

T.C
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Farmakoloji Anabilim Dalı

ANTİDEPRESAN İLAÇLARIN ANALJEZİK
ETKİLERİNİN MEKANİZMASININ
ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

Dr. Fatih İLKAYA

TEZ DANIŞMANI
Yrd. Doç. Dr. S. Sırrı BİLGE

Samsun/2009

TEŞEKKÜR VE DESTEKLEYEN KURULUŞ

Uzmanlık eğitimim ve tez çalışmalarım süresince her konuda bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım değerli hocalarımdan başta tez danışmanım Yrd.Doç.Dr.S.Sırrı Bilge olmak üzere Prof.Dr.Süleyman Çelik, Prof.Dr.Yüksel Kesim ve Yrd.Doç.Dr. Mehmet Kurt'a, tez çalışmam sırasında büyük yardımını gördüğüm çalışma arkadaşım Ecz. Duygu Belkis Baş'a, birlikte çalıştığım asistan arkadaşlarımdan Dr. Evren Şavlı, Dr. İbrahim Ağrı ve Dr. Arzu Erdal'a, labaratuvar çalışmalarında yardımını esirgemeyen Selami Türel'e, manevi desteğinden dolayı Havva Özen ve Uzman Dr. Elif Aksöz'e, bana büyük sabır ve anlayış gösteren değerli eşim Nazan'a ve bu günlere gelmemde büyük payı olan sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez araştırmamı yapmaya başladığım ilk günden bitimine kadar tüm çalışmalarında yardımını esirgemeyen değerli hocam Doç.Dr.Ayhan Bozkurt'a ayrıca teşekkürü bir borç bilirim.

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Araştırma Fonu'nun T-533 no'lu projesi ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR VE DESTEKLEYEN KURULUŞ	I
İÇİNDEKİLER	II
TABLO LİSTESİ	VII
ŞEKİL LİSTESİ	VIII
ÖZET	X
ABSTRACT	XII
KEY WORDS	XIII
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Ağrının Tanımı	3
2.2. Ağrının Sınıflandırılması	4
2.2.1. Akut Ağrı	4
2.2.2. Kronik Ağrı	5
2.2.3. Viseral Ağrı	6
2.3. Ağrının Fizyolojisi	8
2.3.1. Nörotransmisyon ve Çevresi	9
2.3.2. Dorsal Boynuz Nöronal Sistemi	11
2.3.3. Çıkan (Asendan) Ağrı Yolları	14
2.3.4. Antinörsisepif İnci Sistemler	15
2.3.5. Serebral Korteks ve Ağrı Algılaması	17
2.4. Ağrı Mekanizmasında Rol Alan Sistemler	18
2.4.1. Ağrı Mekanizmasında Opioiderjik Sistemin Rolü	18
2.4.1.1. Ağrı Mekanizmasında Rol Alan Opioiderjik	18
Reseptörler ve Fonksiyonel Özellikleri	
2.4.1.2. Spinal Seviyede Opioiderjik Sistemin Rolü	21
2.4.1.3. Supraspinal Seviyede Opioiderjik Sistemin Rolü	23

2.4.2.	Ağrı Mekanizmasında Serotonerjik Sistemin Rolü	27
2.4.2.1.	Ağrı Mekanizmasında Rol Alan Serotonerjik	28
	Reseptör Alt Tipleri ve Fonksiyonel Özellikleri	
2.4.2.2.	Spinal Seviyede Serotonerjik Sistemin Rolü	32
2.4.2.3.	Supraspinal Seviyede Serotonerjik Sistemin Rolü	35
2.4.3.	Ağrı Mekanizmasında Noradrenerjik Sistemin Rolü	36
2.4.3.1.	Ağrı Mekanizmasında Rol Alan Noradrenerjik	36
	Reseptörler ve Fonksiyonel Özellikleri	
2.4.3.1.1.	Spinal Kordda Yer Alan Noradrenerjik	36
	Reseptörler	
2.4.3.1.2.	Beyinde Yer Alan Noradrenerjik Reseptörler	37
2.4.3.2.	Spinal Seviyede Noradrenerjik Sistemin Rolü	40
2.4.3.2.	Supraspinal Seviyede Noradrenerjik Sistemin Rolü	43
2.4.4.	Ağrı Mekanizmasında Kolinerjik Sistemin Rolü	45
2.4.4.1.	Kolinerjik Reseptörlerin Ağrı Mekanizmasında	45
	Fonksiyonel Özellikleri	
2.4.4.1.1.	Kolinerjik Muskarinik Reseptörlerin Ağrı	45
	Mekanizmasında Fonksiyonel Özellikleri	
2.4.4.1.2.	Kolinerjik Nikotinik Reseptörlerin Ağrı	47
	Mekanizmasında Fonksiyonel Özellikleri	
2.4.4.2.	Spinal Seviyede Kolinerjik Sistemin Rolü	48
2.4.4.3.	Supraspinal Seviyede Kolinerjik Sistemin Rolü	49
2.4.5.	Ağrı Mekanizmasında Nitrerjik Sistemin Rolü	51
2.4.5.1.	Spinal Seviyede Nitrerjik Sistemin Rolü	52
2.4.5.2.	Supraspinal Seviyede Nitrerjik Sistemin Rolü	52
2.5.	DeneySEL Ağrı Modelleri	54
2.5.1.	Termal Uyarı İle Oluşturulan Ağrı Modelleri	54
2.5.1.1.	Tail Flick (Kuyruk Çekme) Testi	54
2.5.1.1.1.	Radyant Isı Kullanılarak Yapılan Tail Flick Testi	54

2.5.1.1.2. Tail İmmersiyon Testi	55
2.5.1.2. Hot Plate (Sıcak Zemin) Testi	55
2.5.1.3. Paw Withdrawal (Pençe Geri Çekme) Testi	56
2.5.2. Kimyasal Uyarı İle Oluşturulan Ağrı Modelleri	56
2.5.2.1. Asetik Asit Karın Kıvrınma (Writhing)) Testi	56
2.5.2.2. Formalin Testi	57
2.5.2.3. Karregen Testi.....	58
2.5.3. Mekanik Uyarı İle Oluşturulan Ağrı Modelleri	58
2.5.3.1. Von-Frey Monoflaman Testi	58
2.5.3.2. Kolorektal Distansiyon ile Oluşturulan Viseral Ağrı Modeli.....	58
2.6. Antidepresan İlaçların Aneljezik/Antinosiseptif Özellikleri	60
3. GEREÇ VE YÖNTEM	65
3.1. Hayvanlar	65
3.2 Cerrahi Yöntem.....	65
3.2.1. Elektrotların Yerleştirilmesi	65
3.2.2. İntravenöz Kalıcı Kateterin Yerleştirilmesi.....	66
3.3. Kolorektal Distansiyon Oluşturulması.....	67
3.4 Kullanılan İlaçlar	70
3.5. Deney Grupları.....	70
3.5.1 Trisiklik Antidepresanların ve SSRI'ların KRD ile Oluşturulan Viseral Ağrı Modelinde Antinosiseptif Etkinliğinin Araştırılması	72
3.5.1.1. Fluoksetinin KRD ile Oluşturulan Viseral Ağrı Modelinde Antinosiseptif Etkinliğinin Araştırılması	72
3.5.1.2. Sertralinin KRD ile Oluşturulan Viseral Ağrı Modelinde Antinosiseptif Etkinliğinin Araştırılması	72
3.5.1.3. İmipraminin KRD ile Oluşturulan Viseral Ağrı Modelinde Antinosiseptif Etkinliğinin Araştırılması	72
3.5.2. İmipraminin KRD ile Oluşturulan Viseral Ağrı Modelindeki Antinosiseptif Etkisinde Opioiderjik Reseptörlerin Rolünün Araştırılması	73

3.5.3. İmipraminin KRD ile Oluşturulan Viseral Ağrı Modelindeki Antinosiseptif Etkisinde Alfa-2 Adrenerjik Reseptör Alt Tiplerinin Rolünün Araştırılması	73
3.5.3.1. Alfa-2 Adrenerjik Reseptörlerin Rolünün Araştırılması	73
3.5.3.2. Alfa-2a Adrenerjik Reseptörlerin Rolünün Araştırılması	73
3.5.3.3. Alfa-2b Adrenerjik Reseptörlerin Rolünün Araştırılması	73
3.5.3.4. Alfa-2c Adrenerjik Reseptörlerin Rolünün Araştırılması	74
3.5.4. İmipraminin KRD ile Oluşturulan Viseral Ağrı Modelindeki Antinosiseptif Etkisinde Serotonerjik Reseptör Alt Tiplerinin Rolünün Araştırılması	74
3.5.4.1. 5-HT2 Reseptörlerin Rolünün Araştırılması	74
3.5.4.2. 5-HT3 Reseptörlerin Rolünün Araştırılması	74
3.5.4.3. 5-HT4 Reseptörlerin Rolünün Araştırılması	74
3.5.5. İmipraminin KRD ile Oluşturulan Viseral Ağrı Modelindeki Antinosiseptif Etkisinde Kolinergik Muskarnik Ve Nikotinik Reseptör Alt Tiplerinin Rolünün Araştırılması	75
3.5.5.1. Muskarnik Reseptörlerin Rolünün Araştırılması	75
3.5.5.2. Nikotinik Reseptörlerin Rolünün Araştırılması	75
3.5.6. İmipraminin KRD ile Oluşturulan Viseral Ağrı Modelindeki Antinosiseptif Etkisinde Nitrerjik Sistemin Rolünün Araştırılması	75
3.6. İstatistiksel Analiz	76
4. BULGULAR	77
4.1. Trisiklik Antideprasanların ve SSRI'ların KRD ile Oluşturulan Viseral Ağrı Modelinde Viseromotor Yanıtlar Üzerine Etkisi	77
4.1.1. Sertralinin KRD ile Oluşturulan Viseral Ağrı Modelinde Viseromotor Yanıtlar Üzerine Etkisi	77
4.1.2. Fluoksetinin KRD ile Oluşturulan Viseral Ağrı Modelinde Viseromotor Yanıtlar Üzerine Etkisi	77
4.1.3. İmipraminin KRD ile Oluşturulan Viseral Ağrı Modelinde Viseromotor Yanıtlar Üzerine Etkisi	77
4.2. İmipraminin KRD ile Oluşturulan Viseral Ağrı Modelindeki Antinosiseptif Etkisinde Opioiderjik Reseptörlerin Rolü	77

4.3. İmipraminin KRD ile Oluşturulan Viseral Ağrı Modelinde	78
Modelindeki Antinosiseptif Etkisinde Alfa-2 Adrenerjik Reseptör Alt Tiplerinin Rolü	
4.3.1. Alfa-2 Adrenerjik Reseptörlerin Rolü.....	78
4.3.2. Alfa-2a Adrenerjik Reseptörlerin Rolü.....	78
4.3.3. Alfa-2b Adrenerjik Reseptörlerin Rolü.....	78
4.3.4. Alfa-2c Adrenerjik Reseptörlerin Rolü.....	78
4.4. İmipraminin KRD ile Oluşturulan Viseral Ağrı Modelinde	79
Modelindeki Antinosiseptif Etkisinde serotonerjik Reseptör Alt Tiplerinin Rolü	
4.4.1. 5-HT2 Reseptörlerin Rolü.....	79
4.4.2. 5-HT3 Reseptörlerin Rolü	79
4.4.3. 5-HT4 Reseptörlerin Rolü	79
4.5. İmipraminin KRD ile Oluşturulan Viseral Ağrı Modelinde	80
Antinosiseptif Etkisinde Kolinerjik Muskarinik ve Nikotinik Reseptörlerin Rolü	
4.5.1. Muskarinik Reseptörlerin Rolü	80
4.5.2. Nikotinik Reseptörlerin Rolü	80
4.6. İmipraminin KRD ile Oluşturulan Viseral Ağrı Modelinde	80
Modelindeki Antinosiseptif Etkisinde Nitrerjik Sistemim Rolü	
5. TARTIŞMA	93
6. SONUÇ	111
7. KAYNAKLAR	112

TABLO LİSTESİ

Tablo I	Antidepresanların Yapısal Sınıflaması
Tablo II	Antidepresanların Etki Düzenine Göre Sınıflandırılması
Tablo III	Antidepresanların Deneysel Ağrı Modellerindeki Analjezik Etkileri
Tablo IV	Uygulanan Agonist ve Antagonistlerin EAA Üzerine Etkileri

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1	Viseral Ağrının İletilmesi
Şekil 2	Sinir Lifleri ve Özellikleri
Şekil 3	Ağrı Duyusunun İletilmesi
Şekil 4	Sinir Liflerinin Spinal Laminadaki Dağılımları
Şekil 5	Kapı Kontrol Teorisi
Şekil 6	Çıkan (Ascending) Ağrı Yolakları
Şekil 7	Antinosiseptif İnici (Descending) Sistemler
Şekil 8	Ağrı Modülasyonunda Yer Alan Supraspinal Opioiderjik Merkezler
Şekil 9	Ağrılı Uyaran Karşısında “On” Ve “Off” Hücrelerin Durumu
Şekil 10	Kedi Beyninde Serotonin-İmmünreaktif Hücre Gövdeleri
Şekil 11	Beyindeki Ana Noradrenerjik Nöron Çekirdekleri
Şekil 12	Nitrik Oksit Sentezi
Şekil 13	Basamaklı Kolorektal Distansiyon Sonrası Sıçan Abdominal Eksternal Kas Aktivitesini Yansıtan EMG Yanıtı
Şekil 14	Elektrotların Karın İçi Görünümü ve Kafatasına Sabitlenmiş Görünümü
Şekil 15	Sol Eksternal Jugüler Vene Kalıcı Kateterin Yerleştirilmesi
Şekil 16	Kolorektal Aparat
Şekil 17	Deney Düzeneği
Şekil 18	Basamaklı Distansiyon Modelinde Distansiyona Karşı Gelişen EMG Yanıtları
Şekil 19	Farklı Dozlarda Uygulanan İmipraminin Viseromotor Yanıtı Etkisi
Şekil 20	Naloksonun İmipramin Analjezisine Etkisi
Şekil 21	Yohimbin, BRL-44408, İmiloksan ve MK-912’nin İmipramin Analjezisine Etkisi
Şekil 22	Ketanserin’in İmipramin Analjezisine Etkisi
Şekil 23	Ondansetronun İmipramin Analjezisine Etkisi

- Şekil 24 GR-113808'in İmipramin Analjezisine Etkisi
- Şekil 25 Atropinin İmipramin Analjezisine Etkisi
- Şekil 26 Mekamilaminin İmipramin Analjezisine Etkisi
- Şekil 27 L-NAME ve D-NAME'in İmipramin Analjezisine Etkisi
- Şekil 28 L-Arginin ve D-Arginin'in İmipramin Analjezisine Etkisi

ÖZET

Trisiklik antidepresanlar diyabetik ağrı ve post herpetik nöralji gibi nöropatik ağrılarda ve irritable barsak sendromu, atipik fasiyal ağrı, fibromyalji, migren ve gerilim tipi baş ağrıları gibi bozukluklarda tek başına veya diğer ilaçlarla kombine uygulanmaktadırlar. Trisiklik antidepresanların analjezi mekanizmaları kutanöz ağrı modellerini içeren çeşitli çalışmalarda araştırılmasına rağmen visceral ağrıdaki analjezik etki mekanizmaları yeteri kadar bilinmemektedir. Yan etkilerinin azlığı nedeniyle en çok tercih edilen antidepresan ilaçlar olan seçici serotonin geri alım inhibitörleri (SSRI) de trisiklik antidepresanlara alternatif olarak ağrı tedavisinde kullanılmaktadır ancak SSRI'ların da visceral ağrıdaki etki mekanizmaları yeterince araştırılmamıştır. Bu çalışmanın amacı selektif serotonin geri alım inhibitörlerinden sertralin ve fluoksetinin, trisiklik antidepresan ilaçlardan imipraminin; kolorektal distansiyonla (KRD) oluşturulan visceral ağrı modelinde olası analjezik etkinliklerini ve analjezik etki mekanizmalarında opioidergik, serotonergik, noradrenergik, kolinerjik ve nitrejik sistemin olası rolünü araştırmaktır.

Çalışmamızda kolorektal distansiyon oluşturularak sıçanlarda ağrılı uyaran meydana getirildi ve ağrılı uyaranlar sıçanların abdominal eksternal oblik kasında ölçülebilir bir kontraksiyon yanıtı “viseromotor yanıt (VMY)” meydana getirdi. VMY'lar eksternal oblik kasa yerleştirilen elektrotlardan elde edilen EMG aktivitesi ile değerlendirildi. Deney günü KRD oluşturmak için sıçanlara kolorektal aparat takıldı ve ortalama bazal yanıt tespit etmek için 5'er dakikalık aralıklarla 5 kez KRD uygulandı. İmipramin, fluoksetin, sertralin ve morfin uygulandıktan sonra KRD 5., 15., 30., 60., 90. ve 120. dakikalarda tekrarlanarak VMY'lar değerlendirildi. Antagonistler, antidepresan ilaçlardan veya SF' ten 10 dakika önce uygulandı.

Çalışmamızda bir trisiklik antidepresan olan imipramin 10, 20 ve 40 mg/kg, i.v uygulandığında KRD ile oluşturulan visceral ağrı cevaplarını engellerken, seçici serotonin geri alım inhibitörlerinden (SSRI) sertralin ve

fluoksetin 5, 10 ve 20 mg/kg, i.v uygulandıklarında herhangi bir etki göstermedi. İmipraminin analjezik etkisi alfa-2 adrenerjik reseptör antagonisti yohimbin, seçici alfa-2a adrenerjik reseptör antagonisti BRL-44408, seçici alfa-2c adrenerjik reseptör antagonisti MK-912 ve nitrik oksit donörü L-arginin ile engellendi. Seçici olmayan opioid reseptör agonisti nalokson, seçici alfa-2b adrenerjik reseptör antagonisti imiloksan, seçici 5-HT3 reseptör antagonisti ondansetron, seçici olmayan muskarinik reseptör antagonisti atropin imipraminin analjezik etkisini engellemedi. İmipraminin analjezik etkisini seçici 5-HT4 reseptör antagonisti GR-113808 (i.v) ve nitrik oksit sentaz inhibitörü L-NAME (i.v) anlamlı olarak artırdı. Çalışmamızda ketanserin, mekamilamin ve ondansetron hariç i.v uygulanan tüm antagonistler tek başına bir etki göstermedi. Ketanserin, ondansetron ve mekamilamin tek başına i.v uygulandığında analjezik etki gösterdi. Ketanserin ve mekamilamin imipramin ile beraber uygulandığında ise imipraminin analjezik etkisinde artma gözlemlendi.

Bu sonuçlar kolorektal distansiyonla indüklenen viseral ağrı modelinde imipraminin analjezik etkili olduğunu ve bu etkiye noradrenerjik alfa2a, alfa2c., serotonerjik 5-HT4 reseptörleri ile nitrenerjik sistemin aracılık ettiğini göstermektedir. 5HT-2 reseptör antagonisti ketanserin ve nikotinik reseptör antagonisti mekamilamin hem tek başına uygulandıklarında analjezik etki meydana gelmiş hem de imipraminle beraber uygulandıklarında analjezik etkide artış gözlemlenmiştir. Ketanserin, ondansetron ve mekamilaminin tek başına uygulandıklarında analjezik etki göstermesi viseral ağrı yollarında 5-HT2, 5-HT3 ve kolinerjik nikotinik reseptörlerin nosiseptif etkiye aracılık ettiğini düşündürmektedir. Serotonerjik ve kolinerjik sistemin KRD ile oluşturulan viseral ağrı modelinde etkilerinin daha net ortaya konması için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: Antidepresanlar, viseral ağrı, kolorektal distansiyon, rat

ABSTRACT

Tricyclic antidepressants are used alone or combined in the treatment of neuropathic pain such as diabetic nerve pain and post herpetic neuralgia and pain disorders such as irritable bowel syndrome, atypical facial pain, fibromyalgia, migraine and tension-type headache. Although the tricyclic antidepressants' analgesia mechanisms have been investigated in various studies using somatic pain models, the analgesia mechanisms of tricyclic antidepressants in visceral pain are not enough known. Because of the favorable side effects profile, the most preferred antidepressants selective serotonin re-uptake inhibitors (SSRI) are used alternatively to the tricyclic antidepressants in pain treatment, however the pain mechanisms of SSRIs' are not clearly investigated, too. In the present study, it was aimed to evaluate that the tricyclic antidepressant imipramine's and SSRI antidepressants fluoxetine's and sertraline's possible analgesic effects and the systems of opioidergic, serotonergic, noradrenergic, cholinergic and nitroergic interactions in these possible analgesic mechanisms, by using colorectal distension (CRD) induced visceral pain model.

In our study, the noxious stimulus is produced by colorectal distension in rats and after this noxious stimulus, a measurable abdominal contraction response, which is named "visceromotor response (VMR)", is observed. Visceromotor responses are measured by EMG that gain from electrodes, which are implanted external oblique muscles. On the day of testing, colorectal apparatus is inserted to rats to produce CRD and later CRD was given five times, at five minute intervals to establish the baseline response. Colorectal distension was given 5, 15, 30, 60, 90 and 120 minute after imipramine, fluoxetine, sertraline and morphine administration to establish visceromotor responses. Antagonists were administered 10 minute prior to antidepressant drugs or saline administration.

In our study, i.v administration of SSRI drugs sertraline and fluoxetine were without effect on CRD-induced VMR, with doses of 5, 10 and 20 mg/kg. The tricyclic antidepressant drug imipramine induced a clear dose-dependent

antinociceptive effect in CRD-induced visceral pain, with doses of 5, 10 and 20 mg/kg, i.v. Non - selective adrenergic receptor antagonist yohimbine, selective alfa-2a adrenergic receptor antagonist BRL-44408, selective alfa-2c receptor antagonist MK-912 and nitric oxide donor L-arginin antagonized the antinociceptive effect of imipramin. On the other hand, non-selective opioidergic receptor antagonist naloxone, selective alfa-2b antagonist imiloxan, selective 5-HT3 receptor antagonist ondansetron and non-selective muscarinic receptor antagonist atropine did not change the antinociceptive effect of imipramine. Selective 5-HT4 antagonist GR-113808 (i.v) and nitric oxide synthase inhibitor L-NAME (i.v) significantly enhanced the antinociceptive effect of imipramin. In our study, all antagonists, except ketanserine, mecamyleamine and ondansetron, had no effect when they were administered (i.v) alone. Ketanserine, mecamyleamine and ondansetron are induced an antinociceptive effect when they were administered (i.v) alone. On the other hand, an augmentation of imipramin's antinociceptive effect was observed when ketanserine and mecamyleamine administered (i.v) together with imipramine (i.v).

These results show that imipramine has an antinociceptive effect in CRD induced visceral pain model and noradrenergic alfa-2a, alfa-2c, serotonergic 5-HT4 receptors and nitrgergic system have a role in the analgesic mechanism of imipramine. 5HT-2 receptor antagonist ketanserine and nicotinic receptor antagonist mecamyleamine both have an analgesic effect when they were administered alone and also the imipramine's analgesic effect was enhanced by ketanserin and mecamyleamine, when they were combined with imipramine. That the ketanserine, ondansetrone and mecamyleamine have an analgesic effect when they were given alone means that in visceral pain pathways 5-HT2, 5-HT3 and cholinergic nicotinic receptors mediate nociceptive effects. To assess clearly both serotonergic and nicotinergic systems' roles in CRD induced visceral pain model, further studies are needed.

Key words: Antidepressants, visceral pain, colorectal distension, rat.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Ağrı kişilerin yaşam kalitesini önemli oranda düşüren yaygın bir semptom olup, sosyal ve ekonomik bir problemdir. İsveç'te yapılan bir epidemiyolojik çalışmada kronik ağrı prevalansı %54 civarında bulunmuştur (1). Ağrı tedavisinde sık kullanılan steroid olmayan antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ) hemen her ülkede en çok kullanılan ilk beş grup ilaç içine girmektedir. Amerika Birleşik Devletleri gibi birçok gelişmiş ülkede ağrı kesicilerin reçetesiz olarak kullanılması yaygındır. Türkiye'de 2007 yılında, "ağrı kesici" ve "antiromatizmal" olarak kullanılan ilaçlar, kullanılan tüm ilaçların % 21,7'lik önemli bir kısmına karşılık gelmektedir (2). Bu nedenle etkin ve rasyonel analjezik kullanımı çok önemlidir. Günümüzde ağrı duyusunun ve ağrı tedavisinde kullanılan ilaçların analjezik etki mekanizmalarının araştırılmasına yönelik deneysel ve klinik çalışmalara rağmen bu konudaki bilgilerimiz henüz sınırlıdır.

Trisiklik antidepresan (TSA) ilaçların deneysel ve klinik çalışmalarda analjezik etkileri uzun zamandan beri bilinmektedir. TSA'lar 1960'lı yıllardan beri analjezik amaçlı kullanılmaktadır (3). Termal, mekanik, kimyasal ve elektriksel ağrı modellerinde hem akut hem de kronik ağrıda analjezik etki gösterdikleri çok sayıda araştırmada belirtilmiştir (4, 5). Klinikte ise diabetik ağrı ve post herpetik nöralji gibi nöropatik ağrılarda ve irritabl barsak sendromu, atipik fasiyal ağrı, fibromyalji, migren ve gerilim tipi baş ağrıları gibi bozukluklarda tek başına veya diğer ilaçlarla kombine uygulanmaktadırlar (6).

1990'lı yıllardan itibaren yeni bir sınıf antidepresan olarak kullanıma giren selektif serotonin geri alım inhibitörleri (SSRI), özellikle yan etki profillerinin daha düşük olması nedeni ile ağrı tedavisinde trisiklik antidepresanlara alternatif

olarak tercih edilmektedir (7, 8). SSRI'ların aynı zamanda deneysel ağrı modellerinde analjezik etkinlikleri de gösterilmiştir (9, 10).

Gerek trisiklik antidepresanların gerekse selektif serotonin geri alım inhibitörlerinin çeşitli deneysel ağrı modellerinde ve klinik durumlarda analjezik etkili oldukları belirtilse de, gastrointestinal sistemden (GIS) kaynaklanan ağrı tedavisinde kullanım alanlarına ve analjezik etki mekanizmalarına yönelik yapılan çalışmalar sınırlı sayıdadır. 2006 yılı itibariyle literatürde deney hayvanlarında visceral ağrı modeli haricinde TSA'larla ilgili 126, SSRI'larla ilgili 39 çalışmanın yapıldığı belirtilirken (11), sadece kolorektal distansiyonla oluşturulan visceral ağrı modelinde TSA'larla (12, 295) ve SSRI'larla (13) yapılan sınırlı sayıda çalışma vardır.

Bu çalışmanın amacı selektif serotonin geri alım inhibitörlerinden sertralin ve fluoksetinin, trisiklik antidepresan ilaçlardan imipraminin; kolorektal distansiyonla (KRD) oluşturulan visceral ağrı modelinde olası analjezik etkinliklerini ve analjezik etki mekanizmalarında opioiderjik, serotonerjik, noradrenerjik, kolinerjik ve nitreerjik sistemin olası rolünü araştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. AĞRININ TANIMI

Ağrı latince “poena” (ceza, intikam, işkence) sözcüğünden gelmekte olup türkçede “acı, sızı” kelimeleriyle ifade edilmektedir. Ağrıyı tanımlamak oldukça güçtür çünkü ağrı sadece bir duyu olmayıp organizmanın deneyimi de ağrı algılanmasında rol oynar. Aktüel (anlık) veya potansiyel bir doku hasarı ile birlikte olan veya bu anlama gelen terimlerle ifade edilen hoş olmayan bir duyu ve duysal bir deneyimdir. Nörofizyolojik, biyokimyasal, psikolojik, etnokültürel, bilişsel, ruhsal ve çevresel bir durumdur. Uluslararası Ağrı Araştırmaları Derneği (IASP) ise, *“vücudun herhangi bir yerinden kaynaklanan, organik bir nedene bağlı olan veya olmayan, insanın geçmişteki tüm deneyimlerini kapsayan, hoş olmayan özel bir duyu”* şeklinde ifade etmektedir. Bu tanım ağrının objektif olan fizyolojik yönü ile subjektif, duysal ve psikolojik komponentlerini kapsamaktadır. Kişiler arasında hatta aynı kişide bile değişik zamanlarda ağrı reaksiyonu farklı olabilmektedir (14,15).

Ağrı genellikle doku hasarına yanıt olarak oluşur. Ağrının oluşması için gereken doku hasarı şu durumlarda meydana gelir:

- 1) Fiziksel hasara neden olan mekanik veya termal uyarılar
- 2) Laktik asit birikimine neden olan doku iskemisi
- 3) Toksin, enfeksiyon ve çeşitli kimyasal maddelerin neden olduğu inflamasyon

Ağrının neden olduğu bütün olaylarda her zaman doku hasarı olmak zorunda değildir. Migren tipi ağrılarda belirgin bir doku hasarı olmayabilir.

Travmatik ve zararlı uyarılara nöral yanıtı ifade etmek için nosisepsiyon terimi kullanılır. Nosisepsiyon; doku harabiyetinde lokal olarak salıverilen mediyatör ve aljezikler tarafından nosisseptörlerin uyarılıp, uyarının duysal sinir lifleri ile modüle edildiği merkezlere iletilmesi sağlandıktan sonra, Santral Sinir Sistemi (SSS) ve nöral yapılarda değerlendirilen zararlı uyarının algılanması ve buna karşı gerekli fizyolojik, biyokimyasal ve psikolojik önlemlerin harekete geçirilmesidir. Her nosisepsiyon bir ağrı oluşturur fakat her ağrının nedeni

nosisepsiyon değildir. Organizma nosiseptif uyarı olmaksızın da ağrı algılayabilir (16).

2.2. AĞRININ SINIFLANDIRILMASI

Ağrı genel olarak şu şekilde sınıflandırılmaktadır (17):

1. Kaynaklandığı dokuya göre

- a. Somatik
- b. Visceral
- c. Sempatik

2. Hissediliş, duyum şekline göre

- a. Ani, keskin, batıcı
- b. Yavaş artan,
- c. Künt, bazen yanıcı

3. Başlama süresine göre

- a. Akut ağrı
- b. Kronik ağrı

4. Nörofizyolojik mekanizmasına göre

- 1. Nosiseptif ağrı
- 2. Nöropatik ağrı
- 3. Deafferantasyon ağrısı
- 4. Reaktif ağrı
- 5. Psikosomatik ağrı (psikojenik ağrı)

Pratikte en çok “akut ve kronik ağrı” şeklindeki sınıflandırma kullanılmaktadır.

2.2.1. AKUT AĞRI

Primer olarak nosisepsiyona bağlı olarak gelişen akut ağrı daima nosiseptif niteliktedir ve neden olan lezyon ile ağrı arasında; zaman, yer ve şiddet

bakımından yakın ilişki olup, başlangıcı genellikle 6 aydan kısa süreli olma özelliğini taşır. Akut ağrı “cerrahi, travma veya akut hastalığa eşlik eden kimyasal, termal veya mekanik uyarılara beklenen normal fizyolojik cevap” tır. Posttravmatik, postoperatif ve obstetrik ağrı akut ağrıya örnek olarak verilebilir. Miyokard infarktüsü, pankreatit, böbrek taşı gibi durumlarda da ortaya çıkar. Genelde tedavi sonrası iyileşen ağrılardır (15).

Akut ağrı üçe ayrılır:

- 1. Yüzeysel:** Cilt, cilt altı ve mukozalardaki nosiseptif uyarılara bağlıdır. Lokalizasyonu tamdır. Keskin, batıcı, zonklayıcı, yanıcı bir ağrı şeklinde tarif edilir.
- 2. Derin somatik ağrı:** Orijini kas, tendon ve eklemlerdir. Genelde künt ve lokalize edilemeyen ağrıdır.
- 3. Viseral ağrı:** İç organların veya onları örten oluşumların (paryetal plevra, perikard, periton) fonksiyonlarının bozulması sonucu ortaya çıkar. İçi boş organların mekanik gerimi de viseral ağrıya neden olur.

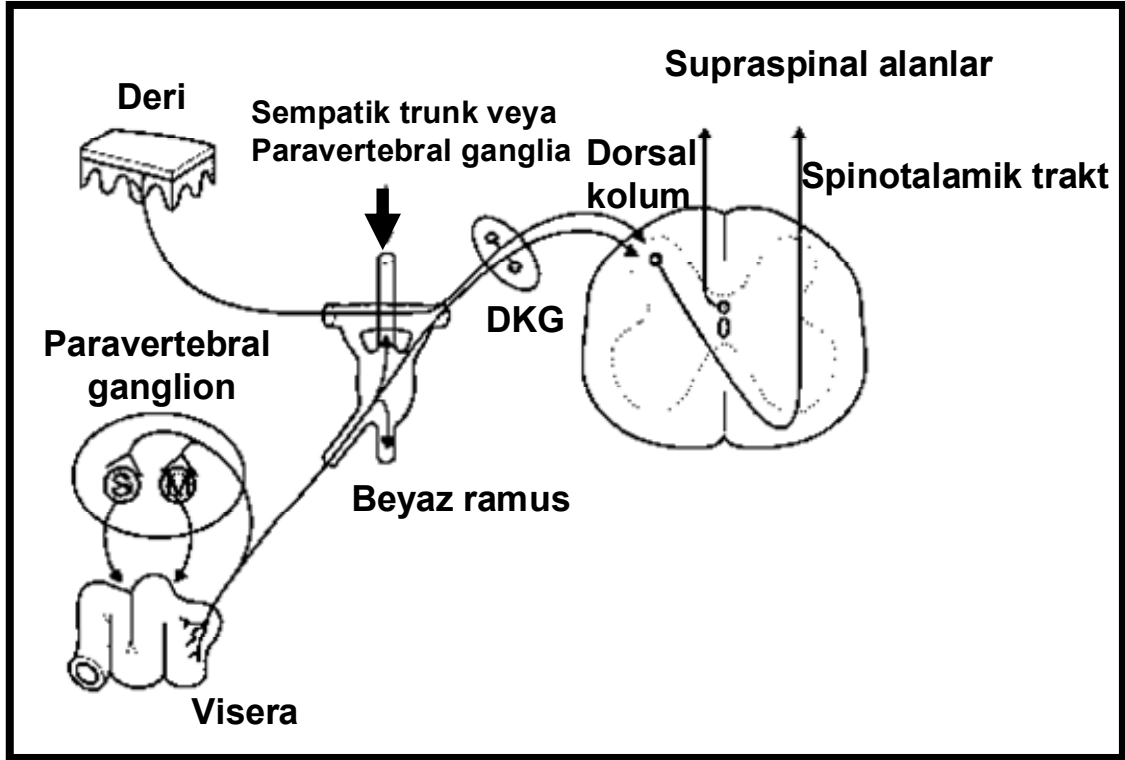
2.2.2. KRONİK AĞRI

Akut ağrı beklenen süreci aşarsa kronikleşir. Bu süre 1-6 ay arası olabilir. Organizmanın nosisepsiyona karşı yanıtını gösteren ağrının Santral Sinir Sistemi (SSS)’deki algılanışı ve buna yanıt mekanizması (modülasyon) bozulmuştur. Kronik ağrıda, akut ağrının tersine nöroendokrin reaksiyon gibi organizmanın gösterdiği adaptif yanıtlar ya azalmıştır ya da hiç yoktur. Kronik ağrı en çok kas, iskelet, kronik organ hastalıklarında, periferik sinirlerin ve sinir köklerinin, dorsal ganglionların (kozalji, fantom ağrısı, post herpetik nöralji) ve SSS’nin bozukluklarında (apopleksi, MS hasarı) gözlenir. Santral, periferik veya otonom sinir sistemindeki fonksiyon bozukluklarına bağlı olan kronik ağrı çoğu kez spontan yakıcı karakterdedir ve hiperpati (orta şiddetle bir ağrılı uyarana çok şiddetli yanıt) ile birlikte dir. Buna genelde nöropatik ağrı denilmektedir ve nosiseptif-olmayan (non-nosiseptif) ağrı için en yaygın kabul gören tanımdır.

Nöropatik ağrı nörolojik bir yapı ve/veya işlevinin değişmesi ile ortaya çıkar. Nöropatik ağrının nosiseptif ağrıdan en belirgin farkı sürekli bir nosiseptif uyarının bulunmamasıdır (14).

2.2.3.VİSERAL AĞRI

Batın ve toraks içi organların inflamatuvar durumları ve hastalıkları viseral ağrıya neden olur. Genel olarak iç organlarda ağrı reseptörleri dışında duyuşsal reseptör bulunmaz. Viseral ve kutaneal reseptörler arasında önemli klinik farklılıklar vardır. Viserlerdeki reseptör sayısı cilttekine göre çok daha azdır ve bu reseptörler farklı bir aktivasyon şekli gösterirler. Örneğin, mezenterin, uterus serviksini veya diğer viseral organların kesilmesi ve yakılması klinik ağrı oluşturmazken traksiyon, distansiyon veya iskemi ağrıya neden olur. Bu ağrı genellikle yaygındır, zor lokalize edilir ve önemli bir otonomik komponenti vardır (17). Viseral dokunun iskemisi, organ yüzeyinin kimyasal hasarı, içi boş organlardaki ani gerilmeler ve ligamentlerin gerilmesi gibi nedenler viseral ağrı nedenlerindendir. Ayrıca barsağın, mesanenin, safra kesesinin, üreterin veya diğer bir viseral organın spazmı, olasılıkla ağrı sinir sonlanmalarının mekanik olarak uyarılmasına bağlı olarak ağrıya neden olur. Kolon, rektum ve mesaneden kalkan uyarılar sakral parasempatik sinirlerle medulla spinalise taşınır. Farenks, trakea ve özafagusun üst kısımlarından kalkan uyarılar; glossofaringeus ve vagus sinirleri ile, geri kalan bütün organlardan kalkan uyarılar sempatik sinirlerle medulla spinalise taşınırlar



Şekil 1: Viseral ağrının iletilmesi

DKG, dorsal kök ganglionu; **S**, sekretuar nöronlar; **M**, motor nöronlar

Bu lifler ince C tipi liflerdir ve bundan dolayı yalnızca kronik yavaş tarz ağrıyı iletirler. Gerçek viseral ağrıya ek olarak, viseral organların ağrı duyusu paryetal periton, plevra veya perikardı inerve eden non-viseral lifler tarafından da taşınmaktadır. Bir viseral organda hasar paryetal periton, plevra ve perikarda da yayıldığı takdirde inervasyonunu spinal sinirlerden alan bu paryetal yüzeyler keskin hızlı ağrı duyusunun oluşmasına neden olurlar.

Farklı organlardan kaynaklanan viseral ağrının lokalize edilmesi zordur. Abdomen ve torakstan gelen duyular merkezi sinir sistemine gerçek viseral yol ve paryetal yol olmak üzere iki yolla iletilir. Gerçek viseral ağrı otonom sinirler içindeki sempatik ve parasempatik duyusal liflerle (sıklıkla sempatik liflerle) iletilirler ve arka boynuzda somatik afferentlerle aynı bölgeye götürülür. Viseral reseptörler omurilikte birçok spinal segmentte geniş bir dağılım ve geniş bir reseptif alanına sahiptir. Bu durum viseral ağrının kesin olarak lokalize

edilmesini önler ve yansıyan ağrı fenomenini açıklayabilir (18). Ancak direkt olarak pariyetal periton, plevra ve perikarddan gelen pariyetal duyular, lokal spinal sinirler içerisinde iletilirler ve bu duyular genellikle direkt olarak ağrılı bölgede lokalize edilebilirler.

Torasik ve lomber arka boynuz hücrelerinin büyük çoğunluğu hem viseral hem de somatik afferentlerden birbirine yakın gelen bilgiyi alır. Viseral afferent input bir kez arka boynuza ulaştınca, bundan sonraki iletim ve gidiş somatik iletimle aynı genel kalıbı izler. Yine de, iletimin karışması enderdir. Örneğin, spinal olarak uygulanan bazı analjezik ajanlar somatik ve viseral ağrı iletimine karşı farklı (zıt) duyu şekli (nosiseptif/antinosiseptif) gösterir (19, 20). Bu durum, input hakkındaki bilginin farklı transmitter maddeler ve reseptörler tarafından iletilildiğini düşündürür.

2.3. AĞRININ FİZYOANATOMİSİ

Ağrılı uyaranlar dört aşamada üst merkezlere doğru bir yol izler (14).

a. Transdüksiyon: Bir enerjinin başka bir enerjiye dönüştürülmesidir. Örn; her sıcak uyaran ağrılı değildir. Sıcak bir uyarının ağrılı hale geçebilmesi için belirli bir derecenin ($> 42^{\circ}\text{C}$) üzerine çıkması gerekir.

b. Transmisyon: Duyusal sinirler boyunca impulsların yayılmasıdır. Burada miyelinli A delta lifleri ve miyelinsiz C lifleri etkin rol üstlenirler.

c. Modülasyon: Nosiseptif transmisyonun nöral etkenlerle modifiye olmasıdır. Başlıca omurilik seviyesinde gerçekleşir. Ağrılı uyaran spinal kord seviyesinde bir değişime uğramakta ve bu değişim sonucunda daha üst merkezlere iletilmektedir.

d. Persepsiyon: Kişinin subjektif emosyonel deneyimleri ile ağrılı uyarıyı algılamasıdır.

Bu aşamaların her biri ağrının tedavisi için hedef noktalarıdır. Ağrının nöroanatomi ve fizyolojisinde dört grup rol almaktadır.

2.3.1. NOSİSEPTÖR VE ÇEVRESİ

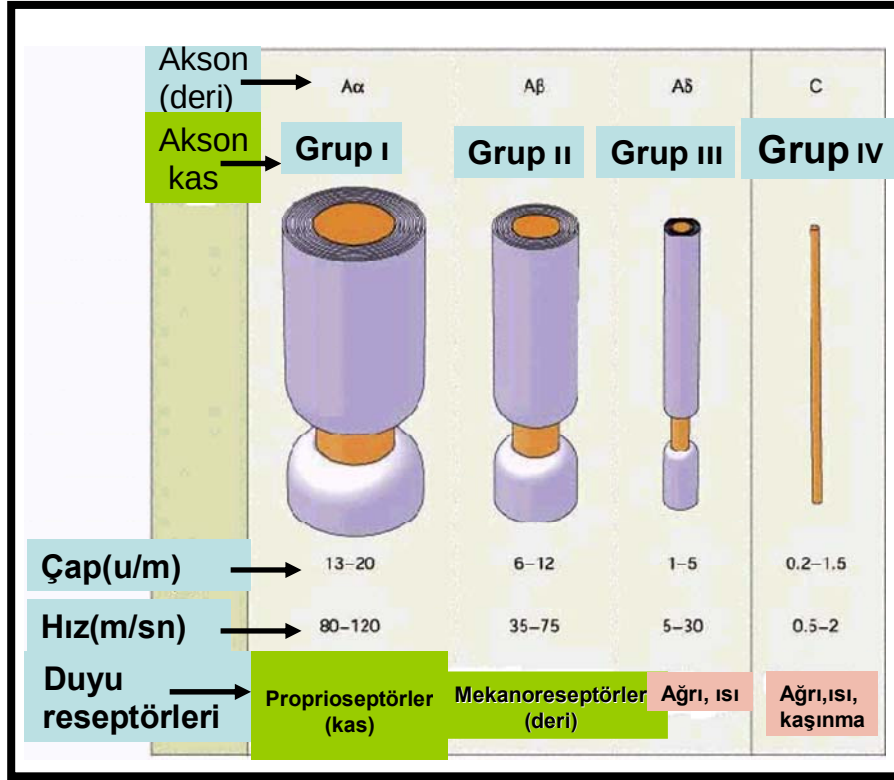
Ağrılı uyarıları algılayıp ileten reseptörlere nosiseptör denir. Nosiseptörlerin çoğu serbest sinir uçlarıdır. Nosiseptörler yerleşim yerlerine göre somatik ve viseral nosiseptörler olmak üzere ikiye ayrılır. Somatik nosiseptörler ciltte ve derin dokularda yer alır. Derin nosiseptörler ağrılı uyarılara kutanöz reseptörlerden daha az duyarlıdır, fakat inflamasyon durumunda kolayca sensitize olurlar. Bunlardan kaynaklanan ağrı karakteristik olarak künt ve iyi lokalize edilemeyen tiptedir. Viseral organlar genellikle duyarsız dokulardır ve çoğunlukla sessiz nosiseptörler içerirler. Bazı organların örn: kalp, akciğer ve testislerin spesifik nosiseptörleri olduğu düşünülmektedir. Diğer organların çoğu, örneğin barsaklar düz kas spazmı, iskemi ve inflamasyona yanıt veren polimodal nosiseptörler içerirler.

