

**PROTOKATEŞİK ASİTİN
NÖROPATİK AĞRI ÜZERİNE ETKİSİ
VE OLASI MEKANİZMASI**

Yüksek Lisans Tezi

Melda ÖZGÜRBÜZ

Eskişehir 2019

**PROTOKATEŞİK ASİTİN NÖROPATİK AĞRI ÜZERİNE ETKİSİ VE OLASI
MEKANİZMASI**

Melda ÖZGÜRBÜZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Farmakoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Nurcan BEKTAŞ TÜRKMEN

Eskişehir

Anadolu Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Ağustos 2019

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Melda ÖZGÜRBÜZ'ün "Protokateşik asitin nöropatik ağrı üzerine etkisi ve olası mekanizması" başlıklı tezi 08/08/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği"nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmakoloji Anabilim dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Unvanı Adı Soyadı

İmza

Üye (Tez Danışmanı)

: Doç. Dr. Nurcan BEKTAŞ TÜRKMEN

Üye

: Doç. Dr. Rana ARSLAN

Üye

: Dr. Öğr. Üyesi S. Beril
KADIOĞLU YAMAN

Prof.Dr. Nalan GÜNDOĞDU KARABURUN

Enstitü Müdürü

ÖZET

PROTOKATEŞİK ASİTİN NÖROPATİK AĞRI ÜZERİNE ETKİSİ VE OLASI MEKANİZMASI

Melda ÖZGÜRBÜZ

Farmakoloji Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ağustos 2019

Danışman: Doç. Dr. Nurcan BEKTAŞ TÜRKMEN

Protokateşik asit, nörodejeneratif hastalıkların ilerlemesi üzerine etkili olmasıyla öne çıkan ve daha önce nöropatik ağrı üzerine olan etkisi bildirilmemiş fenolik bir antioksidandır. Bu tez çalışmasında protokateşik asitin nöropatik ağrı üzerine olası etkisinin belirlenmesi ve bu etkinliğin K_{ATP} kanalları ve A_1 adenosin reseptörü stimülasyonu ile ilişkisinin aydınlatılarak değerlendirilmesi amaçlandı. Sıçanlarda, kronik konstrüksiyon sinir hasarı ile indüklenen nöropatik ağrı modeli oluşturularak, 75, 150 ve 300 mg/kg protokateşik asitin anti-allodinik etkisi Elektronik von Frey cihazı ile ve antihiperalezik etkisi plantar test ile değerlendirilerek, etki 50 ve 100 mg/kg karbamazepin etkisi ile karşılaştırıldı. 150 mg/kg protokateşik asit ve 50 mg/kg karbamazepin kombinasyonunun sağlayabileceği avantaj araştırıldı. Protokateşik asitin neden olduğu anti-allodinik ve antihiperalezik aktiviteye, A_1 adenosin reseptörü stimülasyonunun ve K_{ATP} kanal açılımının katkısı sırasıyla A_1 adenosin reseptörü antagonisti DPCPX (3 µg) ve K_{ATP} kanal antagonisti glibenklamid (60,7 nmol) kullanılarak araştırıldı. 75, 150 ve 300 mg/kg protokateşik asit uygulanması, nöropati gelişimi ile birlikte düşen mekanik ve termal eşikleri yükselterek lokomotor aktiviteyi değiştirmeksizin sırasıyla anti-allodinik ve antihiperalezik etkinlik gösterdi. Protokateşik asitin, karbamazepin ile kombinasyonundan elde edilen etki tüm ilaç uygulamalarından elde edilen etkilerden yüksek bulundu. Protokateşik asitin anti-allodinik ve antihiperalezik etkinliğine A_1 adenosin reseptörü stimülasyonuna eşlik eden K_{ATP} kanal aktivasyonunun belirgin katkı sağladığı belirlendi. Etki mekanizmasının her ne kadar daha detaylı aydınlatılması gerekse de etki profilini öngörebilme açısından prelinik veriler elde edildi. Bu verilerden hareketle protokateşik asitin nöropatik ağrı yönetiminde tek başına veya yardımcı ilaç olarak kullanılabilme potansiyeli olduğu düşünülmektedir. Tez çalışmasından elde edilen sonuçlar yeni tedavi yaklaşımlarına katkıda bulunacak veriler sunmaktadır.

Anahtar kelimeler: Protokateşik asit, Mekanik allodini, Termal hiperalezi, K_{ATP} kanalları, A_1 Adenosin reseptörü

ABSTRACT

THE EFFECT OF PROTOCATECHUIC ACID ON NEUROPATHIC PAIN AND POSSIBLE MECHANISM

Melda ÖZGÜRBÜZ

Department of Pharmacology

Anadolu University, Graduate School of Health Sciences, August 2019

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Nurcan BEKTAŞ TÜRKMEN

Protocatechuic acid is a phenolic antioxidant whose effect on neuropathic pain has not been reported before, which is prominent by its effect on the progression of neurodegenerative diseases. The aim of this study was to determine the possible effect of protocatechuic acid on neuropathic pain and to evaluate its effectiveness by clarifying its relationship with K_{ATP} channels and A_1 adenosine receptor stimulation. A model of neuropathic pain induced by chronic construction nerve injury in rats was established and the anti-allodynic effect of 75, 150 and 300 mg/kg protocatechuic acid was evaluated with electronic von Frey device, the antihyperalgesic effect was evaluated with plantar test and the effect was compared with 50 and 100 mg/kg carbamazepine effect. The advantage of a combination of 150 mg/kg protocatechuic acid and 50 mg/kg carbamazepine was investigated. The contribution of A_1 adenosine receptor stimulation and K_{ATP} channel opening to anti-allodynic and antihyperalgesic activity caused by protocatechuic acid was investigated using A_1 adenosine receptor antagonist DPCPX (3 μ g) and K_{ATP} channel antagonist glibenclamide (60,7 nmol), respectively. Application of 75, 150 and 300 mg/kg of protocatechuic acid showed anti-allodynic and antihyperalgesic activity, respectively, by increasing the mechanical and thermal thresholds associated with neuropathy development without changing locomotor activity. The effect obtained from the combination of protocatechuic acid with carbamazepine was found to be more powerful than those obtained from all drug applications. The anti-allodynic and antihyperalgesic efficacy of protocatechuic acid was found to be a marked contribution with K_{ATP} channel activation accompanying A_1 adenosine receptor stimulation. Although the mechanism of action should be elucidated in more detail, preclinical data were obtained to predict the profile of effect. Based on these data, protocatechuic acid is thought to have the potential to be used alone or as an adjuvant in the management of neuropathic pain. The results obtained from the thesis study provide data that will contribute to the new treatment approaches.

Keywords: Protocatechuic acid, Mechanical allodynia, Thermal hyperalgesia, K_{ATP} channels, A_1 Adenosine receptor

TEŞEKKÜR

Lisans eğitimimde, Farmakoloji anabilim dalını seçmemde, Yüksek lisans eğitimim süresince ve bu tez çalışmasının gerçekleştirilmesinde değerli bilgilerini, tecrübelerini her zaman ve her koşulda paylaşan ve kıymetli zamanını ayırıp büyük bir ilgiyle bana faydalı olabilmek için elinden gelenin fazlasını yapan, bilimsel verilerin değerlendirilip çalışmanın son halini almasında büyük emeği olan değerli tez danışmanım Doç. Dr. Nurcan BEKTAŞ TÜRKMEN'e ve değerli hocam Doç. Dr. Rana ARSLAN'a çok teşekkür ederim.

Lisans döneminde mezuniyet projesi olarak lisansüstü eğitime adım atmamda emeği olan ve akademisyenliğin ne kadar kıymetli bir meslek olduğunu her zaman dile getiren değerli hocam Doç. Dr. Bülent ERGUN'a çok teşekkür ederim.

Lisansta ve yüksek lisans hayatımda beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan, her derste ve her deneyde yanımda olan sevgi dolu, canım arkadaşım Hazal EKEN'e ve tecrübelerini her zaman paylaşan canım arkadaşım Burak KARADUMAN'a çok teşekkür ederim.

Motivasyon toplantılarıyla daha iyi çalışmamı sağlayan ve yol gösteren akademinin hayatıma kattığı kıymetli hocalarım Kübra YALMAN'a ve Dr. Öğr. Üyesi S. Beril KADIOĞLU YAMAN'a çok teşekkür ederim. Her türlü desteğini sağlayan değerli hocam Prof. Dr. Turgay ÇELİK'e çok teşekkür ederim.

Öğrenim hayatımın her aşamasında desteklerini ve güvenlerini hissettiğim, beni her zaman sabırla ve anlayışla dinleyen, her konuda beni motive eden ve yol gösteren annem Filiz ÖZGÜRBÜZ'e, babam Özcan ÖZGÜRBÜZ'e ve abim Özen ÖZGÜRBÜZ'e çok teşekkür ederim, iyi ki varsınız.

Her zaman yanımda olan, zor anlarımı kolaylaştıran, hep bir adım ilerisi için beni destekleyen ve güven veren yol arkadaşım Fatih CİCİ'ye çok teşekkür ederim.

Melda ÖZGÜRBÜZ

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Anadolu Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programıyla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

Melda ÖZGÜRÜZ

İÇİNDEKİLER

Sayfa

BAŞLIK SAYFASI	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
TABLolar DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. KAYNAK BİLGİSİ	3
2.1. Nöropatik Ağrı	3
2.1.1. Nöropatik ağrının epidemiyolojisi.....	4
2.2. Nöropatik Ağrı Patofizyolojisi	5
2.2.1. Nöropatik ağrının periferel mekanizmaları	7
2.2.1.1. Primer afferent nosiseptörlerin sensitizasyonu 7	
2.2.1.2. Ektopik deşarjlar	7
2.2.1.3. Nöropeptidlerin ekspresyonunda fenotipik	
değişme	8
2.2.1.4. Coupling	8
2.2.2. Nöropatik ağrının santral mekanizmaları	8
2.2.2.1. Spinal reorganizasyon	8
2.2.2.2. Dorsal boynuzdaki inhibitör	
sinapsların depresyonu (disinhibisyon)	9
2.2.2.3. Ektopik aktivite	9
2.2.2.4. Geniş dinamik alan nöronlarının aktivasyonu. 9	
2.2.2.5. Wind-up fenomeni	10

2.3.	Ağrının Algılanma ve Yönetim Süreci	12
2.3.1.	Ağrının modülasyonunda purinerjik sistemin rolü	17
2.3.2.	Ağrı modülasyonunda potasyum kanalının rolü	19
2.4.	Nöropatik Ağrının Hayvan Modelleri	21
2.5.	Nöropatik Ağrının Tedavisi	22
2.5.1.	Nöropatik ağrının bitkisel tedavisi	23
2.5.1.1.	Protokateşik asit	24
3.	GEREÇ VE YÖNTEM	27
3.1.	Kullanılan Kimyasallar	27
3.2.	Kullanılan Cihazlar	27
3.3.	Deney Hayvanları	27
3.4.	Deney Gruplarının Oluşturulması ve İlaç Uygulamaları	27
3.5.	DeneySEL Yöntemler	29
3.5.1.	Kronik konstrüksiyon sinir hasarı (KKH)'na bağlı nöropati modelinin oluşturulması.....	29
3.6.	Ağrı Eşiklerinin Değerlendirilmesi	29
3.6.1.	Elektronik von Frey cihazı-Mekanik allodini	29
3.6.2.	Plantar test (Hargreaves Metodu)	30
3.6.3.	Aktivite kafesi	30
3.7.	İstatistiksel Analiz	31
4.	BULGULAR VE YORUM	32
4.1.	DeneySEL Nöropati Gelişimi	32
4.2.	Anti-Allodinik Aktivitenin Değerlendirilmesi	33
4.3.	Antihiperalezik Aktivitenin Değerlendirilmesi	34
4.4.	Protokateşik Asitin Anti-allodinik ve Antihiperalezik Etkisine K_{ATP} Kanalının Rolü	35
4.5.	Protokateşik Asitin Anti-allodinik ve Antihiperalezik Etkisinde A_1R Rolü	36
4.6.	Protokateşik Asitin Lokomotor Aktivite Üzerine Etkisi	37
5.	TARTIŞMA	38
6.	SONUÇ VE ÖNERİLER	43
	KAYNAKÇA	44

ÖZGEÇMİŞ

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 1. Nöropatik Ağrı Mekanizmaları, Semptomları ve Terapötik Girişimler	
İçin Olası Hedefler	6
Tablo 2. Elektronik von Frey ve Plantar Testte Deneysel Nöropatik Ağrı	
Gelişimi	32

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1. Nöropatik ağrının patofizyolojik mekanizmaları	11
Şekil 2. Rexed laminaları ve dorsal boynuzda primer afferentlerin sonlanması	14
Şekil 3. Ağrı sürecinde yer alan subkortikal ve serebral kortikal yapılar	15
Şekil 4. Çıkıcı ve inici ağrı yolları	16
Şekil 5. Protokateşik asitin kimyasal yapısı	24
Şekil 6. Protokateşik asitin anti-allodinik etkisinin değerlendirilmesi	33
Şekil 7. Protokateşik asitin antihiperalezik etkisinin değerlendirilmesi	34
Şekil 8. Protokateşik asitin anti-allodinik (a) ve antihiperalezik (b) etkisine K _{ATP} kanal aktivasyonunun rolü	35
Şekil 9. Protokateşik asitin anti-allodinik (a) ve antihiperalezik (b) etkisinde A ₁ R stimülasyonunun rolü	36
Şekil 10. Protokateşik asitin lokomotor aktivite üzerine etkisi	37

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

- %MPE: Maksimum olası etkinin yüzdesi
- 5-HT: Serotonin
- A₁R: Adenozin A₁ reseptörü
- A₂R: Adenozin A₂ reseptörü
- ADP: Adenozin difosfat
- AMP: Adenosin monofosfat
- AMPA: a-amino-3-hidroksi-5-metilisoksazol-4-propionik asit
- ATP: Adenosin 5'-trifosfat
- A β : A-beta
- A δ : A-delta
- Çöz: Çözücü
- DMSO: Dimetil sülfoksit
- GABA: Gama-aminobütirik asit
- GB: Glibenklamid
- GDA: Geniş dinamik alan
- GIRK: G-proteini tarafından düzenlenen içeri doğrultucu K⁺ kanalları
- IASP: Uluslararası ağrı araştırmaları topluluğu
- K₂P: İki gözenekli K⁺ kanalları
- K_{ATP}: ATP bağımlı K⁺ kanalı
- KBZ: Karbamazepin
- K_{Ca}: Ca⁺² ile aktiveleşen K⁺ kanalları

K_{ir}: İçeri doğrultucu K⁺ kanalları

KKH: Kronik konstrüksiyon sinir hasarı

K_v: Voltaj kapılı K⁺ kanalları

NGF: Sinir büyüme faktörü

NMDA: N-metil-D-aspartat

NO/sGMP/PKG/K_{ATP}: Nitrik oksit/ Siklik guanilat monofosfat/ Protein kinaz G/ ATP
bağımlı K⁺ kanalı

PAG: Periakvaduktal gri madde

PEG: Polietilen glikol

PGE₂: Prostaglandin E₂

PKA: Protokateşik asit

PLC/IP₃/DAG: Fosfolipaz C/ İnozitol 1,4,5 trifosfat/ Diaçilgliserol

S.H.: Standart hata

sAMP/PKA: Siklik adenzin monofosfat/ Protein kinaz A

SNRİ: Serotonin-noradrenalin geri-alım inhibitörü

SSRİ: Serotonin selektif geri-alım inhibitörü

SUR: Sülfonilüre reseptörü

TRP: Transient reseptör potansiyel kanalları

TSA: Trisiklik antidepresan

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Dünya popülasyonunun yaklaşık %3 ile %4,52'lik kesimini etkileyen büyük bir sosyal ve ekonomik sorun olan nöropatik ağrı; hiperaljezi ve allodini ile karakterize ve genellikle periferik ya da santral sinirlerdeki travma, inflamasyon veya diğer hastalıklar nedeniyle oluşan zedelenmelerle meydana gelen bir ağrı tipidir (Tampin, 2013; Wu vd., 2014). Ağrı modülasyonu, periferden santrale çeşitli mekanizmaların bir arada çalışması ile kontrol edilen karmaşık bir süreçtir. Bu süreç, ağrı tedavisinde farklı etki mekanizmalarını etkileyen ilaç kullanımına neden olurken aynı zamanda tedavinin karmaşıklığına yol açmaktadır. Nöropatik ağrı için mevcut farmakolojik yaklaşımlar, hastaların yaklaşık %50'sinin nöropatik ağrı semptomlarında, %30-50 oranında azalma sağlamaktadır (Zou vd., 2018). Dünya Sağlık Örgütü, nöropatik ağrının birinci basamak tedavisini antidepressanlar ve antikonvülzanlara vermektedir ancak yan etki ve tolerabilite gibi sorunlar nedeniyle yeni ilaç araştırma ve geliştirmeleri devam etmektedir (Serpell, 2008). Ayrıca, iki veya daha fazla ajanın sinerjistik kombinasyonları, ilaçların tek başına gösterdikleri toksisite ve yan etkilerinden sakınmaya ve ayrıca çok hedefli mekanizma ile daha etkin tedaviye olanak tanımaktadır (Lehár vd., 2009). Dolayısıyla mevcut analjeziklerle kombine edilebilecek ilaç arayışı da devam eden diğer bir araştırma alanıdır.

Protokateşik asit; antidiyabetik, anti-inflamatuvar, antiseptik, antineoplastik, anti-apoptotik, anti-ülser, antispazmodik, antihiperlipidemik, antibakteriyel, anti-astmatik ve nöroprotektif aktivite dahil olmak üzere çeşitli farmakolojik aktivitelere sahip fenolik bir maddedir (Luo vd., 2015). Son zamanlarda yapılan sınırlı sayıda çalışmada protokateşik asitin akut ağrıda etkili olduğu açıkça ortaya konulmaktadır (Bektaş ve Arslan, 2017; Arslan vd., 2018). Akut ağrıda dikkate değer antinöroseptif etkisi olan protokateşik asitin daha güç ve karmaşık olan nöropatik ağrının giderilmesinde de yarar sağlayabileceği öngörülmektedir. Ayrıca, bahsedilen sınırlı sayıda çalışmada çeşitli mekanizmaların analjezik etkisine katılım gösterilmesine rağmen, ağrı modülasyonunun karmaşıklığı düşünüldüğünde farklı mekanizmaların da protokateşik asit tarafından harekete geçirilmesi olası durmaktadır.

Kompleks olan ağrı modülasyonunda K_{ATP} tipi gibi K^+ kanalları, ağrının temel bir özelliği olan nöronal uyarılabilirliğin düzenlenmesinde önemli bir rol oynaması nedeniyle dikkat çeken bir hedefdir (Lawson, 2006). K_{ATP} akımının azalması, periferik ağrı yollarında aşırı uyarılabilirliğin nedeni olarak gösterilmekte ve membran uyarılabilirliğinin artması, nörotransmitterlerin serbest bırakılmasının güçlenmesi ve hücre ölümüne karşı duyarlılığın artmasıyla nöropatik ağrıya neden olmaktadır (Gribkoff, 2008; Zoga vd., 2010; Zhu vd., 2015). Nöropatik ağrı tedavisinde kullanılan karbamazepin isimli anti-epileptik ilacın harekete geçirdiği ve etkili ağrı kontrolü sağladığı bilinen diğer bir hedef mekanizma ise adenozinerjik reseptörlerdir (Waszkielewicz vd., 2011). Nöropatik ağrı geliştirilmiş hayvanlarda santral ve periferik A_1R stimülasyonunun, nöropati ile gelişen hiperaljezi ve allodiniyi iyileştirdiği gösterilmiştir (Nascimento vd., 2012; Katz, vd., 2015). Ayrıca spinal, supraspinal ve periferik bölgelerde ağrı iletimini düzenleyerek inflamatuvar etkinlik gösterdiği de bilinmektedir (Sawynok ve Liu, 2003).

Bu bilgilerden hareketle bu tez çalışmasında protokateşik asitin nöropatik ağrı üzerine olası etkisinin belirlenmesi ve bu etkinliğin K_{ATP} kanalları ve A_1R stimülasyonu ile ilişkisinin aydınlatılarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla; sıçanlarda kronik konstrüksiyon sinir hasarı (KKH) ile indüklenen nöropatik ağrı modelinde oral olarak uygulanan 75, 150 ve 300 mg/kg protokateşik asitin olası anti-allodinik etkisi elektronik von Frey cihazı ile ve antihiperalezik etkisi plantar test (Hargreave's Methodu) ile değerlendirilerek, referans ilaç olarak kullanılan 50 ve 100 mg/kg karbamazepin ile karşılaştırılması planlanmıştır. Protokateşik asitin indüklediği anti-allodinik ve antihiperalezik aktiviteye A_1R stimülasyonunun ve K_{ATP} kanal açılımının katkısı sırasıyla A_1R antagonisti DPCPX (3 µg) ve K_{ATP} kanal antagonisti glibenklamid (60,7 nmol) kullanılarak araştırılmıştır. Ayrıca, oluşturulan bir kombinasyon grubuyla, karbamazepin ve protokateşik asit kombinasyonunun sağlayabileceği avantajın değerlendirilmesi de amaçlar arasında yer almaktadır.

