

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı**

**SIÇANLARDA KARRAGENİN İLE OLUŞAN
NOSİSEPSİYONDA FOSFODİESTERAZ 5 İNHİBİTÖRLERİ
SİLDENAFİL VE VARDENAFİL'İN ANTİNOSİSEPTİF
ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI: NİTRİK OKSİD -
sGMP YOLAĞI VE KALSİYUM'UN ROLÜ**

Ezgi İKİZ GEDİZ

Yüksek Lisans Tezi

Antalya, 2011

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı**

**SIÇANLARDA KARRAGENİN İLE OLUŞAN
NOSİSEPSİYONDA FOSFODİESTERAZ 5
İNHİBİTÖRLERİ SILDENAFİL VE VARDENAFİL'İN
ANTİNOSİSEPTİF ETKİLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI: NİTRİK OKSİD - sGMP
YOLAĞI VE KALSİYUM'UN ROLÜ**

Ezgi İKİZ GEDİZ

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Gülay ŞADAN

**Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi
Tarafından Desteklenmiştir (Proje No: 2009.02.0122.008)**

'Kaynakça Gösterilerek Tezimden Yararlanılabilir'

Antalya, 2011

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne;

Bu çalışma jürimiz tarafından Tıbbi Farmakoloji Programı'nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir. 20 / 07 / 2011

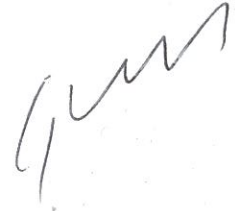
Tez Danışmanı : **Prof. Dr. Gülay ŞADAN**
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı




Üye : **Prof. Dr. Mehmet İSBİR**
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı



Üye : **Prof. Dr. Çağlar ÖĞÜTMAN**
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı



Üye : **Prof. Dr. Sadi S. ÖZDEM**
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı



Üye : **Prof. Dr. Atilla RAMAZANOĞLU**
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi
Anestezi ve Reanimasyon Anabilim Dalı



ONAY:

Bu tez Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun/...../2011 tarih ve/..... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. İsmail ÜSTÜNEL

Enstitü Müdürü

ÖZET

Bu çalışmada, spesifik fosfodiesteraz 5 inhibitörleri (PDE-5) sildenafil ve vardenafil'in, sıçanlarda karragenin ile oluşan nosisepsiyonda periferik antinosiseptik etkileri karşılaştırılmış ve bu etkide L-arjinin/NO/sGMP yolağının yanı sıra kalsiyum'un (Ca^{++}) rolü araştırılmıştır. Çalışmada sıçanların sağ arka pençesine %2'lik taze karragenin solüsyonunun 0.1 ml injeksiyonu ile hiperaleji oluşturulmuştur. Sol pençeye kontrol olarak karragenin'in taşıyıcısı 0.1 ml salin injekte edilmiştir. Oluşan hiperaleji, Randall ve Selitto (1957) tarafından tanımlanan pençe basınç testi ile bir analjezimeter aracılığıyla mekanik nosiseptik basıncın ölçülmesiyle saptanmıştır. Nosisepsiyon oluşturan basınç, karragenin uygulanmasından önce (0. dakika) ve sonra (15, 30, 60 ve 120. dakikalarda) ölçülmüştür. Karragenin'den 30 dakika önce sildenafil (200 μ g/i.pl) ve vardenafil (50 veya 100 μ g/i.pl) injeksiyonu karragenin ile oluşan hiperalejiyi kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaltarak antinosisepsiyon oluşturmuştur. Vardenafil ile oluşan antinosisepsiyonun 100 μ g/i.pl uygulanan grupta 50 μ g/i.pl uygulanan gruba göre daha erken (15. dakika) başladığı ve daha güçlü olduğu saptanmıştır. Sildenafil ve vardenafil'in antinosiseptik etkileri karşılaştırıldığında vardenafil'in 50 μ g/i.pl dozu sildenafil'in 200 μ g/i.pl dozuna göre daha düşük antinosiseptik etki yapmasına karşın vardenafil'in 100 μ g/i.pl dozu sildenafil'in 200 μ g/i.pl dozuna benzer düzeyde antinosisepsiyon oluşturmuştur. Sildenafil ve vardenafil'den 10 dakika önce NO donörü L-arjinin 10 μ g/i.pl uygulanması ile antinosiseptik etkide anlamlı artma olmasına karşın, NO sentaz blokörü L-NAME 100 μ g/i.pl ve spesifik guanilat siklaz inhibitörü ODQ 50 μ g/i.pl uygulanması ile anlamlı azalma görülmüştür. Aynı şekilde sildenafil ve vardenafil'in oluşturduğu antinosisepsiyonun bir Ca^{++} iyonoforu olan A23187'nin 1 μ g/i.pl injeksiyonu ile anlamlı olarak azaldığı bulunmuştur. Sonuç olarak, bu çalışmada sildenafil ve vardenafil'in sıçanlarda karragenin'in oluşturduğu periferik antinosisepsiyonu anlamlı olarak azalttığı ve bu antinosiseptik etkide L-arjinin/NO/sGMP yolağının yanı sıra Ca^{++} 'un hücre içine girişinin inhibisyonunun da rol oynayabileceği kanısına varılmıştır. Ayrıca bu çalışmada literatürde ilk defa sıçanlarda vardenafil'in periferik antinosiseptik etkisi ve mekanizması gösterilmiştir.

Anahtar kelimeler: Sildenafil, vardenafil, periferik antinosisepsiyon, L-arjinin/NO/sGMP yolağı, kalsiyum

ABSTRACT

In this study, we aimed to compare the peripheral antinociception effects of specific phosphodiesterase 5 (PDE-5) inhibitors sildenafil and vardenafil on carrageenan-induced nociception in rats, and to investigate role of calcium besides the role of L-arginin/NO/cGMP pathway. Hyperalgesia was induced by the intraplantar injection of 0.1 mL fresh carrageenan solution to right hind-paw whereas, saline as a vehicle of carrageenan was injected to the left paw. This procedure was already described by Randall and Selitto (1957) as paw pressure test, and used for measuring mechanic nociception pressure via an analgesimeter. Pressure which produced nociception was measured before (0. minute) and after (15.,30., 60. and 120. minutes) carrageenan injection. Sildenafil (200 µg/i.pl) or vardenafil (50 or 100 µg/i.pl) injections which were 30 minutes prior to carrageenan, produced statistically significant antinociception effects by decreasing carrageenan-induced hyperalgesia compared to control group. Moreover, vardenafil-induced antinociception response in 100 µg/i.pl dose was more potent and early-initiated than 50 µg/i.pl vardenafil dose group. Comparison results between sildenafil and vardenafil groups showed that sildenafil produced more potent antinociception effect in 200 µg/i.pl dose than vardenafil-induced in 50 µg/i.pl dose whereas, results were similar in dose of 200 µg/i.pl sildenafil and 100 µg/i.pl vardenafil. Administration of L-arginin (NO donor-10 µg/i.pl) 10 minutes prior to sildenafil or vardenafil injections increased antinociception responses when L-NAME (NO synthase blocker-100 µg/i.pl) and ODQ (specific guanylate cyclase inhibitor-50 µg/i.pl) administrations produced a decrease in antinociception effect of sildenafil or vardenafil. Similarly, antinociception effects of sildenafil and vardenafil were also significantly attenuated in A23187 (Ca⁺⁺ ionophore-1 µg/i.pl) injection.

In conclusion, we demonstrated that sildenafil and vardenafil were significantly reduced carrageenan-induced peripheral nociception in rats and the inhibition of intracellular Ca⁺⁺ entry besides the role of L-arginin/NO/cGMP pathway in this mechanism. In additon, in our study we firstly showed the peripheral antinociceptive effet of vardenafil and related-mechanism in rats.

Key words: Sildenafil, vardenafil, peripheral antinociception, L-arginin/NO/cGMP pathway, calcium

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmalarımda olduğu gibi tezimin hazırlanmasında gösterdiği özveri, öncülük, titizlik ve bilimsel katkılarından dolayı Sayın Hocam Prof. Dr. Gülay ŞADAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca emeklerinden dolayı başta Anabilim Dalımız Başkanı Prof. Dr. Mehmet İSBİR olmak üzere, Yard. Doç. Dr. Cahit NACİTARHAN ve diğer öğretim üyelerimiz ile bölüm arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Eğitimim boyunca her konuda desteklerini hep arkamda hissettiğim eşime ve aileme teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xii
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	4
2.1. Ağrı	4
2.2. Ağrının Sınıflandırılması	4
2.2.1. Nörofizyolojik mekanizmalara göre ağrının sınıflandırılması	5
2.2.1.1. Nöroseptif ağrı	5
2.2.1.2. Nöropatik ağrı	5
2.2.1.3. Psikojenik Ağrı	5
2.2.2. Süreye Göre Ağrının Sınıflandırılması	5
2.2.2.1. Akut Ağrı	5
2.2.2.2. Kronik Ağrı	5
2.2.3. Etiyolojik Faktörlere Göre Ağrının Sınıflandırılması	5
2.2.4. Ağrı Bölgesine Göre Sınıflama	5
2.3. Ağrı Patogenezi ve İletim Yolları	5
2.4. Ağrı mekanizmaları	7
2.4.1. Periferik mekanizmalar	7
2.4.1.1. Transdüksiyon	8
2.4.1.2. Transmisyon	8
2.4.1.3. Modülasyon	9
2.4.1.4. Persepsiyon	9
2.5. Ağrı Teorileri	10
2.5.1. Spesifite Teorisi	10
2.5.2. Patern Teorisi	10
2.5.3. Kapı Kontrol Teorisi	10
2.6. Nörotransmisyonun Güncel Kavramları	11
2.6.1. Geçici reseptör potansiyel kanalları	11
2.6.1.2. Isıya duyarlı geçici reseptör potansiyel kanalları	12
2.6.2. Voltaj Kapılı Kanallar	15
2.6.2.1. Voltaj Kapılı Sodyum Kanalları	15
2.6.2.2. N-tipi Kalsiyum Kanalları	16
2.6.2.3. İki Por Bölge Potasyum Kanalları	17

2.6.2.4.	Asid-duyarlı iyon kanalları	18
2.6.2.5.	Kaşıntı sinyalleri	18
2.6.2.6.	Olası mekanosensörler	19
2.6.2.7.	P2X reseptörleri	19
2.7.	DeneySEL Ağrı Modelleri	20
2.8.	Nitrik Oksid	20
2.8.1.	Nitrik Oksid'in Fizikokimyasal Özelliği	21
2.8.2.	NO Biyosentezi	21
2.8.3.	Nitrik Oksid Sentaz İzoenzimleri	22
2.8.4.	Nitrik Oksid Sentaz İnhibitörleri	23
2.8.5.	Nitrik Oksid Vericileri	23
2.8.6.	Nitrik Oksid'in Fizyolojik ve Fizyopatolojik Etkileri	24
2.8.7.	Nitrik Oksid ve Ağrı	24
2.9.	Periferik Nosisepsiyonda İkinci Haberci Sistemleri	26
2.10.	Fosfodiesteraz Enzim Ailesi	26
2.10.1.	Fosfodiesteraz-5 İzoenzim Ailesi	27
GEREÇ VE YÖNTEM		29
3.1.	Deney Hayvanları	29
3.2.	Deney Protokolü	29
3.2.1.	Karragenin ile hiperaljezi indüksiyonu	29
3.2.2.	Sildenafil ve vardenafil'in antinosiseptif etkisinin değerlendirilmesi	30
3.2.3.	Sildenafil ve vardenafil'in antinosiseptif etkisinde L-arjinin-Nitrik oksid sGMP yolağının rolünün değerlendirilmesi	30
3.2.4.	Sildenafil ve vardenafil'in antinosiseptif etkisinde kalsiyum'un rolü	31
3.2.5.	Deneylerde Kullanılan Maddeler	31
3.2.6.	İstatistiksel Analiz	31
BULGULAR		32
SONUÇLAR		41
TARTIŞMA		42
KAYNAKLAR		45
ÖZGEÇMİŞ		54

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ADMA	:	N-N-dimetilarjinin
ASICs	:	Asit-duyarlı iyon kanalları
Ca⁺⁺	:	Kalsiyum
CGRP	:	Kalsitonin geni ilişkili peptid
cNOS	:	Yapısal (konstitütif) nitrik oksid sentaz
COX	:	Siklooksijenaz
DMSO	:	Dimetil sülfoksit
EDRF	:	Endotel kaynaklı gevşetici faktörün
eNOS	:	Endotelial nitrik oksid sentaz
FAD	:	Flavin adenin dinükleotid
FMN	:	Flavin mononükleotid
GTN	:	Gliseril trinitrit
GTP	:	Guanozin trifosfat
IASP	:	International Association for the Study of Pain (Uluslararası Ağrı Çalışma Derneği)
i.c.v.	:	İntraserebroventriküler
i.pl.	:	İntraplantar
iNOS	:	İndüklenebilir nitrik oksid sentaz
K⁺	:	Potasyum
K2P	:	İki por bölgesi potasyum kanalları
L-NA	:	N-nitro-L-arginin
L-NAA	:	N-amino-L-arginin)
L-NAME	:	N-nitro-L-arginin-metil ester
L-NIO	:	N-iminoetil-L-ornitin
L-NMA	:	N-metil-L-arginin
L-NMMA	:	N-monometil-L-arginin
Mg⁺⁺	:	Magnezyum
Na⁺	:	Sodyum
NADPH	:	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NANK	:	Non-adrenerjik non-kolinerjik
NAV	:	Voltaj kapılı sodyum kanalı
NMDA	:	N-metil,D-aspartat
nNOS	:	Nöronal nitrik oksid sentaz
NOS	:	Nitrik oksid sentaz
NSAİİ	:	Non-steroidal antiinflamatuvar ilaçlar
O₂	:	Oksijen
ODQ	:	1H-[1,2,4]Oxadiazolo[4,3-a] quinox-alin-1-one
PDE	:	Fosfodiesteraz
PDE-5	:	Fosfodiesteraz 5
PG	:	Prostaglandin
PLA2	:	Fosfolipaz A2
sAMP	:	Siklik adenzin monofosfat
SDMA	:	N-N-dimetil-L-arjinin
SERCA	:	Sarkoplazmik endoplazmik retikulum Ca ⁺⁺ -ATPaz
SIN-1	:	Sidonimine

sGC	:	Çözünebilir sitozolik guanilat siklaz
sGMP	:	Siklik guanozin monofosfat
SNP	:	Sodyum nitroprussid
SSS	:	Santral sinir sistemi
TRP channels:		Transient receptor potential channels (geçici reseptör potansiyel kanalları)
TRPV	:	TRP kanal vanilloid alttip
TRPC	:	Canonical TRP
TRPM	:	Melastatin TRP
TRPA	:	Ankyrin TRP
TRPP	:	Polycystin TRP
TRPML	:	Mucolipin TRP
TTX	:	Tetrodotoksin

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
2.1. Nosisepsiyon aşamalarının şematik görünümü	8
2.2. Kapı kontrol teorisi	11
2.3. TRP kanallarının keşfi	12
2.4. Duyusal nöronlarda eksprese edilen iyon kanallarının topolojik yapısı	13
2.5. Memeli hücrelerinde bulunan TRP kanal ailesi	13
2.6. Primer afferent sinyal yolağında N-tipi ve T-tipi kalsiyum kanalları	17
2.7. NO Biyosentezi	22
3.1. Ugo-Basile analjezimeter aracılığıyla nosiseptif basıncın ölçülmesi	30
4.1. Sıçanların sağ arka pençesine % 2/i.pl karragenin injeksiyonu ile oluşturulan hiperaljezinin pençe basınç testi ile ölçülmesi	34
4.2. Karragenin'in oluşturduğu hiperaljeziye sildenafil (200 µg/i.pl)'in antinosiseptif etkisi	34
4.3. Karragenin hiperaljezisinde sildenafil (200 µg/i.pl)'in oluşturduğu antinosisepsiyona L-arjinin (10 µg/i.pl)'in etkisi	35
4.4. Karragenin hiperaljezisinde sildenafil (200 µg/i.pl)'in oluşturduğu antinosisepsiyona L-NAME (100 µg/i.pl)'in etkisi	35
4.5. Karragenin hiperaljezisinde sildenafil (200 µg/i.pl)'in oluşturduğu antinosisepsiyona ODQ (50 µg/i.pl)'in etkisi	36
4.6. Karragenin hiperaljezisinde sildenafil (200 µg/i.pl)'in oluşturduğu antinosisepsiyona A23187 (1 µg/i.pl)'in etkisi	36
4.7. Karragenin ile oluşan hiperaljeziye vardenafil (50 µg/i.pl)'in antinosiseptif etkisi	37
4.8. Karragenin ile oluşan hiperaljeziye vardenafil (100 µg/i.pl)'in antinosiseptif etkisi	37
4.9. Karragenin hiperaljezisinde vardenafil (100 µg/i.pl)'in oluşturduğu antinosisepsiyona L-arjinin (10 µg/i.pl)'in etkisi	38
4.10. Karragenin hiperaljezisinde vardenafil (100 µg/i.pl)'in oluşturduğu antinosisepsiyona L-NAME (100 µg/i.pl)'in etkisi	38
4.11. Karragenin hiperaljezisinde vardenafil (100 µg/i.pl)'in oluşturduğu antinosisepsiyona ODQ (50 µg/i.pl)'in etkisi	39
4.12. Karragenin hiperaljezisinde vardenafil (100 µg/i.pl)'in oluşturduğu antinosisepsiyona A23187 (1 µg/i.pl)'in etkisi	39
4.13. Karragenin hiperaljezisinde sildenafil (200 µg/i.pl) ve farklı dozlarda vardenafil'in (50,100 µg/i.pl) antinosiseptif etkilerinin karşılaştırılması	40

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo		Sayfa
2.1.	Sinir liflerinin özellikleri ve fonksiyonları	7
2.2.	Sodyum kanalları ve ağrıda moleküler ve genetik veriler	16

GİRİŞ

Nitrik oksid (NO), çeşitli fizyolojik fonksiyonların önemli bir mediyatörüdür. NO'nun solubl guanilat siklazı aktive ederek vasküler düz kas hücre gevşemesi, nötrofil kemotaksisi ve santral ve periferik sinir sisteminde sinyal transdüksiyonunun inhibisyonunu içeren bazı süreçlerde ortak bir yolağı oluşturan siklik guanozin monofosfat (sGMP) sentezine yol açtığı ileri sürülmüştür (1,2,3). Çeşitli kanıtlar NO-sGMP sinyal yolağının aynı zamanda nosisepsiyonda rol oynadığını göstermektedir (4,5). Lokal L-arjinin'in uygulanmasının sıçanlarda karragenin ile oluşan hiperaljezide antinosisepsiyon oluşturduğu ve bu etkinin NO sentaz (NOS) inhibitörleri ve solubl guanilat siklaz inhibitörü metilen mavisi ile inhibe edildiği bildirilmiştir (6,7). Dibutiril-sGMP'nin intraplanter (i.pl) enjeksiyonunun antinosisepsiyon oluşturması, sGMP'nin nosiseptörün fonksiyonel up ya da down regulasyonu için çok önemli olduğunu göstermektedir. İntraselüler sGMP konsantrasyonları, guanilat siklazın aktivitesi ve sGMP'ye spesifik fosfodiesterazların yıkım oranı ile düzenlenmektedir (8).

Fosfodiesteraz enzimleri yaygın olarak biyolojik sistemlerde ve memeli dokularında mevcuttur. Siklik nükleotid fosfodiesteraz, ikinci ulak nükleotidler olan sAMP ve sGMP'nin yıkımından sorumludur. Bugüne kadar substrat spesifitesi, hücresel dağılımı ve selektif inhibitörlere duyarlılığı gibi fonksiyonel özellikleri temel alındığında en az 11 PDE izoenzim ailesi ayırdedilmiştir (PDE 1-11). PDE 5, 6 ve 9'un sGMP için spesifik olduğu bildirilmiştir. sGMP-spesifik PDE, sGMP'nin guanozin monofosfat (GMP)'a hidrolizini katalize eder (1).

L-arjinin-NO-sGMP yolağının hem santral hem de periferik nosiseptif olaylarda rolünün olduğu bilinmektedir. NO-sGMP yolağının antinosiseptif rolünden daha çok hiperaljezik rol oynadığını gösteren çeşitli gözlemler vardır. Örneğin i.pl, sistemik ya da spinal NOS inhibitörü L-NAME uygulanmasının formalin testinin ikinci fazında doz-bağımlı antinosisepsiyon oluşturduğu gösterilmiştir. Aynı etki D-NAME ile görülmemiştir. NO-sGMP yolağının nosiseptif ya da inflamatuvar rolü bradikinin, substans P ve karragenin için tanımlanmıştır. Gözlenen bu karmaşanın olası bir açıklaması, bu yolağın rolünün nosiseptif uyarının farklı tipleri ve şiddetleri ile hareket geçiren primer duyuşal nöron grupları arasında değişkenliğe bağlı olarak farklılık göstermesi olabilir. Ancak gözlenen bu farklılıkta diğer faktörlerin önemli bir rol oynaması da olasıdır (9,10).

Sildenafil (Viagra), sGMP'ye spesifik bir PDE-5 inhibitörüdür ve erkeklerde erektil disfonksiyonun tedavisinde yaygın olarak kullanılır. Son zamanlarda sildenafil'in sıçan ve farelerde farklı ağrı modellerinde NO-sGMP yolağı aracılı antinosisepsiyon oluşturduğu bildirilmiştir. Ayrıca, opioidlerin oluşturduğu nosisepsiyonun NO-sGMP yolağının aktivasyonuna bağlı olabileceğine ilişkin çeşitli kanıtlar vardır. Yapılan çalışmalarda sildenafil'in morfin'in analjezik etkisini artırdığı saptanmıştır (9,10,11,12).

Sildenafil, tadalafil ve vardenafil PDE-5 inhibitörü olarak sınıflandırılmalarına karşın bunlar selektiviteleri, farmakokinetikleri ve yan etki profilleri açısından farklılıklar gösterirler. Örneğin, vardenafil'in insan korpus kavernosumunda sildenafil'e göre yaklaşık 25, tadalafil'e göre yaklaşık 48 kat daha güçlü ve selektif PDE-5 inhibitörü olduğu bilinmektedir. Vardenafil ve sildenafil, sGMP'nin purin halkası ile benzerlikleri olan genelde bir nitrojen içeren halka sistemini taşımalarına karşın bu bileşikler PDE-5 ile etkileşim güçlerinde belirgin farklılık gösterirler (13,14,15).

Vardenafil'in farklı çekirdek halkasının PDE-5'in bir veya daha fazla aminoasidi ile güçlü temas sağladığına inanılmaktadır. Ayrıca vardenafil'in yapısındaki nitrojen atomunun farklı pozisyonunun sildenafil ile temasta olmayan bir amino asid ile temas sağladığı ya da onun çekirdek halkada elektron dağılımını değiştirmesi gibi bir indirekt etkisinin olabileceği ileri sürülmüştür. Yine son zamanlarda vardenafil'in PDE-5'ten yavaş ayrılması nedeniyle çok güçlü inhibitör olduğu gösterilmiştir. Hem fonksiyonel (direkt gevşetici etkisi ve NO aracılı yanıtları güçlendirmesi) hem de biyokimyasal deneyler (PDE aktivite deneyleri) temelinde vardenafil'in en güçlü PDE-5 inhibitörü olduğu tanımlanmıştır (15,16,17,18).

