

T.C.  
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON  
ANABİLİM DALI

**RATLARDA OLUŞTURULAN NÖROPATİK  
AĞRI MODELİNDE GABAPENTİN VE NİTRİK  
OKSİTİN ANTİNOSESİPSİYONA ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. FİLİZ SEKDUR

DANIŞMAN

Doç. Dr. Osman Nuri AYDIN

**AYDIN 2009**

Bu araştırma Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TPF 07-017 numaralı proje olarak desteklenmiştir.

## TEŞEKKÜR

Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakóltesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı'nda asistanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, tezimin hazırlanmasında değerli öneri ve yapıcı eleştirileri ile beni destekleyen değerli hocam ve tez danışmanım Doç. Dr. Osman Nuri AYDIN'a, Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Feray GÜRİSOY'a, Doç. Dr. İbrahim KURT'a, Doç. Dr. M. Nil KAAAN'a, Doç. Dr. Bakiye UĞUR'a, Doç. Dr. Selda ŞEN'e, Yrd. Doç. Dr. Mustafa OĞURLU'ya teşekkür ederim. Laboratuar çalışmaları esnasında yardımcı olan Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakóltesi Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri Yrd. Doç. Dr. Sadun TEMUÇİN'e ve Doç. Dr. Onur EK'e, Fizyoloji Anabilim dalı asistan doktorları Dr. Serpil ÇEÇEN'e ve Dr. Bilge ALAÇAM'a teşekkür ederim. Ayrıca istatistik çalışmalarında bilgi ve deneyimlerini bizlerle paylaşan Doç. Dr. Mevlüt TÜRE'ye de teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

### ÖN BÖLÜM

TEŞEKKÜR YAZISI

İÇİNDEKİLER

TABLO DİZİNİ

ŞEKİL DİZİNİ

RESİM DİZİNİ

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

### ANA BÖLÜM

GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	2
GEREÇ VE YÖNTEM .....	18
BULGULAR.....	26
TARTIŞMA.....	34
SONUÇ.....	42

### SON BÖLÜM

ÖZET.....	43
SUMMARY.....	44
KAYNAKLAR.....	45

## **TABLO DİZİNİ**

<b>Tablo 1:</b> Gruplara göre intraperitoneal olarak verilen ilaçlar ve dozları .....	21
---	----

## ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 1: Çıkan ağrı yolları.....	4
Şekil 2: İnen ağrı yolları .....	5
Şekil 3: Gabapentinin kimyasal yapısı .....	11
Şekil 4: Sıçanların başlangıç ve deneyin sonundaki ortalama kilo değerleri .....	26
Şekil 5: Grupların 5. gündeki von Frey değerleri .....	27
Şekil 6: Grupların 10. gündeki von Frey değerleri.....	28
Şekil 7: Grupların 15. gündeki von Frey değerleri .....	29
Şekil 8: Grupların 21. gündeki von Frey değerleri.....	30
Şekil 9: G30+NO grubunun von Frey değerleri ortalamaları.....	32

## **RESİM DİZİNİ**

<b>Resim 1:</b> CCI modelinde cilt insizyonu .....	19
<b>Resim 2:</b> CCI modelinde kas gruplarının ayrımı .....	19
<b>Resim 3:</b> CCI modelinde siyatik sinirin bağlanması .....	20
<b>Resim 4:</b> CCI modelinde cildin kapatılması .....	20
<b>Resim 5:</b> Von Frey cihazı ile ölçüm öncesi ratların ortama uyum aşaması .....	22
<b>Resim 6:</b> Von Frey cihazı ile mekanik ağrı eşiği ölçümü .....	23
<b>Resim 7:</b> Von Frey ile ölçümlerde ratın ayağını çektiği kuvvetin bilgisayar ekranındaki görüntüsü.....	23
<b>Resim 8:</b> Hot-plate cihazı ile sıcak ağrı eşiği ölçümü.....	24

## **SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ**

**NO:** Nitrik Oksit

**IASP:** International Association for the Study of Pain (Uluslararası Ağrı Araştırmaları Derneği )

**NaCl:** Sodyumklorür

**mL:** mililitre

**ARAS:** Assendan (Çıkan) retiküler aktive edici sistem

**ED:** Endorfin

**EK:** Enkefalinergic

**NA:** Noradrenalin

**5-HT:** 5 Hidroksitriptamin

**NMDA:** N- metil D- aspartat

**DRG:** Dorsal (Arka ) kök gangliyonu

**MAPK:** Mitojen Aktive Edici Protein Kinaz

**TENS:** Transkutan Elektriksel Sinir Stimülasyonu

**GABA:** Gamaaminobutirik asit

**Cmax'a:** Ortalama plazma doruk konsantrasyonu

**EDRF:** Endotel-kaynaklı gevşetici faktör

**NOS:** Nitrik oksit sentaz

**iNOS:** İndüklenebilir NOS

**nNOS:** Nöronal NOS

**eNOS :** Endotelyal NOS

**cGMP:** Siklik guanosin monofosfat

**ATP:** Adenozin trifosfat

**DNA:** Deoksiribonükleik asit

**CCI:** Chronic Constriction Injury (Kronik Sıkıştırma Hasarı )

**PSNL:** Parsiyel Siyatik Sinir Ligasyonu

**SNL:** Spinal Sinir Ligasyonu

**SF:** Serum Fizyolojik

**G30:** Gabapentin 30 mg/kg

**G30+NO:** Gabapentin 30 mg/kg+Nitrogliserin 1 mg/kg

**G100:** Gabapentin 100 mg/kg

**G100+NO:** Gabapentin 100 mg/kg+Nitrogliserin 1 mg/kg

**G300:** Gabapentin 300 mg/kg

**G300+NO:** Gabapentin 300 mg/kg+Nitrogliserin 1 mg/kg

**NGF:** Nerve growth faktör (Sinir büyüme faktörü)

**İV:** İntravenöz

**İP:** İntraperitoneal

**VOCCs:** Voltage-operated  $Ca^{2+}$  kanalları (Voltaj bağımlı  $Ca^{2+}$  kanalları)

**mg:** miligram

**kg:** kilogram

**µg:** mikrogram

**g:** gram

**mm:** milimetre

**ICV:** İntraserebroventriküler

**L-NAME:** L-N<sup>G</sup>-nitroarginine methylester

**L-NMMA:** L-N<sup>G</sup>- nitroarginine methylasetat



## 1.GİRİŞ VE AMAÇ

Nöropatik ağrı, sinir sisteminin herhangi bir bölümünün hasarı ve/veya disfonksiyonundan kaynaklanır. Spontan yanma, hiperaljezi ve allodini ile karakterize olan nöropatik ağrı, periferel ve santral kompenenti olan kompleks bir durumdur. Günümüze kadar konu ile ilgili olarak çeşitli insan ve hayvan çalışmaları yapılarak patofizyolojisi açıklanmaya çalışılmış ve buna bağlı olarak da tedavi seçenekleri geliştirilmiştir. Antidepresanlar, antikonvülzanlar, antiaritmikler, nonopioidler ve opioidler nöropatik ağrı tedavisinde kullanılmakta olan ilaçlardır (1).

Araştırmalar, analjezik etkili yeni ilaçların bulunmasına yönelik olmakla birlikte, analjezik etkisi olmayan ancak bir analjeziğin etkisini artırabilecek dolayısıyla analjeziklerin daha düşük dozlarda kullanılarak yan etkilerini azaltacak yardımcı ilaçların geliştirilmesine de olanak sağlamaktadır.

Gabapentin 1993 yılından beri kullanılan bir antiepileptiktir ve diğer antikonvülzanların aksine sodyum kanalları üzerine etkisi yoktur. Yapılan çalışmalarda ilacın çeşitli nöropatik ağrı sendromlarında etkili olduğu gösterilmiştir (1-4). Voltaj bağımlı  $Ca^{+2}$  kanallarının  $\alpha_2\delta$ -1 subunitine bağlanarak etkili olduğu düşünülmektedir (5).

Nitrogliserin, nitrik oksit oluşumu için substrat olarak görev yapar. Nitrik Oksit (NO), farklı hücre türlerinde sentezlenir. Oldukça farklı ve zıt etkileri bulunmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda nitrogliserinin düşük dozlarının (6 mg/gün altında) analjezik, yüksek dozlarının ise (30 mg/gün) hiperaljezik etkili olduğu gösterilmiştir (6,7). Hayvanlarda yapılan deneysel çalışmalarda NO donörlerinin hiperaljezik etki gösterebileceği, bunun da kullanılan ajanın dozu, uygulama yolu, dağılımı ve farmakokinetiği ile bağlantılı olacağı belirtilmiştir (8).

Literatürde çeşitli ilaçlarla birlikte kullanılan nitrik oksitin, bu ilaçların etkisini değiştirdiğini gösteren bazı çalışmalara rastlamakla birlikte, son yıllarda nöropatik ağrı tedavisinde oldukça yaygın olarak kullanılan Gabapentinin, nitrik oksit ile birlikte kullanıldığı bir çalışmaya rastlayamadık.

Bu çalışmayla; nitrik oksit prekürsörü olan nitrogliserinin gabapentinin farklı dozları ile birlikte ve ayrı olarak uygulanmasının, ratlarda deneysel olarak oluşturulan nöropatik ağrı üzerine analjezik etkinliğini artırıp arttırmayacağını bakmayı amaçladık.

## 2.GENEL BİLGİLER

Evrensel bir deneyim olan ve yüzyıllardır insanoğlu tarafından açıklanmaya çalışılan ağrı'nın günümüzde en yaygın kabul gören tanımı, Uluslararası Ağrı Araştırmaları Derneği (IASP=International Association for the Study of Pain) tarafından yapılmıştır. Buna göre ağrı; vücudun herhangi bir yerinden kaynaklanan, varolan veya olası doku hasarına eşlik eden veya bu hasar ile tanımlanabilen, insanın geçmişteki tüm deneyimlerini kapsayan, hoşagitmeyen özel bir duygudur (9). Bu tanımlamada ağrının subjektif, emosyonel ve psikolojik yönlerinin bir araya geldiği belirgindir.

**Ağrı Sınıflaması (10).**

### 1.Nörofizyolojik Mekanizma

- a. Nosiseptif
- b. Somatik
- c. Visseral
- d. Nöropatik (nonnosiseptif)
  - i. Nöropatik
  - ii. Merkezi
  - iii.Periferik
- e. Psikojenik

### 2. Süreye bağlı

- a.Akut
- b.Kronik

### 3. Etiyolojik

- a. Kanser ağrısı
- b. Postherpetik nevralji
- c. Orak hücre anemisine bağlı ağrı
- d. Artrit ağrısı

### 4. Bölgesel ağrı

- a. Baş ağrısı
- b. Yüz ağrısı
- c. Bel ağrısı
- d. Pelvik ağrı

## 2.1.NOSİSEPTİF AĞRI

Doku hasarına neden olan termal, mekanik ve kimyasal uyarılara yanıt veren serbest sinir uçlarına “nosiseptör” ve doku hasarı ile ağrının algılanması arasında oluşan elektrokimyasal olaylar serisinin bütününe “nosisepsiyon” denir (11).

Nosiseptörler, sinir sistemi dışında tüm doku ve organlarda bulunan reseptörlerdir. Periferik sinirler A (Alfa, beta, gama, delta), B ve C grubu olarak sınıflandırılmıştır. Ağrı ile ilgili bilgileri spinal kordun arka boynuzuna taşıyan reseptörler A delta mekanotermal ve C polimodal nosiseptörlerdir. A-delta afferent lifler miyelinli ve ince çaplıdır (2-5 µm). Mekanik uyarılara yanıt verir. Keskin ve batıcı tarzdaki ağrının hızlı iletiminde (5-30 m/sn) rol alırlar (12,13). C afferent lifler ince çaplı (1.2 µm) ve miyelinsizdir. Yüksek şiddetteki mekanik, kimyasal ve termal uyarılarla aktifleşirler. C-polimodal reseptörler de denilen bu lifler künt ağrının yavaş iletiminde (0.5-2 m/sn) rol alırlar (12).

Nosiseptif ağrı dört fizyolojik aşamada algılanır. Bu aşamalar, transdüksiyon, transmisyon, modülasyon ve persepsiyondur (14,15). Transdüksiyon ve transmisyon periferde, modülasyon medulla spinaliste, persepsiyon ise ağrının santral sinir sistemine iletiminde ve algılanmasında rol alır (16).

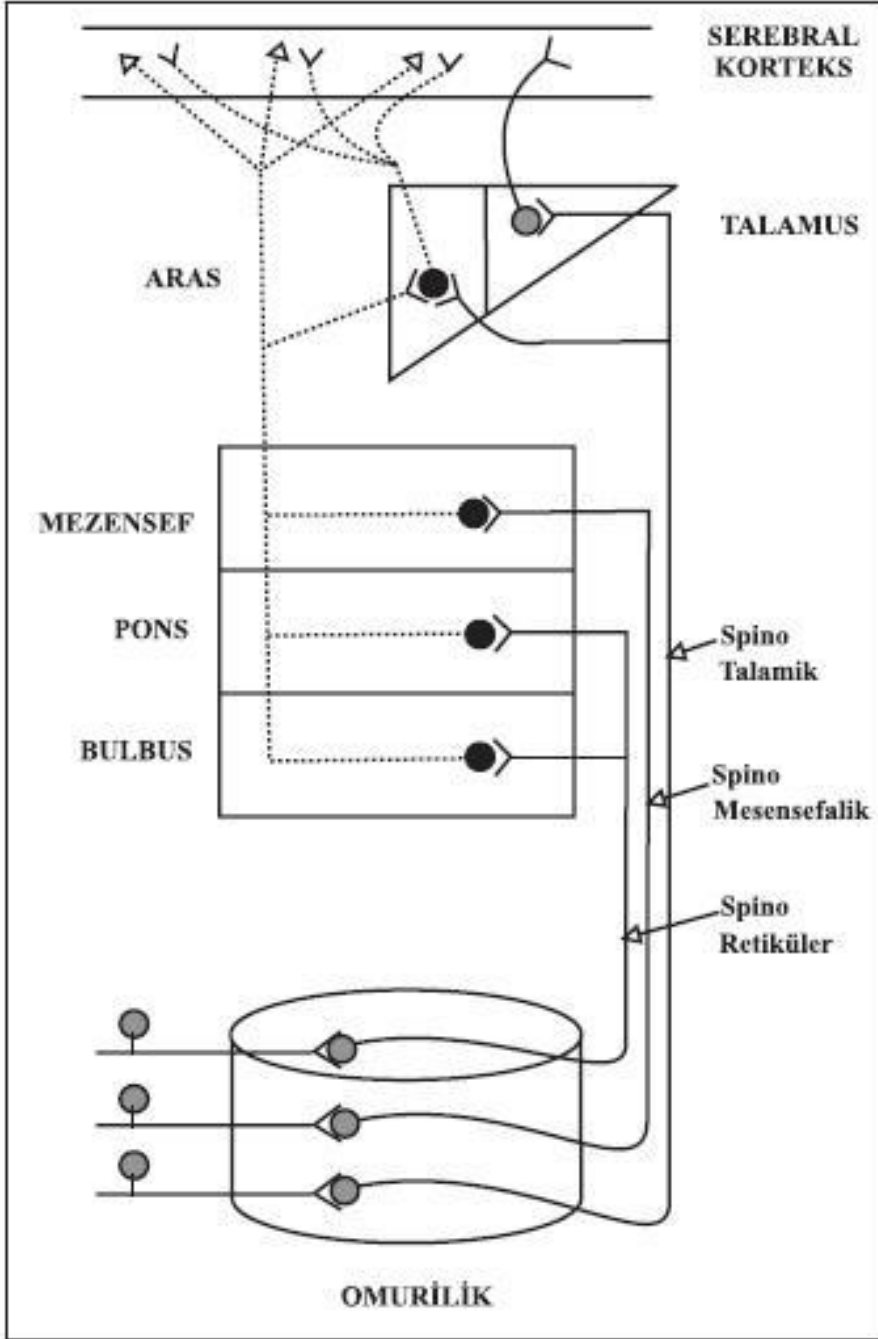
**A) Transdüksiyon:** Mekanik, termal ve kimyasal uyarıların nosiseptörler tarafından elektriksel aktiviteye dönüştürülmesidir (14,15).

**B) Transmisyon:** Ağrı bilgisinin A-delta ve C lifleri ile periferden, spinal korda ve üst merkezlere iletilmesidir. Bu iletimde spinotalamik, spinoretiküler, spinomezensefalik, spinohipotalamik ve dorsal kolon yolları görev alır (Şekil 1) (17,18).

