



**ROSMARİNİK ASİTİN NÖROPATİK
AĞRI ÜZERİNE ETKİSİ VE
OLASI MEKANİZMALARI**

Yüksek Lisans Tezi

Alper Ahmet KARAKUŞ

Eskişehir 2021

**ROSMARİNİK ASİTİN NÖROPATİK AĞRI ÜZERİNE ETKİSİ VE OLASI
MEKANİZMALARI**

Alper Ahmet KARAKUŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Farmakoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Nurcan BEKTAŞ TÜRKMEN

Eskişehir

Anadolu Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Eylül 2021

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Alper Ahmet KARAKUŞ'un "ROSMARİNİK ASİTİN NÖROPATİK AĞRI ÜZERİNE ETKİSİ VE OLASI MEKANİZMALARI" başlıklı tezi 15/09/2021 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği"nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmakoloji Anabilim dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

	<u>Unvanı Adı Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Üye (Tez Danışmanı) :		
Üye :		
Üye :		
Üye :		
Üye :		

.....

Enstitü Müdürü

ÖZET

ROSMARİNİK ASİTİN NÖROPATİK AĞRI ÜZERİNE ETKİSİ VE OLASI MEKANİZMALARI

Alper Ahmet KARAKUŞ

Farmakoloji Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eylül 2021

Danışman: Doç. Dr. Nurcan BEKTAŞ TÜRKMEN

Nöropatik ağrı tedavisinde kullanılan mevcut ilaçlar ile varolan problemler nedeniyle daha etkin ve güvenilir yeni ilaçların geliştirilmesine ihtiyaç vardır. Bu tez çalışmasında geniş doz aralığında güvenli olduğu gösterilen doğal antioksidan olan rosmarinik asitin 10, 20, 40 mg/kg, *i.p.*, dozlarda rosmarinik asitin kronik konstriksiyon hasarı ile oluşturulmuş nöropatik ağrı modelinde, dinamik plantar test ile göstermesi olası olan antiallodinik etkinliğinin değerlendirilmesi ve antiallodinik etkinlikte adrenerjik ve opioidderjik mekanizmaların olası rollerinin araştırılması amaçlanmıştır. Rosmarinik asitin antiallodinik etki gösterdiği belirlenmiş, etkinin lokomotor aktiviteden bağımsız olarak gözlenmesi ve gözlenen etkinin klinikte sıklıkla nöropatik ağrı için reçetelenen pregabalin ile benzer seviyelerde ve sürede gerçekleştiriyor olması bir avantaj olarak değerlendirilmiştir. Gözlenen antiallodinik etkinliğine opioid ve adrenerjik reseptör uyarımının aracılık ettiği ve α_2 adrenerjik reseptör stimülasyonunun antiallodinik etkiye katkı sağlayan primer olay olduğu belirlenmiştir. Bu tez çalışmasından elde edilen veriler; rosmarinik asitin nöropatik ağrı yönetiminde kullanılabilme potansiyeli olduğunu ortaya koyarken, yeni tedavi yaklaşımlarına katkıda bulunacak prelinik veriler sunmuştur.

Anahtar Sözcükler: Anti-allodini, Nöropatik ağrı, Rosmarinik asit, Pregabalin.

ABSTRACT

EFFECT OF ROSMARINIC ACID ON NEUROPATHIC PAIN AND POSSIBLE MECHANISMS

Ahmet Alper KARAKUŞ

Department of Pharmacology

Anadolu University, Graduate School of Health Sciences, September 2021

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Nurcan BEKTAŞ TÜRKMEN

More effective and safer new drugs are on demand in the treatment of neuropathic pain due to the existing problems with currently used drugs. In this thesis, it was aimed to investigate the possible antiallodynic effect of 10, 20 and 40 mg/kg rosmarinic acid, a natural antioxidant which is shown to be safe in a wide dose range, on the chronic constriction injury-induced neuropathic pain model using dynamic plantar test, and the contribution of adrenergic and opioidergic mechanisms in its activity. Rosmarinic acid showed antiallodynic effect independently of locomotor activity and the observed effect was considered advantageous due to similar level and duration to that of commonly prescribed neuropathic pain drug, pregabalin. It was determined that the observed antiallodynic activity is mediated by opioid and adrenergic receptor stimulation and that α_2 -adrenergic receptor stimulation is the primary event contributing to the antiallodynic effect. The data obtained from this thesis demonstrates the potential use of rosmarinic acid in neuropathic pain and presents preclinical data that will contribute to new treatment approaches.

Keywords: Anti-allodynia, Neuropathic pain, Rosmarinic acid, Pregabalin.

TEŞEKKÜR

Eczacılık bilimi dinamik ve süreklilik arz eden yenilenmeye muhtaç bir eğitim süreci. Bu bilinç ve gayretle çıktığım bu yolda lisanstan sonra ikinci basamak olarak gördüğüm yüksek lisans eğitiminin bu son virajı olan tez yazma süreci sayesinde çok değerli hocalarımla ve meslektaşlarımla tanışmanın kıvancı ile teşekkür yazıma başlamak istedim.

Yüksek lisans eğitimimde ve tez yazımı aşamasın sürekli benimle birlikte araştırmalar yapan, uzun saatler benimle ders çalışan kıymetli eşim Uzm. Dr Melike KARAKUŞ'a sevgimi, muhabbetimi ve teşekkürlerimi sunarım. Yüksek lisans tezimi yazmakta ve yüksek lisans eğitimimde daima yol göstericim ve desteklerini benden esirgemeyen danışman hocam Doç. Dr. Nurcan BEKTAŞ TÜRKMEN'e saygılarımı ve teşekkürlerimi sunarım. Tez deneyleri aşamasında sürekli yardımcı olan ve bana sürekli yol gösterici olan Ecz. Hazal EKEN'e şükranlarımı sunarım. Ve elbette bugünlere gelmemin her anında emekleri olan kıymetli anneciğim Öğretmen Gülşen KARAKUŞ'a, kıymetli babacığım Diş Hekimi Ömer KARAKUŞ' a teşekkürlerimi, saygımı ve sevgilerimi sunarım.

Alper Ahmet KARAKUŞ

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Anadolu Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı”yla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
BAŞLIK SAYFASI	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. KAYNAK BİLGİSİ	4
2.1. Ağrı	4
2.1.1. Ağrının fizyolojisi	5
2.1.2. Ağrının sınıflandırması	7
2.2. Nöropatik Ağrı	7
2.2.1. Nöropatik ağrının epidemiyolojisi	8
2.2.2. Nöropatik ağrının klinik belirtileri ve risk faktörleri.....	8
2.2.3. Nöropatik ağrının patofizyolojisi	9
2.2.3.1. <i>Periferik mekanizmalar</i>	9
2.2.3.2. <i>Santral mekanizmalar</i>	9
2.2.4. Sinaptik kontrol	11
2.2.4.1. <i>Opioiderjik sistemin rolü</i>	11
2.2.4.2. <i>Noradrenerjik sistemin rolü</i>	12
2.2.5. Nöropatik ağrının deneysel modelleri tedavisi	13
2.2.5.1. <i>Kronik konstriksiyon zedelenmesi (Bennett modeli).....</i>	14

2.2.6. Nöropatik ağrının tedavisi.....	14
2.3. Rosmarinik asit	16
3. GEREÇ VE YÖNTEM	18
3.1.Kullanılan Kimyasallar	18
3.2.Kullanılan Cihazlar	18
3.3.Deney Hayvanları	18
3.4.Deney Gruplarının Oluşturulması	18
3.5. Test Metotları	20
3.5.1. Elektronik von Frey -mekanik allodini	20
3.5.2.Aktivite kafesi	20
3.6. Veri Analizi	21
4. BULGULAR VE YORUM	22
4.1.Deneysel Nöropati Gelişimi	22
4.2. Antiallodinik Aktivitenin Değerlendirilmesi	22
4.3. Etki Mekanizmasının Değerlendirilmesi	23
5. TARTIŞMA	28
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	34
KAYNAKÇA	35
ÖZGEÇMİŞ	

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. Kapı kontrol teorisine göre ağırlı uyarıların iletimi	5
Şekil 2.2. Ağrı oluşum ve iletim aşamaları	5
Şekil 2.3. Sık kullanılan bazı siyatik sinir nöropati modelleri	14
Şekil 2.4. Rosmarinik asitin kimyasal yapısı.....	16
Şekil 4.1. Deneysel nöropatik ağrı gelişimi	22
Şekil 4.2. Rosmarinik asitin mekanik allodini eşiklerinden hareketle hesaplanan % MPE değerleri üzerine etkisi	23
Şekil 4.3. Nalokson ön-uygulamasının mekanik allodini eşiklerinden hareketle hesaplanan % MPE değerleri üzerine etkisi.....	24
Şekil 4.4. Propranolol ön-uygulamasının mekanik allodini eşiklerinden hareketle hesaplanan % MPE değerleri üzerine etkisi	25
Şekil 4.5. Prazosin ön-uygulamasının mekanik allodini eşiklerinden hareketle hesaplanan % MPE değerleri üzerine etkisi	26
Şekil 4.6. Yohimbin ön-uygulamasının mekanik allodini eşiklerinden hareketle hesaplanan % MPE değerleri üzerine etkisi	27
Şekil 4.7. Rosmarinik asitin yatay (A) ve dikey hareketler (B) üzerinden belirlenen lokomotor aktivite üzerine etkisi	27

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

5-HT	: Serotonin
α	: Alfa
A β	: A beta
A δ	: A delta
ANOVA	: Analysis of Variance-Varyans analizi
β	: Beta
Ca ⁺⁺	: Kalsiyum
δ	: Delta
GABA	: γ -amino bütirik asit
IASP	: International Association for the Study of Pain-Uluslararası Ağrı Çalışmaları Topluluğu
i.p.	: İntraperitoneal
K ⁺	: Potasyum
κ	: Kappa
KKH	: Kronik konstriksiyon sinir hasarı
μ	: Mü
MPE	: Maximum Possible Effect-Maksimum Olası Etki
n	: Number
P	: Probability-Olasılık
S.H.	: Standart Hata
SG	: Substantia gelatinosa
T hücreleri	: Transmisyon hücreleri

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Ağrı, canlıların hayat kalitesinde ciddi şekilde düşüşe sebep olan, psikolojik ve fiziksel olarak sorunlar oluşturan tedaviye muhtaç bir sağlık problemidir (Azevedo vd., 2012). Nöropatik ağrı ise zedelenmelerle karakterize ve genellikle periferik ya da santral sinirlerdeki travma, inflamasyon ya da diğer hastalıklar sonucu meydana gelen bir ağrı tipidir (Wu vd., 2014). Periferik ve santral nöropatik ağrı sendromları birbirinden kesin olarak ayırmamakla birlikte benzer klinik özellik taşırlar. Kapsamlı nörolojik muayenelerde nöropatik ağrılı hastalarda motor, duyu ve otonomik bozukluklar olduğu bildirilmiştir (Hanson, 2002). Ayrıca hastada ağrıya eşlik eden karıncalanma hissi, soğukluk, elektrik çarpması, batma ve yanma gibi hisler oluşur ve hastalar, ağrılı bölgenin uyuşukluğundan çok uyuşuk alanda hissettikleri ve dokunma ile artan elektrik çarpması, sıcaklık artması gibi olağan dışı hislerden rahatsız olduklarını belirtirler (Cutler ve Furukawa 2006). Dünya popülasyonundaki nöropatik ağrı görülmek sıklığı %3.3-17.9 arasında olan büyük bir sosyal ve ekonomik sorundur (Cohen ve Mao, 2014). Nöropatik ağrının kabul görmüş tedavi yöntemlerinde ise ilk basamakta antikonvülsan ve antidepresan ilaçlar yer almaktadır. En çok trisiklik antidepresanlar ve gabapentin ve pregabalin gibi antikonvülsan ilaçlar reçete edilmektedir. (Serpell, 2008). Ancak hasta uyuncu ve yan etki problemleri açısından farklı tedavi yöntemleri günümüzde halen araştırılmaya devam etmektedir. Araştırma yaklaşımlarının bir kısmı nöropatik ağrının oluşum mekanizmasını hedef alarak etkili bir analjezi oluşturma fikrine odaklıdır. Nöropati ile gelişen mekanik allodini ve termal hiperaljezinin, ağrı iletimini inhibe eden medulla spinalisdeki inhibitör yollarda baskılanma ile oluştuğu tespit edilmiştir. Bu ağrıyı baskılayan mekanizmalarda endojen opioidler, serotonin ve noradrenalin gibi monoaminler rol almaktadır (Basbaum ve Fields, 1978; Nickel vd., 2012). Opioidlerin santral ve periferik seviyede sahip olduğu mü (μ), delta (δ), kappa (κ) reseptörleri aracılığıyla ağrılı uyarıların iletilmesini baskıladığı hatta belirli supraspinal bölgelerde ağrının bilişsel sürecine de katkı sağladığı bilinmektedir (Fields, 2004; Pinto vd., 2008). Ayrıca özellikle inisi inhibitör yollarda noradrenalinin ve serotoninin ile ilişki yolların, aktivasyonu ile ağrıyı inhibe etme özellikleri olması yanı sıra ağrı kontrolünde opioidlerjik mekanizmalarla birlikte temel mekanizmaları oluşturmaktadır (Millan, 2002). Noradrenerjik reseptör aktivasyonunda çalışmalar yoğunluklu olarak α_2 -adrenoseptörlerde agonistik etkiye yönelse de α_1 - ve β -adrenoseptör agonizmasının da

ağrı kontrolüne katıldığını gösteren birçok çalışma vardır (Chia vd, 2004). Antidepresanların nöropatik ağrıya karşı antiallodinik etkisini göstermesi için ise $\beta 2$ adrenoseptörlerin uyarılmasının kritik bir role sahip olduğu düşünülmektedir (Yalcin vd., 2009). Santral seviyelerde etkinliği kanıtlanan bu sistemlerin periferik analjezide de etkin bir şekilde yer aldığı görülmektedir. Örneğin $\alpha 2$ adrenoseptörün noradrenalin tarafından uyarımının enkefalin salınımına ve dolaylı olarak $\mu 1$ reseptör aktivasyonuna yol açarak periferik analjezi sağladığı gösterilmiştir (Millan, 2002).

Nöropatik ağrı tedavisinde kullanılma potansiyeli olabilecek ilaçların geliştirilmesi için sıklıkla deneysel hayvan modelleri kullanılmaktadır. İnsandaki nöropatik ağrıyı en yakın taklit eden deney modellerinden bir tanesi ise kronik konstriksiyon sinir hasarı (KKH) modelidir. Bu model ile periferik mononöropati oluşturulabilmekte ve (Jaggi vd., 2011) nöropatinin allodini ve hiperaleji gibi pek çok patofizyolojik yönleri taklit edilebilmektedir (Hajhashemi vd., 2014)

Yapılan ilaç geliştirme çalışmalarının daha çok etken maddenin sahip olduğu mekanizmaya odaklı olması ile birlikte son yıllarda çoğu alanda olduğu gibi nöropatik ağrı tedavisinde de araştırmaların doğaya yöneldiği görmekteyiz. Doğada yer alan tıbbi bitkilerden saflaştırılarak elde edilen fitokimyasalların farmakolojik etkinliklere sahip olduğu hatta bazılarının tedavide yer aldığı açıkça görülmektedir. Farmakolojik etkinliği çeşitli çalışmalarla gösterilen ve ilaç olma potansiyeli taşıyan fitokimyasallardan rosmarinik asid, kafeik asid ve 3,4-dihidroksifenil laktik asidin esteri olan doğal bir fenolik bileşiktir. Antiviral, antibakteriyel, antikanser, antioksidan, anti-aging, antidiyabetik, kardiyoprotektif etkiler gibi birçok biyolojik etkiye sahiptir (Nadeem vd., 2019). Rosmarinik asitin nöropatik ağrıda gösterdiği analjezik etkisi ise nispeten son yıllarda dikkat çekmeye başlamıştır. Yapılan sınırlı sayıda çalışmada; KKH modeli ile indüklenen nöropatik hayvanlarda 40 mg/kg intraperitoneal (*i.p.*) rosmarinik asitin dozda ağrıya rol oynayan inflamatuvar mediyatör seviyelerini düşürdüğü (Rahbardar vd., 2017), 10, 20, 40 mg/kg *i.p.* dozlarda KKH modeli'nde (El Gabbas vd., 2019; Rahbardar vd., 2018), 10-30 mg/kg, oral (Hasanein ve Mohammad Zaheri, 2014) ve 5, 10, 20 mg/kg, *i.p.*, (Raafat vd., 2016) dozlarda diyabetik nöropati modelinde anti-allodinik ve antihiperalezik etki gösterdiği bildirilmiştir. Çalışmalar henüz yetersiz sayıda olmakla birlikte görülmektedir ki yapılan çalışmalarda rosmarinik asitin nöropatik ağrı üzerine

olan etkisiyle ilişkilendirilmiş mekanizma sadece inflamatuvar mediyatör seviyelerinin değişmesidir.