Yakın zamanda vardenafil'in sıçan aortu ve tavşan pulmoner arterinde Ca^{++} girişinin inhibisyonunu içeren bir mekanizma ile kısmen gevşeme oluşturduğu gösterilmiştir (19,20). Karasu ve Şadan da monokratalin ile pulmoner hipertansiyon oluşturulan sıçanlarda PDE-5 inhibitörlerinden sildenafil, vardenafil ve tadalafil'in etkilerini araştırmışlar ve her üç ajanın pulmoner arterde NO-sGMP aracılı gevşemeye neden olduğunu, ancak vardenafil'in gevşetici etkisinin diğerlerine göre daha güçlü olmasının Ca^{++} aracılı ek bir mekanizmaya bağlı olabileceğini ileri sürmüşlerdir (21)

L-tipi Ca^{++} kanallarından Ca^{++} 'un hücre içine girişi hücre içi Ca^{++} 'u artırmada başlıca yollardan biridir ve bu kanalların blokajı vazorelaksasyona neden olur ya da kontraksiyonu inhibe eder (22,23). Özellikle vasküler düz kasta L-tipi voltaj kapılı Ca^{++} kanallarının blokajı ile ekstraselüler Ca^{++} 'un uzaklaştırılması ve hücre içi Ca^{++} 'un boşaltılması fonksiyonel yanıtlar için hücreye Ca^{++} kaynaklarını ayırmada önemlidir (24). Vardenafil'in endoteli zedeli pulmoner arterde bir diğer Ca^{++} kanal blokörü olan nifedipin'e benzer etkiler oluşturması, vardenafil'in düz kasta lokalize bir Ca^{++} kanalına etki ettiğinin güçlü göstergesidir. Vardenafil'in, sildenafil ve tadalafil'den farklı olarak insan trombositlerinde trombin'in neden olduğu Ca^{++} mobilizasyonunu inhibe etmesi, tavşan pulmoner arterinde Ca^{++} kanallarının blokajı ile ilişkili ek bir mekanizmasının olduğunu güçlü bir şekilde vurgulamaktadır (19).

Deneysel kanıtlar primer duyuşal nöronun sensitizasyonunda Ca^{++} ve sGMP'nin kritik bir rolünü göstermektedir (10). Voltaj kapılı Ca^{++} kanalları, primer afferent nöronlardaki ağrı sinyallerinin mediyatörleri olarak çok iyi belirlenmiştir (25).

Bu nedenle çalışmamızda sildenafil'den farklı olarak vardenafil'in antinosiseptif etkisinde NO-sGMP yolağı yanı sıra bazı damar yataklarında ve trombositlerde gösterildiğı üzere Ca^{++} 'un hücre içine girişinin inhibisyonunu içeren ek bir mekanizmasının da olabileceğini düşünmekteyiz. Nitekim, morfin analjezisinin Ca^{++} tedavisi ile antagonize edildiğı, Ca^{++} şelatörleri ve antagonistleri ile güçlendiğı, diğere taraftan farklı hayvan stres modellerinde endojen opioid salınımına bağılı analjezi oluştuğı ve bu etkinin divalan katyonlarla antagonize edilirken Ca^{++} kanal blokörleri ile artırıldığı gösterilmiştir. Ca^{++} antagonistlerinin insanlarda cerrahinin neden olduğı ağrı ve stresi de azalttığı da bildirilmiştir (26,27,28,29,30,31).

Bu çalışmada, günümüzde erektil disfonksiyon tedavisinde kullanılan spesifik fosfodiesteraz 5 inhibitörleri sildenafil ve vardenafil'in sıçanlarda karrageninle oluşun nosisepsiyonda periferel antinosiseptif etkilerini karşılaştırmak ve bu etkide olası mekanizmalardan NO-sGMP yolağı ile Ca^{++} 'un rolünü araştırmak amaçlanmıştır. Bu çalışma sıçanlarda karragenin ile oluşun nosisepsiyonda vardenafil'in periferel antinosiseptif etkisini ve mekanizmasını gösterme açısından bir ilk olacaktır.

GENEL BİLGİLER

2.1. Ağrı

Ağrı organizmaya zarar veren etkenler sonucu oluşan bir duyumsamadır. Organizma için hoş olmayan bir duygu olmakla birlikte, ağrı gerçekte organizmanın zararlı durumdan bir an önce uzaklaşmasını sağlaması açısından önemli bir korunma mekanizmasıdır. Ağrı, vücudun belli bir bölgesinden köken alan organik bir nedene bağlı olan veya olmayan, kişiyi kaçış ve panik davranışına yönelten çok faktörlü kompleks bir olgudur ve yıllar boyunca bilim insanları tarafından değişik tanımlar yapılmıştır (32,33).

Merskey'e göre ağrı; potansiyel doku hasarı ile birlikte bulunan, hoş olmayan duyuşsal bir tecrübedir (34). Esener'e göre ağrı; herhangi bir dokuda hasar oluştuğunda ortaya çıkan, kompleks bir algılama olayıdır (35).

Günümüzde, Uluslararası Ağrı Çalışma Derneği (International Association for the Study of Pain, IASP) tarafından yapılmış olan tanım en fazla kabul gören ağrı tanımı olmuştur. IASP' ye göre ağrı, " hoş olmayan, gerçek veya potansiyel doku hasarıyla ilişkili, duyuşsal ve emosyonel oldukça öznel bir deneyimdir". Bu tanıma göre ağrı gerçek bir duyu değil, algıdır ve duyuşsal, emosyonel ve bilişsel bileşenlerden oluşmaktadır. Bu bileşenler ağrının şiddet, süre ve yerleşim olarak algılanmasını (duyuşsal), motivasyonel değişiklikler ve nahoşluk hissi duyuşmasını (duyuşsal), ağrıya bağlı korku, anksiyete ve farkındalık yaratılmasını (bilişsel) sağlar (34,36).

Ağrı kişiden kişiye büyük farklılıklar gösterir, çünkü birçok faktör (cinsiyet, din, dil, ırk, sosyokültürel çevre...) ağrı eşiğini belirler (37). Ağrı korku, anksiyete, depresyon gibi hissi etkenler ve daha önce geçirilmiş ağrı deneyimleri gibi faktörlerden büyük ölçüde etkilenir. Bazı koşullarda pek fark edilmeyen ağrılı uyarılar, başka koşullar altında aynı kişide dayanılmaz derecede ağrı yapabilmektedir (38).

2.2. Ağrının Sınıflandırılması

Uluslararası Ağrı Çalışma Derneği, ağrıyı eksen sistemi adı verilen beş eksenli (bölgeler, sistemler, ağrının geçici özellikleri, ağrı şiddetinin derecesi, geçen zaman ve etyoloji) bir sisteme göre sınıflandırmaktadır (33,34,35,39,40,41).

2.2.1. Nörofizyolojik Mekanizmalara Göre Ağrının Sınıflandırılması

2.2.1.1. Nosiseptif Ağrı

Nosiseptörler, sinir sistemi dışındaki tüm doku ve organlarda bulunan özelleşmiş ağrı reseptörleridir. Ağrı ileten lifler ile omuriliğe oradan da talamusa iletilen uyarılar, nosiseptörlerce algılanır. Nosiseptif ağrı somatik ve viseral ağrı olarak iki alt gruba ayrılır.

Somatik ağrı: Kemik metastaz ağrıları gibi keskin, aniden başlayan, iyi lokalize olan, batma, sızlama ve zonklama şeklinde olan yoğun bir ağrıdır. Daha çok duyusal liflerle taşınırlar.

Viseral ağrı: Safra kesesi ağrılarının sırtta hissedilmesi gibi iç organlardan kaynaklanan, iyi lokalize edilemeyen, yavaş yavaş artan ve diğer bölgelere yayılım gösterebilen, sıkıştırıcı ağrılardır. Daha çok sempatik liflerle taşınırlar.

2.2.1.2. Nöropatik Ağrı

Nöropatik ağrı, nörojenik dokulardaki fonksiyonel bir değişim nedeniyle hissedilen ağrıdır. Nöropatik ağrıda nosiseptif uyarı sürekli ve sürekli. Nosiseptif ağrıdan en belirgin farkı budur (37). Fonksiyon bozukluğu sonucu, sinir mekanik olarak duyarlı hale gelir ve ektopik bir uyarı yayılır. Büyük ve küçük lifler arasında çapraz bir iletişim oluşur. Bu arada merkezi işlevlerde bir hasar gelişir. Elektrik çarpması, yanma, karıncalanma gibi hisler oluşur. Etki yerine göre periferik ve santral nöropatik ağrı olarak 2'ye ayrılır.

2.2.1.3. Psikojenik Ağrı

Ağrıya neden olabilecek herhangi bir doku hasarı olmamasına karşın ortaya çıkan ağrı duyusudur.

2.2.2. Süreye Göre Ağrının Sınıflandırılması

2.2.2.1. Akut Ağrı

Cerrahi girişim ya da yaralanma gibi olaylardan sonra doku hasarı ile ani olarak başlayan, iyileşme sürecinde de gittikçe azalan ağrı duyusudur.

2.2.2.2. Kronik Ağrı

Altı aydan daha uzun süren ağrı duyusudur.

2.2.3. Etyolojik Faktörlere Göre Ağrının Sınıflandırılması

Ağrının nedenine göre yapılan sınıflamadır.

2.2.4. Ağrı Bölgesine Göre Sınıflama

2.3. Ağrı Patogenezi ve İletim Yolları

Ağrı, impulsların miyelinli A delta veya miyelinsiz C nosiseptif sinir lifleriyle iletilmesi sonucu oluşur. Güçlü ve uzun süreli tekrarlayan uyarılar ağrı sistemini etkiler ve sıklıkla duyarlı hale gelmesine yol açar. Bu durum, patofizyolojik ağrıya neden olur.

Üç patofizyolojik ağrı süreci vardır:

İlki periferik sensitizasyondur. Doku travması ve infeksiyon gibi nedenlerle nosiseptif uçlar aşırı duyarlı hale gelir. Zayıf uyarılar bile nosiseptörleri aktive eder ve ağrı oluştururlar. Tedavisinde antiinflamatuvar ilaçlar kullanılır.

İkinci mekanizma ise normal olan duyuşal nöronların aşırı uyarılabilir hale gelmesi sonucu ektoşik deşarjlarıyla gerçekleşir. Akson hasarı, arka kök gangliyonundaki duyuşal hücre gövdesinde impuls trafiğinde değişmeyle saptanır. Bunun sonucunda duyuşal impulsların oluşumundan sorumlu çeşitli iyon kanallarıyla membran reseptörlerinin sentez ve dağılımında değişiklikler olur.

Son patofizyolojik süreç ise omurilik ve beyinde amplifikasyon artışıdır. Ağrılı bir uyarı olduğunda omuriliğin amplifikasyon düzeni bozulur ve ağrıda artış olur. Merkezi sensitizasyonun bu biçimi N-metil,D-aspartat (NMDA) reseptörlerinin aktivasyonunu içerir ve NMDA reseptör antagonistleriyle kontrol altına alınabilirler.

Merkezi sensitizasyon ağrılı inputlarla olduğundan hem inflamatuvar ağrıda hem de nöropatik ağrıda rol oynar. Amplifikasyon sırasında hem normal dokunma uyarısının, hem de ektoşik bölgelerde oluşan inputun ağrı oluşturması beklenir. Omurga travması veya inme gibi doğrudan beynin zarar görmesiyle de merkezi sensitizasyon tetiklenebilir. Sonuç olarak merkezi ağrı oluşur (42,43).

Nörofizyolojide ağrı sıklıkla nosisepsiyon sözcüğü ile tanımlanır, fakat bu iki kelime tamamen aynı şeyi ifade etmez. Nosisepsiyon, bedenın bir bölgesinde bir doku hasarı olduğü zaman, bunun nosiseptörler aracılığıyla alınıp santral sinir sistemine götürülmesi, belirli bölge ve nöronal yapılarda düzenlenerek bu zararlı uyarının algılanması ve buna karşı gereken fizyolojik ve psikolojik önlemlerin harekete geçirilmesidir. Ağrı, nosisepsiyon içinde bir algılama olayıdır (35,36,44,45).

Latince 'Noci' zarar veya zedelenme anlamındadır. Tüm nosiseptör aracılı uyarılar ağrı oluşturur, ancak tüm ağrılar nosisepsiyondan kaynaklanmaz. Nosiseptörlerin ağrıyı iletmedeki sürekliliği miyelinli A delta ve miyelinsiz C lifleri ile sağlanmaktadır. Böylece uyarılar omuriliğe kadar taşınırlar ve beyine ulaşmadan önemli ölçüde modifiye olurlar. Cilt, kas, bazı viseral dokuları inerve eden A delta ve C lifleri, çapları ve ileti hızları ile birbirinden ayrılırlar. A delta liflerinin çapı 2-5 µm, ileti hızı 12-30 m/sn iken, C liflerinin çapı 0,4-1,2 µm, ileti hızı 0,5-2,3 m/sn'dir.

Yapı olarak A delta lifleri az miyelinize, C lifleri ise miyelinsizdir. A delta liflerinin uçları genellikle uyarıldıkları tipe göre termal veya mekanik nosiseptörler adını alır ve 30 m/sn hızda ileti oluştururlar. C liflerinin uçları, polimodal nosiseptör adını alır ve şiddetli mekanik, kimyasal, aşırı sıcak ve soğuk uyarılarla aktive olurlar. C lifleri, inflamasyonda olduğü gibi gecikmiş, yanıcı ve inatçı karakterdeki ağrıdan sorumludurlar. İmpulsları 0.5-2 m/sn gibi çok yavaş olarak iletirler. Dolayısıyla daha donuk, daha yaygın ağrı ve hiperestezi oluştururlar. Sinir liflerinin özellikleri tablo 2.1.'de özetlenmiştir (33,35,36,46).

Tablo 2.1. Sinir liflerinin özellikleri ve fonksiyonları

Grup	Çap (µ)	Miyelin	Fonksiyon
A	20-12	+	Motor (efferent), duyuşal
A	12-6	+	Motor, afferent (Proprioseptif, dokunma)
A	8-2	+	Sensorial (ağrı, ısı, dokunma)
A	5-2	+	Otonom (efferent pregangliyoner)
B	3	+	Sensorial (ağrı, ısı, dokunma)
C	1.2	-	Otonom (postgangliyoner sempatik)

Nosiseptif sinyaller plazma membranında eksprese edilen çeşitli iyon kanallarının ya da reseptörlerin bulunduğu duyuşal nöronların bir alt sinir ucundan kaynaklanır ve zararlı eksternal sinyalleri aksiyon potansiyeline transduse eder. Küçük duyuşal sinir liflerinin arasında, miyelinsiz lifler (C-lifler), polimodal (çok şekilli) dir; çünkü, zararlı mekanik, termal ve kimyasal uyarılar gibi çeşitli stimullara yanıt verirler. Nosiseptörlerdeki bu elektriksel aktivitelerin, iyon kanalları ve reseptörler gibi spesifik moleküler sensörler aracılığıyla olduğu düşünölmüştür (36,46).

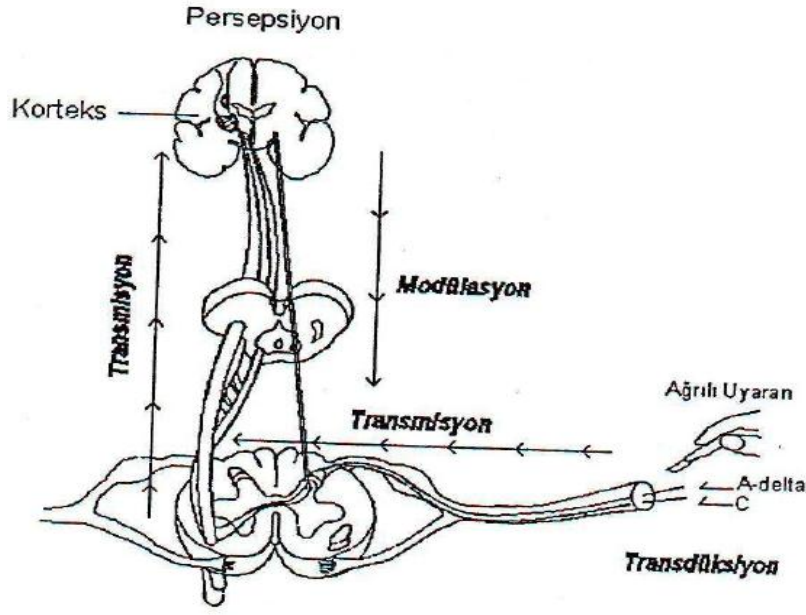
2.4. Ağrı mekanizmaları

2.4.1. Periferik mekanizmalar

Primer afferent nosiseptörler, mekanik, termal ve kimyasal uyarılara yanıt veren sinir uçlarıdır. Nosiseptörlerin yanıt özelliklerine bağlı olarak omuriliğe doğru bir yayılım meydana gelir. Ağrı yayılımıyla ilgili reseptörler ikiye ayrılır: A delta mekanotermal ve C polimodal nosiseptörler.

Normal koşullarda mekanik, termal ve kimyasal uyarılar yüksek eşik değerdeki nosiseptörleri harekete geçirirler, klinikte ise ağrılı uyarı uzamış travma ve doku harabiyetine bağlıdır. Doku harabiyeti inflamasyona ve dolayısıyla nosiseptörlerin daha fazla uyarılmasına yol açar.

Nosiseptörlerin uyarılması ile başlayan ağrı süreci çeşitli aşamalardan geçerek santral sinir sistemi (SSS)'ne iletilir. Bu aşamalar transdüksiyon, transmisyon, modölyasyon ve persepsiyon olarak adlandırılır (Şekil 2.1.) (46).



Şekil 2.1. Nosisepsiyon aşamalarının şematik görünümü

2.4.1.1. Transdüksiyon

Bir enerjinin başka bir enerjiye dönüşmesidir. Örneğin her sıcak uyarın ağrılı değildir. Sıcak bir uyarının ağrılı hale geçebilmesi için belirli bir derecenin üzerine çıkması gerekir. Nosiseptörler normal bir sıcaklığa karşı duyarsız kalırken sıcaklığın artışı ile duyarlı hale geçerler.

2.4.1.2. Transmisyon

Nosiseptörler tarafından algılanan ağrı bilgisinin daha üst merkezlere doğru iletilmesidir. Bu iletimde miyelinli A delta lifleri ve miyelinsiz C lifleri etkin rol üstlenirler. Miyelinli A delta lifleri hızlı ileten, sensitizasyona açık, termal ve mekanik uyarınlarla uyarılan liflerdir. Miyelinsiz C lifleri ise polimodal bir özellik gösteren, her türlü uyarına karşı duyarlılığı olan, yavaş ileten liflerdir. Diğer sinir lifleri de çeşitli biçimlerde ağrılı uyarının iletimine katılırlar.

Ağrı spesifik bir duyu olmasına ve belirli reseptörler aracılığıyla algılanmasına karşın bu ilişki yalnızca uyarı ve algılama düzeyinde kalmamakta, birçok çevresel etken işin içine girmektedir. Bölgede doku tahribatı sonucu bir kısım yapısal ve kimyasal değişiklikler ortaya çıkar. Bu arada nosiseptörleri harekete geçiren çeşitli kimyasal maddeler salgılanır. Bu kimyasallar maddelerin en çok salgılandığı 3 kaynak bilinmektedir:

- Dokulardan salgılanan maddeler
Serotonin, histamin, bradikinin, potasyum, araşidonik asit kaskadının elemanları, lökotrienler ve prostaglandinler
- Plazmadan salgılanan maddeler
Kininler
- Sinir uçlarından salgılanan maddeler
P maddesi

Ağrının ortaya çıkmasını sağladığı için bu maddelere aljezik maddeler adı verilmiştir. Ağrı iletiminde rol oynayan bu maddeler 3 şekilde etkili olurlar:

- Histamin, serotonin, bradikinin, asetilkolin ve potasyum eşik değeri yüksek olan ince afferentleri aktive ederler. Ayrıca lokal olarak verildiklerinde ağrıya yol açarlar.

- Prostaglandinler, kimyasal ve fiziksel uyarılara karşı ağrı iletimini kolaylaştırırlar.

- Doku tahribatından sonra nöronlarda otograd ve anterograd aktivasyon görülür. Anterograd aktivasyon sonrası P maddesi salgılanır. Periferden salgılanan P maddesi kapiller permeabiliteyi artırır. Ektravazasyon oluşur. Bu da aljezik maddelere duyarlılığı artırır.

2.4.1.3. Modülasyon

Başlıca omurilik seviyesinde oluşur. Geçmişte omurilik sadece bir ara durak olarak kabul edilirdi. Ancak 1965 yılında Melzack ve Wall tarafından ileri sürülen 'Kapı Kontrol Teorisi' ile ağrılı uyarının omurilikte ciddi bir engel ile karşılaştığı ortaya çıkmaktadır. Ağrılı uyarın spinal kord düzeyinde bir değişime uğramakta ve bu değişim sonucunda daha üst merkezlere iletilmektedir.

2.4.1.4. Persepsiyon

Omurilikten geçen uyarının çeşitli çıkan yollar aracılığı ile üst merkezlere doğru iletilip ağrının algılanmasıdır.

- **Periferik sensitizasyon:** İnflamatuar süreçte bölgeye gelen hücrelerce çeşitli intrasellüler maddeler salgılanır. Nosiseptif uyarının kendisi de nörojenik bir inflamasyon yanıtı oluşturarak P maddesi, nörokinin A, kalsitonin geni ilişkili peptid (CGRP) salgılanmasına yol açar. Böylece siklo-lipooksijenaz yollarındaki inflamatuvar mediyatörlerin salınması yüksek eşik değerdeki nosiseptörleri uyararak periferik sensitizasyonu oluşturur. Duyarlanma sonucu düşük şiddetteki mekanik uyarınlar bile ağrılı olarak algılanır. Aynı biçimde hasar bölgesinde ısı uyarınına karşı yanıtta da artma oluşur.

Tahribat bölgesindeki bu primer hiperaljezi bölgesindeki periferik değişiklikler, çeşitli cerrahi girişim ve travmalardan sonra görülür. İnflamatuar yanıtı durdurmak için genelde siklooksijenaz (COX) inhibitörleri olan non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar tercih edilir.

- **Sempatik sinir sistemi:** Sinir harabiyeti sempatik aktivitede bozukluğa yol açabilir. Bu da sempatik disfonksiyon, vazomotor değişiklikler, osteoporoz, hiperaljezi, allodini ve motor fonksiyon bozuklukları gibi kompleks rejyonel ağrı sendromuna yol açabilir. Sinir harabiyetinden sonra sempatik sinir stimülasyonu veya noradrenalin verilmesi primer afferent liflerde alfa adrenoreseptörlerin eksitasyonuna neden olur. Aynı şekilde arka kök gangliyonlarında da sempatik terminaller vardır. Bu da sempatik afferent liflerin anormal aktivitesine yol açabilir (46,47,48).

2.5. Ağrı Teorileri

2.5.1. Spesifite Teorisi

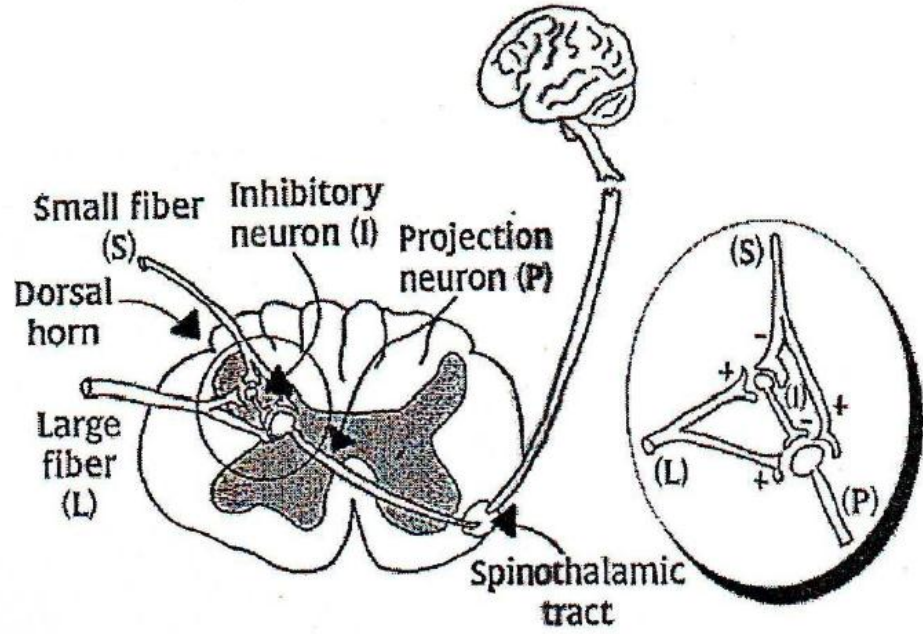
Spesifik bir uyarının beyinde temsil edilen özel bir reseptörü vardır. Spesifik lokalizasyon ağrının niteliğini belirler. Böylece cilde uygulanan ağırlı uyarı ağrı duyusuna yol açar. Ağrı tipinin değerlendirilmesi beyinde gerçekleşir.