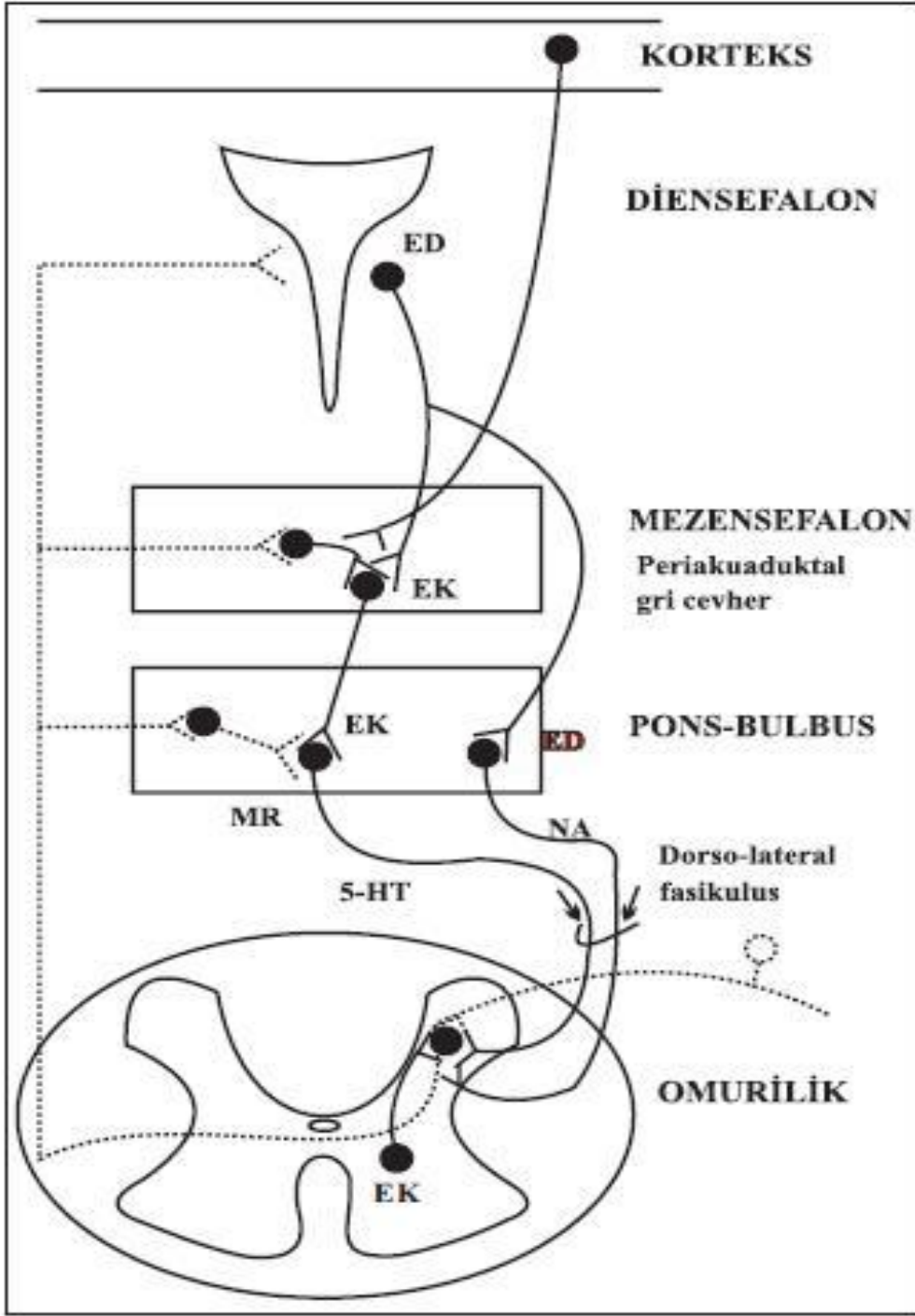
**C) Modülasyon:** Ağrılı uyarının spinal kord düzeyinde değişikliğe uğramasıdır. Primer afferent nosiseptörler doğrudan spinal kord arka boynuzuna gelerek burada üç gruba ayrılır. Projeksiyon nöronları, eksitatör ara nöronlar ve inhibitör nöronlar adı verilen bu nöronların her biri, ağrının algılanmasında ayrı ayrı önemli rol oynamaktadır (11).

Modülasyonda etkili en önemli mekanizmalardan biri '**Kapı kontrol teorisidir**'. Melzack ve Wall tarafından 1965'de ileri sürülmüştür. Aktive olan kalın ve ince çaplı periferik afferentler, dorsal boynuzun derin bölgelerindeki T hücrelerini aktive eder. T hücreleri kalın lifler ile uyarıldığında; iletimi inhibe eden substantia gelatinosa hücreleri (inhibitör nöronlar) aktive olur. Uyarı üst merkezlere ulaşamaz. İnce çaplı lifler ile uyarı geldiğinde substantia gelatinozadaki eksitatör lifler uyarılır, uyarılar üst merkezlere iletilir ve ağrı olarak algılanır. Böylece ağrının algılanması; kalın ve ince çaplı lifler ve üst merkezlerden inen inhibitör yolların substantia gelatinosa hücreleri üzerindeki net etkisi ile oluşur. Uyarı uzadıkça zaman kalın lifler adapte olur ve ince lifler baskınlaşmaya başlar. (14). Bu duyarlılık nöropatik ağrı algılanmasında da etkili olur.

**D) Persepsiyon:** Spinal korddan geçen uyarının, çeşitli çıkan yollar ile üst merkezlere doğru iletilip, ağrının algılanmasıdır (Şekil 2) (16,17).



**Şekil 1:** Çıkan ağrı yolları (“Ağrı ve Tedavisi” isimli kitaptan yazarın izni ile alınmıştır) (17)



**Şekil 2:** İnen ağrı yolları (“Ağrı ve Tedavisi” isimli kitaptan yazarın izni ile alınmıştır) (17)

(ARAS: Assendan retiküler aktive edici sistem, ED: Endorfin, EK: Enkefalinerjik, NA: Noradrenalin, 5-HT: 5 Hidroksitriptamin)

## 2.2 NÖROPATİK AĞRI

Uluslararası Ağrı Araştırmaları Derneği nöropatik ağrıyı, sinir sisteminin herhangi bir bölümünün hasarı ve/veya disfonksiyonundan kaynaklanan ağrı olarak tanımlamaktadır (19).

Nöropatik ağrı nöronların kompresyonu, kesisi, iskemisi, infiltrasyonu, veya hasarı sonucunda oluşabilir. Vücudun herhangi bir yerinden ortaya çıkan nöropatik ağrı periferik sinir sisteminden, santral sinir sisteminden ya da otonom sinir sisteminden kaynaklanabilir. Buna göre; santral kaynaklı ve periferik kaynaklı nöropatik ağrı olarak sınıflandırılabilir (1). Klinik olarak periferik nöropati ve santral nöropati keskin sınırlarla birbirinden ayıramamaktadır. Zaman içinde periferik nöropatiler santralize olabilmektedir. Otonom sinir sistemi de nöropatik ağrıya yaygın olarak rol oynar. Otonom sinir sisteminden kaynaklanan nöropatik ağrılar kompleks rejyonel ağrı sendromları adı altında incelenmektedir.

### Nöropatik Ağrı Mekanizmaları

Nöropatik ağrıya yol açan mekanizmalar henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Sinir hasarı sonrası **periferde** nosisepsiyona karşı ağrı eşiği düşer (Periferik sensitizasyon) . Sinir kesisini takiben nöronal hücrede atrofiden rejenerasyona kadar değişebilen olaylar meydana gelir. Ayrıca sinir kesisine bağlı olarak **gen ekspresyonunda** da değişiklik olur. Bu da patolojik uyarılabilirlik gibi kompleks olaylar ile sonuçlanır ve **ektopik deşarjlara** yol açar (10,14,20,21). Sinir lifinin hasarlanmış ucunda filizlenmeler meydana gelir (nöroma). Filizlenmelerin oluştuğu sinirler çeşitli kimyasal maddeler (histamin, bradikinin, serotonin) ile uyarıldıklarında abartılı yanıtlar verirler (20,21). Nöroma afferent hipereksitabilite alanıdır ve ektopik deşarjların kaynağıdır. Nöromalarda sodyum kanalları aşırı bir şekilde artar (20,21). Sensoriyal nöronlarda tetradoksine duyarlı ve tetradoksine dirençli olmak üzere iki tip sodyum kanalı bulunmaktadır. Tetradoksine duyarlı olan sodyum kanalları, bütün sensoriyal nöronlarda bulunur ve aksiyon potansiyelinin başlatılmasından sorumludur. Tetradoksine dirençli sodyum kanalları da nosiseptör sensoriyal nöronlarda mevcuttur, aktivasyonu ve inaktivasyonu daha yavaştır ve patolojik ağrı durumlarında önemlidir. Sinir hasarı sonrasında her iki sodyum kanalı da akson boyunca ve nöromada artar. Bunun sonucu olarak **hipereksitabilite ve ektopik aksiyon potansiyelleri** oluşur (19).

Sinir filizlenmeleri ve nöromalarda yüzey reseptörlerindeki modifikasyonlar ya da reseptörlerin immatür olmaları da anormal duyarlılık ve ektopik deşarjların nedeni olabilir (20). Sinir hasarı sonucu meydana gelen gen ekspresyonundaki değişikliklere bağlı olarak bazı A liflerinde fenotipik değişim meydana gelir. Normalde ağrı iletiminde rol almayan A beta lifleri nosiseptif bir fenotip kazanır (21).

Periferik sinir sisteminin hasarı dorsal boynuz hücrelerinde ve supraspinal düzeyde çeşitli değişikliklere yol açar. Bu, **dorsal boynuz nöronlarının artmış eksitasyonu** ve normal **inhibitör kontrol mekanizmasının bozulması** sonrası “**Santral Mekanizmalar**” aktifleşmektedir. Dorsal boynuz nöronlarında reseptör miktarı ve santral transmitter seviyesinde değişiklik oluşur. Bu değişiklikler sonucu **wind-up, santral sensitizasyon** ve **uzun süreli polarizasyon** oluşur (21,22). Wind-up, C liflerinin sürekli uyarılmaları sonucunda NMDA (N- metil D- aspartat) reseptörlerinde voltaj bağımlı magnezyum bloğunun kalkması sonucunda gelişir. Santral sensitizasyon ise dorsal boynuzda posttranslasyonel değişikliklerin sonucudur ve santral sensitize olmuş nöronlar uyarılara saatler sonra bile duyarlıdırlar. NMDA reseptörlerinde posttranslasyonel değişiklikler sonucunda hücrede depolarizasyon yokken magnezyum bloğu ortadan kalkar, kanal kinetiklerindeki değişiklikler sonucunda kanalların açık kalma süreleri uzar. Dorsal boynuz nöronlarının uyarılma eşikleri düşer. Postsinaptik dorsal boynuz nöronları kendi aktivitelerini prostaglandinler (PGE2) ve Nitrik Oksit salgılanması yoluyla presinaptik nöronlar gibi kontrol eder (20,21).

Santral sensitizasyona uğramış nöronlar daha önceki uyarıları hatırlar. Santral sensitizasyon ağrı hafızasının gelişimsel kaynağını yansıtabilir (21). Dorsal kök gangliyonu (DRG) ve dorsal boynuzda sensitivitenin başlamasında yer alan birçok ikinci mesajcı kaskadları mevcuttur. Bunlardan bazıları; Protein kinaz A, Protein kinaz C, Nitrik Oksit Sentaz ve Mitojen Aktive Edici Protein Kinaz (MAPK) dır (20,21). Mitojen Aktive Edici Protein Kinazın santral sensitizasyonda majör rol oynadığı düşünölmektedir (21).

Nöropatik ağrının oluşmasında sempatik sinir sisteminin de önemli bir yeri vardır. Sinir hasarı hatta küçük bir travma dahi sempatik aktivitede bozukluğa neden olabilir (22). Periferik sinir hasarından sonra hasarlı alanda lokal sempatik terminallerin filizlenmesinde artış olur. Ayrıca DRG’de sempatik terminaller vardır. Buradaki sempatik innervasyon da sinir hasarı sonrasında artar (23). Artan sempatik filizlenmeler sensitivitede artışa neden olur (21,23).

A beta lifleri dorsal boynuzda lamina II dışında tüm laminalarda sonlanır. Sinir hasarı sonrası A beta lifleri reorganize olarak dorsal boynuz içinde filizlenmeler gösterir ve C lifleri ile temas eder. Bunun sonucunda A beta lifleriyle taşınan ve normalde ağrı nedeni olmayan uyarılar da ağrı oluşturabilir (20-22).

Dorsal boynuz inhibitör nöronlarının eksitotoksik hücre ölümleri nedeniyle dezinhibisyon (inhibisyon kaybı) gelişir. Bu dorsal boynuz nöronlarında periferel sinir harabiyeti sonrası gelişen aşırı duyarlılığın bir diğer mekanizmasıdır (14,21,24).

Nöropatik ağrının santral mekanizmaları arasında ayrıca hipotalamik bozukluklar, alternatif sekonder çıkıcı yolların aktivasyonu, deafferente santral duyusal nöronların anormal paterni, deafferente nosiseptif retikülotalamik yolların hiperaktivitesi de sayılabilir (25). Bunların sonucunda ağrı algılama alanında değişiklik meydana gelir, böylece spinal nöron sadece kendi alanında değil, diğer alanlarda da etkili olur (10,22).



## **Nöropatik Ağrı Nedenleri (1).**

### **A) Periferik Nedenler**

#### **Mononöropatiler/Multiple mononöropatiler**

-Travma; bası, kesi, skar

-Diabetik nöropati

-Amniotrofi

-Konnektif doku hasarı

-Malign/ radyasyon pleksopati

#### **Polinöropatiler**

-Metabolik

Nutrisyonel: alkolik,

    pellegra,

    beriberi,

    amiloid

-İlaç/Toksik

    İzoniazid,

    Sisplatin,

    Disulfiram

-Enfektive

    HIV, gullian barre

-Herediter

    Fabry hastalığı

### **B) Santral Nedenler**

#### **Arka kök ve ganglion**

##### **Disk prolapsı**

-Araknoidit

-Postharpetik nevrалji

-Trigeminal nevrалji

#### **Spinal kord**

-Travma

-Syringomyeli

-Multiple skleroz

-Vasküler nedenler

-Vitamin B12 Eksikliği

-HIV

-Sifiliz

#### **Boyun sapı**

-Multiple skleroz

-Syrinks

#### **Talamus**

-Enfarkt

-Kanama

## **Klinik Özellikler**

Sinir sisteminin hasarına bağlı olarak ortaya çıkan belirtiler bir dizi semptomların çeşitli kombinasyonlarını içerir.

Semptomlar:

Dizestezi: Spontan olarak veya bir uyararla, ağrılı bir his duyma.

Parestezi: Spontan olarak veya bir uyararla karıncalanma gibi ağrılı olmayan bir his duyma.

Hiperestezi: Bir uyarıyı normalden daha fazla hissetme (ağrı hariç).

Hiperaljezi: Ağrılı bir uyarıyı normalden daha ağrılı duyma.

Allodini: Normalde ağrılı olmayan bir uyararla ağrı duyma.

Hastalar nöropatik ağrıyı “yakıcı”, “vurucu”, “batıcı”, “delici”, “kesilir gibi”, “zonklayıcı”, “elektrik çarpması gibi” şeklinde tanımlarlar. Nöroseptör C liflerindeki spontan aktivite bir yandan sürekli yakıcı ağrıya neden olurken bir yandan da arka boynuz nöronlarını duyarlılaştırır. Kalın miyelinli A liflerinin spontan aktivitesi ise spontan paretezilerden sorumludur ve santral duyarlılık geliştikten sonra dizestezi ve ağrı kaynağı haline gelir (26).

Sempatik sinir sistemi tutulumu olduğunda otonomik disfonksiyona bağlı renk değişikliği, terleme bozukluğu, tırnaklarda dejenerasyon, deri atrofisi gibi değişiklikler ortaya çıkarır. Bu değişiklikler yanma, hiperaljezi ve allodiniye eşlik eder. Vazomotor, sudomotor aktivite değişikliği gibi klinik olarak otonomik değişiklikler olmasına karşın ağrı her zaman sempatik blokaja yanıt vermemektedir (10,14,21,25).

## **Nöropatik Ağrı’da Tanı**

İyi anemnez ile ağrının yeri, şiddeti, süresi, niteliği, arttıran-azaltan faktörler ve dağılımı hakkında fikir edinilir. Doğru tanı doğru tedaviyi sağlar. Motor sistem ve duyuşal sistem muayeneleri dikkatli şekilde yapılmalıdır. Allodini ve hiperaljezi muayeneleri özellikle yapılmalıdır.

Laboratuvar incelemeleri, elektromiyografi, elektronörografi ve manyetik rezonans görüntüleme tetkikleri yapılmalıdır.

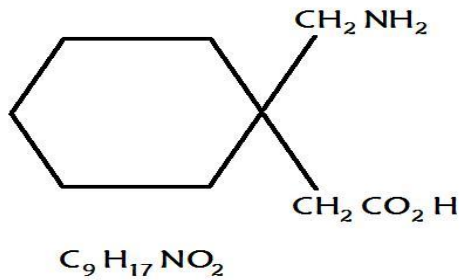
Parasempatik ve sempatik akson reflekslerini değerlendirmek için otonomik testler yapılabilir. Etyolojik nedenin ortaya konmasında ve sinirde oluşturduğu hasarı belirlemede histopatolojik inceleme gereklidir.

### Nöropatik Ağrı Tedavisi

Patofizyolojinin daha iyi anlaşılıp yeterli tedavi sağlamak için günümüzde çeşitli hayvan modelleri ile çalışmalar yapılmasına, yeni tedavi seçenekleri geliştirilmesine rağmen, halen tam olarak yeterli analjezi sağlanamamaktadır. Nöropatik ağrının tedavisinde altta yatan etyolojik mekanizmalar göz önünde bulundurulmalı, tedavi hastaya göre düzenlenmelidir (10,27).

Antidepresanlar, antikonvülzanlar, alfa-2-adrenoseptör agonistleri, kortikosteroidler, antiaritmikler nonopioidler ve opioidler nöropatik ağrı tedavisinde kullanılır (10). Ayrıca kapsaisin, kas gevşeticiler, somatostatin analogları, NMDA reseptör antagonistleri, kalsiyum kanal blokerleri, P maddesi ve nörokinin antagonistleri ve kolesistokinin antagonistlerinin nöropatik ağrı tedavisinde etkili olduğu, çeşitli klinik ve deneysel çalışmalarda ortaya konmuştur. Ayrıca TENS (Transkutan Elektriksel Sinir Stimülasyonu) ve sinir blokları gibi girişimsel yöntemler de kullanılmaktadır (10). Tedavide kullanılan bu ajanlar direkt olarak ağrı ile ilişkili bozukluğa yönelik olduğu gibi; hastalardaki belirtilere yönelik destek tedavisi şeklinde de kullanılabilir (21,22,25,28).