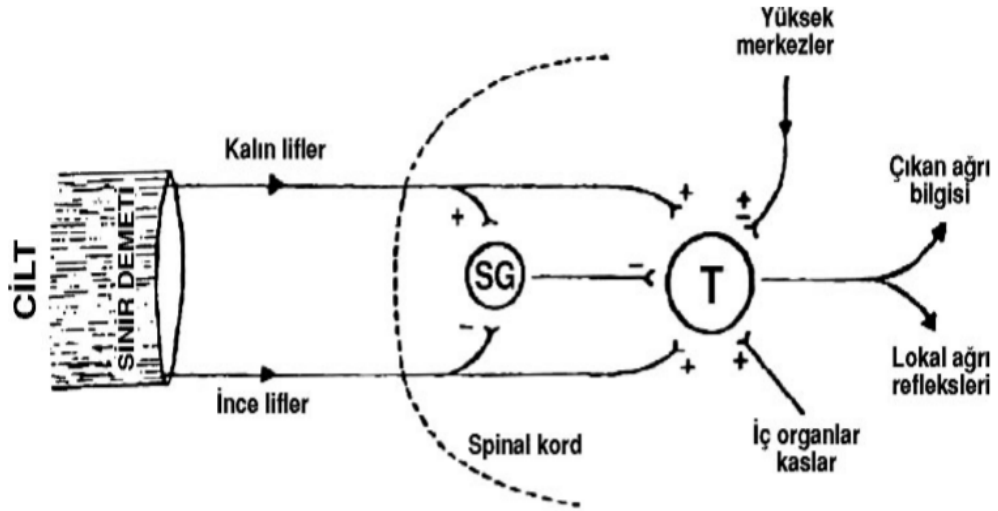
Bu bilgilerden hareketle tez çalışmamızda rosmarinik asitin nöropatik ağrı üzerine etkisi ve olası mekanizmaların tespitinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu çalışmada sıçanlara intraperitoneal (*i.p.*) olarak 10, 20, 40 mg/kg (*i.p.*), dozlarda rosmarinik asitin KKH ile oluşturulmuş nöropatik ağrı modelinde, dinamik plantar test ile göstermesi olası olan antiallodinik etkinliğinin 30 mg/kg pregabalin uygulması ile karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi ve antiallodinik etkinlikte adrenerjik ve opioidergik mekanizmaların olası rollerinin araştırılması amaçlanmıştır.



2. KAYNAK BİLGİSİ

2.1. Ağrı

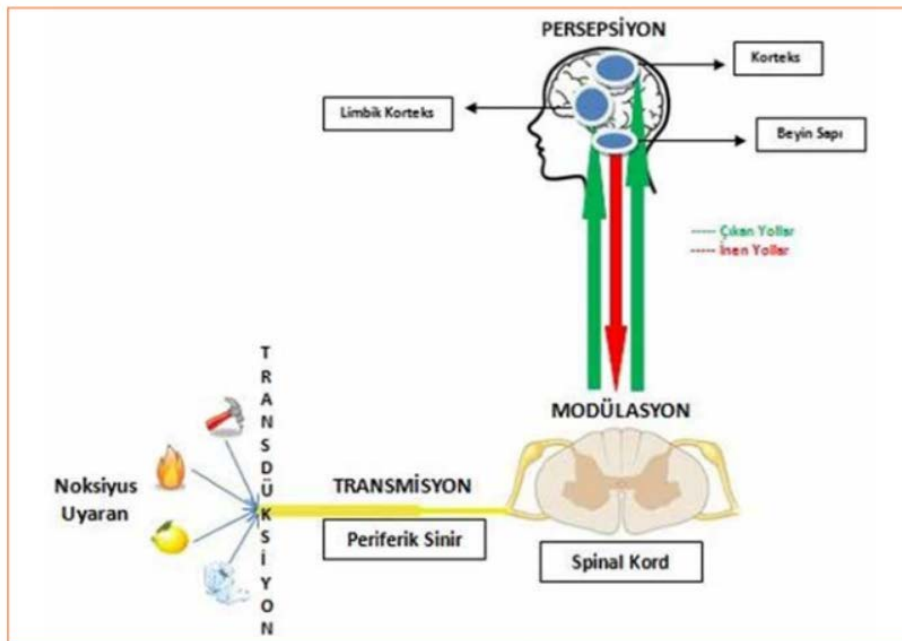
Uluslararası Ağrı Araştırmaları Derneği (International Association for the Study of Pain=IASP) ağrıyı, vücutta herhangi bir nedenle oluşan, duyarlı, duygusal, hoş olmayan bir duygu olarak tarif etmiştir (Aydın, 2002). Ağrı oluşum mekanizması tam çözülememekle birlikte günümüzdeki kabul görmüş teori Melzack ve Wall'un *kapı kontrol teorisidir*. Ağrının substantia gelatinosa (SG), dorsal kolon lifleri ve bilgiyi omurilikten beyne taşıyan iletim/transmisyon hücreleri (T hücreleri) arasındaki etkileşim sayesinde anlaşılacağı düşünülmüştür. Bu teoriye göre uyarılar beyne iletilmeden önce kapılarda karşılanır ve ona göre iletilip iletilmeyeceğine karar verilir (Melzack ve Wall, 1965). Kapılar; A beta ($A\beta$) ve A delta ($A\delta$) ile C lifleri rölatif aktivitesince kontrol edilmektedir. Kalın lifler ($A\beta$) SG hücrelerini uyararak iletimi inhibe ederek kapıyı kapatmakta, ince lifler ($A\delta$ ve C) ise SG hücrelerini inhibe ederek iletimi kolaylaştırmakta yani kapıyı açmaktadır. T hücreleri ağrı hakkında bilginin iletilmesinde çok kritik bir görevi vardırı beta lifleri dokunma ve ısı hislerini hem SG hem de T hücrelerine iletir. Aynı anda uyarılan hücrelerden SG hücreleri T hücrelerini baskılar böylece T hücrelerinin uyarıyı doğrudan iletmesi kısa sürer. C lifleri ise ağrı uyarısını iletirken SG hücrelerini inhibe ederken, T hücrelerini uyarır. Böyle uyarı daha uzun sürüp, şiddetli olur. Ağrının periferik sinir stimülasyonu ile kontrol yöntemi bu teorinin direkt sonucu olup, amaç ağrının yukarı iletilmesini önleyici kalın lifler boyunca uyarıları arttırmaktır. Kalın liflerce iletilen uyarıların bir kısmı da dorsal kolon içinde ilerleyerek spinotalamik yolla talamusa ulaşır. Bu yol ağrının niteliği, yeri ve uyarının şiddeti hakkında kesin bilgi oluşturur ve kısa sürede uyum sağlar (Kantor, 1980).



Şekil 2.1. Kapı kontrol teorisine göre ağrılı uyarıların iletimi (SG: Substantia Gelatinosa T: Transmisyon hücresi)

2.1.1. Ağrının fizyolojisi

Ağrının fizyolojik süreci nosiseptörlerin aktivasyonu veya darbe almış dokunun mediyatör salgılaması ile medulla spinalise afferent transmisyon ve dorsal boynuz üzerinden yüksek merkezlere iletimi ile gerçekleşir (Ertekin, 1993).



Şekil 2.2. Ağrı oluşum ve iletim aşamaları

Ağrı oluşum aşamalarını inceleyecek olursak: İlk olarak serbest sinir uçlarının (nosiseptör) uyarılması ile elektriksel aktivite oluşur ve buna transdüksiyon denir. Uyarılar önce reseptörde bir reseptör potansiyeli (jeneratör potansiyeli) oluşturur. Reseptör potansiyelinin yeterli büyüklüğe (eşik) ulaşması ile ilk aksiyon potansiyel meydana gelir. Daha sonra sinir sistemi boyunca impuls yayılır ki buna transmisyon denilir. Transmisyon, talamokortikal projeksiyon ile sonlanır. Akson boyunca “hep veya hiç yasası” göre aksiyon potansiyeli sinaptik uca kadar ulaştırılır (Johnson, 2002). Nosiseptörlerce algılanan uyarının spinal korddan yukarı iletilmesi için modifiye edilmesine ise modülasyon denilir. Modüle edilen uyarı üst merkeze iletilmesi ve kişinin daha önceki deneyimleri ile uyarıyı tanımlaması neden oluştuğunu hafızasına alması ve tepki oluşturmasını persepsiyon denilir. Böylece ağrı 4 aşamada gerçekleşmiş olur (Aydın, 2002).

Ağrı iletiminde kritik role sahipsinir lifleri ise C lifleri ve Aδ lifleridir. Afferent iletimden sorumlu olan bu lifler nosiseptörler ile korteks arasındaki iletişimde rol alan taşıyıcı liflerdir. C-lifleri, sert fizikler uyarılar, kimyasal, aşırı sıcak ve soğuk uyarılardan etkilenecek gecikmiş, yanıcı ve inatçı tipteki ağrı iletimini sağlarken, Aδ lifleri ise kısa süreli mekanik uyarılar ve ısıdan sorumludur (Velioğlu, 2017). Miyelinli Aδ liflerinden hızlı ve keskin ağrı birincil ağrı saniyede 30 m. ilerleme hızla ile miyelinsiz C liflerinden ise yavaş kronik ağrı yani ikincil ağrı saniyede 0.5-2 m. ilerleme hızı ile taşınmaktadır (Savrun, 2017).

Ağrı periferden kortekse kadar 3 ana nöron grubu ile iletilir. İlk olarak primer duyuşal nöronlar (1. nöron) nosiseptif ve nosiseptif olmayan bilgiyi periferden medulla spinalise taşırlar. İkinci nöron grubu ise spinal nöronudur. Yani ağrı iletiminde ikinci durak spinal korddur. Spinal nöron spinal kordun dorsal boynuzunda yerleşiktir. Bu nöronların akson uzantıları spinotalamik traktusu oluşturmaktadır. Spinotalamik traktusun lateral kolunun ağrının uyarı lokalizasyonunu, yoğunluğu ve kalitesi ile ilişkili diskriminitif yönünü taşımada; medial kolunun ise ağırlı deneyimin hoş olmayan yönü ile ilişkili affektif yönü olabileceği düşünülmektedir. Santral uçları medulla spinalis arka boynuzunda spinal nöronlarla sinaps yapar. Üçüncü nöron ise talamokortikal projeksiyon grubudur. Üçüncü sıra nöronlar talamusta yer alır (Heavner, 2000).

2.1.2. Ağrının sınıflandırılması

Başlama süresi, kaynaklandığı yer ve mekanizması olmak üzere 3 ana başlıkta ağrı incelenebilir.

Başlama süresi; akut ve kronik ağrıda oluşum hızı ve süreleri farklıdır. Akut ağrı, darbe, iltihap oluşması, doku hipoksisi gibi sebeplerle oluşur. Kronik ağrı ise insanların hayat kalitesini düşüren günlük hayatını ve psikolojik durumunu olumsuz etkilemeye başlayan ciddi rahatsız edici bir durumdur (Aydın, 2002).

Kaynaklanan bölgeye göre; somatik, visceral, sempatik ve periferik olarak 4 alt başlığı bulunmaktadır (Aydın, 2002). Ağrı oluşan bölgede birden çok sistemin incelenmesi gerekmektedir. Örneğin; visceral bölge otonomik sinir sistemi ile birçok değişimi ardından getirebilmektedir bu tür sebeplerden dolayı ağrı bölgesi çok önemlidir.

Mekanizmalarına göre; tez konumuz olan nöropatik ağrı bu başlık altındadır. Bir diğer ağrı tipi ise nosiseptif ağrıdır. Nöropatik ağrı metabolik bir rahatsızlıkla ortaya çıkan veya sinir hasarı ile oluşan bu yüzden ağrı algılayıcılarının doğrudan etkilenmesi ile oluşur. Bir diğer tip olan nosiseptif ağrı ise, nosiseptörlerin etkilenmesi ile oluşup tedavisi olan bir ağrı tipidir. Nöropatik ağrı mekanizmasının en belirgin farklılığı nosiseptif uyarı veren bir uyarıcı yoktur. Duysal bozukluğun yer aldığı bölgede algılanır. Ayrıca talamik ağrı sendromu gibi somatosensoriyel uyarıların santral sinir sistemi ile ilişkinin kesintiye uğradığı durumlardan söz edilen diğer bir ağrı çeşiti deafferantasyon veya reaktif ve psikosomatik ağrı mekanizmaları da farklı farklı ağrı çeşitleri sınıflandırılmasında ayrı bir kategori ile incelenmektedir (Aydın, 2002).

2.2. Nöropatik Ağrı

Nöropatik ağrı, periferik veya merkezi sinir sisteminde oluşan herhangi bir hasar veya gelişen işlevsel bozukluklar sonucu meydana gelir (Yağcı, 2019). Nöropatik ağrısı olan hastalarda klinik takipte sıklıkla yanma, elektrik çarpması, soğukluk ve karıncalanma şikayetleri gözlenmektedir. Nöropatik ağrı kişi hayatını olumsuz eden daimî bir ağrı olabilir veya bazen ortaya çıkan ataklar şeklinde olabilir. Nöropatik ağrının çok çeşitli sebepleri vardır çoğunlukla karşılaşılan nöropatik ağrı kaynakları diabetes mellitus, nörodejeneratif, vasküler veya otoimmün durumlar, tümör, travma, enfeksiyon, toksinlere maruziyet veya herediter hastalıklarla birlikte idiyopatik nöropatiler gibi henüz etiyolojisi anlaşılmamış nörolojik durumlar olabilir (Scholz vd., 2019).

2.2.1. Nöropatik ağrının epidemiyolojisi

Dünya genelinde yıllık %21 civarında insanın kronik ağrılardan şikayetçi olduğu ve %10 civarında kişiye kronik ağrı teşhisi konulduğu tespit edilmiştir (Treede, 2006). Türkiye’de yapılan araştırmalarda erişkinlerin ağrı prevalansının %63.7 olduğunu ve bu ağrıların %76.6’sının kronik ağrı olduğu tespit edilmiştir (Erdine, vd. 2001). Ülkemizde klinik çalışmalar incelendiğinde 2009 yılında nöropatik ağrı sıklığı %5’lerde iken 2014 yılında %30’a kadar çıktığı tespit edilmiştir (Finnerup vd., 2016). Özellikle 75 yaş üstünün %56 ile %75 arası bir oranda ciddi ağrı şikayetleri bulunmaktadır. Yaşlılarda diyabetik nöropati, santral ağrı ve postherpetik nevralji ise klinik muayenelerde en sık rastlanılan ağrı tipidir (Erdemoğlu, 2010). Nöropatik ağrı gün geçtikçe çok daha fazla kişide karşılaşılan ciddi bir klinik tablodur. Özellikle insan yaşam süresinin uzamasıyla daha sık rastlanmaktadır. İlaç tedavisi ile tam olarak ortadan kaldırılamayan fakat yaşaması için kimyasal dengesi sağlanan diabetes mellitus hastalarında ve kemoterapi ile hayatta kalıp bağışıklığı zayıflayan kanser hastalarında nöropatik ağrı şikayeti çok daha fazladır (Colloca vd., 2017). Diabetes mellitus hastalarının %11-24 nöropatik ağrı yaşamaktadır (Smith, 2010). Onkoloji hastalarında ise nöropatik ağrı gelişme sıklığı %19-39.1 arasında görülmektedir (Bennett vd., 2012).

2.2.2. Nöropatik ağrının klinik belirtileri ve risk faktörleri

Nöropatik ağrı tanı ve tedavi kılavuzunda klinik olarak nöropatik ağrı teşhisi konulabilmesi için değerlendirilmesi gerek 4 temel kriterden en az ikisi varsa nöropatik ağrı şüphesi ile bakılırken her biri mevcutsa kesin nöropatik ağrı teşhisi konulabilmektedir. Bu kriterlerin ilki kesin nöroanatomik dağılımı bulunan ağrı, ikincisi periferik veya santral somatosensoriyel sistemi etkileyen hastalık veya lezyonun ağrı ile birlikte olması veya en azından geçici bir süre beraber seyredildiğini bildiren anamnez, üçüncüsü kesin nöroanatomik dağılımı bir teyit edici testle gösterilmesi, sonuncusu ise nöropatik ağrı yapabilecek bir hastalığa sahip olmasıdır (Ersin, 2009). Nöropatik ağrı uyarı ile gelişebildiği gibi kendiliğinden başlayıp uyarı olmaksızın parestezi şeklinde başlayıp disestezi (uyuşukluk, kaşınma ve karıncalanma gibi hoş olmayan anormal hisler) şeklinde devam edebilmektedir yani yakıcı, keskin, karıncalanma hissi ve zonklayıcı ağrı olarak görülmektedir (Woolf ve Mannion, 1999). Uyarılma ile oluşan nöropatik ağrı ise genellikle fiziksel, ısıyla veya kimyasal olabilen ağrılı uyarana verilen artmış cevap

(hiperaljezi) veya normalde ağrısız olan uyarıya verilen ağrı cevabı (allodini) ile beraber görülmektedir (Merskey vd., 2002).

Araştırmalarda nöropatik ağrı ile ilişkili risk faktörleri yaşlanma, kadın hastalar, sosyoekonomik durumun zayıf olması ve şehirden uzak imkân eksikliğidir (Smith, 2012).

2.2.3. Nöropatik ağrının patofizyolojisi

Fizyopatolojik mekanizmaları periferik mekanizmalar ve santral mekanizmalar olarak iki ayrı gruba ayrılır. Primer afferent nöronlarda meydana gelen değişiklikler periferik mekanizmalarla, dorsal boynuzda, omurilikte oluşan patolojilerle gelişen nöropatik ağrı ise santral mekanizmalarla açıklanır (Berker, 2005).

