

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**FARELERDE AĞRI OLUŞUMUNDA
NİTRİK OKSİD'İN ROLÜ**

79954

Ecz. Nergis CAN KARABAYIR

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

79954

Kocaeli Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
Farmakoloji Programı İçin Öngördüğü
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

KOCAELİ
1999

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARELERDE AĞRI OLUŞUMUNDA NİTRİK OKSİD'İN ROLÜ

Ecz. Nergis CAN KARABAYIR

Kocaeli Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin

Farmakoloji Programı İçin Öngördüğü

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Olarak Hazırlanmıştır

Danışman: Prof. Dr. Nejat GACAR

Bu çalışma KOÜ. Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir. (Proje No: 1998/36)

KOCAELİ

1999

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

İşbu çalışma, Jürimiz tarafından Farmakoloji Anabilim Dalı'nda BİLİM UZMANLIĞI (YÜKSEK LİSANS) TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN
Prof.Dr.M.Nejat GACAR



İMZA

ÜYE
Prof.Dr.Güner ULAK



İMZA

ÜYE
Doç.Dr.Tijen UTKAN



İMZA

ÜYE
Doç.Dr.B.Faruk ERDEN



İMZA

ÜYE
Doç.Dr.Aydın ÖZBEK



İMZA

ONAY

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylım.

...../...../



Prof.Dr.M.Nejat GACAR
Müdür

ÖZET

Farelerde Ağrı oluşumunda Nitrik Oksid'in Rolü

Santral sinir sisteminde yeni bir haberci molekül olarak gösterilen nitrik oksid fizyolojik ve patolojik olaylarda önemli roller oynamaktadır. NO'in biyolojik rolünün araştırıldığı çalışmalarda çoğunlukla, NO serbestleyen ya da NOS enzim aktivitesini baskılayan maddeler kullanılmaktadır. "Ağrıda Nitrik Oksid'in rolünün araştırılması" amacıyla, bu çalışmada NOS enzim inhibitörü olan 7-Nitro indazol ve Agmatin kullanılmıştır.

7 NI ve Agmatinin farelerde ağrı üzerine olan etkisi, Writhing ve Hot-plate testleri kullanılarak araştırılmıştır. Farelere 20-60 mg/kg doz aralığında i.p. yoldan 7-NI ve Agmatin uygulandığında, 7-NI'ün antinosiseptif etki gösterdiği gözlemlenirken Agmatin'in böyle bir etkisine rastlanmamıştır.

7 NI'ün antinosiseptif etki mekanizması, NOS enzimini inhibe etmesine bağlı olabilir.

Anahtar Kelimeler: Nosiseptif, Nitrik oksid, 7 Nitro indazol, Agmatin, Writhing test, Hot plate test, Fare.

ABSTRACT

The Role of Nitric Oxide in the Production of Nociceptive at Mice

Nitric Oxide (NO), indicated as a new messenger molecule in the central nervous system (CNS) plays an important role in physiological and pathological phenomena. In researches where the biological role of NO is investigated, agents that NO released or NOS enzyme inhibitors are generally used. In this study 7-Nitro indazole which is one of the NOS inhibitor has been used for the purpose of investigating the role of Nitric Oxide in nociceptive.

The antinociceptive effect of 7-Nitro indazole on mouse has been investigated through Writhing and Hot-plate test. Following the administration of 20-60 mg/kg doses of 7-NI i.p. to mouse it has been determined that doses dependant 7-NI displayed antinociceptive effect.

The mechanism of 7 NI induced antinociceptive action seems to be related to its inhibitory effect on endogenous NO production.

Key Words: Nociceptive, Nitric Oxide, 7-Nitro indazole, Agmatin, Writhing test, Hot plate test, Mouse.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. Ağrı	1
1.1.1. Başlama Süresine Göre Ağrı Sınıflandırılması	1
1.1.2. Mekanizmalarına Göre Ağrı Sınıflandırılması	2
1.1.3. Kaynaklandığı Bölgeye Göre Ağrı Sınıflandırılması	3
1.2. Ağrının Periferik Yolları ve Ağrı Uyarılarının Yayılması	3
1.2.1. Omurilik Dorsal Boynuz Nörönel Sistemi	5
1.2.2. Ağrının Çıkıcı (Asendan) Yolları	8
1.2.3. Serebral Korteks ve Ağrı	9
1.2.4. Antinosiseptif İnici (Desendan) Kontroller	10
1.3. Ağrı Fizyolojisi	11
1.4. Nitrik Oksid	12
1.4.1. Nitrik Oksid Sentazlar	13
1.4.2. Nitrik Oksid Metabolizması	14
1.4.3. Nitrik Oksidin Etkileri	15
1.5. 7-Nitro İndazol	20
1.6. Agmatin	22
2. AMAÇ VE KAPSAM	24
3. GEREÇ VE YÖNTEM	25
3.1. Deneylede Kullanılan İlaçlar ve Kimyasal Maddeler	25
3.2. Writhing Test ile Analjezinin Test Edilmesi	25
3.3. Hot Plate ile Analjezinin Test Edilmesi	27
3.4. İstatiksel Değerlendirme	28

4. BULGULAR	29
4.1. Writhing Test	29
4.2. Hot Plate	31
5. TARTIŞMA	33
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	36
KAYNAKLAR DİZİNİ	37
ÖZGEÇMİŞ	42



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

SSS	: Santral Sinir Sistemi
NA	: Noradrenalin
5-HT	: Serotonin
DA	: Dopamin
Ach	: Asetilkolin
GABA	: Gama-amino butirik asit
BZ	: Benzodiazepin
MAOI	: Mono amin oksidaz inhibitörleri
EDRF	: Endotel kaynaklı gevşetici faktör
NO	: Nitrik oksit
nNOS	: Nöronal nitrik oksit sentaz
eNOS	: Endotelyal nitrik oksit sentaz
iNOS	: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
7-NI	: 7-Nitro indazol
L-NAME	: Arginin- nitro-l-metil ester
L-NOARG	: -nitro-L-arginin
L-NMMA	: -monometil-L-arginin
L-NNA	: amino-L-Arginin
MAP	: Ortalama kan basıncı
GS	: Guanilat siklaz
çGS	: Çözünmüş guanilat siklaz
NANK	: Nonadrenerjik-nonkolinerjik
NMDA	: N-Metil-D-Aspartat
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
İCV	: İntraserebroventriküler
İP	: İntraperitoneal
SF	: Serum fizyolojik
MC	: Metil selüloz
cAMP	: Siklik adenozin monofosfat

cGMP	: Siklik guanozin monofosfat
VIP	: Vazoaktif intestinal Polipeptid
ATP	: Adenozin tri fosfat
ADP	: Adenozin di fosfat
PAF	: Trombosit aktive edici faktör
VPL	: Ventralis posterior lateralis
CCK	: Kolesistokinin
CGRP	: Kalsitonin geni ile ilişkili peptid
EK	: Enkefalin
SNAP	: S-nitroso-N-asetil-penisilamin
SNP	: Sodyum nitro prussid
DHAP	:2,4-diamino-6-hidroksipirimidin



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1.1. 7-NI, L-Arginin ve D-Arginin, Agmatinin farelerde Writhing testinde kıvrılma sayısı üzerine etkisi. 31

Şekil 4.2.1. 7-NI, L-Arginin ve D-Arginin, Agmatinin Hot-plate testinde farelerin ayağını yalama süresi üzerine etkisi. 33



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.2.1. Doğal endojen algojenik maddelerden bazıları

4



1. GENEL BİLGİLER

1.1. AĞRI

Uluslararası Ağrı Araştırmaları Derneği (IASP) Taksonomi Komitesi tarafından yapılan tanımlamaya göre ‐ağrı, vücudun belli bir bölgesinden kaynaklanan doku harabiyetine bağlı olan ya da olmayan kişinin geçmişteki deneyimleriyle de ilgili, hoş olmayan emosyonel bir durum ve davranış şeklidir.‑ Ağrı ve nosisepsiyon birbirinin tamamen aynı değildir. Nosisepsiyon bedenin bir bölgesinde bir doku harabiyeti olduğunda, bunun nosiseptörlerle alınıp, santral sinir sistemine götürülmesi ve belli bölge ve nöronal yapılarda integre edilerek bu zararlı tehdit durumlarının algılanması ve buna karşı gereken fizyolojik, biyoşimik ve psikolojik önlemlerin harekete geçirilmesidir. Ağrı ise nosisepsiyon içinde bir algılanma olayıdır. Ağrı ve nosisepsiyonun amacı organizmayı erkenden zararlı bir saldırıdan korumak ve ilgili savunma mekanizmalarını ortaya çıkarmaktır (Dökmeci, İ. 1996). Ağrı sadece fiziksel hasarın derecesi ile orantılı değildir. Anksiyete, depresyon, beklentiler ve diğer psikolojik faktörlerden büyük ölçüde etkilenir.

1.1.1. Başlama Süresine Göre Ağrı Sınıflandırılması

Zamana göre ağrı akut (ivegen) ve kronik (süregen) olmak üzere ikiye ayrılır: **1-Akut ağrı:** Ani olarak başlayan, neden olan lezyon ile arasında yer, zaman, şiddet açısından yakın ilişkinin olduğu doku hasarıyla başlayıp, yara iyileşmesi süresince azalan ve kaybolan ağrı tablosudur.

- *Genellikle üç aydan kısa sürer.
- *Ağrı biyolojik bir semptomdur.
- *Kalp atım sayısı, kan basıncı, solunum artabilir.
- *Pupilla dilatasyonu ve terleme olabilir.
- *Kaçış davranışı görülür.

*Ağrıya anksiyete eklenir.

*Tanı kolaydır, tedavi mümkündür.

2-Kronik ağrı: Çoğu kez nosiseptif nitelikte olup, uyarıcı geçtikten sonra kişinin hayat kalitesini değiştiren, psikolojik etkenlerin rolü olan kompleks bir tablodur.

*Ağrı bir hastalıktır.

*Uyku bozukluğu, huzursuzluk, iştahsızlık, konstipasyon olabilir.

*Ağrı davranışı gelişir, depresyon eklenir.

*Tanı komplekstir, tedavisi zordur.

1.1.2. Mekanizmalarına Göre Ağrı Sınıflandırılması:

1-Nosiseptif ağrı: Fiziopatolojik olayların deri, kas, bağ dokusu, iç organlarda yaygın olarak bulunan nosiseptör adı verilen özel ağrı algılayıcılarını uyarmasıyla ortaya çıkar. Somatik veya visseral doku hasarına bağlıdır. Somatik nosiseptif ağrı, sızlama şeklinde bıçak batar gibi zonklama, basınç hissi gibi tarif edilir. İç organlardan kaynaklanan ağrı obstrüksiyona bağlı ise kemirici ve kramp şeklinde, organ kapsülü ve mezenteri etkilemişse sızlama, keskin ve zonklama şeklindedir. Nosiseptif ağrılar opioid ilaçlara ve periferik sinirleri denerve eden girişimlere iyi yanıt verir.

2-Nöropatik ağrı (Nörojenik ağrı): Somatosensoriyal sistemin anormal uyarılmasına bağlı ağrılar için kullanılır. Periferik sinir travması veya metabolik hastalıklar sonucu ortaya çıkar.

3-Deffenterasyon ağrısı: Periferik santral sinir sistemi yaralanmaları sonucunda somatosensoriyal uyarıların iletiminin santral sinir sistemine akışının kesilmesi ile ortaya çıkar.

4-Reaktif ağrı: Motor veya sempatik aferentlerin refleks aktivasyonu sonucu nosiseptörlerin uyarılmasına bağlı olarak ortaya çıkar.

5-Psikosomatik ağrı (psikojenik ağrı): Anksiyete ve depresyon gibi psikişik ve psikososyal sorunların arttığı durumlarda ağrı olarak tanımlanan duygulardır.

1.1.3. Kaynaklandığı Bölgeye Göre Ağrı Sınıflaması.

1-Somatik ağrı: Somatik sinirlerden kaynaklanan ağrı ani başlar, keskindir, iyi lokalize edilir tanısı kolaydır. Sinir köklerinin yayılım bölgesinde veya kramp şeklindedir.

2-Visseral ağrı: Yavaş başlar, künt ve sızlayıcıdır, kolik veya kramp tarzındadır. Başka bölgelerde yansıyan ağrı şeklinde ortaya çıkar. Buna örnek olarak kardiyak ağrının sol kol, diafragmatik ağrının sol omuza yansması verilebilir.

3-Sempatik ağrı: Sempatik sinir sistemi aktivasyonu ile ortaya çıkar. Bu ağrılar yanma şeklindedir (Türkoğlu, M. 1993).

1.2. Ağrının Periferik Yolları ve Ağrı Uyarılarının Yayılması

Miyelinli A-delta ve miyelinsiz C-lifleri nosiseptörlerin ağrıyı iletmede sürekliliğini sağlarlar. Böylece uyarılar medulla spinalise kadar taşınırlar ve beyne ulaşmadan önce önemli ölçüde modifiye olurlar. Cilt, kas ve bazı visseral dokuları innerve eden A- delta ve C- liflerinin çapları ve ileti hızları birbirinden farklıdır (A delta liflerinin çapı 2-5µm, ileti hızı 12-30m/sn; C liflerinin çapı 0.4-1.2 µm, ileti hızı 0.5-2.3m/sn) A-delta liflerinin uçları genellikle uyardıkları tipe göre **termal veya mekanik nosiseptörler** adını alırlar. Nosiseptörlerin aktivasyonu keskin, iğneleyici ve iyi lokalize edilebilen bir ağrı meydana getirir. C-liflerinin uçları olan nosiseptörler ise **polimodal nosiseptör** adını alırlar. Şiddetli mekanik, kimyasal, aşırı sıcak ve soğuk uyarılarla aktive olurlar, dolayısıyla daha donuk, yaygın bir ağrı oluştururlar. A-beta lifleri titreşim, dokunma, basınç duyularını iletirler. Bunlar kalın miyelinli ve iletimin hızlı olduğu lifler olup Pasini ve Meissner korpüskülleri ve Merkel hücrelerinde sonlanırlar. Nosiseptörler mekanik tipte uyarımlarla uyarıldığı gibi “**endojen algojenik maddeler**” denilen biyokimyasal maddelerle de uyarılabilirler ya da nosiseptörlerin duyarlılığını arttıırırlar (Çizelge: 1.2.1).