### 2.3 GABAPENTİN



Şekil 3: Gabapentinin kimyasal yapısı

Gamaaminobutirik asit (GABA) anoloğudur. Antihiperaljezik etkisini; voltaj bağımlı kalsiyum kanallarının  $\alpha_2\delta$ -1 alt ünitesine bağlanıp ve santral sensitizasyonu inhibe ederek, spinal korda glutaminerjik iletimi ve P maddesi salınımını suprese ederek gösterir (29).

Başlangıçta GABA reseptör agonisti olarak geliştirilen Gabapentinin yapılan çalışmalarda endojen GABA'nın sentezini ve sinir uçlarından salınımını arttırdığı, ancak reseptöre alınımı ve metabolizması ile bir ilgisinin olmadığı anlaşılmıştır. Son olarak NMDA-reseptör bileşkesi ile de etkileşimi olduğu ileri sürülmüştür (30).

Gabapentin gastrointestinal sistemden hızla emilir. Cmax'a (= ortalama plazma doruk konsantrasyonu) 3.2 saatte ulaşır. Proteine bağlanma anlamlı değildir. Değişmeden böbrek yolu ile atıldığından yaşlılarda ve böbrek yetersizliğinde doz düşürülmelidir. Eliminasyon yarılanma ömrü 6-8 saattir.

Gabapentinden en iyi cevabın doz yükseldikçe alındığını bildiren çalışmalar vardır. Doz titre edilerek yükseltilmelidir. Hızlı doz yükseltilmesine bağlı olarak en sık görülen yan etkiler; baş dönmesi, sersemlik hissi, sedasyon, konfüzyondur. Periferik ödem, kilo alma (diyabet kontrolünü engellemez) ve saç dökülmesi de görülebilir. Genelde iyi tolere edilir (30).

## 2.4 NİTROGLİSERİN

Nitrogliserin, damar endoteline penetre olur ve nitrik oksit oluşumu için substrat olarak görev yapar. Vasküler düz kası gevşetir, venöz dilatasyon arteryal dilatasyondan daha belirgindir. Nitrogliserinin polivinilklorid tarafından tutulması nedeniyle, cam şişeler ve özel intravenöz setlerin kullanılması tavsiye edilir. Tolerans nitrik oksit oluşumu için gerekli olan reaktanların tükenmesi, vazokonstriktif maddelerin kompensatuar sekresyonu veya hacim genişlemesi nedeniyle gelişebilir. Nitrogliserin glutatyon-organik nitrat redüktaz tarafından karaciğer ve kanda hızlı redüktif hidrolize uğrar (31).

## 2.5 NİTRİK OKSİT

### Özellikleri:

Furchgott ve Zawadzki 1980 yılında, damar endoteli tarafından salınan 'Endotel-kaynaklı gevşetici faktörü' (EDRF) tanımlamışlardır. Furchgott ve Ignarro 1986-87 yıllarında,

birbirinden bağımsız olarak EDRF'nin nitrik oksit (NO) olabileceğini iddia etmişlerdir. NO, nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi ile sentezlenir ve hem otokrin, hem de parakrin mediatör fonksiyonu görür. NOS enzim izoformlarından **iNOS** (indüklenebilir NOS), endotoksinler ve proinflamatuvar sitokinler gibi uyarılarla indüklenerek NO üretimini artırma özelliğine sahiptir. **nNOS** (nöronal NOS) sinir sistemi ve akciğer, pankreas, mide, uterus gibi bazı dokularda bulunur. **eNOS** ise (endotelial NOS ) endotel hücrelerde bulunur.

Nitrik oksit sentaz L-arjinini substrat olarak kullanarak NO ve L-sitrülin meydana getirir. Nitrik oksit aşırı üretimini azaltmanın en iyi yolu NOS için uygun substratı azaltan L-arjinin analogları kullanmaktır. Nitrik oksit'in birçok etkisi çözünebilir hem içeren guanilat siklaz aktivasyonu ile oluşur. Sonuçta oluşan cGMP (siklik guanosin monofosfat), hücre içi serbest kalsiyum seviyelerinde azalmaya neden olan hücre içi olayların tetiklenmesini sağlar. Nitrik oksit'in biyolojik etkileri, hücre içi kalsiyum seviyelerini etkileyen maddeler ile yakından ilişkilidir.

### **Fizyolojik etkileri**

**Kardiyovasküler sistem:** Güçlü bir damar düz kas gevşeticisidir. Kalpte miyositlerde eNOS ve inflamatuvar sitokinlerle iNOS ile etki gösterir. Kalp kasılması üzerine net etkisi inhibisyon yönündedir. Ayrıca trombosit agregasyonunu inhibe eder.

**Gastrointestinal sistem:** Mide kan akımını artırır. Mide tonus ve motilitesini, asid salgılanmasını azaltır.

**Solunum sistemi:** Bronkodilatatördür. Paranasal sinüsler yüksek miktarda NO üretir.

**Ürogenital sistem:** Renal fonksiyonların kontrolünde en önemli parakrin mediyatördür. Mesane ve üreterde inhibitör etkilidir.

**Santral sinir sistemi:** Öğrenme ve bellekte önemli rol oynar (32).

Fötal yaşamdan yeni-doğana geçiş: Fetusta yüksek dirençli, düşük akımlı dolaşımdan, düşük dirençli yüksek akımlı dolaşıma geçişi sağlayan en önemli vazodilatör mediyatördür.

Nitrik oksitin sağladığı analjezik etkiyi, primer afferent nöronlardaki sodyum kanalları üzerine olan inhibitör etki ile veya ATP (adenozin trifosfat) bağımlı potasyum kanalları ile potasyum seviyesini artırarak sağladığı düşünülmektedir (33). Nitrogliserin, hücre içinde NO'ya dönüşerek etki gösterir. Yarılanma ömrü 2.5 dakikadır. Nitrik oksit, hücre

içi cGMP düzeyini arttırarak santral ve periferik sinir sisteminde ağrının modülasyonunda rol oynadığını bildirir çalışmalar vardır (34).

Nitrik oksit iNOS üzerinden proinflamatuvar ve hasar oluşturuvcu etkiler gösterir. Oksidatif stres altında NO'nun apoptozisi, sitotoksisiteyi, mutagenезisi ve DNA (deoksiribonükleik asit) hasarını arttırıcı etkisi vardır. Ayrıca demir-sülfür içeren enzimlerin fonksiyonunu değiştirir, mitokondriyal solunumu bozucu zararlı etkiler gösterir (35).

## **2.6 HAYVANLARDA NÖROPATİK AĞRI MODELLERİ**

Hayvanlarda geliştirilen ilk ağrılı nöropati modeli, 1979 da Wall ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir. Nöroma modeli olarak adlandırılan bu teknik, siyatik ve safen sinirlerin tam kesisi ile oluşturulmuştur. Nöropatik ağrıda hayvan modelleri periferik veya santral sinir sistemi hasarını takiben gelişen nörolojik disfonksiyon mekanizmalarının kavranmasına yardımcı olmuştur. Bu araştırmalarda elde edilen bilgiler nöropatik ağrı kontrolünde yeni tedavi modalitelerinin geliştirilmesini sağlamıştır (36).

Hayvan araştırmalarında sürdürülen nöropatik ağrı modelleri; total ve parsiyel denervasyon, santral sinir sistemi ve sistemik ilaç uygulamaları ile geliştirilen modeller olarak sınıflandırılabilir.

### **Total ve Parsiyel Denervasyon İle Oluşturulan Nöropatik Hayvan Modelleri**

**Total Periferik Nörektomiye Bağlı Nöropati:** Uygulamada siyatik sinir orta uyluk seviyesinde açığa çıkartılır. Siyatik sinir trifurkasyonun proksimalinden 3/0-5/0 dikiş materyali (katgüt) ile sıkıca bağlanır. Buranın distalinden kesilir. Nörektomi uygulamalarında siyatik sinir krioprobe ile dondurulabilir veya elektrokoter, makas, bisturi ile kesilir. Safen sinirine de benzer şekilde nörektomi uygulanabilir.

**Siyatik Sinirin Total Kesisi ve Yeniden Dikilmesini Takiben Gelişen Nöropati:** Sinirin makasla kesilip hemen sonra 7/0 veya daha ince dikiş malzemesiyle epinöral kılıfın uç uca getirilerek dikilmesiyle oluşur. Alternatif bir diğer model ise kesilen siyatik sinirin distalinin siyatik sinirin dalı olan tibial sinirle birleştirilmesidir.

**Total Siyatik Sinir Ezilmesine Bağlı Gelişen Nöropati:** Kömür tozuna batırılan dişsiz penset veya forseps tarafından siyatik sinirin 2 mm'lik bir alanı, ezilme hasarı oluşturmak üzere iki kez 30 saniyelik periyotlarla sıkıştırılır.

**Spinal Dorsal Rizotomi Modeli:** Girişimin seviyesine uygun olarak ön veya arka pençelerde ototomi gelişebilir.

**Kronik Sıkıştırma Hasarı (Chronic Constriction Injury-CCI) Modeli:** Hayvan araştırmalarında en sık kullanılan **parsiyel denervasyon ile oluşturulan periferik nöropatik ağrı modeli;** Bennett ve Xie tarafından tarif edilen kronik sıkıştırma hasarıdır. Bu modelde sinir hasarı, ratların siyatik siniri çevresinde, siyatik sinir trifurkasyonunun proksimalinde gevşek düğümler atılarak bağlanması yoluyla oluşturulur. Deneklere anestezi uygulanması sonrası steril şartlarda, uyluk ortasına dorsal longitudinal 2 cm'lik deri insizyonu yapılır. Kalça ekleminde hafifçe kaudal ve ventral bir ayrılma ile kas grupları görülür. Kas gruplarının ayrılması künt diseksiyon ile derinleştirilir. Femurun uzunluğuna paralel ilerleyen kommon siyatik sinir ortaya çıkartılır. Siyatik sinir, siyatik trifurkasyonun proksimalinde künt diseksiyon ile altındaki dokulardan temizlenir. Yaklaşık 1 mm aralıklarla 4/0 krome katgüt kullanılarak dört adet düğüm sinir etrafına bağlanır. Düğümlerin sinir kılıfının kan akımını yavaşlatacak ancak tamamıyla boğmayacak şekilde olması için sinir kılıfının üzerine sinir ile düğüm arasına yaklaşık 1.2 mm kalınlığında önceden yerleştirilmiş metal çekilerek çıkarılır. Kas tabakası 4/0 krome katgüt ile ve cilt 2/0 ipek ile dikilir. CCI modeli, hasarın distalindeki miyelinli liflerde ve hasarlı alanın proksimalindeki az kullanılan sinir liflerinde dejenerasyona yol açar. Uygulama sonucunda ağrı duyusu belirtileri hasarı takiben 2-7 gün içinde gözlenmeye başlar. En yüksek seviyeye çıkması 10-14 günü bulur. Yaklaşık iki ay civarında ortadan kaybolur. CCI oluşturulan ratlar, etkilenen arka pençeyi sallama ve sık yalama gibi spontan ağrıyı işaret eden davranışlar, beraberinde cinsel istekte azalma ve kilo kaybı gibi sistemik belirtiler gösterirler (36).

Isıya ve mekanik uyarana karşı hiperaljezi, CCI modelinde noksiyöz kimyasal stimülasyon kadar belirgin bir bulgu olarak ortaya çıkar. CCI modelinin patofizyolojisinde, periferik ve santral sinir sisteminin beraber rol aldığı belirtilmiştir (36).

**Parsiyel Siyatik Sinir Ligasyon (PSNL) Modeli:** CCI modifikasyonu olarak Seltzer ve Shir tarafından tanımlanmıştır. Ratlarda siyatik sinir ortaya çıkarılarak çevre dokulardan ayrılır. Kullanılan 8/0 veya daha ince dikiş materyali siyatik sinirin dorsal yüzünden sinir kalınlığının üçte biri veya yarısını alacak şekilde geçirilip gevşekçe bağlanır. Böylece sinirin parsiyel ligasyonu sağlanır (36).

**Spinal Sinir Ligasyonu (SNL) Modeli:** Kim ve Chung tarafından geliştirilmiştir. Tek taraflı olarak lomber spinal sinirlerin bir veya iki tanesi (L5 veya L5-6), dorsal spinal kökten çıktığı bölümün distalinde sıkıca bağlanır. Bu metod kontrlateralde belirgin hiperestezi gelişimine neden olur. Gelişen bu hiperestezi sempatektomi ile ortadan kaldırılabilir (36).

## **2.7 HAYVANLARDA NÖROPATİK AĞRI MODELLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Hayvanlarda ağrı çalışmaları iki tiptir. Çalışmalarda amaç ya ağrının özelliklerini, doğasını açıklamaktır ya da herhangi bir maddenin ağrının algılanması üzerine olası etkisinin araştırılmasıdır. Amaç ne olursa olsun bir hayvan modeline ihtiyaç vardır. Bu model o araştırma için ne kadar uygunsa elde edilen sonuçlar da o oranda doğru bilgi verir.

Hayvanlarda ağrı eşiğinin ve analjezinin değerlendirilmesi oldukça problemlidir. Ağrı kavramının tek başına subjektif olmasının dışında hayvan davranışı ile ilişkilendirilmesi hala yeterince tanımlanabilmiş değildir. Sözlü olarak kendini ifade edemeyen hayvan, benzer durumlarda benzer motor davranışlarla kendini ifade edecektir. Yanıt çoğu kez basit bir refleks, bazen vokalizasyon veya kaçma olabilir. Bizim için önemli olan bu davranışları doğru değerlendirerek hayvanın ağrıyla ne zaman algılandığını tespit etmektir. Bu amaçla termal, mekanik ve kimyasal uyaranların kullanıldığı birçok yöntem geliştirilmiştir (36,37).

## **2.8 VON FREY TESTİ:**

Dokunma allodinisini, çeşitli kalınlıklarda olan von Frey filamentleri (0.25-2g) ile saptanır. Allodininin saptanması için önce normal denekte ölçüm yapılır. Ölçüm için farklı von Frey filamentleri saniyede iki kez sıklıkta ve toplam beş kez deneğin orta plantar alanda cildine bastırılır. Hayvan pençesini geri çektiğinde bu filament eşik değeri olarak kaydedilir. Bunu takiben opere edilmiş ekstremiteler üzerine yapılan uygulamada eşikte azalma saptanacaktır. En düşük uyarıyı verebilen uyarılarla bile anlamlı olarak deneğin pençesini geri çekmesi durumunda dokunma allodinisinden söz edilebilir.

Von Frey filament ölçümünün otomatik versiyonu olan Dynamic Plantar Anesthesiometer ile mekanik ağrı eşik değerleri izlenir. Deneğin kapalı test kutusuna yerleştirilmesini takiben aygıt deneğin altına yerleştirilir. Aygıtın bir parçası olan ayna yardımıyla deneğin arka pençesinin plantar yüzeyine maksimum 50 grama kadar artan kuvvet uygulanır. Deneğin



pençesini geri çektiği anda aygıtın ekranındaki değer nosiseptif eşik değeri olarak kabul edilir ve aygıt tarafından otomatik olarak kaydedilir (36).

## **2.9 HOT-PLATE TESTİ:**

İlk olarak 1944'de Woolfe ve MacDonald tarafından tanımlanmış olmasına rağmen en çok, 1953'te Eddy ve Leimbach tarafından tanımlanan modifiye formu kullanılmaktadır. Temel olarak 50-56 °C'ye ısıtılmış bir yüzeyden (bakır veya alüminyum) oluşur. Hayvanın ısıtılan yüzey üzerinde belli bölge sınırlarında kalması için hareket kabiliyetini sınırlamayacak büyüklükte cam silindirler kullanılır. Yüzeye bırakılmasından hayvanın arka ayağını çekmesine kadar geçen süre tespit edilir. Literatürde en çok kullanılan yöntemlerden biri olmasına karşın hayvanın ağrıyı algıladığını gözlemlene kriteri çeşitlilik gösterir ve hangi davranışın ağrı belirtisi olarak kabul edileceği konusunda sorunlar vardır. Davranış sadece ayağın çekilmesi olabileceği gibi ayak çekme ve yalama, tekmeleme, sallama, dans etme veya sıçrama şeklinde olabilir. Bir farenin normal reaksiyon süresi ortalama 5 ila 20 saniye arasında değişir. Doku hasarına sebep olacağı için test 30 saniyeden fazla uygulanmamalıdır (36,37).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu onayı alındıktan sonra, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Deneysel Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirildi. Ağırlıkları 250-350 gr arasında değişen Wistar albino cinsi 63 erkek rat çalışmaya dahil edildi.

Poripropilen kafesler içinde en fazla yedili gruplar halinde barındırılan ratlar, 12 saat karanlık ve 12 saat aydınlık olacak şekilde takip edildi. Ortamın sıcaklığındaki artışa bağlı olarak ratlarda ağrı ile ilgili davranış semptomları artacağı için 20-24 C de sabit oda sıcaklığında çalışıldı. Besin kaynağı olarak standart rat yemi ve çeşme suyu kullanıldı. Çalışmada ratların rastgele seçildiği dokuz deney grubu oluşturuldu. Her grupta 7 rat ile çalışıldı.