2.2.3.1. Nöropatik ağrının periferik mekanizmaları

Periferde, oluşan sinir zedelenmesi ile antidromik aksiyon potansiyeli iletimi, hasarlı ve çevresindeki sinir uçlarını duyarlı hale getiren inflamatuvar mediyatörlerin salınımına sebep olur. Bu sebeple primer afferent nosiseptör aktive eşiği düşer, hassasiyet ve spontan deşarjlar artar. Bu olaya “sensitizasyon” denir. Primer hiperaljezinin sebebinin periferik sensitizasyonun olduğu düşünülmektedir (Serpell, 2008). Böylece patolojik spontan aktivite meydana gelir ve bu duruma ektopik deşarj denir (Baron, 2006). Bu patolojik aktivite, yüksek eşikli A δ ve C liflerinin yanı sıra düşük eşikli A β liflerinde de meydana gelir. Dolayısıyla ağrı oluşumunda hem A δ ve C lifleri hemde A β lifleri rol oynar (Schaible, 2006). Periferik sinir hasarı ile gelişen süreçte A δ ve C liflerin salgıladığı P maddesi, nörotransmitterlerin ekspresyonlarında down-regülasyonlar oluşturur (Vranken, 2013). Aynı anda A β lifleri de bu nöropeptidleri eksprese etmeye başlar. Buna ‘fenotipik değişim’ denir (Serpell, 2008). Bu süreçten sonra düşük eşikli A β liflerin aktivasyonu da bu nörotransmitterlerin salıverilmesine ve santral hipereksitabiliteye yol açabilir (Vranken, 2013).

2.2.3.2. Nöropatik ağrının santral mekanizmaları

Nöropatik ağrı oluşumunda santral sinyalleri ileten nöronlarda oluşan anormal cevaba santral sensitizasyon denir (Merskey vd., 2002). Santral sensitizasyon normalde uyarının bitmesiyle kısa sürede kaybolur ve adaptif bir olaydır, çok fazla anormal somatoduyusal uyarıların uzun süre devam etmesi ve santral sinir sistemindeki eksitator sinaptik transmisyonun devamlı çoğalması ile nöroplastik değişimlere yol açabildiği için bir sinaptik plastisite formu olarak da kabul edilmekte ve kronik ağrı ile

sonuçlanabilmektedir (Kwon vd., 2014; Sandkühler vd., 2000). Santral sensitizasyona aracılık eden çeşitli mekanizmalar bildirilmiştir.

Reorganizasyon birçok deneyle kanıtlanmış önemli bir nöropatik ağrı mekanizmasıdır (Wrigley vd., 2009). Sinir zedelenmeleri ve kronikleşmiş ağrılarda, kronik nosiseptif girdiye verilen santral bir maladaptif yanıt olarak ortaya çıkmaktadır (Sandkühler vd., 2000). Normal de lamina III ve IV'te sonlanan A β liflerin lamina II de oluşması ile, ağrısız olan düşük eşikli A β mekanoreseptörlerinden gelen iletilerin nosiseptif olarak algılanmasıdır (Finnerup vd., 2007).

Mekanizmalardan bir diğeri inhibitör nitelikli olanlardır. İnhibitör fonksiyonun zayıflaması, yalnızca inhibisyonun azalması ve dengeyi eksitasyon lehine döndürmesiyle nöropatik ağrı patofizyolojisinde önemli bir yer tutmaktadır (Janssen vd., 2011). Dikkat çekici nokta ise disinhibisyon mekanizmasının kronik nosiseptif ağrıda değil de, kronik nöropatik ağrıda görülmesidir (Schwenkreis vd., 2010). γ -amino bütirik asit (GABA) ve opioid reseptörleri gibi inhibitör reseptörlerin down-regülasyonu, inhibitör post-sinaptik akımda önemli bir azalmaya sebep olarak mekanik ve termal hiperaljeziye neden olabilir (Mindruta vd., 2012). Bununla birlikte noradrenalin, serotonin ve dopamin gibi monoaminlere bağlı inisiyasyon yollarından inhibisyonun kaybı da duyarlılığın artmasına neden olabilir (Finnerup vd., 2007).

Wind-up fenomeni ise periferik bir sinirin C-liflerini aktive edecek düzeyde daimi devam eden bir impulsun etkisi ile dorsal boynuz hücrelerinde gelişen tepkini progresif yükselmesidir (Mendell ve Wall, 1965). Ancak santral sensitizasyondan, wind-up fenomeninin farkı aynı uyarının her zaman aynı yanıtı vermeyeceğini açıkça göstermesidir. Bu sebeple omurilikte duyuşal süreçlerin aydınlatılmasında bir dönüm noktasıdır (Woolf, 1996).

Ayrıca “uzun dönem potansiyasyon” ve “uzun dönem depresyon” olaylarının ağrı algısındaki etkileri keşfedilmeye başlanmıştır ve hafıza ve bellekle bağlantılı olarak ortaya çıktığı görülmüştür (Klein vd., 2004). Dorsal boynuzda uzun dönem potansiyasyon ve depresyonun oluşmasında glutamat ve bazı diğeri nörotransmitterlerin reseptörlerini içeren mekanizmalar ve hücre içi sinyal kaskadları yer almaktadır (Campbell ve Meyer, 2006; Collingridge vd., 2010). Bu iki olay santral sensitizasyona yol açan ve uzun dönemde görülen iki fenomen olarak kabul görmektedir.

2.2.4. Sinaptik kontrol

Ağrı oluşumunda bir çok nörotransmitter veya nöromodülatör görev alır ve antinosisepitif veya pronosisepitif cevaplar oluşturur (Argoff, 2011). Nosisepitif ileti, üst kortikal merkezlere ulaştığında ağrıyı azaltma amacıyla inhibitör nöronları harekete geçirerek ağrı kontrolü sağlayacak bir çok sinaptik olayı beraberinde harekete geçirmektedir (Cohen ve Mao, 2014). Ağrı oluşum ve kontrolünde glutamat, GABA, glisin, endoopioidler, asetilkolin, dopamin, serotonin, noradrenalin ve endokannabinoidler gibi birçok nörokimyasal ve bu nörokimyasalların farklı reseptör tiplerinin aktivasyonu veya inhibisyonu görev alırken bu sistemlerden yalnızca tez konusu kapsamında değerlendirilen noradrenerik ve opioiderjik sistemle ilişkili bilgiler detaylandırılmıştır.

Nöropatik ağrıya neden olan mekanik allodini ve termal hiperaljezi gelişiminin, medulla spinalisde ağrı iletimini baskı altında tutan inhibitör mekanizmalarda zayıflama ile ilişkili olduğu bildirilmektedir. Bu ağrıyı baskılayan mekanizmalar endojen opioidler serotonin ve noradrenalin gibi monoaminleri içermektedir (Basbaum ve Fields, 1978; Nickel vd., 2012). Omurilikte çıkıcı yollar ile beyin sapına iletilen ağrı uyarıları opioiderjik, serotonerjik ve noradrenerjik yolları kullanarak dorsal boynuzda ulaşan inisiyatif inhibitör mesajların oluşumuna sebep olur (Pertovaara, 2006).

2.2.4.1. Opioiderjik sistemin rolü

Opioid peptidlerin endojen ağrı modülasyonunda etki ettiği çok iyi bilinmektedir (Büyükokuroglu, 2005). Opioidler, omurilik dorsal boynuzdan çıkıcı nosisepitif iletimi direkt olarak inhibe ederek ve orta beyinden inen ağrı kontrol yollarını aktive ederek analjezik etki göstermektedir (McNally ve Akil, 2002). Opioidler, enkefalinler, endorfinler, endomorfinler, dinorfinler ve nosisepitin/orfanin grubu peptidler gibi sentezlendikleri öncül peptidin türüne göre ayrılırlar (Kayaalp ve Uzbay, 2012). Yapılan çalışmalarda bu endojen opioid peptidlerin spinal veya supraspinal seviyelerde analjezik etki gösterdikleri tespit edilmiştir (Chen vd., 2016). Hem endojen hem ekzojen opioid peptidleri, analjezik etkilerini özelleşmiş reseptörler ile etkileşerek gösterir (Cabioglu, 2001). Bu reseptörler santral sinir sistemi, omurilik ve dorsal kök gangliyonunun nöronların yanı sıra bazal ganglion, limbik yapılar, talamik nükleus, ventral tegmental bölge, rafe nükleusu gibi subkortikal yapılarda ve kortekste, santral sinir sistemi dışında ise viseral ve vasküler düz kaslarda, kas-iskelet sistemi yapılarında, sempatik ve duyuşal

periferik sinirlerin terminallerinde bulunur (Holdridge, 2009). Opioid reseptörler farmakolojik etkilerine göre sınıflandırılır (Tao ve Auerbach, 2002). μ reseptörü morfine yüksek affinite gösterir. δ reseptörler ise enkefalinlere yüksek affinite göstermektedir. μ reseptör için endojen ligandlar endomorfinler ve daha düşük affiniteli β -endorfinler, enkefalinler ve dinorfinlerdir. δ reseptörler, kappa reseptörlerle birlikte spinal düzeydeki analjezik etkinlikte görev alır (Koneru vd., 2009). Opioid reseptörler, omurilik dorsal boynuzdaki primer afferent nöronlarda presinaptik olarak lokalizedir. Aktive oldukları zaman voltaj-kapılı Ca^{++} kanallarını inhibe edip glutamat salıverilmesini azaltarak A δ ve C liflerden gelen nosiseptif uyarının iletimini inhibe eder (Bennett, 2010). Opioid reseptörlerin post-sinaptik aktivasyonu ile içeri doğrultucu K^+ kanallarının açılması tetiklenerek post-sinaptik membranda hiperpolarizasyon oluşur. Asıl inhibitör nörotransmitter olan GABA'nın, periakvaduktal gri alandan omuriliğe inen antinosiseptif akışı düşürdüğü veya engelleyebildiği, aktive olmuş opioid reseptörlerin de periakvaduktal gri alanda GABA salınmasıyla oluşan etkinliği azalttığı böylece opioid reseptörlerin GABA'yı engelleyerek inisiyatif inhibitör kontrolü arttırdığı bilinmektedir (Bennett, 2010). Neticede, opioidlerin santral ve periferik seviyede sahip olduğu μ , δ , κ reseptörleri aracılığıyla ağrılı uyaranların iletilmesini baskıladığı hatta belirli supraspinal bölgelerde ağrının bilişsel sürecine de katkı sağladığı iyi bilinmektedir (Fields, 2004; Pinto vd., 2008). Ayrıca özellikle inisiyatif inhibitör yollarında noradrenalin ve serotoninin, α -adrenoseptörler ve 5-HT reseptörlerin aktivasyonunu içeren ağrıyı inhibe etme özellikleri de iyi bilinmekle birlikte ağrı kontrolünde opioidderjik mekanizmalarla birlikte temel mekanizmaları oluşturmaktadır (Millan, 2002).

2.2.4.2. Noradrenerjik sistemin rolü

Noradrenaline spesifik olan adrenoseptörlerden α_1 - ve β - reseptörler daha çok fasilitatör etkinlik gösterirken, α_2 -adrenoseptörler ise inhibitör nitelikte etkinlik göstermektedir (Seibt ve Schlichter, 2015). α_2 - adrenoseptörler; G_i aracılı veya Na^+/H^+ antiport, Ca^{++} veya K^+ kanalları gibi iyon kanallarının aktivitesini direkt olarak modifiye ederek intraselüler adenilsiklaz etkisini düşürür (Pertovaara, 2006). Noradrenalin spinal α_2 -adrenoseptörler sayesinde canlılarda kuvvetli antinosiseptif etki gösterir (Ossipov, vd. 2010). İnhibitör internöronlar α_2 -adrenoseptör sayesinde aktif olarak post-sinaptik inhibisyon ile ağrıyı baskılar (Nakamura, 2014). α_2 -adrenoseptör agonistleri, kemirgen ve insanlarda, sinir hasarı ile oluşan ağrıda da çok güçlü bir analjezik etkiye sahiptir (Shu vd., 2010). Ayrıca α_2 -adrenerjik agonistlerin ve opioid agonistler ile sinerjistik etki

gösterdiği rapor edilmektedir (Stone, 1997). Yapılan deneylerde, α_2 -adrenoseptör agonisti olan klonidinin sadece iyi analjezi göstermediği, aynı anda opioidlerin analjezik etkisini potansiyelize ettiği görülmüştür (Goyagi, 1999). α_2 -adrenoseptörün noradrenalin tarafından uyarımı enkefalin salınımına ve dolaylı olarak μ_1 reseptör aktivasyonuna yol açarak periferik analjezi sağlamaktadır (Millan, 2002). Noradrenerjik reseptör aktivasyonunda çalışmalar yoğunluklu olarak α_2 -adrenoseptörlerde agonistik etkiye yönelse de α_1 - ve β -adrenoseptör agonizmasının da ağrı kontrolüne katıldığını gösteren birçok çalışma vardır (Millan, 2002; Chia vd., 2004). Yapılan bir çalışmada, noradrenalinin omurilik dorsal boynuzda GABAerjik ve glisinerjik inhibitör sinaptik iletimi fasilite ettiğini, eksitator glutamaterjik iletimi fasilite etmediğini göstermiştir. Bunu da α_2 - ve β - reseptörlerinin yanı sıra α_1 -adrenoseptörleri aracılığıyla, depolarizasyonu tetikleyerek ve ardından sinaptik terminalleri uyarıp GABA ve glisin salıverilmesine neden olacak aksiyon potansiyelleri tetikleyerek yaptığı gösterilmiştir (Seibt ve Schlichter, 2015). Ayrıca, β_2 -adrenoseptörlerin uyarılması, antidepresanların nöropatik ağrıya karşı antiallodinik etkisini göstermesi için gerekli ve esastır (Yalcin vd., 2009).

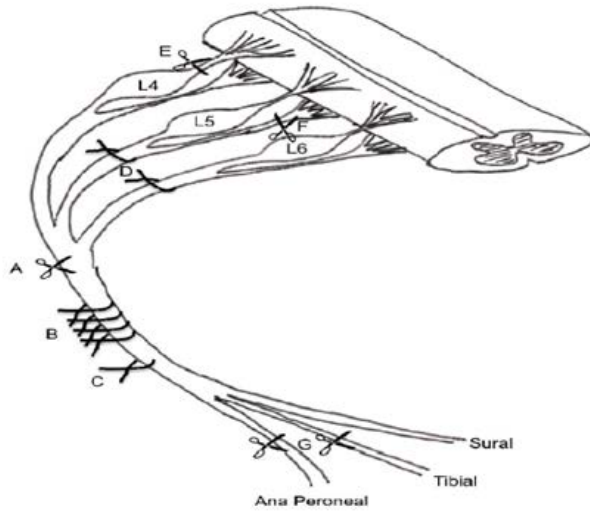
2.2.5. Nöropatik ağrının deneysel modelleri

Deneysel nöropatiyi hayvanlarda modellemek için sıklıkla kemirgenlerin kullanıldığı görülmektedir. Söz konusu modeller santral uygulamalar ile oluşturulan modeller, sistemik uygulamalar ile oluşturulan modeller, total denervasyon modelleri, parsiyel denervasyon modelleri şeklinde dört ana başlık halinde sınıflandırılabilir (Ulugöl, 2009).

Parsiyel denervasyon modellerinin en çok tercih edilen deneysel nöropati modeli olduğu söylenebilir. Sıklıkla kullanılan modeller arasında tez çalışmasında kullanılan KKH, spinal sinir ligasyonu, parsiyel sıkı ligasyon, sistemik streptozosin maddesi uygulaması ile indüklenen diyabetik nöropatiye bağlı nöropatik ağrı modeli yer almaktadır (Kim, 1992).

2.2.5.1. Kronik konstriksiyon zedelenmesi (Bennett modeli)

Parsiyel siyatik sinirde hasar oluşturulan bu model oluşturulan ilk modeldir (Bennett ve Xie, 1988). Siyatik sinire 4/0 - 5/0 katgüt ile proksimal ve unilateral olarak hemen hemen 1 mm. aralıklarla dört tane ayrı ayrı gevşek düğümlerin atıldığı model nöropatik ağrı oluşumuna neden olur.



Şekil 2.3. Sık kullanılan bazı siyatik sinir nöropati modelleri A. Aksotomi, B. Kronik Konstriksiyon Zedelenmesi, C. Parsiyel sıkı ligasyon, D. Spinal sinir ligasyonu, E. Dorsal rizotomi, F. Ventral rizotomi, G. Yedeklenmiş periferik dal zedelenmesi

Model oluşturulan hayvanlarda atılan düğümlerin sıklığı epinöral vaskülarizasyonu engelleyecek şekilde sıkı olmamalıdır. Atılan gevşek düğümler sinirde irritasyona ve inflamasyon oluşumuna yol açar hatta bu nedenle model inflamatuvar ağrı modeli olarak da kullanılabilir. Yapılan ligasyon işlemi hayvanın ipsilateral pençesinde işlemiden 2-5 gün geçtikten sonra allodini ve hiperaljezi gelişimine bağlı ağrıya yol açar. Oluşan ağrının ve 2-4 aya kadar sürdüğü belirlenmiştir (Attal vd., 1990).

2.2.6. Nöropatik ağrının tedavisi

Nöropatik ağrının tedavisinde günümüzde etkili olan ilaçlar Ca^{++} kanal ligandları ve antikonvülsan olan gabapentin ve pregabalin, serotonin ve noradrenalin geri-alım inhibitörü antidepresanlar (duloksetin, venlafaksin) ve trisiklik antidepresanlar (amitriptilin, nortriptilin, imipramin, desipramin) ile topikal lidokain'dir (Vranken, 2012; Scholz vd., 2019). Bu ilaçları opioid analjezikler, tapentadol ve tramadol, diğer antidepresanlar ve antikonvülzanlar, topikal kapsaisin, meksiletin ve N-metil-D-aspartat reseptör antagonistleri takip etmektedir (Gilron vd., 2006; O'Connor ve Dworkin, 2009).