ÇİZELGE 1.2.1: Doğal algojenik maddelerden bazıları.

Madde	Kaynağı	Sentezi için gerekli enzim	Nosiseptör üzerine etkisi
Potasyum	Hücre yıkımı	----	Aktivasyon
Serotonin	Trombosit	Triptofan Hidroksilaz	“
Bradikinin	Plazma Kininojen	Kallikrein	“
Histamin	Mast hücresi	----	“
Prostaglandin	Hücre yıkımı ve araşidonik asit	Siklooksijenaz	Duyarlılık artışı
Lökotrienler	“	5-Lipoksijenaz	“
Substans-P	Primer aferent sinir ucu	----	“
Substans-K (Nörokinin-A)	“	----	----
Kalsitonin gen ilişkili peptid(CGRP)	“	----	Duyarlılık artışı

Deriye uygulanan uyaran sonucu oluşan periferik nosisepsiyon şöyle gelişir:

1-Mekanik uyaran direkt olarak nosiseptörü eksite eder. Bu muhtemelen çok hızlı bir şekilde A-delta lifleri ile taşınarak ani ve erken ağrı algılanmasını sağlar.

2-Zararlı mekanik uyaran, o bölgedeki dokuların hücre permeabilitesini bozar ve hücre dışına bradikinin yapan maddeler çıkar. Bunların hızlı ve biyoşimik reaksiyonu sonucu bradikinin oluşur. Bradikinin nosiseptörü direkt olarak aktive eder ve çevre damarlarda vazodilatasyon yaratır. Ayrıca hücre zarları üzerine etki yaparak prostaglandinlerin oluşmasına katkıda bulunur.

3-Trombositlerden serotonin atılır. Serotonin direkt olarak nosiseptörü aktive ettiği gibi, prostaglandinlerin salgılanmasına yardımcı olur.

4-Hücre yıkımı ile intrasellüler potasyum iyonlarının dışarı çıkması nosiseptörleri aktive eder.

5-Direkt doku travmasının etkisiyle, veya serotonin ve bradikininin hücre membranlarındaki fosfolipidler üzerine etki yapması sonucu prostoglandinler ve lökotrienler serbest duruma geçerler. Burada anahtar madde araşidonik asittir ve siklooksijenaz enzimi ile siklik endopeksitler; buradan da prostoglandinler oluşur. Prostaglandinler hem nosiseptör duyarlılığını arttırmaları hem de, lokal dolaşımında vazodilatasyonu arttırarak daha fazla algenik madde birikmesine yol açarlar. Akson refleksi mekanizması ile duyarlı hale gelen nosiseptör uçlarından nöropeptidler çevre dokuya salgılanır. Özellikle P maddesi, Nörokinin-A ve CGRP bölgede ödem ve yangı olayının başlamasını tetiklerler. P maddesi mast hücrelerinden histamin serbestleşmesine yol açar.

1.2.1. Omurilik Dorsal Boynuz Nöronal Sistemi

A-delta ve C-lifleri omuriliğe girince hemen ikiye ayrılırlar ve birkaç segment yukarı aşağı seyrederek Lissauer Traktusunun bir kesimini oluştururlar. Bunların akson kollateralleri de dorsal boynuz gri cevherinin marginal zonu (lamina I) ile sustansia gelatinosa (lamina II) da yer alan nöronlarla sinaps yaparlar. Bazı A-

delta liflerinin uzantıları ise daha derine lamina V hücrelerine ulaşır. Ağrı olayının daha iyi anlaşılabilmesi için dorsal boynuzda bulunan nöronları üç grupta incelemek gerekir:

1-Projeksiyon nöronları (santral geçiş hücreleri): Bu nöronlar eksite oldukları zaman meydana gelen sinyal veya impulslar anterolateral aferent sisteme geçer ve ağrı olayı üst merkezlerde algılanır.

2-Lokal eksitatör ara nöronlar: Duyusal informasyonu veya ağrılı sinyalleri projeksiyon nöronuna, diğer internöronlara, spinal reflekslere aracılık eden motor nöronlara nakledeleler.

3-İnhibitör nöronlar : Daha yüksek merkezlere ağrılı informasyonun akışını düzenlemede önemli rol alırlar. Bu ara nöronlar, geniş çaplı liflerle eksite olduklarında, projeksiyon nöronunda inhibisyon meydana getirirler. Böylece dorsal boynuz, periferden gelen ağrının geçişini kontrol eden bir kapı görevi yapar.

Aferent nosiseptif impulslar dorsal gri maddeye girdiğinde şunlar olabilir:

*Bazı aferent lifler internöronlar aracılığıyla motor nöronlarla sinaps yaparak refleks yolla kas spazmı yapar.

*Bir kısmı internöronlar aracılığıyla sempatik nöronlarla sinaps yaparak otonomik refleksojenik etki gösterirler, böylece ağrılı vazodilatasyon ve kan akımında artma meydana gelir.

*Çoğu aferent lif de ikinci sıra nöronlarla sinaps yapıp anterior komissurayı çaprazlayıp omurilik beyaz cevherindeki anterolateral traktuslar yoluyla yukarı çıkarlar.

Projeksiyon nöronlarını da iki grupta inceleyebiliriz: Lamina I de yoğun olarak bulunan ve sadece A-delta ve C lifleri ile eksite olan projeksiyon nöronları nosiseptif spesifiktir. Lamina I ve V de ise ikinci grup projeksiyon nöronu bulunur. Bunlar hem nosiseptörlerden hem de düşük eşikli mekanoreseptörlerden lif eksitasyonu alırlar ve hem ağrılı hem de ağrılı olmayan uyarılara yanıt verdiklerinden **Wide Dynamic Range = WDR nöronları** adını alırlar (Esener, Z. 1991). Substansiagelatinosa P maddesi ve L glutamattan oldukça zengindir (Ertekin, C. 1993).

Ağrı sinyallerini geçirmeye başlıca iki nörotransmitter, dorsal boynuzda görev almaktadır. Glutamat ağrı sinyallerini geçirmeye önemli olan transmitterlerden birisidir. A-delta terminal uçlarından salgılandığı gibi aynı zamanda motor nöronlara sinaps yapan I-A aferentlerinden salgılanan bir aminoasittir. Glutamat dorsal boynuz hücrelerinde milisaniyeler içinde kısa eksitan etkisi LİGANT-GATED Na/K iyonlarını açmasıyla olur. Uzun depolarizasyon etkisi ise glutamatın NMDA reseptörünü kullanmasıyla olur. Bir diğer önemli nörotransmitter ise nropeptidlerdir. C-lifleri eksitasyonu ile meydana gelir ve projeksiyon hücrelerinde çok yavaş ve uzun süreli depolarizasyona neden olurlar. P maddesi, Nörokinin-A, Kolesistokinin (CCK) ve Kalsitonin geni ile ilişkili peptid (CGRP) bu nöropeptidler arasında sayılabilir. P maddesi spinal kordda lamina I ve V hücrelerinin uyarılmasına yol açar bu nedenle P maddesinin inhibe edilmesi güçlü bir analjezik etki oluşturur. VIP, nörotensin, nörofizin, oksitosin, glukagon, somatostatin, vazopressin, anjiotensin, motilin, ve bombesin gibi diğer peptidlerinde substansia gelatinosada bulunduğu saptanmıştır. A-delta ve C lifleriyle periferden (cilt, kas, viser) yayılan impulsların substansia gelatinosada sonlanan sinir uçlarından P maddesi serbestlenmesine neden olduğu hipotezi ortaya atılmıştır. Peptiderjik yolun (P maddesi) de V. yatağın nöronlarının dentrik dallanmasının post sinaptik elementlerini uyarır. Peptiderjik yolun kendisi de medler enkefalinergic internöronlar topluluğunun inhibitör kontrolu altındadır. Aferent A-delta ve C-liflerinin opioid reseptörleri üzerine enkefalin bağlanması P maddesi serbestlenmesine engel olmakta ve bunun sonucu olarak da ağrı mesajlarının yayılması inhibe olmaktadır (Dökmeci, İ. 1996). C liflerindeki nöropeptidler özellikle omuriliğe, ağrı olayını ve devamını bildirirken, periferdeki C-lifi ucundan da salgılanarak periferik dokunun bütünlüğünü korumaya ve savunmaya yönelik olayları tetiklerler.

Omurilikten st merkezlere doğru ağrı uyarılarının yayılmasının segmenter mekanizmalarla modüle ya da inhibe edildiği ne sürülmüştür. Kapı kontrol teorisine göre ince liflerle (A-delta ve C) gelen nosiseptif impuls arka boynuzun substansia gelatinosasındaki (II. ve III. Laminalar) inhibitör nöronun etkisini ortadan kaldırır. Inhibitör internronun doğal aktivitesi V. Laminadaki T hücrelerinin aktivitesini inhibe etmektedir. Nosiseptif uyarılar inhibitör internronun aktivitesini suprese

ederek T hücreleri üzerindeki inhibitör etkiyi kaldırır, kapı açılır ve ağrılı uyarılar üst merkezlere çıkar.

Komşu kalın (A-beta) liflerinden gelen uyarılar ise substansiagelatinosadaki inhibitör ara nöronun inhibe edici etkisini artırır ve kapı kapanır (İnce liflerle gelen nosiseptif uyarılar yukarıya geçemez). Böylece kalın liflerin uyarılmasıyla medulla spinalis seviyesinde ağrı kontrol edilmiş olur. Beyinden gelen desenden uyarılar da kapının açılıp kapanmasını etkiler. Bu segmenter kontrol teorisine göre büyük çaplı liflerin (A- α) uyarılması nosiseptik uyarılara omuriliğin bağlantı nöronlarının yanıtlarını inhibe edebilmektedir. Bu teknikten tedavide de yararlanabilmektedir. Miyelinli A- α lifleri 6-17 μ m çapında ve 30-100 m/sn ileti hızındadırlar. Dokusal uyarılara duyarlı olan dallanmaları periferde (cilt, kas ya da visseral çeper dokuları) bulunmaktadır. Diğer taraftan liflerin çoğu bulbusa kadar uzanıp dorsal kolonu oluştururlar. Klinikte dorsal kolonların uyarılmasıyla ya da transkütan uyarıyla inhibitör etki sağlanmaktadır.

1.2.2. Ağrının Çıkıcı (Asendan) Yolları

Medüller ilk bağlantıları geçtikten sonra, nosiseptif mesajlar ağrının asendan yollarını kullanarak beynin bazı bölgelerine (talamus, hipotalamus limbik sistem, korteks) ulaşmaktadır. Orada mesajın ağrılı karakterlerinin değerlendirilmesi entegrasyonu ve emosyonel değişik belirtilerin şekillenmesi gerçekleşmektedir.

Başlıca üç yol vardır: Bunların projeksiyon nöronları çaprazdır ve anterior komissurada çapraz yaparak omurilik beyaz cevherinin antero-lateral kolonunda yer alır.

1-Spinotalamik yol: I. nöronu arka kök ganglionu, II. nöronu ise medulla spinalisteki Lamina I, V ve VII oluşturur. III nöron talamusun VPL (ventralis posterior lateralis) çekirdeğidir ve Brodman'ın 3-1-2 nolu duyu sahasında sonlanır. Bu lifler ağrılı impulsları en hızlı ileten liflerdir. Talamusun antero lateral çekirdeğine ulaşan liflerin taşıdığı impulslar non spesifik limbik ve kortikal etkilenme meydana getirirler.

2-Spinoretiküler yol: Antero lateral çıkıcı sistem içinde ilerler ve çapraz yapmış dorsal boynuz aksonlarından oluşur. Bulbus ve ponstaki retiküler çekirdek gruplarına uzanır veya kollateraller verir. Bir kısım kollateraller de karşı yarıya geçer ve bilateral inervasyon sağlanır. Spinoretiküler sistem korteksi ve subkortikal yapıları (limbik sistem ve diensafalon) genel bir uyanıklık içinde tutmak ve zararlı uyarana karşı genel bir alarm hali yaratmakla görevlidir.

3-Spinomezensefalik yol: Dorsal boynuz lamina I ve V deki nosiseptif projeksiyon nöronları anterolateral sistem içinde yer alarak yukarıya mezensefalik periaquaduktal gri cevhere dek yükselir burada mezensefalik bağlantılarla sinaps yapar. Bu yolun periaquaduktal bölgeye bağlantı yapması nosisepsiyon bakımından çok önemli görünmektedir. Çünkü burada analjezik etki sağlayan enkefalinerjik nöronlar vardır. Bu bölge hipotalamus, limbik sistem ve korteksle bağlantılıdır. Periaquaduktal gri cevher antinosiseptif mekanizmaların tetiklendiği en önemli bölgelerden birisidir.

Beyin sapı retiküler formasyondaki hücrelerin büyük çoğunluğu nosiseptif uyarıya cevap verir. Bu sistemin sensoriyal fonksiyon kadar nosisepsiyona karşı otonomik ve motor cevapları da içerdiğine inanılır. Ağrının hoş gitmeyen, emosyonel komponenti muhtemelen beyin sapı ve talamusdan limbik yapılara giden bu nöronların difüz projeksiyonlarından kaynaklanır. Ağrı algılanmasında talamus bir entegrasyon işlemi yapar.