#### **Cerrahi İşlem**

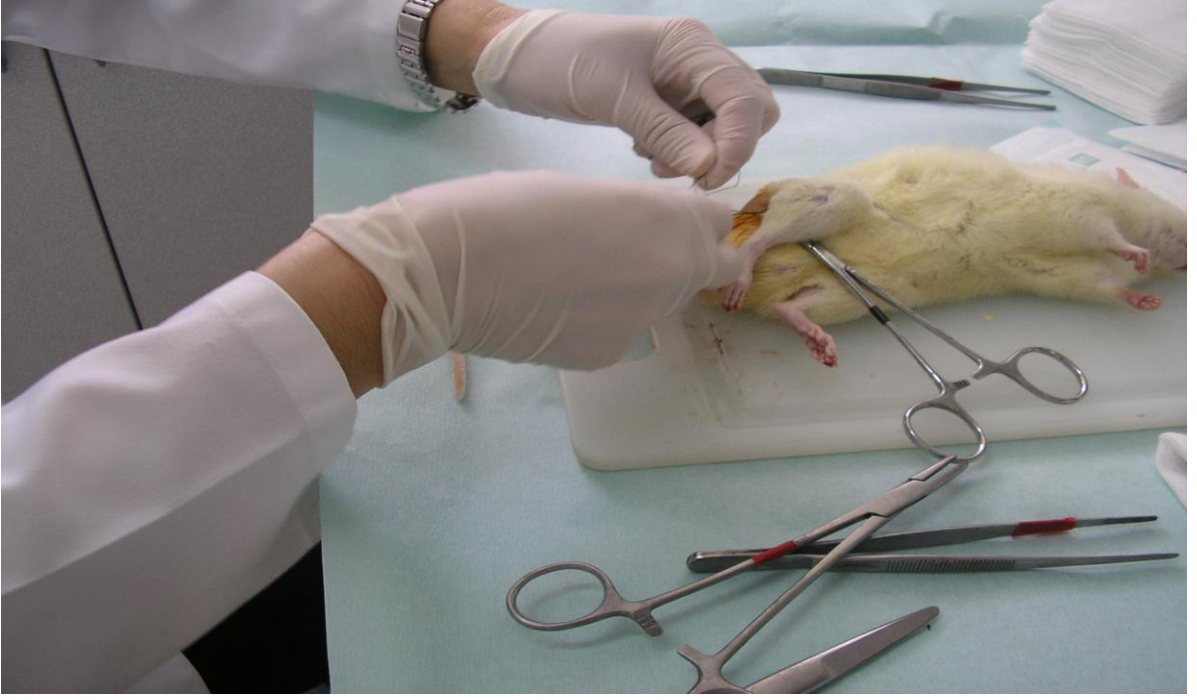
Nöropatik ağrı, kontrol grubu dışındaki tüm gruplara Bennett ve Xie tarafından tarif edilen nöropati modeli olan CCI modelinin modifiye şekli uygulanarak oluşturuldu. Tek tek tartıldıktan sonra ratların anestezisi 50 mg/kg Ketamin-HCl (Ketalar®, Eczacıbaşı, İstanbul) ve 5 mg/kg Xylazine'nin (Rompun®, Bayer, İstanbul) intraperitoneal uygulanması ile sağlandı. Steril şartlarda, ratların sağ uyluk ortasına dorsal longitudinal 2 cm'lik bir deri insizyonu yapıldı. Sağ kalça ekleminde hafifçe kaudal ve ventral bir ayırım ile kas grupları görüldü. Kas gruplarının ayırımı için 10 mm insizyon yapıldı ve kas gruplarının ayırımı künt diseksiyon ile derinleştirildi. Siyatik sinir ortaya çıkarıldı ve siyatik trifurkasyonun proksimalinde dikkatli bir künt diseksiyon ile altındaki dokulardan temizlendi. Hep aynı araştırmacı tarafından 4/0 krome katgüt (Mediplat Medikal San. Ve Tic. AŞ. İstanbul) kullanılarak sinir etrafına dört adet düğüm atıldı. Kas tabakası ve cilt 4/0 krome katgüt ile dikilerek kapatıldı (Resim 1,2,3,4).



**Resim 1 .** CCI modelinde cilt insizyonu



**Resim 2.** CCI modelinde kas gruplarının ayırımı



**Resim 3.** CCI modelinde siyatik sinirin bağlanması



**Resim 4.** CCI modelinde cildin kapatılması

## İlaçlar ve Enjeksiyon

İlaç uygulanmasına deneyin birinci gününden itibaren başlanarak, yirmi bir gün boyunca devam edildi. Cerrahi işlem yapılmayan kontrol grubuna ilaç verilmedi. İlaçlar her gün aynı saatlerde Tablo 1’de belirtilen dozlarda periton içine verildi. Gabapentin (Gabateva® Med İlaç, İstanbul) ve nitrogliserin (Perlinganit®,Adeka, İstanbul) kullanıldı. Gabapentin ve nitrogliserin dozları her grup için ayrı ayrı hesaplanarak ratların 10 gramı için 0.07 mL olacak şekilde intraperitoneal (İP) olarak uygulandı. Gabapentin ratlara uygulanırken % 0.9’luk NaCl solüsyonu ile sulandırıldı. İlaçlar tüm ratlara 26 Gauge iğne kullanılarak uygulandı. Deney süresince ratların davranışları, postürleri ve ağırlıkları takip edildi.

**Tablo 1. Gruplara göre intraperitoneal olarak verilen ilaçlar ve dozları**

Gruplar	İntraperitoneal uygulanan ilaç
Kontrol (n=7)	İlaç uygulanmadı
SF (n=7)	Serum fizyolojik
G30 (n=7)	Gabapentin 30 mg/kg
G30+NO (n=7)	Gabapentin 30 mg/kg+Nitrogliserin 1 mg/kg
G100 (n=7)	Gabapentin 100 mg/kg
G100+NO (n=7)	Gabapentin 100 mg/kg+Nitrogliserin 1 mg/kg
G300 (n=7)	Gabapentin 300 mg/kg
G300+NO (n=7)	Gabapentin 300 mg/kg+Nitrogliserin 1 mg/kg
NO (n=7)	Nitrogliserin 1 mg/kg

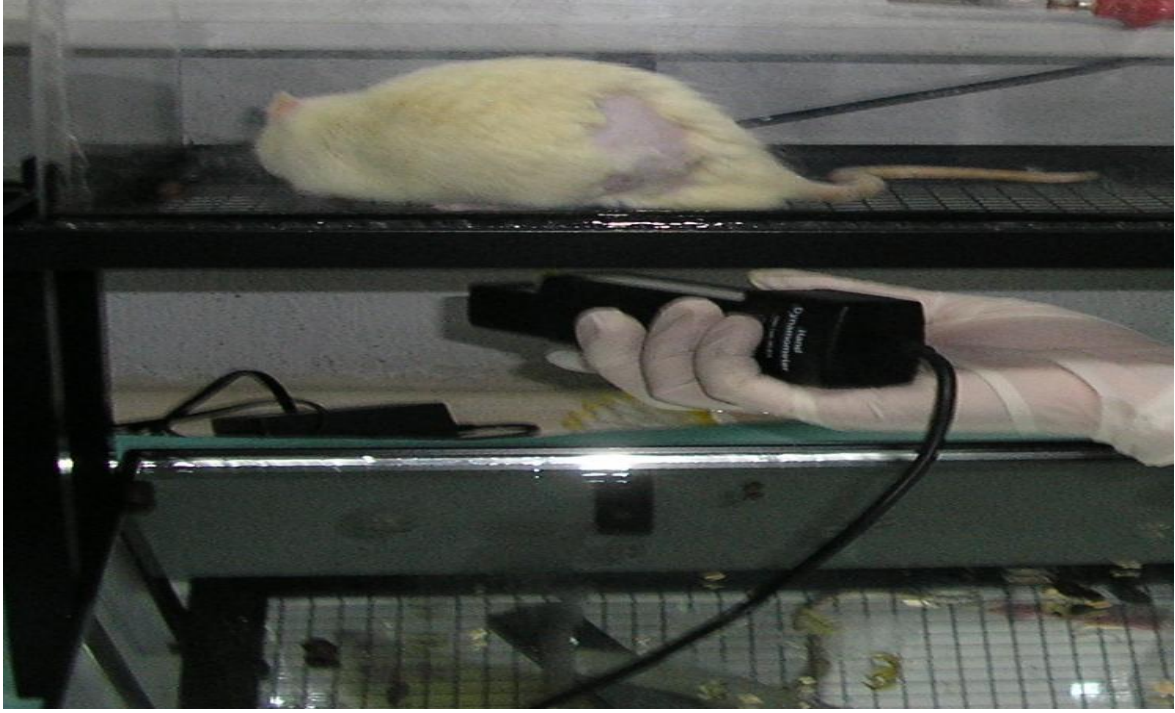
## Mekanik Ağrı Eşiği Ölçümü

Çalışmanın 5, 10, 15, 21’inci günlerinde ratların mekanik ağrı eşikleri von Frey filament ölçümünün versiyonu olan Elektronik von Frey Anesthesiometer kullanılarak yapıldı (Commat, MAY Tic®.Ankara). Ölçüm yapılmadan önce ratlar ortama uyum sağlamaları için 10-15 dakika kadar çalışmanın yapılacağı yerde bekletildiler (Resim 5). Kontrol grubu ile ön çalışma yapılarak en uygun von Frey flamenti tespit edildi. Daha sonra deneye tüm gruplarda

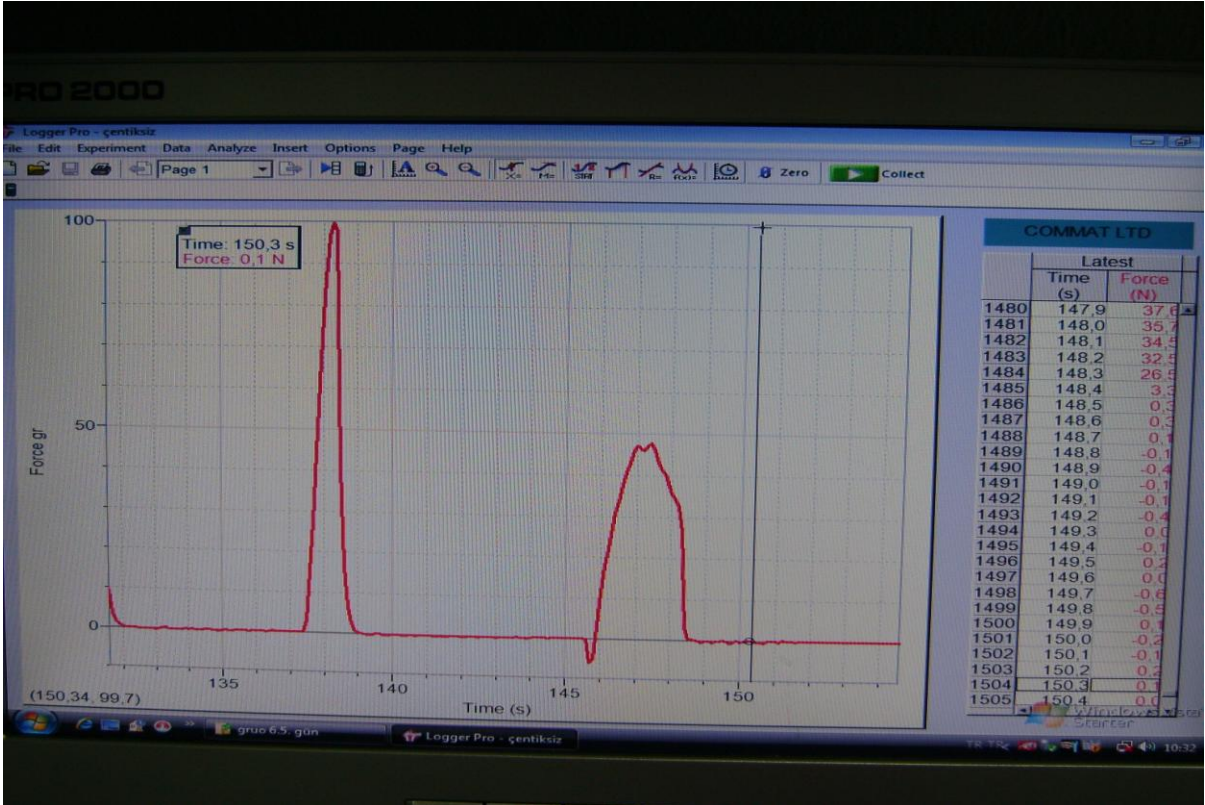
bu von Frey flamenti kullanılarak devam edildi. Her ratda aynı von Frey filamentini kullanılarak ratın hasarlı sağ arka ayağına kuvvet uygulandı (Resim 6). Ratın arka bacağını geri çekmesi pozitif cevap olarak kabul edildi. Dijital ekrandaki parabolün altında kalan alanın değerri gram biriminden mekaniksel ağrı eşiği olarak kaydedildi (Resim 7). Ratın hareketi sonucu oluşan değerler şüpheli olarak kabul edildi ve ölçüm tekrarlandı.



**Resim 5.** Von Frey cihazı ile ölçüm öncesi ratların ortama uyum aşaması



**Resim 6.** Von Frey cihazı ile mekanik ağrı eşiği ölçümü



**Resim 7.** Von Frey ile ölçümlerde ratın ayağını çektiği kuvvetin bilgisayar ekranındaki görüntüsü

## Sıcak Ağrı Eşiği Ölçümü

Deneyin 21. gününde tüm ratlara hot-plate testi uygulandı ve değerler kaydedildi. Ratlar ölçüm yapılmadan önce ortama uyum sağlamaları için 10-15 dakika kadar çalışmanın yapılacağı yerde bekletildiler. Hot-plate testi, daire şeklinde metal düz yüzeyi bulunan ve önceden  $56 \pm 0.3$  °C'ye kadar ısıtılmış cihaz (May Tic. Ankara) ile gerçekleştirildi. Ratların ısıtılmış cihazın üzerine konmalarından sonra hasarlı sağ arka ayaklarını çekmelerine kadar geçen süre, termal uyarıya cevap olarak değerlendirildi. Hayvanların ayaklarının ısıdan zarar görmemesi için Cut-off zamanı 20 saniye kabul edildi (Resim 8).



**Resim 8.** Hot-plate cihazı ile sıcak ağrı eşiği ölçümü

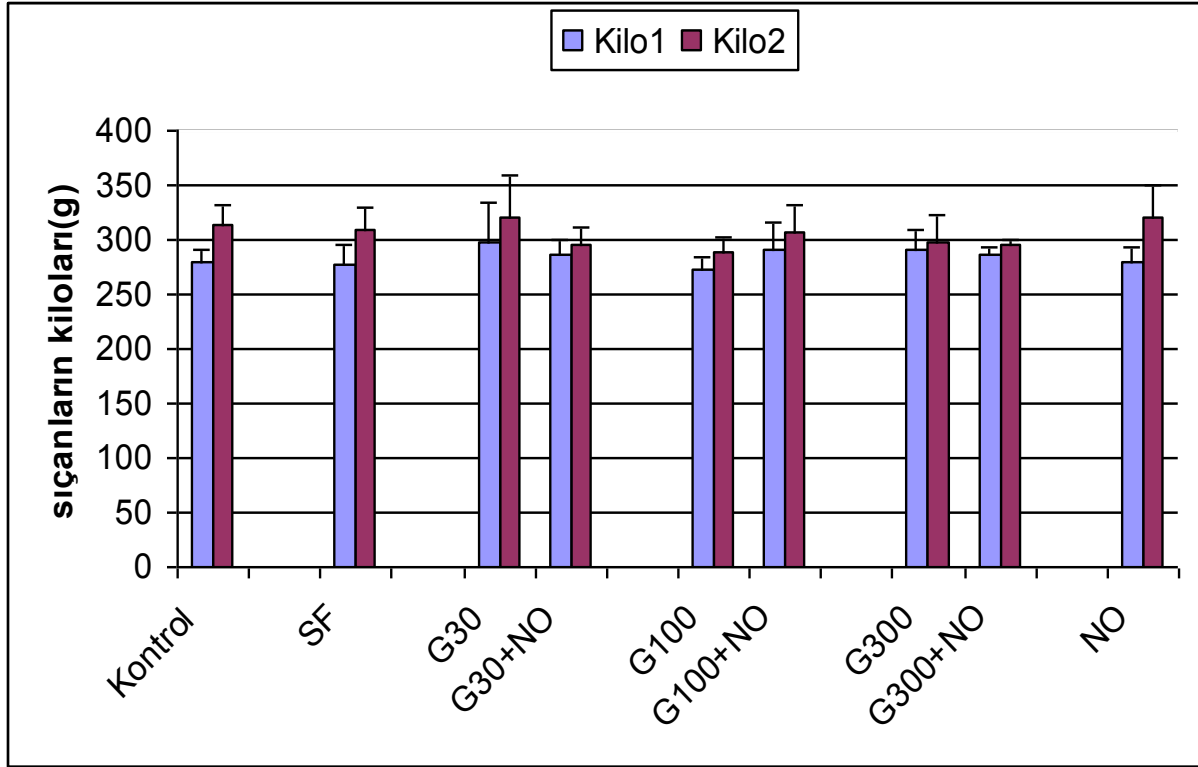


### 3.1 İSTATİKSİKSEL DEĞERLENDİRME

Çalışmamızda, istatistiksel olarak her bir grup için değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile incelendi. Bütün değişkenler (Başlangıçta ve deneyin sonunda ratların kiloları, beşinci, onuncu, onbeşinci ve yirmibirinci günlerdeki von Frey ölçüm değerleri, yirmibirinci günde yapılan hot-plate testi ölçüm değerleri) normal dağılım gösterdiği için tanımlayıcı istatistikler ortalama  $\pm$  standart sapma şeklinde gösterildi. Her grubun zamana göre (beşinci, onuncu, onbeşinci ve yirmibirinci günlerdeki von Frey ölçüm değerleri) karşılaştırmasında tekrarlı ölçümlerde ANOVA, gruplara göre karşılaştırmada ise tek yönlü varyans analizi kullanıldı. Posthoc test olarak Tukey HSD testi seçildi. Tüm istatistiksel karşılaştırmalarda  $p < 0,05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## 4. BULGULAR

Tüm gruptaki ratların başlangıç ve deneyin sonunda ağırlıkları ölçüldü. Buna göre tüm gruptaki ratların deney süresince kilo aldıkları görülmekle birlikte bu istatistiksel olarak anlamlı değildi. Gruptaki ratların ağırlıkları arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (Şekil 4).



