Doku hasarına yol açan stimulusun aktive ettiği sistemler kompleks bir düzende işlemektedir. Normal koşullar altından nöreseptif primer aferentlerin çok küçük bir spontan aktivitesi mevcuttur, fakat doku hasarından sonra bu aktivitede progresif bir artış olur. Bunun nedeni doku hasarının serbest sinir uçlarını hassaslaştıracak veya uyaracak aktif faktörlerin salınımına yol açmasıdır. Serbest sinir uçlarıyla ilişkili yapısal bir reseptör bulunmamasına karşın, nöreseptif duyuşal entegrasyonun periferik komponentleri nöreseptörlerin etrafındaki dokuda yerleşmiştir. A delta ve C liflerinin uçları küçük kan damarları ve mast hücreleri ile çevrilidir^{36,37}. Bu üçlü çevredeki komşu sinir uçlarıyla birlikte fonksiyonel üniteyi oluşturmaktadır^{6,36,37}.

Periferik aferent lifler içerdiği ve salıverdiği nörokimyasal molekül temel alınarak birbirinden ayrılabilir. Omurilik arka boynuzundaki periferik aferent liflerde sentezlenen farklı maddeler santral transmisyonunda ve nöreseptif bilginin düzenlenmesinde rol oynamaktadır. Bu maddeler arasında glutamat ve diğer eksitatör amino asitler; P maddesi (SP) ve kalsitonin geni ile ilişkili peptid (CGRP) gibi nöropeptidler; ATP gibi hücreşel kaynakları; difüze olabilen bir gaz olan nitrik oksid; fosfolipid metabolitleri prostaglandinler ve nöropeptidlerden, değişik enzimlerden ve diğer moleküllerden farklı olarak periferik aferent liflerde birlikte depolanır, birlikte düzenlenir ve birlikte salıverilir³⁸. Doku hasarının başlattığı periferik sinir uçlarının antidromik aktivasyonu, periferde P maddesi ve glutamat'ı da içeren nörotransmitterlerin salınmasına neden olur (Şekil 3)^{36,38}.



Şekil 3. Doku hasarı ile periferik duyuşal liflerden salıverilen nörotransmitterler.

Doku hasarı aynı zamanda prostaglandinler ve lökotreinler gibi araşidonik asid metabolitlerinin lokal konsantrasyonlarını da artırır³⁶. Bu metabolitler direkt olarak nörokinin ve eksitator amino asid reseptörlerine sahip olduğu gösterilen diğeri C liflerini aktive ederek mast hücrelerinin degranülasyonunu sağlar ya da plazma ekstrasvazasyonuna ve olasılıkla ödeme yol açar^{6,33,36}. Mast hücrelerinden salınan maddeler (histamin ve sitokinler) nosiseptörlerin sensitizasyonu veya aktivasyonuna neden olarak aferent nosiseptif sinir liflerinin deşarjını sağlar. Özet olarak nosiseptif sinir uçları gerçek veya tehdit edici doku hasarını aksiyon potansiyellerine dönüştürmek için diğeri hücrelerdeki kimyasal ürünleri kullanır³⁶. Periferik sensitizasyonda rol oynayan çeşitli nöroaktif maddeler ve bunların endojen kaynakları Şekil 3'te gösterilmiştir^{5,37}. Bu fenomene, plazma ekstrasvazasyonu sırasında salınan kan kaynaklı aktif faktörler, lokal inflamatuvar hücreler tarafından salınan ajanlar ve primer aferent liflerin uçlarından salınan nörotransmitterler aracılık eder³⁶.

Primer duyuşal aferent lifler tarafından bu iyi tanımlanmış ağrı mesajları omuriliğın arka boynuzuna taşınır. Bu sistemler asendan ve desandan olarak düzenlenebilir. Asendan yani yukarıya doğru düzenlenmesinin (fasilitasyonu veya

sensitizasyonu) hasar sonrası oluşan ağrı durumundan sorumlu olduğu kabul edilmektedir. Bu sensitizasyon durumunun kendine has bir özelliği vardır ve altta yatan mekanizmaların ise NMDA reseptörleri ile başlayan ve prostaglandin ve nitrik oksid gibi transmitterlerin omurilikten salınması ile devam eden olaylar kaskadı sonucu geliştiği düşünülmektedir. Tam tersine desandan yani aşağı doğru düzenlemede ise çeşitli supraspinal yapılar omurilikten aşağı lifler göndererek arka boynuzdaki ağrıyı inhibe ederler³⁶. Omurilikteki substantia gelatinosa'da birinci nöron ucu ve ikinci nöronun başka, ağrı ile ilgili üçüncü bir yapı olan enkefalinerjik ara-nöronlar vardır. Söz konusu ara-nöronlar presinaptik uçla aksoaksonik sinaps yaparlar; ara-nöronlardan salıverilen enkefalin pentapeptidler delta ve kapa opioid reseptörler aracılığıyla hem presinaptik inhibisyon (nörotransmitter salıverilmesinde azalma) ve hem de postsinaptik inhibisyon yaparak birinci ağrı nöronundan ikinciye implus aşırımını, bir başka deyişle, ağrılı implus girişini baskı altında tutarlar. Enkefalinerjik nöronlar supraspinal inisiyasyon yoluyla aktive edilirler³³. Tüm bu yollar doku hasarını ağrıya dönüştüren kodlama mekanizmalarında ve ağrının modülasyonunda rol oynamaktadır. Bununla birlikte akut ağrı çok boyutlu bir deneyim olup, kaçma ve diğer tepkisel davranışları içeren motivasyonel-emosyonel mekanizmalarla birliktedir. Duyusal, motivasyonel ve kognitif proseslerin kompleks etkileşmesi entegre motor yanıtları etkileyerek ağrıyı karakterize eden davranışı belirler.

Sonuç olarak, diğer bilinçli duyular gibi akut ağrının algılanması da reseptörler gibi işlev gören özelleşmiş nöronlarla uyarının algılanması ve onun uygun şekle dönüştürülerek taşınması ve santral sinir sisteminde iletilmesini bağıdır. Buna göre, ağrı kompleks mekanizmalar sonucu oluşan; periferik, spinal ve supraspinal olarak modüle edilebilen; emosyonel ve davranışsal yanıtları da içeren çok boyutlu bir deneyim olarak kabul edilmektedir³⁶.

2.5. Ağrı Tedavisinde Kullanılan İlaçlar

Günümüzde ağrının algılanmasını önlemek ve ağrıyı gidermek için çeşitli ilaçlar kullanılmaktadır. Bu ilaçlar ve etki mekanizmaları aşağıdaki gibi özetlenebilir:

Opioidler (Narkotik analjezikler): Ağrının santral sinir sistemi tarafından algılanmasının ve ağrıya verilen yanıtın önlenmesi.

Analjezik-antipiretikler: Ağrı mediyatörlerinin oluşumunun önlenmesi.

Sedatif, hipnotik, antidepresanlar: İnici inhibitör sistemlerin aktivasyonu ve anksiyete ve depresyonun giderilmesi.

Lokal anesteziyeler: Periferik yollarda ağrı iletiminin önlenmesi.

Anesteziyeler / hipnotikler: Bilinç değişikliği ve kaybı.

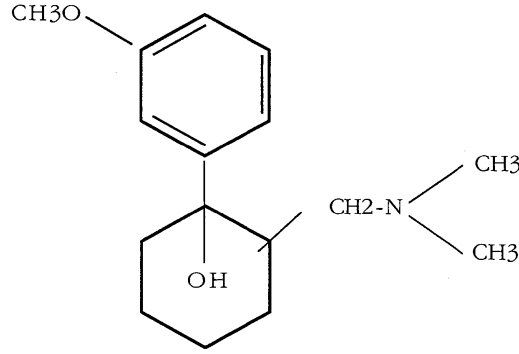
Bazı ilaçlar da ağrıya neden olan patolojiyi düzelterek ağrıyı giderebilirler. Bunlar; infeksiyonu tedavi eden antibiyotikler, inflamasyonu önleyen antiinflamatuvarlar, gut tedavisinde kullanılan hipourisemikler, vazospazmı önleyen vazodilatörler, kas spazmlarında kullanılan kas gevşeticiler ve vazodilatasyona bağlı ağrıda etkili olan vazospastik ilaçlardır.

Ağrı tedavisinde kullanılan tüm ilaçlar farmakolojik açıdan opioidler ve nonopioid yapılı yardımcı (adjuvan) analjezik ilaçlar olarak sınıflandırılabilir. Yardımcı ilaçların terapötik açıdan faydaları, güçlü bir analjezi oluşumuna katkıda bulunmalarının yanı sıra beraberlerinde kullanılan majör ilaçların dozlarının düşürülmesine imkan tanımları ve özellikle de opioidlere bağlı bulantı-kusma, konstipasyon, kaşıntı, sedasyon ve solunum depresyonu gibi yan etkilerin sıklığını azaltmaları şeklinde özetlenebilir¹¹. Buna göre monoterapi dışında ağrılı süreçlerde kullanışlı olabilecek bir diğer yaklaşım, opioidlerin yardımcı (adjuvan) analjeziklerle veya analjezik etkinliği bulunmayan diğer ilaçlarla kombine edilmesi yöntemidir.

Aşağıda bu çalışmada etkileri araştırılan analjezik ilaçlarla olası adjuvan maddeler ve sistemler hakkında bilgi verilmektedir.

3. TRAMADOL

Tramadol Hidroklorür, yapıca kodeine benzeyen, fenilsikloheksanol türevi, sentetik bir analjeziktir ve kimyasal açılımı: 1-(m-metoksifenil)2-(dimetilaminometil)-sikloheksan-1-ol' dür. Kimyasal yapısı Şekil 4'de gösterilmiştir⁴⁶.



Şekil 4. Tramadol'ün kimyasal yapısı

Analjezik olarak gravimetrik etki gücü, morfinden yaklaşık 10 kez daha düşük, akut ve kronik ağrı tedavisine uygun, merkezi etkili bir ilaçtır. Tramadol opioid reseptörlerine bağlanıp bir opioid antagonisti olan nalokson tarafından analjezik ve sedatif etkisi kısmen nötralize edilebiliyor olsa da, terapötik dozları opioidlerin tipik yan etkilerini göstermez. Bu nedenle bağımlılık gelişmesi de çok nadirdir. Bu özellik tramadol'ün, morfin yoksunluk semptomlarını baskılayamaması ile de desteklenmektedir. Pür agonist olan tramadol, tavan etkisi de göstermemektedir. Tramadol, bir-yandan μ (mü) reseptörlerine bağlanıp, agonist etki ile P maddesi salınımını engellerken, bir yandan da özellikle monoaminerjik yollar ile serotonin ve noradrenalinin geri emilimini baskılamakta ve analjezik iletiyi güçlendirmektedir. Deneysel olarak mü, kappa, delta reseptörlerine eşit derecede afinite gösterir. μ reseptörlerine afinitesi morfinden ve kodeinden daha düşük olmakla birlikte, aktif metabolitlerinin afinitesi, tramadolden 5-6

kat daha fazladır. Serotonin ve noradrenalin geri alımını (reuptake) inhibe edici etkisi imipraminden daha zayıf olmakla birlikte aktif metabolitlerinde bu etki de güçlenmekte ve hızlı gerçekleşmektedir. Ancak, tramadol'ün etki mekanizmasında etkinin asıl ortaya çıkmasını sağlayan bu iki etki noktası arasındaki sinerjidir. Çift etki noktası sayesinde morfin ve türevlerine yakın bir analjezik etki sağlanabilmektedir^{45,46,47}.

Tramadol diğer opioid analjeziklerden farklı olarak 2 noktada etki ederek ağrıyı engeller:

1. μ reseptörlerine bağlanarak agonist etki gösterir ve P maddesi salınımı engellenir.
2. Supraspinal sinapslarda monoaminerjik etkiyi artırır ve ağrı duyusu iletimi yavaşlar.

Çift yönlü etki mekanizmasının yarattığı sinerji ile güçlü bir analjezi sağlanırken, opioidlerin terapötik dozlarda, kısa ya da uzun süreli kullanımı ile gözlenen yan etkilerine göre önemli avantajlar sağlanmıştır⁵⁰.

3.1. Tramadol'ün Etki Mekanizması

Tramadol ile ilgili yapılan ilk çalışmalarda bu ilacın opioid reseptörlere düşük afinite ile bağlandığı ve bu şekilde antinosiseptif etki gösterdiği düşünülmekteydi⁴. Fakat tramadol'ün terapötik kullanımı sonucunda solunum depresyonu, kabızlık veya sedasyon gibi opioid ilaçların oluşturduğu klasik yan etkileri oluşturmadığı belirlenmiştir^{48,50}. Tramadol'ün etkisi yeniden değerlendirildiğinde ilacın santral monoaminerjik yollar üzerinde noradrenalin ve serotonin nöronal uptake'ini inhibe etmek suretiyle etki oluşturduğu gösterilmiştir^{39,40,51,52}. Bundan dolayı tramadol ağrının inhibisyonunda rol oynayan iki ana sistemi; opioid ve inisi monoaminerjik sistemi etkilemektedir^{49,53}.

3.1.1. Tramadol ve Opiaterjik Sistem

Tramadol'ün antinosiseptif etkisindeki opioid komponentler önceden yapılmış prelinik çalışmalarla belirlenmiştir³⁹. Klinik çalışmalar tramadol'ün μ -opioid reseptörlerine morfin ve kodeine göre daha az afinite gösterdiğini belirlemiştir⁵⁴. δ ve κ opioid reseptörlerine ise μ -opioid reseptörlerinden 20 – 25 kez daha az afinite göstermektedir³⁹. Tramadol'ün beyindeki opioid reseptörlerine bağlanmasının düşük olmasından dolayı bu ilacın hayvan modelleri ile antinosiseptif etkisinin veya insanlarda analjezik aktivitesinin belirlenmesi zordur⁵⁴. Tramadol'ün antinosiseptif etkisinin ancak

%30'u nalokson tarafından antogonize edilebilir⁴¹. Nalokson morfinin oluşturduğu antinosisepsiyonu bloke ettiği dozlardan çok daha yüksek dozlarda bile tramadol'un etkisini tam olarak bloke edememiştir³⁹.