1.2.3. Serebral Korteks ve Ağrı

Serebrumda ağrı ile ilgili bölümler; birinci ve ikinci duysal alanlar, frontal lob özellikle 9 ve 12. alanları ve posterior parietal bölgelerle beynin bu bölgelerini birbirine bağlayan asosiyasyon lifleridir. Postsantral girus (birinci duysal alan) özellikle hızlı ağrının temsil edildiği yerdir. Ağrı idrakı komponenti ile ağrı lokalize edilebilir. Batma, zonklama, yanma şeklinde klasifiye edilebilir. Bu bölgenin lezyonlarında bozulma ile birlikte bir hipoaljezi ortaya çıkabilir. Bu kortikal bölgenin ağrının diskriminatif boyutuyla ilgili olduğu söylenebilir. Frontal loblar ve limbik sistem; emosyonel deneyimlerle ilgili hoş olmayan duyu şeklinde algılanır. Temporal lobda ağrı hafızası gelişir hipotalamusda ise ağrıya cevap olan hormonlar salgılanır.

Nosiseptif aferentler hem ağırlı uyarınları talamusa götüren projeksiyon nöronlarıyla hem de eksitatör internöronlarla sinaps yapar. Posterior pariyetel ve frontal bölgeler ağrının sembolizasyonu ile ilgilidir. Örneğın dominant hemisferde posterior pariyetal bölge lezyonunda kişi ağırlı uyarınları algılayabildiğı halde uygun davranış örneğı gösteremez. Buna ağırlı asembolisi denir. Frontal lobun 9. ve 12. alanları ile talamus arasındaki ilişkilerin kesilmesi halinde ağırlı uyarınlara algılanır, ama kişi bunlardan yakınmaz. Kültürel değerler anksiyete, dikkat, telkin ve geğmiş deneyimler ağrı eşiğini ve ağrıya karşı reaksiyonları saptayan etkenlerdir. Ağrı olayında kısmen kortikal mekanizmalarla ortaya çıktığı ve frontal lobun bu işlevlerde rol aldığı düşünölmektedir.

1.2.4. Antinosiseptif İnici (Desendan) Kontroller

Ağrı olayı hem nosiseptif hem de nosiseptif olmayan sinyallerin aktivitesine duyarlı bir olaydır. Özellikle endojen opioid peptidlerin keşi ile ağırlı impulsula karşı spinal ve supraspinal düzeyde enkefalinerjik ve monoaminerjik bir inhibisyon varlığı gösterilmiştir. Bunlar üç grupta incelenebilir:

1- Mezensefalik periaquaduktal gri cevherde yer alan enkefalinerjik (EK) nöronlar serebral korteks ve hipotalamus ile bağlantı içindedirler. Muhtemelen endorfin taşımaktadırlar. Endorfin hipofiz ön lobundan ACTH ile birlikte salgılanır, opiat reseptörlerine bağlanır. Ağrı fizyolojisinde en önemli endorfin beta endorfindir. Enkefalinerjik mezensefalik nöronlar bulbusta nükleus rafe magnus ve nükleus retikülaris gigantoseöllülaris de bulunan serotoninerjik nöronlarla sinaps yaparlar. Böylece diensefalik endorfin ve mezensefalik enkefalin nöronları, bulbustaki serotonin nöronlarını eksite ederler (Ertekin, C. 1993).

2- Pons ve bulbus üzerindeki temel nörotransmitter noradrenalindir (Ertekin, C. 1993). Noradrenalinin intratekal injeksiyonu analjezi oluşturduğundan, spinal kordda bu transmitterin inhibitör rolü olduğı düşünölmektedir (Dökmeci, İ. 1996). Noradrenalin nöronları kısmen diensefalik endorfin nöronları ile ilişkilidir ve dorsal boynuz nosiseptif nöronları üzerine etkileri inhibitördür.

3- Bu analjezi grubunda enkefalinergic nörönler önemli rol oynarlar. Dinorfin taşıyan nörönler bu bölgede yoğundur. Dinorfin hipotalamus, periaquaduktal gri madde, mezensefalik retiküler formasyon, dorsal boynuzda bulunur. İntratekal dinorfin enjeksiyonu derin ve uzun bir analjezi sağlar. Lokal enkefalinergic nörönler hem C lifleri ve hem de delta liflerinden gelen kolleterallerle eksite olur ve böylece hem presinaptik bir mekanizmayla hem de postsinaptik olarak projeksiyon nörönünde inhibisyon meydana getirirler. Spinal enkefalinergic nörönler ayrıca serotonin ve noradrenalin taşıyan inisi inhibitör sistemlerin eksitasyonu ile primer aferent sinapslar üzerinde inhibisyon oluştururlar.

Tüm bu antinoseptif etkiler K⁺ iyonu membran iletkenliğini arttırarak ve hiperpolarizasyon meydana getirerek ortaya çıkar. GABA, somatostatin ve bombesin gibi nöropeptidler de inhibitör etki oluşturur. GABA ve enkefalin kısa süreli; endorfin, enkefalin, somatostatin ise daha uzun süreli inhibisyon meydana getirmektedirler (Ertekin, C. 1993).

1.3. Ağrı Fizyolojisi

Ağrı yapıcı stimulusların ilgili duyuşal sinir uçlarında elektriksel aktiviteye yol açmaları sürecine TRANSDÜKSİYON denir. Transdüksiyondan sonra ikinci adım TRANSMİSYON dur. Üç ana nöronal komponentten sorumludur:

1-İmpulsları transdüksiyon yerinden spinal korda ileten periferik duyuşal sinirler

2-Spinal korddan beyin ve talamusa çıkan nöron dizisi

3-Talamus ile korteks arasındaki resipral bağlantılar

Ağrı transmisyon nöronlarını kontrole yönelik nöronal aktiviteye AĞRI MODÜLASYONU denir. Son süreç PERSEPSİYON ise tam olarak anlaşılammıştır.

1.4. Nitrik Oksid

Science dergisinde 1992 yılında yılın molekülü şeklinde tanımlanan NO, iki atom içeren molekül ağırlığı 30 olan, gaz yapısında , biyolojik membranlardan kolay difüze olan, yarı ömrü 3-50 saniye gibi farklı süreler olarak bildirilen, dayanıksız küçük bir moleküldür (Moncada et al. 1991).

Furchgott ve Zawadski ilk kez 1980 yılında EDRF nin (endotel kaynaklı gevşetici faktör) vasküler tonus üzerine olan etkilerini gösterdiler. Bu araştırmacılar yaptıkları çalışmalarında, intakt perfüze tavşan aorta kesitlerinde, noradrenalin ile oluşturulan vazokonstrüksiyonun asetilkolin verilmesiyle düzeldiğini, fakat endoteli çıkartılmış aortta, vasküler düz kasın gevşemesinin kaybolduğunu gözlemlediler (Furchgott and Zawadski 1980). Asetilkoline bağımlı endotel varlığında damar düz kas gevşemesi, prostosiklin yapımını bloke eden siklooksijenaz inhibitörlerinden etkilenmemekteydi. Bu araştırmacılar EDRF olarak tanımladıkları nonprostonoid-vazodilatör bir maddenin varlığını kanıtladılar. Bu faktör uyarılmamış endotel tarafından bazal durumda salınımının olduğu ve bir çok vazodilatör farmakolojik ve nonfarmakolojik uyarılar tarafından yapımının arttırıldığı gözlemlendi.

NO salınımına neden olan faktörler şunlardır: asetilkolin, histamin, adrenalin, serotonin, vazopressin, bradikinin, prostasiklin, VIP, P maddesi, kalsitonin geni ile ilişkili peptid, insülin, α adrenerjik reseptörler, kalsiyum iyonoforları akıma bağlı sürtünme stresi, pıhtılaşma sırasında oluşan trombin, trombosit agregasyonu esnasında aktive edilen trombositlerin salıverdikleri ATP ve ADP, oksitosin ve PAF.

NO vasküler düz kasta vazodilatasyonu indükleyen ikincil mesajcı olarak rol oynar. Guanilat siklaz enzimine bağlanarak onu aktive eder. Guanilat siklaz enzimi, GTP'den GMP yapımını katalize ederek sarkoplazmik retikulumda Ca-ATPaz için regülatör olan fosfolamban'ı fosforile eder. Ca-ATPaz, intrasellüler Ca konsantrasyonunu azaltır. Sonuçta miyozin hafif zincirlerinin de fosforilasyonuna ve düz kasta gevşemeye neden olur (Radomski et al. 1987-a).

EDRF nin etkisinin cGMP artışını stimüle eden nitrovazodilatörlere benzediği ve EDRF'nin NO olabileceğini göstermişlerdir (İgnarro et al.1988). Daha sonra

Palmer ve arkadaşları da biyosentezin yanısıra özel bir kimyasal tayin yöntemi olan kemilüminesansı kullanarak, NO ve EDRF'nin aynı bileşik olduğunu söylediler (Palmer et.al 1988).

NO birbirinden bağımsız iki monooksijenizasyon reaksiyonu ile L-Arginin aminoasidinden nitrik oksid sentaz (NOS) enzimi aracılığıyla sentezlenir. NOS'lar, NO ve sitrullin yapımı için L-arginin terminal guanidin nitrojenlerinin beş elektronunu, moleküler oksijen kullanarak okside ederler. Burada FAD (Flavin adenin dinükleotid), FMN (Flavin adenin mononükleotid) hem kalmodulin ve BH4 (Tetra hidrobioplerin) kofaktör olarak yer alır. L-Arginin invivo NO sentezi için yaşamsal bir substrattır (Moncado et al. 1991; Knowles and Moncado, 1994).

1.4.1. Nitrik Oksid Sentazlar

NOS'lar invivo L-Arginin'den NO yapımını katalize eder. NOS enziminin NADPH diforaz enzimi ile aynı enzim olduğu bildirilmiş ve NADPH diaforaz boyama tekniğiyle NOS'un dokulardaki dağılımı gösterilmiştir. NOS organizmada üç değişik tipte tanımlanabilir (Hecker et al. 1990; Knowles and Moncada 1992).

1-Nöronal NOS (nNOS): Beyin hücrelerinde, periferik sinir sisteminde, medulla spinaliste ve adrenerjik kolinerjik olmayan sinirlerin sitozollerinde bulunur (Bredt and Synder, 1990). Nöronal hücrenin glutamat gibi agonist bir madde ile uyarılması, hücre içi kalsiyum artmasına ve nNOS enziminin aktivasyonuna neden olur. nNOS ile oluşturulan NO az ve çabuk salınır. Molekül ağırlığı 160 Kda dır. Kalsiyum ve kalmoduline bağımlı olarak çalışır.

2-İndüklenebilen NOS (iNOS): Düz kas hücresinde, hepatositlerde, kondrositlerde endotel hücresinde iNOS saptanmıştır (Charles et al. 1993). iNOS içeren hücrenin sitokin veya endotoksinlerle uyarılması, enzim sentezini indükler ve L-Arginin'den NO ve L- sitrullin oluşur. Sitotoksik ve sitostatik etki gösterir. Molekül ağırlığı 130 Kda dır. Kalsiyum ve kalmoduline bağımlı değildir. Molekül ağırlığı 130 kDAdır.

3-Hücreyel NOS (hNOS): Yapısal olarak nNOS'a benzer. Molekül ağırlığı, 135-155 kDA olan bir izoenzimdir. Endotel hücrelerinde ve trombositlerde bulunur. Kalsiyum ve kalmoduline bağımlı çalışır.

P maddesi, trombin, asetilkolin, bradikinin gibi agonistlerin endotel hücresinde reseptörüne bağlanması ile reseptör uyarılmadan bir takım fiziksel uyarılarla hücre içinde kalsiyum artar ve hNOS 'un aktivasyonuna ve NO sentezine neden olur (Moncada et al. 1991). Damarlarda NO'in sürekli olarak salıverildiği ve dilatatör bir tonus sağlandığı kabul edilir (Palmer et al.1988).

Nitrik oksit hedef hücrede çözünür guanilat siklaz enziminin hem grubuna bağlanarak veya düzenleyici sülfidril gruplarını s-nitrozilleyerek enzimi aktive etmektedir. Çözünür guanilat siklaz, alfa beta alt ünitesi olan heterodimer yapısındadır. NO ile çGS nin aktivasyonu cGMP düzeyinin yükselmesine neden olur .cGMP ise doğrudan cGMP ile uyarılan kanalları, cGMP bağımlı proteinkinazları veya siklik nükleotid fosfodiesterazları etkileyerek, NO etkilerinin oluşmasını sağlar (Furuyama et al.1993).

1.4.2. Nitrik Oksit Metabolizması

NO, endotel hücrelerinden yarı ömrü saniyelerle ölçülebilen bir bileşik olarak salınır. NO'in belirgin bir bölümünün damar düz kaslarına difüze olduğu bir kısmının ise damar içine serbestleştiği düşünülmektedir. Bu NO, lümene yakın trombositlerle etkileşir, diğer taraftan çözünmüş oksijen ve oksijen radikalleri ile reaksiyona girerek, nitrit ve nitratlara dönüşerek inaktive olur.

NO, damar düz kas hücrelerinde ve trombositlerde çözünmüş guanilat siklazı aktive eder. Enzimden ayrılan NO, nitrite dönüşür ve plazmaya oradan da alyuvarlara geçer. Burada nitrit hemoglobin ile reaksiyona girerek, nitrate indirgenir. Kan akımı içinde difüze olan NO'in bir kısmı direkt alyuvarlara geçer ve oksijene-hemoglobin (HbO₂) den gelen oksijen ilavesiyle nitrate dönüşür ve böbrekler yoluyla atılması sağlanır. NO venöz kan içine salındığında non-oksijenize hemoglobin ile birleşerek, nitrozohemoglobin (HbNO) oluşur. Venöz kanın oksijenlemesiyle,

nitrozohemoglobin oksijenle reaksiyona girerek nitrat açığa çıkar (Knowles and Moncada, 1994).

