

T1391



T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

†
**DIABETİK SIÇANLARDA MÜ OPIOİD
RESEPTÖR ARACILI PERİFERİK
ANTİNOSESİPSİYONDA L-ARGİNİN-NO-sGMP
YOLAĞININ OLASI ROLÜ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Arda TAŞATARGİL

T1391/1-1

Tez Danışmanı : Prof.Dr. Gülay ŞADAN

"Akdeniz Üniversitesi Araştırma Fonunca 99.02.0103.01 Proje No İle Desteklenmiştir"

"Kaynakça Gösterilerek Tezimden Yararlanılabilir"

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
REKTÖRLÜĞÜ KÜTÜPHANESİ

ANTALYA, 2002

TEŐEKKÜRLER

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakóltesi Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Hocam Prof.Dr.Göluy ŞADAN'a uzmanlık eğitimimde ve uzmanlık tezimin hazırlanmasında gösterdiği öncülük, titizlik, özveri ve bilimsel katkıları nedeniyle teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım. Kendisinden öğrendiklerimi bizden sonraki nesillere aktarmayı bir borç bilirim. Ayrıca, Anabilim Dalımız değerli Öğretim üyelerine ve çalışma arkadaşlarıma da desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

1- GİRİŞ VE AMAÇ	1-4
2- GENEL BİLGİLER	5-36
3- GEREÇ VE YÖNTEM	37-43
4- BULGULAR	44-53
5- TARTIŞMA	54-59
6- SONUÇLAR	60-61
7- ÖZET	62
8- KAYNAKLAR	63-71

GİRİŞ

KONU VE AMAÇ

Ağrı genellikle doku zedelenmesine bağlı yani nosiseptif nitelikte bir duygudur (1). Gerçek veya olası bir doku hasarıyla ilişkili hoş gitmeyen duysal ve emosyonel deneyim olarak tanımlanmaktadır (2,3). Kimyasal, mekanik veya termal uyarıya beklenen normal fizyolojik bir yanıt olarak ortaya çıkmaktadır (4). Postoperatif ağrı, kanser ve artrit gibi birçok nosiseptif durum inflamasyonla ilişkili olduğundan allodinya ve hiperaljezi gibi nosiseptif durumların oluşum mekanizmalarını ve bu durumda kullanılacak potansiyel antinosiseptif ajanların etkinliğini değerlendirmek için deneysel inflamatuvar ağrı modelleri geliştirilmiştir (5). Opioidler orta dereceli ve şiddetli ağrıların tedavisinde ve postoperatif dönemde en yaygın kullanılan analjeziklerdir. Geniş bir güvenlik aralığıyla mükemmel bir analjezi sağlar. Fakat kişiler arasında opioid gereksinimi yönünden önemli farklılıkların olduğu bilindiğinden doz ilacın etkisine göre ayarlanmalıdır (6). Opioidler antinosiseptif etkisini beyin ve

omurilikteki mü, delta ve kappa opioid reseptörlerini etkileyerek göstermektedir (7). Mü opioid reseptörlerinin analjezik etkisinin daha fazla olduğu bildirilmiştir ve geleneksel olarak klinikte sıklıkla kullanılan opioidler mü opioid reseptör agonistleridir. Mü opioid reseptör agonistleri ağrıdaki kullanımı dışında bazı diğer biyolojik etkileri de oluşturmakta ve ayrıca da santral sinir sisteminde sedasyon, solunum depresyonu gibi klinikte arzulanan bazı yan etkilere neden olmaktadır (5). Bu nedenle, yalnızca periferik etkili opioidlerin ve non-opioid ilaçların keşfedilmesi belki de santral sinir sistemindeki yan etkilerin önlenmesi için tek yoldur (8). Nitekim, periferik opioid reseptörlerin belirlenmesiyle opioidlerin periferik mekanizmalarla da analjezi oluşturabileceği ve lokal uygulanan opioid agonistlerin inflamasyonlu dokularda reseptörleriyle etkileşerek belirgin antinosisseptif etkiler oluşturabileceği saptanmıştır (5,7). Bununla birlikte, opioidlerin oluşturduğu bu periferik etkinin mekanizmaları henüz tam olarak açıklanamamıştır. 1992 yılında araştırmacılar morfinle oluşan antinosisepsiyonda santral L-Arginin/NO/ siklik guanozin monofosfat (sGMP) yolağının rolünü tanımlamışlardır (9). Son zamanlarda ağrının algılanmasında periferik nosisseptif yolaklarla nitrik oksid'in (NO) ilişkisi olduğu da bildirilmiştir (7). L-Arginin/NO/sGMP yolağının aktivatörleri ve/veya inhibitörleri kullanılarak, bu yolda NO'in hem nosisseptif hem de antinosisseptif etkili olabileceği saptanmıştır. NO'in mekanik, kimyasal ve termal hiperaljezi mekanizmalarının gelişimi ve devamında rol oynadığını gösteren birçok kanıt bulunmaktadır (10).

Ayrıca, morfin ile oluşan antinosisepsiyonda ATP duyarlı K^+ kanallarının rolü gösterilmiştir. Nitrik oksid'in ise çeşitli dokularda

sGMP'yi artırarak farklı tipteki K^+ kanallarını aktive edebildiği bilinmektedir (9). İn vitro çalışmalarda morfinin adenilil siklaz aktivasyonunu inhibe ettiği, sGMP oluşumunu stimüle ettiği saptanmış ve NO salınımı ile sGMP'nin stimülasyonunun hem morfin hem de asetil kolin'in periferik analjezik etkisinden sorumlu olduğu gösterilmiştir (7). Yapılan prelinik çalışmalarla NO'in periferik olarak uygulanan mü, delta ve kappa opioid reseptör agonistlerinin analjezik etkisini arttırdığı ve bu analjezik etkinin kısmen L-Arginin/NO/sGMP yolağı aracılı olduğu bildirilmiştir (7,11,12). Tüm bu sonuçlar L-Arginin/NO/sGMP yolağının periferik morfin analjezisinde rol oynadığını göstermektedir (7).

Diabetes mellitus çeşitli komplikasyonlarla seyreden uzun süreli kronik bir hastalıktır ve ülkeler için finansal bir sorun haline gelmiştir (13). Retinopati, nöropati, vaskülopati gibi diğer sistemlerde oluşan bozuklukların yanısıra diabetik kişilerin ağrı yanıtlarında da değişikliklerin olduğu bildirilmiştir. Streptozotosin (STZ) ile diabet yapılan farelerde morfinin antinosiseptif etki gücünün azaldığı ve hipergliseminin bu etkiden sorumlu olduğu gösterilmiştir (14,15). Diabetik farelerde intraserebroventriküler uygulanan morfinin antinosiseptif etkisinin de kontrollere göre anlamlı derecede azaldığı ve bu azalmanın en azından kısmen diabette ATP bağımlı K^+ kanallarında gözlenen fonksiyon bozukluğuna bağlı olduğu bildirilmiştir (14). Ayrıca, diabetik hayvanlarda gözlenen ağrı algılanmasındaki değişikliğin endojen opioid peptid aktivitesindeki azalmanın sonucu olabileceği kabul edilmektedir (16).

Bu çalışmada, m opioid reseptör aracılı periferik analjezide L-Arginin/NO/sGMP yolağının rolü ve diabette bu yolak aracılı etkide bir değişiklik olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır.

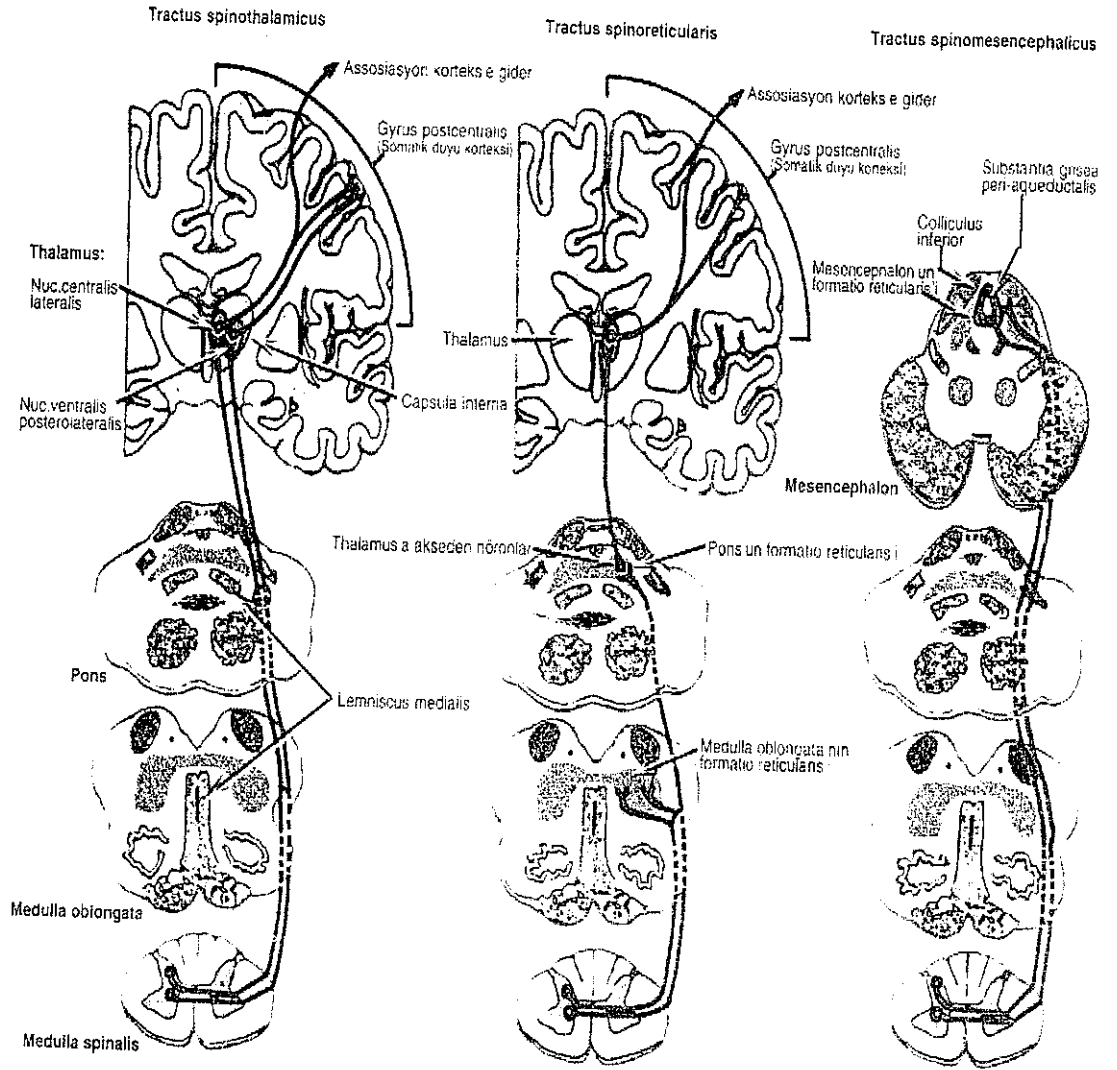
GENEL BİLGİLER

Akut Ağrı Mekanizmaları:

Uluslararası ağrı çalışma derneği ağrıyı "hoş olmayan, gerçek veya potansiyel doku hasarı veya tehdidi ile birlikte bulunan, duyuşsal ve hissi deneyim" olarak tanımlamaktadır. Bu tanım ağrının objektif, fizyolojik duyuşsal yönleriyle birlikte subjektif, hissi ve psikolojik bileşenlerini de içine almaktadır. Akut ağrı ise "cerrahi, travma veya akut hastalığa eşlik eden kimyasal, termal veya mekanik stimulusa beklenen normal fizyolojik yanıt olarak tanımlanmaktadır (17). Doku hasarı, inflamasyon ve sinir lezyonları sonrasında allodinya ve hiperaljezi gibi nosisepsiyon durumları sıklıkla gözlenmektedir. Allodinya normalde zararsız bir uyarıyla oluşan ağrı durumu iken, hiperaljezi zararlı bir uyarıya karşı oluşan artmış ağrı reaksiyonudur (5).

Akut ağrının algılanmasında, anatomik olarak ağrıyı periferden serebral kortekse taşıyan üç nöronlu sinir yolları rol oynamaktadır. Primer afferent nöronlar arka kök ganglionunda bulunur, lokalizasyonu her omurilik seviyesinde vertebral foramenler içindedir. Her bir nöron aksonunun bir ucu innerve ettiği periferik dokuda, diğer

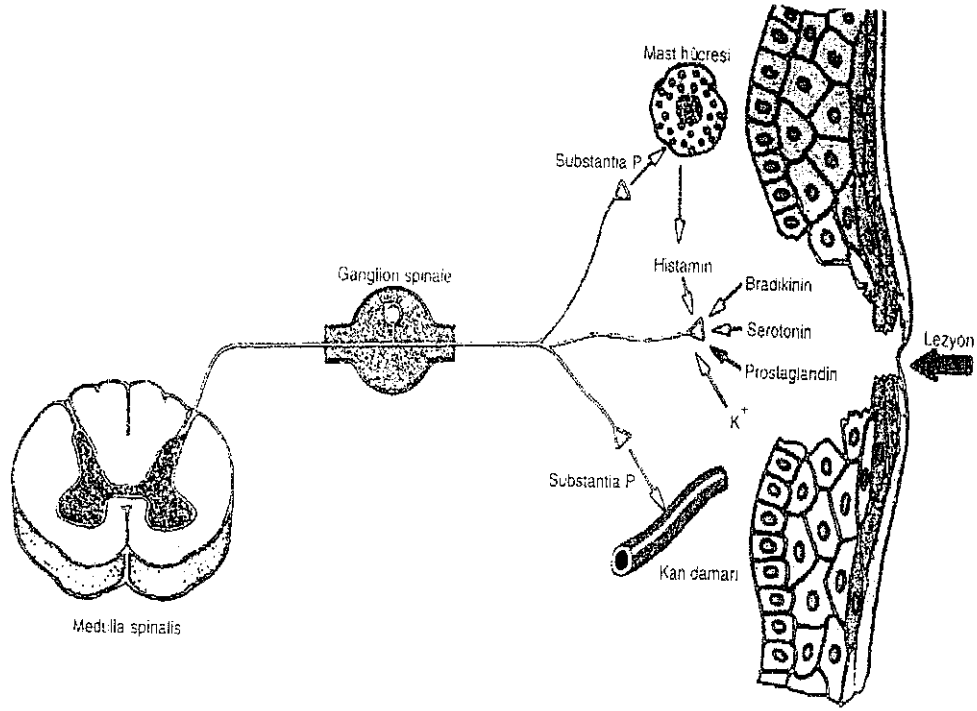
ucu ise omuriliğin arka boynuzundadır. Arka boynuzda primer afferent nöron ikinci sıradaki nöronla sinaps yapar ve bu ikinci nöronun aksonları orta hattı geçip kontralateral spinotalamik traktustan yukarı çıkarak talamusa ulaşır. İkinci sıradaki nöronlar talamik nükleusta üçüncü sıradaki nöronlarla sinaps yaparlar, bu üçüncü nöronların uzantıları ise internal kapsül ve korona radiata'dan geçerek serebral korteksin postsantral girusuna ulaşır (17). Nosisseptif uyarıları ileten üç büyük yükselen yolak vardır (18). Tractus spinotalamicus, tractus spinoreticularis ve tractus spinomesencephalicus. Bu üç yolak ağrı komponentlerinin değişik şekilde algılanmasında rol oynamaktadır (Şekil 1)(1,6,18).



