

İZMİR KÂTİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

SIÇANLARDA MELATONİN VE KLONİDİN ARASINDAKİ
ANTİNOSİSEPTİF ETKİLEŞİMİN
TERMAL NOSİSEPSİYON ÜZERİNE ETKİSİ

Arş. Gör. Gülçin DURDAĞI
DOKTORA TEZİ
ORCID NO: 0000-0002-1163-0767

DANIŞMAN
PROF. DR. ESER ÖZ OYAR

2024-İZMİR

T.C.
İZMİR KÂTİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

SIÇANLARDA MELATONİN VE KLONİDİN ARASINDAKİ
ANTİNOSİSEPTİF ETKİLEŞİMİN
TERMAL NOSİSEPSİYON ÜZERİNE ETKİSİ

Arş. Gör. GÜLÇİN DURDAĞI
DOKTORA TEZİ
ORCID NO: 0000-0002-1163-0767

DANIŞMAN
PROF. DR. ESER ÖZ OYAR

Bu tez İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 2021-TDR-SABE-0004 numaralı proje ile desteklenmiştir.

2024-İZMİR

KABUL VE ONAY

Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğüne;

İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 06/ 02/ 2024

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Eser ÖZ OYAR İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Fizyoloji Anabilim Dalı

Üye: Prof. Dr. Ahmet KOYU İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Fizyoloji Anabilim Dalı

Üye: Prof. Dr. Nuran EKERBİÇER İzmir Tınaztepe Üniversitesi Fizyoloji Anabilim Dalı

Üye: Prof. Dr. Gökhan CESUR Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Fizyoloji Anabilim Dalı

Üye: Prof. Dr. Selen AKYOL BAHÇECİ İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

ONAY: Bu doktora tezi, Enstitü Yönetim Kurulu'nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Hatice YILDIRIM SARI
Enstitü Müdürü

YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi'ne verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

08/01/2024

Gülçin DURDAĞI

ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında zgn olduğunu, Tez Danışmanım Prof. Dr. Eser Z OYAR danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve İzmır Katip elebi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzuna göre yazıldığını beyan ederim.

08/01/2024

Gülçin DURDAğI

TEŞEKKÜR

Çalıőmamın yürütülmesinde bilgi, görüş ve önerileriyle yol gösteren, doktora eğitimim boyunca katkı ve desteğiyle ilerlememi sağlayan tez danıőmanım Anabilim Dalı baőkanı Sayın Prof. Dr. Eser ÖZ OYAR'a, doktora eğitimim süresi boyunca bilgi birikiminden faydalandığım Sayın Prof. Dr. Ahmet KOYU'ya, araőtırmama katkı sağlayan Sayın Prof. Dr. Selen AKYOL BAHÇECİ'ye; bilgi ve deneyimlerini benimle içtenlikle paylaőan hocalarım Sayın Doç. Dr. Mümin Alper ERDOğAN ve Sayın Dr. Öğr. Üyesi Ali Yücel KARA'ya; beraber çalıőmaktan keyif aldığım bölüm arkadaşlarım Uzm. Dr. Aysu ŐEN, Uzm. Dr. Emine ÇAKIRGÖZ, Uzm. Dr. Mehmet KİRAZLAR, Dr. Burçin BİLAL, Arş. Gör. Dr. Deniz Yıldız PEHLİVAN, Dr. Göktuğ KIRIŐOęLU, Dr. Fatih EMİRCAN ve Őeniz GENİŞ'e; 2021-TDR-SABE-0004 nolu projeye destek sağlayan İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne; beni hayatımın her alanında büyük bir özveri ile destekleyen, yaőantıma sonsuz katkıları olan annem, babam, ablama ve her daim destekçim olup bana güç veren değerli niőanlıma saygı, Őükran ve teőekkürlerimi sunarım.

Gülçin DURDAğI

İZMİR, 2024

ÖZET
SIÇANLARDA MELATONİN VE KLONİDİN ARASINDAKİ
ANTİNOSİSEPTİF ETKİLEŞİMİN
TERMAL NOSİSEPSİYON ÜZERİNE ETKİSİ

Gülçin DURDAĞI

İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim
Dahî Doktora Programı, İzmir, Türkiye, 2024

Amaç: Bir α -2 adrenoseptör agonisti olan klonidin (KLO) ve endojen bir hormon olan melatonin (MEL) antinosiseptif ve sedatif etkili maddelerdir. Çalışmamızın amacı akut termal ağrının inhibisyonu için daha önce denenmemiş MEL ve KLO dozlarının tek başına uygulandıklarında oluşacak antinosiseptif etkileri ve kombine halde uygulanan tedavide iki ilaç arasındaki olası antinosiseptif etkileşimi değerlendirmek, açığa çıkan yanıtların antinosiseptif etkili mi sedatif etkili mi olduğunu belirlemektir.

Yöntem: 32 adet, 8 haftalık, 300-350 gr ağırlığındaki Wistar-Albino erkek sıçan, randomize dört gruba ayrılmıştır: Kontrol, MEL, KLO, MEL+KLO. Tüm enjeksiyonlar intraperitoneal (i.p.) yoldan uygulanmıştır. Önce tail-flick cihazında ikişer tekrar, sonra hot-plate cihazında tek sefer olacak şekilde, enjeksiyon uygulamasından önce ve enjeksiyondan sonraki 15, 30, 60, 90, 120. dk'lerde ölçüm yapılmıştır. Bu testlerin hemen ardından rotarod performans testinde enjeksiyon öncesi ve enjeksiyon sonrası 30, 60, 90, 120. dk'lerde üçer tekrar ölçüm alınmıştır.

Bulgular: Tek başına uygulanan melatonin ve klonidin dozları hem tail-flick hem hot-plate testinde analjezik etki göstermiş; iki ilacın kombine şekilde uygulanması her iki ilacın tek başına ürettiği analjezik etkiyi, enjeksiyon sonrasında alınan tüm zaman dilimlerinde güçlendirip, süresini uzatmıştır. Uygulanan ilaç veya ilaç kombinasyonları sedasyona sebep olmamıştır.

Sonuç: Kullandığımız dozlar tek başına ve birlikte akut termal ağrı üzerinde analjezik etkiler sergilemiş, bu bulgular önceki araştırmalarda rapor edilen bulgularla paralellik göstermiştir. Kullandığımız ilaçların tek başına enjeksiyonlarının ve kombinasyonlarının antinosiseptif ve sedatif etkilerinin araştırılması ve bu etkilerin altında yatan mekanizmaların anlaşılması ileri araştırmaları gerektirmektedir.

Anahtar Kelimeler: Konidin, melatonin, antinosisepsiyon, α -2 adrenoseptör, tail-flick, hot-plate, rotarod

Bu çalışma, İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir. Proje numarası: 2021-TDR-SABE-0004.

ABSTRACT

ANTINOCICEPTIVE INTERACTION BETWEEN MELATONIN AND CLONIDINE EFFECT ON THERMAL NOCICEPTION IN RATS

Gülçin DURDAĞI

Izmir Katip Celebi University, Institute of Health Sciences, Department of Physiology, PhD Program, İzmir, Türkiye, 2023

Aim: Clonidine (CLO), an α -2 adrenoceptor agonist, and melatonin (MEL), an endogenous hormone, are substances with antinociceptive and sedative effects. The aim of our study is to evaluate the antinociceptive effects of MEL and CLO doses, which have not been tested before, when administered alone for the inhibition of acute thermal pain, and the possible antinociceptive interaction between the two drugs in combined treatment, and to determine whether the resulting responses are antinociceptive or sedative.

Method: 32 male Wistar-Albino rats, 8 weeks old, weighing 300-350 g, were randomly divided into four groups: Control, MEL, CLO, MEL+CLO. All injections were administered intraperitoneally (i.p.). Measurements were made first, twice on the tail flick device, and then once on the hot-plate device, before injection administration and at 15, 30, 60, 90, 120 minutes after the injection. Immediately following these tests, three repeat measurements were taken before and at 30, 60, 90 and 120 minutes after the injection in the rotarod performance test.

Results: Doses of melatonin and clonidine administered alone showed analgesic effects in both the tail-flick and hot-plate tests; The combined application of the two drugs strengthened and prolonged the analgesic effect produced by either drug alone in all time periods after injection. The administered drug or drug combination did not cause motor incoordination.

Conclusion: Melatonin and clonidine alone and together exhibited analgesic effects on acute thermal pain, findings that were in line with those reported in previous studies. Investigating the antinociceptive and sedative effects of single injections and combinations of the drugs we use and understanding the mechanisms underlying these effects require further research. Investigating the antinociceptive and sedative

effects of different drug doses and combinations and understanding the potential mechanisms underlying these effects require further research.

Keywords: Conidine, melatonin, antinociception, α -2 adrenoceptor, tail-flick, hot-plate, rotarod

This study was supported by Izmir Katip Celebi University Scientific Research Project Coordinator. Project number: 2021-TDR-SABE-0004.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	i
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI.....	ii
ETİK BEYAN	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER.....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xii
ŞEKİLLER.....	xiv
TABLolar.....	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Ağrının Tanımı.....	3
2.2.1. Transdüksiyon.....	4
2.2.2. Transmisyon.....	4
2.2.3. Modülasyon.....	5
2.2.4. Persepsiyon.....	5
2.3. Primer Afferent Lif Transmitterleri.....	5
2.4. Ağrının Sınıflandırılması	7
2.4.1. Kaynaklandığı Bölgeye Göre Ağrı.....	7
2.4.1.1. Somatik Ağrı.....	7
2.4.1.2. Visseral Ağrı.....	7
2.4.2. Süresine Göre Ağrı.....	7
2.4.2.1. Akut Ağrı.....	7
2.4.2.2. Kronik Ağrı.....	8
2.4.3. Mekanizmalarına Göre Ağrı.....	8
2.4.3.1. Nosiseptif Ağrı.....	8
2.4.3.2. Nöropatik Ağrı.....	9
2.4.3.3. Deafferantasyon Ağrısı.....	10
2.4.3.4. Reaktif Ağrı.....	10
2.4.3.5. Psikosomatik (Psikojenik) Ağrı.....	10
2.5. Ağrı Yolakları.....	10
2.5.1. Nosiseptif Afferent (Assendan, Çıkan) Yolaklar	10

2.5.1.1. Spinotalamik yol	11
2.5.1.2. Spinoretiküler yol	11
2.5.1.3. Spinomezensefalik yol.....	12
2.5.1.4. Servikotalamik yol.....	12
2.5.1.5. Spinohipotalamik yol.....	12
2.5.1.6. Postsinaptik Dorsal Kolon Yolu	13
2.5.2. Antinosiseptif Efferent (Desendan, İnen) Yolaklar	13
2.6. Noradrenerjik Ağrı Modülasyonu	14
2.6.1. α -2 Adrenoseptörler ve Agonistlerinin Etki Mekanizması.....	15
2.6.1.1. Klonidin	18
2.7. Melatonin.....	21
2.7.1. Melatonin Sentezi ve Metabolizması.....	21
2.7.2. Melatonin Reseptörleri ve İletim Sistemleri	24
2.7.3. Melatoninin Nosisepsiyon Üzerine Etkileri.....	24
2.7.4. Hayvan Modellerinde Etki Mekanizmaları	25
2.7.4.1. Melatonin Reseptörleri	25
2.7.4.2. İyon Kanalları ve Membran Potansiyeli	26
2.7.4.3. NO/NOS Sistemi	26
2.7.4.4. Opiat Sistemi.....	27
2.7.4.5. Adrenerjik Reseptörler	27
3. GEREÇ-YÖNTEM	28
3.1. Deneş Hayvanları ve Laboratuvar Koşulları	28
3.2. Deneş Grupları.....	28
3.3. Akut Nosiseptif Testler.....	29
3.3.1. Tail-Flick Testi	29
3.3.2. Hot-Plate Testi.....	30
3.4. Spontan Lokomotor Aktivite	31
3.4.1. Rotarod Performans Testi.....	31
3.5. İstatistiksel Veri Analizi	32
4. BULGULAR.....	34
4.1. Davranış Testlerinin Bulguları	34
4.1.1. Tail-Flick Testi Bulguları	34
4.1.2. Hote-plate Testi Bulguları	35
4.2. Rotarod Testi Bulguları	37
5. TARTIŞMA.....	39

6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	45
7. KAYNAKLAR	46
EKLER.....	62
ÖZGEÇMİŞ	63

SİMGELER VE KISALTMALAR

5-HT: 5-hidroksitriptofan

5-MT: 5-metoksitriptamin

α AR: Alfa adrenerjik reseptör (adrenoseptör)

A- δ : A-delta

AChE: Asetilkolinesteraz

AFMK: N1-asetil-N2-formil-5-metoksikinürenamin

AMK: N1-asetil-5-metoksikinürenamin

ARAS: Assendan retiküler aktive edici sistem

ATP: Adenozin trifosfat

Ca⁺²: Kalsiyum

cAMP: Siklik adenozin monofosfat

β -endorfin: Beta-endorfin

CGRP: Kalsitonin geni ile ilişkili peptid

COX-2: Siklooksijenaz-2

CYP: Sitokrom P450

Dk: Dakika

DM: Dekstrometorfan

EGE HAYMER: Ege Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi

eNOS: Endotelial Nitrik Oksit Sentaz

GDP: Guanozin difosfat

GIS: Gastrointestinal

GPCR: G-protein reseptör ailesi

G-protein: Guanin nükleotid-bağlayıcı protein

GTP: Guanozin trifosfat

HIOMT: Hidroksiindol-o-metiltransferaz

IASP: International Association for the Study of Pain (Uluslararası Ağrı Çalışma Derneği)

i.c.v. : İntraserebroventriküler

iNOS: İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz

i.p. : İntraperitoneal

K⁺: Potasyum

K_{ATP}: ATP'ye duyarlı potasyum
KLO: Klonidin
LC: Lokus seruleus
MAPK: Mitojenle aktive olan protein kinaz
MEL: Melatonin
µg/kg: Mikrogram/kilogram
mg/kg: Miligram/kilogram
Na⁺: Sodyum
NaCl: Sodyum klorür
NAT: N-asetiltransferaz
NMDA: N-Metil-D-aspartat
nNOS: Nöronal Nitrik Oksit Sentaz
NO: Nitrik oksit
NR1: NMDA reseptör alt tip 1
PAG: Periaquaduktal gri cevher
pg/mL: pikogram/mililitre
PGE2: Prostaglandin E2
SCN: Suprakiazmatik nükleus
SNL: Spinal sinir ligasyonu

ŞEKİLLER

Şekil 1: Ağrının algılanma süreci (31).....	5
Şekil 2: Serbest sinir uçlarının hasar sonrası değişimi (254)	6
Şekil 3: Ağrı yolları ile ilişkili bölgeler (254).....	14
Şekil 4: α -2 adrenoseptörlerin fizyolojisi (253).....	17
Şekil 5: Pineal bezde melatonin sentezinin kontrolü (53).....	23
Şekil 6: Tail-flick cihazı.....	30
Şekil 7: Hot-plate cihazı.....	31
Şekil 8: Rotarod cihazı.....	32
Şekil 9: Tail-flick testi latanslarının zamansal değişimi	35
Şekil10: Hot-plate testi latanslarının zamansal değişimi	36
Şekil 11: Rotarod testi latanslarının zamansal değişimi.....	38

TABLÖLAR

Tablo 1: Tail-Flick Testi Ölçüm Sonuçları.....	34
Tablo 2: Hot-Plate Testi Ölçüm Sonuçları.....	35
Tablo 3: Rotarod Testi Ölçüm Sonuçları.....	37

1. GİRİŞ

Ağrı; istenmeyen, kısıtlayıcı, çok sayıda hastalıkla birlikte görülen bir semptomdur. Kişinin yaşam kalitesini düşüren hayatî bir faktördür. Ağrı internal veya eksternal zararlı bir uyarın tarafından oluşturulur (1). Subjektif ve kompleks bir deneyim olan ağrı, nörofizyolojik, biyokimyasal, psikolojik, sosyokültürel, bilişsel, ruhsal ve çevresel yönlere sahip bir olgudur (2).

Ağrı ve ağrının inhibisyonu geçmişten günümüze dek araştırmacıların ilgi odaklarından biri olmuştur. Bilimin ve bilimsel yöntemlerin gelişmesindeki ilerlemeler ağrı ile ilgili mekanizmaların daha iyi anlaşılması ve etkin ağrı kesici yöntemlerin geliştirilmesine olanak sağlamaktadır (3). Çok sayıda faktörün rol aldığı ve bazı durumlarda sebebi klinik açıdan belirlenemeyen ağrının tedavisinde farmakolojik ajanlar kullanılmaktadır (4).

Bir imidazolin türevi olan klonidin (KLO) (5) hipotansif, anksiyolitik, sedatif ve analjezik etkili bir ilaçtır (6). Bu etkilerini α -2A AR'leri (adrenerejik reseptör, adrenoseptör) aktive ederek göstermektedir (7). Presinaptik α -2 AR'ler üzerinden hem santral sinir sisteminde hem periferik sempatik sinir terminallerinde norepinefrin (NE) salınımını azaltarak (6) parasempatik aktiviteyi artırır (8). Spinal kordun dorsal boynuzundaki postsinaptik α -2 AR'leri aktive ederek nosiseptif uyarıları baskılar (9).

Bir serotonin türevi olan melatonin (MEL), pineal bez tarafından sentezlenip salgılanan endojen bir nörohormondur (10). İnsan vücudunda endojen melatoninin çoğu fizyolojik etkisi, hücre membran yüzeyinde ve nükleusunda bulunan spesifik melatonin reseptörlerinin aktivasyonu ile gerçekleşir (11). MEL'in ağrı oluşumuna yol açan uyarılara karşı nosiseptif tepkileri hafiflettiği gösterilmiştir. Melatonin ve analogları periferik veya santral olarak uygulandığında akut, nöropatik ve inflamatuvar ağrı üzerinde doza-bağılı uzun vadeli antinosiseptif etkiler yaratır (12). Melatoninin analjezik aktivitesine, melatonin reseptörleri başta olmak üzere, santral sinir sisteminde ve spinal kordun dorsal boynuzunda yer alan opioiderejik, benzodiazepinerejik, muskarinik, nikotinik, serotonerejik ve α 1, α 2-adrenerejik ve MT1/MT2 melatoninerejik reseptörlerle etkileşiminin aracılık ediyor olabileceği düşünülmektedir (13).

Yapılan literatür taramasında farklı analjezik maddelerin melatoninle ve klonidinle kombinasyonun antinosiseptif yanıtı güçlendirdiğini gösteren çok sayıda bilimsel araştırmaya rastlanılmıştır. Belirlediğimiz melatonin ve klonidin dozlarının kombinasyonu ilk kez çalışmamızda denenmiştir. Oluşturduğumuz bu kombinasyonun sıçanlar üzerindeki antinosiseptif etkinliği ve lokomotor aktivitelerine etkisi yine ilk kez bu çalışmada incelenmiştir.

Bu tez kapsamında bir α -2 (AR) olan KLO ile bir endojen hormon olan melatoninin (MEL) kombine edilip intraperitoneal (i.p.) olarak uygulanmasının, olası antinosiseptif potansiyalizasyonunu araştırmak amaçlanmıştır. İlaçların ve ilaç kombinasyonlarının antinosiseptif etkilerini davranışsal seviyede saptamak amacıyla nosiseptif testler olan hot-plate ve tail flick testleri kullanılmıştır. İlaçların lokomotor aktiviteyi etkileyip etkilemediği rotarod testiyle değerlendirilmiştir. Elde ettiğimiz bulgular, KLO ve MEL'in tek başına antinosiseptif yanıt oluşturduğuna ve iki ilacın kombine uygulanmasının daha güçlü antinosisepsiyon oluşturduğuna dair kanıtlar sunmaktadır.

2.1. Ağrının Tanımı

Dünya Sağlık Örgütü ağrıyı önemli bir halk sağlığı sorunu olarak kabul etmiştir (14). Ağrının doğru bir şekilde tanımlanması ve ne olduğunun anlaşılması, tanısının konması ve etkili tedavi yönteminin uygulanabilmesi açısından büyük önem taşır (15). Uluslararası Ağrı Çalışma Derneği (International Association for the Study of Pain, IASP) ağrıyı “Vücudun herhangi bir bölgesinden kaynaklanan, doku hasarı ile ilişkili olan veya olmayan, emosyonel, sensorial, bilişsel ve hoş olmayan bir deneyim” şeklinde tanımlamıştır (16, 17). Ağrı farklı kişilerde farklı şiddetlerde algılanabildiği gibi, aynı kişide farklı zamanlarda farklı şiddetlerde de algılanabilen subjektif bir algıdır (18, 19). İstenmeyen bir durum olarak kabul edilse de ağrı olası bir doku harabiyetine karşı vücudun uyarılması ve gerekli önlemlerin alınması için sinyaller üreten sinir sisteminin önemli işlevlerinden birisidir (20).

İnsanların ağrılı uyarılara karşı davranışları farklılık içerir. Kimisinin daha ağrıya dayanıklı, kimisinin daha hassas olması ağrı eşiği denilen, kişiye özgü bir niteliktir. Bireyin kültürel özellikleri, yaşam biçimi, yaşadığı çevre, eğitimi, cinsiyeti, dili, dini gibi birçok faktör ağrı eşiğinin belirleyicisidir (21).

2.2. Ağrının Algılanma Aşamaları

Ağrı temelde iki komponentten oluşur. Bu komponentlerden biri ağrının duyulması, algılanması, diğeri gösterilen reaksiyondur. Ağrı duyulduğunda zararlı uyarandan korunma amacıyla istemli ya da istemsiz motor cevaplar oluşur. İstemli cevaplar kıvrınma, sızlanma, yüz buruşturma, pozisyon değiştirme gibi kişinin ağrı duyduğuna işaret eden davranış biçimleridir (22).

Ağrının algılanmasını, periferde bulunan ağrıya hassas, çıplak ve serbest sinir uçları olan nosiseptörlerin aktivasyonu ya da hasarlı dokudan salgılanan mediyatörler başlatır. Nosiseptörler mekanik, termal, kimyasal ve elektriksel uyarılara cevap veren özelleşmiş serbest sinir uçlarıdır (16, 23). Ağrı nosisepsiyon içinde bir algılama şeklidir. Nosiseptör aracılı uyarıların tümü ağrı oluştururken, ağrıların tümü nosisepsiyondan kaynaklanmaz (20, 24).

Nosisepsiyon, vücudun herhangi bir bölgesinde doku hasarı oluşturan termal, mekanik, kimyasal veya elektriksel bir uyarının nosiseptörler tarafından algılanıp, miyelinsiz, ince kalınlıktaki, yavaş iletimli C-lifleri ve ince miyelinli, orta kalınlıktaki, orta ileti hızındaki A-delta (A- δ) lifleri ile santral sinir sistemine iletilerek belirli nöral yapılarda entegre edilmesinden sonra birtakım önlemlerin harekete geçirilmesiyle oluşan elektrokimyasal olaylar bütünüdür (25, 26). C-lifleri ile A- δ lifleri, deri altı dokularında bulunan nosiseptörler ile korteks arasındaki iletişimde rol oynayan komponentlerdir (27, 28). Ağrılı bir uyarın 4 aşamalı bir yol izleyerek üst merkezlere taşınır. Bunlar; transdüksiyon, transmisyon, modülasyon ve persepsiyondur (**Şekil 1**).

2.2.1. Transdüksiyon

Mekanik, kimyasal ve termal uyarıların nosiseptörlerin sensorial uçlarında elektriksel aktiviteye dönüştürülmesidir (29).