NOS ve çGS enzimleri NO sentezinde önemlidir. Bu enzimleri etkileyen agonist ve antagonist maddelerden; S-nitroso-N-asetil-penisilamin (SNAP), sodyum nitro prussid (SNP), 3-morfolino-sidononimin (SIN1) NO donörleri olarak, L-Arginin deriveleri ise NOS enziminin yarışmalı inhibitörü olarak kullanılmaktadır. NOS enziminin aktivasyonunu engellemenin diğer bir yolu tetrahidrobiopterin sentezini engellemektedir (Gross and Levi, 1992). 2, 4-diamino-6-hidroksipirimidin (DHAP), N-asetil-5-hidroksitriptamin, n-metoksiasetil-5-hidroksitriptamin, tetrahidrobiopterin sentezini engelleyerek, bloke eden maddelerdir (Smith et al. 1992).

Metilen mavisi, NO 'in çGS 'nın hem grubuna bağlanmasını engeller ve çGS enzimini inhibe ederek NO sentezini inhibe etmiş olur (Pearce et al. 1990). Ayrıca metilen mavisi NO yıkımında rol alan süper oksit anyonu oluşumunu sağlayarak da NO yıkımını arttırdığı bilinmektedir (Mayer et al. 1993).

NO etkilerini arttıran nedenler; elektriksel uyarı, kan akımında artış, hipoksi, sitokrom C, L-Arginin fazlalığı.

NO etkilerini azaltan nedenler ise; hiperoksi, pirogallol, demir, hemoglobin, riboflavin, hidrokinon

1.4.3. Nitrik Oksidin Etkileri

Santral sinir sistemi : SSS'nde serebral damar endotel hücreleri, immünolojik olarak uyarılabilen mikroglia ve astrositler, NANK sinirler ve glutamerjik nöronlar olmak üzere dört kaynaktan sağlanan NO hipotalamus, orta beyin, hipokampus, ve kortekste aktivite gösterir (Moncada et al. 1991; Prado et al. 1992).

Normalde inaktif olan NOS, presinaptik veya postsinaptik reseptörlerin uyarılmasıyla aktive olur. Aktivasyon için majör uyarı, kalsiyuma geçirgenliği fazla olan iyon kanalı ile birleşen NMDA reseptörlerinin uyarılmasıdır (Okado 1992). Postsinaptik reseptörlerin serotonin, bradikinin, asetilkolin, noradrenalin gibi

nörotransmitter ve nöromodülatörlerle uyarılması, kalsiyumun hücre içine akımını veya serbestleşmesini sağlar. Artan hücre içi kalsiyumu ise nNOS'ı aktive eder. Sentezlenen NO için hedef madde çözünür guanilat siklazdır. ÇGS'in uyarılması cGMP düzeyinde artışa neden olur. Bu ise cGMP bağımlı protein kinazları aktiflemektedir (Francis and Corbin 1994). Bu olay sadece serebellar purkinje hücrelerinde bulunmaktadır. Retinal bipolar hücrelerde ise, cGMP, cGMP aracılı kanallar ile etki oluşturur.

Nitrik oksit, çGS dışında demir sülfür grubu içeren çeşitli enzimlere de bağlanarak, onların aktivitelerini engeller (Nathan,1992). Fakat bu etkiyi gösterebilmesi için, yüksek yoğunlukta ve ortamda uzun süreli bulunması gerekir. NO'in aktivitesini düzenlediği önemli bir enzim, araşidonik asitten prostoglandin tromboksan ve prostasiklin sentezinde hız kısıtlayıcı siklooksijenaz enzimidir.

NO santral sinir sisteminde çeşitli nörotransmitterlerin salınımını düzenler. Endojen bulunan (Prast & Philippo 1992; Bugnon et al. 1994) veya NMDA reseptörlerinin uyarılmasıyla açığa çıkan NO'in sinaptik aktiviteyi değiştirerek nörotransmitter salınımını düzenlediği ortaya çıkmıştır (Hanbauer et al. 1992). NO'in nörotransmitter salınımına olan etkisi artırma, azaltma veya değiştirmeme şeklinde olabilir (Schuman & Madison 1994; Garthwaite & Bouton 1995). Bu etki presinaptik etkinliğe, NO yoğunluğuna ve beyin bölgesine göre değişir. Nitrik oksit, nörotransmitter salınımını presinaptik yüzde kalsiyumun hücre içine akımını ve sinaptik veziküllerin protein yapısını değiştirerek etkilemektedir (Schuman and Madison, 1994). NMDA reseptörlerinin uyarılması sonucu sentezlenen NO, aynı zamanda NMDA reseptörlerini negatif yönde etkileyerek, NMDA reseptörleri için “negatif feed back” mekanizması oluşturur (Manzoni and Bockaert 1993).

Nitrik oksit, SSS'de serebrovasküler tonusun düzenlenmesi ve ani vazodilatör yanıt oluşumunda rol almaktadır (Faraci and Brian ,1994).

Öğrenme ve hafızanın olası mekanizmalarından biri olan sinaptik plastisite, gereğinde sinaptik bağlantının şeklinin ve uzunluğunun değiştirilebilmesidir (Chapman et al 1992). Nitrik oksit, sinaptik plastisitenin iki modeli olan uzun süreli potansiyalizasyon (LTP)'nun hipokampusta, uzun süreli depresyon (LTD)'un serebellumda oluşmasında rol alır (Rosenbahum, 1992).

Ağrı duyumsanmasında ise NO, SSS' de ve medulla spinaliste görev alır (Babbedge et al. 1993-b; Moore et al .1993-b). Lumbal arka kökteki NMDA reseptörlerinin uyarılması ile termal hiperaljezi ve ağrı oluştuğu bildirilmiştir (Meller et al.1992). Nitrik oksitin oluşumunun engellenmesi veya çGS' in inaktivasyonu ile analjezik etki sağlandığı öne sürülmüştür (Babbedge et al. 1993-b; Moore et al.1993).

Nonadrenerjik-Nonkolinerjik İleti :NO'da olduğu gibi, nonadrenerjik-nonkolinerjik sinirlerin de çGS'ı uyarması, bazı dokularda L-Arginin analogları ile NANK iletinin bloke olması ve en önemlisi NOS enziminin bu otonomik sinirlerde gösterilmesi NO'in NANK sinirlerde nörotransmitter olarak görev yaptığını düşündürmüştür (Bredt et al. 1990; Nichols et al. 1992). Ancak henüz bu sinirlerin uyarılması ile salınan NO veya yıkım ürünleri olan nitrit ve nitratlar biyokimyasal olarak ölçülememiştir (Wiklund et al. 1993). NANK sinirler motor sinirlerdir ve NO, ATP, VIP, GABA, kolesistokinin, P maddesi, nörokinin A ve B, nöro peptid Y, enkefalinler, somatostatin bu sistemde etkili haberci moleküllerdir.

Adrenerjik ve kolinerjik olmayan sinirlerin uyarılması ile eksitator ve inhibitör yanıtlar oluşur. L-Arginin/NO yolağının inhibitör yanıt oluşturması nitreerjik ileti olarak adlandırılır. Nitreerjik innervasyon gastrointestinal sistem, genitoüriner sistem, solunum sistemi, penil ve serebral arterlerde bulunduğu bildirilmiştir (Kenton and Ward, 1992). İnhibitör ileti, NANK innervasyon ile sağlanır. Bu iletide ATP, VIP, GABA ve NO rol alır.

Gastrointestinal sistemde gevşeme, yutkunma, alt özefajinal sfinkterin gevşemesi, yeme sırasında mide fundusunun gevşemesi gibi fizyolojik reflekslerden nitreerjik ileti sorumludur (Synder, 1992; Kenton and Ward, 1992). Üriner sistemde, mesane ve üretrada NANK ileti saptanmıştır. Mesane işlev bozukluğu, detrüssör kası sfinkter uyumsuzluğundan L-Arginin/NO yolağının etkili olduğu düşünülmüştür (Garcia-Pascual et al.1991).

Üretrada kolinerjik, nonadrenerjik ve NANK innervasyon mevcuttur. Üretral gevşemenin artmasıyla ortaya çıkan inkontinens tipleri, NOS enzim inhibitörleri kullanılarak tedavi edilmiştir.

Genital sistemde; penil ereksiyon sırasında düz kas ve damar gevşemesi nitreerjik inhibitör ileti aracılığıyla olmaktadır (Moncada et al. 1991). Nitreerjik ileti ilk defa Ignarro tarafından korpus kavernozum bantlarında gösterilmiştir (Ignarro et al 1990). İmpotans tedavisinde izlenmesi gereken yol, yeni NO donörü olabilecek ilaç ve yöntemlerin geliştirilmesidir (Ignarro et al.1990).

İmmun Sistem : 1990 yılında, domuz endotel hücre kültüründe lipopolisakkarit ve gama interferon ile uyarılan kalsiyumdan bağımsız çalışan indüklenebilir NOS varlığı saptanmıştır. İmmünolojik uyarı ile makrofajlar, nötrofiller, hepatositler, endotel hücreleri, damar düz kas hücreleri, astrosit ve mikroglia hücrelerinde bulunan iNOS enzimi aktive olur (Radomski et al. 1990).

Makrofajların endotoksin ve sitokinlerle uyarılarak sentezlenen NO, invaziv mikroorganizmalar, tümör hücreleri ve kısmen vücut hücreleri için sitotoksik ve sitostatik etki oluşturur (Hibbs et al. 1988). Vücut hücrelerinin de etkilenmesi, immunolojik olaylarda görülen lokal ve sistemik doku hasarını açıklar (Moncada et al.1991).

İmmunolojik uyarı ile iNOS enzimi aracılığıyla sentezlenen NO'in, T hücre çoğalmasını inhibe ettiği (Hoffman et al. 1990) makrofajlarda viral replikasyonu engellediği (Croen 1993), hepatositlerde total protein sentezini baskıladığı (Krönche et al. 1993), nöronlarda ve oligodentritlerde hücre lizisine neden olduğu bildirilmektedir (Merrill et al. 1993).

iNOS enzimi glukokortikoidler ile inhibe edilir, glukokortikoidlerin eritem ve ödemi önleyici etkileri bu inhibisyona bağlanabilir (Radomski et al. 1990).

Kardiyovasküler Sistem : Nitrik oksidin kardiyovasküler sistemdeki en önemli rolü kan akımının ve kan basıncının düzenlenmesindeki rolüdür. Damar endoteli, damar tonusunu ayarlamak için NO gibi vazoaktif madde oluşturur. Endotel bir mekanoreseptör gibi, damar içindeki akım ve basıncı algılayarak damar tonusunu ayarlar (Vanhoutte and Shimokawa ,1989).

Damar endoteli diğer bir görevi olan non-adheziv damar iç yüzeyini antikoagülan, fibrinolitik ve antitrombotik mekanizmalarla sağlar. Endotel kaynaklı NO, trombosit adezyonu ve agregasyonunu inhibe eder (Azuma et al. 1986; Furlong et al .1987). Hücrel NOS enzimi ile sentezlenen NO, adezyonu cGMP aracılığıyla

engellerken; agregasyonu ise, cAMP ve cGMP aracılığıyla engeller (Radomski et al. 1987-b; 1987-c). NO ve PGI2 farklı mekanizmalarına rağmen trombosit agregasyonunu sinerjik olarak inhibe ederler.

Damar endoteli vücutta vazoaaktif, prokoagülant ve fibrinolitik ajan üreten en büyük ve en aktif parakrin organdır. Endotelin yapısında ve fonksiyonundaki anormalliklerin, bir çok vasküler hastalığın patogeneğinde etkili olduğu bilinmektedir. Esansiyel hipertansiyon, ateroskleroz, koroner kalp hastalığı, impotens, diyabet gibi patolojilerde NO sentezi azalmış veya yıkımı artmıştır (Linder et al.1990; Panza et al.1990; Moncada et al.1991). Nitrik oksitin yetersizliği damarlarda var olan dilatör tonusun azalmasına ve yerini konstrüktör tonusun almasına neden olur. Bu patolojiler organik nitratlar gibi NO üzerinden etki gösteren droglarla tedavi edilirler.

Organik nitratlara karşı çeşitli patolojilerde artış, NO yetersizliğinin çGS miktarından oluşturduğu artış (up-regülasyon) ile açıklanabilir (Moncada et al. 1991). Organik nitratlara karşı gelişen tolerans ise, NO etkisine karşı çGS enziminde gözlenen duyarlılık azalması (desensitizasyon) sonucudur.

Sepsiste ortaya çıkan hipotansiyonun tedavisinde veya terapötik amaçla sitotoksinler kullanıldığında oluşabilecek yan etkilerin önlenmesinde, iNOS enzim inhibitörlerinin yardımcı olabileceği bildirilmektedir (Nava et al .1991).

Pulmoner hipertansiyon tedavisinde, inhalasyon yoluyla uygulanan NO'in yararlı olabileceği ve sistemik etki oluşturmadan lokal etki sağlanabileceği bildirilmiştir (Frostel et al. 1991; Johns, 1991).

1.5. 7-Nitro İndazol

SSS'nde nöronal bir haberci molekül olan Nitrik oksid'in fizyolojik ve patolojik olaylarda önemli görevleri vardır. NO çok kısa yarı ömürlü, reaktif bir gaz molekülü olduğundan *invivo* ölçümü zor olmaktadır. NO'nun biyolojik rolünün araştırıldığı çalışmalarda, NO serbestleyen ya da NOS enzim aktivitesini baskılayan maddeler kullanılmaktadır.

7-Nitro indazol, beyin ve spinal kord'da NO fonksiyonlarını aydınlatmada kullanılan yararlı bir madde olmuştur (Moore et al.1993-a). 7-Nitro indazol, sıçan serebellar NOS enziminde L-NAME ve L-NMMA'nın gücüne benzer bir şekilde etki gösterir. 10 mg/kg 7-NI, serebellum, serebral korteks, hipokampus ve adrenal bezde NOS aktivitesini altmış dakika bariz şekilde inhibe etmiştir. Fakat olfaktör bulbus ve mide fundusundaki NOS aktivitesini değiştirmemiştir (Babbedge et al. 1993-a).