Nosiseptörler; mekanoreseptörler, sessiz reseptörler ve polimodal mekanotermik nosiseptörler olmak üzere üç tiptir. Mekanoreseptörler iğne batırma gibi mekanik uyarıları algılar. Sessiz reseptörler inflamasyon durumlarında aktive olur. Polimodal mekanoreseptörler ise aşırı basınç, ısı ve ağrı oluşturan maddelere (alojen) yanıt verir.

Alojenlerin başlıcaları bradikinin, serotonin, histamin, K^+ iyonları, P maddesi, prostaglandinler, asetilkolin ve proteolitik enzimlerdir. Ağrılı bir uyarıyı epidermis ve dermisde algılayan serbest sinir uçları iki tip sinir lifini oluşturur. Bunlar miyelinli ve iletimin hızlı olduğu A delta lifleri ile miyelinsiz iletimin yavaş olduğu C lifleridir. A delta lifleri miyelinli duyu liflerinin en ince olanıdır. A tipi liflerin en küçük çaplı olan delta lifleri hızlı ağrı, sıcaklık ve dokunma duyularını taşırlar. Hızlı ağrı sinyalleri mekanik veya termal ağrı uyaranlarıyla oluşur ki, periferik sinirler içerisinde ince 6-30 m/sn hızında iletilen, A δ tipi liflerle medulla spinalise taşınırlar.

Postganglionik aksonlarıyla miyelinsiz C tip lifler ise çapı en ince ve en yavaş sinir uyarı iletimine sahiptirler. Ağrı, sıcaklık ve dokunma duyusunun yavaş iletiminde rol alırlar. Yavaş ağrı C tipi liflerle 0,5-2 m/sn lik hızla medulla

spinalise iletilir. C lifleri polimodal özellik gösterirler, yani yalnızca mekanotermal uyarılara değil, mekanik, kimyasal, aşırı sıcak ve soğuk uyarılara duyarlıdır. Bu yavaş iletimli lifler künt, yaygın bir ağrı ve hiperestezi oluştururlar (14, 21, 22) (şekil 2).

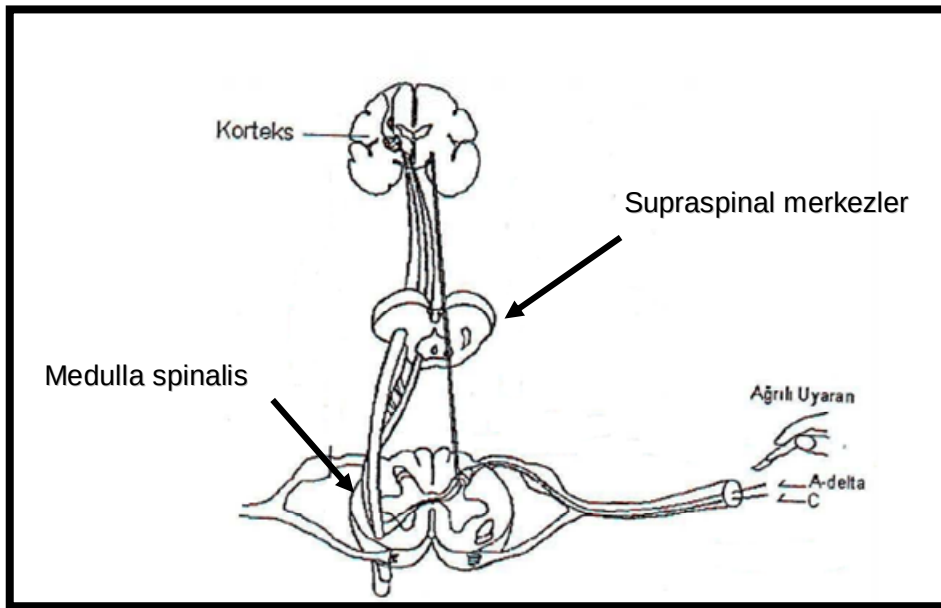


Şekil 2: Sinir lifleri ve özellikleri

Diğer birçok duyusal reseptörün aksine ağrı reseptörleri uyarılara adaptasyon göstermezler (23). Konjenital olarak ağrı algılaması zayıf olanlarda ve diyabetde olduğu gibi sonradan ağrı algılanmasının bozulduğu kişilerde doku hasarlanması daha kolay olur. Bu yüzden normal koşullarda ağrıya adaptasyon gelişmez. Bazı koşullarda yavaş ağrıların uyarıları devam ettiği sürece ağrı liflerinin uyarılabilme eşikleri giderek düşebilir. Böylece bu reseptörler zamanla daha fazla uyarılır hale gelir. Ağrı reseptörlerinin duyarlılığındaki bu artışa hiperaljezi denir. Bu durum organizmanın hasar verici uyarıya devam ettiği sürece uyarıdan haberdar olmasını sağlar.

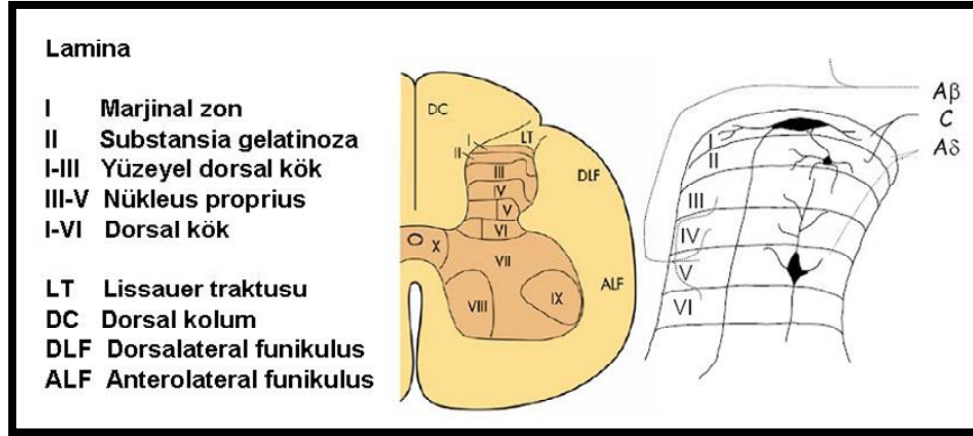
2.3.2 DORSAL BOYNUZ NÖRONAL SİSTEMİ

Ağrılı uyarıyı ileten A delta ve C liflerine primer aferentler denir. Ağrılı uyarıyı taşıyan periferik liflerin (primer aferentlerin) hücre cismi yani ağrı yolunun 1. nöronu arka kök ganglionunda yer alır. Buradan kalkan lifler spinal korda girer ve substansia gelatinosada arka boynuz hücreleri ile sinaps yapar (2. nöron). Medulla spinalise gelen ağrılı uyarılar buradan üst merkezlere (supraspinal) iletilir (21, 22) (şekil 3).



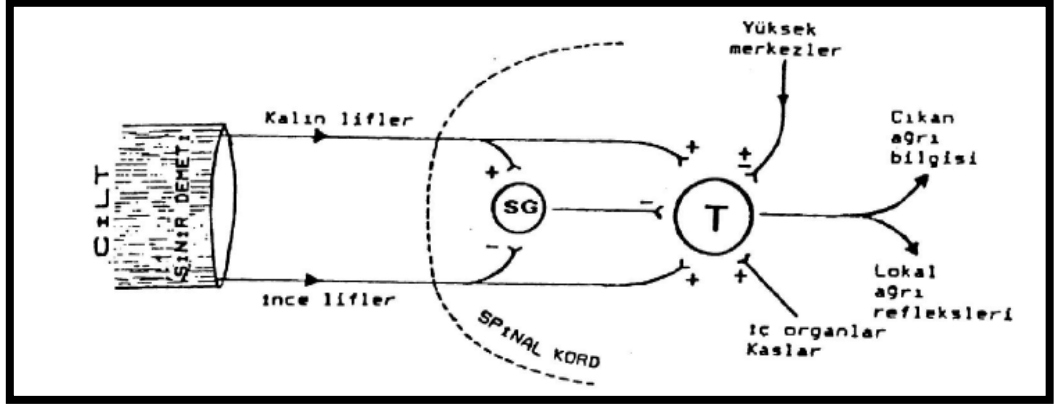
Şekil 3: Ağrı duyusunun iletilmesi

Ağrı duyusu aynı zamanda spinal kordda yer alan çeşitli ara nöronlar (inter nöron) aracılığıyla da ağrı modüle edilir (21). Bu ara nöronlar presinaptik olarak P maddesi gibi ağrı mediyatörlerinin salıverilmesini ve post sinaptik olarak ağrılı uyarının 1. nörondan 2. nörona geçişini baskılayarak ağrıyı modüle ederler. Ağrılı uyarıyı ileten primer aferentler medulla spinalisdeki arka boynuzdaki laminalarda sonlanırlar. Arka boynuz 10 laminaya ayrılmıştır (14, 21) (Şekil 4).



Şekil 4: Sinir liflerinin spinal laminalardaki dağılımları

Lamina I, en dış tabakadır, esas fonksiyonu küçük çaplı afferent liflerden gelen ağrılı impulsları almaktır. Cilt yanığı veya mekanik bası ile oluşan, A-delta ve C lifleri ile iletilen uyarılar alınır. Lamina II ve III, substantia gelatinosa olarak adlandırılır. Ciltten gelen birçok aferent lif bu bölgede sonlanır. Bu bölge ile üst ve alttaki tabakalar arasında birçok bağlantı vardır. Ağrı oluşumunu açıklayan mekanizmalardan kapı kontrol teorisine göre; ağrılı uyarıyı ileten A delta ve C liflerinin (ince lifler) uyarılması substantia gelatinosada bulunan hücreleri inhibe eder, bu hücrelerin inhibisyonu lamina V'de bulunan T (transmission) hücreleri üzerindeki frenleyici etkiyi azaltır (kapı açılır) veya tamamen ortadan kaldırır. Bunun sonucu olarak ağrılı uyarı üst merkezlere iletilecek hale gelmiş olur. Tersine kalın duyu liflerin uyarılması (A beta gibi) substantia gelatinosadaki hücreleri aktive eder, lamina V'de bulunan T hücrelerinin frenleyici mekanizması artar (kapı kapanır), sonuçta uyarının ağrı olarak algılanması azalır veya tamamen yok olur. Yani substantia gelatinosa tabakası duyu sinirlerinin getirdiği uyarıların beyne iletilmesini sağlayan lamina V' teki T hücrelerine uyarı geçişini düzenleyen bir ara sistemdir. Bu hücrelerin aktive veya inhibe edilmesine göre uyarı ya baskılanır ya da ağrılı uyarı olarak üst merkezlere iletilir (24) (şekil 5).



Şekil 5: Kapı kontrol teorisi

Lamina IV tabakası küçük lokalize cilt alanlarından gelen, ağrı oluşturmeyen duyuşsal impulsları taşıyan, kalın kutaneal afferent lifleri alır. Lamina V tabakasındaki hücreler birçok kaynaktan gelen uyarıları alır. Özellikle ağrılı uyarılara karşı çok hassastırlar. Bu hücreler viscerler, kaslar, kan damarları ve derin dokulardan A-delta ve C lifleri ile gelen uyarıları alırlar. Bu nedenle lamina V viseral duyuşsal uyarıların ulaştığı omurilik noktası olarak kabul edilir. Bu hücreler hem substantia gelatinosa hem de üst merkezlerle ilişki içindedir. Spinotalamik traktusların orjinini büyük oranda bu hücreler oluşturur. Ağrının algılanmasında anahtar rol üstlenen T hücreleri bu tabakada bulunur.

Lamina VI tabakasındaki uyarı ve yanıtlar büyük oranda ağrısız stimüluslarla ilgilidir. Lamina VII, VIII ve IX, ön boynuzun parçasıdır. Buradaki hücreler ağrı iletimini sağlayan çıkan (asending) yollara katılır. Lamina X tabakasındaki hücreler santral kanal etrafında yoğunlaşmıştır ve yüksek şiddetteki uyarılara yanıt verirler. Bu hücreler, omurilikte nosiseptif bilgiyi beyine getiren multisinaptik bir zincir oluşturur.

Arka boynuzdaki ağrı modülasyonunda çeşitli nörotransmitter ve nöromodülatörler rol almaktadır. Özellikle glutamat ve aspartat gibi uyarıcı (eksitator) aminoasitler arka boynuzda ağrılı uyarının iletiminde rol alırlar. N-metil D- aspartik asit (NMDA) ve non-NMDA reseptörleri, nitrik oksit (NO) ve primer afferentlerden salgılanan çeşitli peptidler nosisepsiyonda rol alırlar.

Bunlar P maddesi, nörokinin A, Kalsitonin Geni İle İlişkili Peptit (CGRP)'dir (21, 21). Opioiderjik, serotonerjik, noradrenerjik, kolinerjik, adenozerjik sistem ve reseptörler de spinal kordda ağrı modülasyonunda önemli rol almaktadır.

2.3.3. ÇIKAN (ASENDAN) AĞRI YOLAKLARI

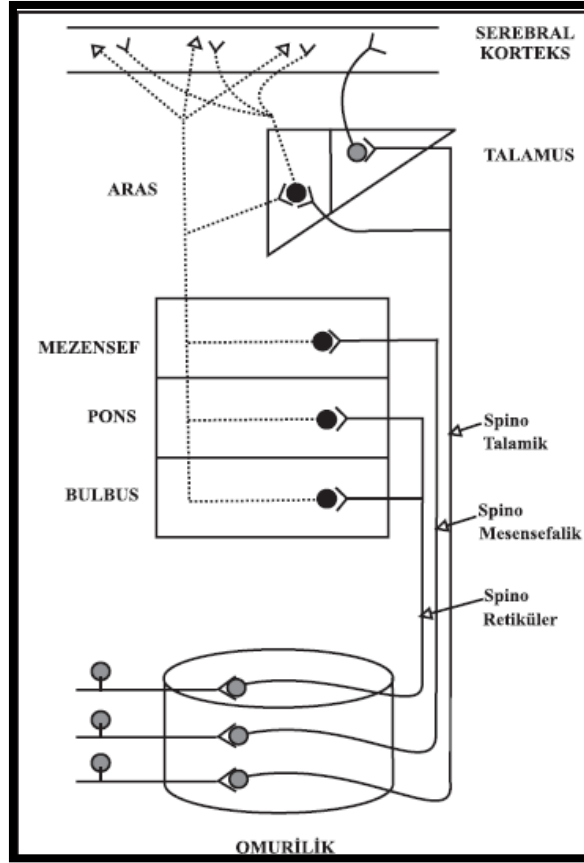
Spinotalamik, spinoretiküler ve spinomezensefalik yollara “anterolateral çıkan yollar” denilmektedir (25). Bu yollar şu şekildedir (14, 17, 26, 27):

Spinotalamik yolak, spinal kordda orta hattı çaprazladıktan sonra karşı tarafta seyrine devam ederek talamusun ventral posterolateral çekirdeğinde son bulur. Bu çekirdek primer duyu kortekse projeksiyon lifleri veren birkaç alt gruba bölünmüştür. Primer duyu kortekste ağrının diskriminatif (ayrıt etme) boyutu değerlendirilir ve ağrının lokalizasyonundan organizma haberdar edilir.

Spinoretiküler yolağı oluşturan aksonların büyük çoğunluğu spinal kordda aynı tarafta, bir kısmı ise çapraz yaparak ilerleyerek sol ve sağ talamusun intralaminar çekirdeklerinde sonlanır. Bir kısmı da bulbus ve ponsdaki retiküler çekirdek gruplarına ulaşır. Spinoretiküler sistem, ağrılı impulsların lokalizasyonu ve spesifitesi ile ilişkili olmaktan çok, korteksi ve subkortikal yapıları genel bir uyanıklık içinde tutmak ve zararlı uyarana karşı genel bir alarm hali oluşturmakla görevlidir.

Spinomezensefalik yolak anterolateral sistem içinde periaquaduktal gri madde ve orta beynin superior kollikulusuna ulaşır. Burada diğer mezensefalik bağlantılarla da sinaps yapar. Buradan amigdala, hipotalamus ve limbik korteks gibi limbik sistem yapılarına projeksiyon lifleri gönderilir.

Spinohipotalamik yolak yakın zamanlarda tanımlanmış olup retiküler formasyonla sinaps yapmaz. Direkt olarak supraspinal otonom kontrol merkezlerine projekte olur ve karmaşık nöroendokrin ve kardiovasküler yanıtları aktive eder. Deri, dudak, dil, genital organlar, gastrointestinal trakt ve intrakranial kan damarlarından ve korneadan kaynaklanan emosyonel bilgileri hipotalamusa taşır (Şekil 6).



Şekil 6: Çıkan (Asendan) ağrı yolları

2.3.4. ANTİNOSİSEPTİF İNİCİ SİSTEMLER

Supraspinal merkezlerden spinal kord düzeyine ulaşarak primer aferentlerden gelen ağrılı uyarıyı deprese edip ağrılı uyarıyı kontrol altında tutan bu sisteme "inen (desendan) kontrol sistemi" adı verilir. Beynin elektrikle uyarılmasının analjezik etki oluşturması (uyarı ile indüklenen analjezi) supraspinal merkezlerden kaynaklanan antinosiseptif inici sistemi akla getirmiştir. Uyarı ile indüklenen analjezide opioidergik, serotonergik, noradrenergik ve diğer sistemlerin etkileri gösterilmiştir. Ayrıca serotonergik, noradrenergik ve opioidergik reseptörlerin spinal kordda varlığı (özellikle lamina I ve II) gösterilmiştir. Uyarılma sonucu supraspinal merkezlerden salıverilen serotonin, noradrenalin ve opioidergik peptidlerin spinal korda taşınması

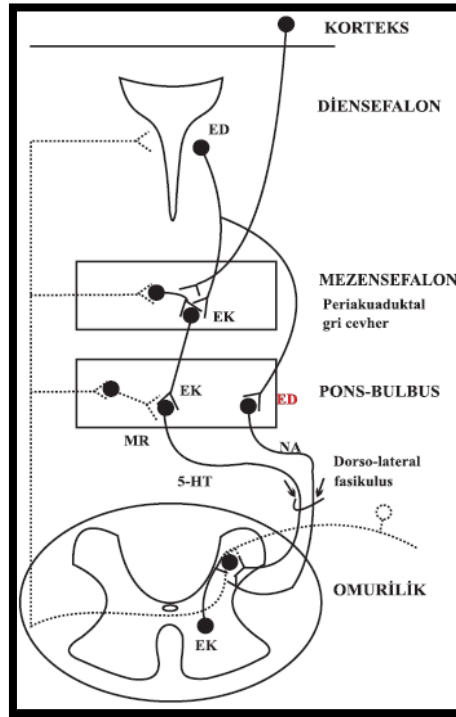
(“volume transmission”) ve buradaki reseptörleri etkilemesi inen inhibisyon sisteminin (yolağının) varlığını düşündürmüştür. Spinal korda uzanan antinosiseptif inisi sistem başlıca 3 bileşenden oluşur (14, 22, 28) (şekil 7).

1. Mezensefalik periakvaduktal gri maddedeki (PAG) nöronlardan başlayan ve spinal korda uzanan enkefalinerjik yolak.

2. Pons ve bulbusta nükleus retikülaris gigantoseülularis ve nükleus retikülaris paragigantoseülularisten başlayıp arka boynuza uzanan noradrenerjik yolak. Bu çekirdeklerin temel nörotransmitteri noradrenalindir.

3. Lokus seruleustan başlayıp direkt arka boynuza uzanan noradrenerjik yolak.

Serebral korteksten başlayıp nükleus grasilis/nükleus kuneatus, retiküler formasyon ve talamusa uzanan inhibitör yolaklar da vardır. Serebral korteksten başlayan bu yolaklar direkt nosiseptif inhibitör sisteme dahil edilmezler.



Şekil 7: Antinosiseptif inisi (Desendan) sistemler

EK,enkefalinerjik; **ED**, endorfin; **NA**,noradrenalin; **5-HT**,serotonin

2.3.5.SEREBRAL KORTEKS VE AĞRI ALGILANMASI

Ağrının bilinçli olarak algılanması korteksin tamamını kapsayan bir beyin etkinliğine bağlıdır. Beyinde ağrı ile ilgili bölümler 1. ve 2. duyuşsal alanlar, frontal lobun 9. ve 12. alanları ve posteriyor pariyetal bölgelerle beyin çeşitli bölümlerini bağlayan asosiasyon lifleridir. Lateral spinotalamik traktusun, talamusun lateral çekirdeğinin ve somatosensoryal korteksin, ağrının duyuşsal diskriminatif özellikleriyle ilgili olduğu, buna karşılık medial spinotalamik traktusun, talamusun medial çekirdeğinin ve limbik sistemle ilgili beyin bölgelerinin ağrının afektif motivasyonel bölgeleri olduğunu belirtilmiştir. Talamus, putamen, kaudat nukleus, hipotalamus, periaquaduktal gri madde, hipokampus, kırmızı nukleus, pulvinar ve serebellum vermiş gibi subkortikal bölgeler ve suplemlenter motor korteks, anterior singulat korteks, anterior insular korteks gibi yerler ağrıya yanıt veren beyin bölgeleridir (14, 21, 28).

Spinal korddan başlayarak serebral korteksin de dahil olduğu supraspinal merkezlere ulaşan ve sonrasında inen inhibitör sistemlerin tetiklenerek modüle edildiğı ağrı duyusu basit düz mantık içinde her zaman inhibisyonla sonuçlanmaz. Bu inici inhibitör sistemler aynı zamanda ağrı duyusunun algılanmasının artmasına da (fasilitasyon) neden olabilirler. Örneğın serotonerjik inen fasilitatör sistemler nosisepsiyonun oluşmasını da tetikleyebilirler. Zhuo ve Gebhart yaptıkları bir çalışmada nukleus rafe magnus (NRM) ve nukleus gigantoseölularis pars alfa (NGSpa)'daki serotonerjik yolağların aktivasyonunun fasilitasyon meydana getirdiğini belirtmiştir (29). Donna ve ark. nın yaptıkları bir çalışmada NRM ve NGSpa'ya baklofen mikroyenjeksiyonunun doza bağımlı olarak antinosiseptif veya hiperalezik (nosiseptif) etki meydana getirdiğı belirtilmiştir. Burada verilen doz miktarı ve sonrasında etkilediğı farklı reseptörler ayırıcı etki oluşturmuştur (30). Ağrıyı modüle eden bir merkezin inhibisyon ya da fasilitasyon etki oluşturmasında daha başka etkenlerin varlığı kesindir. Ancak bu birebir her merkezin hem inhibisyon hem de fasilitasyon oluşturduğı anlamına da gelmemelidir. Sonuçta ağrıyı modüle eden supraspinal

merkezlerin birbirleriyle olan etkileşimleri de göz önünde bulundurulursa sadece bir merkezin inhibisyon veya fasilitasyon meydana getirdiğini belirtmek güçtür.

Özetle, organizmanın ağrıya karşı yanıtı kompleks adaptif öğeleri içermektedir. Bu karmaşık sistemle ağrı duyusu, nosiseptör uyarımı ile başlayan, C ve A delta lifleriyle medulla spinalise oradan beyin sapı ve üst beyin merkezlerine ulaşır modüle edilen ve modülasyon sonrası gerekenlerin yapılması için organizmada zincirleme aktivasyonlara yol açan bir olaylar dizisinden oluşur.

2.4.AĞRI MEKANİZMASINDA ROL ALAN SİSTEMLER

2.4.1. AĞRI MEKANİZMASINDA OPIOİDERJİK SİSTEMİN ROLÜ

2.4.1.1. Ağrı Mekanizmasında Yer Alan Opioiderjik Reseptörler Ve Fonksiyonel Özellikleri

Opioid bağlanma yerleri ilk olarak 1973’de memeli beyinde gösterilmiş ve bu yıllarda endojen peptitlerin varlığı belirtilmiştir. Bu peptitler sırayla endorfinler, enkefalinler ve dinorfinler olarak tanımlanmıştır. Daha sonra ise endomorfine bulunmuştur. 1976 yılında Martin ve arkadaşları köpeklerde yapılan in vivo çalışmalar sonucunda opioid reseptörlerin çeşitliliğini ortaya koymuştur. Bunu izleyen çalışmalarda farklı ligandlar kullanılarak kapa (κ), delta (δ) ve mü (μ) reseptör dağılımları, fonksiyonları ve ligand bağlanma özellikleri çalışılmıştır. İlk tanımlanan opioid reseptörleri delta olup onu kapa ve mü reseptörler izlemiştir. Ağrı modülasyonunda daha etkin rollerinden dolayı çalışmalar bu üç reseptör tipine yoğunlaşmıştır. 1994 yılında nosiseptin/orfanin FQ (N/OFQ) reseptörleri klonlanmıştır. Ayrıntılı bir şekilde çalışılmış, kapa ve delta reseptörlerinin yanında “opioid reseptör benzer” (ORL-1) veya “orphan” (orfan, yetim) olarak adlandırılan N/OFQ reseptörleri opioid çalışmalarına yeni bir boyut getirmiştir. N/OFQ reseptörü klasik opioid reseptörler ile, özellikle mü reseptörlerle % 70 oranında benzer homoloji gösterir. Klasik opioid reseptörlere afinitesi düşük veya yoktur. ORL-1 için endojen ligandın adı nosiseptin ya da

orfanin fq'dur. Nalokson ORL-1 için düşük afinite gösterir. 2000 yılında mü, delta ve kappa reseptörleri için sırasıyla MOP, DOP, KOP terimlerinin, N/OFQ reseptörleri için NOP teriminin kullanılmasını uygun görülmüştür (31, 32).

Opioid reseptör alt tiplerinin sınıflandırılması ve özelliklerinin belirtilmesinde "Reseptör kompleksleri" veya "reseptör dimerizasyonu" olarak adlandırılan ilginç bir terimsel yaklaşım da öne sürülmüştür. Farmakolojik çalışmalardan yola çıkılarak "mü ve delta reseptörler kompleksleri"nin varlığı ileri sürülmüştür. İlginç olan mü-delta reseptör kompleksi olarak ileri sürülen reseptörlerin gerçekte delta reseptör alt tipinden birisinin olabileceğidir. Kappa/delta reseptör heterodimerlerle yapılan bir çalışmada bunun bir kappa reseptör alt tipi olduğu gösterilmiştir (33).

Farmakolojik çalışmalar sonucunda delta reseptörlerin delta 1 ve delta 2, mü reseptörlerin mü 1 ve mü 2, kappa reseptörlerin kappa 1, kappa 2, kappa 3 şeklinde alt- tiplerinin olduğunu gösterilmiştir. Mü, delta ve kappa opioid reseptörlerin her birinin beyin, spinal kord ve periferik sinirlerde kendilerine özgü anatomik dağılımları vardır. Otoradyografik çalışmalarda korteks, diensefalon ve beyin sapı ve spinal kordda birçok opioid reseptör mRNA'sı bulunmuştur. Opioid reseptörlerin frontal korteks, nukleus akkumbes, hipokampus, talamus ve hipotalamusda dağılım gösterdikleri çeşitli araştırmacılar tarafından belirtilmiştir. Periaquaduktal gri madde (PAG), lokus seruleus, substansia nigra, ventral tegmental alan, rafe çekirdekleri ve nukleus traktus solitari kappa reseptörler bakımından orta yoğunlukta bir dağılım gösterirler. Substansia nigra ve nukleus traktus solitariusda delta reseptörleri düşük yoğunlukta bulunurlar. Limbik sistemde bulunan opioid reseptörler ağrının emosyonel boyutunu iletirken, spinal korda bulunan reseptörler nosiseptif uyarıları iletirler. Opioid reseptörler aynı zamanda periferik sinir sisteminde de bulunurlar. Opioid reseptörler çeşitli immün hücrelerde de bulunmuştur (34).

Mü reseptörleri beta-endorfin ve morfinin yüksek afinite ile bağlandığı reseptörlerdir. Beyinde ve medulla spinaliste analjezi oluşturmada baskın olan opioid reseptörleri mü reseptörleridir. Morfin, meperidin, sufentanil ve fentanil

gibi opioid analjezikler esas olarak mü reseptörünü aktive edip güçlü analjezi oluştururlar. Morfin delta reseptörlerine yüksek afinite ile bağlansa da mü opioid reseptörleri silinmiş farelerde yapılan bir çalışmada morfin analjezisinin uzun süre devam etmediği görülmüştür (32).

Mü opioid reseptörlerine delta reseptörlerden daha fazla tolerans geliştiği için yeni tip analjezik ilaçlar için delta opioid reseptörü iyi bir hedef olabilir. Ancak çoğu kez delta reseptörlerine etki eden agonistler daha zayıf bir analjezi oluşturur. Ama bazı klinik durumlarda delta reseptörlerin fonksiyonel önemi artabilmektedir. Kronik inflamasyon, spinal dorsal kök nöronlarında delta reseptörlerin yüzey ekspresyonunu artırmakta ve oluşan ağrıyı delta opioid reseptör agonistler azaltmaktadırlar. Ayrıca nöropatik ağrının delta reseptör genleri silinmiş farelerde artmış olduğu gözlenmiştir (35).

Delta opioid reseptörler, mü opioid reseptörleri kadar analjezik etki oluşturmada baskın gözükmese de, çoğu zaman mü reseptörleriyle oluşturulan analjezik etkiye katkıda bulunurlar. Orta dereceli bir delta opioid reseptör agonisti olan lösin-enkefalinin morfin analjezisini potansiyalize ettiği gösterilmiştir (36). Ayrıca delta reseptör agonistlerinin analjezi oluşturmayan dozlarının morfin analjezisini hem normal hem de morfin toleranslı farelerde potansiyalize ettiği ancak mü opioid reseptör agonistlerinin analjezi oluşturmayan dozlarının böyle bir etki yapmadığı belirtilmiştir. Delta reseptörleri ile morfin arasında meydana gelen potansiyalizasyon, selektif delta reseptör antagonisti ICI-174864 uygulandığında engellenmiştir. Bu bulgu mü ve delta reseptörleri arasında fonksiyonel sinerjizmanın gerçekleşmesi için delta reseptörlerinin de aktive olması gerektiğini göstermektedir (37).

Ayrıca dorsal kök ganglionlarında reseptör bağlanma çalışmaları ve tek bir nöronun aksiyon potansiyeli oluşturma sıklığının ölçülmesi gibi çalışmalar delta ve mü reseptörlerinin anatomik olarak ko-lokalize olduğunu göstermiştir (38, 39). Ancak bazı ağrı çalışmalarında DAMGO veya sufentanil gibi diğer mü reseptör agonistleri ile delta reseptörleri arasında potansiyalizasyon olmadığı

belirtilmiştir (40, 41). Delta reseptörlerinin ağrı modülasyonuna etkisine yönelik ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Fonksiyonel sinerjizma delta ve mü reseptörlerinde olduğu gibi ve delta ve kappa reseptörleri arasında da vardır. Gebelerde yapılan bir çalışmada kappa ve delta reseptörüne selektif agonistler beraber verildiğinde sinerjizma olmakta, ancak ayrı ayrı verildiklerinde toplam analjezik etki azalmaktadır. Bu da fonksiyonel bir sinerjizmanın olduğunu yani kappa ile delta opioid reseptörlerin birlikte aktive olduğunu göstermektedir (42).

Klasik opioid reseptörlerinden sonra keşfedilen ORL-1 reseptörlerinin amigdala septumunda, hipotalamus, talamus, ve dorsal kök ganglionu perikaryaları ve spinal kordda ventral dorsal kökün gri maddesinde bulunduğu belirtilmiştir. Diğer opioid reseptörlerden uzak konumlarda bulunduğu ve sinir yolaklarında mü opioid reseptörlerle ko-lokalizasyon göstermedikleri belirtilmiştir (31). Ağrı modülasyonundaki rolleri diğer reseptörler kadar araştırılmamıştır.

Sonuç olarak ağrı modülasyonunda spinal ve supraspinal seviyede esas olarak mü opioid reseptörleri rol alsada, delta ve kappa opioid reseptörleri de ağrı modülasyonuna katkıda bulunmaktadır. Periferik ağrılı uyaranların iletimini sağlayan A-delta ve C liflerinin dorsal kök ganglion kısmında her üç tip opioid reseptörün (mü, delta, kappa) bulunduğu immünohistokimyasal metodlarla gösterilmiştir. Morfinin ve opioid agonistlerinin burada bulunan opioid reseptörler aracılığıyla, supraspinal projeksiyon nöronlarına ağrı iletimini engellediği belirtilmiştir. Bazı arka kök nöronları hem presinaptik hem de postsinaptik delta ve mü opioid reseptörler aracılığıyla salıverilen enkefalin gibi opioid peptidler içerir (34).

2.4.1.2. SPİNAL SEVİYEDE OPIOİDERJİK SİSTEMİN ROLÜ

Spinal kord, periferden gelen ağrılı uyaranların ilk olarak modüle edildiği yerdir. 1976 yılında deney hayvanlarında morfinin intratekal uygulanması sonucu

elde edilen bulgular opioid agonistlerin medulla spinalis üzerinde doğrudan etkilerinin olduğunu göstermiştir. Bu çalışmalarda, arka kök ganglion projeksiyon liflerinden nosiseptif uyarınlı nörotransmitter salıverilmesinin morfin tarafından inhibe edildiği gösterilmiştir. Spinal kord kesisi uygulanan şıçanlarda yapılan bir çalışmada hot plate testde sistemik morfinin intratekal uygulanan morfinden daha az analjezik etki yaptığını belirtilmiştir. Bu çalışmada spinal kordu kesilmiş şıçanlarda intratekal uygulanan morfin, kontrol grubuna denk oranda analjezik etki meydana getirmiştir (34). Bu bulgu spinal seviyede opioidderjik ağrı modülasyonunun gerekliliğine işaret etmektedir.

Spinal seviyede ağrının modülasyonunda mü opioid reseptörlerinin yanı sıra delta reseptörlerinin de etkisi vardır. Delta reseptörlerine agonist etki gösteren sentetik enkefalin analogu DADLE intratekal olarak, mü reseptör toleranslı deneklere uygulandığında bile analjezik etki gözlenmiştir. Bu da delta reseptörlerinin de spinal seviyede etkin olduğunun göstergesidir (43).

Spinal seviyede kappa reseptörlerinin ağrı modülasyonuna etkisi tartışmalıdır. Kappa opioid reseptör agonistleri intratekal uygulandıklarında antinosiseptif etki gösterdiği, ancak bu etkinin mü ve delta opioid reseptör agonistlerinin etkilerinden daha zayıf olduğu belirtilmiştir. Bir çalışmada farelere ve şıçanlara kappa reseptörlerine agonist etki gösteren dinorfinin intratekal uygulanmasının hot plate testde antinosiseptif etki meydana getirdiği belirtilmiştir. Ancak dinorfin uygulanmasının sedasyona neden olduğu ve gelişen motor yetmezlik sonucu gerçek bir antinosiseptif etki olarak değerlendirilemeyeceği de belirtilmiştir (43). Ancak Yamada ve arkadaşlarının mü opioid reseptör geni silinmiş farelerde yaptıkları bir çalışmada kappa reseptör agonisti nor-BNI'nin hem mü reseptör geni silinmiş farelerde, hem de normal farelerde tail flick testinde analjezik etki gösterdiği belirtilmiştir (44). Yine elektrofizyolojik çalışmalarda mü ve kappa opioid reseptör agonistleri doza bağımlı olarak termal ve mekanik ağrı modelinde antinosiseptif etki göstermişlerdir (31). Fakat kolorektal distansiyonla oluşturulan visceral nosisepsiyonda mü ve delta reseptörleri etkili bulunurken kappa reseptörleri

etkisiz bulunmuştur (20). Bu antinoseptif etki naloksonla engellenebilir niteliktedir. Spinal kordda kappa reseptörlerin durumu nouseptif uyarının niteliğine göre değişebilmektedir.

Medulla spinalisteki opioid reseptörlerin selektif olarak uyarılması sistemik uygulamaya göre dozların % 95 oranında azalması ile sonuçlanır. Ayrıca beyin sapındaki opioid reseptörlerin uyarılması ile oluşabilecek yan etkilerin sıklığı azalır. Opioidler intratekal ve epidural uygulandıklarında spinal seviyede spesifik reseptörleri uyarmalarına rağmen, sistemik emilime uğrayabilirler ve beyin omurilik sıvısı dolaşımı ile beyin sapına ulaşabilirler. Bunun sonucunda kaşıntı, bulantı, kusma ve solunumun baskılanması gibi yan etkiler ortaya çıkabilmektedir.

2.4.1.3. SUPRASPİNAL SEVİYEDE OPIOİDERJİK SİSTEMİN ROLÜ

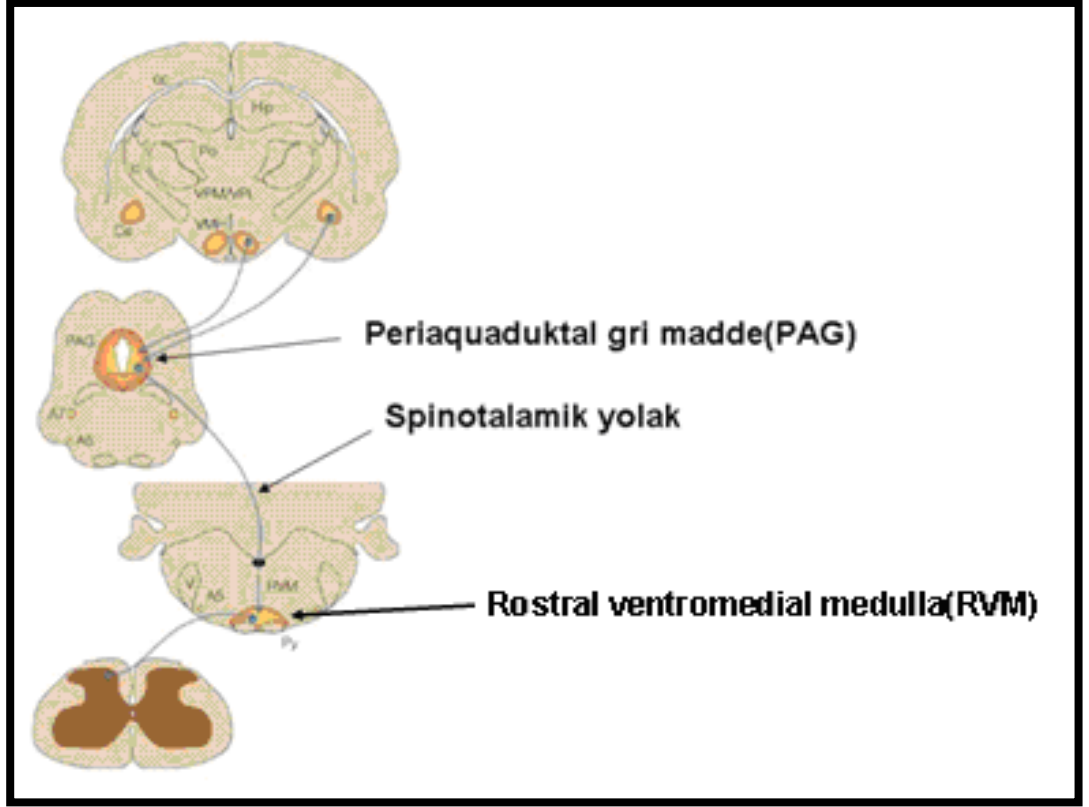
Ağrı modülasyonunda supraspinal yapıların etkilerini açıklamak için yapılan ilk çalışmalarda “uyarı ile indüklenen analjezi” kavramı sıklıkla kullanılmaktadır. Uyarı ile indüklenen analjezi aslında ağrı modülasyonunda supraspinal yapıların varlığına işaret eder. Kronik ağrılı şıçan ve insanlarda beynin bazı bölgelerinin elektriksel olarak uyarılması analjeziye neden olmuştur. Periakvaduktal gri madde (PAG) beyinde ağrıyı modüle eden yerlerden ilk keşfedilenidir (şekil 8). Şıçanlarda ve insanlarda PAG’nin elektriksel uyarılması herhangi bir duyu ve motor defisit yapmadan analjeziye neden olur (45). Bu analjezik etkiye opioidderjik mekanizmalar geniş oranda katkıda bulunmaktadır. Serbest hareket eden şıçanlarda, PAG’nin ventral kısımlarına ve santral rafenin çevresine elektrot yerleştirilerek yapılan bir çalışmada devamlı elektriksel uyarı termal ve mekanik nouseptif uyarıları engellemiştir. Bu etki naloksonla azaltılmıştır (43).

Spinal korda giren nouseptif uyarılar sadece spinal korddaki intrinsik nöronlarla regüle edilmemekte, aynı zamanda supraspinal alanlardan

kaynaklanan ve opioid reseptörlerce aktive edilen inisi inhibitör yollarca da modüle edilmektedir. PAG spinal korddaki nosiseptif nöronları kontrol eden döngünün bir parçasıdır.

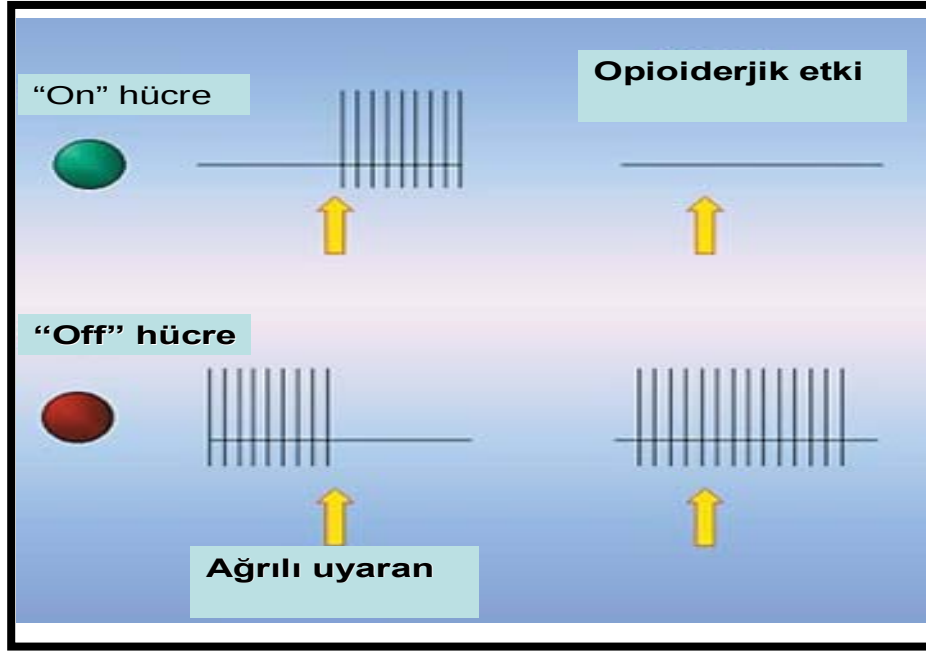
PAG’de en fazla sayıda mü reseptörler bulunurken kappa ve delta reseptörlerin sayısı çok azdır (46). Höllt ve ark. intraserebroventriküler uygulanan mü ve epsilon reseptör agonistlerinin farelerde inisi inhibitör yolağı aktive ettiğini fakat delta opioid agonistinin aktive etmediğini belirtmiştir (47). PAG’nin ventrolateral kısmına sterotaktik yöntemle morfin uygulanması kuyruk sıkıştırma testinde naloksonla engellenebilir antinosiseptif etki oluşturmuştur. Fare ve şıçanlarda yapılan çalışmalarda serebral ventriküllere uygulanan opioidler doza bağımlı olarak antinosisepsiyon meydana getirmiştir. Budai ve Fields, PAG’deki nöronların aktivasyonunun spinal kordda ağı iletimini lokal endojen opioid salıverilmesini sağılayarak inisi ettiğini belirtmiştir (48). Ayrıca PAG’ye yapılan mikroenjeksiyonlar periferel nosiseptif uyarı sonucu aktifleşen dorsal kökteki projeksiyon nöronlarındaki aktiviteyi de azaltmıştır. Morfinin ya da delta opioid agonistlerden [D-Pen2, D-Pen5] enkefalinin (DPDPE) veya [D-Ala2, Glu4] deltorfinin medüller retiküler formasyona mikroenjeksiyonu nosisepsiyonu mü reseptörler aracılığıyla önlemiştir (25).

PAG’nin yanı sıra rostral ventromedial medulla (RVM) da supraspinal opioidlerjik reseptörlerin bulunduğı yer olarak antinosisepsiyonda öne çıkmaktadır (35) (şekil 8). RVM’nin de elektriksel uyarımı analjeziye sebep olur (34). RVM; nukleus rafe magnus (NRM), nukleus gigantoseelularis pars alfa (NGSpa) ve retiküler nöronları içeren yer olarak tanımlanır ve her üç opioid reseptör tipini de içerir. PAG ve RVM arasında karşılıklı bağlantılar olup PAG’de bulunan nöronların opioidlerce aktive edilmesi RVM’deki nöronları da aktive etmektedir. RVM rostral alanlardan girdi aldığı gibi spinal korddan da girdi alır.