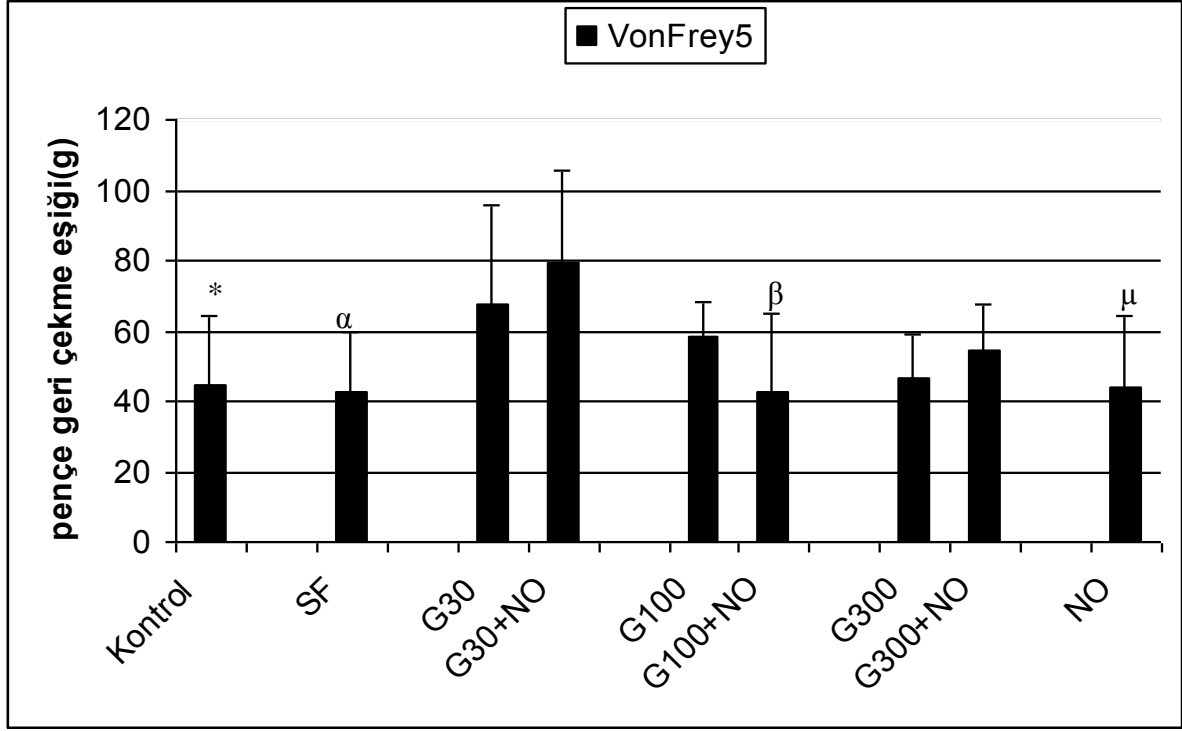
**Şekil 4.** Tüm gruptaki ratların başlangıç ve deneyin sonundaki ortalama kilo değerleri

(Kilo 1: Ratların deneyin başlangıcındaki ağırlıklarının ortalamaları, Kilo 2: Ratların deneyin sonundaki ağırlıklarının ortalamaları)

(SF: Serum Fizyolojik, G30: Gabapentin 30 mg/kg, G30+NO: Gabapentin 30 mg/kg+Nitrogliserin 1 mg/kg, G100: Gabapentin 100 mg/kg, G100+NO: Gabapentin 100 mg/kg+Nitrogliserin 1 mg/kg, G300: Gabapentin 300 mg/kg, G300+NO: Gabapentin 300 mg/kg+ Nitrogliserin 1 mg/kg, NO: Nitrogliserin 1 mg/kg)

Nöropatik ağrı oluşturduğumuz tüm grupta ratların hasar oluşturulan taraftaki pençelerini hafif fleksiyonda, hafifçe sağa çevrilmiş ve vücuda daha yakın şekilde tuttuklarını gözledik.

Beşinci günde yapılan von Frey testinde G30+NO grubunun; Kontrol grubu ( $p=0,043$ ), SF grubu ( $p=0,026$ ), G100+NO grubu ( $p=0,029$ ) ve NO grubuyla ( $p=0.035$ ) arasında istatistiksel fark vardı (Şekil 5).



Şekil 5. Grupların 5. gündeki von Frey değerleri

G30+NO'ya göre;

\*:  $P=0,043$  (kontrol grubuyla)

α:  $P=0,026$  (SF grubuyla)

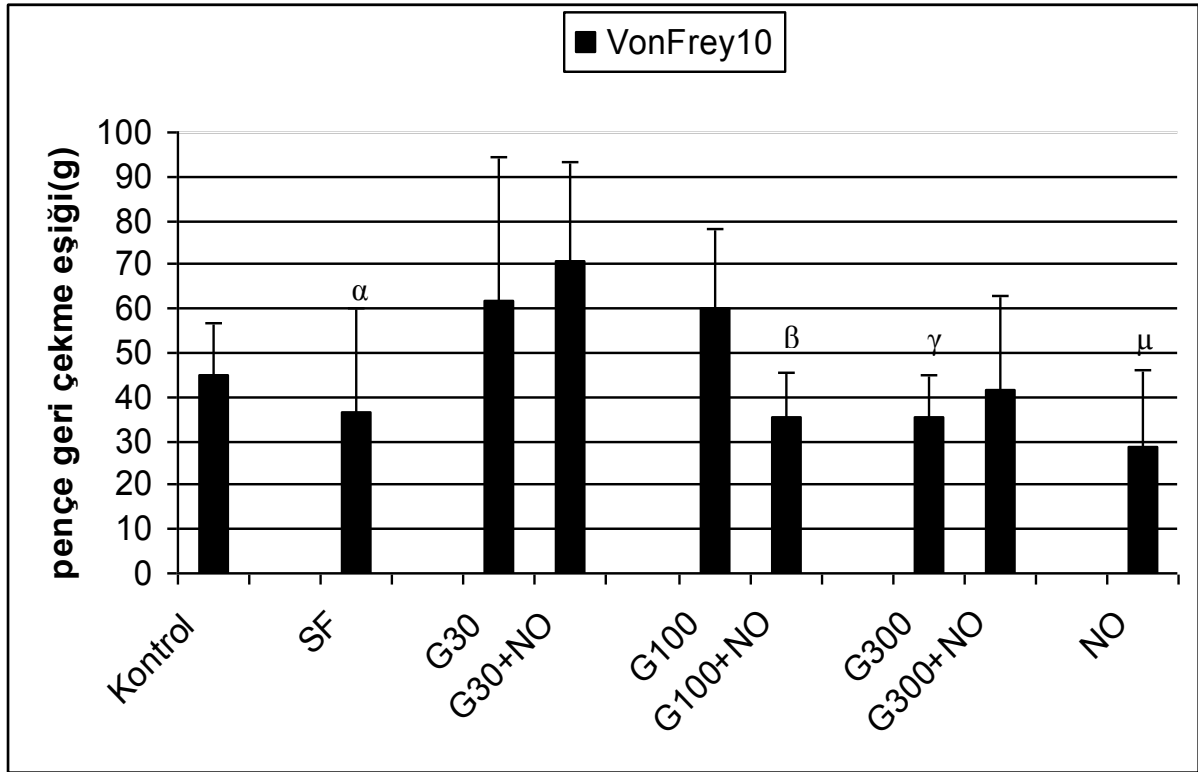
β:  $P=0,029$  (G100+NO grubuyla)

μ:  $P=0.035$  (NO grubuyla)

(SF: Serum Fizyolojik, G30: Gabapentin 30 mg/kg, G30+NO: Gabapentin 30 mg/kg+Nitrogliserin 1 mg/kg, G100: Gabapentin 100 mg/kg, G100+NO: Gabapentin 100 mg/kg+ Nitrogliserin 1 mg/kg, G300: Gabapentin 300 mg/kg , G300+NO: Gabapentin 300 mg/kg+ Nitrogliserin 1 mg/kg, NO: Nitrogliserin 1 mg/kg)

Onuncu günde yapılan von Frey testinde G30+NO grubunun; SF grubu ( $p=0,045$ ), G100+NO grubu ( $p=0,038$ ), G300 grubu ( $p=0,039$ ) ve NO grubuyla ( $p=0,006$ ) arasında fark vardı.

G30 ve G100 gruplarının onuncu gün von Frey değerleri yüksek olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı değildi. Onuncu günde yapılan von Frey testi sonucuna göre de G30+NO grubunda en yüksek değerler saptandı (Şekil 6).



Şekil 6. Grupların 10. gündeki von Frey değerleri

G30+NO'ya göre;

$\alpha$ :  $p=0,045$  (SF grubuyla)

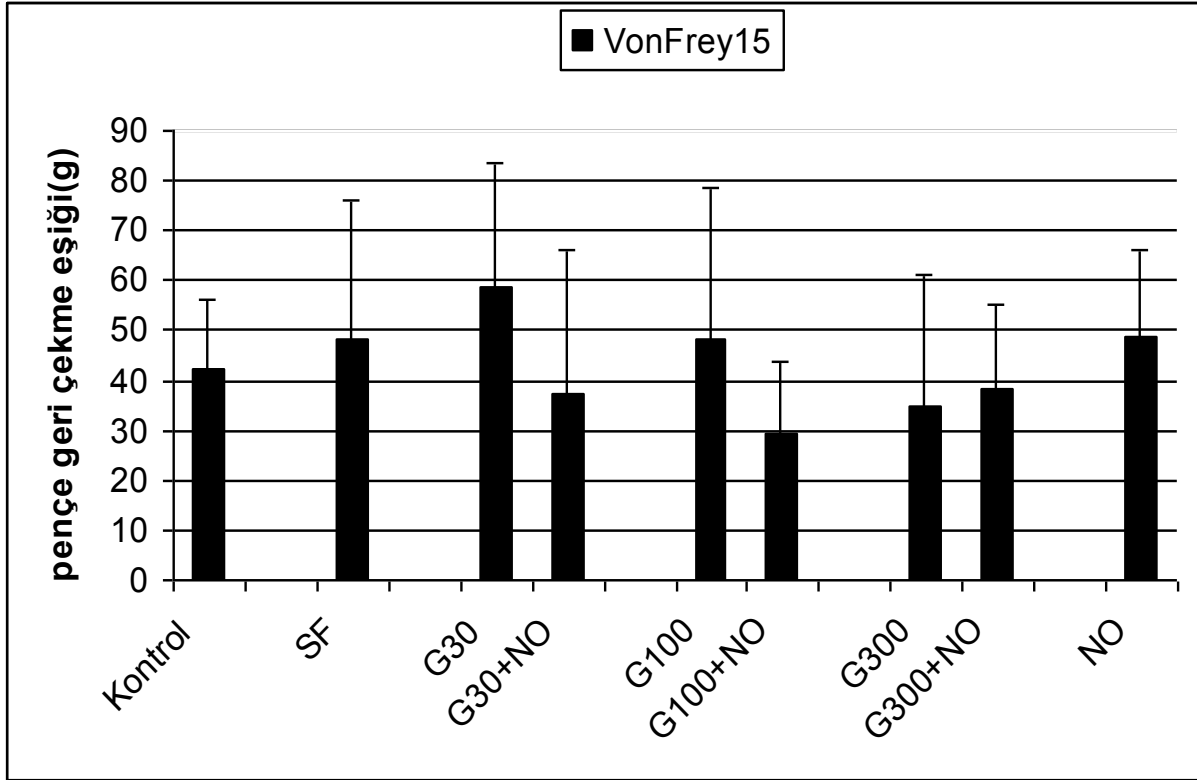
$\beta$ :  $p=0,038$  (G100+NO grubuyla)

$\gamma$ :  $p=0,039$  (G300 grubuyla)

$\mu$ :  $p=0,006$  (NO grubuyla)

(SF: Serum Fizyolojik, G30: Gabapentin 30 mg/kg, G30+NO: Gabapentin 30 mg/kg+Nitrogliserin 1 mg/kg, G100: Gabapentin 100 mg/kg, G100+NO: Gabapentin 100 mg/kg+ Nitrogliserin 1 mg/kg, G300: Gabapentin 300 mg/kg, G300+NO: Gabapentin 300 mg/kg+ Nitrogliserin 1 mg/kg, NO: Nitrogliserin 1 mg/kg)

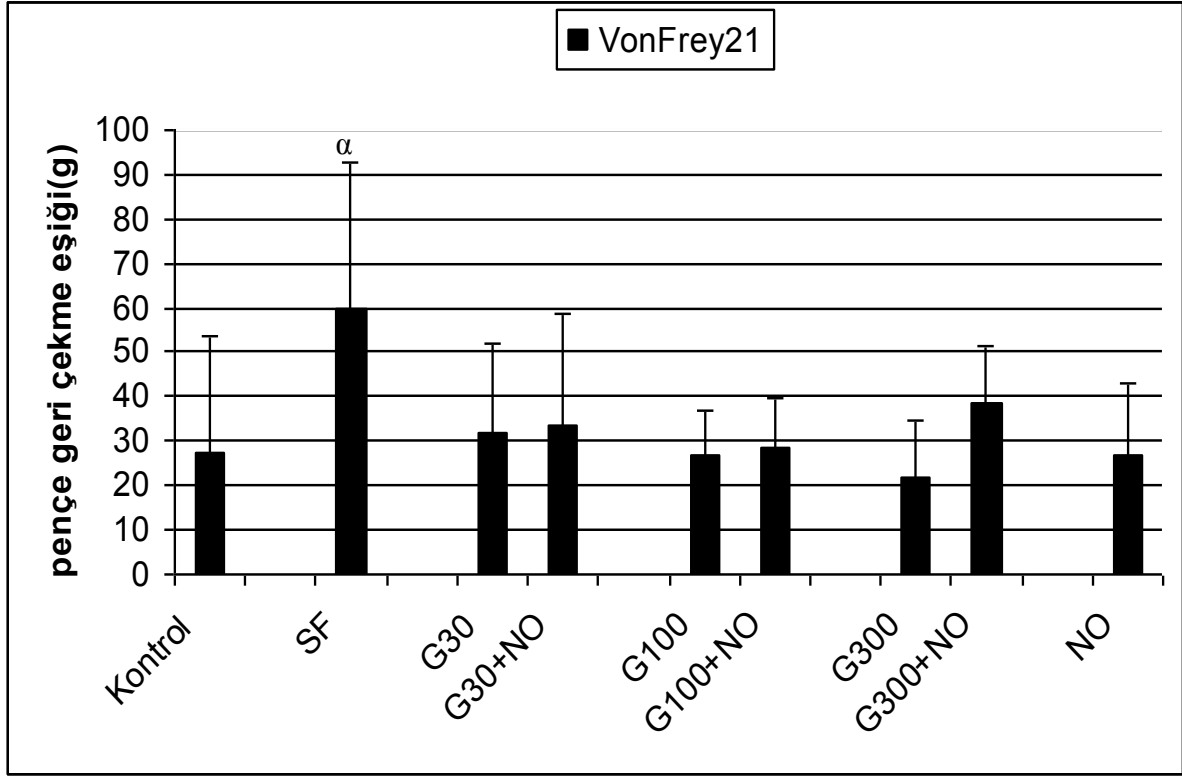
Onbeşinci günde yapılan von Frey testinde; SF, G30, G100 ve NO gruplarındaki değerler yüksek olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı değildi (Şekil 7).



Şekil 7. Grupların 15. gündeki von Frey değerleri

(SF: Serum Fizyolojik, G30: Gabapentin 30 mg/kg, G30+NO: Gabapentin 30 mg/kg+Nitrogliserin 1 mg/kg, G100: Gabapentin 100 mg/kg, G100+NO: Gabapentin 100 mg/kg+ Nitrogliserin 1 mg/kg, G300: Gabapentin 300 mg/kg , G300+NO: Gabapentin 300 mg/kg+ Nitrogliserin 1 mg/kg, NO: Nitrogliserin 1 mg/kg)

Yirmibirinci günde yapılan von Frey testinde SF grubu ile G300 grubu arasında anlamlı fark vardı ( $p=0,022$ ). Von Frey 21 deki G30, G30+NO, G100, G100+NO, G300, G300+NO ve NO gruplarının değerleri kontrol grubunun von Frey 21 değerlerine yakın olmakla birlikte bu istatistiksel olarak anlamlı değildi (Şekil 8).



Şekil 8. Grupların 21. gündeki von Frey değerleri

G300'e göre ;

<sup>α</sup>  $p=0,022$  (SF grubuyla)

(SF: Serum Fizyolojik, G30: Gabapentin 30 mg/kg, G30+NO: Gabapentin 30 mg/kg+Nitrogliserin 1 mg/kg, G100: Gabapentin 100 mg/kg, G100+NO: Gabapentin 100 mg/kg+ Nitrogliserin 1 mg/kg, G300: Gabapentin 300 mg/kg , G300+NO: Gabapentin 300 mg/kg+ Nitrogliserin 1 mg/kg, NO: Nitrogliserin 1 mg/kg)

Her grubun kendi içinde von Frey testinin değerleri karşılaştırıldığında; G30+NO grubunun beşinci günde ki von Frey değeri ile 15. günde ki von Frey değeri ( $p=0,026$ ) ve 21. günde ki von Frey değeri ( $p=0,013$ ) arasında anlamlı fark vardı (şekil 9).