2.2.2. Transmisyon

Nosiseptörler tarafından algılanan ağrı impluslarının santral sinir sistemine iletilmesidir (29). Bu aşama üç komponentten oluşur:

a) Spinal kordun dorsal boynuzuna ulaşan primer afferent duysal nöronlar (I. sıra nöronlar): Üst merkeze iletim sırasında A- δ lifleri ve C lifleri aktiftir. A- δ liflerinin uçları genellikle mekanik ve termal uyarılar ile aktiflenirken; C liflerinin uçları olan polimodal nosiseptörler şiddetli mekanik, kimyasal, aşırı sıcak ve soğuk uyarılar aktiflenir. A- δ lifleri akut, keskin, batıcı karakterde, iyi lokalize edilen ağrıyı; C lifleri kronik, künt, yaygın, zonklayıcı karakterde, daha az lokalize edilebilen ağrıyı iletir (3, 16, 29).

b) Spinal korddan beyin sapı ve talamusa uzanan assendan projeksiyon nöronları (II. sıra nöronlar): Bu grubun nöronları içerisinde en önemli yol spinotalamik yoldur (29, 30).

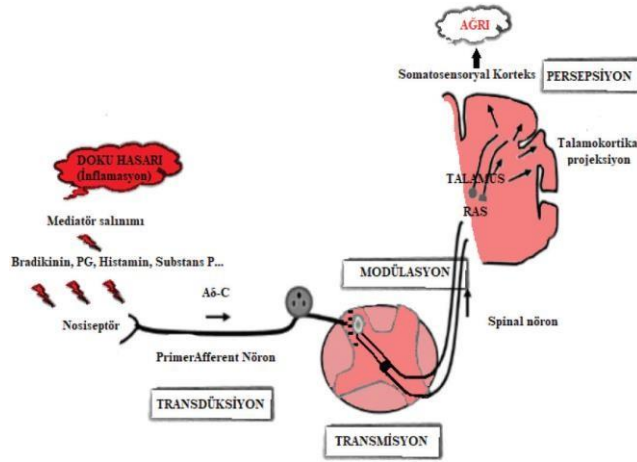
c) Talamo-kortikal projeksiyon nöronları (III. sıra nöronlar): Medial talamustan çıkan lifler limbik sisteme uğradıktan sonra anterior singulat korteks ve prefrontal kortekste sonlanırlar. Lateral talamustan çıkan lifler somatosensorial kortekste (primer ve sekonder korteks) sonlanır (29, 30).

2.2.3. Modülasyon

Transmisyon iletisinin inen (desendan) nöral yollar ile azaltılıp inhibe edilmesidir. Bu aşamada ağrılı uyaran spinal kordun arka boynuzdaki gri cevher seviyesinde değişime uğrayıp, daha üst merkezlere iletilir (16).

2.2.4. Persepsiyon

Spinal korddan supraspinal düzeye ulaşan ağrılı uyarının kortekste değerlendirilip emosyonel ve fiziksel olarak ağrı duyusu şeklinde algılanmasıdır (16).



Şekil 1. Ağrının Algılanma Süreci (31)

2.3. Primer Afferent Lif Transmitterleri

Periferik serbest sinir uçlarının uyarılmasıyla başlayan süreç, nörotransmitter salınımına sebep olur. Bilgiler sempatik preganglionik nöronal bölgeye iletilir ve periferik vasküler sistemin refleks yanıtları ortaya çıkar. Lokal olarak substant P ve diğer taşıyıcılar salınır ve vazodilatasyon gerçekleşir. Vazodilatasyondan hemen sonra kan hücrelerinden bölgesel olarak histamin ve bradikinin salınır. Bradikinin, faktör XII'nin kinin sistemi ile aktive edilmesi sonucu plazma kininojenlerinden oluşur. İnterkapiller hacim ve basınç artışı sonrası oluşan vazodilatasyon, bazı mediyatörlerin kapiller duvarına direkt olarak etki etmesine ve sıvının dokular arasına geçişine sebep olur. Ortamdaki sıvı ilk adımda ödem sıvısına iken, ilerleyen süre zarfında marjinsasyon-emigrasyonun gerçekleşmesiyle ödem sıvısına lökosit ve makrofajlar eklenir, eksuda sıvısı oluşur (32).

Geniş ve küçük çaplı primer aferent liflerin transmitterleri aspartat, glutamat ve substant P, Nörokinin-A, kalsitonin geni ile ilişkili peptid (CGRP), kolesistokinin, galanin, somatostatin gibi nöropeptitleri içeren eksitatör aminoasitlerdir.

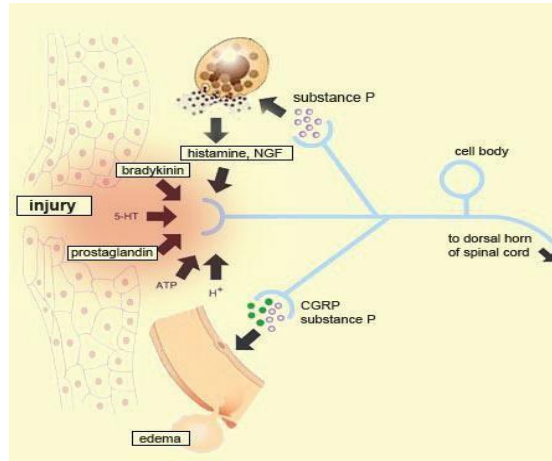
Periferde salınan zararlı uyanan özelliğindeki nörotransmitterler şunlardır (Şekil 2):

Histamin: Mast hücrelerinden salgılan bir nörotransmitterdir. Histamin lezyonlu bölgede kızarıklık, ödem, deride hiperaljezi gibi bölgesel inflamasyon belirtilerine yol açar. Histamin nosiseptörleri uyarabilmektedir (33).

Bradikinin: Zararlı mekanik uyanan hücre membranı permeabilitesini bozar, bölgesel hücre yıkımı sonucu hücre dışına öncül maddeler çıkar. Bradikinin, nosiseptörü doğrudan aktifler ve perifer damarlarda vazodilatasyona yol açar. Ek olarak hücre membranları üzerine etkiyerek prostaglandin oluşumuna yol açar (34).

Serotonin: Trombositlerden salınır. Nosiseptörü doğrudan aktive eder. Hücre membranları üzerine etkiyerek prostaglandin oluşumuna yol açar (34).

Direkt doku travması sonucunda serotonin ve bradikinin hücre membranında fosfolipidler üzerine etkiyerek prostaglandinler ve araşidonik asiti serbest hale getirir. Araşidonik asit siklooksijenaz enzimleri tarafından siklik endoperoksitlere, buradan da prostaglandinlere dönüştürülür (32). Böylelikle ortamda prostoglandinler ve lökotrienler serbest hale geçerler (35). Prostaglandinler bir yandan nosiseptif duyarlılığı artırır diğer yandan lokal dolaşımda vazodilatasyonu artırarak algojenik madde birikmesinde artışa neden olurlar (36). Refleks mekanizmayla duyarlı hale gelen nosiseptif uçlar çevre dokuya nöropeptidler salgırlar. P maddesi, nörokinin A ve CGRP gibi taşıkininler bölgede ödem ve inflamasyon başlatır. P maddesi histamin salgılanmasına da yol açar (33).



Şekil 2. Serbest Sinir Uçlarının Hasar Sonrası Değişimi (254)

2.4. Ağrının Sınıflandırılması

2.4.1. Kaynaklandığı Bölgeye Göre Ağrı

2.4.1.1. Somatik Ağrı

Somatik sinir lifleriyle taşınır. Yüzeysel somatik ağrı cilt, cilt altı dokular ve mukoz membranlardan gelen uyarılarla oluşur. Ani başlar, keskin karakterdedir ve iyi lokalize edilir. Batma, sızlama, zonklama, yanma şeklindedir (16, 19, 37). Derin somatik ağrının kaynağı kaslar, tendonlar, eklemler veya kemiklerdir. Künt ve sızlayıcıdır, iyi lokalize edilemez. Travma, kırık, çıkık gibi durumlar örnek olarak gösterilebilir (19, 37).

2.4.1.2. Visseral Ağrı

İç organların veya membranlarının (paryetal plevra, perikard, periton) anormal fonksiyonu, inflamasyonu veya hastalığına bağlı olarak gelişir. Her zaman doku hasarı ile ilişkili değildir ve her organdan kaynaklanmaz. Visseral ağrı afferentlerine medulla spinalisin T1-L2 seviyesinden çıkan sempatik lifler eşlik eder. Yavaş başlar, künt ve sızlayıcıdır, kramp şeklindedir, kolay lokalize edilemez. Başka bölgelere yayılıp yansıyan ağrı şeklinde kendini gösterebilir (kardiyak ağrının sol kola, apandisit ağrısının göbek bölgesine yansması gibi). Otonomik bulgular eşlik edebilir (19, 37).

2.4.1.3. Sempatik Ağrı

Sempatik sinir sistemin tutulduğu ağrıdır. Primer hastalık geçtikten bir süre sonra şiddet gitgide artar. Yanma tarzında oluşur, ağrı özellikle geceleri artar. Ağrılı deri hassas ve soğuktur. Vasküler tipte ağrılar ve koyalji denilen yanma tarzındaki ağrılar örnek olarak verilebilir (16, 19, 37).

2.4.2. Süresine Göre Ağrı

2.4.2.1. Akut Ağrı

Cerrahi girişimler, travma, enfeksiyon sonucunda oluşan doku hasarı ile ani olarak yaklaşık 0,1 saniye içinde başlar, 3-6 aydan kısa sürer. Yara iyileşmesi süresince gitgide azalır, iyileşme sürecinin sonunda ortadan kalkar (16, 38). Daima

nosisepsiyon kaynaklıdır. Vücudu korumaya yönelik fonksiyonu nedeniyle yararlı bir biyolojik uyarandır (40). Santral sinir sistemine A- δ lifleriyle taşınır. Hızlı, batma tarzında ve keskin karakterde olup, iyi lokalize edilir. Analjeziklerle kontrol altına alınabilir. Postoperatif dönemde oluşan ağrı, miyokard infarktüsü ve pankreatit akut ağrı örnekleridir (16, 39).

2.4.2.2. Kronik Ağrı

İyileşmenin geciktiği veya tedavinin yetersiz kaldığı durumlarda geçmeyen ağrı kronik hale gelir. Nosisepsiyon kaynaklı olabilir. Ağrılı uyarandan 1 saniye ya da daha uzun zaman sonra yavaş yavaş başlayarak çok kısa süre içinde artan ağrıdır. Santral sinir sistemine C lifleriyle taşınır. Künt, zonklama, yanma tarzındadır ve tam lokalize edilemez. Genellikle 3-6 aydan uzun sürer, aralıklı olarak devam eder (39, 40). Kronik ağrı geleneksel tıbbi müdahalelere genellikle yanıt vermez. Uzun süreli ve çoklu tedavi gerektirir. Anksiyete, korku, mobilite azalması, iştah problemleri, sosyal problemler, depresyon, uyku problemleri, iş yaşamında kısıtlamalar gibi problemlere yol açarak hayat kalitesini düşürür (29, 40). İskelet-kas sistemi bozuklukları, visseral hastalıklar, periferik sinir kökleri veya arka kök ganglionu lezyonları, santral sinir sistemi lezyonları ve kanser gibi durumlarda görülmektedir. Biyolojik açıdan yararlı bir amacı yoktur (39).

2.4.3. Mekanizmalarına Göre Ağrı

2.4.3.1. Nosiseptif Ağrı

Vücudun herhangi bir yerinde inflamasyon ya da doku hasarı gibi birtakım fizyopatolojik olayların nosiseptörleri stimüle etmesi sonucunda oluşarak ağrılı stimulusa karşı korunma mekanizması oluşturur. Somatik ya da visseral doku kaynaklı olabilir (39). Hasarlı bölgede immun hücrelerden salgılanan CGRP, nörokinin A, histamin, bradikinin, substans P ve prostaglandin gibi birçok algenik madde periferik nosiseptörleri uyarınca ağrı impulsları spinal korda iletilir. Ortama salınan bu mediyatörler kapiller permeabiliteyi etkileyerek ve vazodilatasyona sebep olarak, ödem ve doku hassasiyetine yol açarlar (41, 42).

Reseptöre gelen stimulus reseptörde reseptör potansiyeli oluşturur. Reseptör potansiyelinin eşik değere ulaşmasıyla aksiyon potansiyeli meydana gelir. Aksiyon

potansiyeli, primer afferent sinir lifinde akson boyunca ilerleyerek, “hep veya hiç yasası” uyarınca sinaptik uca kadar ulaşır, önce medulla spinalise daha sonra talamusa iletilir (43, 44). Talamustan kalkan impulslar 3. sıra nöronlarla serebral kortekse iletilir ve ağrı algısı oluşur. Zonklayıcı, sızlayıcı, bıçak batır tarzıdır (45). Nosiseptif ağrılar iskelet-kas sistemi bozuklukları, malignite durumları ve post-travmatik patolojilere sekonder olarak gelişir (41, 42).

2.4.3.2. Nöropatik Ağrı

Nöropatik ağrıya periferik, santral veya otonom sinir sisteminin herhangi bir bölümünün primer lezyonu veya disfonksiyonu ya da metabolik bir hastalık yol açar. Santral ve periferik olmak üzere iki gruba ayrılır. Periferik nöropatiler primer afferentlerdeki değişikliklere bağlıdır ve postherpetik nevralsi, diyabet, herpes zoster, sinir basısı, hasarı ya da inflamasyonu, ektojik deşarj, nosiseptör sensitizasyonu, lifler arası anormal etkileşim, katekolaminlere karşı duyarlılığın artması ve metabolik hastalık durumlarında ortaya çıkar (20, 46). Santral nöropatiler ise duyuşal yolların irritasyonu, sempatik sistemin irritasyonu, hipotalamik bozukluk, medulla spinaliste, beyin sapında ve talamusta kontüzyon, iskemi, tümör, enfarkt, spinal kord ya da beyin hasarı, inisi antinosiseptif mekanizmalarda kayıp ve alternatif sekonder çıkan yollarda aktiflenme gibi nedenlere bağlıdır (20, 45, 46). Mekanik bir incinme (Ör: disk hernisi) veya salgılanan çeşitli metabolitler (Ör: diyabetik nöropatiler) sinir dokusu üzerine etkiyerek nöropatik ağrıya sebep olabilir (39). Aralıklı, kısa süreli, batma, yanma, saplanma, uyuşma, elektrik çarpması, karıncalanma gibi hisler ile kendini gösterir (20, 45). Nöropatik ağrı tahribata neden olan olaydan bir süre sonra kendiliğinden ortaya çıkabilir ve normal şartlar altında ağrıya yol açmayan uyarılar da ağrı oluşturabilir (20). İyi tedavi edilmediğinde duygu durum bozukluğuna ve uyku problemlerine sebebiyet vermekte, hastaların hayat kalitesini düşürmektedir. Nöropatik ağrıya spontan ağrı, allodini, hiperaljezi ve duyuşal kayıplar gibi semptomlar eşlik eder. Bunlara ek olarak otonomik (terleme ve salivasyonda artış, mesane ve barsak disfonksiyonu, erektil disfonksiyon gibi) bulgular da gözlenebilir (47).

2.4.3.3. Deafferantasyon Ağrısı

Periferik ve/veya santral sinir sisteminde oluşan lezyonlar sonucu, somatosensorial uyarıların santral sinir sistemine iletiminin kesilmesinden kaynaklanır. Periferik sinir kesisi, spinal, medullar, pontin ve talamik seviyedeki lezyonlar ile ortaya çıkabilmektedir (20). Yanıcı özelliğindedir. Deafferantasyon ağrısına brakial pleksus avülsiyonu, postherpetik nevralji, travmatik paraplejiler, talamik ağrı ve fantom ağrısı şeklinde örneklendirilebilir (48).

2.4.3.4. Reaktif Ağrı

Motor veya sempatik afferentlerin refleks olarak aktiflenmesi sonucu nosiseptörlerin uyarılması ile oluşur. Miyofasiyal ağrı sendromları ve refleks sempatik distrofiler bu ağrı grubundandır (39).

2.4.3.5. Psikosomatik (Psikojenik) Ağrı

Anksiyete ve depresyon gibi psişik veya psikososyal problemlerin arttığı durumlarda, kişi bu problemlerini ağrı biçiminde ifade eder. Ağrılı bir durum var olsa da asıl sorun psikolojiktir. Kişinin nörofizyolojik duyarlılığı arttığı için önemsiz bir doku sorunu abartılı bir şekilde hissedilir hale gelir (39).

2.5. Ağrı Yolakları

2.5.1. Nosiseptif Afferent (Assendan, Çıkan) Yolaklar

Ağrının oluşumu için beyinde birçok bölgenin etkileşim halinde olması gerekmektedir. Medulla spinalisten sonra subkortikal ve kortikal yapılara projeksiyon sunan devrede temel bölgeler mezensefalon, talamus, hipotalamus, amigdala, periaquaduktal gri cevher, lentiform nükleus, primer ve sekonder somatosensöriyel korteksler, insular korteks, prefrontal, anterior ve paryetal singulumdur. Tüm bu bölgeler ağrının duyuşsal, duygusal, kognitif, davranışsal ve bilinçsel yönlerinin oluşumuna katılır (49, 50) (**Şekil 3**). Somatosensorial korteks ağrının şiddet ve lokalizasyonunu belirler. Limbik yapılar affektif (korku, öfke vs.) ve kognitif özelliklerin, ek olarak da otonomik değişikliklerin ortaya çıkmasına sebep olur (uyku veya iştah değişiklikleri vs.) (51).

Spinal kordun dorsal boynuzunda bulunan projeksiyon nöronlarıyla birinci sıra nöronlarının direkt veya indirekt etkileşimi, ikinci sıra nöronlarının akson uçlarını uyarır. Bu nöronlar medulla spinaliste anterior komissüründen karşı tarafa çapraz yapan uzun lifler projekte eder ve nosiseptif impulsu anterolateral kolonlar içinde beyin sapı yapılarına, talamus, periakvaduktal gri cevher (PAG), parabrakial nukleus, medullar retiküler formasyon, amigdala, septal nukleus ve hipotalamus yapılarını içeren mezensefalona iletir (39, 52).

2.5.1.1. Spinotalamik yol

Nosiseptörlerin dorsal boynuz ganglionunda yerleşmiş hücre gövdeleri ağrı yolunun birinci sıra nöronlarını oluşturur. İkinci sıra nöronlar, spinal kordun lamina I, V ve VII dorsal boynuzuna yerleşik haldedir. Bu nöronların akson uzantıları orta hattı geçer, anterolateral afferent sistem içinde ilerleyip karşı tarafa geçer ve talamusun ventral posterolateral nukleusunda (üçüncü sıra nöron) sonlanırlar. Talamusdan çıkan uzantılar kortekse ulaşır, postsentral girusta sonlanır. Bu yolak ağrının lokalizasyon, şiddet ve zaman gibi özelliklerinin algılanmasını sağlar (52, 53).

Spinotalamik yolağın üç farklı afferent formu bulunur. Birincisi, ağrının duyuşal-ayrıt edici bölümünü içeren, talamusun lateral kompleksinin nukleuslarına direkt projeksiyon yapan monosinaptik (ventral spinotalamik) yoldur. İkincisi, ağrının bilişsel değerlendirici bölümünü içeren, talamusun posterior medial ve intralaminar kompleksinin nukleuslarına projeksiyon yapan multisinaptik (dorsal spinotalamik) yoldur. Üçüncüsü, ağırlı deneyimlerin duyuşal bölümünü içeren, talamusun medial santral nukleusuna direkt projeksiyon yapan monosinaptik spinotalamik yoldur (54).

2.5.1.2. Spinoretiküler yol

Lamina V, VII ve VIII'den köken alır, anterolateral afferent sistem içinde ilerleyerek beyin sapına iki projeksiyon bileşeni gönderir. Bunlardan biri motor kontrolü içeren lateral retiküler formasyonda bulunan preserebellar nukleusa, diğeri nosisepsiyon mekanizmasını içeren medial pontobulbar retiküler formasyona yönelir. Lamina I'den köken alan bazı lifler dorsal ve ventral subseruleus nukleuslarına, ardından ventral talamus ile hipotalamusa ve talamusun intralaminar nukleuslarına

projekte olur. Sonrasında singulat girusun ön bölümü, amigdala, hipotalamus gibi bölgelere ulaşır. Kortikal ve subkortikal yapıları (limbik sistem ve diensefalon) alert halde tutma, ağırlı uyarana karşı alert hale getirme amacındadır (53, 55).

2.5.1.3. Spinomezensefalik yol

Dorsal boynuz lamina I ve V'teki nosiseptif projeksiyon nöronları anterolateral afferent sistem içinde bulunur ve spinoretiküler yola çok yakın bir konumda mezensefalik PAG'a kadar yükselir. Spinoparabrakial yol üzerinden, amigdalanın parabrakial nukleuslarına uzanır (53). Bu bölgelerden sonra amigdala ve hipotalamusa giderek, korku, kaçınma, anksiyete gibi ağrıyla ilişkili emosyonel davranışları, otonomik reaksiyonları ve ağrıyı endojen olarak modüle eden yapıları aktive eder (56, 57).

Bazı torasik ve servikal düzeylerde lamina I'den köken alan lifler aynı yönde ve çift taraflı iki farklı afferent sistem oluştururlar. Bunlar PAG'a projeksiyon yapan spinoannular lifler ve superiyor kollikulusların derinine ulaşan spinotektal liflerdir (52). Spinomezensefalik yolun PAG ile bağlantısı nosisepsiyonda önem arz eder. Çünkü PAG, analjezik etki sağlayan enkefalinergic nöronları içermesi sebebiyle antinosisepsiyon mekanizmalarının tetiklendiği en önemli bölgelerdendir (53).

2.5.1.4. Servikotalamik yol

Lateral servikal nukleus nöronlarından oluşur. Servikal nukleus lamina-III ve IV'teki nosiseptif nöronlardan girdi alır. Bu girdilerin çoğunluğu medial lemniskus içerisinde talamusa ulaşırken, bir kısmı medullanın kuneat ve grasilis nukleuslarında sonlanır (53).

2.5.1.5. Spinohipotalamik yol

Lamina I, V, VII'deki nöronların aksonlarından, kaudal nukleus ve santral medullar kanalın çevresindeki bazı bölgelerden köken alır ve nosiseptif olmayan nöronlardan oluşur. Deri, dudak, genital organlar, gastrointestinal traktus, intrakranial kan damarları, dil ve korneadan gelen ve emosyonel önem taşıyan uyarı bu yolakla doğrudan hipotalamusa taşınır (53, 55).

