

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

SIÇANLARDA DEKSMEDETOMİDİN VE KSİLAZİNİN
FENTANİLİN ANALJEZİK ETKİSİ VE FENTANİL TOLERANSI
ÜZERİNE ETKİSİ

Arş. Gör. DENİZ YILDIZ PEHLİVAN
DOKTORA TEZİ
ORCID NO: 0000-0001-8127-2208

DANIŞMAN
PROF. DR. AHMET KOYU

2022-İZMİR

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

SIÇANLARDA DEKSMEDETOMİDİN VE KSİLAZİNİN
FENTANİLİN ANALJEZİK ETKİSİ VE FENTANİL TOLERANSI
ÜZERİNE ETKİSİ

Arş. Gör. DENİZ YILDIZ PEHLİVAN
DOKTORA TEZİ
ORCID NO: 0000-0001-8127-2208

DANIŞMAN
PROF. DR. AHMET KOYU

Bu tez İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 2020-TDR-SABE-0005 numaralı proje ile desteklenmiştir.

2022-İZMİR

KABUL VE ONAY

Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğüne;

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

Tez Savunma Tarihi: 16/11/2022

Tez Danışmanı: 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. Selen AKYOL BAHÇECİ İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

Üye: Prof. Dr. Murat OLUKMAN Ege Üniversitesi Farmakoloji Anabilim Dalı

Üye: Doç. Dr. Mümin Alper ERDOĞAN İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Fizyoloji Anabilim Dalı

ONAY: Bu doktora tezi, Enstitü Yönetim Kurulu'nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görölmüş 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.

Tezimin Kasım 2023 tarihine kadar erişime açılmasını ve fotokopi alınmasını istemiyorum (İç kapak, Özet, İçindekiler ve Kaynakça hariç).

16/11/2022

Deniz YILDIZ PEHLİVAN

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. Ahmet KOYU danışmanlığında tarafımdan retildeğini ve İzmir Katip elebi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzuna göre yazıldığımı beyan ederim.

16/11/2022

Deniz YILDIZ PEHLİVAN

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın yürütülmesi sırasında bana yardımcı olan tez danışmanım Prof. Dr. Ahmet KOYU'ya; araştırmama katkı sağlayan Dr. Öğretim Üyesi Fatma ŞİMŞEK'e; çalışma boyunca beni destekleyen, cesaretlendiren, bilimsel bakış açısıyla bana daima yol gösterici olan, bilgi birikimiyle tecrübe ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen, bilimsel kimliği ve insancıl yaklaşımları ile eşine az rastlanır değerli hocam Dr. Öğretim Üyesi Ali Yücel KARA'ya; 2020-TDR-SABE-0005 nolu projeye destek sağlayan İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne; büyük bir özveri ile beni her zaman destekleyen, sevgi saygı ve dualarıyla her zaman yanımda olan, bugünlere gelmemde büyük katkıları olan eşim, annem ve kardeşlerime, özellikle yakın bir zamanda kaybettiğim babama bu tez çalışmamı ithaf ediyorum. Kendilerine sonsuz şükran, saygı ve teşekkürlerimle...

Deniz YILDIZ PEHLİVAN

İZMİR, 2022

ÖZET

Giriş-Amaç: Fentanil (FEN) ağrı tedavisinde kullanılan güçlü bir opioid maddedir. μ -opioid reseptör (MOR)'ler opioidlerin farmakolojik etkilerine aracılık eder. Opioidlerin uzun süreli ve/veya yüksek dozlarda kullanılması sonucunda antinosiseptif etkilerine karşı tolerans gelişebilmektedir. Opioidlerin analjezik etkilerine karşı gelişen toleransın önlenmesi bu ilaçların klinikte daha etkin ve güvenli kullanımı için önemlidir. Bu amaçla α -2 adreno reseptör agonistlerinden olan deksmedetomidin (DEX) ve ksilazin (KSL)'in, FEN toleransı ve analjezisi üzerindeki etkilerini araştırdık. Ayrıca, periaquaduktal gri cevher (PAG) ve spinal kord (SC)'daki MOR ekspresyonu üzerine etkilerini immünohistokimyasal olarak inceledik.