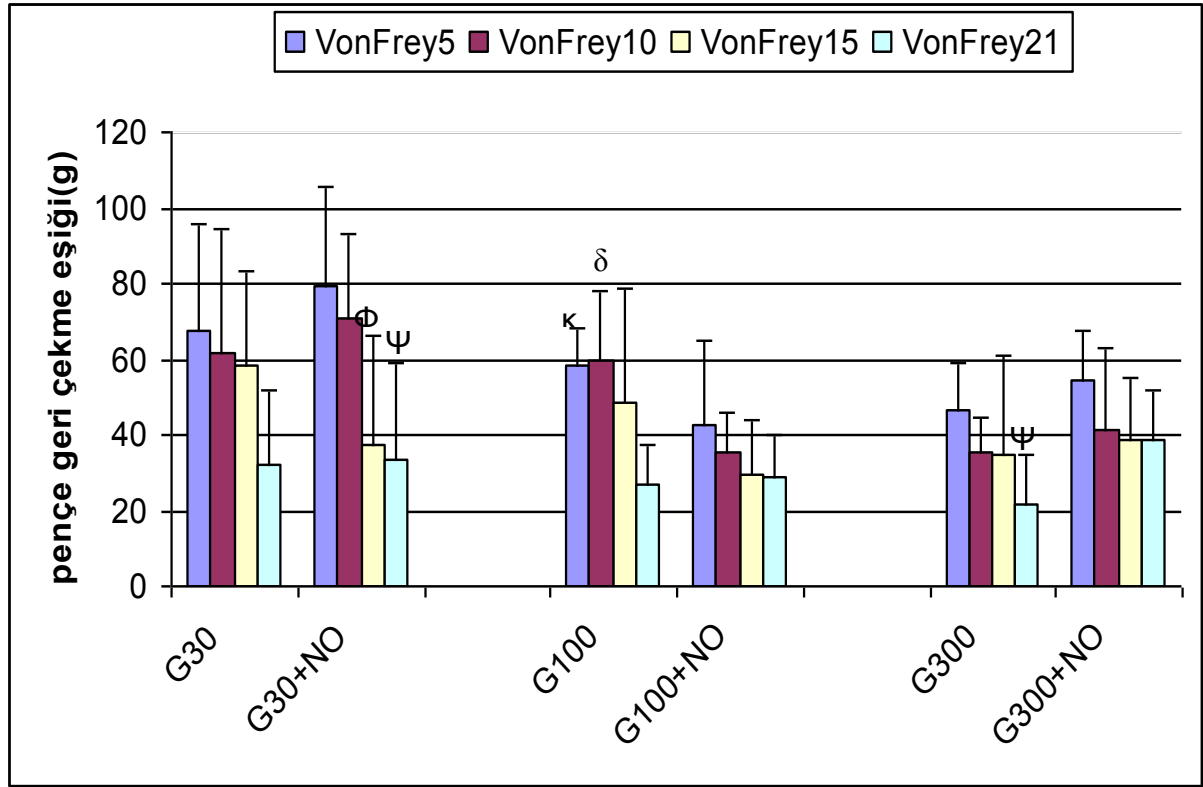
Von Frey testi ile 5, 10, 15, 21. günde ki ölçümlerde, G30 ile G30+NO gruplarının değerleri karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (şekil 9).

Von Frey testi ile 5, 10, 15, 21. günde ki ölçümlerde G100 grubunun beşinci ( $p=0,025$ ) ve onuncu ( $p=0,017$ ) günde ki von Frey ile 21. günde ki von Frey değerleri arasında anlamlı fark tespit edildi (şekil 9).

Von Frey testi ile 5, 10, 15, 21. günde ki ölçümlerde G100 ile G100+NO gruplarının değerleri karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. Ancak G100 grubunun beşinci, onuncu ve onbeşinci günde ki von Frey değerleri G100+NO grubunun aynı günde ki von Frey değerlerine göre daha yüksek idi. Her iki grubun da yirmibirinci günde ki von Frey değerleri oldukça yakındı (şekil 9).

Von Frey testinde 5. ,10. ,15. ve 21. günde ki değerleri karşılaştırıldığında G300 grubunun beşinci günde ki von Frey değerleri ile 21. günde ki von Frey değerleri arasında ( $p=0,049$ ) anlamlı fark vardı (şekil 9).

Von Frey testinde 5. ,10. ,15. ve 21. günde ki değerleri karşılaştırıldığında G300 ile G300+NO gruplarının aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. Ancak G300+NO grubunun beşinci, onuncu, onbeşinci ve yirmibirinci günde ki von Frey değerleri G300 grubunun aynı günde ki von Frey değerlerine göre daha yüksek idi (şekil 9).



**Şekil 9.** Gabapentin, gabapentin ve nitrik oksit verilen grupların kendi içlerinde 5, 10, 15 ve 21. günlerdeki von Frey değerleri karşılaştırılması

(G30: Gabapentin 30 mg/kg, G30+NO: Gabapentin 30 mg/kg, Nitrogliserin 1 mg/kg, G100: Gabapentin 100 mg/kg İP, G100+NO: Gabapentin 100 mg/kg, Nitrogliserin 1mg/kg, G300: Gabapentin 300 mg/kg, G300+NO: Gabapentin 300 mg/kg, Nitrogliserin 1 mg/kg,

G30+NO grubunun

G100 grubunun

G300 grubunun

Von Frey 5'e göre;

Von frey21'e göre;

Von Frey5'e göre;

$\Phi$ : p=0,026 (Von Frey 15 ile)

$\kappa$ : p=0,025 (Von Frey5 ile)

$\Psi$ : p=0,049 (Von Frey21 ile)

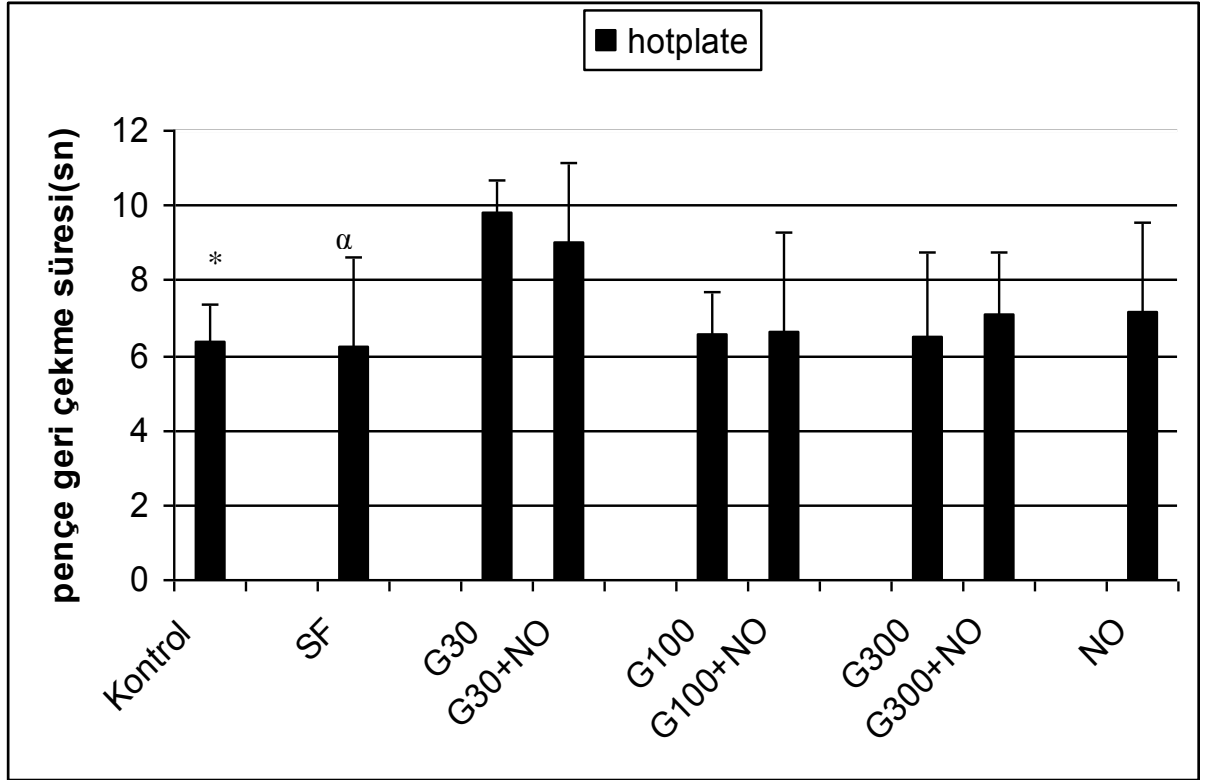
$\Psi$ : p=0,013 (Von Frey21 ile)

$\delta$ : p=0,017 (Von Frey10 ile)



Tüm gruplara 21. günde yapılan hot-plate testi sonuçlarına göre G30 grubunun; Kontrol grubu ( $p=0,040$ ) ve SF grubuyla ( $p=0,025$ ) hot-plate değerleri arasında anlamlı fark vardı.

En uzun süre G30 grubunda saptandı. G30+NO grubunun hot-plate testi ortalama süresi uzun olmakla birlikte bu istatistiksel olarak anlamlı değildi ( Şekil 10).



Şekil 10. Ratların hot-plate testinde ayak çekme süreleri

G30'a göre;

\*:  $p=0,040$  (Kontrol grubuyla)

$\alpha$ :  $p=0,025$  (SF grubuyla)

(SF: Serum Fizyolojik, G30: Gabapentin 30 mg/kg, G30+NO: Gabapentin 30 mg/kg+Nitrogliserin 1 mg/kg, G100: Gabapentin 100 mg/kg, G100+NO: Gabapentin 100 mg/kg+ Nitrogliserin 1 mg/kg, G300: Gabapentin 300 mg/kg , G300+NO: Gabapentin 300 mg/kg+ Nitrogliserin 1 mg/kg, NO: Nitrogliserin 1 mg/kg)

## 5. TARTIŞMA

Çalışmamızda nitrik oksit prekürsörü olan nitrogliserinin gabapentinin farklı dozları ile birlikte ve ayrı olarak uygulanmasının, ratlarda deneysel olarak oluşturulan nöropatik ağrı üzerine analjezik etkinliğini arttırıp arttırmayacağını bakmayı amaçladık.

Çalışmanın beşinci ve onuncu günlerinde yapılan von Frey ölçümlerinde G30+NO grubunda antinosesepsiyon için en yüksek değerlere çıkıldığı saptandı. Her grubun kendi içinde von Frey testi değerleri karşılaştırıldığında; G30+NO grubunun beşinci, onbeşinci ve yirmibirinci günlerdeki değerleri arasında anlamlı fark vardı. Gabapentinin 100 mg/kg verildiği grupta (G100) von Frey testi sonuçlarına göre; beşinci ve onuncu günler ile yirmibirinci gün sonuçları arasında anlamlı fark tespit edildi. Grup 300 sonuçlarına göre von Frey testinde beşinci günde değerler ile 21. günde değerler arasında anlamlı fark vardı. Deneyin 21. gününde yapılan hot-plate testinde, G30 grubunda pençe geri çekme süresinde anlamlı uzama gözlemlendi.

Ratlarda parsiyel denervasyon ile oluşturulan periferik ağrı modellerinden CCI, PSNL, SNL araştırmalarda en sık kullanılan yöntemlerdir (36). Biz çalışmamızda CCI modelini uyguladık. Yapılan birçok çalışmada ratlarda oluşturulan nöropatik ağrı modelinde hiperalejinin operasyondan sonra hangi günde ortaya çıktığı da tespit edilmeye çalışılmıştır. CCI modelinde sinir çevresine atılan gevşek düğümler siyatik siniri sıkıştırır. Böylece sinirin beslenmesini sağlayan vasa nevrozumlar sıkıştırılmaz. Bu şekilde en az birkaç hafta devam edecek intranöral ödem oluşur. Sinir hasarı sonrası ratların ayaklarında, iki-yedi gün içerisinde ağrıya hiperalejik yanıtların görülmeye başladığı, iki hafta içerisinde maksimuma eriştiği, en az iki ay sürdüğü bildirilmiştir (36). Biz 21 gün süren çalışmamızda nöropatik ağrı oluşturduğumuz gruplarda deneyin beşinci gününden itibaren mekanik uyarıya hassasiyetin başladığını gözledik.

Lancelotta ve arkadaşları (38) çalışmalarında ratlarda sinir lezyonunun tipi ile hiperalejinin şiddet ve süresindeki değişiklikleri araştırmışlardır. Çalışmaya dahil ettikleri 46 rat randomize olarak üç gruba ayrılmıştır. Birinci grupta; L5 sinir kökünde forceps ile hasar (crush) oluşturulmuş, ikinci gruba; L5 kök ligasyonu ve kesi uygulanmıştır. Üçüncü grup, sham grubu (sinir açığa çıkarılmış, intakt bırakılmış) olarak alınmıştır. Von Frey ve soğuk stimülasyon testleri ile mekanik hiperaleji ve soğuk hiperalejisine, çalışma öncesi ve

çalışmanın 2, 5, 8, 11, 14, 19, 26, 33, 40, 47. ve 54. günlerinde bakılmıştır. Birinci ve ikinci gruplarda cerrehi işlemin ilk haftasında mekanik uyarıya hassasiyetin arttığını gözlemişlerdir. İlk 30 günlük periyotta mekanik ve soğuk hiperaljezi ölçümlerinde birinci ve ikinci gruplardaki hiperaljezi üçüncü gruptakinden fazla bulunmuştur. Kırk gün içinde üçüncü grupta mekanik hiperaljezide iyileşme gözlenirken, ikinci grupta hiperaljezinin devam ettiği görülmüştür. Soğuk hiperaljezisi ölçüldüğünde birinci gruptaki hiperaljezinin ikinci gruptakinden yüksek olduğu görülmüştür. Ratlarda sinir ligasyonu ve kesilmesiyle meydana getirilen nöropatik ağrı modelindeki hem mekanik hem de soğuk hiperaljezisinin süre ve şiddet bakımından crush grubuna göre fazla olduğu sonucuna varılmıştır. Toprak (39), deneysel nöropatik ağrı modelinde sistemik uygulanan NGF (nerve growth faktör) ve Anti-NGF'nin etkisini araştırdığı çalışmasında CCI sonrası 21. günde ratların tamamında hiperaljezi oluştuğunu saptamıştır. CCI sonrası rejenerasyonun dört hafta sonra başladığı, yamalı taktil ve termal allodini ve hiperaljezi saptanmasıyla fonksiyonların düzelmeye başladığı Bester ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir (40). Ratlarda CCI yöntemi ile oluşturulan nöropatik ağrı modelinde NGF'ün hiperaljezi gelişimine etkisinin bakıldığı çalışmada operasyondan sonra üç gün içinde mekanik/termal hiperaljezi ve mekanik allodini geliştiğinin gözlemlendiği bildirilmiştir (41). Ortalama 160-180 gram ağırlığında, 150 erkek rat kullanılarak yapılan bir başka çalışmada randomize olarak seçilen gruplar; SNL grubu, sham grubu (sinir açığa çıkarılmış, bağlanmamış), kontrol grubu (anestezi altında lumbar cilt kesisi yapılmış) olmak üzere üçe ayrılmıştır. Mekanik hiperaljezi varlığına Von Frey testi ile cerrahiden önceki gün, postoperatif 4, 11. ve 18. günlerde bakılmış, SNL grubunda onbirinci günden itibaren hiperaljezi geliştiği gözlenmiştir (42). Özyiğit ve arkadaşları (43) çalışmalarında farelerde deneysel nöropatik ağrı oluşturmuşlardır. Mekanik allodini ve termal hiperaljezinin tibial sinir ligasyonu sonrası üç gün içinde başladığını ve bir ay süresince devam ettiğini saptamışlardır. Bir ay boyunca, haftada bir von Frey ve plantar testi tekrarlamışlardır. Biz çalışmamızda sadece CCI yönteminin modifiye şeklini kullanarak nöropatik ağrı modeli oluşturduk. Nöropatik ağrı oluşturduğumuz gruplarda deneyin beşinci gününden itibaren mekanik uyarıya hassasiyetin başladığını gözledik. Hiperaljezinin ortaya çıkış zamanı diğer çalışmalarla benzerlik göstermekteydi.

Lancelotta ve arkadaşları (38) yine aynı çalışmalarında ratların operasyon geçiren taraftaki pençelerinin postürlerini de izlemişler ve ratların lezyonun olduğu sol pençelerini hafif fleksiyonda, hafifçe sola çevrilmiş ve vücuda daha yakın şekilde tuttuklarını

gözlemişlerdir. Sham grubundaki ratlarda bu postür izlenmemiş, pençenin bu postürü ağrılı stimulusdan geri çekilirken de değişmemiştir. Biz de nöropatik ağrı oluşturduğumuz tüm gruplarda pençenin benzer pozisyonda fleksiyonda, hafifçe sağa deviye ve vücuda yakın tutulduğunu gözledik.