2.5.1.6. Postsinaptik Dorsal Kolon Yolu

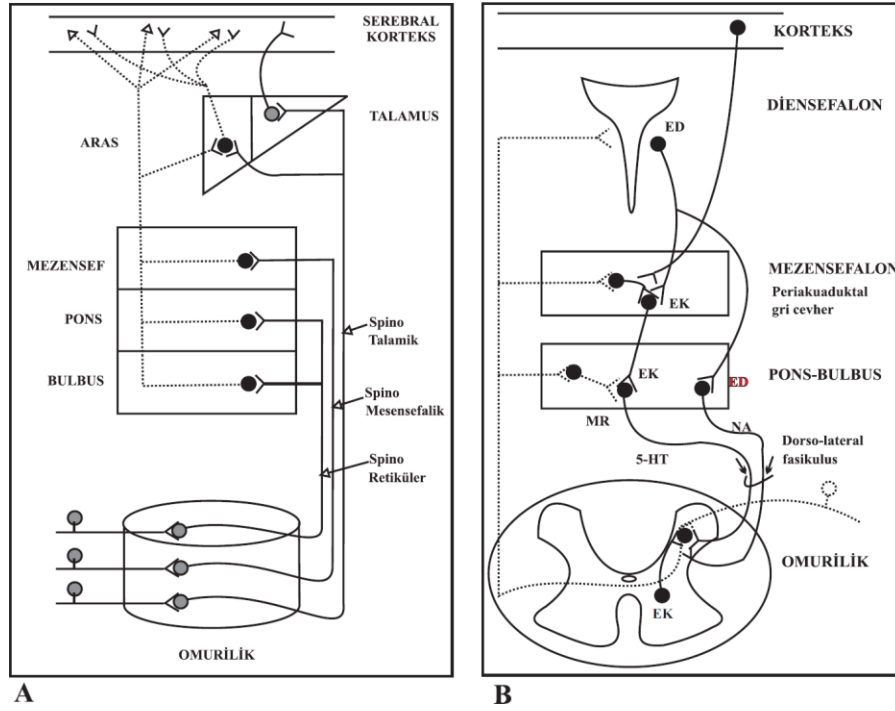
Lamina III ve V'ten köken alır. Kalın afferent liflerin kollateral aksonları arka boynuzda yukarıya doğru ilerleyerek bu yolun büyük bir kısmını meydana getirir. Lamina V'teki bazı nosiseptif nöronların aksonları da bu yola katılım göstererek nukleus kuneatus ve grasiliste sonlanır. Bu yolun özellikle visseral ağrı iletiminde önem taşıdığı düşünülür (39, 52).

2.5.2. Antinosiseptif Efferent (Desendan, İnen) Yolaklar

İç organlar, deri ve diğer dokulardan spinal kordun dorsal boynuzuna ulaşan nosiseptif uyarı antinosiseptif supraspinal yolakların ve spinal yapıların etkisiyle modifiye edilip supraspinal merkezlere iletilir (30). Kortekse ulaşan sinyaller, üst merkezlerde değerlendirildikten sonra spinal korda geri dönerek inen yolları oluşturur (58). Antinosiseptif efferent yolaklar antinosiseptif etkisini serotonin ve noradrenalin gibi nöromediyatörler aracılığıyla veya substantia gelatinosa'daki kısa aksonlu enkefalinergic ara nöronların aktivasyonu ile gerçekleştirirler (53). Tüm bu monoaminergic ve enkefalinergic antinosiseptif yolaklar, lamina-I ve lamina-II'de yer alan nosiseptif projeksiyon nöronunda hücre içi Ca^{+2} konsantrasyon artışını inhibe edip, hücre membranında K^{+} iyon geçirgenliğini artırarak hiperpolarizasyonu ve uyarılabilirliğin azalmasını, dolayısıyla ağrının inhibisyonunu sağlarlar (37, 39).

Bu yolakta bulunan nöronlar şunlardır: (**Şekil 3**)

- 1- Mezensefalik PAG'da yer alan, supraspinal inhibisyondan sorumlu, serebral korteks ve hipotalamus ile bağlantı halinde olan enkefalinergic nöronlar (34, 53)
- 2- Retiküler formasyonun bazı nukleuslarından başlayıp medulla spinalisin arka kökünde sonlanan, supraspinal inhibisyondan sorumlu, temel nörotransmitteri noradrenalin olan noradrenergik lifler (34, 53)
- 3- Spinal yerleşimli enkefalinergic nöronlar (34, 53)



Şekil 3. Ağrı Yolları ile İlişkili Bölgeler. A: Nosiseptif çıkan yollar, B: Antinosiseptif inen yollar. ARAS: Assendan retiküler aktive edici sistem, ED: Endorfin, EK: Enkefalinergik, NA: Noradrenalin, 5-HT: 5 Hidroksitriptamin. (53)

2.6. Noradrenerjik Ağrı Modülasyonu

Noradrenerjik sistem, ağrının düzenlenmesinde önemli bir yere sahiptir ve inen analjezik sistemde önemli bir rol oynar. Beyin sapından kaynak alan inen noradrenerjik sistemler medulla spinalis seviyesinde ağrı modülasyonuna katkıda bulunurlar (59). Noradrenalin içeren nukleuslar ponstan mezensefalona kadar çok geniş bir alana yayılırlar. Ponsta bulunan noradrenerjik nukleuslar aksonlarını spinal kordun arka boynuzuna projekte ederler. Bu nukleuslar ağrıyla ilişkili davranışları etkileyen diğer nukleuslarla bağlantı kurar ve tüm bu nukleuslar mezensefalonda bulunan ve antinosiseptif etkide önemli yere sahip PAG'dan projeksiyonlar alırlar (60). Adrenerjik ve noradrenerjik sinir lifleri tarafından güçlü bir şekilde innerve edilen PAG, beyin sapının inen antinosiseptif etkiye katkı sağlayan noradrenerjik nukleuslarını uyarır. İnen noradrenerjik yollar spinal kordu güçlü bir şekilde innerve eder (61).

Noradrenalin ağrının düzenlenmesinde önemli rolü olan bir nörotransmitterdir (59). Antinosiseptif efferent sistemler tarafından salınan noradrenalin, spinal kordda ağrı iletimini 3 yolla inhibe eder (61): primer afferent nosiseptörlerin santral terminallerinde bulunan α -2A AR'lere etki ederek (presinaptik inhibisyon), ağrı duyusunu taşıyan nöronlar üzerindeki α -2 AR'lere doğrudan etki ederek

(postsinaptik inhibisyon) ve α -1 AR'ler vasıtasıyla inhibitörük ara nöronları aktive ederek.

2.6.1. α -2 Adrenoseptörler ve Agonistlerinin Etki Mekanizması

Adrenerjik reseptörler temelde α ve β reseptörler olmak üzere ikiye ayrılırlar. α -adrenoseptörlerin alt tipleri α -1A, α -1B, α -1D, α -2A, α -2B ve α -2C; β -adrenoseptörlerin alt tipleri β -1, β -2, β -3 olarak belirlenmiştir (62). Bu reseptör proteinlerinin her biri hücre membranına uzanan tek bir polipeptid zincirinden oluşmuştur. Her birinin hidrofobik intramembranöz kısımlarının primer yapıları birbirine benziyorken; sitoplazmik kısımda yapı olarak önemli farklılıklar gösterirler. Adrenerjik yanıtlar, bu yapısal özelliklerle belirlenir (63).

α -1 adrenoseptörler beyin, kalp, düz kas, karaciğer ve dalakta bulunurken; α -2 adrenoseptörler santral sinir sistemi, periferik sinirler, otonomik ganglionlar ve sempatik afferentlerle innerve edilen dokular başta olmak üzere tüm vücut bölgelerine dağılmış haldedirler (64, 65). α -1 adrenoseptörler santral sinir sisteminde sadece postsinaptik bölgelerde lokalize iken α -2 alt tipi ağırlıklı olarak presinaptik bölgelerde olacak şekilde hem presinaptik hem postsinaptik lokalizasyona sahiptir ve otoreseptör olarak işlev görür (66). α -2B reseptörleri yalnızca talamusta mevcutken, α -2A ve α -2C alt tipleri tüm beyin dokularına dağılmış haldedir (67).

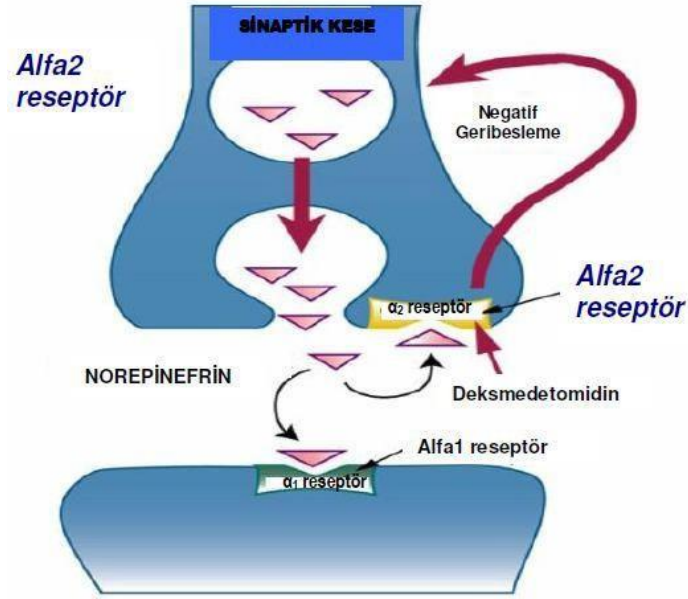
α -2 adrenerjik reseptörler G-protein reseptör ailesine (GPCRs) ait transmembran proteinleridir, hücre membranını geçerek seçici olarak endojen moleküller ya da ilaçları içeren ekstrasellüler ligandlara bağlanırlar. Sinyallerin hızlıca efektör sisteme iletilmesini sağlayan bir protein olan G proteini (guanin-nükleotid bağlayıcı protein) ile bağlantılıdır. G proteini inaktif haldeyken α -2 reseptöre bağlı olmayıp, GDP'ye (guanozin difosfat) bağlı durumda bulunur. Bir agonist, reseptörüne bağlandığında G proteininin GDP'ye afinitesi azalır ve GDP, GTP'ye (guanozin trifosfat) dönüşür. Agonistin reseptörüne afinitesi azalınca GTP-az aktiflenip, GTP'yi GDP'ye indirger. G proteini tekrar GDP'ye bağlanır, böylece reseptör inaktif formuna geri döner (68, 69).

α -2 adrenoseptörlerin fizyolojik etkileri buldukları yere göre değişkenlik gösterir. Beyin ve spinal kordda bulunan α -2 adrenoseptörlerin aktiflenmesi hipotansiyon, bradikardi, sedasyon ve analjezi oluşturur (65). Spinal kord boyunca α -1A yüksek, α -1B orta, α -1D daha az yoğunlukta eksprese olur (62). Diğer alanlardaki

α -2 adrenoseptörlerin aktiflenmesi salivasyon salınımını, barsak motilitesi ve sekresyonlarını, insulin salınımını azaltır; renin salınımını engeller; glomerüler filtrasyonu ve böbreklerden sodyum ve su salınımını arttırır; vasküler ve diğer düz kaslarda kontraksiyona neden olur; intraoküler basıncı azaltır ve nöron terminallerine Ca^{+2} girişini azaltır (65, 69). α -2 agonistler aşırı dozlarda kullanılmadıkları sürece solunum depresyonu yapmazlar (70). Başka bir analjezik madde ile birlikte kullanılmaları durumunda da doz gereksinimini azaltırlar (9).

α -2 adrenoseptör alt tipleri G_i/G_o sinyal sistemi ile bağlantılıdır. Sempatik sinir sonlanmalarında (adrenerjik sinir terminallerinde) lokalize presinaptik α -2 AR'ler, inhibitör G_i proteinlere bağlandığında, adenilat siklaz enzim aktivitesi ve cAMP sentezi inhibe edilir (71). Adenilat siklaz aktivitesinin inhibisyonu Ca^{+2} iyonlarının nöron terminaline yeniden girişini azaltır ve noradrenalin içeren depo veziküllerin bir sonraki egzozitozunu sınırlar. Böylelikle, nörondan daha fazla noradrenalin salınımı inhibe edilerek, ağrı sinyallerinin yayılımını durduran bir negatif geri-besleme döngüsü yaratılır (65, 67). Voltaj bağımlı Ca^{+2} kanalları inhibe, K^+ kanal hiperpolarizasyonu aktive olur (64, 72). Sinir uçlarında Ca^{+2} ile aktive olan K^+ kanallarından K^+ geçişi olurken, Ca^{+2} kanallarından Ca^{+2} geçişi engellenir (73).

α -2 adrenerjik reseptörler G_i aracılığıyla vasküler düz kaslarda Ca^{+2} kanallarını aktive eder ve vazokonstriksiyon yapar. Aynı zamanda Ca^{+2} kanallarını inhibe de ederek noradrenalin salınımını bloke eder (74, 75). K^+ kanallarının aktivasyonu ile K^+ çıkışına olanak sağlayarak membranı hiperpolarize eder yani lokus seruleus (LC) ve çıkan noradrenerjik yolaktaki nöronal aktiviteyi baskılar. Böylece ağrılı uyarının beyne taşınması bloke edilip hipotansiyon, bradikardi, sedasyon ve analjezi oluşturulur (76, 77) (**Şekil 4**).



Şekil 4. α -2 Adrenoseptörlerin Fizyolojisi (253)

Lokus seruleus ponsta bulunan noradrenerjik bir nükleustur, santral sinir sistemindeki total noradrenalinin %70'inin kaynağı olan noradrenerjik nöron gövdelerini barındırır (78). Nositif nörotransmisyonun önemli bir düzenleyicisi olan inen noradrenerjik yolun çıkış noktasıdır (65). LC'den çıkan noradrenerjik lifler serebral ve serebellar korteksleri, limbik sistemi, beyin sapını ve spinal kordu uyarır (78).

α -2 AR'ler ağırlıklı olarak presinaptik bölgelerde olacak şekilde hem presinaptik hem postsinaptik bölgelerde yer alır. Sempatik sinir sonlanmalarında lokalize olmuş presinaptik α -2 AR'ler uyarıldığında noradrenalin salınımı engellenir ve ağrı sinyallerinin yayılımı bloke olur. Santral sinir sistemindeki postsinaptik reseptörler α -2 agonistler ile aktive olunca, sempatik aktivite azalır ve kalbin atım hızı, miyokard kontraktilesi, kardiyak debi ve sistemik kan basıncı düşer. Böylece sedasyon ve anksiyoliz gelişir (71, 79, 80). α -2 adrenerjik agonistler vasküler cerrahide miyokard infarktüsü oranını ve mortaliteyi, kardiyak cerrahide iskemi ve buna bağlı mortaliteyi azaltmaktadır (81).

α -1 AR'lerin aktivasyonu hücrenin K^+ geçirgenliğini azaltarak depolarizasyona neden olurken; α -2 AR'lerin aktivasyonu K^+ geçirgenliğini artırarak hiperpolarizasyona sebep olur. Bu nedenle, ağrı iletiminde α -1 adrenoseptörü eksitatörük, α -2 adrenoseptörü inhibitörük etkiye sahiptir (82, 83). α -2 reseptör stimülasyonu spinal kord seviyesinde doza bağlı antinosisepsiyon sağlar (79, 80). α -2 AR'ler ağrı kontrolüne periferel, spinal ve supraspinal mekanizmalarla katılırlar;

ancak esas etkisini spinal düzeyde gösterirler (84, 85). Medulla spinaliste bulunan α -2 AR'lerin uyarılmasının analjezi ürettiğini gösteren araştırmalar mevcuttur (65, 86).

α -2A adrenoseptörler pre- ve postsinaptik olarak noradrenalin salınımını düzenleyerek ağrıyı engeller. α -2B adrenoseptör agonistleri arka kökteki spesifik reseptörleri uyararak spinal kord seviyesinde analjezi ve periferal arterlerde vazokonstrüksiyon ile ilişkilidir. α -2C adrenoseptör ise bilişsel fonksiyonların modülasyonu, uyarılan lokomotor aktivitenin kontrolü, dopaminerjik nörotransmisyon, adrenalin salınımının kontrolü ve hipotermide görev alır (39, 47, 48, 63, 68, 72, 90-92).

α -2A adrenoseptör agonistleri sedasyon, analjezi, sempatolizis ve nöroproteksiyon sağlar (87). Agonistlerin beynin başlıca noradrenerjik nükleusu olan lokus seruleus'taki α -2 reseptörlere bağlanması sedasyon ve analjezi, spinal kord arka kökündeki α -2 reseptörlere bağlanması analjezi oluşturur (63, 68, 88-92). α -2A reseptörü lokus seruleus'ta oldukça yüksek seviyede bulunur (93). Farelerde yapılan çalışmalarda α -2 adrenoseptör agonistlerinin sedatif özelliklerinin α -2A reseptör üzerinden gerçekleştiğini ve bu olaydan sorumlu bölgenin lokus seruleus olduğu öne sürülmüştür (73, 94, 95).

Araştırmalarımız sonucunda, α -2 AR agonistlerinin antinosiseptif etkilerinin yanı sıra (96-101) farklı ajanların analjezik etkilerini potansiyalize etme özelliklerinin de olduğu gözlenmiştir (102-104). Bir hipoteze göre spinal kord düzeyinde α -2 adrenerjik agonist uygulanması hücre içine Ca^{+2} akımını bloke eder ve Ca^{+2} kanal blokerleri α -2 adrenerjik agonistlerin analjezik etkisini güçlendirir (105-107).

2.6.1.1. Klonidin

α -2 adrenoseptör agonistlerinin anksiyolitik, analjezik, anestezik ve sedatif etkilerini solunum depresyonu ya da önemli bir bilinç bozukluğuna yol açmadan göstermesi premedikasyon amaçlı kullanımları açısından dikkat çekmiştir. Klinik özelliklerinden ötürü α -2 agonistler nöroanestezinin ve nöroloji yoğun bakım ünitelerinin vazgeçilmez ilaçlarından olup, intraoperatif dönemde hemodinamik stabiliteyi bozmaksızın anestezik gereksinimi azaltırlar. Bu agonistler içinde klonidin, bu klinik özellikler üzerinden yapılan araştırmalarda en çok çalışılmış agonistlerden biri olmuştur. Anestezi indüksiyonu sırasında sempatik aktivasyonu

zayıflatması ve hemodinamik stabiliteyi sağlaması amacıyla uzun yıllardır kullanılmaktadır (89, 108-111).

Klinik kullanımına ilk olarak 1960'ların başında başlanmıştır. Klonidin α -2 adrenerjik reseptörleri yüksek konsantrasyonlarda stimüle ederek vazokonstriksiyon oluşturur. Bu özelliğinden ötürü başlangıçta dekonjestan etkisi için nazal olarak kullanılmıştır. 1966'da klonidin hipotansif ilaç olarak tanıtılmıştır. Yıllar sonra alkol ve ilaç bağımlılığı tedavisi, miyokard iskemisi tedavisi, intratekal anestezi ve ağrı tedavisinde de kabul görmüştür (112, 113). Klonidinin sistemik olarak uygulandığında analjezi oluşturması 1974'te Paalzow tarafından keşfedilmiştir (114). Bu keşif bu konuda çok sayıda yeni araştırmaya ışık tutmuş ve klonidinin yaygın olarak kullanılmasını sağlamıştır (115-117).

Bir α -2 adrenerjik reseptör agonisti olan klonidin, imidazol grubunda yer alır ve α -2 adreseptör agonistlerin prototipidir. α -2/ α -1 adreseptörlere selektivite oranı 220/1'dir. α -2 adreseptörler üzerinde parsiyel agonistik etki gösterir, hem presinaptik hem postsinaptik α 2-adrenerjik reseptörlerin her ikisine birden bağlanır. Oral yoldan alınımından sonra, hemen hemen tamamı hızlıca emilir ve takip eden 60-90 dakika içinde en yüksek plazma konsantrasyonuna ulaşır. Klonidinin yarılanma ömrü 9-12 saat, eliminasyon yarı ömrü 8 saat, distribüsyon yarı ömrü 10 dakikadır. Yaklaşık %50'si karaciğerde inaktif metabolitine metabolize edilirken, kalanı böbreklerden değişmeden itrah edilir (77, 118).

Klonidin α -2A AR'ler tarafından aracılık edilen, doza bağımlı sedatif, analjezik, hipotansif, anksiyolitik etkilere sahiptir ve bu etkilerin LC üzerindeki etkilerinden kaynaklandığı düşünülmektedir (6, 7, 8).

Klonidin analjeziye neden olan kolinerjik, pürinerjik ve serotonerjik ağrı sistemlerine etki eder (6). KLO gibi α -2 AR agonist maddeler adrenerjik sinapslarda etki gösteren, ağrı yönetiminde etkili ajanlardır (119). Klonidin Santral postsinaptik α -2 AR'leri aktive ettiğinde, negatif-feed back yoluyla adrenerjik nöronlardan noradrenalin salınımını engelleyerek kan basıncını düşürür, sempatik aktivasyonu inhibe eder. Ayrıca presinaptik α 2-AR'ler üzerinden hem santral hem de periferik sempatik sinir terminallerinden noradrenalin salınımını azaltarak parasempatik aktiviteyi arttırır, antihipertansif etki göstererek periferik direnci düşürür (6, 8, 120). Kalbe, böbreklere ve periferik vasküler yapılara giden efferent sempatik nöronal vazokonstriktör tonusu azaltır. Kardiyovasküler sistemde vagal tonusu artırırken;

total periferik direnci, renal vasküler direnci, kalp hızını ve arteriyel kan basıncını düşürür (121).

Klonidinin nosiseptif uyarıları spinal kordun dorsal boynuzundaki postsinaptik α -2 AR'leri aktive ederek engellediği bildirilmiştir (9). Klonidinin analjezik etkileri fare ve sıçanlarda yapılmış çeşitli deneysel ağrı modellerinde (writhing testi, tail flick testi, radiant ısı testi, sıcak sudan kuyruğu geri çekme testi ve pati basınç testlerinde) gösterilmiştir. Sıçanlara intratekal uygulanan KLO'nun tail-flick, hot-plate ve tail pinch testlerinde doza bağlı antinosisepsiyon oluşturduğu saptanmıştır (43, 122). İnsanlara intratekal veya epidural uygulanan KLO ve ST-91'in (97), farelere topikal uygulanan KLO'nun (100), sıçanlara intratekal uygulanan NE, KLO, ST-91 ve tizanidinin (101), nöropatik ağrı modelinde siyatik sinir hasarı oluşturulmuş sıçanlara intratekal uygulanan KLO'nun (102) antinosiseptif etkili olduğu gösterilmiştir. Klonidin sempatik kökenli ağrılı hastaya topikal olarak uygulandığında ağrıyı inhibe eder. Sempatik sinir uçlarında bulunan α -2 adrenerjik reseptörlerin aktive edilmesi noradrenalin salınımını baskıladığından, klonidinin ağrıyı noradrenalin salınımını bloke ederek yok ettiği düşünülmektedir (123-125).

Endojen olarak beyin sapından inen yollarda noradrenalin salgılanması veya KLO gibi ajanların spinal bölgeye verilmesi, α -adrenoseptörleri spinal kord seviyesinde aktive eder (126, 127). Hayvan deneylerinde KLO'nun, morfinden daha etkili bir analjezik madde olduğu gösterilmiştir (128). Çalışmalarda KLO ile oluşturulan antinosiseptif etkinin ATP-bağımlı K^+ kanal blokerleri tarafından antagonize edildiği gösterilmiş, α -2 AR aktivasyonu ile oluşan antinosiseptif etkinin K_{ATP} kanalları ile ilişkili olduğu ifade edilmiştir (129, 130). Postoperatif kullanımda α -2 agonistleri güçlü analjezik etki gösterirler. Bu dönemde epidural uygulanan klonidin ağrının şiddetine ve ilacın dozuna bağlı olarak analjezi sağlar (131-133). Klonidinin analjezik etkisinin umut verici olmasının yanında, hipotansif ve bradikardik doğası kullanımını sınırlamaktadır (134).

Presinaptik bölgede bulunan α -2 AR'ler otoreseptör fonksiyonu görmektedir. Uyarılmaları sonucu sinaptik aralığa noradrenalin salınımı inhibe olurken, inhibisyonları sonucu noradrenalin salınımı artar. Stres presinaptik α -2 AR otoreseptörlerinin duyarlılığını azaltarak noradrenalin salınımını artırır. Bunun sonucunda anksiyete belirtileri ortaya çıkar. Akut stres yanıtı hipokampus, hipotalamus, LC ve serebral kortekste noradrenalin salgısında artış sonucu ortaya çıkmaktadır. Bu durum korku duyumsama, taşikardi, tremor, ağız kuruluğu, kan

basıncı artışı, gastrointestinal sistem peristaltik hareketlerinde artış, terleme ve pupillalarda midriyazis gibi otonomik ve emosyonel semptomlara sebebiyet verir (135-139). KLO'nun farelerde sempatik uyarıyı azaltarak anksiyolitik etki gösterdiği bildirilmiştir (140). Anestezi indüksiyonundan önce klonidin uygulanması intraoperatif hemodinamik değişiklikleri minimuma indirir. Bir çalışmada farelere intraperitoneal veya intraserebroventriküler enjekte edilen klonidin, farelerin hızlanan rotarod cihazında kalma sürelerinde azalmaya neden olmuş ve doza bağlı sedasyon oluşturmuştur (141).