Şekil 1. Nosiseptif uyarıları ileten yükselen yolaklar

Noksioz (zararlı) uyarıları algılayıp ileten reseptörlere "**nosiseptör**" adı verilir. Bu reseptörler spesifik modalitedeki enerjiyi aksiyon potansiyellerine dönüştürür. Nosiseptörler sıklıkla kapsüle olmamış "**serbest sinir uçları**" olarak adlandırılır ve doku hasarı için tehdit oluşturan veya doku hasarına yol açan stimulus ile aktive olurlar. Tüm nosiseptörler küçük çaplı myelinli A delta (A δ) veya myelinsiz sinir lifleriyle (C lifleri) innerve olur (17,19). Sonuçta ağrı, yüksek eşikli, ince, az myelinli (A-delta) ve myelinsiz (C lifleri) liflerle iletilir (17).

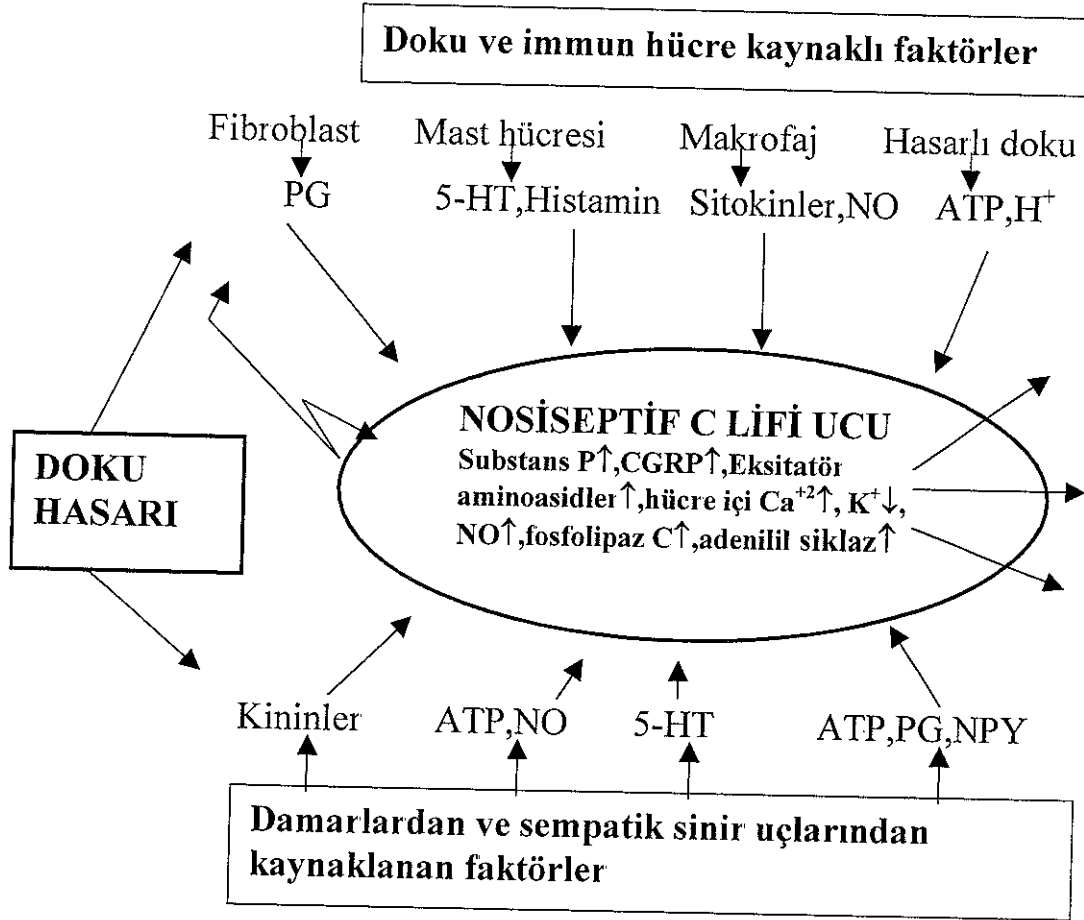
Doku hasarına yol açan stimulusun aktive ettiği sistemler kompleks bir düzende işlemektedir. Normal koşullar altında nosiseptif primer afferentlerin çok küçük bir spontan aktivitesi mevcuttur, fakat doku hasarından sonra bu aktivitede progressif bir artış olur. Bunun nedeni doku hasarının serbest sinir uçlarını hassaslaştıracak veya uyaracak aktif faktörlerin salınımına yol açmasıdır. Serbest sinir uçlarıyla ilişkili yapısal bir reseptör bulunmamasına karşın, nosiseptif duysal entegrasyonun periferik komponentleri nosiseptörlerin etrafındaki dokuda yerleşmiştir. A-delta ve C liflerinin uçları küçük kan damarları ve mast hücreleri ile çevrilidir (17,19). Bu üçlü çevredeki komşu sinir uçlarıyla birlikte fonksiyonel üniteyi oluşturmaktadır (Şekil 2) (17,18,19).



Şekil 2. Ağrının periferik komponentinden sorumlu fonksiyonel ünite

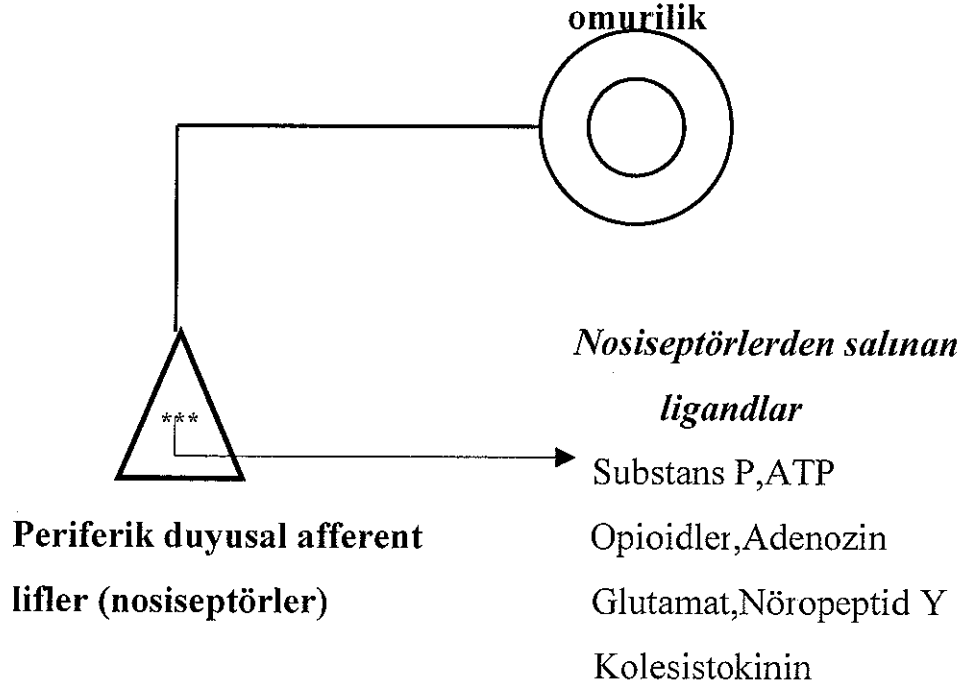
Periferik afferent lifler içerdiği ve salıverdiği nörokimyasal molekül temel alınarak birbirinden ayrılabilir. Omurilik arka boynuzundaki periferik afferent liflerde sentezlenen farklı maddeler santral transmisyonda ve nosiseptif bilginin düzenlenmesinde rol oynamaktadır. Bu maddeler arasında glutamat ve diğer eksitator amino asitler; substans P (SP) ve kalsitonin geni ile ilişkili peptid (CGRP) gibi nöropeptidler; ATP gibi hücresel enerji kaynakları; diffüze olabilen bir gaz olan nitrik oksid; fosfolipid metabolitleri prostaglandinler ve nörotrofinler (büyüme faktörleri) yer almaktadır. Bu olası transmitterler diğer nöropeptidlerden, değişik enzimlerden ve diğer moleküllerden farklı olarak periferik afferent liflerde birlikte

depolanır, birlikte düzenlenir ve birlikte salıverilir (20). Doku hasarının başlattığı periferik sinir uçlarının antidromik aktivasyonu, periferde substans P ve glutamat'ı da içeren nörotransmitterlerin salınımına neden olur (Şekil 3)(17,20).



Şekil 3. Doku hasarı ile periferik duyuşal liflerden salıverilen nörotransmitterler

Doku hasarı aynı zamanda araşidonik asid metabolitlerinin (örn. prostaglandin ve lökotrienler) lokal konsantrasyonlarını da artırır (17). Bu metabolitler direkt olarak nörokinin ve eksitatör amino asid reseptörlerine sahip olduğu gösterilen diğer C liflerini aktive ederek mast hücrelerinin degranülasyonunu sağlar ya da plazma ekstravazasyonuna ve olasılıkla ödeme yol açar (Şekil 2)(17,18). Mast hücrelerinden salınan maddeler (histamin ve sitokinler) nosiseptörlerin sensitizasyonu veya aktivasyonuna neden olarak afferent nosiseptif sinir liflerinin deşarjını sağlar. Özet olarak, nosiseptif sinir uçları gerçek veya tehdid edici doku hasarını aksiyon potansiyallerine dönüştürmek için diğer hücrelerdeki kimyasal ürünleri kullanır (17). Periferik sensitizasyonda rol oynayan çeşitli nöroaktif substanslar ve bunların endojen kaynakları şekil 4 ve tablo 1'de gösterilmiştir (4,19). Bu fenomene, plazma ekstravazasyonu sırasında salınan kan kaynaklı aktif faktörler, lokal inflamatuvar hücreler tarafından salınan ajanlar ve primer afferent liflerin uçlarından salınan nörotransmitterler aracılık eder (17).



Şekil 4. Nosiseptörlerdeki ligandlar

Tablo 1. Periferik sensitizasyonda rol oynayan nöroaktif maddeler

MADDELER	KAYNAKLARI
Substans P	Sinir uçları
Glutamat	Sinir uçları
Bradikinin	Plazma kininojen
Histamin	Mast hücreleri ve trombositler
Protonlar	İskemi, hasarlı hücreler
Prostaglandinler	Hasarlı hücreler
İnterlökinler	Mast hücreleri
Tümör nekrozis faktör alfa	Mast hücreleri

Primer duyuşal afferent lifler tarafından bu iyi tanımlanmış ağrı mesajları omuriliğın arka boynuzuna taşınır. Bu sistemler asendan ve desendan olarak düzenlenebilir. Asendan yani yukarıya doğru düzenlenmesinin (fasilitasyonu veya sensitizasyonu) hasar sonrası oluşan ağrı durumundan sorumlu olduğu kabul edilmektedir. Bu sensitizasyon durumunun kendine has bir özelliğı vardır ve alta yatan mekanizmaların ise NMDA reseptörleri ile başlayan ve prostaglandin ve nitrik oksid gibi transmitterlerin omurilikten salınımı ile devam eden olaylar kaskadı sonucu geliştiğı düşünölmektedir. Tam tersine desendan yani aşağı doğru olan düzenlemede ise çeşitli supraspinal yapılar omurilikten aşağı lifler göndererek arka boynuzdaki ağrıyı inhibe ederler (17) Omurilikteki substantia gelatinosa'da birinci nöron ucu ve ikinci nöronun başka, ağrı ile ilgili üçüncü bir yapı olan

enkefalinerjik ara-nöronlar vardır. Söz konusu ara-nöronlar presinaptik uçla aksoaksonik sinaps yaparlar; ara-nöronlardan salıverilen enkefalin pentapeptidler delta ve kappa opioid reseptörler aracılığıyla hem presinaptik inhibisyon (nörotransmitter salıverilmesinde azalma) ve hem de postsinaptik inhibisyon yaparak birinci ağrı nöronundan ikinciye impuls aşırımını, başka bir deyişle, ağrılı impuls girişini baskı altında tutarlar. Enkefalinerjik nöronlar supraspinal inisi yolak tarafından aktive edilirler (1). Tüm bu yolaklar doku hasarını ağrıya dönüştüren kodlama mekanizmalarında ve ağrının modülasyonunda rol oynamaktadır. Bununla birlikte akut ağrı çok boyutlu bir deneyim olup, kaçma ve diğer tepkisel davranışları içeren motivasyonel-emosyonel mekanizmalarla birlikte dir. Duyusal, motivasyonel ve kognitif proseslerin kompleks etkileşmesi entegre motor yanıtları etkileyerek ağrıyı karakterize eden davranışı belirler. Sonuç olarak, diğer bilinçli duyular gibi akut ağrının algılanması da reseptörler gibi işlev gören özelleşmiş nöronlarla uyarının algılanması ve onun uygun şekilde dönüştürülerek taşınması ve santral sinir sistemine iletilmesine bağlıdır. Buna göre, ağrı kompleks mekanizmalar sonucu oluşan; periferik, spinal ve supraspinal olarak modüle edilebilen; ve emosyonel ve davranışsal yanıtları da içeren çok boyutlu bir deneyim olarak kabul edilmektedir (17).

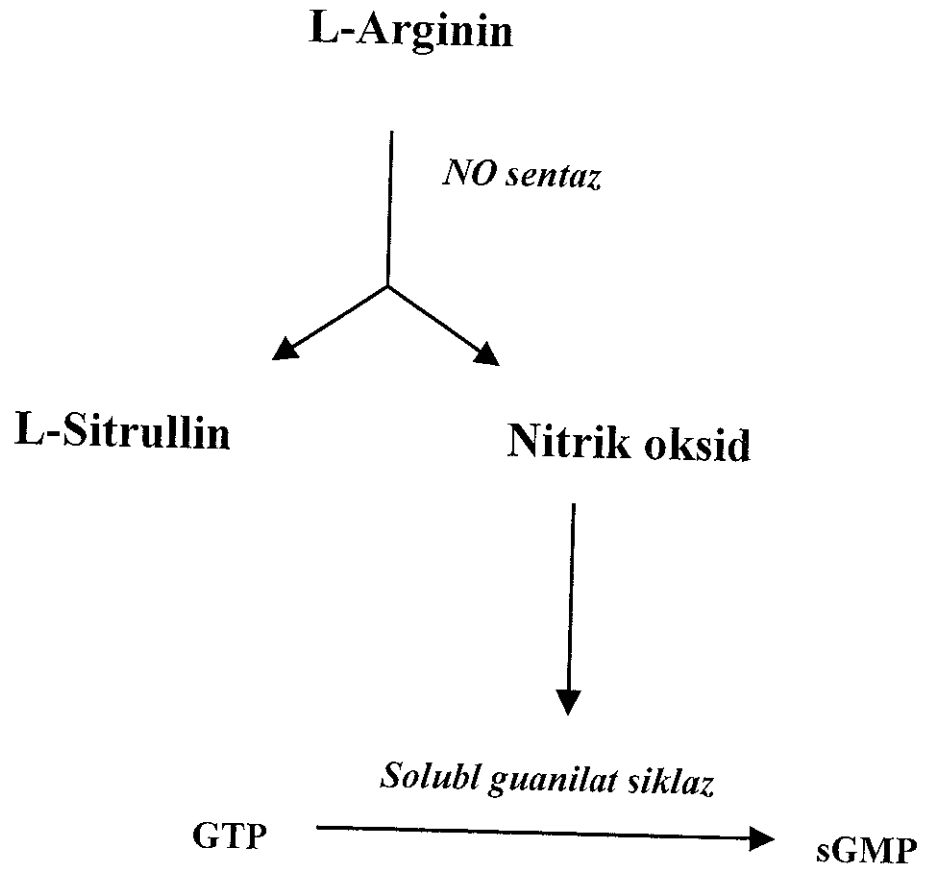
NİTRİK OKSİD VE NÖROFİZYOPATOLOJİK ETKİLERİ:

Küçük molekül ağırlıklı ve zehirli bir gaz olan nitrik oksid (NO) bilimsel çalışmaların odağı haline gelmiş ve NO ile ilgili araştırmalarda 1991'den sonra aşırı derecede artış olmuştur. Bu çalışmalar sonucunda, fizyolojik ve patolojik olaylardaki rolü hakkında daha fazla bilgi edinilen NO, 1992 yılında yılın molekülü seçilmiştir.