2. KAYNAK BİLGİSİ

2.1. Nöropatik Ağrı

Ağrı, 1994 yılında Uluslararası Ağrı Araştırmaları Topluluğu-IASP (International Association for the Study of Pain) tarafından “var olan veya potansiyel doku hasarı ile ilişkili veya bu hasar ile tarif edilen, hoş gitmeyen duysal ve emosyonel bir deneyim” olarak tanımlanmaktadır (Merskey ve Bogduk, 1994). Nöropatik ağrı ise, 1994 yılında IASP tarafından “sinir sistemindeki primer bir lezyon ya da disfonksiyon sonucu ortaya çıkan ağrı” olarak tanımlanmıştır (Merskey ve Bogduk, 1994). IASP’ın 1994 yılında yaptığı tanım, nöropatik ve diğer ağrı türlerini ayırt etmek için yararlı olmuştur, ancak spesifik tanımlamadaki belirsizlikler ve anatomik hassasiyetten yoksundur (Bouhassira, 2019). Dolayısıyla, 2008 yılında IASP, nöropatik ağrının ‘somatoduyusal sistemi etkileyen bir lezyon ya da hastalığın direkt sonucu olarak ortaya çıkan ağrı’ şeklinde tanımlanmasını uygun görmüştür (Merskey ve Bogduk, 1994; Bennett, 2010). Nöropatik ağrının patofizyolojisi, spontan ağrı ve aşırı ağrı duyarlılığı ya da uyarılmış ağrı olarak bilinmektedir (Zou vd., 2018). Nöropatik ağrı; allodini; ağrı eşiği düştüğü için normalde ağrısız olan uyarı kaynaklı ağrı, hiperaljezi; zararlı bir uyaran nedeniyle abartılı şiddette ağrı oluşması, hiperpati; hem yanıtın sürekli oluşması hem de amplitüd bakımından abartılı ağrı, hiperestezi; stimülasyona duyarlılığın artması, disestesi; uyarının, ağrıdan çok rahatsız edici olması gibi kavramlarla karakterizedir (Bridges vd., 2001; Steeds, 2009; Patel, 2010; Bouhassira, 2019). Periferal sinir lezyonları (travmatik, iskemik, inflamatuvar), periferal jeneralize polinöropatiler (toksik, metabolik, kalıtsal veya inflamatuvar), santral sinir sistemi lezyonları ve kompleks nöropatik rahatsızlıklar nöropatik ağrıya neden olmaktadır (Baron, 2006). Nöropatik ağrı yukarıda bahsedilen nedenler aracılığıyla direkt olarak meydana gelebileceği gibi alkolizm, diyabet veya enfeksiyon kaynaklı sekonder olarak da meydana gelebilmektedir. Ayrıca sinir sisteminin kimyasal hasarı da nöropatik ağrıya neden olabilir ve kemoterapi, radyasyon terapisi veya cerrahi gibi kanser tedavilerinin bir sonucu olarak meydana gelebilmektedir (Serpell, 2008). Nöropatik ağrı, tehlikeli uyaranlar olmadan, aniden ve kendiliğinden ağrıya neden olmaktadır (Tao vd., 2019). Disfonksiyon veya hasarlı hale gelen sinir lifleri, sinir sistemindeki ağrı merkezlerine yanlış sinyaller gönderebilir hatta bazı sinirler herhangi bir doku hasarı olmaması rağmen beyne ağrı sinyalleri göndermeye devam edebilir (Serpell, 2008).

2.1.1. Nöropatik ağrının epidemiyolojisi

Bir toplulukta, ağrı prevalansı ve şikayetlerinin özelliklerini tam olarak belirlemek ve karşılaştırmak zordur (Helme ve Gibson, 2001). Bir hastada görülen ağrıyı tanımlamada, hastanın öyküsü, nörolojik bir lezyon veya hastalığın varlığını öne sürüyorsa veya ağrı bununla ilişkili ise, ağrının 'nöropatik ağrı' olduğu belirtilmektedir (Colloca vd., 2017). Duyusal nöropati, termal, mekanik ve kimyasal uyaranlara cevap olarak elektrofizyolojik parametreler ve allodini ve hiperaljezi gibi davranış testleri dışında klinik belirtilere sahip değildir (Höke, 2012).

Genel popülasyonda nöropatik ağrının prevalansını veya bunun toplumsal düzeyde etkisini ele alan az sayıda çalışma bulunmaktadır (Smith ve Torrance, 2012). Bu alandaki epidemiyolojik araştırmaların yetersizliği, basit tanı kriterlerinin bulunmaması, uygulanabilir ve kabul edilebilir geçerli vaka tanımlarının olmaması, heterojen çalışmaların yapılması ve ağrının primer başvuru şikayeti olmadığı vakaların dahil edilmesi gibi olumsuz nedenlere bağlıdır (Hecke vd., 2014; Colloca vd., 2017). Yapılan epidemiyolojik çalışmaların sonucu, genel popülasyonda nöropatik ağrı prevalansının %5-8 aralığında olduğunu göstermektedir (Bouhassira ve Attal, 2013). Bunun dışında başka bir çalışmada, uzun süreli diyabeti olan hastalarda nöropatik ağrı prevalansının %11-24 aralığında olduğu ve zonası olan hastaların %15-22'sinde postherpetik nevralji geliştiğini belirtilmektedir (Smith ve Torrance, 2012). Türkiye'de Erbaş ve ark.'nın, 2011 yılında yaptığı çok merkezli bir çalışmada, diyabetik hasta popülasyonunda meydana gelen nöropatik ağrı prevalansı %14 olarak bildirilmektedir (Erbaş vd., 2011). Kanserli hastalarda ise nöropatik ağrı prevalansının %19-39,1 arasında değiştiği tahmin edilmektedir (Bennett vd., 2012).

İleriye dönük yapılan bazı çalışmalar, nöropatik ağrının, yaygınlığının, sıklığının ve etkisinin sadece postherpetik nevralji (prevalans: %8-10) ve ağrılı diyabetik polinöropati (prevalans: %14-26) kaynaklı değil, aynı zamanda cerrahi işlem (prevalans: %10-50), multiple skleroz (prevalans: %20-30), omurilik yaralanması (prevalans: %30-40), felç (prevalans: %5-11) ve kanser (prevalans: %17-19) gibi durumlarla da indüklendiğini göstermektedir (Bouhassira, 2019).

Epidemiyolojik çalışmanın yararlarından biri, çalışılan durumun önlenmesini sağlayan risk faktörlerinin belirlenmesidir. Popülasyon çalışmalarında nöropatik ağrı ile

ilişkili risk faktörleri ileri yaş, kadın cinsiyeti, düşük sosyoekonomik durum, kırsal kesimlerde yaşam olarak belirtilmektedir (Smith ve Torrance, 2012). Kronik nöropatik ağrının, kadınlarda, 50 yaşından büyük hastalarda, baş, sırt ve alt ekstremitelerde daha sık görüldüğü belirtilmektedir (Colloca vd., 2017).

2.2. Nöropatik Ağrı Patofizyolojisi

Nöropatik ağrı periferik ve santral sinir sistemini etkileyen çeşitli fizyopatolojik mekanizmalar içermektedir. Periferik mekanizmalar primer afferent nöronlarda değişikliklere, santral mekanizmalar ise dorsal boynuz nöronlarında plastisiteye, omurilik düzeyinde reorganizasyona, segmenter ve supraspinal ağrı inhibisyonunda disfonksiyona bağlı olarak gelişmektedir (Berker, 2005). Bu mekanizmalar sadece hastalığın nedenine bağlı olarak değişiklik göstermez, bir mekanizma farklı hastalıkların ortaya çıkmasında da etkili olabilir (Baron vd., 2010). Şekil 1’de nöropatik ağrının patofizyolojik mekanizmaları özetlenmiştir.

Etkili bir analjezik tedavi sağlayabilmek için mekanizma bazlı çalışılması gerekmektedir (Baron vd., 2010). Tablo 1’de nöropatik ağrı mekanizmaları, semptomları ve terapötik girişimler için olası hedefler özetlenmiştir.

Tablo 1. Nöropatik Ağrı Mekanizmaları, Semptomları ve Terapötik Girişimler İçin Olası Hedefler (Baron, 2006, s. 98.)

SEMPTOM	MEKANİZMA	HEDEFLER
Spontan ağrı (Zonklama)	Ektopik impuls üretimi	Na ⁺ kanalları
	Periferel nosiseptör sensitizasyonu	Sitokinler
	Sinirlerde inflamasyon	
	Santral dorsal boynuz hipereksitabilitesi	Presinaptik:
	Spinal seviyede santral sensitizasyon	μ reseptörler
	Devamlı C liflerine artmış sinaptik iletim	Ca ⁺⁺ kanalları
Spontan ağrı	C-lif girdisi amplifikasyonu	Post-sinaptik:
	Aβ girdisinin kapılanması	NMDA reseptörleri
	Aδ girdisinin kapılanması	NK-1 reseptörleri
		Na ⁺ kanalları
		İntraselüler kaskadlar
	GABA _A erjik	GABA _B reseptörleri
		μ reseptörleri
	Supraspinal inisi modülasyonda değişiklikler	α ₂ reseptörler ve
	İnhibitör kontrol	5-HT reseptörler
Sıcak allodini	Sıcaklık aktivasyon eşiğinin azalması	TRPV1 reseptörü
Soğuk allodini	Soğuk aktivasyon eşiğinin azalması	TRPM8 reseptörü
Statik mekanik allodini	Mekanik uyarın ile aktivasyon eşiğinin azalması	ASIC reseptörleri
SMP	NA	a-adrenoseptörleri
	Santral dorsal boynuz hipereksitabilitesi	Presinaptik:
	Spinal seviyede santral sensitizasyon	μ reseptörler
	Devamlı C liflerine artmış sinaptik iletim	Ca ⁺⁺ kanalları
Dinamik mekanik	C-lif girdisi amplifikasyonu	Post-sinaptik:
allodini	Aβ girdisinin kapılanması	NMDA reseptörleri
ve	Aδ girdisinin kapılanması	NK-1 reseptörleri
noktasal mekanik		Na ⁺ kanalları
hiperlajezi	İntraspinal inhibitör internöron azalması	GABA _B reseptörler
	GABA _A erjik, Opioiderjik	μ-reseptörler
	Supraspinal inisi modülasyonda değişiklikler	α ₂ reseptörler ve
	İnhibitör kontrol	5-HT reseptörler

5-HT: Serotonin, ASIC: Aside duyarlı iyon kanalı, GABA: Gama-aminobütirik asit, NA: Noradrenalin, NK-1: Nörokinin 1, NMDA: N-metil-D-aspartat, SMP: Sempatik aracılı ağrı, TRPV1: Transient reseptör potansiyel kanalları vanilloid reseptör 1, TRPM8: Transient reseptör potansiyel kanalları melastatin kanal ailesi 8.

2.2.1. Nöropatik ağrının periferik mekanizmaları

Periferik nöropatik ağrı bir lezyon varlığında, primer duyuşal nöronların bazı bileşenlerinde hasar veya bozulma ile karakterizedir. Lezyon periferik bir sinirde, dorsal kök gangliyonunda veya dorsal kökte meydana gelebilir ve travma, kompresyon, tümör, iskemi, inflamasyon, sitotoksik ajanlar ve dejeneratif bozukluklardan kaynaklanabilir (Woolf, 2004). İnflamatuvar mediyatörler, nosiseptör terminalinde hücre içi sinyal iletim yollarını aktive ederek transdüser kanallarının ve voltaj kapılı iyon kanallarının uyarılmasında artışa neden olmaktadır. Periferik sinir lezyonları bulunan bazı hastalarda inflamasyon olmasa da membran uyarılabilirliğinin artması nedeniyle nosiseptör duyarlılık gelişmektedir ve eşik değeriindeki azalma termal ve mekanik ağrıyı meydana getirmektedir (Costigan vd., 2009). Periferik sensitizasyona aracılık eden bu mekanizmalar şu şekildedir;

2.2.1.1. Primer afferent nosiseptörlerin sensitizasyonu

Normal fizyolojik koşullar altında, mekanik, termal ve kimyasal zararlı uyarılar, A-delta ($A\delta$) ve C lifleriyle ilişkili yüksek eşikli nosiseptörleri aktive etmektedir (Bourne vd., 2014). Periferde, sinir hasarının meydana gelmesi ile aksiyon potansiyelinin antidromik iletimi, sinir uçlarını duyarlı hale getiren inflamatuvar mediyatörler salıverilmesine neden olmaktadır. Bu süreç sensitizasyon olarak tanımlanan ve primer afferent nosiseptörleri uyarmak için gerekli olan eşik değeri düşüğü ve spontan deşarjların artığı bir durumdur. Sonuç olarak periferik sensitizasyonun primer hiperaleziden sorumlu olduğu düşünölmektedir (Serpell, 2008; Bourne vd., 2014).

2.2.1.2. Ektopik deşarjlar

Periferik sinir hasarından sonra aşırı duyarlı hale gelen primer afferent nöronlarda patolojik spontan aksiyon potansiyelleri meydana gelmektedir (Woolf, 2004; Baron, 2006). Duyusal nöronlarda meydana gelen bir hasar sonucunda sürekli uyarılabilirliğe neden olan deşarjlar oluşmaktadır. Ektopik deşarjlar, dorsal kök gangliyonlarında omurilik seviyesinde, yüksek eşikli $A\delta$ ve C liflerinin yanı sıra düşük eşikli A-beta ($A\beta$) liflerinde de görölmektedir (Steeds, 2009). Bu deşarjlar sırasında duyuşal nöronlar hasar görmemiş sinir lifleriyle karışmaya başlamakta ve bu durum periferik duyarlılığın artmasına neden olmaktadır (Galluzzi, 2005).

2.2.1.3. Nöropeptidlerin ekspresyonunda fenotipik değişme

Hasarlı hücrelerin A δ ve C lifleri, duysal ve sempatik liflerin uyarılabilirliği üzerinde doğrudan etkisi olan P maddesi, nörokinin A ve kalsitonin gen ilişkili peptid dahil olmak üzere bir dizi kimyasal aracıyı serbest bırakmaktadır (Lamont vd., 2000). Aynı zamanda A β liflerinin aktivasyonu da nörotransmitterlerin salınımına ve santral hipereksitabiliteye yol açmaktadır. Bu süreç fenotipik değişim olarak bilinmektedir (Serpell, 2008).

2.2.1.4. Coupling

Elektriksel veya adrenerjik reseptörler aracılı kimyasal bir ileti ile sempatik ve duysal sinir sistemi arasında meydana gelen bağlantı olarak tanımlanmaktadır (Serpell, 2008).

2.2.2. Nöropatik ağrının santral mekanizmaları

IASP, santral sensitizasyonu “santral sinir sistemindeki nosiseptif nöronların normal veya düşük eşikli afferent girişlerine karşı duyarlılığının artması” olarak tanımlamaktadır. Ayrıca inflamasyon ve sinir hasarı sırasında santral sinir sistemi nosiseptif nöronlarının spontan ve uyarılmış aktivitesinde anormal artışlar meydana gelmektedir (Campbell ve Meyer, 2006; Meacham vd., 2017). Santral sensitizasyona aracılık eden bu mekanizmalar şu şekildedir;

2.2.2.1. Spinal reorganizasyon

Tekrarlanan aşırı stimülasyona cevap olarak, omurilik dorsal boynuz hücrelerinde değişiklikler meydana gelebilmekte ve bu durum santral sensitizasyona veya santral reorganizasyona neden olmaktadır. Hasar görmüş sinirde değişiklikler veya ektopik değarjlar başladığında, normal fizyolojik koşullar altında lamina III ve IV’te sonlanan A β liflerinin, lamina I ve II ağrı katmanlarına filizlenmesi sonucu düşük eşikli A β mekanoreseptörlerinden gelen ağrısız girdiler nosiseptif olarak algılanmaktadır. Moleküler seviyede de eksitator aminoasitler glutamat ve aspartat ve P maddesi, spinal dorsal boynuz iletim hücrelerinde bulunan reseptörlere bağlandığında, santral duyarlılık meydana gelmektedir (Harden, 2005).

2.2.2.2. Dorsal boynuzdaki inhibitör sinapsların depresyonu (disinhibisyon)

Nöronlar üzerindeki eksitatör ve inhibitör etkilerin dengesi, santral sinir sistemindeki iletimin belirlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır (Woolf, 2004). Dorsal boynuz nöronlarının duyarlılığı inhibitör nöronlara bağlıdır. Sinir hasarı sonrası inhibe edici reseptörlerde ekspresyonun azaldığı görülür ve duyarlılık bu disinhibisyon mekanizmasından kaynaklanabilir (Campbell ve Meyer, 2006). Farmakolojik olarak ise, GABA veya glisin aracılı inhibisyonun bloke edilmesi, çok belirgin dokusal allodini ile nöropatik ağrının kine benzer bir ağrı aşırı duyarlılığı meydana getirmektedir (Woolf, 2004). Spinal dorsal boynuzda GABAerjik internöronlarda bilateral bir azalma ve hücre dışı GABA ve sinaptosomal GABA'da meydana gelen azalma inhibitör postsinaptik akımda ciddi bir düşüşe yol açarak mekanik ve termal hiperlajezije neden olmaktadır (Pitcher ve Henry, 2004; Campbell ve Meyer, 2006).

2.2.2.3. Ektopik aktivite

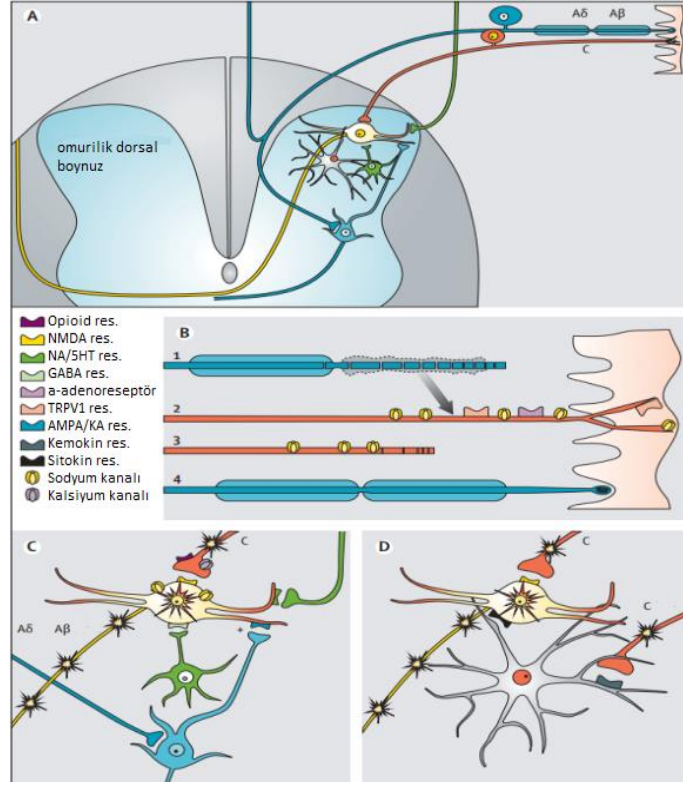
Ektopik aktivite, sinir uçlarında patolojik ve patolojik olmayan iyon kanallarının ve reseptörlerinin açılması veya eksitatör aminoasit transmisyonunun artması ile hücrede hipereksitabilitenin meydana gelmesi olarak belirtilmektedir (Harden, 2005).

2.2.2.4. Geniş dinamik alan nöronlarının aktivasyonu

Geniş dinamik alan (GDA) nöronlar omuriliğin dorsal boynuzunda bulunan ve hem çeşitli nosiseptif uyarılarla hem de zayıf mekanik stimülasyon ile aktive edilen nöronlardır (Le Bars, 2002). Geniş dinamik alan nöronları, tekrarlayan yoğun stimülasyon ile aktive olduğunda ağrısız uyarana, ağrılı uyarana gibi cevap vermeye başlamaktadır. Böylece nöral hipersensitivitede artma meydana gelmektedir (Marchand, 2008). Bu nöronların hem zararsız hem de ağrılı uyarılara cevap vermesi A δ lifleri, C lifleri ve A β liflerinden girdi almış olmalarına bağlıdır (Le Bars, 2002).

2.2.2.5. Wind-up fenomeni

Sinir hasarı sonrası omuriliğin dorsal boynuzunda değişiklikler meydana gelmektedir. Bu değişiklikler sonucu, C lifinin tekrarlayan ağrılı uyararla aktivasyonu santral sinir sisteminde elektriksel cevabın birikmesine ve dorsal boynuz cevabında uzamaya neden olmaktadır. Buna wind-up fenomeni denilmektedir (Steeds, 2009; Helms ve Barone, 2019). Wind-up fenomeni sonucunda sinyal iletiminin artmasıyla birlikte nöroplastisite meydana gelmektedir. Bu fenomen bir kez geliştiğinde, her bir uyarana karşı bir geniş dinamik alan nöronunu indüklemektedir (Feizerfan ve Sheh 2014).