Yapılan literatür incelemesinde analjezik, sedatif ve anksiyolitik etkilerinin sıçanlar üzerinde araştırıldığı çalışmalarda klonidin dozlarının 0.5 µg/kg ile 200 µg/kg arasında olduğu gözlenmiştir. Klonidin farklı canlı türlerine intravenöz (142-144), intratekal (144-147), epidural (148), subkutan (149), intraserebroventriküler (i.c.v.) (141), oral (144, 150) ve intraperitoneal (140, 141, 151) olacak şekilde farklı yöntemlerle uygulandığı görülmüştür.

2.7. Melatonin

Melatonin geleneksel olarak, uykudaki nörobiyolojik rolü ile bilinir. Bunun yanında, inflamasyon ve hasarlanma sırasında serbest radikal temizleyici görevi gören antioksidan, anti-inflamatuar ve immunmodülatör etkilere sahiptir (152-156). Hayvanlarda ve insanlarda melatoninin analjezik ve anksiyolitik etkinliği de gösterilmiştir. Melatonin ağrıyı membran reseptörleri ve nükleer reseptörler yoluyla düzenlemektedir (157-163).

2.7.1. Melatonin Sentezi ve Metabolizması

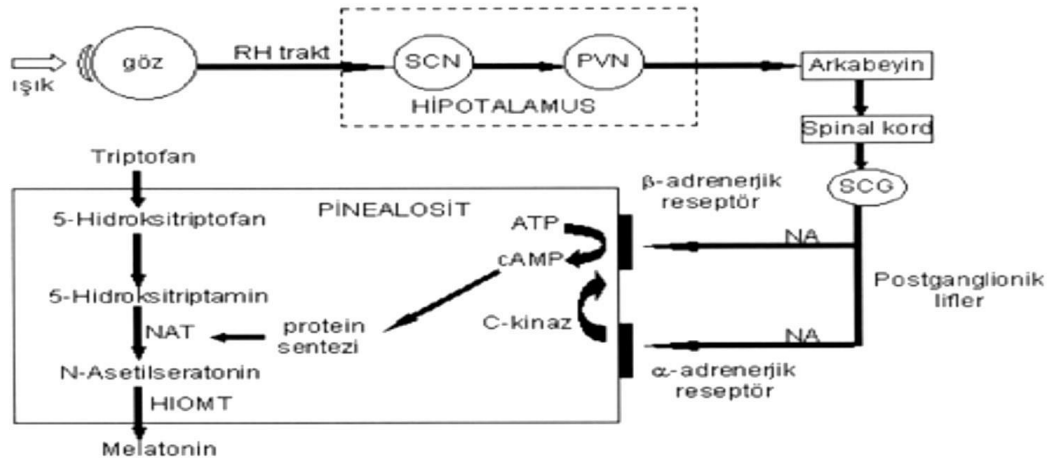
Memelilerde triptofan öncülüğü ile üretilen ve bir serotonin türevi olan melatonin (N-asetil-5-metoksitriptamin) (MEL) esas olarak, diensefalon bölgesinde bulunan pineal bezin sentezleyip salgıladığı endojen bir nörohormondur. Melatonin, pineal bezden en fazla gecenin karanlık dönemlerinde salgılandığı için 'karanlık hormonu' olarak kabul edilir (164, 165). Melatoninin tüm memelilerde geceleri pineal bez, kan, beyin-omurilik sıvısı ve idrar miktarı artar. Melatoninin kanda ve hücre içindeki gece konsantrasyonları gündüz konsantrasyonlarından 3-10 kat daha fazladır (166, 167). Gastrointestinal (GİS) kanalda bulunan enterokromaffin hücrelerinin de melatoninin bir diğer yapım yeri olduğu ileri sürülmektedir. Ancak

melatoninin gün içinde kanda oluşan ritmi pineal bezde sentezlenip salgılanan melatonine bağlıdır. Melatonin genellikle saat 21.00-22.00 saatlerinde salgılanmaya başlar, 02.00-04.00 saatleri arasında pik yapar, 07.00-09.00 saatleri arasında da azalmaya başlar (168, 169).

Yetişkin insanlarda melatonin plazma seviyeleri gündüz 0-5 pg/mL'den sabah 2 ila 4 arası 50-100 pg/mL'lik zirve seviyelerine kadar değişmektedir (170). Sirkadiyen ritmin bu paterni, ışık altında retinadan başlayan ve retino-hipotalamik sistem aracılığıyla hipotalamusun suprakiazmatik nukleusunu (SCN) innerve eden nöral devreler tarafından düzenlenir. SCN, melanopsin olarak bilinen bir fotopigment içeren özel ganglion hücrelerinden oluşur (171, 172). SCN'den gelen projeksiyonlar paraventriküler nukleustan retiküler formasyona geçer, spinal kordun intermediolateral boynuz hücreleriyle sinaptik bağlantılar kurar, son olarak da pineal bezde sempatik nöronlar projekte eden superior servikal ganglion hücrelerine ulaşır (173).

Melatonin sentezi spesifik cAMP-bağımlı transkripsiyon faktörlerince ve fotoperiyodik koşullarca düzenler. Gece boyunca, SCN'deki elektrik sinyali aktivitesinin azalması nedeniyle SCN'nin postganglionik sempatik liflerinden noradrenalin salınımı yükselir. Noradrenalin, pinealositlerde bulunan β -adrenerjik reseptörleri aktifleyerek adenil siklaz-cAMP sistemini ve melatonin biyosentezini aktive eder. Gündüzleri, SCN'deki yüksek elektrik sinyalleri nedeniyle postganglionik sempatik liflerinden noradrenalin salınımı baskılanır, böylece pinealositlerde melatonin sentezi ve salınımının aktivasyonu azalır (174, 175).

Melatonin, 5-hidroksitriptofan yoluyla serotonine dönüştürülen triptofandan üretilir. Melatonin (N-asetil-5-metoksitriptamin) sentezinde triptofan pinealositler içinde N-asetiltransferaz (NAT) aracılığı ile N-asetil serotonine; N-asetil serotonin, hidroksiindol-o-metiltransferaz (HIOMT) aracılığı ile melatonine dönüştürülür (176, 177). Aktive edilmiş yüzey alfa1- ve beta1-adrenerjik reseptörleri, hücre içi cAMP konsantrasyonlarını artırarak melatonin biyosentezinde rol alan anahtar enzimlerin transkripsiyonunu indükler (176) (**şekil 5**).



Şekil 5. Pineal Bezde Melatonin Sentezinin Kontrolü. SCN: Suprakiazmatik nukleus, RH: retinohipotalamik, PVN: Paraventriküler nukleus, SCG: Superior servikal ganglion, NA: Noradrenalin, NAT: N-asetiltransferaz, HIOMT: Hidroksiindol-O-metiltransferaz (178).

Melatonin, 5-metoksi grubu ve 3-amid grubu olmak üzere iki fonksiyonel grubu olan bir indolamindir. Bu fonksiyonel grupların sağladığı hidrofilik ve lipofilik özelliklerle melatonin vücutta dolaşabilir (180). Pineal bezin yanı sıra deri (181), kemik iliği (182), oositler (183), makrofajlar (184), gastrointestinal sistem (185) ve retina (179) tarafından lokal olarak sentezlenebilir. Melatoninin yaklaşık %80'i pineal bez ve diğer dokular tarafından salgılanırken, geri kalan melatoninini retina salgılar (13). Melatonin pineal bezden salgılandıktan sonra kan-beyin bariyerini geçer, beyin omurilik sıvısına, dolaşım sistemine, tüm vücut sıvılarına ve dokulara girer. Dolaşımdaki melatoninin yarı ömrü 20-60 dakikadır (11, 186).

Melatonin esas olarak karaciğerde hepatik sitokrom P450 (CYP) monooksijenazlar tarafından metabolize edilir ve ana üriner metaboliti olan 6-sülfatoksimeletonini oluşturmak üzere konjuge edilip idrarla atılır. İdrarda %1 oranında değişmemiş formu bulunur (11, 187).

Pineal bez ve retinada melatonin, N1-asetil-N2-formil-5-metoksikinürenamin (AFMK) ve N1-asetil-5-metoksikinürenamin (AMK) metabolitlerini oluşturmak üzere miyeloperoksidaz, indolamin 2,3-dioksijenaz veya reaktif oksijen parçacıkları tarafından daha da parçalanarak 5-metoksitriptamin (5-MT)'ye deasetile edilir. AFMK ve AMK, santral sinir sistemindeki melatoninin başlıca katabolik ürünleri olarak kabul edilir. AFMK ve AMK, serbest radikal temizleyiciler olarak rol oynarlar ve melatonin ile birlikte, melatoninin beyindeki antioksidan kapasitesini daha da artıran sinerjik bir etkiye sahiptirler (188-190).

2.7.2. Melatonin Reseptörleri ve İletim Sistemleri

İnsan vücudunda endojen melatoninin fizyolojik etkilerinin çoğu, hücre membran yüzeyinde ve nukleusunda bulunan spesifik melatonin reseptörlerinin aktivasyonu yoluyla meydana gelir. Melatonin, hücre membranlarında G-protein-bağlı reseptör (GPCR) ailesine ait iki reseptöre (MT1 ve MT2) ve bir kinin redüktaz olan üçüncü bir reseptöre (MT3) sahiptir (11, 191). MT1/MT2 reseptör yoğunluğundaki değişiklikler, serum ve hücre içi melatonin seviyelerine göre dalgalanma gösterir (194).

Membran reseptörleri insanlarda ve kemirgenlerde retina (192), beyin, hipofiz (193), gastrointestinal sistem (194), oositler (195) ve pankreas adacığı (196) gibi çok sayıda dokuda tanımlanmıştır. Santral ve periferik sinir sistemlerinde, MT1 ve MT2 reseptörlerinin her ikisi de nöronal membranlarda lokalizedir (197). Melatonin reseptörleri hipotalamus, talamus, ön hipofiz bölgeleri, spinal kordun dorsal boynuzu, spinal trigeminal traktus ve trigeminal nukleusta lokalize olmuştur. Bu reseptörler spesifik olarak, spinal kordun ağrı iletimi ile ilgili ana bölgeleri olan lomber ve torasik segmentlerinin hem ventral hem de dorsal boynuzlarının lamina I-V ve X'unda tanımlanmıştır (198).

2.7.3. Melatoninin Nosisepsiyon Üzerine Etkileri

Melatoninin normal fizyolojik koşullar altında ağrının düzenlenmesinde önemli bir rolü vardır. MEL'in çeşitli zararlı uyarılara karşı nosiseptif tepkileri hafiflettiği gösterilmiştir ve klinikte potansiyel analjezik ilaç olarak kullanımı kabul edilmektedir. Melatonin ve analogları periferik veya santral yollardan uygulandığında akut, nöropatik ve inflamatuvar ağrı üzerinde doza-bağlı uzun vadeli antinosiseptif etkiler yaratır (12). MEL'in analjezik etkilerinin altında yatan kesin mekanizmalar bilinmemekle birlikte analjezik aktivitesine, santral sinir sisteminde ve spinal kordun dorsal boynuzunda yer alan opioidergik, benzodiazepinergik, muskarinik, nikotinik, serotonergik ve $\alpha 1$ ve $\alpha 2$ -adrenergik reseptörlerle etkileşiminin aracılık ediyor olabileceği düşünülmektedir (13). β -endorfinleri, GABA reseptörünü, opioid 1-reseptörlerini ve nitrik oksit (NO)-arjinin yolağını içeren olasılıklar da öne sürülmüştür (199). Bir opiat antagonisti olan naloksonun, melatonin ile indüklenen nosiseptif etkileri antagonize edebileceği gözlenmiştir (200, 201). Melatonin kaynaklı uzun vadeli analjezi, nalokson tarafından antagonize edilebileceği için,

opioid reseptörlerinin melatoninin etkisine dahil olabileceği düşünülmektedir (202). Farelerde hot-plate ağrı indüksiyon modelinde, melatoninin analjezik etki gösterdiği ve bu etkinin nalokson veya santral benzodiazepin antagonisti flurmazenil tarafından bloke edilebileceği görülmüştür ve bu, melatoninin etkinliğinde bu reseptör yollarının etkileşimini gösterir (205).

Elektrikle indüklenen ağrı modellerinde, intraperitoneal (i.p.) melatonin enjeksiyonu, antinosiseptif etkiyi 210 dakikaya kadar artırabilmiştir (203). Tail-flick testi kullanılarak termal olarak indüklenen ağrı modelinde melatonin (≤ 120 mg/kg, i.p.) anlamlı analjezik yanıt üretmiştir (204). Kuyruk klemleme yoluyla mekanik olarak indüklenen bir ağrı modelinde, bir melatonin analogu olan 2 bromomelatoninin analjezik etkiyi doza-bağlı indüklediği bulunmuştur (206). Melatoninin, inflamatuvar ağrıyı NO-siklik GMP'nin sinyal yollarını ve indüklenebilir NO sentaz (iNOS) aracılığıyla NO üretimini bloke ederek azalttığı düşünülmektedir (207). Tüm bu farklı ağrı hayvan modellerinde, melatonin uygulamasının hiçbir yan etkisi olmamıştır.

Melatonin (25-100 mg/kg, i.p.) uygulamasının doza-bağlı olarak hiperanaljezik yanıtı zayıflattığı ve inflamasyon ile ilişkili bir hiperanaljezi modelinde inflamasyonu azaltmada iyileştirici potansiyele sahip olduğu gösterilmiştir (157). Bir çalışmada MEL'in formalinle indüklenen akut ağrıda kaçınma tepkisini azalttığı gösterilmiştir (208). Melatoninin ayrıca complete Freund's adjuvanının (CFA) neden olduğu akut ağrıda nöroprotektif rol oynadığı bulunmuştur (209). Morfine maruz kalan rodentlerde melatonin, ortaya çıkan hiperanaljezi ve toleransa karşı koymuştur (210).

Bu zamana dek araştırmacılar melatoninin antinosiseptif etkileri ile ilgili artan sayıda klinik çalışma yaptılar. Hayvan deneyleri ve klinik denemeler ışığında melatoninin, ağrı eşiğindeki değişikliklerle ilişkili olabilen, doza bağlı antinosiseptif etki gösterdiği kabul görmüştür (211). Melatoninin akut ağrı üzerinde analjezik etkiye sahip olup olmadığını tartışan daha fazla araştırma gerekmektedir.

2.7.4. Hayvan Modellerinde Etki Mekanizmaları

2.7.4.1. Melatonin Reseptörleri

Membran reseptörleri, özellikle MT2 reseptörü, melatoninin antinosiseptif etkisinin, en önemli mekanizmalarından biridir (12). Melatoninin hem santral hem

periferik sinir sisteminde yer alan melatonin reseptörleri üzerinden antinosisseptif etki gösterdiği kabul edilmiştir (212-215). Sıçanlarda L5–L6 spinal sinir ligasyonu (SNL) ve sinir hasarı modelinde, bir seçici MT2 kısmi agonisti UCM924 kullanılmıştır. Antinosisseptif sistemin ON/OFF hücrelerini modüle ederek anti-allodinik etkiler göstermesi, MT2 reseptörünün analjezik ilaç geliştirmede önemli bir hedef olabileceğini düşündürür. UCM924 ve bir başka seçici MT2 kısmi agonisti UCM765 hot-plate ve formalin testlerinde analjezik etki gösterir (216). Bir diğer çalışma, MT2 reseptör agonisti I1K-7'nin, glial aktivasyonu baskılayarak ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ve kaspaz-3 gibi inflamasyonda rol oynayan proteinleri down-regüle ederek nöropatik ağrıyı hafifletebileceğini göstermiştir (217). Melatonin, MT2 reseptörü aracılığıyla T-tipi Ca^{2+} kanal akımlarında azalmaya neden olur. Melatonin, mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK) ve Ca^{2+} sinyal yollarını MT2 reseptörü aracılığıyla baskılayarak mekanik allodini ve termal hiperaljeziyi engeller (161, 162). Potansiyel mekanizmalar hâlâ tartışmalıdır ve daha fazla araştırma gerektirmektedir.

2.7.4.2. İyon Kanalları ve Membran Potansiyeli

Melatonin voltaj kapılı sodyum kanalları Nav1.8 ve Nav1.9'un aktivitelerini inhibe ederek anti-termal hipersensitivite ve anti-mekanik allodini etki uygular. Termal uyarı küçük miyelinsiz C lifi ve ince miyelinli A- δ lifi ile iletilirken, mekanik uyarı büyük miyelinli A- β lifi ile iletilir (218). Bir çalışmada melatoninin uyarıcı sinaptik iletimi engellediği ve hipokampüste noradrenalin salınımını azalttığı rapor edilmiştir (219). Melatoninin nöronal uyarılabilirlik üzerindeki ana etkisini belirlemek için daha başka moleküler çalışmalara ihtiyaç vardır.

2.7.4.3. NO/NOS Sistemi

NO, substrat olarak L-arginin kullanılarak, hücre içinde nitrik oksit sentaz (NOS) ile doğrudan sentezlenen fizyolojik bir gaz molekülüdür. NOS, üç farklı izoformdan oluşan bir aile olarak bulunur: nöronal NOS (nNOS), indüklenebilir NOS (iNOS) ve endotelial NOS (eNOS). NO/NOS sistemi insanlarda geniş bir fizyolojik ve patofizyolojik aktivite yelpazesi uygular. Araştırmalar, NO/NOS sisteminin hayvan modellerinde nosisseptif yanıtın başlatılmasında ve sürdürülmesinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir (220). Bir çalışma, NO'nun, arka pati iskemisiyle indüklenen hipersensitiv potansiyasyonu artırdığını ortaya koymuştur (221). NO

üretimindeki artış ve NOS ekspresyon seviyelerindeki yükselme, çeşitli nosiseptif durumlarda melatonin uygulamasıyla inhibe edilir (222). Bununla birlikte, koruyucu etki, L-arginin ön tedavisi ile önemli ölçüde tersine çevrilir (223). Kanıtlar, melatoninin hem siklooksijenaz-2'yi (COX-2) hem de iNOS ekspresyonunu kısmen fakat etkili bir şekilde azalttığını, böylece sırasıyla PGE2 ve NO üretimini inhibe ettiğini göstermektedir. Bu bulgular, melatoninin inflamasyonu ve hiperaljeziyi hafiflettiğini desteklemektedir (157).

2.7.4.4. Opiat Sistemi

Yapılan çalışmalar, melatoninin opiat sistemi yoluyla antinosisepsiyon ürettiğini ortaya koymuştur (224, 225). Bir araştırmada nalokson, melatoninin anti-allodinik ve anti-hipersensitif etkisini tersine çevirmiş bu, melatoninin mekanik allodini ve termal hipersensitiviteyi opiat sistemi aktive ederek etkilediğini düşündürmüştür (226, 227). δ -opioid ve melatonin reseptörlerinin ko-aktivasyonu, her iki reseptörden de ayrı ayrı çok daha uzun analjeziye neden olabilir (228). Bir selektif δ -opioid reseptör antagonisti olan naltrindole, diyabetik sıçanlarda melatonin kaynaklı antinosisepsiyonu kısmen tersine çevirmiş, bu da melatoninin antinosiseptif etkisinde δ -opioid reseptörlerinin aktivasyonunu düşündürmüştür (229).

2.7.4.5. Adrenerjik Reseptörler

Çalışmalar melatoninin α 1- ve β -adrenoseptörlerin aktivasyonunu hızlandırabildiğini göstermiştir (230). İntratekal melatoninin, formalin testinde mekanik allodini tepkisini hafiflettiği, buna spinal korddaki α 1- ve α 2-adrenoseptörlerin aracılık ettiği belgelenmiştir (208). Noradrenerjik inen yolun aktivasyonu, spinal kord nosiseptif reseptörlerinin aktivitelerini inhibe eder (231). Ek olarak, melatoninerjik (MT1/MT2) reseptör agonisti agomelatin, α 2-adrenoseptörler ve β 2-adrenoseptörlerin aracılık ettiği noradrenerjik nörotransmisyon yoluyla anti-allodinik etki göstermiştir (232).

3. GEREÇ-YÖNTEM

Bu çalışma Ege Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 25.11.2020 tarihli ve 2020-114 sayılı kararla onayla (Ek-1), Ege Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde (EGE HAYMER) gerçekleştirilmiştir. Çalışmamız İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir.

3.1. Deney Hayvanları ve Laboratuvar Koşulları

Hayvanlar EGE HAYMER'den temin edilmiştir. Aynı jenerasyondan 8-10 haftalık, ağırlıkları 300-350 gr ağırlığında Wistar Albino cinsi 32 adet erkek sıçan kullanılmıştır. Denekler deney süresi boyunca iyi havalandırılan, standart ışık (12 saat/12 saat aydınlık/karanlık siklusu), standart sıcaklık ($22\pm 2^{\circ}\text{C}$) ve $\%50\pm 5$ oranında nem içeren laboratuvar koşullarının sağlandığı bir ortamda tutulmuştur. Beslenmeleri ad libitum olarak standart pelet yem ve musluk suyu ile sağlanmış, deneklerin tümüne standart bakım prosedürü uygulanmıştır. Ortam şartlarına uyum sağlamaları açısından denekler uygulamalardan 1 saat önce deney odasına alınmıştır. Test ölçümleri deney protokollerine uygun şekilde, her gün aynı saatler arasında ve ortam sessizliği sağlanarak yapılmıştır. Hayvanlar deneyin uygulandığı gün sonunda derin anesteziye alınarak kurban edilmiştir.

3.2. Deney Grupları

Toplam 32 adet sıçan randomize şekilde her biri 8 adetten oluşan 4 gruba ayrılmıştır.

Kontrol Grubu (n=8): Bu gruptaki sıçanlara i.p. yoldan $\%0,9$ 'luk NaCl enjeksiyonu uygulanmıştır.

MEL Grubu (n=8): Bu gruptaki sıçanlara i.p. yoldan 60 mg/kg melatonin uygulanmıştır (238, 241).

KLO Grubu (n=8): Bu gruptaki sıçanlara i.p. yoldan 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ klonidin uygulanmıştır (106, 236).

MEL + KLO Grubu (n=8): Bu gruptaki sıçanlara i.p. yoldan 60 mg/kg melatonin ve 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ klonidin uygulanmıştır.

Uyguladığımız ilaç dozları, deney hayvanları üzerinde i.p. olarak gerçekleştirilen uygulamalar göz önünde bulundurularak belirlenmiştir.

Melatonin (Katalog/GBF No: M5250-250MG, CAS-No: 73-31-4) ve klonidin hidroklorür (Katalog/GBF No: C7897-250MG, CAS-No: 4205-91-8) Sigma-Aldrich firmasından, anestezi uygulamak için kullanılan ketamin ve ksilazin EGE HAYMER'den satın alındı.