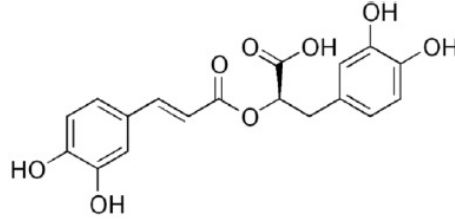
Nöropatik ağrı ile baş etmede antikonvülsanların yanı sıra trisiklik antidepresanlar da kullanılmaktadır. Bu ilaçlar, özellikle serotonin ve/veya noradrenalin geri alımını inhibe ederler. Ayrıca sodyum kanal inhibisyonu aracılığıyla ağrının giderilmesini

sağlarlar. Gerek spontan ağrı ve gerekse hiperaljezi trisiklik antidepresanlara çok iyi cevap verirler. Özellikle diyabetik nöropati ve başka olarak postherpetik nevraljide günde 75-150 mg dozda etkilidirler. Fakat sedasyon, ortostatik hipotansiyon, idrar retansiyonu ve kardiyak iletide bozukluk gibi yan etkiler kullanımlarını kısıtlanmaktadır (Sindrup, 1999). Selektif serotonin geri alım inhibitörlerinin nöropatik ağrıdaki etkinlikleri ise trisiklik antidepresanlardan daha azdır. Serotonin ve noradrenalin geri-alım inhibitörü olan antidepresanlarında yine daha az yan etki profili ile kanser veya diyabete bağlı gelişen nöropatik ağrıda etkili oldukları bildirilmektedir (Sindrup, 1990). Söz konusu antidepresanlar özetle, santral sinir sisteminden köken alıp omuriliğe inen inisiyasyon yolaklarında yer alan monoamin özellikli nörotransmitterlerin geri alınımını inhibe ederek etki gösterirler. Monoamin geri-alım blokajı ile monoaminlerin ağrı iletimindeki inhibisyon nitelikli etkinlikleri artmış olur. Bu mekanizmaların yanı sıra voltaja bağlı sodyum kanallarını ve α -adrenerjik reseptörler inhibisyonu yapmaları da etkinliklerine aracılık eder (Tan, 2006).

Antikonvülsan ilaçlarda nöropatik ağrı tedavisinde etkin bir rol oynamakta ve nöropatik ağrı tedavisinde son 60 yıldır kullanılmaktadır. Karbamazepin gibi çeşitli antikonvülsanlar trigeminal veya postherpetik nevralji, diyabetik nöropati gibi ağrılı rahatsızlıklarda etkindir. Antikonvülsanlar voltaja duyarlı sodyum kanallarını bloke ederek membranda depolarizasyon stabilizasyonu yapar ve böylelikle anormal nöronal aşırı duyarlılığı baskılayarak tedavi sağlar. Karbamazepin etkinliğine rağmen yan etkisi fazla olduğu için artık diğer ağrılı nöropatilerde tercih edilmemektedir. Oksarbazepin ise daha iyi tolere edilen bir antikonvülsandır ve çoğu nöropatide yetersiz olamkala birlikte etkinliği gösterilmiştir. Yalnızca trigeminal nevraljideki etkisi karbamazepinle eşdeğer bulunmuştur. Benzer şekilde gabapentin ve pregabalin, nöropatik ağrıda oldukça etkin olan ve etkinliği ispatlanmış iki antikonvülsan ilaçtır. Kalsiyum kanallarının α_2 - δ alt ünitesine bağlanmasıyla ilişkili olarak etki gösterdikleri düşünülmektedir. P maddesi ve glutamat transmisyonunun olası baskılanması daha az önem taşıyan mekanizmalardır. Gabapentinin GABA-erjik nörotransmisyon üzerine bir etkisi olmadığı açıktır. Birçok klinik çalışma ile çoğu nöropatik ağrı tipine karşı etkili olduğu gösterilen bu ilaçların ağrıyla ilişkili uyku bozuklukları ve fonksiyonlar gibi diğer önemli parametreler üzerinde de etkili olduğunu göstermiştir. Gabapentin ayrıca polifarmasi için uygun bir ilaç olmakla birlikte yan tesirleri de diğer ilaçlara göre azdır. Fakat tüm bu olumlu etkinliklerine

rağmen hastalarda çeşitli tolerabilite ve yan etki problemleri yeni ilaç arayışlarına neden olmaktadır (Tan, 2006).

2.3. Rosmarinik Asit



Şekil 2.4. Rosmarinik asitin kimyasal yapısı.

Rosmarinik asit kafeik asit ve 3,4-dihidroksifenil laktik asidin esteri olan doğal bir fenolik bileşiktir. Antioksidan özelliği olan rosmarinik asit daha çok *Nepetoideae* türlerinde bulunmakla birlikte birçok familyaya ait bitkilerde bulunmaktadır. İlk olarak *Rosmarinus officinalis* bitkisinden 1958’de saf olarak sentezlenmiş ve ismini bu bitkiden almıştır. Rosmarinik asit, tıbbi amaçlı kullanılan bitkilerde de bol miktarda bulunması nedeniyle bu bitkilerin etkiden sorumlu olan bileşen olduğu düşünülmektedir. Bu etkinliğinin yanı sıra toksik etkisinin az olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. LD₅₀ değerinin intravenöz rosmarinik asit uygulaması sonucu farelerde 561 mg/kg olduğu gösterilmiştir. Saf rosmarinik asitin yapılan çalışmalarda birçok biyolojik aktiviteye sahip olduğu bildirilmektedir. Bu etkilerden antioksidan aktivite, anti-inflamatuvar aktivite ve kardiyoprotektif aktivite dikkat çekici etkilerdendir. Bu etkilerinden hareketle de birçok hastalıkta kullanılma potansiyeli taşıdığı düşünülmektedir (Petersen ve Simmonds, 2003; Nadeem vd., 2019). Ayrıca bu aktivitelerin özellikle de antioksidan ve anti-inflamatuvar aktivitenin varlığı rosmarinik asitin ağrı kesici özelliği olacağını da işaret etmektedir (Ballou ve ark., 2000). Rosmarinik asitin anti-nosiseptif etkinliği de rapor edilen bilgiler arasında yer almaktadır (Guginski vd., 2009). Ayrıca majör bileşenin rosmarinik asit olduğu gösterilen *Melissa officinalis* (Lamiaceae familyası) yaprak ekstresinin oral uygulamasının de inflamatuvar ağrı ve akut ağrıda anti-nosiseptif etki gösterdiği farelerde gösterilmiştir. Hatta rosmarinik asitin tek başına oral uygulaması ile glutamatın indüklediği nosisepsiyonda ektreden çok daha etkin olduğu bulunmuştur. Aynı çalışmada

ekstrenin aktivitesine aracılık eden mekanizmalara bakıldığında ise kolinerjik sistemin ve nitrik oksitin etkiye aracılık ettiği fakat opioid sistemin anti-nosiseptif etkiye eşlik etmediği rapor edilmiştir (Guginski vd., 2009).

Benzer olarak aynı bitki ailesinde yer alan *R. officinalis* L. ekstresinin ve rosmarinik asitin, *Thunbergia Laurifolia* Lindl. yaprak ekstresinden izole edilen rosmarinik asitin anti-inflamatuvar ve antinosiseptif etkileri farklı farklı çalışmalarda gösterilmiştir (Boonyarikpunchai vd., 2014; Lucarini vd., 2013). Bu çalışmalarda ise farklı olarak santral analjezik etki gösterip bu etkinliğe opioid reseptörlerin katılımı olduğu belirlenmiştir. Ayrıca rosmarinik asit içeren çayın 16 hafta içilmesini içeren randomize çift-kör bir çalışmada mevcuttur ve bu çalışma osteoartrite bağlı gelişen ağrılarının rosmarinik asitli çay ile hafiflemesine sağladığını ortaya koymuştur (Connolly vd., 2014).

Rosmarinik asitin nöropatik ağrıda gösterdiği analjezik etkisi ise nispeten son yıllarda dikkat çekmeye başlamıştır. Diyabetik nöropati modeli ile oluşturulan bir çalışmada kronik rosmarinik asit uygulamasının analjezik etki sağladığı bildirilmiştir (Hasanein ve Mohammad Zaheri, 2014). Benzer olarak, KKH modeli ile indüklenen nöropatik hayvanlarda 40 mg/kg *i.p.* rosmarinik asitin dozda ağrıda rol oynayan inflamatuvar mediyatör seviyelerini düşürdüğü (Rahbardar vd., 2017), 10, 20, 40 mg/kg *i.p.* (El Gabbas vd., 2019; Rahbardar vd., 2018) dozlarda KKH modelinde ve 10-30 mg/kg, *p.o.* (Hasanein ve Mohammad Zaheri, 2014), 5,10, 20 mg/kg, *i.p.*, (Raafat vd., 2016) dozlarda diyabetik nöropati modelinde anti-allodinik ve antihiperanaljezik etki gösterdiği bildirilmiştir. Çalışmalar henüz yetersiz sayıda olmakla birlikte görülmektedir ki yapılan çalışmalarda rosmarinik asitin nöropatik ağrı üzerine olan etkisiyle ilişkilendirilmiş mekanizma sadece inflamatuvar mediyatör seviyelerinin değişmesidir. Etkin bir ilacın etki mekanizmasının aydınlatılması farmakolojik ve toksik etki profilinin belirlenebilmesi açısından son derece gereklidir.

Bu bilgilerden hareketle bu çalışmada 10, 20, 40 mg/kg, *i.p.*, dozlarda rosmarinik asitin KKH ile oluşturulmuş nöropatik ağrı modelinde, dinamik plantar test ile göstermesi olası olan antiallodinik etkinliğinin 30 mg/kg pregabalin uygulaması ile karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi ve antiallodinik etkinlikte adrenerjik ve opioidergik mekanizmaların olası rollerinin araştırılması amaçlanmıştır.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Kullanılan Kimyasallar

Rosmarinik asit (Sigma-Aldrich, St. Louis, A.B.D.), pregabalin (Lyrica, Pfizer), ketamin (Richter Pharma, Wels, Avusturya), ksilazin (Bioveta, Ankara, Türkiye).

3.2. Kullanılan Cihazlar

Elektronik von Frey Cihazı (Ugo Basile, No: 38450=004, Varese, İtalya), ultrasonik su banyosu (Heto, Allerod, Danimarka), Hassas Terazı (Ohaus, E12140, İsviçre), aktivite kafesi (Ugo Basile 47420, Varese, İtalya).

3.3. Deney Hayvanları

Çalışmada 128 adet, yetişkin Sprague dawley cinsi dişi sıçan (ortalama 250 g) kullanılmıştır. Deney hayvanları 12 saat karanlık 12 saat aydınlık döngüsünde yaşatılmış, bulundukları odanın $24\pm1^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta olması ve iyi havalandırılması sağlanmıştır. Hayvanlar standart hayvan yemi ile beslenildi. Deneyler süresince su ya da yem kısıtlaması uygulanmayarak, her hayvanın taze yiyeceğe ve temiz suya rekabete gerek duymaksızın ulaşabilmesi sağlanmıştır. Anadolu Üniversitesi (Karar No:2020-06, 12.02.2020) tarafından Etik Kurul Onayı alınmıştır.

3.4. Deney Gruplarının Oluşturulması

Kronik konstriksiyon zedelenmesi Bennett ve ark. tarafından 1988 yılında geliştirilen ve sıklıkla kullanılan bir modeldir. 90 mg/kg ketamin (*i.p.*) ve 10 mg/kg ksilazin (*i.p.*) anestezisi altında (Duque vd., 2016); sağ siyatik sinir çevre dokularından disekte edilerek açığa çıkarıldı. 4/0 katgüt ile yaklaşık 1 mm aralıklarla siyatik sinire epinöral vaskülarizasyon engellenecek şekilde dört ayrı gevşek düğüm atıldı (Shi vd., 2011). Sıçanlar operasyondan sonra tekli kafeslerde barındırıldı. Sağlıklı kontrol grubu olarak kullanılacak gruba da ligasyon yapılmaksızın aynı işlemler uygulandı.

Ayrı ayrı oluşturulan gruplara;

1. Sağlıklı kontrol grubu: eşit hacim çözücü uygulaması
2. Nöropatik ağrılı kontrol grubu: eşit hacim çözücü uygulaması
3. Nöropatik ağrılı test grubu 1: 10 mg/kg rosmarinik asit uygulaması,

4. Nöropatik ağrılı test grubu 2: 20 mg/kg rosmarinik asit uygulaması,
5. Nöropatik ağrılı test grubu 3: 40 mg/kg rosmarinik asit uygulaması,
6. Nöropatik ağrılı etki mekanizması grubu 1: etkili dozda rosmarinik asit uygulamasından 30 dakika önce opioid reseptör antagonisti olan 1 mg/kg nalokson ön-uygulaması,
7. Nöropatik ağrılı etki mekanizması grubu 2: etkili dozda rosmarinik asit uygulamasından 30 dakika önce α_1 adrenoseptör antagonisti olan 10 mg/kg prazosin ön-uygulaması,
8. Nöropatik ağrılı etki mekanizması grubu 3: etkili dozda rosmarinik asit uygulamasından 30 dakika önce α_2 adrenoseptör antagonisti olan 1 mg/kg yohimbin ön-uygulaması,
9. Nöropatik ağrılı etki mekanizması grubu 4: etkili dozda rosmarinik asit uygulamasından 30 dakika önce β adrenoseptör antagonisti olan 5 mg/kg propranolol ön-uygulaması,
10. Nöropatik ağrılı etki mekanizması **kontrol** grubu 1: Çözücü asit uygulamasından 30 dakika önce opioid reseptör antagonisti olan 1 mg/kg nalokson ön-uygulaması,
11. Nöropatik ağrılı etki mekanizması **kontrol** grubu 2: Çözücü uygulamasından 30 dakika önce α_1 adrenoseptör antagonisti olan 10 mg/kg prazosin ön-uygulaması,
12. Nöropatik ağrılı etki mekanizması **kontrol** grubu 3: Çözücü asit uygulamasından 30 dakika önce α_2 adrenoseptör antagonisti olan 1 mg/kg yohimbin ön-uygulaması,
13. Nöropatik ağrılı etki mekanizması **kontrol** grubu 4: Çözücü asit uygulamasından 30 dakika önce β adrenoseptör antagonisti olan 5 mg/kg propranolol ön-uygulaması,
14. Nöropatik ağrılı **pozitif kontrol** grubu: 30 mg/kg pregabalin uygulanması, yapılmıştır.

Tüm ilaç uygulamaları *i.p.* yolla yapılmıştır.

Motor aktivitenin değerlendirilmesi için ise 2 ayrı grup oluşturuldu (15. ve 16. grup) bir gruba çözücü uygulaması yapılan, diğer bir gruba etki mekanizma çalışmasında da uygulanan dozda rosmarinik asit uygulaması yapılan nöropatik ağrılı hayvanlara aktivite kafesi deneyi uygulandı. Sağlıklı kontrol grubu ve diğer tüm gruplara nöropati modeli geliştirilmeden önce test prosedürleri uygulandı ve sonuçlar 0. Gün olarak kaydedi. Sinir hasarı oluşturulduktan 7 gün sonra madde uygulamaları yapılmadan önce tekrar test prosedürleri uygulandı ve nöropati geliştiren sıçanlar deneylere alındı. Ayrıca bu değerler ilaç öncesi değer olarak kaydedildi. Kontrol gruplarına çözücü, diğer gruplara rosmarinik asit uygulamasından sonra 15, 30, 60, 90 ve 120. dakikalarda (Takeuchi vd., 2007) dinamik plantar test ile ağrı eşikleri ölçüldü. Kullanılan test maddesi ve antagonist dozları benzer çalışmaların sunulduğu literatürlerden hareketle seçilmiştir (Takeuchi vd., 2007; Shu vd., 2010; Zhao vd., 2012; Zurowski vd., 2012; Khangura vd., 2017; Rahbardar vd., 2018).

3.5. Test Metotları

3.5.1. Elektronik von Frey -Mekanik Allodini

Mekanik uyarana karşı eşik değerlerin belirlenmesi için elektronik Von Frey (Ugo Basile, No: 38450, Varese, İtalya) cihazı kullanıldı. Mekanik uyarın uygulanmadan önce sıçanlar cihazın kafeslerinde 20-30 dk. tutularak keşfetme davranışı sonlana dek ortama alışmaları sağlandı. Cihaza ait filamentin uç kısmı, sağ arka pençede orta plantar bölgeye dik olarak ve artan bir kuvvet ile uygulandı. Uyaran ile birlikte pençe çekme davranışının gerçekleştiği kuvvet (g/kuvvet) sistem tarafından otomatik olarak tespit edilip kaydedildi ve ağrı eşiğinin belirteci olarak kabul edildi. Pençenin zarar görmemesi için 50 g/kuvvet cut-off değeri olarak belirlendi (Whiteside vd., 2004).