Şekil 1. Nöropatik ağrının patofizyolojik mekanizmaları (Baron vd., 2010, s. 812)

(A) omurilik dorsal boynuzdaki primer afferent yollar ve bağlantıları. C lifleri (kırmızı) daha üst laminadaki (sarı nöron) spinotalamik nöronlara projeksiyon yapar. Nosiseptif olmayan A β daha derin laminalara projekte olur. GDA nöronları (mavi) ikinci sıra nöronlardır. Mikroglia (gri) ile etkileşim, sinaptik iletimi fasilite eder. GABAerjik nöronlar (yeşil), normalde GDA nöronlar üzerinde inhibitör sinaptik girdi gösterir. Ayrıca inisiyasyon sistemleri (yeşil inisiyasyon terminali), GDA nöronlarda sinaps yapar. (B) primer afferent nöronlarda parsiyel sinir lezyonu sonrasında meydana gelen periferik değişiklikler, periferik sensitizasyona yol açar. Hasarlanmış veya dejenere olmuş bazı aksonlar (1. ve 3.) halen periferik uç organlarla (deri, 2. ve 4.) bağlantılıdır. Na⁺ kanallarının ekspresyonu hasarlı nöronlarda (3.) lezyonun bir sonucu olarak artmıştır. Ayrıca NGF gibi Wallerian dejenerasyonu ile ilişkili ürünler, zarar görmemiş lifler üzerindeki kanalların ve reseptörlerin (Na⁺ kanalları, TRPV1, adenoreseptörler) ekspresyonunu tetikler. (C) C nosiseptörlerindeki spontan aktivite, santral duyu sürecinde sekonder değişikliklere neden olur ve mekanoreseptif A liflerinden (mavi nöron sistemi; hafif dokunma uyarısı) alınan girdinin ağrı olarak (allodini) algılanmasına neden olacak omurilik hipereksitabilitesine yol açar (sarı nörondaki yıldız; ikinci sıra nosiseptif nöronların santral sensitizasyonu). Çeşitli presinaptik (opioid reseptörler, Ca²⁺ kanalları) ve post-sinaptik moleküler yapılar (glutamat, NA/5HT, GABA reseptörleri, Na⁺ kanalları) santral sensitizasyona katılır. İnhibitör internöronlar ve inisiyasyon sistemleri (yeşil), sinir lezyonu sonrası işlevsiz hale gelir ve omurilik dorsal boynuz nöronlarının disinhibisyonuna yol açar santral sensitizasyon meydana getirir. (D) Periferik sinir hasarı, kemokinler aracılığıyla omurilik glial hücrelerini (gri hücreler) aktive eder. Aktive olmuş mikroglia sitokinler ve büyüme faktörleri salıvererek ve glutamat konsantrasyonlarını artırarak GDA nöronların eksitabilitesini artırır.

2.3. Ağrının Algılanma ve Yönetim Süreci

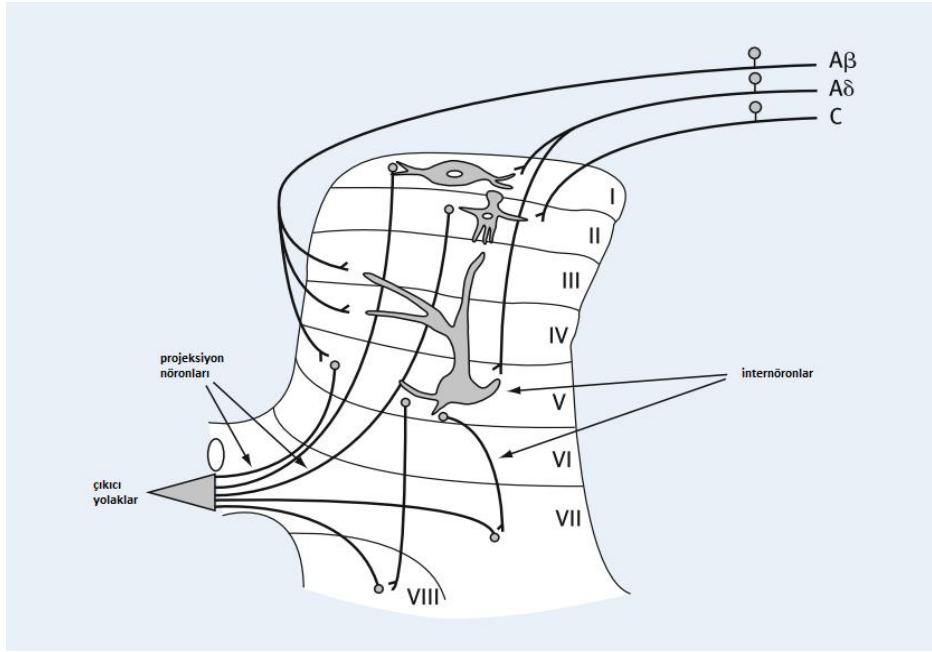
Ağrının fizyolojisi, nöral sinyallerin transdüksiyon, transmisyon, modülasyon ve algı süreçlerini kapsayan nosisepsiyon terimi ile açıklanmaktadır. Nosisepsiyon, ağrılı uyarının sinir sistemi tarafından algılanmasıdır (Steeds, 2009). Transdüksiyon süreci, nosiseptörler aracılığıyla ağrının elektrik impulslarına kodlanmasıdır (Lamont vd., 2000; Steeds, 2009). Transmisyon ise nosiseptif bilginin periferden santral sinir sistemine iletilme sürecidir (Steeds, 2009; Patel, 2010.). Bu süreç, ağrılı uyarının dokuda hasar oluşturması ile prostaglandin, bradikinin, sitokin, histamin ve serotonin gibi endojen inflamatuvar kimyasal yan ürünlerin salınması sonucu başlamaktadır (Bourne vd., 2014). Bu inflamatuvar mediyatörler, nosiseptörlerin aktif hale gelmesine ve hassaslaşmasına neden olmaktadır (Steeds, 2009). Nosiseptör olarak bilinen özelleşmiş periferel duyuşal nöronlar, inflamatuvar mediyatörler dışında sıcaklık ve basınç ile belirli nöronal sinyal yollarının aktivasyonuna neden olmaktadır (Dubin ve Patapoutian, 2010). Sinyal yollarının aşırı uyarılması ile bu uyarıyı beyin merkezlerine ileten uzun mesafeli elektrik sinyalleri oluşmaktadır ve antinoseptif veya pronoseptif yanıtlar meydana gelmektedir. Böylece nosiseptör popülasyonlarının aktivasyonu ve ilettikleri bilgilerin işlenmesi, çok çeşitli ağrı yanıtlarına neden olmaktadır (Dubin ve Patapoutian, 2010; Argoff, 2011).

Duyusal bilgi, dorsal kök gangliyonunda bulunan üç ana primer afferent nöron ile omuriliğe gelmektedir. Bu nöronlar çaplarına, miyelinlerine ve iletim hızlarına göre sınıflandırılmaktadır (Rathmell ve Fields, 2015). Titreşim, hafif bir dokunma veya hareketli uyarı gibi ağrısız uyaranlara yanıt veren, en geniş çaplı afferent lifler A β lifleridir (Steeds, 2009); bunlar omuriliğe lateral olarak gider, başlıca deriyi innerve eden sinirlerde bulunur ve iletim hızları saniyede 35 m ile 75 m arasındadır (Marchand, 2008; Bourne vd., 2014; Rathmell ve Fields, 2015). İletimin hızlı olması sonucunda, kişi ağrıyı algılamadan önce vücudun refleksleri daha hızlı bir şekilde tepki vererek geri çekilme hareketine neden olmaktadır (Helms ve Barone, 2019). A β liflerin stimülasyonu substantia gelatinosadaki nosiseptif girdileri inhibe eden inhibitör internöronları devreye sokarak da etkinlik göstermektedir (Marchand, 2008). Diğer iki primer afferent liften biri küçük çaplı miyelinsiz C lifleridir diğeri de daha büyük çaplı miyelinli A δ lifleridir (Bourne vd., 2014; Rathmell ve Fields, 2015). Bu lifler derideki derin somatik ve viseral yapılarıdaki sinirlerde bulunmaktadır (Reddi vd., 2013). Pek

çok A δ ve C liflerin afferentleri, yalnızca ağırlı uyarılara cevap verdiği için bu lifler ağrı reseptörleri olarak da bilinmektedir (Rathmell ve Fields, 2015). A δ lifleri, hem mekanik hem kimyasal uyarıya yanıt veren, sıcaklık eşıği yüksek olan yüksek eşıklı mekanik nosiseptörler ve çok daha düşük sıcaklık eşıği olan çok yüksek eşıklı mekanik nosiseptörler olarak iki ana gruba ayrılır ve keskin, lokalize ve iğne gibi batıcı ağrının algılanmasında rol almaktadır (Basbaum vd., 2009). C lifleri ise genellikle termal, mekanik ve kimyasal uyarılara cevap veren çok biçimli nosiseptörlerdir ve uzun süreli, hafif ve yaygın ağrının algılanmasında rol almaktadır (Patel, 2010).

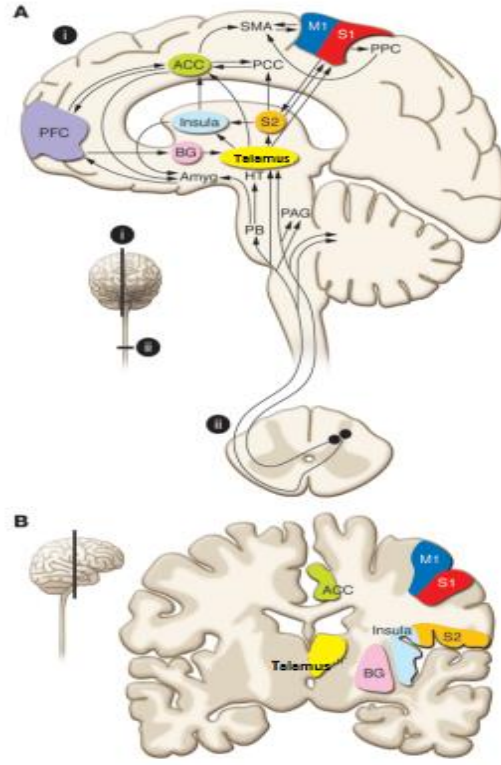
Omurilikte meydana gelen modülasyonlar, omuriliğin uyarılabilirliğini artırmaktadır. Dorsal boynuz periferik ve santral sinir sistemleri arasındaki arayüz olarak görev yapmaktadır ve birçok fizyolojik modülasyon burada gerçekleşmektedir. Dorsal boynuzda gerçekleşen modülasyon dört ana mekanizmadan oluşmaktadır. Bu mekanizmalar; endojen opioidler, segmental inhibisyon, kapı kontrol ve endojen peptitler, serotonin, noradrenalin, GABA gibi birçok nörotransmitter sistemi içeren supraspinal inisi inhibisyon yolaklarından oluşmaktadır (Serpell, 2008; Helms ve Barone, 2019). Primer afferent nöron aksonları diğer primer somatoduyusal nöronlar gibi psödounipolar yapıdadır ve omuriliğe santral projeksiyon yapan ve dokuları innerve etmek için de periferal projeksiyon yapan iki dalı bulunmaktadır (Dubin ve Patapoutian, 2010; Bourne vd., 2014). Primer afferent liflerin santral projeksiyon yaptığı omurilik dorsal boynuz, laminalara ayrılmıştır ve her bir nosiseptör farklı laminalara projeksiyon yapmaktadır. Örneğin, A δ lifleri yüzeysel lamina I'e ve derinde bulunan lamina V'e, C lifleri de II'ye projeksiyon yapmaktadır. Lamina II ve V ağrının modülasyonu ve lokalizasyonu için önemli alanlardır. GDA nöronları, lamina V'te baskındır ve nosiseptif bilginin yanı sıra düşük eşıklı mekanoreseptörlerden zararı olamayan girdi almaktadır (Lamont vd., 2000). Lamina III ve IV ise genellikle A β lifleri tarafından iletilen zararsız uyarılara cevap verici nitelik göstermektedir (Basbaum vd., 2009; Bourne vd., 2014). Ayrıca A β lifleri omuriliğin dorsal boynuzuna orta şeritten girerek dorsal kolonlarda sinaps yapmadan geçmektedir (Steeds, 2009). A δ ve C lifleri uyarıldıkları zaman, omurilik dorsal boynuzdaki laminalara sekonder nöronlarla sinaps yapmaktadır (Marchand, 2008). İkinci sıra nöronlar, spinotalamik ve spinoretiküler yollara çıkmadan omurilik dorsal boynuzda kontralateral tarafa çaprazlama yaparak çıkıcı yolaklar aracılığıyla talamusu innerve eder ve talamus aldığı bu sinyalleri farkına

vardığımız ve deneyimlediğimiz kompleks hislere yorumlayan serebral kortekse iletmektedir (Hains, 2007; Serpell, 2008; Guindon ve Hohnman, 2009; Bourne vd., 2014). Şekil 2’de Rexed laminaları ve dorsal boynuzda primer afferentlerin sonlanması özetlenmiştir.



Şekil 2. Rexed laminaları ve dorsal boynuzda primer afferentlerin sonlanması (Serpell, 2008, s. 12)

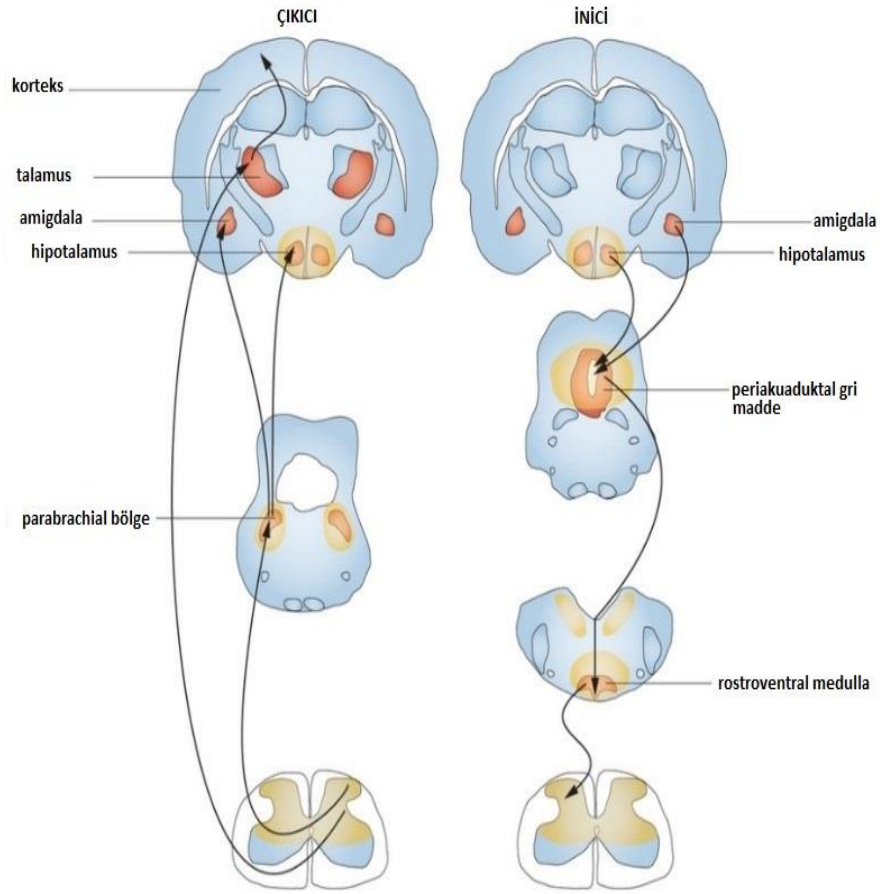
Çıkıcı afferent yollarında, ağrının duyuşal bileşenleri, spinotalamik yoldan ventrobazal medial ve lateral bölgelere doğru ilerler ve daha sonra bu bileşenler çıkıcı yolakta, ağrının yerinin ve yoğunluğunun algılanmasına izin veren somatosensoriyel korteksine projeksiyon yapar. Omuriliğin kuneat çekirdeği ve grasilis çekirdeğine doğru, spinoretiküler projeksiyonları ve dorsal kolon yolağı bulunmaktadır. Diğer limbik projeksiyonları, hipotalamus ve amigdala ile temas etmeden önce parabrakial çekirdeğe geçmektedir. Projeksiyon nöronları kontralateral talamusta son bulmakta ve serebral kortekse yansıyan talamik bir nörona sinaplanmaktadır. (Baron vd., 2010; Colloca vd., 2017). Şekil 3’te ağrı sürecinde yer alan subkortikal ve serebral kortikal yapılar özetlenmiştir.



Şekil 3. Ağrı sürecinde yer alan subkortikal ve serebral kortikal yapılar (Schweinhart ve Bushnell, 2010, s. 3789)

Ağrının duyuşal-diskriminatif ve afektif-motivasyonel bileşenleri farklı nöral yapılar tarafından iletilmektedir. Somatoduyusal talamus, primer somatoduyusal korteks (S1) ve sekonder somatoduyusal korteks (S2); uyarı lokasyonu, yoğunluk ve devam süresi gibi duyuşal-diskriminatif bileşenlerle; medyal talamus, prefrontal korteks, amigdala, hipokampus, insula ve ön singülat korteks gibi yapılar duyuşal reaksiyonları bildiren afektif-motivasyonel bileşenlerle ilişkilendirilir. Beynin bu bölgeleri arasındaki etkileşimler, inisiyatif modülasyon sistemi aracılığıyla ağrının algılanmasında değişiklikler oluşturmaktadır (Ossipov vd., 2014). ACC: Ön singülat korteks, Amig: Amigdala, BG: Bazal ganglion, HT: Hipotalamus, PAG: Periakvaduktal gri madde, PB: Parabrakial nükleus, PCC: Arka singülat korteks, PF: Prefrontal korteks, PPC: Arka parietal korteks, S1: Primer somatoduyusal korteks, S2: Sekonder somatoduyusal korteks, SMA: Tamamlayıcı motor alanı.

Beyinden gelen inisiyatif yollar, dorsal boynuz nöronları üzerindeki sinapslarla, ağrılı uyarılardan gelen sinyalleri düzenlemektedir (Pertovaara ve Almeida, 2006). Ayrıca, inhibe edici düzenleme, hayatı tehdit edici olaylar ve stres dönemlerinde artan ağrı sinyallerini baskılamaktadır. Supraspinal yapı içeren amigdala ve hipotalamustan efferent inisiyatif yollar; periakvaduktal gri maddeden (PAG), lokus koeruleus ve rostroventral medulladan oluşmaktadır (Bourne vd., 2014; Colloca vd., 2017). Şekil 4'te çıkıcı ve inisiyatif ağrı yolları özetlenmiştir.



Şekil 4. Çıkıcı ve inici ağrı yolları (Bradl vd., 2014, s. 529-536)

Çıkıcı ve inici yolların modülasyonu; hem lokal inhibitör internöronlar hem de beyin sapından, farmakolojik olarak önemli bir hedef bölge olan omuriliğe düşen projeksiyon nöronları tarafından düzenlenmektedir (Fornasari, 2014; Nishikawa ve Nomoto, 2017).

Ağrı deneyimi periferel ve santral sinir sistemi içerisindeki çeşitli nöronal sinyal yollarının aktivasyonunu içine alan karmaşık bir süreçtir. Bu süreçte pek çok nörotransmitter veya nöromodülatör birlikte yer alır ve antinosiseptif veya pronosiseptif yanıtlar üretir (Argoff, 2011). Ağrının modülasyonunda yer alan temel modülatörlerin, opioidergik, serotonergik, noradrenergik, glutamergik ve GABAergik inhibisyon olduğu bilinmektedir (Zeilhofer, 2005). Nöromodülatörlerin yanı sıra voltaj bağımlı ($Na_v1.1 - Na_v1.9$, K_v1-K_v7 , $Ca_v2.1$, $Ca_v2.2$, L-tipi Ca^{+2} kanalı, T-tipi Ca^{+2} kanalı, Cl^- kanalı, TRPV1 kanalı gibi) ya da ligand bağımlı iyon kanallarının (Nikotinik asetilkolin reseptör kanalı, $GABA_A$ ve glisin reseptör kanalları, $5-HT_3$ kanalı, NMDA, AMPA, kainat glutamat reseptör kanalları, P2X kanalı gibi) aktivitesi de sinirsel uyarılabilirliği etkilemesi açısından ağrı oluşum ve kontrol sürecinde önemli yer tutmaktadır (Akay

vd., 2010; Alexander vd., 2011). Bu tez çalışmasında, söz konusu mekanizmalar ile ilgili ayrıntıya girilmemiş, yalnızca protokateşik asitin anti-allodinik ve antihiperalezik etkisine katkısının araştırıldığı aşağıdaki mekanizmalara yer verilmiştir.

2.3.1. Ağrı Modülasyonunda Purinerjik Sistemin Rolü

Purinerjik sistemin canlılarda birçok fizyolojik koşulda yer aldığı ve kardiyovasküler sorunlar, astım gibi solunum yolu hastalıkları, enfeksiyon, diyabet ve obezite gibi birçok hastalığın tedavisi için potansiyel bir terapötik hedef haline geldiği bilinmektedir (Nascimento vd., 2012; Burnstock, 2018). Bunun dışında santral ve periferik nosisepsiyon/pronosepsiyon veya antinosepsiyon/analjezide önemli rol oynamaktadır (Hayashida vd., 2005). Purinerjik sistemin ağrıdaki rolünün mikroglialar üzerinden olduğu düşünülmektedir. Yapılan bir çalışmada, periferik sinir hasarı ile indüklenen nöropatik ağrıda, spinal dorsal boynuzdaki purinerjik reseptörleri içeren hücre yüzeyi reseptörlerinin ve hücre içi sinyal moleküllerinin ekspresyonundaki değişim ile mikroglia hücrelerinin aktif hale geldiği görülmektedir. Purinerjik reseptör aracılı spinal mikroglia fonksiyonlarının dorsal boynuzundaki patolojik olarak geliştirilmiş ağrı işlemlerine katkıda bulunduğu ve mikroglial purinoseptörlerin, nöropatik ağrının tedavisi için umut verici hedefler olabileceği düşünülmektedir (Inoue ve Tsuda, 2012). Purinerjik sisteminin, P1 ve P2 reseptör sınıfları bulunmaktadır. P1 (adenozin) reseptörü G-protein kenetlidir ve A₁, A_{2A}, A_{2B} ve A₃ olarak dört farklı alt tipi vardır; P2 reseptörleri ise P2X ve P2Y olarak ikiye ayrılmaktadır. P2X iyon kanal reseptörlerinin yedi alt tipi; P2X1-P2X7 ve P2Y G-protein kenetli reseptörlerinin sekiz alt tipi; P2Y1, P2Y2, P2Y4, P2Y6, P2Y11, P2Y12, P2Y13 ve P2Y14 vardır (Nascimento vd., 2012; Burnstock, 2018).