Şekil 8: Ağrı modülasyonunda yer alan supraspinal opioidergik merkezler

Elektrofizyolojik çalışmalar sonucunda RVM’de termal ağrılı uyarıya karşın verilen cevaplar değerlendirildiğinde hücrelerin aktif (on) ve inhibitör (off) hücreler şeklinde ayrıldığı tespit edilmiştir. Ancak nosiseptif termal uyarıya karşın cevapsız kalan nötral hücreler de vardır. Buradaki hücrelerden orijin alan ve spinal korda uzanan projeksiyon lifleri vardır. Aktif hücrelerin uyarılması ağrı duyusunun fasilitasyonuna, inhibitör hücrelerin uyarılması ise inhibisyonuna neden olur (34) (şekil 9).



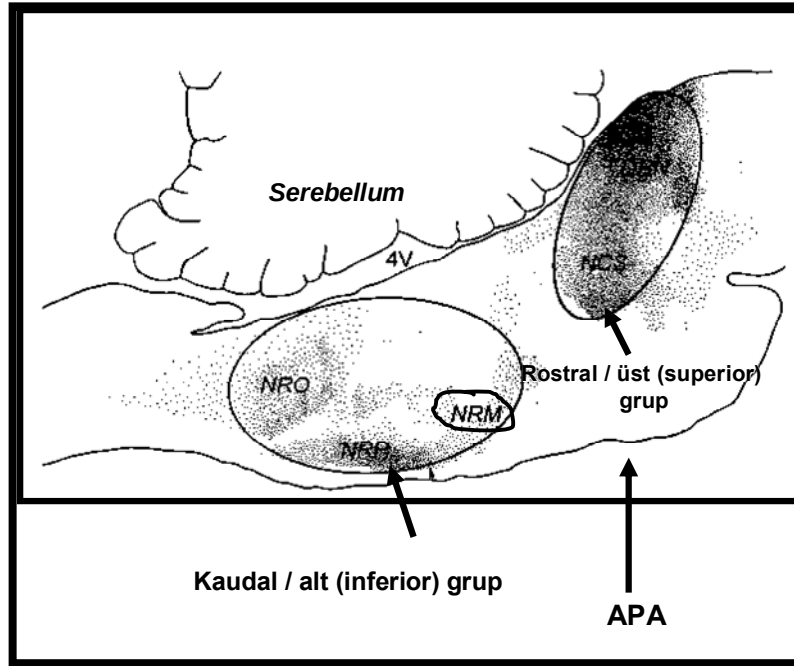
Şekil 9: Ağrılı uyaran karşısında “On” ve “Off” hücrelerinin durumu

Opioidergik sistemin ağrı modülasyonuna katkısında dorsalateral pontin tegmentum (DLPT) da önemlidir. DLPT; PAG’ye, RVM’ye ve spinal korda direkt projeksiyon gönderir. Opioid analjezikler bu bölgelerde etki gösterir. DLPT, amigdala, hipotalamus, PAG ve RVM gibi supraspinal yapılar yüksek oranda endojen opioid peptit içerir ve birbirlerine opioidergik sinapslar aracılığıyla bağlanırlar (45).

Noradrenerjik nöronların ana kaynağı sayılan lokus seruleusun da opioidergik reseptörlerce ağrı modülasyonuna katkıda bulunduğu belirtilmiştir (34, 49). Opioidler aynı zamanda frontal kortekse ve amigdalaya enjekte edildiklerinde güçlü bir analjezi meydana getirirler (34).

2.4.2. AĞRI MEKANİZMASINDA SEROTONERJİK SİSTEMİN ROLÜ

Serotonerjik nöronların beyinde en yoğun olarak bulunduğu yer olan nukleus rafe magnus (NRM) ilk olarak Palkovitz ve ark. tarafından belirtilmiştir (50). Serotonerjik nöronlar SSS’de limbik korteks, serebellum, beyin sapı ile spinal kordda bulunur. Vertebralılarda beyindeki serotonerjik nöronların ana hücre gövdeleri ya beyin sapı rafe çekirdekleri içinde ya da kenarındadır. Burada orta hatta kümelenmiş hücreler iki ana gruba ayrılırlar (şekil 10). Rostral ya da superior grup; ponsta/mezensefalonda lokalize olmuşlardır. Nukleus santralis superiorundan ve dorsal rafe nukleusundan ön beyine uzanırlar. Kaudal ya da inferior grup medullada lokalizedir. Nukleus rafe magna, nukleus rafe obskura ve nukleus rafe pallidusa uzanır. Serotonerjik sistemde ağrı modülasyonunda en önemli merkez NRM’ dir. NRM serotonerjik nöronların ana kaynağı olan “Rostral ventromedial medulla” (RVM) içindedir.



Şekil 10 : Kedi beyinde ortasagittal açıdan küçük siyah noktalar halinde gösterilmiş serotonin-immünreaktif hücre gövdeleri. Oval daireler serotonerjik sistemin kapsadığı alanı göstermektedir. 4V; dördüncü ventrikül, APA: Anteroposterior alandaki serotaktik sıfırıncı nokta

Rostral ventromedial medullada (NRM'nin de dahil olduğu) yer alan nöronlar “On”, “Off” ve “Nötr” hücreler olmak üzere üç tipdir; “Nötr” hücreler herhangi bir antinosiseptif ve nosiseptif etkiye aracılık etmezler. “On” hücrelerin uyarılması pronosiseptif özellik gösterir ve serotonerjik inen fasilitasyon yolağının kaynağını oluşturur. Buradan kaynaklanan serotonerjik sistem spinal korda dorsolateral funikulus aracılığıyla uzanır. Spinal korda uzanan bu akson kollateralleri bifurkasyona uğrar ve özellikle lamina I ve II, santral kanal, intermediolateral alan ve ventral kökteki sinir hücrelerini uyarır. Serotonerjik nöronların yoğunlukta bulunduğu RVM'den spinal korda serotonerjik olmayan nöronlar da inmektedir (52). Ayrıca supraspinal yapılardan bağımsız olarak spinal kordun çeşitli yerlerinde ve santral kanalda serotonerjik nöronların varlığı otoradyografik ve immünokimyasal çalışmalarla gösterilmiştir. Serotonerjik nöronların lifleri en çok lamina I ve II ve santral kanal çevresinde olsa da tüm spinal kordda daha az yoğunlukta olmak üzere dağılım göstermektedirler. Ancak spinalizasyondan sonra serotonin immünoreaktivitesinin tamamen ortadan kaybolması serotoninin supraspinal orjinli olduğu fikrini telkin etmektedir (51, 53).

2.4.2.1. AĞRI MEKANİZMASINDA YER ALAN SEROTONERJİK RESEPTÖR ALT TİPLERİ VE FONKSİYONEL ÖZELLİKLERİ

Günümüze kadar serotonerjik reseptörlerin 14 alt tipi tanımlanmıştır (51, 54). Otoradyografik çalışmalarda SSS'de bu reseptör alt tiplerinden en fazla 5-HT1A, 5-HT1B, 5-HT1D ve 5-HT3 bulunduğu gösterilmiştir. Spinal kordda çoğunlukla lamina I ve II gibi yüzeyel tabakalarda bulunsa da lamina 4 ve 5 gibi daha derin tabakalarda da bulunurlar (55).

5-HT1 Reseptörleri

5-HT1 reseptörlerinden özellikle 5-HT1A reseptörleri otoreseptör olarak görev yapmaktadırlar. Uyarıldıklarında santral sinir sistemi boyunca serotonin sentezini inhibe ederler. Ancak 5-HT1A reseptörlerinin uyarılması antinosiseptif

etki yapabileceği gibi pro-nosiseptif etki de yapabilir (51, 53). Özellikle spinal kordda lamina I ve II'de 5-HT_{1A} reseptörleri vardır ve %27 oran ile en fazla olanıdır. 5-HT_{1A} için agonist olan 8-OH-DPAT'ın intratekal uygulanması nosiseptif uyarıyı modüle etmiştir. 5-HT_{1A} reseptörleri daha çok spinal kordun yüzeyel tabakalarında bulunmaktadır ve aktivasyonu sonucu Ca²⁺ kanalları kapanırken K⁺ kanalları açılmaktadır. Dolayısıyla 5-HT_{1A} reseptörlerinin aktivasyonu duyuşal iletimi inhibe etmektedir. 8-OH-DPAT primer aferentlerden özellikle C aferentlerinden glutamat salıverilmesini azaltmaktadır. Ancak bu inhibisyon 5-HT_{1A} reseptör antagonisti olan WAY100635 tarafından antagonize edilmemiştir (56).

Supraspinal olarak 5-HT₁ reseptörleri nukleus rafe magnus (NRM) serotonerjik perikaryalarında bulunur. Trigeminal çekirdeklerde CGRP ve P maddesi ile ko-lokalize olarak bulunurlar. Trigeminal çekirdeklerde 5-HT₁ reseptörlerinin uyarılması inhibitör etki yapar. 5-HT_{1B} reseptör agonistlerinden sumatriptan spinal P maddesi ve CGRP salıverilmesini azaltarak antinosiseptif etki yapar. Diğer 5-HT₁ reseptör alt tiplerinden 5-HT_{1B} ve 5-HT_{1D} de spinal kord boyunca özellikle yüzeyel laminalarda bulunmaktadır (51). Primer aferentler aynı zamanda 5-HT_{1A} reseptörleriyle eksprese olmuşlardır ve bu reseptörlerin aktivasyonu primer aferent nöronlarda antinosiseptif etkiyle sonuçlanır. 5-HT_{1B} reseptörleri NRM'de antinosiseptif etkiye katkıda bulunmaktadır. Aynı zamanda PAG ve nukleus traktus solitariusda (NTS) bulunmaktadır, ancak buradaki ağrı modülasyonu üzerine etkileri yeterince araştırılmamıştır. 5-HT_{1D} reseptörleri spinal kordda P maddesi ve CGRP salıverilmesini azaltarak antinosieptif etki yapmaktadırlar (51, 53).

5-HT_{1F} reseptörleri de supraspinal olarak trigeminal primer aferent nöronların sinir sonlanmalarında ve yüzeyel trigeminal çekirdeklerdeki intrinsik nöronlarda bulunurlar (57). Uyarılmaları antinosiseptif etkilere aracılık eder.

5-HT2 Reseptörleri

5-HT2A, 5-HT2B and 5-HT2C reseptörleri K^+ iyonları üzerine inhibitör etkili olup her üç reseptörün uyarılmaları nöronal aktivitede uyarıcı etki yapar (51). Beyin sapından ayrı olarak serotonerjik nöronların neokorteksde özellikle piramidal hücre tabakalarında fazlaca bulunmaları ve diğer santral alanlardan aferent nöron almaları ağrı modülasyonunda serebral korteks serotonin reseptörlerinin ayrı bir önemi olduğunu göstermektedir (58).

Spinal kordda 5-HT2A reseptörleri intrinsik nöronlarda sayıca az olup daha çok primer aferent nöron terminallerinde bulunmaktadır (59, 60, 61). Supraspinal olarak ise parabrakial çekirdeklerde, nukleus traktus solitarius, rostral ventromedial medulla ve periaquaduktal gri maddede bulunmaktadır (62, 63). 5-HT2B reseptörleri spinal kordda daha çok dorsal boynuzda bulunmaktadır. Daha az oranda dorsal kök ganglionlarında varlığı gösterilmiştir. Ağrı modülasyonunda etkileri hakkında bilgi sınırlıdır (64, 65). 5-HT2C reseptörleri dorsal boynuz nöronlarının yüzeyel ve derin tabakalarında varlığı gösterilmiştir. Dorsal kök ganglionlarında ve dorsal boynuzda sonlanan primer aferentlerde de bulunur (63, 64). Spinal kordda pronosiseptif etkilere aracılık eder. Supraspinal olarak PAG, PBN, NTS, RVM ve NRM'de bulunurlar (62, 66). İnen serotonerjik modülasyona aracılık ederler.

5-HT3 Reseptörleri

5-HT3 reseptörleri spinal kordda bulunduğu gibi supraspinal olarak da medulla, amigdala, dorsal pons, hipokampus, ventral striatum, hipotalamus ve RVM de bulunur (67, 68) . Area postrema ve çeşitli limbik alanlarda 5-HT3 ligandlarının spesifik olarak bağlandıkları yerler gösterilmiştir (69). 5-HT3 reseptörleri şıçanlarda myenterik ve submukozal nöronlarda (70) ayrıca hem vagal hem tüm barsak katmalarını inerve eden spinal primer aferentlerde bulunur (71). Nukleus traktus solitariusda vagal aferentlerin terminal kısımlarında bulunur (72). Spinal kordda 5-HT3 reseptörleri baskın olarak yüzeysel spinal kök laminalarında özellikle lamina I' de bulunur. Burada küçük çaplı ve sayıca az

olarak dorsal kök nöronların presinaptik sinir sonlanmalarında bulunurlar (73, 74). 5-HT3 reseptörlerinin aktivasyonu spinal kordda nosiseptif ve antinosiseptif etkilere aracılık eder. 5-HT3 reseptörleri gastrointestinal sistemde de birçok motor ve duyuşal fonksiyonlara aracılık etmektedir (75, 76, 293) . Dolayısıyla viseral ağrı mekanizmasında önemli rol almaktadırlar.

5-HT4 Reseptörleri

Supraspinal olarak PAG, PBN, NTS bulunurlar. Uyarılmaları inen serotonerjik inhibitör yolağı aktive edip serotoninin salıverilmesini artırır. Çok daha az sayıda NRM (dolayısıyla RVM) ve lokus seruleusda bulundukları gösterilmişse de bu alanlarda uyarılmaları inen serotonerjik inhibitör yolakla ilişkilendirilememiştir (77, 78). Spinal kordda dorsal boynuzun yüzeyel tabakalarında ve dorsal kök ganglionlarında bulunurlar. Spinal kordda pronosiseptif etkilere aracılık ederler (79, 80).

5-HT5 Reseptörleri

Supraspinal olarak hipotalamus, amigdala, PAG, PBN, NTS, lokus seruleus ve RVM (NRM)'de bulunurlar (81, 82). Spinal trigeminal çekirdeklerde ve spinal kordun intrinsik dorsal boynuz nöronları ile dorsal kök ganglionlarında yer aldığı gösterilmiştir (81, 83).

5- HT5 reseptörleri spinal kordda pronosiseptif ve antinosiseptif etkilere sahiptir.

5-HT6 Reseptörleri

Spinal kordda dorsal boynuz nöronlarında bulunmaktadırlar (84). Serebral yapılarda inen inhibitör yolaklarla ilişkisi gösterilememiştir.

5-HT7 Reseptörleri

Spinal kordun dorsal boynuzundaki intrinsik nöronların aksine daha çok dorsal kök ganglionlarında pirimer aferentlerin terminallerinde bulunurlar (85).

Uyarılmaları spinal kordda pronosiseptif etkilere aracılık eder. Supraspinal yapılarda inen inhibitör yollarla ilişkisi gösterilememiştir.

2.4.2.2. SPİNAL SEVİYEDE SEROTONERJİK SİSTEMİN ROLÜ

Spinal kord arka kökte yer alan serotonerjik nöronların ağrı modülasyonunda rol aldığı çeşitli deneysel testlerde gösterilmiştir. İnen bulbospinal nöronların elektriksel aktivasyonu sonucunda spinal kord arka kök nöronlarında serotonin salıverilmesi ve ‘turn-over’ında artış olduğu belirtilmiştir. Tail flick ve hot plate testlerinde, spinal korda serotonin reseptör antagonistleri uygulandıktan ve spinal kord-rafe sistemi tahrip edildikten sonra hiperaljezi geliştiği bildirilmiştir (52).

5-HT₃ reseptör antagonistleri ondansetron ve granisetron intratekal uygulandıklarında formalin testinde ikinci fazda analjezik etki oluşturmuştur. Spinal korddaki serotonin sentezi 5,7 dihidroksitriptamin verilerek engellendiğinde, granisetronun analjezik etkisi de engellenmiştir. Serotonin sentezi engellenen şıçanlara selektif 5-HT₃ agonisti MCPBG (i.t) uygulandığında pronosiseptif etki, 5-HT_{1A} reseptör agonisti 8-OH DPAT (i.t) uygulandığında ise antinosiseptif etki meydana geldiği gözlenmiştir. Serotonin sentezinin engellendiği şıçanlarda serotonin formalin test ikinci fazda doza bağlı olarak antinosiseptif ve pronosiseptif etki göstermiştir. Serotonin antinosiseptif ve nosiseptif etkileri 5-HT_{1A} reseptör antagonisti NAN-190 ve 5-HT₃ reseptör antagonisti granisetron tarafından engellenmiştir. Bu çalışmada serotonin 5-HT_{1A} reseptörlerinin spinal kordda antinosiseptif etkiye, 5-HT₃ reseptörlerinin ise nosiseptif etkiye aracılık ettiği savunulmuştur (86).

Mekanik ağırlı uyaranlı testde yapılan bir çalışmada ise spinal korda intratekal uygulanan serotonin ve 5-HT₃ reseptör agonisti mCPBG’in antinosiseptif etki yaptığı belirtilmiştir. Bu çalışmada 5-HT₃ reseptör antagonistlerinden granisetron ve tropisetron serotonin ve mCPBG’in antinosiseptif etkisini engellemiştir (87). Şıçanlara paraklorofenil-alanin verilerek

serotonin eksikliği yapılan başka bir çalışmada; kuyruk immersiyon testinde ritanserine, ondansetron ve sitalopram analjezik etki göstermiş, ancak 8-OH-DPAT (seçici 5-HT_{1A} reseptör agonisti) ve buspiron (kısmi 5-HT_{1A} reseptör agonisti ve D₂ reseptörlerine yüksek afiniteli) analjezik etki meydana getirmemiştir (88).

Yukarıdaki çalışmalarda görüldüğü üzere spinal seviyede serotonerjik reseptörlere etki eden agonist ve antagonistler kendine özgü reseptörler aracılığıyla çeşitli ağrı modellerinde nosiseptif ve antinosiseptif etkiye aracılık edebilmektedir.

Spinal kordda serotoninin, serotonin reseptör agonist ve antagonistlerinin hem antinosiseptif etkiye hem de nosiseptif etkiye aracılık etmesinde farklı mekanizmalar öne sürülmüştür. Spinal kordda birçok inhibitör nöron bulunduğu ve bu inhibitör nöronların serotonerjik nöron aracılığıyla disinhibiyonun nosiseptif etkiye neden olabileceği ileri sürülmüştür. Örneğin serotonin 5-HT₃ reseptörlerinin uyarılmasının glutamat salıverilmesi üzerindeki inhibisyonu kaldırdığı ve böylece nosiseptif etki meydana geldiği savunulmuştur (89). Bardin ve arkadaşları spinal kordda serotoninin etkilerini pençe-basınç, formalin test, tail flick ve hot plate testlerinde incelemişlerdir. Serotoninin intratekal verilmesi pençe-basınç testinde antinosiseptif etki meydana getirirken yüksek dozu (60 mikrogram) hafif hiperaljezik etki oluşturmuştur. Diğer testlerde ise antinosiseptif etki gözlenmiştir (90). Burada serotoninin yüksek doz verildiğinde hiperaljezik etki göstermesi önemlidir.

Chung ve ark.nın yaptıkları bir çalışmada selektif olmayan serotonerjik reseptör antagonisti metiserjidin ilginç olarak gerek sistemik (i.p) gerekse intratekal uygulanmasının formalin testinin ikinci fazında antinosiseptif etki gösterdiği belirtilmiştir. Metiserjidin bu etkisi serotonin verilerek engellenirken n-2-kloroetil-n-etil-2-bromobenzilamin (noradrenerjik reseptör blokörü) uygulandığında engellenmemiştir. Bu deneyde sistemik ve intratekal uygulanan metiserjid, intratekal uygulanan P maddesi, glutamat, NMDA ve kainik asit gibi spinal kordda nosisepsiyon oluşturan maddelerin etkilerini de azaltmıştır (91).

Yine paraklorofenilalanin verilerek serotonin eksikliği oluşturulan başka bir çalışmada sıçan tail flick testde ve kuyruğa elektrik uyarısı verilerek oluşturulan nosiseptif testde ilginç olarak antinosiseptif etki gözlenmiştir. Bu çalışmada PCPA beyinde ve spinal kordda serotonerjik yollardaki serotonin seviyelerini azaltmıştır (92). Spinal kord serotonin seviyeleri düşmesine rağmen ağrı cevaplarının azalması, serotonerjik sistemin PCPA ile ilişkili olmayan başka mekanizmalarla iç içe geçebildiğini hatırlatmaktadır.

Sonuçta her ne kadar antinosiseptif / nosiseptif etkide farklılıklar gözlenirse de serotonerjik sistem spinal kordda ağrı mekanizmasında önemli roller üstlenmektedir. Spinal kord kesilmiş deneklere serotonin reseptör agonisti 5-MeODMT ve kuipazin verilmesi nosiseptif refleksleri azaltırken P maddesinin uygulanması artırmıştır. Serotonin agonistleri verildikten sonra P maddesinin uygulanması hiperaljeziyi engelleyerek analjezik etki meydana gelmiştir. Spinal kordun kesilmesi ağrı modülasyonunda supraspinal sistem ile etkileşimi engellemiştir (93). Buna rağmen antinosiseptif etkinin gözlenmesi, bu deneyde antinosiseptif etkinin spinal korddaki mekanizmalara özgün olduğunu kanıtlar.

Spinal kordda farklı serotonin reseptörlerinin aynı anatomik alanda beraber bulunması ve ağrı modülasyonunda rol alan diğer nörotransmitterlerin serotoninle anatomik olarak ko-lokalize halde olmaları da serotonerjik sistemin kendine özgü analjezik etkinliğini değerlendirmeyi zorlaştırmaktadır. Ayrıca spinal-supraspinal döngü içinde serotonerjik sistem ağrı modülasyonunda diğer sistemlerle de etkileşime girebilmektedir. İntratekal 6-hidroksidopamin (6-OHDA) verilerek spinal kordda noradrenalin eksikliği oluşturulan bir çalışmada, serotonin agonisti 5-MeODMT'in tail flick ve hot plate testde yaptığı antinosisepsiyon inhibe edilmiştir (94). Bu da serotoninin antinosiseptif etkisinin spinal kordda noradrenerjik sistemle etkileşim halinde olduğunu kanıtlar. İntraserebroventriküler uygulanan mü opioid reseptör agonisti omifentanilin tail flick testindeki analjezik etkisini intratekal verilen 5-HT_{1A} reseptör antagonisti spiperon ve 5-HT_{1C/2} reseptör antagonisti mianserin önlemiştir (95). Bu çalışmada ise opioidlerjik sistemin serotonerjik sistemle etkileşimi görülmektedir.

Bu örneklerde de görüldüğü gibi serotonerjik sistemin spinal sistem içinde ağrı modülasyonuna etkisi supraspinal ve spinal alanlardaki diğer nörotransmitterlerin katkılarıyla gerçekleşmektedir.

2.4.2.3. SUPRASPİNAL SEVİYEDE SEROTONERJİK SİSTEMİN ROLÜ

Serotonerjik sistemin supraspinal merkezlerde ağrı modülasyonuna katkısı başta davranışsal ağrı modelleri olmak üzere elektrofizyolojik ve diğer çalışmalarda gösterilmiştir.

Nükleus rafe magnusun (NRM) ve lateral hipotalamusun elektriksel uyarılması analjeziye neden olmaktadır. Bu analjezik etki i.p uygulanan metiserjid, i.s.v uygulanan siproheptadin ve ayrıca i.s.v 5-dihidroksitriptamin uygulanarak oluşturulan serotonin sentez inhibisyonu sonrasında azalmıştır. Supraspinal yapılardan ağrı modülasyonunda rol alan talamik nükleus submediusa serotoninin i.s.v uygulanması tail flick testinde analjeziye neden olmuştur. Bu analjezik etki 5-HT₂ reseptör antagonisti siproheptadin ile antagonize edilmiştir (28). Parsiyel 5-HT_{1A} reseptörü buspiron hot plate testde analjezik eki göstermektedir. Fluoksetin ve 5-HTTP (serotonin prekürsörü) buspironun hot plate testde yaptığı analjezik etkiyi potensiyalize etmektedir (96).

Post- operatif 59 hasta üzerinde ağrı değerlendirilmesine yönelik yapılan bir çalışmada tramadol'ün analjezik etki mekanizması değerlendirilmiştir. Tramadol santral sinir sisteminde serotonin salıverilmesini artırarak etki göstermektedir. Bu çalışmada tramadol post-operatif ağrıyı azaltmıştır. Tramadolun bu analjezik etkisini selektif 5-HT₃ reseptör blokörü ondansetron azaltmıştır (97). Başka bir çalışmada serotonerjik ve adrenerjik sistemle etkileşerek antidepresan etki gösteren trazodon, formalin test ağrı modelinde i.s.v uygulandığında antinosiseptif etki göstermiştir. Trazodon frontal korteksde serotonin salıverilmesini artırmaktadır. 5-HT_{1A} reseptör antagonisti WAY-100635 i.s.v uygulandığında trazodonun antinosiseptif etkisini engellemiştir (98).

2.4.3. AĞRI MEKANİZMASINDA NORADRENERJİK SİSTEMİN ROLÜ

2.4.3.1. AĞRI MEKANİZMASINDA YER ALAN

NORADRENERJİK RESEPTÖRLER VE FONKSİYONEL ÖZELLİKLERİ

Katekolamin reseptörleri alfa ve beta adrenoseptörler olarak iki ana kategoriye ayrılır. Alfa adrenoseptörler 1A, 1B, 1D, 2A, 2B ve 2C olmak üzere 5 ve beta adrenoseptörler 1, 2, 3 ve 4 olarak dört alt tipe ayrılır. Noradrenerjik nöronlarda lokalize olan adrenoseptörlerin otoreseptör olduğu düşünülmektedir. Noradrenerjik otoreseptörler somatodentritik alanlarda bulunurlar noradrenerjik akson terminallerinden noradrenalin salıverilmesini azaltırlar. Noradrenerjik karakterde olmayan nöronlarda bulunan adrenoseptörlerin heteroseptör olduğu düşünülmektedir. Bu hücreler noradrenerjik nöronlardan salıverilen noradrenalin ile aktive olurlar (99). Alfa adrenoseptörler esas olarak noradrenalinin aracılık ettiği ağrı modülasyonunda rol alırken beta adrenoseptörler adrenalinin aracılık ettiği ağrı modülasyonunda rol alır.

2.4.3.1.1. Spinal Kordda Yer Alan Noradrenerjik Reseptörler

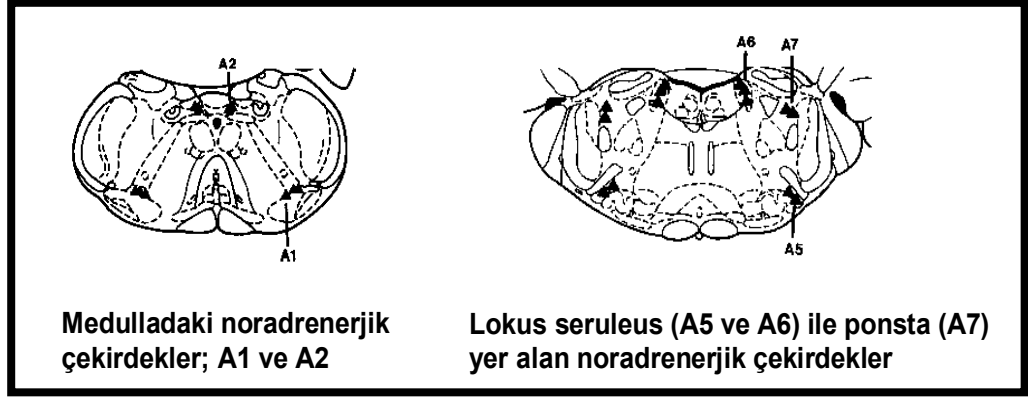
Spinal kord noradrenerjik inen inhibitör ağrı yolları tarafından güçlü bir şekilde innerve olmaktadır. Bu yüzden noradrenalinin ağrı modülasyonundaki rolü spinal korda geniş bir şekilde araştırılmıştır.

Spinal korda uzanan noradrenerjik inen inhibitör yolların orijini beyin sapındaki çekirdeklerden başlar (100). İnen noradrenerjik aksonlar ve spinal kord nöronları arasındaki sinaptik bağlantılar gösterilmiştir. Bu noradrenerjik hücre grupları ağrıyı modüle eden PAG gibi supraspinal alanlardan projeksiyon almaktadır (101). İn situ hibridizasyon sonuçlarına göre spinal kordun lateral spinal çekirdek ve ön kök kısımlarında en fazla alfa-2a reseptörleri yayılım

gösterirken daha düşük oranda alfa-2c reseptörleri bulunmaktadır. Alfa-2b reseptörleri sadece yüzeysel dorsal kök kısmında ve çok az oranda bulunurlar. Alfa-1 adrenoseptör alt tipleri de spinal kord boyunca yayılmışlardır. (102, 103). Özellikle alfa-1a ve alfa-1d reseptörleri ventral kökte yoğun olarak bulunmaktadır (104). Otoradyografik bir çalışmada beta-adrenoseptörlerin nosiseptif primer aferent sinir liflerin terminallerinde bulundukları gösterilmiştir (105). Bu reseptör alt tipinin beta-2 olduğu ve beta-2 reseptörlerinin yüzeysel dorsal kökte de bulundukları gösterilmiştir (106). Beta adrenoseptörlerin de inen inhibitör noradrenerjik yollardan noradrenalin salıverilmesini sağlayarak ağrıyı modüle edebileceği vurgulanmıştır (107).

2.4.3.1.2. Beyinde Yer Alan Noradrenerjik Reseptörler

Beyinde noradrenerjik hücre grupları A1-A7 arasında sınıflandırılmıştır. Lokus seruleus ana yer olmakla birlikte (A5 ve A6 çekirdekleri) ponsda bulunan A7 hücre grupları da noradrenerjik hücrelerin orjinini teşkil eder (108, 109). A1 hücre grupları area postrema seviyesinde, A2 hücre grupları ise dorsal vagal kompleksi boyunca yayılmışlardır. A3 hücre grupları medüller retiküler formasyonda, A4 hücre grupları ise 4. ventrikül çevresinde bulunur. A5 hücre grupları ventrolateral ponsda, A6 hücre grupları ponsun dorsalinde ve A7 hücre grupları ponsun lateralinde bulunur. Santral sinir sisteminde çıkan ana noradrenerjik projeksiyon yolları dorsal, ventral ve periventriküler sinir demetleridir. Ayrıca A5-A7 hücre grupları spinal korda uzanan noradrenerjik projeksiyonların en önemlisidir (şekil 11) (99). Periferde, sempatik sinir sistemi noradrenalinin nöronal ana kaynağıdır.



Şekil 11: Beyindeki ana noradrenerjik nöron çekirdekleri

Rostroventromedial medulla; rafe magnusu içeren ve medial bulboretiküler çekirdeklere komşu olan önemli bir ağrı modülatör alanıdır (110). İmmünohistokimyasal çalışmalar alfa-2a adrenoseptör alt tipinin burada baskın olduğunu göstermektedir (111, 112).

Opioiderjik ağrı modülasyonunda ana yer olan PAG'nin noradrenerjik ağrı modülasyonuna da katkıları vardır. PAG adrenerjik ve noradrenerjik sinir liflerinin yoğun olarak bulunduğu bir yerdir. PAG orta yoğunlukta alfa-2a ve düşük yoğunlukta alfa-1 noradrenerjik reseptörler içerir (104).

Kaudal ventrolateral medullada yer alan lateral retiküler çekirdekler katekolaminerjik A1 hücre grupları ile kaplıdır. Burada alfa-2a, alfa-2c, alfa-1a ve alfa-1b reseptör mRNA'ları orta yoğunlukta bulunurken, alfa-1d reseptör mRNA'sı daha az yoğunlukta bulunur (113).

Lokus seruleus ya da pontaki A5-A6 hücre grubu beyindeki noradrenerjik hücre gövdelerinin ana yeridir (114). Lokus seruleus alfa-1 adrenoseptörleri için bağlanma yerlerine sahiptir (115). Alfa-2a reseptör alt tipi beyinde en fazla lokus seruleusda bulunur (116).

Talamus

Duyusal talamus klasik olarak, çıkan ağrı sinyallerinin kortekse iletilmesinde bir geçiş yeri olarak görev yapmaktadır. Talamusda yüksek oranda alfa-1b adrenoseptör mRNA'ları ve alfa-2b adrenoseptörü ile alfa-2a ve alfa-2c adrenoseptörlerinin de bulunduğunu göstermiştir (104, 116). Medial talamusda bulunan alfa-2a noradrenerjik reseptörler ağrının affektif-motivasyonel (ağrıda hoşnutsuzluk, tedirginlik gibi hisler ve diğer duyusal öğeler) bileşeni için önemli bir geçiş noktasıdır (117).

Amigdala

Amigdalanın ağrının emosyonel yönünün iletiminde rol aldığı düşünülür. Amigdala özellikle alfa-2a (baskın olarak) ve alfa-1a adrenoseptör mRNA'larını bulundurur (104, 116). Ancak ağrı modülasyonunda amigdaladaki noradrenerjik mekanizmalar daha az görev alırlar (118, 119).

Nukleus Traktus Solitaryus

Kaudal medullada yer alan nukleus traktus solitaryus viseradan input alır (120) ve uyarılırsa analjezik etki oluşur (121). Nukleus traktus solitaryus alfa-1a ve alfa-2a adrenoseptör mRNA'larını eksprese eder (104, 116). Ancak bu bölgedeki noradrenerjik sistemin ağrı modülasyonuna katkısı belirlilik kazanmamıştır (122).

Striatum

Striatum, putamen ve kaudat çekirdekleri içerir ve motor kontrol devresine dahil olur. Striatumun ağrı modülasyonuna ilişkin katkısına dair kanıtlar her geçen gün artmaktadır (123, 124). İlginç olarak striatum alfa-2c adrenoseptörlerini diğer alfa-2 adrenoseptörlerden daha fazla eksprese ettiği belirtilmiştir (104, 116).

Hipotalamus

Hipotalamus otonom ve endokrin sistem kontrolü ile beraber yüksek kortikal ve limbik sistemlerin entegrasyonunda baskın rol oynamaktadır (120). Hipotalamusun çeşitli bölgelerinin elektriksel uyarımı antinosisepsiyona neden olmaktadır (125, 126). Hipotalamusun özellikle paraventriküler çekirdekleri stresle indüklenen analjezide önemli rol almaktadır (127).

Serebral Korteks

Serebral korteksin özellikle somatosensör alanı ile insula bölgesi ağrı iletimiyle ilişkilidir (128). Korteks pontaki noradrenerjik çekirdeklerinden innervasyon alır (129). Korteks alfa-1 ve alfa-2 reseptörlerini orta derecede, alfa-2 reseptörlerden ise alfa-2c reseptörlerini ise az derecede eksprese eder (104, 116). Lokus seruleusun elektriksel uyarımı medial prefrontal korteksteki nosiseptif yanıtları baskılamıştır. Bu da noradrenerjik sistemden kortekse doğru çıkan bir ağrı modüle edici yolağın olduğuna işaret etmektedir (130).

2.4.3.2. SPİNAL SEVİYEDE NORADRENERJİK SİSTEMİN ROLÜ

Adrenerjik sistem spinal seviyede opioderjik ve serotonerjik sistemler gibi ağrı modülasyonunda önemli etkilere sahiptir. Birçok davranışsal ağrı modeli ve elektrofizyolojik çalışmalarda noradrenerjik reseptör agonistlerinin analjezik/antinosieptif etkileri gösterilmiştir. Genelde spinal seviyede ağrı modülasyonunda noradrenerjik reseptör alt tiplerinin etkileri daha çok incelenmiştir. Çalışmaların çoğu alfa-2 noradrenerjik reseptörlerin ağrı modülasyonundaki etkisi ve diğer sistemlerle etkileşimini kapsamaktadır.

İntratekal uygulanan noradrenalinin şıçanlarda tail-pinch, tail flick ve hot plate testlerinde antinosieptif etki gösterdiği belirtilmiştir. Benzer şekilde, kedilerde ve şıçanlarda hot plate ve tail flick testlerinde subaraknoid aralığa (i.t) uygulanan noradrenalinin antinosieptif etkisi gösterilmiştir (99). Toshio ve ark.nın yaptıkları bir çalışmada alfa-2 reseptör agonistleri klonidin, tizanidin ve

deksmedetomidin epidural uygulandığında sıçanlarda tail flick testinde analjezik etki göstermiştir. Meydana gelen analjezik etki epidural uygulanan non-selektif alfa adrenoseptör antagonistleri fentolamin, fenoksibenzamin, tolazolin ve yohimbin tarafından antagonize edilirken beta-adrenoseptör blokörü propranolol tarafından antagonize edilmemiştir. Yine beta agonisti izoproteronol tek başına uygulandığında ağrı eşiğini değiştirmemiştir (131).

Sıçanlarda spinal korda, noradrenalin deplesyonu yapan 6-hidroksidopamin uygulandıktan bir hafta sonra ağrı eşiği hot plate ve tail flick testlerinde kontrol grubu hayvanlara göre anlamlı azalmıştır. Bu çalışmada ayrıca sıçanlara intratekal tiramin uygulanması ağrı eşiğini kontrol grubu hayvanlarda (noradrenalin deplesyonu yapılmayan); noradrenalin deplesyonu yapılan deneklere göre daha fazla artırmıştır (132). Benzer bir çalışmada sıçanlarda hot plate ve tail flick testlerinde adrenerjik agonistlerden ST-91, metoksamin ve noradrenalin antinosiseptif etki göstermiş ve bu etki yohimbin ve prozosin ile engellenmiştir. Bu çalışmada spinal korda 7 gün öncesinden 6-hidroksidopamin verilerek norepinefrin deplesyonu yapıldığında metoksamin ve ST-91 analjezik etkileri yok olmuştur (133). Bu veriler antinosisepsiyon oluşması için noradrenalinin gerekliliğini göstermektedir.

Takano ve ark.nın yaptıkları bir çalışmada adrenerjik agonistlerden klonidin, deksmedetomidin ve ST-91 sıçanlarda antinosiseptif etki göstermiştir. ST-91'in analjezik etkisi alfa-2b reseptör antagonisti imiloksan ve alfa-2a reseptör antagonisti WB4101 tarafından engellenmiştir. Klonidinin ve deksmedetomidinin analjezik etkisi ise sadece alfa-1 reseptör antagonisti WB4101 tarafından engellenmiştir (134). Maymunlara elektriksel şok-titrasyon verilerek ağrı oluşturulan bir çalışmada; intratekal veya epidural kateter takılarak uygulanan alfa adrenerjik agonistlerden klonidinin ve ST-91'in doza bağımlı olarak analjezik etki meydana getirdiği belirtilmiştir. Fentolamin bu analjezik etkiyi engellemiştir (135).

Alfa-2 adrenerjik reseptörlerinin çeşitli alt tipleri spinal seviyede analjezik etkiye aracılık etmektedir. İntratekal uygulanan alfa-2a reseptör agonistlerinin

tail flick ve P maddesinin indüklediği ağrı davranış testlerinde analjezik etki gösterdiği belirtilmiştir. İntratekal verilen alfa-2a reseptör agonisti UK 14,304 noradrenerjik alfa-2a reseptör genleri silinmiş D79N farelerde analjezik etki meydana getirmezken normal farelerde analjezik etki meydana getirmiştir. Normal farelerde UK 14,304 ile opioid mü ve delta reseptör agonistleri intratekal birlikte uygulandıklarında analjezik etkide sinerjizma gözlenirken, D79N farelerde analjezik etki meydana gelmemiştir. Alfa-1, alfa-2b ve alfa-2c noradrenerjik reseptörlerini antagonize eden prazosin, UK 14,304'in analjezik etkisini hem normal hem de D79N farelerde engellememiştir. Bütün noradrenerjik alfa reseptörler alt-tiplerini antagonize eden idozoksan (i.t) UK 14,304 ile meydana gelen analjezik etkiyi hem normal hem de D79N farelerde azaltmıştır (136). Bu da analjezik etkinin alfa-2a reseptörler aracılığıyla olduğunu göstermektedir.

Alfa-2c reseptör alt tipinin de spinal seviyede ağrı modülasyonuna katkısına ilişkin çeşitli çalışmalar vardır. Farelerde yapılan bir çalışmada spinal seviyede noradrenerjik alfa-2c reseptörlerinin tail flick ve P maddesinin indüklediği ağrı davranış testlerinde ağrı modülasyonu ile ilişkisi gösterilmiştir. İntratekal verilen selektif imidazolin 1/alfa-2 reseptör agonisti moksonidin normal farelerde analjezik etki göstermiş ancak alfa-2c reseptör genleri silinmiş farelerde analjezik etki anlamlı derecede azalmıştır. Moksonidinin analjezik etkisi alfa-2b reseptör genleri silinmiş farelerde ise değişmemiştir (137). Bu çalışmada noradrenerjik alfa-2c reseptörlerinin moksonidinin analjezik etkisine aracılık ettiğini göstermektedir.

2.4.3.3. SUPRASPİNAL SEVİYEDE NORADRENERJİK SİSTEMİN ROLÜ

Adrenerjik sistem ağrı modülasyonunda supraspinal inen inhibitör yolların ana bileşenlerinden birisidir. Çeşitli ağrı davranış modeli testlerinde adrenerjik sistemin supraspinal etkisi; nörotransmitter salıverilmesi ve reseptör etkileşimi üzerinden araştırılmıştır.

Farelerde karın kıvranma testinde yapılan bir çalışmada diklofenak sodyum sistemik uygulandığında analjezik etki meydana getirmiştir. Diklofenak sodyum klonidin ve fenilefrinle kombine edilince meydana gelen analjezik etkide potansiyalizasyon görülmüştür. Bu çalışmada ilginç olarak prazosin ve yohimbinin tek başına analjezik etki gösterdiği ve diklofenak sodyum ile kombine edilince yine analjezik etkide potansiyalizasyon gözlemlendiği belirtilmiştir (138).

Millan ve ark.nın yaptıkları bir çalışmada noradrenerjik alfa-2a'ya yüksek afinite gösteren ksilazin, UK 14,304, guanazin ve guanabenz şıçanlarda karın kıvranma ve hot plate testlerde antinosiseptif etki göstermiştir. Alfa-2a noradrenerjik reseptör blokörü BRL 44408; ksilazin, UK 14,304, guanazin ve guanabenz tarafından oluşturulan analjezik etkiyi engellemiştir. Benzer şekilde selektif noradrenerjik alfa-2 reseptör antagonistlerinden fluparoksan and des-fluorfluparoksan da analjezik etkiyi engellemiştir. Ancak alfa-2b/alfa-2c antagonisti ARC 239, noradrenerjik alfa-1 reseptör blokörlerinden prazosin, korinantin, spiroksatrin ve WB 4101 ile noradrenerjik alfa-2b antagonisti BRL 41992 analjezik etkiyi çok zayıf oranda engellemişlerdir (139). Bu da antinosiseptif etkinin daha çok alfa-2a reseptörler üzerinden gerçekleştiğini göstermektedir.

Ağrı modülasyonunda rol alan supraspinal noradrenerjik üst merkezlerin elektriksel uyarımı analjezi ile sonuçlanmaktadır. Lokus seruleusun elektriksel uyarımı analjezi meydana getirmiştir ve bu analjezi alfa-2 agonisti klonidin ile potansiyalize edilmiştir. Alfa-antagonist fentolamin bu analjezik etkiyi kısmi

olarak engellemiştir. Elektrokonvülsif şok (EKT) hot plate ve tail flick testlerinde ağrı eşiğini hafif yükseltmektedir. Elektrokonvülsif şok sonrası hot plate ve tail flick testlerinde meydana gelen ağrı eşiğindeki yükselmeler (antinosiseptif etki), intratekal uygulanan fentolamin ve yohimbin ile - prazosin ile değil – engellenmiştir (140). EKT'nin supraspinal antinosiseptif etkisinin spinal uygulanan alfa-2 adrenerjik reseptör antagonisti yohimbin tarafından bloklanması supraspinal noradrenerjik inen inhibitör sistemin EKT analjezisinde rol aldığını göstermektedir.