3.1.2. Tramadol ve Monoaminerjik Sistem

Serotonerjik yolağın ağrı modülasyonunda önemli olduğu belirlendikten sonra tramadol'un bu nörotransmitter sistem üzerine etkisini araştırmaya yönelik çalışmalar yapılmıştır⁵¹. Tramadol'un sadece 5-HT reuptake'ini inhibe etmediği, aynı zamanda raphe dorsal nükleus'undan 5-HT salınımını da indüklediği gösterilmiştir⁵⁵.

Tramadol'un akut uygulanması, ekstraselüler hücre gövdesinde ve raphe dorsal nükleus'un 5-HT nöronlarının dendritlerinde 5-HT konsantrasyonunu artırır. Yapılan çalışmalar tramadol'un ekstraselüler 5-HT konsantrasyonu üzerindeki sınırlı etkisinin aynı zamanda raphe nükleus'taki 5-HT_{1A} otoresptörlerini de aktive etmesinden dolayı olabileceğini göstermektedir. Çünkü bu negatif feedback mekanizması nöronlarda hipoaktiviteye, buna bağlı olarak da 5-HT sentez ve salınımında azalmaya neden olmaktadır⁵³.

3.1.3. Tramadol ve Nitrerjik Sistem

Yalçın ve Aksu'nun⁴³ yaptığı bir çalışmada, tramadol'un antinosiseptif etkisini L-NAME'in artırdığı ve L-arjinin'in azalttığı ve tramadolun analjezik etkisinde nitrerjik sistemin rol aldığını gösterdiler. Okuducu ve Önal⁴⁴, nitrik oksid ile noradrenalin geri alınımının azaldığı ve bunun tramadol'un antinosiseptif etkisinde bir katkısı olduğunu göstermişlerdir.

Tramadol diğer opioid reseptör agonistlerinden farklı olarak iki enantiomerin rasemik karışımından oluşmuştur⁵⁶. Antinosiseptif etki açısından bir sıralama yapılacak olunursa ($\pm$) tramadol > (+) tramadol > (-) tramadol⁴². (-) Enantiomer, (+) enantiomere göre μ ve δ opioid reseptörlere daha düşük afinite gösterir. (+) Enantiomer 5-HT uptake inhibisyonunda daha etkin^{42,51,56}, (-) enantiomer noradrenalin uptake inhibisyonunda daha etkindir^{42,56}. Bazal serotonin salınımı (+) enantiomer tarafından artırılırken^{42,51,56}, (-) enantiomer noradrenalin salınımını artırır^{42,56}. Rasemik tramadol, enantiomerlerinin aditif etkisinden teorik olarak daha yüksek bir etkiye sahiptir⁵⁶.

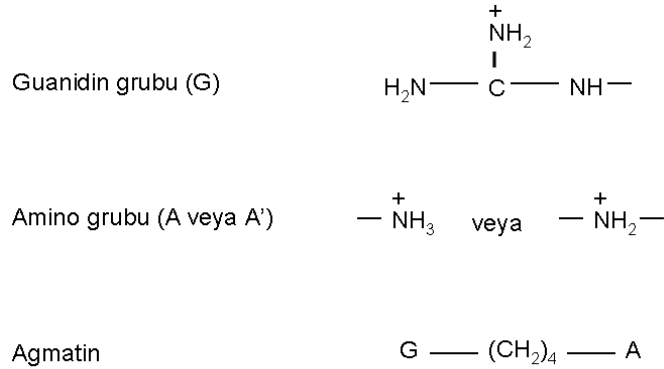
Sonuç olarak, tramadol’u opioid reseptörlere bağlanma afinitesi düşük olduğundan antinosisseptif etkisinin tam olarak bu sistem aracılığıyla olduğu söylenemez, noradrenerjik ve serotonerjik içerik de tam olarak anlaşılamadığı için tramadol’u etki mekanizması bütünüyle aydınlatılamamıştır^{41,42}.

4. AGMATİN

4.1. Agmatin'in Yapısı ve Fonksiyonları

Agmatin; bir semi-esansiyal amino asid olan L-arginin'in mitokondrial arginin dekarboksilaz (ADC) ile dekarboksilasyonu sonucu oluşan, endojen guanidoamin yapısında bir moleküldür^{25,71,72,73,74,75,76,77,78,79,80,81,82,83}.

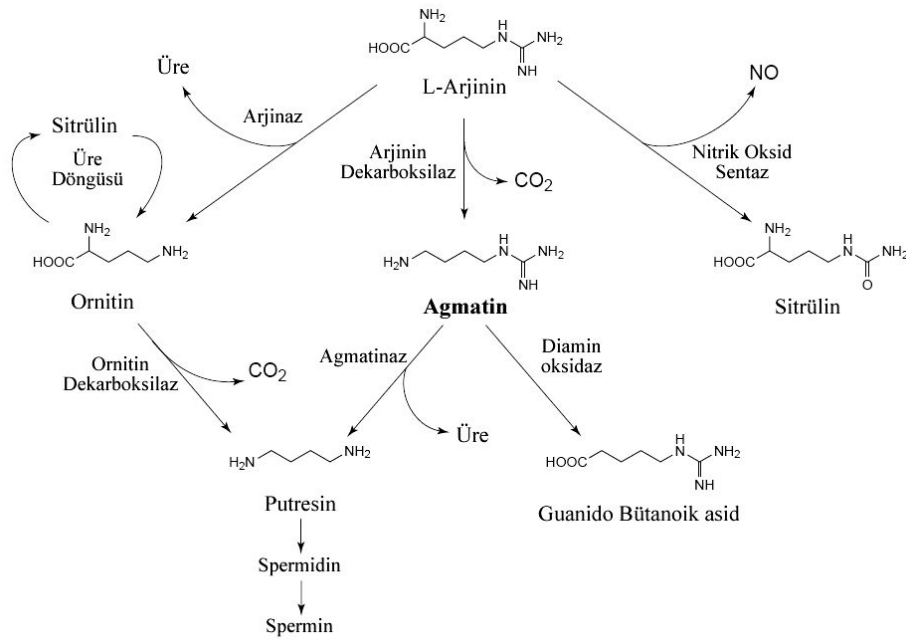
Agmatin'in ADC ile biyosentezi nöronların içine spesifik amino asid taşıyıcılar tarafından alınan L-arginin'in varlığına bağlıdır⁷¹. 1990'ların ortalarına kadar agmatin, ADC ve agmatinaz'ın memelilerde sentezlenmediği düşünülüyordu. Ancak 1994 yılında imidazolin reseptörleri için endojen ligand araştırmalarında beyin dokusunda spektroskopik analizlerde bulunan molekül, Agmatin olarak tespit edildi^{71,73,75,82} (Şekil 5). Agmatin ve ADC beyin, böbrek, vasküler düz kas hücreleri, endotel ve astrositleri de içeren birçok hücre grubunda bulunmaktadır⁸⁴.



Şekil 5. Agmatin'in kimyasal yapısı⁶⁸.

Agmatin beyinde lokal olarak sentez edilir ve sinaptik veziküllerde depolanır^{71,75}. Sıçan hipokampal piramidal hücrelerdeki elektron mikroskobu çalışmalarında perikarya, dendritler, akson ve akson terminallerinde dağılım gösterdiği saptanmıştır⁷¹. Diğer transmitterlerdeki gibi kalsiyuma bağımlı mekanizmalarla depolarizasyona bağlı olarak salınır⁷⁵. Beyin dokusundaki biyolojik inaktivasyonu enerjiye bağımlı mekanizmalarla,

tekrar sinaptozomlar içine alınarak, akson terminallerinden salınan ve mitokondrial matriks içinde bulunan agmatinaz ile enzimatik degradasyonu sonucu oluşur^{71,75,77,78,85}. Bu enzimatik degradasyon ile poliamin sentezinin diamin prekürsörleri olan putresin ve üre'ye metabolize olur. Agmatin'in diğer bir metabolize olma yolu, diamin oksidaz (DAO) ile γ -guanidino butirilaldehid'e oksidasyonu ve daha sonra γ -guanidinobutirat'a dehidrojenasyonu sonucu oluşur^{75,86} (Şekil 6).



Şekil 6. Agmatin ve ilişkili moleküllerin metabolik yolları⁷¹.

4.2. Agmatin'in Etkileri

Son yıllarda Agmatin'in fizyolojik ve farmakolojik özellikleri birçok araştırmacılar tarafından incelenmiştir. Bu çalışmalardan yapılan bir derleme aşağıda sunulmaktadır.

1. Agmatin, NMDA, α 2-adrenerjik reseptör, imidazoline reseptörleri ve nikotinik reseptörler gibi birçok nörotransmitter reseptörü ile ilişkili rol oynar. Özellikle nörotravma sonrası NMDA reseptör inhibisyonu, nöroprotektif etkisi üzerinde durulmasını sağlamıştır⁸⁶. Bu blokaj molekülün özellikle guanido grubu ve NMDA reseptör kanal porları arasındaki ilişkiden kaynaklanmaktadır⁷³. Yang ve Reis'in yaptığı çalışmada sıçan hipokampal nöron kültürlerinde agmatin'in selektif NMDA blokajı yaptığı ve bu blokajın molekülün özellikle guanido grubu aracılığıyla ve konsantrasyon - voltaj bağımlı olduğu gösterildi⁸⁰. Bunu destekleyen başka bir

çalışmada PC12 hücrelerinde ve nöronlarda glutamat NMDA reseptörleri üzerinden oluşan eksitotoksik hasarın azaltılmasında agmatin'in önemi üzerinde durulmuştur⁷². Gadotti ve ark.⁶⁷ agmatin'in glutamat reseptörleriyle etkileşiminde, nitrik oksid inhibitörlerindeki mekanizmaya benzer bir şekilde antinosiseptif etki oluşturduğu üzerinde durulmuştur.

2. Özellikle uyarılabilir Nitrik oksit sentaz (iNOS) inhibisyonu ile bir nöromodülatör olan NO üretiminin azalmasını sağladığı gösterilmiştir⁷⁶. Feng ve ark. yaptığı bir çalışmada, agmatin'in hipoksik-iskemik beyin hasarında NO üretimini baskılayarak hasarı azalttığı ve astrositlerde iNOS'un transkripsiyonu süprese ettiği gösterildi^{69,71}. Yine Galea ve ark yaptığı deneysel bir çalışmada, L-arjinin→L-sitrülin oluşumuyla ölçülen NOS aktivasyonuna göre agmatin'in özellikle iNOS formuna karşı potent inhibitör özelliği olduğu gösterilmiştir⁸¹. Abe ve ark. neonatal sıçan serebral korteksinden elde edilen mikroglia kültürlerinde NO üretimi baskıladığını göstermişlerdir⁸³.
3. Agmatin, proteinlerin ADP riboslasyon inhibisyonu ile hücre içi sinyal yollarına müdahale eder⁸⁶.
4. Agmatin'in, opioid reseptör modülasyonu ile opioid analjezisini güçlendirdiği bildirilmiştir⁸⁷. Yeşilyurt ve Uzbay⁵⁷ morfinin antinosiseptif etkisini potansiyelize ettiğini, Rui-Bin ve ark.⁵⁸ bu etkiyi opioid reseptör sinyal transdüksiyonuna bağlı adaptasyonun inhibisyonu ile ilgili bir mekanizmayla gerçekleştirdiğini gösterdiler. Kolesnikov ve ark.⁵⁹ ile Arıcıoğlu ve ark.^{60,61} morfin yoksunluk sendromu ve opioid analjezine toleransı azalttığını saptadılar. Morgan ve ark.⁶² yaptıkları bir çalışmada, kronik olarak opioidin tek başına alınması ile ilgili nöroadaptif değişikliklere aracılık ettiğini gösterdiler.
5. Agmatin, ilerleyen glikolizasyon son ürün formasyonu inhibe ederek ekstraselüler matriks proteinlerinin karmaşık hasarında önem taşır⁸⁶.
6. Deneysel çalışmalarda, agmatin'in serum laktat düzeyinin düşmesi ve hipoglisemiye neden olduğu ve insülin benzeri etki gösterdiği gösterilmiştir^{86,88}.
7. Hücrel hasara cevapta rol oynayan moleküller olan poliamin sentezinde prekürsör olduğu gösterilmiştir⁸⁶. Poliamin biyosentezinde ve katabolizmasında anahtar iki enzim olan ornitin dekarboksilaz (ODC) ve spermin spermidin N-açıl transferaz'ın (SSAT) agmatin tarafından modüle edildiği gösterilmiştir⁹⁰.