Akut veya kronik ağrılı hastalarda, pürin nükleositin (adenozin) ve pürin nükleotit adenozin 5'-trifosfatın (ATP) ağrı kesici etkiye aracılık ettiği belirtilmektedir (Hayashida vd., 2005). ATP uzun zamandır canlı hücrelerde ana enerji kaynağı olarak bilinmektedir. Diğer klasik nörotransmitterler ve nöromodülatörlerin aksine, ATP'nin hücre dışı eylemleri, vücuttaki hemen hemen tüm hücre tiplerini etkileyebileceği için pleiotropiktir ve P2 pürinerjik reseptörlerin her iki alt sınıfını aktive ederek etkinlik göstermektedir (Burnstock vd., 2014; Burnstock, 2016). Yapılan bir çalışmada, periferik sinir hasarı nedeni ile nosiseptif sinyalleşmeyi artıran P2X3 reseptör aktivasyonunun, endojen ATP salınımına neden olarak kronik nöropatik ağrının başlaması ve gelişmesi

ile ilişkilendirildiği görülmektedir (Burnstock vd., 2014; Jun-2019). Hem periferik hem de santral sinir sisteminin ko-transmitteri olan ATP'nin, nosisepsiyon ve kronik ağrı mekanizmalarında kritik bir rol oynadığı belirtilmektedir (Burnstock, 2016; Tao vd., 2019). Dokuların metabolik aktivitesinin artması sonucunda ATP parçalanmaktadır ve dokuda adenosin monofosfat (AMP) seviyesi artmaktadır. Artan AMP, plazmada bulunan 5'-nükleotidaz enzimi ile adenosine hidroliz olmaktadır (Guieu vd., 1998). Adenosin, periferik ve santral sinir sisteminde çeşitli modülatör etkilere sahip endojen bir bileşiktir. Nörotransmitterlerin salınmasının, adenosin reseptörlerinin aktivasyonu ile kısmen kontrol edildiği düşünülmektedir ve adenosin ve analoglarının akut ağrı modellerinin nosiseptif refleks yanıtları üzerinde, inhibe edici etkileri olabileceği bildirilmiştir (Cui vd., 1997). Adenosin A₁ ve A₂ reseptörleri hem santral hem de periferik sinir sistemlerinde, esas olarak omurilikte dorsal boynuzun temelini oluşturan substantia gelatinosadaki intrinsik nöronlar üzerinde ve dorsal kök ganglionların küçük ile orta çaplı nöronları üzerinde bulunmaktadır (Cui vd., 1997; Nascimento vd., 2012; Katz vd., 2015). A₁ reseptörleri (A₁R) çoğunlukla neokorteks, serebellum, hipokampus, dorsal boynuz, adipoz doku, kalp kası, ve nötrofil gibi inflamatuvar hücrelerde bulunmaktadır (Sachdeva ve Gupta, 2013). A₂ reseptör (A₂R) blokajının, ağrı modellerinde antinosisepsiyon ürettiği iddia edilirken (Burnstock, 2016), A₁R aktivasyonunun, mekanik hiperaljeziye karşı antinosisepsiyon ile sonuçlandığı bilinmektedir.

Birçok çalışma ile A₁R aktivasyonunun, spinal, supraspinal ve periferik bölgelerde ağrı iletimini düzenlediği ve inflamatuvar etkinlik gösterdiği bildirilmektedir (Sawynok ve Liu, 2003). Yapılan *in vivo* çalışmalar, A₁R agonistlerinin, hiperaljezi ve formalin testleri ile antinosiseptif etki gösterdiğini kanıtlamaktadır (Nascimento vd., 2012). A₁R'nin santral aktivitesi, nörotransmitterlerin salınımıyla uyarıcı sinyallerin presinaptik veya postsinaptik inhibisyonunu ve ağrı iletiminin azalmasını içeren çeşitli mekanizmalar yoluyla sinaptik transmisyonu inhibe etmektedir (Katz vd., 2015). Ayrıca klinik çalışmalar sonucunda, kronik nöropatik ağrılı hastalarda, adenosin bileşiklerinin ağrı modülasyonundaki ana etkisine, spinal veya supraspinal düzeyde A₁R'ne bağlı santral sensitizasyonun aracılık ettiği görülmektedir. Yapılan birçok çalışma, A₁R'lerinin intratekal enjeksiyonunun, kuyruk çekme, sıcak plaka, formalin, asetik asit, kapsaisin modelleri dahil olmak üzere çeşitli akut ağrı hayvan modellerinde de

analjeziye neden olduğunu göstermektedir (Song vd., 2011; Nascimento vd., 2012). Yapılan çalışmalarda, periferik A₁R aktivasyonunun formaline bağlı ağrıyı inhibe ettiği ve PGE₂'nin indüklediği hiperaljeziyi azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca, periferik adenozin A₁R aktivasyonunun, NO/sGMP/PKG/K_{ATP} hücre içi sinyal yolunu tetiklediği ve ağrı oluşumunu önlediği görülmektedir (Lima vd., 2010). Bunların dışında, nöropatik ağrı geliştirilmiş hayvanlarda santral ve periferik A₁R stimülasyonunun, nöropati ile gelişen hiperaljezi ve allodiniyi iyileştirdiği gösterilmiştir (Nascimento vd., 2012; Katz vd., 2015). Sonuç olarak adenozin bileşiklerinin, akut perioperatif ağrı ve kronik nöropatik ağrıda kullanılan mevcut ilaçların sınırlı etki gösterdiği durumlarda potansiyel terapötik etki gösterdiği bilinmektedir (Hayashida vd., 2005). Ayrıca nöropatik ağrı tedavisinde etkili bulunan karbamazepinin adenozin reseptörleri üzerinden antinosiseptif etki gösterdiği bilinmektedir (Tomić vd., 2004).

Omurilik dorsal boynuz transmisyon nöronlarında veya internöronlarda yer alan adenozin A₁R'leri farklı G protein türleriyle (G_{i-1}, G_{i-2}, G_{i-3} veya G₀) etkileşime girmektedir (Guieu vd., 1998). Bazı çalışmalar, A₁R aktivasyonunun, G_{i/o} proteini aracılığı ile miyositlerde ATP duyarlı K⁺ (K_{ATP}) kanallarının açıldığını ve meydana gelen hiperpolarizasyona bağlı farklı beyin bölgelerinde asetilkolin, glutamat, GABA ve serotonin gibi nörotransmitterlerin salınımını engelleyerek etki gösterdiğini bildirmektedir (Guieu vd., 1998; Li vd., 2010).

2.3.2. Ağrı modülasyonunda potasyum kanalının rolü

K⁺ kanalları, insanlarda yaklaşık 78 gen tarafından yönetilen, nöronlardaki en kalabalık, yaygın dağılım gösteren çok çeşitli iyon kanallarıdır. K⁺ kanalları, aksiyon potansiyeli eşliğini, dalga formunu ve frekansı etkilemekte ve transmembran K⁺ akışını kolaylaştırmaktadır. K⁺ kanal açıklığı nöronal membranı repolarize veya hiperpolarize etmektedir ve hiperpolarizasyon nedeniyle aksiyon potansiyeli oluşumunu engelleyebilir (Tsantoulas ve McMahon, 2014). K⁺ kanalları ayrıca, geniş moleküler çeşitlilik gösterir ve bu çeşitlilik sorumlu oldukları fizyolojik fonksiyonlarının geniş spektrumlu olmasına neden olmaktadır. K⁺ kanalları yapılarına göre sınıflandırılmaktadır. Voltaj kapılı K⁺ kanalları (K_v), dört K_v alt ünitesinin homo ve heteromerik kompleksleri tarafından fonksiyonel kanallardan oluşmaktadır. K_v kanallarının 12 ailesi (K_v1-K_v12) bulunmaktadır. Nöronal K_v7 kanal açıcıları antinosiseptif etki göstermektedir. Ca⁺² ile aktifleşen K⁺ kanalları (K_{Ca}), genellikle

büyük, orta ve küçük Ca^{+2} iletkenliği ile aktifleşen K^+ kanalları olarak adlandırılır ve antinosisepsiyonda görev almaktadır. İki gözenekli K^+ kanalları (K_{2P}), omurilik dorsal boynuzda lamina I ve II üzerinden nosisepsiyona katılmaktadır. İçeri doğrultucu K^+ kanalları (K_{ir}), memelilerde K_{ir1} - K_{ir7} olmak üzere 7 aileye bölünmüş 15 K_{ir} kanal alt birimi bulunmaktadır (Ocaña vd., 2004; Du ve Gamper, 2013; Busserolles vd., 2016). Bu K_{ir} kanallarının iki ailesi nosisepsiyon için önemlidir: G-proteini tarafından düzenlenen içeri doğrultucu K^+ kanalları (GIRK veya K_{ir3}) ve K_{ATP} kanalları (K_{ir6}) (Ocaña vd., 2004). K_{ATP} kanalları, dört düzenleyici sülfonilüre reseptörü (SUR) alt birimi ile bir araya getirilen dört gözenekli K^+ kanalı ve K_{ir} yapılmış oktamerlerdir. K_{ATP} kanalları, supraspinal (korteks, hipokampus, hipotalamus, locus koeruleus) ve spinal (dorsal boynuz) seviyedeki santral sinir sisteminin çeşitli kısımlarında bulunmaktadır (Lawson, 2006). Periferik ve santral nöronların yanı sıra K_{ATP} kanallarının, $K_{ir6.2}$ -SUR1 (pankreas adacık hücreleri), $K_{ir6.2}$ -SUR2A (kalp) ve $K_{ir6.1}/K_{ir6.2}$ -SUR2B (vasküler düz kas) alt tipini içeren farklı birçok dokuya özgü alt birim kombinasyonları tanımlanmaktadır (Zoga vd., 2010; Wu vd., 2011). Periferik sinir sisteminde, duyuusal nöron hücre gövdeleri, dorsal kök gangliyonlarında bulunmakta ve hem periferik hem de santral hedeflere zarar veren aksonlara yayılım göstermektedir (Rasband-2001). K_{ATP} kanalları, fizyolojik ATP tarafından inhibe edilmekte ve hücre içi ADP/ATP oranı, hipoksi, iskemi veya metabolik stres gibi ikincil enerji tüketiminin bir sonucu olarak arttığı zaman K_{ATP} kanalları aktive olmaktadır. K_{ATP} kanal aktivasyonu ile K^+ akışı meydana gelmektedir. Bu durum membran hiperpolarizasyonuna, eksitabilitenin ve transmitter salgılanmasının azalmasına neden olmaktadır (Zoga vd., 2010; Wu vd., 2011). K_{ATP} kanalları, membran uyarılabilirliği, nörotransmitter salınımının düzenlenmesi ve nöroprotektif etki gibi önemli rollere sahiptir (Wu vd., 2011). K_{ATP} kanalları, birçok G protein kenetli reseptör agonistleri tarafından indüklenen antinosisepsiyonda rol almakta ve K_{ATP} kanal açıcılarının santral uygulanmasının, hayvan modellerinde nosiseptif etkiyi inhibe ettiği görülmektedir (Lawson, 2006).

Dorsal kök gangliyon nöronlarında ağrılı sinir hasarından sonra K_{ATP} akımlarının azaldığı rapor edilmiştir. K_{ATP} akımının azalması, membran uyarılabilirliğinin artması, nörotransmitterlerin serbest bırakılmasının güçlenmesi ve hücre ölümüne karşı duyarlılığın artmasıyla nöropatik ağrıya neden olmaktadır (Zoga vd., 2010; Zhu vd.,

2015). Ayrıca omurilikteki sinir hasarı sonrası K_{ATP} kanallarının azalması, astroglial kavşak fonksiyonunu bozarak, nöropatik ağrıya neden olabilir. K_{ATP} kanal açıcı kromakalimin, astroglial kavşakları düzenlediği ve nöropatik ağrı tedavisinde etkili olduğu görülmektedir (Zhu vd., 2015). Yapılan çalışmalarda, K_{ATP} kanal agonistlerinin kemirgenlerde, deri yaralanması, formalin enjeksiyonu ve spinal sinir ligasyonu ile akut ve kronik ağrının azalmasında rol oynadığı belirtilmektedir (Luu vd., 2019). Sinir hasarı ile oluşan nöropatik ağrı ile ATP kanalının down regülasyonu indüklenirken, K_{ATP} kanal açıcıları ile nöropatik ağrı tedavi edilmektedir (Xia vd., 2014). Yapılan çalışmalarda, K_{ATP} kanal açıcılarının antinosisseptif etkilerinin, opioid reseptör aktivasyonu ile oluşan antinosisepsiyon mekanizmalarını uyarabileceğini gösteren kanıtların olduğu belirtilmektedir. Bununla birlikte, doğrudan K_{ATP} aktivasyonunun periferik antinosisepsiyon üzerindeki etkileri üzerine yapılan çalışmaların yeterli olmadığı görülmektedir (Du vd., 2011).

2.4. Nöropatik Ağrının Hayvan Modelleri

Nöropatik ağrının tedavisinde, ilaç sayısındaki yetersizlikler ve mekanizmasının yeterli olarak aydınlatılamaması nedeniyle deneysel nöropati modelleri önem kazanmıştır (Ulugöl vd., 2006). Nöropatik ağrının farklı etiyojilerini, periferik sinir hasarı ve spinal sinir hasarının neden olduğu periferik ve santral ağrı modellerini içeren çeşitli hayvan modelleri bulunmaktadır. Deneysel nöropatik ağrı modelinin oluşması için deney hayvanı olarak sıklıkla sıçan kullanılmaktadır (Jaggi vd., 2011).

Nöropatik ağrı modelleri; santral uygulamalara bağlı modeller (epileptojenik yaklaşım, eksitotoksik omurilik zedelenmesi, fotokimyasal omurilik zedelenmesi, allen modeli), sistemik uygulamalara bağlı modeller (streptozosin ve alloksan ile oluşturulan diyabetik nöropati, obesiteye bağlı ve nutrisyonel diyabetik nöropati, postherpetik nevralji ve kemoterapötiklerle oluşturulan periferik nöropati), total denervasyon modelleri (aksotomi, total siyatik sinir kesisi ve resütüre edilmesi ile oluşturulan nöropati, total siyatik sinir ezilmesi ile oluşturulan nöropati, total siyatik sinir dondurulması ile oluşturulan nöropati, multipl servikal spinal nörektomi, total brakial pleksus kesisi, total trigeminal rizotomi, dorsal rizotomi, ventral rizotomi, inferior kaudal gövde rezeksiyonu) ve parsiyel denervasyon modelleri (kronik konstrüksiyon sinir hasarı, parsiyel sıkı ligasyon, spinal sinir ligasyonu, siyatik sinirin periferik dallarının zedelenmesi, safen sinirin zedelenmesi, parsiyel trigeminal rizotomi, multipl

dental pulpektomi, trigeminal kronik konstrüksiyon sinir hasarı) olarak sınıflandırılmaktadır (Wang ve Wang, 2003; Ulugöl vd., 2006; Sousa vd., 2016).

Nöropatik ağrı modelleri arasında cerrahi modeller, ağrı indüklenmesinde önem taşımaktadır. Siyatik sinirin kronik konstrüksiyon hasarı, kısmi siyatik sinir ligasyonu, spinal sinir ligasyonu, ayırık sinir hasarı, brakiyal pleksus kopması, siyatik sinirin enine kesilmesi ve siyatik sinirin üç eşit parçaya bölünmesi gibi birçok cerrahi hayvan modeli bulunmaktadır (Challa, 2015). Yapılan çalışmalara göre, periferik ve santral fizyolojik süreci içeren spinal ve siyatik sinir ligasyonu nöropatik ağrı mekanizmalarının temelini oluşturmaktadır (Vranken, 2009).

2.5. Nöropatik Ağrının Tedavisi

Preklinik çalışmalar, periferden santral sinir sistemine kadar çeşitli anatomik, moleküler ve elektrofizyolojik değişiklikleri ve nöropatik ağrı ve tedavileri hakkındaki bilgileri ortaya koymaktadır (Colloca vd., 2017). Nöropatik ağrının tedavisinde, ilaç sayısındaki yetersizlikler ve mekanizmasının yeterli olarak aydınlatılamaması nedeniyle yeni ve farklı mekanizmalara sahip yan etki açısından daha iyi tolere edilebilen ilaçların geliştirilme çalışmaları devam etmektedir.

Nöropatik ağrı hastalarına alternatif tedaviler uygulansa da, non-farmakolojik tedavinin etkinliğini destekleyen kanıtlar sınırlıdır (Gilron vd., 2006). Güncel klinik çalışma verileri nöropatik ağrının tedavisinde, nortriptilin, amitriptilin ve imipramin gibi trisiklik antidepresan (TSA)'ların, duloksetin gibi serotonin-noradrenalin geri alım inhibitörü (SNRI)'nün, pregabalin ve gabapentinin birinci basamak tedavi olarak kullanılmasını desteklemektedir (O'Connor ve Dworkin, 2009; Alles, 2018). Tramadol gibi zayıf opioidler, kanser ağrısının ve postoperatif ağrının kontrolünde endikedir fakat esas olarak nosiseptif ağrının tedavisinde kullanılmaktadır (Galluzzi, 2005; Hagen ve Rekan, 2015; Nishikawa ve Nomoto, 2017). Yapılan bir çalışmaya göre, nöropatik ağrı tedavisi için reçetelenen ilaçların %30,1'ini antidepresanların, %20,4'ünü antikonvülzanların ve %20,1'ini opioid analjeziklerin oluşturduğu görülmektedir. Antikonvülzan olan karbamazepinin, nöropatik ağrının tüm koşullarında sıklıkla reçete edildiği belirtilmektedir (Hall vd., 2006). Ayrıca, nöropatik ağrı ve ameliyat sonrası ağrı modellerinde morfinin analjezik etkinliğini artırdığı bildirilmektedir. Bunlara ek olarak karbamazepinin hasta uyuncunu azaltan birçok yan etkileri bulunmaktadır. Bunlar baş

dönmesi, uyuşukluk, ataksi, bulantı, kusma, bulanık görme, konfüzyon, güçsüzlük, halsizlik, nistagmus, aplastik anemi, karaciğer fonksiyon testlerinde anormallikler ve çok nadir görülen karaciğer yetmezliği olarak sıralanmaktadır (Ren vd., 2015). Bununla birlikte TSA kullanımı ile sedasyon, antikolinergik etkiler ve ortostatik hipotansiyon gibi yaygın yan etkiler görülebilir, bu yan etkiler nedeniyle serotonin selektif gerilim inhibitör (SSRI)'lerin kullanımının artışı da görülmektedir (Khangura vd., 2019).

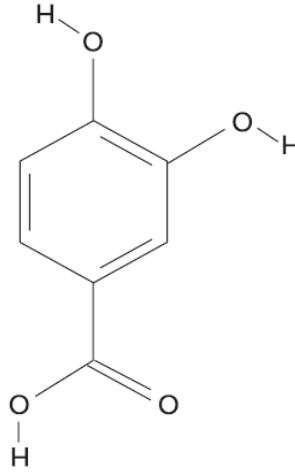
Nöropatik ağrı ile ilişkili anomalileri iyileştirmek ve kullanılacak sayısız hedefleri keşfetmek için birçok çalışma yapılmaktadır. Bu çalışmaların çoğu noradrenalin ve serotonin taşıyıcılarını, voltaj kapılı sodyum kanallarını, voltaj kapılı kalsiyum kanallarını, purinerjik reseptörleri (P1, P2Y ve P2X), TRP kanallarını, metabotropik ve iyonotropik (NMDA ve AMPA) glutamat reseptörleri ve glial glutamat taşınmasını inhibe etmeyi hedeflemektedir. Birçok çalışma da voltaj kapılı potasyum kanallarının, GABA reseptörlerinin ve taşıyıcılarının açılmasını hedeflemektedir (Khangura vd., 2019). Bunların dışında nöropatik ağrının mekanizmasını aydınlatmak için K_{ATP} kanal açıcılar ve A_1R agonistlerinin etkili olduğu çalışmalar da son yıllarda dikkat çekmektedir (Lima vd., 2010).

2.5.1. Nöropatik ağrının bitkisel tedavisi

Yapılan araştırmalar, eski uygarlık dönemlerinde insanların hastalıklardan korunmak ve tedavi olmak için bitkileri kullandığını ve bitkilerin birçok biyolojik aktif bileşiklerinin yeni ilaç keşifleri için bir kaynak niteliği gösterdiğini belirtmektedir (Küpeli vd., 2007). Nitekim sadece geçmişte değil günümüzde de bitkisel ilaçlardan tedavide faydalanılmaktadır (Forouzanfar ve Hosseinzadeh, 2018). Geleneksel ve modern tıpta, hastalıkların tedavisinde kullanılan bitkilere 'tıbbi bitki' adı verilmektedir (Deveci vd., 2017). Son yıllarda hastalıkların hafif komplikasyonlarında kullanılan sentetik ilaçların ciddi yan etki profilleri nedeniyle, tıbbi bitkilerin aktif bileşenlerinden elde edilen bitkisel ilaçların kullanımının arttığı görülmektedir (Singh vd, 2017; Forouzanfar ve Hosseinzadeh, 2018). Antioksidan bileşiklerin başlıca kaynağını oluşturan tıbbi bitkilerin birçok hastalığın tedavisinde kullanımı giderek artmaktadır ve içerdikleri aktif fenolik maddelerin analjezik ve anti-inflamatuvar etkiye aracı olduğu bildirilmektedir (Singh vd., 2017; Stern, 2019). Ayrıca akut ağrıda olduğu gibi; nöropatik ağrılı hastalarda yapılan çalışmalarda da fenolik bileşik içeren bitkisel

ilaçların antioksidan, anti-inflamatuvar, anti-apoptotik ve nöroprotektif etkiler aracılığıyla analjezi sağladığı bilinmektedir (Forouzanfar ve Hosseinzadeh, 2018).