Lipid ve suda çözünen serbest radikal bir gaz olan NO, NO₂ gibi diğer radikaller, NO₂⁻ gibi orta derece stabil anyonlar, NO₃ gibi dayanıklı anyonların yanında, N₂O₃ gibi dayanıksız oksitler ve ONOO⁻ gibi dayanıksız peroksitler oluşturur. Düşük pH'da biriken nitrit (NO₂⁻) proton kazanarak nitröz aside ve daha sonra da NO'ye dönüşür (21).

Sentez ve İnhibisyon

Serbest bir radikal olan NO, nitrik oksid sentaz (NOS) denilen enzim ailesi tarafından, bir aminoasid olan L-arginin'in terminal guanidin grubunun NO'ye çevrilmesiyle üretilir. Bu oluşum esnasında moleküler oksijen ile, kofaktör olarak, nikotinamid adenin dinükleotid (NADPH), flavin adenin dinükleotid (FAD), flavin mononükleotid (FMN) ve terahidrobiopterin (BH₄)'e gereksinim vardır. Bu şekilde üretilen ve işlevini yerine getiren NO, hızla hemoglobin, metilen mavisi ve süperoksid anyonu tarafından nötralize edilir ve 10 saniye içinde nitrit veya nitratlara dönüştürülür (Şekil 5)(21,22).



Şekil 5. NO'in sentezlenmesi

NOS, fizyokimyasal ve kinetik özelliklerine göre iki gruba (konstitütif veya diğer adıyla yapısal ve indüklenbilir) ayrılır (tablo 2)(21,22).

Tablo 2. NOS izoformları

Tipi	Kofaktörleri	Düzenlenmesi	Bulunduğu yer
Ia	NADPH,BH ₄ , FAD/FMN	Ca ⁺² /kalmodulin	Beyin,serebellum
Ib	NADPH	Ca ⁺² /kalmodulin	Endotel hücresi
Ic	NADPH,BH ₄ ,FAD	Ca ⁺²	Nötrofil
II	NADPH,BH ₄ , FAD/FMN	Endotoksinler, Sitokinler	Makrofajlar
III	NADPH,BH ₄	Ca ⁺² /kalmodulin	Endotel hücresi

NOS'ları sentezleyen 3 gen bulunur ve bu genlerden herbiri bir NOS izoformunu oluşturur (NOS1, NOS2, NOS3). Sırasıyla kromozom 12 ve 16 tarafından kodlanan NOS1 ve NOS3, fizyolojik koşullarda ilgili reseptörlerin uyarılmasına yanıt olarak aktif hale geçer. Nöronal NOS (nNOS) ve endotelial NOS (eNOS) olarak da bilinen NOS¹ ve NOS3, aktif hale gelmek için Ca⁺⁺'a gereksinim duyar ve bu nedenle konstitütif NOS olarak da adlandırılırlar. Nöronlardan ve endotel hücrelerinden izole edilen konstitütif NOS'un

sentez süresi kısa ve üretilen NO miktarı çok düşüktür. Bunun nedeni, hücre içi iyonize kalsiyum konsantrasyonu azalmaya başladığı anda enzimin inaktif duruma geçmesidir.

Diğerlerinin aksine, hücre içinde bulunmayan NOS2, kromozom 7 tarafından kodlanır. Endotoksin ve /veya değişik sitokinlere yanıt olarak makrofajlar ve diğer hücre tiplerinin uyarılmasıyla Ca^{++} dan bağımsız olarak salgılanan ve normal koşullarda gösterilemeyen NOS2'ye indüklenebilen veya uyarılabilen NOS (iNOS) adı verilir. Bu izoforma ayrıca immunolojik NOS de denilmektedir. Özellikle bakteri liposakkaritleri ve interferon- γ (IFN- γ) ile uyarılan makrofajlar bol miktarda NO üretirler. Bu şekilde iNOS'la üretilen NO sentezi saatlerce hatta günlerce devam edebilir. NO'in üretilmesi için gerekli olan L-Arginin/NO yolu L-NMMA, L-NA, L-NAA, 7-NI, L-NIO gibi L-Arginin analogları ve L-Arginin'in guanidium kısmına benzeyen, birçok amino asid bileşiği tarafından inhibe edilebilir. NOS'i inhibe eden bir diğer madde grubu da glukokortikoidlerdir. Tüm izoformlara etkili bu inhibitörler izoformları arasında kısmen de olsa seçicilik gösterirler (21).

Fizyolojik ve Fizyopatolojik Etkileri

Temel haberci maddelerden biri olan NO hücre membranını geçerek demir ve/veya sülfür içeren proteinlere bağlanır. Özellikle nöronlarda ve damar düz kas hücre membranında bulunan guanilat siklazı aktive eden NO, damar dilatasyonu ve sinirlerden uyarının iletimi gibi fizyolojik fonksiyonları gerçekleştirir (21). NO; kardiyovasküler, endokrin, santral ve periferik sinir sistemleri gibi birçok sistemde önemli roller oynamaktadır. Solubl guanilat siklaz

aracılığıyla hücre içi sGMP'de oluşturduğu artış ağrı ve analjezi gibi çeşitli fizyolojik fonksiyonları düzenleyebilir (10). 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'nin hipotalamo-hipofizer hormon salınımını düzenlediğini göstermiştir (21).

Hayvanların ve insanların omurilik ve beyin bölgelerinde NOS enziminin saptanmasıyla NO'nin nörotransmisyonadaki önemi ortaya çıkmıştır (22). NO, santral ve periferik sinir sistemlerinde nöronal bir haberci olarak görev yapmakta ve sinaptik plastisite ile nörotoksisite gibi çeşitli biyolojik olaylara karışmaktadır (23). L-Arginin/NO/sGMP yolağının santral ve periferik nosiseptif süreçlerde kompleks bir rol oynadığı bilinmektedir (22,23,24). NO prekürsörü bir madde olan L-Arginin'in beyindeki antinosiseptif proseslerde ikili bir rolünün olduğu bildirilmiştir. Şöyleki, kyotorfin-met-enkefalin yolağı aracılığıyla antinosisepsiyon yaparken, NO/sGMP yolağıyla nosisepsiyona neden olmaktadır (24). 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 (23). Nöronal

NOS NO'in beyinde major kaynağıdır ve N-Metil-D-Aspartat (NMDA) reseptörlerinin uyarılması hücre içi kalsiyum konsantrasyonlarını artırarak bu enzimi aktive edebilir. Gerçekten de NO santral sinir sisteminde NMDA reseptörleri veya diğer mekanizmalarla sinaptik etkinliğin değiştirilmesinde önemli bir rol oynayabilir. Doku hasarı gibi bazı koşullar altında, nöronal olmayan glial ve mikrogial hücreler NO'in çok önemli bir kaynağı olabilir ve bu hücre tipleri sitokinlere, nötrofinlere ve prostaglandinlere yanıt olarak aktive edilen indüklenebilir NOS aktivitesine sahiptir. Oluşan NO hücre içi transdüksiyon mekanizmalarını (sGMP oluşumu ve protein kinaz aktivasyonu) indükleyerek pronosiseptif etki gösterebilir (20). Bununla birlikte, santral sinir sisteminde NO'in biyolojik rolü tam olarak bilinmemektedir. Beta-endorfin güçlü antinosiseptif etki gösteren endojen bir opioid peptiddir. Veriler, beta-endorfin tarafından aktive olan inisiyasyon yollarının kontrolünde NO/sGMP sisteminin rolünü göstermektedir. Farelere intraserebroventriküler olarak önceden L-Arginin uygulanmasının, aynı yolla uygulanan beta-endorfin'in antinosiseptif etkisini güçlendirdiği ve bu etkinin L-NAME ile zayıflatıldığı bildirilmiştir. Bu nedenle, L-Arginin'in supraspinal bölgede beta-endorfin ile oluşan antinosisepsiyonu arttırdığı düşünülmüştür (25). Ayrıca, L-Arginin kyotorfin'in bir prekürsörü olarak da antinosiseptif etki gösterebilir. Bu peptid beyinde diğer bir endojen opioid peptid olan met-enkefalin'in salınımını arttırmaktadır (10).

Omurilik düzeyinde nosisepsiyonun transmisyonda da NO'in etkili olduğu kabul edilmektedir. NO, omurilik arka boynuzunda nosisepsiyonun bilgini serebral düzeye taşınmasını sağlar. Periferik

duyusal afferentlerin zedelenmesi veya kutanöz/viseral inflamasyon koşullarında omurilik arka boynuzunda NOS enziminde up-regülasyon oluşmakta ve NO sentazı inhibe eden veya aktive eden ilaçlar nosisepsiyon yanıtında sırasıyla azalmaya ve artmaya neden olmaktadır (20). Periferik nosiseptif reflekslerin omurilik düzeyinde NMDA tarafından fasilitasyonunun endojen NO düzeyinde bir artışla sonuçlandığı bilinmektedir (24). Bununla uyumlu olarak, C liflerinin uyarılmasının NMDA reseptör aktivasyonu ile hücre içi kalsiyum konsantrasyonlarını artırarak NO üretimine neden olduğu bildirilmiştir (20). Ayrıca, intratekal NMDA enjeksiyonunun indüklediği termal hiperaljeziyi aynı yolla uygulanan L-NAME'nin ortadan kaldırdığı gösterilmiştir (22). NOS inhibitörlerinin hayvan modellerinde antinosiseptif etkileri gösterilmişse de, periferik sinir sistemi ve omurilik düzeyinde nosisepsiyona NO'nin etkisinin değerlendirilmesi oldukça zordur. Farklı sonuçlar kullanılan hayvanın cinsine ve uygulanan ağrı stimulusuna bağlı olabilir (24).

NO'nin beyin ve omurilik dışında periferik sinir sisteminde de nosisepsiyonun iletilmesinde etkisi olduğu bilinmektedir. Bununla birlikte, periferik sinir sisteminde NO'nin rolü komplekstir. L-Arginin/NO/sGMP yolağının aktivatörleri ve/veya inhibitörleri kullanılarak, periferik dokularda L-Arginin/NO/sGMP yolağında NO'nin hem nosiseptif hem de antinosiseptif etkili olduğu bildirilmiştir (10,23). Periferik sinir uçlarının kimyasal olarak uyarılmasıyla oluşan ağrı modellerinde veya termal ve mekanik uyarılarla oluşturulan viseral ağrı modellerinde NOS inhibitörleri antinosiseptif etkiler oluşturmaktadır. Benzer şekilde, NOS inhibitörü L-NAME farelerde güçlü antinosiseptif aktivite göstermektedir. L-Arginin/NO/sGMP

yolağında düzenleyici etkiye sahip ajanların eksojen olarak (subkutan) uygulanmasının da farelerde para-benzokinon (PBQ) ile oluşan aljeziyi düzenlediği gösterilmiştir. NO prekürsörü L-Arginin ve solubl guanilat siklaz inhibitörü olan metilen mavisi (MM) antinosisepsiyon-nosisepsiyon-antinosisepsiyon şeklinde trifazik etkiler oluştururken, L-NAME sadece antinosiseptif etki göstermektedir. İntraplantar (i.pl.) olarak uygulanan L-Arginin'in, NO/sGMP yolağının aktivasyonu ile karagenin'le oluşan hiper-aljeziyi inhibe etmesi olasılıkla nosiseptörlere direkt bir etki sonucudur. Benzer şekilde, farede pençeye 3-10 mikrogram doz aralığında verilmesi durumunda formalinin neden olduğu pençe yalama yanıtının ikinci fazında zayıflama oluşmaktadır ve bu NOS aracılı NO üretimine bağlı olabilir. Buna karşın, intraplantar L-Arginin topikal NO üretimiyle damar permeabilitesini ve karagenin'in oluşturduğu ödemi arttırmaktadır ve böylece nosisepsiyona neden olabilmektedir (10). L-Arginin topikal kullanımı sırasında doza bağımlı olarak farklı etkiler göstermektedir. Periferik inflamasyon koşullarında düşük dozda L-Arginin nosiseptif etki oluştururken, yüksek dozda ise antinosiseptif bir etkiye neden olmaktadır (11). Ayrıca, sodyum nitroprusid (SNP), nitrogliserin ve SIN-1 gibi non-enzimatik NO donörlerinin topikal olarak uygulanmasının hiper-aljezik sıçanlarda metilen mavisi ile geri çevrilebilen antinosiseptif bir etki oluşturduğu bildirilmiştir. Bu sonuçlar, periferik dokularda NO/sGMP yolağının nosiseptif ya da antinosiseptif etkiler gösterebileceğini desteklemektedir (23).

Periferik nosisepsiyonda ikinci haberci sistemleri ve opioidler:

Nosiseptif sürecin periferik başlangıcı yıllardır yoğun bilimsel ve medikal çalışmaların konusu olmuştur (8). Santral sinir sisteminde kalsiyum düzeyleri ve opioid antinosisepsiyonu arasında yakın bir ilişki olduğunu gösteren kanıtlar bulunmaktadır. Nöronlarda ve sinaptozomlarda sitozolik kalsiyumu arttıran ajanların ventrikül içine uygulanmasının veya intrasisternal kalsiyum uygulamasının mü opioid reseptörlerin prototip agonisti olan morfinin antinosiseptif etkisini antagonize ettiği bildirilmiştir. Hücrelere kalsiyum girişini arttıran X-537A ve A23187 iyonoforları da morfinle oluşan antinosisepsiyonu bloke etmekte, EGTA gibi kalsiyum şelatörleri veya kalsiyum kanal antagonistleri (verapamil, diltiazem ve dihidropiridin) opioid antinosisepsiyonunu güçlendirmektedir (28). Primer duyuşal nöronların duyarlılığında da Ca^{+2} ve siklik adenzin monofosfat'ın (sAMP) kritik bir rol oynadığı bilinmektedir (H). Intraplantar sAMP analogları ve fosfodiesteraz IV inhibitörleri PGE_2 'nin indüklediği hiperaleziyi arttırmaktadır. Ancak, sAMP artışından sonraki biyokimyasal olaylar açık değildir. Protein kinaz A veya C'nin aktivasyonu ile iyon kanallarının fosforile edilmesi veya hücre içi kalsiyumu kontrol eden sitozolik yapıların modülasyonunun bu olaya katkıda bulunması olasıdır (8). İnflamatuvar hiperalezinin Ca^{+2} /sAMP'nin nöronal miktarındaki artışa bağlı olduğu düşünüldüğünden, opioidlerin periferik antinosiseptif etkisinin adenilil siklaz aktivasyonunun inhibe edilmesiyle ortaya çıkabileceği ileri sürülmüştür (29,12). Mü opioid reseptörleri pertussis toksinine duyarlı

GTP bağlayan proteinlerle kenetlidir ve reseptörle kenetli K^+ akımlarının aktivasyonu ve voltaj kapılı Ca^{+2} akımlarının inhibisyonu adenilil siklaz aktivitesini inhibe etmektedir (24). Ancak, opioidlerin adenilil siklaz üzerinden etkili olmadığını gösteren birçok çalışma vardır (29). Bu nedenle, sAMP ve sGMP'nin konsantrasyonunun nöronal dengesi nosisepsiyonun up/down regülasyonunda çok önemli gözükmemektedir (8). Siklik AMP'nin rolüne karşıt olarak, sGMP'nin antinosisepsiyonda rolü olduğu ve opioidlerin periferik antinosiseptif etkisinin L-Arginin/NO/sGMP yolağı aracılığıyla ortaya çıkabileceği ileri sürülmüştür (8,11,29). Bu görüşün temelini, karegenin ile hiperaljezi oluşturulan sıçanlarda L-Arginin'in NOS inhibitörleri ve metilen mavisi ile inhibe edilebilen bir antinosisepsiyona neden olması oluşturmaktadır (8,29). Benzer şekilde, lokal olarak uygulanan morfinin L-Arginin/NO/sGMP yolağın aktive ederek etkisini gösterdiği bilinmektedir (29,30). Ayrıca, bir histamin H_1 reseptör antagonisti olan mepiramin'in, sık kullanılan non-steroidal antiinflamatuar ilaçlardan dipiron, diklofenak, ketorolak, meloksikam, nimesulid'in, bir vitamin olan tiaminin ve fosfodiesteraz V enzim inhibitörü sildenafil'in de periferik antinosiseptif etkilerinde bu yolağın rolü gösterilmiştir (8,24,30,31,32,33). L-Arginin/NO/sGMP yolağının bileşenleri, nosiseptörlere direkt etkisiyle veya nosiseptif prosesle ilişkili diğer yolları etkileyerek nosiseptif prosese karışmaktadır (10). Bugüne kadar nosiseptör düzeyinde sGMP oluşumu sonrasında gelişen olaylar hakkında yeterli bilgi bulunmamaktadır (34). Ancak, NO'nin sGMP'yi arttırarak çeşitli dokulardaki farklı tipteki K^+ kanallarını aktive edebildiği bilinmektedir (9,34,35).