7-Nitro indazol'un farede antinosiseptif etkisinin zamana göre değişimi, serebellumdaki NOS inhibisyonu ile eş zamanlıdır. Maksimum antinosiseptif aktivite ve NOS inhibisyonu, i.p. uygulamadan 18-30 dakika sonra gözlenmiştir (Moore et al.1993-a). 7-NI, sadece analjezi için değil, nörodejeneratif hastalıklar gibi NO üretiminin fazla olduğu sanılan SSS bozukluklarında da yararlı olabilir.

7-NI, 10 ve 50 mg/kg dozlarda, fareye i.p. uygulandığında doza bağımlı antinosiseptif etki göstermiştir. Yine bu dozlarda ürethan anestezili farelerde ortalama arteriyel basıncı arttırmamıştır. 7-NI, kardiyovasküler yan etkileri olmayan santral NOS inhibitörlerinin iyi bir başlangıç noktası olabilir (Moore et al. 1993-b).

7-NI'nin(1, 3, 5, 20, 60, 80, 100, 125 mg/kg) i.p. tek enjeksiyonları erkek sıçanlarda, hem nigral hem serebellar NOS aktivitesini doza bağımlı bir şekilde azaltmıştır. 20 ve 80 mg/kg dozlarında sedatif etki gözlenmiş, 7-NI'nin sedatif etkisi, beyin NOS inhibisyonundan en azından kısmen bağımsızdır (Connop et al 1994). 160 mg/kg 7-NI, DBA/2 farelerde righting reflex kaybıyla birlikte, ciddi bir ataksiye neden olmuştur (Smith et al. 1996).

Dzolja ve ark (1996) 2.5-50 mg/kg i.p. 7-NI'nin sıçanların uyku üzerindeki etkilerini incelemişler, 7-NI'nin pitozis, righting refleksi kaybı ve EEG amplitüdünde

düşme yaptığını belirtmişlerdir. Derin uyku ve REM uykusunu azaltmıştır. İntraventriküler L-Arginin kullanılması ile bu etkiler kısmen antagonize edilmiştir (Dzoljic et al. 1996).

7-Nitro indazol farede pentobarbital ile oluşturulan uykuda, uykuya dalış süresine bir etkisi olduğu görülmemiş fakat uyku süresini uzatmıştır. Bu bulgular NO'nin uykuyu düzenlemede önemli bir rol oynadığını göstermektedir (Erden ve ark.1997).

7-NI antikonvülsan etkisini, NO ve L-sitrullin gibi iki endojen konvülzan ajanı bloklayarak göstermektedir (Smith et al.1996).

NMDA reseptörlerinin, öğrenmenin temelini oluşturduğuna inanılır. n NOS, LTP (Uzun Süreli Potansiyalizasyon) indüksiyonu esnasında NO üretmektedir. 7-NI, LTP'nin indüksiyonunu engeller. L-Arginin bu etkiyi ters çevirir. NMDA reseptör antagonistleri ve NOS inhibitörleri aracılığıyla LTP'nin bloklanması, öğrenme ve hafıza üzerinde etki yapabilir (Doyle et al.1996).

NO, eksitator nörotransmitterlerin salınımını modüle eder. NO donörlerinin kullanılması striatum, hipokampus ve medulla oblangatada aspartat, glutamat ve GABA salınımını artırır. İskemi esnasında NMDA salınması, nöroprotektif olabilir. İskemide aşırı dopamin salınımı, striatumdaki nöronal hasarın patojenezinde majör bir faktördür. Muhtemelen 7-Nitro indazol gibi nNOS inhibitörleri, iskemik dopamin salınımını azaltır, bu da nöronal hasar miktarını azaltabilir (Kahn et al 1997).

Zagvazdin ve ark. (1996) 7-NI'ün eNOS enzimini inhibe edebildiğini söylemişlerdir. Ürethan anestezili sıçanlarda yaptıkları çalışmalarda 50 mg/kg i.p. 7-NI'ün ortalama arteryel kan basıncını arttırdığını fakat kalp atım hızını değiştirmedini, göstermişlerdir. 7-NI, bazı fokal beyin iskemi çalışmalarında 25 mg/kg dozda nöroprotektif bulunmuş, dozun 50 mg/kg'a çıkarılmasıyla etki kaybolmuştur. Muhtemelen yüksek doz 7-NI, vasküler NOS üzerine zararlı etkiler oluşturmaktadır (Zagvazdin et al. 1996).

İnvivo olarak 7-NI asetikolin yanıtları üzerinde etkili değildir. 7-NI, NOS enziminin nispeten nöronal izoformu için selektiftir. Ancak bazı koşullar altında, 7-NI'ün iNOS enziminide inhibe edebildiği gösterilmiştir (Faraci and Brian,1995). L-NAME'in insanda sürekli vazopressör etkileri vardır. Halbuki, 7-NI'ün hem sıçan

hem de fare beyindeki NOS'ı kan basıncını arttırmaksızın, inhibe edebilmesi klinik olarak önemini ortaya koymaktadır.

nNOS enziminin, penisi innerve eden nöronlarda lokalize olduğu ve ereksiyonun önemli bir mediatörü olduğuna inanılmaktadır. 7-NI'ün sıçanda 5-50mg/kg dozlarında ereksiyonun doza bağımlı bir inhibitörü olduğu gösterilmiştir. Etkinin reversibl özelliğinden dolayı, priapism tedavisinde klinik kullanımı olabilir (Spiess et al. 1996).

1.6. AGMATİN (guanido butylamine)

Li ve arkadaşları, agmatinin HPLC ve protein presipitasyon yöntemlerini kullanarak inek beyinde varlığını kanıtladılar. Daha önce agmatinin sadece diyet yoluyla veya bakteriler aracılığıyla vücutta bulunduğu sanılıyordu. Fakat sıçan beyinde L-arginini agmatine dönüştüren Arginindekarboksilaz (ADC) enziminin saptanması agmatinin memelilerde üretildiğini göstermiştir (Li et al. 1994; Raash et al. 1995).

ADC enzimi mitokondri iç membranında bulunur ve substrat olarak argininini kullanmaktadır. Bir çok fizyolojik ve patolojik olayda rolü olan NO, NOS enzimi vasıtasıyla L-argininden sentezlenir. L-Arginin pasif difüzyonla hücreye alınmakta ve mitokondride bulunan ADC enzimi vasıtasıyla agmatine dönüşmektedir. Agmatin sentez edildikten sonra aynı yerde bulunan I2 reseptörlerine ya da hücre membranında $\alpha 2$ adrenerjik reseptörleri veya özellikle I1 resptörleri bağlanır ya da ekstrasellüler alana salınır. Agmatin ADC enzimini negatif feed back mekanizmasıyla etkileyerek kendi sentezini kontrol edebildiği gösterilmiştir (Regunathan et. all 1996; Reis et all. 1998).

Agmatin sıçan beyinde nöronların presinaptik membranından ve sığır adrenal kromofin hücrelerinden kalsiyuma bağılı olarak depolarizasyonla salındığı gösterilmiştir.

Agmatin reuptake ve enzimatik indirgenme olarak iki yolla inaktive olmaktadır.

Ekstraselüler Ca azalması uptake'i artırır. İmidazolin reseptörlerini etkileyen idazoksan, fentolamin gibi ilaçlar uptake'in nonkompetitif inhibitörüdür.(Reis et all 1998). Agmatin metabolizması hakkındaki bilgilerimiz yetersizdir. Agmatinin metabolik yıkımı dokuya spesifite göstermektedir. Böbrekte, diamin oksidaz ile

okside, beyinde agmatinaz ile hidrolize olmaktadır. Agmatinaz enzimi memelilerde mitokondride bulunur. Agmatinin sentezi bağlanması ve bioaktif moleküllere yıkımının mitokondride gerçekleşmesi sebebiyle, intrasellüler agmatin/ imidazolin reseptör sistemi ortaya atılmıştır (Sastre et all 1996).

Agmatinin NO üzerine etkileri tartışmalıdır. Agmatin sıçanlara sistemik enfüzyon şeklinde verilirse hipotansiyona neden olduğu görülmüştür. Bu etkiyi muhtemelen kan damarlarının duvar hücrelerini direkt etkileyerek, vazodilatasyon sonucu oluşturur. Morissey ve arkadaşları, sığır pulmoner arter endotel hücre kültürlerini kullanarak agmatinin, endotelial nitrik oksit üretimini üç kat artırdığını belirlemişlerdir (Morisey et all 1997). Bu artış idazoksan tarafından inhibe edilmekte, fakat yohimbin ile etkilenmemektedir. Agmatin endotelial nitrik oksit salınımını arttırdığı halde, indüklenen veya nöronal nitrik oksit salınımına etkisi olmadığı, hatta bunların salınımını inhibe ettiği belirlenmiştir (Galae et all 1996; Gılad et all 1996).

Agmatinin sıçan hipokampus nöronlarında ve fare hipokampal hücre kültürlerinde NMDA reseptörlerini önemli ölçüde inhibe ettiği saptanmıştır(Yang et all 1997).

Kolesnikov ve arkadaşları, agmatinin tail flick analjezi testinde etkili olmadığını, ancak morfin analjezisine toleransın gelişmesini önlediğini saptadılar(Kolesnikov et all). Kartal ve arkadaşları da agmatinin sıçanlarda morfin yoksunluk semptomlarını azalttığını göstermişlerdir (Kartal ve arkadaşları 1997).

2. AMAÇ VE KAPSAM

Nosiseptör ve çevresinde oluşan endojen algojenik maddelere karşı, bunların sentezini inhibe eden maddeler kullanmak ağrı tedavisinin temel prensiplerinden biridir. Bu ağrılara romatizmal ağrılar, migren ağrıları, post operatif ağrılar örnek verilebilir. Narkotik analjezikler ya da opioid analjezikler; ağrı liflerinin serbest uçlarının reaktivitesini ya da duyarlılığını modüle ederler. Medula spinaliste P maddesinin aracılık ettiği nosiseptif mesajların iletimini inhibe ettikleri ya da serotoninin aracılık ettiği desenden inhibitörlerin kontrollerini güçlendirdiği bilinmektedir (Ertekin C.; 1993).

Santral sinir sisteminde yeni bir nöronal haberci molekül olarak kabul edilen NO'in, nörotransmitter salınım ve geri alınımını düzenlediği, çeşitli fizyolojik ve patolojik olaylarda rol oynadığı ileri sürülmektedir.

Santral sinir sisteminde NO sentezi için başlıca uyarıcıyı sağlayan NMDA reseptörleri, ağrı olayında rol oynarlar. NMDA reseptör antagonistlerinin hayvan modellerinde antinosiseptif etki sağladığı bildirilmektedir. Buradan yola çıkarak NO'in de bu olaylarda rolünün olabileceği düşünülmüş ve NO'in biyolojik rolünün belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmalarda kullanılan NOS enzim inhibitörü 7-Nitro indazol kullanılmıştır.

Yapılan çalışmalarda NOS enzim inhibitörü olan L-NAME'in 10-50 mg/kg dozlarında analjezik etki gösterdiği bulunmuştur (Moore et al. 1993-b).

Bu çalışmada NOS inhibitörü olan 7-Nitro indazol ve Agmatin kullanılarak farelerde Writhing test ve Hot-plate testi ile ağrı oluşumunda NO'in rolünün araştırılması amaçlanmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Deney Hayvanı

Bu araştırmada her iki cinsten 20-30 g. ağırlığındaki, 256 adet Balb-C türü fareler kullanıldı. Denekler 22 ± 2 C° ısı ve 55 ± 5 nem içeren, 12 saatlik aydınlık-karanlık sıklısta serbest beslenmeye bırakılarak barındırıldı. Deneyler gündüz 09:00-17:00 saatleri arasında yapıldı.

3.1. Deneylerde Kullanılan İlaçlar ve Kimyasal Maddeler

Bu çalışmada 7 Nitro İndazol (Sigma), L-Arginin ile D-Argininin (Sigma) ve Agmatin (Sigma), %1'lik asetik asit kullanılmıştır. İlaçların farklı dozları hayvan başına 0.1 ml/25g olacak şekilde verilmiştir. 7 NI demineralize su ile hazırlanan % 0.25 lik metil selüloz çözeltisi içinde sonifikatör yardımıyla çözülmüştür. L-Arginin ve D-Arginin serum fizyolojik içinde çözülmüştür. İlaçların farklı konsantrasyonları deneyden hemen önce hazırlanmış ve bütün ilaçlar intraperitoneal olarak uygulanmıştır.

3.2. Writhing Test İle Analjezinin Test Edilmesi

Analjezi testleri Hendershot ve Forsaith'in tanımladığı "Writhing test'e" göre yapıldı (Hendershot, L.C. and Forsaith 1959) %1 'lik asetik asit solüsyonun 10ml/kg volümünde, i.p. injeksiyonla farelerde "writhing sendrom" denilen kıvrılma nöbetleri oluşturuldu. Hayvanların gerginlik, uzama ya da kıvrılmaları (sırtın kemer şeklini alması, abdominal kaslarda gerilmenin oluşması, vücudun uzaması ve bacakların ekstansiyonu) asetik asit injeksiyonundan 5 dakika sonra başlayan, 10 dakikalık periyod boyunca sayıldı.

Denev:

İlk aşamada kontrol gruplarına 0.1ml/25g olacak şekilde metil selüloz. ve serum fizyolojik injekte edildi. Otuz dakika sonra % 1'lik asetik asit verilerek oluşturulan kıvrılma nöbetlerinin sayısı kaydedildi.