Elektronik von Frey testinden elde edilen eşiklerden hareketle maksimum olası etkinin yüzdesi (%MPE) aşağıdaki formülden hareketle hesaplanmıştır (Vrinten vd., 2003):

$$\% MPE = \left[\frac{\text{ilaç sonrası ölçülen eşik} - \text{ilaç öncesi ölçülen eşik}}{\text{cut off değeri} - \text{ilaç öncesi ölçülen eşik}} \right] \times 100 \quad (3.1)$$

3.5.2. Aktivite Kafesi

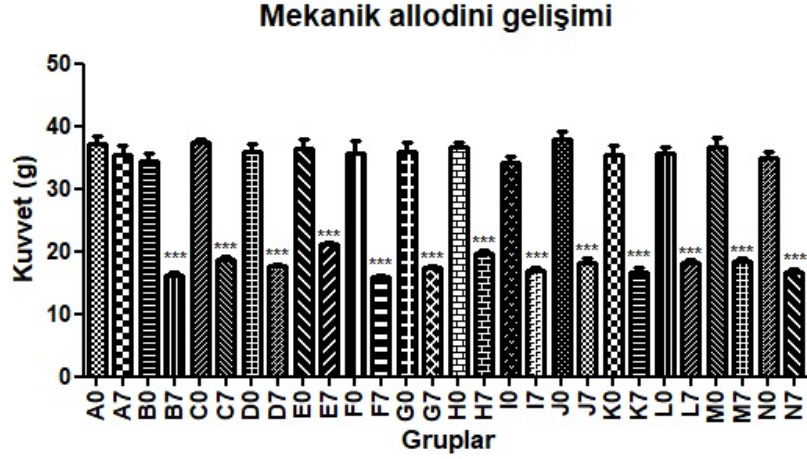
Spontan lokomotor aktiviteyi değerlendirmek için, pleksiglas, kafes şeklinde olan aktivite kafesi isimli cihazı kullanıldı. Cihazın karşılıklı iki dikey kenarında bulunan parçalar kızıl tesi (Infrared) ışınları üretmekte ve hayvan yatay (horizontal) ve dikey (vertikal) hareketleri bu ışınları kesintiye uğratmakta ve bu şekilde fotosel yardımıyla kaydedilmektedir. Cihazın elektronik düzeneği ölçülen veriyi önceden belirlenmiş olan aralıklarla kaydetmekte ve yazdırmaktadır (Marazioti vd., 2009). Çözücü ve rosmarinik asit uygulanan nöropatik ağrı modeli oluşturulmuş hayvanlar madde uygulamasından 30 dk. sonra aktivite kafesine alındı ve 15 dk. süreyle kayıt altına alındı.

3.6. Veri Analizi

İstatiksel değerlendirme Graphpad Prism ver. 5.0 paket programı ile çift-yönlü Varyans Analizi (ANOVA) ve ardından Bonferroni metodu uygulanarak yapıldı. Locomotor aktivitenin değerlendirildiği deney setinin verileri ise student's *t* testi ile analiz edildi. Ortalama $\pm$ standart hata (S.H.) olarak verilen analiz sonuçlarında $P < 0.05$ değeri istatistiksel anlamlılık düzeyi başlangıcı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR VE YORUM

4.1. Deneysel Nöropati Gelişimi



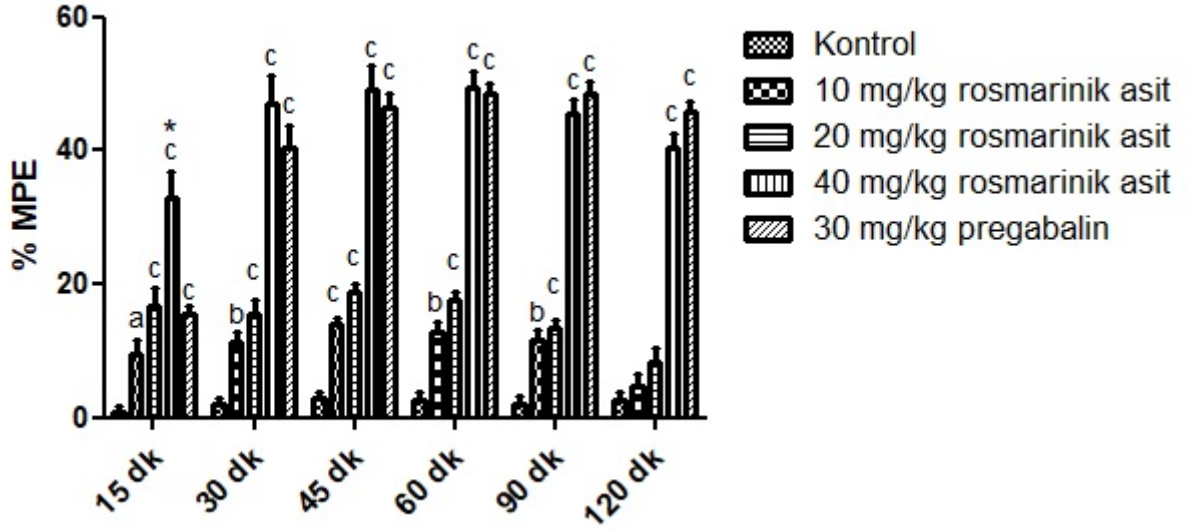
Şekil 4.1. Deneysel nöropatik ağrı gelişimi *** $P<0.001$; 0. güne göre anlamlı fark. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata (S.H.) olarak verildi. Tek yönlü ANOVA ve ardından Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi uygulandı ($n=8$).

Şekil 4.1’de görüldüğü üzere KKH geliştirilmiş tüm grupların mekanik uyarana karşı ağrı eşiklerinde anlamlı bir düşüş gözlenmiştir. Sham grubunda ise beklendiği şekilde mekanik ağrı eşiklerinde herhangi bir değişiklik meydana gelmemiştir.

4.2. Antiallodinik Aktivitenin Değerlendirilmesi

Şekil 4.2’de 10, 20 ve 40 mg/kg rosmarinik asit (*i.p.*), 30 mg/kg pregabalin (*i.p.*) uygulanan grupların mekanik allodini eşiklerinden hareketle hesaplanan %MPE değerlerinin 15-120 dk. aralığında değişimi görülmektedir. 10 mg/kg rosmarinik asit uygulanan grubun %MPE değerlerinin kontrol grubu ile kıyaslandığında 15. dakikada $P<0.05$, 30. dakikada $P<0.01$, 45. dakikada $P<0.001$, 60 ve 90. dakikada $P<0.01$ düzeyinde anlamlı farklılık gösterdiği belirlendi. 20 mg/kg rosmarinik asit uygulanan grubun %MPE değerlerinin kontrol grubu ile kıyaslandığında 15-90 dk. aralığında $P<0.001$ seviyesinde anlamlı farklılık gösterdiği belirlendi. 40 mg/kg rosmarinik asit uygulanan grubun %MPE değerlerinin kontrol grubu ile kıyaslandığında ise tıpkı 30 mg/kg pregabalin uygulanan grupta gözlemlendiği gibi 15-120 dk. aralığında $P<0.001$ seviyesinde anlamlı farklılık gösterdiği belirlendi. 15. dakikada rosmarinik asit uygulanan

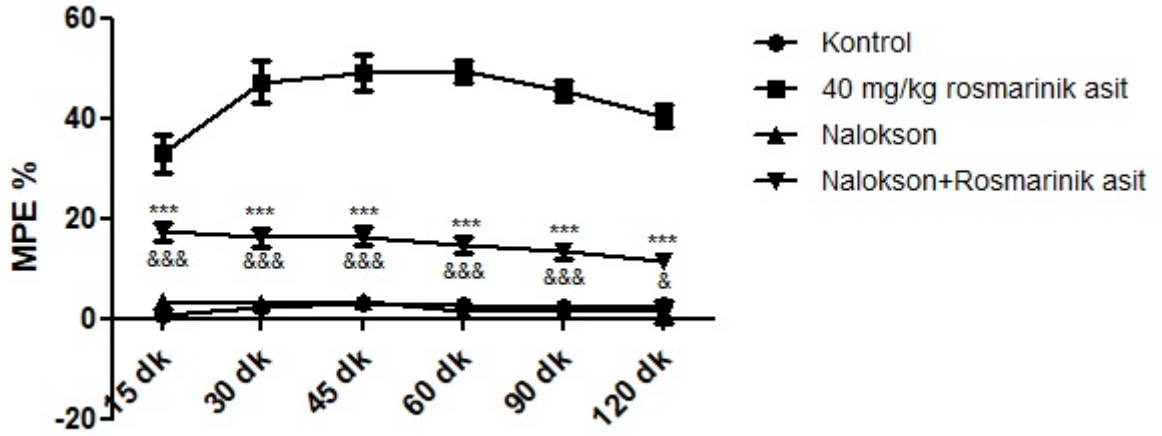
gruba ait %MPE değerinin pregabalin uygulanan grubun değerine göre $P<0.001$ seviyesinde anlamlı farklılık gösterdiği belirlendi.



Şekil 4.2. Rosmarinik asitin mekanik allodini eşiklerinden hareketle hesaplanan % MPE değerleri üzerine etkisi. ^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$, ^c $P<0.001$; kontrol grubuna göre anlamlılık, ^{*} $P<0.001$; 30 mg/kg pregabalin grubuna göre anlamlılık. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata (S.H.) olarak verildi. Çift-yönlü ANOVA ve ardından Bonferroni çoklu karşılaştırma testi uygulandı ($n=8$).

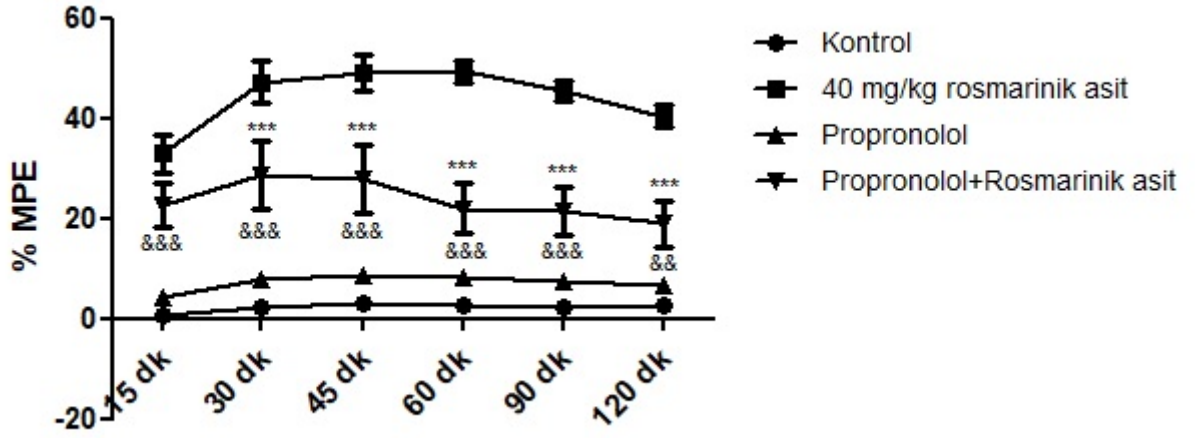
4.3. Etki Mekanizmasının Değerlendirilmesi

Şekil 4.3’de 40 mg/kg, (i.p.), rosmarinik asit öncesi opioid reseptör antagonisti 1 mg/kg, (i.p.), nalokson ön-uygulamasının mekanik allodini eşiklerden hareketle hesaplanan %MPE değerleri üzerine etkisi görülmektedir. 40 mg/kg rosmarinik asit öncesi nalokson ön-uygulamasının 15-120 dk. aralığında gözlenen 40 mg/kg rosmarinik asitin yükseltmiş olduğu % MPE değerlerini $P<0.001$ seviyesinde anlamlı olarak düşürdüğü gözlemlendi. 40 mg/kg rosmarinik asit öncesi nalokson ön-uygulaması yapılan grubun %MPE değerlerinin kontrol grubu değerlerine göre 15-90. dakikada $P<0.001$ ve 120. dakikada $P<0.05$ seviyesinde anlamlı farklılık gösterdiği belirlendi.



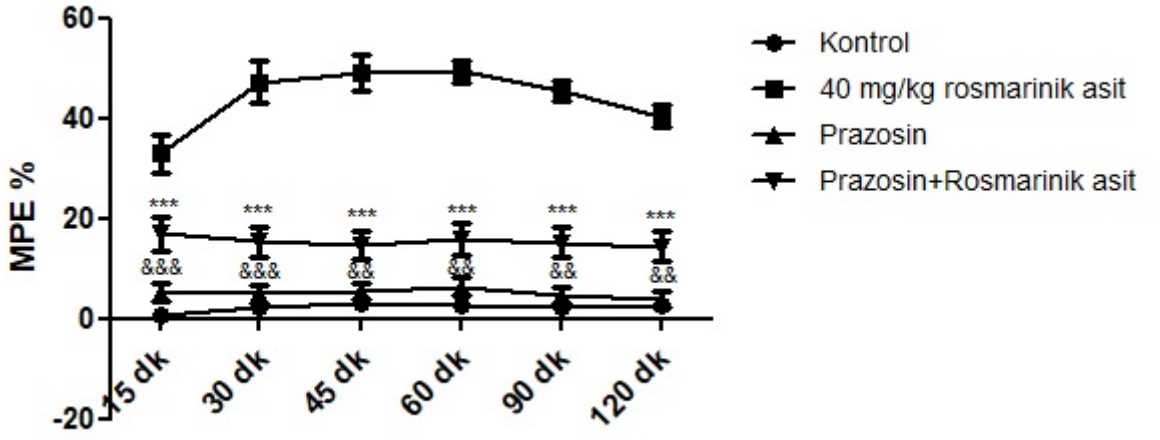
Şekil 4.3. Nalokson ön-uygulamasının mekanik allodini eşiklerinden hareketle hesaplanan % MPE değerleri üzerine etkisi. *** $P < 0.001$; 40 mg/kg rosmarinik asit uygulaması yapılan gruba göre anlamlılık. & $P < 0.05$, & $P < 0.001$; kontrol grubuna göre anlamlılık. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata (S.H.) olarak verildi. Çift-yönlü ANOVA ve ardından Bonferroni çoklu karşılaştırma testi uygulandı ($n=8$).

Şekil 4.4'de 40 mg/kg, (i.p.), rosmarinik asit öncesi β -adrenerjik reseptör antagonisti 5 mg/kg, (i.p.), propranolol ön-uygulamasının mekanik allodini eşiklerden hareketle hesaplanan %MPE değerleri üzerine etkisi görülmektedir. 40 mg/kg rosmarinik asit öncesi propranolol ön-uygulamasının 40 mg/kg rosmarinik asitin yükseltmiş olduğu %MPE değerlerini 30-120 dk. aralığında $P < 0.001$ seviyesinde anlamlı olarak düşürdüğü gözlemlendi. 40 mg/kg rosmarinik asit öncesi propranolol ön-uygulaması yapılan grubun %MPE değerlerinin kontrol grubu değerlerine göre 15-90 dk. aralığında $P < 0.001$ seviyesinde, 120. dakikada $P < 0.01$ seviyesinde anlamlı olarak farklılık gösterdiği belirlendi.



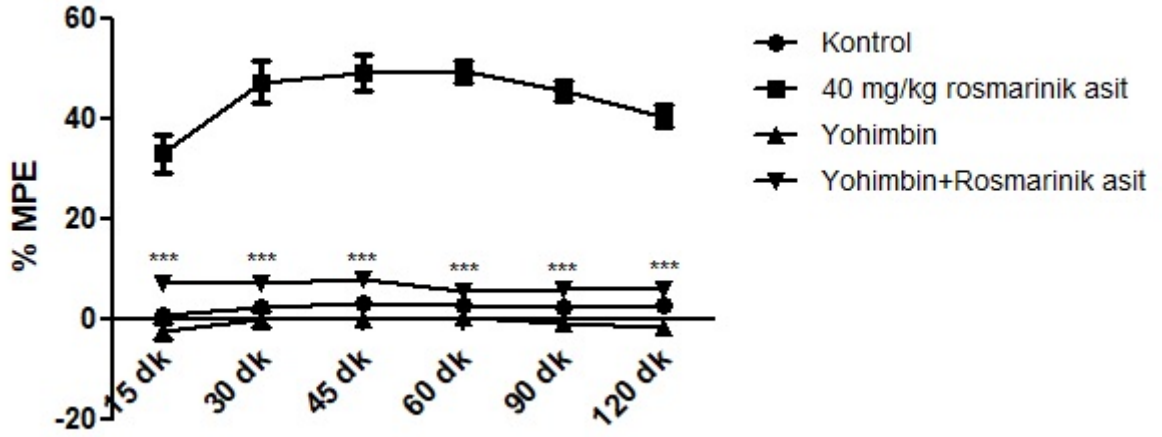
Şekil 4.4. Propranolol ön-uygulamasının mekanik allodini eşiklerinden hareketle hesaplanan % MPE değerleri üzerine etkisi. *** $P < 0.001$; 40 mg/kg rosmarinik asit uygulaması yapılan gruba göre anlamlılık. & $P < 0.05$, & $P < 0.001$; kontrol grubuna göre anlamlılık. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata (S.H.) olarak verildi. Çift-yönlü ANOVA ve ardından Bonferroni çoklu karşılaştırma testi uygulandı ($n=8$).

Şekil 4.5’de 40 mg/kg, (i.p.), rosmarinik asit öncesi α_1 -adrenerjik reseptör antagonisti 10 mg/kg, (i.p.), prazosin ön-uygulamasının mekanik allodini eşiklerden hareketle hesaplanan %MPE değerleri üzerine etkisi görülmektedir. 40 mg/kg rosmarinik asit öncesi propranolol ön-uygulamasının 40 mg/kg rosmarinik asitin yükseltmiş olduğu % MPE değerlerini 30-120 dk. aralığında $P < 0.001$ seviyesinde anlamlı olarak düşürdüğü gözlemlendi. 40 mg/kg rosmarinik asit öncesi propranolol ön-uygulaması yapılan grubun %MPE değerlerinin kontrol grubu değerlerine göre 15-90 dk. aralığında $P < 0.001$ seviyesinde, 120. dakikada $P < 0.01$ seviyesinde anlamlı olarak farklılık gösterdiği belirlendi.