2.5.1.1. Protokateşik asit



Şekil 5. Protokateşik asitin kimyasal yapısı (Khan vd., 2015, s. 644)

Protokateşik asit (Şekil 5. 3,4-dihidroksibenzoik asit) antioksidan aktivite ve ilave biyolojik fonksiyonları nedeniyle araştırmacıların son birkaç yıldır ilgisini çeken bir katekol tipi o-difenol fenolik asittir (Masella vd., 2012). Fenolik asitler; hidroksibenzoik ve hidrokisisinamik asitlerden oluşmaktadır (Yakup, 2008). Hidroksibenzoik asitler, ortak olarak C6-C1 yapısına sahip olan salisilik, gallik, p-hidroksibenzoik, protokateşik ve vanilik asitleri içermektedir. Hidrokisisinamik asitler, kafeik, ferulik ve p-kumarik asitlerin bulunduğu, üç karbonlu yan zinciri olan aromatik bileşiklerdir (Balasundram vd., 2006). Yüksek oranda antioksidan aktiviteye sahip olan fenolik asitler analjezik, anti-aging, antidiyabetik, kardiyoprotektif ve antikanser etkinlik göstermektedir. (Saibabu vd., 2015; Yao vd., 2016; Boussouf vd., 2017; Pajak vd., 2019). Son yıllarda dikkat çeken ve bu tez çalışmasında kullanılan protokateşik asit yalnızca kepek ve karabuğdayda değil, çay, erik, üzüm, hindiba, ahududu, karnabahar, fındık gibi birçok meyve ve sebze de düşük konsantrasyonlarda yaygın olarak bulunmaktadır (Khan vd., 2015; Han vd., 2018). Serbest radikal üretimini önleyerek ve radikallerin uzaklaştırılması ile nötralizasyonlarını sağlayarak güçlü antioksidan aktivite gösteren protokateşik asitin oksidatif stres kaynaklı nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde etkili olduğu bildirilmektedir (Khan vd., 2015; Kho vd., 2018). Hem meyve ve sebzelerde bulunan antosiyaninlerin ve prosiyanidinlerin ana metaboliti olması hem de

nöroprotektif etkilere sahip olması son yıllarda protokateşik asite ilginin artmasına neden olmaktadır (Pereira vd., 2017). Protokateşik asitin dolaşımında yüksek konsantrasyonlarda bulunabildiği ve kolayca kan beyin bariyerini geçebildiği bilinmektedir. *In vitro* ve *in vivo* yapılan çalışmalar, Alzheimer ve Parkinson hastalıkları gibi nörodejeneratif süreçlerin kontrolünde etkili ve bu süreçte güvenli terapötik aday olduğunu göstermektedir (Krzysztoforska vd., 2019). Bunun dışında antidiyabetik, anti-inflamatuvar, antiseptik, analjezik, antineoplastik, anti-apoptotik, anti-ülser, antispazmodik, antihiperlipidemik, antibakteriyel, anti-astmatik ve nöroprotektif aktivite dahil olmak üzere çeşitli farmakolojik aktiviteye sahip olduğu bildirilmektedir (Luo vd., 2015; Khan vd., 2015; Dhanshree vd., 2017; De vd., 2018).

Sentetik ilaçların birçoğu yan etkilere neden olduğu için yeni ve güvenli analjezik ve anti-inflamatuvar ajanlara ihtiyaç duyulmaktadır. Birçok kaynak, polifenollerin sinyal iletim yollarını değiştirerek etkili olabileceklerini ileri sürmektedir (Masella vd., 2012). Bu bağlamda son araştırmalara göre, protokateşik asitin, kimyasal ve ısı ile indüklenen ağrı ve inflamasyon modellerinde önemli analjezik ve anti-inflamatuvar aktivite gösterdiği bildirilmektedir (Lende vd., 2011; Masella vd., 2012). Arslan ve ark., (2018), protokateşik asitin spinal/supraspinal seviyelerde kolinerjik, opioid ve noradrenerjik sistemlerin dahil olduğu bir analjezi sağladığını bildirmişlerdir (Arslan vd., 2018). Dhanshree ve ark., 2017'de yaptığı bir çalışmada, diyabetik nöropatik ağrı modelinde 21 gün boyunca protokateşik asit ile yapılan tedavinin, ağrı eşiğini arttırdığını göstermiştir. Protokateşik asitin analjezik etkisinin sınırlı sayıda çalışmada gösterilmiş olması nedeniyle, söz konusu etkinliğe aracılık eden mekanizmalar henüz tam olarak bilinmemektedir (Dhanshree vd., 2017).

Bu bilgilerden hareketle bu tez çalışmasında protokateşik asitin nöropatik ağrı üzerine olası etkisinin belirlenmesi ve bu etkinliğin K_{ATP} kanalları ve A_1R stimülasyonu ile ilişkisinin aydınlatılarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla; sıçanlarda KKH ile indüklenen nöropatik ağrı modelinde oral olarak uygulanan 75, 150 ve 300 mg/kg protokateşik asitin olası anti-allodinik etkisi elektronik von Frey cihazı ile ve antihiperalezik etkisi plantar test (Hargreave's Methodu) ile değerlendirilerek referans ilaç olarak kullanılan 50 ve 100 mg/kg karbamazepin ile karşılaştırılması planlanmıştır. Protokateşik asitin indüklediği anti-allodinik ve antihiperalezik aktiviteye A_1R stimülasyonunun ve K_{ATP} kanal açılımının katkısı sırasıyla A_1R antagonisti DPCPX (3 μ g) ve K_{ATP} kanal antagonisti glibenklamid (60,7 nmol) kullanılarak araştırılmıştır. Ayrıca, oluşturulan bir kombinasyon grubuyla, karbamazepin ve protokateşik asit kombinasyonunun sağlayabileceği avantajın değerlendirilmesi de amaçlar arasında yer almaktadır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Kimyasallar

Protokateşik asit (Santa Cruz Biotechnology, Dallas, A.B.D.), Ketamin (Richter Pharma AG, Wels, Avusturya), Ksilazin (Bioveta, Ankara, Türkiye), Karbamazepin (Sigma), K_{ATP} kanal antagonisti Glibenklamid (Sigma), A₁R antagonisti DPCPX (Abcam, İstanbul, Türkiye).

3.2. Kullanılan Cihazlar

Elektronik von Frey Cihazı (Ugo Basile, No: 38450=004, Varese, İtalya), Plantar Test-Hargreaves Aparatı (Model no: 37370; Ugo-Basile, 7280, İtalya), Ultrasonik Su Banyosu (Heto, Allerod, Danimarka), Hassas Terazı (Ohaus, E12140, İsviçre).

3.3. Deney Hayvanları

200-250 g ağırlığında Sprague Dawley dişi sıçanlar kullanılmıştır. 12 saat aydınlık 12 saat karanlık döngüsüne ayarlanmış 22 ±1 °C sıcaklığındaki iyi havalandırılan odalarda barındırılan hayvanlar deneylerden birkaç gün önce deney yapılacak odaya alınarak deney ortamına alışması sağlanmıştır. Beslenmeleri amacıyla standart yem pelletleri ve çeşme suyu verilmiştir. Hayvan deneyleri için Anadolu Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Komitesi (Karar No: 2018-41, 11.09.2018) tarafından Etik Kurul Onayı alınmıştır.

3.4. Deney Gruplarının Oluşturulması ve İlaç Uygulamaları

KKH'ye bağlı nöropati gelişiminin tespiti için tüm sıçanların cerrahi işlem öncesi termal (Plantar Test) ve mekanik (Elektronik von Frey filament) ağrı eşikleri ölçülmüştür. Daha sonra cerrahi işlem ile KKH'ye bağlı nöropati modeli oluşturulmuştur. Bir grup sham kontrol grubu olarak kullanılmak üzere sinir hasarı oluşturulmadan yalnızca sham operasyonuna tabi tutulmuştur. Sinir hasarı oluşturulduktan ve sham operasyonundan 7 gün sonra, termal ve mekanik eşikler tekrar ölçülmüş ve nöropati gelişiminin gözlenmediği sıçanlar deneye alınmamıştır. 8. gün ilaç uygulamaları yapıp allodini ve hiperaljezi test yöntemleri uygulanarak ilaç etkinliği ve etki mekanizması çalışmaları yapılmıştır. %50 PEG (polietilen glikol) ve %8 DMSO (dimetil sülfoksit) çözeltilerinin 1:1 oranının karışımı protokateşik asitin çözücüsü

olarak kullanılmıştır. Protokateşik asit ve karbamazepin uygulamaları gavaj seti yardımıyla oral yolla yapılırken tüm antagonist uygulamaları intraplantar yolla yapılmıştır.

Antihiperalejik ve anti-allodinik etkinliği değerlendirmek üzere sıçanlar 12 gruba ayrılmıştır. (n=8). Bu gruplara sırasıyla;

1. Eşit hacim çözücü uygulaması Sham kontrol grubu
2. Eşit hacim çözücü uygulaması Nöropatili kontrol grubu
3. 75 mg/kg protokateşik asit uygulaması,
4. 150 mg/kg protokateşik asit uygulaması,
5. 300 mg/kg protokateşik asit uygulaması,
6. 50 mg/kg karbamazepin uygulanması,
7. 100 mg/kg karbamazepin uygulanması,
8. 150 mg/kg protokateşik asit ile 50 mg/kg karbamazepin kombine uygulaması,
9. Çözücü uygulanmasından 15 dk önce A₁ reseptör antagonisti 3 µg/kg DPCPX ön-uygulaması,
10. Protokateşik asit uygulamasından 15 dk önce A₁ reseptör antagonisti 3 µg/kg DPCPX ön-uygulaması,
11. Çözücü uygulanmasından 30 dk önce K_{ATP} kanal antagonisti 60,7 nmol glibenklamid ön-uygulaması,
12. Protokateşik asit uygulamasından 30 dk önce K_{ATP} kanal antagonisti 60,7 nmol glibenklamid ön-uygulaması,

yapılmıştır.

Aktivite kafesi ile lokomotor aktivitenin değerlendirilmesi için ise nöropati modeli geliştirilmiş 2 ayrı grup (**13.** ve **14.** grup) oluşturulmuştur. Bir gruba çözücü uygulaması yapılırken, diğer gruba etkili bulunup etki mekanizması çalışmasında da uygulanan dozda (300 mg/kg) protokateşik asit uygulaması yapılmıştır.

3.5. Deneysel Yöntemler

3.5.1. Kronik konstrüksiyon sinir hasarı (KKH)'na bağlı nöropati modelinin oluşturulması

Kronik konstrüksiyon zedelenmesi Bennett ve ark. tarafından 1988 yılında geliştirilen ve nöropatik ağrı ile ilişkili deneysel çalışmalarda sıklıkla kullanılan bir modeldir. Sıçanlar intraperitoneal yolla uygulanan 90 mg/kg ketamin + 10 mg/kg ksilazin ile anesteziye alındıktan sonra (Pathak vd., 2013), sıçanın sağ arka bacağı femurla 90 derecelik açı oluşturulacak şekilde sabitlenmiş ve bu bacağa, kalçanın distalinde, femurun 3-4 mm altına, uzunlamasına eksenini boyunca 1 cm'lik bir kesi atılmıştır. Siyatik siniri açığa çıkarabilmek için önce sinirin üst kısmında bulunan doku ve kas tabakası ayrılmıştır. Daha sonra bu sinire, unilateral olarak, 4/0 ipek katküt (Doğsan, Trabzon, Türkiye) ile eşit aralıklarla dört ayrı gevşek düğüm atılmıştır (Austin vd., 2012). Düğümleri uygun pozisyonda tutabilmek için her bir düğüm üzerine ikinci bir düğüm daha atılmıştır ve serbest kalan uçlar 1 mm olacak şekilde kesilmiştir (Shi vd., 2011). Kesi atılan bölge 4/0 ipek katküt (Doğsan, Trabzon, Türkiye) ile dikilerek kapatıldıktan sonra iyot çözeltilisi kullanılarak sterilize edilmiştir. Operasyon sonrası hayvanlar ayrı kafeslere alınarak anesteziden çıkana kadar dikkatlice gözlemlenmiş ve ilaç uygulamasından önce bir hafta nöropati gelişimi için dinlendirilmiştir.

3.6. Ağrı Eşiklerinin Değerlendirilmesi

3.6.1. Elektronik von Frey cihazı-Mekanik allodini

Mekanik uyarana karşı ağrı eşikleri, elektronik von Frey cihazı (Ugo Basile, No: 38450, Varese, İtalya) ile ölçülmüştür. Elektronik von Frey cihazı sensorü tüm kuvvet kapasitesi (1=1000gf) boyunca metal filament uç kullanarak sürekli bir kuvvet uygulaması sağlamakta ve hayvan tepkisini otomatik olarak kaydetmektedir. Mekanik allodini, mekanik stimülasyona tepki olarak sıçanın pençe geri çekme eşiğinin belirlenmesi ile değerlendirilmiştir. Her sıçan altı tel örgülü olan cihazın özel plastik kafeslerine yerleştirilmiş ve ortama alışmaları için ölçümler öncesi 15-30 dk arası keşfetme davranışı sonlanana dek bekletilmiştir (Bordet vd., 2008). Mekanik uyarı, çapı 0.5 mm olan paslanmaz çelik bir filament aracılığıyla hayvanın arka ayak pençesinin orta plantar yüzeyine dik olarak artan bir kuvvet ile uygulanmıştır (Huang vd., 2004; Thangamani vd., 2013). Pençe çekmenin gerçekleştiği güç (gram=gf) cihaz tarafından

otomatik olarak kaydedilmiştir. 3'er dk aralıklarla 3-4 ardışık ölçüm yapılmış ve her bir sıçan için geri çekme eşiği bu değerlerin ortalaması alınarak hesaplanmıştır. Pençe dokusunun hasar görmemesi için kuvvet kesme noktası (cut-off) 50 gf olarak belirlenmiştir (Huang vd., 2004; Bordet vd., 2008).

3.6.2. Plantar test (Hargreaves metodu)-Termal hiperaljezi

Termal uyarana karşı ağrı eşikleri plantar test-Hargreaves aparatı (Model no: 37370; Ugo-Basile, 7280, İtalya) kullanılarak ölçülmüştür. Termal hiperaljezi, termal uyarana tepki olarak sıçanın arka pençesini çekme süresinin belirlenmesi ile değerlendirilmiştir. Teste başlamadan önce hayvanlar cihazın özel cam tabanlı ve şeffaf plastik kutu şeklindeki kafeslerine yerleştirilmiş ve ortama alışmaları için ölçümler öncesi 15-30 dk arası keşfetme davranışı sonlanana dek bekletilmiştir. Yüksek yoğunluklu hareket edebilir radyant ısı kaynağı, hayvanın arka ayak pençesinin orta plantar yüzeyine denk gelecek şekilde cam tabanın altına yerleştirilmiştir. Hayvanın refleks hareketleri radyant ısının başlangıcından pençenin çekilişine kadar geçen süre olacak şekilde ölçülmüş ve otomatik kaydedilmiştir (Hori vd., 2010). 3'er dk aralıklarla 3-4 ardışık ölçüm yapılmış ve her bir sıçan için pençe geri çekme süresi bu değerlerin ortalaması alınarak hesaplanmıştır. Plantar test cihazının infrared ısı yoğunluğu nedeniyle oluşabilecek pençe dokusu hasarını önlemek için deneyin bitirilme zamanı (cut-off) 20 sn olarak belirlenmiştir (Austin vd., 2012).

Elektronik von Frey ve plantar testlerinden elde edilen eşiklerden hareketle maksimum olası etkinin yüzdesi (%MPE) aşağıdaki formülden hareketle hesaplanmıştır (Kondo vd., 2009):

$$\%MPE = [(ilaç sonrası ölçülen eşik - ilaç öncesi ölçülen eşik) / (cut off değeri - ilaç öncesi ölçülen eşik)] \times 100$$

%MPE verisindeki yükselme sırasıyla anti-allodinik ve antihiperalezik aktivite olarak değerlendirilmiştir.

3.6.3. Aktivite kafesi

Spontan lokomotor aktiviteyi değerlendirmek için, pleksiglas, kafes şeklinde olan aktivite kafesi isimli cihaz kullanılmıştır. Cihazın karşılıklı iki dikey kenarında bulunan parçalar tarafından üretilen kızıl ötesi ışınlar, hayvanın yatay ve dikey yönlerdeki

hareketleri ile kesintiye uğramakta ve kesintiler kaydedilmektedir (Marazioti vd., 2009). Çözücü ve 300 mg/kg protokateşik asit uygulanan nöropatik ağrı modeli oluşturulmuş hayvanlar madde uygulamasından 45 dk sonra aktivite kafesine alınmış ve 15 dk süreyle kayıt alınmıştır.

3.7. İstatistiksel Analiz

Hayvanlarda nöropati gelişiminin istatistiksel değerlendirmesi için student's *t*-testi, etki ve etki mekanizması değerlendirmeleri için tek-yönlü varyans analizi (ANOVA) ve ardından Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. Tüm istatistiksel analiz sonuçları Graphpad Prism ver. 5.0 paket programı kullanılarak hesaplanmıştır. Tüm analiz sonuçları ortalama \pm standart hata (S.H.) olarak ifade edilmiş ve istatistiksel anlamlılık düzeyi başlangıcı olarak $p<0,05$ kabul edilmiştir.

4. BULGULAR VE YORUM

4.1. Deneysel Nöropati Gelişimi

Tablo 2’de görüldüğü üzere KKH geliştirilmiş tüm grupların mekanik ve termal uyarana karşı ağrı eşiklerinde anlamlı ($P<0,001$) bir düşüş gözlenmiştir. SHAM grubunda ise beklendiği şekilde mekanik ve termal ağrı eşiklerinde herhangi bir değişiklik meydana gelmemiştir.

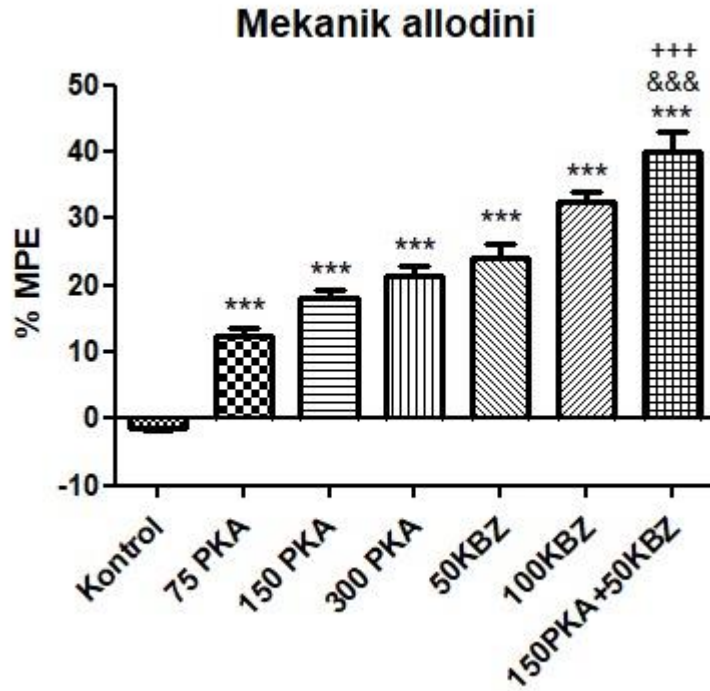
Tablo 2. *Elektronik von Frey ve Plantar Testte Deneysel Nöropatik Ağrı Gelişimi*

	Elektronik von Frey (mekanik allodini-gf) (ortalama \pm S.H.)		Plantar test (termal hiperaljezi-sn) (ortalama \pm S.H.)	
	0. gün	7. gün	0. gün	7. gün
	SHAM	21,52 \pm 1,264	21,12 \pm 0,9436	19,99 \pm 0,5161
Kontrol	24,50 \pm 1,705	7,280 \pm 0,8932***	18,82 \pm 1,086	7,929 \pm 0,5977***
75 PKA	22,56 \pm 1,070	9,056 \pm 0,3135***	20,34 \pm 0,7600	8,973 \pm 0,3759***
150 PKA	23,73 \pm 1,506	9,653 \pm 0,6165***	18,03 \pm 0,8806	8,813 \pm 0,4580***
300 PKA	22,26 \pm 1,594	5,882 \pm 0,2600***	18,11 \pm 0,9333	8,214 \pm 0,4804***
50 KBZ	26,03 \pm 0,7302	10,33 \pm 0,6129***	19,89 \pm 1,529	9,876 \pm 0,6061***
100 KBZ	25,16 \pm 2,617	9,019 \pm 0,7219***	20,57 \pm 0,8337	9,103 \pm 0,8365***
150PKA+50KBZ	23,88 \pm 1,123	8,944 \pm 0,5740***	19,66 \pm 0,3795	9,802 \pm 0,5139***
GB + çöz	22,13 \pm 1,853	8,335 \pm 0,7299***	17,16 \pm 1,797	8,172 \pm 0,7135***
GB + PKA	22,00 \pm 1,507	8,951 \pm 0,4385***	18,21 \pm 0,7910	10,14 \pm 0,3143***
DPCPX + çöz	23,76 \pm 0,8307	9,456 \pm 0,4534***	22,48 \pm 1,298	9,846 \pm 0,9321***
DPCPX + PKA	24,05 \pm 1,507	10,24 \pm 0,4119***	17,96 \pm 1,320	9,254 \pm 0,8045***

PKA: Protokatesik asit, KBZ: Karbamazepin, GB: Glibenklamid, Çöz: Çözücü. Sonuçlar ortalama \pm standart hata (S.H.) olarak verilmiştir. *** $P<0,001$; 0. güne göre anlamlı fark, Student’s *t*-testi uygulandı. (n=8).