2.5.2. Patern Teorisi

İmpuls omuriliğe girdikten sonra ağrı duyusunun başlaması için uyarının birikmesi gerekir.

2.5.3. Kapı Kontrol Teorisi

Belirli sinir lifleriyle omuriliğe taşınan ağırlı uyarılarla ilgili bilgiler önce omurilikte değerlendirilir. Buradaki nöronlar ağırlı uyarının omurilik seviyesinde durdurulması için çaba gösterir. Ağrı oluşturmeyen bir uyarı, ağırlı bir stimulusun transmisyonunu bloke edebilir. Kalın afferentler başlangıçta T-hücrelerinde artış oluşturur, ardından aktivitede azalma oluşur. Başlangıçtaki artma primer afferentler tarafından ikinci derece nöronların direkt aktivasyonuna bağlıdır. Aktivitede azalma indirekt bir sonuçtur ve kapının kapanmasını sağlayan ‘substantia gelatinosa’ hücrelerinin kalın afferentlerle aktivasyonuna bağlıdır. İnce afferentler T-hücrelerinin aktivitesini artırır, ayrıca bu primer afferentler kapının açılmasına neden olan substantia gelatinosa hücre aktivitesini azaltan inhibitör internöronları aktive eder. İnce ve kalın sinirler arasındaki sensorinöronal input arasındaki denge korunamaz ve kritik seviyeye ulaşılarak ikinci derece nöronlar aktive olur. Asendan sistemin bu aktivasyonu ağrı algılanmasına neden olur ve sonuçta davranışsal yanıt oluşur. Desendan kontrol sisteminde emosyon ve geçmişteki deneyimler desandan inputu başlatarak spinal seviyede ağrı duyusunu bloke eden kapı mekanizmasını etkiler. Substantia gelatinosa aktive olduğunda kapı kapanır ve T-hücresine giren duyu iletisi miktarı azalır. Substantia gelatinosa inaktif olduğunda “kapı” açıktır. Kalın ve ince duyu nöronlarının aktivitesi arasındaki denge kapının konumunu belirler. Kapının açılması ve kapanmasında üç faktör etkilidir, bunlar ağrı liflerinin aktivite derecesi, diğer periferik liflerin aktivite derecesi ve beyinde inen mesajlardır. Fiziksel, mental ve duygusal değişimler de burada kapının açılıp kapanması aşamasında rol oynar. Kalın miyelinli liflerin periferik uyarılmasının negatif arka kök potansiyelleri oluşturduğu ve ince miyelinsiz C liflerinin (ağrı liflerinin) uyarılmasının ise pozitif arka kök potansiyelleri oluşturduğu izlenmiş, presinaptik inhibisyon ve eksitasyonun bir yansıması olan bu potansiyellerin arka boynuzdaki sekonder transmitter nöronların (T hücreleri) aktivitesini düzenlediği ve inhibitör hücrelerin bu düzenlemeye aracılık ettiği ileri sürülmüştür. Bu teorinin temeli, kalın liflerin inhibitör I hücrelerini eksite ettiği ve T hücrelerinin presinaptik inhibisyonuna neden olduğu; aksine, ince ağrı afferentlerinin I hücrelerini inhibe ederek T hücrelerini uyarılmış durumda bırakmasıdır. Arka boynuzdan gelen ağrı uyarılarının beyin sapı, talamus ve limbik sistemin inen liflerinin de kontrolü altında olduğu belirtilir (Şekil 2.2.) (49).



Şekil 2.2. Kapı kontrol teorisi

Ağrılı olmayan uyarının ağrıya yol açması da (Allodini) "kapı kontrol teorisi" ile açıklanabilmektedir. Sürekli ağrılı uyarın bilindiği gibi hem miyelinli hem de miyelinsiz lifleri sensitize etmektedir. Nositseptörlerin sensitizasyonu sonucu allodini ortaya çıkar. Başlangıçta eksite olmayan afferentlerin daha sonra hassas hale geldiği bilinmektedir. Son yıllarda ortaya konulan bu görüşe göre bu afferentlere sessiz afferentler adı verilmektedir (50).

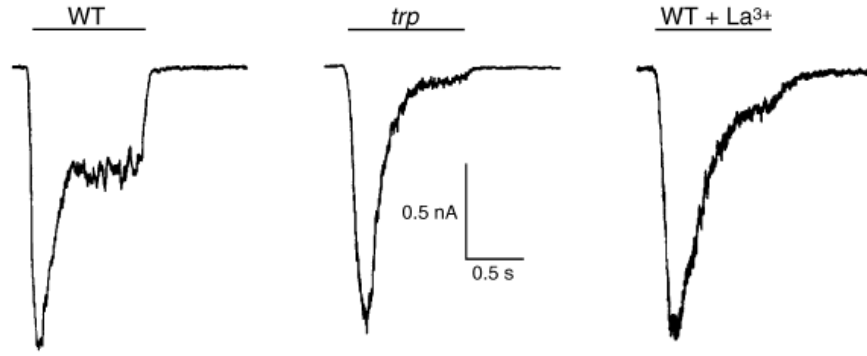
2.6. Nositsepsiyonun Güncel Kavramları

Son 15 yılda, iyon kanallarının moleküler klonlanmasındaki araştırmalarda belirgin ilerlemeler olmuştur. İyon kanallarının moleküler olarak saptanması, noisitsepsiyondaki rollerini içeren çalışmalarda bir ufuk açmıştır. Ayrıca, duyuşal nöronlarda ekspresyonlarının ve çeşitli uyarılara yanıt özelliklerinin saptanmasını sağlamıştır.

Duyuşal nöronlardaki iyon kanalları arasında, geçici reseptör potansiyel (transient receptor potential, TRP) kanalları, en yaygın şekilde araştırılanlardır (51).

2.6.1. Geçici reseptör potansiyel kanalları

TRP kanalları Ca^{+2} , Na^{+} ve Mg^{+2} gibi katyonların biyolojik membranlardan düzenli geçişini sağlayan bir iyon kanalı ailesidir. TRP kanalları *Drosophila melanogaster*'de (meyva sineği) bulunan TRP gen ürünüyle ilişkilidir. Bu gen proteini sineğin gözünde ışığın algılanmasında rol oynayan bir katyon kanalı oluşturmaktadır. Kanalların TRP olarak isimlendirilmesi ise, TRP geni silinmiş sineklerde sabit ışığa karşı geçici bir yanıt alınırken, doğal tiplerde fotoreseptör yanıtının sürekli olmasına dayanmaktadır (Şekil 2.3.) (52).

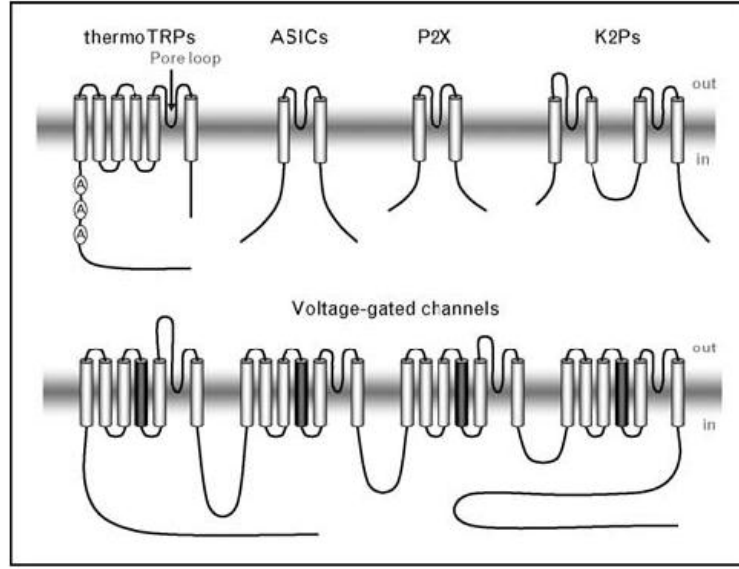


Şekil 2.3. TRP kanallarının keşfi (52)

TRP kanallarının fonksiyonları arasında farklılıklar bulunmaktadır. Bazı kanallar Ca^{+2} , Mg^{+2} , Fe^{+2} veya Zn^{+2} gibi divalent katyonlara yüksek selektivite gösterirken; diğerleri mono veya divalent katyonlar için non-selektif olabilirler. Ayrıca, kanalların açılma/kapanmasını düzenleyen uyarılar (ısı, voltaj, mekanik stres gibi fiziksel uyarılar, ekzojen ligandlar, hücre içi katyonlar) da farklılık gösterebilir. Çoğu zaman tek bir TRP kanalı 'polimodal sensör' gibi davranarak uyarıları algılar ve bütünler. TRP kanalları sıcak/soğuk doğal kimyasal bileşikler (mentol, acı biber), mekanik uyarı, lipid tabakanın içeriğindeki değişiklikler gibi birçok uyarana açılmaktadır. TRP kanalları kan basıncı ve düz kas tonusunun düzenlenmesi, böbrekte $\text{Ca}^{+2}/\text{Mg}^{+2}$ dengesinin kontrolü, keskin tad ve kokulu bileşiklerin (hardal, sarımsak vb.), mekanik değişikliklerin, ağrının, ısının, sesin ve ışığın algılanması gibi önemli birçok süreçte işlev görmektedir (52).

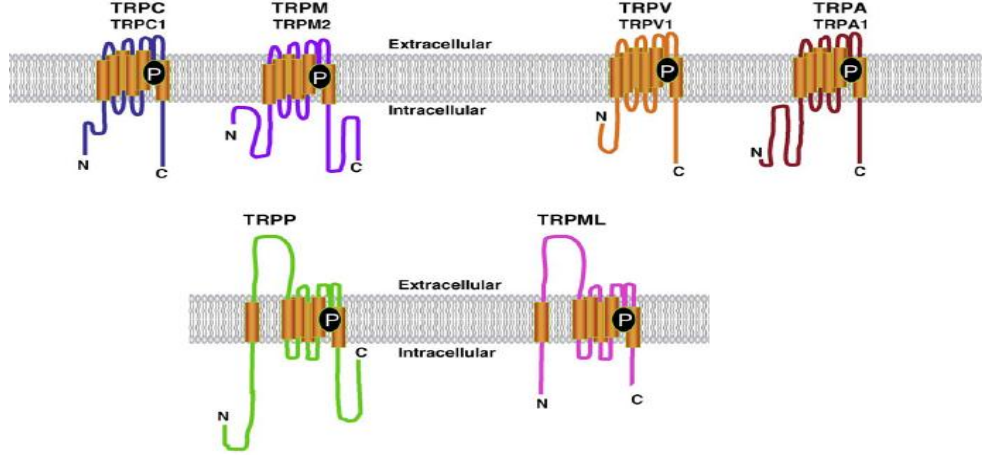
2.6.1.2. Isıya duyarlı geçici reseptör potansiyel kanalları

Acı biberlerde bulunan ağrıyı indükleyici bir madde olan kapsaisin kullanımı, nosiseptif duyuşal afferentleri fonksiyonel olarak izole etmede uzun süredir faydalı bir araç olmuştur. 1996'ya kadar, kapsaisin ile spesifik olarak aktive edilen bir iyon kanalı duyuşal nöronlarda gösterilmemişti. Kapsaisin tarafından aktif hale getirilen kanalın, ligand-kapılı olduğu bulunmuştur; çünkü izole membran yamalarında kapsaisin ile aktive olmuştur. Kapsaisin'le aktif hale getirilen kanal, seçici olmayan bir katyon kanalı gibi davranmıştır; çünkü kalsiyum'u içeren çeşitli katyonlara geçirendir. Daha sonraki yılda, kapsaisin reseptörü klonlanmış ve şimdi TRP kanal vanilloid alttip 1 (TRPV1) olarak adlandırılmıştır. Kapsaisin reseptörünün genetik kimliğinin bulunması, duyuşal nöronlarda eksprese edilen diğer ilişkili kanalların klonlamasını başlatmıştır. Örneğin, TRPV1 ile sıralı homoloji gösteren, TRPV2 klonlanmıştır (Şekil 2.4.) (51).



Şekil 2.4. Duyusal nöronlarda eksprese edilen iyon kanallarının topolojik yapısı (51)

İnsan genomu yaklaşık 30 tane TRP kanal geni içermektedir. Aminoasit dizilerine göre TRP kanalları 6 alt gruba ayrılmaktadır (51): TRPC (Canonical), TRPM (Melastatin), TRPV (Vanilloid), TRPA (Ankyrin), TRPP (Polycystin), TRPML (Mucolipin) (Şekil 2.5.) (52).



Şekil 2.5. Memeli hücrelerinde bulunan TRP kanal ailesi (52)

Bu TRP kanalları arasında 6 üyenin, geniş bir ısı aralığında yanıt verdiği bilinmektedir: TRPV1, TRPV2, TRPV3, TRPV4, TRPM8 ve TRPA1. Isı aralıkları farklı bantlarda aktif hale geldikleri için, artık temperature-duyarlı TRP veya termoTRP kanalları olarak adlandırılmaktadır.

Örneğin, klonlanmış kapsaisin reseptörü TRPV1, zararlı ısı temperaturüne (>42°C) duyarlıdır. Bu termoTRP kanalları arasında sıcak temperaturü belirleyen TRPV2 eşiği, en yüksek temperatur düzeyini (>52°C) işgal eder. TRPV3 ve TRPV4, ılık bir aralığı algılayabilir (>30°C) (5). Bu kanalların yüksek sıcaklık değerlerinde aktive olarak periferik dilatasyona aracılık eden hücre içine Ca⁺² girişine ve NO oluşumuna katkıda buldukları ileri sürülmektedir. TRPV4 aktivasyonu için eşik değer yaklaşık >25-27°C'dir. Bu nedenle bu kanalların normal vücut ısısında yapısal olarak açık oldukları, bazal hücre içi Ca⁺² düzeyine ve dinlenme durumundaki NO salınımına katkı sağladıkları düşünülmektedir. Düşük ısılarda TRPV4 aktivitesi azalarak endotel hücrelerine Ca⁺² girişini azaltmakta ve oluşan vazokonstriksiyona katkıda bulunmaktadır (52).

TRPM8 ve TRPA1, soğuk temperatur ile (sırasıyla <25°C ve <17°C) aktif hale gelir. Bu nedenle çevre temperaturünün belirlenmesinin, bu termoTRP kanallarının etkileri ile tamamen örtüştüğü görülür. İlginç bir şekilde, TRPV1 ve TRPA1'i aktif hale getiren termik eşikler, ağrı için in vivo temperatur eşiklerine yakındır (Sıcaklık için 45°C ve soğuk ağrı için 15°C). TRPV1 ve TRPA1, zararlı sıcak veya soğuk ile aktif hale getirildiği için, sıcak ve soğukla indüklenen termal ağrı rollerinin olduğu düşünülmektedir.

Gerçekten, TRPV1 geni silinmiş hayvan çalışmaları, inflamasyonla oluşan termal hiperaljezide TRPV1'in gerekliliğini göstermiştir. TRPV1 eksikliği olan fareler hala normal koşullarda ısıya normal duyarlılık gösterir.

TRPA1'in zararlı soğuk duyarlılığındaki rolleri çelişkilidir. Çünkü TRPA1 eksikliği olan farelerde yapılan son iki çalışmada çelişkili sonuçlar gösterilmiştir. TRPV3 ılık temperatürde aktive edilmektedir. TRPM8 ise yaklaşık 28°C'de aktive olmaktadır ve aktivitesi sıcaklık düştükçe artmaktadır (52).

TermoTRP kanallarının rolleri sadece temperatur algılanmasıyla sınırlı değildir. Bazı TRP kanalları kimyasal ve mekanik nosisepsiyon gibi nosisepsiyona diğer açılardan geniş katkı sağlar. Bu termoTRP kanalları birçok ağrılı ya da irritan doğal kimyasallar tarafından aktive edilirler. Örneğin kapsaisin ve piperin (sırasıyla kırmızı ve kara biberde bulunur) TRPV1'i aktive eder. Tarçın yağı, hardal yağı, sarımsak ve çevresel kirleticilerde bulunan sırasıyla sinnamaldehyd, izosiyanatlar, allisin ve akrolein TRPA1'i aktive edebilir. Kafur, TRPV3 ve TRPV1'i aktive edebilir. Bu kimyasalların çoğu bitkilerden üretilir ve gıda katkısı ya da baharat olarak kullanılır. TermoTRP kanallarının, arka kök gangliyon nöronlarının ya da trigeminal nöronların alt birimlerinden eksprese edilmeleri nedeniyle termoTRP kanallarının bitkilerin aktif içerikleri tarafından aktivasyonu bu kimyasalların neden eşsiz tadları olabileceğini açıklamaktadır. Ayrıca bu kimyasallar termoTRP kanallarını incelemede yararlı araçlar olmaya başlamıştır (51).

2.6.2. Voltaj Kapılı Kanallar

2.6.2.1. Voltaj Kapılı Sodyum Kanalları

Voltaj kapılı sodyum kanalları santral ve periferik sinir sisteminin her ikisinde de nöronal eksitabiliteden sorumlu iyon kanallarının ilk sınıflarından biridir. Terapötik bir sınıf olarak lidokain, amitriptilin ve lamotrijin gibi sodyum kanal blokörleri nöronal eksitabiliteyi azaltmak için tasarlanmıştır ve hipereksitabilite ya da ağrılı uyarılara nöronal duyarlılıkta artmayı içeren hastalıklarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Günümüzde kullanılan sodyum kanal blokörleri bu güne kadar tanımlanan çeşitli sodyum kanal alt tiplerine büyük ölçüde non-selektiftir ve selektivite yokluğunun motor disfonksiyon gibi bu ilaçların yan etkilerine katkıda bulunduğu düşünülmektedir.

Oldukça selektif sodyum kanal blokörleri günümüzdeki non selektif ilaçlar kadar etkili olmamasına karşın anormal ağrı duyusunu azaltmada nosiseptif nöronlarda eksprese edilen multipl tip kanalları inhibe etmek için gereklidir.

- Spesifik sodyum kanal alttiplerinin sinir sistemindeki rolleri

İnsanlarda 9 farklı voltaj kapılı sodyum kanalı klonlanmış ve eksprese edilmiştir. Bu 9 üyeden Nav1.3, Nav1.7, Nav1.8 ve Nav1.9'un birçok yayında ağrı sinyalizasyonundaki rolleri açıklanmıştır. Ayrıca bu 4 kanal ilaç keşfi çalışmalarında olası bir moleküler hedef olarak düşünülmektedir.

Nav1.3 tetrodotoksin (TTX)'e duyarlı sodyum kanalıdır ve ilk olarak fetal gelişim süresinde voltaj kapılı sodyum kanallarının embriyonik formundan eksprese edilmiştir. Normalde Nav1.3 ekspresyonu sinir sistemi boyunca doğumu takiben çok düşük seviyelerdedir. Buna karşın aksotomi, kronik konstriksiyon, varicella zoster virüs enfeksiyonu ya da bir inflamatuvar tutulum gibi hasarları takiben Nav1.3 seviyeleri arka kök gangliyon nöronlarında artar.

Başlıca periferik nöronlarda eksprese edilen Nav1.7 arka kök gangliyon hücrelerinde oldukça büyük ölçüde eksprese edilen TTX'e duyarlı sodyum kanallarından biridir ve hem nosiseptif hem de non-nosiseptif nöronlarda sinyali sağlamada önemli olduğuna inanılır.

Biyofiziksel olarak Nav1.7 akımları ağrı sinyalinde rol oynayan ve inaktivasyon özelliği olan akımlardır. Nav1.4 ve Nav1.7'nin her ikisinin de yavaş açık durumda ve yavaş kapalı durumda inaktivasyon gösterdiği bulunmuştur. Bu özellikler kanalın nörona yavaş depolarizan inputlar sırasında fonksiyonel kalmasını sağlamaktadır. Nav1.7 bu yavaş depolarizasyon boyunca sinyal yükseltmede rol oynamaktadır ve ağrı sinyalizasyonunda bir amplifier (büyütücü) gibi davranmaktadır.

Nav1.8 periferik sinir sisteminde eksprese edilen diğer bir sodyum kanalıdır. Fakat Nav1.3 ve Nav1.7'den farklı olarak TTX tarafından blokaja dirençlidir. Ayrıca multipl skleroz'lu rodent modellerinde ve spastisitede saptanan anormal Nav1.8 ekspresyonunun olduğu hastalarda serebellar nöronlarda ekspresyonunun olduğu gösterilmiştir. Nav1.8 myelinli olmayan periferik sinirlerin iletiminde ve aksiyon

potansiyelinin artmasından sorumlu baskın bir voltaj kapılı sodyum kanalıdır. Geni silinmiş hayvanların nöronlarındaki çalışmalardan aksiyon potansiyelinin artmasından sorumlu akımın % 80-90'ının Nav1.8'e, oysa doğal tip arka kök gangliyon nöronlarındaki aksiyon potansiyelinin artmasının % 58'inin ise Nav1.8'e bağlı olduğu gösterilmiştir.

Periferik sinir sisteminde ağrı sinyalizasyonunu düzenleyen başka bir TTX'e dirençli 4. voltaj kapılı sodyum kanalı Nav1.9'dur ve ilk olarak arka kök gangliyon nöronlarında bulunmuştur. Periferik nöronal eksitabilitenin düzenlenmesinde voltaj kapılı sodyum kanalları arasında tek rol oynayanıdır. Bu nedenle Nav1.9 akımlarının blokajı bir nöronu hiperpolarize edebilir ve hücrelerde eksprese edilen diğer tip iyon kanallarına bağlı olarak hiper ya da hipo-eksitabiliteye yol açabilir. Sodyum kanal alt tipleri ve özellikleri tablo 2.2.'de gösterilmiştir (53).