8. Gilad ve ark.⁷⁸ spinal kanal iskemik hasarı sonrası sistemik agmatin uygulamasının motor nöron sayısında artışa neden olarak nöroprotektif etki gösterdiğini saptadılar. Yine aynı grubun yaptığı başka bir çalışmada agmatin'in iskemik beyin hasarı sonrasında doza bağımlı olarak nöronal ölümü azalttığı tespit edildi.
9. Agmatin kromafin hücrelerinden ketakolamin salınımını inhibe eder⁸⁸.
10. Poliamin biyosentezindeki bir enzim olan ornitin dekarboksilaz (ODC) inhibisyonu ile düz kas hücre proliferasyonu inhibe eder⁸⁹.
11. Agmatin, L tipi miyozitlerde voltaja bağımlı kalsiyum kanal blokajı ile intraselüler Ca^{+2} artışını inhibe eder. Benzer etki sinir terminallerinde voltaj kapılı Ca^{+2} kanallarında da gösterilmiştir⁸⁸.
12. Fairbanks ve ark.⁷⁷ düşük toksitesi ve selektif antihiperaljezik profili nedeniyle agmatin'in spinal kanal yaralanması (SCI) ve kronik ağrı tedavisinde yeni ve avantajlı terapötik bir ajan olduğunu gösterdiler. Horvath ve ark.⁶³, allodini, hiperaljezi ve inflamasyonun eşlik ettiği spinal kanal ve sinir hasarının meydana getirdiği hipernosisepsiyonu önleyebildiğini göstermişlerdir. Hou ve ark.⁶⁴ spinal seviyede nosiseptif uyarıların geçişini baskıladığını saptadılar. Arıcıoğlu ve ark.⁶⁵ agmatin'in akut ve kronik ağrı üzerindeki etkisini inceledikleri bir çalışmada, intraperitoneal uygulamada tail immersiyon testinde doza bağımlı olarak nosiseptif eşiği yükseltirken hot plate testinde antinosiseptif bir etkiye neden olmadığını, intraserebroventriküler uygulama ile agmatin'i verdiklerinde ise hot plate testinde nosiseptif eşiği artırırken tail immersiyon testinde herhangi bir etki oluşturmadığını gösterdiler. Santos ve ark.⁶⁶ formalinle oluşturulan nörojenik ve inflamatuvar ağrı cevaplarının agmatin uygulaması ile anlamlı şekilde önlediğini, agmatin'in hem profilaktik hem de terapötik bir etki ürettiğini gösterdiler. Asetik asid testinde, L-arjinin, nalokson, ketanserine, ondansetron ve efaroksan tarafından agmatin'in antinosiseptif etkisi geri döndürüldü. Fakat pindolol ve idazoksan tarafından etkilenmediğini buldular. Aynı zamanda agmatin'in oral veya intraperitoneal uygulanması motor disfonksiyonda veya yan tesirde bir farklılık ortaya çıkarmadı. Birçok kimyasal ağrı modeli ile yapılan çalışmada alınan sonuçlar, agmatin'in doza bağımlı antinosisepsiyonunda opioid, serotonerjik (5-HT_{2A} ve 5-HT₃), nitreerjik, adrenerjik (α_2 -adrenoseptörler) ve imidazolinerjik (I₁ reseptörleri) mekanizmalarla antinosisepsiyon oluşturduğunu gösterdi.

5. NİTRİK OKSİD

1980 yılında Furchgott ve Zawadzki⁹¹ endotelyumun stimülasyonu sonucu kan damarlarını gevşeten bir faktörün varlığını gösterdiler. İlk olarak endotelyum kaynaklı gevşetici faktör (EDRF) olarak adlandırılan bu maddeye daha sonra nitrik oksid (NO) denildi⁹².

Damar düz kasını gevşeten bu madde asetilkolinden başka adenin nükleotidler, trombin, P maddesi, bir kalsiyum iyonoforu olan A23187 (kalsimisin), bradikinin, anjiotensin-2, vazopresin, histamin, noradrenalin, serotonin, araşidonik asit, VIP, ergometrin, mellitin, tiomerasol, elektriksel stimülasyon, damar kan akımının hızlanması, ultraviyole ışığı ve polifenoller gibi kimyasal ve fizyolojik etkenlerle de salıverilmektedir^{93,94}.

NO, eşleşmemiş bir elektronlu serbest radikal bir gazdır. Yarı esansiyel bir aminoasit olan L-arjinin'den sentezlenir. Bir azot atomu ve bir oksijen atomunun kombinasyonundan oluşmuş ve ortaklanmamış bir elektron içeren bir bileşik olarak tanımlanır. NO veya NO $\cdot$ şeklinde yazılır. Üç formu vardır; NO $\cdot$ radikali, NO⁺ (nitrosonyum katyonu), NO⁻ (nitroksil anyonu). NO lipit ortamda iyi, sulu çözeltilerde kısmen çözülür. Böylelikle hücre çevresine kolaylıkla yayılır. NO'nun fizyolojik yarılanma ömrü 3 – 5 saniye arasındadır. Biyolojik sistemlerde NO'nun yarı ömrü, dokuların taşıdığı oksijenli bileşiklerin (O₂, OH $\cdot$) oranındaki farklılıklardan dolayı büyük değişkenlik göstermektedir. NO etkileri hemoglobin, metilen mavisi, hidrokinon ve ditiotreitol ile inhibe edilirken, süperoksid dismutaz (SOD) ve karboksi – PTIO NO etkilerini uzatabilir^{93,95}.

NO basit yapılı bir gaz olup biyolojik zarlardan kolaylıkla geçerek hedef moleküllere kovalent bağla bağlanır. NO sentez edildikçe salıverilen bir molekül olup yapısı gereği depolanmaya uygun değildir. Fazla miktarda oluşumu dokular üzerinde toksik etkisi olduğu için hızla etkisiz hale dönüştürülür⁹⁵.

NO için klasik bir reseptör bölgesi yoktur. Guanilil siklazın hem grubuna bağlanarak, hücre için ikincil haberci molekül olarak çalışan siklik gunozin monofosfat (sGMP)'nin birikmesine yol açar. sGMP, miyozin hafif zincir kinazın defosforilasyonuna neden olarak düz kas gevşemesi yapar. NO'nun bazı etkilerine, K⁺ kanallarının açılması

sonucu ortaya çıkan siper polarizasyon aracılık etmektedir⁹³. NO'nun L tipi Ca^{+2} kanallarından Ca^{+2} girişinin engellendiği intraselüler depolardan Ca^{+2} salıverilmesini önlediği ve intraselüler depolara sarkoplazmik endoplazmik retikulum Ca^{+2} – ATPaz (SERCA) aracılığı ile Ca^{+2} depolanmasını artırdığı yani sonuçta, hücre içi Ca^{+2} düzeyini düşürdüğü anlaşılmıştır. Bu etkiler sGMP üzerinden olur⁹⁵.

5.1. Nitrik Oksidin Sentezi

Nitrik oksid sentezi için kullanılan aminoasit L-arjinin'dir. Bu aminoasit NO sentezinin prekürsörüdür. Bu aminoasit intraselüler ortamda hazır bulunabildiği gibi endojen olarak da sentezlenebilmektedir⁹⁵. NO sadece damar endotel hücrelerinde değil, aynı zamanda serebellum ve ön beyindeki nöronlarda, nötrofil lökositlerde, böbrek tubulus epitel hücrelerinde, adrenal medulla hücrelerinde, mast hücrelerinde ve bazı otonom sinirlerin (non-adrenerjik non-kolinerjik) uçlarında da sentez edilip salıverilir⁹⁴.

NO bilinen nörotransmitterlerden farklı olarak sinaptik veziküllerde bulunmaz, eksozitozla terminallerden salınmaz ve hiçbir rezervuarda toplanmaz⁹², fakat bir nörondan diğer bir nörona difüze olabilir⁹⁶. Stimülasyonla salınır ve nöronal (glial) hücrelerde enzim ve diğer maddeleri etkiler⁹².

L-arjinin kimyasal olarak eşiti iki guanidin azotu taşımaktadır. Bu yapısıyla oksidasyona çok elverişlidir. L-arjinin sentezi guanido grubundaki nitrojenin hidroksilasyonu ile başlatılır. Bu reaksiyonu “NO sentaz” (NOS) enzimi yapar. NOS bir flavoproteindir. Reaksiyonda L-arjinin, indirgenmiş pridin nükleotidi (Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat, NADPH) ve moleküler oksijen(O_2) substrat olarak kullanılır. Bu enzimin kofaktörleri: NADP (Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat), FAD (Flavin adenin dinükleotid), FMN (Flavin mononükleotid), tetrahidrobiopterin, kalmodülin ve hem'dir^{93,94,95}. Reaksiyon sonucunda, NO ve L-sitrülin elde edilir. Sitrülin bir azot olarak L-arjinin'e geri dönüşebilir. NOS enziminin en az üç tipinin olduğu anlaşılmıştır. Bunlardan:

- 1- Endotel izoformu (eNOS): Damar endotel hücrelerinde bulunmaktadır. 135 kDa ağırlığında ve Ca^{+2} – kalmodüline bağımlı yapısal izoformudur.
- 2- Beyindeki izoformu nNOS (nöronal veya nöral NOS): Nöronlarda ve NANK sinirlerinde bulunur ve 168 kDa ağırlığındadır. Ca^{+2} – kalmodülin sisteminin etkisindedir. Beyinde önemli bir nörotransmitter olan glutamat, (N-metil-D-aspartat)

NMDA reseptörlerine bağlandıktan sonra postsinaptik hücre içine Ca^{+2} girişini başlatmakta ve hücre içine giren Ca^{+2} da kalmodüline bağlanarak NOS'u aktif hale getirmektedir.

- 3- Makrofaj izoformu (iNOS): Vücudun savunma sistemini oluşturan makrofajlarda bulunur. 130 kDa ağırlığındadır. Bakteriyel endotoksinler ve inflamatuvar sitokinler tarafından indüklenen iNOS kalsiyum ve kalmodüline bağımlı değildir. Uyarıldığında diğer iki enzime göre daha fazla miktarda ve uzun süreli NO salınımı olur. nNOS ve eNOS yapısal (cNOS) olarak da isimlendirilir^{93,94,95}.

5.2. Nitrik Oksid Sentez İnhibitörleri

NO bir aminoasit olan L-arjinden nitrik oksit sentaz (NOS) tarafından sentez edilir. Yapılan in vitro çalışmalarda bir L-arjinin analogu olan N^G -monometil-L-arjinin (L-NMMA)' in NO sentazın inhibitörü olduğu anlaşılmıştır. Diğer L-arjinin analogu NO sentaz inhibitörleri; N^G -nitro-L-arjinin (L-NA), N-nitro-L-arjinin metilester (L-NAME), N-iminoetil-L-ornitin (L-NIO), N-amino-L-arjinin (L-NAA) ve N-N-dimetilarjinin (ADMA)'dır. Bunun yanı sıra diğer iki L-arjinin analogu N-N-dimetil-L-arjinin (SDMA) ve α -amino- δ -izotiyüreidovalenik asit NOS enziminin aktivitesini inhibe etmemektedir^{94,95,97}. ADMA plazmada endojen olarak bulunur. Renal yetmezlik veya bazı immün yetmezlik gibi hastalıklarda ADMA düzeylerinin yükseldiği gösterilmiştir. L-NMMA ve L-NAME oral olarak aktiftir.

Bu sayılan NOS inhibitörleri iNOS üzerinde de inhibisyon gösterirler. iNOS bunlar dışında; deksametazon, hidrokinon, glukokortikoidler, aminoguanidin, TGF- β , IL-4 ve IL-10 tarafından inhibe edilebilir. L-kanavanin, 7-nitroindazol, N-iminoetil-L-ornitin (L-NIO) ise nNOS'u oldukça selektif bir şekilde inhibe eder^{93,94,95}.

NO, NOS inhibitörleri dışında şu maddelerle de inhibe edilebilir: Hemoglobin, metilen mavisi, kalmodülin bağlayıcılar, hem bağlayıcılar, flavoprotein bağlayıcılar, süperoksit anyonu (O_2^-).

5.3. Nitrik Oksidin Santral Sinir Sistemindeki Fizyolojik Rolü

Beyinde NO' in varlığı ilk olarak serebellar nöron kültüründe NO'e benzer özellikleri olan bir faktörün salgılanması ile belirlenmiştir. NO-sinyal transdüksiyon sistemi üzerinde serebellum, striatum, serebral korteks, hipokampus, hipotalamus ve

çıkıcı retiküler sistem gibi çeşitli beyin alanlarında çalışılmıştır^{98,99}. Bunların arasında NOS aktivitesinin ve NO'e bağımlı sGMP üretiminin en yüksek olduğu alan serebellumdur⁹⁹.

NO molekülünün ilk ve en önemli etkisi guanilat siklazın demirine bağlanmak, bu enzimi stimüle etmek ve böylece intraselüler sGMP konsantrasyonunu arttırmaktır⁹². Bu artış ağrı ve analjezi dahil olmak üzere birçok fizyolojik olayı modüle eder^{100,101}. Guanilat siklaz'ın yanı sıra diğer bir hedef, sitosolik adenosin difosfat (ADP)- ribozil transferazdır. sGMP'deki artış fosforilasyonu katalize eden sGMP'ye bağımlı proteinkinazı aktive eder⁹².

Ayrıca NMDA reseptör aktivasyonu Ca^{+2} influks'una neden olur ve NO salımı ile sonuçlanan enzimatik olayları başlatır¹⁰². NO'nın NMDA reseptörlerinin indüklediği nörotoksiteye de katkıda bulunduğu düşünülmektedir^{92,99}. NMDA reseptör antagonistleri NO'nın sGMP düzeylerinde yaptığı artışı bloke eder⁹⁹.

Diğer bir görüşe göre; P maddesi ve bradikinin çeşitli önemli inflamatuvar hiperaljezi mediyatörlerin, vasküler endotel hücreleri stimüle ederek vazodilatör NO saldırdığı ileri sürülmektedir¹⁰³.

İkincil ulak olarak davranan NO'nın birçok sistemin fonksiyonunda rol aldığı gösterilmiştir. NO, SSS yanı sıra kardiyovasküler, renal, pulmoner, endokrin ve immün sistemlerde de önemli etkileri olan bir mediyatördür⁹². NO, periferel dokularda ve nosiseptif yollar da dahil olmak üzere SSS'inde intraselüler iletişimde rol alır¹⁰³.

5.4. Nitrik Oksidin Analjezi Mekanizmalarındaki Rolü

NO'nın nöronal yolların birçok seviyesinde ağrının algılanmasında rol oynadığı ve ağrının modülasyonunda önemli bir işlevi pek çok çalışmada kabul edilmekle birlikte, bunun hangi mekanizmalar aracılığıyla olduğu tam olarak açığa kavuşmamıştır^{103,104,105}. Çünkü NO'nın periferel ve spinal nosisepsiyondaki rolü oldukça komplekstir¹⁰⁵.