Opioidlerin periferel antinosiseptif etkilerinden iki mekanizma sorumlu olabilir. Birincisi, opioidler lökositlere etkileriyle bradikinin oluşumunu ve plazma ekstrasvazyonunu önleyerek inflamasyonu azaltabilir. Ancak bu mekanizmanın geçerli olma olasılığının az olduğu bildirilmiştir (36). İkincisi, endojen ve eksojen opioid reseptör agonistleri primer duyusal nöronlardaki reseptörlerini etkileyerek ya nosiseptif input terminallerinin eksitabilitesini zayıflatmakta ya da primer afferentlerin santral ve/veya periferel uçlarından salıverilen ve birlikte lokalize olan eksitator transmitterlerin (Substans P gibi) salınımını azaltmaktadır (36,37). Hücreseel düzeydeki çalışmalarda mü opioid reseptör agonistlerinin potasyum kondüktansını da artırdığı gösterilmiştir. Santral sinir sisteminde K^+ kanallarının açılması opioid aracılı antinosisepsiyonda rol oynamaktadır, çünkü ATP duyarlı K^+ kanallarının blokörü olan sulfonilüreler opioidlerin antinosiseptif etkisini antagonize etmektedir. Opioid agonistlerin antinosiseptif etkilerinin ATP duyarlı K^+ kanallarının açıcısı olan pinasidil ve kromakalim tarafından arttırıldığı da gösterilmiştir. Bazı opioidlerin kalsiyumla aktive K^+ kanallarını da açtığı bilindiğinden, ATP duyarlı K^+ kanallarının dışındaki diğer tip K^+ kanallarının da bu etkiye aracılık etmesi olasıdır (35). Son yıllarda, morfin ve NO donörü Na nitroprussid ile oluşan periferel antinosisepsiyonda ATP duyarlı K^+ kanallarının rolü olduğu saptanmış ve bu kanalların aktivasyonunun nöronal ağrı eşliğini değiştirerek nosiseptör desensitizasyonuna neden olduğu ileri sürülmüştür (9,34,35,37,38). Permeabl bir sGMP analogu olan dibutiril sGMP'nin, i.pl PGE₂ uygulanan sıçanlarda L-Arginin/NO/sGMP yolağıyla ATP duyarlı K^+ kanallarını aktive

ederek periferel antinosisepsiyoua neden olması da bu sonucu desteklemektedir (34).

Opioid reseptörleri:

Endojen ve eksojen opioid peptidler organizmadaki çeşitli etkilerini G proteinlerine kenetli spesifik reseptörleriyle etkileşerek oluşturmaktadır. Başlıca 3 opioid reseptör tipi olduğu bulunmuş ve bunlar mü, delta ve kappa reseptörleri olarak adlandırılmıştır. Ayrıca dördüncü bir reseptör tipi olan sigma reseptörlerinin de bu reseptörlerle etkileşmesi önemlidir. İrreversibl mü antagonistleri naloksazon ve naloksonazin kullanılarak mü reseptörlerinin μ_1 ve μ_2 olmak üzere 2 alt tipinin bulunduğu gösterilmiştir. μ_1 reseptörleri morfine yüksek afinite gösterir ve analjezik etkilerin ortaya çıkmasına aracılık eder. μ_2 reseptörleri ise morfine daha düşük afinitelidir ve opioidlerin solunum depresyonu ile fiziksel bağımlılık oluşturmamasından sorumludur. μ_1 reseptörleri supraspinal analjezide, μ_2 ise spinal analjezide rol oynamaktadır. Delta reseptörlerinin ise δ_1 ve δ_2 olmak üzere iki alt tipi vardır. δ_1 reseptörleri spinal analjezik etkilerden, δ_2 reseptörleri ise supraspinal analjeziden sorumludur. Kappa reseptörleri ise κ_1 , κ_2 ve κ_3 olmak üzere üçe ayrılmaktadır ve bunlardan κ_1 spinal analjezinin, κ_2 ve κ_3 ise supraspinal analjezik etkinin oluşmasına neden olmaktadır (39).

Yüksek afiniteye ve selektiviteye sahip eksojen ligandlar sayesinde farmakolojik ve biyokimyasal özellikleri açısından birbirlerinden farklı üç tip opioid reseptör sınıfı tanımlanmıştır. Mü opioid reseptörleri morfin ve derivelerine, siprodin ve naloksonazin

gibi antagonistlerine ve DAMGO gibi peptid agonistlerine yüksek afinite göstermektedir. DAMGO ve agonistleri, kappas ve delta opioid reseptörlerine bağlanmamaktadır. Benzer şekilde, morfin ve türevleri de delta ve kappas reseptörlerinde daha az etki göstermektedir. Bu üç tip opioid reseptörünün antagonisti ise nalokson'dur ve antagonizma değişik derecelerde gerçekleşmektedir (40). Tablo 3' de opioid reseptör alttıpleri ve çeşitli opioid reseptör agonisti ilaçların bu reseptörlere afiniteleri gösterilmiştir (41).

Tablo 3. Opioid reseptör alttıpleri ve bu reseptörlere etkili agonistlerin afiniteleri (+, agonist; -, antagonist)

	Mü	Delta	Kappas ₁	Kappas ₃
İLAÇLAR				
Morfin	+++		+	+
Metadon	+++			
Etorfin	+++	+++	+++	+++
Fentanil	+++			
Sufentanil	+++	+	+	
DAMGO	+++			+
Nalokson	---	-	--	--
Nalorfin	---		+	+++

Opioid reseptörlerinin doku dağılımı ve farmakolojik profilleri de farklılıklar göstermektedir. Bunlardan mü reseptörleri supraspinal analjezide ana hücrel mediatör görevi yanısıra opioid tolerans ve bağımlılığında da rol oynamaktadır. Mü opioid geni silinmiş sıçanlarda yapılan araştırmalarda, morfin analjezisinin kaybolduğu ve ilaç kesilmesi semptomlarında azalma olduğu belirlenmiştir (40). Otoradyografi ve reseptör bağlanma çalışmaları omuriliğin arka boynuzunda da mü, kappa ve delta reseptörlerinin bulunduğunu göstermiştir (42). Benzer şekilde, bu reseptörlerin primer afferent nöronlarda presinaptik olarak da bulunduğu ve inflamatuvar hiperaljezik koşullarda opioidlerin periferik etkisinden sorumlu olabileceği bildirilmiştir (35,42,43).

Her ne kadar her üç opioid reseptör alttipinin de analjezik etkisinin olduğu bilinse de, mü opioid reseptörleri analjezide delta opioid reseptörlerden daha önemli olduğu kabul edilmektedir. Delta opioid reseptör aracılı antinosisepsiyonda mü reseptörlerinin rolü vardır. Ayrıca, selektif delta opioid reseptör agonistleri selektif mü opioid reseptör agonistlerine göre daha fazla solunum depresyonuna neden olmaktadır. Bu nedenle opioid analjezisinde avantaj sağlayacak yüksek selektiviteli mü opioid reseptör agonistleri bulunmuştur. Mü opioid reseptörleri için yüksek oranda selektivite gösteren ligandların geliştirilmesinde ilk girişimler enkefalin peptidlerin modifikasyonu temeline dayanmaktadır. Bu çalışmaların sonucu mü selektif enkefalin analogu [D-Ala², NmePhe⁴, Gly-ol⁵] enkefalin (DAMGO) geliştirilmiştir. DAMGO, mü opioid reseptörleri için yüksek afiniteye sahip ve delta opioid reseptörlerine göre 1000 kat daha fazla selektif bir bileşiktir (44).

Opioidlerin etki yerleri ve olası etki mekanizmaları:

Söz konusu peptid ve ilaçların nöron düzeyindeki inhibitör etkilerine aracılık eden üç transmembranal transdükleme mekanizmasının varlığı gösterilmiştir:

1)Adenilil siklazın inhibisyonu: Opioid reseptörlerin her üç alt-tip de Gi ve olasılıkla Go proteinleri aracılığıyla adenilil siklazla negatif şekilde kenetlidir. Etki sAMP'nin azalması ile ilişkilidir.

2)Nöron membranındaki volataja-bağımlı kalsiyum kanallarından hücreye kalsiyum girişinin azaltılması: Bu etki sonucu akson uçlarında veya nöron somalarında intrasellüler kalsiyum düzeyinin düşmesi presinaptik ve postsinaptik inhibitör etkiye katkıda bulunur. Bu tip transdüksiyon mü reseptörleri için gösterilmiştir ve etkiye Gi proteinleri aracılık eder. Opioid ilaçlar direkt etkilerinin aksine, indirekt (sekonder) olarak nöronların glutamat NMDA reseptörlerini aktive ederek hücre içi kalsiyum girişini artırabilirler.

3)Gi proteini aracılığıyla nöron membranındaki potasyum kanallarının açılması (potasyum kondüktansının artırılması): Mü ve delta reseptörlerinin aktivasyonu, nöronlarda bu tür etki sonucu hiperpolarizasyon (inhibisyon) yapar (1). Periferik opioid reseptörlerinin de inhibitör G proteinleri ile kenetli olduğu bilinmektedir. Morfinin periferik antinosiseptif etkisi pertussis toksini ile ortadan kalkmaktadır (35).

Diabetes Mellitus ve komplikasyonları:

Diabetes mellitus çeşitli komplikasyonlara neden olabilen ve ülkeler için finansal bir sorun haline gelmiş olan önemli bir hastalıktır. Juvenil diabetli hastaların %24'ünde ketoasidoz görülmekte ve bunun %34'ü ise komaya ilerlemektedir. Tip II diabet olgularında gözlenen ketoasidoz sıklığı ise %34 olarak bildirilmiştir. Diabetik hastalarda özellikle stafilokok ve gr(-) mikroorganizmaların etken olduğu enfeksiyonların sıklığında artış görülmektedir. Bu hastalarda ortaya çıkan hiperlökositoz ve anemi etkisiz antibiyotik tedavisiyle bağlantılıdır (JJ). Pulmoner tüberküloz da diabetin sıklıkla gözlenen diğer önemli bir komplikasyonudur. Diabetin mortalitesi yılda 1000'de 14.9 olarak bildirilmiştir ve ortalama ölüm yaşı kadınlar için 51.6, erkekler için 57.6'dır. Hastalar ölmeden önce yaklaşık 12.5 yılını hastalıklı olarak geçirmektedir. Tüm ölümlerin yaklaşık %30'u akut metabolik komplikasyonlar, enfeksiyonlar ve inme nedeniyledir. İnsüline bağımlı hastaların yarısından fazlasında retinopati oluşmaktadır. Bu hastalarda nöropati yüzdesi de oldukça yüksektir (13). Diabetik hastalarda koroner arter hastalığı ve alt uzuv arteriyopatisi sıklığının sağlıklı bireylere göre fazla olduğu ve bu hastalarda sıklıkla görülen damar komplikasyonlarının mortalite ve morbiditenin önemli bir nedeni olduğu bildirilmiştir (13,45). Ancak, insüline bağımlı olan tip I diabetes mellituslu hastalarda mikrovasküler ve makrovasküler anjiyopati gelişiminin mekanizması komplekstir ve tam olarak anlaşılammıştır. Nitrik oksid'in damar tonusunun düzenlenmesinde önemli rolü olduğundan, NO

aktivitesindeki bozukluğun diabetik vaskülopatinin gelişimine katkıda bulunabileceği kabul edilmektedir (45).

Diabette opioid sistem aktivitesindeki değişiklikler:

Diabet, endojen opioid sistemin aktivitesi de dahil olmak üzere hipotalamo-hipofizer fonksiyonları değiştirmektedir. Diabetik hayvanlar nalokson'un beslenmede yaptığı süpresyona daha fazla duyarlıdır ve nalokson'a yanıt olarak oluşan lüteinizan hormon salgılamında da azalma bildirilmiştir. Tip I diabetin bir hayvan modeli olan streptozotosin (STZ) ile diabet yapılan dişi sıçanlarda endojen opioid peptid beta-endorfin düzeylerinin hipotalamus ve ön hipofizde azaldığı gösterilmiştir. Ayrıca dekstroz veya fruktoz verilerek hiperglisemik hale getirilen sıçanlarda ve diabetik sıçanlarda morfin'in, levorfanol'ün ve fenazosin'in antinosiseptif etki gücünde bir azalma olduğu bildirilmiştir. Tüm bu bulgular diabetik hayvanlarda ağrı algılamasının endojen opioid peptid aktivitesindeki değişikliklerin bir sonucu olarak normalden farklı olabileceğini telkin etmektedir (16).

Diabetik hayvanlarda ağrı yanıtlarının değiştiğini gösteren birçok çalışma vardır (14,16,46,47). Ağrı eşiğinde diabetin etkileri konusunda birbiriyle çelişkili bildiriler bulunmaktadır (48). Tail-flick testinin kullanıldığı bir çalışmada, diabetik farelerde termal ağrı eşiğinin azaldığı gösterilmiştir (16). STZ diabetik hayvanların ve glukoz verilerek hiperglisemi yapılan sıçanların ağrı eşiğinin de kontrole göre yüksek olduğu saptanmıştır. Bu etki opioid antagonisti nalokson'la geriye çevrilebildiğinden, diabetik veya hiperglisemik

hayvanlarda gözlenen bu etkinin endojen opioid sistemle ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (49). Beta-endorfin'in santral ve periferik düzeylerinin 8 hafta süreyle diabet yapılan dişi sıçanlarda anlamlı olarak azaldığı bulunmuştur (16). Buna karşın diğer bir grup araştırmacı ise STZ enjeksiyonuyla oluşan akut ve kronik diabet durumunda ağrı eşiğinde anlamlı bir değişiklik olmadığını bildirmiştir (50).

STZ diabetik farelerde mü opioid reseptör aracılı antinosiseptif yanıtlar da belirgin olarak azalma göstermektedir (14). STZ diabetik ve spontan diabetik fareleri kapsayan hipergliseminin çeşitli hayvan modellerinde, morfinin antinosiseptif etki gücünde azalma görülmüştür (15,26,28,46,47,51). Hem akut hem de kronik diabet morfinin analjezik etkisini azaltmaktadır (50). Araştırmacılar, morfin ve [D-Ala, NmePhe, Glyol]enkefalin (DAMGO) gibi mü-opioid reseptör agonistlerinin intraserebroventriküler uygulanmasıyla ortaya çıkan antinosiseptif etki gücünün, STZ diabetik farelerde kontrollere göre anlamlı derecede azaldığını saptamışlardır (46,47,52,53). Ancak, diabetik hayvanlardaki mü opioid reseptörler sayısının ve afinitesinin non-diabetik hayvanladakinden anlamlı olarak farklı olmadığı ileri sürülmüştür (14). STZ diabetik farelerde mü opioid reseptör agonistlerinin etki gücündeki azalmanın supraspinal mü-opioid reseptör fonksiyon bozukluğuna bağlı olduğu düşünülse de, bu değişikliklerden sorumlu mekanizmalar hakkında oldukça kısıtlı bilgi bulunmaktadır (46). Formalin testiyle yapılan çalışmalarda da morfinin antinosiseptif aktivitesinin STZ diabetik farelerde belirgin olarak azaldığı, fakat genetik olarak diabetik farelerde ise kontrollere göre bir farklılık oluşmadığı gösterilmiştir (54).