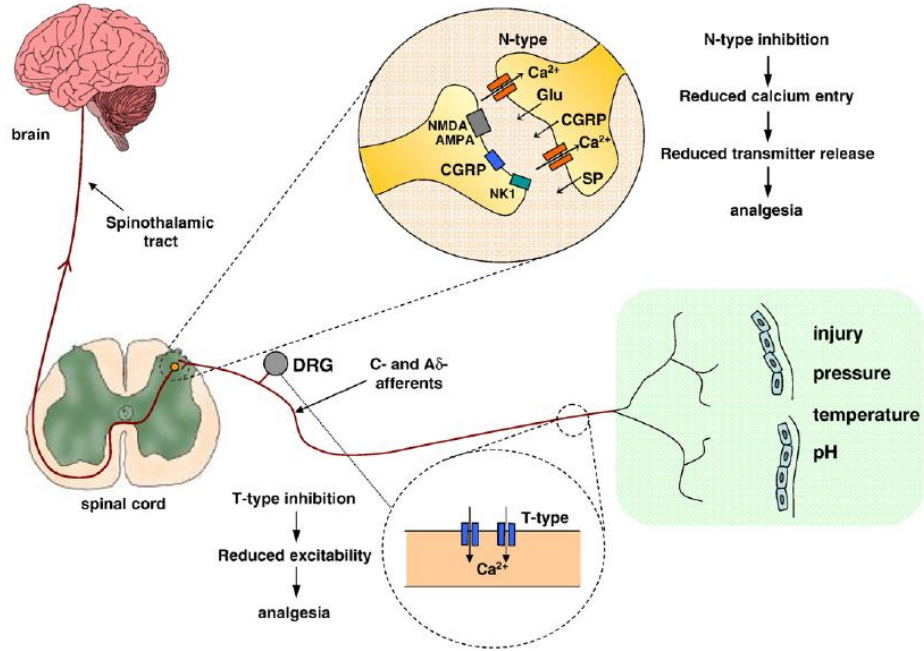
Tablo 2.2. Sodyum kanalları ve ağrı moleküller ve genetik veriler (53)

Channel	Knockout	Anti-sense/siRNA	Human
Nav1.3	No effect on neuropathic pain	Positive effect following spinal cord injury Positive effect following chronic constriction injury No effect following spared nerve injury	-
Nav1.7	No effect on neuropathic, but significant effects on inflammatory pain	-	Gain-of-function mutations cause Primary Erythralgia Loss-of-function mutations cause Congenital Indifference to Pain
Nav1.8	No effect on neuropathic, but some effect on noxious mechanical, NGF-induced, and visceral pain	Positive effect on neuropathic and inflammatory pain	-
Nav1.9	No effect on neuropathic, but positive effect on inflammatory pain	No effect on neuropathic pain	-

2.6.2.2. N-tipi Kalsiyum Kanalları

Voltaj kapılı kanalların diğer tiplerinden olan N-tipi kalsiyum kanalları ağrı tedavisinde son zamanlarda yoğun olarak incelenmiştir. N-tipi kalsiyum kanal α -alt ünitesinin (α_{1B}) eksik olduğu farelerde 2000'li yılların başında yapılan üç bağımsız çalışmada, bu kanalların akut mekanik ya da termal ağrıya katkılarına ilişkin sonuçların uyumlu olmadığı bildirilmiştir. İnflamatuar ve nöropatik ağrıda santral sensitizasyondaki rollerine genel olarak fikir birliği oluşmuştur. Ayrıca kanallara spesifik antagonistler kullanıldığında, N-tipi kalsiyum kanalının (α_{1B}) omurilikte nöropatik ve inflammatuar ağrıdaki aracı rollerinin olduğu açıkça belirlenmiştir. N-tipi kalsiyum kanallarının spesifik blokörleri olan yılan toksinlerinin intratekal uygulanması (ω -conotoksin MVIIA ya da ω -conotoksin GVIA) inflamasyonun neden olduğu hiperaljezi ve nöropatik ağrıyı azaltır. Gerçekten yılan toksinlerinden biri ω -conotoksin MVIIA (zikonotid, SNX-111) Amerika'da FDA tarafından nöropatik ağrı gibi kronik ağrı tedavisinde onaylanmıştır. Nöropatik ağrı tedavisi için son zamanlarda klinikte kullanılan efektif bir ilaç olan gabapentin nedeniyle voltaj kapılı kalsiyum kanalları ile çalışmaya olan ilgi artmıştır. Gabapentin'in voltaj kapılı kalsiyum kanallarının yardımcı alt ünitesi ($\alpha_{2\delta-1}$) ile etkileştiği bilinmektedir.

Kalsiyum kanallarının yardımcı alt ünitesi olan $\alpha 1$ alt ünitesinin (ana por şekillendirici alt ünite) plazma membran trafiğini modüle ettiği ya da kanal özelliklerini düzenlediği görülmektedir. Ayrıca, nöropatik ağrı gelişimi sırasında arka kök ganglionunda ve omurilikte yardımcı alt ünitenin ekspresyonu artmaktadır. Ancak nöropatik ağrıya katkısını ortaya çıkarmada geni silinmiş hayvan jenerasyonu gibi daha ileri çalışmalara gereksinim vardır (Şekil 2.6.) (25,51,53).



Şekil 2.6. Primer afferent sinyal yolağında N-tipi ve T-tipi kalsiyum kanalları (25)

2.6.2.3. İki Por Bölgesi Potasyum Kanalları

Potasyum kanalları nöronların eksitabilitesini kontrol eder, ayrıca membran potansiyelini değiştirerek aksiyon potansiyelini şekillendirir. Potasyum kanalları duyuşal nöronlarda elektriksel aktiviteyi transduse eden ve eksternal uyarıyı belirleyen primer bir moleküler sensör değildir. Ancak bunlar, duyuşal nöronların eksitabilitesini kontrol eden bir potansiyeldir ve bu nedenle duyuşal nöronların elektriksel aktivitesinin outputlarını düzenler. Potasyum kanallarının birçok farklı tipi arasında iki por bölge potasyum kanalları (K2P) dikkat çeker. K2P, duyuşal nöronlar dahil nöronlarda istirahat membran potansiyelini devam ettirmede katkıda bulunur. K2P, dört transmembran bölge ve aralarında iki por içerir.

Bilinen potasyum kanalları ile benzer dizilim gösteren DNA veritabanında yapılmış homoloji çalışmalarıyla klonlanmış ilk K2P kanalı, sıralı-porlu zayıf içe yönelik doğrultucu potasyum kanalı 1 (TWIK-1)'dir. TWIK-1'in klonlanmasından sonra, TREK, TRAAK, TASK, TALK, THIK ve TRESK gibi sayısız K2P kanalı DNA veritabanındaki homoloji çalışmalarıyla klonlanmıştır. Bu K2P kanallarının duyuşal nöronlarda in-situ hibridizasyon ya da immunohistokimya gibi ekspresyon

örnekleri henüz bildirilmemiştir. Ancak elektrofizyolojik çalışmalarda yine de duyuşal nöronlarda TREK-1, TREK-2 ve TRAAK varlığı saptanmıştır. Tüm bu üç kanalın temperature duyarlılık gösterdiği bilinmektedir ve 25-30°C'lik eşikle ılık temperatur aralığında aktive olmaktadır. İlık temperaturle K2P kanalının açılması hiperpolarizasyona veya membran potansiyelinin stabilizasyonuna yol açar.

Gerçekten TREK-1'i eksik fareler hem davranış testlerinde hem de nosiseptif C-liflerinin in-vitro kayıtlarında zararlı ısı duyarlılığında artma göstermişlerdir. Ayrıca K2P kanalları diğer uyarı tipleri ile de aktive olurlar. Mekanik gerginlik ya da ozmotik şok TREK ve TRAAK'ı aktive eder. Dahası intraselüler asidifikasyon (TRPV1 ekstraselüler asidifikasyon ile aktive olur) TREK'i aktive eder, fakat TRAAK'ı inhibe eder. TREK-1'in mekanosensitivitesi in-vivo geni silinmiş hayvanlar kullanılarak da saptanmıştır. Anormal ozmotik uyarıdan akut kaçınma ve inflamatuvar mekanik hiperaljezinin şiddeti TREK-1'in silinmesi ile anlamlı olarak etkilenmektedir. İlginç olarak TREK-1 volatil anestetik ajanlar (halotan, izofloran, kloroform, dietil eter ve nitroz oksit) ile aktive olur. K2P kanallarının açılması nöronların hiperpolarizasyonuna yol açar. Duyusal nöronların ateşleme aktivitesindeki azalmanın bu anesteziğin indüklediği analjezinin olası nedeni olan hiperpolarizasyona bağılı olması olasıdır.

2.6.2.4. Asit-duyarlı iyon kanalları

Doku asidozu ağrının ana nedenlerinden biridir. Dokular iskemik koşullar ya da inflamasyon sırasında asidik hale gelebilirler. Daha önce tanımlandığı gibi TRPV1 ekstraselüler protonla aktive olur. TRPV1'in aktivasyonu için yaklaşık pH 5.5 seviyesi gerekmektedir. Zıt olarak asit-duyarlı iyon kanalları (ASICs) yaklaşık 6.5-6.9 pH değerinde aktive olmaktadır. ASICs, iki transmembranal bölge içerir ve nematodlarda dejenderin/epitelyal sodyum kanal (DEG/ENaC) ailesine aittir.

Bu kanal süperailisinin 5 farklı üyesi bulunmaktadır. ASIC1a, ASIC1b, ASIC2a, ASIC2b ve ASIC3. Dokulara bağılı olarak bunların farklı pH eşikleri ve kapı özellikleri olan homomerik veya heteromerik kompleksler oluşturduğu bilinmektedir. Bu 5 üye arasında ASIC3 temel olarak C-lifli nosiseptörlerde bulunur ve anjinal göğüs ağrısı ya da kas hiperaljezisi gibi iskeminin neden olduğu nosisepsiyonda rol oynar.

2.6.2.5. Kaşıntı sinyalleri

Kaşıntı, kaşınma isteğine neden olan pek hoş olmayan bir duygudur. Kaşıntı deride genellikle miyelinsiz C-lifleri ile küçük duyuşal nöronlar tarafından oluşur. Histamin kaşıntının ana mediyatörüdür ve dokunun alerjenlerle uyarılması ya da inflamasyonu sırasında mast hücrelerinden salınır. Histamin'le duyuşal liflerin eksitasyonu için sinyal yolağı son zamanlara kadar bilinmemekteydi. Shim ve arkadaşları histamin'in duyuşal nöronları uyarabilmek için fosfolipaz A2 (PLA2)/lipoksijenaz/TRPV1 yolağını kullandığını bildirmişlerdir. Histamin, duyuşal nöronlara kalsiyumun girişine neden olur. Histamin'in neden olduğu kalsiyum girişi TRPV1 eksikliği olan farelerde gözlemlenmiştir ve fosfolipaz A2, lipoksijenaz ve TRPV1 inhibitörleri ile bloke edilir. Histamin duyuşal nöron kültürlerinde aynı zamanda 12-lipoksijenaz metabolitlerinin üretimini artırır. Daha önemlisi intradermal histamin enjeksiyonu ile oluşan kaşıntı TRPV1 eksikliği olan farelerde büyük ölçüde

azalmaktadır. Bu sonuçlar histaminin PLA2/lipoksijenaz/TRPV1 yolağı aracılığı ile duyuşal nöronları etkileyerek kaşıntı duyuşuna neden olduğunu göstermektedir. Böylece TRPV1'in kaşıntı ve ağrı gibi iki farklı duyuşu aracılık etmesi ilginç görölmektedir.

2.6.2.6. Olası mekanosensörler

Tamamen açıklanamamasına karşı 3 termoTRP kanalının mekanosensörler için aday olduğu da ortaya çıkmıştır. TRPV4 olası mekanosensör olarak düşünölmektedir. Çünkü ekstraselöler hipotonik solüsyonla kanal kapanır. Ayrıca TRPV4'ü eksik fareler bir tip basınç stimölasyonuna (kuyruk çekme) duyarlılıkta azalma göstermektedir. Bu da TRPV4'ün yüksek eşikli bir mekanosensör olabileceğini telkin etmektedir.

TRPC1'in mekanik nosisepsiyondaki rolü, TRPC1 null mutant farelerin yokluğu nedeniyle henüz belirlenmemiştir.

TRPV1 in vitro basınçla aktive olmaz. Ancak geni silinmiş fare çalışmasında TRPV1'in normal mesanenin gerilimini saptamada gerekli olduğu gösterilmiştir.

2.6.2.7. P2X reseptörleri

Sitozolik ATP, ekstraselöler alanda fiziksel olarak hasar görmüş dokulardan salınır. ATP'nin cilde uygulanması ağrıyı indükler. Ekstraselöler ATP'ye duyarlı reseptörler arasında P2X purinoreseptörleri duyuşal nöronlardan salınır. Şimdiye kadar P2X reseptörlerinin 7 alt tipi klonlanmıştır. P2X3 homomer ve P2X2/3 heteromer başlıca duyuşal nöronlarda eksprese edilmiştir. ATP'nin primer eksternal tutulumu olmadığından, araştırmaların çoğu ATP/P2X'in akut termal ya da mekanik ağrıdan çok inflamatuvar ve nöropatik ağrıdaki rollerine ilişkindir. Ciltteki keratinositler ATP'nin salıverildiği primer bölgeler olarak düşünöldüğünden duyuşal sinir uçları ile innerve olan epidermisi biçimlendirir. Cook ve arkadaşları duyuşal nöronların ve keratinositlerin birlikte olduğu kültür sistemini geliştirmişler ve ATP'nin hasar görmüş keratinositlerin sitozollerinden salındığını ve komşu duyuşal nöronlarda P2X benzeri akım yanıtı oluşturduğunu başarılı bir şekilde göstermişlerdir. P2X3 duyuşal nöronların periferik uçlarında olduğu gibi aynı zamanda santral uçlarda (presinaptik bölge) da eksprese edilir ve rolleri primer afferentlerden nörotransmitter salınımını geliştirmektir. P2X3'ün ekspresyonu upregüle olmaktadır ya da P2X3'ün aktivitesi akut ya da kronik inflamasyon modellerinin farklı koşullarında duyarlı hale gelmektedir. Ayrıca siyatik sinir zedelenmesi gibi bazı nöropatik ağrı modellerinde siRNA veya antisense'le P2X3 azaltılması ağrı duyarlılığında azalmaya neden olmaktadır.

P2X4 nosiseptörlerde nadiren bulunmasına karşı nöropatik ağrı gelişiminde P2X4 gereklidir. Omurilikteki mikroglia hücreleri nöropati durumunda aktive edilir. Bu aktive mikroglia hücreleri P2X4 ekspresyonunda artış gösterir. P2X4'ün farmakolojik bir ajanla blokajı ya da P2X4 antisense kullanılarak ekspresyonunun downregölasyonu spinal sinir zedelenmesi ile oluşan dokunsal allodini'yi anlamlı olarak baskılar. Böylece P2X4'ün omurilikte aktivitesinin kontrol altına alınması nöropatik ağrı tedavisi için iyi bir hedefdir (51,53).

2.7. Deneysel Ağrı Modelleri

Hayvanlarda özel bir iletişim olmayacağı için ağrı değerlendirmesi ancak fizyolojik veya davranışsal değişikliklerin yansımalarına göre yapılabilmektedir. Deneysel hayvanları aynı veya benzeri ağrılı uyarıda, insanlarda oluşan motor davranış veya fizyolojik yanıt benzerini tekrarlarlar. Ağrı, gerek tanımlanması gerekse ölçülmesi zor olan bir olaydır. Bu nedenle deneysel hayvanları üzerinde, organizma üzerindeki rahatsız edici bir uyarıya karşı tepki reaksiyonu cinsinden ölçüm yapmak temel ilke olarak kabul edilir. Başlıca deneysel ağrı modellerini aşağıdaki şekilde gruplandırmak olasıdır (54).

- Termal ağrı testleri

1. Tail-flick (Kuyruk oynatma) testi
2. Sıcak suya kuyruk daldırma testi
3. Hot-plate (sıcak tabaka) testi

- Elektrik şok testleri

1. Flinch-Jump (sakınma-zıplama) testi
2. Şokla uyarı-vokalizasyon (ses çıkarma) testi
3. Diş pulpası uyarı testi
4. Şok titrasyon testleri

- Basınçla oluşturulan ağrı testleri

1. Kuyruk kıstırma testi
2. Kuyruk veya pençeye uygulanan basınçla reaksiyon eşikini ölçme testi
3. İnflamasyonlu dokuda basınç testi

- Akut doku hasarıyla oluşan ağrı testleri

1. Wrighting (kıvrınma) testi
2. Adjuvanla oluşturulan artrit modeli
3. Mikrokristal artrit
4. Arter içine bradikinin verme testi
5. Sinir hasarı ile oluşturulan ağrı modeli-ototomi
6. Formalin testi

2.8. Nitrik Oksid

İlk zamanlar atmosferde kirletici bir gaz olarak bilinen, küçük molekül ağırlıklı ve zehirli bir gaz olan nitrik oksid (NO)'in, memeli hücrelerinde sentez edildiğinin gösterilmesiyle birçok biyolojik araştırmada önemli bir süreç başlamıştır. 1991'den sonra NO ile ilgili araştırmalarda bir artış olmuştur. 1992 yılında da NO yılın molekülü seçilmiştir.

İlk kez 1980 yılında Furchgott ve Zawadzki, izole arter preparatlarında asetilkolin'e bağlı olarak endotelyumun stimülasyonu ile kan damarlarını gevşeten bir faktörün varlığını gösterdiler (55). Endotelyum kaynaklı gevşetici faktör (EDRF) olarak adlandırdıkları bu maddeye daha sonra (1987) nitrik oksid (NO) adını verdiler. Damar düz kasını gevşeten bu madde asetilkolin'den başka adenin nükleotidler, trombin, P maddesi, bir kalsiyum iyonoforu olan A23187 (kalsimisin), bradikinin, anjiyotensin-II, vazopresin, histamin, noradrenalin, serotonin, arasinonik asit, VIP, ergometrin, mellitin, tiomerazol, elektriksel stimülasyon, damar kan akımının hızlanması, ultraviyole ışığı ve polifenoller gibi kimyasal ve fizyolojik etkenlerle de salıverilmektedir (56,57,58,59).

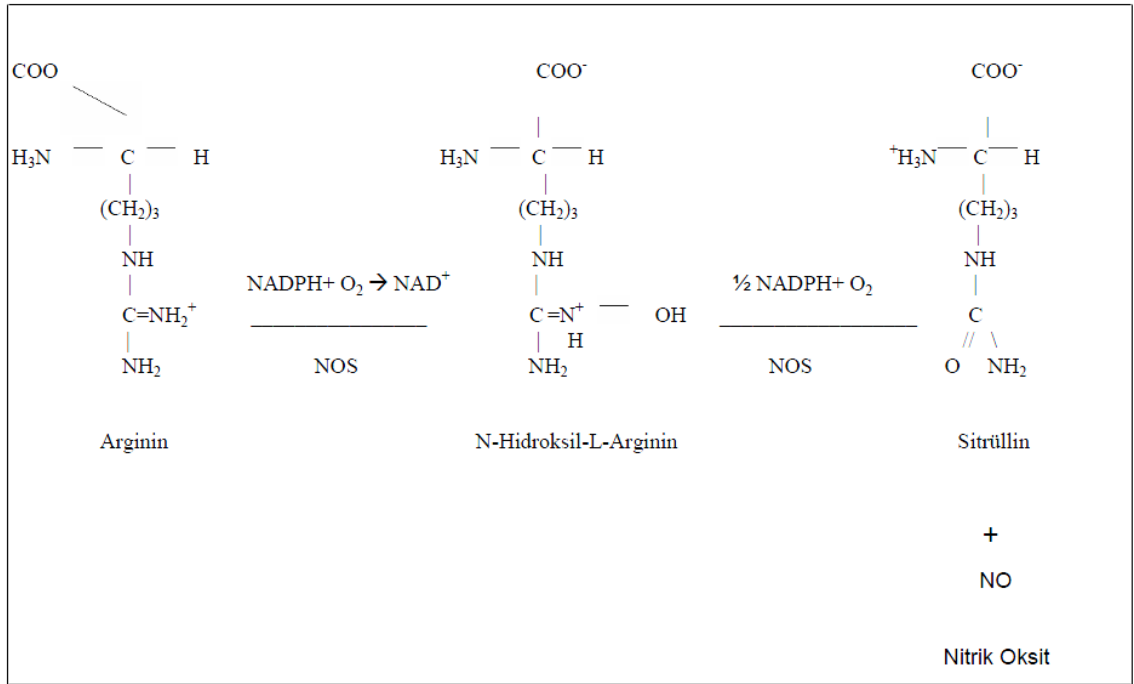
2.8.1. Nitrik Oksid'in Fizikokimyasal Özelliği

NO, eşleşmemiş tek sayıda elektron içeren, renksiz, serbest bir radikaldır. Molekül ağırlığı 30, kaynama noktası -151°C 'dir. Bilinen en düşük molekül ağırlıklı, memeli hücresi sekresyon ürünüdür. Hem yağda hem suda çözünebilme yeteneği sayesinde biyolojik membranlardan çok rahat geçerek hedef moleküllere kovalent bağla bağlanır. Bu sayede çözüner guanilil siklaza bağlanarak onun aktivitesini 400 kat arttırabilir. 3–5 sn kadar kısa yarılanma ömrüne sahip bir gazdır. Basit kimyasal yapısına karşın oldukça farklı ve zıt yönde etkileri bulunmaktadır (57,58,60,61).

2.8.2. NO Biyosentezi

Bir aminoasid olan L-arjinin'den sitokrom P450 redüktaz yapısında olan NO sentaz (NOS) aracılığıyla L-arjinin'in terminal guanidin grubunun NO'e çevrilmesiyle sentezlenir.

L-arjinin intraselüler ortamda hazır bulunabildiği gibi endojen olarak da sentezlenebilmektedir. NO sadece damar endotel hücrelerinde değil, aynı zamanda serebellum ve ön beyindeki nöronlarda, nötrofil lökositlerde, böbrek tubulus epitel hücrelerinde, adrenal medulla hücrelerinde, mast hücrelerinde ve bazı otonom sinirlerin uçlarında da sentez edilip salıverilir. NO bilinen nörotransmitterlerden farklı olarak sinaptik veziküllerde bulunmaz, ekzositozla terminallerden salınmaz ve hiçbir rezervuarda toplanmaz, fakat bir nörondan diğer bir nörona difüze olabilir. Stimülasyonla salınır ve nöronal (glial) hücrelerde enzim ve diğer maddeleri etkiler. L-arjinin kimyasal olarak iki guanidin azotu taşımaktadır. Bu yapısıyla oksidasyona çok elverişlidir. L-arjinin sentezi guanido grubundaki nitrojenin hidroksilasyonu ile başlatılır. Bu reaksiyonu NO sentaz (NOS) enzimi yapar. NOS bir flavoproteindir. Reaksiyonda L-arjinin, indirgenmiş pridin nükleotidi (Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat, NADPH) ve moleküler oksijen (O_2) substrat olarak kullanılır. Bu enzimin kofaktörleri NADP (Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat), FAD (Flavin adenin dinükleotid), FMN (Flavin mononükleotid), tetrahidrobiopterin, kalmodülin ve hem'dir. Reaksiyon sonucunda, NO ve L-sitrülin elde edilir. Sitrülin bir azot olarak L-arjinin'e geri dönüşebilir. Bu şekilde üretilen NO, hızla hemoglobin, metilen mavisi ve süperoksit anyonu tarafından nötralize edilir ve 10 sn içinde nitrit ve nitratlara dönüştürülür (Şekil 2.7.) (56,57,59,60,62, 63).



Şekil 2.7. NO Biyosentezi

NO, sentez edildikçe salıverilen bir moleküldür ve depolanmaya uygun değildir. Fazlası dokular üzerinde toksik etkili olduğu için hızla etkisiz hale dönüştürülür. NO için klasik bir reseptör bölgesi yoktur. Guanilil siklazın hem grubuna bağlanarak, hücre için ikincil haberci molekül olarak çalışan siklik guanozin monofosfat (sGMP)'in birikimine yol açar. sGMP, miyozin hafif zincir kinazın defosforilasyonuna neden olarak düz kas gevşemesi yapar. K^+ kanallarının açılması sonucu oluşan hiperpolarizasyon, NO'nun bazı etkilerine aracılık etmektedir. NO'nun L-tipi Ca^{++} kanallarından Ca^{++} girişinin engellendiği intraselüler depolardan Ca^{++} salıverilmesini önlediği ve intraselüler depolara sarkoplazmik endoplazmik retikulum Ca^{++} -ATPaz (SERCA) aracılığı ile Ca^{++} depolanmasını artırdığı, yani sonuçta, hücre içi Ca^{++} düzeyini düşürdüğü anlaşılmıştır. Bu etkiler sGMP üzerinden olur (58).

2.8.3. Nitrik Oksid Sentaz İzoenzimleri

NOS'ları sentezleyen 3 gen bulunur ve bu genlerden her biri bir NOS izoformu oluşturur. NOS'ın tip 1, tip 2 ve tip 3 olarak tanımlanan 3 izoformu vardır. Bu enzimler yapısal (konstitütif) (cNOS) ya da indüklenebilir (iNOS) formda olabilir. Nöral dokuda lokalize olmuş kromozom 12 tarafından kodlanan nöronal NOS (nNOS; tip 1) ve vasküler endotel hücrelerde bulunan ve kromozom 16 tarafından kodlanan endotelial NOS (eNOS; tip 3) aktif hale gelmek için Ca^{++} 'a gereksinim duyar, bu nedenle yapısal NOS enzimleri olarak da adlandırılırlar. eNOS, damar endotel hücrelerinde bulunmaktadır. 135 kDa ağırlığındadır ve Ca^{++} ve kalmodüline bağımlı bir izoformdur.

nNOS, nöronlarda ve non-adrenerjik non-kolinergik (NANK) sinirlerde bulunur ve 168 kDa ağırlığındadır. Ca^{++} -kalmodülün sisteminin etkisindedir. Beyinde önemli bir nörotransmitter olan glutamat, N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörlerine bağlandıktan sonra postsinaptik hücre içine Ca^{++} girişini başlatmakta ve hücre içine giren Ca^{++} da kalmodüline bağlanarak NOS'u aktif hale getirmektedir.