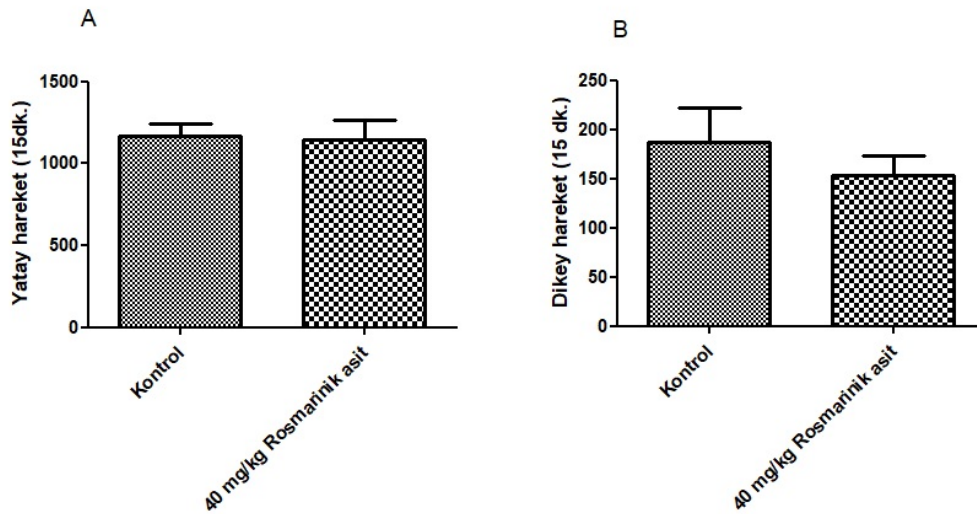
Şekil 4.5. Prazosin ön-uygulamasının mekanik allodini eşiklerinden hareketle hesaplanan % MPE değerleri üzerine etkisi. *** $P<0.001$; 40 mg/kg rosmarinik asit uygulaması yapılan gruba göre anlamlılık. & $P<0.05$, & $P<0.001$; kontrol grubuna göre anlamlılık. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata (S.H.) olarak verildi. Çift-yönlü ANOVA ve ardından Bonferroni çoklu karşılaştırma testi uygulandı ($n=8$).

Şekil 4.6'de 40 mg/kg, (i.p.), rosmarinik asit öncesi α_2 -adrenerjik reseptör antagonisti 1 mg/kg, (i.p.), yohimbin ön-uygulamasının mekanik allodini eşiklerden hareketle hesaplanan % MPE değerleri üzerine etkisi görülmektedir. 40 mg/kg rosmarinik asit öncesi yohimbin ön-uygulamasının 40 mg/kg rosmarinik asitin yükseltmiş olduğu %MPE değerlerini 15-120 dk. aralığında $P<0.001$ seviyesinde anlamlı olarak düşürdüğü gözlemlendi. 40 mg/kg rosmarinik asit öncesi yohimbin ön-uygulaması yapılan grubun %MPE değerlerinin kontrol grubu değerlerine göre herhangi bir anlamlılık göstermediği belirlendi.



Şekil 4.6. Yohimbin ön-uygulamasının mekanik allodini eşiklerinden hareketle hesaplanan % MPE değerleri üzerine etkisi. *** $P < 0.001$; 40 mg/kg rosmarinik asit uygulaması yapılan gruba göre anlamlılık. & $P < 0.05$, & $P < 0.001$; kontrol grubuna göre anlamlılık. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata (S.H.) olarak verildi. Çift-yönlü ANOVA ve ardından Bonferroni çoklu karşılaştırma testi uygulandı ($n=8$).

Şekil 4.7’da 40 mg/kg, (i.p.), rosmarinik asit uygulamasının aktivite kafesinde ölçülen ve lokomotor aktivitenin göstergesi olan yatay (a) ve dikey (b) hareketlerin sayısı üzerine etkisi görülmektedir. Rosmarinik asit uygulamasının yatay ve dikey hareketlilikte herhangi bir istatistiksel farklılık göstermediği belirlendi.



Şekil 4.7. Rosmarinik asitin yatay (A) ve dikey hareketler (B) üzerinden belirlenen lokomotor aktivite üzerine etkisi. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata (S.H.) olarak verildi. Student-t testi uygulandı ($n=8$).

5. TARTIŞMA

Sinir hasarına bağlı olarak gelişen nöropatik ağrı üzerine etkili ilaçların geliştirilebilmesi için birçok deneysel model bulunmaktadır. Bu modeller ile nöropatik ağrının tipik göstergesi olan allodini ve hiperaljezi geliştirilebilmekte ve geliştirilen çeşitli test yöntemleri ile deney hayvanlarının mekanik ve termal uyaranlar ile oluşturulan ağrı eşikleri ölçülebilmektedir. Bu tez çalışmasında mevcut modellerden güvenilir ve kolay tekrarlanabilir bir model olan siyatik sinirin tek taraflı gevşek ligasyonu ile periferik nöropati oluşturmaya yönelik olan KKH modeli tercih edilmiştir. İnsanlarda gelişen nöropatik ağrıyı yakın derecede taklit edebilmesi nedeniyle ve klinikte etkili olabilecek ilaçlarla ilgili güvenilir sonuçlar verebilmesi nedeniyle sıklıkla tercih edilmektedir (Austin vd., 2012). Bu modelde siyatik sinir üzerine verilen hasar sonucu A ve C tipi sinir liflerinde duyarlılık artışına bağlı olarak ağrı davranışı gözlenmektedir (Sommer, 2013). KKH modelinde mekanik allodini gibi davranışsal değişikliklerin operasyondan bir hafta sonra gelişmiş olup sonraki bir hafta süresince de maksimum seviyede sürdüğü bildirilmektedir (De Vry vd., 2004). Nitekim tez çalışmasında sham grubu hariç tüm hayvanlarda 7. günde mekanik uyarana karşı eşiklerin düştüğü ve nöropatik ağrıyı işaret eden mekanik allodini geliştiği Elektronik von Frey filament testi kullanılarak belirlenmiştir. Elektronik von Frey filament testinde, hayvanın ligasyon yapılan sinirin inerve ettiği pençeye cihaz aracılığı ile artan bir kuvvet uygulanarak pençe çekme hareketinin ne kadar sürede gerçekleştiği ve kaç gram kuvvete karşı gerçekleştiği ölçülerek mekanik allodini seviyesi belirlenmektedir (Ferrier vd., 2016). Mekanik allodini, hafif dokunma gibi zararsız uyaranların uygulanması ile hissedilen ağrılı durumdur (Lolignier vd., 2015). Omurilik hipereksitabilitesine neden olabilen hafif dokunma ile A β liflerinin mekanoreseptör girdilerinin ağrı olarak algılandığı belirtilmektedir. Ayrıca C liflerinde meydana gelen dejenerasyon kaynaklı dorsal boynuzdaki yeniden yapılanma ile de A β lifleri allodiniye yol açabilmektedir (Sommer, 2013). Nöropatik ağrı üzerine etkili ilaçların belirlenebilmesi için ilaçların anti-allodinik ve antihiperaljezik etkinlikleri değerlendirilmektedir. Tez çalışmasında, mekanik uyarana karşı eşikleri düşmüş olduğu belirlenen gruplara, sistemik olarak 10, 20 ve 40 mg/kg dozda rosmarinik asit uygulanmıştır. Uygulanan üç farklı dozda doza-bağılı olarak mekanik uyarana karşı düşen eşikleri yükseltmiş ve dolayısıyla anti-allodinik etki gösterdiği düşünülmüştür. Rosmarinik asitin etkinliği 15-120 dk. aralarında olacak

şekilde zamana bağlı değerlendirilmiştir. Etkinliğin uygulanan her dozda 15 dakikada başladığı görülmüştür. 10 ile 20 mg/kg rosmarinik asitin etkisini 90 dk. boyunca, 40 mg/kg rosmarinik asitin ise 120 dk. boyunca sürdüğü belirlenmiştir. Dikkat çeken nokta 40 mg/kg dozda rosmarinik asit etkisinin 20 mg/kg dozda uygulandığında gözlenen etkiye göre ciddi bir artış gösterdiğidir. Genellikle ilaçların dozunun iki kat artırılması, doz-yanıt eğrileri hiperbol şeklinde olduğu için, etki şiddetinde iki kat artış şeklinde olmamaktadır. Fakat bu çalışmada rosmarinik asitin 40 mg/kg dozda gösterdiği etkinin 20 mg/kg'a göre 2 kattan da fazla olarak artış göstermiş olduğu görülmektedir. Bu durumun, rosmarinik asitin dozu 40 mg/kg çıkarıldığında nöropatik ağrının giderilmesinde primer düzeyde rol oynayan mekanizmalardan birini etkileyecek şekilde etki yeri konsantrasyonuna çıkması sebebiyle oluştuğu düşünülmüştür. Nitekim iyi bilinmektedir ki bir ilacın etkisinin açığa çıkabilmesi için etki yoresindeki konsantrasyonun yeterli düzeyde olması esastır.

Ayrıca, nöropatik ağrı üzerine ağrı giderici ilaçların lokomotor aktiviteden bağımsız bir şekilde etki etmeleri tercih edilmektedir (Porsolt vd., 2002) Etkinliğin en belirgin olduğu 40 mg/kg dozda rosmarinik asitin lokomasyonu ne şekilde etkilediğinin belirlenmesi için aktivite kafesi deneylerinden faydalanılmıştır. Aktivite kafesi deneyi hayvanların yatay ve dikey hareketliliğini ölçmektedir ve bu sayılardaki artış psikostimulan aktiviteyi, azalma ise sedasyonu işaret etmektedir (Dunne vd., 2007). Yüksek analjezik etkiye sahip olduğu belirlenen 40 mg/kg dozda rosmarinik asitin aktivite kafesinden elde edilen verileri değerlendirildiğinde lokomotor aktivite üzerinde herhangi bir değişiklik yapmadığı belirlenmiştir. Bu sonuçtan hareketle; rosmarinik asitin tespit edilen anti-allodinik etkisinin lokomotor aktivite ile ilişkili olmadığı ve ayrıca etkin olan dozda yan etki olarak da lokomotor aktiviteyi değiştirmediği sonucuna varılabilir. Mevcut durum da rosmarinik asitin anti-allodinik etkinliğinde bir avantaj sağlamaktadır.

Rosmarinik asitin gözlenen anti-allodinik etkinliği nöropatik ağrı için sıklıkla kullanılan pregabalinin anti-allodinik etkinliği ile karşılaştırılmıştır. 40 mg/kg dozda rosmarinik asitin 30 mg/kg pregabalin ile benzer seviyelerde etki gösterdiği belirlenmekle birlikte rosmarinik asit etkisinin pregabalinine göre etkisinin daha erken yükseldiği ve pregabalin kadar süregeldiği gözlenmiştir. Fakat 10 ve 20 mg/kg rosmarinik asit etkinliği 90 dakikada sonlamıştır. Bu verilerden hareketle özellikle 40 mg/kg dozda rosmarinik asitin pregabalin benzeri etki seviyesi ve süresi gösterdiği söylenebilir. Pregabalin voltaj

bağımlı is an Ca^{++} kanal antagonisti olan antiepileptik bir ilaçtır. Ayrıca nöropatik ağrının çeşitli tiplerinde başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. Kullanıldığı düşük dozlarda baş dönmesi, bulanık görme, uyku hali, baş ağrısı, ağız kuruluğu, periferik ödem, kilo alımı, bulanık görme ve ataksi dibi yan etkiler göstermekle birlikte doz yükseldikçe bu yan etkiler sıklaşmakta ve şiddetlenmektedir. Dolayısıyla doz takibinin dikkatli yapılması gerekmektedir (Verma vd., 2014). Pregabalin gibi ilaçların etkinliğinin yüksek olmasına rağmen bahsedilen olumsuzluklar nedeni ile rosmarinik asit gibi doğal etken maddeler tedavide bir alternatif oluşturmaktadır. Bu nedenle çalışmalar, güvenli yan etki profiline sahip ve endikasyona spesifik ilaçlar keşfetmeye yönelmiştir. Bu bağlamda da rosmarinik asitin umut vaat ettiği söylenebilir.

Rosmarinik asitin etki mekanizmasının analizinde; pregabalin seviyesinde etki göstermesi nedeniyle, rosmarinik asitin 40 mg/kg dozda göstermiş olduğu etkiye aracılık eden mekanizmaların araştırılması gerçekleştirilmiştir. Bir ilacın etki mekanizmasının aydınlatılması, ilacın farmakolojik etkinliğinin ispatı ve etki profilinin belirlenmesi açısından önem arz etmektedir. Daha önce bahsedildiği gibi allodini gelişimi bozulmuş A β lif duyarlılığı ile ilişkilidir. Rosmarinik asitin anti-allodinik etki göstermesi bozulmuş olan A β lif duyarlılığını düzelttiğini düşündürmektedir. A β lifi iletimini düzenleyerek ağrı ve kontrol sürecinde yer alan birçok nörokimyasal ve bu nörokimyasallarla etkileşen onlara özelleşmiş reseptör tipleri mevcuttur (Baron vd., 2013). Ağrıya neden olan mekanik allodini gelişiminin, medulla spinalisde ağrı iletimini baskı altında tutan inhibitör mekanizmalarda zayıflama ile ilişkili olduğu ve ağrıyı baskılayan bu mekanizmaların arasında yoğunlukla endojen opioidlerin, serotonin ve noradrenalin gibi monoaminlerin ve reseptörlerinin yer aldığı rapor edilmektedir (Ossipov vd., 2014; Lv vd., 2019). Opioidlerin santral ve periferik seviyede sahip olduğu μ , δ , κ reseptörleri aracılığıyla ağrılı uyaranların iletilmesini baskıladığı hatta belirli supraspinal bölgelerde ağrının bilişsel sürecine de katkı sağladığı iyi bilinmektedir (Pathan ve Williams, 2012; Azzam vd., 2019). Ayrıca özellikle inici inhibitör yollaklarda noradrenalin ve serotoninin, α -adrenoseptörler ve 5-HT reseptörlerin aktivasyonunu içeren ağrıyı inhibe etme özellikleri de iyi bilinmekle birlikte ağrı kontrolünde opioid mekanizmalarla birlikte temel mekanizmaları oluşturduğu görülmektedir (Kwon vd., 2014; Boadas-Vaello vd., 2016). Noradrenerjik reseptör aktivasyonunda çalışmalar yoğunluklu olarak α_2 -adrenoseptörlerde agonistik etkiye yönelse de α_1 - ve β -adrenoseptör agonizmasının da

ağrı kontrolüne katıldığını gösteren birçok çalışma vardır (Lv vd., 2019). Santral seviyelerde etkinliği kanıtlanan bu sistemlerin periferik analjezide de etkin bir şekilde yer aldığı görülmektedir (Bravo vd., 2019). Örneğin α_2 -adrenoseptörün noradrenalin tarafından uyarımının enkefalin salınımına ve dolaylı olarak μ_1 reseptör aktivasyonuna yol açarak periferik analjezi sağladığı gösterilmiştir (Millan, 2002). Bunun yanında β_2 adrenoseptörlerin uyarılmasının, antidepresanların nöropatik ağrıya karşı antiallodinik etkisini göstermesi için gerekli ve esas olduğu bildirilmiştir (Bohren vd., 2013). Rosmarinik asitin akut ağrıda etkili olduğu gösterilen çalışmalarda etki mekanizmalarının aydınlatılması adına yalnızca bir çalışmaya rastlanmaktadır (Aydın vd., 2017). Söz konusu çalışmada, akut ağrıda serotonin 5HT_{2A/2C} reseptör stimülasyonunun özellikle periferde ve α_2 -adrenerjik reseptör stimülasyonunun ise hem periferde hem de spinal seviyede rosmarinik asitin antinosiseptif etkisine aracılık ettiği savunulmuştur. Fakat daha önce nöropatik ağrıda ki etkisinin gösterilmediği gibi ağrı yitimine neden olan mekanizmalarla ilişkisi de gösterilmemiştir. Bu nedenlerle tez çalışmasında rosmarinik asitin etkinliğine opioid, α_1 adrenerjik, α_2 adrenerjik ve β adrenerjik reseptör stimülasyonu üzerinden opioid ve noradrenerjik sistem ile ilişkisinin olup olmadığı araştırılmıştır. Opioid reseptör stimülasyonunun rolünün araştırılması amacıyla opioid reseptör antagonisti nalokson, rosmarinik asit öncesi sistemik olarak uygulanmıştır. Görülmektedir ki; nalokson uygulaması 40 mg/kg rosmarinik asit uygulaması ile oluşan anti-allodinik etkiyi 15. dakikadan itibaren geri çevirmiştir. Dolayısıyla opioid reseptör stimülasyonunun 40 mg/kg dozda görülen rosmarinik asit etkisine katkı sağladığı düşünülmektedir. Fakat etkinin belirgin şekilde geri çevrilmiş olmasına rağmen 15-120 dk. aralığında anti-allodinik etkide istatistiksel anlamlılığının devam ettiği görülmektedir. Bu noktada akıllara opioid reseptörleri antagonize etmek için kullanılan nalokson dozunun yetersiz kaldığı akla gelebilir. Nalokson deneysel çalışmalarda sıklıkla kullanılan bir opioid reseptör antagonistidir. Fakat çok değişmemekle birlikte çalışmalarda farklı uygulama yolu ve dozlarla karşılaşılabilir. Örneğin 0.5-10 mg/kg doz aralığında ağrıya ilişkili etki mekanizması çalışmalarında kullanıldığı görülmektedir (McGaraughty vd., 2005; Berrocoso vd., 2007; Janes vd., 2014; Hong vd., 2020; Stevenson vd., 2020). Bu tez çalışmasında tercih edilen doz ise 1 mg/kg olmuştur. Diğer taraftan, opioid reseptör stimülasyonu harici farklı mekanizmaların da etkide rol alıyor olması nalokson antagonizmasına rağmen devam etkiyi açıklayabilir. Şöyle ki; opioid reseptörlerin primer görevi analjezi sağlamak olmakla birlikte bu görevi farklı