Materyal-Metod: Kırk sekiz adet erkek sıçan, kontrol, FEN, DEX, KSL, FEN+DEX ve FEN+KSL olacak şekilde altı gruba ayrıldı ve üç gün boyunca iki doz ilaç uygulandı. Analjezi testleri (tail-flick ve hot-plate) ve rotarod performans testi üç gün boyunca yapıldı. PAG ve SC çıkarılarak MOR ekspresyonu değerlendirildi.

Bulgular-Sonuç: Analjezi test sonuçları, çalışmanın ikinci gününde FEN toleransının geliştiğini gösterdi. Buna karşın, kombine ilaç alan gruplarda FEN toleransının gelişmediği, FEN analjezisinin güçlendiği ve FEN'in analjezik etki süresinin uzadığını tespit ettik. Uygulanan ilaçların hiçbiri sedasyon veya motor inkoordinasyona neden olmadı. PAG ve SC'nin morfolojik yapısı normal görünümdeydi. İmmünohistokimyasal analiz sonuçlarımız, grupların MOR ekspresyon seviyeleri arasında anlamlı bir fark olmadığını gösterdi. MOR ekspresyonunda değişiklik meydana gelmemesi, ilk günlerde gelişen FEN toleransında MOR ekspresyon yoğunluğundaki değişimden ziyade ikincil haberci sistemindeki değişikliklerin daha etkin olabileceğini düşündürmüştür. α -2 adreno reseptör agonistlerinin FEN toleransında moleküler düzeydeki etkilerini ortaya çıkarabilmek için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Fentanil toleransı, antinosisepsiyon, μ -opioid reseptör, deksmedetomidin, ksilazin

Bu çalışma, İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir. Proje numarası: 2020-TDR-SABE-0005.

ABSTRACT

Introduction-Aim: Fentanyl (FEN) is a powerful opioid used in the treatment of pain. μ -opioid receptors (MORs) mediate the pharmacological effects of opioids. Long-term and/or high-dose use of opioids may result in tolerance to their antinociceptive effects. Preventing tolerance to the analgesic effects of opioids is important for effective and safe use of these drugs in the clinic. For this purpose, we investigated the effects of dexmedetomidine (DEX) and xylazine (KSL), which are α -2 adrenoreceptor agonists, on FEN tolerance and analgesia. We also examined their effects on MOR expression immunohistochemically in periaqueductal gray matter (PAG) and spinal cord (SC).

Material-Method: Forty-eight male rats were divided into six groups as control, FEN, DEX, KSL, FEN+DEX and FEN+KSL group, and two doses of the drug were administered for three days. Analgesia tests (tail-flick and hot-plate) and rotarod performance test were performed during three days. MOR expression was evaluated by isolating PAG and SC.

Results-Conclusion: Analgesia test results showed that FEN tolerance developed on the second day of the study. On the other hand, we found that FEN tolerance did not develop, FEN analgesia was strengthened and the duration of FEN' analgesic effect was prolonged in the combined drug-administered groups. None of the administered drugs caused sedation or motor incoordination. The morphological structure of PAG and SC was also normal. Our immunohistochemical analysis results showed that the MOR expression levels were not significant difference between the study groups. The lack of change in MOR expression level suggested that the changes in the secondary messenger system rather than the change in MOR expression intensity may be more effective in FEN tolerance developed in the first days. Further studies are needed to elucidate the molecular level effects of α -2 adrenoreceptor agonists on FEN tolerance.