Kromozom 7 tarafından kodlanan indüklenebilir NOS (iNOS; tip 2) ekspresyonu makrofajlarda endotoksin ya da inflamatuvar sitokinlerle karşılaşma sonucu artar. 130 kDa ağırlığındadır. Ca^{++} ve kalmodüline bağımlı değildir. Bu izoforma immunolojik NOS da denmektedir. Uyarıldığında diğer iki enzime göre daha fazla miktarda ve uzun süreli NO salınımı olur. nNOS ve eNOS yapısal (cNOS) olarak da isimlendirilir. cNOS aracılığıyla oluşturulan NO, hava yolu fonksiyonunun fizyolojik regülasyonunda; iNOS aracılığıyla oluşturulan NO ise hava yollarının inflamatuvar hastalıklarında rol almaktadır (57,59,60,64).

2.8.4. Nitrik Oksid Sentaz İnhibitörleri

İki grupta sınıflandırılabilir:

- **L-Arjinin Analogları:** L-NMMA (monometil-L-arjinin), L-NA (nitro-L-arjinin), L-NAME (nitro-L-arjinin metil ester), L-NIO (N-iminoetil-l-ornitin), N-amino-L-arjinin (L-NAA) ve N-N-dimetilarjinin (ADMA) NOS enzimini inhibe ederek etki gösterirler.

ADMA plazmada endojen olarak bulunur. Renal yetmezlik veya bazı immün yetmezlik gibi hastalıklarda ADMA düzeylerinin yükseldiği gösterilmiştir. L-NMMA ve L-NAME oral olarak aktiftir.

Diğer iki L-arjinin analogu N-N-dimetil-L-arjinin (SDMA) ve α -amino- δ -izotiyüreidovalenik asid NOS enziminin aktivitesini inhibe etmemektedir.

- **L-Arjinin Analogu olmayanlar:** 7-NI (7-nitroindazol), N-(1-iminoetil)-L-lizin, merkaptometilguanidin, L-kanavanin, aminoguanidin, deksametazon, hidrokinon, glukokortikoidler, aminoguanidin, TGF- β , IL-4 ve IL-10 de NOS enzimini inhibe ederek etki gösterirler.

NO, NOS inhibitörleri dışında hemoglobin, metilen mavisi, kalmodülün bağlayıcılar, hem bağlayıcılar, flavoprotein bağlayıcılar, süperoksit anyonu (O^{2-}) gibi maddelerle de inhibe edilebilir (57,64).

2.8.5. Nitrik Oksid Vericileri

Nitroprussidler ve organik vazodilatörler: Nitrovazodilatörler uzun süredir özellikle kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Gliseril trinitrit (GTN), sodyum nitroprussid (SNP) ve sidnonimine (SIN-1) gibi vazodilatör ajanlar ortama NO vererek damar düz kaslarının gevşemesi ve platelet agregasyonunun inhibisyonu gibi bir seri olaya neden olurlar (64).

2.8.6. Nitrik Oksid'in Fizyolojik ve Fizyopatolojik Etkileri

Biyolojik yarı ömrü saniyeler düzeyinde olan NO'nun insan fizyolojisi ve fizyopatolojisinde önemli bir yeri vardır. NO'nun belirli reseptörleri yoktur. Hücre membranını geçerek demir ve/veya sülfür içeren proteinlere bağlanır. Özellikle nöronlarda ve damar düz kas hücre membranında bulunan ve GTP'den sGMP dönüşümüne neden olan solubl guanilat siklaz enzimini aktive ederek damar dilatasyonu ve sinirlerde uyarının iletimi gibi fizyolojik fonksiyonları gerçekleştirir. NO; kardiyovasküler, endokrin, santral ve periferik sinir sistemi gibi birçok sistemde önemli roller oynamaktadır. Solubl guanilat siklaz aracılığıyla hücre içi sGMP'de oluşturduğu artış ağrı ve analjezi gibi çeşitli fizyolojik fonksiyonları düzenleyebilir. Sinir sisteminde major izoform olan nNOS tarafından sentez edilerek merkezi ve periferik sinir sisteminde de aracı madde olarak görev yapan NO, nörokimyasal sistemin önemli bir parçasını oluşturmaktadır. NO, merkezi sinir sisteminde hafıza ve öğrenme, sinirsel aktiviteler, serebral kan akımının düzenlenmesi ve ağrının hafifletilmesi gibi birçok fizyolojik fonksiyonda aracı madde olarak rol oynamaktadır. Bunun dışında koku alma ve görme işlevinde de rolü olduğu bildirilmiştir. Endokrin sistem üzerinde yapılan birçok çalışma NO'nun hipotalamo-hipofizer hormon salınımını düzenlediğini göstermiştir.

Hayvanların ve insanların omurilik ve beyin bölgelerinde NOS enziminin saptanmasıyla NO'nun nörotransmisyonadaki önemi ortaya çıkmıştır. NO, santral ve periferik sinir sisteminde nöronal bir haberci olarak görev yapmakta ve sinaptik plastisite ile nörotoksosite gibi çeşitli biyolojik olaylara karışmaktadır (59,60,62,65,66).

Nitrik oksid'in rol oynadığı olaylar aşağıda özetlenmiştir:

- Vasküler düz kas relaksasyonu ile vazodilatasyon
- Nörotransmitter (Santral sinir sisteminde ve periferde NANK sinirlerde)
- Antiproliferatif etki (endotel hücreler ve damar düz kas hücrelerinde)
- Trombosit adezyon ve agregasyonunda inhibisyon
- Düşük konsantrasyonda eritrosit deformabilitesinde artış
- İmmünomodülatör etki
- Lökosit adezyonunun inhibisyonu (NADPH oksidaz inhibisyonu)
- Makrofaj aracılı nonspesifik immün yanıt
 - Antimikrobiyal (sitotoksik)
 - Antitümöral (sitostatik)

2.8.7. Nitrik Oksid ve Ağrı

Ağrı, bizi hasardan koruyan önemli bir fizyolojik yanıttır. Diyabet, viral infeksiyonlar, sinir hasarı ve inflamasyon gibi patofizyolojik koşullar ısrarlı, kronik ağrıyı artırabilir.

NO'nun nöronal yolların birçok seviyesinde ağrının algılanmasında rol oynadığı ve ağrının modülasyonunda önemli bir işlevi olduğu kabul edilmektedir. Ancak, hangi mekanizmalar aracılığıyla olduğu tam olarak açığa kavuşmamıştır. Çünkü L-arjinin /NO/sGMP yolağı santral ve periferik nosiseptif süreçlerde kompleks bir rol oynamaktadır. Omurilik düzeyinde nosisepsiyonun

transmisyonunda NO'nun etkili olduğu ve omurilik arka boynuzunda nosiseptif bilginin serebral düzeye taşınmasını sağladığı kabul edilmektedir. Omurilik arka boynuzunda ağrılı impulsların NO tarafından potansiyelize edildiğini, NOS inhibitörlerinin antinosiseptif etkilerinin olduğunu, öte yandan çeşitli bileşiklerin analjezik etkilerine NO'nun aracılık ettiğini ileri süren çalışmalar bulunmaktadır. Periferik duyuşal aferentlerin zedelenmesi veya kutanöz/viseral inflamasyon koşullarında, omurilik arka boynuzunda NOS enziminde upregülasyon oluşmakta ve NOS'u inhibe ya da aktive eden ilaçlar nosisepsiyon yanıtında sırasıyla azalmaya veya artmaya neden olmaktadır. İntraserebroventriküler (i.c.v.) uygulanan NOS inhibitörlerinin (L-NAME, L-NMMA) veya solubl guanilat siklaz inhibitörü metilen mavisinin farelerde antinosiseptif etki oluşturması nosisepsiyonun supraspinal transmisyonunda NO/sGMP yolağının kolaylaştırıcı rolünü göstermiştir. Beyinde NO'nun başlıca kaynağı olan nNOS, NMDA reseptörlerinin uyarılması ve böylece hücre içi Ca^{++} konsantrasyonlarının artması ile aktive olmaktadır. NO, santral sinir sisteminde NMDA reseptörleri ya da diğer mekanizmalarla sinaptik etkinliğin değiştirilmesinde önemli rol oynamaktadır.

NO, beyin ve omurilik dışında periferik sinir sisteminde de nosisepsiyonun iletilmesinde de kompleks bir rol oynamaktadır. L-arjinin/NO/sGMP yolağının aktivatörleri veya inhibitörlerinin kullanılması ile, periferik dokularda L-arjinin/NO/sGMP yolağında NO'nun hem nosiseptif hem de antinosiseptif etkili olduğu gösterilmiştir.

Günümüzde periferik sinir uçlarının kimyasal olarak uyarılmasıyla oluşan ağrı modellerinde ya da mekanik ve termal uyarılarla oluşturulan viseral ağrı modellerinde NOS inhibitörlerinin antinosiseptif etkiler oluşturduğuna ilişkin kanıtlar bulunmaktadır (65,66,67,68,69,70,71).

NOS inhibitörü olan L-arjinin analoglarının sistemik uygulaması nöropatik ve kimyasal ağrıya karşı antinosiseptif aktivite gösterir (6,72). NOS inhibitörleri L-NAME ve L-NMMA, sGMP inhibitörü metilen mavisinin i.c.v. uygulaması opioid'den bağımsız antinosiseptif etki oluşturur ve bu etki dibutiril-sGMP tarafından bloke edilir (73).

NOS inhibitörlerinin sistemik ve intratekal injeksiyonunun formalin ve karragenin ile oluşturulan hiperaljeziye bağılı zararlı yanıtları azalttığı bulunmuştur (74). Çelişkilili olarak, bazı NOS inhibitörleri asetilkolin ve morfin'in antinosiseptif etkisini önlemiştir (6,72).

Birçok çalışma L-arjinin/NO/sGMP yolağının morfin'in ve bazı NSAİİ'lerin antinosiseptif etkisinde rolü olduğunu göstermektedir. Brignola ve ark. per oral (p.o) ve intraperitoneal (i.p) L-arjinin uygulamasının hot-plate, tail-flick ve abdominal kontraksiyon testinde doza bağımlı olarak morfinin antinosiseptif etkisini azalttığını ve bu etkinin L-NAME'in uygun dozuyla geri çevrilebileceğini göstermişlerdir (75,76,77). Morfin'in oluşturduğu antinosisepsiyonun L-arjinin tarafından azaltılması, etkide NO'in rolünün olduğunu düşündürmektedir. Bu hipotez NO'in substratı olmayan D-Arjinin ve de NO sentazı inhibe etmeyen NG-nitro-D-Arjinin-

metil-ester (D-NAME)'in morfinin antinosiseptif etkisini değiştirmemiş olması ile desteklenmektedir.

Morgan ve ark. L-NAME ve NSAİİ'lerden flurbiprofen ve indometazin'in farelerde sinerjistik antinosiseptif etki oluşturduğunu göstermişlerdir (78). Buna karşın, diğer bir çalışmada da insan ve deney hayvanlarında analjezik etkisi olduğu kanıtlanmış non-kompetif NMDA reseptör blokörü anestezik bir madde olan ketaminin antinosiseptif etkisi L-NAME tarafından bloke edilmiştir (79).

2.9. Periferik Nosisepsiyonda İkinci Haberci Sistemleri

Nosiseptif sürecin periferik başlangıcına ilişkin çalışmalar halen yoğun bir biçimde sürdürülmektedir. Deneysel veriler primer duysal nöronların sensitizasyonunda Ca^{++} ve sAMP'nin kritik rolünü göstermektedir (10). Voltaj kapılı Ca^{++} kanalları, primer afferent nöronlardaki ağrı sinyallerinin mediyatörleri olarak çok iyi belirlenmiştir (25).

İntraplanter sAMP analogları ve fosfodiesteraz 4 inhibitörleri, PGE_2 'nin indklelediği hiperaljeziyi artırmaktadır. Protein kinaz A veya C'nin aktivasyonu ile iyon kanallarının fosforile edilmesi veya hücre içi kalsiyumu kontrol eden sitozolik yapıların modülasyonunun bu olaya katkıda bulunduğu bilinmektedir. İnflamatuar hiperaljezinin Ca^{++} /sAMP'nin nöronal miktarındaki artışa bağlı olduğu dşnlmektedir (75,80).

sAMP'nin nosisepsiyondaki rolüne karşıt olarak, sGMP'nin antinosisepsiyonda rolü olduğu ve periferik antinosiseptif etkinin L-Arjinin/NO/sGMP yolağı aracılığıyla ortaya çıkabileceği ileri srlmştir. L-Arjinin/NO/sGMP yolağı, nosisepsiyona direkt ya da diğer yollarla etkileyerek karışmaktadır (75,80).

NO'nun sGMP'yi artırarak çeşitli dokularda kalsiyumun yanısıra farklı tipteki potasyum kanallarını aktive ettiği bilinmektedir. Örneğin morfin ve NO donörü sodyum nitroprussid ile oluşan periferik antinosisepsiyonda ATP duyarlı potasyum kanallarının aktivasyonunun nöronal ağrı eşiğini değiştirerek nosiseptör desensitizasyonuna neden olduğu ileri srlmştir (81,82,83).

2.10. Fosfodiesteraz Enzim Ailesi

Fosfodiesteraz enzimleri (PDE) geniş kapsamda biyolojik sistemlerde oluşur ve kırmızı kan hücreleri dışındaki diğer memeli dokularında bulunur. PDE'ler, ikincil haberci siklik nükleotidler olan sAMP ve sGMP'nin yıkımından sorumludur ve sAMP/sGMP'nin hücre içi konsantrasyonlarının en önemli düzenleyicisidir (84).

Bu güne kadar 11 PDE enzim ailesi tanımlanmıştır ve fonksiyonel karakteristiklerine (substrat spesifitesi, hüresel dağılım, selektif inhibitörlere duyarlılık gibi) göre sınıflandırılmıştır. İzoenzimlerin sAMP ve sGMP'ye afiniteleri, kinetikleri, farmakoloji ve doku dağılımları farklıdır. PDE 3, 4, 7 ve 8 sAMP'ye, PDE 5, 6 ve 9 sGMP'ye spesifik olup, geri kalanlar ise çeşitli derecelerde hem sAMP hem de sGMP'yi etkilerler (85).

sAMP ve sGMP hücre sinyali iletiminde önemli rol sahibi ikincil habercilerdir ve birçok fizyolojik işlevde düzenleyici rol oynarlar. Hücresel düzeyleri, adenil veya guanilat siklazdan siklik nükleotid sentezi ve PDE'ler ile siklik nükleotid yıkım hızlarına göre düzenlenir.

PDE11 son tanımlanan üye olup biyokimyasal karakteristikleri ve fizyolojik rolleri çok az anlaşılmıştır. İnsanda 4 adet PDE11 alt tipi tanımlanmıştır: PDE11A1 - A4. Hepsisi tek bir genden kaynaklanmakta ve hem sAMP'yi hem de sGMP'yi hidrolize etmektedir (86,87).

2.10.1. Fosfodiesteraz-5 İzoenzim Ailesi

PDE-5, ilk olarak trombositlerden daha sonra da akciğer dokusundan izole edilmiştir. PDE-5, sGMP hidrolizine spesifiktir ve yüksek afiniteli sGMP bağlayıcı bölgeler içerir. Bu nedenle PDE-5'e sGMP bağlayıcı sGMP-spesifik fosfodiesteraz da denmektedir. İntraselüler sGMP konsantrasyonları guanilat siklazın aktivitesi ve sGMP'ye spesifik fosfodiesterazların yıkım hızıyla düzenlenir. sGMP antinosiseptif mekanizmada da önemli bir rol oynar. Birçok çalışma dibutil sGMP, 8-br-sGMP ve sildenafil'in zararlı uyarıların çeşitli tiplerinde antinosisepsiyon oluşturduğunu göstermiştir (8,86).

PDE-5 aktivitesi arteriyel ve venöz düz kas hücrelerinde gösterilmiştir. Ayrıca PDE-5 aktivitesinin sGMP ile ilişkili vazodilatasyonda rol oynadığı görülmektedir. Bu nedenle PDE-5 inhibitörünün hemodinamikler üzerinde anlamlı etki oluşturabilmesi olasıdır (89,90,91).

PDE-5'in fizyolojik önemi erektil disfonksiyon tedavisinde selektif inhibitörü sildenafil'in klinik kullanımı ile epey dikkat çekmiştir (20). Sildenafil, sGMP'nin hidrolizini katalize eden ve insan korpus kaverosum kaynaklı arteriyollerin düz kas hücrelerine gevşetici etkisi olan sGMP'ye spesifik PDE-5'in güçlü ve selektif inhibitörüdür. 1997'de ilk bulunuşundan bu yana sildenafil erkeklerde erektil disfonksiyonun tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır.

Son zamanlarda PDE-5'i hedef alan diğer ilaçlar geliştirilmiştir. Bunlar vardenafil ve tadalafil gibi PDE-5'i spesifik olarak inhibe eden ajanlardır ve diğer PDE ailesine göre inhibitör profilleri farklıdır (20). Nitekim sıçan anokoksigeus kasında vardenafil'in sildenafil ve tadalafil'e göre in vitro sGMP yıkımını çok daha güçlü önlediği ve sıçan anokoksigeus kasında vardenafil'in diğerlerine göre daha güçlü ekzojen ve endojen NO aracılı gevşemeye neden olduğu bildirilmiştir (13). Sıçan aortunda da her üç ajanın gevşetici etkisinin yukarıdaki çalışmayla benzer olduğu görülmüştür. Vardenafil'in gevşetici etkisinin daha güçlü olması, kalsiyum girişini ve olasılıkla inozitol 1,4,5-trifosfat'a duyarlı hücre içi depolardan kalsiyum salıverilmesinin inhibisyonu ile ilişkili bulunmuştur.

Sildenafil'in sıçanlarda ve farelerde çeşitli ağrı modellerinde lokal periferik ya da sistemik uygulanmasından sonra antinosisepsiyon oluşturduğu bildirilmiştir (92). Karragenin ile oluşan hiperaljezi ile, writhing testi ve formalin testinde gösterildiği gibi sildenafil'in lokal ve sistemik enjeksiyonunun periferik antinosisepsiyon oluşturmasında L-arjinin/NO/sGMP yolağının aracılık ettiği ileri

sürülmüştür. Çünkü sodyum nitroprussid (SNP) ve L-arjinin, sildenafil'in analjezisini artırmaktadır ve bu etki metilen mavisi ve L-NAME ile antagonize edilmektedir (1,10,92,93,94)

GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmada 89 adet 200-450 g ağırlığında erkek Wistar sıçanlar (Akdeniz Üniversitesi Deney Hayvanları Ünitesi) kullanıldı. Hayvanlar standart laboratuvar koşullarında 12 saat ışık ve 12 saat karanlık odada 4'erli gruplar halinde oda ısısında tutuldu ve deneyler saat 9.00-16.00 arası yapıldı. Deneyler başlayıncaya kadar hayvanların yiyecek ve su alımı serbest bırakıldı. Her hayvan bir kez kullanıldı.

Çalışmaya tüm deney protokolünün Akdeniz Üniversitesi Hayvan Bakım-Kullanım ve Hayvan Deneyleri Etik Kurulu tarafından onaylanmasından sonra başlandı.

3.2. Deney Protokolü

3.2.1. Karragenin ile hiperaljezi indüksiyonu

Karragenin dokuya injekte edildiğinde akut inflamatuvar yanıtı neden olan bir iritan maddedir. Kemiricilerin pençesine injekte edildiğinde kısa sürede fizyolojik ve biyokimyasal değişikliklere neden olur ve bu değişiklikler etkilenen pençeye sınırlıdır. İnjesiyon yapılan pençede ödem, ağrı ve hiperaljezi oluşur (95).

Hiperaljezi, taze olarak hazırlanmış %2'lik karragenin solüsyonunun sıçanların sağ arka pençesine 0.1 ml intraplantar (i.pl) injeksiyonu ile oluşturuldu. Sol arka pençeye kontrol olarak karragenin taşıyıcısı salin 0.1 ml i.pl injekte edildi. İ.pl injeksiyonlar için 30 gauge'luk iğne kullanıldı. Hiperaljezi, Randall ve Selitto (1957) tarafından tanımlanan pençe basınç testi ile bir analjezimeter (Ugo-Basile analjezimeter, model no: 37215, İtalya) aracılığıyla mekanik nosiseptif basıncın ölçülmesi ile saptandı (Şekil 3.1). Cihaz sıfırdan başlayarak pençe üzerine artan bir şekilde ağırlık (0-400 g) uygulayacak şekilde ayarlandı. Nosiseptif eşik sıçanın pençesini güçlüce çektiği ya da ses çıkardığı nokta olarak kabul edildi. Maksimum 400 g'a kadar olan ağırlığa nosiseptif yanıt vermeyen hayvanlarda pençe hasarını önlemek için ağırlık uygulaması kesildi. Nosisepsiyon oluşturan basınç karragenin uygulanmasından önce (0. dakika) ve sonra 15, 30, 60 ve 120. dakikalarda ölçüldü.



Şekil 3.1. Ugo-Basile analjezimeter aracılığıyla nosiseptif basıncın ölçülmesi

3.2.2. Sildenafil ve vardenafil'in antinosiseptif etkisinin değerlendirilmesi

Sıçanların sağ arka pençesinde karragenin injeksiyonu ile oluşturulan hiperaljeziye, fosfodiesteraz-5 inhibitörlerinden sildenafil ve vardenafil'in antinosiseptif etkisini değerlendirmek için; sildenafil (200 µg) veya vardenafil (50,100 µg) karragenin'den 30 dakika önce i.pl olarak injekte edildi ve nosisepsiyon oluşturan basınç ilaçların uygulanmasından önce (0. dakika) ve karragenin uygulanmasından sonra (15, 30, 60 ve 120. dakikalarda) ölçülerek antinosiseptif yanıt değerlendirildi. Kontrol amaçlı sol pençeye karragenin'den 30 dakika önce sildenafil ve vardenafil'in taşıyıcısı dimetil sülfoksit (DMSO) 0.1 ml/i.pl injekte edildi ve aynı deney protokolü tekrarlandı.

3.2.3. Sildenafil ve vardenafil'in antinosiseptif etkisinde L-arjinin-Nitrik oksid sGMP yolağının rolünün değerlendirilmesi

Sıçanların sağ arka pençesine:

- Nitrik oksid donörü L-arjinin (10 µg/i.pl)
- Nitrik oksid sentaz blokörü L-NAME (L-N nitro arjinin metilester) (100 µg/i.pl)
- Spesifik guanilat siklaz inhibitörü ODQ (1H-(1, 2, 4) oksadiazolo (4, 3a) kinoksalin-1-on) (50 µg/i.pl) injekte edildikten 10 dakika sonra sildenafil (200 µg/i.pl) veya vardenafil (50,100 µg/i.pl) uygulandı ve 30 dakika sonra karragenin

injeksiyonu yapıldı. Nosisepsiyon oluşturan basınç karragenin uygulanmasından önce (0. dakika) ve karragenin uygulanmasından sonra (15, 30, 60 ve 120. dakikalarda) ölçülerek antinosiseptif yanıt değerlendirildi. Sol pençeye kontrol olarak L-arjinin, L-NAME, ODQ'nun taşıyıcıları olan salin ya da DMSO verilerek aynı deney protokolü tekrarlandı.

3.2.4. Sildenafil ve vardenafil'in antinosiseptif etkisinde kalsiyum'un rolü

Sıçanların sağ arka pençesine kalsiyum iyonoforu A23187 (1 µg/i.pl) injekte edildikten 10 dakika sonra sildenafil (200 µg) veya vardenafil (50,100 µg) uygulandı ve 30 dakika sonra karragenin injeksiyonu yapıldı. Nosisepsiyon oluşturan basınç karragenin uygulanmasından önce (0. dakika) ve karragenin uygulanmasından sonra (15, 30, 60 ve 120. dakikalarda) ölçülerek antinosiseptif yanıt değerlendirildi. Sol pençeye kontrol olarak A23187'nin taşıyıcısı olan DMSO verilerek aynı deney protokolü tekrarlandı.