Omurilik arka boynuzunda ağırlı impulsların NO tarafından potansiyelize edildiğini, NOS inhibitörlerinin antinosiseptif etkilerinin olduğunu, öte yandan çeşitli bileşiklerin analjezik etkilerine NO'nın aracılık ettiğini ileri süren çalışmalar bulunmaktadır¹⁰⁴.

Günümüzde NO'nın mekanik, termal ve kimyasal hiperaljezinin mekanizmasına katkıda bulunduğu dair kanıtlar gittikçe artmaktadır^{100,101,108}. L-arjinin/NO/sGMP yollar

aktivatörleri ve inhibitörleri kullanılarak yapılan çalışmalarda NO'nun periferel dokulardaki L-arjinin/NO/sGMP yolağında hem nosiseptif hem de antinosiseptif etki oluşturduğı gösterilmiştir¹⁰⁶.

İmmünohistokimyasal çalışmalar sinir uçlarında ve spinal kanal dorsal boynuzunun süperfisyal tabakalarının internöronlarında nNOS varlığını göstermiştir¹⁰⁷. NOS inhibitörü olan L-arjinin analoglarının sistemik uygulaması nöropatik ve kimyasal ağrıya karşı antinosiseptif aktivite gösterir^{108,109}. NOS inhibitörleri L-NAME ve L-NMMA, sGMP inhibitörü metilen mavisinin i.c.v. uygulaması opioid'den bağımsız antinosiseptif etki oluşturur ve bu etki dibutiril-sGMP tarafından bloke edilir. Bu sGMP sisteminin nosiseptif informasyonun supraspinal transmisyonunda pozitif role sahip olduğunu gösterir^{106,110}. Bu sistemin spinal nosiseptif prosesteki rolü de behavyoral, elektrofizyolojik ve histokimyasal çalışmalarda gösterilmiştir¹¹¹. NOS inhibitörlerinin sistemik ve intratekal enjeksiyonunun formalin ve karregeninle oluşturulan hiperaljeziye bağılı noksioz cevapları azalttığı bulunmuştur¹¹². Çelişkili olarak, bazı NOS inhibitörleri asetilkolin ve morfinin antinosiseptif etkisini önlemiştir^{108,109}.

Birçok çalışma L-arjinin/NO/sGMP yolağının morfinin^{113,114} ve bazı NSAİİ'lerin¹¹⁵ antinosiseptif etkisinde rolü olduğunu göstermektedir. Brignola ve ark.¹¹⁴, per oral (p.o) ve intraperitoneal (i.p) L-arjinin uygulamasının hot-plate, tail-flick ve abdominal kontraksiyon testinde doza bağımlı olarak morfinin antinosiseptif etkisini azalttığını ve bu etkinin L-NAME'in uygun dozuyla geri çevrilebileceğini göstermişlerdir. Morfinin oluşturduğı antinosisepsiyonun L-arjinin tarafından azaltılması, etkide NO'nun rolünün olduğunu düşündürmektedir. Bu hipotez NO'nun substratı olmayan D-Arjinin ve de NO sentazı inhibe etmeyen N^G-nitro-D-Arjinin-metil-ester (D-NAME)'in morfinin antinosiseptif etkisini değıştirmemiş olması ile desteklenmektedir¹¹⁴.

Morgan ve ark.⁹⁸, L-NAME ve NSAİİ'lardan flurbiprofen ve indometazin'in farelerde sinerjistik antinosiseptif etki oluşturduğunu göstermişlerdir. Buna karşın, diğeri bir çalışmada da insan ve deney hayvanlarında analjezik etkisi olduğu kanıtlanmış non-kompetif NMDA reseptör blokörü anestezi bir madde olan ketaminin antinosiseptif etkisi L-NAME tarafından bloke edilmiştir¹⁰⁷.

6. NMDA RESEPTÖRLERİNİN AĞRIDAKİ ROLLERİ

NMDA reseptörleri, eksitator amino asit reseptörleri adı da verilen glutamat reseptörlerinin bir alt tipidir³. NMDA reseptörleri sensoryal bilginin fizyolojik iletisinde rol alırlar. Ancak glutamatın uzun süreli salgılanması veya nörokinin reseptörlerinin aktivasyonu sonucunda anormal yanıtlar ortaya çıkmaktadır. Non-NMDA ve nörokinin reseptörlerinin uzun süreli aktivasyonu NMDA reseptörünü harekete geçirir veya harekete hazır hale getirir. Kronik ağrıdaki uzun süreli değişikliklerde NMDA reseptörlerinin rolü önem kazanmaktadır. Bu noktada “windup” denilen olayın santral sensitizasyonda önemli rolü vardır. Periferik reseptörlerde değişikliklerin meydana gelmesi onkojenlerin indüksiyonu ve uzun süreli potansiyasyon işe girer. Uzun süreli potansiyasyon, sinaptik etkinlikte hafıza süreci sonunda oluşur ve ağrının hücre düzeyindeki hafızasını ve de ağırlı uyaranlara karşı cevabın kolaylaşması anlamındadır. NMDA antagonisti ilaçların bu cevapları azaltabileceği ve kronik ağrı kontrolünde kullanılabileceği düşünülmektedir. Ketamin gibi ya da MK-801 gibi ilaçlar bu değişiklikleri önleyebilmektedir, ancak yan etkileri nedeniyle bugün klinikte kullanımları azdır¹.

6.1. İntraselüler Olaylar

NMDA reseptörlerinin aktivasyonu hücrede bir takım yeni olaylara yol açmaktadır. Bu olaylar hücre içerisinde ağırlı uyaranlara karşı hassasiyeti artırmaktadır. NMDA reseptör kanalı dinlenme halinde magnezyum tıkaçı ile bloke edilmektedir. NMDA reseptörünün harekete geçmesi; nörokinin reseptörlerinin hareketine ve magnezyum tıkaçının oradan kalkarak hücre içerisine kalsiyum girmesine ve onkojen indüksiyonu, nitrik oksit (NO) oluşumu ve sekonder mesajcıların, fosfolipaz, polifosfoinosit, cGMP, ekosanoidler ve proteinkinaz C gibi maddelerin aktivasyonuna yol açmaktadır. Bu sekonder mesajcılar daha sonra hücrenin eksitabilitesini artırmakta, onkojen üretimine yol açmakta ve hücrenin yanıt yüzünde uzun süreli değişikliklere yol açmaktadır. Uzun süreli uyaran böylelikle glutamat salgılanmasına ve hücrenin ölümüne neden olmaktadır. NO’nun nosiseptif süreçteki rolü hala tam açıklığa kavuşmamıştır ve akut nosisepsiyonda fazla önemli değildir. Ancak kronik ağırlı durumlarda NO indüksiyonu önem taşıyabilir ve belki de hücre ölümünde önemli rol oynayabilir. NO’nun

ağrı üzerinde bir pozitif feedback mekanizması da oluşturduğu düşünülmektedir. NO blokajı nöropatik hayvan modellerinde ağrının azalmasına yol amaktadırdır. Araşıdonik asit metabolitlerinin retimi NMDA reseptör akvitasyonundan sonra artmakta ve böylelikle bu da NSAİ'lerin NMDA reseptörleri üzerinden spinal yolla da etkili olabileceğini dřndrmektedir¹.

7. GEREÇ VE YÖNTEM

7.1. Deney Hayvanı ve Barındırma Koşulları

Deneylerde Çukurova Üniversitesi Tıbbi Bilimler Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden (TIBDAM) sağlanan 4–6 aylık 20–40 g ağırlığında erkek, balb/c türü fareler kullanıldı. Fareler oda sıcaklığında 12 saat karanlık, 12 saat aydınlık döngüsünde ve istedikleri kadar yiyecek ve içecek alabilecekleri bir ortamda bulunduruldu. Fareler kafes başına 10 tane olacak şekilde yerleştirildi. Deneyler sıcaklığı ve aydınlatılması standart laboratuvar koşullarında ve TIBDAM yönergesinde belirlenen etik kurallara uygun olarak yapıldı.

7.2. Tail Flick Analjezi Ölçüm Testi

Tail Flick testi, belirli bir akım ve voltaj uygulanması ile ampulün yaydığı ışığın, farenin kuyruğuna odaklanması ve bunun sonucunda oluşan sıcaklığın ağrı hissi oluşturarak farenin kuyruğunu çekmesi suretiyle arada geçen sürenin bir sensör vasıtasıyla otomatik olarak (Tail-Flick Latensi, TFL) ölçülmesi esasına dayanır. Bütün deney gruplarında bu uygulanan akım ve voltaj sabit tutulup, her fare bir uygulamada kullanıldı. 10 sn içinde cevap vermemeleri durumunda farelerin dokularının zarar görmesini önlemek amacıyla hayvanlar bu süre sonunda cihaz üzerinden alındı. Buna “cut-off” zamanı denildi.

Olası maksimum antinosiseptif etki (% MA) aşağıdaki formülle hesaplandı:

$$\% \text{ MA} = \frac{\text{İlaç uygulamasından sonra TFL (sn)} - \text{Kontrol TFL (sn)}}{10 - \text{Kontrol TFL (sn)}} \times 100$$

7.3. Kullanılan İlaçlar ve Uygulama Şekilleri

Deneylerde agmatin sülfat (Sigma), dizosilpin hidrojen maleat (MK-801) (Sigma), L-Arjinin monohidroklorid (Sigma), N_ω-Nitro-L-arjinin (Sigma) ve tramadol (Abdi İbrahim İlaç San.) kullanıldı (Tablo 3). Kullanılan bütün ilaçların %0,9 luk NaCl içerisindeki çözeltileri hazırlandı. Uygulamalarda ilaç 10 gr vücut ağırlığı başına 0,1 ml olacak şekilde injekte edildi.

Tablo 3. Kullanılan ilaçlar ve uygulama şekilleri.

İlaç ismi	Kısaltma	Doz	Uygulama şekli
Agmatine Sülfat	AG	10-80 mg/kg	İntraperitoneal
Dizosilpin hidrojen maleat	MK-801	0,01-0,1 mg/kg	İntraperitoneal
L-Arjinin monohidroklorid	LA	0,25-50 mg/kg	İntraperitoneal
N _ω -Nitro-L-arjinin	LN	20-150 mg/kg	İntraperitoneal
Tramadol	TR	20-60 mg/kg	İntraperitoneal

7.4. Deney Grupları ve Uygulama Sıraları

Oluşturulan deney grupları, uygulanma sıraları, uygulamalar arasındaki süreler ve deney hayvanlarına yapılan testin adı Tablo 4'te ayrıntılı olarak verilmiştir.

Tablo 4. Deney grupları ve uygulama sıraları.

Gruplar	1.Uyg	Süre	2.Uyg	Süre	3.Uyg	Süre	Test
AG+TR	AG	30 dk	TR	30 dk	-	-	Tail Flick
LA+AG	LA	30 dk	AG	30 dk	-	-	Tail Flick
LN+AG	LN	30 dk	AG	30 dk	-	-	Tail Flick
MK-801+TR	MK	30 dk	TR	30 dk	-	-	Tail Flick
MK-801+AG	MK	30 dk	AG	30 dk	-	-	Tail Flick
LA+AG+TR	LA	30 dk	AG	30 dk	TR	30 dk	Tail Flick
LN+AG+TR	LN	30 dk	AG	30 dk	TR	30 dk	Tail Flick
MK-801+AG+TR	MK	30 dk	AG	30 dk	TR	30 dk	Tail Flick

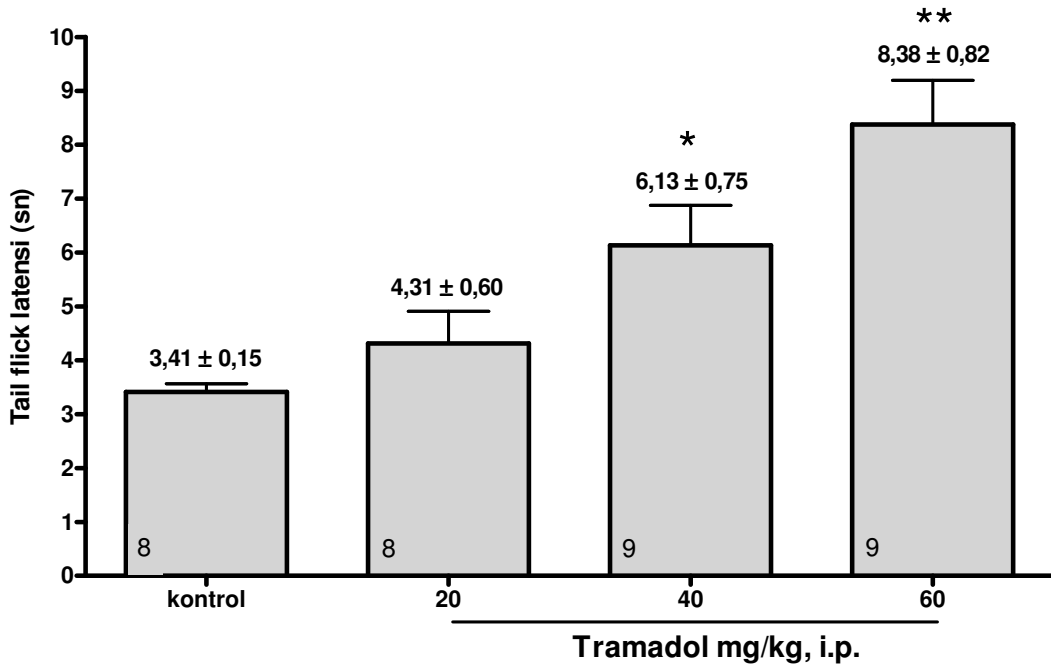
7.5. Sonuçların Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Analiz

Elde edilen sonuçlar, ortalama $\pm$ standart hata (S.E) şeklinde hesaplandı. Sonuçların istatistiksel olarak analizi için birden fazla grubun birbiriyle karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi (One-Way ANOVA) kullanıldı. Gruplar arasındaki karşılaştırmalar Student – Newman – Keuls testine göre yapıldı. 0.05’ den küçük P değerleri anlamlı olarak kabul edildi ($P<0.05$).