Diabetik olmayan ve diabetik farelerde dihidroetorfin'in subkutan veya intraserebroventriküler olarak uygulanmasının ortaya çıkardığı doza bağımlı antinosiseptif etkinin de diabetik farelerde azaldığı bilinmektedir. Dihidroetorfin ile oluşan antinosiseptif etki mü₁ ve mü₂ opioid reseptörleri aracılığıylaadır. Diabetik farelerde dihidroetorfin ile oluşan antinosisepsiyonda gözlenen azalmanın supraspinal mü₁ opioid reseptör aracılı antinosisepsiyonun azalmasına bağlı olabileceği düşünülmektedir (55).

Mü ve delta opioid reseptörlerin stimülasyonu santral sinir sisteminin çeşitli bölgelerindeki K⁺ kanallarını aktive etmektedir. Bir mü opioid reseptör agonisti olan morfin ile oluşan antinosisepsiyonun ATP duyarlı K⁺ kanalları ile ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür. Araştırmacılar, K⁺ kanal açıcısı olan kromakalim'in antinosisepsiyon oluşturduğu ve bunun ATP duyarlı K⁺ kanallarının selektif bir blokörü olan glibenklamid ile geriye çevrilebildiğini göstermişlerdir. Böylece, diabetik farelerde mü opioid agonistlerin düşük etkinliğinin ATP-duyarlı K⁺ kanallarındaki fonksiyonel bir değişikliğe bağlı olabileceği ileri sürülmüştür (14).

Opioidlerin etki gücündeki azalmayı açıklayan diğer bir görüş ise yüksek konsantrasyonlardaki glukozun morfinin opium reseptörleriyle olan etkileşimini değiştirebileceği şeklindedir (50). Benzer şekilde, alloksan'la diabet oluşturulan farelerde de morfinin analjezik etkisinde azalma gözlenmektedir. Bu yanıtta azalmanın plazma glukoz düzeyleriyle ilişkili olduğu ve insülinin yineleyen enjeksiyonları sonrasında diabetik hayvanların opioidlere yanıtındaki azalmanın düzeldiği bildirilmiştir (56). Bununla uyumlu olarak, STZ diabetik farelerde tail-flick testi kullanılarak analjezik etki gücünün

anlamli olarak azaldigi bulunan DAMGO'nun antinosiseptif etkisinin 1 hafta sure diabet yapilan farelerde insulin tedavisiyle normale donerken, 2 hafta sureyle diabet yapilan farelerde degismedigii gorulmüstür. Sonuclar serum glukoz duzeylerinin mü opioid agonistlerinin etki gücündeki degismeden sorumlu olabilecegi izlenimini vermektedir (57). Arastirmacilar, oral olarak kullanan bir antidiabetik ajan olan CS-045'in spontan diabetik farelerde morfinin antinosiseptif etkisini dramatik bir sekilde arttirdigini göstermislerdir. STZ diabetik farelerde gözlenen hiperglisemi ve hipoinsülinemiye zit olarak, spontan diabetik fareler hiperglisemik ve hiperinsülinemiktir. CS-045, spontan diabetik farelerde plazma glukoz ve insülin duzeylerini azaltmaktadır. Spontan diabetik farelerde mü opioid reseptör agonistlerinin antinosiseptif etkisindeki azalmadan sadece hipergliseminin degil aynı zamanda hiperinsülineminin de sorumlu olması olası gözükmemektedir (15). İnsülinin etkisi hücrelerin plazma zarlarındaki spesifik reseptörlerine bağlanmasıyla başlamaktadır. İnsulin reseptörleri beyinde yaygın bir dağılım göstermektedir ve bu da insülinin santral sinir sisteminde önemli fonksiyonları olduğunu telkin etmektedir. İnsülinin santral sinir sisteminde nörotropik ve nöromodülatör rolü olduğu bilinmektedir. Arastirmacilar sıçanlara intraventriküler insülin enjeksiyonu yapılmasının DAMGO'nun antinosiseptif etkisini azalttığını saptamışlardır. İnsulinin fosfolipaz C'yi aktive ettiği ve bunun protein kinaz C'nin endojen bir aktivatörü olan diacilgliserol ve inositol-glikan bileşiminin birçok dokuda oluşmasıyla sonuçlandığı bildirilmiştir. Sonuç olarak, insülin birçok fizyolojik etkisini protein kinaz C üzerinden göstermektedir. Tüm opioid reseptörleri de yapılarında protein kinaz bölgeleri içermektedir.

Opioid reseptörlerin protein kinaz C ile fosforilasyonu bu reseptörlerin fonksiyonunu desensitize etmektedir (58).

Diabetik farelerde mü opioid reseptör aracılı antinosisepsiyondaki azalmadan kısmen protein kinaz C'nin aktivitesindeki artışın sorumlu olabileceği düşünülmüştür, fakat altta yatan mekanizmalar açık değildir(28). Birçok araştırmacı, hipergliseminin veya yükselmiş glukoz düzeylerinin diacilgliserol düzeylerini arttırabildiği ve damar dokusu, kalp ve hücre kültürlerinde protein kinaz C'yi aktive edebildiğini bildirmişlerdir. Diacilgliserol-protein kinaz C hücre sinyal yolağının aktivasyonu, diabette gözlenen damar fonksiyon bozukluğuyla ilişkilidir. Ayrıca, STZ diabetik sıçanlarda gözlenen mekanik davranışsal hiperaljezi ve mekanik uyarıya yanıt olarak C-liflerinin hipereksitabilitesi, protein kinaz C'yi inhibe eden ajanlarla azalmaktadır. Bu sonuçlar, protein kinaz C aktivitesindeki artmanın primer afferent nosiseptörlerin eksitabilitesinde değişiklik yapabileceğini telkin etmektedir (52).

Diabetik hayvanlarda kalp myozitlerinde, damar düz kaslarında ve diğer dokularda kalsiyum sinyallemesinin normal olmadığını gösteren güçlü kanıtlar bulunmaktadır. Verapamil'in diabetik sıçanlarda glukoz metabolizmasını ve insülin sekresyonunu etkilemeksizin kalp fonksiyonlarını iyileştirici etki gösterdiği bilinmektedir. Hücre içi kalsiyumunda kronik olarak aşırı miktarda artmanın kronik diabetlilerdeki kalp fonksiyon bozukluğunun nedeni olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca, sitozolik kalsiyum miktarındaki artmanın diabetlilerde mü ve delta opioid reseptör aracılı antinosisepsiyonun düzenlenmesinde önemli bir rol oynaması olası gözükmektedir (28). Kalsiyum kanal blokörlerinin opioid analjezisini

güçlendirdiği, kalsiyum kanal agonistlerinin ise opioid analjezisini antagonize ettiği bulunmuştur (59).

Diabetik nöropati, diabetli hastalarda sık gözlenen bir komplikasyon olup, hem periferik hem de otonom sinir sistemini etkileyen geniş kapsamlı bozuklukları içeren ve önemli ölçüde mortalite ve morbiditeye neden olan heterojen bir bozukluktur. Nöropatiler fokal veya diffuz, proksimal veya distal olabilir ve somatik veya otonomik sinirleri kapsayabilir (60). Nöropatik ağrı diabetin önemli bir klinik komplikasyonudur ve klinik çalışmalarla kısmen etkili olduğu gösterilmiş antidepresan ilaçlarla bile tedavisinin güç olduğu bildirilmiştir. Kronik nöropatik ağrının opioid tedavisine verdiği yanıt değişkendir ve bazı otörlere göre nöropatik ağrı opioidlere yanıtıdır. Diğer görüş ise yetersiz dozda opioid tedavisinin yetersiz yanıtı neden olduğu şeklindedir (61). Diabetlilerde gözlenen nöropatinin patogenezinde nNOS'ın rolünü değerlendirmek için STZ diabetik sıçanların arka kök ganglionlarında nNOS ekspresyonu incelenmiş ve nosisepsiyon çalışmaları yapılmıştır. Bu hayvanlarda nNOS protein ekspresyonunun ve zararlı mekanik uyarıya pençe çekme yanıtının eşliğinin azaldığı ve insülin tedavisinin bunu önlediği bildirilmiştir. Sonuçlar arka kök ganglionunda nNOS/sGMP sisteminin etkinliğindeki azalmanın diabetlilerde gözlenen duyuşal nöropatinin patogenezinde rol oynayabileceği izlenimini vermektedir (62).

GEREÇ VE YÖNTEM

Diabet oluşturulması

Çalışmada 250-300 g ağırlığında erkek Wistar Albino sıçanları kullanıldı. Deney boyunca sıçanlar 22 ± 0.5 °C'lik ortam ısısında ve 12 saat aydınlık 12 saat karanlık ortamda tutuldu. Diabet ve kontrol grubunu oluşturacak sıçanlar bir gece öncesinden aç bırakılarak ağırlıkları kaydedildi ve açlık kan glukoz değerleri kuyruk venlerinden birinin steril bir iğneyle delinmesiyle elde edilen bir damla kanda test çubukları (Glucostix, Bayer Diagnostics) ile ölçüldü. Diabet oluşturulacak hayvanlara 0.01 M sodyum sitrat tampon solüsyonunda (pH 4.5) taze olarak çözülmüş streptozotosin 60 mg/kg tek doz intraperitoneal olarak injekte edildi. Kontrol sıçanlarına ise sadece tampon solüsyonu injekte edildi. Diabet oluşturulacak sıçanlara ilk 24 saat boyunca hipoglisemi riskine karşı % 20 oranında şeker içeren sıvı verildi. Daha sonra ise 6 haftalık süre içerisinde serbest olarak su ve yiyecek alacak şekilde beslendi. Kontrol sıçanları ise injeksiyondan itibaren serbest su ve yiyecek alacak şekilde beslendi. Diabet ve kontrol grubu sıçanların açlık kan glukoz düzeyleri ve ağırlıkları 6 hafta boyunca kaydedildi. 6 hafta sonunda streptozotosin injekte edilen sıçanların kan glukoz düzeyleri 300

mg/dl'nin üstünde olan sıçanlar diabetik olarak kabul edildi. Kan glukoz düzeyleri 300 mg/dl'nin altında olanlar ise çalışma dışı bırakıldı.

Deneyler 6 haftanın sonunda kontrol grubu ve diabetik grup olmak üzere 2 grup hayvanda yapıldı.

Her iki grupta nosiseptif yanıtlar formalin ve hot-plate testleri ile değerlendirildi.

Formalin testi: Sıçanlara hafif eter anestezisini takiben %1'lik formalin solüsyonundan 50 µl sc. sağ arka pençelerinin arka yüzüne enjekte edildi. Daha sonra sıçanlar formalin enjekte edilen pençenin gözlenmesi için açık pleksiglas kaplara konularak nosiseptif yanıtlar gözlemlendi. Herbir sıçanda enjeksiyon yapılan pençeyi değişik zamanlarda spontan olarak kaldırma, yalama ve ısırma hareketi ağrı yanıtının bir göstergesi olarak kabul edildi. Formalin yanıtını değerlendirmek için spontan yalama ve ısırma hareketi 1-2.dk lar ve 5-6.dk larda birer dakika süreyle sayıldı. Formalin enjeksiyonundan sonraki 10-60 dakikalık zaman sırasında da spontan yalama ve ısırma hareketi 5 dk aralarla ve bir dakika süreyle gözlemlendi. Formalin yanıtı bifazik olup behevryoral yanıtın ilk fazının formalin ile nosiseptif nöronların direkt aktivasyonu ile oluştuğu, ikinci fazın ise akut olarak hasarlı dokuda inflamasyona bağlı gelişen ağrıyı yansıttığı kabul edilmektedir. Formalin enjeksiyonu sonrası 0-5.dk lar arasındaki nisbeten kısa olan period faz I, formalin enjeksiyonundan sonraki 5-40.dk'lar arasındaki period faz IIa ve 40-60. dakikalar arasında nisbeten uzamış tonik yanıtı gösteren periyod ise faz IIb olarak değerlendirildi. Bir saatlik gözlem periodu sonrası sıçanlar servikal dislokasyonla öldürüldü (8,29,32,54,63,64,65)

Hot-plate testi: Hot-plate testi $55 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta olan alüminyum bir plak üzerine sıçanların konulmasıyla yapıldı (MayCom 9601 Analgesic Hot-plate). Nöroseptif yanıtlar sıçanların sıcak yüzeyden atlayarak kaçma girişimleri veya pençenin yalanmasıyla değerlendirildi. Doku hasarını önlemek için 30 sn içinde yanıt alınamayan sıçanlar sıcak yüzeyden alındı. Sıçanlara herhangi bir madde uygulanmadan önce 3 kez reaksiyon zamanı ölçülerek ve bunların ortalaması alınarak baz reaksiyon zamanı saptandı. Daha sonra deneylerde kullanılan ilaçlar enjekte edildi ve 30 dakika aralarla toplam 2 saat süre ile yanıtlar kaydedildi. Sonuçlar maksimum olası etkinin yüzdesi (%MOE) olarak değerlendirildi (66).

$$\% \text{MOE} = \frac{\text{İlaç sonrası reaksiyon zamanı(sn)} - \text{ilaç öncesi reaksiyon zamanı(sn)}}{30 - \text{ilaç öncesi reaksiyon zamanı(sn)}} \times 100$$

Deneyleerde kullanılan ilaçlar:

STZ (Streptozotosin)-----Deneysel diabet oluşturmak için.

DAMGO ([D-Ala, N-Me-Phe, Gly-ol] enkefalin)----- Spesifik mü opioid reseptör agonisti

L-NIO (N-iminoethyl-L-ornithine)----- NO sentaz inhibitörü

MM (Metilen mavisi)----- Guanilat siklaz inhibitörü

SIN-1 (3-morpholino-sydnonimine)----- NO donörü

İlaçların tümü Sigma'dan elde edildi ve DAMGO serum fizyolojikle, diğerleri ise distile suyla çözülerek sulandırıldı. İlaçlar 50 µl hacimde ve i.pl olarak uygulandı.

Deney Protokolü:

Aşağıda açık olarak anlatılan ve tablo I'de özetlenen deney protokolü STZ diabetli ve kontrol grubu hayvanlarda ayrı ayrı uygulandı ve bir kez kullanılan hayvan tekrar deneye alınmadı.

Mü opioid reseptör aracılı antinosiseptif yanıtların değerlendirilmesi:

Kontrol ve diabetik gruptan 12'şer sıçana spesifik mü agonist DAMGO 1 µg/pençe/i.pl olarak enjekte edildikten 5 dk. sonra her grupta 6 hayvanda formalin testi, diğer 6 hayvanda ise 30-60-90 ve 120. dk'larda hot-plate testi uygulandı. DAMGO taşıyıcısının yanıtlara etkisini değerlendirmek için iki gruptan 12'şer hayvanda DAMGO yerine DAMGO taşıyıcısı verilerek yukardaki protokol tekrarlandı. Ayrıca 6 kontrol hayvanına formalin enjekte edilen pençenin karşı tarafına aynı miktarda DAMGO uygulanarak antinosiseptif yanıtlar değerlendirildi.