Protokol sonrası sıçanlar 1,5 g/kg dozunda üretan anestezisi ile sakrifiye edildi.

3.2.5. Deneylerde Kullanılan Maddeler

Karragenin ----- Hiperaljezi oluşturmak için
Sildenafil ve vardenafil ----- Fosfodiesteraz 5 inhibitörleri
L-arjinin ----- NO donörü
L-NAME (L-N nitro arjinin metilester) ----- Nitrik oksid sentaz blokörü
ODQ (1H-(1, 2, 4) oksadiazolo (4, 3a) kinoksalin-1-on) ----- Spesifik guanilat siklaz inhibitörü
A23187 ----- kalsiyum iyonoforu
DMSO (Dimetil sülfoksit) ----- Çözücü
Karragenin, L-arjinin, L-NAME, ODQ, A23187, DMSO Sigma'dan
Sildenafil Eczacıbaşı İlaç Sanayi ve Ticaret A.Ş.'den
Vardenafil Bayer Türk Kimya Ltd. Şti.'den elde edildi.
Deneylerde kullanılan maddeler 0.1 ml hacimde ve i.pl olarak uygulandı.
Sildenafil, vardenafil, ODQ, A23187 DMSO'da
Karragenin, L-arjinin, L-NAME salin'de çözüldü.

3.2.6. İstatistiksel Analiz

Gruplardaki veriler; 0. dakikada sıçanların pençelerini çektikleri basınç değeri % 100 olarak kabul edilerek 15, 30, 60 ve 120. dakikalardaki veriler 0. dakikadaki değerle orantılanıp yüzde olarak verildi. Veriler ortalama ± S.E.M. olarak verildi. İki grup arasındaki farkın anlamlılığı Mann-Whitney U testi kullanılarak değerlendirildi. p<0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

- Karragenin ile oluşan nosisepsiyonun değerlendirilmesi

Sıçanların sağ arka pençesine %2'lik taze karragenin solüsyonundan 0.1 ml i.pl olarak injekte edilmesi, 0.1 ml salin injekte edilen kontrol gruba göre 15, 30, 60 ve 120. dakikalarda nosisepsiyon oluşturan basınçta istatistiksel olarak anlamlı bir azalma oluşturdu (Şekil 4.1.).

- Sildenafil'in antinosiseptif etkisi

Karragenin injeksiyonundan 30 dakika önce 200 µg/0.1 ml i.pl sildenafil injeksiyonu, karragenin'in azalttığı nosisepsiyon eşiğini anlamlı olarak artırdı. Sildenafil'in bu antinosiseptif etkisi 15, 30, 60 ve 120. dakikalarda karragenin uygulanan pençeye göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Şekil 4.2.).

- Sildenafil'le oluşan antinosisepsiyona L-arjinin'in etkisi

Sildenafil (200 µg/0.1 ml)'den 10 dakika önce 10 µg/0.1 ml L-arjinin i.pl injeksiyonu, sildenafil'in antinosiseptif etkisinde 15, 30 ve 60. dakikalarda istatistiksel olarak anlamlı artmaya neden oldu (Şekil 4.3.).

- Sildenafil'le oluşan antinosisepsiyona L-NAME'in etkisi

Sildenafil (200 µg/0.1 ml)'den 10 dakika önce 100 µg/0.1 ml L-NAME'in i.pl injeksiyonu, sildenafilin antinosiseptif etkisinde 15, 30 ve 60. dakikalarda istatistiksel olarak anlamlı azalmaya neden oldu (Şekil 4.4.).

- Sildenafil'le oluşan antinosisepsiyona ODQ'nun etkisi

Sildenafil (200 µg/0.1 ml)'den 10 dakika önce 50 µg/0.1 ml i.pl ODQ injeksiyonu, sildenafil'in antinosiseptif etkisinde 15, 30, 60 ve 120. dakikalarda istatistiksel olarak anlamlı azalma oluşturdu (Şekil 4.5.).

- Sildenafil'le oluşan antinosisepsiyona A23187'nin etkisi

Sildenafil (200 µg/0.1 ml)'den 10 dakika önce 1 µg/0.1 ml i.pl A23187 injeksiyonu, sildenafil'in antinosiseptif etkisinde 15, 30, 60 ve 120. dakikalarda istatistiksel olarak anlamlı azalmaya neden oldu (Şekil 4.6.).

- Vardenafil'in antinosiseptif etkisi

Karragenin injeksiyonundan 30 dakika önce 50 veya 100 µg/0.1 ml i.pl vardenafil injeksiyonu, karragenin'in azalttığı nosisepsiyon eşiğini anlamlı olarak artırdı. Vardenafil'in bu antinosiseptif etkisi 50 µg/0.1 ml i.pl uygulanan grupta 30, 60 ve 120. dakikalarda; 100 µg/0.1 ml i.pl uygulanan grupta 15, 30, 60 ve 120. dakikalarda karragenin uygulanan kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Şekil 4.7.,4.8.).

- Vardenafil'le oluşan antinosisepsiyona L-arjinin'in etkisi

Vardenafil (100 µg/0.1 ml i.pl)'den 10 dakika önce 10 µg/0.1 ml L-arjinin i.pl injeksiyonu, vardenafil'in antinosiseptif etkisinde 15, 30, 60 ve 120. dakikalarda istatistiksel olarak anlamlı artmaya neden oldu (Şekil 4.9.).

- Vardenafil'le oluşan antinosisepsiyona L-NAME'in etkisi

Vardenafil (100 µg/0.1 ml i.pl)'den 10 dakika önce 100 µg/0.1 ml L-NAME'in i.pl injeksiyonu, vardenafil'in antinosiseptif etkisinde 30, 60 ve 120. dakikalarda istatistiksel olarak anlamlı azalmaya neden oldu (Şekil 4.10.).

- Vardenafil'le oluşan antinosisepsiyona ODQ'nun etkisi

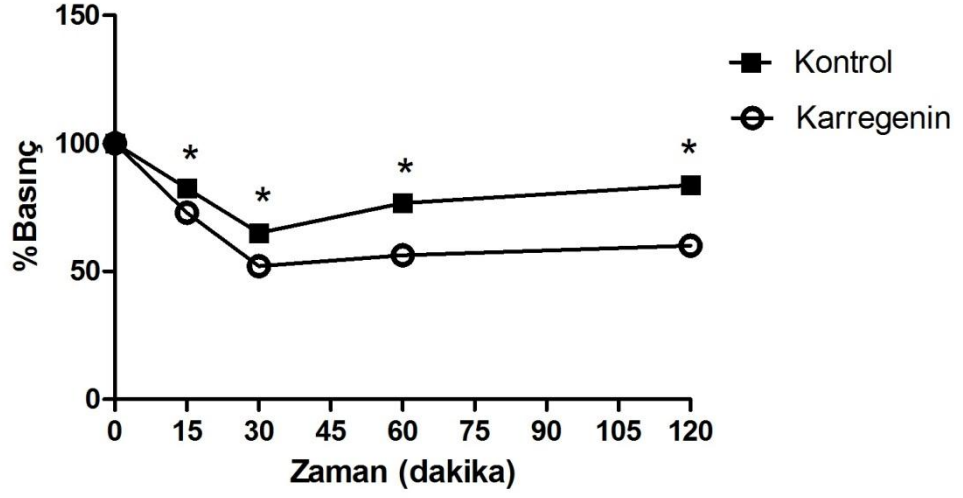
Vardenafil (100 µg/0.1 ml i.pl)'den 10 dakika önce 50 µg/0.1 ml i.pl ODQ injeksiyonu, vardenafil'in antinosiseptif etkisinde 15, 30, 60 ve 120. dakikalarda istatistiksel olarak anlamlı azalma oluşturdu (Şekil 4.11.).

- Vardenafil'le oluşan antinosisepsiyona A23187'nin etkisi

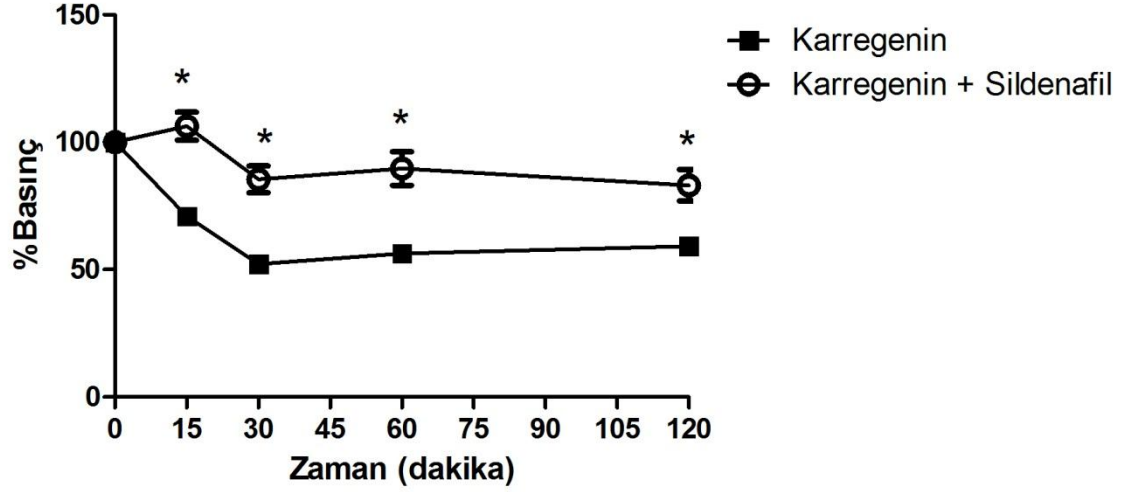
Vardenafil (100 µg/0.1 ml i.pl)'den 10 dakika önce 1 µg/0.1 ml i.pl A23187 injeksiyonu, vardenafil'in antinosiseptif etkisinde 30, 60 ve 120. dakikalarda istatistiksel olarak anlamlı azalmaya neden oldu (Şekil 4.12.).

- Sildenafil ve vardenafil'in antinosiseptif etkilerinin karşılaştırılması

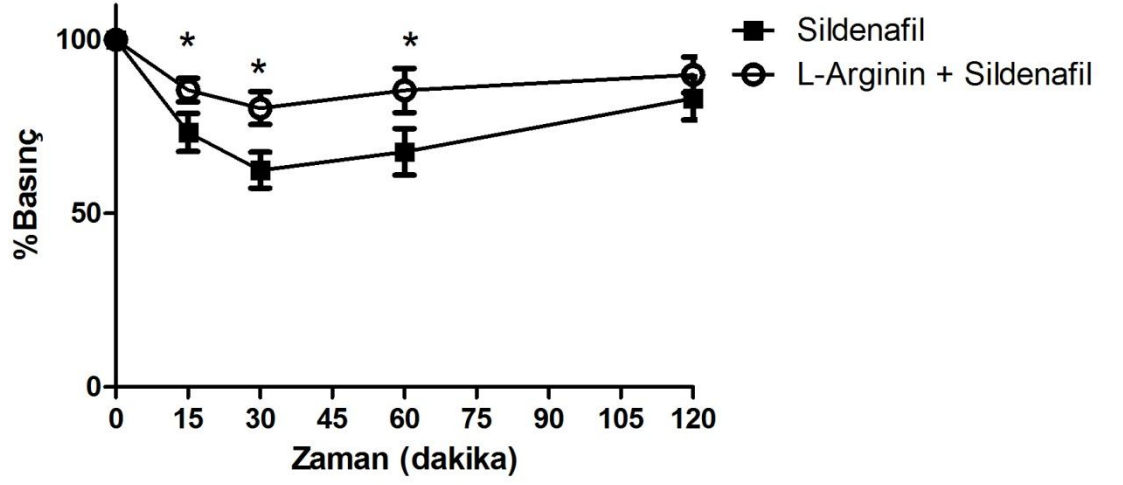
Karragenin injeksiyonundan 30 dakika önce 200 µg/0.1 ml sildenafil veya 50 ya da 100 µg/0.1 ml vardenafil i.pl injeksiyonu, nosisepsiyon oluşturan basınçta kontrol gruba göre istatistiksel olarak anlamlı azalma oluşturdu. Bu azalma 200 µg sildenafil (15, 30 ve 60. dakikalarda) ve 100 µg vardenafil (15, 30, 60 ve 120. dakikalarda) uygulanan gruplarda 50 µg vardenafil'in uygulandığı gruba göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Şekil 4.13.).



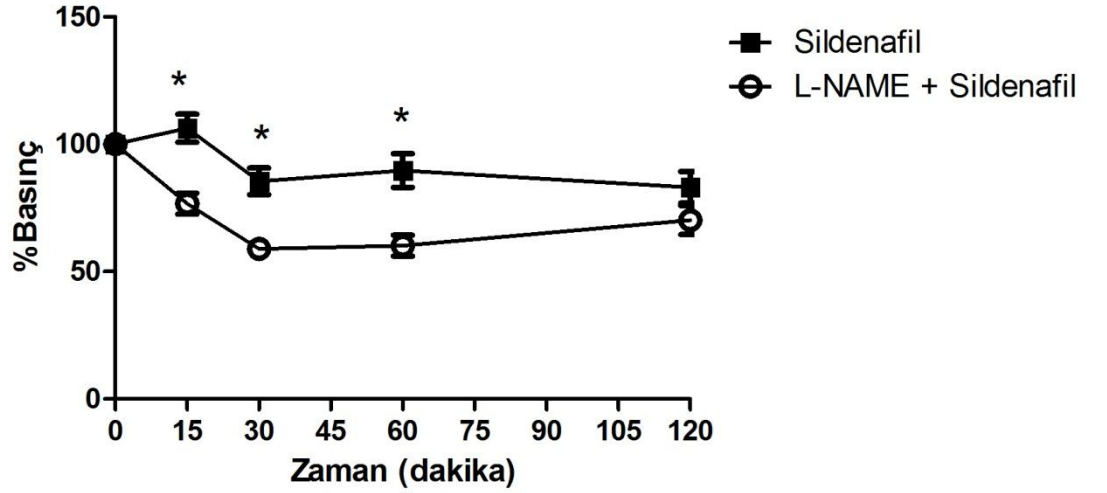
Şekil 4.1. Sıçanların sağ arka pençesine % 2/i.pl karragenin injeksiyonu ile oluşturulan hiperalejinin pençe basınç testi ile ölçülmesi. Sonuçlar 0. dakikada hiperalejiyi oluşturan basınç % 100 kabul edilip, 15, 30, 60 ve 120. dakikalarda ölçülen basınçlar bununla yüzdelendi ve ortalama \pm S.E.M. olarak verildi (n=10). * $p < 0.05$ kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



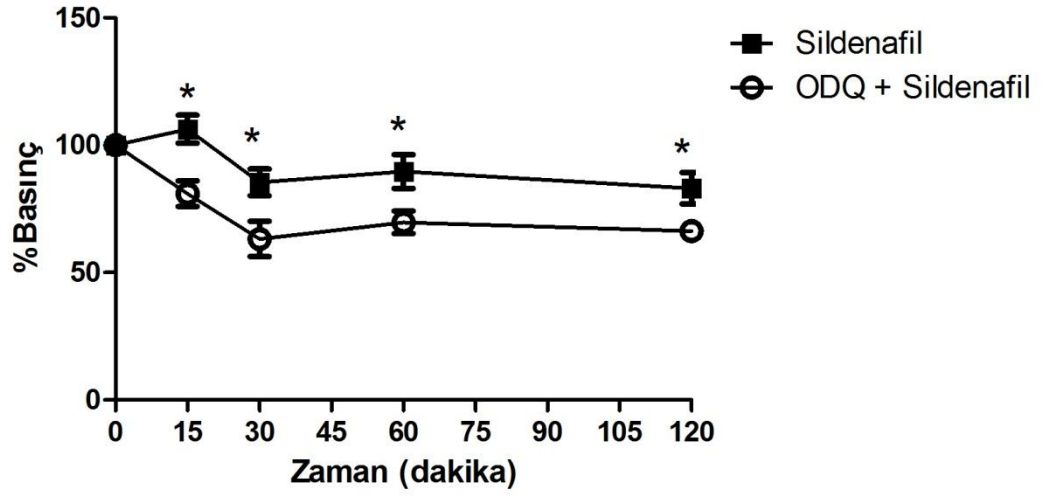
Şekil 4.2. Karragenin'in oluşturduğu hiperalejiye sildenafil (200 μ g/i.pl)'in antinösetif etkisi. Sonuçlar 0. dakikada hiperalejiyi oluşturan basınç % 100 kabul edilip, 15, 30, 60 ve 120. dakikalarda ölçülen basınçlar bununla yüzdelendi ve ortalama \pm S.E.M. olarak verildi (n=10). * $p < 0.05$ karragenin grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



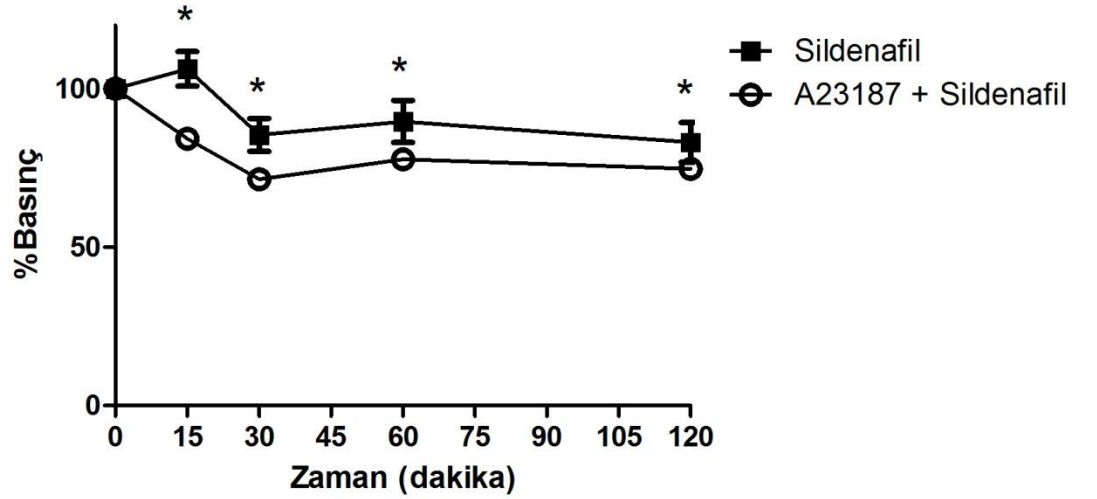
Şekil 4.3. Karragenin hiperaljesisinde sildenafil (200 µg/i.pl)'in oluşturduğu antinosisepsiyona L-arginin (10 µg/i.pl)'in etkisi. Sonuçlar 0. dakikada hiperaljezi oluşturan basınç % 100 kabul edilip, 15, 30, 60 ve 120. dakikalarda ölçülen basınçlar bununla yüzdelendi ve ortalama ± S.E.M. olarak verildi (n=7). *p<0.05 sildenafil grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



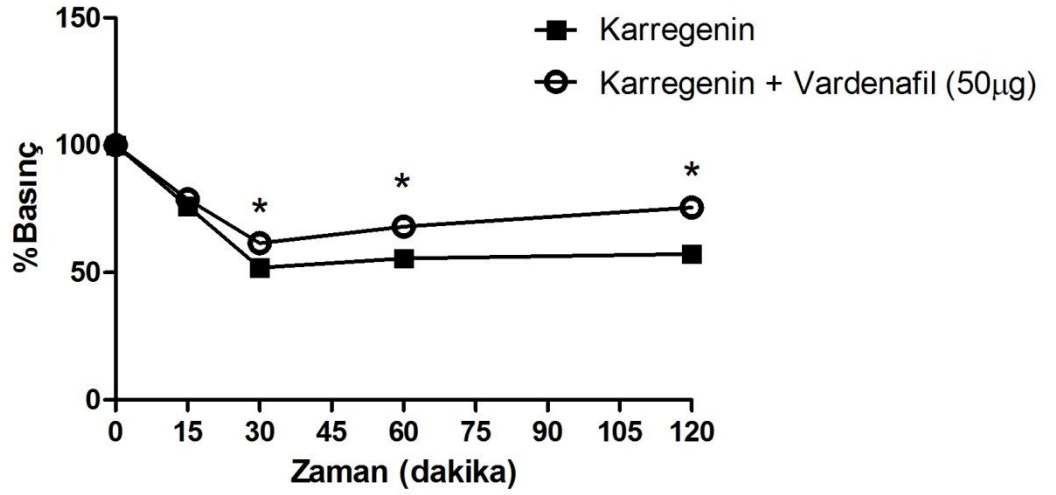
Şekil 4.4. Karragenin hiperaljesisinde sildenafil (200 µg/i.pl)'in oluşturduğu antinosisepsiyona L-NAME (100 µg/i.pl)'in etkisi. Sonuçlar 0. dakikada hiperaljezi oluşturan basınç % 100 kabul edilip, 15, 30, 60 ve 120. dakikalarda ölçülen basınçlar bununla yüzdelendi ve ortalama ± S.E.M. olarak verildi (n=7). *p<0.05 sildenafil grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



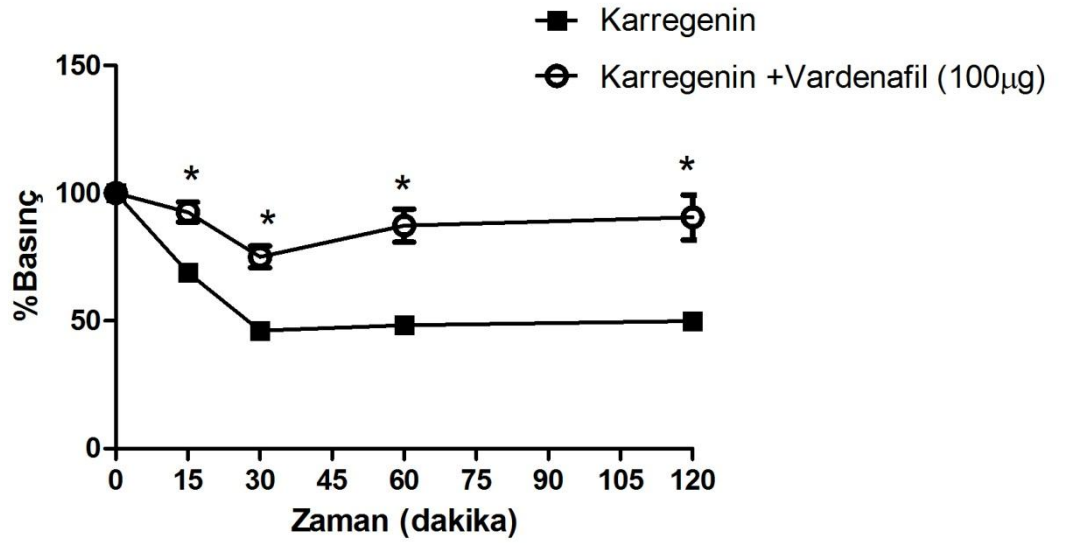
Şekil 4.5. Karragenin hiperaljezisinde sildenafil (200 µg/i.pl)'in oluşturduğu antinosisepsiyona ODQ (50 µg/i.pl)'in etkisi. Sonuçlar 0. dakikada hiperaljezi oluşturan basınç % 100 kabul edilip, 15, 30, 60 ve 120. dakikalarda ölçülen basınçlar bununla yüzdelendi ve ortalama ± S.E.M. olarak verildi (n=8). *p<0.05 sildenafil grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