mekanizmalarla etkileşimli olarak gerçekleştirmektedir. Noradrenerjik sistem bu sistemlerden bir tanesidir (Pertovaara, 2013; Kwon vd., 2014). Noradrenalinin ağrı üzerine etkinliğini tek tip reseptör üzerinden değil yolaklar üzerinde ya da beyindeki ağrı ile ilişkili bölgelerde yer alan farklı tip reseptörleri üzerinden değişen seviyelerde gerçekleştirmektedir. Noradrenalin öncelikle dorsal boynuzdaki presinaptik α_2 adrenerjik reseptörler aracılığıyla özellikle de α_{2A} adrenerjik reseptörler aracılığıyla primer aferent sinir sonlarından glutamat salınımını inhibe ederek ve postsinaptik konumda olanların da ağrı ileten nöronları direkt inhibe etmesi ile nosiseptif iletiyi baskılamaktadır. Ayrıca bu reseptör aktivasyonu ile birlikte dorsal boynuzda opioidler ve adenosin gibi nörotransmitterlerde ağrının baskılanmasına katılmaktadır. Postsinaptik α_1 adrenerjik reseptör aktivasyonu lokal inhibitör nöronlarca GABA veya glisin salınımını artırarak antinosisepsiyona katılmaktadır (Benarroch, 2008; Kwon vd., 2014). Nöropatik ağrıda, α_2 reseptör aktivasyonu spinal ve supraspinal analjezide rol aldığı gibi periferik analjezide de önemli yer almaktadır. Ayrıca primer aferent nosiseptörlerin gövde ve sonlanmalarında β_2 adrenerjik reseptörler bulunmakta ve anti-nosiseptif etkinliğe katılabilmektedir. Antidepresanlarla gözlenen antiallodinik etkiye ise stimülasyonunun katkısı yapılan birçok çalışma ile gösterilmiştir (Yalcin vd., 2010; Bravo vd., 2019; Lv vd., 2019). Bu bilgilerden yola çıkarak noradrenerjik sistem katılımının rosmarinik asit etkisine katılımın araştırılması için çalışmada β adrenerjik reseptör antagonisti propranolol, α_1 adrenerjik reseptör antagonisti prazosin ve α_2 adrenerjik reseptör antagonisti yohimbin ön-uygulamaları yapılmıştır. Propranolol ön uygulamasının 30 dakikadan itibaren rosmarinik asit etkisini anlamlı olarak geri çevirdiği görülmüştür. Aynı zamanda ön-uygulama yapılan grubun anti-allodinik etkisinin yine 15-120 dk. aralığında devam ettiği görülmektedir. Bu noktada nalokson ön-uygulaması yapılan deney setindeki sonuçlara benzer sonuçlara rastlandığı söylenebilir. Şöyle ki; β -adrenerjik reseptör stimülasyon katılımının rosmarinik asit etkisine eşlik ettiği açıktır. Fakat etkiyi tam olarak geri çevirememesi yine akla farklı etki yolaklarının da etkiye aracılık ettiğini düşündürmekle birlikte β adrenerjik stimülasyonun analjeziye çift yönlü katılımı da bu şekilde bir sonuç alınmasına sebep olmuş olabilir. α_1 adrenerjik reseptör stimülasyonunun katılımının incelendiği çalışmalarda prazosin ön-uygulaması yapılmıştır. Prazosin ön-uygulamasının rosmarinik asit etkisini anlamlı şekilde antagonize ettiği fakat yine farmakolojik etkinliğin devam ettiği belirlenmiştir. Yani diğer antagonist ön-uygulaması çalışmalarından alınan sonuçlar burada da benzerlik göstermiştir. Son olarak

α_2 adrenerjik reseptör antagonist yohimbin kullanımı ile allodinik etkiye noradrenerjik sistem katılımı araştırılmıştır. Diğer antagonist uygulamalarından farklı olarak burada yohimbin uygulaması ile tama yakın geri dönüş gözlenmiştir. Dolayısıyla rosmarinik asitin araştırılan bu dört reseptör stimülasyonu arasından primer etkinliğin α_2 adrenerjik reseptörler üzerinden olduğu düşünülebilir. Daha önce bahsedildiği gibi noradrenalin analjezisine opioid sistem katılımı yapılan çeşitli çalışmalarca gösterilmiştir. α_2 adrenerjik reseptör stimülasyonu doğrudan analjezik etki sağlayabildiği gibi enkefalin salınımını da arttırarak ve enkefalinler de opioid reseptörleri aracılığıyla analjezi sağlamaktadır. Tüm veriler bir arada değerlendirildiğinde rosmarinik asitin noradrenerjik ve opioidergik sistemin karşılıklı etkileşimi aracılığıyla anti-allodinik etki gösterdiği söylenebilir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu tez çalışması rosmarinik asit uygulaması ile nöpatik ağrı kontrolünün sağlanabileceğini göstermesi açısından bir ilktir. Gözlenen antiallodinik etkinin lokomotor aktiviteden bağımsız olarak gözlenmesi ve gözlenen etkinin klinikte sıklıkla nöropatik ağrı için reçetelenen pregabalin ile benzer seviyelerde ve sürede gerçekleştiriyor olması bir avantaj olarak değerlendirilmiştir. Rosmarinik asitin anti-allodinik etkinliğine opioid sistemin ve noradrenerjik sisteminin katılım sağladığı açıkça görülmektedir. Araştırılan reseptör stimülasyon katılımlarında α_2 adrenerjik reseptör stimülasyonunun antiallodinik etkiye katkı sağlayan primer olay olduğu belirlenmiştir. Fakat tartışma bölümünde belirtildiği üzere etki mekanizması araştırmalarında kullanılan antagonist dozlarının değiştirilerek ve kombine antagonist uygulamaları ile yapılandırılan yeni deney setlerinde çalışmanın detaylandırılması ile söz konusu sistem katılım dereceleri netleştirilebilir. Ayrıca ağrının yalnızca bu sistemlerle kontrol edilmediği hatta bu sistemlerin analjezik etkiyi tek başlarına oluşturmadıkları düşünülürse anti-allodinik etkinin diğer sistemlerle olan etkileşiminin de detaylı araştırılması gerekmektedir. Tüm bu verilerden hareketle rosmarinik asitin, nöropatik ağrı yönetiminde tek başına kullanılabilecek veya mevcut ilaçların tek başlarına gösterdikleri toksisite ve yan etkilerinden sakınmaya veya çok hedefli mekanizma ile daha etkin tedaviye olanak sağlayacak şekilde yardımcı ilaç olarak kullanılabilme potansiyeli olduğu söylenebilir. Bu tez çalışmasından elde edilen yeni veriler ile yeni tedavi yaklaşımlarına katkıda bulunacak preklinik veriler sunulmuştur.

KAYNAKÇA

- Argoff, C. (2011). Mechanisms of pain transmission and pharmacologic management. *Curr. Med. Res. Opin.*, 27(10), 2019-2031.
- Attal, N., Jazat, F., Kayzer, V., Guilbaud, G. (1990). Further evidence for 'pain-related' behaviours in a model of unilateral peripheral mononeuropathy. *Pain*, 41, 235-251.
- Austin, P.J., Wu, A., Moalem-Taylor, G. (2012). Chronic constriction of the sciatic nerve and pain hypersensitivity testing in rats. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, 61, e3393.
- Aydın, O.N. (2002). Ağrı ve Ağrı Mekanizmalarına Güncel Bakış. *ADÜ Tıp Fak. Derg.*, 3(2), 37-48.
- Aydın, D., Türkmen, N.B., Arslan, R. (2017). Serotonerjik ve noradrenerjik modülasyonun rosmarinik asit analjezisine katkısı. *Sağlık Bil. Derg.*, 26(1), 52-59.
- Azevedo, L.F., Costa-Pereira, A., Mendonça, L., Dias, C.C., Castro-Lopes, J.M. (2012). Epidemiology of chronic pain: A population-based nationwide study on its prevalence, characteristics and associated disability in Portugal. *J. Pain*, 13(8), 773-783.
- Azzam, A.A., McDonald, J., Lambert, D.G. (2019). Hot topics in opioid pharmacology: mixed and biased opioids. *Br. J. Anaesth.*, 122(6), e136-e145.
- Ballou, L.R., Botting, R.M., Goorha, S., Zhang, J., Vane, J.R. (2000). Nociception in cyclooxygenase isozyme-deficient mice, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 97(18), 10272-10276.
- Baron, R. (2006). Mechanisms of disease: neuropathic pain-a clinical perspective. *Nat. Clin. Pract. Neurol.*, 2(2), 95-106.
- Baron, R., Hans, G., Dickenson, A. H. (2013). Peripheral input and its importance for central sensitization. *Ann. Neurol.*, 74(5), 630-636.
- Basbaum A, Fields IL: Endogenous pain control mechanisms: review and hypothesis. *Ann. Neurol.*, 1978, 4, 451.

- Benarroch, E.E. (2008). Descending monoaminergic pain modulation: bidirectional control and clinical relevance. *Neurology*, 71(3), 217-221.
- Bennett, G.J., Xie, Y.K. (1988). A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain*, 33(1), 87-107.
- Bennett, M.I. (2010). Theories, history and current taxonomy. M.I. Bennett (Ed.), *Neuropathic pain* içinde (s. 1-9, 125-137). New York: Oxford University Press Inc.
- Bennett, M.I., Rayment, C., Hjermstad, M., Aass, N., Caraceni, A., Kaasa, S. (2012). Prevalence and aetiology of neuropathic pain in cancer patients: a systematic review. *Pain*, 153 (2), 359-365.
- Berker, E. (2005). Nöropatik ağrı etyopatogenezi. *Türkiye Klinikleri J. Int. Med. Sci.*, 1 (10), 37-40.
- Berrocso, E., De Benito, M.D., Mico, J.A. (2007). Role of serotonin 5-HT_{1A} and opioid receptors in the anti-allodynic effect of tramadol in the chronic constriction injury model of neuropathic pain in rats. *Psychopharmacology (Berl.)*, 193(1), 97-105.
- Boadas-Vaello, P., Castany, S., Homs, J., Álvarez-Pérez, B., Deulofeu, M., Verdú, E. (2016). Neuroplasticity of ascending and descending pathways after somatosensory system injury: reviewing knowledge to identify neuropathic pain therapeutic targets. *Spinal Cord*, 54(5), 330-340.
- Bohren, Y., Tessier, L. H., Megat, S., Petitjean, H., Hugel, S., Daniel, D., Barrot, M. (2013). Antidepressants suppress neuropathic pain by a peripheral β ₂-adrenoceptor mediated anti-TNF α mechanism. *Neurobiol. Dis.*, 60, 39-50.
- Boonyarikpunchai, W., Sukrong, S., Towiwat, P. (2014). Antinociceptive and anti-inflammatory effects of rosmarinic acid isolated from *Thunbergia laurifolia* Lindl. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 124, 67-73.
- Bravo, L., Llorca-Torralba, M., Berrocso, E., Micó, J. A. (2019). Monoamines as drug targets in chronic pain: focusing on neuropathic pain. *Front. Neurosci.*, 13.
- Büyükokuroglu, M.E. (2005). Endojen Opioid Peptidler. *Türkiye Klinikleri J. Int. Med. Sci.*, 1 (44), 5-9.
- Cabioglu, T. (2001). Endojen opioidler. *Genel Tıp Derg.*, 11 (4), 161-167.

- Campbell, J.N., Meyer, R.A. (2006). Mechanisms of neuropathic pain. *Neuron*, 52(1), 77-92.
- Chen, T., Li, J., Feng, B., Hui, R., Dong, Y.L., Huo, F.Q., Zhang, T., Yin, J.B., Du, J.Q., Li Y.Q. (2016). Mechanism underlying the analgesic effect exerted by endomorphin-1 in the rat ventrolateral periaqueductal gray. *Mol. Neurobiol.*, 53 (3), 2036-2053.
- Chia, Y.Y., Chow, L.H., Hung, C.C., Liu, K., Ger, L.P., Wang P.N. (2002). Gender and pain upon movement are associated with the requirements for postoperative patient-controlled iv analgesia: A prospective survey of 2,298 Chinese patients. *Can. J. Anaesth.*, 49, 249-255.
- Cohen, S.P., Mao, J. (2014). Neuropathic pain: mechanisms and their clinical implications. *BMJ*, 348.
- Collingridge, G.L., Peineau, S., Howland, J.G., Wang, Y.T. (2010). Long-term depression in the CNS. *Nat. Rev. Neurosci.*, 11(7), 459-473.
- Colloca, L., Ludman, T., Bouhassira, D., Baron, R., Dickenson, A.H., Yarnitsky, D., Freeman, R., Truini, A., Attal, N., Finnerup, N.B., Eccleston, C., Kalso, E., Bennett, D.L., Dworkin, R.H., Raja, S.N. (2017). Neuropathic pain. *Nat. Rev. Dis. Primers.*, 3.
- Connelly, A.E., Tucker, A.J., Tulk, H., Catapang, M., Chapman, L., Sheikh, N., Wright, A.J. (2014). High-rosmarinic acid spearmint tea in the management of knee osteoarthritis symptoms. *J. Med. Food*, 17(12), 1361-1367.
- De Vry, J., Kuhl, E., Franken-Kunkel, P., Eckel, G. (2004). Pharmacological characterization of the chronic constriction injury model of neuropathic pain. *Eur. J. Pharmacol.*, 491(2-3), 137-148.
- Dunne, F., O'Halloran, A., Kelly, J. P. (2007). Development of a home cage locomotor tracking system capable of detecting the stimulant and sedative properties of drugs in rats. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.*, 31(7), 1456-1463.

- Duque, A.P.D.N., Pinto, N.D.C.C., Mendes, R.D.F., da Silva, J.M., Aragão, D.M.D.O., Castañon, M.C.M.N., Scio, E. (2016). In vivo wound healing activity of gels containing *Cecropia pachystachya* leaves. *J. Pharm. Pharmacol.*, 68(1), 128-138.
- El Gabbas, Z., Bezza, K., Laadraoui, J., Ait Laaradia, M., Kebbou, A., Oufquir, S., Chait, A. (2019). *Salvia officinalis*, rosmarinic and caffeic acids attenuate neuropathic pain and improve function recovery after sciatic nerve chronic constriction in mice. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.*, 2019.
- Erdemoğlu AK, Gökçe B. (2010). Yaşlılarda ağrı. *Türkiye Klinikleri J. Neurol-Special Topics*, 4, 86-94.
- Erdine, S., Hamzaoglu, O., Özkan, Ö., Balta, E. ve Domaç, M. (2001). Türkiye’de erişkinlerin ağrı prevalansı. *Ağrı*, 13(2), 22-30.
- Ertekin, C. (1993). Ağrının nöroanatomi ve nörofizyolojisi. İ. Yegül (Ed)., *Ağrı ve tedavisi* içinde (s. 1-18). İzmir:Yapım Matbaacılık.
- Ferrier, J., Marchand, F., Balayssac, D. (2016). Assessment of mechanical allodynia in rats using the electronic Von Frey test. *Bio-protocol*, 6(18), e1933-e1933.
- Fields, H. (2004). State-dependent opioid control of pain. *Nat. Rev. Neurosci.*, 5(7), 565-575.
- Finnerup, N.B., Haroutounian, S., Kamerman, P., Baron, R., Bennett, D.L., Bouhassira, D., Jensen, T.S. (2016). Neuropathic pain: an updated grading system for research and clinical practice. *Pain*, 157(8), 1599-1606.
- Finnerup, N.B., Sindrup, S.H. and Jensen, T.S. (2007). Chronic neuropathic pain: mechanisms, drug targets and measurement. *Fundam. Clin. Pharmacol.*, 21 (2), 129-136.
- Gilron, I., Watson, C.P.N., Cahill, C.M., Moulin, D.E. (2006). Neuropathic pain: A practical guide for the clinician. *CMAJ*, 175(3), 265-275.
- Goyagi, T., Tanaka, M. and Nishikawa, T. (1999). Oral clonidine premedication enhances postoperative analgesia by epidural morphine. *Anesth. Analg.*, 89 (6), 1487- 1491.
- Guginski, G., Luiz, A.P., Silva, M.D., Massaro, M., Martins, D.F., Chaves, J., Santos, A.R. (2009). Mechanisms involved in the antinociception caused by ethanolic

- extract obtained from the leaves of *Melissa officinalis* (lemon balm) in mice. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 93(1), 10-16.
- Hajhashemi, V., Banafshe, H.R., Minaian, M., Mesdaghinia, A., and Abed, A. (2014). Antinociceptive effects of venlafaxine in a rat model of peripheral neuropathy: role of alpha2-adrenergic receptors. *Eur. J. Pharmacol.*, 738, 230-236.
- Hanson, P. (2002). Neuropathic pain: Clinical characteristics and diagnostic workup. *Eur. J. Pain*, 6 (Suppl.A), 47-50.
- Hasanein, P., Mohammad Zaheri, L. (2014). Effects of rosmarinic acid on an experimental model of painful diabetic neuropathy in rats. *Pharm. Biol.*, 52(11), 1398-1402.
- Heavner, J.E., Willis, W.D. (2000). Pain pathways: Anatomy and physiology. P. P. Raj (Ed.), *Practical management of Pain* içinde (s. 107-145). St Louis: Mosby Inc.
- Holdridge, S.V. (2009). *Investigating the effects of peripheral nerve injury on δ opioid receptor expression and function: implications for the treatment of chronic neuropathic pain*. Yayınlanmamış Doktora Tezi. Canada: Queen's University.
- Hong, J.S., Feng, J.H., Park, J.S., Lee, H.J., Lee, J.Y., Lim, S.S., Suh, H.W. (2020). Antinociceptive effect of chrysin in diabetic neuropathy and formalin-induced pain models. *Anim. Cells Syst.*, 24(3), 143-150.
- Jaggi, A.S., Jain, V. and Singh, N. (2011). Animal models of neuropathic pain. *Fundam. Clin. Pharmacol.*, 25 (1), 1-28.
- Janes, K., Little, J.W., Li, C., Bryant, L., Chen, C., Chen, Z., Salvemini, D. (2014). The development and maintenance of paclitaxel-induced neuropathic pain require activation of the sphingosine 1-phosphate receptor subtype 1. *J. Biol. Chem.*, 289(30), 21082-21097.
- Janssen, S.P., Truin, M., Van Kleef, M., Joosten, E.A. (2011). Differential GABAergic disinhibition during the development of painful peripheral neuropathy. *Neuroscience*, 184, 183-194.
- Johnson, K.O, Hsiao S.S, Yoshioka T. (2002). Neural coding and the basic law of psychophysics. *Neuroscientist*, 8(2), 111-121.