8. BULGULAR

8.1. Tail-Flick Testinde Tramadol'ün Etkisi

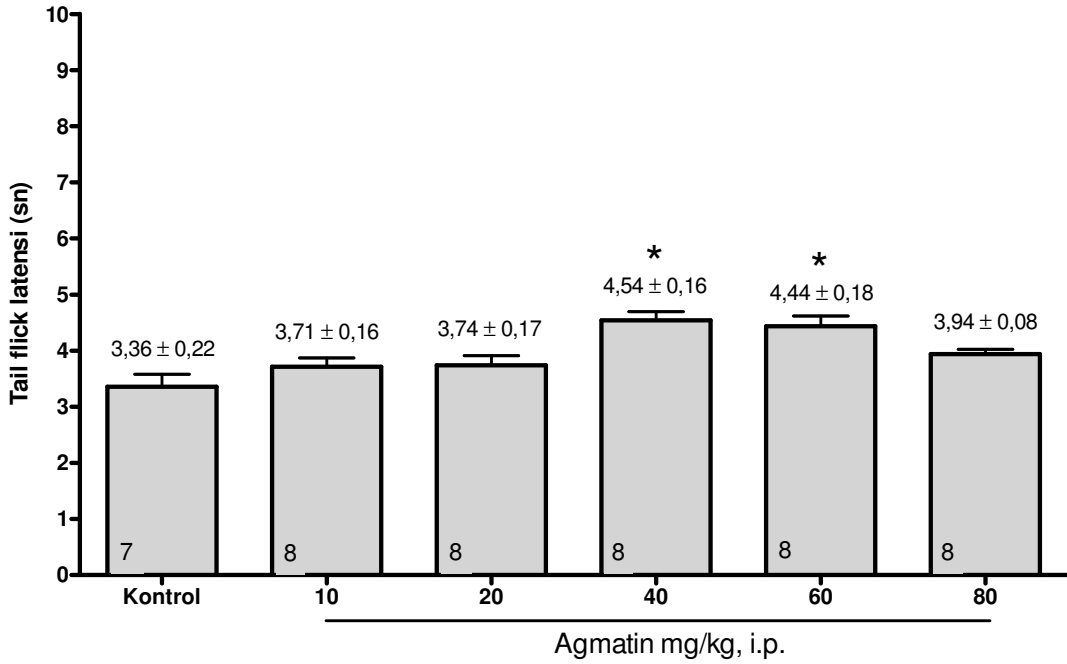
20–60 mg/kg dozlarında i.p olarak kullanılan tramadol'a ait doz-yanıt grafiği Şekil 7'de gösterilmektedir. Tramadol fare tail-flick yanıtını doza bağımlı bir şekilde artırmış, 40 ve 60 mg/kg dozlarında bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bu sonuç, tramadolun 40 ve 60 mg/kg dozlarında sırasıyla % 41.3 ve % 75.4 maksimum antinosiseptif etkisi olduğunu göstermektedir.



Şekil 7. Tramadol'ün akut ağrı üzerine etkisi. One-Way Anova, Newman-Keuls Multiple Comparison Testine göre; *: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı farkı göstermektedir ($P < 0.01$), **: Kontrol grubu ile ($P < 0.001$) ve 40 mg/kg, i.p. Tramadol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı farkı göstermektedir ($P < 0.05$).

8.2. Tail-Flick Testinde Agmatin'in Etkisi

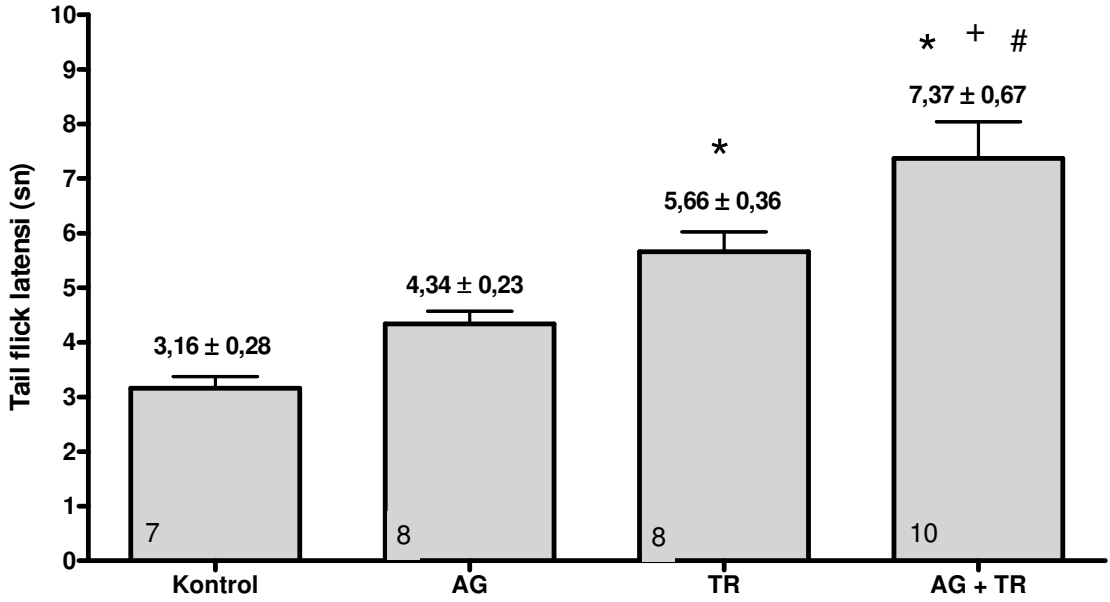
10–80 mg/kg dozlarında kullanılan agmatin'in fare tail-flick testinde doz–yanıt eğrisi Şekil 8'de gösterilmektedir. Agmatin 40 ve 60 mg/kg dozlarında tail-flick yanıtını kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artırmıştır (sırasıyla % 17.7 ve % 16.3 maksimum antinosiseptif etki). Bu sonuçlar agmatin'in fare tail-flick testinde zayıf antinosiseptif etkisi olduğunu göstermektedir.



Şekil 8. Agmatin'in akut ağrı üzerine etkisi. One-Way Anova, Newman-Keuls Multiple Comparison Testine göre; *: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı farkı göstermektedir (P<0.001).

8.3. Agmatin'in Tramadol Üzerine Etkisi

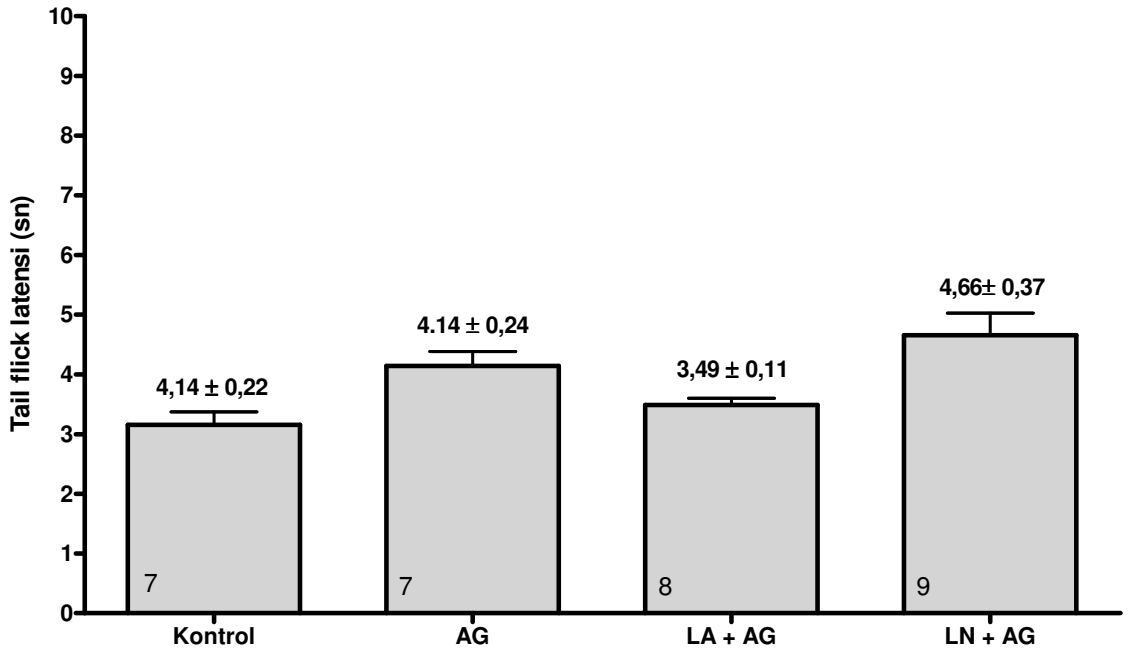
Tramadol'dan 30 dk önce verilen agmatin'in tramadol'ün antinosiseptif etkisi üzerine etkisi Şekil 9'te gösterilmektedir. Agmatin, 40 mg/kg dozunda % 36.5 maksimum antinosiseptif etki gösteren tramadol'ün antinosiseptif etkisini % 61.5'a çıkartmıştır. Birlikte verildiklerinde her iki ilacın tek başlarına uygulandıklarında elde edilen etkiden fazla etki ortaya çıkmıştır. Dolayısıyla bu iki ilaç arasında antinosiseptif etki yönünden bir potansiyalizasyon olduğu söylenebilir.



Şekil 9. Agmatin'in Tramadol Üzerine Etkisi. One-Way Anova, Newman-Keuls Multiple Comparison Testine göre; *: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı farkı göstermektedir (P<0.01), +: Agmatin grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı farkı göstermektedir (P<0.001), #: Tramadol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı farkı göstermektedir (P<0.05).

8.4. L-arjinin ve L-NAME'in Agmatin Yanıtları Üzerine Etkileri

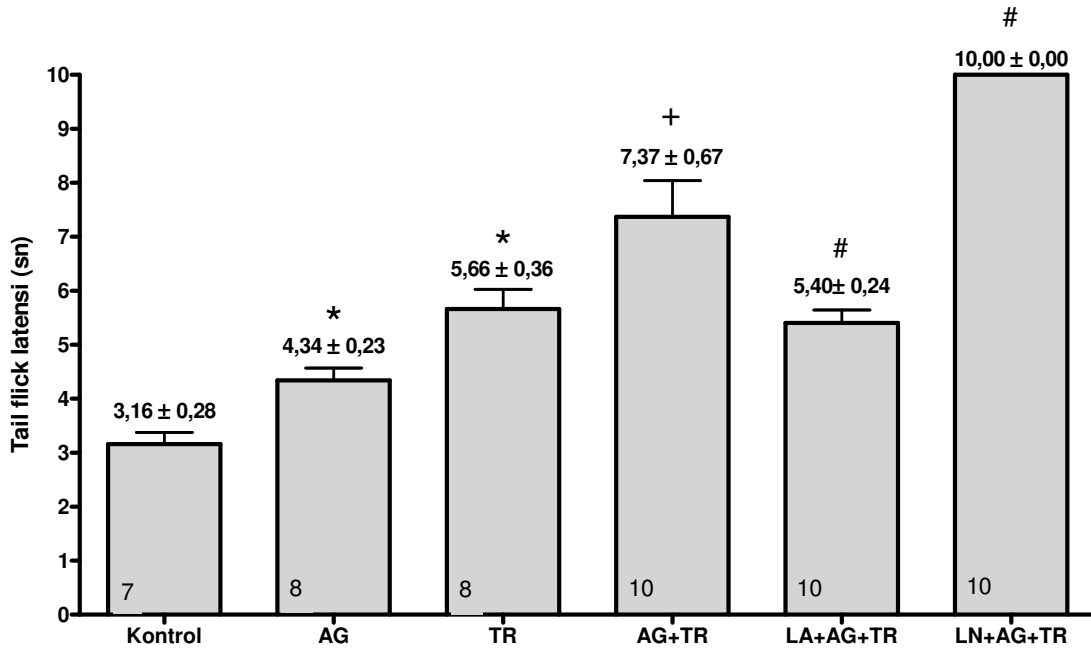
Nitrik oksid prekürsörü L-arjinin ve nitrik oksid sentaz inhibitörü L-NAME kullanılan dozlarında (sırasıyla 0.25–50 mg/kg; 20–150 mg/kg) fare tail-flick yanıtı üzerinde bir değişiklik yapmadılar (doz-yanıt sonuçları grafikte gösterilmemiştir). Her iki nitrik oksid modülatörünün agmatin yanıtı üzerine etkileri ise Şekil 10'te gösterilmektedir. Agmatin'in antinosiseptif etkisini L-arjinin hafifçe azalttı, L-NAME ise çok az artırdı ancak bu değişiklikler istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bu sonuçlardan L-arjinin ve L-NAME'in tek başlarına verildiklerinde antinosiseptif etki göstermedikleri gibi agmatin'in etkisini de değiştirmedikleri anlaşılmaktadır.



Şekil 10. L-arjinin ve L-NAME'in Agmatin Yanıtları Üzerine Etkileri. One-Way Anova, Newman-Keuls Multiple Comparison Testine göre karşılaştırılan sonuçlar arasında anlamlılık bulunamamıştır.