Mü opioid reseptör aracılı antinosiseptif yanıtlarda L-Arginin-NO-sGMP yolağının rolünün değerlendirilmesi:

Hot-plate testinde kontrol ve diabetik grup arasında fark bulunmaması nedeniyle protokolün bu kısmı hot-plate testi için gerçekleştirilemedi. Formalin testinde ise yanıtlar 3 grupta incelendi:

a) Kontrol grubundan 6, diabetik gruptan 6 hayvana 200 $\mu\text{g}/\text{pençe}/\text{i.pl}$ SIN-1 uygulandıktan 30 dakika sonra i.pl DAMGO enjeksiyonu yapıldı. Bu hayvanlara 5 dk. sonra formalin enjekte edilerek formalin testi yapıldı. SIN-1 taşıyıcısının yanıtlara etkisini incelemek için yukardaki protokol SIN-1 yerine SIN-1,MM ve L-NIO'nun ortak taşıyıcısı olan distile su verilerek tekrarlandı.

b) Kontrol grubundan 6, diabetik gruptan 6 hayvana 100 $\mu\text{g}/\text{pençe}/\text{i.pl}$ L-NIO uygulandıktan 30 dakika sonra i.pl DAMGO enjeksiyonu yapıldı. Bu hayvanlara 5 dk. sonra formalin enjekte edilerek formalin testi yapıldı.

c) Kontrol grubundan 6, diabetik gruptan 6 hayvana 500 $\mu\text{g}/\text{pençe}/\text{i.pl}$ MM uygulandıktan 30 dakika sonra i.pl DAMGO enjeksiyonu yapıldı. Bu hayvanlara 5 dk. sonra formalin enjekte edilerek formalin testi yapıldı.

Tablo 1. Deney grupları

<i>Mü opioid reseptör aracılı antinosisseptif yanıtının değerlendirilmesi</i>	DAMGO 1 µg/pençe/i.pl)
<i>Mü opioid reseptör aracılı yanıtarda L-Arginin-NO-sGMP yolağının rolünün değerlendirilmesi</i>	SIN-1 (200 µg/pençe/i.pl)+DAMGO
	L-NIO (100 µg/pençe/i.pl)+DAMGO
	MM (500µg/pençe/i.pl)+DAMGO

İstatistiksel Yöntem:

Çalışmanın istatistiksel değerlendirilmesi Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı'nda yapıldı. Veri yapısı parametrik varsayımları karşılamadığından non-parametrik testler kullanıldı. Gruplar Kruskal Wallis testiyle genel olarak karşılaştırıldıktan sonra, gruplar ikili olarak kendi aralarında Mann-Whitney testi kullanılarak karşılaştırıldı.

BULGULAR

Streptozotosin ile diabet oluşturulan sıçanlar diabetes mellitus'un bazı karakteristik özelliklerini (poliüri, polifaji ve hiperglisemi) gösterdi. Tampon solüsyonu injekte edilen kontrol grubu sıçanlarda ise böyle bir özellik görülmedi. Diabetik sıçanlar kontrol grubu sıçanlar ile karşılaştırıldığında 6. haftanın sonunda kilo kaybettikleri gözlemlendi. Diabetik grubun vücut ağırlıkları ve kan glukoz düzeylerinin kontrol grubuna göre gösterdikleri farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulundu (Tablo 1).

MÜ OPIOİD RESEPTÖR ARACILI ANTİNOSESİPTİF YANITLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

Kontrol ve diabetik sıçanlarda i.pl olarak uygulanan DAMGO formalin testinin faz IIa ve faz IIb evresinde istatistiksel olarak anlamlı antinosiseptif bir etki oluştururken, formalin testinin faz I evresinde etkisiz bulundu (Şekil 1 ve 2). Kontrol sıçanlarda karşı pençeye uygulanan DAMGO ise istatistiksel olarak anlamlı bir antinosiseptif etki oluşturmadı (Şekil 1). Benzer şekilde hot-plate testinde her iki grupta i.pl DAMGO'nun antinosiseptif etki

oluşturmadığı gözlemlendi (Şekil 3). Ancak, formalin testinde kontrol grubunda DAMGO'nun antinosiseptif etkisinin diabetik hayvanlara göre istatistiksel olarak daha güçlü olduğu saptandı (Şekil 4). Kontrol ve diabetik sıçanlarda DAMGO taşıyıcısı serum fizyolojisinin her iki test ile değerlendirilen antinosiseptif yanıtlarda bir değişiklik oluşturmaması nedeniyle DAMGO'nun antinosiseptif etkisinde gözlenen farklılığın taşıyıcıya bağlı olmadığı bulundu (Şekil 3 ve 5).

MÜ OPIOİD RESEPTÖR ARACILI ANTİNOSEPTİF YANITLARDA L-ARGİNİN/NO/SGMP YOLAĞININ ROLÜNÜN DEĞERLENDİRİLMESİ

Mü opioid reseptör aracılı antinosiseptif yanıtlara L-NIO'nun etkisi

Kontrol ve diabetik sıçanlarda i.pl olarak enjekte edilen L-NIO, formalin testinin faz IIa ve faz IIb evresinde DAMGO'nun antinosiseptif etkisini istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaltırken, faz I evresinde etkisiz bulundu (Şekil 6 ve 7). Aynı şekilde uygulanan L-NIO taşıyıcısının (distile su) ise her iki grupta formalin yanıtlarını değiştirmediği saptandı (Şekil 8 ve 9).

Mü opioid reseptör aracılı antinosiseptif yanıtlara metilen mavisi(MM)'nin etkisi

Kontrol ve diabetik sıçanlarda i.pl olarak enjekte edilen MM, formalin testinin faz IIa ve faz IIb evresinde DAMGO'nun antinosiseptif etkisini istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaltırken, faz I evresinde etkisiz bulundu (Şekil 6 ve 7). Aynı şekilde uygulanan

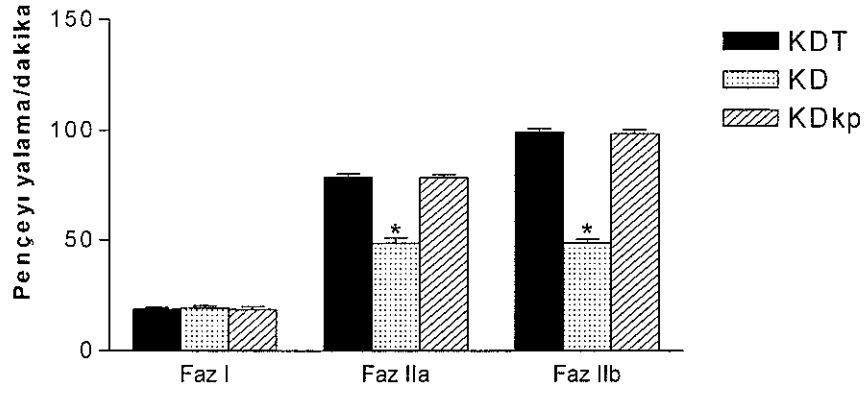
MM taşıyıcısının (distile su) ise her iki grupta formalin yanıtlarını değiştirmediği saptandı (şekil 8 ve 9).

Mü opioid reseptör aracılı antinosiseptif yanıtlaşa SIN-1'in etkisi

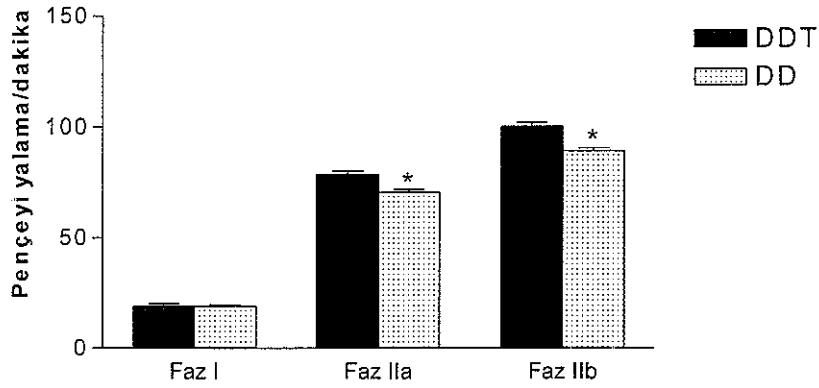
Kontrol grubu sıçanlarda i.pl olarak enjekte edilen SIN-1, formalin testinin faz IIa ve faz IIb evresinde DAMGO'nun antinosiseptif etkisini istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artırırken, faz I evresinde etkisiz bulundu (şekil 6). Diabetik grupta ise, i.pl olarak enjekte edilen SIN-1, formalin testinin faz I, faz IIa ve faz IIb evrelerinde DAMGO'nun antinosiseptif etkisini anlamlı olarak etkilemediği saptandı (şekil 7). Aynı şekilde uygulanan SIN-1 taşıyıcısının her iki grupta da formalin yanıtlarını değiştirmediği bulundu (şekil 8 ve 9).

Tablo 1. Kontrol ve diabetik sıçanların vücut ağırlıkları ve kan glukoz düzeyleri (* p<0.01).

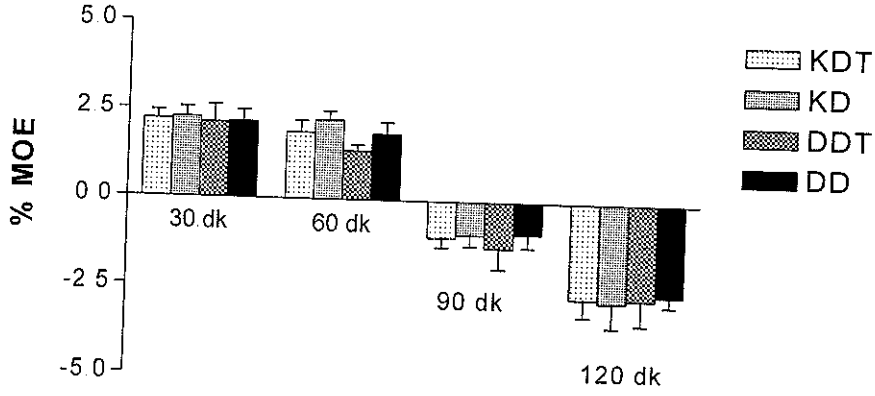
	n	Vücut ağırlığı (g)	Kan glukoz değeri (mg/dl)
Kontrol	54	288,1 ± 19	105,3 ± 14
Diabet	48	215,8 ± 15*	393,1 ± 14*



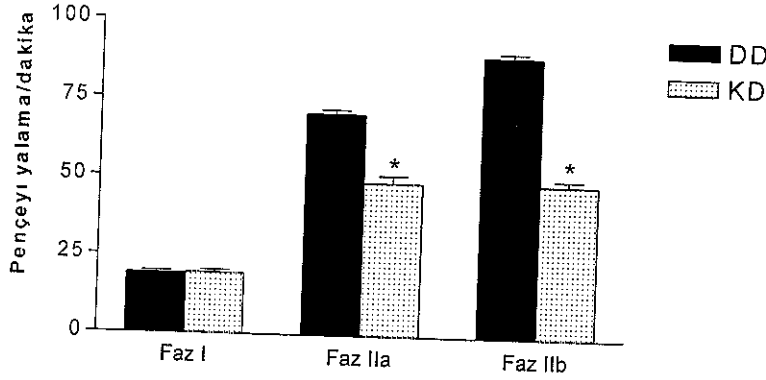
Şekil 1. Kontrol sıçanlarda formalin ile oluşan nosisepsiyona i.pl DAMGO taşıyıcısı(KDT), DAMGO(KD) ve karşı pençeye DAMGO(KDkp) uygulanmasının antinosiseptif etkisi, n=6, *p<0.01(KDT'ye göre istatistiksel anlamlı fark)



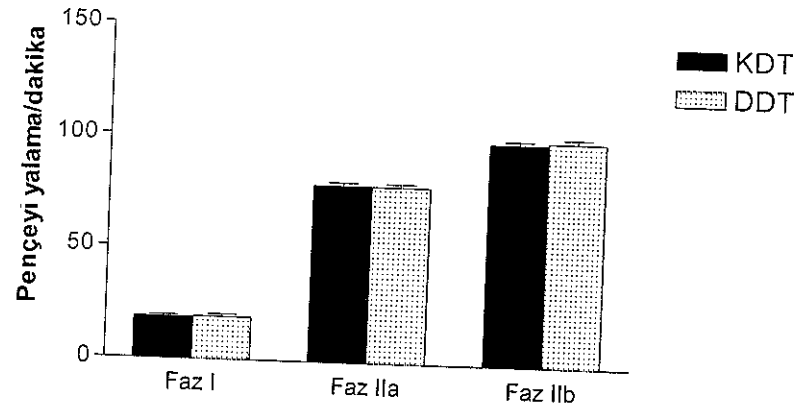
Şekil 2. Diabetik sıçanlarda formalin ile oluşan nosisepsiyona i.pl DAMGO taşıyıcısı(DDT) ve DAMGO(DD) uygulanmasının antinosiseptif etkisi, n=6, *p<0.01(DDT'ye göre istatistiksel anlamlı fark).



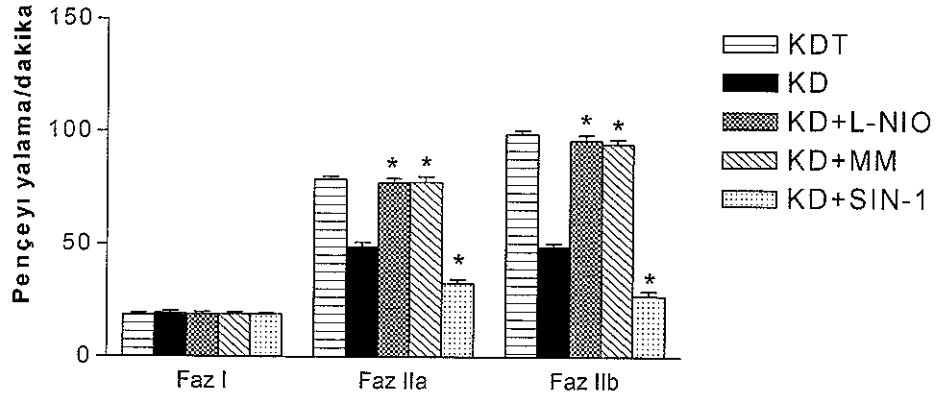
Şekil 3. Kontrol ve diabetik sıçanlarda i.pl DAMGO taşıyıcısı ve DAMGO'nun antinosiseptif etkisinin hot-plate testiyle karşılaştırılması, n=6, % MOE=% Maksimum Olası Etki, KDT=Kontrol DAMGO taşıyıcı, KD=Kontrol DAMGO, DDT=Diabet DAMGO taşıyıcı, DD=Diabet DAMGO.



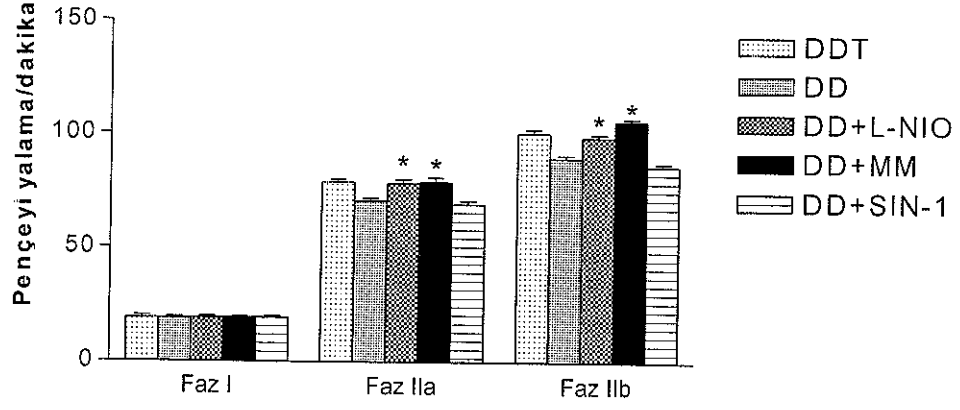
Şekil 4. Kontrol ve diabetik sıçanlarda formalin ile oluşan nosisepsiyona i.pl DAMGO'nun antinosiseptif etkisi, n=6, *p<0,01(DD'ye göre istatistiksel anlamlı fark), DD=Diabet DAMGO, KD=Kontrol DAMGO.