Hooft ve arkadaşları (44) yaptıkları çalışmalarında rat hipokampus ve neokorteks hücrelerinde confocal görüntüleme yöntemi ile gabapentinin VOCCs (voltage-operated  $Ca^{2+}$  kanalları) ve sinaptik transmiseyona etkisini araştırmışlar. Sonuç olarak gabapentinin selektif eksitatör ve inhibitör presinaptik bölgelerde VOCCs'i engelleyerek kalsiyum akışını inhibe ettiğini, sinaptik aktarımı azalttığını bulmuşlardır. Gabapentinin ratlarda cerrahiye bağlı nöropatik ağrı modelindeki etkilerinin gözlemlendiği başka bir çalışmada, gabapentinin preemtif antihiperalezik etkileri olduğu gösterilmiştir. GABA agonistlerinin hayvan modellerinde antiallodinik aktivitesi vardır. Plantar kaslarına insizyon yapılan ratlarda kesiden bir saat önce tek doz subkutan gabapentin verilenlerde, postoperatif üç gün boyunca allodini ve hiperalezi gelişmesinin önlenildiği gözlenmiştir. Karregein verilerek mekanik hiperalezi oluşturulan ratlarda subkutan verilen gabapentinin antihiperalezik etkili olduğu gösterilmiştir (45). Gillin ve Sorkin (46) yaptıkları çalışmada ratlarda minimal etkili gabapentin dozunun 30 mg/kg İV (intravenöz) olduğunu ve 100 mg/kg İV dozunun ise maksimal analjezik etkili olduğunu ve bu dozlarda yan etkinin minimal olduğunu bildirmişlerdir. Biz de çalışmamızda gabapentin 30 mg/kg+Nitrogliserin 1mg/kg intraperitoneal verilen G30+NO grubunda deneyin beşinci ve onuncu günlerindeki von Frey testi ölçümlerinde yüksek değerler elde ettik ve Gabapentin 30 mg/kg+ Nitrogliserin 1 mg/kg dozunun etkili analjezik doz olduğunu saptadık. Yine deneyin yirmibirinci gününde hot-plate testi ile sıcak allodinisini araştırdığımızda; gabapentinin 30 mg/kg İP verildiği grupta pençe geri çekme sürelerinde anlamlı uzama saptadık. Gabapentinin nöropatik ağrıda antihiperalezik etkili olduğu ve sonuçlarımızın diğer çalışmaların sonuçları ile benzer olduğu görülmüştür.

Farelerde siyatik sinir iskemisi ve formaline bağlı gelişen nosisepsiyona, gabapentinin etkisinin araştırıldığı çalışmada albino, 25-30 gram ağırlığında 85 fare çalışmaya dahil edilerek sol siyatik sinir cerrahi olarak açığa çıkarılmıştır. Bir gruba Erytrosin B (32,5 mg/kg İV) verildikten sonra iki, beş ve on dakika sürelerle laser irradyasyon uygulanmış, kontrol grubuna da cerrahi işlem uygulanmıştır. Periferik sinir lezyonu oluştuktan dokuz gün sonra allodinik davranışlar gözlenmiş, daha sonra gabapentin kümülatif doz rejimi ile, 51 mg/kg (Kümülatif doz 300  $\mu$ mol/kg = 51 mg/kg) ve salin subkutan olarak verilmiştir.

Formalin testi ile motor aktiviteye bakılmış, mekanik allodini ise von Frey ile test edilmiştir. Von Frey testi preoperatif (cerrahiden bir gün önce), postoperatif 1, 3, 6, 8, 13, 15. ve 18. günlerde yapılmıştır. Gabapentin grubu salin grubu ile karşılaştırıldığında; gabapentinin antiallodinik etkisinin olduğu gözlenmiştir (47). Gabapentinin etkili tedavi dozu iki çalışmada da benzemekle birlikte Gustafsson ve arkadaşları gabapentini subkutan uygulamışlardır. Biz ise intraperitoneal olarak uyguladık. Ayrıca Gustafsson ve arkadaşları çalışmalarında siyatik sinirde laser ile hasar meydana getirmişlerdir. Biz ise CCI'nin modifiye şeklini uyguladık. Ratlarda SNL modeli ile nöropatik ağrı oluşturup, gabapentin ve venlafaksin etkilerinin karşılaştırıldığı çalışmada, ratlarda nöropatik ağrı tedavisinde gabapentinin subkutan 100 mg/kg dozda etkili olduğu sonucuna varılmıştır (48). Biz de çalışmamızda bir gruba gabapentin 100 mg/kg İP verdik. Ancak biz 100 mg/kg gabapentin dozuyla von Frey ölçümlerinde yüksek değerler elde etmedik. Gabapentinin etkili tedavi dozu tespiti için hem ilaç uygulama yöntemlerinin hem de nöropatik ağrı oluşturma yöntemlerinin karşılaştırılabileceği çalışmaların planlanması gerektiği kanaatindeyiz.

Ratlarda CCI sonrası spinal kordda N-tipi  $Ca^{2+}$  kanal lokalizasyonuna bakılan bir çalışmada, spinal L-tip, N-tip, P tip  $Ca^{2+}$  kanal blokerlerinin sinir hasarına bağlı ağrı davranışına etkisi gösterilmeye çalışılmıştır. Sham ve CCI grubu olarak iki grup oluşturulmuş ve sinir ligasyonundan sonra bir hafta içinde ratların çoğunda mekanik stimülasyona ve soğuğa karşı sensitivite geliştiği saptanmıştır. Mekanik stimülasyona karşı hipersensitiviteye von Frey testi ile bakılmış, üç gün aralıklarla 3-30. günler arasında von Frey testi tekrarlanmıştır. Soğuk allodinisine de dört günlük intervallerle 4-28. günler arasında bakılmıştır. Sonuç olarak spinal  $\alpha 1\beta$ - subunit upregülasyonunun, periferik sinir hasarı sonrası ağrı durumunun başlamasında ve devam etmesinde önemli rol oynadığı kanaatine varılmıştır. Sinir ligasyonu sonrası dokunma ve soğuk allodinisinin N tip  $Ca^{2+}$  kanallarının  $\alpha 1\beta$ - subuniti ile ilişkili olduğunun görüldüğü bildirilmiştir (49). Nöropatik ağrı oluşturulan ratlarda kalsiyum kanalının  $\alpha 2\delta$ -1 subunitinin upregülasyonu ile gabapentinin antiallodinik etkisinin korelasyonunun araştırıldığı çalışmada dört grup oluşturulmuştur. Birinci grup Kim and Chung'un SNL, ikinci grup Bennett ve Xie'nin CCI'si, üçüncü grup diyabetik nöropati, dördüncü grup vinkristine bağlı nöropati oluşturulan grup olarak kabul edilmiş ve gabapentin 50 mg/kg intraperitoneal verilmiştir. Taktik allodini von Frey testi ile ölçülmüştür. Birinci, ikinci ve üçüncü grupta 50 mg/kg İP gabapentin antiallodinik etki için yeterli iken, dördüncü grupta gabapentin 100 mg/kg ve 300 mg/kg dozlara kadar çıkmıştır. Western blot

tekniki ile spinal kord ve dorsal root ganglionlarda (DRG)  $\alpha_2\delta$ -1 subunit artışı gösterilmiştir (50). Her iki çalışmada da kalsiyum kanalının  $\alpha_2\delta$ -1 subunitinin artışı, antihiperalezik etkisini; voltaj bağımlı kalsiyum kanallarının  $\alpha_2\delta$ -1 alt ünitesine bağlanarak gösteren gabapentinin nöropatik ağrıdaki etkisini açıklamaktadır. Biz de çalışmamızda CCI ile oluşturduğumuz nöropatik ağrıda 30 mg/kg gabapentinin etkili doz olduğunu gözledik. Çalışmalardaki gabapentinin antihiperalezik dozunun birbirine yakın olduğu söylenebilir. Çalışmamızda gabapentin dozunun 30 mg/kg üstüne çıkıldığında antinosiseptif etkinin azaldığını gördük. Bu durumu tam olarak açıklayamadık. Gabapentinin yüksek dozlarda hiperalezi oluşturduğu düşünülebilir ve bu konuda yeni çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

Gabapentin, gabapentin ve nitrogliserin verilen grupların kendi içinde beş, on, onbeş ve yirmibirinci günlerdeki von Frey ölçüm değerleri karşılaştırıldığında elde edilen değerlerin bir öncekine göre daha düşük olduğunu gördük. Yani ratlar von Frey ölçüm tekrarlarında pençelerini daha düşük kuvvet uygulamalarında çekiyorlardı. Ratların genellikle beş tekrarda korkuya koşullandıklarını, tek tekrarın yanlış pozitif sonuç için yeterli olduğunu bildiren çalışmalar vardır (51). Bu çalışmaların sonuçları göz önüne alındığında bu durumun; tekrarlayan uyaranlara karşı ratların öğrenilmiş davranışla cevap vermeleriyle açıklanabileceği kanısındayız.

Nitrogliserin hücre içinde NO'ya dönüşerek etki gösterir (8). Nitrik oksit sentez edildikçe salıverilen bir molekül olup yapısı gereği depolanmaya uygun değildir. Fazla miktarda oluşumunun dokular üzerinde toksik etkisi olduğu için hızla etkisiz hale dönüştürülür. Nitrik oksit, hücre içi cGMP (siklik guanosin mono fosfat) konsantrasyonunu artırarak santral ve periferik sinir sisteminde ağrının modülasyonunda rol oynar (8). Nitrik oksit aynı zamanda GABA ve NMDA üzerinden de etki gösterebilir (8, 52, 53). Omurilik arka boynuzunda ağrılı impulsların NO tarafından potansiyalize edildiğini, NOS inhibitörlerinin antinosiseptif etkilerinin olduğunu, öte yandan çeşitli bileşiklerin analjezik etkilerine NO'in aracılık ettiğini ileri süren çelişkili çalışmalar bulunmaktadır (10). Transdermal nitrogliserinin spinal sufentanil ve neostigminin etkisini arttırarak postoperatif analjezik tüketimini azalttığı bildirilmiştir (7). İnsanlarda yapılan çalışmalarda nitrogliserinin düşük dozlarının (6 mg/gün altında) analjezik, yüksek dozlarının ise (30mg/gün) hiperalezik etkili olduğu gösterilmiştir (6,8). Yine deneysel hayvan çalışmalarında NO donörlerinin hiperalezik veya analjezik etki gösterebildiği ve bunun da kullanılan ajanın dozu, uygulama

yolu, dağılımı, farmakokinetiği ile bağlantılı olabileceği gösterilmiştir (8). Bizim çalışmamızda G30 ile G30+NO, G100 ile G100+NO, G300 ile G300+NO gruplarının tekrarlı von Frey ölçüm değerleri karşılaştırıldığında, aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. Ancak G30+NO grubunun değerleri, G30 grubunun aynı günlerdeki von Frey değerlerine göre daha yüksek idi. Buna göre G30+NO'nun, G30'a göre daha antihiperalezik etkili olduğu düşünülebilir. Yine G300+NO grubunun von Frey değerleri, G300 grubunun aynı günlerdeki von Frey değerlerine göre daha yüksek idi. Buna göre de G300+NO'nun, G300'a göre daha antihiperalezik etkili olduğu düşünülebilir. Gabapentin dozu yükseldikçe Nitrogliserinin antihiperalezik etkisinin buna paralel olarak artmasının, NO donörlerinin hiperalezik veya analjezik etki gösterebildiği ve bunun da kullanılan ajanın dozu ve bağlı olarak dağılımıyla bağlantılı olabileceği düşünülebilir (8).

Kawabata ve arkadaşları (54) ratlarda yaptıkları çalışmada NO prokürsörü olan L-Argininin ciltaltına 0,3-1 mg/kg dozunda uygulandığında, hiperaleziyi önlediği, intravenöz 600 mg/kg dozunda ise etkili olmadığını gözlemişlerdir. Biz de çalışmamızda ratlara 1 mg/kg dozunda nitrogliserini intraperitoneal yolla verdik. Çalışmamızda tek başına Nitrogliserin 1mg/kg verilen grupta nitrogliserinin hiperaleziyi önleme etkisini gözlemedik. Bununla birlikte, Gabapentin 100 mg/kg ve Gabapentin 300 mg/kg dozlarında verilen gruplara 1mg/kg Nitrogliserin eklendiğinde antihiperalezik etkiyi arttırdığına dair bulgu gözlemedik. Ancak Gabapentin 30 mg/kg+ Nitrogliserin 1 mg/kg verilen grupta diğer gruplara oranla von Frey testinde ayağını çekme değerleri daha yüksekti. Her türlü akut olayda (travma, stres, akut enflamasyon gibi) salınan iNOS hem doku koruyucu hem de zarar verici bir etki gösterebilir. Bugüne dek yapılan çalışmalardaki farklı sonuçlar hem metodolojideki farklılıklardan hem de bu paradoksal etkiden kaynaklanıyor olabilir.

Şen ve arkadaşları (55) ratlarda yaptıkları bir çalışmada onbeş gün boyunca lornoksikama 1mg/kg dozda nitrogliserin eklenmesi ile gastrointestinal sistem ve renal yan etkilerin azaldığını göstermişlerdir. İlaçların uygulanmasından onbeş gün sonra indirekt olarak nitrik oksit değerlerine baktıklarında, lornoksikama nitrogliserin eklendiği gruptaki nitrik oksit seviyelerinin ( $69,2 \pm 5,8$ ), sadece nitrogliserinin verildiği gruba ( $97,3 \pm 14,4$ ) göre anlamlı olarak daha az olduğunu görmüşlerdir. Bu bulgular nitrik oksit prekürsörü olarak kullanılan nitrogliserinin çeşitli ilaçlarla kombine edilmesinin nitrik oksit üretimini baskıladığını düşündürmektedir. Bu sonuçlarla bizim çalışmamızın sonuçlarını karşılaştırdığımızda; G100 ile G100+NO ve G300 ile G300+NO von Frey değerleri arasında

anlamli fark olmaması nitrogliserinin, gabapentinin antihiperaljezik etkisini arttırmamasını açıklayabilir.

Bir başka çalışmada streptozotosin ile diyabetik nöropatik ağrı modeli oluşturulan ratlarda intratekal neostigminin (Asetilkolin esterase inhibitörü) spinal nitrik oksit aracılığıyla antiallodinik etkisi incelenmiştir. Neostigmin 0,1, 0,2 ve 0,5 µg dozlarında intratekal verilmiştir. Mekanik allodini için Von Frey testine intratekal neostigmin enjeksiyonununun 15, 30, 45, 60, 120. ve 180. dakikalarında bakılmış ve neostigminin antiallodinik etkisinin dozla birlikte arttığı gözlenmiştir. Neostigmin verilmesi öncesinde 30 µg TRIM (NO sentez inhibitörü) veya 30 µg PTIO (nitrik oksit scavenger = süpürücü) verildiğinde neostigminin antiallodinik etkisinin önlendiği görülmüştür. Ayrıca TRIM'in neostigminin antiallodinik etkisi üzerine inhibitör etkisinin; intratekal 100 µg L-Arginin (NO prekürsörü) verilerek geri döndürülebileceği saptanmıştır. Böylece NO prekürsörünün antiallodinik özelliği vurgulanmıştır (56). Takasu ve arkadaşları (57) çalışmalarında parsiyel sinir hasarı oluşturdukları farelerde, gabapentinin mekanik hipersensitiviteyi azaltıcı etkisini gözlemişler ve bu etkinin spinal  $\alpha_2$  adrenerjik, muskarinik reseptör ve NO kaskadı ile ilgisini araştırmışlardır. Sinir hasarı için Seltzer ve arkadaşlarının yöntemi kullanmışlar, termal ve mekanik hipersensitiviteye sinir ligasyonundan yedi gün sonra bakmışlardır. Sistemik olarak intraserebroventriküler (ICV) verilen gabapentinin santral analjezik etkisinin hem spinal hem de supraspinal aktivite ile gerçekleştiğini, supraspinal mekanizmanın inen noradrenarjik sistem aracılığıyla olduğunu saptamışlardır. Intraserebroventriküler verilen 100 µg gabapentinin hem termal hem de mekanik hipersensitiviteyi azalttığını öne sürmüşlerdir. Kolinesteraz inhibitörü neostigminin (0,3 ng IT) ICV verilen gabapentinin mekanik hipersensitiviteye olan etkisini poansiyalize ettiği gözlenmiştir. Bu da gabapentinin supraspinal etkisinin spinal asetilkolin salınımı ile olduğunu doğrular niteliktedir. Nitrik oksit sentez inhibitörü olan L-NAME (L-N<sup>G</sup>-nitroarginine methylester) (3 µg) veya L-NMMA (L-N<sup>G</sup>- nitroarginine methylasetat) (10 µg) intratekal verilmesinin, ICV verilen gabapentinin mekanik hipersensitiviteye olan etkisini azalttığı görülmüştür. Gabapentinin termal hipersensitiviteye olan etkisi için bu durum gözlenmemiştir. Biz çalışmamızda gabapentinin üç farklı dozuna ayrı ayrı 1 mg/kg Nitrogliserin eklediğimiz gruplarda gabapentin 30 mg/kg+Nitrogliserin 1mg/kg verilen grup hariç Nitrogliserinin, gabapentinin antihiperaljezik etkisini arttırdığını gözlemedik. Opioid reseptör antagonisti olan naloxan'ın (10 mg/kg, İP) sistemik verilmesinin, ICV verilen gabapentinin analjezik etkisini baskılamada yetersiz



kaldığı gözlenmiş, spinal  $\alpha_2$  adrenerjik reseptör, muskarinik reseptör (özellikle  $M_1$ ) ve NO kaskadının, gabapentinin sadece mekanik hipersensitiviteye olan etkisini açıklamaktadır sonucuna varmışlardır. Bizim çalışmamızda da yirmi birinci günde yapılan hot-plate testinde G30 grubunda, G30+NO grubuna göre daha uzun süreler tespit etmemiz bu mekanizma ile açıklanabilir düşüncesindeyiz. Yine çalışmamızda G30+NO grubundaki Von Frey değerlerinin yüksek çıkması NO' nun gabapentinin mekanik hipersensitiviteye olan etkisinde rol oynadığı sonucuyla benzemektedir.