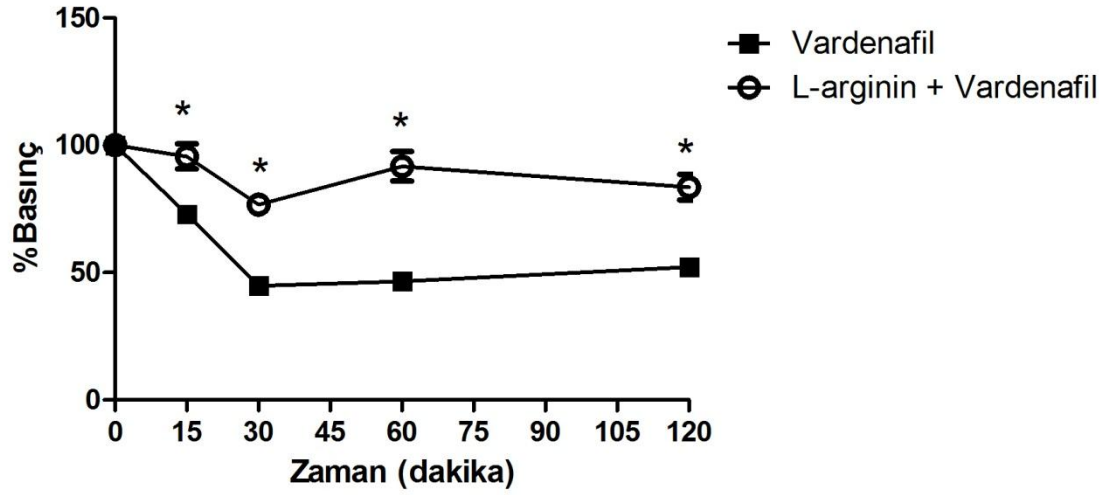
Şekil 4.6. Karragenin hiperaljezisinde sildenafil (200 µg/i.pl)'in oluşturduğu antinosisepsiyona A23187 (1 µg/i.pl)'in etkisi. Sonuçlar 0. dakikada hiperaljezi oluşturan basınç % 100 kabul edilip, 15, 30, 60 ve 120. dakikalarda ölçülen basınçlar bununla yüzdelendi ve ortalama ± S.E.M. olarak verildi (n=12). *p<0.05 sildenafil grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



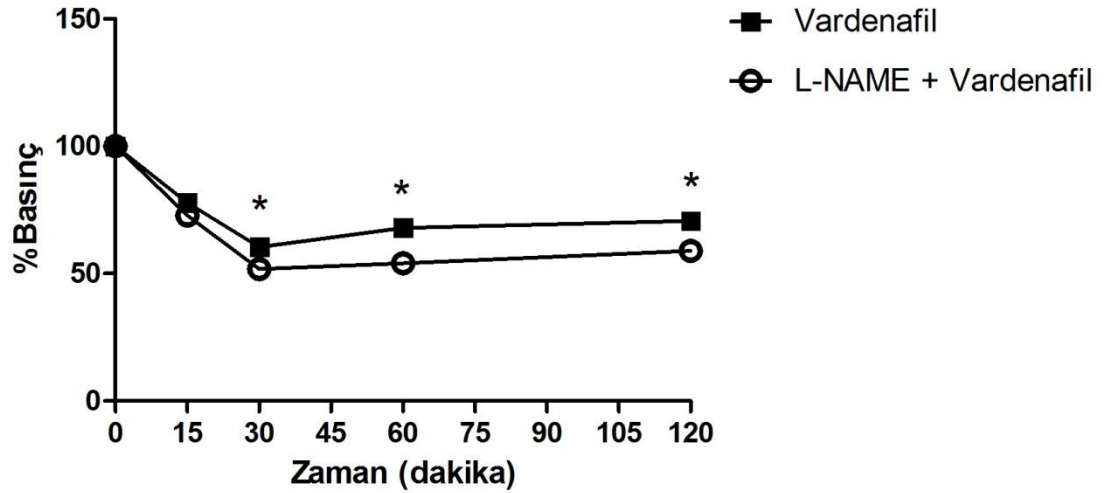
Şekil 4.7. Karragenin ile oluşan hiperalejiye vardenafil (50 µg/i.pl)'in antinosiseptif etkisi. Sonuçlar 0. dakikada hiperaleji oluşturan basınç % 100 kabul edilip, 15, 30, 60 ve 120. dakikalarda ölçülen basınçlar bununla yüzdelendi ve ortalama ± S.E.M. olarak verildi (n=7). *p<0.05 karragenin grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



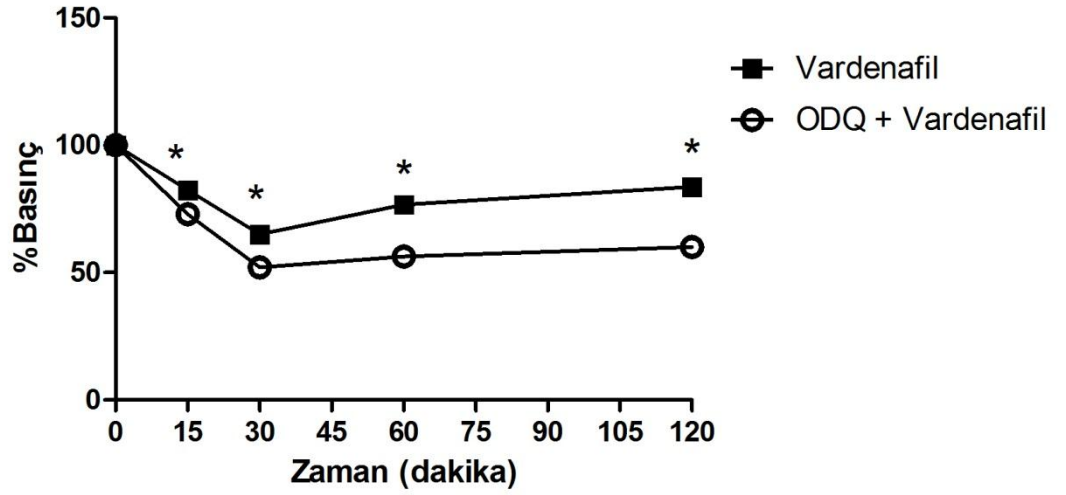
Şekil 4.8. Karragenin ile oluşan hiperalejiye vardenafil (100 µg/i.pl)'in antinosiseptif etkisi. Sonuçlar 0. dakikada hiperaleji oluşturan basınç % 100 kabul edilip, 15, 30, 60 ve 120. dakikalarda ölçülen basınçlar bununla yüzdelendi ve ortalama ± S.E.M. olarak verildi (n=7). *p<0.05 karragenin grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



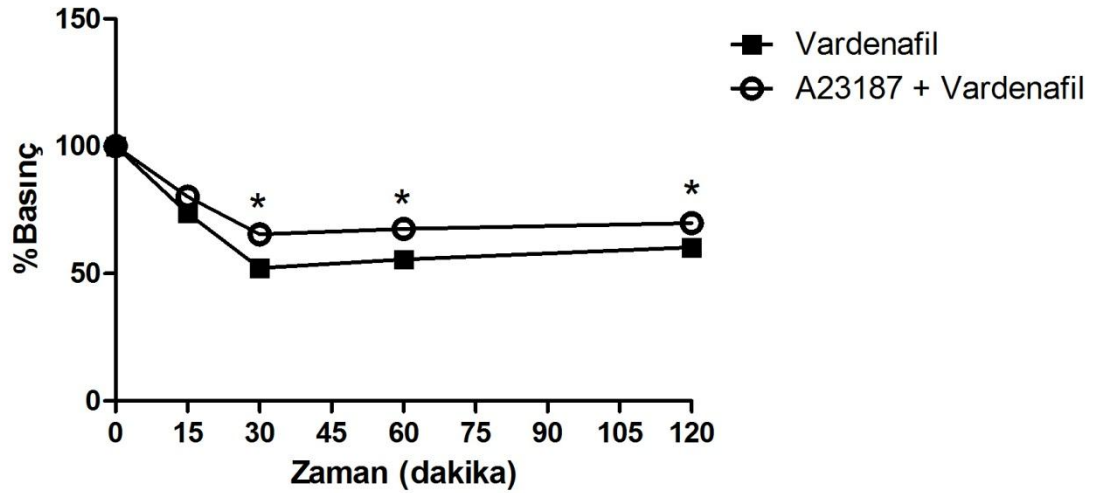
Şekil 4.9. Karragenin hiperaljesisinde vardenafil (100 µg/i.pl)'in oluşturduğu antinosisepsiyona L-arginin (10 µg/i.pl)'in etkisi. Sonuçlar 0. dakikada hiperaljezi oluşturan basınç % 100 kabul edilip, 15, 30, 60 ve 120. dakikalarda ölçülen basınçlar bununla yüzdelendi ve ortalama ± S.E.M. olarak verildi (n=7). *p<0.05 vardenafil grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



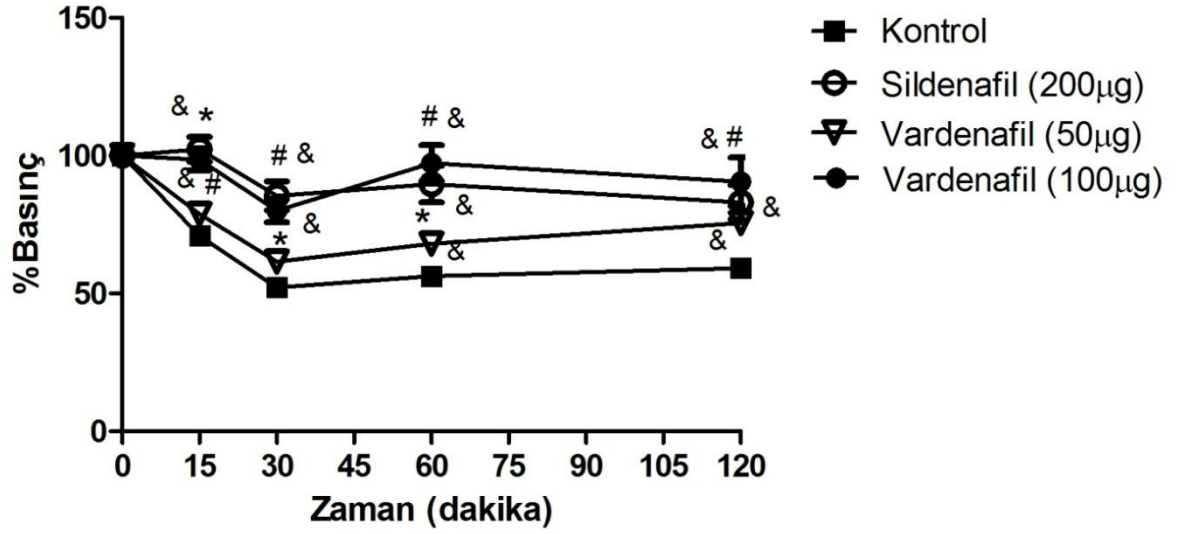
Şekil 4.10. Karragenin hiperaljesisinde vardenafil (100 µg/i.pl)'in oluşturduğu antinosisepsiyona L-NAME (100 µg/i.pl)'in etkisi. Sonuçlar 0. dakikada hiperaljezi oluşturan basınç % 100 kabul edilip, 15, 30, 60 ve 120. dakikalarda ölçülen basınçlar bununla yüzdelendi ve ortalama ± S.E.M. olarak verildi (n=7). *p<0.05 vardenafil grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



Şekil 4.11. Karragenin hiperaljesisinde vardenafil (100 µg/i.pl)'in oluşturduğu antinosisepsiyona ODQ (50 µg/i.pl)'in etkisi. Sonuçlar 0. dakikada hiperaljezi oluşturan basınç % 100 kabul edilip, 15, 30, 60 ve 120. dakikalarda ölçülen basınçlar bununla yüzdelendi ve ortalama ± S.E.M. olarak verildi (n=7). *p<0.05 vardenafil grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



Şekil 4.12. Karragenin hiperaljesisinde vardenafil (100 µg/i.pl)'in oluşturduğu antinosisepsiyona A23187 (1 µg/i.pl)'in etkisi. Sonuçlar 0. dakikada hiperaljezi oluşturan basınç % 100 kabul edilip, 15, 30, 60 ve 120. dakikalarda ölçülen basınçlar bununla yüzdelendi ve ortalama ± S.E.M. olarak verildi (n=7). *p<0.05 vardenafil grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



Şekil 4.13. Karragenin hiperaljezisinde sildenafil (200 µg/i.pl) ve farklı dozlarda vardenafil'in (50,100 µg/i.pl) antinosiseptif etkilerinin karşılaştırılması. Sonuçlar 0. dakikada hiperaljezi oluşturan basınç % 100 kabul edilip, 15, 30, 60 ve 120. dakikalarda ölçülen basınçlar bununla yüzdelendi ve ortalama ± S.E.M. olarak verildi.

&p<0.05 tüm gruplar

kontrol grubu ile karşılaştırıldığında (n=10),

*p<0.05 sildenafil (200 µg/i.pl) grubu (n=10), vardenafil (50 µg/i.pl) grubu (n=7) ile karşılaştırıldığında,

#p<0.05 vardenafil (100 µg/i.pl) grubu (n=7), vardenafil (50 µg/i.pl) grubu (n=7) grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

SONUÇLAR

İntraplantar karragenin injeksiyonu ile periferik nosisepsiyon oluşturulan sıçanlarda spesifik PDE-5 inhibitörlerinden sildenafil ve vardenafil'in antinosiseptif etkilerini karşılaştırmak ve bu etkide olası mekanizmalardan L-arjinin/NO/sGMP yolağı yanı sıra Ca^{++} 'un rolünü araştırmak amacıyla yaptığımız bu çalışmada:

1. Sildenafil 200 μ g/i.pl ve vardenafil 50 veya 100 μ g/i.pl dozlarda karragenin ile oluşan hiperaljeziyi kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaltarak antinosisepsiyon oluşturdu.
2. Vardenafil ile oluşan antinosisepsiyonun 100 μ g/i.pl uygulanan grupta 50 μ g/i.pl uygulanan gruba göre daha erken (15. dak) başladığı ve daha güçlü olduğu saptandı.
3. Sildenafil ve vardenafil'in antinosiseptif etkileri karşılaştırıldığında vardenafil'in 50 μ g/i.pl dozu sildenafil'in 200 μ g/i.pl dozuna göre daha düşük antinosiseptif etki yapmasına karşın vardenafil'in 100 μ g/i.pl dozu sildenafil'in 200 μ g/i.pl dozuna benzer düzeyde antinosisepsiyon oluşturdu.
4. Sildenafil ve vardenafil ile oluşan antinosisepsiyon L-arjinin uygulanması ile artmasına karşın L-NAME, ODQ ve A23187 ile anlamlı olarak azaldı.

Böylece, sildenafil ve vardenafil'in sıçanlarda karragenin ile oluşturulan periferik nosisepsiyonu anlamlı olarak azalttığı ve bu antinosiseptif etkide L-arjinin/NO/sGMP yolağının yanı sıra Ca^{++} 'un hücre içine girişinin inhibisyonunun da rol oynayabileceği sonucuna varıldı.

TARTIŞMA

Siklik GMP'ye spesifik bir fosfodiesteraz inhibitörü olan sildenafil erektil disfonksiyonun klinik tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır.

Penis dokusunda erektil yanıt sırasında düz kas gevşemesinden sorumlu başlıca nörotransmitter'in NO olduğu bilinmektedir. Otonom sinir sisteminde önemli bir nörotransmitter olan ve çeşitli fizyolojik fonksiyonlarda rol oynayan NO, solubl guanilat siklazı aktive ederek sGMP sentezine yol açar (9). İntraselüler sGMP, siklik nükleotid fosfodiesterazların aktivitesi ile süratle guanozin monofosfat'a (GMP) inaktive olur. Bu nedenle düz kas hücrelerinde sGMP konsantrasyonları çarpıcı şekilde solubl guanilat siklazla yapım ve PDE'lerle yıkım arasındaki dengeye bağlıdır. sGMP'yi yıkan başlıca enzim PDE-5'tir ve tüm düz kas hücre tiplerinde ekspresye edilmiştir. PDE-5'in selektif inhibitörleri düz kas gevşemesine neden olur (13,96).

Çeşitli çalışmalar NO/sGMP sinyal yolağının santral ve periferel nosisepsiyonda rol oynadığını göstermektedir (66,74,93,97,98).

Morfin ve benzeri mü opioid agonistleri ile NO donörlerinin sGMP'yi artırarak ATP duyarlı K^+ kanallarını aktive ettiği ve bunun nöronlarda hiperpolarizasyon sonucu periferel antinosisepsiyona neden olduğu bildirilmiştir (1,81,82,83). Pertussis toksinin periferel antinosiseptif etkisinin de ATP duyarlı K^+ kanallarının açılmasıyla NO/sGMP/PKG yolağının aktivasyonu olduğu ileri sürülmüştür (99).

Ayrıca, nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlardan dipiron, diklofenak, ketorolak, nimesulid ve meloksikam'ın, antihistaminik ilaçlardan mepiramin'in, bir vitamin olan tiamin'in ve spesifik PDE-5 inhibitörü sildenafil'in periferel antinosiseptif etkisinde L-arjinin/NO/sGMP yolağının rolü gösterilmiştir (1,77,80,100,101,102).

Sildenafil'in sıçanlarda ve farelerde çeşitli ağrı modellerinde lokal periferik ya da sistemik uygulanmasından sonra antinosisepsiyon oluşturduğu bulunmuştur (11).

Karragenin ile oluşan hiperaljezi ile, writing testi ve formalin testinde gösterildiği gibi sildenafil'in lokal ve sistemik injeksiyonunun periferel antinosisepsiyon oluşturmasında L-arjinin/NO/sGMP yolağının aracılık ettiği bildirilmiştir (1,11,93).

Çalışmamızda sıçanların sağ arka pençesine i.pl karragenin injeksiyonu ile oluşan hiperalejinin 200 µg i.pl sildenafil uygulamasıyla kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığı saptanmıştır. Sildenafil'in antinosseptif etkisi NO donörü L-arjinin ile artmasına karşın NOS inhibitörü L-NAME, solubl guanilat siklaz inhibitörü ODQ ile azalmıştır. Bu sonuçlar sildenafil'in oluşturduğu periferik antinosseptif etkinin diğer çalışmalarla uyumlu olarak L-arjinin/NO/sGMP yolağı aracılığıyla ortaya çıktığını göstermektedir (103).

Jain ve ark. (1) da sıçanlarda karragenin ile oluşturulan hiperalejide sildenafil'in doz bağımlı nosseptif eşikte artma oluşturduğunu saptamışlardır. Daha sonraki çalışmalarında ise (9) sildenafil'in morfin'in NO/sGMP üzerinden olan antinosseptif etkisini olasılıkla sGMP yıkımının inhibisyonu yoluyla artırdığını ileri sürmüşlerdir. Bu tür etkileşim Mixcoatl-Zecuatl ve ark. tarafından da sıçanlarda formalin testinde sildenafil'in morfin'in antinosseptif etkisini artırdığını ve bu etkinin naloksan, L-NAME ve ODQ ile antagonize olduğunu, bu etkileşimde opioid reseptörlerinin aktivasyonu ile NO'nun lokal salıverilmesinin ve sGMP birikiminin önemli rol oynadığını bildirmişlerdir (10). Sildenafil ve morfin'in ortak periferik etki yerinin NO/sGMP yolağı olduğu ileri sürülmüştür (94). Patil ve ark. non-steroidal antiinflamatuvar ilaçlardan nimesulid ve diklofenak'ın sistemik ve lokal uygulanmasının sıçanlarda oluşturduğu antinosseptisyonun, L-NAME ve metilen mavisi ile bloke edilmesini ve sildenafil ile artmasını, PG sentezinin inhibisyonu yanı sıra NO/sGMP yolağının aktivasyonu ve sGMP yıkımının inhibisyonu ile ilişkilendirmişlerdir (9).

Ayrıca, bu çalışmada sildenafil'in oluşturduğu antinosseptisyonun Ca^{++} iyonoforu A23187 ile kısmen önlenmesi, sildenafil'in antinosseptif etkisinde kısmen Ca^{++} 'un rolünün olabileceğini desteklemektedir. Nitekim Moscita ve ark. yüksek konsantrasyonlarda sildenafil'in izole aort preparatında eksternal Ca^{++} 'un hücre içine girişini inhibe ederek gevşeme oluşturduğunu göstermiş olmaları da sildenafil'in antinosseptif etkisinde kısmen Ca^{++} 'un da rolünü desteklemektedir.

Yeni bir PDE-5 inhibitörü olan vardenafil'in insan korpus kaverosum'da sildenafil'e göre yaklaşık 25 kat daha güçlü ve selektif PDE-5 inhibitörü olduğu bildirilmiştir (13,14). Son zamanlarda vardenafil'in sıçan aortu ile tavşan ve sıçan pulmoner arterinde gevşetici etkisinin sildenafil'den çok daha güçlü olduğu gösterilmiştir (13). Sildenafil'den farklı olarak vardenafil'in bu gevşetici etkisinin güçlü olması sGMP'yi artırması yanı sıra hücrelere Ca^{++} girişini bloke etmesiyle ilişkili ek bir mekanizmaya bağlanmıştır (19,20). Çünkü damar tonusu Ca^{++} ve düz kas hücrelerinde Ca^{++} 'a kontraktıl elemanların duyarlılığıyla düzenlenmektedir. L-tipi kalsiyum kanallarından Ca^{++} influksu, Ca^{++} 'daki artmanın başlıca yollarından birini temsil etmektedir. Bu kanalların blokajı kontraksiyonu inhibe eder veya vazorelaksasyona neden olur. Vardenafil'in hücrelere Ca^{++} girişinin blokajı ve olasılıkla inositol 1,4,5-trifosfata duyarlı hücre içi depolardan Ca^{++} salıverilmesinin inhibisyonunu içeren mekanizmalarla da gevşemeye neden olabileceği bildirilmiştir (20). Nitekim bu görüş vardenafil'in insan trombositlerinde trombinin neden olduğu Ca^{++} mobilizasyonunu inhibe ettiği bulgusu ile de desteklenmektedir (19).

Ca⁺⁺'un ve sGMP'nin damarların gevşemesi yanı sıra primer duyuşal nöronun sensitizasyonunda da kritik bir rolü vardır. Voltaj kapılı Ca⁺⁺ kanalları, primer afferent nöronlarda ağrı sinyallerinin mediyatörleri olarak da çok iyi belirlenmiştir. Ayrıca hücre içi Ca⁺⁺ iyonunun inflamasyon olaylarını çok iyi stimüle ettiği ve Ca⁺⁺ kanal blokörü ilaçların bu olayları azalttığı bilinmektedir (104,105).

Çalışmamızda sıçanların sağ arka pençesinde karragenin injeksiyonu ile oluşun hiperalezi, kontrole göre vardenafil'in 50 veya 100 µg/i.pl dozları ile anlamlı olarak azalmıştır. Bu azalmanın 100 µg/i.pl vardenafil uygulanan grupta daha erken başladığı (15. dakika) ve daha güçlü olduğu saptanmıştır. Bu da vardenafil'in sildenafil'de olduğu gibi dozla ilişkili antinosiseptif etkisinin olabileceğini göstermektedir.

Vardenafil ile oluşun antinosisepsiyon NO donörü L-arjinin ile artmasına karşın, NOS inhibitörü L-NAME ve solubl guanilat siklaz inhibitörü ODQ ile azalması vardenafil'in periferik antinosiseptif etkisinin L-arjinin/NO/sGMP yolağı aracılığıyla olduğunu göstermektedir. Bu bulgular vardenafil'in antinosiseptif etkisini ve mekanizmasını göstermesi açısından bir ilktir.

Ayrıca, bu çalışmada vardenafil'in oluşturduğu antinosisepsiyonun Ca⁺⁺ iyonoforu A23187 ile istatistiksel olarak anlamlı azalması, vardenafil'in antinosiseptif etkisinde diğerk damar preparatlarında gösterildiğı gibi Ca⁺⁺ bağımlı mekanizmaların da rol oynayabileceğini göstermektedir.

Sildenafil ve vardenafil'in antinosiseptif etkileri karşılaştırıldığında, vardenafil'in 50 µg/i.pl dozu sildenafil'in 200 µg/i.pl dozuna göre daha düşük antinosiseptif etki yapmasına karşın vardenafil'in 100 µg/i.pl dozu sildenafil'in 200 µg/i.pl dozuna benzer düzeyde antinosiseptif etki oluşturmuştur.