Sıçanlara 15 dakika süreyle vibrasyon (titreşim) uygulanarak stresle indüklenen hiperaljezi oluşturulmuş ve sıçanlarda tail flick testinde ağrı eşiğinin düştüğü belirtilmiştir. Oluşan hiperaljeziyi klonidin (i.p) engellemiş, klonidinin antihiperaljezik etkisi de yohimbin (i.p) ile engellenmiştir (141). Bu çalışmada klonidinin antihiperaljezik etkisinin alfa-2 adrenerjik reseptörler üzerinden meydana geldiği belirtilmiştir.

Supraspinal inen inhibitör yollarının ana bileşenlerinden olan ve serotonerjik reseptörlerin ana merkezi nukleus rafe magnus noradrenerjik supraspinal merkezlerden de girdi almaktadır. Noradrenalinin NRM'ye iontoforetik uygulanması analjezi meydana getirmektedir. Sagen ve Proudfit yaptıkları bir çalışmada, NRM'ye alfa-1 antagonisti prazosin ve alfa-2 agonisti klonidin mikroenjeksiyonunun analjezik etki oluşturduğunu belirtmişlerdir. Bu analjezik etki alfa-1 agonisti fenilefrin ve alfa-2 antagonisti yohimbin ile engellenmiştir (142). Bu çalışmada görüldüğü gibi alfa-1 noradrenerjik reseptörleri hiperaljezik etkiye, alfa-2 noradrenerjik reseptörleri ise analjezik etkiye aracılık etmektedir.

2.4.4. AĞRI MEKANİZMASINDA KOLİNERJİK SİSTEMİN ROLÜ

2.4.4.1.KOLİNERJİK RESEPTÖRLERİN AĞRI MEKANİZMASINDA FONKSİYONEL ÖZELLİKLERİ

2.4.4.1.1. Kolinerjik Muskarinik Reseptörlerin Ağrı Mekanizmasında Fonksiyonel Özellikleri

Beyinde muskarinik reseptörlerin M1-M5 olarak beş alt tipe ayrıldığı belirtilmiştir (143). Özellikle M2 ve M4 reseptörleri beyinde ysygın olarak dağılmışlardır ve pons, medulla, talamus, serebral korteks gibi çeşitli yerlerde ağrı iletimini, modülasyonunu ve algılanmasını düzenlerler (144).

Radyoligand bağlanma çalışmaları M1 reseptörlerinin yoğun olarak ön beyinde, daha az oranda ise kaudal bölgelerde bulunduklarını göstermektedir. Rostral ventral medullada bulunan M1 reseptörleri pontomezensefalotegmental kompleks ve paragigantoseleler çekirdeklerden projeksiyon lifleri alır (143, 145).

Beyindeki M2 reseptörler en çok beynin kaudal bölgesinde (beyin sapı) olmak üzere tüm beyin boyunca dağılmışlardır. Radyoligand bağlanma çalışmaları M2 reseptörlerin daha çok serebellumda, daha az oranda ise rostral bölgelerde olduğunu göstermiştir. Rostral ventral medullada bulunan M2 reseptörleri de pontomezensefalotegmental kompleks ve paragigantoseleler çekirdeklerden projeksiyon lifleri alır (146, 147).

M3 reseptörleri tüm beyin boyunca yayılmışlardır (143). Ağrı mekanizmasındaki rolleri daha çok spinal seviyede araştırılmıştır. Rostral ventromedialde yer alan nukleus retikularis gigantoseleler/nukleus retikularis gigantoseleler alfa da morfin analjezisine aracılık ettiği belirtilmiştir (148).

M4 reseptörleri santral ve periferik sinir sisteminde en fazla beyinde ve daha az yoğunlukta spinal kordda bulunur. Özellikle ön beyinin korpus striatumunda ve olfaktor tuberkülde bulunur (149).

M5 reseptörleri toplam muskarinik reseptörlerin %2'sinden daha az oranda olup beynin değişik yerlerinde dağılmış durumdadır (150).

Muskarinik asetilkolin reseptörleri spinal kordda ağrı iletiminin düzenlenmesinde önemli rol üstlenirler. Otoradyografik ve immünokimyasal çalışmalar muskarinik reseptörlerin insan ve şıçanlarda spinal kord yüzeyel laminalarda bulunduğunu göstermiştir. Spinal analjezide rol alan ve spinal kordda yerleşik bulunan muskarinik reseptörler M1, M2, M3, M4 reseptörlerdir (151). Ancak M1 reseptörlerinin spinal kordda bulunmadığını iddia eden yayınlar da vardır (152). RT-PCR ile yapılan bir araştırmada M1, M2, M3, M4 ve M5 muskarinik reseptörlerin varlığı morfin bağımlı şıçanlarda gösterilmiştir (153). M1 reseptörlerinin aktivasyonu antinosisepsiyonla sonuçlanmaktadır.

Spinal kordda M2 reseptörleri %90 oranında dominant reseptörlerdir. İnsanlarda ve şıçanlarda spinal kordda M2 reseptörleri dorsal ve ventral kök (lamina IX) ganglionlarında bulunur. Daha çok lamina I ve II (substantia gelatinosa)' de bulunurlar. Spinal kordda sonlanan primer aferentlerin terminal kısımları lamina II'de bulunur. Muskarinik M2 reseptörlerinin uyarılmaları adenilat siklaz aktivitesini ve cAMP bağımlı sinyal iletimi azaltır. Bu yüzden spinal seviyede M2 reseptörleri nosiseptif iletimi azaltır. Spinal korddan salınan asetilkolin M2 reseptörleri aracılığıyla antinosiseptif etki gösterir. M2 reseptörleri primer aferentlerde de bulunur ve nosiseptif nörotransmitterlerin salıverilmesini engeller (154). Genelde M2 reseptörlerinin uyarılması antinosisepsiyonla sonuçlanır.

M3 Reseptörleri, en fazla lamina II'de bulunurlar. Spinal kordda M3 reseptörlerinin aktivasyonu hem nosiseptif hem de antinosiseptif etkiyle sonuçlanabilmektedir (155).

Spinal kordda M4 reseptörleri yüzeyel çapraz ve derin dorsal kök kısmında bulunurlar. En fazla lamina I ve II'de bulunurlar. M2 reseptörlerine göre daha az sayıda yerleşmişlerdir. Uyarılmaları nosiseptif iletimi azaltır. Spinal korddan salıverilen asetilkolin M4 reseptörleri aracılığıyla da antinosiseptif etki sağlar. M2 reseptörlerine göre spinal analjezideki önemi daha az olmasına rağmen M2 reseptörleriyle birlikte spinal analjeziye sinerjizma sağlar (156).

2.4.4.1.2. Kolinergic Nikotinik Reseptörlerin Ağrı Mekanizmasında Fonksiyonel Özellikleri

Analjezik etkide en fazla rol alan nikotinik reseptör alt tipi $\alpha 4\beta 2$ ve $\alpha 7$ reseptörleridir. Nikotinik asetilkolin reseptörlerinin diğer alt-birimleri de ($\alpha 3\beta 2$, $\alpha 3\beta 4$, and $\alpha 4\beta 4$ gibi) aynı zamanda sinir sisteminde ve nöronal olmayan bazı dokularda genişçe dağılım gösterirler. Alfa-3 alt-birimleri trigeminal nöronlarda, sempatik ganglionlarda ve spinal kord dorsal kök ganglionlarında bulunur. Genel olarak beyinde nikotinik reseptörler korteks, hipokampus ve subkortikal limbik bölgelerde yüksek oranda lokalizedirler. Daha az olarak ise talamik bölgelerde ve bazal ganglionlarda dağılmışlardır. Özellikle talamus, serebral korteks, hipokampus ve nukleus rafe magnus gibi üst merkezlerde yer alan nikotinik asetilkolin reseptörleri analjezik mekanizmada önemli rol oynamaktadır (157). Talamus ve rafe magnusda $\alpha 4$ ve $\beta 2$ genleri silinmiş şıçanlarda analjezik yanıtların azaldığı gözlenmiştir (158).

Serotonergic ağrı modülasyon merkezlerinden önemli bir yer olan rostral ventromedial bölgede de nikotinik reseptörler bulunmakta ve bu reseptörler pontomezensefalotegmental kompleks ve paragigantoseleler çekirdeklerden girdi almaktadır. Nukleus rafe magnusda nikotinik reseptör agonisti ABT-594 ile indüklenen c-fos ekspresyonu gösterilmiştir. Yine bu çalışmada histokimyasal yöntemle $\alpha 4$ alt-birim içeren nikotinik reseptörlerin bulunduğu saptanmıştır (159).

RT-PCR kullanılarak şıçanlarda lumbar ve torasik bölgelerde dorsal kök ganglionlarında nikotinik asetilkolin reseptör alfa alt-birimlerinin mRNA'ları gösterilmiştir. Alfa 2-7 alt birimleri ile $\alpha 4\beta 2$ alt birimleri spinal kord dorsal kök ganglionlarında kolokalizirler (160). Analjezik etkide $\alpha 4\beta 2$ nikotinik reseptörlerinin yanı sıra non- $\alpha 4\beta 2$ reseptörler (alfa 7 ve $\alpha 3\beta 2$ gibi) de yer almaktadır. Spinal kordda non- $\alpha 4\beta 2$ nikotinik reseptörlerin analjezi mekanizmasındaki rolü yeterince aydınlatılamamıştır. Spinal kord yüzeyel

laminalarda (lamina I-II ve III) yer alan $\alpha 4$ ve $\beta 2$ genleri silinmiş şıçanlarda elektrofizyolojik olarak nosiseptif yanıtların azalmadığı gözlenmiştir (158). Bu durumun spinal kordda diğer nikotinik alt reseptör tiplerinin etkilerinden kaynaklanabileceği iddia edilmiştir.

2.4.4.2.SPİNAL SEVİYEDE KOLİNERJİK SİSTEMİN ROLÜ

Spinal korda eksojen uygulanan nikotinik ve muskarinik kolinerjik reseptörleri etkileyen çoğunlukla agonist nitelikteki ilaçların antinosiseptif etki yaptığı bilinmektedir.

Spinal kordda asetilkolin seviyesinin artması analjeziye neden olmaktadır. Muskarinik reseptör agonisti okzotremorin ve nikotinik reseptör agonisti epibatidin intraspinal asetil kolin seviyesini artırmakta ve bu durum analjeziye neden olmaktadır (161, 162).

Şıçanlarda spinal suparaknoid aralığa karbakol verilmesi tail flick testinde analjezik etki oluşturmuştur. Bu analjezik etki atropin (i.t) ve M2 muskarinik reseptör antagonisti metoktramin (i.t) uygulandığında engellenmiştir (163). Muskarinik agonistlerden karbakol ve McN-A-343 ile kolinesteraz inhibitörlerinden neostigminin intratekal uygulandığında analjezi meydana getirdiği belirtilmiştir. Karbakol ve McN-A-343'ün analjezik etkisi atropin, pirenzepin (M1 reseptör antagonisti) ve 4-DAMP (M3 reseptör antagonisti) tarafından engellenirken, M2 reseptör antagonisti metoktramin tarafından engellenmemiştir. Neostigminin analjezik etkisi ise atropin ve 4-DAMP ile engellenirken, pirenzepin ve metoktramin tarafından engellenmemiştir (164). Bu çalışmada spinal kordda kolinerjik analjezinin M1 ve M3 (M2 değil) muskarinik reseptörler aracılığıyla gerçekleştiği savunulmuştur. Ancak şıçanlarda tail flick testinde karbakolün (i.t) analjezik etkinliğini değerlendirmek için yapılan bir çalışmada karbakolün analjezik etkisi atropin, spesifik M1 reseptör agonisti prenzepin ve spesifik M2 reseptör agonisti AFDX 116 ile engellenmiştir (165). M2 reseptörleri üzerinden ortaya çıkan sonuçlar farklılık gösterse de analjezik

etkinin engellenmesi tür, cins, uygulanan doz miktarı, aynı reseptöre etki eden farklı agonist ve antagonistlerin kullanımı gibi nedenlerden dolayı değişiklik gösterebilir. Sonuçta kolinerjik muskarinik M1, M2, M3 reseptörlerinin spinal analjezi üzerine etkileri incelenmeye açıktır.

Damaj ve ark.nın farelerde tail flick testinde yaptıkları bir çalışmada $\alpha 7$ nikotinik reseptörlerin analjezik etkinliği araştırılmıştır. $\alpha 7$ nikotinik reseptör agonisti kolin i.t uygulandığında analjezik etki göstermiştir. Analjezik etki $\alpha 7$ nikotinik reseptör antagonistleri MLA, α -BGTX verildiğinde engellenmiştir Bu çalışmada ayrıca i.t uygulanan atropin, kolinin (i.s.v) analjezik etkisini engellemiştir. Kolinin muskarinik reseptörleri de etkilediği bilinmektedir (166). Bu çalışmada görüldüğü üzere kolinerjik sistemin ağrı modülasyonuna katkısında $\alpha 7$ nikotinik reseptörler ve muskarinik reseptörler önemli rol almaktadır.

2.4.4.3. SUPRASPİNAL SEVİYEDE KOLİNERJİK SİSTEMİN ROLÜ

Kolinerjik sistemin ağrı modülasyonundaki yeri kolinerjik muskarinik agonist ve antagonistler kullanılarak çeşitli davranışsal ağrı modellerinde genişçe araştırılmıştır. Bu çalışmaların çoğunda muskarinik agonistler analjezik etkili bulunmuştur. Nikotinik agonistlerin ise analjezik etkili olduğunu belirten yayınların yanı sıra analjezik etkili bulunmadığını belirten yayınlar da mevcuttur. Asetilkolinesteraz inhibitörleri de çalışmaların hemen hepsinde analjezik etkilidir (167, 168, 169).

İntraserebroventriküler uygulanan asetilkolin tail flick ve karın kıvrınma testlerinde analjezik etki göstermiştir. Analjezik etki neostigmin (i.s.v) ile potansiyalize olurken atropin (i.p) ile engellenmiş, ancak atropin metil nitrat (sadece periferik etkili) ve mekamilamin ile engellenmemiştir (167). Farelere 5 gün süreyle atropin (i.p) uygulandığında; kolinerjik agonist arekolinin 2. gün ve 5. günde analjezik etkinliğinde azalma gözlenmiştir (170). Farelerde ve sıçanlarda hot plate testde kolinerjik muskarinik agonist okzotremorin (s.k)

analjezik etki göstermiş, bu analjezik etki atropin (i.p) ile engellenmiştir. Kafein farelerde subkutan ve i.s.v. uygulandığında hot plate ve karın kıvrınma testinde analjezik etki oluşturmıştır. Hot plate'deki analjezik etki pirenzepin (i.s.v) ve kolin-uptake blokörü HC-3 (i.s.v) ile engellenmiştir. Karın kıvrınma testindeki analjezik etki yine atropin (i.p) ve HC-3 (i.s.v) ile engellenmiştir. Bu çalışmada kafeinin analjezik etkisi sıçanlarda ayrıca pençe-basınç ve tail flick testlerinde de değerlendirilmiş ve kafein her iki testde de analjezik etki meydana getirmiştir. Meydana gelen analjezik etki HC-3 (i.s.v) uygulandığında engellenmiştir (171).

Sıçanlarda hot plate ve tail flick testlerinde nikotin, mezopontin tegmuntuma uygulandığında antinosiseptif etki göstermiştir. Nikotinle aynı anda mekamilamin, skopolamin ve M1 muskarinik reseptör antagonisti pirenzepin mezopontine uygulandığında analjezik etki engellenmiştir. M2 antagonisti metoktramin tek başına uygulandığında analjezik etki göstermiş, nikotinle beraber uygulandığında da antinosiseptif etkide potansiyalizasyon gözlenmiştir. Asetilkolinin depolanmasını ve salıverilmesini etkileyen (-)-vezamikol uygulandığında nikotinin antinosiseptif etkisinde hot plate ve tail flick testlerinde azalma meydana gelmiştir. (±)-vezamikol tek başına herhangi bir etki meydana getirmemiştir (172).

Hem muskarik hem de nikotinik reseptörler üzerine agonist etki gösteren karbakol, sıçanlarda pontin retiküler çekirdeklere direkt uygulandığında atropin ve mekamilamin tarafından tail flick testinde engellenebilir bir analjezik etki meydana getirmiştir (173). Sıçanlarda karbakol ayrıca NRM'ye direkt ve i.s.v uygulandığında hot plate testde analjezik etkili meydana getirmektedir (174,175).

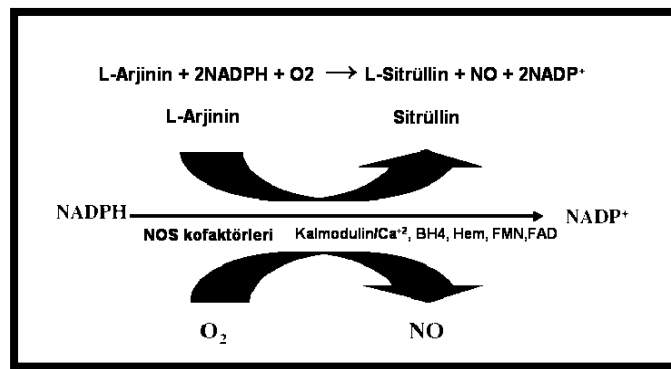
Lateral hipotalamusun elektriksel uyarımının sıçanlarda analjeziye neden olduğu, atropin (i.p) uygulandığında analjezik etkinin engellediği fakat mekamilamin (i.p) uygulandığında ise engellenmediği belirtilmiştir (176). Lateral hipotalamusa karbakol uygulanması da sıçanlarda tail flick ve ayak-geri çekme testlerinde analjezik etki oluşturmaktadır (177).

Supraspinal yapılardan medial ve santral amigdala çekirdeklerinin de elektriksel uyarımı sıçanlarda tail flick testinde analjezi ile sonuçlanmaktadır. Bu

analjezik etki atropin (i.p) ile engellenirken, mekamilamin ile engellenmemiştir (178). Benzer olarak pretektal çekirdeklerin de elektriksel uyarımının analjeziye neden olduğu ve bu analjezik etkinin atropinle (i.s.v) engellendiği belirtilmiştir (179). Supraspinal seviyede meydana gelen analjezinin daha çok kolinerjik muskarinik reseptörler aracılığıyla (nikotinik değil) gerçekleştiği belirtilse de (176, 178), hem nikotinik hem de muskarinik reseptörlerin analjezik etkideki rolleri incelenmeye açıktır.

2.4.5.AĞRI MEKANİZMASINDA NİTRERJİK SİSTEMİN ROLÜ

Nitrik oksit (NO) birçok nörotransmitter için nöronal iletim sağlayan bir bileşiktir. NO, nöronal nitrik oksit sentaz (NOS) tarafından L-argininden sentezlenir (şekil 12). Spinal kordda dorsal kök ve dorsal kök ganglionları ve spinal kordda ağrı iletiminde rol alan primer aferent liflerin terminallerinde yer alır. Spinal kordun torasik ve sakral intermediolateral kısımlarında ise otonomik fonksiyonları düzenler (180, 181). NO araştırmaları daha çok kronik ağrı modelleri üzerinde yoğunlaşmıştır.



Şekil 12: Nitrik Oksit sentezi

2.4.5.1.SPİNAL SEVİYEDE NİTRERJİK SİSTEMİN ROLÜ

Spinal seviyede NO yolağının ağrı modülasyonundaki etkisi genellikle nosiseptif karakterdedir. Çok sayıda davranışsal ağrı modeli çalışmalarında NO yolağının spinal seviyede etkileri ayrıntılı araştırılmıştır. Genelde bu testler inflamatuvar karakterdedir. Kutanöz ve viseral ağrı modelleri ile yapılan çalışmalar daha az sayıdadır.

NO donörü olan NOC-12 sıçanlara intratekal uygulandığında tail flick testinde hiperaljezik etki göstermiştir (182). Tersine NOS inhibitörü olan L-NAME sıçanlarda tail flick testinde intratekal ve epidural uygulandığında analjezik etki göstermiştir (185).

NOS inhibitörü L-NAME intratekal uygulandığında karın kıvrınma testinde analjezik etki göstermiştir. L-arginin, L-NAME'in analjezik etkisini engellerken, D-NAME (i.t) hiçbir değişiklik oluşturmamıştır. L-arginin tek başına analjezik etki meydana getirmemiştir. Nöronal nitrik oksit sentaz inhibitörü (nNOS) olan “7-nitroindazol”un (7-NI) benzer şekilde karın kıvrınma testinde analjezik etki gösterdiği belirtilmiştir (183).

2.4.5.2. SUPRASPİNAL SEVİYEDE NİTRERJİK SİSTEMİN ROLÜ

Nitrerjik sistemin ağrı mekanizmasındaki rolü diğer sistemler kadar (opioiderjik, kolinerjik, serotonerjik, vb.) supraspinal seviyede araştırılamamıştır. Bunda NO'nun daha geç keşfedilmesi en önemli nedendir. NO beyinde bir çok fizyolojik ve patolojik olaylarda olduğu gibi analjezi mekanizmasında da önemli rol almaktadır. Bununla ilgili supraspinal seviyede çeşitli ağrı modeli çalışmaları yapılmıştır.

NO salıveren bir bileşik olan NOC-18, i.s.v. uygulandığında sıçanlarda tail flick testinde hiperaljezi meydana getirmiştir. Bu çalışmada L-NAME tek başına i.s.v uygulandığında analjezik etki oluştururken, NOC-18'in hiperaljezik etkisini değiştirmemiştir. Benzer şekilde NOS inhibitörü metilen mavisi tek başına i.s.v.

uygulandığında analjezik etkili bulunurken, NOC-18'in hiperaljezik etkisini engellememiştir (184). L-NAME'in (i.v) hot plate testde de analjezik etki gösterdiği, ayrıca i.v. morfinin analjezik etkisini potansiyalize ettiği belirtilmiştir (185).

L-arginin (i.s.v) farelere uygulandığında hot plate testde doza bağımlı olarak anlamlı analjezik etki meydana getirmiştir. Nitrik oksit sentaz inhibitörü N-mono-metil- arginin (NMMA) (i.s.v), L-arginin analjezisini azaltmıştır. Ayrıca Nitrik oksit donörlerinden nitroprusid (i.s.v) ve bromo-cGMP (i.s.v) analjezik etki göstermişlerdir (186). L-arginin (i.s.v) ve L-NAME farelerde tail flick testinde de analjezik etki göstermiştir. L-arginin ile L-NAME birlikte i.s.v uygulandıklarında analjezik etkide herhangi bir potansiyalizasyon gözlenmemiştir. Ayrıca metilen mavisi (i.s.v.) de tail flick testinde analjezik etki meydana getirmiştir. Bu etki dibutiril-cGMP (i.s.v.) tarafından engellenmiştir (187).

L-NAME karın kıvrınma ve formalin testlerinde de (sırayla i.p; i.s.v ve p.o) analjezik etki göstermiştir. Bu analjezik etki sırayla L-NMMA (i.p) ve L-arginin (i.p) tarafından anlamlı olarak engellemiştir. L-NMMA tek başına i.p uygulandığında herhangi bir analjezik etki meydana getirmemiştir. İlginç olarak L-arginin (i.p) yüksek dozda formalin test 1. fazda tamamen, 2. fazda ise kısmen analjezik etki oluşturmuştur. Formalin testde D-NAME ve D-arginin herhangi bir analjezik etki meydana getirmemiştir (188, 189). Bu çalışmalarda görüldüğü gibi hem L-arginin hem de L-NAME gibi NO yolağında zıt etki yaptığı düşünülen bileşikler analjezik etki oluşturabilmektedir.

Sıçanların soğuk suda yüzdürülerek oluşturulan stres analjezisi L-NAME ile potansiyalize edilmiştir (190). Kanseri ilişkili ağrı duyan hastaların BOS'unda NO seviyesinin yüksek olduğu, ayrıca sıçanların hipokampusünde NMDA ile indüklenen (nosiseptif uyarı) NO seviyesinin artışının L-NAME ile azaltıldığı ve ağrılı uyaranların BOS NO seviyesini artırdığı çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (191).

2.5.DENEYSEL AĞRI MODELLERİ

Kemirgenlerde ilaçların analjezik etkilerini değerlendirmeye yönelik duyarlı ve güvenilir davranışsal modeller geliştirilmiştir. Bu modeller genellikle termal, kimyasal ve mekanik uyarıya bağlı olarak gelişen ağrı duyusunun eşik değerinin ölçülmesi esasına dayanılır. Ayrıca nöropatik ağrı modelleri de geliştirilmiştir. Ağrı duyusunun algılanmasında periferik dokularla birlikte spinal kord ve beyin sapı, ön beyin gibi supraspinal merkezlerin de katkısı vardır. Bu yüzden bir ilacın deney hayvanlarındaki etkisini değerlendirmek için birden fazla test kullanmak ideal olacaktır.

2.5.1.TERMAL UYARI İLE OLUŞTURULAN AĞRI MODELLERİ

Tail flick (kuyruk çekme), tail immersiyon (kuyruk daldırma) ve hot plate (sıcak zemin) testleri sıçan ve farelerde en sık kullanılan yöntemlerdir (192, 193). Termal uyarının kullanıldığı testlerin diğer ağrı modellerine göre daha az duyarlı olduğu ve daha çok, “güçlü analjezik etki” potansiyaline sahip ilaçların analjezik etkinliğini daha iyi değerlendirdiğini belirtenler olmuştur. Örneğin bazı kalsiyum kanal blokörlerinin ve trisiklik antidepresan ilaçların kimyasal ağrı testlerinde (writhing- karın kıvrınma testi gibi) termal testlere göre daha belirgin analjezik etkinlik gösterdiği iddia edilmiştir (194, 195).

2.5.1.1. TAIL FLICK (KUYRUK ÇEKME) TESTİ

2.5.1.1.1 Radyant ısı kullanılarak yapılan tail flick testi

Tail flick testi ilk olarak 1941 yılında D’Amour ve Smith tarafından tanımlanmıştır (196). Test sıçan veya farenin bir lambadan gelen ve şiddeti ayarlanabilir odaklanmış ışığa karşı (radyant ısı) kuyruğunu çekmek suretiyle verdiği yanıtı değerlendirir. Kuyruk çekme süresi “tail flick latens”i olarak adlandırılır. Bu süre genelde 2-10 saniye (sıklıkla 2-4 sn) arasındadır. Analjezik etki

gösteren ilaçlar bu süreyi uzatır (192). Termal uyarının kuyruk dokusunu zedelememesi için uyarı süresi maksimum 10-20 saniye arası olmalıdır. Bu süreye “cut-off” süresi denilmektedir.

Tail flick testinin nosiseptif uyarıya karşı gelişen spinal refleksi değerlendirdiği belirtilmiştir (198). Ancak diğer bütün reflekslerde olduğu gibi tail flick refleksi supraspinal yapılarca da kontrol edilmektedir.

2.5.1.1.2. Tail İmmersiyon Testi

Bu testde tail flick testinden farklı olarak nosiseptif uyarı olarak radyant ısı değil de sıcak su (46 C°) kullanılır. Radyant ısı kaynağının tek bir noktadan kuyruğa nosiseptif uyarı vermesine karşın burada kuyruğun dairesel alanı suya daldırıldığı için uyarı alanı çok daha geniştir. Nosiseptif uyarı olarak soğuk su da kullanılabilir.

2.5.1.2.HOT PLATE (SICAK ZEMİN) TESTİ

Bu testde fare veya şıçanın sıcaklığı 50-55 °C arasında değişen ve etrafı pleksiglas bir silindir ile sınırlandırılmış metal bir levha üzerine bırakıldığı zemin üzerinde durabilme süresi değerlendirilir. İlk olarak 1953 yılında Eddy ve Leimback tarafından tanımlanmış ve kullanılmıştır (198). Bu testde deneğin pençesini ilk yalama veya şıçramaya başlama anı dikkate alınır. Her iki refleks de supraspinal kaynaklıdır. Termal uyarıya karşı gelişen koklama, ön-arka pençeleri yalama, doğrulma, ayakları hızla yere vurma gibi stereotipik “kaotik defansif hareketler” tanımlanmıştır (199).

Sıcak zemin üzerinde durabilme süresi genelde 10-15 saniyedir. 25 saniyeden fazla duran deneklerin testin kalitesi açısından çıkarılmaları uygun olur. Analjezik ilaçlar zemin üzerinde durabilme süresini uzatırlar. Belli bir süreden sonra doku hasarını önlemek amacıyla deneklerin sıcak zeminden çıkarılmaları gerekir. Bu süre (cut-off) 30-60 saniye arasında değişmektedir.

2.5.1.3.PAW WITHDRAWAL (PENÇE GERİ ÇEKME) TESTİ

Bu testde şıçan veya fare pençesi karregen ile inflame edildikten sonra sıcak zeminde (hot plate) termal uyarı verilerek deneklerin ağrı davranışı değerlendirilir (196). Deneklerin pençesi inflame edildikten sonra sıcak zeminde (hot plate) değil de von-fray flamanları ile basınç uygulanırsa, mekanik uyarı ile oluşturulan ağrı davranışı değerlendirilmiş olur.

2.5.2.KİMYASAL UYARI İLE OLUŞTURULAN AĞRI MODELLERİ

2.5.2.1. ASETİK ASİT KARIN KIVRANMA (WRITHING) TESTİ

Genellikle farelerde uygulanan bir testtir. İntraperitoneal olarak % 0.6'lık asetik asit solüsyonu uygulanan deneklerde enjeksiyonu izleyen 10 dakikadan itibaren başlayan süreç içerisinde kıvranma davranışının sayılması veya skorlanması şeklinde yapılır. Kıvranma davranışı önce karın kaslarında kasılma ile başlayan daha sonra ayakların geriye doğru gerilmesi ile karakterize bir durum olarak tanımlanabilir (200). Kıvranma refleksi viseral ağrının kanıtı olarak gösterilmişse de (201), bu refleksin asıl olarak peritonoviseral ağrıyı yansıttığı belirtilmiştir. Paryetal peritonun somatik innervasyon aldığı göz önünde bulundurulursa aslında bu test sadece viseral ağrıyı değerlendiren bir test değildir. Ancak peritonitteki ağrıyı da taklit etmektedir (202). Asetik asit yerine fenilbenzoquinin, asetilkolin, dilüe edilmiş hidroklorik asit, potasyum klorid gibi diğer allojen maddeler de kullanılmıştır. Bu testin daha zayıf analjezik etkinlik gösteren analjezik ilaçlar için diğer ağrı testlerine göre daha duyarlı olduğu iddia edilmiştir (203). Hatta anajezik aktivite göstermeyen adrenerjik blokörler, antihistaminikler, kas gevşeticiler, mono-aminooksidaz inhibitörleri ve nöroleptiklerin dahi karın kıvranma releksini inhibe ettiği ve bu inhibisyonun her zaman analjezik aktiviteyi yansıtmadığı iddia edilmiş, farmakodinamik

özellikleri bilinmeyen bir madde için bu testin kullanışlı olduğu ileri sürülmüştür (202). Sonuçta analjezik aktivienin değerlendirilmesi için ideal tek bir test olmadığı göz önünde bulundurulmalıdır.

2.5.2.2. FORMALİN TESTİ

Bu model ilk olarak 1977 yılında Dubuissou ve Dennis tarafından tanımlanmış ve kullanılmıştır. Fare ve sıçan gibi kemirgenlerde ilaçların antiinflatuvar özelliklerini saptamaya yarayan bir testtir. Deneğin sağ veya sol ön pençesinin dorsal veya plantar dokusuna subkutan 25 µl %0.5 ile %15 arasında değişen formalin solüsyonu enjekte edilir. Enjeksiyon sonrası ikinci dakikadan itibaren deneğin davranışlarını değerlendirilen 4 seviyeli skora yapılır; 0: normal postür; 1: denek pençesini yere basar fakat desteklemez, 2: enjeksiyona uğrayan pençe net bir şekilde havada tutulur, 3: denek pençesine karşı yalama, sallama ve hafif ısırma davranışı gösterir. Birim zamanda deneklerin gösterdiği bu ağrı davranışlarının süresi ya da sayısı değerlendirilerek skorlanır (204). Analjezik ve antiinflatuvar ilaçlar ağrı davranışlarının (pençe sallama gibi) sayısını veya süresini azaltırlar (204, 205,). Sıçanlarda veya farelerde pençeye formalin enjeksiyonu iki fazlı bir reaksiyon oluşturur. İlk faz formalin enjeksiyonundan 2-3 dakika sonra başlar ve sonrasında duraksar. İkinci faz ise yaklaşık 20-30 dakika sonra başlar. İlk fazın nosiseptörlerin direkt uyarılmasıyla ikinci fazında da inflamatuvar sürecin katkısıyla meydana geldiği savunulmuştur. Bazı yayınlarda ilk fazın ikinci fazı santral merkezleri etkileyerek tetiklediği belirtilse de çoğu yayınlarda ikinci fazın ilk fazdan bağımsız geliştiği, çünkü birinci fazı inhibe eden ilaçların ikinci fazı inhibe etmediği belirtilmiştir. Analjezik ilaçlar duruma göre her iki fazı ya da sadece bir fazı inhibe eder veya azaltırlar (206).

2.5.2.3. KARREGEN TESTİ

Bu testde şıçan ya da farelerin ön pençesine %1-3'lük 0.01-0.02 ml karregenin enjekte edilir ve sonrasında oluşan ödemin çapı ölçülür. Antiinflamatuvar ilaçlar ödemin çapını azaltırlar ya da tamamen iyileştirirler (207).

2.5.3.MEKANİK UYARI İLE OLUŞTURULAN AĞRI MODELLERİ

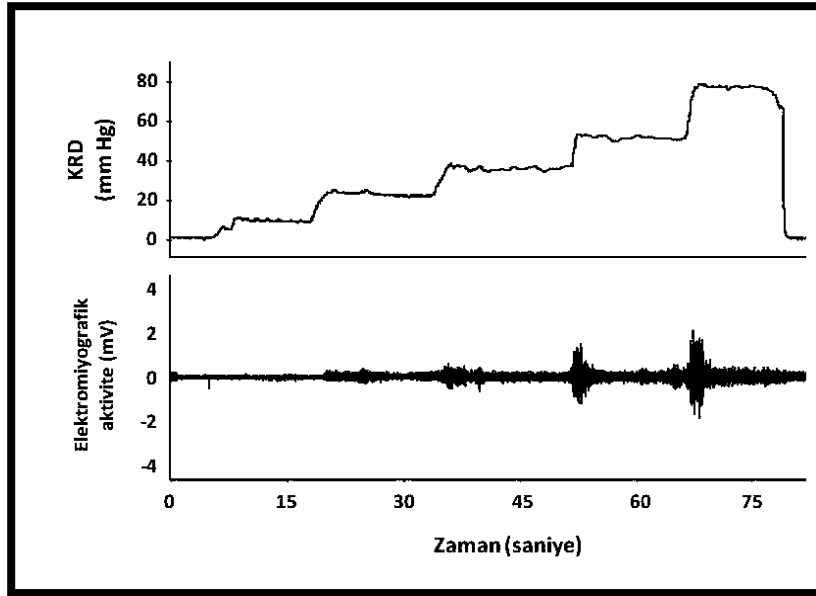
2.5.3.1. VON-FREY MONOFLAMAN TESTİ

Bu modelde şıçan veya fare ön pençesinin dorsal yanına veya kuyruğunun distal parçasına ucu keskin olmayan 0.2 cm çapında 30 °C eğilmiş bir flaman aracılığıyla 20 gr'lık bir basınç uygulanır. Deneğin rahatsız olarak kuyruğunu veya pençesini çekme süresi kaydedilir. Deneğin ses çıkarması (vokalizasyon) da ağrı davranışı olarak kaydedilir (208, 209). İnflamasyon gibi etkenlere bağlı olarak hiperaljezinin geliştiği durumlarda idealdir.

2.5.3.2. KOLOREKTAL DİSTANSİYONLA OLUŞTURULAN VİSERAL AĞRI MODELİ

Kolorektal distansiyon (KRD) ilk olarak Ness ve Gebhart tarafından uyanık şıçanlarda viseral nosisepsiyon oluşturmak için tanımlanan güvenilir ve kullanışlı bir davranışsal ağrı modelidir (210). Kolon ve rektumun distansiyonu mekanik olarak ağırlı bir uyarı oluşturur. Bu modelde oluşturulan uyarı minimal invazif, tekrarlanabilir ve güvenilir olup fizyolojik ve davranışsal yanıtlar kolayca ve daha objektif olarak ölçülebilir. Ayrıca KRD ile oluşturulan viseral ağrı, insanlarda intestinal obstrüksiyon ve distansiyon gibi nedenlerle oluşan viseral ağrıyı taklit etmektedir (211). KRD abdominal eksternal kaslarda kolay

hesaplanabilir bir basınç yanıtı; “ kontraksiyon (viseromotor yanıt) ” oluşturmaktadır. Viseromotor yanıt eksternal oblik kasların kontraksiyonunu kapsamakta olup, kontraksiyon sırasında oluşan EMG aktivitesinin hesaplanması ile değerlendirilir (210, 212). KRD deney boyunca merdiven-basamak (staircase) şeklinde artan basınç verilerek uygulanabileceği gibi tek bir seferde değişik derecelerde (20-80 mmHG) basınç verilerek de uygulanabilir (213, 214) (şekil 13). Analjezik ilaçlar KRD ile oluşturulan viseromotor yanıtı (EMG aktivitesini) tamamen inhibe edebilirler ya da azaltabilirler.



Şekil 13: Basamaklı kolorektal distansiyon sonrası sıçan abdominal eksternal kas aktivitesini yansıtan EMG yanıtı
KRD; kolorektal distansiyon

Gastrointestinal organlardan sadece kolorektal bölgenin distansiyonu değil, mide/duodenum gibi organlar ile mesane/uterus gibi genitoüriner sistem organlarının distansiyonu ile de viseral ağrı modeli uygulanabilir (214, 215, 216).

Kolorektal distansiyon sırasında eksternal abdominal kasların kasılması ile sonuçlanan viseromotor refleksi; beyin sapı seviyesi, servikal 1. ve torakal 6. omur seviyesinden kesilen deneklerde inhibe olurken, daha üst seviyede (midkollikular) kesilen (deserebre edilen) deneklerde inhibe olmamıştır (217).

Bu da viseromotor refleksin beyin sapı ve omurilik seviyesinde modüle edildiğini düşündürmektedir.

2.6. ANTİDEPRESAN İLAÇLAR ve ANALJEZİK/ANTİNOSİSEPTİF ÖZELLİKLERİ

Depresyon tedavisinde kullanılan antidepresan ilaçlar kimyasal yapılarına ya da etki mekanizmalarına göre sınıflandırılırlar (tablo I, tablo II). Antidepresan ilaçların etki mekanizmasının temelinde monoamin hipotezi rol oynasa da günümüzde monoamin hipotezinin yanı sıra nöroplastisite kavramı da etkilidir (218, 219). Monoamin hipotezine göre antidepresan ilaçlar serotonin ve noradrenalin başta olmak üzere bazı nörotransmitterlerin nöronal kavşakta geri alınımını engelleyerek buradaki transmitter miktarının artmasını sağlamaktadır. Nöroplastisite hipotezine göre de antidepresan ilaçlar beyinde dentrit ve sinaps gibi nöronal yapılarda yapısal değişikliklere neden olmaktadır. Genelde antidepresanlar benzer etkinliğe sahipken güvenlik ve yan etki profilleri bakımından farklılık gösterirler. Antidepresan etkiler 2-3 haftalık bir periyot sonrası ortaya çıkar. Antidepresanların temel etkilerinin yanı sıra ciddi yan etkilerinin olması değişik nörotransmitter sistemler üzerindeki etkilerine bağlıdır.

Tablo I: Antidepresanların Yapısal Sınıflaması

UNİSİKLLİKLER	BİSİKLLİKLER	TRİSİKLLİKLER	TETRASİKLLİKLER
Bupropion	Viloksazin,	İmipramin	Mianserin
Reboksetin	Sitalopram,	Amitriptilin	Mirtazepin
Fluoksetin	Sertralin,	Doksepin	Maprotilin
Nefazodon	Nomifensin,	Paroksetin	
Fluvoksamin	Paroksetin,	Klomipramin	
Venlafaksin	Trazodon	Desipramin	
Milnasipran	Sitalopram,	Protriptilin	
	Sertralin,	Nortriptilin	
	Nomifensin,	Opipramol	
	Paroksetin	Amoksapin	
		Tianeptin	

Tablo II : Antidepresanların Etki Düzenine Göre Sınıflandırılması

MONOAMİNOKSİDAZ İNHİBİTÖRLERİ (MAOI)	MONOAMİN GERİ ALIM İNHİBİTÖRLERİ		
A) Seçici Olmayan ve Geridönüşsüz	Trisiklik Antidepresanlar	Serotonin ve Noradrenalin Gerialım İnhibitörleri (SNRI)	Selektif Serotonin Gerialım İnhibitörleri (SSRI)
İproniazid	İmipramin	Venlafaksin	Fluoksetin
İzokarboksazid	Desipramin	Duloksetin	Femoksetin
Tranilsipromin	Klomipramin	Milnasipran	Fluvoksamin
Fenelzin	Amitriptilin	Serotonin-2 Antagonist ve Gerialım İnhibitörleri	Paroksetin
B) Seçici Olan ve Geridönüşsüz (MAO-A)	Nortriptilin		Sitalopram
	Dothiepin		Eskitalopram
	Opipramol		Sertralin
	Klorgilin		Spesifik Noradrenalin Gerialım İnhibitörleri(NARI)
Vilazodon			
Braforamin	Maprotilin	Nefazodon	
Taloksaton			
Befloksaton	Reboksetin	Trazodon	
C) Seçici Olan ve Geridönüşsüz (MAO-B)	Viloksazin		
	Levoprotilin		
	Pargilin, Selegilin		
DOPAMİNERJİK ANTİDEPRESANLAR			
Noradrenalin Ve Dopamin Geri Alım İnhibtörü Bupropion, Nomifensin	Spesifik Dopamin Geri Alım İnhibitörü Amineptin	Dopamin Ve Serotonin Geri Alım İnhibitörü Minaprin	
α2-ADRENERJİK RESEPTÖR ANTAGONİSTLERİ			
Mianserin		İdozoksan	
NORADRENERJİK VE SPESİFİK SEROTONERJİK ANTİDEPRESAN (NASSA) (ALFA-2, SEROTONİN-2 VE SEROTONİN-3 ANTAGONİST) Mirtazapin			
KİSMİ 5-HT1A AGONİSTLERİ İpsapiron, Gepiron, Buspiron			
GABAMİMETİKLER Fengabin, Progabın			
BENZODİAZEPİNLER Alprazolam, Adinazolam, Zometapin			
SEROTONİN GERİ ALIM ARTIRICI ANTİDEPRESAN Tianeptin			

Antidepresan ilaçların deneysel ve klinik çalışmalarda analjezik etkileri uzun zamandan beri bilinmektedir. Termal, mekanik, kimyasal ve elektriksel ağrı modellerinde hem akut hem de kronik ağrıda analjezik etki gösterdikleri çok sayıda araştırmada bulunmuştur (Tablo III) (220).

Tablo III: Antidepresanların Deneysel Ağrı Modellerindeki Analjezik Etkileri

ANTİDEPRESAN	Deney Sayısı	Antinosiseptif Etki Gözlenen Sonuçlar
TRİSİKLIK ANTİDEPRESANLAR	126	Akut ağrı testleri: % 81 Kronik ağrı modelleri: % 95
SELEKTİF SEROTONİN GERİ ALIM İNHİBİTÖRLERİ	39	Akut ağrı testleri: % 44 Kronik ağrı modelleri: % 33
SELEKTİF NORADRENALİN GERİ ALIM İNHİBİTÖRLERİ	10	Akut ağrı testleri: % 100 Kronik ağrı modelleri: % 100
DİĞER	7	Akut ağrı testleri: % 100 Kronik ağrı modelleri: % 100

Klinikde ise nöropatik ağrılar (diabetik ağrı ve post herpetik nöralji v.b) ile irritable barsak sendromu, atipik fasial ağrı, fibromyalji, migren ve gerilim tipi baş ağrıları gibi çeşitli durumlarda antidepresanlar tek başına veya diğer ilaçlarla birlikte kombine uygulanmaktadır (221). Antidepresanların analjezik etkileri antidepresif etkiden bağımsızdır. Çünkü antidepresanların depresyon olmayan kişilerde de analjezik etki göstermeleri, analjezik dozlarının depresyon tedavisinde kullanılan dozlardan daha düşük olması, analjezik etkinin kronik kullanımda meydana geldiği gibi akut kullanımda da ortaya çıkması analjezik ve antidepresan etkinin farklı olabileceğini göstermektedir (222, 223). Antidepresanların analjezik etkileri kendi aralarında da antidepresif etkiden bağımsız olarak farklılık gösterebilmektedir. Antidepresif etkisi daha güçlü olan bir antidepresan daha zayıf analjezik etkili olabilmektedir (224). 5-HT1A

reseptör antagonisti WAY-100635'in (i.p) farelerde venlafaksin (i.p) analjezik etkisini hot plate testde artırdığı ancak antidepresan etkisini azalttığı belirtilmiştir (294). Bu da antidepresanların antidepresif etkilerinden bağımsız olarak intrinsik analjezik etkilerinin olduğunu düşündürmektedir.