4.2. Anti-allodinin Aktivitenin Değerlendirilmesi

Şekil 6'da 75, 150 ve 300 mg/kg protokateşik asit, 50 ve 100 mg/kg karbamazepin ve 150 mg/kg protokateşik asit ile 50 mg/kg karbamazepinin kombine olarak uygulandığı grupların mekanik allodini eşiklerinden hareketle hesaplanan %MPE değerleri görülmektedir. Tüm grupların %MPE'leri kontrol grubuna göre anlamlı ($P<0,001$) olarak arttı. 150 mg/kg protokateşik asit ile 50 mg/kg karbamazepinin kombine uygulandığı gruba ait %MPE değerinin tek başlarına uygulandıkları gruplara göre anlamlı ($P<0,001$) olarak yükseldiği belirlendi. 300 mg/kg protokateşik asit etkisinin 50 mg/kg karbamazepin etkisi ile benzer seviyelerde olduğu gözlemlendi.

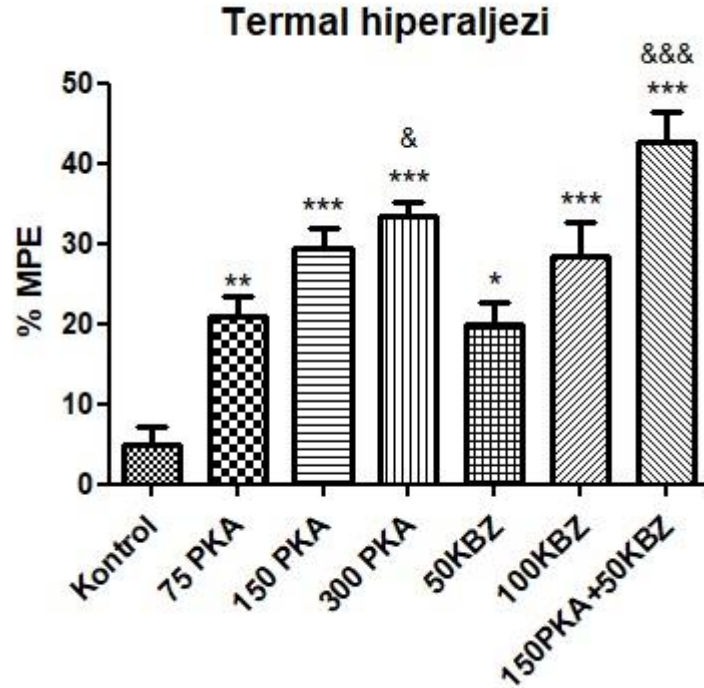


Şekil 6. Protokateşik asitin anti-allodinin etkisinin değerlendirilmesi

PKA: Protokateşik asit, KBZ: Karbamazepin. *** $P<0,001$; kontrole göre anlamlılık, &&& $P<0,001$; 50 KBZ'ye göre anlamlılık, +++ $P<0,001$; 150 PKA'ya göre anlamlılık. ortalama \pm standart hata değerleri kullanılarak tek-yönlü ANOVA ve ardından Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi uygulandı. (n=8).

4.3. Antihiperalejik Aktivitenin Değerlendirilmesi

Şekil 7’de 75, 150 ve 300 mg/kg protokateşik asit, 50 ve 100 mg/kg karbamazepin ve 150 mg/kg protokateşik asit ile 50 mg/kg karbamazepinin kombine olarak uygulandığı grupların termal hiperaleji eşiklerinden hareketle hesaplanan %MPE değerleri görülmektedir. Tüm grupların %MPE’leri kontrole göre anlamlı (sırasıyla; $P<0,01$, $P<0,001$, $P<0,001$, $P<0,05$, $P<0,001$ ve $P<0,001$) olarak arttı. 150 mg/kg protokateşik asit ile 50 mg/kg karbamazepinin kombine uygulandığı gruba ait %MPE değerinin, 150 mg/kg protokateşik asite göre değil, 50 mg/kg karbamazepinin tek başına uygulandığı gruba göre anlamlı ($P<0,001$) olarak yükseldiği belirlendi. 150 ve 300 mg/kg protokateşik asit etkisinin 100 mg/kg karbamazepinin etkisi ile benzer seviyelerde olduğu görülürken, 300 mg/kg protokateşik asit etkisinin 50 mg/kg karbamazepinin etkisine göre anlamlı ($P<0,05$) olarak yüksek olduğu belirlendi.

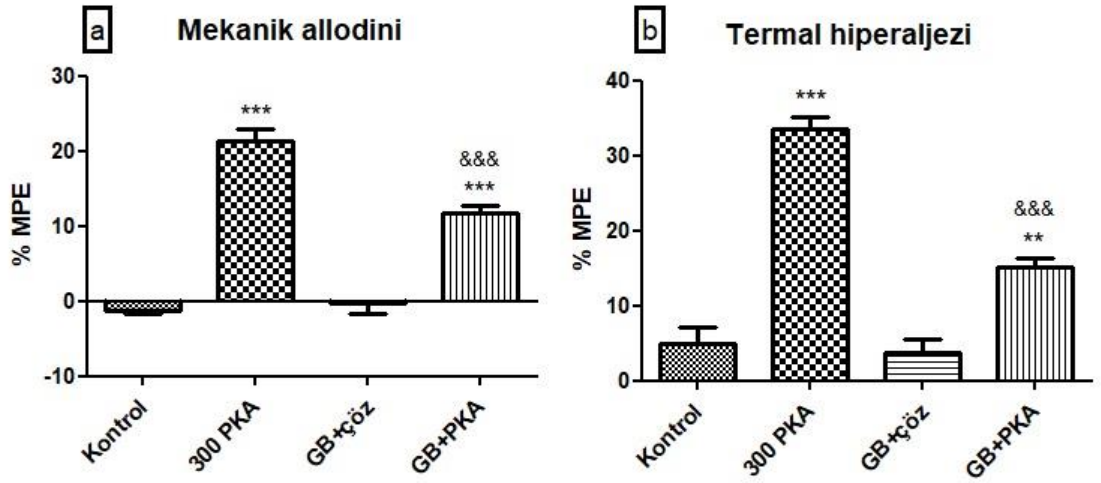


Şekil 7. Protokateşik asitin antihiperalejik etkisinin değerlendirilmesi

PKA: Protokateşik asit, KBZ: Karbamazepin. * $P<0,05$, ** $P<0,01$, *** $P<0,001$; kontrole göre anlamlılık, & $P<0,05$, &&& $P<0,001$; 50 KBZ’ye göre anlamlılık. ortalama \pm standart hata değerleri kullanılarak tek-yönlü ANOVA ve ardından Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi uygulandı. (n=8).

4.4. Protokateşik Asitin Anti-allodinik ve Antihiperalezik Etkisine K_{ATP} Kanalinın Rolü

Şekil 8’de 300 mg/kg protokateşik asit öncesi K_{ATP} kanal antagonisti 60,7 nmol glibenklamidin ön-uygulamasının mekanik allodini ve termal hiperalezi eşiklerinden hareketle hesaplanan %MPE değerleri üzerine etkisi görülmektedir. Glibenklamid ön-uygulaması 300 mg/kg protokateşik asitin yükseltmiş olduğu mekanik ve termal eşığı anlamlı ($P<0,001$) olarak geri çevirmekle birlikte protokateşik asitin anti-allodinik ve antihiperalezik etkisinin anlamlı ($P<0,001$ ve $P<0,01$) olarak devam ettiği gözlemlendi.

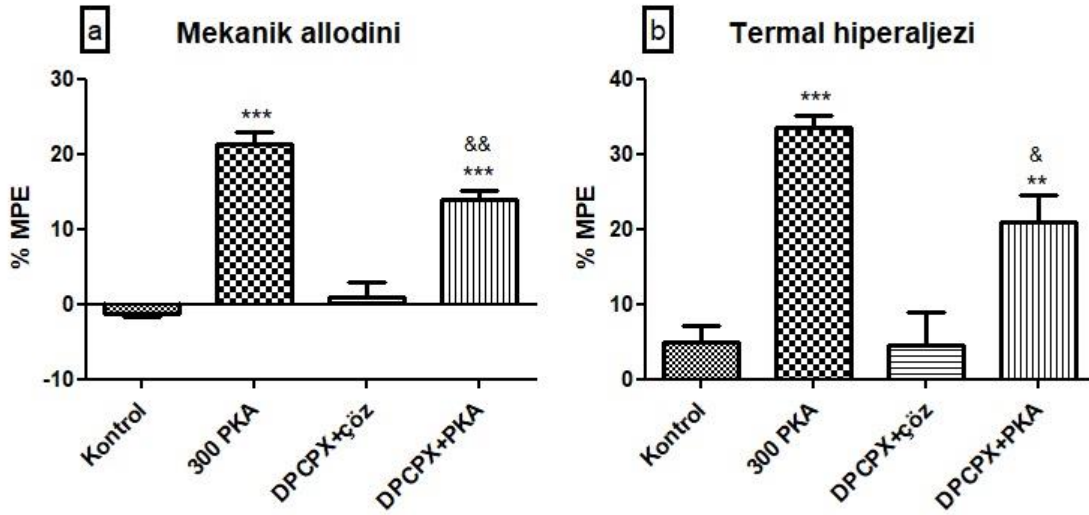


Şekil 8. Protokateşik asitin anti-allodinik (a) ve antihiperalezik (b) etkisine K_{ATP} kanal aktivasyonunun rolü

PKA: Protokateşik asit, GB: Glibenklamid. ** $P<0,01$, *** $P<0,001$; kontrole göre anlamlılık, &&& $P<0,001$; 300 PKA’ya göre anlamlılık. ortalama \pm standart hata değerleri kullanılarak tek-yönlü ANOVA ve ardından Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi uygulandı. (n=8).

4.5. Protokateşik Asitin Anti-allodinik ve Antihiperalezik Etkisinde A₁R Rolü

Şekil 9’da 300 mg/kg protokateşik asit öncesi adenozin A₁R antagonisti DPCPX’in 3 µg/kg ön-uygulamasının mekanik allodini ve termal hiperalezi eşiklerden hareketle hesaplanan %MPE değerleri üzerine etkisi görülmektedir. DPCPX ön-uygulaması 300 mg/kg protokateşik asitin yükseltmiş olduğu mekanik ve termal eşiği anlamlı ($P<0,01$ ve $P<0,05$) olarak geri çevirmekle birlikte protokateşik asitin anti-allodinik ve antihiperalezik etkisinin anlamlı ($P<0,001$ ve $P<0,01$) olarak devam ettiği gözlemlendi.

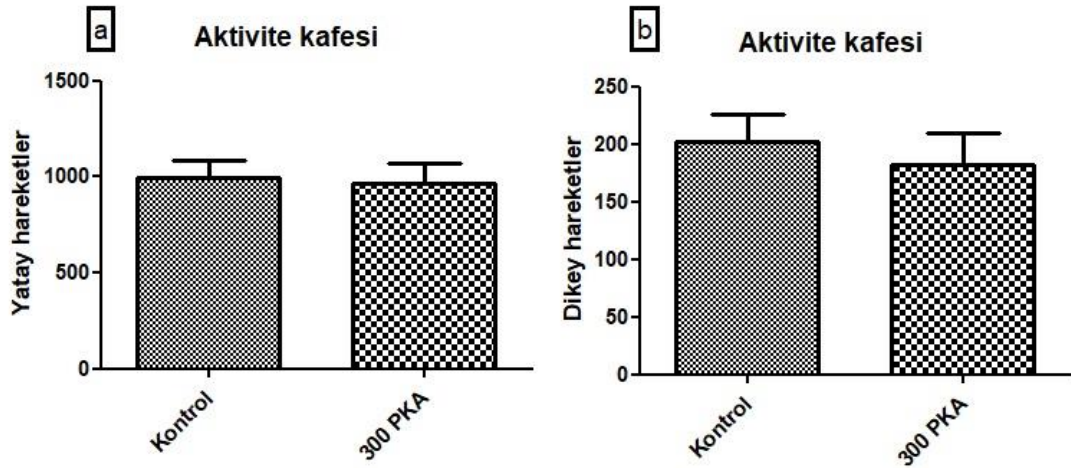


Şekil 9. Protokateşik asitin anti-allodinik (a) ve antihiperalezik (b) etkisinde A₁R stimülasyonunun rolü

PKA: Protokateşik asit, ** $P<0,01$, *** $P<0,001$; kontrole göre anlamlılık, & $P<0,05$, && $P<0,01$; 300 PKA’ya göre anlamlılık. ortalama \pm standart hata değerleri kullanılarak tek-yönlü ANOVA ve ardından Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi uygulandı. (n=8).

4.6. Protokateşik Asitin Lokomotor Aktivite Üzerine Etkisi

Şekil 10'da 300 mg/kg protokateşik asitin aktivite kafesi deneylerinde lokomotor aktivite üzerine etkisi görülmektedir. 300 mg/kg protokateşik asit uygulamasının lokomotor aktiviteyi işaret eden yatay (a) ve dikey (b) hareketlerde herhangi bir değişikliğe yol açmadığı belirlendi.



Şekil 10. Protokateşik asitin lokomotor aktivite üzerine etkisi

PKA: Protokateşik asit, ortalama \pm standart hata değerleri kullanılarak Student's *t*-testi uygulandı. (n=8).

5. TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında, protokateşik asitin nöropatik ağrı üzerine olan etkisini incelemek ve nöropatik ağrının allodini ve hiperalezi gibi farklı patolojik özelliklerinin değerlendirilebilmesi için, güvenilir ve kolay tekrarlanabilir bir model olan siyatik sinirin tek taraflı gevşek ligasyonu ile periferik nöropati oluşturmaya yönelik KKH modeli tercih edilmiştir (Colleoni ve Sacerdote, 2010; Jaggi vd., 2011; Hajhashemi vd., 2014). Sinir üzerindeki parsiyel hasar A ve C liflerinde duyarlılığa neden olarak ağrı davranışlarına neden olmaktadır (Jaggi vd., 2011). Bu model insanlardaki kronik nöropatik ağrının allodini ve hiperalezi gibi pek çok patofizyolojik özelliğini göstermesi nedeniyle deneysel çalışmalarda sıklıkla tercih edilmekte ve klinikte etkili olabilecek ilaçlarla ilgili güvenilir sonuçlar verebilmektedir (Hajhashemi vd., 2014). Mekanik allodini ve termal hiperalezi gibi davranışsal değişiklikler operasyon sonrasında bir hafta içerisinde gelişmekte ve ikinci hafta süresince de ağrı ile ilişkili davranışlar maksimum seviyede ve postüral asimetri görülmektedir (Jaggi vd., 2011). Nitekim tez çalışmasında 7. günde ağırlı uyarana karşı eşikleri düşmüş ve nöropatik ağrıyı işaret eden mekanik allodini ile termal hiperalezi geliştiği tespit edilmiştir.

Nöropatik ağrı kontrolü anti-allodinik ve antihiperalezik etkinlikle sağlanmaktadır. Bu tez çalışmasında, nöropatik ağrı gelişen sıçanlara, 8. gün 75, 150 ve 300 mg/kg dozlarında protokateşik asit uygulanmış ve protokateşik asitin anlamlı anti-allodinik ve antihiperalezik etki gösterdiği belirlenmiştir. Söz konusu etkinliği değerlendirmek için mekanik allodini (Elektronik von Frey filament testi) ve termal hiperalezi (Plantar test) testleri kullanılmıştır. Elektronik von Frey filament testinde, artan bir kuvvet uygulanarak pençe çekme hareketi ve uygulanan kuvvet izlenerek mekanik duyarlılık ölçülmektedir (Reddy vd., 2018). Mekanik allodini, hafif dokunma gibi zararsız uyarıların neden olduğu ağrı hissidir ve koruyucu rolü olan inflamatuvar hiperaleziden farklı olarak, belirgin bir biyolojik etkiye sahip değildir (Lolignier vd., 2015). Omurilik hipereksitabilitesine neden olabilen hafif dokunma ile A β liflerinin mekanoreseptör girdilerinin ağrı olarak algılandığı belirtilmektedir. Ayrıca C liflerinde meydana gelen dejenerasyon kaynaklı dorsal boynuzdaki yeniden yapılanma ile de A β lifleri allodiniye yol açabilmektedir (Baron vd., 2010). Termal hiperalezinin değerlendirilmesinde, Plantar test aparatı ile oluşturulan termal uyarana cevap olarak sıçanın arka pençesini çekme süresi belirlenmiştir. Termal uyarının omuriliğe yüksek

eşikli, miyelinsiz C lifleri ile iletildiği bilinmektedir (Meyer, 2008). Mekanik ve termal uyarana karşı oluşan ağrılı uyarınların kullandıkları yolakların, bu yolaklarda rol alan mekanizmaların, nosiseptörlerin ve iletimde görevli liflerin farklılık göstermesi nedeniyle her ilaç her iki patolojik olay üzerine benzer şekilde etkili olmayabilir (Huang vd., 2004; Meyer vd., 2005; Zurowski vd., 2012). Tez çalışmasında test edilen protokateşik asitin uygulanan üç farklı dozda doza-bağlı yükselen şekilde hem anti-allodinik hem de antihiperalezik etki gösterdiği belirlenmiştir. Bu etkinlik antikönlzan bir ajan olan ve nöropatik ağrı kontrolünde de kullanılan karbamazepinin (Ren vd., 2015) etkinliği ile karşılaştırılmıştır. Nöropatik ağrı ile karakterize hiperalezi ve allodininin, periferik ve omurilik afferent ağrı yolaklarında Na^+ ve Ca^{+2} kanallarının patolojik plastisitesinin bir sonucu olarak ortaya çıktığı bilinmektedir (Sidhu ve Sadhotra, 2016). Karbamazepin, Na^+ kanallarını inhibe ederek presinaptik nöronal membran stabilizasyonuna neden olmaktadır ve nosiseptif liflerden nörotransmitter salınımını ve aksiyon potansiyelini azaltmaktadır. Ağrı fizyolojisindeki diğer mekanizmaları da GABAerjik ve somatostatinerjik yolaklar üzerinden ve daha az etki ile Ca^{+2} kanalları ve eksitör aminoasitlerin blokajı ile antinosiseptif etkinlik göstermesi olarak açıklanmaktadır (Waszkielewicz vd., 2011). Ayrıca adenezinerjik sistemde A_1R 'lerin stimölasyonunun da analjezik etki mekanizması arasında yer aldığı bilinmektedir (Tomić vd., 2004). Bu çalışmada pozitif kontrol olarak kullanılan karbamazepin 50 ve 100 mg/kg dozlarda uygulanmıştır. 150 ve 300 mg/kg protokateşik asitin anti-allodinik etkisi 50 mg/kg karbamazepin etkisi ile benzer seviyelerde iken, antihiperalezik etkisi 100 mg/kg karbamazepin etkisi ile benzer görölmüştür. Hatta 300 mg/kg protokateşik asitin antihiperalezik etkisi istatistiksel açıdan anlamlı olarak 50 mg/kg karbamazepin etkisinden yüksek bulunmuştur. Karbamazepinin antihiperalezik ve anti-allodinik etkileri nedeniyle klinikte kullanılmasına rağmen hasta uyuncunu azaltan birçok yan etkisi de bulunmaktadır. Bunlar baş dönmesi, uyuşukluk, ataksi, bulantı, kusma, bulanık görme, könfüzyon, güçsüzlük, halsizlik, nistagmus, aplastik anemi, karaciğer fonksiyon testlerinde anormallikler ve nadir de olsa karaciğer yetmezliği vakalarıdır (Ren vd., 2015). Nöropatik ağrıda kullanılan ilaçları değerlendiren bir randomize klinik çalışmada, tipik olarak hastaların %50'sinde ağrıda tatmin edici düzeyde azalma görölürken yan etkilerin (tedaviyi tolere edememek de dahil) yaygın olarak ortaya çıktığı görölmektedir (O'Connor ve Dworkin, 2009). Bu durum karbamazepinin kullanımını kısıtlamaktadır. Bu nedenle çalışmalar, güvenli yan

etki profiline sahip ve endikasyona spesifik ilaçlar keşfetmeye yönelmiştir. Ayrıca daha güvenli tedaviye olanak tanıyan bir uygulama da aralarındaki sinerjizmadan faydalanarak kombine ilaç kullanımınıdır (Lehár vd., 2009). Bu çalışmada, protokateşik asit ve karbamazepin kombinasyonu arasındaki olası sinerjizmayı değerlendirmek için 150 mg/kg protokateşik asit ile 50 mg/kg karbamazepin kombine edilmiştir. İstatistiksel sonuçlarda kombine ilaç tedavisinin, 150 mg/kg protokateşik asit ve 50 mg/kg karbamazepin tedavisine göre daha anlamlı bir anti-allodinik etki sağladığı belirlenmiştir. Kombinasyonun 150 mg/kg protokateşik asite göre olmasa bile 50 mg/kg karbamazepine göre daha anlamlı ve 100 mg/kg karbamazepine göre daha belirgin antihiperalezik etki gösterebildiği tespit edilmiştir. Bu verilerden hareketle, protokateşik asitin nöropatik ağrı tedavisinde karbamazepin ile kombine edilerek kullanılmasıyla karbamazepinin doza bağlı yan etkilerinden kaçınmak adına yarar sağlanabileceği düşünülebilir. Nitekim iki veya daha fazla ajanın sinerjistik kombinasyonları, ilaçların tek başlarına gösterdikleri toksisite ve yan etkilerinden sakınmaya ve ayrıca çok hedefli mekanizma ile daha etkin tedaviye olanak tanımaktadır (Lehár vd., 2009). Ayrıca, analjezik ilaçların nöropatik ağrı üzerine, lokomotor aktiviteden bağımsız bir şekilde etki etmeleri tercih edilmektedir (Stevenson vd., 2009). Yüksek analjezik etkiye sahip olduğu belirlenen 300 mg/kg dozda protokateşik asitin aktivite kafesinden elde edilen veriler değerlendirildiğinde lokomotor aktivite üzerinde herhangi bir değişiklik yapmadığı belirlenmiştir. Protokateşik asitin tespit edilen analjezik etkisinin lokomotor aktivite ile ilişkili olmadığını ve ayrıca analjezik etkinin gözlemlendiği dozlarda yan etki olarak da lokomotor aktiviteyi azaltmadığı veya artırmadığı söylenebilir. Dolayısıyla analjezik etkinin gözlemlendiği dozlarda lokomotor aktivitede bir değişiklik gözlenmemesi protokateşik asitin analjezisine bir avantaj sağlamaktadır.