8.5. L-arjinin ve L- NAME'in Agmatin + Tramadol Kombinasyonu Üzerine Etkisi

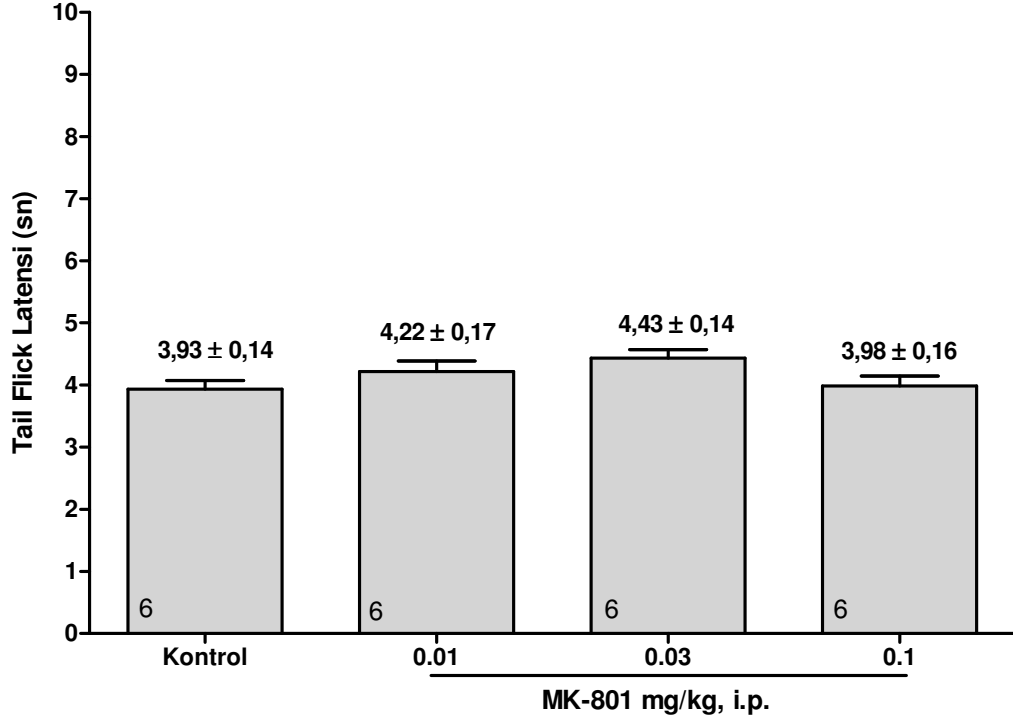
L-arjinin ve L-NAME'in agmatin + tramadol kombinasyonu üzerine etkileri şekil 11'te gösterilmektedir. L-arjinin, agmatin'in tramadol antinosisepsiyonunu artırıcı etkisini önlemiş, L-NAME ise etkiyi daha da artırmıştır. L-NAME uygulanması sonucunda % 61.5 olan kombinasyona ait maksimum antinosiseptif etki % 100 olmuştur.



Şekil 11. L-arjinin ve L-NAME'in Agmatin + Tramadol Kombinasyonu Üzerine Etkisi. One-Way Anova, Newman-Keuls Multiple Comparison Testine göre; *: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı farkı göstermektedir (P<0.001), +: Tramadol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı farkı göstermektedir (P<0.01), #: Agmatin + Tramadol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı farkı göstermektedir (P<0.001).

8.6. MK-801'in Tail Flick Latensi Üzerine Etkisi

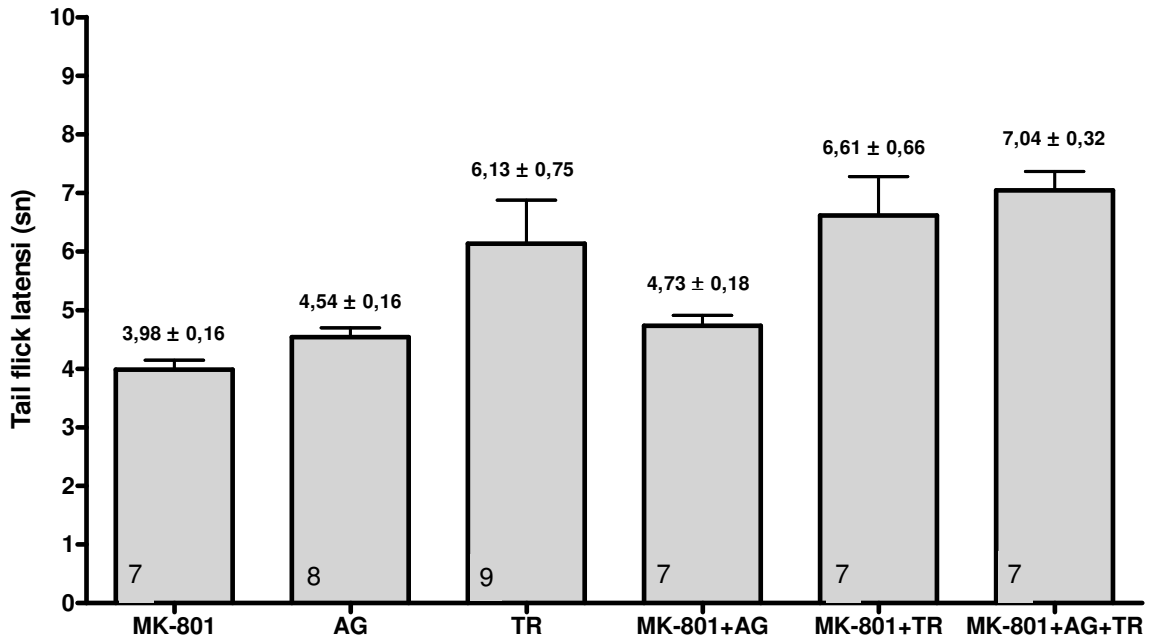
MK-801 kullanılan üç dozunda da (0.10–0.1 mg/kg) fare tail-flick yanıtında anlamlı bir farklılık göstermemiştir. Bu sonuç, MK-801'in kullanılan doz ve yöntemde antinosiseptif etkisi olmadığını göstermektedir (Şekil 12)



Şekil 12. MK-801'in akut ağrı üzerine etkisi. One-Way Anova, Newman-Keuls Multiple Comparison Testine göre sonuçlar arasında anlamlılık bulunamamıştır.

8.7. MK-801'in Agmatin, Tramadol ve Agmatin + Tramadol Kombinasyonu Üzerine Etkisi

Glutamat NMDA antagonisti MK-801'in agmatin, tramadol ve agmatin + tramadol kombinasyonu üzerine etkileri Şekil 13'de gösterilmektedir. MK-801 tramadol'ün, agmatinin ve agmatin + tramadol kombinasyonunun antinosiseptif etkileri üzerine anlamlı değişiklikler yapmamıştır.



Şekil 13. MK-801'in Agmatin, Tramadol ve Agmatin + Tramadol Kombinasyonu Üzerine Etkisi. One-Way Anova, Newman-Keuls Multiple Comparison Testine göre karşılaştırılan sonuçlar arasında anlamlılık bulunamamıştır.

9. TARTIŞMA

Deneyisel akut ağrı modelinde tramadol-agmatin etkileşmesinin ve mekanizmalarının araştırıldığı çalışmamızda tramadol tek başına uygulandığında fare tail-flick latensini 40 ve 60 mg/kg dozlarında anlamlı olarak artırdı. Başka bir deyişle bu dozlarda antinosiseptif etki gösterdi. Hot-plate testi ile aynı laboratuarda yapılan bir başka çalışmada tramadol daha düşük dozlarından (20 mg/kg) başlayarak doza bağlı antinosiseptif etki gösterdiği bulunmuştu⁴³. Tramadol, Rojas-Corrales ve ark.⁵³ tarafından yapılan çalışmada da benzer dozlarda etkili bulunmuştur.

Agmatin ise 10–80 mg/kg arasında 5 farklı dozda kullanılmış, bu dozlardan sadece 40 ve 60 mg/kg dozlarında, fare tail-flick latensini düşük oranda artırmıştır (zayıf antinosiseptif etki, % 17.7 ve 16.3). Bu düzeyde bir etkinin bir ilacın tek başına analjezik olarak kullanılması için yetersiz olacağı aşıkardır. Çalışmamızda elde ettiğimiz bu sonucu daha önceden yapılan agmatin doz-yanıt çalışmalarıyla karşılaştırıldığımızda farklı ve çelişkili sonuçların elde edildiği gözlenmiştir. Arıcıoğlu ve ark.⁶⁵ tarafından yapılan bir çalışmada agmatin, Balb/c farelerde tail immersiyon testinde i.p uygulandığında 40, 80 ve 100 mg/kg dozlarında anlamlı bir antinosiseptif etki göstermiş, ancak aynı testte i.c.v. uygulandığında herhangi bir etki görülmemiştir. Hot-plate testinde ise i.c.v. uygulanan agmatin doza bağlı bir antinosiseptif etki gösterirken i.p uygulandığında etkisiz bulunmuştur.

Yeşilyurt ve Uzbay'ın⁵⁷ çalışmasında ise Swiss farelerde tail-flick testinde 10, 20 ve 40 mg/kg i.p. uygulanan agmatin hiçbir dozunda tail flick latensi üzerinde anlamlı etki göstermemiştir. Bizim çalışmamızla aynı akut ağrı modelinin kullanıldığı bu çalışmada daha düşük dozlar ve farklı fare türlerinin kullanılmış olması, bizim çalışmamızda 40 mg/kg dozla elde edilen etkinin bir ilacın antinosiseptif olarak değerlendirilmesi için çok düşük olması, iki çalışmanın birbirini desteklemesi olarak da yorumlanabilir. Arıcıoğlu ve ark.'nın⁶⁵ çalışmalarında da akut ağrı modelinde agmatin, uygulama yoluna göre farklı cevaplar vermişti.

Termal uyarı testlerindeki farklı sonuçlara karşın çeşitli kimyasal uyanarla (asetik asid, glutamat, kapsaisin, formalin, TNF- α , IL-1 β) yapılan testlerde agmatin doza bağlı antinosiseptif etki göstermiştir⁶⁸.

Termal ve kimyasal uyarılarla olduğu gibi akut ve kronik ağrı testlerinde de agmatin'in etkileri farklı bulunmuştur. İskemik yaralanma, spinal kanal yaralanması, nöropatik ağrı, inflamasyonla indüklenen termal hiperaljezi gibi kronik ağrı modellerinde agmatin'in daha etkili olduğu, buna karşı akut ağrıda bir analjezik olarak değerlendirilemeyeceği söylenmektedir^{61,65,77}. Çalışmamızda tek başına agmatinle elde ettiğimiz zayıf antinosiseptif etki de bu düşünceyi doğrulamaktadır.

Tramadol 40 mg/kg dozunda tek verildiğinde % 36.5, agmatin ise tek verildiğinde % 17.2 gibi maksimum olası antinosiseptif etki gösterirken bu iki ilaç bir arada verildiğinde etkinin % 61.5'e çıktığı gözlenmiştir. Bu iki ilaç arasında potansiyalizasyon şeklinde bir etkileşme olduğunu göstermektedir. Potansiyalizasyon iki ilacın etkilerini farklı mekanizmalar aracılığıyla yapması sonucu olabileceği gibi benzer mekanizmaların birbirini desteklemesi sonucu da olabilir. Bunu araştırmak için nitrerjik sistemin katkısı nitrik oksid modölatörleri kullanılarak incelenmiştir. Tramadol'un antinosiseptif etkisinde nitrerjik sistemin katkısı bir başka çalışmada incelenmiş, nitrik oksid prekürsörü L-arjinin tramadol'un etkisini azaltırken NOS inhibitörü L-NAME tramadol'un etkisini artırmış, buna göre NO oluşumunun azaltılmasının tramadol'un etkisinde rolü olabileceği önerilmiştir⁴³. Agmatin'in kronik ağrıdaki etkisinde NOS inhibisyonunun rolü olduğu bildirilmektedir^{65,77}. Akut ağrı modelinde de NOS inhibisyonunun agmatin etkisinde söz konusu olup olmayacağı bu çalışmada incelenmiş ancak ne L-arjinin, ne de L-NAME'in agmatin'in etkilerini değiştirmedeği gözlenmiştir. Çalışmamızda elde ettiğimiz bu sonuç, agmatin-morfin etkileşiminin incelendiği ve agmatin'in morfin etkisini artırdığı ancak bu artışta nitrerjik sistemin katkısı olmadığını bildiren bir başka araştırmanın sonuçlarıyla uyumludur¹¹⁷.

Öte yandan bizim çalışmamızda agmatin + tramadol kombinasyonunun etkisi L-arjinin tarafından azaltılmış, L-NAME ise etkiyi maksimum düzeye (% 100) çıkarmıştır. Kombinasyonun etkisinin bir NOS inhibitörü olan L-NAME tarafından artırılmasının, agmatin + tramadol potansiyalizasyonuna nitrerjik sistem + tramadol etkileşmesinin katılmasıyla elde edildiğini düşünmekteyiz. Zira agmatin tek başına verildiğinde nitrerjik sistemle bir etkileşmesi bulunmamıştı. Çalışmamızın sonuçlarına göre agmatin + tramadol + L-NAME kombinasyonu antinosisepsiyon açısından maksimum etkinin elde edilebileceği bir kombinasyon olarak görünmektedir.

Agmatin'in nöropatik ağrıdaki antinosiseptif etkisinde glutamat NMDA

reseptörlerinin blokajının rolü olduğu önerilmektedir⁶⁵. Biz de çalışmamızda akut ağrı modelinde gerek agmatinin gerekse tramadol üzerindeki etkisinde NMDA antagonizmasının rolü olup olamayacağını incelemek amacıyla NMDA antagonisti MK-801 ile etkileşmesini inceledik. Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlara göre MK-801 ne agmatinin, ne tramadol'un ne de her iki ilaç kombinasyonunun etkisini değiştirmedir. Bu sonuçlara göre bizim modelimizde agmatin etkilerinin NMDA reseptör blokajıyla ilgisi olmadığı söylenebilir.