İkinci aşamada 20, 40, 60 mg/kg dozlarındaki 7-Nitro indazol farelere uygulandı ve her doz için 30 dakika sonra verilen %1'lik asetik asit ile oluşturulan kıvrılma nöbetlerinin sayısı kaydedildi. Bu aşamada 7-NI'ün maksimum analjezik etkinin ortaya çıktığı doz 60 mg/kg olarak değerlendirildi.

Üçüncü aşamada, L-Arginin ve D-Arginin (100 mg/kg) injekte edilen farelere, 30 dakika bekletildikten sonra % 1'lik asetik asit solüsyonu injekte edildi ve 5 dakika sonra deneye alınarak 10 dakika boyunca kıvrılma sayısı kayıt edildi.

Dördüncü aşamada ise 100mg/kg dozda injekte edilen L-Arginin'den 10 dakika sonra 60mg/kg 7-NI uygulandı ve %1'lik asetik asit ile oluşan kıvrılma sayısı kayıt edildi.

Beşinci aşama olarak 100 mg/kg dozda D-Arginin kullanıldı ve 10 dakika sonra 60mg/kg dozda 7-NI injeksiyonu yapılarak %1'lik asetik asit ile oluşan kıvrılma sayısı kayıt edildi.

Altıncı aşamada 20, 40, 60 mg/kg dozlarda agmatin injekte edildikten 30 dakika sonra % 1'lik asetik asit solüsyonu injekte edildi ve 10 dakika boyunca kıvrılma sayısı kayıt edildi.

Denev Grupları

- 1.Serum Fizyolojik (Kontrol) (n=12)
- 2.Metil Selüloz (Kontrol) (n=10)
- 3.20 mg/kg 7-NI (n=10)
- 4.40 mg/kg 7-NI (n=10)
- 5.60 mg/kg 7-NI (n=10)
- 6.100 mg/kg L-Arginin (n=10)
- 7.100 mg/kg D-Arginin (n=10)

8.L-Arginin-60 mg/kg 7 NI (n=10)

9.D-Arginin-60 mg/kg 7 NI (n=10)

10.20 mg/kg Agmatin (n=12)

11.40 mg/kg Agmatin (n=12)

12.60 mg/kg Agmatin (n=12)

3.3. Hot Plate İle Analjezinin Test Edilmesi

Eddy ve Leimbach'ın 1953'de tanımladığı gibi ilaç injeksiyonu yapılan fareler $55\pm 0,5$ C° kadar ısıtılmış metal yüzey üzerine bırakılarak 1 dakika boyunca gözlemlendi (Eddy and Leimbach 1953). Kronometre ile farenin ön veya arka ayağını yaladığı süre kaydedildi.

Deney

Birinci aşamada kontrol gruplarına metil selüloz.ve serum fizyolojik injekte edilerek 30 dakika beklendi ve 55 C°'ye kadar ısıtılmış metal üzerine bırakılarak ön veya arka ayaklarını yalama süreleri kaydedildi.

İkinci aşamada 20, 40, 60 mg/kg dozlarındaki 7-NI farelere i.p. uygulandı ve fareler 30 dakika sonra metal yüzey üzerine bırakıldı. Bir dakika boyunca gözlemlenerek bir kronometre ile ön veya arka ayaklarını yaladığı süre kaydedildi.

Üçüncü aşamada 100 mg/kg dozunda L-Arginin ve D-Arginin ayrı gruplara injekte edildikten 30 dakika sonra deneye alınarak yalama süresi kaydedildi.

Dördüncü aşamada ise; 100 mg/kg dozda verilen L-Argininden 10 dakika sonra 60 mg/kg dozda 7-NI injeksiyonu yapıldı. 30 dakika beklendikten sonra deneye alınan farelerin ayak yalama süreleri kaydedildi.

Beşinci aşama 100 mg/kg dozda D-Arginin injekte edildikten 10 dakika sonra 60 mg/kg dozda 7-NI injeksiyonu yapıldı ve 30 dakika sonra ayak yalama süresi kaydedildi.

Altıncı aşamada 20, 40, 60 mg/kg dozlarda Agmatin injekte edildikten 30 dakika sonra ayak yalama süreleri kaydedildi.

Deney Grupları

1.Serum Fizyolojik (Kontrol) (n=12)

2.Metil Selüloz (Kontrol) (n=10)

3.20 mg/kg 7-NI (n=10)

4.40 mg/kg 7-NI (n=10)

5.60 mg/kg 7-NI (n=10)

6.100 mg/kg L-Arginin (n=10)

7.100 mg/kg D-Arginin (n=10)

8.L-Arginin-60 mg/kg 7 NI (n=10)

9.D-Arginin-60 mg/kg 7 NI (n=10)

10.20 mg/kg Agmatin (n=12)

11.40 mg/kg Agmatin (n=12)

12.60 mg/kg Agmatin (n=12)

3.4. İstatistiksel Değerlendirme

Deney sonuçları aritmetik ortalama \pm standart hata olarak sunuldu. Gruplar arasındaki farkın anlamlılığı tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve bunu takiben Tukey-Kramer testi ile değerlendirildi.

p değerinin 0,05' den küçük olması halinde ortalamalar arası farkın anlamlı olduğu kabul edildi.

4. BULGULAR

7 NI ve Agmatin'in antinosiseptif etkisini araştırmak için Writhing ve Hot-plate testleri uygulanmıştır.

4.1.Writhing Test

Farelere 0.1 ml/kg olacak şekilde intraperitoneal olarak metil selüloz injekte edilmiş, serum fizyolojik ile metil selüloz arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. 20, 40, 60 mg/kg dozlarda 7NI'ün kıvrılma sayısını kontrollere (metil selüloz) göre azalttığı görülmüştür.

*20 mg/kg dozda 7-NI'ün kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılığı saptanmamıştır.

*40 mg/kg dozda 7-NI kıvrılma sayısını kontrol grubuna (Metil selüloz) göre anlamlı olarak azaltmıştır ($p<0,001$). 40 mg/kg dozda 7-NI 20 mg/kg 7-NI'e göre kıvrılma sayısını anlamlı olarak azaltmıştır ($p<0,05$).

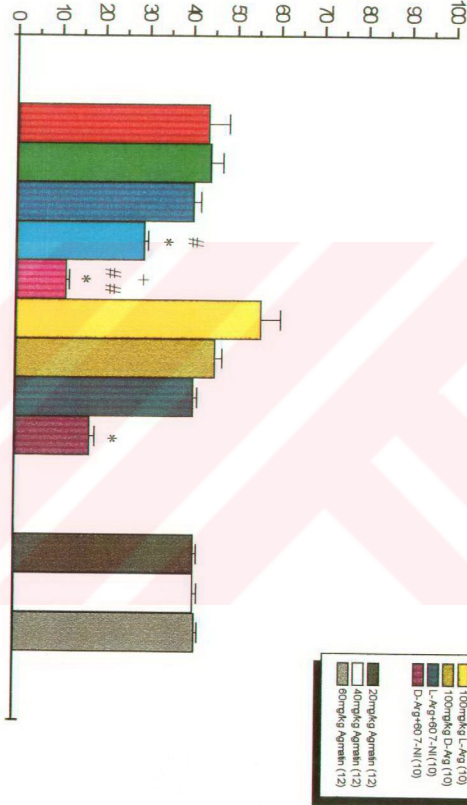
*60 mg/kg dozda 7-NI'ün kıvrılma sayısını kontrollere göre maksimum azalttığı saptanmıştır ($p<0,001$). 60 mg/kg dozda 7-NI, 20mg/kg 7-NI ve 40 mg/kg 7-NI'e göre kıvrılma sayısını anlamlı olarak azaltmıştır. ($p<0,001$)

*Tek başına L-Arginin ve D-Arginin kıvrılma sayısında anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır.

*60 mg/kg dozda görülen analjezik etkinin L-Arginin ile geri dönüp dönmeyeceği ilaçların kombinasyonu yapılarak denenmiştir. 7-NI uygulamasından 10 dakika önce verilen L-Argininin 7-NI'ün analjezik etkisini ortadan kaldırdığı görülmüştür. L-Arginin'in etkisinin NO oluşumuna bağlı olarak mı ya da Arginin'in direkt etkisiyle mi olduğunu anlamak amacıyla D-Arginin kullanılmıştır. D-Arginin ise 7-Nitro indazolün etkilerinde bir değişikliğe neden olmamıştır. 60 mg/kg 7-NI ve 100mg/kg D-Arginin kombinasyonu kontrol grubuna göre anlamlıdır ($p<0,001$).

*20, 40, 60 mg/kg dozlarda injekte edilen Agmatin'in herhangi bir analjezik etkisine rastlanmamıştır (şekil:4.1.1.).

Kıvrılma Sayısı



Şekil 4.1.1: 7-NI (20, 40, 60 mg/kg), L-Arginin, D-Arginin (100 mg/kg) ve Argininin (20, 40, 60 mg/kg) farelerde Writhing Testinde kıvrılma sayısı üzerine etkisi. (Parentez içindeki rakamlar "n" sayısını göstermektedir).

* p < 0.001 Kontrol değerlerine göre

p < 0.05 20 mg/kg 7-NI grubuna göre

p < 0.001 20 mg/kg 7-NI grubuna göre

+ p < 0.001 40 mg/kg 7-NI grubuna göre

4.2. Hot Plate

Farelerde ilaçların analjezik etkilerinin gösterilmesi amacıyla uygulanan Hot-Plate testinde, 7-NI yalama süresini kontrol grubuna göre anlamlı uzatmıştır.

Fârelere 0.1 ml/kg olacak şekilde serum fizyolojik ve metil selüloz injekte edildi. Serum fizyolojik ve metil selülozun ayak yalama süresinde anlamlı bir fark bulunamamıştır. 40, 60 mg/kg dozlarda 7 NI farelerin ayaklarını yalama süresi uzamıştır.

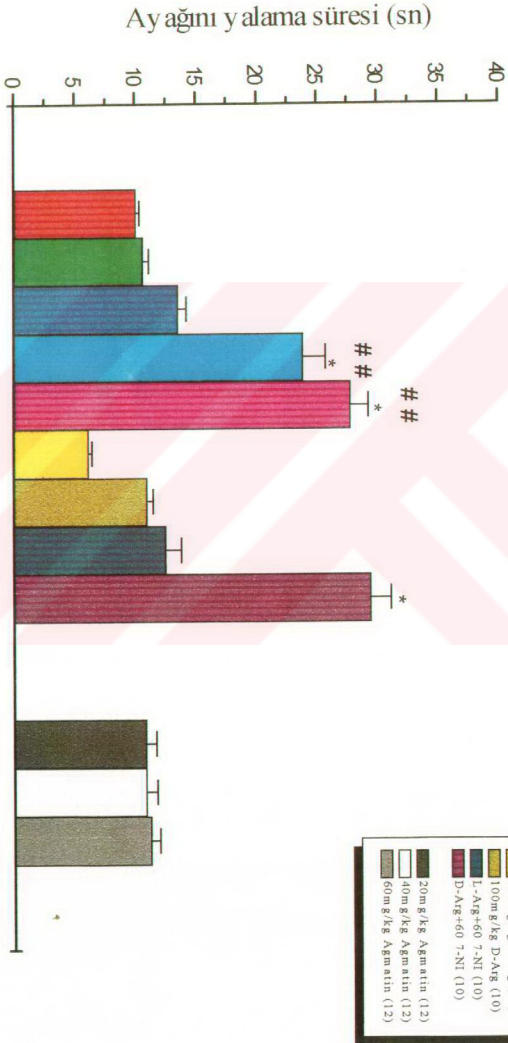
*7NI'un 20 mg/kg dozda hot-plate üzerinde analjezik etkisi gözlenmemiştir.

*40 ve 60 mg/kg dozlarda 7-NI'un analjezik etkisi kontrol grubuna göre anlamlıdır ($p<0.001$). 40 ve 60 mg/kg 7-NI, 20 mg/kg 7-NI grubuna göre farelerin ayak yalama sürelerini anlamlı olarak uzatmıştır ($p<0.001$).

*Tek başına L-Arginin ve D-Arginin farelerin ayak yalama süreleri üzerinde anlamlı bir etkisi olmamıştır.

*7-NI ile görülen bu etkinin L-Arginin ile geri dönüp dönmeyeceği 7 NI ile L-Arginin kombinasyonu oluşturularak test edilmiştir. L-Arginin'in 7NI ile kombinasyonu 7NI'un etkilerinin geri dönmesine neden olmuştur. D-Arginin ile yapılan kombinasyonda ise 7-NI'un etkileri görülmeye devam etmiştir, kontrol grubuna göre anlamlıdır ($p<0.001$).

*20, 40, 60 mg/kg dozlarda uygulanan Agmatinin analjezi üzerinde bir etkisi saptanmamıştır.(Şekil: 4.2.1.)



Şekil 4.2.1: 7-NI (20, 40, 60 mg/kg), L-Arginin, D-Arginin (100 mg/kg) ve Agmatinin (20, 40, 60 mg/kg) Hot-Plate testinde farelerin ay ağını yalama süresi üzerine etkisi. (Paretez içindeki rakamlar n sayısını göstermektedir).

* $p < 0.001$ Kontrol değerlerine göre

$p < 0.001$ 20 mg 7-NI grubuna göre

5. TARTIŞMA

Deney hayvanlarında ağrı meydana getirmek ve ilaçların analjezik etkilerini incelemek için çeşitli testler geliştirilmiştir. Bunlar arasında en sık kullanılanlar sıçanın kuyruğuna radiant ısı ve basınç şeklinde standardize edilmiş “ağrılı” stimulus uygulanması, farelerin sabit bir sıcaklığa kadar ısıtılmış metal yüzey üzerinde bırakılması (hot-plate testi), kobayların kesici dişlerinin pulpasına yerleştirilen elektrotla elektriksel stimülasyon yapılması ve sıçanın ayak tabanına (pençesine) karagenin enjekte edilmesidir. Son test (pençe testi), inflamatuvar reaksiyonun incelenmesine de olanak verir. Sıçan pençesinde yapılan incelemelerde, ağrı meydana gelmesinde, lokal prostaglandin ve prostasiklin oluşması (periferik etki) yanında ağrılı impulsun SSS’ne iletilmesi sonucu, adı geçen eikozanoidlerin sentezinin artmasının ve nöronların ağrıya duyarlık eşiğinin düşürülmesinin (santral etki) rol oynadığı ileri sürülmüştür (Ferreira, S.H. 1983). Bu deneysel yöntemlerle yapılan incelemeler, inflamatuvar reaksiyona bağlı ağrının, dokularda iki ayrı tipte ağrı mediyatörleri tarafından duyusal sinir uçlarının (nosiseptörlerin) sinerjistik bir şekilde stimüle edilmesine bağlı olduğunu göstermiştir.