3.3. Akut Nosiseptif Testler

3.3.1. Tail-Flick Testi

Tail-flick testi, deney hayvanlarında spinal düzeyde kontrol edilen termal akut nosisepsiyonun ölçümü amacıyla kullanılan bir testtir. Tail-flick testi için bir sıçan holder'ı içinde tutulan sıçanlar, bir tail-flick ünitesinin (MAY-TF 211-01 Tail-flick Unit; Commat Limited Şirketi, Türkiye) üzerine yerleştirilmiştir. Bu ünitenin altında bulunan bir projeksiyon ampulünden gelen radyant ısı kaynağı, kuyruğun 1/3'lük distal kısmının ventraline odaklandırılmıştır. Işığın verildiği andan, ağırlı uyarana karşı verilen kuyruk çekme yanıtına kadar geçen süre, o hayvanın ağrı eşiği olarak kabul edilmiştir. Işık kaynağına maruz kalan kuyruğun kaynaktan refleks olarak uzaklaştırılması, termal uyarıyı ve kayıt yapılan zamanı otomatik olarak durur. O anda cihazın ekran panelinde beliren değer, saniye cinsinden tail-flick latansı olarak kaydedilir. Cut-off (sonlandırma) zamanı kuyruk yaralanmasını önlemek amacıyla 15 saniye olarak ayarlanmıştır. Enjeksiyon öncesi ölçüm herhangi bir ilaç enjeksiyonundan önce, diğer ölçümler enjeksiyondan sonraki 15, 30, 60, 90 ve 120. dk'larda yapılmıştır. Her bir denek için enjeksiyon öncesi ölçüm latansı, o deneğin ağrı eşiği olarak kabul edilmiştir. Reaksiyon zamanı grupların hepsinde ikişer kez ölçülmüş, istatistiksel değerlendirmede bu iki değer aritmetik ortalaması kullanılmıştır.



Şekil 6: Tail-Flick Cihazı

3.3.2. Hot-Plate Testi

Hot-plate testi deney hayvanlarında supraspinal düzeyde kontrol edilen termal akut nosisepsiyonun ölçümü ve santral sinir sisteminde etkili ağrı kesicilerin etkilerinin değerlendirilmesi amacıyla kullanılan bir testtir. Hot-plate cihazı (MAY-AHP 0603, Analgesic Hot-plate; Commat Limited Şirketi, Türkiye), sıcaklığı $55\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ 'ye ayarlanmış bir alüminyum plaka, bu plakayı sınırlandıran ve hayvanın kaçmasını önlemek için tasarlanmış, çıkarılıp takılabilir, şeffaf, pleksiglas bir silindir ve reaksiyon süresini otomatik olarak kaydeden bir ekran panelden oluşur. Bu testte sıcaklığı $55\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ 'de sabitlenmiş plaka üzerine tek tek yerleştirilen sıçanların plaka üzerinde kaldığı süre reaksiyon zamanı şeklinde değerlendirilmiştir. Deneğin ısıdan kaçınmak için arka patisini yaladığı, arka patisini salladığı ya da zıplama yaptığı ilk anda plaka üzerinden uzaklaştırılmış, kayıt durdurulmuştur. O anda cihazın ekran panelinde beliren değer, saniye cinsinden hot-plate latansı olarak kaydedilmiştir. Sıçanın herhangi bir zamanda ön patisini yalaması normal bir davranış olarak kabul edilip, reaksiyon zamanı değerlendirmelerine dahil edilmez (81). Cut-off zamanı pati yaralanmasını engellemek için 30 saniye olarak ayarlanmıştır. Enjeksiyon öncesi ölçüm herhangi bir ilaç enjeksiyonundan önce, diğer ölçümler enjeksiyondan sonraki 15, 30, 60, 90 ve 120. dk'lerde yapılmıştır. Her bir denek için enjeksiyon öncesi ölçüm latansı, o deneğin ağrı eşiği olarak kabul edilmiştir. Reaksiyon zamanı grupların hepsinde birer kez ölçülüp, istatistiksel değerlendirmede kullanılmıştır. Her

gözlemeden sonra hem silindir hem plaka yüzeyi, önceki hayvanın bıraktığı olası koku, idrar ve dışkıyı gidermek için etil alkolle temizlenmiştir.



Şekil 7. Hot-Plate Cihazı

3.4. Spontan Lokomotor Aktivite

3.4.1. Rotarod Performans Testi

Rotarod testi, deney hayvanlarının motor koordinasyonunun değerlendirilmesi temeline dayanan, iskelet-kas sistemi veya sinir sisteminde oluşan hasarın tespiti için kullanılan bir performans testidir. Kas gevşetici, sedatif ve psikostimulan ilaçların etkileri hakkında fikir elde etmeye yardımcı olur. Kullanılacak ilacın motor inkoordinasyona/sedasyona yol açabileceği göz önünde bulundurulduğunda, nosiseptif testlerle birlikte rotarod testinin de yapılması önem arz eder. Sedatif etkili ya da motor koordinasyonu bozan ilaçlar, deneğin rotarod cihazı üzerinde kalma süresini azaltırlar. Test ilaçlarının motor koordinasyon üzerindeki etkilerini değerlendirmek amacıyla rotarod cihazı (MAY-RR 0702-R Rota Rod; Commat Limited Şirketi, Türkiye) kullanılmıştır. Cihaz, bir taban platformu, kaygan olmayan yüzeye sahip, 7 cm çapında ve 4 eşit bölmeye ayrılmış dönen bir silindir ve deneğin cihaz üzerinde kaldığı süreyi gösteren bir ekran panelinden oluşur. Denek dönen silindirden düştüğünde bu, cihazın zemininde bulunan sensör vasıtasıyla algılanır ve sıçanın test çubuğu üzerinde kalma süresi saniye cinsinden otomatik olarak

kaydedilir. Tüm denekler deney şartlarına alışmaları amacıyla, deneyden önceki birbirini takip eden 3 gün boyunca 4 rpm hızla başlayan ve 5 dakikada bir ivmeli olarak artarak 40 rpm hıza ulaşan dönen silindir üzerinde yürütülerek eğitilmişlerdir. Deney günü, her sıçan herhangi bir ilaç almadan önce ve ilaç aldıktan sonraki 30, 60, 90 ve 120. dk'larda dönen rotarod test silindiri üzerine yerleştirilmiş, silindir üzerinde düşmeden kaldıkları süreler kaydedilmiştir. Bu işlem her bir zaman dilimi için 5'er dk'lık dinlenme periyotlarıyla 3'er kez tekrar edilmiştir. Elde edilen bu 3 verinin aritmetik ortalamaları istatistiksel değerlendirmede kullanılmış, rotarod test silindiri üzerindeki dayanıklılık süresi olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 8. Rotarod Cihazı

3.5. İstatistiksel Veri Analizi

Elde edilen verilerin analizi, SPSS 22 paket programı kullanılarak yapılmıştır. Tail-flick ve hot-plate latansları ve rotarod cihazında kalma süreleri ortalama \pm SEM (ortalama standart hata) olarak ifade edilmiştir. Her bir gruba verilen ilaç veya ilaçların etkisinin, ölçümlerin alındığı zaman ile olan ilişkisinin değerlendirilmesi amacıyla yapılan tekrarlı ölçümler için, tek faktörlü ANOVA (repeated measures ANOVA) ve Bonferroni çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. Her bir zaman noktası için gruplar arası karşılaştırma ise, tek yönlü varyans analizi One Way ANOVA ve post hoc çoklu karşılaştırma Tukey testi ile yapılmıştır. Elde edilen

veriler ışığında her deney grubu için latans-zaman eğrileri oluşturulmuştur. $P > 0,05$ olması istatistiksel açıdan anlamsız kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Davranış Testlerinin Bulguları

4.1.1. Tail-Flick Testi Bulguları

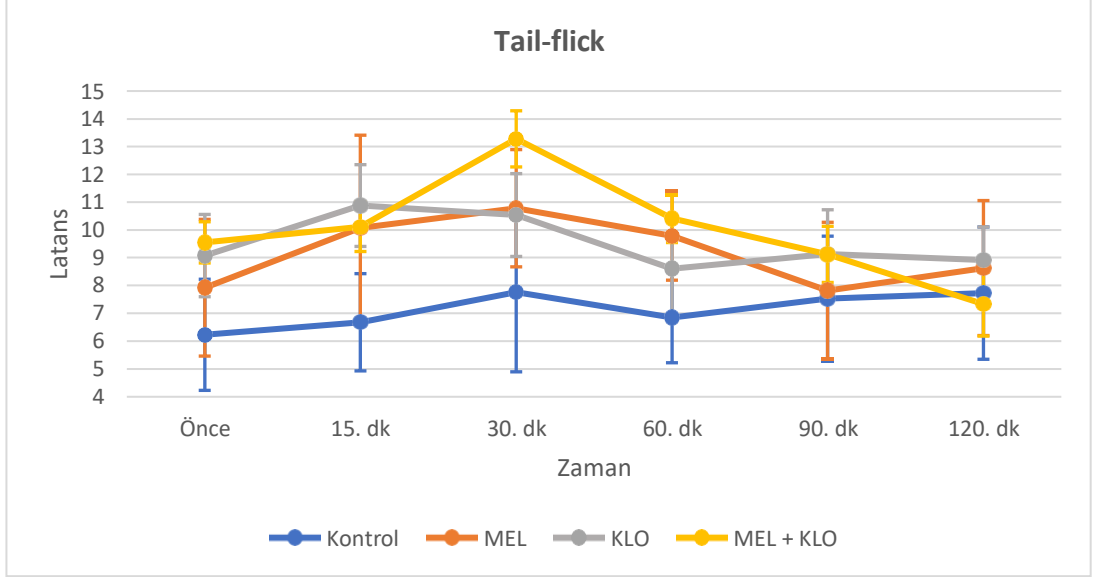
Tablo 1. Tail-Flick Testi Ölçüm Sonuçları

Tail-flick	Gruplar				Test istatistiği p
	Kontrol Ort ± SS	MEL Ort ± SS	KLO Ort ± SS	MEL + KLO Ort ± SS	
Önce	6,23±2,00	7,92±2,46	9,08±1,48 ^a	9,55±0,74 ^a	F=8,631 p=0,202
15. dk	6,68±1,75	10,08±3,33 ^{a,*}	10,88±1,47 ^a	10,11±0,89 ^a	F=5,508 p<0,01
30. dk	7,76±2,87	10,78±2,11 ^{a,*}	10,54±1,49 ^a	13,28±1,01 ^{abc,*#}	F=12,474 p<0,001
60. dk	6,85±1,63	9,79±1,60 ^{a,*}	8,60±1,80 ^a	10,41±0,86 ^{a,+}	F=7,919 p<0,001
90. dk	7,53±2,25	7,82±2,46 ^{#+x}	9,13±1,60	9,12±1,01 ⁺	F= 1,548 p=0,224
120. dk	7,73±2,38	8,63±2,43 ⁺	8,91±1,20	7,33±1,15 ^{##+x}	F= 1,225 P=0,319
Test istatistiği p	F=2,261 p=0,081	F=1,297 p<0,01	F=2,238 p<0,01	F=30,688 p<0,001	

Tekrarlı ölçümlerde iki yönlü varyans analizi, Bonferroni düzeltmeli çoklu karşılaştırma testi yapılmıştır. a: Kontrol grubuna göre anlamlı, b: MEL grubuna göre anlamlı, c: KLO grubuna göre anlamlı. *: Enjeksiyon öncesine göre, #: 15. dk'ya göre, +: 30. dk'ya göre, x: 60. dk'ya göre anlamlı. p<0,05 anlamlı fark var, p>0,05 anlamlı fark yok.

Gruplar arası karşılaştırma sonuçlarına göre, kontrol grubuyla kıyas edildiğinde MEL, KLO ve MEL+KLO gruplarının 15, 30 ve 60. dk ölçümleri (sırasıyla p<0,01, p<0,001 ve p<0,001) istatistiksel açıdan önemli bir artış göstermiştir. MEL grubunun 15, 30 ve 60. dk ölçümlerinin enjeksiyon öncesi ölçüme ve 90. dk ölçümüne göre önemli düzeyde yüksek olduğu gözlenmiştir (p<0,01). MEL+KLO grubunun 30. dk latansı MEL ve KLO gruplarına (p<0,001) göre anlamlı seviyede daha uzun bulunmuştur. Diğer ölçüm zamanlarında gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır (p>0,05). Grup içi karşılaştırma sonuçlarına göre, MEL+KLO grubunun 30. dk latansının enjeksiyon öncesi değere ve 15. dk ölçümüne kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde uzamış; bu değer 60, 90 ve 120. dk'larda anlamlı şekilde düşmüştür (p<0,001). Ek olarak MEL+KLO grubunun 120. dk

ölçümü enjeksiyon öncesi ölçümden ve diğer tüm ölçümlerden istatistiksel olarak anlamlı derecede daha kısa bulunmuştur ($p<0,001$). Diğer gruplarda yapılan tekrarlı ölçümlerde anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 9. Tail-Flick Testi Latanslarının Zamansal Değişimi

4.1.2. Hote-plate Testi Bulguları

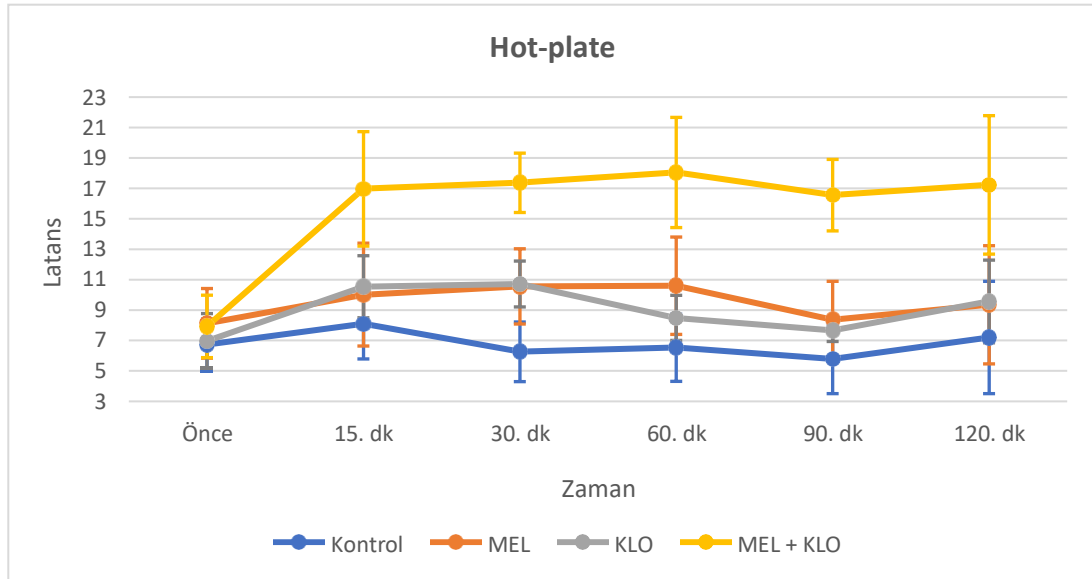
Tablo 2. Hot-Plate Testi Ölçüm Sonuçları

Hot-plate	Gruplar				Test istatistiği p
	Kontrol Ort ± SS	MEL Ort ± SS	KLO Ort ± SS	MEL + KLO Ort ± SS	
Önce	6,72±1,71	8,13±2,29	6,97±1,79	7,93±2,05	F=0,995 p=0,410
15. dk	8,10±2,31	10,02±3,38	10,53±2,04 ^a	16,97±3,76 ^{abc,*}	F=17,785 p<0,001
30. dk	6,26±1,96	10,56±2,47 ^a	10,71±1,51 ^a	17,37±1,95 ^{abc,*}	F=48,118 p<0,001
60. dk	6,53±2,21	10,60±3,20 ^a	8,48±1,48	18,05±3,62 ^{abc,*}	F=26,570 p<0,001
90. dk	5,78±2,27	8,36±2,53	7,66±0,73	16,56±2,35 ^{abc,*}	F=26,200 p<0,001
120. dk	7,20±3,69	9,35±3,88	9,56±2,72	17,23±4,55 ^{abc,*}	F=10,880 p<0,001

Test istatistiği p	F=0,619 p=0,687	F=2,019 P<0,01	F=0,883 P<0,01	F= 37,326 p<0,001	
-------------------------------------	--------------------	-------------------	-------------------	----------------------	--

Tekrarlı ölçümlerde iki yönlü varyans analizi, Bonferroni düzeltmeli çoklu karşılaştırma testi yapılmıştır. a: Kontrol grubuna göre anlamlı, b: MEL grubuna göre anlamlı, c: KLO grubuna göre anlamlı. *: Enjeksiyon öncesine göre, #: 15. dk'ya göre, +: 30. dk'ya göre, x: 60. dk'ya göre anlamlı. p<0,05 anlamlı fark var, p>0,05 anlamlı fark yok.

Gruplar arası karşılaştırma sonuçlarına göre, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında MEL grubunun 30 ve 60. dk ölçümlerinin (p<0,01); KLO grubunun 15 ve 30. dk ölçümlerinin (p<0,01) anlamlı düzeyde artmış olduğu belirlenmiştir. MEL+KLO kombinasyonunun enjeksiyon öncesi haricindeki tüm zaman dilimlerindeki ölçümleri kontrol, MEL ve KLO gruplarının aynı zaman dilimlerindeki ölçümlerine kıyasla anlamlı düzeyde uzamıştır (p<0,001). Diğer ölçüm zamanlarında gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır (p>0,05). Grup içi karşılaştırma sonuçlarına göre, MEL+KLO kombinasyonunun tüm zaman dilimlerindeki ölçüm değerleri enjeksiyon öncesi değerinden anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur (p<0,001). Diğer gruplarda yapılan tekrarlı ölçümlerde anlamlı fark saptanmamıştır (p>0,05).



Şekil 10. Hot-Plate Testi Latanslarının Zamansal Değişimi

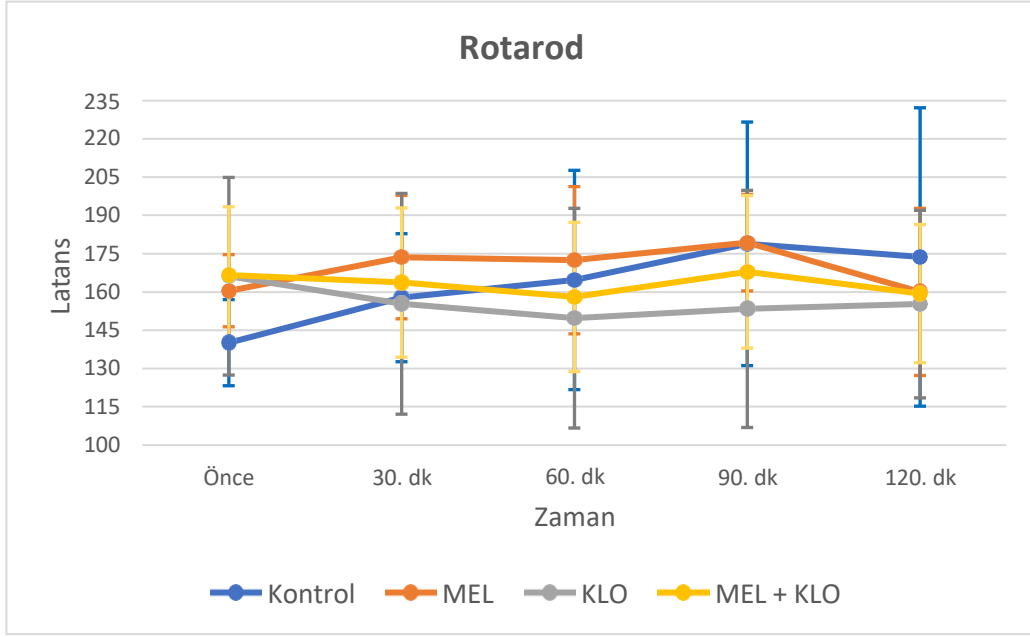
4.2. Rotarod Testi Bulguları

Tablo 3. Rotarod testi ölçüm sonuçları

Rotarod	Gruplar				Test istatistiği p
	Kontrol Ort ± SS	MEL Ort ± SS	KLO Ort ± SS	MEL + KLO Ort ± SS	
Önce	140,08±16,87	160,50±14,14	166,16±38,75	166,62±26,73	$F=0,472$ $p=0,612$
30. dk	157,75± 25,10	173,66± 24,18	155,37± 43,26	163,66± 29,26	$F=0,539$ $p=0,659$
60. dk	164,70± 42,98	172,45± 28,85	149,75± 43,06	158± 29,24	$F=0,555$ $P=0,649$
90. dk	178,87± 47,74	179,33±18,93	153,37±46,49	167,87±29,91	$F=0,837$ $P=0,485$
120. dk	173,70±58,49	160,04±32,76	155,25±36,75	159,33±27,08	$F=0,314$ $P=0,815$
Test istatistiği p	$F=2,686$ $p=0,055$	$F=2,368$ $P=0,080$	$F=0,688$ $P=0,607$	$F=0,666$ $p=0,621$	

Tekrarlı ölçümlerde iki yönlü varyans analizi, Bonferroni düzeltmeli çoklu karşılaştırma testi yapılmıştır. a: Kontrol grubuna göre anlamlı, b: MEL grubuna göre anlamlı, c: KLO grubuna göre anlamlı. *: Enjeksiyon öncesine göre, #: 15. dk'ya göre, +: 30. dk'ya göre, x: 60. dk'ya göre anlamlı. $p<0,05$ anlamlı fark var, $p>0,05$ anlamlı fark yok.

Rotarod ölçümlerinin grupların farklı zaman dilimlerinde kaydedilen gruplar arası karşılaştırmaları ve aynı zaman dilimlerinde kaydedilen grup içi karşılaştırmaları analiz edildiğinde, uygulanan ilaç veya ilaç kombinasyonlarının, grupların hiçbirinde motor inkoordinasyon/sedasyona yol açmadığı tespit edilmiştir ($p>0.05$).



Şekil 11. Rotarod Testi Latanslarının Zamansal Değişimi

5. TARTIŞMA

Ağrı modülasyonu, assendan and desendan nöral sistemler arasındaki birçok etkileşimi içeren dinamik bir süreçtir. Geçmişten günümüze ağrının tedavisi konusunda etkili çok sayıda analjezik maddenin keşfedilmesini sağlayan araştırmalar yapılmaktadır.

Çalışmamızda hot-plate ve tail-flick testleri kullanılarak akut termal nosisepsiyon modeli oluşturulmuştur. Antinosiseptif etkinliği kanıtlanmış ajanlar olan klonidin ve melatoninin, ayrı ayrı ve kombinasyonunun antinosiseptif etkileri değerlendirilmiştir. İlaçların tedavisinden sonra oluşan etkinin antinosiseptif etki mi sedatif etki mi olduğunu belirlemek amacıyla da rotarod testi kullanılmıştır.

α -2 adrenerjik reseptör agonistlerinin ağrı iletimini spinal ve supraspinal düzeylerde bloke ettiğine dair çok sayıda araştırma bulunmaktadır (96-100). Bir α -2 AR agonisti olan klonidin, günümüzde cerrahi hastalarının tedavisinde kullanılmakta olan, anestezi, analjezik ve anksiyolitik etkili bir ilaçtır (6). Bu etkilerini yüksek dozlarda kullanılmadığı sürece solunum depresyonu ya da önemli bir bilinç bozukluğuna yol açmadan gösterir (70). KLO adrenerjik sinapslarda etki göstererek analjezi oluşturan bir ajandır (119). KLO'nun analjezik etkisi spinal ve/veya supraspinal nukleuslardaki α -2 adreseptörlerin aktivasyonu üzerinden gerçekleşir. α -2 AR'lerin aktive olması, primer afferent terminalden P maddesi ve glutamat gibi pronosiseptif nörotransmitterlerin salınımını azaltır (130) ve nörondaki G-protein aracılı K^+ kanallarından K^+ akışı olur. Bunun sonucunda hiperpolarizasyon meydana gelir ve nöronal ateşleme baskılanır (85, 129).