Tez çalışmasında test edilen protokateşik asitin, hem anti-allodinik hem de antihiperalezik etki gösterdiği belirtilmiştir. Bu nedenle protokateşik asitin nöropatik ağrı üzerindeki aktivitesine, allodini ve hiperalezi gelişimine neden olan bozulmuş A β ve C lifi iletimini düzeltici yönde olan etkisinin aracı olduğu söylenebilir. Daha önce kaynakçada bahsedildiği gibi A β ve C lifi iletimini düzenleyerek ağrı ve kontrol sürecinde yer alan birçok modülatör kimyasal ve iyon kanalı mevcuttur (Baron vd., 2010). Nöropatik ağrının giderilmesinde rol oynayabilecek çeşitli mekanizmaların

aydınlatılması, etkili maddenin farmakolojik etki profilini belirleyebilmek için önem taşımaktadır (Shin vd., 2004). Daha önce yapılan çalışmalarda protokateşik asitin, akut analjezik aktivitesine aracılık eden mekanizmalar ile ilgili sınırlı sayıda veri mevcuttur. Arslan ve ark., (2018), protokateşik asitin spinal/supraspinal seviyelerde kolinerjik, opioid ve noradrenerjik sistemlerin dahil olduğu bir akut analjezik etki sağladığını bildirmişlerdir (Arslan vd., 2018). Nöropatik ağrı ve kontrolü bir çok kimyasalın yer aldığı kompleks bir süreçtir. Dolayısıyla farmakolojik etkilerin mekanizma bazlı farklı yöntemlerle test edilmesi ve ilgili sistemlerin agonistleri ve antagonistleri ile mekanistik çalışmalarının yapılması gerekmektedir (Mansouri vd., 2013). Tez çalışmasında, anti-allodinik ve antihiperalezik etki mekanizmasını açıklayabilmek üzere protokateşik asitin son yıllarda aktivasyonu ile antinosiseptif etki sağlanabildiği bilinen adenezinerjik A₁ reseptörü (A₁R) (Sawynok, 2013) ile K_{ATP} kanal üzerindeki rolü (Luu vd., 2019) incelenmiştir. Protokateşik asitin neden olduğu anti-allodinik ve antihiperalezik aktivitenin A₁R stimülasyonu ile ilişkisini değerlendirmek için prelinik ağrı modellerinde antinosesepasyonu geri çevirdiği gösterilen (Sawynok, 2013) A₁R antagonisti DPCPX'in periferal intraplantar ön-uygulaması yapılmıştır. A₁R antagonistinin protokateşik asitin anti-allodinik ve antihiperalezik etkisinde etkili bir geri dönüş sağladığı belirlenmiştir. Çalışma sonuçlarından hareketle protokateşik asitin nöropatik ağrı üzerindeki periferal etkinliğine A₁R stimülasyonunun eşlik ettiği söylenebilir. A₁R'nin santral aktivitesi, nörotransmitterlerin salınımla uyarıcı sinyallerin presinaptik veya postsinaptik inhibisyonunu ve ağrı iletiminin azalmasını içeren çeşitli mekanizmalar yoluyla sinaptik transmisyonu inhibe etmektedir (Katz, vd., 2015). Yapılan çalışmalarda A₁R aktivasyonunun ağrı kontrolünü nasıl sağladığı çeşitli mekanizmalarla açıklanmıştır. Bu mekanizmaların çoğu A₁R sinyal yolağı ile uyumludur. sAMP/PKA (Siklik adenezin monofosfat/ Protein kinaz A) etkileşimi, G α proteini aracılığıyla Ca⁺² ve K⁺ kanalları ile etkileşim, G α veya $\beta\gamma$ alt üniteleri aracılığıyla PLC/IP3/DAG (Fosfolipaz C/ İnozitol 1,4,5 trifosfat/ Diaçilgliserol) yolağı ile etkileşim bu mekanizmalardan bazılarıdır. Periferal mekanizmalar ise pertussis toksin-duyarlı G-protein aracılı sAMP/PKA inhibisyonu, NO/sGMP/PKG/K_{ATP} (Nitrik oksit/ Siklik guanilat monofosfat/ Protein kinaz G/ ATP duyarlı K⁺ kanalı) sinyal yolağı aktivasyonu ve fosfolipaz C sinyal yolağının indüklenmesidir (Sawynok, 2016). Fakat etkide gözlenen antagonizmaya rağmen protokateşik asit etkisinin anlamlı olarak devam ediyor olması gözlenen etkiye farklı mekanizmaların da dahil olduğunu göstermektedir.

Bunların dışında daha önce A₁R'nin allodiniye karışmadığı bildirilmiş fakat burada gözlenen antagonizmada etkili olduğu bulunmuştur.

Bu çalışmada, protokateşik asitin etkili olduğu analjezide A₁R stimülasyonunun yanı sıra aralarındaki sıkı ilişkiden dolayı araştırılan diğer bir antinosiseptif mekanizma K_{ATP} kanal aktivasyonudur. Bu amaçla protokateşik asit öncesi K_{ATP} kanal antagonisti glibenklamidin periferik intraplantar ön-uygulaması yapılmıştır. Glibenklamidin spesifik olarak K_{ATP} kanallarını bloke ettiği ve Ca⁺² bağımlı veya voltaj kapılı K⁺ kanalları gibi diğer tip K⁺ kanallarını etkilemediği bilinmektedir (Mansouri vd., 2013). Protokateşik asitin anti-allodinik ve antihiperaljezik etkisinin glibenklamid ile anlamlı bir şekilde geri çevrildiği görülmüştür. Buradan hareketle protokateşik asitin etkisinde K_{ATP} kanal aktivasyonunun rolünün açık olduğu söylenebilir. K_{ATP} kanalları, sinir hasarı ile indüklenen nöropatik ağrıda dorsal kök gangliyon nöronlarında hem A β hem de C lifleri üzerinden antinosiseptif etki oluşturmaktadır (Kawano vd., 2009; Luu vd., 2019). Sinir hasarı ile oluşan nöropatik ağrı ATP kanalının down regülasyonunu indüklerken, K_{ATP} kanal açıcılarla nöropatik ağrının tedavi edildiği belirtilmektedir (Xia vd., 2014). Bu kanalların açılması hücre dışına K⁺ iyon akışına izin vermekte ve böylece hücre membran repolarizasyonu veya hiperpolarizasyonu oluşmaktadır. Sonuç olarak membran uyarılabilirliğinde azalma ve analjezi meydana gelmektedir (Mansouri vd., 2013). Ayrıca, A₁R agonistleriyle yapılan çalışmalarda A₁R stimülasyonu ile gözlenen analjeziye nöronlarda bulunan K_{ATP} kanallarının aktivasyonunun aracılık ettiği bildirilmektedir (Ocaña ve Baeyens, 1994). Şöyle ki; periferik A₁R'lerin aktivasyonunun, NO/sGMP/PKG yolağının uyarılmasıyla analjezik etkinlik gösterdiği kanıtlanmıştır. Bu yolağın periferik analjezik aktivitesinin K_{ATP} akımlarının modülasyonundan kaynaklandığı düşünülmüş ve K_{ATP} kanal blokörü glibenklamid kullanılarak, A₁R aktivasyonunun neden olduğu antinosiseptif etkinin inhibe olduğu gösterilmiştir (Lima vd., 2010). Başka bir çalışmada ise, A₁R agonistinin K_{ATP} kanal açıcı kromakalim ile birlikte uygulandığında antinosiseptif etkisinin güçlendiği gözlenmiştir (Ocaña ve Baeyens, 1994).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışması daha önce akut analjezide etkili olduğu gösterilen protokateşik asitin nöropatik ağrı kontrolünü sağladığını göstermesi açısından bir ilktir. Bu çalışmada, KKH modeli kullanılarak nöropati geliştirilmiş sıçanlara oral olarak 75, 150 ve 300 mg/kg protokateşik asit uygulanması, nöropati gelişimi ile birlikte düşen mekanik ve termal eşikleri yükselterek sırasıyla anti-allodinik ve antihiperalezik etkinlik göstermiştir. Göstermiş olduğu anti-allodinik ve antihiperalezik etkinliğine, lokomotor aktiviteyi değiştirmeden neden olması bir avantaj olarak değerlendirilmiştir, ayrıca göstermiş olduğu etkinliğin, klinikte kullanılan karbamazepin ile oluşturulan etki ile benzer seviyelerde olduğu bulunmuştur. 150 mg/kg protokateşik asit ve 50 mg/kg karbamazepin kombine uygulamasından elde edilen veriler protokateşik asitin nöropatik ağrı yönetiminde yardımcı ilaç olarak da kıymetli olabileceğini göstermektedir. Protokateşik asitin anti-allodinik ve antihiperalezik etkinliğine, A₁R stimülasyonuna eşlik eden K_{ATP} kanal aktivasyonu belirgin bir katkı sağlamaktadır.

Bu verilerden hareketle protokateşik asitin, nöropatik ağrı yönetiminde tek başına kullanılabilir veya mevcut ilaçların tek başına gösterdikleri toksisite ve yan etkilerinden sakınmaya veya çok hedefli mekanizma ile daha etkin tedaviye olanak sağlayacak şekilde yardımcı ilaç olarak kullanılabilme potansiyeli olduğu söylenebilir. Fakat protokateşik asitin nöropatik ağrı etkisinin ve etki mekanizmasının *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir birlikte, tez çalışmasından elde edilen sonuçlar yeni tedavi yaklaşımlarına katkıda bulunacak prelinik veriler sunmaktadır.

KAYNAKÇA

- Akay, A., Sümer-Turanlıgil, N. C., Uyanıkgil, Y. İyon Kanalları ve Epilepsi Patojenezindeki Rollerini. *Arch. Med. Res.* 19 (2), 72-84.
- Alexander, S.P.H., Mathie, A., Peters, J.A. (2011). Guide to Receptors and Channels (GRAC), 5th edn. *Br. J. Pharmacol.* 164 (1), 1–324.
- Alles, S.R., Smith, P.A. (2018). Etiology and pharmacology of neuropathic pain. *Pharmacol. Rev.* 70 (2), 315-347.
- Argoff, C. (2011). Mechanisms of pain transmission and pharmacologic management. *Cur. Med. Res. Opin.* 27(10), 2019-2031.
- Arslan, R., Aydın, S., Samur, D.N., Bektas, N. (2018). The possible mechanisms of protocatechuic acid-induced central analgesia. *Saudi. Pharm. J.* 26 (4), 541-545.
- Austin, P.J., Wu, A., Moalem-Taylor, G. (2012). Chronic constriction of the sciatic nerve and pain hypersensitivity testing in rats. *JoVE.* (61), e3393.
- Balasundram, N., Sundram, K., Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food. Chem.* 99 (1), 191-203.
- Baron, R. (2006). Mechanisms of disease: neuropathic pain--a clinical perspective. *Nat. Clin. Pract. Neurol.* 2 (2), 95-106.
- Baron, R., Binder, A., Wasner, G. (2010). Neuropathic pain: diagnosis, pathophysiological mechanisms, and treatment. *Lancet. Neurol.* 9(8), 807-819.
- Basbaum, A. I., Bautista, D. M., Scherrer, G., Julius, D. (2009). Cellular and molecular mechanisms of pain. *Cell.* 139 (2), 267-284.
- Bektaş, N., Arslan, R. (2017). The Involvement of NO–cGMP–ATP Sensitive K⁺ Channels Pathway in Protocatechuic Acid Peripheral Analgesia. *Indian. J. Pharm. Educ.* 51 (3), S355-S358.

- Bennett, M. I., Rayment, C., Hjermstad, M., Aass, N., Caraceni, A., & Kaasa, S. (2012). Prevalence and aetiology of neuropathic pain in cancer patients: a systematic review. *Pain*. 153 (2), 359-365.
- Bennett, M.I. (2010). Theories, history and current taxonomy. M.I. Bennett (Ed.), *Neuropathic pain* içinde (s.1-9) New York: Oxford University Press Inc.
- Berker, E. (2005). Nöropatik ağrı etyopatogenezi. *Türkiye Klinikleri J. Int. Med. Sci.* 1 (10), 37-40.
- Bordet, T., Buisson, B., Michaud, M., Abitbol, J. L., Marchand, F., Grist, J., Andriambeloson, E., Malcangio, M., Pruss, R.M. (2008). Specific antinociceptive activity of cholest-4-en-3-one, oxime (TRO19622) in experimental models of painful diabetic and chemotherapy-induced neuropathy. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 326 (2), 623-632.
- Bouhassira, D. (2019). Neuropathic pain: Definition, assessment and epidemiology. *Rev. Neurol.* 175 (1-2), 16-25.
- Bouhassira, D., Attal, N. (2013). Epidemiological considerations in neuropathic pain. C. Toth, D.E. Moulin (Eds.), *Neuropathic pain: causes, management, and understanding* içinde (s. 24-33). New York: Oxford University Press Inc.
- Bourne, S., Machado, A.G., Nagel, S. (2014). Basic anatomy and physiology of pain pathways. *Neurosurg. Clin. N. Am.* 25(4), 629-38.
- Boussouf, L., Boutennoune, H., Kebieche, M., Adjeroud, N., Al-Qaoud, K., Madani, K. (2017). Anti-inflammatory, analgesic and antioxidant effects of phenolic compound from Algerian *Mentha rotundifolia* L. leaves on experimental animals. *S Afr. J. Bot.* 113, 77-83.
- Bradl, M., Kanamori, Y., Nakashima, I., Misu, T., Fujihara, K., Lassmann, H., Sandkühler, J. (2014). Pain in neuromyelitis optica-prevalence, pathogenesis and therapy. *Nat. Rev. Neurol.* 10 (9), 529.
- Bridges, D., Thompson, S.W., Rice, A.S. (2001). Mechanisms of neuropathic pain. *Br. J. Anaesth.* 87 (1), 12-26.

- Burnstock, G. (2016). Purinergic mechanisms and pain. *In Advances in Pharmacology* 75, 91-137. Academic Press.
- Burnstock, G. (2018). The therapeutic potential of purinergic signalling. *Biochem. Pharmacol.* 151, 157-165.
- Burnstock, G., Nistri, A., Khakh, B.S., Giniatullin, R. (2014). ATP-gated P2X receptors in health and disease. *Front. Cell. Neurosci.* 8, 204.
- Busserolles, J., Tsantoulas, C., Eschalier, A., García, J.A.L. (2016). Potassium channels in neuropathic pain: advances, challenges, and emerging ideas. *Pain.* 157, S7-S14.
- Campbell, J.N., Meyer, R.A. (2006). Mechanisms of Neuropathic Pain. *Neuron.* 52 (1), 77–92.
- Challa, S.R. (2015). Surgical animal models of neuropathic pain: Pros and Cons. *Int. J. Neurosci.* 125 (3), 170-174.
- Colleoni, M., Sacerdote, P. (2010). Murine models of human neuropathic pain. *Biochim. Biophys. Acta -Molecular Basis of Disease.* 1802 (10), 924-933.
- Colloca, L., Ludman, T., Bouhassira, D., Baron, R., Dickenson, A.H., Yarnitsky, D., Freeman, R., Truini, A., Attal, N., Finnerup, N.B., Eccleston, C., Kalso, E., Bennett, D.L., Dworkin, R.H., Raja S.N. (2017). Neuropathic pain. *Nat. Rev. Dis. Primers.* 16 (3), 17002
- Costigan, M., Scholz, J., Woolf, C.J. (2009). Neuropathic pain: a maladaptive response of the nervous system to damage. *Annu. Rev. Neurosci.* 32, 1-32.
- Cui, J.G., Sollevi, A., Linderoth, B., Meyerson, B.A. (1997). Adenosine receptor activation suppresses tactile hypersensitivity and potentiates spinal cord stimulation in mononeuropathic rats. *Neurosci. Lett.*, 223 (3), 173-176.
- De, B.S., Wasewar, K.L., Dhongde, V.R., Ingle, A.A., Mondal, H. (2018). Experimental and modeling of reactive separation of protocatechuic acid. *Chem. Eng. Res. Des.* 132, 593-605.

- Deveci, H.A., Nur, G., Kırpık, M.A., Harmankaya, A., Yıldız, Y. (2017). Fenolik Bileşik İçeren Bitkisel Antioksidanlar. *Fen Bilimleri Enstitü Dergisi*, 9 (1), 26–32.
- Dhanshree, S., Aman, U., Chandrashekar, U. (2017). Neuroprotective effects of protocatechuic acid in diabetes induced neuropathic pain. *Am. J. Biochem. Mol. Biol.* 7 (3), 111-117.
- Du, X., Gamper, N. (2013). Potassium channels in peripheral pain pathways: expression, function and therapeutic potential. *Curr. Neuropharmacol.* 11 (6), 621-640.
- Du, X., Wang, C., Zhang, H. (2011). Activation of ATP-sensitive potassium channels antagonize nociceptive behavior and hyperexcitability of DRG neurons from rats. *Mol. Pain.* 7 (1), 35.
- Dubin, A.E., Patapoutian, A. (2010). Nociceptors: the sensors of the pain pathway. *J. Clin. Invest.* 120 (11), 3760-3772.
- Erbas, T., Ertas, M., Yucel, A., Keskinaslan, A., Senocak, M., & TURNEP Study Group. (2011). Prevalence of peripheral neuropathy and painful peripheral neuropathy in Turkish diabetic patients. *J. Clin. Neurophysiol.* 28 (1), 51-55.
- Feizerfan, A., Sheh, G. (2014). Transition from acute to chronic pain. Continuing Education in Anaesthesia, *Critical. Care & Pain.* 15 (2), 98-102.
- Fornasari, D. (2014). Pain pharmacology: focus on opioids. *Clin. Cases. Miner. Bone. Meta.*, 11 (3), 165.
- Forouzanfar, F., Hosseinzadeh, H. (2018). Medicinal herbs in the treatment of neuropathic pain: a review. *Iran J. Basic. Med. Sci.* 21 (4), 347.
- Galluzzi, K.E. (2005). Management of neuropathic pain. *J. Am. Osteopath. Assoc.* 105 (9 Suppl 4), S12-9.
- Gilron, I., Watson, C.P.N., Cahill, C.M., Moulin, D.E. (2006). Neuropathic pain: a practical guide for the clinician. *Cmaj.* 175 (3), 265-275.
- Gribkoff, V.K. (2008). The therapeutic potential of neuronal Kv7 (KCNQ) channel modulators: an update. *Expert. Opin. Ther. Targets.* 12 (5), 565-581.