Dokularda oluşan ağrı mediyatörlerin bir tipi, sinir ucunu doğrudan uyarmaktadır. Bunlara **aljezik mediatörler** adı verilmektedir. Histamin ve serotonin gibi otakoid aminlerle bradikinin, P maddesi ve anjiyotensin gibi otakoid peptidler bunların başlıca örnekleridir. Ağrı mediyatörlerinin ikinci tipi tek başlarına ağrı oluşturmazlar, fakat duyusal ve sinir uçlarının aljezik etkenlere karşı duyarlılığını artırır ve onların ağrı yapıcı etkilerini güçlendirirler; bu ikinci tip mediatörlere **hiperaljezik ağrı mediatörleri** denilir.

Aljezik ve hiperaljezik etkenlerin ağrı ile ilişkisi, bu maddelerin belirli konsantrasyonlardaki solüsyonlarını insan cildinde üstü açılmış vezikül tabanına sürmek suretiyle etraflı olarak incelenmiştir. Ama şurası da vurgulanmalıdır ki hiperaljezi durumu tek başına ağrılı bir durum değildir; bunun somut örneği güneş yanıklarındır. Güneş yanığına uğramış cilt bölgesinde genellikle ağrı yoktur, fakat ağrı yapıcı etkenlere duyarlılık çok artmıştır. Aljezik bir etken olan bradikininin dokuda

prostaglandin sentezini stimüle edip indirekt olarak hiperaljezi de yaptığı saptanmıştır.

NOS inhibitörü olan L-NAME morfinden bağımsız analjezi oluşturmaktadır. Bu da kısmen arginin tarafından geri çevrilir. L-NAME ağrı kesici etkisini İ.C.V. verilmesini takiben santral sinir sisteminde göstermektedir. L-NAME damar endotelindeki NOS'u inhibe etmesiyle kan basıncında uzun süreli artışlara neden olmaktadır. Bu olay L-NAME'in insanlarda analjezik olarak kullanılmasını engeller. Farelerde 7-NI cerebellar NOS'u inhibe eder (Moore&Babbedge, 1993-b). NOS'u inhibe ettiği tartışılan 7-NI'ün kimyasal özellikleri kanıtlanamamıştır. Pirazol halkasındaki iki bitişik nitrojen atomunun varlığı guanidin L-Arginin yapısıyla bazı benzerlikler taşır. Bu sebepten dolayı NO'in farmakolojik özelliklerini araştırmak için 7-NI'ün uygun olabileceği düşünülmüştür. Sunulan bu çalışmada ve daha önceki çalışmalarda 7-NI ve L-NAME, farede benzer analjezi (Morgan et all.1992) ve farede cerebellar NOS'u inhibe etmek için benzer bir etki göstermektedir (Moore&Babbedge 1993-b).

L-NAME'in tersine 7-NI ortalama kan basıncında bir artışa neden olmaz. Bu sonuçlar bize selektif olarak cerebellar NOS enziminin ilk potent inhibitörünün 7-NI olduğunu göstermektedir.

7NI'ün kardiyovasküler sistem üzerindeki etkileri diğer çalışmalarla kanıtlanabilirse klinikte kullanılacak bir sonuç ortaya çıkabilir (Moore 1993). Örneğin cerebellar NOS inhibitörünün geliştirilmesi sadece ağrı kesici etkisi için değil, NO'in fazla üretiminin yol açtığına inanılan santral sinir sistemi bozukluklarının tedavisinde de terapötik bir kullanımı olabileceğini düşündürmektedir.

Sunulan bu çalışmada; 40, 60 mg/kg dozlarda verilen 7-NI farenin kıvranma sayısını azaltmış ve farenin ön veya arka ayaklarını yalama süresini uzatmıştır. Tek başına 100 mg/kg L-Arginin ve D-Argininin analjezi üzerine bir etkisi olmadığı görülmüş fakat 7-NI ile yapılan kombinasyonda L-Arginin'in 7-NI'ün analjezik etkisini geri döndürdüğü saptanmıştır. Bu bulgu, deneysel olarak 7-NI'ün analjezik etki profili gösterdiği anlamına gelmektedir. Bu etkinin NO aracılığıyla olup olmadığını anlamak için L-Arginin ve D-Arginin ile yapılan kombinasyonlarda L-

Arginin verilmesi ile 7-NI'ün etkileri ortadan kalkarken, D-Arginin ile 7-NI'ün etkilerinde geriye dönüş olmamıştır. Bu bulgulara dayanılarak 7-NI ile gözlenen etkilere NO inhibisyonunun aracılık ettiği düşünülebilir.

Ağrı duyumsamasının oluşmasında NO, SSS'de ve medulla spinaliste görev almaktadır (Babbedge et al. 1993-b; Moore et al. 1993-b). Lumbal arka kökteki NMDA reseptörlerinin uyarılması ile termal hiperaljezi ve ağrı oluştuğu bildirilmiştir (Meller et al. 1992). Nitrik oksitin oluşumunun engellenmesi veya çözünür guanilat siklazın inaktivasyonunun analjezik etki sağladığı öne sürülmüştür (Babbedge et al. 1993-b; Moore et al. 1993-b).

Yine bir NOS inhibitörü olarak bilinen Agmatinin NO üzerindeki etkisi, muhtemelen kan damarlarının duvar hücrelerini direkt etkileyerek, vazodilatasyon sonucu oluşturur. Agmatin endotelial nitrik oksit salınımını artırdığı halde indüklenen veya nöronal NO salınımına etkisi olmadığı, hatta bunların salınımını inhibe ettiği belirlenmiştir (Galae et all 1996; Gılad et all 1996). Uygulanan bu doz aralığında Agmatinin herhangi bir analjezik etkisi bulunamamıştır.

L-NAME de olduğu gibi 7-NI farede analjezik etkiye neden olması, NO'in ağrı oluşumunda önemli bir rol oynadığı hipotezimize güçlü bir destek sağlamaktadır.

Yeni NOS inhibitörlerinin analjezide kullanılmaları açısından değerlendirilmeleri ve nitrik oksit'in ağrıdaki rolünün daha ileri çalışmalar ile aydınlığa kavuşturulmasıyla analjezide yeni ufuklar açabileceği düşünülmektedir.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Son zamanların önemli araştırma alanlarından birini oluşturan NO immun sistem, NANK ileti, kardiyovasküler sistem, gibi çeşitli sistemlerde varlığı kanıtlanmış olup, bir çok fizyolojik ve patolojik olaylarda rol aldığı saptanmıştır.

NOS enziminin damar endotelinde bulunan konstitüf izoformundan başka, endotoksinler ve sitokinler tarafından sentezi aktive edilen indüklenebilir NOS izoformunun varlığı makrofajlar gibi iltihap hücreleri içinde gösterilmiştir. İndüklenebilir NOS tarafından sentez edilen NO'nun ağrı mediatörü olarak potansiyel önemi vardır. Ayrıca NO, siklooksijenazı direkt olarak stimüle ederek proinflamatuvar prostaglandinlerin sentezini artırır. Yapılan bir çok çalışmada, NOS inhibitörlerinin analjezik etki gösterdiği bildirilmiştir. NMDA reseptör antagonistleri analjezik etki gösterdiğine göre, NMDA uyarılması ile salınan NO'nun inhibisyonu da analjezik etki oluşturabilir, düşüncesiyle başladığımız çalışmamızda, elde ettiğimiz sonuçlar oldukça yeterlidir. Ancak halen kullanılan analjezik-antiinflamatuvar ilaçların etkisinde NOS veya NO ile etkileşmesinin rol oynadığına dair bir kanıt yoktur.

7-NI 20-60 mg/kg doz aralığında analjezik etki gösterdiği halde Agmatinin analjezik etkisi saptanmamıştır. Yaptığımız araştırmalar ve literatür bilgisi ışığında, yeni NOS inhibitörlerinin analjezideki rolünün, daha ileri çalışmalar ile aydınlığa kavuşturulmasıyla, farmakolojik tedavide yeni ufuklar açılabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- AZUMA, H., ISHIKAWA, M., SEKIZAKI, S., (1986) Endotelium dependet inhibition of platelet aggregation. *Brit. J. Pharmacol.* 88:411-415.
- BABBEDGE, R.C., BLAND-WARD, S.L., HART, S.L, MOORE, P.K., (1993a). Inhibition of rat cerebellar nitric oxide synthase by 7-nitro indazole and related substituted indazoles. *Brith. J. Pharmacol.* 110: 225-228.
- BABBEDGE, R.C., HART, S.L., MOORE, P.K., (1993 b). Antinociceptive activity of nitric oxide synthase inhibitors in the mouse: Dissociation between the effect of L-NAME and L-NMMA. *J. Pharm.Pharmacol.*45:77-79.
- BREDT, D.S., HWANG, P.M., SYNDER, S.H. (1990) Localization of nitric oxide synthase indicating a neural role for nitric oxide. *Nature.* 347:768.
- BUGNON, O., SCHAAD, N.C., SCHORDENET, M., (1994). Nitric oxide modulates endogenous dopamine release in bovine retina. *Neuroreport.* 5: 401-404.
- CHAPMAN, P.F., ATKINS,C.M., ALLEN,M.T., HALLEY, J.E.,STEINMEZ, J.E., (1992).Inhibition of nitric oxide synthesis impairs two different form of learning. *Neuroreport* 3:567-570.
- CHARLES ,I.G., PALMER, R.M.J., HICKERY, M.S., BAYLISS ,M.T., CHUBB, A.P., HALL, V.S., MOSS, D.W., MONCADO, S.,(1993).*Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 90: 11419-11423.
- CONNOP, B.P., ROLFE, N.G., BOEGMAN, R.J., JHAMANDAS, K., BENINGER, R.J., (1994). Potentiation of NMDA-mediated toxicity on nigrostriatal neurans by a low dose of 7-nitro indazole. *Neuropharmacology.* Vol: 33 No: 11 p: 1439-1445.
- CROEN, K.D., (1993) Evidence for an antiviral effect of nitric oxide. Inhibition of herpes simplex virus type 1 replication. *J. Clin Invest.* 91: 2446-2452.
- DOYLE, C., HÖLSCHER, C., ROWAN, M.J., ANWYL, R., (1996). The selective neuronal NO synthase inhibitor 7-nitro indazole blocks both long-term potentiation and depotentiation of field EPSPs in rat hippocampal CA 1 in vivo. *The Journal of Neuroscience.* 16(1): 418-424
- DÖKMECİ, İ. Eikozanoidler ve İnflamasyon, Ateş ve Ağrı Farmakolojisi. İlaç uygulamalarında Temel Kavramlar .Farmakoloji. Ed. Dökmeci, İ. *Saray Tıp Kitabevleri,* İzmir, 46. Konu, 1996.
- DZOLJIC, M.R., VRIES, R.de., LEEUVEN, R.van., (1996). Sleep and nitric oxide effects of 7-nitro indazole, inhibitor of brain nitric oxide synthase. *Brain Research.* 718: 145-150.
- EDDY.NB, .LEİMBACH, D.J. Syntetic analgesics. II. Dithienylbutenly and dithienylbutylamines. *Pharmacol. Exp. Ther:* 1953, 107: 385-393.
- ERDEN, B.F., ULAK G., YILDIRAN G., GACAR N.(1997) The effect of 7-Nitro indazole on pentobarbital-induced sleep in mice. *Pharmacological Research, Vol. 36, No. 4,1997*
- ERTEKİN, C. Ağrının Nöroanatomisi veNörofizyolojisi, Ağrı ve Tedavisi. *Ed: Yegül, İ., 1. Bölüm,* İzmir, 1-17, 1993.
- ESENER Z.: Ağrı, Klinik Anestezi, 25. Bölüm, *Logos Yayıncılık,* 647 – 670 ,1991.
- FARACİ, F.M., BRIAN, J.E., (1994) Nitric oxide and cerebellar circulation. *Stroke.* 25: 692-703.