Daha önce yapılmış çalışmalarda KLO'nun laboratuvar hayvanlarında oluşturulmuş birçok ağrı modelinde analjezik etkinlikleri ortaya konmuştur (98, 100-103). İnsanlara intratekal veya epidural (97), sıçanlara intratekal (101), farelere topikal (100), siyatik sinir hasarı oluşturulmuş sıçanlara (nöropatik ağrı modelinde) intratekal (102) uygulanan KLO'nun antinosiseptif etkili olduğu rapor edilmiştir. Dogrul ve Uzbay, KLO'nun 20, 50 ve 75 mg/ml dozlarını farelere topikal olarak uyguladıkları bir çalışmada bu konsantrasyonların antinosiseptif etkili olup, rota-rod testiyle ölçülen motor koordinasyonu bozmadığını ifade etmişlerdir (100). KLO'nun, hipotansiyon ya da motor inkoordinasyona yol açmayan dozlarının, nöropatik ağrı modülasyonuna katıldığı belirtilmektedir (233, 234). Moura ve ark. klonidinin (3-120 μ g/kg) formalin, tail-flick ve writhing testlerinde 30 μ g/kg dozu sedatif etki

göstermeden antinosiseptif etki sağlamış, bu etki NO-sentaz ve guanil siklaz inhibisyonu ile önemli ölçüde azaltılmıştır. Bu sonuçlar çerçevesinde araştırmacılar, sistemik klonidinin antinosiseptif etkisinin NO-cGMP yolu tarafından modüle edildiğini dile getirmişlerdir (235). Farklı KLO dozlarının (25, 50, 100 ve 200 µg/kg) tail-flick testi kullanılarak analjezik etkinliğinin denendiği bir çalışmada 50, 100 ve 200 µg/kg KLO dozları analjezik etki sağlamış, bu etki klorpromazin (CPZ) ile tersine çevrilmiştir (236). Yamazumi ve ark. sıçanlar üzerinde yaptığı bir araştırmada tek başına KLO uygulaması tail-flick testinde spinal antinosisepsiyon oluşturmuş, bu etki hem glibenklamid (adenosin trifosfata duyarlı K⁺ kanal blokörü) hem de karibdotoksin (Ca²⁺ ile aktiveleştirilen K⁺ kanal blokörü) tarafından kısmen antagonize edilmiştir. Bu bulgu hem K⁺ ATP kanallarının hem de Ca²⁺ ile aktiveleştirilen K⁺ kanallarının, klonidin tarafından indüklenen antinosisepsiyonla ilişkili olduğunu göstermiştir (237).

Klonidinin sedatif etkili bir ilaç olduğu göz önünde bulundurulacak olursa, klonidin tedavisinden sonra oluşan etkinin antinosiseptif etki mi sedatif etki mi olduğunu belirlemek gerekir. Sıçanların lokomotor fonksiyonunu değerlendirmek için kullandığımız rotarod testinden elde edilen bulgular, uyguladığımız dozun, KLO'nun tek başına verildiği grupta sedasyon/motor inkoordinasyona sebep olmadığını göstermiştir. Bu bulgu, KLO'nun çalışmamızda gözlenen etkisinin sedasyon değil antinosisepsiyon kaynaklı bir etki olduğunu düşündürmektedir.

Pineal bez tarafından sentezlenip salgılanan endojen bir nörohormon olan melatoninin analjezik etkilerinin altında yatan mekanizmalar henüz net değildir. Analjezik aktivitesine, en başta MT1/MT2 melatoninergic reseptörler olmak üzere, santral sinir sisteminde ve spinal kordun dorsal boynuzunda yer alan opioidergic, benzodiazepinergic, muskarinik, nikotinik, serotonergic ve α 1/ α 2-adrenergik reseptörlerle etkileşiminin aracılık ediyor olabileceği düşünülmektedir (13). Periferik veya santral yollardan uygulanan MEL ve analoglarının akut (200, 202, 204-206, 238), nöropatik (230) ve inflamatuvar (203, 207, 229) ağrı üzerine doza-bağlı uzun vadeli antinosiseptif etkiler gösterdiği araştırmalar bulunmaktadır (208, 211). MEL laboratuvar hayvanlarında, tail-flick ve hot-plate testleri kullanılarak oluşturulmuş ağrı modellerinde antinosiseptif etki göstermiştir (160, 204, 230). Laste G. ve ark. i.p. 60 mg/kg melatoninin sıçanlarda CFA'nın (complete Freund's adjuvant) neden olduğu inflamatuvar ağrı modelinde analjezik etkisini değerlendirdiği bir araştırmada, melatonin inflamatuvar ağrı üzerinde önemli bir etki göstermiştir (239). Hardeland R.

ve ark. çalışmalarında hot-plate testi kullanarak gerçekleştirdikleri akut ağrı modelinde 20 mg/kg ile 40 mg/kg melatoninin i.p. dozu ile güçlü antinosiseptif etki oluşturmuştur, bu etki opiyat antagonisti naloksonun kullanımıyla inhibe olmuştur. (240). Golombek DA ve ark. da MEL'in farelerdeki analjezik etkisini hot-plate ağrı modeli kullanarak göstermişlerdir (205). Yu CX. ve ark. iki ayrı çalışmada oluşturdukları tail-flick ağrı modellerinde sıçanlara farklı dozlarda (30, 60, 120 mg/kg) uyguladıkları i.p. MEL enjeksiyonu doza bağlı antinosiseptif etki oluşturmuş, bu etkinin enjeksiyondan 15 dk sonra başlayıp, 30. dk'da pik yaptığını ve yaklaşık 100 dk kadar sürdüğünü belirtmişlerdir (238, 241).

Yaptığımız çalışmada hem hot-plate hem tail-flick testinde bu sonuçlara benzer şekilde 60 mg/kg i.p. MEL, sıçanlara enjekte edildikten 15 dk sonra antinosiseptif etki göstermeye başlamış, bu etki 30. dk'da zirveye ulaşmış ve azalarak 90 dk kadar daha sürmüştür. Daha önceki çalışmalardan elde edilmiş sonuçlar, ulaştığımız bu bulgularla benzerdir. Uygulanan ilaçların antinosiseptif etkinliği nosiseptif testler olan hot-plate (supraspinal düzey) ve tail-flick (spinal düzey) testleriyle değerlendirilmiştir. Araştırmamızda kullanılan davranış testlerinden elde edilen sonuçlar, tail-flick testinde 60 mg/kg melatonin ve 50 µg/kg klonidinin 15, 30 ve 60. dk'larındaki latanslarının kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı ölçüde uzamış olduğunu göstermiştir. Hot plate testinde 60 mg/kg melatonin 30 ve 60. dk'larda, 50 µg/kg klonidin 15 ve 30. dk'larda kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli derecede uzamıştır. Aynı grupların hot-plate testinde 15, 30 ve 60. dk'larındaki latansları enjeksiyon öncesi ölçüme kıyasla istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte uzamıştır. Tail-flick testinde enjeksiyon öncesi ölçüme göre MEL grubunun 15, 30 ve 60. dk'larındaki latansları istatistiksel olarak anlamlı, KLO grubunun 15 ve 30. dk'larındaki latansları istatistiksel olarak anlamlı olmamakla beraber daha uzun bulunmuştur.

Melatoninin sedatif etkisi dikkate alınacak olursa, MEL tedavisinden sonra oluşan etkinin antinosisepsiyon kaynaklı mı sedasyon kaynaklı mı olduğunu belirlemek önemlidir. Sıçanların motor koordinasyonunu değerlendirmek amacıyla kullandığımız rotarod testinden elde ettiğimiz sonuçlar, uyguladığımız dozun, MEL'in tek başına verildiği grupta sedasyon/motor inkoordinasyona yol açmadığını göstermiştir. Bu sonuç, MEL'in araştırmamızda oluşan etkisinin sedatif değil antinosiseptif bir etki olduğunu düşündürmektedir.

60 mg/kg melatonin ve 50 µg/kg klonidinin birlikte uygulandığı grup olan MEL+KLO incelendiğinde, tail-flick testinin 15. dk'sı itibariyle latans değeri enjeksiyon öncesi ölçüme göre uzamaya başlamış, 30. dk'da istatistiksel açıdan önemli derecede artarak pik yapmış ve giderek azalarak 90. dk'ya kadar sürmüştür. Hot-plate testinin 15. dk'sında enjeksiyon öncesi ölçüme kıyasla istatistiksel olarak önemli derecede latans artışı görülmeye başlamış, bu artış 60. dk'da pik yapıp giderek azalarak 120. dk'ye dek sürmüştür. Bu durum, MEL ve KLO'nun birbirlerinin antinosiseptif etkisini güçlendirdiğini ve bu etkinin uzun süre devam ettiğini göstermektedir. Bu tür bir güçlendirme, analjeziyi en üst düzeye çıkarmaya ve olası yan etkileri minimum seviyeye indirmeye yardımcı olacak yararlı bir klinik strateji olabilir.

Literatür taramalarımız sonucunda, klonidin ile melatoninin belirlediğimiz dozlardaki kombinasyonunun antinosiseptif yanıt bakımından değerlendirildiği herhangi bir çalışmaya rastlamadık. 60 mg/kg melatonin ve 50 µg/kg klonidin kombinasyonu ilk kez çalışmamızda denenmiştir. Böylelikle, oluşturduğumuz bu kombinasyonun sıçanlar üzerindeki antinosiseptif etkinliği ve sıçanların lokomotor aktivitelerine etkisi ilk kez bu çalışmada değerlendirilmiştir.

İki ilacın ayrı ayrı verilmesinin preoperatif sedasyon, anksiyete, postoperatif ağrı ve deliryum gibi durumlara etkilerinin değerlendirildiği çalışmalar bulunmaktadır ve bu çalışmalardan çıkan sonuçlar, bizim de ulaştığımız sonuçlarla korelasyon göstermektedir. Klonidinin lokal anestezikler, opioidler ve diğer α -2 adrenerjik reseptör agonistler ile kombinasyon halinde araştırıldığı çalışmalar diğer analjeziklere bir adjuvan olabileceğini rapor etmişlerdir. Ali ve ark.'nın bir araştırmasında sub-umbilikal cerrahi operasyon geçiren pediatrik hastalarda premedikan olarak oral klonidin, deksmedetomidin ve melatoninin her üçünün de preoperatif sedasyon sağladığı, anksiyeteyi, postoperatif ağrıyı ve uyanma deliryumunu azalttığı sonucuna ulaşılmıştır (242). Chuan-Qi ve ark. çocuklarda selektif cerrahide genel anestezi öncesinde farklı sedatiflerle çalıştıkları bir meta-analizde preoperatif anksiyeteye karşı premedikasyon olarak deksmedetomidin, midazolam, klonidin, ketamin ve melatonin gibi sedatiflerin kullanılabilmesini öne sürmüşlerdir (243). Abdominal histerektomi yapılan hastalarda melatonin ve klonidinin ameliyat sonrası ağrıya ve morfin tüketimi üzerine preoperatif anksiyolitik etkisinin araştırıldığı bir çalışmada hem MEL hem KLO postoperatif ağrıyı azaltma

konusunda plasebodan daha etkili olmuş ve her ikisinin de anksiyolitik etkisi postoperatif morfin tüketimini %30'dan fazla azaltmıştır (244).

Araştırmamızda kombine halde 60 mg melatonin ve 50 µg/kg klonidin sıçanlara uygulandığında, tek başına ürettikleri etkiden daha güçlü antinosiseptif yanıt oluşturmuştur. Shin ve ark. formalin testinde intratekal MEL'in spinal kordda bulunan α 1- ve α 2-adrenoseptörler üzerinden, mekanik allodinik tepkiyi hafiflettiğini rapor etmişlerdir (208). Ek olarak, agomelatin, α 2-adrenoseptörler ve β 2-adrenoseptörlerin aracılık ettiği noradrenerjik nörotransmisyon yoluyla anti-allodinik etki göstermiştir (ago). Bu bulgular ışığında, araştırmamızda kullandığımız MEL ve KLO kombinasyonunun antinosiseptif etkileşiminde melatoninin α 2-adrenoseptörler üzerinden klonidinin analjezik etkisini güçlendirmiş olabileceğini söyleyebiliriz.

Kullandığımız ilaçların farklı ajanlarla çalışıldıklarında analjezik etkilerini potansiyelize ettiği araştırmalar bulunmaktadır. Hem μ hem de δ opioid reseptörlerinin aktivasyonunun, α -2-adrenoseptör agonistleri ile sinerji üretebildiği ve α -2-adrenoseptör agonistlerinin, α -2A veya α -2C adrenoseptör alt tipleri yoluyla sinerjiye aracılık edebildiği belgelenmiştir (245). Preklinik çalışmalarda sıklıkla adrenerjik ile opioid reseptör arasında, nadiren de aynı sınıftaki agonistler arasında sinerji olduğunu bildirilmektedir. Horvath ve ark. tail-flick ve hot-plate testleri kullanarak oluşturdukları iki modelde sıçanlara kombine halde verdikleri 100 µg/kg klonidin, 15 µg/kg fentanil ve 10 mg/kg verapamilin (bir Ca kanal blokeri), ajanların ikili kombinasyonundan çok daha güçlü analjezik etki gösterdiğini ve antinosisepsiyon süresini uzattığını göstermişlerdir (106). Bir çalışmada Zeng ve ark. tail-flick testini kullanarak Na^+ - K^+ -ATPaz inhibitörü olan ouabain ile klonidini intratekal olarak uygulayarak ikisi arasındaki sinerjistik etkileşimi değerlendirmişler, iki ilacın birlikte kullanımının hayvanlarda herhangi bir motor bozukluk yaratmadan doza ve zamana bağlı anlamlı bir antinosisepsiyon ürettiği sonucuna ulaşmışlardır (147). Ossipov ve ark. yaptıkları çalışmalarda intratekal olarak uygulanan klonidinin μ opioid reseptör agonistleri morfin, meperidin ve fentanil (246, 247) ve delta1 opioid reseptör agonisti olan DPDPE (248) ile sinerjistik etkileşimi tail-flick testinde belirgin şekilde gözlenmiştir. Drasner ve Fields bir araştırmada tail-flick kullanarak 5 µg/kg intratekal KLO antinosisepsiyonun sistemik 1 mg/kg s.c. morfinin eş zamanlı uygulanmasıyla güçlendirilebileceği hipotezini test etmiş, bu kombinasyonun önemli bir antinosiseptif etki yarattığını görmüşlerdir (249). Fairbanks ve ark. fare spinal

kordunda, ikisi de α -2-AR agonistleri olan deksmedetomidin ile klonidinin α -2 AR üzerinden antinosiseptif sinerji ürettiğini ortaya koymuşlardır (250).

Literatür taramalarımız sonucunda, melatonin ve analoglarının farklı ajanlarla antinosiseptif yanıt bakımından değerlendirildiği çalışmalara rastlanılmıştır. Ozcan ve ark.'nın diyabetik nöropatili bir fare modeliyle yaptıkları bir çalışmada melatonin MT1 ve MT2 reseptörler üzerinde güçlü bir agonist aktiviteye sahip olan agomelatin, morfinin antinosiseptif etkilerini güçlendirmiştir (251). Bir araştırma melatonin (30 mg/kg) ve NMDA reseptör antagonisti olan dextromethorphan (DM)'nin (15 mg/kg) MEL ile kombine intraperitoneal uygulamasının nöropatik ağrılı sıçanlarda hem termal hiperaljeziyi hem de mekanik allodiniyi etkili bir şekilde tersine çevirdiğini rapor etmiştir (255). Melatoninin (100 mg/kg, i.p.) farelerde glutamatla indüklenen ağrı üzerine analjezik etkisi opioid reseptör antagonisti nalokson (1 mg/kg), bir serotonin reseptör (5-HT_{2A}) antagonisti ketanserin (1 mg/kg), dopaminerjik D₂ reseptör antagonisti sülpirid (50 mg/kg), prazosin (α -2-adrenoseptor antagonisti, 0.15 μ g/kg, i.p.), yohimbin (α -2-adrenoseptor antagonisti, 0.15 mg/kg, i.p.), MT1/MT2 reseptör antagonisti luzindol (0.15 mg/kg) ya da L-arginin (600 mg/kg) i.p. ön tedavisi ile tamamen bloke edilmiştir (230). Li ve ark.'nın bir araştırmasında i.p. (1, 5, 25 mg/kg) veya i.c.v. (0.25, 0.5, 1 mg/kg) yollarla enjekte edilen melatonin, melatonin reseptörü üzerinde etkili olan δ -opioid agonisti deltorfin I'in indüklediği antinosisepsiyonu önemli ölçüde arttırmıştır (252). Elde edilen bulgulara göre melatonin, periferik ve santral melatonin reseptörleri, opioidderjik, serotonerjik, dopaminerjik, adrenerjik reseptörler ve L-arginin-nitrik oksit yolağı ile etkileşime girerek antinosisepsiyon sağlamaktadır (11).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Ağrı insan yaşamının fiziksel, sosyal ve psikolojik durumunu içeren tüm alanlarını olumsuz yönde etkileyerek yaşam kalitesini düşüren kompleks bir deneyimdir. Bu durum araştırmacıları bu anlamda etkili ağrı kesici tedaviler bulmaya yöneltmiştir. Bugün halen ağrıyı ortadan kaldıran yöntemler ve bu yöntemlerin altında yatan mekanizmalar araştırılmaktadır. Bunun yanında, uygulanan tedavilerin yan etkileri de yeni ve etkin tedavi yöntemlerinin araştırılmasını gerektirmektedir.

Daha önce yapılan çalışmalarda klonidin ve melatoninin antinosiseptif ve sedatif etkileri çok fazla sayıda çalışma ile kanıtlanmıştır. Çalışmamızda elde edilen sonuçlar da bu çalışmalarla paralellik göstermektedir. Elde ettiğimiz bu bulgular doğrultusunda, uyguladığımız klonidin ile melatonin dozlarının antinosiseptif etkiler gösterdiğini, iki ajanı birlikte uygulayarak oluşturduğumuz kombinasyonun daha güçlü antinosisepsiyon üretmiş olduğunu söyleyebiliriz. Bu düşük dozlar tek başına uygulandığında da kombine halde uygulandığında da lokomotor aktiviteyi bozacak etkiler oluşturmamıştır.

Bu araştırmanın, kullanılan yöntem ve sunulan veriler açısından ilk olması önem arz etmektedir. Daha güçlü antinosisepsiyon ya da sedasyon amaçlanacak olursa farklı doz denemeleri ve kombinasyonlar araştırılabilir. Klonidin ve melatonin arasındaki antinosiseptif etkileşimin daha iyi anlaşılabilmesi açısından, literatüre yeni bir bakış açısı kazandırmaya çalıştığımız bu araştırma gibi daha fazla araştırma yapılması gerektiği kanaatindeyiz.

7. KAYNAKLAR

1. Fillingim RB, Loeser JD, Baron R, Edwards RR. 2016. Assessment of chronic pain: domains, methods, and mechanisms. *The Journal of Pain*. 2016;17.9:T10-T20.
2. Keskin A. Operatif stratejide ağrının rolü. *Ağrı Dergisi*. 2004;16(2):42-43.
3. Erdine S. Ağrı mekanizmaları. Erdine S (ed). *Ağrı*, Birinci baskı, İstanbul; Alemdar Ofset; 2000:20.
4. Ely T. Conotoxins reveal significant psychopharmacological effectiveness: the future of pain management. *Journal of Psychology and Behavioral Sciences*. 2003;17:18-33.
5. Svensson T, Persson R, Wallin L, Wålinder J. Anxiolytic action of clonidine. *Nordic Journal of Psychiatry*. 1978;32(6):439-41.
6. Jamadarkhana S, Gopal S. Clonidine in adults as a sedative agent in the intensive care unit. *Journal of Anaesthesiology Clinical Pharmacology*. 2010;26(4):439-45.
7. Özdoğan ÜK, Lähdesmäki J, Hakala K, Scheinin M. The involvement of α 2A-adrenoceptors in morphine analgesia, tolerance and withdrawal in mice. *European Journal of Pharmacology*. 2004;497:161-71.
8. Wang JG, Belley-Coté E, Burry L, Duffett M, Karachi T, Perri D, et al. Clonidine for sedation in the critically ill: A systematic review and meta-analysis. *Critical Care*. 2017;21(75):1-11.
9. Rawal N. Spinal antinociception: clinical aspects. *Annals of Medicine*. 1995;27:263-8.
10. Reiter RJ. Melatonin: The chemical expression of darkness. *Mol Cell Endocrinol*. 1991;79:C153-C158,.
11. Srinivasan V, Pandi-Perumal SR, Spence DW, Moscovitch A, Trakht I, Brown GM, et al. Li drugs in analgesia: Mechanisms of action. *Brain Res Bull*. 2010;81:362-371.
12. Xie S, Fan W, He H, Huang F. *Journal of pain research*. 2020;331-343.
13. Srinivasan V, Lauterbach EC, Ho KY, Acuña-Castroviejo D, Zakaria R, Brzezinski A. Melatonin in antinociception: Its therapeutic applications. *Curr Neuropharmacol*. 2012;10:167-178.
14. WHO Normative Guidelines On Pain Management. Report of a Delphi Study to determine the need for guidelines and to identify the number and topics of guidelines that should be developed by WHO. Report prepared by Prof Neeta Kumar, Consultant. Geneva; 2007.
15. Merskey H, Bogduk N. *Classification of Chronic Pain: Descriptions of Chronic Pain Syndromes and Definitions of Pain Terms*, 2nd ed. Seattle: IASP Press; 1994.
16. Düzel V. Hemşire ve Hastaların Postoperatif Ağrı Değerlendirmelerinin Karşılaştırılması. T.C. Çukurova Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Hemşirelik Anabilim Dalı, Adana; 2008.

17. The International Association for the Study of Pain (IASP). IASP Terminology. Erişim tarihi: 25.05.2021 <https://www.iasp-pain.org/Education/Content.aspx?ItemNumber=1698>; 2021
18. Tobias JD, Gaines RW, Lowry KJ, Kittle D, Bildner C. A dual epidural catheter technique to provide analgesia following posterior spinal fusion for scoliosis in children and adolescents. *Paediatr Anaesth*. 2001;11:199-203.
19. Önal SA: Ağrı. Önal SA. (editör). Algoloji. 1. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2004:1-20.
20. Byers MR, Bonica JJ. Peripheral Pain mechanisms and nociceptor plasticity. In: Loeser JD, Butler SH, Chapman CR, Turk D, eds Bonica's Management of Pain. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 2001:27-72.
21. Tan E. Nöropatik Ağrı. Ankara, Türkiye, Nobel Matbaası. 2009;1-63.
22. Kara H, Abay E. Kronik ağrıya psikiyatrik yaklaşım, Anadolu Psikiyatri Dergisi. 2000; 1(2):89-99.
23. Kidd BL, Urban LA. Mechanism of inflammatory pain. *B J Anaesth*. 2001;87(1):3-11.
24. Schaible HG, Richter F. Pathophysiology of pain. *Langenbecks Arch Surg*. 2004;389:237-43.
25. Smith ES, Gary RL. Nociceptors: a phylogenetic view. *Comp Physiol A*, 2009;195:1089–1106.
26. Stevens ED. "Pain" and analgesia in fish: what we know, what we do not know, and what we need to know, before using analgesics in fish. Conference: Blue sky to deep water: the reality and the promise. ANZCCART Proceedings. 2009;(s. 115-124).
27. Velioğlu SK. Ağrı Anatomisi: Ağrı Yolakları, Beyin Sapı ve Beyin. *Türk Klinikleri Dergisi Nöroloji* 2017;10(4):329-335.
28. Savrun F. Ağrıda Nörofizyolojik Yöntemlerin Yeri. *Türk Klinikleri Dergisi Nöroloji*. 2017;10(4):339-347.
29. Uyar M, Köken İ. Kronik ağrı nörofizyolojisi. *TOTBİD Dergisi*. 2017;16:70–76.
30. Millan MJ. Descending control of pain. *Prog Neurobiol*. 2002;66(6):355-474.
31. Reıslı R, Akkaya ÖT, Arıcan Ş, Can ÖS, Çetıngök H, Güleç MS, et al. Akut postoperatif ağrının farmakolojik tedavisi: Türk Algoloji-Ağrı Derneği klinik uygulama kılavuzu. *Agri/Journal of the Turkish Society of Algology*. 2021;33.
32. Hwang SH, Weckslers AT, Wagner K, Hammock BD. Rationally designed multitarget agents against inflammation and pain. *Curr Med Chem*. 2013;20(13):1783-99.
33. Dost T. Farelerde Morfinin Olusturdugu Analjezik Etkide Santral Hisaminerjik Sistemin Rolü. Edirne, TÜ Tıp Fak; 2000.
34. Ertekin C. Ağrının nöroanatomisi, Editör, Yegül İ. Ağrı ve tedavisi. 1993;1-17.
35. Ricciotti E, Fitz Gerald GA. Prostaglandins and Inflammation. *Arterioscler*

Thromb Vasc Biol. 2011;31(5):986-1000.