## 6. SONUÇ

Çalışmamızda gabapentin, gabapentin + nitrogliserinin mekanik hiperaljeziye etkisini ölçmek için yaptığımız von Frey ölçümlerinde en yüksek değerleri, G30+NO grubunda saptadık. Gabapentinin daha yüksek dozlarda verildiği gruplarda von Frey ölçüm değerlerini düşük gözledik. Bu gruplardaki ratların pençelerine kuvvet uygulanmasına karşı, daha hassas olduklarını ve pençelerini daha erken çektiklerini gözledik. Hot-plate testinde ise en uzun süreyi G30 grubunda elde ettik.

Sonuç olarak ratlarda oluşturduğumuz deneysel nöropatik ağrı modelinde Gabapentin 30 mg/kg+ Nitrogliserin 1mg/kg dozunun nöropatik ağrıda mekanik hiperaljezi tedavisinde en etkili olduğunu saptadık. Ayrıca sadece gabapentinin 30 mg/kg İP verildiği grupta bu dozun termal hiperaljezide etkili olduğunu hot-plate testi ile saptadık.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçların doğrulanması ve açıklanmamış mekanizmaların açıklanabilmesi için ileri düzeyde başka çalışmaların yapılması gerektiği kanaatindeyiz.

## 7. ÖZET

### **Ratlarda Oluşturulan Nöropatik Ağrı Modelinde Gabapentin ve Nitrik Oksitin Antinosisepsiyona Etkisi.**

**Amaç:** Çalışmamızda ratlarda oluşturulan nöropatik ağrı modelinde gabapentin ve nitrik oksitin etkilerini araştırmayı amaçladık.

**Yöntem ve Gereç:** Çalışma, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu onayı alındıktan sonra, Tıp Fakültesi Fizyoloji Deneysel Araştırma laboratuvarında gerçekleştirildi. Ağırlıkları 250-350 gr arasında değişen Wistar cinsi 63 erkek rat randomize olarak dokuz eşit gruba (n=7) ayrıldı. Tüm gruplardaki ratların başlangıçta ve deneyin sonunda kiloları ölçüldü. Kontrol grubu dışında tüm gruplardaki ratlarda Bennett ve Xie tarafından tarif edilen siyatik sinir ligasyonu ile CCI (Kronik Sıkıştırma Hasarı) modelinin modifiye şekli uygulanarak nöropatik ağrı oluşturuldu. Grup 0 kontrol grubu olarak alındı. Grup SF'e serum fizyolojik, Grup G30'a gabapentin 30 mg/kg, Grup G30+NO'ya gabapentin 30mg/kg +nitrogliserin 1mg/kg, Grup G100'e gabapentin 100 mg/kg, Grup G100+NO'ya gabapentin 100 mg/kg +nitrogliserin 1mg/kg, Grup G300'e gabapentin 300mg/kg, Grup G300+NO'ya gabapentin 300mg/kg +nitrogliserin1mg/kg, Grup NO'ya ise nitrogliserin 1 mg/kg periton içine 21 gün süreyle verildi. Ratların her 10 gramı için 0.07 mL ilaç uygulandı. Deney süresince ratların hareketleri izlendi. Beşinci, onuncu, onbeşinci ve yirmibirinci günlerde von Frey testi yapıldı. Yirmibirinci günde hot-plate testi yapıldı.

**Bulgular:** Beşinci ve onuncu günlerdeki Von Frey ölçümlerinde en yüksek değerlere G30+NO grubunda çıkıldığı gözlemlendi. Gabapentinin daha yüksek dozlarda verildiği gruplarda von Frey ölçümlerinde elde edilen değerler düşüktü. Hot-plate testinde ise en uzun süre G30 grubunda elde edildi.

**Sonuç:** Ratlarda oluşturduğumuz deneysel nöropatik ağrı modelinde gabapentin intraperitoneal 30 mg/kg+NO 1mg/kg dozunun nöropatik ağrıda mekanik hiperaljezi tedavisinde en etkili olduğu saptandı. Ayrıca gabapentinin 30 mg/kg dozunun termal hiperaljezide en etkili olduğu tespit edildi.

**Anahtar kelimeler:** Nöropatik ağrı, Gabapentin, Nitrogliserin, Von Frey, Hot-plate, Rat

**İletişim adresi:** filizsekurd@yahoo.com

## 8. SUMMARY

### **The Antinociceptive Effects of Gabapentin and Nitric Oxide on Neuropathic Pain Model Formed in Rats**

**Aim:** To search the effects of gabapentin and nitric oxide on the neuropathic pain model which is made in rats.

**Material and method:** The ethical committee permission was obtained from The Genuine Animals Ethic Committee. Wistar type 63 male rats, each of which weighed between 250-350 gr. are divided in to nine equal groups (n=7). Neuropathic pain was constituted at the rats except the control group, by syatic nerve ligation as modified form of CCI (Chronic Constriction Injury) model. Group 0 was the control group. Physiological serum was administered to Group SF. Gabapentin was administered; 30 mg/kg, 100 mg/k, 300 mg/kg to groups G30, G100, G300 respectively. Nitroglycerine was added 1 mg/kg to groups G30+NO, G100+NO, G300+NO respectively. One mg/kg nitroglycerine was administered to Group NO. Drugs were administered intraperitoneally for 21 days. At the fifth, tenth, fifteenth and twentyfirst days; the von Frey test was done. At the twentyfirst day of the study the hot-plate test was done.

**Findings:** The highest values were obtained at the G30+NO group after the von Frey test at the fifth and tenth days. At the groups in which the gabapentin was administered at higher doses the values of the von Frey test were lower. The longest time was obtained at G30 at hot-plate test.

**Result:** At the experimental neuropathic pain model; we found that, administration of 30 mg/kg gabapentin+1 mg/kg nitroglycerin intraperitonealy is the most effective at the treatment of mechanical hiperalgesia. Also it was found that 30 mg/kg gabapentin is the most effective at thermal hiperalgesia.

**Key Words:** Neuropathic pain, Gabapentin, Nitroglycerin, Von Frey test, Hot-plate test, Rat.

**Correspondence to:** filizsekdur@yahoo.com.

## 9. KAYNAKLAR

1. Köknel Talu G. Nöropatik Ağrı. Erdine S. Ağrı. Üçüncü Baskı İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2008: 461-71.
2. Jose M. Angel, M. D. Kronik Ağrı. Duke J. Anestezinin Sırları. İkinci Baskı İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2006: 418-23.
3. Araç N. Nöropatik ağrı tedavisinde antiepileptik ilaçların yeri. Tan E. Nöropatik Ağrı. Birinci Baskı İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2009: 311-28.
4. Tan E. Nöropatik ağrı tedavisinde antiepileptikler. Sipahioğlu F. Sendrom. 2008; 3: 63-6.
5. Graeme J S. The mechanisms of action of gabapentin and pregabalin. Current Opinion Pharmacology. 2006; 6: 108-13.
6. Hashimoto S, Kobayashi A. Clinical pharmacodynamics of glyceryl trinitrate anmetabolites. Clin Pharmacokinet 2003; 42: 205-21.
7. Lauretti GR, Oliveira R, Reis MR. Transdermal nitroglycerine enhances spinal sufentanil postoperative analgesia following orthopedic surgery. Anesthesiology 1999; 90: 734-9.
8. Sousa AM, Prado WA. The dual effect of a nitric oxide donor in nociception. Brain Res 2001; 897:9-19.
9. Eti Aslan F. Ağrı kontrolünde hemşirenin rolü. Erdine S. Ağrı. Üçüncü Baskı İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2008: 787-97.
10. Raj PP. Ağrı taksonomisi. Erdine S. Ağrı. Üçüncü Baskı İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2008: 19-26.
11. Cousins M, Power. Acute and postoperative pain. Textbook of Pain. Wall PD, Melzack R.London, Churchill Livingstone, 1999; 447-91.
12. Aldemir T. Akut ağrı fizyopatolojisi. Erdine S. Ağrı. İkinci Baskı İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2002: 105-13.
13. Önal A. Ağrı. Önal A. Algoloji. Birinci Baskı İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2004: 1-20.
14. Keskinbora K, Aydın I. Atipik opioid analjezik: Tramadol. Ağrı. 2006: 5-19.
15. Stefan Grond and Armin Sablotzki. Clinical pharmacology of tramadol. Clin. Pharmacokinet 2004; 43: 879-923.

16. Uçkunkaya N, Gurbet A. Ağrı fiziolojisi. Gldoğuş F, Güleç S, Uçkunkaya N. Baş ve yüz ağrılarını. Birinci Baskı Ankara: Güneş Kitabevi, 2007: 1-11.
17. Ertekin C. Ağrının nöroanatomisi ve nrofiziyojisi. Yegül İ. Ağrı ve tedavisi. İzmır: Yapım Matbaacılık, 1993: 1-18.
18. Kayhan Z. Ağrı. Kayhan Z. Klinik Anestezi. çnc Baskı İstanbul: Logos Yayıncılık, 2004: 922-59.
19. Çizmeçi P, Bolay H. Nöropatik ağrı ve patofiziyojisi. Sipahioğlu F. Sendrom. 2008; 3: 12-6.
20. Oliva P, Aurilio C, Massimo F, at all. The antinociceptive effect of tramadol in the formalin test is mediated by the serotonergic component. Eur J Pharmacol 2002; 445 (3): 179-85.
21. Desmeules JA, Piguet V. Contribution of monoaminergic modlation to the analgesic effect of tramadol. Br J Clin Pharmacol 1996; 41(1):7-12.
22. Morgan G. E, Mikhail Jr. MS, Murray MJ, Larson C. P, M .Tulunay, Cuhruk H. (çev.edt.). Klinik Anesteziyoloji. çnc Baskı Ankara: Gneş Kitabevi, 2004: 309-58.
23. Buccellati C, Sala A, Ballerio R. Tramadol anti-inflammatory activity is not related to direct inhibitory action on prostoglandin endoperoxide synthases. Eur J Pain 2000; 4: 413-15.
24. Raffa R.B, Friderichs E. The basic science aspect of tramadol hydrochloride. Pain Rev 1996;3:249-71.
25. Merksey H, Loeser JD, Dubner R. Pharmacology of inflammatory pain. The Paths of Pain 1975-2005 Seattle 2005; 177-90.
26. Ertaş M. Nöropatik ağrı: Semptomlar ve lçek. Sipahioğlu F. Sendrom. 2008; 3: 10-1.
27. Bianchi M, Brogini M, Balzarani P. Effects of tramadol on synovial fluid concentrations of substant P and interleukin-6 in patients with knee osteoarthritis: Comparison with paracetamol. Int Immunopharmacol 2003; 3: 1901-8.
28. Erdine S. Tramadol çift yönlü etki ile düşük riskli güçlü analjezi. Ağrı Ek 2002; 14: s: 3-15.

29. Eti Z. Postoperatif ağrı tedavisi. Erdine S. Ağrı. Üçüncü Baskı İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2008: 150-167.
30. Aydın I. Sekonder analjezikler. Erdine S. Ağrı. Üçüncü Baskı İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2880: 605-25.
31. Morgan G. E, Mikhail Jr. MS, Murray MJ, Larson C. P, M .Tulunay, Cuhruk H. (çev.edt.). Klinik Anesteziyoloji. Üçüncü Baskı Ankara: Güneş Kitabevi, 2004: 224-32.
32. Büyükaşar K. Nitrik oksitin farmakolojisi. Türk Farmakoloji Derneği, Farmakoloji Eğitim Sempozyumları Programı. Seminer Özetleri, Mersin. Mayıs 2005.
33. Dan Levi Phd, Douglas W, Zochodne. NO Pain: Potential roles of nitric oxide in neuropathic pain, Review Article. Pain Practice 2004; 4: 11-8.
34. Şen S, Dost T, Aydın ON. Lornoksikamın 2 farklı dozunun nitrogliserinle kombinasyonunun ratlarda akut ağrı üzerine etkisi. Ağrı 2005;17: 47-52.
35. İskit A.B. Nitrik oksit ve inflamasyon. Türk Farmakoloji Derneği, Farmakoloji Eğitim Sempozyumları Programı. Seminer Özetleri, Mersin. Mayıs 2005.
36. Kartal F, Özyalçın NS. Hayvanlarda akut ve kronik ağrı modellerinin değerlendirilmesi. Önal A. Algoloji. Birinci Baskı İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2004: 299-324.
37. Bennett GJ. Animal models and their clinical implications. The Paths of Pain 1975-2005. Merksey H, Loeser JD, Dubner R, Seattle, 2005; 243-51.
38. Lancelotta MP, Sheth RN, Meyer RA, Belzberg AJ, Griffin JW, Campbell JN. Severity and duration of hyperalgesia in rat varies with type of nerve lesion. Neurosurgery 2003; 53: 1200-9.
39. Çağlar Toprak G. Deneysel nöropatik ağrı modelinde sistemik uygulanan NGF ve anti-NGF'nin etkisi. Uzmanlık Tezi. Elazığ. Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi. Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı. 2006.
40. Bester H, Beggs S, Woolf CJ. Changes of tactile stimuli-induced behavior and c-FOS expression in the superficial dorsal horn and in parabrachial nuclei after sciatic nerve crush. J Comp Neurol 2000; 428: 45-61.

41. Herzberg U, Eliav E, Dorsey JM, Gracely RH, Kopin IJ. NGF involvement in pain induced by chronic constriction injury of the rat sciatic nerve. *NeuroReport* 1997; 8: 1613-18.
42. Hogan Q, Sapunar D, Modric-Jednacak K, McCallum B. Detection of neuropathic pain in a rat model of peripheral nerve injury. *Anesthesiology* 2004; 101: 476-87.
43. Özyiğit F, Tamer M, Dökmeci D, Ulugöl A. Farelerde periferik nöropati için yeni bir deneysel model: Tibial sinir ligasyonu. *Trakya Üniv Tıp Fakültesi Dergisi* 2006; 23: 140-4.
44. Hooft JA, Dougherty JJ, Endeman D, Nichols RA, Wadman WJ. Gabapentin inhibits presynaptic Ca<sup>2+</sup> influx and synaptic transmission in rat hippocampus and neocortex. *Eur J Pharmacol* 2002; 449: 221-8.
45. Hwang JH, Yaksh TL. Effect of subarachnoid gabapentin on tactile-evoked allodynia in a surgically induced neuropathic pain model in the rat. *Reg Anesth* 1997; 22: 249-56.
46. Gillin S, Sorkin LS. Gabapentin reverses the allodynia produced by the administration of anti-GD2 ganglioside, an immunotherapeutic drug. *Anesth Analg* 1998; 86: 111-6.
47. Gustafsson H, Flood K, Berge OG, Brodin E, Olgart L, Stiller CO. Gabapentin reverses mechanical allodynia induced by sciatic nerve ischemia and formalin-induced nociception in mice. *Experiment Neurology* 2003; 182: 427-34.
48. Rode F, Brolos T, Blackburn-Munro G, Bjerrum OJ. Venlafaxine compromises the antinociceptive actions of gabapentin in rat models of neuropathic and persistent pain. *Psychopharmacology* 2006; 187: 364-75.
49. Cizkova D, Marsala J, Lucacova N, Marsala M, Jergova S, Orendacova J, Yaksh TL. Localization of N-type Ca<sup>2+</sup> channels in the rat spinal cord following chronic constrictive nerve injury. *Exp Brain Res* 2002; 147: 456-63.
50. Luo ZD, Calcutt NA, Higuera ES, Valder CR, Song YH, Svensson CI, Myers RR. Injury type- specific calcium channel  $\alpha_2\delta$ -1 subunit up-regulation in rat neuropathic pain models correlates with antiallodynic effects of gabapentin. *JPET* 2002; 303: 1199-1205.
51. Gülen Ş. Öğrenme ve Bellek. [www.baskent.edu.tr/sebnem/ogrenmebellek20082009.pdf](http://www.baskent.edu.tr/sebnem/ogrenmebellek20082009.pdf). 29.09.2009.



52. Fukami S, Uchida I, Mashimo T, Takenoshita M, Yoshiya I. Gamma subunit dependent modulation by nitric oxide (NO) in recombinant GABA-A reseptor. *Neuroreport* 1998; 20: 1089-92.
53. Bogdanov MB, Wurtman RJ. Possible involvement of nitric oxide in NMDA-induced glutamate release in the rat striatum: An in vivo microdialysis study. *Neurosci Lett* 1997; 221:197-201.
54. Kawabata A, Nishimura Y, Takagi H. L-leucyl-L-arginine, naltrindole and D-arginine block antinociception elicited by L-arginine in mice with carregein-induced hyperalgesia. *Br J Pharmacol* 1992; 107: 1096-101.
55. Şen S, Doger F, Aydın ON. The protective effect of nitroglycerin on gastrointestinal and renal side effects of lornoxicam in rats. *Eur J Pharmacol* 2006; 541: 191-7.
56. Chen SR, Khan GM, Pan HL. Antiallodynic effect of intratecal neostigmin is mediated by spinal nitric oxide in a rat model of diabetic neuropathic pain. *Anesthesiology* 2001; 95: 1007-12.
57. Takasu K, Honda M, Ono H, Tanabe M. Spinal  $\alpha_2$  adrenergic and muscarinic receptors and the NO release cascade mediate supraspinally produced effectiveness of gabapentin at decreasing mechanical hypersensitivity in mice after partial nerve injury. *Br J Pharmacol* 2006; 148: 233-44.