Tramadol'un antinosiseptif etkisinde kısmen opioid reseptör blokajı, kısmen noradrenerjik (özellikle α -adrenerjik reseptörler üzerinden) ve serotonerjik sistemlerin katkısı olduğu bildirilmektedir^{42,52}. Öte yandan nitreerjik sistem blokajının da tramadol'un etkisinde rolü olduğunu bildiren çalışmalar vardır⁴⁴. Agmatinle yapılan çalışmalar ise bu ilacın antinosiseptif etkisinde imidazolin ve α -adrenerjik reseptörlerin katkısı olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmanın sonuçları ve literatür bilgileri birleştirildiğinde her iki maddenin α -adrenerjik reseptörleri etkilemesi dolayısıyla benzer mekanizmalar aracılığıyla, öte yandan her birinin farklı etki mekanizmaları sonucunda potansiyalizasyonla sonuçlanan bir etkileşme gösterdiği söylenebilir. Ayrıca, 100 mg/kg'dan düşük dozlarında agmatin'in normal davranış, motor aktivite, kardiyovasküler parametreler ve diğer toksik etkiler göstermediği bildirilmiştir¹¹⁶.

Bizim çalışmamızın sonuçlarına göre de normal davranış ve motor fonksiyonlarda herhangi bir değişiklik oluşturmayan agmatin, akut ağrı modelinde tek başına etkin bir antinosiseptif ajan olarak görülmesi de, tramadol gibi klasik bir antinosiseptif ilacın daha düşük dozda kullanılmasını sağlayacak, dolayısıyla yan tesirlerini azaltacak bir yardımcı ilaç olarak değerlendirilebilir.

10. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar ve bu sonuçlara göre önerilerimizi şu şekilde özetleyebiliriz.

1. Agmatin, akut ağrı modelinde etkin bir analjezik olarak değerlendirilemeyecek düzeyde zayıf antinosiseptif etki göstermektedir ve bu etkide nitrejik sistemin ve NMDA reseptörlerinin katkısı görünmemektedir.
2. Öte yandan agmatin, akut ağrı modelinde tramadol'un antinosiseptif etkisini kayda değer ölçüde artırmaktadır.
3. NOS inhibisyonu, tramadol + agmatin kombinasyonunun etkisini artırmakta, bunda tramadol-nitrejik sistem etkileşmesinin katkısı olduğu düşünülmektedir.
4. Nöropatik ve diğer kronik ağrı modellerinde antiallodinik ve antihiperalezik etkisi olduğu bildirilen ve bu etkilerde NOS inhibisyonu ile glutamat-NMDA reseptör blokajının rolü olduğu önerilen agmatin, akut ağrı modelinde farklı davranmaktadır.
5. Agmatin + Tramadol + L-NAME şeklindeki üçlü kombinasyon kuvvetli bir analjezik etki elde etmek için yararlı görünmektedir. Farklı etki mekanizmalarıyla etki eden bu üç madde yan etkileri azaltılmış bir kombinasyon için uygun görülmektedir.

Bu çalışmada elde edilen sonuçların doğrulanması ve açıklanamamış mekanizmaların açıklanabilmesi için ileri düzeyde çalışmalara gerek vardır. Nöromediyatör düzeyinin belirlenmesi ve reseptör düzeyinde yapılacak çalışmalar sonucunda agmatin + tramadol kombinasyonunun etki mekanizmaları ve yan tesirler düzeyinde yapılacak çalışmalarla bu kombinasyonun ağrı tedavisinde önemli olup olmayacağı aydınlatılabilecektir.

11. KAYNAKLAR

1. **Erdine S.** Ağrı mekanizmaları. Erdine S (ed). Ağrı, Birinci baskı, İstanbul; Alemdar Ofset, **2000**:20.
2. **Ely T.** Conotoxins reveal significant psychopharmacological effectiveness: the future of pain management. *Journal of Psychology and Behavioral Sciences*, **2003**; 17: 18-33.
3. **Kayaalp SO.** Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji, 2. cilt, 9. baskı, Ankara, Feryal Matbaacılık San. Tic. Ltd.Şti. **2000**:997.
4. **Lanza FL.**: A guideline for the treatment and prevention of NSAID induced ulcers. Members of the Ad Hoc Committee on Practice Parameters of the American College of Gastroenterology. *Am J Gastroenterol* **1998**; 93: 2037-2046.
5. **Loeser JD, Melzack R.** Pain: an overview. *Lancet*, **1999**; 353: 1607-1609.
6. **Dere F.** MSS'nin temel yapısal ve fonksiyonel organizasyonu. Nöroanatomi, Fonksiyonel nöroloji atlası ve ders kitabı, Adana kitapevi, 3. baskı, cilt 3, **1999**: 191-193.
7. **Raffa RB, Friderichs E, Reimann W, Shank RP, Codd EE, Vaught JI.** Opioid and non opioid components independently contribute to the mechanism of action of tramadol, an 'atypical' opioid analgesic. *J Pharmacol Exp Ther*, **1992**:260(1):275-285.
8. **Besseon JM, Vickers MD.** Tramadol analgesia. *Drugs*, **1994**; 47:1-2.
9. **Dayer P, Collard L, Desmeules J.** The Pharmacology of Tramadol. *Drugs*, **1994**; 47(1):3-7.
10. **Reis D, Regunathan S.** Is agmatine a novel neurotransmitter in brain? *TIPS*, **2000**; 21:187-193.
11. **Yücel A.** Akut ağrı nörofizyolojisi. Hasta kontrollü analjezi (PCA). İstanbul: MER Matbaacılık & Yayıncılık, **1997**: 5-19.
12. **Morgan GE, Mikhail MG.** Pain Management. In: *Clinical Anesthesiology*, 2 ed. New Jersey: Prentice-Hall International, Inc., **1996**: 274-316.
13. **Kayhan Z.** Klinik Anestezi. 2. Baskı İstanbul: Logos Yayıncılık, **1997**: 759-87.
14. **Ertekin C.** Ağrının nöroanatomi ve nörofizyolojisi. Ağrı ve tedavisi. İbrahim Yegül (ed). İzmir: Yapım Matbaacılık, **1993**: 1-18.
15. **Raj PP.** Ağrı taksonomisi. Erdine S (ed). Ağrı, Birinci baskı, İstanbul; Alemdar Ofset, **2000**: 12-20.
16. **Perl ER.** Cutaneous polymodal receptors: Characteristics and plasticity. *Prog Brain Res*, **1996**; 113: 21-37.
17. **Benjamin WJ.** Pain Mechanisms: Anatomy, Physiology and Neurochemistry. In: Raj PP (ed). *Practical Management of Pain*, 3 ed., Missouri: Mosby Inc., **2000**: 117-45.
18. **Merskey HM, Bogduk N.** Classification of Chronic Pain, 2 ed., Seattle: IASP Press, **1994**: 211-8.
19. **Mense S.** Nociception from skeletal muscle in relation to clinical muscle pain. *Pain* **1993**; 54: 241-89.
20. **Cervero F.** Sensory innervation of the viscera: peripheral basis of visceral pain. *Physiol Rev*. **1994**; 74: 95-138.

21. **Dray A and Perkins MN.** Bradykinin and inflammatory pain, trends. *Pharmacol Sci* **1993**; 16: 99-104.
22. **Sorkin LS.** Basic pharmacology and physiology of acute pain processing. In: Wallace MS, Dunn JS, Yaksh TL (eds). *Anesthesiology Clinics of North America*. Philadelphia: W.B. Saunders Company, **1997**; 235-50.
23. **Childs A, Evans R, Watkins J:** The pharmacological selectivity of three NMDA antagonists. *Eur J Pharmacol* **1988**; 145: 81-6.
24. **Salt T, Hilkl R.** Pharmacological differentiation between responses of rat medullary dorsal horn neurons to noxious mechanical and noxious thermal cutaneous stimulation. *Brain Res* **1983**; 262: 167-71.
25. **Aanonsen L, Wilcox GL.** Nociceptive action of excitatory amino acids in the mouse: effects of spinally administered opioids, phencyclidine and sigma agonists. *J Pharmacol Exp Ther*, **1987**; 243; 9-19.
26. **Raigorodsky G, Urca G.** Intrathecal N-methyl-D-aspartate (NMDA) activates both nociceptive and antinociceptive pathways. *Brain Res*, **1987**; 422: 158-62.
27. **Heavner JE, Willis WD.** Pain pathways: Anatomy and physiology. In: Raj PP (ed). *Practical Management of Pain*, 3 ed. St Louis: Mosby Inc, **2000**; 107-45.
28. **Dickenson AH.** NMDA receptor antagonists as analgesics. In: Fields HL, Liebeskind (eds), *Pharmacological approaches to the treatment of pain*. Seattle: IASP Press, **1994**; 173-87.
29. **Price DD, Mao J, Mayer DJ.** Central neural mechanisms of normal and abnormal pain states. In: Fields HL, Liebeskind (eds). *Pharmacological approaches to the Treatment of Pain*. Seattle: IASP Press, **1994**; 61-84.
30. **Hirshberg RM, Al-Chaer ED, Lawand NB, Westlund KN, Willis WD.** Is there a pathway in the posterior funiculus that signals visceral pain? **1996**; 67:291-305.
31. **O'Brien C, Woolf C, Fitzgerald M, et al.** Differences in the chemical expression of rat primary afferent neurons which innervate skin, muscle or joint. *Neuroscience* **1989**; 493-502.
32. **Aydin ON.** Ağrı ve Ağrı Mekanizmalarına Güncel Bakış. *ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, **2002**; 3(2):37-48.
33. **Kayaalp SO:** Opioid Analjezikler. Rasyonel tedavi yönünden Tıbbi Farmakoloji, Hacettepe-Taş Kitapçılık, 8.baskı, cilt 2: 981-986, **1998**.
34. **Ko M, Butelman ER, Woods JH.** The role of peripheral mu opioid receptors in the modulation of capsaicin-induced thermal nociception in rhesus monkeys. *J. Pharmacol. Exp. Ther*, **1998**, 286: 150-156.
35. **Uyar M.** Çocuklarda ağrı tedavisi. *Ağrı*, **1999**; 11(4): 27-30.
36. **Tüzüner F.** Akut ağrı mekanizmaları. *Ağrı*, **1999**; 11(4): 39-45.
37. **Sorkin LS, Wallace MS.** Acute pain mechanisms. *Surgical Clinics of North America*, **1999**, 79(2): 213-217.
38. **Millan MJ.** The induction of pain: an integrative review, *Progress in Neurobiology*, **1999**, 57: 1-164.

39. **Raffa RB, Friderichs E, Reimann W, Shank RP, Codd EE, Vaught JL.** Opioid and nonopioid components independently contribute to the mechanism of action of tramadol, an 'atypical' opioid analgesic. *J Pharmacol Exp Ther*, **1992**; 260(1):275-285.
40. **Kayser V, Besson JM, Guilbaud G.** Evidence for a noradrenergic component in the antinociceptive effect of the analgesic agent tramadol in an animal model of clinical pain, the arthritic rat. *Eur J Pharmacol*, **1992**; 224:83-88.
41. **Shiraishi M, Minami K, Uezono Y, Yangihara N, Shigametsu A, Shibuya I.** Inhibitory effects of tramadol on nicotinic acetylcholine receptors in adrenal chromaffin cells and in *Xenopus* oocytes expressing $\alpha 7$ receptors. *Br J Pharmacol*, **2002**; 136:207-216.
42. **Oliva P, Aurilio C, Massimo F, Grella A, Maione S, Grella E, Scafuro M, Rossi F, Berrino L.** The antinociceptive effect of tramadol in the formalin test is mediated by the serotonergic component. *Eur J Pharmacol*, **2002**; 445(3):179-185.
43. **Yalcin I, Aksu F.** Involvement of potassium channels and nitric oxide in tramadol antinociception. *Pharmacol Biochem Behav*, **2005**; 80:69-75.
44. **Okuducu H, Önal SA.** Is nitric oxide involved in the antinociceptive activity of tramadol? Findings in a rat model of neuropathic pain. *Ağrı*, **2005**; 17:4.
45. **Chrubasik J, Schulte-Moenting J, Wuest H.** Tramadol an alternative spinal analgesic. 2nd International Symposium Regional anaesthesia. Williamsburg. Virginia, USA, **1988**.
46. **Kayaalp OS.** Tibbi Farmakoloji, Ankara, **1990**; 1, 2, 3, 1918-1919.
47. **Lee Mc Tavish.** Tramadol: A review, *Drugs* **1993**; 46(2); 313-340.
48. **Dayer P, Collard L, Desmeules J.** The Pharmacology of Tramadol. *Drugs*, **1994**; 47(1):3-7.
49. **Sacerdote P, Bianchi M, Manfredi B, Panerai AE.** Effects of tramadol on immune responses and nociceptive threshold in mice. *Pain*, **1997**; 72:325-330.
50. **Besseon JM, Vickers MD.** Tramadol analgesia. *Drugs*, **1994**; 47:1-2.
51. **Driesen B, Reimann W.** Interaction of the central analgesic, tramadol, with the uptake and release of 5-hydroxytryptamine in the rat brain invitro. *Br J Pharmacol*, **1992**; 105:147-151.
52. **Driesen B, Reimann W, Giertz H.** Effects of the central analgesic tramadol on the uptake and release of noradrenaline and dopamine invitro *Br J Pharmacol*, **1993**; 108:806-811.
53. **Rojas – Corrales MO, Ortega – Alvaro A, Gibert – Rahola J, Roca – Vinardel A, Mico JA.** Pindolol, a beta-adrenoceptor blocker / 5-hydroxytryptamine_{1A/1B} antagonist, enhances the analgesic effect of tramadol. *Pain*, **2000**; 88:119-124.
54. **Bianchi M, Panerai AE.** Anti – Hyperalgesic effects of tramadol in the rat. *Brain Res*, **1998**; 797:163-166.
55. **Biamigdale TA, Davidson C, Langford RM, Stanford JA.** Actions of tramadol, its enantiomers and principal metabolite, O – des – methyl tramadol, on serotonin (5-HT) efflux and uptake in the rat dorsal raphe nucleus. *Br J Anaesth*, **1998**; 79:352-356.
56. **Raffa RB, Friderichs E, Reimann W, Shank RP, Codd EE, Vaught JL, Jacoby HI, Selve N.** Complementary and synergistic antinociceptive interaction between the enantiomers of tramadol. *J Pharmacol Exp Ther*, **1993**; 267(1):331-340.