36. Samad TA, Moore KA, Sapirstein A. İnterleukin-1 β - Mediated Induction of Cox-2 in The Cns Contributes to İnflammatory Pain Hypersensitivity. *Nature*. 2001;410:471-475.

37. Ertekin C. Ağrının Nöroanatomisi ve Nörofizyolojisi. Ağrı ve Tedavisi (Ed: Yegül İ). İzmir. 1993:1-18.

38. Ferrante FM, Vadebonconer TR. Postoperative Pain Management. 2nd Ed, New York: Churchill Livingstone Inc. 1993;485-518.

39. Raj PP. Ağrı Taksonomisi. Erdine S. (editör). Ağrı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2002:12–19.

40. Gonzales V, Martelli MF, Baker JM. Psychological assessment of persons with chronic pain. *Neuro Rehabilitation*. 2000;14(2):69-83.

41. Davis MP, Walsh D. Epidemiology of cancer pain and factors influencing poor pain control. *Am J Hosp Palliat Care*. 2004;21(2):137–42.

42. Botting RM, Botting JH. Pathogenesis and Mechanisms of Inflammation and Pain. *Clin Drug Investig*. 2000;19(Suppl2):1–7.

43. Kyles AE, Waterman AE, Livingston A. The spinal antinociceptive activity of the α 2-adrenoceptor agonist, xylazine in sheep. *Br J Pharmacol*. 1993;108:907–13.

44. Nestler EJ, Alreja M, Aghajanian GK. Molecular and cellular mechanisms of opiate action: Studies in the rat locus coeruleus. *Brain Research Bulletin*. 1994;35(5–6):521–8.

45. Yürügen B. Ağrı ve opioid analjeziklerin kullanımına bağlı olarak ortaya çıkan komplikasyonlarda hemşirelik yaklaşımları. Atatürk Üniversitesi Hemşirelik Yüksek Okulu Dergisi. 2001;4(1):1–6.

46. Dworkin RH. Advances in neuropathic pain: diagnosis, mechanisms and treatment recommendations. *Arch Neurol*. 2003;60:1524-34.

47. Baron R. Mechanisms of disease: neuropathic pain –a clinical perspective. *Nat Clin Pract Neurol*. 2006;2(2):95–106.

48. Dikmen, YD. Ağrı ve Yönetimi. Aştı TA, Karadağ A.(ed) İçinde: Hemşireli Esasları Hemşirelik Bilimi ve Sanatı, 2. Baskı. İstanbul, Akademi Basın ve Yayıncılık; 2013

49. Barrett KE. (Ed. Gökbel H.). Ganong'un Tıbbi Fizyolojisi. İstanbul, Türkiye, Nobel Tıp Kitabevleri. 2015;157-173.

50. Kurtcan S, Toprak H, Aralaşmak A. Ağrı Görüntülenmesi. *Türk Klinikleri Dergisi Nöroloji*. 2017;10(4):335-339.

51. Marchand S. The physiology of pain mechanisms: from the periphery to the brain. *Rheum Dis Clin North Am*. 2008;34(2):285–309.

52. Christie MJ. Cellular neuroadaptations to chronic opioids: Tolerance, withdrawal and addiction. *British Journal of Pharmacology*. 2008;154:384–96.

53. Aydın ON. Ağrı ve Ağrı Mekanizmalarına Güncel Bakış. ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi. 2002;3(2):37–48.

54. Kramer PR, Strand J, Stinson C, Bellinger LL, Kinchington PR, Yee M.B, et

- al. Role for the Ventral Posterior Medial/Posterior Lateral Thalamus and Anterior Cingulate Cortex in Affective/Motivation Pain Induced by Varicella Zoster Virus. *Front Integr Neurosci*. 2017;11:27.
55. Almeida TF, Roizenblatt S, Tufik S (2004). Afferent pain pathways: a neuroanatomical review. *Brain Res*: 1000, 40–56.
56. Jones SL, Gebhart GF. Characterization of coeruleospinal inhibition of the nociceptive tail-flick reflex in the rat: Mediation by spinal α 2-adrenoceptors. *Brain Research*. 1986;364(2):315–30.
57. Şengün İ. Nöropatik Ağrı Mekanizmaları. İçinde: Tan E, editör. Nöropatik Ağrı Kitabı. Türk Nöroloji Derneği. 2009:s.25–46.
58. Bannister K, Bee LA, Dickenson AH. Preclinical and early clinical investigations related to monoaminergic pain modulation. *Neurotherapeutics*. 2009;6(4):703–12.
59. Peng YB, Lin Q, Willis WD. Involvement of alpha-2 adrenoceptors in the periaqueductal gray-induced inhibition of dorsal horn cell activity in rats. *J Pharmacol Exp Ther*. 1996;278(1):125–35.
60. Bajic D, Proudfit HK. Projections of neurons in the periaqueductal gray to pontine and medullary catecholamine cell groups involved in the modulation of nociception. *J Comp Neurol*. 1999;405: 359-379.
61. Pertovaara A. Noradrenergic pain modulation. *Prog Neurobiol*. 2006;80:53-83.
62. Wada T, Otsu T, Hasegawa Y, Mizuchi A, Ono H. Characterization of alpha 1-adrenoceptor subtypes in rat spinal cord. *Eur J Pharmacol* 1996;312:263-266.
63. Hayashi Y, Maze M. α 2-adrenoceptor agonists and anaesthesia. *Br J Anaesth*. 1993;71:108-18.
64. Kaplan ME. Elektif inguinal herni cerrahisi vakalarında deksmedetomidin Hcl ve klonidin’ in peroperatif etkilerinin karşılaştırılması. İstanbul: Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi; 2006.
65. Gertler R, Brown HJ, Mitchell DH, Silvius EN. Dexmedetomidine: a novel sedative-analgesic agent. *Proc. (Bayl Üniv Med Cent)*. 2001;14:13–21.
66. Langer SZ. Presynaptic regulation of the release of catecholamines. *Pharmacol Rev*. 1981;32:337-362.
67. Maze M, Tranquilli W. Alpha-2 adrenoceptor agonists: Defining the role in clinical anesthesia. *Anesthesiology*. 1991;74:581-605.
68. Hayashi Y, Rabin BC, Guo TZ, Maze M. Role of pertussis toxin-sensitive G-proteins in the analgesic and anesthetic actions of α 2-adrenergic agonists in the rat. *Anesthesiology*. 1995;83:816-22.
69. Coursin DB, Coursin DB, Maccioli GA. Dexmedetomidine. Current opinion in critical care. 2001;7(4):221-6.
70. Anderson RJ, Hart GR, Crumpler CP, Lerman MJ. Clonidine overdoses: Report of six cases and review of the literature. *Annals of Emergency Medicine*. 1989;10:107-1 12.
71. Motiejunaite J, Amar L, Vidal-Petiot E. Adrenergic receptors and

cardiovascular effects of catecholamines. *Ann Endocrinol.* 2020;18:1–5.

72. Mantz J. Dexmedetomidine. *Drugs today.* 1999;35:151-157.
73. Khan Z, Ferguson C, Jones R. Alpha-2 and imidazoline receptor agonists Their pharmacology and therapeutic role. *Anaesthesia.* 1999;54(2):146-65.
74. Kayaalp O. Opioid Analjezikler. In: Prof. Dr. Oğuz Kayaalp Editör. Akılcı Tedavi yönünden Tıbbi Farmakoloji 2.Cilt 13.Baskı. Ankara. Pelikan Yayıncılık; 2012.
75. Richman JG, Regan JW. Alpha 2-adrenergic receptors increase cell migration and decrease F-actin labeling in rat aortic smooth muscle cells. *American Journal of Physiology.* 1998;274:C654–C662.
76. Shirasaka T, Kannan H, Takasaki M. Activation of a G protein-coupled inwardly rectifying K⁺ current and suppression of I_h contribute to dexmedetomidine-induced inhibition of rat hypothalamic paraventricular nucleus neurons. *Anesthesiology.* 2007;107:605–615.
77. Kamibayashi T, Maze M. Clinical uses of alpha2 -adrenergic agonists. *Anesthesiology.* 2000;93(5):1345-9.
78. Uzbay İ. Anksiyetenin Nörobiyolojisi. *Klinik Psikiyatri.* 2002;1:5–13.
79. Aantaa R, Kallio A, Virtanen R. Dexmedetomidine, a novel alpha2 adrenergic agonist: a review of its pharmacodynamic characteristics. *Drugs of the Future* 1993;18(1):49-56.
80. Duke P, Maze M, Morrison P. Dexmedetomidine: a general overview. *International Congress and Symposium Series Redefining Sedation.* 1998;221:11-2.
81. Wijesundera DN, Naik JS, Beattie WS. Alpha-2 adrenergic agonists to prevent perioperative cardiovascular complications: a meta-analysis. *Am J Med.* 2003;114:742-52.
82. Bie B, Fields HL, Williams JT, Pan ZZ. Roles of α_1 - and α_2 -adrenoceptors in the nucleus raphe magnus in opioid analgesia and opioid abstinence-induced hyperalgesia. *The Journal of Neuroscience.* 2003;23(21):7950–7.
83. Vaughan CW, Christie MJ. Presynaptic inhibitory action of opioids on synaptic transmission in the rat periaqueductal grey in vitro. *J Physiol.* 1997;498:463-472.
84. Huang G, Liu G, Zhou Z, Yang J, Su C. Successful treatment of refractory cancer pain and depression with continuous intrathecal administration of dexmedetomidine and morphine: A case report. *Pain Ther* 9. Springer Healthcare. 2020:797–804.
85. Zhang X, Bai X. New therapeutic uses for an alpha2 adrenergic receptor agonist– Dexmedetomidine in pain management. *Neuroscience Letters.* 2014;561:7-12.
86. Eisenach JC, Shafer SL, Bucklin BA, Jackson C, Kallio A. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of intraspinal dexmedetomidine in sheep. *Anesthesiology* 1994;80:1349-1359.
87. Haselman MA. Dexmedetomidine: a useful adjunct to consider in some high-risk situations. *AANA journal.* 2008;76(5):335-9.

88. Bantel C, Eisenach JC, Duflo F, Tobin JR, Childers SR. Spinal nerve ligation increases alpha2-adrenergic receptor G-protein coupling in the spinal cord. *Brain Res* 2005;1038:76-82.
89. Bekker A, Sturaitis MK. Dexmedetomidine for neurological surgery. *Operative Neurosurgery*. July 2005;Vol 57:ONS-1-ONS-10,
90. Jean Mantz. Dexmedetomidine, Department of anesth. and critical care, and institutnational de la sante et de la recherche medicale (Inserm), Hospital bichat, Paris, France *Drugs of today*. 1999;35(3):151-57.
91. Lawlis GF, Selby D, Hinnant D, McCoy CE. Reduction of postoperative pain parameters by presurgical relaxation instructions for spinal pain patients. *Spine*. 1985;10:649-54 .
92. Lefkowitz RJ, Hoffman BB, Taylor P. Neurotransmission: The autonomic and somatic motor nervous systems. In: Goodman LS, Gilman A (Eds.). *The pharmacological basis of therapeutics*. 9th ed. New York: Mc Graw Hill Co. 1996;105-40.
93. Hunter JC, Fontana DJ, Hedley LR, Jasper JR, Lewis R, Link RE, et al. Assessment of the role of alpha 2- adrenoceptor subtypes in the antinociceptive, sedative and hypothermic action of dexmedetomidine in transgenic mice. *Br J Pharmacol*. 1997;122:1339-44.
94. Millan MJ, Bervoets K, Rivet JM, Widdowson P, Renouard A, Le Marouille-Girardon S, et al. Multiple alpha-2 adrenergic receptor subtypes. II. Evidence for a role of rat R alpha-2A adrenergic receptors in the control of nociception, motor behavior and hippocampal synthesis of noradrenaline. *J Pharmacol Exp Ther*. 1994;270:958-972.
95. Lakhiani PP, MacMillan LB, Guo TZ. Substitution of a mutant alpha2a adrenergic receptor via “hit and run” gene targeting reveals the role of this subtype in sedative, analgesic, and anesthetic-sparing responses in vivo. *Proc Natl Acad Sci*. 1997;94:9950–9955.
96. Giovannoni MP, Ghelardini C, Vergelli C, Piazz VD. α 2-Agonists as analgesic agents. *Medicinal Research Reviews*. 2009;29(2):339–68.
97. Sullivan AF, Dashwood MR, Dickenson AH. α 2-Adrenoceptor modulation of nociception in rat spinal cord: Location, effects and interactions with morphine. *European Journal of Pharmacology*. 1987;138:169–77.
98. Khasar SG, Green PG, Chou B, Levine DJ. Peripheral nociceptive effects of α 2-adrenergic receptor agonist in the rat. *Neuroscience*. 1995;66(2):427–32.
99. Hamalainen MM, Pertovaara A. The antinociceptive action of an α 2-adrenoceptor agonist in the spinal dorsal horn is due to a direct spinal action and not to activation of descending inhibition. *Brain Research Bulletin*. 1995;37(6):581–7.
100. Dogrul A, Uzbay IT. Topical clonidine antinociception. *Pain*. 2004;111:385–91.
101. Danzebrink R, Gebhart G. Antinociceptive effects of intrathecal adrenoceptor agonists in a rat model of visceral nociception. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 1990;253(2):698–705.
102. Luo L, Puke MJC, Wiesenfeld-Hallain Z. The effects of intrathecal morphine

and clonidine on the prevention and reversal of spinal cord hyperexcitability following sciatic nerve section in the rat. *Pain*. 1994;58:245–52.

103. Eisenach J, Du Pen S, Dubois M, Miguel R, Allin D. Epidural clonidine analgesia for intractable cancer pain. *Pain*. 1995;61:391–9.

104. Özdoğan ÜK, Lähdesmäki J SM. Influence of prazosin and clonidine on morphine analgesia, tolerance and withdrawal in mice. *European Journal of Pharmacology*. 2003;460:127–34.

105. Holz GGIV, Raine SG, Dunlop K. GTP-binding proteins mediate transmitter inhibition of voltage dependent calcium channel. *Nature*. 1989;319:670-2.

106. Hovarth G, Benedek G, Szikszay M. Enhancement of fentanyl analgesia by clonidine plus verapamil in rats. *Anesth Analg*. 1990;70:284-8.

107. Dunlop K, Fischbach GD. Neurotransmitters decrease calcium conductance activated by depolarization of embryonic sensor neurons. *J Physiol*. 1981;317:519-35.

108. Cormack JR, Fanzca M, Orme RM, Costello TG. The role of α_2 -agonists in neurosurgery. *J Clin Neuroscience*. 2005;12:375–378.

109. Ebert TJ. The effects of increasing plasma concentrations of dexmedetomidine in humans. *Anesthesiology*. 2000;93:382-94.

110. Jaakola ML, Salonen M, Lehtinen R, Scheinin H. The analgesic action of dexmedetomidine a novel α_2 adrenoceptor agonist in healthy volunteers. *Pain*. 1991;46:281-285.

111. Taittonen MT, Kirvela OA, Aantaa R, Kanto JH. Effect of clonidine and dexmedetomidine premedication on perioperative oxygen consumption and haemodynamic state. *Br J Anaesth*. 1997;78:400-406.

112. Tamsen A, Gordh T. Epidural clonidine produces analgesia. *Lancet*. 1984;2:231-2.

113. Maze M. Clinical uses of α_2 agonists. In Barash PG, ed. *The American Society of Anesthesiologists*. Philadelphia: Lippincott JB. 1992;20:133- 42.

114. Paalzow, L. Analgesia produced by clonidine in mice and rats. *Journal Pharmacology and Pharmacotherapeutics*. 1974;26:361–363.

115. Dennis SG, Melzack R, Gutman S, Baucher F. Pain modulation by adrenergic agents and morphine as measured by three pain tests. *Life Sci*. 1980;26:1247.

116. Aceta MD, Harris LS. Antinociceptive mechanisms and acute and chronic behavioral effects of clonidine. In: Lal H, Fielding S, eds. *Psychopharmacology of clonidine*. New York: Alan R Liss Inc. 1981;243.

117. Chan SHH, Lai YY. Effects of aging on pain responses and analgesic efficacy of morphine and clonidine in rats. *Exp Neurol* 1982;75:112.

118. Bylund DB. Subtypes of α_2 -adrenoceptors: pharmacological and molecular biological evidence converge. *Trends in Pharmacological Sciences*. 1988;9:356-361.

119. Nader ND, Ignatowski TA, Kurek CJ, Knight PR, Spengler RN. Clonidine suppresses plasma and cerebrospinal fluid concentrations of TNF- α during the perioperative period. *Anesthesia and Analgesia*. 2001;93:363-369.

120. Lowenstein J. Drugs five years later: clonidine. *Ann Intern Med.* 1980;92:74-77.
121. Lowenthal DT, Matzek KM, MacGregor TR. Clinical pharmacokinetics of clonidine. *Clinical Pharmacokinetics.* 1988;14:287-310.
122. Fielding S, Wilker J, Hynes M, Szewczak M, Novick WJ, Lal H. A comparison of clonidine with morphine for antinociceptive and antiwithdrawal actions. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics.* 1978;207(3):899-905.
123. Ossipov M, Lozito R, Messineo E, Green J, Harris S, Lloyd P. Spinal antinociceptive synergy between clonidine and morphine, U69593, and DPDPE: Isobolographic analysis. *Life Sciences.* 1990;46:71-6.
124. Wall PD. ve Melzack, R. *Textbook of Pain.* Third Edition, ChirchillLivingstone. London. 1994.
125. Raj P P. *Practical Management of Pain.* Second Edition, Mosby Year Book. St. Louis; 1992.
126. Erdine S. Ağrı. Genişletilmiş 2. baskı. Nobel Tıp Kitabevi. 2000:20-29.
127. Xu XJ, Puke MJC, Wiesenfeld H. The depressive effect of intrathecal clonidine on the spinal flexor reflex is enhanced after sciatic nerve section in rats. *Pain.* 1992;51:145.
128. Pertovaara A, Auppila TK, Jyväsjarvi E, Kalso E. Involvement of supraspinal and spinal segmental α_2 adrenergic mechanisms in the medetomidine-induced antinociception. *Neuroscience.* 1991;44:705-714.
129. Galeotti N, Ghelardini C, Vinci MC, Bartolini A. Role of potassium channels in the antinociception induced by agonists of α_2 -adrenoceptors. *British Journal of Pharmacology.* 1999;126:1214-20.
130. Rangel RAS, Marinho BG, Fernandes PD, Moura RS, Lessa MA. Pharmacological mechanisms involved in the antinociceptive effects of dexmedetomidine in mice. *Fundamental and Clinical Pharmacology.* 2014;28:104-13.
131. Racle JP, Benkhadra A, Poy JY, Gleizal B. Prolongation of isobaric bupivacaine spinal anesthesia with epinephrine and clonidine for hip surgery in the elderly. *Anesth Analg.* 1987;66:442-6.
132. Dekock M, Pichon G, Scholtes JL. Intraoperative clonidine enhances postoperative morphine patient controlled analgesia. *Can J Anaesth.* 1992;39:537-44.
133. Bonnet F, Boico O, Rostaing S. Extradural clonidine analgesia in postoperative patients. *Br J Anaesth.* 1989;63:465-9.
134. Coombs DW, Saunders RL, Fratkin JD, Jensen LE, et al. Continuous intrathecal hydromorphone and clonidine for intractable cancer pain. *J Neurosurg.* 1986;64:890-894.
135. Bolu A, Erdem M, Öznur T. Travma sonrası stres bozukluğu. *Anatol J Clin Investig.* 2014;8(2):98-104.
136. Redmond DE, Huang YH. New evidence for a locus ceruleus-norepinephrine connection with anxiety. *Life Sci.* 1979;25:2149-2162.

137. Hoehn-Saric R. Neurotransmitters in anxiety. *Arch Gen Psychiatry*. 1982;39:735-742.
138. Stahl SM. *Essential Psychopharmacology*. Cambridge, Cambridge University Press. s. 1996;167-215.
139. Ninan PT. The functional anatomy, neurochemistry, and pharmacology of anxiety. *J Clin Psychiatry*. 1999;60(Suppl 22):12-17.
140. Ponmari SJ, Shanhi M and R N. Anxiolytic effect of clonidine in mice. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. 2013;4(2):693–698.
141. Drew GM, Gower AJ, Marriott AS. α 2-adrenoceptors mediate clonidine-induced sedation in the rat. *British Journal of Pharmacology*. 1979;67:133–41.
142. Hall JE, Uhrich TD, Ebert TJ. Sedative, analgesic and cognitive effects of clonidine infusions in humans. *British Journal of Anaesthesia*. 2001;86(1):5–11.
143. Ambrose C, Sale S, Howells R, Bevan C, Jenkins I, Weir P, et al. Intravenous clonidine infusion in critically ill children: Dose-dependent sedative effects and cardiovascular stability. *British Journal of Anaesthesia*. 2000;84(6):794–6.
144. Buerkle H, Yaksh TL. Pharmacological evidence for different alpha2-adrenergic receptor sites mediating analgesia and sedation in the rat. *British Journal of Anaesthesia*. 1998;81:208–15.
145. Duflo F, Li X, Bantel C, Pancaro C, Vincler M, Eisenach JC. Peripheral nerve injury alters the α 2 adrenoceptor subtype activated by clonidine for analgesia. *Anesthesiology*. 2002;97(3):636–41.
146. Lee MG, Lee DK, Huh BK, Choi SS, Kim HZ, Lim BG, et al. The effect of clonidine pretreatment on epidural resiniferatoxin in a neuropathic pain rat model. *Acta Medica Okayama*. 2015;69(2):95–103.
147. Zeng W, Chen X, Dohi S. Antinociceptive synergistic interaction between clonidine and ouabain on thermal nociceptive tests in the rat. *The Journal of Pain*. 2007;8(12):983–8.
148. Lund C, Qvitzau S, Greulich A, Hjortsø NC, Kehlet H. Comparison of the effects of extradural clonidine with those of morphine on postoperative pain, stress responses, cardiopulmonary function and motor and sensory block. *British Journal of Anaesthesia*. 1989;63:516–9.
149. Skingle M, Hayes AG, Tyers MB. Antinociceptive activity of clonidine the mouse, rat and dog. *Life Sciences*. 1982;31:1123–32.
150. Laurito CE, Baughman VL, Becker GL, DeSilva TW, Carranza CJ. The effectiveness of oral clonidine as a sedative/anxiolytic anxi as a drug to blunt the hemodynamic responses to laryngoscopy. *Journal of Clinical Anesthesia*. 1991;3:186–93.
151. Kruse H, Dunn RW, Theurer KL, Novick WJ, Shearman GT. Attenuation of conflict-induced suppression by clonidine: indication of anxiolytic activity. *Drug Development Research*. 1981;1:137–43.
152. Gandhi AV, Mosser EA, Oikonomou G, Prober DA. Melatonin is required for the circadian regulation of sleep. *Neuron*. 2015;85(6):1193–1199.
153. Campos FL, da Silva FP Jr, de Bruin VM, de Bruin PF. Melatonin improves

sleep in asthma: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Am J Respir Crit Care Med.* 2004;170(9):947–951.