Keywords: Fentanyl tolerance, antinociception, μ -opioid receptor, dexmedetomidine, xylazine

This study was supported by Izmir Kâtip Celebi University Scientific Research Project Coordinator. Project number: 2020-TDR-SABE-0005.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	i
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI.....	ii
ETİK BEYAN	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	x
ŞEKİLLER.....	xi
TABLolar.....	xiv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Ağrı.....	3
2.1.1. Ağrının Sınıflandırılması	4
2.1.1.1. Süresine Göre Ağrı.....	4
2.1.1.1.1. Akut Ağrı.....	4
2.1.1.1.2. Kronik Ağrı	4
2.1.1.2. Kaynaklandığı Bölgeye Göre Ağrı.....	4
2.1.1.2.1. Somatik Ağrı	4
2.1.1.2.2. Sempatik Ağrı.....	4
2.1.1.2.3. Visseral Ağrı.....	4
2.1.1.3. Mekanizmalarına Göre Ağrı.....	5
2.1.1.3.1. Nosisepatif Ağrı.....	5
2.1.1.3.2. Nöropatik Ağrı	5
2.1.1.3.3. Deafferantasyon Ağrısı.....	5
2.1.1.3.4. Reaktif Ağrı.....	5
2.1.1.3.5. Psikosomatik (Psikojenik) Ağrı.....	6
2.1.2. Nosisepsiyon	6
2.1.2.1 Ağrı Mekanizmaları ve İletim Aşamaları	6
2.1.2.1.1. Transdüksiyon.....	6

2.1.2.1.2. Transmisyon	6
2.1.2.1.3. Modülasyon	7
2.1.2.1.4. Persepsiyon	7
2.1.3. Ağrı Yolakları	8
2.2. Ağrı Modülasyonu Periakvaduktal Gri Cevher ve Lokus Sereleus	9
2.3. Opioid Analjezikler	13
2.4. Opioid Reseptörler	15
2.5. Opioidlerin Etki Mekanizmaları	17
2.6. Opioid Agonistler	19
2.7. Opioidlerin Sınıflandırılması	19
2.7.1. Fentanil	20
2.8. Opioid Toleransı	21
2.9 Opioid Tolerans Mekanizmasında İnen Sistemlerin Rolü	24
2.9.1. Ağrı Modülasyonunda Noradrenerjik Sistem	25
2.9.1.1. α -2 Adrenoseptörlerin Antinosisseptif Rolü	26
2.9.1.1.1. Deksmetomidin	28
2.9.1.1.2. Ksilazin	30
2.10. α -2 Adrenoseptörler ile Opioid Reseptörler Arasındaki Etkileşim	31
3. GEREÇ VE YÖNTEM	34
3.1. Deney Kurgusu	34
3.1.1. Deney Hayvanları ve Laboratuvar Koşulları	34
3.1.2. Çalışma Grupları	34
3.1.3. Kullanılan İlaçlar ve Uygulanış Yöntemi	35
3.1.4. Analjezik Tolerans Gelişimi	35
3.2. Ağrı Yanıtlarının Ölçülmesi	36
3.2.1. Tail-flick Testi	36
3.2.2. Hot-plate Testi	37
3.3. Rotarod Performans Testi	38
3.4. Analiz yöntemleri	40
3.4.1. İstatistiksel Analiz	40
3.4.2. Anestezi Uygulamaları ve Doku Örneklerinin Toplanması	40
3.4.3. Doku Takip Aşamaları	41
3.4.4. Parafin Bloklardan Kesit Alma	42

3.4.5.	Hematoksilen ve Eozin Boyama.....	42
3.4.6.	İndirekt İmmünohistokimya Yöntemi ve Değerlendirmesi	43
4.	BULGULAR.....	45
4.1.	Davranış Testlerinin Sonuçları.....	45
4.2.	Histolojik Analiz Sonuçları.....	79
4.2.1.	Hematoksilen Eozin Boyama Sonuçları.....	79
4.2.2.	İmmünohistokimyasal Analiz Sonuçları.....	80
5.	TARTIŞMA.....	83
6.	SONUÇ VE ÖNERİLER.....	94
	KAYNAKLAR	95
	EKLER.....	108
	ÖZGEÇMİŞ	109