- Kantor, T.G., (1980). Physiology and treatment of pain and inflammation, *Am. J. Med.*, 80, 3-9.
- Kayaalp, O. ve Uzbay, T. (2012). Santral sinir sistemini etkileyen ilaçlar ve anesteziyolojide kullanılan diğer bazı ilaçlar. O. Kayaalp (Ed.), *Akılcı tedavi yönünden tıbbi farmakoloji (1. cilt)* içinde (s. 651-689). Ankara: Pelikan Yayıncılık.
- Khangura, R.K., Bali, A., Kaur, G., Singh, N., Jaggi, A. S. (2017). Neuropathic pain attenuating effects of perampanel in an experimental model of chronic constriction injury in rats. *Biomed. Pharmacother.*, 94, 557-563.
- Kim, S.H., Chung, J.M. (1992). An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat. *Pain*, 50(3), 355-363.
- Klein, T., Magerl, W., Hopf, H.C., Sandkühler, J., Treede, R.D. (2004). Perceptual correlates of nociceptive long-term potentiation and long-term depression in humans. *J. Neurosci.*, 24(4), 964-971.
- Koneru, A. Satyanarayana, S. and Rizwan, S. (2009). Endogenous opioids: their physiological role and receptors. *Global J. Pharmacol.*, 3 (3), 149-153.
- Kwon, M., Altin, M., Duenas, H., Alev, L. (2014). The role of descending inhibitory pathways on chronic pain modulation and clinical implications. *Pain Practice*, 14(7), 656-667.
- Lolignier, S., Eijkelkamp, N., Wood, J.N. (2015). Mechanical allodynia. *Pflügers Archiv-Eur. J. Physiol.*, 467(1), 133-139.
- Lucarini, R., Bernardes, W.A., Ferreira, D.S., Tozatti, M.G., Furtado, R., Bastos, J. K., Cunha, W.R. (2013). In vivo analgesic and anti-inflammatory activities of *Rosmarinus officinalis* aqueous extracts, rosmarinic acid and its acetyl ester derivative. *Pharm. Biol.*, 51(9), 1087-1090.
- Lv, Q., Wu, F., Gan, X., Yang, X., Zhou, L., Chen, J., Liu, L. (2019). The involvement of descending pain inhibitory system in electroacupuncture-induced analgesia. *Front. Integr. Neurosci.*, 13.

- Marazioti, A., Spyraiki, C., Thermos, K. (2009). GABA antagonists reverse the somatostatin dependent attenuation of rat locomotor activity. *Neuropeptides*, 43(3), 207-212.
- McGaraughty, S., Honore, P., Wismer, C. T., Mikusa, J., Zhu, C. Z., McDonald, H. A., Jarvis, M. F. (2005). Endogenous opioid mechanisms partially mediate P2X3/P2X2/3-related antinociception in rat models of inflammatory and chemogenic pain but not neuropathic pain. *Br. J. Pharmacol.*, 146(2), 180-188.
- McNally, G.P. ve Akil, H. (2002). Opioid peptides and their receptors: overview and function in pain modulation. K. L. Davis, D. Charney, J. T. Coyle, C. Nemeroff (Ed.), *Neuropsychopharmacology—the fifth generation of progress* içinde (s. 35-46). Philadelphia: Lippincott, Williams and Wilkins.
- Melzack, R. ve Wall, P.D. (1965). Pain mechanisms: a new theory. *Science*, 150 (3699), 971-979.
- Mendell, L.M., Wall, P.D. (1965). Responses of single dorsal cord cells to peripheral cutaneous unmyelinated fibres. *Nature*, 206, 97-99.
- Merskey, H., Lindblom, U., Mumford, J.M., Nathan P.W., Sunderland, S. (2002). Pain Terms a Current List With Definitions and Notes on Usage. Merskey, H., Bogduk, N. (Ed.), *Classification of chronic pain* içinde (s.210-214). Seattle: IASP Press.
- Millan, M.J. (2002). Descending control of pain. *Prog. Neurobiol.*, 66 (6), 355-474.
- Mindruta, I., Cobzaru, A.M. and Bajenaru, O.A. (2012). Overview of neuropathic pain diagnosis and assessment - an approach based on mechanisms. C.C. Udeagha (Ed.), *Neuropathic pain* içinde (s. 1-29). Rijeka: InTech.
- Nadeem, M., Imran, M., Aslam Gondal, T., Imran, A., Shahbaz, M., Muhammad Amir, R., Salehi, B. (2019). Therapeutic potential of rosmarinic acid: a comprehensive review. *Applied Sciences*, 9(15).
- Nakamura, T., Ikeda, T., Takeda, R., Igawa, K., Naono-Nakayama, R., Sakoda, S., Nishimori, T. and Ishida, Y. (2014). The role of spinal serotonin receptor and alpha adrenoceptor on the anti-allodynic effects induced by intrathecal milnacipran in chronic constriction injury rats. *Eur. J. Pharmacol.*, 738, 57-65.

- Nickel, F.T., Seifert, F., Lanz, S., Maihöfner, C. (2012). Mechanisms of neuropathic pain. *Eur. Neuropsychopharmacol.*, 22(2), 81-91.
- O'Connor, A.B., Dworkin, R.H. (2009). Treatment of neuropathic pain: an overview of recent guidelines. *Am. J. Med.*, 122(10), 22-32.
- Ossipov, M.H., Dussor, G.O., Porreca, F. (2010). Central modulation of pain, *J. Clin. Invest.*, 120 (11), 3779-3787.
- Ossipov, M.H., Morimura, K., Porreca, F. (2014). Descending pain modulation and chronification of pain. *Curr. Opin. Support Palliat. Car.*, 8(2), 143-151.
- Pathan, H., Williams, J. (2012). Basic opioid pharmacology: an update. *Br. J. Pain*, 6(1), 11-16.
- Pertovaara, A. (2006). Noradrenergic pain modulation. *Prog. Neurobiol.*, 80 (2), 53-83.
- Pertovaara, A. (2013). The noradrenergic pain regulation system: a potential target for pain therapy. *Eur. J. Pharm.*, 716(1-3), 2-7.
- Petersen, M., Simmonds, M. S. (2003). Rosmarinic acid. *Phytochemistry*, 62(2), 121-125.
- Pinto, M., Castro, A.R., Tshudy, F., Wilson, S.P., Lima, D., Tavares, I. (2008). Opioids modulate pain facilitation from the dorsal reticular nucleus. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 39(4), 508-518.
- Porsolt, R.D., Lemaire, M., Dürmüller, N., Roux, S. (2002). New perspectives in CNS safety pharmacology. *Fundam. Clin. Pharmacol.*, 16(3), 197–207.
- Raafat, K., Wurglics, M., Schubert-Zsilavecz, M. (2016). *Prunella vulgaris* L. active components and their hypoglycemic and antinociceptive effects in alloxan-induced diabetic mice. *Biomed. Pharmacother.*, 84, 1008-1018.
- Rahbardar, M.G., Amin, B., Mehri, S., Mirnajafi-Zadeh, S.J., Hosseinzadeh, H. (2017). Anti-inflammatory effects of ethanolic extract of *Rosmarinus officinalis* L. and rosmarinic acid in a rat model of neuropathic pain. *Biomed. Pharmacother.*, 86, 441-449.
- Rahbardar, M.G., Amin, B., Mehri, S., Mirnajafi-Zadeh, S.J., Hosseinzadeh, H. (2018). Rosmarinic acid attenuates development and existing pain in a rat model of

- neuropathic pain: an evidence of anti-oxidative and anti-inflammatory effects. *Phytomedicine*, 40, 59-67.
- Sandkühler, J., Benrath, J., Brechtel, C., Ruscheweyh, R., Heinke, B. (2000). Synaptic mechanisms of hyperalgesia. *Prog. Brain Res.*, 129, 81-100.
- Savrun F. (2017). Ağrıda Nörofizyolojik Yöntemlerin Yeri. *Türk Klinikleri Dergisi Nöroloji*, 10(4), 339-347.
- Schaible, H.G. (2006). Peripheral and central mechanisms of pain generation. Stein, C. (Ed.), *Analgesia içinde* (s. 3-28). Leipzig: Springer.
- Scholz, J., Finnerup, N.B., Attal, N., Aziz, Q., Baron, R., Bennett, M. I., Benoliel, R., Cohen, M., Cruccu, G., Davis, K.D., Evers, S., First, M., Giamberardino, M. A., Hansson, P., Kaasa, S., Korwisi, B., Kosek, E., Lavand'Homme, P., Nicholas, M., Treede, R.D. (2019). The IASP classification of chronic pain for ICD-11: Chronic neuropathic pain. *Pain*, 160(1), 53.
- Schwenkreis, P., Scherens, A., Rönnau, A.K., Höffken, O., Tegenthoff, M., Maier, C. (2010). Cortical disinhibition occurs in chronic neuropathic, but not in chronic nociceptive pain. *BMC Neuroscience*, 11(1), 1-10.
- Seibt, F. and Schlichter, R. (2015). Noradrenaline-mediated facilitation of inhibitory synaptic transmission in the dorsal horn of the rat spinal cord involves interlaminar communications. *Eur. J. Neurosci.*, 42 (9), 2654-2665.
- Serpell, M. (2008). Handbook of Pain Management. Londra: Springer Healthcare Limited.
- Shi, X.Q., Lim, T.K., Lee, S., Zhao, Y.Q., Zhang, J. (2011). Statins alleviate experimental nerve injury-induced neuropathic pain. *Pain*, 152(5), 1033-1043.
- Shu, H., Arita, H., Hayashida, M., Zhang, L., An, K., Huang, W. and Hanaoka, K. (2010). Anti-hypersensitivity effects of Shu-jing-huo-xue-tang, a Chinese herbal medicine, in CCI-neuropathic rats. *J. Ethnopharmacol.*, 131 (2), 464-470.
- Sindrup, S.H., Andersen, G., Madsen, C., Smith, T., Brøsen, K., Jensen, T.S. (1999). Tramadol relieves pain and allodynia in polyneuropathy: a randomised, double-blind, controlled trial. *Pain*, 83(1), 85-90.

- Sindrup, S.H., Gram, L.F., Brøsen, K., Eshøj, O., Mogensen, E.F. (1990). The selective serotonin reuptake inhibitor paroxetine is effective in the treatment of diabetic neuropathy symptoms. *Pain*, 42(2), 135-144.
- Smith, B.H., Torrance, N. (2010). Epidemiology. M.I. Bennett (Ed.), *Neuropathic pain* içinde (s. 17-25). New York: Oxford University Press Inc
- Smith, B.H., Torrance, N. (2012). Epidemiology of neuropathic pain and its impact on quality of life. *Curr. Pain Headache. Rep.*, 16 (3), 191-198.
- Sommer, C. (2013). Neuropathic pain model, chronic constriction injury. *Encyclopedia of Pain*, 2072-2075.
- Stevenson, G.W., Giuvelis, D., Cormier, J., Cone, K., Atherton, P., Krivitsky, R., Bilsky, E.J. (2020). Behavioral pharmacology of the mixed-action delta-selective opioid receptor agonist BBI-11008: studies on acute, inflammatory and neuropathic pain, respiration, and drug self-administration. *Psychopharmacology*, 237, 1195-1208.
- Stone, L.S., MacMillan, L.B., Kitto, K.F., Limbird, L.E., Wilcox, G.L. (1997). The alpha2a adrenergic receptor subtype mediates spinal analgesia evoked by alpha2 agonists and is necessary for spinal adrenergic-opioid synergy. *J. Neurosci.*, 17 (18), 7157-7165.
- Takeuchi, Y., Takasu, K., Ono, H., Tanabe, M. (2007). Pregabalin, S-(+)-3-isobutylgaba, activates the descending noradrenergic system to alleviate neuropathic pain in the mouse partial sciatic nerve ligation model. *Neuropharmacology*, 53(7), 842-853.
- Tao, R., Auerbach, S.B. (2002). Opioid receptor subtypes differentially modulate serotonin efflux in the rat central nervous system. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 303 (2), 549-556.
- Treede, R.D. (2006). Pain and hyperalgesia: definitions and theories. F. Cervero and T.S. Jensen (Eds.), *Pain*, volume 81 (handbook of clinical neurology) içinde (s. 3-10). Amsterdam: Elsevier B.V.
- Ulugöl, A. (2009). Nöropatik ağrı hayvan modelleri. 20. *Ulusal Farmakoloji Kongresi, Kongre Özet Kitabı* içinde (100-102). Antalya, Türkiye.

- Velioğlu S.K. (2017). Ağrı Anatomisi: Ağrı Yolakları, Beyin Sapı ve Beyin. *Türkiye Klinikleri J. Neur.*, 10(4), 329-335.
- Verma, V., Singh, N., Singh Jaggi, A. (2014). Pregabalin in neuropathic pain: evidences and possible mechanisms. *Curr. Neuropharmacol.*, 12(1), 44-56.
- Vranken, H.J. (2012). Elucidation of pathophysiology and treatment of neuropathic pain. *Cent. Nerv. Syst. Agents Med. Chem.*, 12(4), 304-314.
- Vranken, J.H. (2013). Neuropathic pain following spinal cord injury. C. Toth and D.E. Moulin (Ed.), *Neuropathic pain: causes, management, and understanding* içinde (s. 145-156). New York: Cambridge University Press
- Vrinten, D.H., Gispen, W.H., Kalkman, C.J., Adan, R.A.H. (2003). Interaction between the spinal melanocortin and opioid systems in a rat model of neuropathic pain. *Anesthesiology*, 99(2), 449–454.
- Whiteside, G.T., Harrison, J., Boulet, J., Mark, L., Pearson, M., Gottshall, S., Walker, K. (2004). Pharmacological characterisation of a rat model of incisional pain. *Br. J. Pharmacol.*, 141(1), 85-91.
- Woolf, C.J. (1996). Windup and central sensitization are not equivalent. *Pain*, 66(2), 105-108.
- Woolf, C.J., Mannion, R.J. (1999). Neuropathic pain: Aetiology, symptoms, mechanisms, and management. *Lancet*, 353(9168), 1959-1964.
- Wrigley, P.J., Press, S.R., Gustin, S.M., Macefield, V.G., Gandevia, S.C., Cousins, M.J., Middleton, J.W., Henderson, L.A., Siddall, P.J. (2009). Neuropathic pain and primary somatosensory cortex reorganization following spinal cord injury. *Pain*, 141(1-2), 52-59.
- Wu, F.X., Pan, R.R., Yu, W.F., Liu, R. (2014). The anti-nociception effect of dezocine in a rat neuropathic pain model. *Transl. Perioper. Pain Med.*, 1(1), 5-8.
- Yağcı, Ü, Saygın, M. (2019). Pain Physiopathology. *Med. J. SDU.*, 26(2), 209-220.
- Yalcin, I., Choucair-Jaafar, N., Benbouzid, M., Tessier, L. H., Muller, A., Hein, L., Barrot, M. (2009). β 2-adrenoceptors are critical for antidepressant treatment of neuropathic pain. *Ann. Neurol.*, 65(2), 218-225.

- Yalcin, I., Tessier, L.H., Petit-Demoulière, N., Waltisperger, E., Hein, L., Freund-Mercier, M.J., Barrot, M. (2010). Chronic treatment with agonists of β 2-adrenergic receptors in neuropathic pain. *Exp. Neurol.*, 221(1), 115-121.
- Zhao, X., Xu, Y., Zhao, Q., Chen, C. R., Liu, A. M., & Huang, Z. L. (2012). Curcumin exerts antinociceptive effects in a mouse model of neuropathic pain: descending monoamine system and opioid receptors are differentially involved. *Neuropharmacology*, 62(2), 843-854.
- Zurowski, D., Nowak, L., Machowska, A., Wordliczek, J., Thor, P.J. (2012). Exogenous melatonin abolishes mechanical allodynia but not thermal hyperalgesia in neuropathic pain. The role of the opioid system and benzodiazepine-gabaergic mechanism. *J. Physiol. Pharmacol.*, 63(6), 641-647.
- Cutler, E.D., Furukawa, K.T. (2006). Neuropathic pain: Treatment Options Report. *California Health Care Foundation'da* sunulan bildiri,
<http://www.chcf.org/~media/MEDIA%20LIBRARY%20Files/PDF/P/PDF%20PDIPNeuropathicPainTOR.pdf> (Eriřim tarihi: 16.05.2021).
- Tan, E. (2006). Nöropatik ağrı ve tedavisi. 8. *Ulusal İç Hastalıkları Kongresi'nde* sunulan bildiri, <http://www.tihud.org.tr/uploads/content/kongre/8/35.pdf> (Eriřim tarihi: 16.05.2021).