Sonuç olarak erektil disfonksiyon tedavisinde kullanılan sildenafil ve vardenafil'in sıçanlarda karragenin ile oluşturulan periferik nosisepsiyonu anlamlı olarak azalttığı, vardenafil'in antinosiseptif etkisinin sildenafil'den daha güçlü olduğu ve bu antinosiseptif etkide L-arjinin/NO/sGMP yolağı yanı sıra Ca⁺⁺'un hücre içine girişinin inhibisyonunun da rol oynayabileceğı kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Jain NK, Patil CS, Singh A, Kulkarni KS. Sildenafil-induced peripheral analgesia and activation of the nitric oxide-cyclic GMP pathway. *Brain Res*, 909: 170-178, 2001.
2. Moncada S, Higgs EA. The L-arginine-nitric oxide pathway. *NEJM*, 329: 2002-2012, 1993.
3. Nathan C. Inducible nitric oxide synthase: what differences does it make? *J Clin Invest*, 100: 2417-2423, 1997.
4. Ferraria J, Santos AR, Calixto JB. The role of systemic, spinal and supraspinal L-arginine-nitric oxide cyclic-GMP pathway in thermal hyperalgesia caused by intrathecal injection of glutamate in mice. *Neurophar*, 38: 835-842, 1999.
5. Tao YX, Hassan A, Haddad E, Johns RA. Expression and action of cyclic GMP- dependent protein kinase 1 alpha in inflammatory hyperalgesia in rat spinal cord. *Neuroscience*, 95: 525-533, 2000.
6. Duarte IDG, Santos IR, Lorenzetti BB, Ferreira SH. Peripheral analgesia and activation of the nitric oxide- cyclicGMP pathway. *EJP*, 186: 289-292, 1990.
7. Duarte IDG, Santos IR, Lorenzetti BB, Ferreira SH. Analgesia by direct antagonism of nociceptor sensitization involves the arginine-nitric oxide – cGMP pathway. *EJP* 217: 225-227, 1992.
8. Beavo JA. Cyclic nucleotide phosphodiesterases: functional implications of multiple isoforms. *Physiol Rev*, 75: 725-745, 1995.
9. Patil CS, Jain NK, Singh A, Kulkarni SK. Modulatory effect of cyclooxygenase inhibitors on sildenafil-induced antinociception. *Pharmacology*, 69: 183-189, 2003.
10. Zecuatl-Mixcoalt T, Banuelos-Aguirre P, Soto- Granados V. Sildenafil produces antinociception and increases morphine antinociception in the formalin test. *EJP*, 400: 81-87, 2000.
11. Ambriz-Tututi M, Zamora DA, Marin HU, Soto VG. Analysis of the mechanism underlying thr peripheral antinociceptive action of sildenafil in the formalin test. *EJP*, 512: 121-127, 2005.

12. Tasatargil A, Sadan G. Reduction in [D-Ala², NMePhe⁴, Gly-ol⁵]enkephalin-induced peripheral antinociception in diabetic rats: the role of the L-arginine/nitric oxide/cyclic guanosine monophosphate pathway. *Anesth Analg.* 98(1): 185-92, 2004.
13. Toque HA, Priviero BM, Zemse SM, Antunes E, Teixeira CE, Webb RC. Effect of the phosphodiesterase 5 inhibitors sildenafil, tadalafil and vardenafil on rat anoccygeus muscle: functional and biochemical aspects. *Clin Exp Pharm Physiol*, 36: 358-366, 2009.
14. Briganti A, Salonia A, Gallina A, Saccà A, Montorsi P, Rigatti P, Montorsi F. Drug Insight: oral phosphodiesterase type 5 inhibitors for erectile dysfunction. *Nat Clin Pract Urol.* 2(5): 239-47, 2005.
15. Saenz de Tejada I, Angulo J, Cuevas P, Fernández A, Moncada I, Allona A, Lledó E, Körschen HG, Niewöhner U, Haning H, Pages E, Bischoff E. The phosphodiesterase inhibitory selectivity and the in vitro and in vivo potency of the new PDE5 inhibitor vardenafil. *Int J Impot Res.* 13(5): 282-90, 2001.
16. Corbin JD, Blount MA, Weeks JL 2nd, Beasley A, Kuhn KP, Ho YS, Saidi LF, Hurley JH, Kotera J, Francis SH. [3H]sildenafil binding to phosphodiesterase-5 is specific, kinetically heterogeneous, and stimulated by cGMP. *Mol Pharmacol.* 63(6): 1364-72, 2003.
17. Sung BJ, Hwang KY, Jeon YH, Lee JI, Heo YS, Kim JH, Moon J, Yoon JM, Hyun YL, Kim E, Eum SJ, Park SY, Lee JO, Lee TG, Ro S, Cho JM. Structure of the catalytic domain of human phosphodiesterase 5 with bound drug molecules. *Nature.* 4;425(6953): 98-102, 2003.
18. Blount MA, Beasley A, Zoraghi R, Sekhar KR, Bessay EP, Francis SH, Corbin JD. Binding of tritiated sildenafil, tadalafil, or vardenafil to the phosphodiesterase-5 catalytic site displays potency, specificity, heterogeneity, and cGMP stimulation. *Mol Pharmacol.* Jul;66(1): 144-52, 2004.
19. Toque HA, Teixeira CE, Priviero FB, Morganti RP, Antunes E, De Nucci G. Vardenafil, but not sildenafil or tadalafil, has calcium-channel blocking activity in rabbit isolated pulmonary artery and human washed platelets. *Br J Pharmacol*, 154: 787-796, 2008.
20. Cleber E. Teixeira, Fernanda B. M. Priviero, R. Clinton Webb. Differential Effect of the Phosphodiesterase Type 5 Inhibitors Sildenafil, Vardenafil and Tadalafil in Rat Aorta. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics.* 316:654-661, 2006.

21. Karasu E, Şadan G. Different effects of the sildenafil, vardenafil and tadalafil in pulmonary hypertensive rat pulmonary artery. *Pulm. Pharmacol Ther*; PPT-10-90, in review
22. Vogalis F, Publicover NG, Hume JR, Sanders KM. Relationship between calcium current and cytosolic calcium in canine gastric smooth muscle cells. *Am J Physiol.* 260(5 Pt 1): C1012-8, 1991.
23. Kuriyama H, Kitamura K, Nabata H. Pharmacological and physiological significance of ion channels and factors that modulate them in vascular tissues. *Pharmacol Rev.* Sep;47(3): 387-573, 1995.
24. Fleckenstein A, Fleckenstein-Grün G. Mechanism of action of calcium antagonists in heart and vascular smooth muscle. *Eur Heart J* 9. (Suppl H), 95-99, 1988.
25. Zamponi GW, Lewis RJ, Todorovic SM, Arneric SP, Snutch TP. Role of voltage-gated calcium channels in ascending pain pathways. *Brain Res Reviews*, article in press, 2009.
26. Sadan G, Egemenlik A, Trakya A, Erman M. The effect of verapamil on intratechally administered morphine-lidocaine. *Türk Anest ve Rean Cem Mecmuası*, 19: 101-104, 1991.
27. Sadan G. Kalsiyum kanal blokerleri ve anestezi. *Türk Anest ve Rean Cem. Mecmuası*, 19: 9-13, 1991.
28. Bormann BV, Boldt J, Sturm G, Kling D, Weidler B, Lohmann E, Hempelmann G. Calcium antagonist in der anaesthesia. *Anaesthesist* 34: 429, 1985.
29. Chapman DB, Way EL. Modification of endorphin/enkephalin analgesia and stress induced analgesia by divalent cations, a cation chelator and an ionophore. *Br J Pharmacol*, 75: 382, 1982.
30. Kavaliers M. Stimulatory influences of calcium channel antagonists on stress induced opioid analgesia and locomotor activity. *Brain Research*, 408: 403, 1987.
31. Schmidt WK, Way EL. Hyperalgesic effects of divalent cations and antinociceptive effects of calcium chelator in native and morphine-dependent mice. *J Pharmacol Exp Ther*, 212: 22, 1980.
32. Ertekin C. Ağrının nöroanatomi ve nörofizyolojisi. Ağrı ve tedavisi. İbrahim Yegül (ed). İzmir:Yapım Matbaacılık, 1-18, 1993.
33. Morgan GE, Mikhail MG. Pain Management. In: *Clinical Anesthesiology*, 2 ed. New Jersey: Prentice-Hall International, Inc., 274-316, 1996.

34. Merskey HM, Bogduk N, Classification of Chronic Pain, 2 ed., Seattle: IASPPress, 211-8, 1994.
35. Kayhan Z. Klinik Anestezi. 2. Baskı İstanbul: Logos Yayıncılık, 759-87, 1997.
36. Loeser JD, Melzack R. Pain: an overview. Lancet, 353: 1607-1609, 1999.
37. Raj PP. Ağrı toxonomisi: ağrı. Erdine S (editör). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2000.
38. Kayaalp S. O. Santral sinir sisteminin temelleri. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji 2. Cilt, 7. Baskı (Editör: S.O. Kayaalp), Ankara, Feryal Matbaacılık San. ve Tic. Ltd. Şti., 1617-1680, 1995.
39. Sadock BJ, Sadock VA (eds). Kaplan & Sadock's synopsis of psychiatry-behavioral sciences/clinical psychiatry. 9th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2003.
40. Erdine S. Ağrı ve akılcı analjezik kullanımı. 2. Basım. Ankara: TEB ve Sanovel İlaç, s. 1-8, 1999.
41. Türkoğlu M. Ağrının tanımlanması ve ölçümü. Ağrı ve tedavisi. İbrahim Yegül (ed). İzmir:Yapım Matbaacılık, 19-99, 1993.
42. Raffa RB, Friderichs E, Reimann W, Shank RP, Codd EE, Vaught JI. Opioid and non opioid components independently contribute to the mechanism of action of tramadol, an 'atypical' opioid analgesic. J Pharmacol Exp Ther, 260(1): 275-285, 1992.
43. Moots RL. Principles of pain management, in neurology in clinical practice. In: Bradley WG (ed). 3rd ed. Boston: Buuettworth- Heineman, 899-915, 2000.
44. Yücel A. Akut ağrı nörofizyolojisi. Hasta kontrollü analjezi (PCA). İstanbul: MER Matbaacılık & Yayıncılık, 5-19, 1997.
45. Benjamin WJ. Pain Mechanisms: Anatomy, Physiology and Neurochemistry. In: Raj PP (ed). Practical Management of Pain, 3 ed., Missouri: Mosby Inc., 117-45, 2000.
46. Erdine S. Ağrı mekanizmaları. Erdine S (ed). Ağrı, Birinci baskı, İstanbul; Alemdar Ofset, 20, 2000.
47. Perl ER: Cutaneous polymodal receptors: Characteristics and plasticity. Prog Brain Res, 113: 21-37, 1996.

48. Meyer RA, Ringkamp M, Campbell JN, Raja SN: Peripheral mechanisms of cutaneous nociception. In: McMahon SB, Koltzenburg M; eds. Wall and Melzack's Textbook of Pain. 5th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2006.
49. Erdine S. Sinir blokları, s25-48, s124-142, 1993.
50. Bonica's management of pain, second edition, 1990.
51. Hwang SW, Oh U. Current concepts of nociception: nociceptive molecular sensors in sensory neurons. *Curr Opin Anaesthesiol*, 20(5):427-34, 2007.
52. Minareci E, Şadan G. Ca⁺⁺ homeostasis is remodelling: Transient Receptor Potential Channels. Article in press.
53. Krafte DS, Bannon AW. Sodium channels and nociception: recent concepts and therapeutic opportunities. *Curr Opin Pharmacol*, 8(1):50-6, 2008.
54. Franklin K. B. J., Abbott F. V. Techniques for assessing the effects of drugs on nociceptive effects of drugs on nociceptive responses. *Neuromethods 13: Psychopharmacology* (Editors: Boulton A. A., Baker G. B., Greenshaw A. J.), Clifton, New Jersey, Humana Press, 145-216, 1989.
55. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*, 288:373-376, 1980.
56. Cooper JR, Bloom FE, Roth RH. The biochemical basis of neuropharmacology. Seventh Edition, New York: Oxford University Press, 119-122, 1996.
57. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacologic Reviews*, 43:109-141, 1991.
58. Bökesoy TA, Çakıcı, Melli M. Farmakoloji ders kitabı, Türk Farmakoloji Derneği Gazi Kitabevi Tic. Ltd. Şti. 2000.
59. Aladağ MA., Türköz Y., Özerol İH.: Nitrik oksid ve nörofizyopatolojik etkileri. *T Klin J Med Sci*, 20:107-111, 2000.
60. Bayındır O. Nitrik Oksid'in reaktivitesi, sentezi ve analiz metodları. *Aydın Kitabı 83: Nitrik oksid'in patolojik olaylardaki rolü* (Editör: Koşay S.). İzmir, Ege Üniversitesi Basımevi, 7-25, 1996.

61. Lancaster JR, JR in Nitric Oxide: Biology and Pathobiology Ignarro, LJ, ed. Academic Press, San Diego, CA: p. 209-224, 2000.
62. Mizutani T., Layon A. J.: Clinical applications of nitric oxide. *Chest*, 110: 506-524, 1996.
63. Sakurada C, Sugiyama A, Nakayama M, Yonezawo A, Sakurada S, Tan – No K, Kisara K, Sakurada T. Antinociceptive effect of spinally injected L-NAME on the acute nociceptive response induced by low concentrations of formalin. *Neurochem Int*, 38:417-423, 2001.
64. Rang H. P., Dale M. M., Ritter J. M. Nitric oxide. Pharmacology 3. edition (Editors: Rang H. P., Dale M. M., Ritter J. M.), New York, Churchill Livingstone, 203-213, 1995.
65. Abacioglu N, Tunctan B, Akbulut E, Cakici I. Participation of the components of l-arginine/nitric oxide/cGMP cascade by chemical-induced abdominal constriction in the mouse. *Life Sci* 67:1127– 37, 2000.
66. Kawabata A., Manabe S, Manabe Y., Takagi H.: Effect of topical administration of L-arginine on formalin-induced nociception in the mouse: a dual role of peripherally formed NO in pain modulation. *Br J Pharmacol*, 112: 547-550, 1994.
67. Millan M.J.: The induction of pain: An integrative review. *Progress in neurobiology*, 57: 1-164, 1999.
68. Meller ST, Dykstra C, Gebhart GF. Production of endogenous Nitric oxide and activation of soluble guanylate cyclase are required for N-methyl-D-aspartate produced facilitation of the nociceptive tail-flick reflex. *Eur J Pharmacol*, 214(1): 93-96, 1992.
69. Moore PK, Oluyom AO, Babbedge RC, Wallace P, Hart SL. L-N G-nitro arginine methyl ester inhibitor antinociceptive activity in Mouse. *Br J Pharmacol*, 102(1):198-202, 1991.
70. Rang HP, Bevan S, Dray A. Nociceptive peripheral neurons: cellular properties. Wall PD, Mellzack R. Textbook of pain, Third Edition, Canada: 68. Churchill Livingstone, 68, 1994.
71. Özbek H, KaratasY, Aksu F, Özcengiz D, _nan SY, Isık G. L-arjinin ve N-nitro- L-arjinin farelerde tail-flick cevabı ve morfin analjezisi üzerine etkisi. *Agri*, 12(3):19-25, 2000.
72. Ferreira SH, Duarte ID, Lorenzetti BB. The molecular mechanism of action of peripheral morphine analgesia: Stimulation of the CGMP system via nitric oxide release. *Eur J Pharmacol*, 201:121-122, 1991.

73. Babbedge RC, Harts SL, Moore PK. Antinociceptive activity of nitric oxide synthase inhibitors in the mouse: dissociation between the effects of L-NAME and L-NMMA. *J Pharm Pharmacol*, 45:77-79, 1993.
74. Meller ST, Cummings CP, Traub RJ, Gephart GF. The role of nitric oxide in the development and maintenance of the hyperalgesia produced by intraplantar injection of carrageenan in the rat. *Neuroscience*, 60:367-374, 1994.
75. Granados – Soto V, Rufino MO, Gomez Lopez LD, Ferrairo SH. Evidence for the involvement of the nitric oxide – cGMP pathway in the antinociception of morphine in the formalin test. *Eur J Pharmacol*, 340:177-180, 1997.
76. Brignola G, Calignono A, Di Rosa M. Modulation of morphine antinociception in the mouse by endogenous nitric oxide. *Br J Pharmacol*, 113:1372-1376, 1994.
77. Islas Cadena M, Aguirre Banuelos P, Granados – Soto V. Evidence for the participation of the nitric oxide-cyclic GMP pathway in the antinociceptive effect of nimesulide. *J Pharmacol Toxicol Methods*, 42:87-92, 1999.
78. Morgan CV, Babbedge RC, Gaffen Z, Wallace P, Hart SL, Moore PK. Synergistic antinociceptive effect of L-NAME and flurbiprofen in the mouse. *Br J Pharmacol*, 106:493- 497, 1992.
79. Bulutcu F, Dogrul A, Guc MO. The involvement of nitric oxide in the analgesic effects of ketamin. *Life Sci*, 71:841-853, 2002.
80. Aguirre-Banuelos, P.; Granados-Soto, V. Evidence for the participation of the nitric oxide-cyclic GMP pathway in the antinociceptive action of meloxicam in the formalin test. *Eur. J. Pharmacol*, 395, 9-13, 2000.
81. Soares AC., Leite R., Tatsuo MAKF.: Activation of ATP-sensitive K^+ channels: mechanism of peripheral antinociceptive action of the nitric oxide donor. Sodium nitroprusside. *Eur J Pharmacol*, 400: 67-71, 2000.
82. Soares AC., Duarte IDG.: Dibutyryl-cyclic GMP induces peripheral antinociception via activation of ATP-sensitive K^+ channels in the rat PGE_2 -induced hyperalgesic paw. *Br J Pharmacol*, 134:127-131, 2001.
83. Rodrigues ARA., Duarte IDG. The peripheral antinociceptive effect induced by morphine is associated with ATP-sensitive K^+ channels. *Br J Pharmacol*, 129: 110–114, 2000.
84. Beavo JA, Reifsnyder DH. Primary sequence of cyclic nucleotide phosphodiesterase isozymes and the design of selective inhibitors. *Trends Pharmacol Sci*, 11:150-5, 1990.

85. Uckert S, Hedlund P, Andersson KE, Truss MC, Jonas U, Stief CG. Update on phosphodiesterase (PDE) isoenzymes as pharmacologic targets in urology: present and future. *Eur Urol*, 50: 1194-207, 2006.
86. Bender AT, Beavo JA. Cyclic Nucleotide Phosphodiesterases: Molecular Regulation to Clinical Use. *Pharmacol Rev*, 58: 488-520, 2006.
87. Lugnier C. Cyclic nucleotide phosphodiesterase (PDE) superfamily: A new target for the development of specific therapeutic agents. *Pharmacol Therap*, 109: 366-398, 2006.
88. Pyne NJ, Arshavsky V, Lochhead A. cGMP signal termination. *Biochem Soc Trans*, 24:1019-22, 1996.
89. Wallis RM, Corbin JD, Francis SH, Ellis P. Tissue distribution of phosphodiesterase families and the effects of sildenafil on tissue cyclic nucleotides, platelet function, and the contractile responses of trabeculae carneae and aortic rings in vitro. *Am J Cardiol*, 83:3C-12C, 1999.
90. Matsumoto T, Kobayashi T, Kamata K. Phosphodiesterases in the vascular system. *J Smooth Muscle Res*, 39:67-86, 2003.
91. Santos-Silva AJ, Cairrão E, Morgado M, Alvarez E, Verde I. PDE4 and PDE5 regulate cyclic nucleotides relaxing effects in human umbilical arteries. *Eur J Pharmacol*, 582:102-9, 2008
92. Ambriz-Tututi A., Velázquez-Zamora DA., Urquiza-Marín H., Granados-Soto V. Analysis of the mechanism underlying the peripheral antinociceptive action of sildenafil in the formalin test. *Eur J Pharmacol*, 11;512(2-3):121-7, 2005.
93. Vale ML, Rolim DE, Cavalcante IF, Ribeiro RA, Souza MH Role of NO/cGMP/KATP pathway in antinociceptive effect of sildenafil in zymosan writhing response in mice.. *Inflamm Res*, 56(2):83-8, 2007.
94. Huang LJ, Yoon MH, Choi JI, Kim WM, Lee HG, Kim YO. Effect of sildenafil on neuropathic pain and hemodynamics in rats. *Yonsei Med J*, 31;51(1):82-7, 2010.
95. Coulthard P, Simjee SU, Pleuvry BJ. Gait analysis as a correlate of pain induced by carrageenan intraplantar injection. *J Neurosci Methods*, 30;128(1-2):95-102, 2003.
96. Werkström V, Svensson A, Andersson KE, Hedlund P. Phosphodiesterase 5 in the female pig and human urethra: morphological and functional aspects. *BJU Int*, 98(2):414-23, 2006.

- 97.** Amarante LH, Duarte ID. The kappa-opioid agonist (+/-)-bremazocine elicits peripheral antinociception by activation of the L-arginine/nitric oxide/cyclic GMP pathway. *Eur J Pharmacol*, 1;454(1):19-23, 2002.
- 98.** Mantovani M, Kaster MP, Pertile R, Calixto JB, Rodrigues AL, Santos AR. *J Pineal Res.* Mechanisms involved in the antinociception caused by melatonin in mice, 41(4):382-9, 2006.
- 99.** Brito GA, Sachs D, Cunha FQ, Vale ML, Lotufo CM, Ferreira SH, Ribeiro RA. Peripheral antinociceptive effect of pertussis toxin: activation of the arginine/NO/cGMP/PKG/ ATP-sensitive K channel pathway. *Eur J Neurosci*, 24(4):1175-81, 2006.
- 100.** Lázaro-Ibáñez GG, Torres-López JE, Granados-Soto V. Participation of the nitric oxide-cyclic GMP-ATP-sensitive K(+) channel pathway in the antinociceptive action of ketorolac. *Eur J Pharmacol*, 24;426(1-2):39-44, 2001.
- 101.** Abacioğlu N, Demir S, Cakici I, Tunçtan B, Kanzik I. Role of guanylyl cyclase activation via thiamine in suppressing chemically-induced writhing in mouse. *Arzneimittelforschung*,50(6):554-8, 2000.
- 102.** Abacioğlu N, Ozmen R, Cakici I, Tunçtan B, Kanzik I. Role of L-arginine/nitric oxide pathway in the antinociceptive activities of morphine and mepyramine in mice. *Arzneimittelforschung*, 51(12): 977-83, 2001.
- 103.** Araiza-Saldaña CI, Reyes-García G, Bermúdez-Ocaña DY, Pérez-Severiano F, Granados-Soto V. Effect of diabetes on the mechanisms of intrathecal antinociception of sildenafil in rats. *Eur J Pharmacol*, 19;527(1-3):60-70, 2005.
- 104.** Halici Z, Dengiz GO, Odabasoglu F, Suleyman H, Cadirci E, Halici M. Amiodarone has anti-inflammatory and anti-oxidative properties: an experimental study in rats with carrageenan-induced paw edema. *Eur J Pharmacol*, 2;566(1-3):215-21, 2007.
- 105.** Briukhanov VM, Zverev IaF, Elkin VI. The effect of calcium antagonists on the development of inflammatory edema in rats. *Eksp Klin Farmakol*, 57(2):47-9, 1994.

ÖZGEÇMİŞ

Ezgi İKİZ GEDİZ, 19.08.1983'te Konya'da doğdu. İlk öğrenimini Isparta Gazi İlkokulu'nda (1990-1995), orta öğrenimini Isparta Anadolu Lisesi'nde (1995-1999), lise öğrenimini Antalya Yusuf Ziya Öner Fen Lisesi'nde (1999-2002) tamamladı. 2007 yılında Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nden mezun oldu. 2007 yılında Akdeniz Üniversitesi Rektörlüğü'nde eczacı olarak çalışmaya başladı. 2008-2009 Eğitim Öğretim Yılı Güz Dönemi'nde Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı. 2010 yılında kısa bir süre Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde görev yaptıktan sonra aynı yıl İkiz Eczanesi'ni açarak serbest eczacılığa başladı.