154. Lee JS, Cua DJ. Melatonin lulling Th17 cells to sleep. *Cell.* 2015;162(6):1212–1214.

155. Tao J, Yang M, Wu H, et al. Effects of AANAT overexpression on the inflammatory responses and autophagy activity in the cellular and transgenic animal levels. *Autophagy.* 2018;14(11):1850–1869.

156. Lissoni P, Mandala M, Brivio F. Abrogation of the negative influence of opioids on IL-2 immunotherapy of renal cell cancer by melatonin. *Eur Urol.* 2000;38(1):115–118.

157. Esposito E, Paterniti I, Mazzon E, Bramanti P, Cuzzocrea S. Melatonin reduces hyperalgesia associated with inflammation. *J Pineal Res.* 2010;49(4):321–331.

158. Hussain SA, Al K II, Jasim NA, Gorial FI. Adjuvant use of melatonin for treatment of fibromyalgia. *J Pineal Res.* 2011;50(3):267–271.

159. Posa L, De Gregorio D, Gobbi G, Comai S. Targeting melatonin MT2 receptors: a novel pharmacological avenue for inflammatory and neuropathic pain. *Curr Med Chem.* 2018;25(32):3866–3882.

160. Mantovani M, Kaster MP, Pertile R, Calixto JB, Rodrigues A LS, Santos, AR. Mechanisms involved in the antinociception caused by melatonin in mice. *Journal of pineal research.* 2006;41(4):382-389.

161. Zhou XL, Zhang CJ, Peng YN, Wang Y, Xu HJ, Liu CM. ROR2 modulates neuropathic pain via phosphorylation of NMDA receptor subunit GluN2B in rats. *Br J Anaesth.* 2019;123(2):e239–e248.

162. Lin JJ, Lin Y, Zhao TZ, Zhang CK, Zhang T, Chen X, et al. Melatonin suppresses neuropathic pain via MT2-dependent and -independent pathways in dorsal root ganglia neurons of mice. *Theranostics.* 2017;7(7):2015–2032.

163. Lopez-Canul M, Palazzo E, Dominguez-Lopez S, Luongo L, Lacoste B, Comai S, et al. Selective melatonin MT2 receptor ligands relieve neuropathic pain through modulation of brainstem descending antinociceptive pathways. *Pain.* 2015;156(2):305–317.

164. Binkley SA. Circadian rhythms of pineal function in rats. *Endocr Rev.* 1983;4(3):255-270.

165. Zagajewski J, Drozdowicz D, Brzozowska I, Hubalewska-Mazgaj M, Stelmaszynska T, Laidler PM, et al. Conversion L-tryptophan to melatonin in the gastrointestinal tract: the new high performance liquid chromatography method enabling simultaneous determination of six metabolites of L-tryptophan by native fluorescence and UV-VIS detection. *J Physiol Pharmacol.* 2012;63(6):613–621.

166. Wurtman RJ, Axelrod J. The Pineal gland. *Scientific American.* 1965;213(1):50-60

167. Noyan A. *Yasamda ve Hekimlikte Fizyoloji.* (9. Baskı), Meteksan, Ankara, 1996.

168. Reiter RJ. The pineal gland and melatonin relation to aging . A summary of the theories and of the data. *Exp Gerontol.* 1995;30:199-212.

169. Lee P, Shiu SY, Chow PH. Regional and diurnal studies of melatonin and melatonin binding sites in the duck gastrointestinal tract. *Biol Signals*. 1995;4:212-224.
170. Zhdanova IV, Wurtman RJ, Balcioglu A, Kartashov AI, Lynch HJ. Endogenous melatonin levels and the fate of exogenous melatonin: age effects. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 1998;53:293-8.
171. Moore RY. Neural control of the pineal gland. *Behav Brain Res*. 1996;73:125-130.
172. Gooley JJ, Chamberlain K, Smith KA, Khalsa SBS, Rajaratnam SM, Van Reen E, et al. Exposure to room light before bedtime suppresses melatonin onset and shortens melatonin duration in humans. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96(3):E463-E472.
173. Møller M, Baeres FM. The anatomy and innervation of the mammalian pineal gland. *Cell Tissue Res*. 2002;309:139-50.
174. Reiter RJ. Neuroendocrine effects of light. *Int J Biometeorol*. 1991;35:169-175.
175. Klein DC, Schaad NL, Namboodiri MA, Yu L, Weller JL. Regulation of pineal serotonin-N-acetyl transferase activity. *Biochem. Soc. Trans.*, 1992;20:299-304.
176. Reiter RJ. The mammalian pineal gland: structure and function. *Am J Anat* 1981;162:287-313.
177. Reiter RJ, Carneiro RC, Oh C-S. Melatonin in relation to cellular antioxidative defense mechanisms. *Horm Metab Res*. 1997;29:363-372.
178. Çam A, Erdoğan MF. *Melatonin*. 2003;(56):2.
179. Gern WA, Ralph CL. Melatonin synthesis by the retina. *Science*. 1979;204(4389):183-184.
180. Tan DX, Reiter RJ, Manchester LC, Yan MT, El-Sawi M, Sainz RM, et al. Chemical and physical properties and potential mechanisms: melatonin as a broad spectrum antioxidant and free radical scavenger. *Curr Top Med Chem*. 2002;2(2):181-197.
181. Slominski AT, Zmijewski MA, Semak I, Kim TK., Janjetovic Z, Slominski RM, et al. Melatonin, mitochondria, and the skin. *Cell Mol Life Sci*. 2017;74(21):3913-3925.
182. Pires-Lapa MA, Carvalho-Sousa CE, Cecon E, Fernandes PA, Markus RP. Beta-adrenoceptors trigger melatonin synthesis in phagocytes. *Int J Mol Sci*. 2018;19(8):2182.
183. Xiao L, Hu J, Song L, Zhang Y, Dong W, Jian, Y, et al. Profile of melatonin and its receptors and synthesizing enzymes in cumulus-oocyte complexes of the developing sheep antral follicle—a potential estradiol-mediated mechanism. *Reprod Biol Endocrinol*. 2019;17(1):1.
184. Xia Y, Chen S, Zeng S, Zhao Y, Zhu C, Deng B, et al. Melatonin in macrophage biology: current understanding and future perspectives. *J Pineal Res*. 2019;66(2):e12547.
185. Matheus N, Mendoza C, Iceta R, Mesonero JE, Alcalde AI. Melatonin inhibits serotonin transporter activity in intestinal epithelial cells. *J Pineal Res*.

2010;48(4):332–339.

186. Lane AE, Moss HB. Pharmacokinetics of melatonin in man: First pass hepatic metabolism. *J Clin Endocrinol & Metab.* 1985;61:1214-6.

187. Tan DX, Manchester LC, Terron MP, Flores LJ, Reiter RJ. One molecule, many derivatives: a never-ending interaction of melatonin with reactive oxygen and nitrogen species? *J Pineal Res.* 2007;42:28-42.

188. Galano A, Tan DX, Reiter RJ. On the free radical scavenging activities of melatonin's metabolites, AFMK and AMK. *J Pineal Res.* 2013;54(3):245–257.

189. Hardeland R. Melatonin metabolism in the central nervous system. *Curr Neuropharmacol.* 2010;8(3):168–181.

190. Galano A, Reiter RJ. Melatonin and its metabolites vs oxidative stress: from individual actions to collective protection. *J Pineal Res.* 2018;65(1):e12514.

191. Zlotos DP, Jockers R, Cecon E, Rivara S, Witt-Enderby PA. MT1 and MT2 melatonin receptors: ligands, models, oligomers, and therapeutic potential. *J Med Chem.* 2014;57(8):3161–3185.

192. Jones C, Helfer G, Brandstatter R. Melatonin receptor expression in the zebra finch brain and peripheral tissues. *Chronobiol Int.* 2012;29(2):189–202.

193. Confente F, Rendon M, Besseau L, Falcon J, Munoz-Cueto JA. Melatonin receptors in a pleuronectiform species, solea senegalensis: cloning, tissue expression, day-night and seasonal variations. *Gen Comp Endocrinol.* 2010;167(2):202–214.

194. Stebelova K, Anttila K, Manttari S, Saarela S, Zeman M. Immunohistochemical definition of MT(2) receptors and melatonin in the gastrointestinal tissues of rat. *Acta Histochem.* 2010;112(1):26–33.

195. El-Raey M, Geshi M, Somfai T, Kaneda M, Hirako M, Abdel-Ghaffar AE, et al. Evidence of melatonin synthesis in the cumulus oocyte complexes and its role in enhancing oocyte maturation in vitro in cattle. *Mol Reprod Dev.* 2011;78(4):250–262.

196. Nagorny CL, Sathanoori R, Voss U, Mulder H, Wierup N. Distribution of melatonin receptors in murine pancreatic islets. *J Pineal Res.* 2011;50(4):412–417.

197. Jablonska K, Pula B, Zemla A, Owczarek T, Wojnar A, Rys J, et al. Expression of melatonin receptor MT1 in cells of human invasive ductal breast carcinoma. *J Pineal Res.* 2013;54(3):334–345.

198. Zahn PK, Lansmann T, Berger E, Speckmann EJ, Mushoff U. Gene expression and functional characterization of melatonin receptors in the spinal cord of the rat: implications for pain modulation. *J. Pineal Res.* 2003;35:24-31.

199. Marseglia L, D'Angelo G, Manti S, Aversa S, Arrigo T, Reiter RJ, et al. Analgesic, anxiolytic and anaesthetic effects of melatonin. New potential uses in pediatrics. *Int J Mol Sc.i* 2015;16:1209-1220.

200. Yu CX, Zhu B, Xu SF, Cao XD, Wu GC. The analgesic effects of peripheral and central administration of melatonin in rats. *Eur J Pharmacol.* 2000;403:49-53.

201. Shavali S, Ho B, Govitrapong P, Sawlom S, Ajjimaporn A, Klongpanichapak S, et al. Melatonin exerts its analgesic actions not by binding to opioid receptor subtypes but by increasing the release of beta-endorphin an endogenous opioid.

Brain Res Bull. 2005;64:471-479.

202. Lakin ML, Miller CH, Stott ML, Winters WD. Involvement of the pineal gland and melatonin in murine analgesia. *Life Sci.* 1981;29:2543-2551.

203. El-Shenawy SM, Abdel-Salam OM, Baiuomy AR, El-Batran S, Arbid MS. Studies on the anti-inflammatory and anti-nociceptive effects of melatonin in the rat. *Pharmacol Res.* 2002;46:235-243.

204. Wang T, Li SR, Dai X, Peng YL, Chen Q, Wang R. Effects of melatonin on orphanin FQ/nociceptin-induced hyperalgesia in mice. *Brain Res.* 2006;1085:43-48.

205. Golombek DA, Escolar E, Burin LJ, De Brito Sánchez MG, Cardinali DP. Time-dependent melatonin analgesia in mice: Inhibition by opiate or benzodiazepine antagonism. *Eur J Pharmacol.* 1991;194:25-30.

206. Naguib M, Baker MT, Spadoni G, Gregerson M. The hypnotic and analgesic effects of 2-bromomelatonin. *Anesth Analg.* 2003;97:763-768.

207. Hernández-Pacheco A, Araiza-Saldaña CI, Granados-Soto V, Mixcoatl-Zecuatl T. Possible participation of the nitric oxide-cyclic GMP-protein kinase G-K⁺ channels pathway in the peripheral antinociception of melatonin. *Eur J Pharmacol* 2008;596:70-76.

208. Shin DJ, Jeong CW, Lee SH, Yoon MH. Efficacy of the atypical antinociception of intrathecal melatonin in formalin test of rats. *Neurosci Lett.* 2011;494(3):207–210.

209. Laste G, Ripoll Rozisky J, Caumo W, Lucena da Silva Torres I. Short but not long-term melatonin administration reduces central levels of brain-derived neurotrophic factor in rats with inflammatory pain. *Neuroimmunomodulation.* 2015;22(6):358–364.

210. Song L, Wu C, Zuo Y. Melatonin prevents morphine-induced hyperalgesia and tolerance in rats: role of protein kinase C and N-methyl-D-aspartate receptors. *BMC Anesthesiol.* 2015;15:(12).

211. Stefani LC, Muller S, Torres IL, Razzolini B, Rozisky JR, Fregni F, et al. A Phase II, randomized, double-blind, placebo controlled, dose-response trial of the melatonin effect on the pain threshold of healthy subjects. *PLoS One.* 2013;8(10):e74107.

212. Zurowski D, Nowak L, Machowska A, Wordliczek J, Thor PJ. 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.* 2012;63(6):641–647.

213. Liu YY, Yin D, Chen L, Qu WM, Chen CR, Laudon M, et al. Piromelatine exerts antinociceptive effect via melatonin, opioid, and 5HT1A receptors and hypnotic effect via melatonin receptors in a mouse model of neuropathic pain. *Psychopharmacology (Berl).* 2014;231(20):3973–3985.

214. Srinivasan V, Lauterbach EC, Ho KY, Acuna-Castroviejo D, Zakaria R, Brzezinski A. Melatonin in antinociception: its therapeutic applications. *Curr Neuropharmacol.* 2012;10(2):167–178.

215. Wu ZS, Wu SH, Lee SS, Lin CH, Chang CH, Lo J, et al. Dose-dependent effect of hyperbaric oxygen treatment on burn-induced neuropathic pain in rats. *Int J Mol*

Sci. 2019;20(8):1951.

216. Lopez-Canul M, Comai S, Dominguez-Lopez S, Granados-Soto V, Gobbi G. Antinociceptive properties of selective MT(2) melatonin receptor partial agonists. *Eur J Pharmacol.* 2015;764:(424–432).

217. Kuthati Y, Goutham Davuluri VN, Yang CP, Chang HC, Chang CP, Wong CS. Melatonin MT2 receptor agonist IIK-7 produces antinociception by modulation of ROS and suppression of spinal microglial activation in neuropathic pain rats. *J Pain Res.* 2019;12:2473–2485.

218. Yang CH, Yip HK, Chen HF, Yin,TC, Chiang JY, Sung PH, et al. Long-term therapeutic effects of extracorporeal shock wave-assisted melatonin therapy on mononeuropathic pain in rats. *Neurochem Res.* 2019;44(4):796–810.

219. Choi TY, Kwon JE, Durrance ES, Jo SH, Choi SY, Kim KT. Melatonin inhibits voltage-sensitive $Ca^{(2+)}$ channel-mediated neurotransmitter release. *Brain Res.* 2014;1557:34–42.

220. Sugiyama T, Shinoda M, Watase T, Honda K, Ito R, Kaji K, et al. Nitric oxide signaling contributes to ectopic orofacial neuropathic pain. *J Dent Res.* 2013;92(12):1113–1117.

221. Onishi T, Watanabe T, Sasaki M, Kamiya Y, Horie M, Tsukano H, et al. Acute spatial spread of NO-mediated potentiation during hindpaw ischaemia in mice. *J Physiol.* 2019.

222. Kumar A, Meena S, Kalonia H, Gupta A, Kumar P. Effect of nitric oxide in protective effect of melatonin against chronic constriction sciatic nerve injury induced neuropathic pain in rats. *Indian J Exp Biol.* 2011;49(9):664–671.

223. Borsani E, Buffoli B, Bonazza V, Reiter RJ, Rezzani R, Rodella LF. Single administration of melatonin modulates the nitroxidergic system at the peripheral level and reduces thermal nociceptive hypersensitivity in neuropathic rats. 2017;18(10):2143.

224. Ebadi M, Govitrapong P, Phansuwan-Pujito P, Nelson F, Reiter RJ. Pineal opioid receptors and analgesic action of melatonin. *J Pineal Res.* 1998;24(4):193–200.

225. Dai X, Cui SG, Li SR, Chen Q, Wang R. Melatonin attenuates the development of antinociceptive tolerance to delta-, but not to mu-opioid receptor agonist in mice. *Behav Brain Res.* 2007;182(1):21–27.

226. Chen C, Fichna J, Laudon M, Storr M. Antinociceptive effects of novel melatonin receptor agonists in mouse models of abdominal pain. *World J Gastroenterol.* 2014;20(5):1298–1304.

227. Deng YK, Ding JF, Liu J, Yang YY. Analgesic effects of melatonin on post-herpetic neuralgia. *Int J Clin Exp Med.* 2015;8(4):5004–5009.

228. Wang J, Wang L, Li M, Jin Q, Dong S. Preliminary analgesic properties of deltorphin-5-methoxytryptamine chimeric opioid peptides. *Peptides.* 2011;32(5):1055–1059.

229. Arreola-Espino R, Urquiza-Marin H, Ambriz-Tututi M, Araiza-Saldaña CI, Caram-Salas NL, Rocha-González HI, et al. Melatonin reduces formalin-induced nociception and tactile allodynia in diabetic rats. *Eur J Pharmacol.* 2007;577(1–

3):203–210.

230. Mantovani M, Kaster MP, Pertile R, Calixto JB, Rodrigues AL, Santos AR. Potential use of melatonergic drugs by melatonin in mice. *J Pineal Res.* 2006;41(4):382–389.

231. Baba H, Shimoji K, Yoshimura M. Norepinephrine facilitates inhibitory transmission in substantia gelatinosa of adult rat spinal cord (Part 1): Effects on axon terminals of GABAergic and glycinergic neurons. *Anesthesiology.* 2000;92:473–84.

232. M'dahoma S, Poitevin M, Dabala E, Payan H, Gabriel C, Mocaër E, et al. α 2- and β 2-adrenoreceptor-mediated efficacy of the atypical antidepressant agomelatine combined with gabapentin to suppress allodynia in neuropathic rats with ligated infraorbital or sciatic nerve. *Frontiers in Pharmacology.* 2018;9:587.

233. Bahari Z, Meftahi GH. Spinal alpha 2-adrenoceptors and neuropathic pain modulation; therapeutic target. *Br J Pharmacol.* 2019;176(14):2366–2381.

234. Yoon SY, Lee JY, Roh DH, Oh SB. Pharmacopuncture with scolopendra subspinipes suppresses mechanical allodynia in oxaliplatin-induced neuropathic mice and potentiates clonidine-induced anti-allodynia without hypotension or motor impairment. *J Pain.* 2018;19(10):1157–1168.

235. De Moura RS., Rios AAS, Santos EJ, Nascimento ABA, de Castro Resende Â, Neto M. et al. Role of the NO-cGMP pathway in the systemic antinociceptive effect of clonidine in rats and mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior.* 2004;78(2):247-253.

236. Gleeson RM, Atrens DM. Chlorpromazine hyperalgesia antagonizes clonidine analgesia, but enhances morphine analgesia in rats tested in a hot-water tail-flick paradigm. *Psychopharmacology.* 1982;78:141-146.

237. Yamazumi I, Okuda T, Koga Y. Involvement of potassium channels in spinal antinociceptions induced by fentanyl, clonidine and bethanechol in rats. *The Japanese Journal of Pharmacology.* 2001;87(4):268-276.

238. Yu CX, Zhu CB, Xu SF, Cao XD, Wu GC. Selective MT2 melatonin receptor antagonist blocks melatonin-induced antinociception in rats, *Neurosci. Lett.* 2000;282:161–164.

239. Laste G, de Macedo IC, Ripoll Rozisky J, Ribeiro da Silva F, Caumo W, Torres IL. Melatonin administration reduces inflammatory pain in rats. *Journal of pain research.* 2012:359-362.

240. Hardeland R, Pandi-Perumal SR, Cardinali DP. Melatonin, *Int J Biochem Cell Biol.* Mar; 2006;38(3):313-316.

241. Yu CX, Zhu CB, Xu SF, Cao XD, Wu GC. Selective MT2 melatonin receptor antagonist blocks melatonin-induced antinociception in rats. *Neuroscience letters.* 2000;282(3):161-164.

242. Ali ST, Asthana V, Gupta D, Singh SK. A comparative evaluation of oral clonidine, dexmedetomidine, and melatonin as premedicants in pediatric patients undergoing subumbilical surgeries. *Romanian Journal of Anaesthesia and Intensive Care.* 2020;27(1):35.

243. Yang CQ, Yu KH, Huang RR, Qu SS, Zhang JM, Li YL. Comparison of different sedatives in children before general anaesthesia for selective surgery: A

- network meta-analysis. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, 2022;47(10):1495-1505.
244. Caumo W, Levandovski R, Hidalgo MPL. Preoperative anxiolytic effect of melatonin and clonidine on postoperative pain and morphine consumption in patients undergoing abdominal hysterectomy: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *The journal of pain*. 2009;10(1):100-108.
245. Chabot-Doré AJ, Schuster DJ, Stone LS, Wilcox GL. Analgesic synergy between opioid and α 2-adrenoceptors. *British journal of pharmacology*, 2015;172(2):388-402.
246. Ossipov MH, Harris S, Lloyd P, Messineo E. An isobolographic analysis of the antinociceptive effect of systemically and intrathecally administered combinations of clonidine and opiates. *J Pharmacol Exp Ther*. 1990;255:1107-1116.
247. Ossipov MH, Harris S, Lloyd P, Messineo E, Lin BS, Bagley J. Antinociceptive interaction between opioids and medetomidine: systemic additivity and spinal synergy. *Anesthesiology*. 1990;73:1227-1235.
248. Ossipov MH, Lozito R, Messineo E, Green J, Harris S, Lloyd P. Spinal antinociceptive synergy between clonidine and morphine, U69593, and DPDPE: isobolographic analysis. *Life Sci*. 1990;47:PL71-76.
249. Drasner, K, Fields HL. Synergy between the antinociceptive effects of intrathecal clonidine and systemic morphine in the rat. *Pain*. 1988;32(3):309-312.
250. Fairbanks CA, Kitto KF, Nguyen HO, Stone LS, Wilcox GL. Clonidine and dexmedetomidine produce antinociceptive synergy in mouse spinal cord. *The Journal of the American Society of Anesthesiologists*. 2009;110(3):638-647.
251. Ozcan S, Bulmus O, Ulker N, Canpolat S, Etem EO, Oruc S, et al. Agomelatine potentiates anti-nociceptive effects of morphine in a mice model for diabetic neuropathy: involvement of NMDA receptor subtype NR1 within the raphe nucleus and periaqueductal grey. *Neurological Research*. 2020;42(7):554-563.
252. Li SR, Wang T, Wang R, Dai X, Chen Q. Melatonin enhances antinociceptive effects of δ -, but not μ -opioid agonist in mice. *Brain research*. 2005;1043(1-2):132-138.
253. The dexmedetomidine source. <http://www.dexmedetomidine.com/>
254. Yağcı Ü, Saygın M. Ağrı fizyopatolojisi. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*. 2019;26(2):209-220.
255. Wang S, Zhang L, Lim G, Sung B, Tian Y, Chou CW, et al. A combined effect of dextromethorphan and melatonin on neuropathic pain behavior in rats. *Brain research*. 2009;1288:42-49.

EKLER

Ek 1:

ÖZGEÇMİŞ