- FARACÌ, F.M., BRIAN, J.E., (1995) 7-Nitro indazole inhibits brain nitric oxide synthase and cerebellar vasodilatation in response to N-Methyl-D-Aspartate. *Stroke* .Vol: 26 No:11.
- FERREIRA, S.H.: Prostaglandins peripheral and central analgesia. *Advances in Pain Research and Therapy*. Vol: 5 (ed.Benica, J.J. et all.), *Raven Press*, New York, 627, 1983.
- FRANCIS, S.H., CORBIN, J.D., (1994) Structure and function of cyclic nucleotide dependent protein kinases. *Annu. Rev. Physiol.* 56: 237-272.
- FROSTEL, C., FRATACCI, M.D., WAIN, J.C., JONES, R., ZAPOL, W.M. (1991) Inhaled nitric oxide: A selective pulmonary vasodilator reversing hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Circulation*. 83:2038-2047.
- FURCHGOTT, R.F., ZAWADSKI, J.V., (1980). The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*. 288-373.
- FURLONG, B., HENDERSON, A.H., LEWIS, M.J., SMITH, J.A., (1987). Endothelium derived relaxing factor inhibits in vitro platelet aggregation. *Brith. J. Pharmacol.* 90:687-692.
- FURUYAMA, T., INAGAKI, S., TAKAGI, H., (1993). Localization of $\alpha 1$ and $\beta 1$ subunits of soluble guanylate cyclase in the rat brain. *Mol. Brain Res.* 20:335-344.
- GALAE E., REGUNATHAN, S., ELIOPOULUS, V., FEINSTEIN, D.L. REIS, D.J.(1996). Inhibition of mammalian nitric oxide synthases by agmatine, and endogenous polyamine formed by decarboxylation of arginine. *Biochem. J.* 316:247-249.
- GARCIA-PASCUAL, A., COSTA, G., GARCIA-SACRISTAN, A., ANDERSON, K.A., (1991). Relaxation of sheep urethral muscle induced by electrical stimulation of nerves: Involvement of nitric oxide. *Acta Physiol. Scandinavia.* 141:531-539.
- GARTHWAITE, J., BOULTON, C.L.,(1995). Nitric oxide signaling in the central nervous system. *Annu Rev. Physiol.* 57:683-706.
- GILAD G.M., WOLLAM, Y., AINA A., RABEY, J.M. CHERNIHOSKY, T., GILAD, V.H.(1996). Metabolism of agmatine into urea but not into nitric oxide in rat brain. *Neuroreport* 7: 1730-1732.
- HANBAUER, I.WINK, D., OSAWA, Y., (1992) Role of nitric oxide in NMDA evoked release from dopamine striatal slices. *Neuroreport.* 3: 409-412.
- HECKER, M., SESSA, W.C., MITCHELL, J.A., ANGGARD, E.F., VANE, J.R., (1990). The metabolism of L-arginine and its significance for the biosynthesis endothelium derived relaxing factor: Cultured endothelial cells recycle to L-arginine. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 87:8612.
- HENDERSHOT L.C., FORSAITH J.(1959) Antagonism of the frequency of phenylquinone inducing writhing in the mouse by weak analgesics and nonanalgesics. *J. Pharmacol-Exp.Ther.*125,237.
- HIBBS, J.B., TAINTOR, R.R., VAVRINZ., RACHLIN, E.M., (1988) Nitric oxide: A cytotoxic activated macrophage effector molecule. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 157:87-94.
- HOFFMAN, R.A., LANGREHR, J.M., BILLIAR, T.R., CURRON, R.D., SIMMONS, R.L. (1990). Alloantigen-induced activation of rat splenocytes is regulated by the oxidative metabolism of L-Arginine. *J.Immunol.* 145: 2220-2226.
- IGNARRO, L.J., BUSH, P.A., BUGA, G.M., WOOD, K.S., FUKUTO, J.M., RAJFER, J.M., (1990). Nitric oxide and cyclic GMP formation upon electrical field stimulation cause

relaxation of corpus cavernosum smooth muscle. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 170:843.

IGNARRO, L.J., BYRNS, R.E., WOOD, K.S., (1988) Biochemical and pharmacological properties of endothelium derived relaxing factor and its similarity to nitric oxid radical. (Ed): P.M. Vanhoutte. *Vasodilation: Vascular smooth muscle*. Raven Pres. New York. P:427-436.

JOHNS, R.A. (1991). EDRF/Nitric oxide : The endogenous nitrovasodilator and new cellular messenger. *Anesthesiology*. 75:927-931.

KAHN, R.A., PANAH, M., WEINBERGER, J., (1997). Modulation of ischemic excitatory neurotransmitter and γ -aminobutyric acid release during global temporary cerebral ischemia by selective neuronal nitric oxide synthase inhibition. *Anesth. Analg.* 84: 997-1003.

KARTAL, F.A., UZBAY, T. (1997). Inhibitory effect of agmatine on naloxane precipitated abstinence syndrome in morphine dependent rats. *Life Sci*. 61: 1775-1781.

KENTON, M., WARD, S.M., (1992). Nitric oxide as a mediator of a nonadrenergic and noncholinergic neurotransmission. *Amer. Physiol. Soc.* G:379-391.

KNOWLES, R.G., MONCADA, S., (1992). Nitric oxide as a signal in blood vessels. Second messenger generation and destruction. *TIPS*. 17:399-402.

KNOWLES, R.G., MONCADA, S., (1994) Nitric oxide synthases in mammals. *Biochem. J.* 298: 249-258.

KOLENISKOV, Y., JAIN, S., PASTERNAK, G.W. (1996). Modulation of opioid analgesia by agmatine. *Eur. J. Pharmacol.* 296:17-22.

KRÖNCKE, K.D., BRENNER, H.H., RODRIGUEZ, M.L., ETZKORN, K. NOACK, E.A., KOLB, H., KOLBBACHOFEN, V., (1993). Pancreatic islet cells are highly susceptible towards the cytotoxic effects of chemically generated nitric oxide. *Biochem. Biophys. Acta*. 1182: 221-229.

LI, G., REGUNATHAN, S., BARROW, C.J., ESRAGHI, J., COOPER, R., REIS, D.J.(1994). Agmatine an endogenous clonidine displasting substance in rat. *Science* 263: 966-968.

LINDER, L., KIOWSKI, W., BUHLER, F.R., LUSCHER, T.F., (1990). Indirect evidence for release of endothelium derived relaxing factor in human forearm circulation in vivo: Blunted response in essential hypertension. *Circulation*. 81: 1762- 1767.

MAYER, B., BRUNNER, F., SCHIMIDT, K., (1993). Inhibition of nitric oxide synthesis by methylene blue. *Biochem. Pharmacol.* 45(2): 367-374.

MANZONI, O., BOCKAERT, J., (1993) Nitric oxide synthase activity endogenously modulates NMDA receptors. *J. Neurochem.* 61: 368-370.

MELLER, S.T., PECHMAN, P.S., GEBHART, G.F., MAYES, T.J., (1992) Nitric oxide mediates the thermal hyperalgesia produced in a model of neuropathic pain in the rat. *Neuroscience*. 50: 7-10.

MERRILL, J.E., IGNARRO, L.J., SHERMAN, M.P., MELINEK, J., LANE, T.E. (1993). Microglial cell cytotoxicity of oligodendrocytes is mediated through nitric oxide. *J. Immunol.* 151: 2132-2141.

MONCADA, S., PALMER, R.M., HIGGS E.A., (1991) Nitric oxide: Physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol. Rev.*43: 109-142

- MOORE, P.K., BABBEDGE, R.C., WALLACE P., GAFFEN, Z.A., HART, S.L., (1993b) 7-Nitro indazole, an inhibitor of nitric oxide synthase, exhibits antinociceptive activity in the mouse without increasing blood pressure. *Brith. J. Pharmacol.* 108: 296-297.
- MOORE, P.K., WALLACE, P., GAFFEN, Z., HART, S.L., BABBEDGE, R.C., (1993 a) Characterization of the novel nitric oxide synthase inhibitor 7-nitro indazole and related indozoles: antinociceptive and cardiovascular effects. *Brith. J. Pharmacol.* 110: 219-224.
- MORGAN, C.V.J., BABBEDGE, R.C., GAFFEN, Z.A., WALLACE, P., HART, S.L. & MOORE, P.K. (1992). Synergistic anti-nociceptive effect of L-N-nitro arginine methyl ester (L-NAME) and flurbiprofen in the mouse. *Br. J. Pharmacol.*, 106, 493-497.
- MORRISEY, J.J., KLAHR, S. (1997). Agmatine activation of nitric oxide synthase in endothelial cells. *Proc. Assoc. Physicians.* 109:51-57.
- NATHAN, C., (1992) Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. *FASEB. J.* 6: 3051-3064.
- NAVA, E., PALMER, R.M.J., MONCADA, S., (1991). Inhibition of nitric oxide synthesis in septic shock: how much is beneficial? *Lancet* 338: 1155-1157.
- NICHOLS, K., KRANTIS, A., STAINES, W., (1992) .Histochemical localization of nitric oxide synthesizing neurons and vascular sites in the guinea pig intestine. *Neurosci.* 51:791
- OKADA, D., (1992) Two pathways of c GMP production through glutamate receptor mediated nitric oxide synthesis. *J. Neurochem.* 59: 1203-1210.
- PALMER, R.M.J., REES, D.D., ASHTON, D.S., MONCADA, S., (1988). L-Arginine is the physiological precursor for the formation of nitric oxide in endothelium dependent relaxation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 153:1251.
- PANZA, J.A., QMYUMI, A.A., BRUSH, J.E., EBSTEIN, S.E., (1990) Abnormal endothelium dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *J N. Engl. Med.* 2. 323: 227.
- PEARCE, W.J., REBUFFEL, A.M.R., LEE, J., AUBINEAV, P., IGNARRO, SEYLAZ, J., (1990). Effects of methylene blue on hypoxic cerebral vasodilatation in the rabbit. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 254 (2): 616-655.
- PRADO, R., WATSON, B.D., KULUZ, J., DIETRICH, W.B., (1992). Endothelium derived nitric oxide synthase inhibition effects on cerebral blood flow pial artery diameter and vascular morphology in rats. *Stroke.* 23:1118-1124.
- PRAST, H., PHILIPPU, A., (1992). Nitric oxide releases acetylcholine in the basal forebrain. *Eur. J. Pharmacol.* 216:139-140.
- RADOMSKI, M.W., PALMER, R.M.J., MONCADA, S., (1987a) The role of nitric oxide and cGMP in platelet inhibition to vascular endothelium. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 148: 1482-1489.
- RADOMSKI, M.W., PALMER, R.M.C., MONCADA, S., (1987 b) The antiaggregating properties of vascular endothelium interactions between prostacyclin and NO. *Brith. J. Pharmacol.* 92:639-646.
- RADOMSKI, M.W., PALMER, R.M.J., MONCADA, S., (1987c) Comparative pharmacology of endothelium derived relaxing factor, nitric oxide and prostacyclin in platelets. *Brith. J. Pharmacol.* 92: 181-187.
- RADOMSKI, M.W., PALMER, R.M.J., MONCADA, S., (1990). Glucocorticoids inhibit the expression of an inducible, but not the constitutive, nitric oxide synthase in vascular endothelial cells. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 87: 10043-10047.

- RAASCH, W., REGUNATHAN S., LI, G., REISS, D.J. (1995). Agmatine is widely and unequally distributed in rat organs. *Annals of the New York Acad. of Sci.* 763:330-334.
- REGUNATHAN, S., EVINGER M.J., MCELEY M.P., REIS, D.J. (1996). Imidazoline receptors and their endogenous ligands. *Annu. Rev. pharmacol.* 42:2011-2018.
- REIS, D.J., REGUNATHAN, S. (1998) Agmatine: a novel transmitter? *Adv. in Pharmacology* 42:645-649.
- ROSENBAUM, W.I., (1992). Endothelium derived relaxing factor in brain blood vessels is not nitric oxide. *Stroke.* 23: 1527-1532.
- SASTRE, M., REGUNATHAN, S., GALAE, E., REIS, D.J. (1996) Agmatinase activity in rat brain: A metabolic pathway for the degradation of agmatine. *J. Neurochem.* 67:1761-1765.
- SCHUMAN, E.M., MADISON, D.V., (1994). Nitric oxide and synaptic function. *Annu. Rev. Neurosci.* 17: 153-183.
- SMITH, G.K., DUCH, D.S., EDELSTEIN, M.P., BIGHAM, E.C., (1992). *J. Biol. Chem.* 267: 55599-55607.
- SMITH, S.E., MAN, C.M., YIP, P.K., TANG, E., CHAPMAN, A.G., MELDRUM, B.S., (1996). Anticonvulsant effects of 7-nitro indazole in rodents, with reflex epilepsy may result from L-arginine accumulation or a reduction in nitric oxide or L-citrulline formation. *Brith. J. of Pharmacology.* 119:165-173.
- SNYDER, S.H., (1992) Nitric oxide : First in a new class of neurotransmitter? *Science.* 257:494-496.
- SRIESS, P.E., DION, S.B. ZVARA, P. MERLIN, S.C., CHAN, P.T.K., BROCK, G.B., (1996). 7-Nitro indazole: A selective inhibitor of penile erection: an in vivo study in a rat animal model. *Urology.* 47:93-96.
- TÜRKOĞLU, M.: Ağrının Tanımlanması ve Ölçümü, Ağrı ve Tedavisi. *Ed. Yegül, İ.;* 2. Bölüm, İzmir, 19-27, 1993.
- VANHOUTTE, P.M. SHIMOKAWA, H., (1989). Endothelium-derived relaxing factor and coronary vasospasm. *Circulation.* 80:1-9.
- WIKLUND, N.P., LEONE, A.M., GUSTAFSONN, L.E., MONCADA, S., (1993). Release of nitric oxide evoked by nerve stimulation in guinea pig intestine. *Neuroscience.* 53 B: 607.
- YANG, X.C., REIS, D.J. (1997). Agmatine selectively blocks the NMDA subclass of glutamate receptor channels in cultured mouse hippocampal neurons. *Society for Neuroscience.* 688.
- ZAGVAZDIN, Y., SANCESARIO, G., WANG, Y-X., SHARE, L., FITZGERALD, M.E.C., REINER, A., (1996). Evidence from its cardiovascular effects that 7-nitro indazole may inhibit endothelial nitric oxide synthase in vivo. *European Journal of Pharmacology.* 303: 61-69.

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

ÖZGEÇMİŞ

1970	Kırcaali’de doğdu.
1977-1982	İlkokulu Petkim İlkokulunda bitirdi
1982-1985	Ortaokulu İzmit Yarımca Lisesinde okudu.
1985-1987	Lise öğrenimini İzmit Yarımca Lisesinde tamamladı.
1987-1993	Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesini bitirdi.
1995	KOÜ. Tıp Fak. Farmakoloji A.B.D.’da Yüksek Lisans programına başladı.
1999	Halen eczane eczacılığı yapmaktadır. Evli ve bir çocuk annesidir.