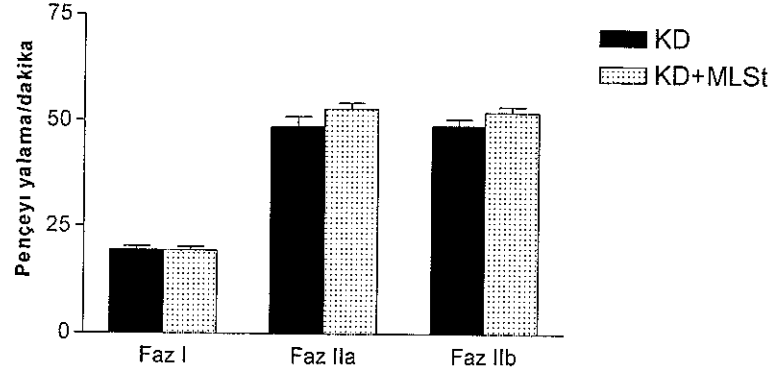
Şekil 5 Kontrol ve diabetik sıçanlarda formalin ile oluşan nosisepsiyona i pl DAMGO taşıyıcısının antinoseptif etkisi, n=6, KDT=Kontrol DAMGO taşıyıcısı, DDT=Diabet DAMGO taşıyıcısı.



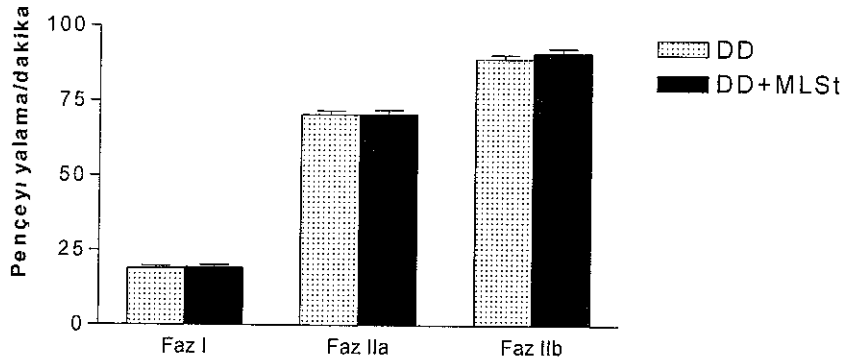
Şekil 6. Kontrol sıçanlarda formalin ile oluşturulan nosisepsiyona i.pl DAMGO, DAMGO+L-NIO, DAMGO+MM ve DAMGO+SIN-1'in antinosiseptif etkisi, n=6, *p<0,01(D'ya göre istatistiksel anlamlı fark), KDT=Kontrol DAMGO taşıyıcı, KD=Kontrol DAMGO, KD+L-NIO=Kontrol DAMGO+L-NIO, KD+MM=Kontrol DAMGO+MM, KD+SIN-1=Kontrol DAMGO+SIN-1.



Şekil 7 Diabetik sıçanlarda formalin ile oluşturulan nosisepsiyona i pl DAMGO, DAMGO+L-NIO, DAMGO+MM ve DAMGO+SIN-1'in antinosiseptif etkisi, n=6, *p<0,01(D'ya göre istatistiksel anlamlı fark), DD=Diabet DAMGO, DD+L-NIO=Diabet DAMGO+L-NIO, DD+MM=Diabet DAMGO+MM, DD+SIN-1=Diabet DAMGO+SIN-1.



Şekil 8. Kontrol sıçanlarda formalin ile oluşturulan nösesepsiyona i.pl DAMGO(KD) ve DAMGO+MM,L-NIO,SIN-1 taşıyıcısı(KD+MLSt)'nin antinosiseptif etkisi, n=6.



Şekil 9. Diabetik sıçanlarda formalin ile oluşturulan nösesepsiyona i.pl DAMGO(DD)[®] ve DAMGO+MM,L-NIO,SIN-1 taşıyıcısı(DD+MLSt)'nin antinosiseptif etkisi, n=6

TARTIŞMA

Opioidler, akut ağrılı hastalıkların tedavisinde oldukça sık kullanılan ilaçlardır (67). Opioidlerin periferik antinosiseptif etkileri mü, kappa ve delta reseptörler aracılı olmasına karşın, mü opioid reseptör agonistleri delta ve kappa opioid reseptör agonistlerinden daha güçlü periferik antinosiseptif etki göstermektedir (35,68). Mü opioid reseptör agonisti fentanil'in lokal uygulamasının sistemik uygulamaya göre 15 kat daha güçlü antinosiseptif etki oluşturduğu, oysa DAMGO için bu oranın yaklaşık 500 kat olduğu bulunmuştur. Bu fark ilaçların farklı farmakokinetik profil göstermesine bağlı olabilir. Şöyleki fentanil, lipofilitesi fazla olan ve sistemik uygulama sonrası iyi dağılım gösteren bir opioid reseptör agonisti olmasına karşın, DAMGO sistemik uygulama sonrası hızla yıkılmakta ve yavaş bir dağılım göstermektedir. Ayrıca, DAMGO'nun 0.32 mg/kg doza kadar herhangi bir davranış değişikliğine neden olmadığı bildirilmiştir (5). Bu özellikleri nedeniyle, çalışmamızda selektif olarak mü opioid reseptörlerine etkili güçlü bir opioid agonist olan DAMGO kullanılmıştır.

Opioidlerin inflamasyonsuz doku içine lokal uygulanmasının antinosiseptif etki oluşturmaması, periferik antinosisepsiyonun tam olarak ortaya çıkması için inflamatuvar komponentin gerekli

olduğunu düşündürmektedir (5,68). Bununla uyumlu olarak, inflamatuvar ağrıda lokal olarak uygulanan opioidlerin daha fazla etkili olması çeşitli faktörlerle açıklanmaktadır (5). İnflamasyonlu dokuda lokal uygulanan opioidler perinöral hasar sonucu nöronal opioid reseptörlerine daha kolay bağlanabilmektedir. Ayrıca, opioid reseptörlerin aksonal transportunun ve opioidlerin bağlanma bölgelerinin inflamasyona bağlı olarak arttığı gösterilmiştir (5,68). İnflamasyonlu dokuda opioidlerin etkisinde gözlenen artışın dışında, inflamatuvar uyarıya yanıt olarak salıverilen lokal endojen opioid peptidlerin de kompensatuvar bir mekanizma oluşturabileceği ileri sürülmüştür (43,68,69,70). Bu nedenle, lokal uygulanan mü opioid reseptör agonistlerinin inflamatuvar durumlarda daha fazla etki göstermesi klinikte inflamasyonla ilişkili birçok ağrılı durumda avantaj sağlayabilir (5). Opioidlerin periferik antinoseptif etkisinin değerlendirilmesinde çeşitli inflamasyon modellerinden yararlanılmaktadır, fakat kullanılan ajanlara, ilaçların ve inflamatuvar ajanın uygulanma yoluna ve de inflamasyonun evresine bağlı olarak birbiriyle çelişkili sonuçlar ortaya çıkmaktadır (12,43). Bu çalışmada ise DAMGO'nun periferik antinoseptif etkisini değerlendirmede deneysel bir inflamasyon modeli olarak formalin testi kullanılmıştır. Formalin testinden elde edilen sonuçlar test edilen ajanların ve formalinin konsantrasyonuna oldukça duyarlıdır. Düşük formalin konsantrasyonları submaksimal nouseptif yanıtları ortaya çıkarmakta ve böylece zayıf etkili analjeziklerin etkilerinin belirlenmesini kolaylaştırmaktadır. Birçok çalışmada formalin'in %1-%5 arasındaki konsantrasyonları kullanılmıştır (11,12,29). Sıçanlarda %1 formalin uygulanması durumunda morfinin periferik antinoseptif etkisinin

saptanabildiği, fakat %5 formalinle ise morfinin yeterli düzeyde etki yapamadığı bildirilmiştir (29). Ayrıca, %5 gibi yüksek formalin konsantrasyonları ile bir siklooksijenaz inhibitörü olan zomepirak'ın herhangi bir etki oluşturmadığı saptanmıştır. Yüksek formalin konsantrasyonlarında indüklenen nosiseptif uyarı temel olarak doku hasarına bağlı olabilir ve uygulanan anti-inflamatuvar ilaçlara yanıt vermeyebilir (71). Bu nedenle, çalışmamızda kullanılan formalinin konsantrasyonu %1 olacak şekilde düşük tutulmuştur.

Opioidlerin etkisinin sadece periferik olarak ortaya çıktığını göstermek için çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Bu çalışmada, formalin uygulanmayan karşı pençeye 1 mikrogram dozda DAMGO enjeksiyonunun antinosiseptif bir etki oluşturmadığı bulunmuştur. Bu sonuç, DAMGO'nun oluşturduğu antinosiseptif etkinin periferik mü opioid reseptörleri aracılığıyla ortaya çıktığını ve etkide santral bir komponentin olmadığını göstermektedir. Ayrıca, çalışmamızda kullanılan ve daha çok analjeziklerin santral etkilerini değerlendirmeye yarayan bir test olan hot-plate testinde de DAMGO'nun uygulanan dozda antinosiseptif etki oluşturmaması da 1 mikrogram DAMGO'nun periferik etki gösterdiği sonucunu desteklemektedir.

Daha önceki çalışmalarda, 1 mikrogram DAMGO'nun intraplantar enjeksiyonunun %1 formalin ile oluşan erken faz yanıtlarını etkilemediği, fakat geç faz yanıtlarını belirgin olarak azalttığı bildirilmiştir (5,63). Bu çalışmanın sonuçları da, 1 mikrogram dozda pençe içine uygulanan DAMGO'nun formalinle oluşan nosiseptif yanıtları faz IIa ve faz IIb evresinde inhibe ederken, DAMGO taşıyıcısının ise yanıtları etkilemediğini göstermiştir.

Periferik etkili bir opioid reseptör antagonisti olan nalokson'un 1,2 mg/kg dozda sistemik olarak enjeksiyonunun DAMGO ile oluşan antinosiseptif etkiyi tamamen ortadan kaldırdığı bildirilmiştir (63). Diğer bir çalışmada da, bir opioid reseptör antagonisti olan quadazosin'in lokal olarak etkili olduğu dozlarında DAMGO'nun periferik antinosiseptif etkisini antagonize ettiği gösterilmiştir (5). Bu sonuçlar çalışmamızda uygulanan dozda (1 mikrogram) DAMGO'nun antinosiseptif etkisinin opioid reseptörler aracılı olduğunu göstermektedir. Benzer şekilde, lokal olarak uygulanan opioid agonistlerinin, inflamasyonlu dokuda oluşturdukları belirgin antinosiseptif etkinin periferik opioid reseptörleriyle etkileşerek ortaya çıktığını bildiren birçok yayın bulunmaktadır (5,35,42,68). Bu nedenle, bu çalışmada opioid reseptör antagonistlerinin kullanılmasına gerek görülmemiştir.

Morfin ve benzeri birçok opioid agonistin periferik antinosiseptif etkisinde L-Arginin/NO/sGMP yolağının rolünü gösteren çalışmalar bulunmaktadır (29, 30). Çalışmamızda da kontrol hayvanlarına pençe içine uygulanan 1 mikrogram DAMGO'nun antinosiseptif etkisinin bir NOS inhibitörü L-NIO veya solubl guanilat siklaz inhibitörü MM ile geriye çevrildiği bulunmuştur. MM veya L-NIO'nun taşıyıcısı ise antinosiseptif yanıtları etkilememiştir. Bu sonuçlar, DAMGO'nun oluşturduğu periferik antinosiseptif etkinin L-Arginin/NO/sGMP yolağı aracılığıyla ortaya çıktığını göstermektedir. Daha önceki çalışmalarda, mü opioid reseptör agonistlerinin ve NO donörlerinin sGMP'yi arttırarak ATP duyarlı K^+ kanallarını aktive ettiği ve bunun nöronlarda hiperpolarizasyona neden olarak antinosisepsiyon oluşturduğu bildirilmiştir (9,34,35,37,38). Bu

çalışmada da bir NO donörü SIN-1'in pençe içine uygulanmasının DAMGO'nun antinosiseptif etkisini arttırdığı, fakat SIN-1 taşıyıcısının ise etkisiz olduğu bulunmuştur. Bu etkinin primer duyuşal afferentlerdeki K⁺ kanallarının (özellikle de ATP duyarlı K⁺ kanal tipinin) açılmasına bağılı olabileceğı düşünölmüştür.

Bu çalışmada, diabetik sıçanlarda pençe içine lokal olarak uygulanan DAMGO'nun kontrollerle karşılaştırıldığında daha az antinosiseptif etki oluşturduğu bulunmuştur. Bu sonuç diabetik hayvanlarda mü opioid reseptör agonistlerinin antinosiseptif etki gücünün azaldığıının bildirildiğı önceki çalışmalarla uyumludur (14,46,47,50,52,55). Diabetik hayvanlarda opioid reseptör agonistlerinin antinosiseptif etkinliğindeki azalma çeşitli faktörlerle açıklanmaya çalışılmıştır. Bu faktörler arasında diabetik hayvanlarda glukoz ve insülin düzeylerindeki değışiklikler, protein kinaz C aktivitesinin artması, endojen opioid peptid sistem aktivitesinde zayıflama, hücre içi kalsiyum miktarındaki artış ve ATP duyarlı K⁺ kanallarının aktivitesinde azalma sayılabilir (14,28,49,50,52,56,58). Çalışmamızda ise diabetik hayvanların pençesine L-NIO veya MM uygulanmasının DAMGO'nun antinosiseptif etkisinde azalmaya neden olduğu bulunmuştur. Bir NO donorü olan SIN-1'in diabetik hayvanlarda pençe içine uygulanmasının DAMGO'nun antinosiseptif etkisini arttırmaması, diabette DAMGO'nun antinosiseptif etkisindeki azalmanın büyük kısmından solubl guanilat siklaz enzimi sonrasındaki mekanizmaların ve büyük olasılıkla da ATP duyarlı K⁺ kanallarındaki fonksiyon bozukluğunun sorumlu olabileceğı kanısına varıldı.

Sonuç olarak, spesifik mü agonisti DAMGO'nun i.pl uygulanmasının L-Arginin/NO/sGMP yolağı aracılığıyla periferel nosisepsiyona neden olduğı ve diabetik sıçanlarda i.pl olarak uygulanan DAMGO'nun periferel antinosiseptif etkisinin belirgin olarak azaldığı saptanmıştır. Diabetik sıçanlarda i.pl L-NIO veya MM verilmesinin DAMGO'nun antinosiseptif etkisini geriye çevirmesi ve bir NO donörü olan SIN-1'in i.pl uygulanmasının DAMGO'nun etkisini belirgin şekilde değıştirmemesi nedeniyle, diabette DAMGO'nun antinosiseptif etkisindeki azalmanın büyük kısmından L-Arginin/NO/sGMP yolağında solubl guanilat siklaz enzimi sonrası olayların ve olasılıkla da ATP duyarlı K⁺ kanallarındaki fonksiyon bozukluğunun sorumlu olabileceğı kanısına varılmıştır.

SONUÇLAR

6 haftalık streptozotosin diabetik sıçanlarda intraplantar uygulanan DAMGO'nun oluşturduğu antinosiseptif yanıtlarda diabete bağlı değişikliğin olup olmadığının ve eğer varsa bunun mekanizmasının incelenmesi amacıyla yaptığımız bu araştırmada;

1) Diabetik sıçanların vücut ağırlıklarında kontrol sıçanlarına göre anlamlı bir düşme ve kan glukoz düzeylerinde ise anlamlı bir yükselme olduğu saptandı.

2) Kontrol sıçanlarda DAMGO'nun formalin testinde anlamlı bir antinosiseptif etki oluştururken, hot-plate testinde etkisiz bulunması, bu etkinin periferik olduğunu gösterdi. Benzer şekilde, formalin verilen pençenin karşısındaki pençeye lokal olarak uygulanan DAMGO'nun da herhangi bir antinosiseptif etki oluşturmadığının saptanması bu bulguyu destekledi.

3) Diabetik sıçanlarda DAMGO'nun periferik antinosiseptif etkisinde kontrollere göre anlamlı bir azalma olduğu saptandı.