Trisiklik antidepresanlar insanlarda depresyon için klinik bulgu olmasa bile kronik baş ağrıları, fasyal ağrılar, servikal ağrılar, bel ağrıları, ağrılı diyabetik nöropati, kanser ağrıları ile romatoid artritte olduğu gibi inflamatuvar eklem ağrıları gibi çeşitli ağrı durumlarında kullanılmaktadırlar (225, 226, 227). Trisiklik antidepresanların termal (hot plate/tail flick), mekanik (pençe basınç testi), kimyasal (formalin test) ve elektriksel ağrı modellerinde analjezik etkili oldukları çok sayıda yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (4, 5) Trisiklik antidepresanların özellikle kimyasal (195) ve nöropatik ağrı tedavisinde diğer antidepresan ilaçlara göre daha güçlü analjezik etki gösterdiği belirtilmiştir (228, 229).

Selektif serotonin geri alım inhibitörleri (SSRI) yapısal olarak heterojen özellikte olup 1980'li yıllarda ortaya çıkmış ve 1990'lı yıllardan itibaren yeni bir sınıf antidepresan olarak kullanıma girmiştir. Özellikle yan etki profillerinin daha düşük olması nedeni ile selektif serotonin geri alım inhibitörleri (SSRI) kronik ağrı tedavisinde trisiklik antidepresanlara alternatif olarak tercih edilmektedir (7, 8). SSRI'ların aynı zamanda deneysel ağrı modellerinde analjezik etkinlikleri gösterilmiştir (9, 10). SSRI'ların da trisiklikler gibi kimyasal ağrı modellerinde daha güçlü analjezik etki meydana getirdikleri belirtilmiştir (230). Genelde nöropatik ağrı ile termal ve kimyasal ağrı modellerinde trisiklik antidepresanların analjezik etkilerinin SSRI'lardan daha güçlü olduğu belirtilmiştir (230, 231). Ancak SSRI'larla yapılan ağrı modeli çalışmaları daha az sayıdadır (11).

Sonuç olarak, ağrı tedavisinde ideal tek bir ilaç ve ilaç grubu yoktur. Gerek güncel olarak kullanılan analjezik ilaçların gerekse analjezik etkinliği araştırılan ve henüz deneysel süreçte olan maddelerin analjezik etki mekanizmalarının daha net ortaya konulması önemlidir. Yan etki profilleri daha

düşük, analjezik etkileri ise daha güçlü olan ilaçlar hem rasyonel ağrı farmakoterapisine hem de hekim-hasta uyuncuna daha pozitif katkı sağlayacaktır.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi. Deney Hayvanı Etik Kurulu'nun 07.12.2006 tarih ve HEK/197 sayılı kararı ile onay alındıktan sonra deneylere başlandı.

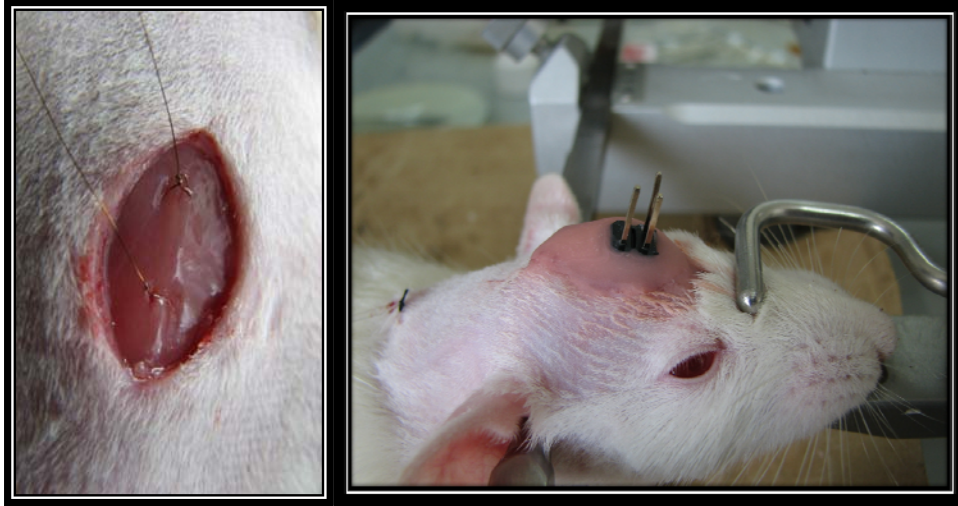
3.1. HAYVANLAR

Çalışmada, Ondokuz Mayıs Üniversitesi araştırma laboratuvarlarında yetiştirilen, ağırlıkları 250-300 gram arasında değişen, standart yem ve çeşme suyu ile beslenen, sıcaklığı sabit (22 ± 1 °C), 12 saat gece 12 saat gündüz ortamında tutulan, erkek Sprague Dawley sıçanlar kullanıldı. Çalışmalar Helsinki Deklarasyonu'na ve "Uluslararası Ağrı Araştırmaları Derneği (IAPS)"nin öngördüğü etik kurallara uygun olarak gerçekleştirildi.

3.2. CERRAHİ YÖNTEM

3.2.1. ELEKTROTLARIN YERLEŞTİRİLMESİ

Sıçanlar ketamin (100 mg/kg, i.p) ve klorpromazin (0.75 mg/kg, i.p) ile anesteziye edildi. Orta abdominal sol lateral bölgede, çapraz cilt kesisini takiben künt diseksiyon yapılarak sol eksternal abdominal kas görünür hale getirildi. Elektromiyografik (EMG) aktivitenin kaydedilmesi amacıyla 80 µm çapındaki iki adet bipolar nikrom elektrot (Driver-Harris, Cedex, Fransa) eksternal oblik kasa inguinal ligamanın hemen üstünde kalacak şekilde, 0.5-1 cm aralıklarla paralel şekilde yerleştirildi. Elektrotun diğer ucu cilt altından ilerletilerek sıçan ense kısmına ağızlaştırıldı ve kafatası kemiğine implante edilen vidaların arasında kalacak şekilde akrilik jel ile dondurulup sabitlendi (şekil 14).



A

B

Şekil 14: (A), Elektrotların Karın İçi Görünümü (B), Elektrotların Kafatasına Sabitlenmiş Görünümü

3.2.2. İNTRAVENÖZ KALICI KATETERİN YERLEŞTİRİLMESİ

İntravenöz uygulamalar için, 20 G ve 50 G (Gauge) polietilen (PE) tüplerden (Becton Dickinson, ABD) hazırlanan kateterler kullanıldı. Cerrahi hazırlıktan sonra sol ön boyun cilt kısmı; orta hattın yaklaşık 0.5 cm sağından başlanarak yaklaşık 1-1.5 cm aşağıya kadar insize edildi. Cilt altı dokular künt diseksiyonla açılarak eksternal juguler venin görünmesi sağlandı. Etrafını saran bağ dokusu ve diğer yapılar temizlenerek jugüler venin yaklaşık 1-1.5 cm'lik kısmının izole edilmesi sağlandı. Hazırlanan katater juguler ven içinde ilerletilerek sabitlendi. Kateterin diğer ucu cilt altından ilerletilerek dışarıya açıldı (şekil 15).



Şekil 15: Sol eksternal jugüler vene kalıcı kateterin yerleştirilmesi

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

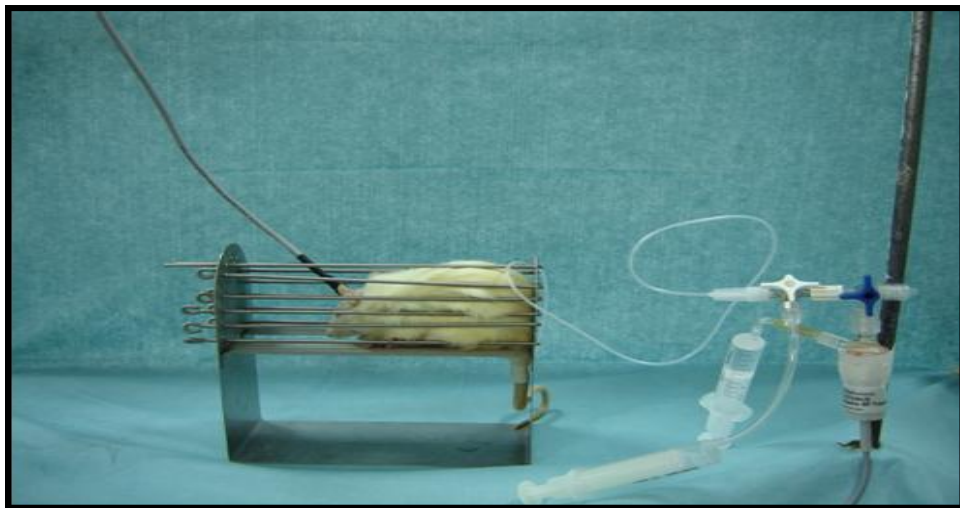
3.3. KOLOREKTAL DİSTANSİYON OLUŞTURULMASI

Şıçanlarda kolorektal distansiyon (KRD) oluşturmak için KRD aparatı hazırlandı. Esnek plastik tüpün (tygon) 6-7 cm uzunluğundaki uç kısmına prezervatif balon geçirildi. Balonun uç ve son kısmı iple sıkıca tüpe bağlanıp hava sızması önlendi (şekil 16).



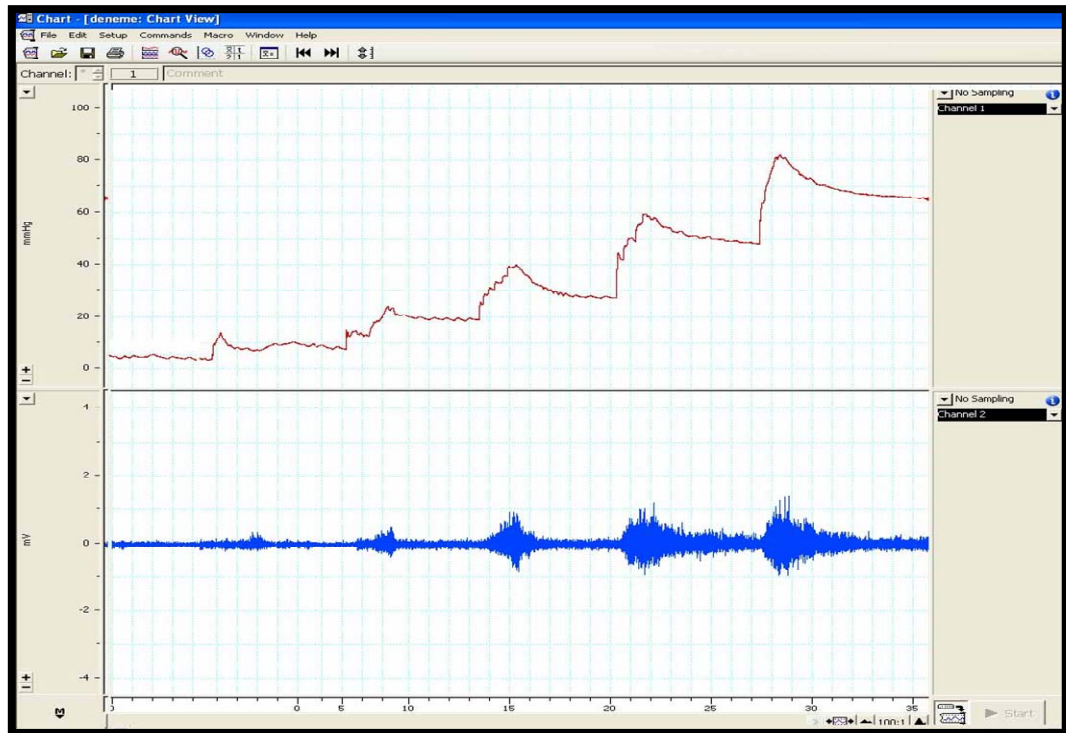
Şekil 16: Kolorektal aparat

KRD aparatı şıçanların rektum ve çıkan kolonuna yerleştirildi ve rektumdan kaymasının engellenmesi için tüpün anüsden dışarıda kalan kısmı şıçan kuyruğuna flaster ile sabitlendi. Sıçanlar bolman kafeslere uyanık halde konuldu ve deney boyunca kafeslerde bekletildi. KRD aparatının diğer ucu bir T borusu yardımıyla basıncı sağlamak için kullanılan enjektöre ve basınç değişikliklerini görmek için bridge amplifier'e (ML221, ADInstruments, Australia) bağlı "basınç transduser'ine (MLT380, ADInstruments, Australia) bağlandı (şekil 17).



Şekil 17: Deney düzeneği

Viseromotor yanıt eksternal oblik kasların kontraksiyonunu kapsamakta olup, kontraksiyon sırasında, eksternal oblik kasa yerleştirilen elektrotlardan elde edilen EMG aktivitesi ile değerlendirildi. EMG sinyalleri Powerlab veri kazanım sistemine (ML870/P, PowerLab 8/30, ADInstruments, Australia) bağlı bioamplifier (ML132, ADInstruments, Australia) ile amplifiye edildi. Veri kazanım software (Chart v 5.02, ADInstruments, Australia) kullanılarak basınç değişikliklerini takip eden ilk 5 saniyedeki EMG sinyallerinin integralleri alındı. KRD için basamaklı (staircase) distansiyon modeli kullanıldı. Bunun için, balon hava ile şişirilerek intrakolonik basınç 0 mmHg'den başlayacak şekilde her 10-20 saniyede bir artırılarak 80 saniyelik süreçte 10, 20, 40, 60 ve 80 mmHg'ye çıkarıldı. Maksimum viseromotor yanıt 80 mmHg'de gözlemlendiği için EMG aktivitesi bu basıncın ilk 5 saniyelik kısmı alınarak hesaplandı ve veri analizi için kullanıldı (şekil 18).



Şekil 18: Basamaklı distansiyon modelinde distansiyona karşı gelişen EMG yanıtları

Deney günü ilaçların uygulanmasından önce ortalama bazal yanıtı tespit etmek için 5'er dakikalık aralıklarla 5 kez KRD uygulandı. İlaçların uygulamasından önce 5'er dakika arayla uygulanan 5 KRD serisindeki 80 mmHg'lık basınca karşı oluşan EMG yanıtlarının ortalaması % 100 viseromotor yanıt (0. dakika) olarak kabul edildi. İlaçların uygulanmasından sonra KRD 5., 15., 30., 60., 90. ve 120. dakikalarda tekrarlandı. Antagonistler, antidepresan ilaçlardan veya SF' ten 10 dakika önce uygulandı.

3.4. KULLANILAN İLAÇLAR

Bütün ilaçlar deney günü serum fizyolojik sıvı içerisinde çözündürülerek taze hazırlandı ve 1ml/kg vücut ağırlığı olacak şekilde intravenöz (i.v) uygulandı.

- 1. Fluoksetin hidroklorür** (Abdi İbrahim İlaç Sanayi ve Ticaret A.Ş, İstanbul, Türkiye): Seçici serotonin geri alım inhibitörü
- 2. Sertralin hidrobromür** (Pfizer İlaçları Ltd.Şti., İstanbul, Türkiye): Seçici serotonin geri alım inhibitörü
- 3. İmipramin hidroklorür** (Abdi İbrahim İlaç Sanayi ve Ticaret A.Ş, İstanbul, Türkiye) : Trisiklik antidepresan

Opioderjik Sistemin Araştırılması Amacıyla;

- 1. Morfin hidroklorid** (Galen Co., İstanbul, Türkiye): Seçici olmayan opioid reseptör agonisti
- 2. Nalokson hidroklorid** (Tocris Cookson, St. Louis, MO, USA): Seçici olmayan opioid reseptör antagonisti

Adrenerjik Sistemin Araştırılması Amacıyla;

- 1. Yohimbin hidroklorid** (Tocris Cookson, St. Louis, MO, USA): Seçici alfa-2 adrenerjik reseptör antagonisti
- 2. BRL-44408 maleat** (Sigma, St. Louis, MO, USA) : Seçici alfa-2a adrenerjik reseptör antagonisti
- 3. İmiloksan hidroklorid** (Sigma, St. Louis, MO, USA): Seçici alfa-2b adrenerjik reseptör antagonisti
- 4. MK-912** (Sigma, St. Louis, MO, USA): Seçici alfa-2c adrenerjik reseptör antagonisti

Serotonerjik Sistemin Araştırılması Amacıyla;

- 1. Ketanserin** (Sigma, St. Louis, MO, USA): Seçici 5-HT2 reseptör antagonisti
- 2. Ondansetron** (Sigma, St. Louis, MO, USA): Seçici 5-HT3 reseptör antagonisti
- 3. GR-113808** (Sigma, St. Louis, MO, USA): Seçici 5-HT4 reseptör antagonisti

Kolinerjik Sistemin Araştırılması Amacıyla;

- 1. Atropin** (Sigma, St. Louis, MO, USA): Seçici olmayan muskarinik reseptör antagonisti
- 2. Mekamilamin** (Sigma, St. Louis, MO, USA): Seçici olmayan nikotinik reseptör antagonisti

Nitrerjik Sistemin Araştırılması Amacıyla;

- 1. L-NAME** (Sigma, St. Louis, MO, USA): Nitrik oksit sentaz inhibitörü
- 2. D-NAME** (Sigma, St. Louis, MO, USA): L-NAME' in inaktif izoformu
- 3. L-arginin** (Sigma, St. Louis, MO, USA): Nitrik oksit donörü
- 4. D-arginin** (Sigma, St. Louis, MO, USA): L-arginin'in inaktif izoformu

3.5. DENEY GRUPLARI

3.5.1. TRİSİKLIK ANTİDEPRESANLARIN VE SSRI'LARIN KRD İLE OLUŞTURULAN VİSERAL AĞRI MODELİNDE ANTİNOSİSEPTİF ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

3.5.1.1. Fluoksetinin KRD ile Oluşturulan Viseral Ağrı Modelinde Antinosiseptif Etkisinin Araştırılması

Kontrol VMY'larının alınmasından sonra fluoksetin (5, 10 ve 20 mg/kg, iv) uygulandı. Enjeksiyondan sonra her bir grup için 5., 15., 30., 60., 90. ve 120. dakikalarda kolorektal distansiyon uygulanarak fluoksetinin viseromotor yanıtlar üzerine etkisi değerlendirildi.

3.5.1.2. Sertralinin KRD ile Oluşturulan Viseral Ağrı Modelinde Antinosiseptif Etkisinin Araştırılması

Kontrol VMY'larının alınmasından sonra sertralin (5, 10 ve 20 mg/kg, iv) uygulandı. Enjeksiyondan sonra her bir grup için 5., 15., 30., 60., 90. ve 120. dakikalarda kolorektal distansiyon uygulanarak sertralinin viseromotor yanıtlar üzerine etkisi değerlendirildi.

3.5.1.3. İmipraminin KRD ile Oluşturulan Viseral Ağrı Modelinde Antinosiseptif Etkisinin Araştırılması

Kontrol VMY'larının alınmasından sonra imipramin (5, 10 ve 20 mg/kg, iv) uygulandı. Enjeksiyondan sonra her bir grup için 5., 15., 30., 60., 90. ve 120. dakikalarda kolorektal distansiyon uygulanarak imipraminin viseromotor yanıtlar üzerine etkisi değerlendirildi.

3.5.2. İMİPRAMİNİN KRD İLE OLUŞTURULAN VİSERAL AĞRI MODELİNDEKİ ANTİNOSİSEPTİF ETKİSİNDE OPIOİDERJİK RESEPTÖRLERİN ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI

Nalokson (1 mg/kg, i.v), imipramin (20 mg/kg, i.v)'den 10 dakika önce uygulandı. İmipramin (20 mg/kg, i.v) uygulandıktan sonra 5.,15., 30., 60., 90. ve 120. dakikalarda KRD uygulanarak oluşan viseromotor yanıtlar değerlendirildi. Nalokson için morfinin antinosiseptif etkisini engelleyen dozu seçildi.

3.5.3. İMİPRAMİNİN KRD İLE OLUŞTURULAN VİSERAL AĞRI MODELİNDEKİ ANTİNOSİSEPTİF ETKİSİNDE ALFA-2 ADRENERJİK RESEPTÖR ALT TİPLERİNİN ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI

3.5.3.1. Alfa-2 Adrenerjik Reseptörlerin Rolünün Araştırılması

Seçici alfa-2 adrenerjik reseptör antagonisti **yohimbin** (1 mg/kg, iv), imipramin (20 mg/kg, iv)'den 10 dakika önce uygulandı. İmipramin (20 mg/kg, iv) uygulandıktan sonra 5.,15., 30., 60., 90. ve 120. dakikalarda KRD uygulanarak oluşan viseromotor yanıtlar değerlendirildi.

3.5.3.2. Alfa-2a Adrenerjik Reseptörlerin Rolünün Araştırılması

Seçici alfa-2a adrenerjik reseptör antagonisti **BRL-44408** (1 mg/kg, i.v), imipramin (20 mg/kg, iv)'den 10 dakika önce uygulandı. İmipramin (20 mg/kg, iv) uygulandıktan sonra 5.,15., 30., 60., 90. ve 120. dakikalarda KRD uygulanarak oluşan viseromotor yanıtlar değerlendirildi.

3.5.3.3. Alfa-2b Adrenerjik Reseptörlerin Rolünün Araştırılması

Seçici alfa-2b adrenerjik reseptör antagonisti **imiloksan** (1 mg/kg, i.v), imipramin (20 mg/kg, iv)'den 10 dakika önce uygulandı. İmipramin (20 mg/kg,

iv) uygulandıktan sonra 5.,15., 30., 60., 90. ve 120. dakikalarda KRD uygulanarak oluşan viseromotor yanıtlar değerlendirildi.

3.5.3.4. Alfa-2c Adrenerjik Reseptörlerin Rolünün Araştırılması

Seçici alfa-2c adrenerjik reseptör antagonisti **MK-912** (30 ug/kg, i.v), imipramin (20 mg/kg, iv)'den 10 dakika önce uygulandı. İmipramin (20 mg/kg, iv) uygulandıktan sonra 5.,15., 30., 60., 90. ve 120. dakikalarda KRD uygulanarak oluşan viseromotor yanıtlar değerlendirildi.

3.5.4. İMİPRAMİNİN KRD İLE OLUŞTURULAN VİSERAL AĞRI MODELİNDEKİ ANTİNOSİSEPTİF ETKİSİNDE SEROTONERJİK RESEPTÖR ALT TİPLERİNİN ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI

3.5.4.1. 5-HT2 Reseptörlerin Rolünün Araştırılması

Seçici 5-HT2 reseptör antagonisti **ketanserin** (1 mg/kg, i.v), imipramin (20 mg/kg, iv)'den 10 dakika önce uygulandı. İmipramin (20 mg/kg, iv) uygulandıktan sonra 5.,15., 30., 60., 90. ve 120. dakikalarda KRD uygulanarak oluşan viseromotor yanıtlar değerlendirildi.

3.5.4.2. 5-HT3 Reseptörlerin Rolünün Araştırılması

Seçici 5-HT3 reseptör antagonisti **ondansetron** (1 mg/kg, i.v), imipramin (20 mg/kg, iv)'den 10 dakika önce uygulandı. İmipramin (20 mg/kg, iv) uygulandıktan sonra 5.,15., 30., 60., 90. ve 120. dakikalarda KRD uygulanarak oluşan viseromotor yanıtlar değerlendirildi.

3.5.4.3. 5-HT4 Reseptörlerin Rolünün Araştırılması

Seçici 5-HT4 reseptör antagonisti **GR-113808** (1 mg/kg, i.v), imipramin (20 mg/kg, iv)'den 10 dakika önce uygulandı. İmipramin(20 mg/kg, iv) uygulandıktan sonra 5.,15., 30., 60., 90. ve 120. dakikalarda KRD uygulanarak oluşan viseromotor yanıtlar değerlendirildi.

3.5.5 İMİPRAMİNİN KRD İLE OLUŞTURULAN VİSERAL AĞRI MODELİNDEKİ ANTİNOSESİPTİF ETKİSİNDE KOLİNERJİK MUSKARİNİK VE NİKOTİNİK RESEPTÖRLERİN ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI

3.5.5.1. Muskarinik Reseptörlerin Rolünün Araştırılması

Seçici olmayan muskarinik reseptör antagonisti **atropin** (1 mg/kg, i.v), imipramin (20 mg/kg, iv)'den 10 dakika önce uygulandı. İmipramin (20 mg/kg, iv) uygulandıktan sonra 5.,15., 30., 60., 90. ve 120. dakikalarda KRD uygulanarak oluşan viseromotor yanıtlar değerlendirildi.

3.5.5.2. Nikotinik Reseptörlerin Rolünün Araştırılması

Seçici olmayan nikotinik reseptör antagonisti **mekamilamin** (1 mg/kg, i.v), imipramin (20 mg/kg, iv)'den 10 dakika önce uygulandı. İmipramin (20 mg/kg, iv) uygulandıktan sonra 5.,15., 30., 60., 90. ve 120. dakikalarda KRD uygulanarak oluşan viseromotor yanıtlar değerlendirildi.

3.5.6. İMİPRAMİNİN KRD İLE OLUŞTURULAN VİSERAL AĞRI MODELİNDEKİ ANTİNOSESİPTİF ETKİSİNDE NİTRERJİK SİSTEMİN ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI

Nitrik oksit sentaz inhibitörü **L-NAME** (10 ve 20 mg/kg, i.v) ve aktif olmayan izomeri **D-NAME** (20 mg/kg, i.v) imipramin (20 mg/kg, iv)'den 10 dakika önce uygulandı. İmipramin (20 mg/kg, iv) uygulandıktan sonra 5.,15., 30., 60., 90. ve 120. dakikalarda KRD uygulanarak oluşan viseromotor yanıtlar değerlendirildi

Nitrik oksit donörü **L-arginin** (300 ve 600 mg/kg, i.v) ve aktif olmayan izomeri **D-arginin** (600 mg/kg, i.v), imipramin (20 mg/kg, iv)'den 10 dakika önce uygulandı. İmipramin (20 mg/kg, iv) uygulandıktan sonra 5.,15., 30., 60., 90. ve 120. dakikalarda KRD uygulanarak oluşan viseromotor yanıtlar değerlendirildi.

3.6. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Her bir grup için 7-12 sıçan kullanılan çalışmada, tüm değerler ortalama $\pm$ standart hata şeklinde verildi. KRD'ye karşılık gelen viseromotor yanıt (VMY) % kontrol olarak ifade edildi. 80 mm Hg'deki VMY (ilaç uygulamadan); %100 olarak kabul edildi. Ayrıca uygulanan bir ilacın VMY üzerindeki etkilerinin analizi için eğri altında kalan alan (EAA), MS.Excel programı kullanılarak hesaplandı. EAA, ilaç uygulamadan sonraki VMY ile bazal VMY arasındaki değişikliklere göre, ikizkenar yamuk kuralınca zamana karşı çizilerek hesaplandı ($EAA = \Sigma \text{Yanıt} \times 120 \text{ dk.}$)

İstatistiksel analizler GraphPad InStat (v3.06, GraphPad Software, San Diego, CA, USA) yazılımı kullanılarak yapıldı. Verilerin normal dağılımı kontrol edildikten sonra grupların karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi (ANOVA), post-hoc test için de Tukey-Kramer testi kullanıldı. $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. İstatistiksel değerlendirme EAA üzerinden yapıldı.

4. BULGULAR

4.1. TRİSİKLIK ANTİDEPRESANLARIN VE SSRI'LARIN KRD İLE OLUŞTURULAN VİSERAL AĞRI MODELİNDE VİSEROMOTOR YANITLAR ÜZERİNE ETKİSİ

4.1.1. Fluoksetinin KRD İle Oluşturulan Viseral Ağrı Modelinde Viseromotor Yanıtlar Üzerine Etkisi

Fluoksetin (5, 10 ve 20 mg/kg, i.v) uygulandığında viseromotor yanıtları kontrol grubuna göre anlamlı olarak değiştirmede ($p>0.05$).

4.1.2. Sertralinin KRD İle Oluşturulan Viseral Ağrı Modelinde Viseromotor Yanıtlar Üzerine Etkisi

Sertralin (5, 10 ve 20 mg/kg, i.v) uygulandığında viseromotor yanıtları kontrol grubuna göre anlamlı olarak değiştirmede ($p>0.05$).

4.1.3. İmipraminin KRD İle Oluşturulan Viseral Ağrı Modelinde Viseromotor Yanıtlar Üzerine Etkisi

İmipramin (5 mg/kg, i.v) uygulandığında kontrol grubuna göre antinosiseptif etki göstermezken ($p>0.05$); 10, 20 ve 40 mg/kg, i.v uygulandığında kontrol grubuna göre anlamlı antinosiseptif etki gösterdi ($p<0.001$) (şekil 19).

4.2.İMİPRAMİNİN KRD İLE OLUŞTURULAN VİSERAL AĞRI MODELİNDEKİ ANTİNOSİSEPTİF ETKİSİNDE OPIOİDERJİK RESEPTÖRLERİN ROLÜ

Morfin (5 mg/kg, i.v), kontrol grubuna göre viseromotor yanıtları anlamlı azaltarak antinosiseptif etki gösterdi ($p<0.001$). Nalokson (1 mg/kg, i.v) morfinin antinosiseptif etkisini engelledi ($p<0.001$). Naloksonun morfinin antinosiseptif

etkisini engellediği dozu (1 mg/kg, i.v), imipraminin (20 mg/kg, i.v) antinosiseptif etkisinde herhangi bir değişiklik meydana getirmedi ($p>0.05$) (şekil 20). Nalokson (1 mg/kg, i.v) tek başına uygulandığında herhangi bir etki göstermedi (tablo IV).

4.3. İMİPRAMİNİN KRĐ İLE OLUŞTURULAN VİSERAL AĞRI MODELİNDEKİ ANTİNOSEPTİF ETKİSİNDE ALFA-2 ADRENERJİK RESEPTÖR ALT TİPLERİNİN ROLÜ

4.3.1. Alfa-2 Adrenerjik Reseptörlerin Rolü

Yohimbin (1 mg/kg, i.v), imipraminin (20 mg/kg, i.v) antinosiseptif etkisini anlamlı olarak engelledi ($p<0.01$) (şekil 21). Yohimbin (1 mg/kg, i.v) tek başına uygulandığında herhangi bir etki meydana getirmedi (tablo IV).

4.3.2. Alfa-2a Adrenerjik Reseptörlerin Rolü

BRL-44408 (1mg/kg, i.v), imipraminin (20 mg/kg, i.v) antinosiseptif etkisini anlamlı olarak engelledi ($p<0.05$, imipramin grubuna göre) (şekil 21). BRL-44408 (1 mg/kg, i.v) tek başına uygulandığında herhangi bir etki meydana getirmedi (tablo IV).

4.3.3. Alfa-2b Adrenerjik Reseptörlerin Rolü

İmiloksan (1 mg/kg, i.v), imipraminin (20 mg/kg, i.v) antinosiseptif etkisinde herhangi bir değişiklik meydana getirmedi ($p>0.05$) (şekil 21). İmiloksan (1 mg/kg, i.v) tek başına uygulandığında herhangi bir etki meydana getirmedi (tablo IV).

4.3.4. Alfa-2c Adrenerjik Reseptörlerin Rolü

MK-912 (30 ug/kg, i.v), imipraminin (20 mg/kg, i.v) antinosiseptif etkisini anlamlı olarak engelledi ($p<0.01$, imipramin grubuna göre) (şekil 21). MK-912

(30 ug/kg, i.v) tek başına uygulandığında herhangi bir etki meydana getirmedi (tablo IV).

4.4. İMİPRAMİNİN KRD İLE OLUŞTURULAN VİSERAL AĞRI MODELİNDEKİ ANTİNOSİSEPTİF ETKİSİNDE SEROTONERJİK RESEPTÖR ALT TİPLERİNİN ROLÜ

4.4.1. 5-HT2 Reseptörlerin Rolü

Ketanserin (0.5, 1 ve 2 mg/kg, i.v) uygulandığında imipraminin (20 mg/kg, i.v) analjezik etkisini artırdı (sırayla $p<0.01$, $p<0.05$ ve $p<0.05$) (şekil 22). Ketanserin (0.5, 1 ve 2 mg/kg, i.v) tek başına uygulandığında anlamlı antinosiseptif etki gösterdi ($p<0.05$, $p<0.01$, $p<0.01$) (tablo IV).

4.4.2. 5-HT3 Reseptörlerin Rolü

Ondansetron (0.5, 1 ve 2 mg/kg, i.v) imipraminin (20 mg/kg, i.v) antinosiseptif etkisinde herhangi bir değişiklik meydana getirmedi ($p>0.05$) (şekil 23). Ondansetron (0.5 ve 1 ve mg/kg, i.v) dozlarında uygulandığında etki göstermezken, 2 mg/kg, i.v dozunda tek başına uygulandığında antinosiseptif etki gösterdi ($p<0.05$, tablo IV).

4.4.3. 5-HT4 Reseptörlerin Rolü

GR-113808 (1 mg/kg, i.v), imipraminin (20 mg/kg, i.v) antinosiseptif etkisini anlamlı olarak artırdı ($p<0.001$) (şekil 24). GR-113808 (1 mg/kg, i.v) tek başına uygulandığında herhangi bir etki göstermedi (tablo IV).

4.5. İMİPRAMİNİN KRD İLE OLUŞTURULAN VİSERAL AĞRI MODELİNDEKİ ANTİNOSİSEPTİF ETKİSİNDE KOLİNERJİK MUSKARİNİK VE NİKOTİNİK RESEPTÖRLERİN ROLÜ

4.5.1. Muskarinik Reseptörlerin Rolü

Atropin (1, 2 ve 4 mg/kg, i.v), imipraminin (20 mg/kg, i.v) antinosiseptif etkisinde herhangi bir değişiklik meydana getirmedi ($p>0.05$) (şekil 25). Atropin (1, 2 ve 4 mg/kg, i.v) tek başına uygulandığında herhangi bir etki göstermedi (tablo IV).

4.5.2. Nikotinik Reseptörlerin Rolü

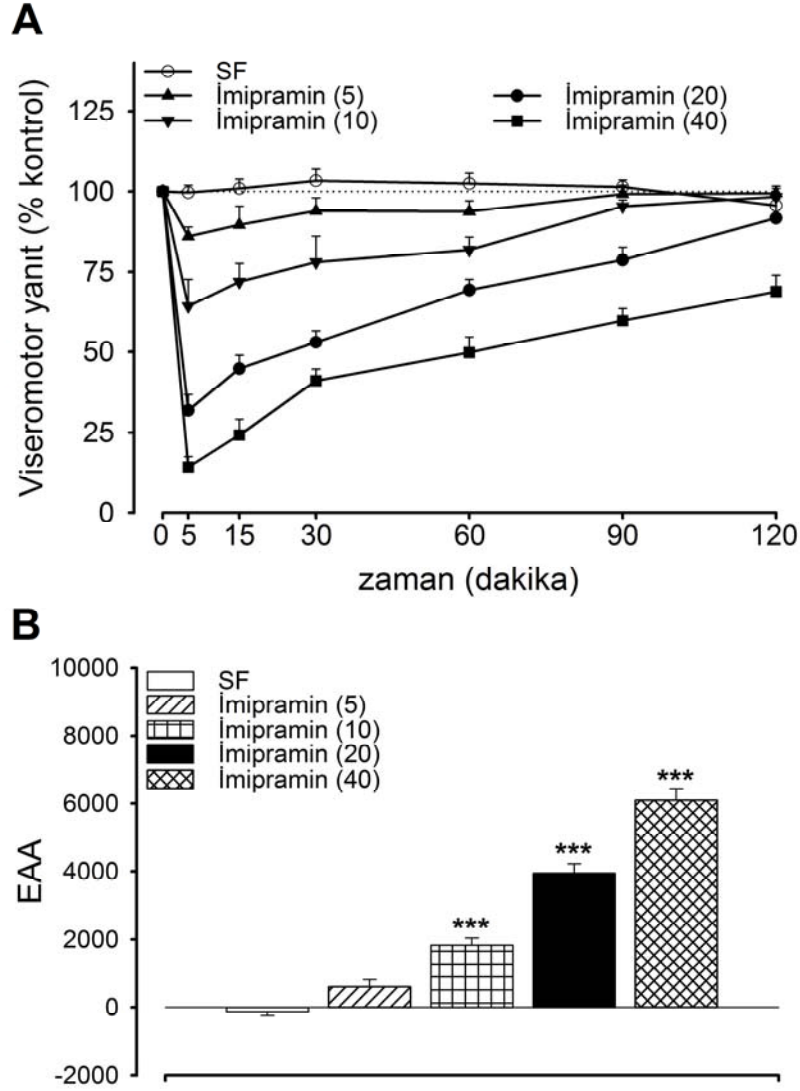
Mekamilamin 0.25 mg/kg, i.v uygulandığında imipraminin (20 mg/kg, i.v) antinosiseptif etkisinde herhangi bir değişiklik meydana getirmedi ($p>0.05$, imipramin grubuna göre). Ancak mekamilamin 0.5 ve 1 mg/kg, i.v uygulandığında, imipraminin (20 mg/kg, i.v) analjezik etkisini artırdı ($p<0.05$, imipramin grubuna göre) (şekil 26). Mekamilamin (0.25 mg/kg, i.v) tek başına uygulandığında herhangi bir etki göstermezken, 0.5 ve 1 mg/kg, i.v dozunda uygulandığında antinosiseptif etki gösterdi (tablo IV).

4.6. İMİPRAMİNİN KRD İLE OLUŞTURULAN VİSERAL AĞRI MODELİNDEKİ ANTİNOSİSEPTİF ETKİSİNDE NİTRERJİK SİSTEMİN ROLÜ

L-NAME (10 ve 20 mg/kg, i.v) ve D-NAME (10 ve 20 mg/kg, i.v) tek başlarına uygulandıklarında herhangi bir etki göstermedi (tablo IV). L-NAME (10 ve 20 mg/kg, i.v), imipraminin (20 mg/kg, i.v) antinosiseptif etkisini anlamlı olarak artırırken ($p<0.001$), D-NAME (20 mg/kg, i.v), herhangi bir değişiklik oluşturmadi ($p>0.05$) (şekil 27).

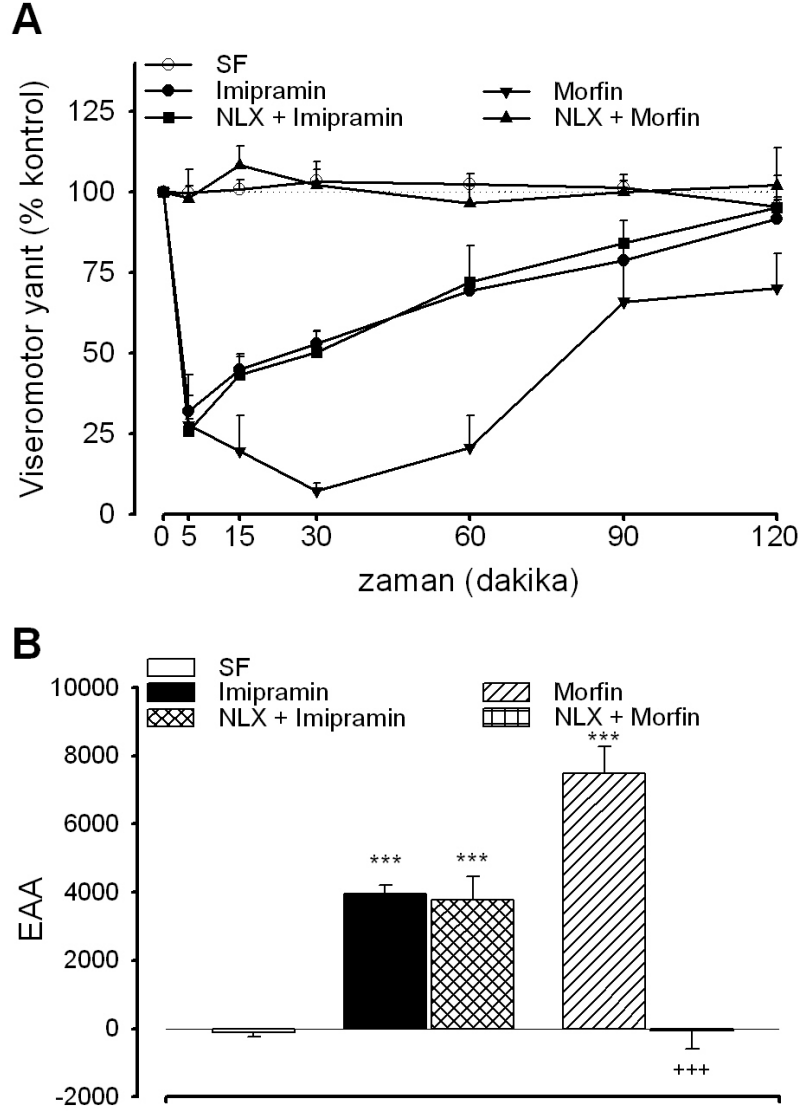
L-Arginin (300 ve 600 mg/kg, i.v) ve D-Arginin (600 mg/kg, i.v) tek başına uygulandıklarında herhangi bir etki göstermedi (tablo IV). L-Arginin (300

ve 600 mg/kg, i.v), imipraminin (20 mg/kg, i.v) antinosisseptif etkisini anlamlı olarak engellerken ($p<0.001$), D-Arginin (600 mg/kg, i.v) herhangi bir değişiklik meydana getirmedi ($p>0.05$) (şekil 28).