- Guieu, R., Dussol, B., Halimi, G., Bechis, G., Sampieri, F., Berland, Sampol, Y., Couraud, F., Rochat, H. (1998). Adenosine and the nervous system: pharmacological data and therapeutic perspectives. *Gen. Pharmacol.: The Vascular System*, 31 (4), 553-561.
- Guindon, J., Hohnman, A.G. (2009). Pain: mechanisms and measurement. G.G. Beentson, J.T. Cacioppa (Eds.), *Handbook of neuroscience for the behavioral science (vol. I)* içinde (s. 635-658). United States of America: John Wiley & Sons, Inc.
- Hagen, E.M., Rekan, T. (2015). Management of neuropathic pain associated with spinal cord injury. *Pain. and therapy*. 4 (1), 51-65.
- Hains, B.C. (2007). *Pain*. New York: Infobase Publishing.
- Hajhashemi, V., Banafshe, H.R., Minaiyan, M., Mesdaghinia, A., Abed, A. (2014). Antinociceptive effects of venlafaxine in a rat model of peripheral neuropathy: role of alpha2-adrenergic receptors. *Eur. J. Pharmacol.* 738, 230-236.
- Hall, G.C., Carroll, D., Parry, D., McQuay, H.J. (2006). Epidemiology and treatment of neuropathic pain: the UK primary care perspective. *Pain*. 122 (1-2), 156-162.
- Han, L., Yang, Q., Ma, W., Li, J., Qu, L., Wang, M. (2018). Protocatechuic acid ameliorated palmitic-acid-induced oxidative damage in endothelial cells through activating endogenous antioxidant enzymes via an Adenosine-monophosphate-activated-protein-kinase-dependent pathway. *J. Agric. Food Chem.* 66 (40), 10400-10409.
- Harden, R.N. (2005). Chronic neuropathic pain. Mechanisms, diagnosis, and treatment. *Neurologist*. 11 (2), 111-22.
- Hayashida, M., Fukuda, K. I., Fukunaga, A. (2005). Clinical application of adenosine and ATP for pain control. *J. Anesth.* 19 (3), 225-235.
- Hecke O., Austin S.K., Khan R.A., Smith B.H., Torrance N. (2014). Neuropathic pain in the general population: a systematic review of epidemiological studies. *Pain*. 155 (4), 654-62.

- Helme, R.D., Gibson, S.J. (2001). The Epidemiology Of Pain In Elderly People. *Clin. Geriatr. Med.* 17 (3), 417-431.
- Helms, J.E., Barone, C.P. (2019). Physiology and treatment of pain. *Crit. Care. Nurse.* 28 (6), 38-49.
- Höke, A. (2012). Animal models of peripheral neuropathies. *Neurotherapeutics.* 9 (2), 262-269.
- Hori, K., Ozaki, N., Suzuki, S., Sugiura, Y. (2010). Upregulations of P2X3 and ASIC3 involve in hyperalgesia induced by cisplatin administration in rats. *Pain,* 149 (2), 393-405.
- Huang, C., Hu, Z.P., Long, H., Shi, Y.S., Han, J.S., Wan, Y. (2004). Attenuation of mechanical but not thermal hyperalgesia by electroacupuncture with the involvement of opioids in rat model of chronic inflammatory pain. *Brain. Res. Bull.* 63 (2), 99-103.
- Inoue, K., Tsuda, M. (2012). Purinergic systems, neuropathic pain and the role of microglia. *Exp. Neurol.* 234 (2), 293-301.
- Jaggi, A.S., Jain, V., Singh, N. (2011). Animal models of neuropathic pain. *Fundam. Clin. Pharmacol.* 25 (1), 1-28.
- Katz, N.K., Ryals, J.M., Wright, D.E. (2015). Central or peripheral delivery of an adenosine A1 receptor agonist improves mechanical allodynia in a mouse model of painful diabetic neuropathy. *Neuroscience.* 285, 312-323.
- Kawano, T., Zoga, V., Kimura, M., Liang, M.Y., Wu, H.E., Gemes, G., McCallum, J.B., Kwok, W., Hogan, Q.H., Sarantopoulos, C.D. (2009). Nitric oxide activates ATP-sensitive potassium channels in mammalian sensory neurons: action by direct S-nitrosylation. *Mol. Pain.* 5 (1), 12.
- Khan, A.K., Rashid, R., Fatima, N., Mahmood, S., Mir, S., Khan, S., Jabeen, N., Murtaza, G. (2015). Pharmacological activities of protocatechuic acid. *Acta. Pol. Pharm.* 72 (4), 643-650.

- Khangura, R.K., Sharma, J., Bali, A., Singh, N., Jaggi, A.S. (2019). An integrated review on new targets in the treatment of neuropathic pain. *Korean J. Physiol. Pharmacol.* 23 (1), 1-20.
- Kho, A., Choi, B., Lee, S., Hong, D., Lee, S., Jeong, J., Park, K., Song, H.K., Choi, H.C., Suh, S. (2018). Effects of protocatechuic acid (PCA) on global cerebral ischemia-induced hippocampal neuronal death. *Int. J. Mol. Sci.* 19 (5), 1420.
- Kondo, D., Saegusa, H., Yabe, R., Takasaki, I., Kurihara, T., Zong, S., Tanabe, T. (2009). Peripheral-type benzodiazepine receptor antagonist is effective in relieving neuropathic pain in mice. *J. Pharmacol. Sci.* 0904280239-0904280239.
- Krzysztoforska, K., Mirowska-Guzel, D., Widy-Tyszkiewicz, E. (2019). Pharmacological effects of protocatechuic acid and its therapeutic potential in neurodegenerative diseases: Review on the basis of in vitro and in vivo studies in rodents and humans. *Nutr. Neurosci.* 22 (2), 72-82.
- Küpel, E., Tatli, I.I., Akdemir, Z.S., Yesilada, E. (2007). Estimation of antinociceptive and anti-inflammatory activity on *Geranium pratense* subsp. *finitimum* and its phenolic compounds. *J. Ethnopharmacol.* 114 (2), 234-240.
- Lamont, L.A., Tranquilli, W. J., Grimm, K.A. (2000). Physiology of pain. *Vet. Clin. North. Am. Small. Anim. Pract.* 30 (4), 703-728.
- Lawson, K. (2006). Potassium channels as targets for the management of pain. *Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Central Nervous System Agents)*, 6 (2), 119-128.
- Le Bars D. (2002). The whole body receptive field of dorsal horn multireceptive neurones. *Brain. Res. Brain. Res. Rev.* 40 (1-3), 29-44.
- Lehár, J., Krueger, A.S., Avery, W., Heilbut, A.M., Johansen, L.M., Price, E.R., Rickles, R.J., Short, G.F., Staunton, J.E., Jin, X., Lee, M. S., Zimmermann, G.R., Boisy, A.A. (2009). Synergistic drug combinations tend to improve therapeutically relevant selectivity. *Nat. Biotechnol.* 27 (7), 659.

- Lende, A.B., Kshirsagar, A.D., Deshpande, A.D., Muley, M.M., Patil, R.R., Bafna, P.A., Naik, S.R. (2011). Anti-inflammatory and analgesic activity of protocatechuic acid in rats and mice. *Inflammopharmacology*. 19 (5), 255.
- Li, D.P., Chen, S.R., Pan, H.L. (2010). Adenosine inhibits paraventricular pre-sympathetic neurons through ATP-dependent potassium channels. *J. Neurochem*. 113 (2), 530-542.
- Lima, F.O., Souza, G.R., Verri Jr, W.A., Parada, C.A., Ferreira, S.H., Cunha, F.Q., Cunha, T.M. (2010). Direct blockade of inflammatory hypernociception by peripheral A1 adenosine receptors: involvement of the NO/cGMP/PKG/KATP signaling pathway. *Pain*. 151 (2), 506-515.
- Lolignier, S., Eijkelkamp, N., Wood, J.N. (2015). Mechanical allodynia. *Pflug. Arch. Eur. J. Phy*. 467 (1), 133-139.
- Luo, L., Wei, Q., Liu, L., Lin, X., Lin, C., Zheng, L., Zhao, J. (2015). Protocatechuic acid benefits proliferation and phenotypic maintenance of rabbit articular chondrocytes: An in vitro study. *Exp. Ther. Med*. 9 (5), 1865-1870.
- Luu, W., Bjork, J., Salo, E., Entenmann, N., Jurgenson, T., Fisher, C., Klein, A. H. (2019). Modulation of SUR1 KATP Channel Subunit Activity in the Peripheral Nervous System Reduces Mechanical Hyperalgesia after Nerve Injury in Mice. *Int. J. Mol. Sci*. 20 (9), 2251.
- Mansouri, M.T., Naghizadeh, B., Ghorbanzadeh, B., Farbood, Y. (2013). Central and Peripheral Antinociceptive Effects of Ellagic Acid in Different Animal Models of Pain. *Eur. J. Pharmacol*. 707 (1-3), 46-53.
- Marazioti, A., Spyraiki, C., Thermos, K. (2009). GABA antagonists reverse the somatostatin dependent attenuation of rat locomotor activity. *Neuropeptides*. 43 (3), 207-212.
- Marchand S. (2008). The physiology of pain mechanisms: from the periphery to the brain. *Rheum. Dis. Clin. North. Am*. 34 (2), 285-309.

- Masella, R., Santangelo, C., D'archivio, M., LiVolti, G., Giovannini, C., Galvano, F. (2012). Protocatechuic acid and human disease prevention: biological activities and molecular mechanisms. *Curr. Med. Chem.* 19 (18), 2901-2917.
- Meacham, K., Shepherd, A., Mohapatra, D.P., Haroutounian, S. (2017). Neuropathic Pain: Central vs. Peripheral Mechanisms. *Curr. Pain. Headache. Rep.* 21 (6), 28.
- Merskey, H., Bogduk, N. (1994). Pain terms, a current list with definitions and notes on usage, H. Merskey, N. Bogduk (Eds.), *Classification of chronic pain, IASP task force on taxonomy* içinde (s. 209-214). Seattle: WA: IASP Press.
- Meyer, H.P. (2008). Neuropathic pain-Current concepts. *S. Afr. Fam. Pract.* 50 (3), 40-49.
- Meyer, R.A., Ringkamp, M., Campbell, J.N., Raja, S.N. (2005). Neural mechanisms of hyperalgesia after tissue injury. *Johns Hopkins APL Tech. Dig.* 26 (1), 56-66.
- Nascimento, F.P., Macedo Jr, S.J., Santos, A.R.S. (2012). The involvement of purinergic system in pain: adenosine receptors and inosine as pharmacological tools in future treatments. *In Pharmacology.* IntechOpen, 628-650.
- Nishikawa, N., Nomoto, M. (2017). Management of neuropathic pain. *Aust. J. Gen. Pract.* 18 (2), 56-60.
- Ocaña, M., Baeyens, J.M. (1994). Role of ATP-sensitive K⁺ channels in antinociception induced by R-PIA, an adenosine A₁ receptor agonist. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* 350 (1), 57-62.
- Ocaña, M., Cendán, C.M., Cobos, E. J., Entrena, J.M., Baeyens, J.M. (2004). Potassium channels and pain: present realities and future opportunities. *Eur. J. Pharmacol.* 500 (1-3), 203-219.
- O'Connor, A.B., Dworkin, R.H. (2009). Treatment of neuropathic pain: an overview of recent guidelines. *Am. J. Med.* 122 (10), S22-S32.
- Ossipov, M.H., Morimura, K., Porreca, F. (2014). Descending pain modulation and chronification of pain. *Curr. Opin. Support. Palliat. Care.* 8 (2), 143-151.

- Pająk, P., Socha, R., Broniek, J., Królikowska, K., Fortuna, T. (2019). Antioxidant properties, phenolic and mineral composition of germinated chia, golden flax, evening primrose, phacelia and fenugreek. *Food. Chem.* 275, 69-76.
- Patel, N.B. (2010). Physiology of pain. A. Kopf ve N.B. Patel. (Ed.), *Guide to pain management in low- resource settings* içinde (s. 13-17). SEATTLE.
- Pathak, N.N., Balaganur, V., Lingaraju, M.C., More, A.S., Kant, V., Kumar, D., Kumar, D., Tandan, S.K. (2013). Antihyperalgesic and anti-inflammatory effects of atorvastatin in chronic constriction injury-induced neuropathic pain in rats. *Inflammation.* 36 (6), 1468-1478.
- Pereira, D.M., Silva, T.C., Losada-Barreiro, S., Valentão, P., Paiva-Martins, F., Andrade, P.B. (2017). Toxicity of phenolipids: Protocatechuic acid alkyl esters trigger disruption of mitochondrial membrane potential and caspase activation in macrophages. *Chem. Phys. Lipids.* 206, 16-27.
- Pertovaara, A., Almeida, A. (2006). Descending inhibitory systems. *In Handbook of clinical neurology* (81, pp. 179-192). Elsevier.
- Pitcher, G.M., Henry, J.L. (2004). Nociceptive response to innocuous mechanical stimulation is mediated via myelinated afferents and NK-1 receptor activation in a rat model of neuropathic pain. *Exp. Neurol.* 186 (2),173-97.
- Rathmell, J.P., Fields, H.L. (2015). Pain: pathophysiology and management. D. Kasper, A. Fauci, S. Hauser, D. Longo, J.L. Jameson, J. Loscalzo (Eds.), *Harrison's principles of internal medicine* içinde (s. 87-95). United States of America: McGraw-Hill Education
- Reddi, D., Curran, N., Stephens, R. (2013). An introduction to pain pathways and mechanisms. *Br. J. Hosp. Med.* 74 (12), 188-191.
- Reddy, C.G., Miller, J.W., Abode-Iyamah, K.O., Safayi, S., Wilson, S., Dalm, B.D., Fredericks, D., Gillies, G.T., Howard, M.A. Brennan, T. J. (2018). Ovine model of neuropathic pain for assessing mechanisms of spinal cord stimulation therapy via dorsal horn recordings, von Frey filaments, and gait analysis. *J. Pain. Res.* 11, 1147.

- Ren, Z., Yang, B., Shi, L., Sun, Q.L., Sun, A.P., Lu, L., Liu, X., Zhao, R., Zhai, S. (2015). Carbamazepine Withdrawal-induced Hyperalgesia in Chronic Neuropathic Pain. *Pain. Physician.* 18 (6), 1127-30.
- Sachdeva, S., Gupta, M. (2013). Adenosine and its receptors as therapeutic targets: an overview. *Saudi. Pharm. J.* 21 (3), 245-253.
- Saibabu, V., Fatima, Z., Khan, L.A., Hameed, S. (2015). Therapeutic Potential of Dietary Phenolic Acids. *Adv. Pharmacol. Sci.* 1-10.
- Sawynok, J. (2013). Adenosine and pain. *In Adenosine* (pp. 343-360). Springer, New York, NY.
- Sawynok, J. (2016). Adenosine receptor targets for pain. *Neurosci.* 338, 1-18.
- Sawynok, J., Liu, X.J. (2003). Adenosine in the spinal cord and periphery: release and regulation of pain. *Progress in neurobio.* 69 (5), 313-340.
- Schweinhardt, P., Bushnell, M.C. (2010). Pain imaging in health and disease—how far have we come? *J. Clin. Invest.* 120 (11), 3788-3797.
- Serpell, M. (2008). *Handbook of pain management*. London: Current Medicine Group.
- Shi, X.Q., Lim, T.K., Lee, S., Zhao, Y.Q., Zhang, J. (2011). Statins alleviate experimental nerve injury-induced neuropathic pain. *Pain.* 152 (5), 1033-1043.
- Shin, K., Kim, I., Park, Y., Ha, J., Choi, J., Park, H., Lee, Y.S., Lee, K. (2004). Antiinflammatory effect of caffeic acid methyl ester and its mode of action through the inhibition of prostaglandin E₂, nitric oxide and tumor necrosis factor- α production. *Biochem. Pharmacol.* 68 (12), 2327–2336.
- Sidhu, H.S., Sadhotra, A. (2016). Current status of the new antiepileptic drugs in chronic pain. *Front. Pharmacol.* 7, 276.
- Singh, H., Bhushan, S., Arora, R., Buttar, H.S., Arora, S., Singh, B. (2017). Alternative treatment strategies for neuropathic pain: Role of Indian medicinal plants and compounds of plant origin-A review. *Biomed. Pharmacother.* 92, 634-650.

- Smith, B.H., Torrance, N. (2012). Epidemiology of Neuropathic Pain and Its Impact on Quality of Life. *Curr. Pain. Headache. Rep.* 16, 191–198.
- Song, J.G., Hahm, K.D., Kim, Y.K., Leem, J.G., Lee, C., Jeong, S.M., Park, P.H., Shin, J.W. (2011). Adenosine triphosphate-sensitive potassium channel blockers attenuate the antiallodynic effect of R-PIA in neuropathic rats. *Anesth. Analg.* 112 (6), 1494-1499.
- Sousa, A.M., Lages, G.V., Pereira, C.L., Slullitel, A. (2016). Experimental models for the study of neuropathic pain. *Rev. Dor.* 17, 27-30.
- Steeds, C.E. (2009). The anatomy and physiology of pain. *Surgery (Oxford)*, 27 (12), 507-511.
- Stern, R.G. (2019). Acute Herbal Therapy Efficacy: A Case Report. *Am. J. Med.* S0002-9343 (18) 31178-1.
- Stevenson, G.W., Cormier, J., Mercer, H., Adams, C., Dunbar, C., Negus, S.S., Bilsky, E.J. (2009). Targeting pain-depressed behaviors in preclinical assays of pain and analgesia: drug effects on acetic acid-depressed locomotor activity in ICR mice. *Life. Sci.* 85, 309-15
- Tampin, B., Briffa, N.K., Goucke, R., Slater, H. (2013). Identification of neuropathic pain in patients with neck/upper limb pain: application of a grading system and screening tools. *Pain.* 154 (12), 2813-2822.
- Tao, J., Liu, L., Fan, Y., Wang, M., Li, L., Zou, L., Yuan, H., Shi, L., Yang, R., Liang, S., Liu, S. (2019). Role of hesperidin in P2X3 receptor-mediated neuropathic pain in the dorsal root ganglia. *Int. J. Neurosci.* 129 (8), 784-793.
- Thangamani, D., Edafiogho, I.O., Masocha, W. (2013). The anticonvulsant enaminone E139 attenuates paclitaxel-induced neuropathic pain in rodents. *ScientificWorldJournal.* 2013.
- Tomić, M.A., Vučković, S.M., Stepanović-Petrović, R.M., Ugrešić, N., Prostran, M.Š., Bošković, B. (2004). The anti-hyperalgesic effects of carbamazepine and oxcarbazepine are attenuated by treatment with adenosine receptor antagonists. *Pain.* 111 (3), 253-260.

- Tsantoulas, C., McMahon, S.B. (2014). Opening paths to novel analgesics: the role of potassium channels in chronic pain. *Trends. Neurosci.* 37 (3), 146-158.
- Ulugöl, A., Özyigit, F., Yeşilyurt, O., Doğrul, A. (2006). The additive antinociceptive interaction between WIN 55,212-2, a cannabinoid agonist, and ketorolac. *Anesth. Analg.* 102 (2), 443-447.
- Vranken, J.H. (2009). Mechanisms and treatment of neuropathic pain. *Cent. Nerv. Syst. Agents. Med. Chem.* 9 (1), 71-78.
- Wang, L.X., Wang, Z.J. (2003). Animal and cellular models of chronic pain. *Adv. Drug. Deliv. Rev.* 55 (8), 949-965.
- Waszkielewicz, A.M., Gunia, A., Sloczynska, K., Marona, H. (2011). Evaluation of anticonvulsants for possible use in neuropathic pain. *Curr. Med. Chem.* 18 (28), 4344-4358.
- Woolf, C.J. (2004). Dissecting out mechanisms responsible for peripheral neuropathic pain: implications for diagnosis and therapy. *Life. Sci.* 9;74 (21), 2605-10.
- Wu, F.X., Pan, R.R., Yu, W.F., Liu, R. (2014). The anti-nociception effect of dezocine in a rat neuropathic pain model. *Transl. Perioper. Pain. Med.* 1 (1), 5-8.
- Wu, X.F., Liu, W.T., Liu, Y.P., Huang, Z.J., Zhang, Y.K., Song, X.J. (2011). Reopening of ATP-sensitive potassium channels reduces neuropathic pain and regulates astroglial gap junctions in the rat spinal cord. *Pain.* 152 (11), 2605-2615.
- Xia, H., Zhang, D., Yang, S., Wang, Y., Xu, L., Wu, J., Ren, J., Yao, W., Fan, L., Zhang, C., Tian, Y., Pan, H., Tian, Y. (2014). Role of ATP-sensitive potassium channels in modulating nociception in rat model of bone cancer pain. *Brain. Res.* 1554, 29-35.
- Yakup, K. (2008). Çörekotu (*Nigella sativa* L.) tohumunun doğal antioksidan ve alternatif enerji kaynağı olarak incelenmesi. Doktora Tezi. Konya: Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Yao, H.M., Wang, G., Liu, Y.P., Rong, M.Q, Shen, C.B., Yan, X.W., Luo, X.D., Lai, R. (2016). Phenolic acids isolated from the fungus *Schizophyllum commune* exert

analgesic activity by inhibiting voltage-gated sodium channels. *Chin. J. Nat. Med.* 14 (9), 661-670.

Zeilhofer, H.U. (2005). Synaptic modulation in pain pathways. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* (pp. 73-100). Springer, Berlin, Heidelberg.

Zhu, X., Liu, J., Gao, Y., Cao, S., Shen, S. (2015). ATP-sensitive potassium channels alleviate postoperative pain through JNK-dependent MCP-1 expression in spinal cord. *Int. J. Mol. Med.* 35 (5), 1257-1265.

Zoga, V., Kawano, T., Liang, M.Y., Bienengraeber, M., Weihrauch, D., McCallum, B., Gemes, G., Hogan, Q., Sarantopoulos, C. (2010). K ATP channel subunits in rat dorsal root ganglia: alterations by painful axotomy. *Mol. Pain.* 6 (1), 6.

Zou, L., Gong, Y., Liu, S., Liang, S. (2018). Natural compounds acting at P2 receptors alleviate peripheral neuropathy. *Brain. Res. Bull.* S0361-9230 (18), 30477-5.

Zurowski, D., Nowak, L., Machowska, A., Wordliczek, J., Thor, P.J. (2012). Exogenous melatonin abolishes mechanical allodynia but not thermal hyperalgesia in neuropathic pain. The role of the opioid system and benzodiazepine-gabaergic mechanism. *J. Physiol. Pharmacol.* 63 (6), 641-647.