4) Kontrol sıçanlarda DAMGO ile beraber L-NIO veya MM uygulanması DAMGO'nun antinosiseptif etkisini anlamlı olarak

azalttı. DAMGO ile beraber SIN-1 verilmesi ise periferel antinosisepsiyonu güçlendirdi.

5) Diabetik sıçanlarda DAMGO ile beraber L-NIO, MM uygulanması DAMGO'nun antinosiseptif etkisini azaltırken, SIN-1 uygulanması DAMGO'nun antinosiseptif etkisinde anlamlı bir değişiklik oluşturmadı.

Böylece, kontrol sıçanlarda i.pl uygulanan DAMGO'nun L-Arginin/NO/sGMP yolağını aktive ederek periferel antinosisepsiyona neden olduğu, diabetik sıçanlarda DAMGO'nun bu etkisinin azaldığı ve bu azalmadan büyük bir olasılıkla L-Arginin/NO/sGMP yolağında solubl guanilat siklaz sonrası olayların sorumlu olabileceği sonucuna varıldı.

ÖZET

Kontrol ve streptozotosin diabetik sıçanlarda intraplantar DAMGO uygulamasıyla oluşan periferel antinosiseptif yanıtlar incelendi. Değerlendirmede sıçanların sağ arka pençesine %1 formalin enjeksiyonu yapılarak formalin testi ve ayrıca hot-plate testi kullanıldı. 1 mikrogram i.pl uygulanan DAMGO'nun kontrol hayvanlarında formalin testinde anlamlı bir periferel antinosiseptif etki oluşturduğu saptandı. Hot-plate testinde ise anlamlı bir antinosiseptif etki gözlenmedi. Kontrol hayvanlarına DAMGO ile beraber L-NIO veya MM uygulanmasının antinosisepsiyonu zayıflatması ve SIN-1'in ise DAMGO'nun etkisini arttırması nedeniyle DAMGO'nun periferel antinosiseptif etkisinde L-Arginin/NO/sGMP yolağının aktivasyonunun rolü olabileceği düşünöldü. Diabetik hayvanlarda ise DAMGO'nun antinosiseptif etkisinin kontrollere göre belirgin olarak daha az olduğu saptandı. Diabetik hayvanlara DAMGO ile beraber L-NIO veya MM uygulanmasının antinosisepsiyonu zayıflatması ve SIN-1'in ise DAMGO'nun etkisini anlamlı olarak değıştirmemesi nedeniyle diabetik hayvanlarda DAMGO'nun antinosiseptif etkisindeki azalmadan L-Arginin/NO/sGMP yolağında solubl guanilat siklaz enzimi sonrası olaylarda bir bozukluğun sorumlu olabileceğı kanısına varıldı.

KAYNAKLAR

- 1) Kayaalp SO.: Opioid Analjezikler. Rasyonel tedavi yönünden Tıbbi Farmakoloji, Hacettepe-Taş Kitapçılık, 8.baskı, cilt 2: 981-986, 1998
- 2) Loeser JD., Melzack R.: Pain: an overview. *Lancet*, 353: 1607-1609, 1999
- 3) Chapman CR., Gavin J.: Suffering: the contributions of persistent pain. *Lancet*, 353: 2233-2237, 1999
- 4) Carr DB., Goudas LC.: Acute pain. *Lancet*, 353: 2051-2058, 1999
- 5) Ko M., Butelman ER., Woods JH.: The role of peripheral Mu opioid receptors in the modulation of capsaicin-induced thermal nociception in rhesus monkeys. *J Pharmacol Exp Ther*, 286:150-156, 1998
- 6) Uyar M.: Çocuklarda ağrı tedavisi. *Ağrı*, 11(4): 27-30, 1999
- 7) Ferreira SH., Duarte IDG., 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
- 8) 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
- 9) 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
- 10) Abacıoğlu N., Tunçtan B., Akbulut E., et al.: Participation of the components of L- arginine/nitric oxide/cGMP cascade by chemically-induced abdominal constriction in the mouse. *Life Sciences*, 67:1127-1137, 2000
- 11) Nozaki-Taguchi N., Yamamoto T.: The interaction of FK409, a novel nitric oxide releaser, and peripherally administered morphine during experimental inflammation. *Anesth Analg*, 86: 367-373, 1998
- 12) Nozaki-Taguchi N., Yamamoto T.: Involvement of nitric oxide in peripheral antinociception mediated by κ -and δ -opioid receptors. *Anesth Analg*, 87:388-393, 1998
- 13) Sidibe EH.: Principal complications of diabetes mellitus in Africa. *Ann Med Interne*, 151(8): 624-628, 2000
- 14) Kamei J., Kawashima N., Narita M., et al: Reduction in ATP-sensitive potassium channel-mediated antinociception in diabetic mice. *Psychopharmacology*, 113: 318-321, 1994
- 15) Kamei J., Ohsawa M., Sodeyama M., et al.: Intraventricular insulin reduces the antinociceptive effect of [D-Ala², NMePhe⁴, Gly-ol⁵]enkephalin in mice. *Eur J Pharmacol*, 345: 171-174, 1998

- 16) Forman LJ., Estilow S., Lewis M., et al.: Streptozocin diabetes alters immunoreactive β -Endorphin levels and pain perception alter 8 wk in female rats. *Diabetes*, 35:1309-1313, 1986
- 17) Tüzüner F.: Akut ağrı mekanizmaları. *Ağrı*, 11(4): 39-45, 1999
- 18) Dere F.: MSS'nin temel yapısal ve fonksiyonel organizasyonu. *Nöroanatomi, Fonksiyonel nöroloji atlası ve ders kitabı*, Adana kitabevi, 3. baskı, cilt 3: 191-193, 1999
- 19) Sorkin LS., Wallace MS.: Acute pain mechanisms. *Surgical Clinics of North America*, 79(2): 213-217, 1999
- 20) Millan MJ.: The induction of pain: an integrative review. *Progress in Neurobiology*, 57: 1-164, 1999
- 21) Aladağ MA., Türköz Y., Özerol İH.: Nitrik oksit ve nörofizyopatolojik etkileri. *T Klin J Med Sci*, 20: 107-111, 2000
- 22) Mizutani T., Layon AJ.: Clinical applications of nitric oxide. *Chest*, 110: 506-524, 1996
- 23) Kawabata A., Manabe S., Manabe Y., et al.: 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
- 24) Abacıoğlu N., Özmen R., Çakıcı İ., et al.: Role of L-Arginine / nitric oxide pathway in the antinociceptive activities of morphine and mepyramine in mice. *Arzneim.-Forsch./Drug Res*, 51(II): 977-983, 2001
- 25) Xu JY., Tseng LF.: Increase of nitric oxide by L-arginine potentiates β -endorphin-but not μ , δ - or κ -opioid agonist-induced

- antinociception in the mouse. *Eur J Pharmacol*, 236: 137-142, 1993
- 26) Takeshita N., Yamaguchi I.: Antinociceptive effects of morphine were different between experimental and genetic diabetes. *Pharmacol Biochem Behav*, 60(4): 889-897, 1998
- 27) Taguchi NN., Yamamoto T.: The interaction of FK409, a novel nitric oxide releaser, and peripherally administered morphine during experimental inflammation. *Anesth Analg*, 86: 367-73, 1998
- 28) Ohsawa M., Nagase H., Kamei J.: Role of intracellular calcium in modification of Mu and delta opioid receptor-mediated antinociception by diabetes in mice. *J Pharmacol Exp Ther*, 286(2): 780-787, 1998
- 29) Granados-Soto V., Rufino MO., Lopes LDG., et al.: 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
- 30) Abacıoğlu N., Demir S., Çakıcı İ., et al.: Role of guanylyl cyclase activation via thiamine in suppressing chemically-induced writhing in mouse. *Arzneim.-Forsch./Drug Res*, 50(I),6: 554-558, 2000
- 31) Jain NK., Patil CS., Singh A., et al.: Sildenafil-induced peripheral analgesia and activation of the nitric oxide-cyclic GMP pathway. *Brain Res*, 909(1-2): 170-178, 2001
- 32) 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*, 42: 87-92, 1999
- 33) Lazaro-Ibanez GG., Torres-Lopez EJ., Granados-Soto V.: Participation of the nitric oxide-cyclic GMP-ATP-sensitive K(+) channel pathway in the antinociceptive action of ketorolac. *Eur J Pharmacol*, 426(1-2): 39-44, 2001
- 34) Soares AC., Duarte IDG.: Dibutyl-cyclic GMP induces peripheral antinociception via activation of ATP-sensitive K⁺ channels in the rat PGE₂-induced hyperalgesic paw. *Br J Pharmacol*, 134:127-131, 2001
- 35) 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
- 36) Stein C., Millan MJ., Shippenberg TS., et al.: Peripheral opioid receptors mediating antinociception in inflammation. Evidence for involvement of mu, delta and kappa receptors *J Pharmacol Exp Ther*, 248(3): 1269-1275, 1989
- 37) Yonehara N., Takiuchi S.: Involvement of calcium-activated potassium channels in the inhibitory prejunctional effect of morphine on peripheral sensory nerves. *Regulatory Peptides*, 68: 147-153, 1997
- 38) Ocana M., Del Pozo E., Barrios M., et al.: An ATP-dependent potassium channel blocker antagonizes morphine analgesia. *Eur J Pharmacol*, 186: 377-378, 1990
- 39) Dökmeçi İ.: Nöropeptidler, agonistler ve antagonistler. *Farmakoloji Temel Kavramlar*, Nobel Tıp Kitabevi, 357-360, 2000

- 40) Szabo G., Macsai M., Kicsi EG., et al.: Long-lasting antinociceptive effect of DAMGO chloromethyl ketone in rats. *Peptides*, 20: 1321-1326, 1999
- 41) Reisine T., Pasternak G.: Opioid analgesics and antagonists. *Goodman&Gilman's The Pharmacological Basis of therapeutics*, 9.baskı, 522-525, 1996
- 42) Levine JD., Taiwo YO.: Involvement of the mu-opiate receptor in peripheral analgesia. *Neuroscience*, 32(3): 571-575, 1989
- 43) Stein C.: Peripheral mechanisms of opioid analgesia. *Anesth Analg*, 76: 182-191, 1993
- 44) Szeto HH., Lovelace JL., Fridland G., et al: In vivo pharmacokinetics of selective μ -opioid peptide agonists. *J Pharmacol Exp Ther*, 298(1): 57-61, 2001
- 45) Chan NN., Vallance P., Colhoun HM.: Nitric oxide and vascular responses in type I diabetes. *Diabetologia*, 43(2):137-147, 2000
- 46) Ohsawa M., Mizoguchi H., Narita M., et al.: Effects of μ -opioid receptor agonist on G-protein activation in streptozotocin-induced diabetic mice. *Eur J Pharmacol*, 401:55-58, 2000
- 47) Kamei J., Ohhashi Y., Aoki T., et al.: Streptozotocin-induced diabetes selectively alters the potency of analgesia produced by mu-opioid agonists, but not by delta-and kappa-opioid agonists. *Brain Res*, 571(2): 199-203, 1992

- 48) Mahajan AS., Chakrabarty K., Mishra TK.: Nociception, antinociceptive potency of morphine in streptozotocin induced diabetic rats. *Indian J Physiol Pharmacol*, 41(4): 416-420, 1997
- 49) Akunne HC., Soliman KF.: The role of opioid receptors in diabetes and hyperglycemia-induced changes in pain threshold in the rat. *Psychopharmacology(Berl)*, 93(2): 167-172, 1987
- 50) Raz I., Hasdai D., Seltzer Z., et al.: Effect of hyperglycemia on pain perception and on efficacy of morphine analgesia in rats. *Diabetes*, 37(9): 1253-1259, 1988
- 51) Tandon M., Srivastava RK., Nagpal RK., et al.: Differential modulation of nociceptive responses to mu and kappa opioid receptor directed drugs by blood glucose in experimentally induced diabetes rats. *Indian J Exp Biol*, 38(3): 242-248, 2000
- 52) Ohsawa M., Kamei J.: Possible involvement of protein kinase C in the attenuation of [D-Ala², N-MePhe⁴, Gly-ol⁵]enkephalin-induced antinociception in diabetic mice. *Eur J Pharmacol*, 339: 27-31, 1997
- 53) Ohsawa M., Mizoguchi H., Narita M., et al.: Effects of a mu-opioid receptor agonist on G-protein activation in streptozotocin-induced diabetic mice. *Eur J Pharmacol*, 401(1): 55-58, 2000
- 54) Takeshita N., Yamaguchi I.: Insulin attenuates formalin-induced nociceptive response in mice through a mechanism that is deranged by diabetes mellitus. *J Pharmacol Exp Ther*, 281(1): 315-321, 1997
- 55) Kamei J., Misava M., Suzuki T.: Antinociceptive effect of dihydroetorphine in diabetic mice. *Eur J Pharmacol*, 275(1): 109-113, 1995

- 56) Ginavi OT.: Morphine analgesia in normal and alloxanized mice. *Arch Int Pharmacodyn Ther*, 318: 13-20, 1992
- 57) Kamei J., Kawashima N., Kasuya Y.: Serum glucose level-dependent and independent modulation of mu-opioid agonist-mediated analgesia in diabetic mice. *Life Sci*, 52(1): 53-60, 1993
- 58) Ohsawa M., Tanaka S., Kamei J.: Possible mechanisms for insulin-induced attenuation of the antinociceptive effect of [D-Ala², N-MePhe⁴, Gly-ol⁵] enkephalin. *Eur J Pharmacol*, 373:181-186, 1999
- 59) Rani MA., Chandran U., Andrade C., et al.: Felodipine potentiates morphine analgesia in control and streptozotocin diabetic female rats. *Indian J Exp Biol*, 34(7): 663-666, 1996
- 60) Vinik AI.: Diabetic neuropathy: pathogenesis and therapy. *Am J Med*, 107(2B): 17S-26S, 1999
- 61) Courteix C., Bourget P., Caussade F., et al.: Is the reduced efficacy of morphine in diabetic rats caused by alterations of opiate receptors or of morphine pharmacokinetics. *J Pharmacol Exp Ther*, 285(1):63-70, 1998
- 62) Sasaki T., Yasuda H., Maeda K., et al.: Hyperalgesia and decreased neuronal nitric oxide synthase in diabetic rats. *Neuroreport*, 9(2): 243-247, 1998
- 63) Malmberg AB., Yaksh TL.: Antinociceptive actions of spinal nonsteroidal anti-inflammatory agents on the formalin test in the rat. *J Pharmacol Exp Ther*, 263(1): 136-146, 1992
- 64) Hong Y., Abbot FV.: Peripheral opioid modulation of pain and inflammation in the formalin test. *Eur J Pharmacol*, 277: 21-28, 1995

- 65) Saddi G., Abbott FV.: The formalin test in the mouse: a parametric analysis of scoring properties. *Pain*, 89: 53-63, 2000
- 66) Cicero TJ., Nock B., Meyer ER.: Sex-related differences in morphine's antinociceptive activity: relationship to serum and brain morphine concentrations. *J Pharmacol Exp Ther*, 282(2): 939-944, 1997
- 67) Austrup ML., Korean G.: Analgesic agents for the postoperative period. *Surgical Clinics of North America*, 79(2): 253-271, 1999
- 68) Dehaven-Hudkins DL., Burgos LC., Cassel JA., et al: Loperamide (ADL 2-1294), an opioid antihyperalgesic agent with peripheral selectivity. *J Pharmacol Exp Ther*, 289: 494-502, 1999
- 69) Herz A.: Role of immune processes in peripheral opioid analgesia. *Adv Exp Med Biol*, 373: 193-199, 1995
- 70) Czlonkowski A., Stein C., Herz A.: Peripheral mechanisms of opioid antinociception in inflammation: involvement of cytokines. *Eur J Pharmacol*, 242(3): 229-35, 1993
- 71) Rosland JH., Tjolsen A., Maehle B., et al.: The formalin test in mice: effect of formalin concentration. *Pain*, 42: 235-242, 1990

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
REKTÖRLÜĞÜ KÜTÜPHANESİ