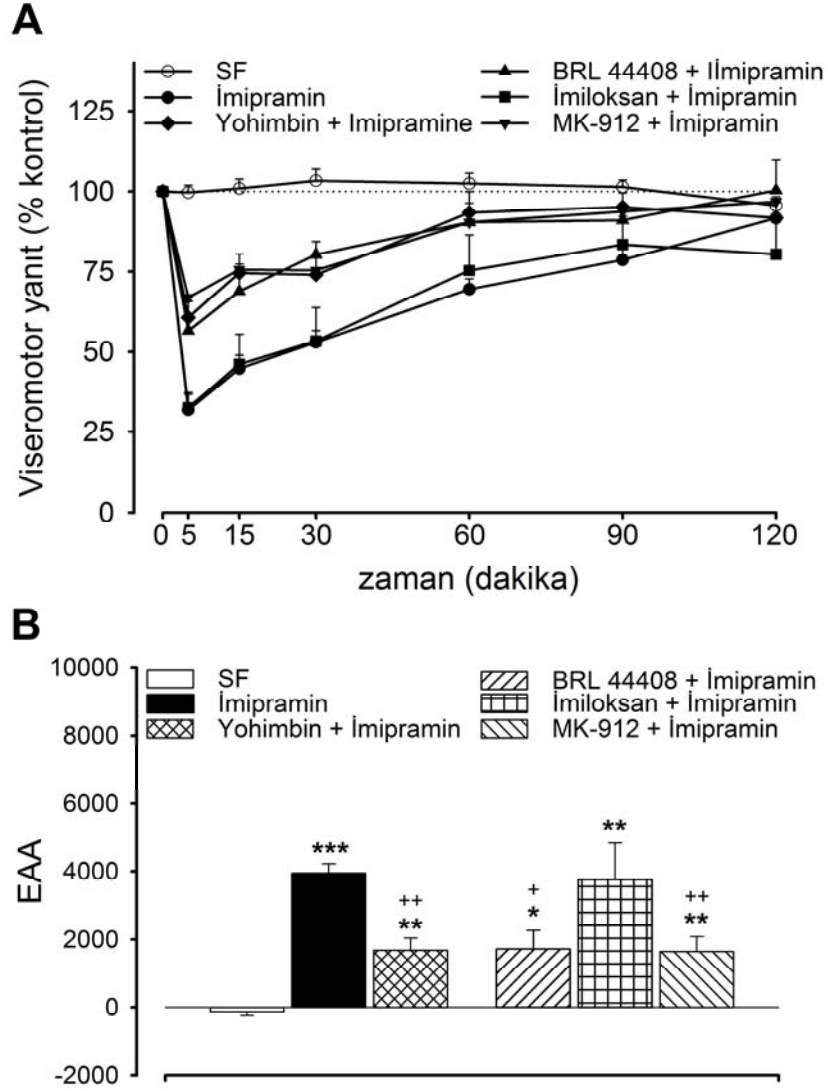
Şekil 19. A: Farklı Dozlarda Uygulanan İmipraminin Viseromotor Yanıtı Etkisi, **B:** Zamana Bağlı Viseral Yanıttaki Değişikliklerin Eğri Altında Kalan Alan (EAA) Değerleri

*** $p < 0.001$ SF Grubuna Göre

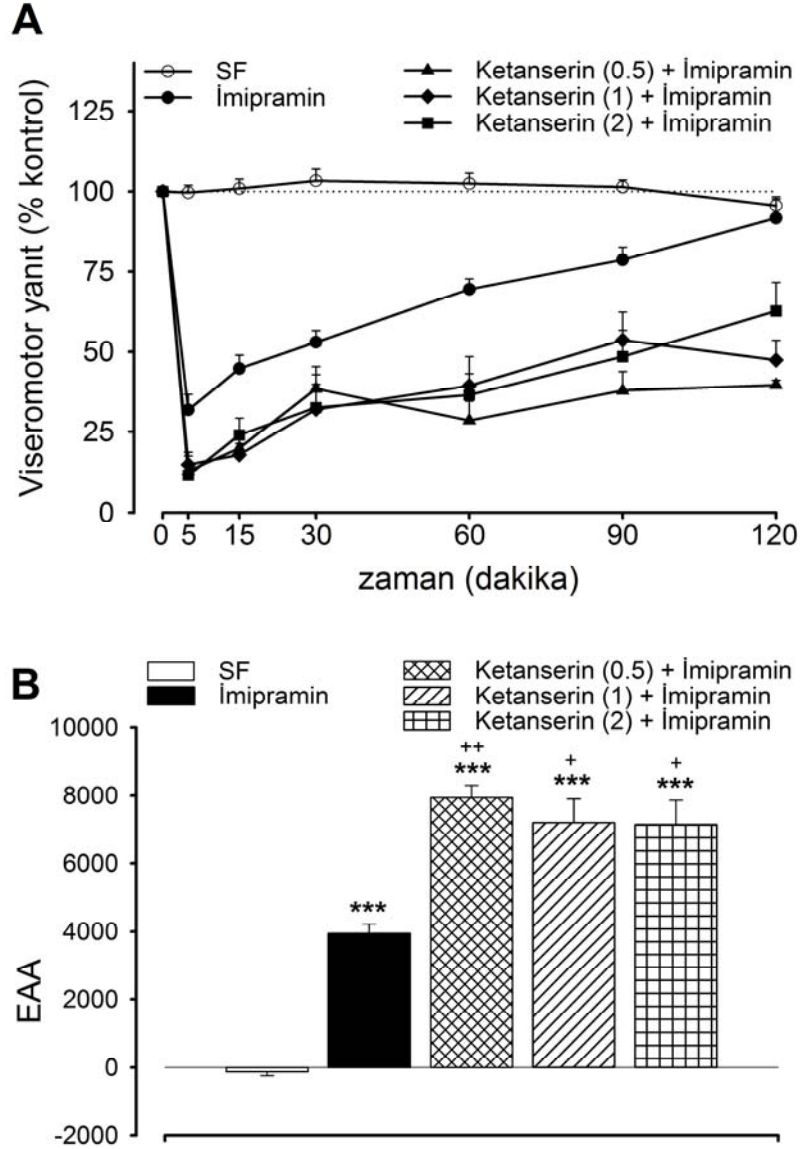


Şekil 20. A: Naloksonun İmipramin Analjezisine Etkisi,
B: Zamana Bağlı Viseral Yanıttaki Değişikliklerin Eğri Altında Kalan Alan (EAA) Değerleri

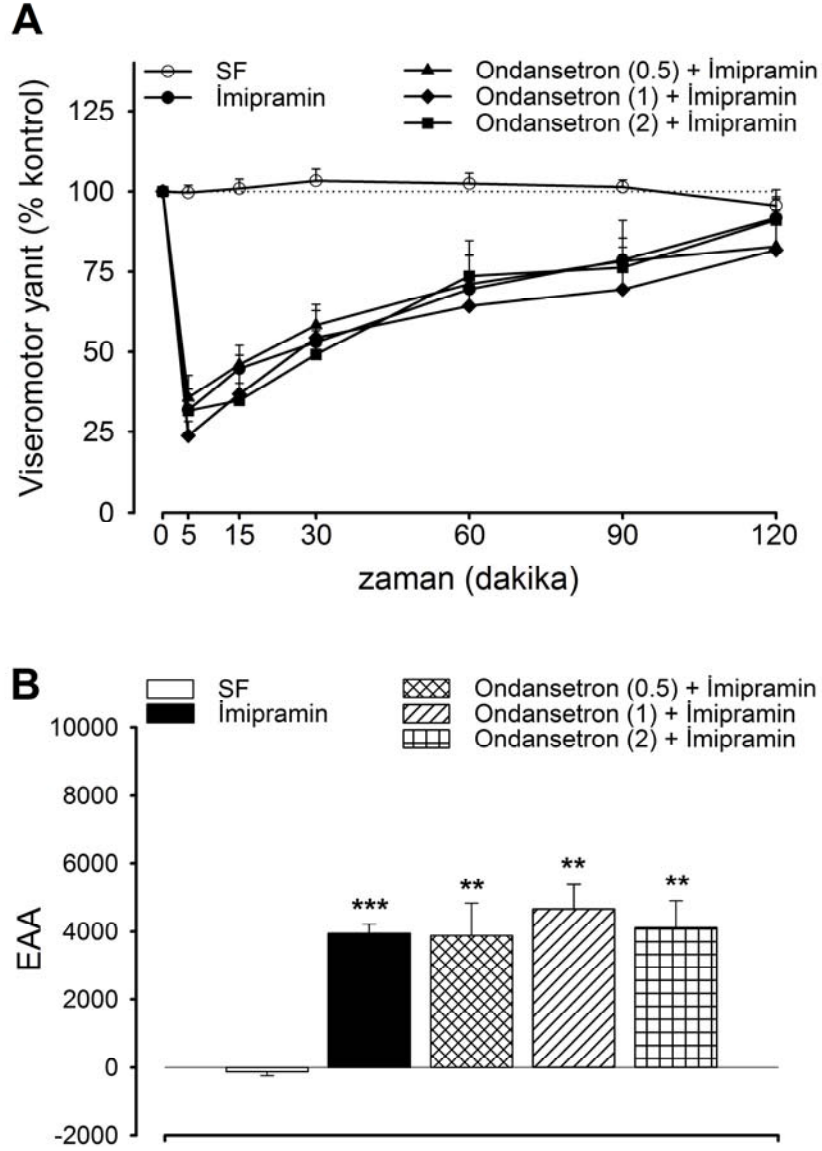
*** $p < 0.001$ SF Grubuna Göre, +++ $p < 0.001$ Morfin Grubuna Göre



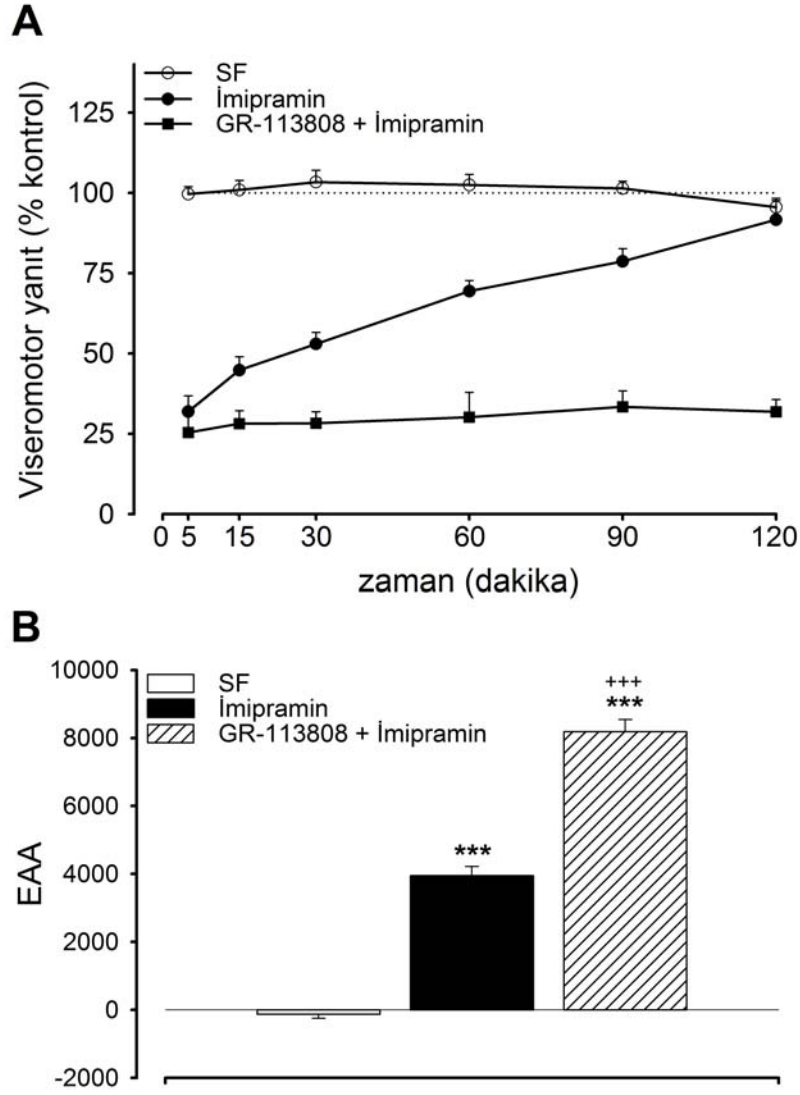
Şekil 21. A: Yohimbin, BRL-44408, İmiloksan ve MK-912'nin İmipramin Analjezisine Etkisi, **B:** Zamana Bağlı Viseral Yanıttaki Değişikliklerin Eğri Altında Kalan Alan (EAA) Değerleri *** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$ SF Grubuna Göre; + $p < 0.05$ ++ $p < 0.01$ İmipramin Grubuna Göre



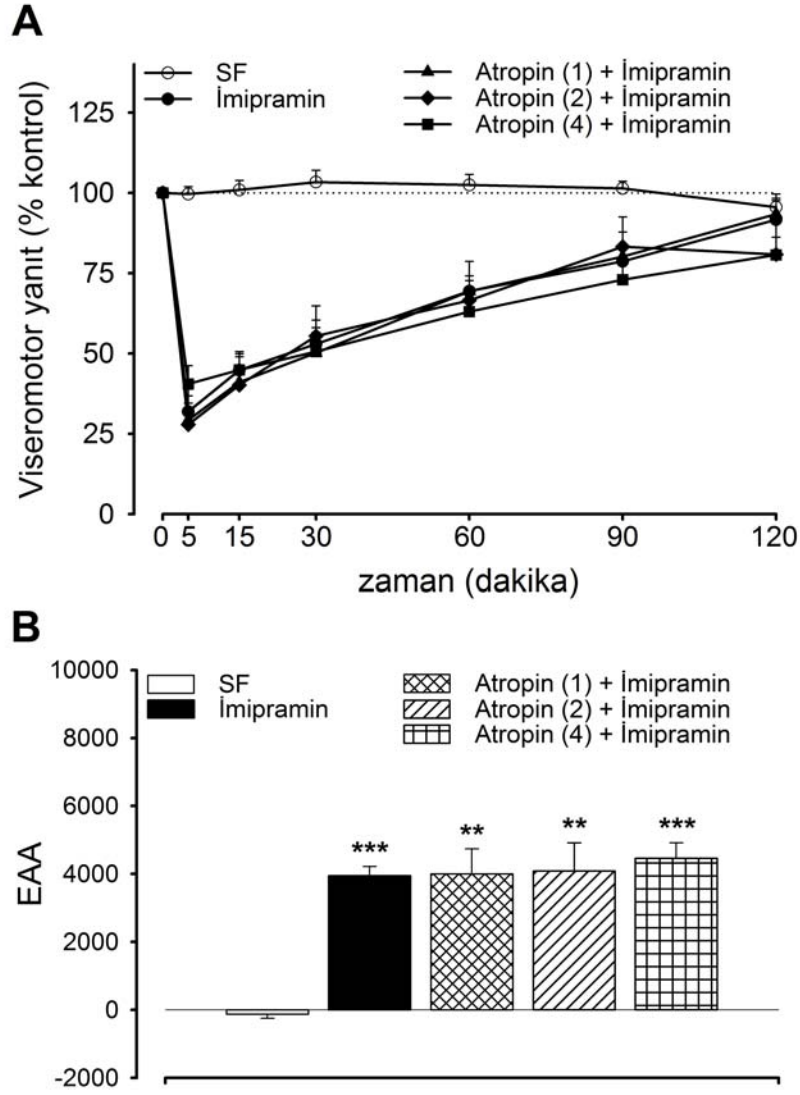
Şekil 22. A: Ketanserinin İmipramin Analjezisine Etkisi, **B:** Zamana Bağlı Viseral Yanıttaki Değişikliklerin Eğri Altında Kalan Alan (EAA) Değerleri
 *** $p < 0.001$ SF Grubuna Göre; + $p < 0.05$ ++ $p < 0.01$ İmipramin Grubuna Göre



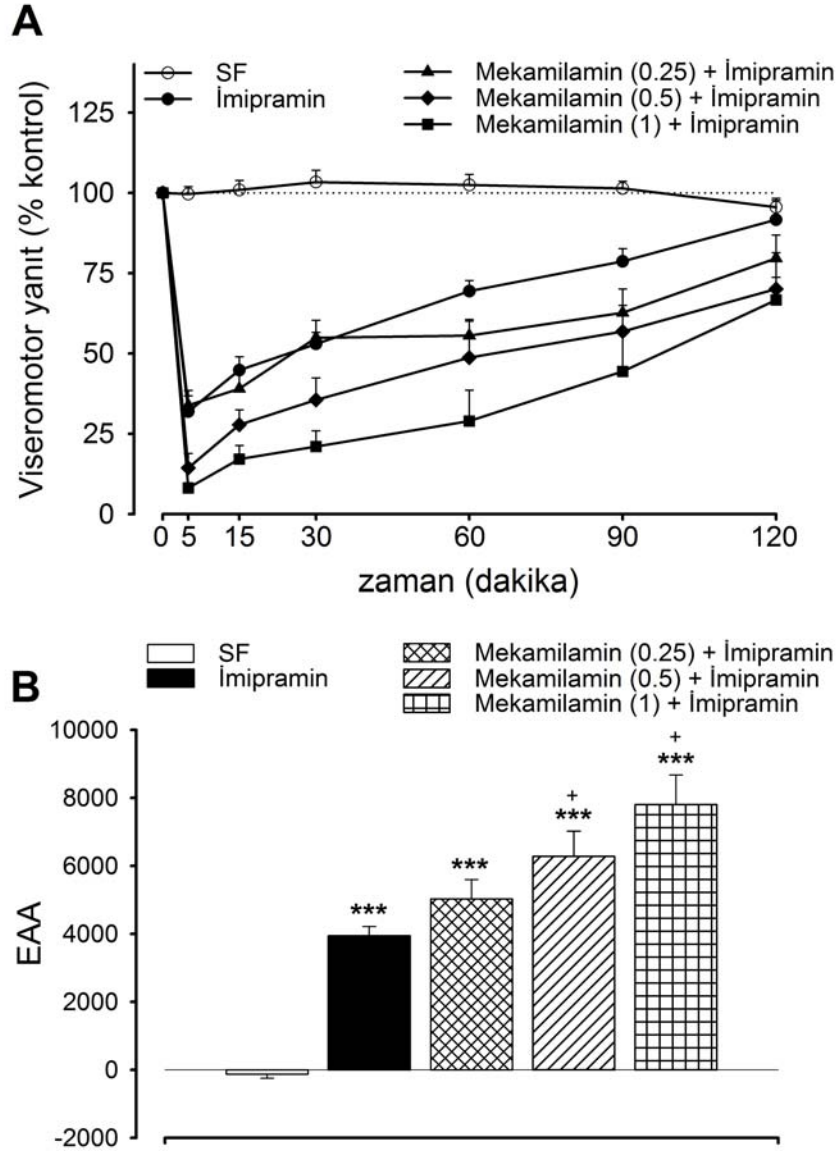
Şekil 23. A: Ondansetronun İmipramin Analjezisine Etkisi, **B:** Zamana Bağlı Visceral Yanıttaki Değişikliklerin Eğri Altında Kalan Alan (EAA) Değerleri
 ** $p < 0.01$ *** $p < 0.001$ SF Grubuna Göre



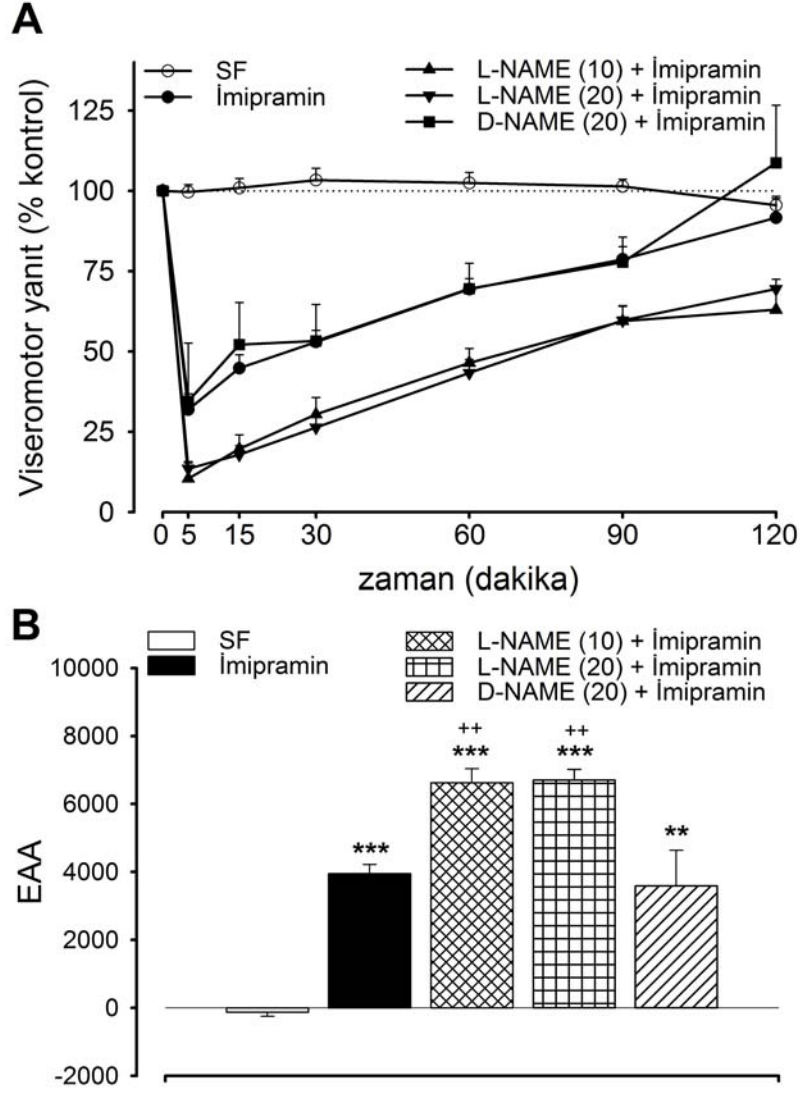
Şekil 24. A: GR-113808'in İmipramin Analjezisine Etkisi, **B:** Zamana Bağlı Viseral Yanıtdaki Değişikliklerin Eğri Altında Kalan Alan (EAA) Değerleri
 *** $p < 0.001$ SF Grubuna Göre; +++ $p < 0.001$ İmipramin Grubuna Göre



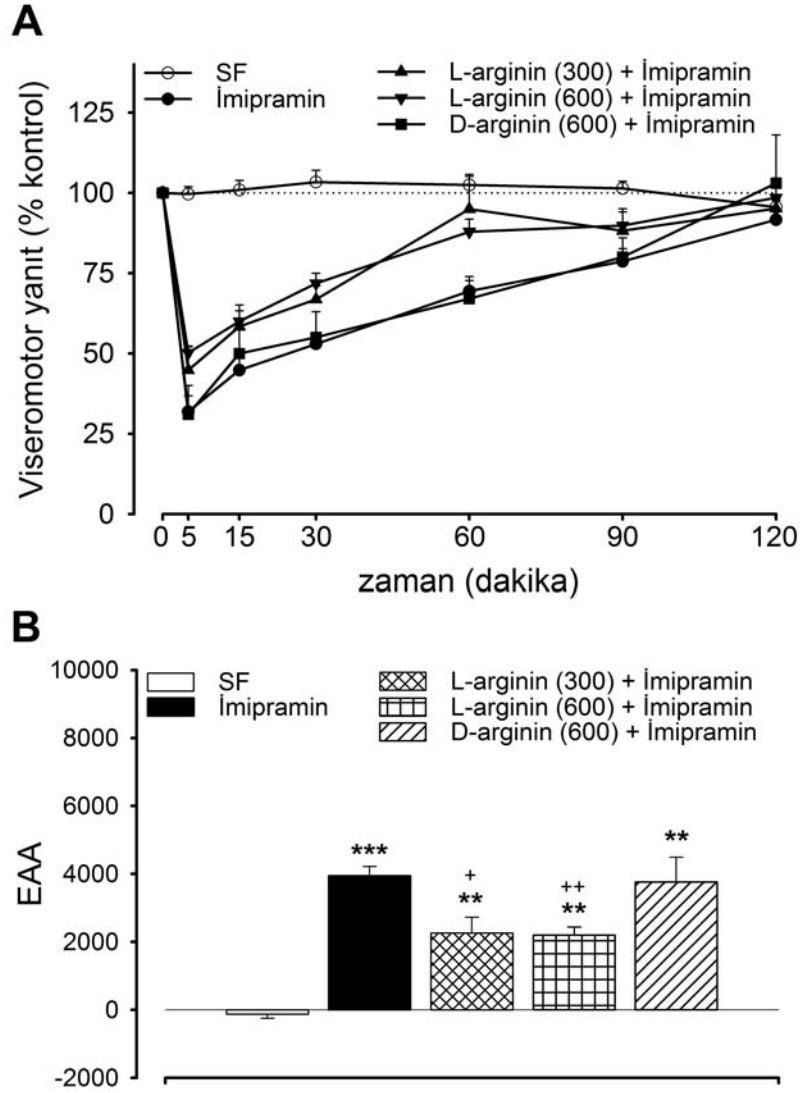
Şekil 25. A: Atropinin İmipramin Analjezisine Etkisi, **B:** Zamana Bağlı Viseral Yanıtdaki Değişikliklerin Eğri Altında Kalan Alan (EAA) Değerleri *** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$ SF Grubuna Göre



Şekil 26. A: Mekamilaminin İmipramin Analjezisine Etkisi, **B:** Zamana Bağlı Viseral Yanıtdaki Değişikliklerin Eğri Altında Kalan Alan (EAA) Değerleri
 *** $p < 0.001$ SF Grubuna Göre; + $p < 0.05$ İmipramin Grubuna Göre



Şekil 27. A: L-NAME ve D-NAME'in İmipramin Analjezisine Etkisi, B: Zamana Bağlı Viseral Yanıtdaki Değişikliklerin Eğri Altında Kalan Alan (EAA) Değerleri *** $p < 0.001$ SF Grubuna göre; ++ $p < 0.01$ İmipramin Grubuna Göre



Şekil 28. A: L-Arginin ve D-Arginin'in İmipramin Analjezisine Etkisi, **B:** Zamana Bağlı Viseral Yanıtdaki Değişikliklerin Eğri Altında Kalan Alan (EAA) Değerleri ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ SF Grubuna göre; + $p < 0.05$, ++ $p < 0.01$ İmipramin Grubuna Göre

Tablo IV: Uygulanan Agonist Ve Antagonistlerin EAA Üzerine Etkileri

Madde (Dozu)	EAA (EĞRİ ALTI ALAN)
SF (0.1 ml/100 g)	-129 ± 119
Nalokson (1 mg/kg)	-455 ± 213
Yohimbin (1 mg/kg)	-716 ± 658
BRL 44408 (1 mg/kg)	-201 ± 840
İmiloksan (1 mg/kg)	-623 ± 551
MK-912 (30 µg/kg)	-427 ± 681
L-NAME (10 mg/kg)	-552 ± 634
L-NAME (20 mg/kg)	-418 ± 564
D-NAME (20 mg/kg)	-102 ± 312
L-arginin (300 mg/kg)	263 ± 747
L-arginin (600 mg/kg)	-98 ± 276
D-arginin (600 mg/kg)	-208 ± 316
Atropin (1 mg/kg)	457 ± 863
Atropin (2 mg/kg)	623 ± 544
Atropin (4 mg/kg)	423 ± 398
Mekamilamin (0.25 mg/kg)	890 ± 732
Mekamilamin (0.5 mg/kg)	1366 ± 566*
Mekamilamin (1 mg/kg)	1891 ± 895*
Ondansetron (0.5 mg/kg)	606 ± 491
Ondansetron (1 mg/kg)	123 ± 469
Ondansetron (2 mg/kg)	1112 ± 533*
Ketanserine (0.5 mg/kg)	2245 ± 922*
Ketanserine (1 mg/kg)	3554 ± 624**
Ketanserine (2 mg/kg)	4741 ± 843**
GR-113808 (1 mg/kg)	65 ± 845

*p<0.05, **p<0.01; SF Uygulanmış Kontrol Grubuna Göre

5.TARTIŞMA

Bu çalışmada bir trisiklik antidepresan olan imipramin 10, 20 ve 40 mg/kg, i.v uygulandığında KRD ile oluşturulan viseral ağrı cevaplarını engellerken, seçici serotonin geri alım inhibitörlerinden (SSRI) sertralin ve fluoksetin 5, 10 ve 20 mg/kg, i.v uygulandıklarında herhangi bir etki göstermedi. İmipraminin analjezik etkisi alfa-2 adrenerjik reseptör antagonisti yohimbin, seçici alfa-2a adrenerjik reseptör antagonisti BRL-44408, seçici alfa-2c adrenerjik reseptör antagonisti MK-912 ve nitrik oksit donörü L-arginin ile engellendi. Seçici olmayan opioid reseptör agonisti nalokson, seçici alfa-2b adrenerjik reseptör antagonisti imiloksan, seçici 5-HT3 reseptör antagonisti ondansetron, seçici olmayan muskarinik reseptör antagonisti atropin imipraminin analjezik etkisini engellemedi. İmipraminin analjezik etkisini seçici 5-HT4 reseptör antagonisti GR-113808 (i.v) ve nitrik oksit sentaz inhibitörü L-NAME (i.v) anlamlı olarak artırdı. Çalışmamızda ketanserin, mekamilamin ve ondansetron hariç i.v uygulanan tüm antagonistler tek başına bir etki göstermedi. Ketanserin, ondansetron ve mekamilamin tek başına i.v uygulandığında analjezik etki gösterdi. Ketanserin ve mekamilamin imipramin ile beraber uygulandığında ise imipraminin analjezik etkisinde artma gözlemlendi.

Trisiklik antidepresanların analjezik etkinliği daha çok hot plate ve tail flick gibi somatik (kutanöz) ağrı modelleri ile karın kıvrınma testi gibi viseral kimyasal ağrı modelinde araştırılmıştır. Ancak somatik ve viseral ağrı mekanizmalarının farklılık gösterdiği bilinmektedir. Viseral ve kutaneal reseptörler arasında önemli farklılıklar vardır. Viserlerdeki reseptör sayısı cilttekine göre çok daha azdır ve bu reseptörler somatik ağrıyı ileten reseptörlere göre farklı bir aktivasyon şekli gösterirler. Örneğin, mezenterin, uterus serviksini veya diğer viseral organların kesilmesi ve yakılması ağrı oluşturmazken traksiyon, distansiyon, viseral organdaki kimyasal hasar ve iskemi viseral ağrıya neden olur. Bu ağrı genellikle yaygındır, zor lokalize edilir (18).

Viseral ağrıyı değerlendiren karın kıvrınma testi her ne kadar viseral ağrı modeli olarak bilinse de sadece kimyasal hasarla gelişen viseral ağrıyı taklit ettiğinden barsak, mesane ve uterus gibi içi boş viseral organların distansiyonu sonucu gelişen viseral ağrıyı yansıtmamaktadır. Bu yüzden sıçanlarda kolorektal bölgenin distansiyonu gibi distansiyon oluşturularak yapılan viseral ağrı çalışmaları viseral ağrı mekanizmasının daha net anlaşılmasına katkıda bulunmaktadır.

Opioiderjik sistemin trisiklik antidepresanlarla etkileşimine dair somatik ağrı modellerinde yapılan çok sayıda çalışma vardır. Sıçanlarda klomipramin (232, 230), desipramin (230) ve metapraminin (232) hot plate testde analjezik etki gösterdiği ve klomipramin ile metapraminin analjezik etkisinin naloksonla engellendiği belirtilmiştir (232). Amitriptilinin farelerde hot plate ve tail-flick testlerinde morfinin analjezik etkisini potansiyalize ettiği belirtilmiştir (233). Naloksonun farelerde kimyasal (asetik asit) ve termal ağrı testlerinde (hot plate) imipraminin analjezik etkisini engellediği belirtilmiştir (234). Isenberg ve Cicero, sıçanlarda naloksonun (i.p) hot plate testde imipraminin analjezik etkisini kısmi olarak önlediğini, ayrıca imipraminin sıçan beyinde nalokson bağlanma yerlerini inhibe ettiğini göstermişlerdir (235).

Kolorektal distansiyonla indüklenen viseral ağrı modelinde ise, trisiklik antidepresanların opioiderjik sistemle etkileşimine dair yapılan çalışmalar sınırlı sayıdadır. Su ve Gebhart yaptıkları bir çalışmada, sıçanlarda trisiklik antidepresanlardan imipramin, klomipramin ve desipraminin intraarteryel (i.a) uygulandığında antinosiseptif etki gösterdiğini ve meydana gelen analjezik etkisinin naloksonla (i.a) kısmi engellendiğini belirtmiştir. Bu çalışmada serotonin reseptör antagonisti metergolin ve noradrenalin reseptör antagonisti fentolamin trisikliklerin analjezik etkisini engellememiştir (12).

Çalışmamızda imipramin (20 mg/kg, i.v) viseromotor yanıtları anlamlı olarak azaltmıştır. Ancak nalokson (1 mg/kg, i.v) imipraminin analjezik etkisinde herhangi bir değişiklik meydana getirmemiştir. Bu sonuç, imipraminin KRD oluşturularak analjezik etki mekanizmasının araştırıldığı Gebhart ve

ark.'nın yaptıkları çalışmanın bulguları ile benzerlik göstermemektedir. Kullanılan denek, cins ve türleri ile ilaç uygulanış yollarının farklı olması, bu farklılığın bir nedeni olabilir. Ancak kutanöz ağrı modelleri ve karın kıvranma testi kullanılarak yapılan çalışmalarda, trisiklik antidepresanların analjezik etki mekanizmasında opioidergik sistemin etkisine dair elde edilen bulgular da çelişki gösterebilmektedir. Charla ve arkadaşları farelerde amitriptilin (15 mg/kg, i.p) ve imipraminin (15 mg/kg, i.p) hot plate ve karın kıvranma testlerinde analjezik etkili olduğunu ancak naloksonun (1mg/kg, i.p) amitriptilin ve imipraminin analjezik etkisini engellemediğini belirtmişlerdir (236). Ancak Takahashi ve ark.nın farelerde hot plate ve karın kıvranma testini kullanarak yaptıkları çalışmada, naloksonun imipraminin analjezik etkisini engellediği gösterilmiştir (234). Sierralta ve ark. da farelerde imipraminin karın kıvranma testinde analjezik etki gösterdiğini ve bu etkinin nalokson ve naltrekson (1 mg/kg ve 10 mg/kg, i.p) ile engellenmediğini ileri sürmüşlerdir (237). Isenberg ve Cicero ise sıçanlarda hot plate testde naloksonun (2 mg/kg, i.p) imipraminin analjezik etkisini kısmi olarak engellediğini (30 mg/kg, i.v) belirtmiştir (235).

Ağrı mekanizmasında serotonerjik sistemle trisiklik antidepresanların etkileşimlerine dair çalışmalar daha çok somatik ağrı modellerinde yapılmıştır. Nortriptilinin sıçanlarda formalin testde (238), desipraminin de sıçanlarda hem hot plate hem de formalin testlerde analjezik etki gösterdiği belirtilmiştir (5). 5-HT₂ reseptör antagonisti ketanserin nortriptilin ve desipraminin analjezik etkisini her iki testde de engellemiştir (4, 230). Amitriptilinin hot plate testde analjezik etkili olduğunu belirten çeşitli çalışmalarda (233, 236, 239), amitriptilin analjezisinin santral ve periferik amin pompa inhibitörü rezerpin (i.p) (236) ve serotonin sentez blokörü olan pCPA ile engellendiği belirtilmiştir (239). Farelerde tail flick testinde seçici olmayan serotonin reseptör antagonisti metiserjid amitriptilinin analjezik etkisini engellemiştir. Farelerde hot plate testde santral ve periferik amin pompa inhibitörü rezerpinin (i.p), imipraminin analjezik etkisini engellediği ileri sürülmüştür (236). Sıçanlarda hot plate testde imipraminin etkisi akut ve kronik uygulamada değerlendirilmiş, analjezik etki

sadece akut uygulamada gözlenmiştir. Analjezik etkinin serotonin sentez blokörü pCPA ile engellendiği belirtilmiştir (239). Farelerde tail flick testinde seçici olmayan serotonin reseptör antagonisti metiserjid imipraminin analjezik etkisini engellemiştir (240). Bu bulgular serotonerjik sistemin trisiklik antidepresanların analjezik etkisinde rol aldığını göstermektedir.

Serotonin, özellikle hasarlanan ve inflame olan dokularda; trombositlerden, bazofillerden ve mast hücrelerden salınan ana inflamatuvar mediyatörlerden biridir. Periferde serotonin inflamatuvar süreçte aljezik mediyatör olarak rol almaktadır (192, 241). Serotoninin santral ve periferik sinir sisteminin çeşitli seviyelerinde farklı reseptörler aracılığıyla hem nosiseptif hem de antinosiseptif etkilere aracılık ettiği belirtilmiştir (68, 242, 243, 192, 244). Barsak mukozal epitel hücrelerinde 5-HT₂ reseptörlerinin (245, 246, 247) ve 5-HT₃ reseptörlerinin (68, 248) varlığı farelerde ve sıçanlarda gösterilmiştir. 5-HT₄ reseptörlerinin de sıçanlarda barsak hareketlerini düzenlediği bildirilmiştir (249, 292).

Serotoninin barsaklardaki belirtilen bu etkilerine rağmen, kolorektal distansiyonla oluşturulan ağrı modelinde gerek trisiklik antidepresanlarla gerekse diğer grup antidepresan ilaçlarla yapılan çalışmalar sınırlıdır. İmipramin, desipramin ve klomipraminin bu modelde analjezik etki gösterdiği bir çalışmada, seçici olmayan serotonin reseptör antagonisti metergolin meydana gelen analjezik etkiyi engellememiştir (12). Yine SSRI'lerden sitalopram kolorektal distansiyonla oluşturulan viseral ağrıyı sıçanlarda engellememiştir (250). Trisiklik olmayan fakat hem serotonin hem de noradrenalin geri alınımını inhibe eden milnasipran da sıçanlarda kolorektal distansiyonla oluşturulan viseral ağrı modelinde ağrı eşiğini değiştirmemiştir (13, 251). Sadece bir çalışmada SSRI'lerden paroksetinin viseromotor yanıtları azaltarak kolorektal distansiyonla oluşturulan ağrı modelinde analjezik etki meydana getirdiği belirtilirken, analjezik etki mekanizması araştırılmamıştır (252). Çalışmamızda da KRD ile oluşturulan viseral ağrı modelinde fluoksetin ve sertralin herhangi bir analjezik etki oluşturmamıştır. Bu sonuçlar KRD ile oluşturulan viseral ağrı modelinde

SSRI'ların etkisinin sınırlı olduğunu gösterirken, trisiklik antidepresanların belirgin bir analjezik etki oluşturduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda, 5-HT₄ reseptör antagonisti GR113808 (i.v) imipraminin analjezik etkisini artırmıştır. 5-HT₂ reseptör antagonisti ketanserin ise hem tek başına uygulandığında analjezik etki göstermiş hem de imipramin ile beraber uygulandığında analjezik etkide artma meydana gelmiştir. 5-HT₃ reseptör antagonisti ondansetron (i.v) tek başına uygulandığında analjezik etki göstermiş ancak imipraminin analjezik etkisinde herhangi bir etki oluşturmamıştır. Bu sonuç kolorektal distansiyonla indüklenen viseral ağrı modelinde, imipraminin analjezi mekanizmasına 5-HT₄ reseptörlerinin katıldığını göstermektedir. 5-HT₂ reseptörleri ise imipramin analjezisini engellemezken, 5-HT₃ reseptörleri imipramin analjezisinde rol almamaktadır.

Çalışmamızda ilginç olan bulgu, ketanserin (i.v) tek başına uygulandığında analjezik etki göstermesidir. Literatürde KRD ile oluşturulan viseral ağrı modelinde 5-HT₂ reseptörlerinin rolünün hem tek başına hem de imipraminle etkileşiminin araştırıldığı bir çalışma belirtilmemiştir. Ancak kutanöz ve diğer viseral ağrı modellerinde (karın kıvrınma), 5-HT₂ reseptörlerinin etkisi ve imipramin analjezi mekanizmasındaki rolü araştırılmıştır. Sıçanlarda subkutan (sistemik) uygulanan ketanserin (253) ve ritanserin (254) karın kıvrınma testinde (writhing) analjezik etki oluşturduğu belirtilmiştir. Bu iki çalışmadaki bulgu, çalışmamızda sistemik (i.v) uygulanan ketanserin etkisi ile uyumludur. Ayrıca Neri ve ark. yaptıkları bir çalışmada, insanlarda ketanserin plasebeye göre anal kanal basıncını anlamlı olarak azalttığını belirtmiştir (255). Elde ettiğimiz sonuç; KRD ile oluşturulan viseral ağrı modelinde 5-HT₂ reseptörlerinin viseral ağrı yollarında nosiseptif etkiye aracılık ettiğini göstermektedir, çünkü 5-HT₂ reseptörlerinin ketanserin ile bloklanması analjezik etki meydana getirmektedir. Sistemik (i.v) uygulanan ketanserin ile KRD ile oluşturulan viseral ağrı modelinde meydana gelen antinosiseptif etki mekanizmasının aydınlatılabilmesi için ek çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmamızda ketanserin ve imipramin birlikte uygulandığında imipraminin analjezik etkisinde artma olmuştur. Literatürde ketanserin herhangi bir ağrı modelinde imipraminin analjezik etkisini artırdığına dair bir bulguya rastlanılmamıştır. Dolayısıyla bulduğumuz bu sonuç bir ilktir. Otsuka ve ark.'nın formalin test ile yaptıkları somatik ağrı modelinde, ketanserin imipramin analjezisini engellemektedir. Bu çalışmada imipraminin sinaptik seviyede serotonin geri alımını inhibe ederek sinaptik aralıkta serotonin miktarını artırdığı ve sinaptik aralıkta artan serotoninin 5-HT₂ reseptörlerine bağlandığı zaman antinosisepsiyon yönünde bir etki meydana getirdiği savunulmuştur (230). Dolayısıyla imipramin ile sinaptik seviyede artış gösteren serotoninin ketanserin ile 5-HT₂ reseptörlerine bağlanmasının engellenerek, analjezik etkide azalma meydana geldiği iddia edilmiştir. Ancak bizim çalışmamızda ketanserin uygulanması imipramin analjezisini engellemeyip, aksine imipramin analjezisinde artış meydana getirmiştir. Bu farklılığın nedeni en başta, kullanılan ağrı modellerinin farklı olmasından kaynaklanabilir. Bechmann ve ark., KRD ile oluşturulan visceral ağrı modelinde amitriptilinin ve desipraminin analjezik etkili olduğunu ve serotonin deplesyonu yapan rezerpinin, amitriptilinin analjezik etkisini ilginç olarak artırdığını belirtmiştir. Bu çalışmada rezerpin desipraminin analjezik etkisinde anlamlı bir değişiklik oluşturmamıştır (295). Ancak hot plate test gibi somatik ağrı modelinde amitriptilinin ve imipraminin analjezik etkili olduğunu belirten bir çalışmada, amitriptilin ve imipramin analjezisinin rezerpin (i.p) ile engellendiği belirtilmiştir (236). Bu sonuç; serotoninin etkisinin azaltılmasıyla imipraminin analjezik etkisinde artma olabileceğini düşündürmektedir. Çalışmamızda da hem ketanserin hem de GR-113808, imipramin ile sinaptik aralıkta artan serotoninini antagonize ederek analjezik etkiye katkıda bulunmuş olabilir.

Ketanserin imipramin ile birlikte uygulandığında meydana gelen analjezik etkide artma, santral sinir sisteminde, sinaptik seviyede imipramin tarafından artırılan serotoninin ketanserin ile antagonize edilmesinden kaynaklanabileceği gibi, bu mekanizmadan farklı olarak, periferik seviyedeki etkileşim ya da sadece

ketanserine özgü diğer mekanizmalar üzerinden de olabilir. Gebauer ve ark. guinea piglerde 5-HT₂ reseptörlerinin uyarılmasının intestinal mukozal serotonin seviyesinde değişiklik oluşturmadığını bildirmişlerdir (256). Bu yüzden çalışmamızda gözlenen ketanserin ile imipramin analjezinde artma, kolorektal bölgede serotonin seviyesinden değil de, direkt rektal mekanoreseptörler üzerindeki etkiden (iyon kanalları) kaynaklanabilir.

Gebhart ve ark. tarafından KRD ile oluşturulan viseral ağrı modelinde yapılan çalışmada; non-selektif serotonin reseptör antagonisti metergolin imipramin analjezisinde herhangi bir değişiklik meydana getirmemiştir. Bu sonuca göre serotonerjik reseptörlerin imipramin analjezisinde rolü olmadığı belirtilmiştir (12). Ancak metergolinin 5-HT₁, 5-HT₂ ve 5-HT₇ reseptörlerine afinitesi olduğu bilinmektedir. Dolayısıyla 5-HT₂ reseptörlerinin yanı sıra 5-HT₁ ve 5-HT₇ reseptörlerinin de ayrı ayrı imipramin analjezisindeki rollerinin aydınlatılması önemlidir. Doğrul ve Seyrek tarafından farelerde tail-flick testinde yapılan bir çalışmada morfin (s.k) analjezisi metergolin (i.t) tarafından engellenirken, ketanserin (i.t) ile engellenmemiştir. Bunun nedeninin metergolinin aynı zamanda 5-HT₇ reseptörlerine de yüksek afinite ile bağlanmasından ileri geldiği vurgulanmıştır. Nitekim seçici 5-HT₇ reseptör antagonisti SB-269970 i.t uygulandığında morfin (s.k) analjezisi engellenmiştir (257).

Metergolin 5-HT₁ reseptör alt tiplerinden 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} ve 5-HT_{1D} reseptörlerini de antagonize etmektedir. 5-HT_{1A} reseptör agonisti buspiron KRD ile oluşturulan viseromotor yanıtları azaltarak analjezik etki göstermekte, bu etki 5-HT_{1A} reseptör antagonisti WAY-100635 ile engellenmektedir (258). Sonuçta metergolinin KRD ile oluşturulan viseral ağrı modelinde imipramin analjezisini değiştirmemesine bağlı olarak 5-HT₁ ve 5-HT₇ reseptörlerinin rolünün etkisi ayrıca araştırılmalıdır.

Spinal seviyede 5-HT₂ reseptörlerinin, kolorektal distansiyonla indüklenen viseral ağrı modelinde yapılan bir çalışmada viseromotor yanıtları azaltarak antinosiseptif etkiye aracılık ettiği belirtilmiştir. 5-HT₂ reseptör

agonistleri DOI, MK-212 ve α -metil-5-HT doza bağımlı olarak basınç yanıtlarını ve kolorektal distansiyonla oluşan ağrı eşiğini yükseltmiştir. İntratekal uygulanan ketanserin, 5-HT₂ reseptör agonistleri ile meydana gelen antinosiseptif etkiyi engellemiştir. Bu çalışmada ketanserin (i.t) tek başına herhangi bir etki meydana getirmediği belirtilmiştir (259). Ancak ketanserin spinal olarak 5-HT₂ reseptörler agonistlerinin analjezik etkisini engellemesi spinal seviyede 5-HT₂ reseptörlerinin antinosiseptif etkiye aracılık ettiğini gösterir. Spinal seviyede 5-HT₂ reseptörleri, supraspinal 5-HT₂ reseptörlerinden farklı fonksiyon gösterebilir. Bu yüzden imipramin ve ketanserin etkileşimi spinal seviyede ayrıca araştırılmalıdır.