57. **Yeşilyurt Ö, Uzbay İT.** Agmatine potentiates the analgesic effect of morphine by an alpha-2-adrenoceptor-mediated mechanism in mice. *Neuropsychopharmacology*, **2001**; 25:98-103.
58. **Su RB, Li J, QIN BY.** A biphasic opioid function modulator: agmatine. *Acta. Pharmacol. Sin.* **2003**; 24:631-636.
59. **Kolesnikov Y, Jain S, Pasternak GW.** Modulation of opioid analgesia by agmatine. *Eur. J. Pharmacol.*, **1996**; 296:17-2.
60. **Aricioglu F, Means A, Regunathan S.** Effect of agmatine on the development of morphine dependence in rats. *Eur. J. Pharmacol.*, **2004**; 504: 191-194.
61. **Aricioglu F, Paul IA, Regunathan S.** Agmatine reduces only peripheral-related behavioural signs, not the central signs, of morphine withdrawal in nNOS deficient transgenic mice. *Neurosci. Lett.*, **2004**; 354:153-157.
62. **Morgan AD, Campbell UC, Fons RD, Carroll ME.** Effects of agmatine on the escalation of intravenous cocaine and fentanyl self-administration in rats. *Pharmacol Biochem Behav*, **2002**; 72(4):873-80.
63. **Horvath G, Kekesi I, Szikszay M, Klimscha W, Benedek G.** Effect of intrathecal agmatine on inflammation-induced thermal hyperalgesia in rats. *European Journal of Pharmacology*, **1999**; 368:197-204.
64. **Hou SW, Qi JS, Zhang Y, Qiao JT.** Spinal antinociceptive effect of agmatine and tentative analysis of involved receptors: study in an electrophysiological model of rats. *Brain Res*, **2003**; 968: 277-280.
65. **Aricioglu F, Korcegez E, Bozkurt A, Ozyalcin S.** Effect of agmatine on acute and mononeuropathic pain. *Ann N Y Acad Sci*, **2003**; 1009:106-115.
66. **Santos AR, Gadotti VM, Oliveira GL, Tibola D, Paszcuk AF, Neto A, Spindola HM, Souza MM, Rodrigues AL, Calixto JB.** Mechanisms involved in the antinociception caused by agmatine in mice. *Neuropharmacology*, **2005**; 48(7):1021-34.
67. **Gadotti VM, Tibola D, Paszcuk AF, Rodrigues AL, Calixto JB, Santos AR.** Contribution of spinal glutamatergic receptors to the antinociception caused by agmatine in mice. *Brain Res*, **2006**; 1093(1):116-22.
68. **Paszcuk AF, Gadotti VM, Tibola D, Quintão NL, Rodrigues AL, Calixto JB, Santos AR.** Anti-hypernociceptive properties of agmatine in persistent inflammatory and neuropathic models of pain in mice. *Brain Res.*, **2007**; 1159:124-33.
69. **Feng Y, Piletz JE, Leblanc MH.** Agmatine suppresses nitric oxide production and attenuates hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats. *Pediatric Research*, **2002**; 52(4):606-611.
70. **Yang XC, Reis DJ.** Agmatine selectively blocks the NMDA subclass of glutamate receptor channels in rat hippocampal neurons. *JPET*, **1999**; 288:544-549.
71. **Reis D, Regunathan S.** Is agmatine a novel neurotransmitter in brain? *TIPS*, **2000**; 21:187-193.
72. **ZHU MY, Piletz JE, Halaris A, Regunathan S.** Effect of agmatine against cell death induced by NMDA and glutamate in neurons and PC12 cells. *Cell. And Mol. Neurobiol.*, **2003**; 23:865-871.
73. **Grillo MA, Colombatto S.** Metabolism and function in animal tissues of agmatine, biogenic amine from arginine. *Amino Acids*, **2004**; 26:3-6.

74. **Lortle MJ, Novotny WF, Peterson OW, Vallon V.** Agmatine, a bioactive amin of arginine. *J.Clin. Invest.*, **1996**; 97(2):413-420.
75. **Sastre M, Regunathan S, Reis D.** Uptake of agmatine into rat brain synaptosomes: Possible role of cation channels. *J Neurochem*, **1997**; 69:2421-2426.
76. **Yu CG, Marcillo AE, Fairbanks CA, Wilcox GL, Yezierski RP:** Agmatine improves locomotor function and reduces tissue damage following spinal cord injury. *Neuroreport*, **2000**; 11(14):3203-3207.
77. **Fairbanks CA, Schreiber KL, Brewer KL, Yu CG, Stone L.** Agmatine reverses pain induced by inflammation, neuropathy, and spinal cord injury. *PNAS*, **2000**; 97(19):10584-10585.
78. **Gilad GM, Salame K, Rabey JM, Gilad V.** Agmatine treatment is neuroprotective in rodent brain injury models. *Pharmacology Letters*, **1996**; 58(2)41-46.
79. **Pineda J, Ruiz-Ortega JA, Martin-Ruiz R, Ugedo L.** Agmatine does not have an activity at alpha 2 adrenoceptors which modulate the firing rate of locus coeruleus neurons. *Neurosci. Lett.*, **1996**; 219:103-106.
80. **Otake K, Ruggiero DA, Regunathan S, Wang H, Milner TA, Reis DJ.** Regional localization of agmatine in rat brain. *Brain Res*, **1998**; 787:1-14.
81. **Galea E, Regunathan S, Eliopoulos V, Feinstein DL, Reis DJ.** Inhibition of mammalian nitric oxide synthases by agmatine, an endogenous polyamin formed by decarboxylation of arginine. *Biochem J*, **1996**; 316:247-249.
82. **Morrissey JJ, Klahr S.** Agmatine Activation of nitric oxide synthase in endoteial cellss. *Proc. Assoc. Am. Phys.*, **1997**; 51-57.
83. **Abe K, Abe Y, Saito H.** Agmatine suppresses nitric oxide production in microglia. *Brain Research*, **2000**; 872:141-148.
84. **Sastre M, Galea E, Feinstein D, Reis DJ, Regunathan S.** Metabolism of agmatine in macrophages: modulation by lipopolysaccharide and inhibitory cytokines. *Biochem J*, **1998**; 330:1405-1409.
85. **Wiesinger H.** Arginine metabolism and the synthesis of nitric oxide in the nervous system. *Progress in Neurobiology*, **2001**; 64:365-391.
86. **Gilad GM, Gilad VH.** Accelerated functional recovery and neuroprotection by agmatine after spinal cord ischemia in rats. *Neuroscience Letters*, **2000**; 296:97-100.
87. **Gilad GM, Gilad WH, Wyatt RJ.** Accumulation of exogenous polyamines polyamines in gerbil brain afer ischemia. *Mol. Chem. Neuropathol*, **1993**; 18:197-210.
88. **Raghavan SAV, Dikshit M.** Vascular regulation by the l-arginine metabolites, nitric oxide and agmatine. *Pharmacol. Res.*, **2004**; 49:397-414.
89. **Regunathan S, Youngson C, Raasch W, Wang H, Reis DJ.** İmidazoline receptors and agmatine in blood vessels: anovel system inhibiting vascular smooth muscle cells. *J Pharmacol Exp.*, **1996**; 30:295-300.
90. **Dudkowska M, Lai J, Gardini G.** Agmatine modulates the in vivo synthesis and interconversion of polyamines and cell proliferation *Bioch. et biophy. Acta.*, **2003**; 1619:159-166.
91. **Furchgott RF, Zawadzki JV.** The obligatory role of endothelial cells in the relaxtion of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*, **1980**; 288:373-376.

92. **Cooper JR, Bloom FE, Roth RH.** The biochemical basis of neuropharmacology. Seneth Edition, New York: Oxford Univercity Press, **1996**:119-122.
93. **Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA.** Nitricoxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. Pharmacologic Rewiews, **1991**;43:109-141.
94. **Kayaalp SO.** Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji, 10. Baskı, Ankara, Hacettepe – Taş. Kitapçılık Ltd. Şti., **2002**.
95. **Bökesoy TA, Çakıcı İ, Melli M.** Farmakoloji ders kitabı, Türk Farmakoloji Derneği Gazi Kitabevi Tic. Ltd. Şti. **2000**.
96. **Sakurada C, Sugiyama A, Nakayama M, Yonezawo A, Sakurada S, Tan – No K, Kisara K, Sakurada T.** Antinociceptive effect of spinally injected L-NAME on the acute nociceptive response induced by low concentrations of formalin. Neurochem Int, **2001**;38:417-423.
97. **Seçilmiş MA.** İzole perfüze rat mezenter arterinde perfüzyon basıncı üzerine asetilkolin, sodyumnitroprusiat, nitroglicerine ve pinasidil etkilerinin karşılaştırılması. Doktora tezi. Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Adana, **2001**.
98. **Morgan CV, Babbedge RC, Gaffen Z, Wallece P, Hart SL, Moore PK.** Synergistic antinociceptive effect of L-NAME and flurbiprofen in the mouse. Br J Pharmacol, **1992**; 106:493-497.
99. **Kulkarni SK, Avodesh C, Sharma.** Nitric oxide: Anew generation of neurotransmitter. Indian J. Br J Pharmacol, **1993**; 25:14 -17.
100. **Meller ST, Dykstra C, Gebhart GF.** 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, **1992**; 214(1):93-96.
101. **Moore PK, Oluyom AO, Babbedge RC, Wallace P, Hart SL.** L-N^G-nitro arginine methyl ester exhibitor antinociceptive activity in Mouse. Br J Pharmacol, **1991**; 102(1):198-202
102. **Kawamata T, Omate K.** Activation of spinal N-methyl-D-aspartate receptors stimulates anitric oxide/cyclic/guanosine 3,5-monophosphate/glutamate release cascade in nociceptive signalling, while an high dose of zymosan appears to disturb it. Anesthesiology, **1999**; 91:415-424.
103. **Rang HP, Bevan S, Dray A.** Nociceptive peripheral neurons: cellular properties. Wall PD, Mellzack R. Textbook of pain, Third Edition, Canada: 68. Churchill Livingstone, **1994**;68.
104. **Özbek H, KarataşY, Aksu F, Özcengiz D, İnan SY, Işık G.** L-arjinin ve N-nitro- L-arjinin farelerde tail-flick cevabı ve morfin analjezi üzerine etkisi. Ağrı, **2000**; 12(3):19-25.
105. **Abacioğlu N, Tunçtan B, Akbulut E, Çakıcı I.** Particapatation of the components of L-arginine/nitric oxide/cgmp cascade by chemically-induced abdominal constriction in the Mouse. Life Sci. **2000**; 67:1127-1137.
106. **Kawabata A, Manabe S, Manabe Y, Takagi H.** Effect of topical administration of L-arginine on formalin-induced nosiception in the Mouse: a dual role of peripherally formed NO in pain modulation. Br J Pharmacol, **1994**; 112(2):547-550.
107. **Bulutcu F, Doğrul A, Guc MO.** The involvement of /nitric oxide in the analgesic effects of ketamin. Life Sci. **2002**; 71:841-853.

108. **Ferreira SH, Duarte ID, Lorenzetti BB.** The molecular mechanism of action of peripheral morphine analgesia: Stimulation of the CGMP system via nitric oxide release. *Eur J Pharmacol*, **1991**; 201:121-122.
109. **Duarte ID, Lorenzetti BB, Ferreira SH.** Peripheral analgesia and activation of nitric oxide CGMP pathway. *Eur J Pharmacol*, **1990**; 186:289-293.
110. **Babbedge RC, Harts SL, Moore PK.** Antinociceptive activity of nitric oxide synthase inhibitors in the mouse: dissociation between the effects of L-NAME and L-NMMA. *J Pharm Pharmacol*, **1993**; 45:77-79.
111. **Meller ST, Gephart GF.** Nitric oxide and nociceptive processing in the spinal cord. *Pain*, **1993**; 52:127-136.
112. **Meller ST, Cummings CP, Traub RJ, Gephart GF.** The role of nitric oxide in the development and maintenance of the hyperalgesia produced by intraplantar injection of carrageenan in the rat. *Neuroscience*, **1994**; 60:367-374.
113. **Granados – Soto V, Rufino MO, Gomez Lopez LD, Ferrairo SH.** Evidence for the involvement of the nitric oxide – cGMP pathway in the antinociception of morphine in the formalin test. *Eur J Pharmacol*, **1997**; 340:177-180.
114. **Brignola G, Calignono A, Di Rosa M.** Modulation of morphine antinociception in the mouse by endogenous nitric oxide. *Br J Pharmacol*, **1994**; 113:1372-1376.
115. **Islas Cadena M, Aguirre Banuelos P, Granados – Soto V.** Evidence for the participation of the nitric oxide-cyclic GMP pathway in the antinociceptive effect of nimesulide. *J Pharmacol Toxicol Methods*, **1999**; 42:87-92.
116. **Regunathan S.** Agmatine: biological role and therapeutic potentials in morphine analgesia and dependence. *AAPS J*, **2006**; 8(3):E479-84.
117. **Ruiz-Durantez E, Llorente J, Ulibarri I, Pineda J, Ugedo L.** Agmatine-morphine interaction on nociception in mice. *Ann N Y Acad Sci.*, **2003**; 1009:133-6.

12. ÖZGEÇMİŞ

Soner METE, 1982 yılında Adana’da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Adana’da tamamladı. 2005 yılında Çukurova Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünden mezun oldu. 2005 yılının Eylül ayında Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji Anabilim Dalı’nda ‘Yüksek Lisans’ eğitimine başladı.