Çalışmamızda KRD ile oluşturulan visceral ağrı modelinde imipraminin analjezik etkisi 5-HT₄ reseptör antagonisti GR-113808 (i.v) ile artış göstermektedir. Bu sonuç şimdiye kadar KRD ile oluşturulan visceral ağrı modelinde, imipramin analjezi mekanizmasında açıklanan ilk veri olması yönünden önemlidir. Ağrı modellerinde 5-HT₄ reseptörlerinin etkilerine dair yapılan çalışmalar sınırlıdır. Çalışmamızda kullanılan 5-HT₄ reseptör antagonisti GR-113808 tek başına bir etki meydana getirmemiş, ancak imipramin analjezisini artırmıştır. Fumiko ve ark.'nın formalin testde yaptıkları bir çalışmada imipraminin (i.p) analjezik etkisinin 5-HT₄ reseptör antagonisti SDZ-205557 ile artırıldığı belirtilmiştir (230). Bu sonuç çalışmamızdaki elde edilen sonuç ile uyumludur. Bu çalışmada SDZ-205557 (i.p) ile 5-HT₄ reseptörlerinin bloklanması sonucu, imipramin tarafından sinaptik aralıkta artırılan serotoninin 5-HT₄ reseptörlerine bağlanmasının engellenerek analjezik etkide artış meydana geldiği savunulmuştur. İmipraminin analjezik etkisinin hem KRD ile oluşturulan visceral ağrı modelinde hem de somatik ağrı modelinde 5-HT₄ reseptör antagonistleri ile artırılması, 5-HT₄ reseptörlerinin imipraminin analjezik etkisinde nosiseptif karakterde rol aldığını desteklemektedir. SDZ-205557 (i.p) tek başına uygulandığında herhangi bir etki meydana getirmemiştir. KRD ile oluşturulan visceral ağrı modelinde 5-HT₄ reseptör antagonisti RS 39604'in de (i.v) tek başına uygulandığında herhangi bir etki oluşturmadığı belirtilmiştir

(260). Camilleri ve ark. 5-HT4 reseptör antagonisti SB-207266'nin sağlıklı insanlarda gastrointestinal duysal fonksiyonları değiştirmediğini göstermiştir (261). Çalışmamızda da GRL-113808'in tek başına uygulandığında herhangi bir etki meydana getirmemesi, 5-HT4 reseptörlerinin ancak imipramin varlığında oluşturulan analjezik etkiye aracılık ettiğini göstermektedir.

5-HT4 reseptör antagonistlerinin tersine, 5-HT4 reseptör agonistlerinin KRD ile oluşturulan visceral ağrı modelinde tek başına uygulandıklarında analjezik etki meydana getirdikleri bazı çalışmalarda bildirilmiştir. Schikowski ve ark.'nın yaptıkları bir çalışmada, 5-HT4 reseptör agonisti tageserod (i.v) kedilerde KRD ile oluşturulan viseromotor yanıtları azaltarak analjezik etki oluşturmuş, bu etki 5-HT4 reseptör antagonisti SB-203186 (i.v) ile kısmi olarak engellenmiştir (262). Bu çalışmada tageserod ile meydana gelen analjezik etkinin 5-HT4 reseptörlerinin uyarılması sonucu kolorektal bölgedeki mukozal serotonin seviyesindeki azalmadan kaynaklanmadığı, çünkü rektal duvar gerilimindeki değişiklikleri yansıtan kompliyansın normal olduğu belirtilmiştir. Ancak analjezik etkinin periferik seviyede; kolorektal bölgede direkt rektal mekanoreseptörler üzerindeki etkiden kaynaklanabileceği ihtimal olarak vurgulanırken ayrıca spinal ve supraspinal düzeyde bir analjezi mekanizması değerlendirilmemiştir. Sonuç olarak 5-HT4 reseptör agonistlerinin analjezik etkisi spinal, supraspinal ve periferik kaynaklı olabilir.

Literatürde inflamatuvar olmayan somatik ağrı modellerinde ondansetron ve diğer 5-HT3 reseptör antagonistlerinin sistemik uygulandıklarında analjezik etkili olduğu bildirilmemiştir. Sadece Sandrini ve ark., sıçanlarda hot plate testde 5-HT3 antagonisti ondansetron tarafından paretamoln analjezik etkisinin engellendiğini ve tek başına uygulanan ondansetronun anlamlı olmayarak hafif analjezik etki gösterdiğini belirtmiştir (263). Ayrıca ondansetronun nöropatik ağrıda ve formalin testde analjezik etkili olduğu bildirilmiştir (296, 86).

5-HT3 reseptör antagonistlerinin imipramin analjezindeki rolleri somatik ağrı modellerinde yapılan sınırlı sayıda çalışmalarla ortaya konmuştur. Fumiko ve ark.'nın sıçanlarda formalin testde yaptıkları bir çalışmada; 5-HT3 reseptör

antagonisti ondansetron (i.p) imipraminin formalin testdeki analjezik etkisini engellemiştir (230). Sıçanlarda tail flick testinde imipramin (i.p) analjezik etki göstermiş ve bu etki ondansetron (i.p) ile engellenmiştir. Bu sonuçlar 5-HT3 reseptörlerinin imipramin analjezisinde antinosiseptif etkiye aracılık ettiğini göstermektedir.

KRD ile oluşturulmuş viseral ağrı modellerinde 5-HT3 reseptörlerinin rolü daha çok inflamasyon oluşturularak incelenmiştir ve bu çalışmalarda 5-HT3 reseptör antagonistlerinin etkileri farklı bulunmuştur. Şıçanların gastrocnemius kasına PH'sı 4 olan salinin i.m verilerek kolorektal viseral hiperaljezi oluşturulduğu bir modelde, 5-HT3 reseptör antagonisti alasetron sadece i.v uygulandığında viseral hiperaljezi oluşumunu engellemiştir (264). 5-HT3 reseptör antagonistlerinden granisetron (i.v) ve IC5 205-930 (i.v), duodenal distansiyonla oluşturulan viseral ağrı modelinde artan refleks yanıtı (kan basıncı artışı) azaltarak analjezik etki meydana getirmiştir. Bu çalışmada ondansetron (i.v) hiçbir etki göstermemiştir (265). Benzer olarak sıçanlarda inflamasyon oluşturularak yapılan KRİ ile indüklenen viseral ağrı modelinde, 5-HT3 antagonistlerinden granisetron (s.c) ve zăkoprıt (s.c) analjezik etki gösterirken, ondansetron (s.c) ve tropisetron (s.c) hiçbir etki göstermemiştir (297). Bu sonuçlar 5-HT3 antagonistlerinin sistemik uygulandıklarında viseral hiperaljezi üzerindeki etkilerinin kendi aralarında farklılıklar sergilediğini göstermektedir. Ancak Morteau ve ark.; ondansetronun KRİ ile oluşturulan viseral ağrı modelinde analjezik etkili olduğunu bildirmiştir (298). Çalışmamızda 5-HT3 reseptör antagonisti ondansetron ise i.v uygulandığında analjezik etki göstermiştir. Bu sonuç Morteau ve ark.nın belirttikleri sonuç ile uyumludur ve 5-HT3 reseptörlerinin nosiseptif etkiye aracılık ettiğini göstermektedir.

KRD ile oluşturulan viseral ağrı modelinde 5-HT3 reseptörlerinin rolü spinal seviyede de incelenmiştir. 5-HT3 reseptör agonisti 2-metil-serotoninin intratekal uygulandığında kolorektal distansiyonla oluşturulan viseral ağrıyı engellediğı belirtilmiştir. 5-HT3 reseptör agonisti 2-metil-serotoninin analjezik etkisi 5-HT3 reseptör antagonistleri MDL-72222 ve ICS 205-930 ile

engellenirken, antagonistler tek başına intratekal uygulandıklarında herhangi bir etki oluşturmamıştır (259).

Ağrı modülasyonunda spinal ve supraspinal merkezlerde önemli rol oynayan noradrenerjik sistem trisiklik antidepresanların da analjezik etki mekanizmasında önemli işlevler görmektedir. Çeşitli ağrı modellerinde bu etkileşimler agonist ve antagonist maddeler kullanılarak araştırılmıştır. Bu çalışmalarda daha çok alfa-1 ve alfa-2 reseptörlerin etkileri hem somatik hem de viseral ağrı modellerinde araştırılmıştır.

Farelerde yapılan bir çalışmada imipramin ve amitriptilinin (i.p) hot plate ve karın kıvrınma (writhing) testinde analjezik etki gösterdiği ve meydana gelen analjezik etkinin veziküler amin pompa inhibitörü rezepin (i.p) ve seçici alfa-2 reseptör antagonisti yohimbin (3-10 mg/kg, i.p) ile engellendiği belirtilmiştir. Alfa-2a adreseptör antagonisti BRL 44408 (i.p), amitriptilinin (15mg/kg, i.p) analjezik etkisini her iki testde engellerken, alfa-2b/c adreseptör antagonisti ARC 239 (i.p) ile prazosin (1mg/kg, i.p) her iki testde de engellememiştir (236). Bu çalışmada sadece alfa-2a noradrenerjik reseptör alt tipinin amitriptilinin analjezik etki mekanizmasına aracılık ettiği görülmektedir. Tail-flick ve hot plate testde amitriptilinin analjezik etkisinin alfa-2a noradrenerjik reseptörleri silinmiş farelerde araştırıldığı bir çalışmada, amitriptilin (i.p) kontrol grubu farelerde tail flick testinde doza bağımlı olarak analjezik etki gösterirken alfa-2a reseptörleri silinmiş farelerde analjezik etki göstermemiştir (266). Alfa-2a reseptörleri silinmiş farelerde amitriptilinin analjezik etkisinin gözlemlenmemesi, trisiklik antidepresanların analjezik etki mekanizmasında alfa-2a noradrenerjik reseptör alt tipinin önemini vurgulamaktadır.

Farelerde amitriptilin (s.c) uygulanarak karın kıvrınma testinde analjezik etki meydana getirdiği bir çalışmada, meydana gelen analjezik etki prazosin (1 mg/kg, i.p) ile engellenmezken, alfa-2 reseptör antagonisti RX821002 (1 mg/kg, i.p) ile engellenmiştir (267). Murat ve ark. nın farelerde hot plate testde yaptıkları bir çalışmada ise amitriptilinin analjezik etkisinin düşük doz prazosin (0.1, 0.2, 0.5 mg/kg, i.p) ile potansiyalize edildiği, yüksek doz prazosinin (1

mg/kg, i.p) ise analjezik etkide herhangi bir değişiklik yapmadığı belirtilmiştir (239). Prazosin ile meydana gelen bu farklılığın uygulanan doz miktarından ileri geldiğı belirtilmiştir. Sıçanlarda formalin testde yapılan bir çalışmada imipramin (i.p) formalin testde analjezik etki göstermiş, meydana gelen bu analjezik etki prazosin (i.s.v., i.p) ile engellenirken, yohimbin (i.s.v., i.p) ile engellenmemiştir (238). İmipraminin (i.p) formalin testde analjezik etki gösterdiği benzer bir çalışmada noradrenerjik alfa-1 reseptör antagonistleri WB-4101 ve prazosin imipraminin formalin testdeki analjezik etkisini engellemiştir. İmipraminin formalin testdeki analjezik etkisi alfa-2 reseptör antagonistleri yohimbin ve WAY100635 tarafından engellenmemiştir (230). Bu sonuçlar trisiklik antidepresanların analjezik etki mekanizmasında alfa-1 (baskın olarak) ve alfa-2 reseptörlerin rolü olduğunu desteklemektedir.

Kolorektal distansiyonla oluşturulan visceral ağrı modelinde noradrenerjik sistemin etkilerine ve trisiklik antidepresanların noradrenerjik sistemle etkileşimine dair yapılan çalışmalar sınırlıdır. Oral uygulanan klonidinin viseromotor yanıtları azaltarak antinosiseptif etki meydana getirdiğı belirtilmiştir (268). Benzer olarak klonidinin (i.p) viseromotor yanıtları doza bağımlı engelleyerek antinosiseptif etki meydana getirdiğini belirtilmiştir. Klonidinin analjezik etkisi yohimbin (i.p) ve fentolamin (i.p) ile engellenmiştir (269). Su ve Gebhart tarafından yapılan bir çalışmada sıçanlarda desipramin, klomipramin ve imipramin intraarteryel uygulandığında analjezik etki meydana getirmiş ancak spesifik olmayan adreseptör antagonisti fentolamin meydana gelen bu analjezik etkiyi engellememiştir (12).

Çalışmamızda imipraminin KRD ile oluşturulan visceral ağrı modelindeki analjezik etkisi yohimbin (i.v) tarafından tam olarak engellenmiştir. Bu sonuç imipraminin analjezik etkisinde alfa-2 noradrenerjik reseptörlerin rolü olduğunu desteklemektedir. Yohimbin tek başına i.v uygulandığında herhangi bir etki göstermemiştir. Bulduğumuz bu sonucun, Su ve Gebhart tarafından yapılan çalışmadaki (12) fentolamin etkisinden farklı olmasının nedeni kullanılan noradrenerjik reseptör antagonistlerinin farklı olmasından ileri gelebilir. Çünkü

fentolamin alfa-1 ve alfa-2 reseptörlerine eşit oranda ancak alfa-2 reseptörlerine, yohimbine göre daha düşük afinite ile bağlanmaktadır (270). Ayrıca literatürde KRD ile oluşturulan viseral ağrıda direkt alfa-1 reseptörlerinin etkisini araştıran bir çalışma yoktur. Dolayısıyla bizim çalışmamızda imipraminin analjezik etkisinin yohimbin tarafından engellenmesi, imipramin analjezisinde alfa-2 noradrenerjik reseptörlerin antinoseptif etkiye aracılık ettiği sonucunu desteklerken, Gebhart ve SU tarafından yapılan çalışmada fentolaminin imipramin analjezisini engellememesi; alfa-1 reseptörlerinin imipramin analjezisindeki etkisinden ve fentolaminin alfa-2 reseptörlerine düşük afinite ile bağlanmasından dolayı olabilir. Hem serotonin hem de noradrenalin geri alım inhibitörü venlafaksin hot plate testinde analjezik etkili bulunduğu bir çalışmada, venlafaksin analjezik etkisi yohimbin ile engellenirken, fentolamin ile engellenmemiştir. Bu yüzden alfa-2 reseptörlerinin venlafaksin analjezisinde esas, alfa-1 reseptörlerinin ise daha az rol oynadığı iddia edilmiştir (271).

Kolorektal distansiyonla oluşturulan viseral ağrı modelinde alfa-2a, alfa-2b ve alfa-2c noradrenerjik reseptör alt tiplerinin rollerine dair çalışma literatürde yoktur. Çalışmamızda imipramin analjezisinde selektif alfa-2a reseptör antagonisti BRL-44408 ile selektif alfa-2c reseptör antagonisti MK-912 imipramin analjezisini engellemiştir. Seçici alfa-2b adrenerjik reseptör antagonisti imiloksan ise imipramin analjezisinde herhangi bir etki meydana getirmemiştir. Bu sonuç alfa-2a ve alfa-2c reseptörlerinin imipramin analjezisinde antinoseptif etkiye aracılık ettiğini, alfa-2b reseptörlerinin ise herhangi bir etkisinin olmadığını göstermektedir. Literatürde kolorektal distansiyonla oluşturulan viseral ağrı modeli haricinde yapılan çalışmalarda, farelerde alfa-2a reseptör antagonisti BRL 44408'in (i.p) imipraminin (i.p) hot plate ve karın kıvrınma (writhing) testindeki analjezik etkisini engellediği belirtilmiştir. Ancak bu çalışmada alfa-2b/c adrenoseptör antagonisti ARC 239 (i.p) her iki testde de imipramin analjezisini engellememiştir (236). Bu farklı sonuç kullanılan alfa-2c reseptör antagonistlerinin seçiciliklerinin farklı

olmasından kaynaklanabileceği gibi, kullanılan denek ve ağrı modellerinin farklı olmasından da kaynaklanabilir.

Trisiklik antidepressanların analjezik etki mekanizmasında kolinerjik sistemin rolünü araştıran sınırlı sayıda yayın bulunmaktadır. Gebhart ve ark.nın sıçanlarda yaptıkları bir çalışmada tek başına intratekal uygulanan amitriptilin hot plate testde analjezik etki göstermemiş, fakat neostigminle beraber intratekal uygulandığında neostigminin analjezik etkisini potansiyalize etmiştir. Bu çalışmada sadece muskarinik etkili karbamilkolin (i.t) tek başına uygulandığında analjezik etki göstermiş ancak amitriptilin ile beraber uygulandığında (i.t) analjezik etkide potansiyalizasyon görülmemiştir. Bu yüzden amitriptilin ile neostigmin kombinasyonunun analjezik etki mekanizmasında muskarinik reseptörlerin rolü olmadığı iddia edilmiştir (272). Neostigminin intratekal uygulandığında spinal kordda asetilkolin yıkımını engellediği (273) ve asetilkolinin spinal korddaki sinir sonlanmalarında bulunan muskarinik ve nikotinik reseptörlere bağlanarak analjezi oluşturduğu belirtilmiştir (274). Bu çalışmada, intratekal uygulanan amitriptilinin, az da olsa tonik noradrenerjik aktiviteyi ve asetilkolin salıverilmesini artırarak nikotinik reseptörler aracılığıyla neostigmin analjezisini potansiyalize ettiği ileri sürülmüştür (272).

Elsenbruch ve ark. KRD ile oluşturulan viseral ağrı modelinde viseromotor yanıtları kolinerjik duyarlı (FSL) ve kolinerjik dirençli (FRL) sıçanlarda değerlendirmiştir. Kolinerjik duyarlı sıçanlar genetik olarak kolinerjik agonistlere duyarlı sıçanlardır. Viseromotor yanıtlar hem kolinerjik duyarlı hem de kolinerjik dirençli sıçanlarda distansiyona bağlı olarak artmıştır. Viseromotor yanıtındaki artış kolinerjik duyarlı sıçanlarda daha fazla olmuştur (275). Bu çalışmada kolinerjik duyarlı sıçanların kolorektal distansiyona daha fazla yanıt vermesi kolinerjik sistemin bu modelde rolü olduğunu düşündürmektedir. Ancak bu çalışmada muskarinik ve nikotinik reseptörlerin viseromotor yanıtlar üzerine etkileri araştırılmamıştır.

KRD ile oluşturulan viseral ağrı modelinde Gebhart ve Su tarafından yapılan bir çalışmada; periferik etkili kolinerjik muskarinik reseptör antagonisti

glikoprolat intraarteryel uygulandığında imipramin analjezisini değiştirmemiştir. Ayrıca, asetilkolin seviyesini artırarak hem muskarinik hem de nikotinik reseptörlerde agonist etkiye neden olan neostigmin de imipramin analjezisini değiştirmemiştir (12). Neostigmin kan-beyin bariyerini geçemediği için santral etki göstermemektedir. Gebhart ve Su'nun yaptığı çalışmada periferik seviyede muskarinik ve nikotinik reseptörlerin imipramin analjezisinde rolü olmadığı belirtilmiştir. Çalışmamızda ise atropin (i.v), glikoprolata benzer olarak imipramin analjezisini değiştirmemiştir. İmipramin diğer trisiklik antidepresanlarda olduğu gibi, intrinsik antimuskarinik etkilere sahiptir. Ancak hem atropin (i.v) hem de glikoprolat (i.a) uygulandığında imipramin analjezisinin değişmemesi, imipramin analjezisinde santral ve periferik muskarinik reseptörlerin rolü olmadığı kanısını desteklemektedir. Diğer ağrı modellerinde yapılan çalışmalarda da benzer sonuçlar bildirilmiştir. Amitriptilin ve imipraminin farelerde hot plate, formalin test ve karın kıvrınma testinde analjezik etki gösterdiği bir çalışmada analjezik etki atropin (i.p) ile engellenmemiştir (236, 276). Bu sonuçlar imipramin analjezisinde kolinerjik muskarinik sistemin rolü olmadığını kanısını güçlendirmektedir.

Kolinerjik nikotinerjik sistemin trisiklik antidepresanların analjezi mekanizmasında rol aldığını destekleyen bulgular kısıtlıdır. Zarrindast ve ark.'nın farelerde formalin testde yaptıkları bir çalışmada imipramin analjezisi mekamilamin ile engellenmezken (276), sıçanlarda tail flick testinde yapılan bir çalışmada ise imipraminin analjezik etkisi mekamilamin ile engellenmiştir (277). Ancak bu çalışmalarda kullanılan ağrı modelleri ve denekler farklıdır. KRD ile oluşturulan visceral ağrı modelinde trisiklik antidepresanların analjezik etki mekanizmalarında nikotinerjik reseptörlerin rolünün araştırıldığı çalışma literatürde yoktur, çalışmamızda imipramin ile mekamilamin (0.25 mg/kg, i.v) birlikte uygulandığında analjezik etkide artma meydana gelmiştir. İmipraminin intrinsik olarak muskarinik reseptörlerdeki etkisine benzer şekilde nöronal nikotinik reseptörleri inhibe ettiği belirtilmiştir (279). İmipraminle benzer yapısal elliğe sahip klomipraminin de nöronal nikotinik reseptörleri inhibe ettiği

gösterilmiştir (280). Ağrı modellerinde trisiklikler antidepresanlar gibi antinosiseptif etki gösteren ajanların, antinosiseptif mekanizmada mekamilamin ile etkileşiminin araştırıldığı bir çalışma literatürde yoktur. Ancak çalışmamızda görüldüğü gibi mekamilamin ile nikotinik reseptörlerin antagonizasyonu imipramin analjezisinde artış meydana getirmektedir. İmipraminin intrinsik olarak nöronal nikotinik reseptörleri bloke etmesi analjezik etkideki artışın bir nedeni olabilir. Ancak nikotinerjik reseptörlerin KRD ile oluşturulan visceral ağrı modelinde etkilerinin daha net ortaya konması için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmamızda mekamilamin tek başına (0.5 ve 1 mg/kg, i.v) uygulandığında da analjezik etki oluşmuştur. Bu sonuç nikotinik reseptörlerin visceral ağrı yollarında nosiseptif etkiye aracılık ettiğini göstermektedir. Pamela ve ark., mekamilaminin çalışmamızdaki bulguya benzer olarak formalin testde tek başına uygulandığında analjezik etkili olduğunu bildirilmiştir. Bu çalışmada mekamilaminin (i.p) tek başına düşük doz uygulandığında hiperanaljezik, yüksek doz uygulandığında ise analjezik etkili olduğu gözlemlenmiştir. Düşük dozda mekamilaminin tonik olarak nikotinik aktiviteyi baskıladığı, bunun da hiperanaljezi oluşturduğu belirtilmiştir. Yüksek doz uygulanmasında gözlenen antinosiseptif etkide glisin, GABA, NMDA reseptörlerinin ve diğer mekanizmaların rolü olabileceği savunulmuştur (278).

Trisiklik antidepresanların analjezik etki mekanizmasında nitreerjik sistemin rolüne dair çalışmaların sayısı sınırlıdır. Çalışmamızda KRD ile oluşturulan visceral ağrı modelinde imipramin analjezisi nitrik oksit sentaz inhibitörü L-NAME (i.v) ile artış gösterirken, nitrik oksit donörü L-Arginin (i.v) ile engellenmiştir. Bu bulguya göre imipramin analjezisinde nitrik oksit salıverilmesinin inhibisyonu, antinosiseptif etkiye aracılık etmektedir. Çalışmamızda L-NAME tek başına herhangi bir etki gözlenmemiştir. Benzer olarak Gebhart ve ark. tarafından KRD ile oluşturulan visceral ağrı çalışmasında da L-NAME tek başına kolonik inflamasyon oluşturulmayan sıçanlara uygulandığında analjezik etki gözlenmemiştir. Ancak bu çalışmada zimosanla

viseral hiperaljezi oluşturulduğunda rostral ventro medullaya uygulanan L-NAME viseromotor yanıtları azaltarak antinositif etki göstermiştir. Bu bulgu L-NAME'in tek başına etkisinin sadece inflamatuvar süreçte etkin olduğunu göstermektedir (282, 283). Literatürde KRD ile oluşturulan viseral ağrı modelinde sadece bir çalışmada; NSAI ilaçlardan diklofenak'ın, KRD ile oluşturulan viseral ağrı modelinde analjezik etki meydana getirdiği ve bu analjezik etkinin L-Arginin ile engellendiği belirtilmiştir. Bu çalışmada L-NAME'in etkisi araştırılmamıştır (281).

İmipraminin KRD ile oluşturulan viseral ağrı modelindeki analjezik etkisinde nitroerjik sistemin rolüne dair dolaylı ya da direkt NMDA reseptörlerinin katkısı olabilir. NO enzimatik olarak postsinaptik alanlarda üretilmekte ve NMDA reseptörlerinin aktivasyonuna yanıt olarak salıverilmektedir. Ayrıca NO'nın postsinaptik alanlarda sentezlendikten sonra presinaptik alana geri dönerek glutamat salıverilmesini de başlattığı ve böylece NO'nın retrograd mesajcı olarak rol aldığı ileri sürülmektedir. NMDA reseptör aktivasyonu sırasında NO oluşumu NMDA'nın indüklediği nitroerjik süreçte NO'nın de yer aldığı iddiasını desteklemektedir (284, 285). Farelerde formalin testde NMDA ile meydana gelen nitroerpsiyonun, nitrik oksit sentaz inhibitörü L-NOARG ile engellendiği belirtilmiştir (286).

Serotonerjik sisteme etki eden antidepresanlardan sitelopram, paroksetin, imipramin ve tianeptinin in vivo olarak hipokampal nitrik oksit sentaz aktivitesini (NOS) azalttığı belirtilmiştir (287). Ayrıca, trisiklik antidepresanların NMDA reseptör antagonisti özellikleri olduğu çeşitli araştırmalarda belirlenmiştir (288, 289). Sıçan pençesine karregen enjekte edilip termal uyarı verildiğinde, intratekal uygulanan NMDA'nın hiperaljezi meydana getirdiği, bu etkinin de amitriptilin ile engellendiği belirtilmiştir (290). Yine trisiklik antidepresanlardan desipramin ve klomipramin için de, KRD ile oluşturulan viseral ağrı modelindeki analjezik etki mekanizmasında NMDA reseptörlerinin de katkısının bulunduğu belirtilmiştir. NMDA reseptör kanal blokörü MK-801 desipramin ve klomipramin analjezisini artırmıştır (12). Dolayısıyla KRD ile oluşturulan viseral

ağrı modelinde, imipramin NO üzerinden NMDA reseptörlerinin etkilerini engelleyerek analjezik etki meydana getirebilir.

Trisiklik antidepresan olmayan ancak hem serotonin hem de noradrenalin geri alım inhibitörü etkiye sahip venlafaksin, hot plate testde analjezik etki göstermiş fakat bu etki nitrik oksit sentaz inhibitörü L-NOARG ile değiştirilmemiştir. L-NOARG tek başına uygulandığında herhangi bir etki göstermemiştir (292). Bu çalışmada venlafaksin analjezik etkisinin L-NOARG ile değişmemesi, kullanılan ağrı modelinin farklı olmasından kaynaklanabilir. Gerek kutanöz gerekse viseral ağrı modelleri başta olmak üzere, trisiklik antidepresanlarla nitrik oksit yolağının etkileşiminin araştırıldığı daha ileri çalışmalara gerek vardır.

6. SONUÇ

Sonuç olarak kolorektal distansiyonla indüklenen viseral ağrı modelinde imipramin analjezik etki gösterdi ve imipraminin analjezik etkisi seçici olmayan alfa-2 adrenerjik reseptör antagonisti yohimbin, seçici alfa-2a adrenerjik reseptör antagonisti BRL-44408, seçici alfa-2c adrenerjik reseptör antagonisti MK-912 ve nitrik oksit donörü L-arginin ile engellendi. Seçici olmayan opioid reseptör antagonisti nalokson, seçici alfa-2b adrenerjik reseptör antagonisti imiloksan, seçici 5-HT₃ reseptör antagonisti ondansetron, seçici olmayan kolinerjik muskarinik reseptör antagonisti atropin imipraminin analjezik etkisini engellemedi. İmipraminin analjezik etkisini seçici 5-HT₄ reseptör antagonisti GR-113808 (i.v) ve nitrik oksit sentaz inhibitörü L-NAME (i.v) anlamlı olarak artırdı. Çalışmamızda ketanserin, mekamilamin ve ondansetron hariç i.v uygulanan tüm antagonistler tek başına bir etki göstermedi. Ketanserin, ondansetron ve mekamilamin tek başına i.v uygulandığında analjezik etki gösterdi. Ketanserin ve mekamilamin imipramin ile beraber uygulandığında ise imipraminin analjezik etkisinde artma gözlemlendi. Elde ettiğimiz bu sonuç kolorektal distansiyonla indüklenen viseral ağrı modelinde imipraminin analjezik etkisine noradrenerjik alfa-2a, alfa-2c ve serotonerjik 5-HT₄ reseptörlerinin ve nitrenerjik sistemin aracılık ettiğini düşündürmektedir. 5-HT₂ reseptör antagonisti ketanserin ve nikotinik reseptör antagonisti mekamilamin hem tek başına uygulandıklarında analjezik etki meydana gelmiş hem de imipraminle beraber uygulandıklarında imipraminin analjezik etkisinde artış gözlemlenmiştir. Çalışmamızdaki bulgular viseral ağrı mekanizmasının anlaşılmasına ve irritabl barsak sendromu gibi viseral ağrının eşlik ettiği klinik durumlar için etkili analjezik geliştirilmesine ve halen kullanımda olan analjeziklerin viseral ağrıdaki mekanizmalarının aydınlatılmasına katkıda bulunabilir.

7. KAYNAKLAR

1. Gerdle B, Bjork J, Henriksson C,et al. Prevalence of current and chronic pain and their influences upon work and healthcare-seeking: a population study. J Rheumatol 2004; 31: 1399- 406.
2. İlaç Endüstrisi İşverenleri Sendikası. Endüstrinin 2000 yılı verileri. İEİS Aylık Rapor 2001; 20-1.
3. Bourel M, Sabouraud O. Tofranil and pain. Sem Hop Ther Paris 1962; 38: 643-645.
4. Spiegel K, Kalb R, Pasternak GW. Analgesic activity of tricyclic antidepressants. Ann Neurol 1983; 13: 462-465.
5. Lynch ME. Antidepressants as analgesics: a review of randomized controlled trials. J Psychiatry Neuroscience 2001; 26: 30-36.

6. Fishbain D. Evidence-based data on pain relief with antidepressants. *Ann Med* 2000; 32: 305-316.
7. Jung AC, Staiger T, Sullivan M. The efficacy of selective serotonin reuptake inhibitors for the management of chronic pain. *J Gen Inter Med* 1997; 12: 384-389.
8. Bourin M, Chue P, Guillon Y. Paroxetine: a review. *CNS Drug Rev* 2001; 7: 25-47.
9. Singh VP, Jain NK, Kulkarni SK. On the antinociceptive effect of fluoxetine, a selective serotonin reuptake inhibitor. *Brain Res* 2001; 915: 218-226.
10. Duman EN, Kesim M, Kadioglu M, et al. Possible involvement of opioidergic and serotonergic mechanisms in antinociceptive effect of paroxetine in acute pain. *J Pharmacol Sci* 2004; 94: 161-165.
11. Micó JA, Ardid D, Berrocoso E, et al. Antidepressants and pain. *Trends Pharmacol Sci* 2006; 27: 348-354.
12. Su X, Gebhart GF. Effects of tricyclic antidepressants on mechanosensitive pelvic nerve afferent fibers innervating the rat colon. *Pain* 1998; 76: 105-114.
13. Shin SW, Eisenach JC, Rao SG, et al. The monoamine reuptake inhibitor milnacipran does not affect nociception to acute visceral distension in rats. *Anesth Analg* 2004; 98: 1365-1369.
14. Aldemir T. Akut Ağrı Fizyopatolojisi. Erdine S. (ed.) "Ağrı"dan, 1. baskı. İstanbul, Nobel Kitabevi, 2000; 111-119.
15. Morgan GE, Mikhail MS. Clinical Anesthesiology. 3rd ed. Los Angeles, Appleton & Lange, 2002; 309-358.
16. Apaydın Ş, Yegül İ. Ağrı Nörofizyolojisi. *Galenos Aylık Tıp Dergisi* 1997; 5: 4-14.
17. Raj PP. Ağrı Taksonomisi. Erdine S (ed). "Ağrı"dan, 1. baskı, İstanbul; Alemdar Ofset, 2000; 12-20.
18. Raj PP. Visceral pain. *Ağrı* 2004; 16: 7-20.
19. Schmauss C, Yaksh TL. In vivo studies on spinal opiate receptor systems mediating antinociception. II. Pharmacological profiles suggesting a differential association of mu, delta and kappa receptors with visceral chemical and cutaneous thermal stimuli in the rat. *J Pharmacol Exp Ther*. 1984; 228:1-12.

20. Harada Y, Nishioka K, Kitahata LM, et al. Contrasting actions of intrathecal U50,488H, morphine, or [D-Pen2,D-Pen5] enkephalin or intravenous U50,488H on the visceromotor response to colorectal distension in the rat. *Anesthesiology* 1995; 83: 336–343.
21. Riedel W, Neeck G. Nociception, pain, and antinociception: current concepts. *Z Rheumatol* 2001; 60: 404-415.
22. Besson J M. The neurobiology of pain. *Lancet* 1999; 353: 1610–1615.
23. Arthur C, Guyton M, John E. Breast. In: Guyton M (ed.). *Textbook of Medical Physiology* (10th ed). 2003; 846-866.
24. Melzack R, Wall P. Pain mechanism: A new theory. *Science* 1965; 150: 951-979.
25. Taner D. Fonksiyonel Nöroanatomi. (2. Baskı). Ankara, Gökçe Ofset, 1999; 116-117.
26. Gauriau C ve Bernard JF. Pain pathways and parabrachial circuits in the rat. *Exp Physiol* 2002; 87: 251-258.
27. Nirit Weiss, H. Christopher Lawson, Joel D. et al. Studies of the human ascending pain pathways. *Thalamus & Related Systems* 2005; 3: 71-86.
28. Millan M. Descending control of pain. *Prog Neurobiol* 2002; 66: 367-369.
29. Robinson DA, Calejesan AA, Wei F, et al. Endogenous facilitation: From Molecular Mechanisms to Persistent Pain. *Curr Neurovasc Res* 2004; 1: 11-20.
30. DL Hammond, V Nelson, DA Thomas. Intrathecal methysergide antagonizes the antinociception, but not the hyperalgesia produced by microinjection of baclofen in the ventromedial medulla of the rat. *Neurosci Lett* 1998; 2: 93–96.
31. Przewłocki R and Przewłocka B. Opioids in chronic pain. *Eur J Pharmacol* 2001; 429: 79–91.
32. Jordan BA, Cvejic S, Devi LA. Opioids and their complicated receptor complexes. *Neuropsychopharmacology* 2000; 23: 1-14.
33. Devi La ve Jordan Ba. G-protein-coupled receptor heterodimerization modulates receptor function. *Nature* 1999; 399 :697-700.

34. Ossipov MH, Lai J, King T, et al. Antinociceptive and Nociceptive Actions of Opioids. *J Neurobiol* 2004; 61: 126-148.
35. Zhang X, Bao L, Guan JS. Role of delivery and trafficking of δ -opioid peptide receptors in opioid analgesia and tolerance. *Trends Pharmacol Sci* 2000; 27: 324-329.
36. Vaught JL, Takemori AE. A further characterization of the differential effects of leucine enkephalin, methionine enkephalin and their analogs on morphine-induced analgesia. *J Pharmacol Exp Ther* 1979; 211: 280-283.
37. Vaught JL, Rothman RB, Westfall TC. Mu and delta receptors: their role in analgesia in the differential effects of opioid peptides on analgesia. *Life Sciences* 1982; 30: 1443-1455.
38. Egan TM, North RA. Both mu and delta opiate receptors exist on the same neuron. *Science* 1981; 214: 923-4.
39. Fields HL, Emson PC, Leigh BK, et al. Multiple opiate receptor sites on primary afferent fibres. *Nature*. 1980; 284: 351-353.
40. JA Qi, WD Bowen, HI Mosberg, et al. Opioid agonist and antagonist antinociceptive properties of [D-Ala²,Leu⁵,Cys⁶] enkephalin: selective actions at the delta noncomplexed site. *J Pharmacol Exp Ther* 1990; 255:636–641.
41. Mattia A, Farmer SC, Takemori AE, et al. Spinal opioid delta antinociception in the mouse: mediation by a 5'-NTII-sensitive delta receptor subtype. *J Pharmacol Exp Ther* 1992; 260: 518-525.
42. Dawson-Basoa M, Gintzler A. Gestational and ovarian sex steroid antinociception: synergy between spinal kappa and delta opioid systems. *Brain Res* 1998; 794: 61-67.
43. Herz A, Millan MJ. Opioids and opioid receptors mediating antinociception at various levels of the neuraxis. *Physiol Bohemoslov* 1990; 39: 395-401.
44. Yamada H, Shimoyama N, Sora I, et al. Morphine can produce analgesia via spinal kappa opioid receptors in the absence of mu opioid receptors. *Brain Res* 2006;1083: 61-69.
45. Fields, H.L. Pain modulation: expectation, opioid analgesia and virtual pain. *Prog Brain Res* 2000; 122: 245-253.
46. Mansour A, Khachaturian H, Lewis ME, et al. Autoradiographic differentiation of mu, delta, and kappa opioid receptors in the rat forebrain and midbrain. *J Neurosci* 1987; 7: 2445-2464.

47. Höllt V, Sanchez-Blazquez P, Garzon J. Multiple opioid ligands and receptors in the control of nociception. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1985; 308: 299-312.
48. Budai D ve Fields HJ. Endogenous opioid peptides acting at mu-opioid receptors in the dorsal horn contribute to midbrain modulation of spinal nociceptive neurons. *J Neurophysiol* 1998; 79: 677-688.
49. Van Bockstaele EJ, Colago EE, Cheng P, et al. Ultrastructural evidence for prominent distribution of the mu-opioid receptor at extrasynaptic sites on noradrenergic dendrites in the rat nucleus locus coeruleus. *J Neurosci* 1996; 6: 5037-5048.
50. Palkovits M, Brownstein M, Saavedra JM. Serotonin content of the brain stem nuclei in the rat. *Brain Res* 1974; 80: 237-249.
51. Millan M. Descending control of pain, *Progress in Neurobiology* 2002; 66: 388-389.
52. Peggy Mason. Central mechanism of pain modulation. *Curr Opin Neurobiol* 1999; 9: 436-441.
53. Megumu Yoshimura ve Hidemasa Furue. Mechanisms for the Anti-nociceptive actions of the descending noradrenergic ve serotonergic systems in the spinal cord. *J Pharmacol Sci* 2006; 101: 107-117.
54. Boess FG, Martin IL. Molecular biology of 5-HT receptors. *Neuropharmacology* 1994; 33: 275-317.
55. Marlier L, Teilhac JR, Cerruti C, et al. Autoradiographic mapping of 5-HT₁, 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} and 5-HT₂ receptors in the rat spinal cord. *Brain Res* 1991; 31: 15-23.
56. Ito A, Kumamoto E, Takeda M, et al. Mechanisms for ovariectomy-induced hyperalgesia and its relief by calcitonin: participation of 5-HT_{1A}- like receptor on C-afferent terminals in substantia gelatinosa of the rat spinal cord. *J Neurosci* 2000; 20: 6302-6308.
57. Mogil JS, Grisel E. Transgenic studies of pain. *Pain* 1998; 77: 107-128.
58. Srikiatkachorn A, Tarasub N, Govitrapong P. Acetaminophen-induced antinociception via central 5-HT(2A) receptors. *Neurochem Int* 1999; 34: 491-8.
59. Pierce PA, Xie GX, Levine JD, et al. 5-Hydroxytryptamine receptor subtype messenger RNAs in rat peripheral sensory and sympathetic ganglia: a polymerase chain reaction study. *Neuroscience* 1996; 70: 553-559.

60. Pierce PA, Xie GX, Peroutka SJ, et al. Dual effect of the serotonin agonist, sumatriptan, on peripheral neurogenic inflammation *Reg Anesth*. 1996; 21: 219-225.
61. Pierce PA, Xie GX, Meuser T, et al. 5-Hydroxytryptamine receptor subtype messenger RNAs in human dorsal root ganglia: a polymerase chain reaction study. *Neuroscience* 1997; 8: 813-819.
62. Pompeiano M, Palacios JM, Mengod G. Distribution of the serotonin 5-HT₂ receptor family mRNAs: comparison between 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptors. *Brain Res* 1994; 23:163-178.
63. Fonseca MI, Ni YG, Dunning DD, et al. Distribution of serotonin 2A, serotonin 2C and serotonin 3 receptor mRNA in spinal cord and medulla oblongata. *Brain Res* 2001; 89: 11-19
64. Helton LA, Thor KB, Baez M. 5-Hydroxytryptamine 2A 5-hydroxytryptamine 2B and 5-hydroxytryptamine 2C receptor mRNA expression in the spinal cord of rat, monkey and human, monkey and human. *Neuroreport* 1994; 5: 2617-2620.
65. Wu S, Zhu M, Wang W, et al. Changes of the expression of 5-HT receptor subtype mRNAs in rat dorsal root ganglion by complete Freund's adjuvant-induced inflammation. *Neurosci Lett* 2001; 307: 183-186.
66. López-Giménez JF, Mengod G, Palacios JM, et al. Regional distribution and cellular localization of 5-HT_{2C} receptor mRNA in monkey brain: comparison with [3H]mesulergine binding sites and choline acetyltransferase mRNA. *Synapse* 2001; 42:12-26.
67. Laporte AM, Koscielniak T, Ponchant M, et al. Quantitative autoradiographic mapping of 5-HT₃ receptors in the rat CNS using [125I]iodo-zacopride and [3H]zacopride as radioligands. *Synapse* 1992; 10: 271-281.
68. Zeitz KP, Guy N, Malmberg AB, et al. The 5-HT₃ subtype of serotonin receptor contributes to nociceptive processing via a novel subset of myelinated and unmyelinated nociceptors. *J Neurosci* 2002; 22: 1010-9.
69. Van Hooft JA, Yakel JL. 5-HT₃ receptors in the CNS: 3B or not 3B? *Trends Pharmacol Sci* 2003; 24: 157-160.
70. Glatzle J, Sternini C, Robin C, et al. Expression of 5-HT₃ receptors in the rat gastrointestinal tract. *Gastroenterology* 2002; 123: 217-26.
71. Kidd EJ, Laporte AM, Langlois X, et al. 5-HT₃ receptors in the rat central nervous system are mainly located on nerve fibres and terminals. *Brain Res* 1993; 612: 289-98.

72. Morales M, Battenberg E, Bloom FE. Distribution of neurons expressing immunoreactivity for the 5-HT₃ receptor subtype in the rat brain and spinal cord. *J Comp Neurol* 1998; 385: 385-401.
73. Laporte AM, Koscielniak T, Ponchant M, et al. Quantitative autoradiographic mapping of 5-HT₃ receptors in the rat CNS using [¹²⁵I]iodo-zacopride and [³H]zacopride as radioligands. *Synapse* 1992;10: 271-281.
74. Kia HK, Miquel MC, McKernan RM, et al. Localization of 5-HT₃ receptors in the rat spinal cord. *Immunohistochemistry and insitu hibridization. Neuroreport* 1995; 6: 257-261.
75. Gershon MD. Review article: roles played by 5-hydroxy-tryptamine in the physiology of the bowel. *Aliment Pharmacol Ther* 1999; 13: 15-20.
76. Mayer E, Raybould HE. Role of visceral afferent mechanisms in functional bowel disorders. *Gastroenterology* 1990; 99: 1688-704.
77. Jakeman LB, To ZP, Eglen RM, et al. Quantitative autoradiography of 5-HT₄ receptors in brains of three species using two structurally distinct radioligands, [³H]GR113808 and [³H]BIMU-1. *Neuropharmacology* 1994; 33: 1027-1038.
78. Waeber C, Sebben M, Nieoullon A, et al. Regional distribution and ontogeny of 5-HT₄ binding sites in rodent brain. *Neuropharmacology* 1994; 33: 527-541.
79. Taiwo YO, Levine JD. Further confirmation of the role of adenylyl-cyclase and of cAMP- dependent protein kinase in primary afferent hyperalgesia. *Neuroscience* 1991; 44: 131-135.
80. Bevan S. Nociceptive peripheral neurons: cellular properties. In: Wall PD, Melzack R (eds.). *Textbook of Pain* (4th ed). Churchill Livingstone, Edinburgh, 1999, 85-103.
81. Oliver KR, Kinsey AM, Wainwright A, et al. Localization of 5-HT_{5A} receptor-like immunoreactivity in the rat brain. *Brain Res* 2000; 867: 131-142.
82. Kinsey AM, Wainwright A, Heavens R, et al. Distribution of 5-HT(5A), 5-HT(5B), 5-HT(6) and 5-HT(7) receptor mRNAs in the rat brain. *Brain Res* 1999; 38: 1083-1152.
83. Barnes NM, Sharp T. A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology* 1999; 38: 1083-1152.

84. Ward RP, Hamblin MW, Lachowicz JE, et al. Localization of serotonin subtype 6 receptor messenger RNA in the rat brain by in situ hybridization histochemistry. *Neuroscience* 1995; 64: 1105-1111.
85. Gustafson EL, Durkin MM, Bard JA, et al. Branchek TA. A receptor autoradiographic and in situ hybridization analysis of the distribution of the 5-HT₇ receptor in rat brain. *Br J Pharmacol* 1996; 117: 657-666.
86. Oyama T, Ueda M, Kuraishi Y, et al. Dual effect of serotonin on formalin - induced nociception in the rat spinal cord. *Neurosci Res* 1996; 25: 129-135.
87. Bardin L, Jourdan D, Alloui A, et al. Differential influence of two serotonin 5-HT₃ receptor antagonists on spinal serotonin-induced analgesia in rats. *Brain Res* 1997; 765: 267-272.
88. Bardin L, Jourdan D, Alloui A, et al. Influence of serotonergic drugs on restraint stress induced analgesia. *Pol J Pharmacol* 1995; 47: 381-385.
89. Peng YB, Lin Q, Willis WD. The role of 5-HT₃ receptors in periaqueductal ray- induced inhibition of nociceptive dorsal horn neurons in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1996; 276:116-24.
90. Bardin L, Bardin M, Lavarenne J, et al. Effect of intrathecal serotonin on nociception in rats: influence of the pain test used. *Exp Brain Res* 1997; 113: 81-7.
91. Chung KM, Choi SS, Han KJ, et al. Antinociceptive effects of methysergide in various pain models. *Pharmacology* 2003; 69: 93-101.
92. Steinman JL, Carlton SM, Haber B, et al. Differential effects of p-chlorophenylalanine on indoleamines in brainstem nuclei and spinal cord of rats. I. *Brain Res* 1987; 426: 297-309.
93. Murphy RM, Zemlan FP. Differential effects of substance P on serotonin-modulated spinal nociceptive reflexes. *Psychopharmacology* 1987; 93: 118-121.
94. Archer T, Jonsson G, Minor BG, et al. Noradrenergic-serotonergic interactions and nociception in the rat. *Eur J Pharmacol* 1986; 120: 295-307.
95. Xu W, Cui X, Han JS. Spinal serotonin 1A and 1C/2 receptors mediate supraspinal mu opioid-induced analgesia. *Neuroreport* 1994; 5: 2665-8.
96. Villarreal CF, Prado WA. Modulation of persistent nociceptive inputs in the anterior pretectal nucleus of the rat. *Pain* 2007; 132: 42-52.

97. Arcioni R, Della Rocca M, Romanò S, et al. Ondansetron inhibits the analgesic effects of tramadol: a possible 5-HT(3) spinal receptor involvement in acute pain in humans. *Anesth and Analg* 2002; 94: 1553-7.
98. Zhang R, Nagata T, Hayashi T, et al. Intracerebroventricular injection of trazodone produces 5-HT receptor subtype mediated anti-nociception at the supraspinal and spinal levels. *Eur Neuropsychopharmacol* 2004; 14: 419-24.
99. Antti Pertovaara. Noradrenergic pain modulation. *Prog Neurobiol* 2006; 80: 55-56.
100. Proudfit H.K. Pharmacologic evidence for the modulation of nociception by noradrenergic neurons. *Prog Brain Res* 1988; 77: 357-370.
101. Doyle CA, Maxwell DJ. Ultrastructural analysis of noradrenergic nerve terminals in the cat lumbosacral spinal dorsal horn: a dopamine-beta-hydroxylase immunocytochemical study. *Brain Res* 1991; 563: 329-333.
102. Nalepa I, Vetulani J, Borghi V, et al. Formalin hindpaw injection induces changes in the [3H]prazosin binding to alpha1- adrenoceptors in specific regions of the mouse brain and spinal cord. *J Neural Transmission* 2005; 112: 1309-19.
103. Roudet C, Savasta M, Feuerstein C. Normal distribution of alpha-1 adrenoceptors in the rat spinal cord and its modification after noradrenergic denervation: a quantitative autoradiographic study. *J Neurosci Res* 1993; 34: 44-53.
104. Day HE, Campeau S, Watson SJ Jr, et al. Distribution of alpha 1a, alpha 1b and alpha 1d adrenergic receptor mRNA in the rat brain and spinal cord. *J Chem Neuroanat* 1997; 13: 115-39.
105. Patterson SI, Hanley MR. Autoradiographic evidence for beta-adrenergic receptors on capsaicin-sensitive primary afferent terminals in rat spinal cord. *Neurosci Lett* 1987; 78:17-21.
106. Mizukami T. Immunocytochemical localization of beta2-adrenergic receptors in the rat spinal cord and their spatial relationships to tyrosine hydroxylase-immunoreactive terminals. *Kurume Med J* 2004; 51:175-183.
107. Westlund KN, Zhang D, Carlton SM, et al. Noradrenergic innervation of somatosensory thalamus and spinal cord. *Prog Brain Res* 1991; 88: 77-88.
108. Kwiat GC, Basbaum AI. The origin of brainstem noradrenergic and serotonergic projections to the spinal cord dorsal horn in the rat. *Somatosens Mot Res* 1992; 9: 157-173.
109. Westlund KN, Coulter JD. Descending projections of the locus coeruleus and subcoeruleus/medial parabrachial nuclei in monkey: axonal transport

- studies and dopamine-b-hydroxylase immunocytochemistry. *Brain Research* 2006; 2: 235-264.
110. Fields HL, Basbaum AI, Heinricher MM: Central nervous system mechanisms of pain modulation. In: McMahon, SB, Koltzenburg M. (eds.), *Wall and Melzack's Textbook of Pain* (5th ed.) China, Elsevier, 2006; 125-142.
 111. Holmberg M, Fagerholm V, Scheinin M. Regional distribution of α -2c adrenoceptors in brain and spinal cord of control mice and transgenic mice overexpressing the α 2C-subtype: an autoradiographic study with [^{3} H]RX821002 and [^{3} H]rauwolscine. *Neuroscience* 2003; 117: 875-898.
 112. Talley EM, Rosin DL, Lee A, Guyenet PG, Lynch KR. Distribution of α 2A adrenergic receptor-like immunoreactivity in the rat central nervous system. *J Comp Neurol* 1996; 372: 111-134.
 113. Tavares I, Lima D. The caudal ventrolateral medulla as an important inhibitory modulator of pain transmission in the spinal cord. *J Pain* 2002; 3: 337-346.
 114. Ungerstedt U. Stereotaxic mapping of the monoamine pathways in the rat brain. *Acta Physiol Scand* 1971; 367: 1-48
 115. Unnerstall JR, Kopajtic TA, Kuhar MJ. Distribution of α 2 agonist binding sites in the rat and human central nervous system: analysis of some functional, anatomic correlates of the pharmacologic effects of clonidine and related adrenergic agents. *Brain Res* 1984; 7: 69-101.
 116. Scheinin M, Lomasney JW, Hayden-Hixson DM, et al. Distribution of α 2-adrenergic receptor subtype gene expression in rat brain. *Brain Res* 1994; 21: 133-149.
 117. Pertovaara A. Antinociception in bulboreticular neurons of the rat produced by spinally administered medetomidine, an α 2-adrenoceptor agonist. *Eur J Pharmacol* 1991; 204: 9-14.
 118. Pertovaara A, Hämäläinen MM. Spinal potentiation and supraspinal additivity in the antinociceptive interaction between systemically administered α - adrenoceptor agonist and cocaine in the rat. *Anesth Analg* 1994; 79: 261-266.
 119. Jasmin L, Boudah A, Ohara PT. Long-term effects of decreased noradrenergic central nervous system innervation on pain behavior and opioid antinociception. *J Comp Neurol* 2003; 460: 38-55.

120. Richerson GB. The autonomic nervous system. In: Boron, WF, Boulpaep EL (eds.), *Medical Physiology* (6 th ed). Philadelphia, Saunders, 2003; 378-398.
121. Aicher S.A, Randich A. Antinociception and cardiovascular responses produced by electrical stimulation in the nucleus tractus solitarius, nucleus reticularis ventralis, and the caudal medulla. *Pain* 1990; 42: 103-119.
122. Olson VG, Heusner CL, Bland RJ,et al. Role of noradrenergic signaling by the nucleus tractus solitarius in mediating opiate reward. *Science* 2006; 311: 1017-1020.
123. Chudler E, Dong W.K. The role of the basal ganglia in nociception and pain. *Pain* 1995; 60: 3-38.
124. Hagelberg N, Jääskeläinen SK, Martikainen IK,et al. Striatal dopamine D2 receptors in modulation of pain in humans: a review.*Eur J Pharmacol* 2004; 500: 187-192.
125. Carstens E. Inhibition of spinal dorsal horn neuronal responses to noxious skin heating by medial hypothalamic stimulation in the cat. *J Neurophysiol* 1982; 48: 808-822.
126. Yirmiya R, Ben-Eliyahu S, Shavit Y,et al. Stimulation of the hypothalamic paraventricular nucleus produces analgesia not mediated by vasopressin or endogenous opioids. *Brain Res* 1990; 537: 169-174.
127. Truesdell LS, Bodnar RJ, 1987. Reduction in cold-water swim analgesia following hypothalamic paraventricular nucleus lesions. *Physiol Behav* 1987; 39: 727-731.
128. Craig A.D. Pain mechanisms: labeled lines versus convergence in central processing. *Annu Rev Neurosci* 2003; 26: 1-30.
129. Cooper JR, Bloom FE, Roth HR. *The Biochemical Basis of Neuropharmacology*. 8th ed. Oxford, Oxford University Press, 2003; 199-205
130. Condes-Lara, M. Different direct pathways of locus coeruleus to medial prefrontal cortex and centrolateral thalamic nucleus: electrical stimulation effects on the evoked responses to nociceptive peripheral stimulation. *Eur J Pain* 1998; 2: 15-23.
131. Asano T, Dohi S, Ohta S,et al. Antinociception by epidural and systemic alpha(2)-adrenoceptor agonists and their binding affinity in rat spinal cord and brain. *Anesth Analg* 2000; 90: 400-407.

132. Reddy SV, Maderdrut JL, Yaksh TL. Spinal cord pharmacology of adrenergic agonist-mediated antinociception. *J Pharmacol Exp Ther* 1980; 213: 525-33.
133. Howe JR, Wang JY, Yaksh TL. Selective antagonism of the antinociceptive effect of intrathecally applied alpha adrenergic agonists by intrathecal prazosin and intrathecal yohimbine. *J Pharmacol Exp Ther* 1983; 224:552 -8
134. Takano Y, Takano M, Yaksh TL. The effect of intrathecally administered imiloxan and WB4101: possible role of alpha 2-adrenoceptor subtypes in the spinal cord. *Eur J Pharmacol* 1992; 219: 465-8.
135. Yaksh TL, Reddy SV. Studies in the primate on the analgetic effects associated with intrathecal actions of opiates, alpha-adrenergic agonists and baclofen. *Anesthesiology* 1981; 54: 451-67.
136. Stone LS, MacMillan LB, Kitto KF, et al. The alpha 2a adrenergic receptor subtype mediates spinal analgesia evoked by alpha 2 agonists and is necessary for spinal adrenergic-opioid synergy. *The Journal of Neuroscience* 1997; 17: 7157-65.
137. Fairbanks CA, Wilcox GL. Moxonidine, a selective alpha2-adrenergic and imidazoline receptor agonist, produces spinal antinociception in mice. *J Pharmacol Exp Ther* 1999; 290: 403-12.
138. Miranda HF, Sierralta F, Pinardi G. An isobolographic analysis of the adrenergic modulation of diclofenac antinociception. *Anesth and Analg* 2001; 93: 430-5.
139. Millan MJ, Bervoets K, Rivet JM, et al. Multiple alpha-2 adrenergic receptor subtypes. II. Evidence for a role of rat R alpha-2A adrenergic receptors in the control of nociception, motor behavior and hippocampal synthesis of noradrenaline. *J Pharmacol Exp Ther* 1994; 270: 958-72.
140. Furui T, Harty GJ, Yaksh TL. Studies on the effects of opioid, noradrenergic and serotonergic antagonists on the antinociceptive effects of electroconvulsive shock. *Brain Res* 1986; 367: 162-8.
141. Jørum E. Noradrenergic mechanisms in mediation of stress-induced hyperalgesia in rats. *Pain* 1988; 32: 349-55.
142. Sagen J, Proudfit HK. Evidence for pain modulation by pre- and postsynaptic noradrenergic receptors in the medulla oblongata. *Brain Res* 1985; 331: 285-93.
143. Frederick J. Ehlert, William R. Roeske, et al. Molecular Biology, Pharmacology, and Brain Distribution of Subtypes of the Muscarinic Receptor. *Neuropsychopharmacology* 1999; 25: 75-80.

144. Duttaroy A, Gomeza J, Gan JW,et al. Evaluation of muscarinic agonist-induced analgesia in muscarinic acetylcholine receptor knockout mice. *Mol Pharmacol* 2002; 62: 1084-93.
145. Spinella M, Znamensky V, Moroz M,et al. Actions of NMDA and cholinergic receptor antagonists in the rostral ventromedial medulla upon b-endorphin analgesia elicited from the ventrolateral periaqueductal gray. *Brain Res* 1999; 829: 151-159.
146. Cortés R, Palacios JM. Muscarinic cholinergic receptor subtypes in the rat brain. I.Quantitative autoradiographic studies. *Brain Res* 1986; 362: 227-238.
147. Ma HC, Dohi S, Wang YF,et al. The antinociceptive and sedative effects of carbachol and oxycodone administered into brainstem pontine reticular formation and spinal subarachnoid space in rats. *Anesth Analg* 2001; 92: 1307-15.
148. Abe K, Taguchi K, Kato M,et al. Characterization of muscarinic receptor subtypes in the rostral ventrolateral medulla and effects on morphine-induced antinociception in rats. *Eur J Pharmacol* 2003; 465: 237-49.
149. Waelbroeck M, Tastenoy M, Camus J,et al. Binding of selective antagonists to four muscarinic receptors (M1 to M4) in rat forebrain. *Mol Pharmacol* 1990; 38: 267-73.
150. Yasuda RP, Ciesla W, Flores LR,et al. Development of antisera selective for m4 and m5 muscarinic cholinergic receptors: distribution of m4 and m5 receptors in rat brain. *Mol Pharmacol* 1993; 43: 149-57.
151. Naguib M, Yaksh TL. Characterization of muscarinic receptor subtypes that mediate antinociception in the rat spinal cord. *Anesth Analg* 1997; 85: 847-53.
152. Höglund AU, Baghdoyan HA. M2, M3 and M4, but not M1, muscarinic receptor subtypes are present in rat spinal cord. *J Pharmacol Exp Ther* 1997; 281: 470-7.
153. Wei J, Walton EA, Milici A,et al. m1-m5 muscarinic receptor distribution in rat CNS by RT-PCR and HPLC. *J Neurochemistry* 1994; 63: 815-21.
154. Chen SR, Pan HL. Activation of muscarinic receptors inhibits spinal dorsal horn projection neurons: role of GABAB receptors. *Neuroscience* 2004; 125: 141-8.
155. Zhang HM, Li DP, Chen SR,et al. M2, M3, and M4 receptor subtypes contribute to muscarinic potentiation of GABAergic inputs to spinal dorsal horn neurons. *J Pharmacol Exp Ther* 2005; 313: 697-704.

156. Chen SR, Wess J, Pan HL. Functional activity of the M2 and M4 receptor subtypes in the spinal cord studied with muscarinic acetylcholine receptor knockout mice. *J Pharmacol Exp Ther* 2005; 313: 765-70.
157. Gotti C, Zoli M, Clementi F. Brain nicotinic acetylcholine receptors: native subtypes and their relevance. *Trends Pharmacol Sci* 2006; 27: 482-91.
158. Marubio LM, del Mar Arroyo-Jimenez M, Cordero-Erausquin M, et al. Reduced antinociception in mice lacking neuronal nicotinic receptor subunits. *Nature* 1999; 398: 805-810.
159. Bitner RS, Nikkel AL, Curzon P, et al. Role of the nucleus raphe magnus in antinociception produced by ABT-594: immediate early gene responses possibly linked to neuronal nicotinic acetylcholine receptors on serotonergic neurons. *J Neurosci* 1998; 18: 5426-32.
160. Haberberger RV, Bernardini N, Kress M, et al. Nicotinic acetylcholine receptor subtypes in nociceptive dorsal root ganglion neurons of the adult rat. *Auton Neurosci* 2004; 113: 32-42.
161. Khan IM, Stanislaus S, Zhang L, et al. A-85380 and epibatidine each interact with disparate spinal nicotinic receptor subtypes to achieve analgesia and nociception. *J Pharmacol Exp Ther* 2001; 297: 230-9.
162. Höglund AU, Hamilton C, Lindblom L. Effects of microdialyzed oxotremorine, carbachol, epibatidine, and scopolamine on intraspinal release of acetylcholine in the rat. *J Pharmacol Exp Ther* 2000; 295: 100-4.
163. Ma HC, Dohi S, Wang YF. The antinociceptive and sedative effects of carbachol and oxycodone administered into brainstem pontine reticular formation and spinal subarachnoid space in rats. *Anesth Analgesia* 2001; 92: 1307-15.
164. Naguib M, Yaksh TL. Characterization of muscarinic receptor subtypes that mediate antinociception in the rat spinal cord. *Anesth Analg* 1997; 85: 847-53.
165. Gillberg PG, Gordh T Jr, Hartvig P, et al. Characterization of the antinociception induced by intrathecally administered carbachol. *Pharmacol Toxicol* 1989; 64: 340-3.
166. Damaj MI, Meyer EM, Martin BR. The antinociceptive effects of $\alpha 7$ nicotinic an acute pain model. *Neuropharmacology* 2000; 39: 2785-91.
167. Pedigo NW, Dewey WL, Harris LS. Determination and characterization of the antinociceptive activity of intraventricularly administered acetylcholine in mice. *J Pharmacol Exp Ther* 1975; 193: 845-52.

168. Beilin B, Bessler H, Papismedov L. Continuous physostigmine combined with morphine-based patient-controlled analgesia in the postoperative period. *Acta Anaesthesiol Scand* 2005; 49: 78-84.
169. Tekol Y, Eminel S. Combined use of tertiary amine parasympathomimetics with a quaternary amine parasympatholitic- a new perspective to use parasympathomimetic drugs for systemic analgesia. *Pharmazie* 2002; 57: 485-6.
170. Contreras E, Tamayo L, Quijada L. Sensitivity changes to morphine and other drugs induced by cholinergic blockade. *Arc Int de Pharmacodyn Thér* 1975; 214: 206-12.
171. Ghelardini C, Galeotti N, Bartolini A. Caffeine induces central cholinergic analgesia. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1997; 356: 590-5.
172. Iwamoto ET. Antinociception after nicotine administration into the mesopontine tegmentum of rats: evidence for muscarinic actions. *J Pharmacol and Exp Ther* 1989; 251: 412-21.
173. Ishizawa Y, Ma HC, Dohi S, et al. Effects of cholinomimetic injection into the brain stem reticular formation on halothane anesthesia and antinociception in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 2000; 293: 845-51.
174. Brodie MS, Proudfit HK. Antinociception induced by local injections of carbachol into the nucleus raphe magnus in rats: alteration by intrathecal injection of monoaminergic antagonists. *Brain Res* 1986; 371: 70-9.
175. Klamt JG, Prado WA. Antinociception and behavioral changes induced by carbachol microinjected into identified sites of the rat brain. *Brain Res* 1991; 549: 9-18.
176. Franco AC, Prado WA. Antinociceptive effects of stimulation of discrete sites in the rat hypothalamus: evidence for the participation of the lateral hypothalamus area in descending pain suppression mechanisms. *Braz J Biol Res* 1996; 29: 1531-41.
177. Holden JE, Naleway E. Microinjection of carbachol in the lateral hypothalamus produces opposing actions on nociception mediated by alpha(1)- and alpha(2)- adrenoceptors. *Brain Res* 2001; 911:27–36.
178. Oliveira MA, Prado WA. Antinociception induced by stimulating amygdaloid nuclei in rats: changes produced by systemically administered antagonists. *Braz J Biol Res* 1998; 31:681-90.
179. Kumar A, Raghubir R, Dhawan BN. Atropine and naloxone sensitive stimulation produced analgesia from pretectal nucleus in rat. *Neuroreport* 1992; 3: 591-3.

180. Fürst S. Transmitters involved in antinociception in the spinal cord. *Brain Res Bull* 1999; 48:129-41.
181. Kovacs KJ, Cai Y, Larson AA. Neuronal nitric oxide synthase (nNOS) mRNA is down-regulated, and constitutive NOS enzymatic activity decreased, in thoracic dorsal root ganglia and spinal cord of the rat by a substance P N-terminal metabolite. *Eur J Neurosci* 2001; 14: 577-84.
182. Tao YX, Johns RA. Activation of cGMP-dependent protein kinase I α is required for N-methyl-D-aspartate- or nitric oxide-produced spinal thermal hyperalgesia. *Eur J Pharmacol* 2000; 392:141-145.
183. Larson AA, Kovacs KJ, Cooper JC, et al. Transient changes in the synthesis of nitric oxide result in long-term as well as short-term changes in acetic acid-induced writhing in mice. *Pain* 2000; 86: 103-11.
184. Shibata S, Mashimoto T, Ohara A, et al. Intracerebroventricular administration of a nitric oxide-releasing compound, NOC-18, produces thermal hyperalgesia in rats. *Neurosci Lett* 1995; 187: 103-6.
185. Yamaguchi H, Naito H. Antinociceptive synergistic interaction between morphine and n omega-nitro l-arginine methyl ester on thermal nociceptive tests in the rats. *Can J Anesth* 1996; 43:975-81.
186. Ji XQ, Zhu XZ. Possible involvement of nitric oxide in arginine-induced analgesia. *Zhongguo yao li xue bao* 1993; 14: 289-91.
187. Kawabata A, Umeda N, Takagi H. L-arginine exerts a dual role in nociceptive processing in the brain: involvement of the kyotorphin-Met-enkephalin pathway and NO-cyclic GMP pathway. *Br J Pharmacology* 1993; 109: 73-9.
188. Duarte ID, Ferreira SH. L-NAME causes antinociception by stimulation of the arginine-NO-cGMP pathway. *Mediators Inflamm* 2000; 9: 25-30.
189. Moore PK, Oluyomi AO, Babbedge RC, et al. L-NG-nitro arginine methyl ester exhibits antinociceptive activity in the mouse. *Br J Pharmacol* 1991; 102: 198-202.
190. Spinella M, Bodnar RJ. Nitric oxide synthase inhibition selectively potentiates swim stress antinociception in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 1994; 47: 727-33.
191. Olofsson C, Ekblom A, Ekman-Ordeberg G, et al. Increased cerebrospinal fluid concentration of aspartate but decreased concentration of nitric oxide breakdown products in women experiencing visceral pain during active labour. *Neuroreport* 1997; 8: 995-8.

192. Giordano J, Rogers L. Antinociceptive effects of the novel anxiolytic buspirone in three pain tests in rats. *Pain* 1989; 39: 109-13.
193. Bardin L, Bardin M, Lavarenne J, et al. Effect of intrathecal serotonin on nociception in rats: influence of the pain test used. *Exp Brain Res* 1997; 113: 86-101.
194. Ben-Sreti MM, Gonzalez JP, Sewell RD. Effects of elevated calcium and calcium antagonists on 6,7-benzomorphan-induced analgesia. *Eur J Pharmacol* 1983; 90: 385-91.
195. Korzeniewska-Rybicka I, Płażnik A. Analgesic effect of antidepressant drugs. *Pharmacol Biochem Behav* 1998; 59: 331-338.
196. D'Amour FE and Smith DL. A method for determining loss of pain sensation. *J Pharmacol Exp Ther* 1941; 72: 74-79.
197. Irwin S, Houde RW, Bennett DR, et al. The effects of morphine, methadone and meperidine on some reflex responses of spinal animals to nociceptive stimulation. *J Pharmacol Exp Ther* 1951; 101: 132-143.
198. Eddy NB and Leimbach D. Synthetic analgesics: II. Dithienylbutenyl and dithienyl-butylamines. *J Pharmacol Exp Ther* 1953; 107: 385-393.
199. J Knoll, K Kelemen, B Knoll. Experimental studies on the higher nervous activity of animals. I. A method for the elaboration of a non-extinguishable conditioned reflex in the rat. *Acta Physiol Hung* 1955; 8: 327-344.
200. Hayashi G, Takemori AE. The type of analgesic-receptor interaction involved in certain analgesic assays. *Eur J of Pharmacol* 1971; 16: 63-6.
201. Vyklicky L. Techniques for the study of pain in animals. In: Bonica JJ, Liebeskind JC, and Albe-Fessard DG (eds). *Advances in Pain Research and Therapy*. Vol 3, 1979; 727-745.
202. Le Bars D, Gozariu M, Cadden SW. Animal models of nociception. *Pharmacol Rev* 2001; 53: 597-652.
203. Del Pozo E, Caro G, Baeyens JM. Analgesic effects of several calcium channel blockers in mice. *Eur J Pharmacol* 1987; 137: 155-60.
204. Dubuisson D, Dennis SG. The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. *Pain* 1977; 4: 161-74.
205. Jourdan D, Ardid D, Bardin L, et al. A new automated method of pain scoring in the formalin test in rats. *Pain* 1997; 71: 265-70.

206. Hunskaar S, Hole K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. *Pain* 1987; 30: 103-14.
207. Iwu MM, Anyanwu BN. Phytotherapeutic profile of Nigerian herbs. I: Anti-b inflammatory and anti-arthritic agents. *J Ethnopharmacol* 1982; 6: 263-74.
208. Randall Lo, Selitto Jj. A method for measurement of analgesic activity on inflamed tissue. *Arch Int Pharmacodyn Thér* 1957; 111: 409-419.
209. Giordano J, Rogers L. Antinociceptive effects of the novel anxiolytic buspirone in three pain tests in rats. *Pain*. 1989; 39: 109-13.
210. Ness TJ, Gebhart GF. Colorectal distension as a noxious visceral stimulus: physiologic and pharmacologic characterization of pseudoaffective reflexes in the rat. *Brain Res* 1988; 450: 153–69.
211. Nakamura M, Ferreira SH. Peripheral analgesic action of clonidine: mediation by release of endogenous enkephalin-like substances. *Eur J Pharmacol* 1988; 146: 223-228.
212. Hözl R, Möltner A, Neidig CW. Somatovisceral interactions in visceral perception: abdominal masking of colonic stimuli. *Integr Physiol Behav Sci*. 1998; 33: 246-79.
213. Burton MB, Gebhart GF. Effects of kappa-opioid receptor agonists on responses to colorectal distension in rats with and without acute colonic inflammation. *J Pharmacol Exp Ther* 1998; 285: 707-15.
214. Rouzade ML, Anton P, Fioramonti J, et al. Reduction of the nociceptive response to gastric distension by nitrate ingestion in rats. *Aliment Pharmacol Therapeutics* 1999; 13:1235-41.
215. Colburn RW, Coombs DW, Degnan CC, et al. Mechanical visceral pain model: chronic intermittent intestinal distention in the rat. *Physiol Behav* 1989; 45: 191-7.
216. Giamberardino MA, Valente R, de Bigontina P, et al. Artificial ureteral calculosis in rats: behavioural characterization of visceral pain episodes and their relationship with referred lumbar muscle hyperalgesia. *Pain* 1995; 61: 459-69.
217. Ness TJ, Gebhart GF. Colorectal distension as a noxious visceral stimulus: physiologic and pharmacologic characterization of pseudoaffective reflexes in the rat. *Brain Res* 1988; 450: 153-69.

218. Stahl SM. Basic psychopharmacology of antidepressants, part 1: Antidepressants have seven distinct mechanisms of action. *J Clin Psychiatry* 1998; 59: 5-14.
219. Rogan MT, LeDoux JE. Emotion: systems, cells, synaptic plasticity. *Cell* 1996; 85: 469-75.
220. Micó JA, Ardid D, Berrocoso E, et al. Antidepressants and pain. *Trends Pharmacol Sci* 2006; 27: 348-54.
221. Fishbain DA, Cutler R, Rosomoff HL, et al. Evidence-based data from animal and human experimental studies on pain relief with antidepressants: a structured review. *Pain Med* 2000; 1: 310-6.
222. Ward N, Bokan JA, Phillips M, et al. Antidepressants in concomitant chronic back pain and depression: doxepin and desipramine compared. *J Clin Psychiatry* 1984; 45: 54-57.
223. Saarto T, Wiffen PJ. Antidepressants for neuropathic pain. *Cochrane Database of Syst Rev* 2005; 20: CD005454.
224. Rojas-Corrales MO, Casas J, Moreno-Brea MR, et al. Antinociceptive effects of tricyclic antidepressants and their noradrenergic metabolites. *Eur Neuropsychopharmacol* 2003; 13: 355-63.
225. Milligan K. Prescribing antidepressants in general practice. Tricyclic antidepressants are also used for relief of chronic pain. *BMJ* 1997; 314: 827-8.
226. Weber WE. Pharmacotherapy for neuropathic pain caused by injury to the afferent nerve fibers. *Ned Tijdschr Geneesk* 2001; 145: 813-7.
227. Arnold LM, Keck PE Jr, Welge JA. Antidepressant treatment of fibromyalgia. A meta-analysis and review. *Psychosomatics* 2000; 41: 104-13.
228. Galer BS. Neuropathic pain of peripheral origin: advances in pharmacologic treatment. *Neurology* 1995; 45: 17-25.
229. Bonezzi C, Demartini L. Treatment options in postherpetic neuralgia. *Acta Neurol Scand Supp* 1999; 173: 25-35.
230. Otsuka N, Kiuchi Y, Yokogawa F, et al. Antinociceptive efficacy of antidepressants: assessment of five antidepressants and four monoamine receptors in rats. *J Anesth* 2001; 15: 154-8.
231. Sindrup SH, Otto M, Finnerup NB, et al. Antidepressants in the treatment of neuropathic pain. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2005; 96: 399-409.

232. Michael-Titus A, Costentin J. Analgesic effects of metopramine and evidence against the involvement of endogenous enkephalins in the analgesia induced by tricyclic antidepressants. *Pain* 1987; 31: 391-400.
233. Paudel KR, Das BP, Rauniar GP, et al. Antinociceptive effect of amitriptyline in mice of acute pain models. *Indian J Exp Biol* 2007; 45: 529-31.
234. Takahashi RN, Paz MM. Influence of naloxone on analgesic effects of antidepressants in mice. *Braz J Med Biol Res* 1987; 20: 607-10.
235. Isenberg KE, Cicero TJ. Possible involvement of opiate receptors in the pharmacological profiles of antidepressant compounds. *Eur J Pharmacol* 1984; 103: 57-63.
236. Ghelardini C, Galeotti N, Bartolini A. Antinociception induced by amitriptyline and imipramine is mediated by α_2A -adrenoceptors. *Jpn J Pharmacol* 2000; 82: 130-7.
237. Sierralta F, Pinardi G, Mendez M, et al. Interaction of opioids with antidepressant-induced antinociception. *Psychopharmacology* 1995; 122: 374-8.
238. Yokogawa F, Kiuchi Y, Ishikawa Y, et al. An investigation of monoamine receptors involved in antinociceptive effects of antidepressants. *Anesth Analg* 2002; 95: 163-8.
239. Tura B, Tura SM. The analgesic effect of tricyclic antidepressants. *Brain Research* 1990; 518:19-22.
240. De Felipe MC, de Ceballos ML, Fuentes JA. Hypoalgesia induced by antidepressants in mice: a case for opioids and serotonin. *Eur J Pharmacol* 1986; 125: 193-9.
241. Taiwo YO, Levine JD. Serotonin is a directly-acting hyperalgesic agent in the rat. *Neuroscience* 1992; 48: 485-90.
242. Tokunaga A, Saika M, Senba E. 5-HT_{2A} receptor subtype is involved in the thermal hyperalgesic mechanism of serotonin in the periphery. *Pain* 1998; 76: 349-55.
243. Doak GJ, Sawynok J. Formalin-induced nociceptive behavior and edema: involvement of multiple peripheral 5-hydroxytryptamine receptor subtypes. *Neuroscience* 1997; 80: 939-49.
244. Hirata T, Keto Y, Nakata M, et al. Effects of serotonin 5-HT₃ receptor antagonists on stress-induced colonic hyperalgesia and diarrhoea in rats: a comparative study with opioid receptor agonists, a muscarinic receptor

- antagonist and a synthetic polymer. *Neurogastroenterol Motil* 2008; 20: 557-65.
245. Langer JC, Liebman SM, Monk PK, et al. Mast cell mediators and peritoneal adhesion formation in the rat. *J Surg Res* 1995; 59: 344-8.
 246. Fiorica-Howells E, Maroteaux L, Gershon MD. Serotonin and the 5-HT(2B) receptor in the development of enteric neurons. *J Neurosci* 2000; 20: 294-305.
 247. Fiorica-Howells E, Maroteaux L, Gershon MD. 5-HT2B receptors are expressed by neuronal precursors in the enteric nervous system of fetal mice and promote neuronal differentiation. *Ann N Y Acad Sci* 1998; 861:246.
 248. Liu MT, Rayport S, Jiang Y, Murphy DL, et al. Expression and function of 5-HT3 receptors in the enteric neurons of mice lacking the serotonin transporter. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002; 283:G1398-411.
 249. Greenwood-Van Meerveld B, Venkova K, Hicks G, et al. Activation of peripheral 5-HT receptors attenuates colonic sensitivity to intraluminal distension. *Neurogastroenterol Motil* 2006; 18: 76-86.
 250. Käll E, Lindström E, Martinez V. The serotonin reuptake inhibitor citalopram does not affect colonic sensitivity or compliance in rats. *Eur J Pharmacol* 2007; 570: 203-11.
 251. Shin SW, Eisenach JC. Peripheral nerve injury sensitizes the response to visceral distension but not its inhibition by the antidepressant milnacipran. *Anesthesiology* 2004; 100: 671-5.
 252. Coates MD, Johnson AC, Greenwood-Van Meerveld B, et al. Effects of serotonin transporter inhibition on gastrointestinal motility and colonic sensitivity in the mouse. *Neurogastroenterol and Motil* 2006; 18: 464-71.
 253. Alhaider AA. Antinociceptive effect of ketanserin in mice: involvement of supraspinal 5-HT2 receptors in nociceptive transmission. *Brain Res* 1991; 543: 335-40.
 254. Barber A, Harting J, Wolf HP. Antinociceptive effects of the 5-HT2 antagonist ritanserin in rats: evidence for an activation of descending monoaminergic pathways in the spinal cord. *Neurosci Lett* 1989; 99: 234-8.
 255. Neri M, Marzio L, De Angelis C, et al. Effect of ketanserin, a selective antiserotonergic drug, on human anal canal pressure. *International Journal of Colorectal Disease* 1988; 3:219-21.

256. Gebauer A, Merger M, Kilbinger H. Modulation by 5-HT₃ and 5-HT₄ receptors of the release of 5-hydroxytryptamine from the guinea-pig small intestine. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1993; 347: 137-40.
257. Dogrul A, Seyrek M. Systemic morphine produce antinociception mediated by spinal 5-HT₇, but not 5-HT_{1A} and 5-HT₂ receptors in the spinal cord. *Br J Pharmacol* 2006; 149: 498-505.
258. Sivarao DV, Newberry K, Lodge NJ. Effect of the 5-HT_{1A} receptor partial agonist buspirone on colorectal distension-induced pseudoaffective and behavioral responses in the female Wistar rat. *Eur J Pharmacol* 2004; 494: 23-9.
259. Danzebrink RM, Gebhart GF. Evidence that spinal 5-HT₁, 5-HT₂ and 5-HT₃ receptor subtypes modulate responses to noxious colorectal distension in the rat. *Brain Res* 1991; 538: 64-75.
260. Hegde SS, Bonhaus DW, Johnson LG, et al. RS 39604: a potent, selective and orally active 5-HT₄ receptor antagonist. *Br J Pharmacol* 1995; 115: 1087-95.
261. Bharucha AE, Camilleri M, Haydock S, et al. Effects of a serotonin 5-HT₄ receptor antagonist SB-207266 on gastrointestinal motor and sensory junction in humans. *Gut*. 2000; 47: 667-74.
262. Schikowski A, Thewissen M, Mathis C, et al. Serotonin type-4 receptors modulate the sensitivity of intramural mechanoreceptive afferents of the cat rectum. *Neurogastroenterol Motil* 2002; 14: 221-7.
263. Sandrini M, Pini LA, Vitale G. Differential involvement of central 5-HT_{1B} and 5-HT₃ receptor subtypes in the antinociceptive effect of paracetamol. *Inflamm Res* 2003; 52: 347-52.
264. Miranda A, Peles S, McLean PG, et al. Effects of the 5-HT₃ receptor antagonist, alosetron, in a rat model of somatic and visceral hyperalgesia. *Pain* 2006; 126: 54-63.
265. Moss HE, Sanger GJ. The effects of granisetron, ICS 205-930 and ondansetron on the visceral pain reflex induced by duodenal distension. *Br J Pharmacol* 1990; 100: 497-501.
266. Ozdoğan UK, Lähdesmäki J, Mansikka H, et al. Loss of amitriptyline analgesia in alpha 2A-adrenoceptor deficient mice. *Eur J Pharmacol* 2004; 485: 193-6.
267. Gray AM, Pache DM, Sewell RD. Do alpha₂-adrenoceptors play an integral role in the antinociceptive mechanism of action of antidepressant compounds? *Eur J Pharmacol* 1999; 378: 161-8.

268. Brusberg M, Ravnefjord A, Lindgreen M, et al. Oral clonidine inhibits visceral pain-related viscerosomatic and cardiovascular responses to colorectal distension in rats. *Eur J Pharmacology* 2008; 591: 243-51.
269. Ness TJ, Gebhart GF. Differential effects of morphine and clonidine on visceral and cutaneous spinal nociceptive transmission in the rat. *J Neurophysiol* 1989; 62: 220-30.
270. Melchiorre C. Selectivity of alpha 1 and alpha 2 adrenergic agonists and antagonists. *Farmaco Sci* 1980; 35: 535-50.
271. Schreiber S, Backer MM, Pick CG. The antinociceptive effect of venlafaxine in mice is mediated through opioid and adrenergic mechanisms. *Neurosci Lett* 1999; 273: 85-8.
272. Eisenach JC, Gebhart GF. Intrathecal amitriptyline. Antinociceptive interactions with intravenous morphine and intrathecal clonidine, neostigmine, and carbamylcholine in rats. *Anesthesiology* 1995; 83: 1036-45.
273. Hood DD, Eisenach JC, Tuttle R. Phase I safety assessment of intrathecal neostigmine methylsulfate in humans (clinical investigation). *Anesthesiology* 1995; 82: 331-343.
274. Micheal J. Cousins, Phillip O. Bridenbaugh. *Neural Blockade in Clinical Anesthesia and Management of Pain*. 3rd ed. New York, Lippincott-Raven, 1998; 29: 946-947.
275. Elsenbruch S, Wang L, Hollerbach S, et al. Pseudo-affective visceromotor responses and HPA axis activation following colorectal distension in rats with increased cholinergic sensitivity. *Neurogastroenterol Motil* 2004; 16: 801-9.
276. Zarrindast MR, Baghdadi B, Sahebgharani M. Potentiation of imipramine-induced antinociception by nicotine in the formalin test. *Eur Neopsychopharmacol* 2004; 14: 71-6.
277. Bhargava VK, Saha L. Cholinergic mechanism in imipramine and morphine antinociception. *Boll Chim Farm* 2001; 140: 201-4.
278. Flood P, Sonner JM, Gong D, et al. Isoflurane hyperalgesia is modulated by nicotinic inhibition. *Anesthesiology* 2002; 97: 192-8.
279. Rana B, McMorn SO, Reeve HL, et al. Inhibition of neuronal nicotinic acetylcholine receptors by imipramine and desipramine. *European Journal of Pharmacology* 1993; 250: 247-51.
280. López-Valdés HE, García-Colunga J, Miledi R. Effects of clomipramine on neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *Eur J Pharmacol* 2002; 444: 13-9.

281. Björkman R, Hallman KM, Hedner J, et al. Henning M. Nonsteroidal antiinflammatory drug modulation of behavioral responses to intrathecal N-methyl-D- aspartate, but not to substance P and amino-methyl-isoxazole-propionic acid in the rat. *J Clin Pharmacol* 1996; 36: 20S-26S.
282. Coutinho SV, Urban MO, Gebhart GF. Role of glutamate receptors and nitric oxide in the rostral ventromedial medulla in visceral hyperalgesia. *Pain* 1998; 78: 59-69.
283. Coutinho SV, Urban MO, Gebhart GF. The role of CNS NMDA receptors and nitric oxide in visceral hyperalgesia. *European Journal of Pharmacology* 2001; 429: 319-25.
284. Fürst S. Transmitters involved in antinociception in the spinal cord. *Brain Res Bull* 1999; 48: 129-41.
285. Garthwaite J, Garthwaite G, Palmer RM, et al. NMDA receptor activation induces nitric oxide synthesis from arginine in rat brain slices. *Eur J Pharmacol* 1989; 172: 413-6.
286. Rosa KA, Gadotti VM, Rosa AO, et al. Evidence for the involvement of glutamatergic system in the antinociceptive effect of ascorbic acid. *Neurosci Lett* 2005; 381: 185-8.
287. Wegener G, Volke V, Harvey BH, et al. Local, but not systemic, administration of serotonergic antidepressants decreases hippocampal nitric oxide synthase activity. *Brain Res* 2003; 959: 128-34.
288. Reynolds IJ, Miller RJ. Tricyclic antidepressants block N-methyl-D-aspartate receptors: similarities to the action of zinc. *Br J Pharmacol* 1988; 95: 95-102.
289. Watanabe Y, Saito H, Abe K. Tricyclic antidepressants block NMDA receptor-mediated synaptic responses and induction of long-term potentiation in rat hippocampal slices. *Neuropharmacology* 1993; 32: 479-86.
290. Eisenach JC, Gebhart GF. Intrathecal amitriptyline acts as an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist in the presence of inflammatory hyperalgesia in rats. *Anesthesiology* 1995; 83: 1046-54.
291. Gültekin H, Ahmedov V. Role of the opioidergic system and nitric oxide in the analgesic effect of venlafaxine. *Yakugaku Zasshi* 2006; 126: 117-21.

292. Beattie DT, Armstrong SR, Shaw JP, et al. The in vivo gastrointestinal activity of TD-5108, a selective 5-HT₄ receptor agonist with high intrinsic activity. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 2008; 378: 139-47.
293. Camilleri M. Serotonin in the gastrointestinal tract. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2009; 16: 53-9.
294. Berrocoso E, Mico JA. Role of serotonin 5-HT_{1A} receptors in the antidepressant-like effect and the antinociceptive effect of venlafaxine in mice. *Int J Neuropsychopharmacol* 2009; 12: 61-71.
295. Bechmann LP, Best J, Haag S, et al. Serotonergic and non-serotonergic effects of two tricyclic antidepressants on visceral nociception in a rat model. *Scand J Gastroenterol* 2009; 44: 680-6.
296. McCleane GJ, Suzuki R, Dickenson AH. Does a single intravenous injection of the 5HT₃ receptor antagonist ondansetron have an analgesic effect in neuropathic pain? A double-blinded, placebo-controlled cross-over study. *Anesth Analg* 2003; 97:1474-8.
297. Langlois A, Pascaud X, Junien JL, et al. Response heterogeneity of 5-HT₃ receptor antagonists in a rat visceral hypersensitivity model. *Eur J Pharmacol* 1996; 318:141-4.
298. Morteau O, Julia V, Eeckhout C, et al. Influence of 5-HT₃ receptor antagonists in visceromotor and nociceptive responses to rectal distension before and during experimental colitis in rats. *Fundam Clin Pharmacol* 1994; 8:553-62.