SİMGELER VE KISALTMALAR

AR: Adrenerjik reseptör (adrenoseptör)

Ca²⁺: Kalsiyum

cAMP: Siklik adenzin monofosfat

KLO: Klonidin

DEX: Deksmetomidin

EGE HAYMER: Ege Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi

FEN: Fentanil

GABA: γ -amino bütirik asit

G-protein: Guanin nükleotid-bağlayıcı protein

GRK: G-proteini reseptör kinaz

H&E: Hematoksilin&eoizin

HP: Hot-plate

IHC: İmmünohistokimya

K⁺: Potasyum

KSL: Ksilazin

LC: Lokus seruleus

MOR: mu-opioid reseptör

Na⁺: Sodyum

NE: Norepinefrin

NSAİİ: Non-opioidler/non-steroidal anti-inflamatuar ilaçlar

PAG: Periaquaduktal gri cevher

RVM: Rostral ventromedial medulla

TF: Tail-flick

vPAG: Ventrolateral PAG

ŞEKİLLER

Şekil 1. Nosisepsiyon aşamalarının gösterilmesi.	8
Şekil 2. Morfinin nöronal iletimdeki etkileri.	9
Şekil 3. Asendan ve desendan anatomik yollar.....	10
Şekil 4. PAG'tan RVM'ye inen ağrıyı modüle eden yol. Bu yol dorsal boynuz nöronları üzerinde kolaylaştırıcı veya inhibe edicidir.	11
Şekil 5. Farklı seviyelerde ağrı iletim yollarına etki eden farmakolojik ajanlar.	14
Şekil 6. Opioid maddelerin presinaptik ve postsinaptik bölgelerdeki etkileri.	18
Şekil 7. Opioid peptitlerin beyindeki etki bölgeleri.	19
Şekil 8. Fentanilin kimyasal yapısı.	21
Şekil 9. Opioid reseptörün akut tedaviye yanıt sinyali.	24
Şekil 10. DEX'in, (A) merkezi sinir sisteminde presinaptik α -2 adrenerjik reseptörler ve (B) düz kas hücresinde bulunan α -1 ve α -2 adrenerjik reseptörler üzerindeki etkileri. PIP2: fosfatidilinositol-4,5-bifosfat; IP3: inositol 1,4,5-trifosfat; DAG: diasilgliserol; Gq: fosfolipaz C aktive edici heterotrimerik G-proteini; Gi: adenil siklaz aktivitesini inhibe eden G-proteini.	27
Şekil 11. Deksmetomidinin kimyasal yapısı.	29
Şekil 12. Ksilazinin kimyasal yapısı.	31
Şekil 13. Hücre zarında opioid reseptörler ile α -2 AR'ler arasındaki etkileşim.	33
Şekil 14. Sıçanlarda tail-flick testi.	37
Şekil 15. Sıçanlarda hot-plate testi.	38
Şekil 16. Rotarod cihazıyla lokomotor aktivitenin değerlendirilmesi.	39
Şekil 17. Kontrol, FEN, DEX ve FEN+DEX gruplarının TF 1.gün latanslarının zamansal değişimi.	46
Şekil 18. Kontrol, FEN, KSL ve FEN+KSL gruplarının TF 1.gün latanslarının zamansal değişimi.	47
Şekil 19. Kontrol, FEN, DEX ve FEN+DEX gruplarının TF 2.gün latanslarının zamansal değişimi.	50
Şekil 20. Kontrol, FEN, KSL ve FEN+KSL gruplarının TF 2.gün latanslarının zamansal değişimi.	51
Şekil 21. Kontrol, FEN, DEX ve FEN+DEX gruplarının TF 3.gün latanslarının zamansal değişimi.	53
Şekil 22. Kontrol, FEN, KSL ve FEN+KSL gruplarının TF 3.gün latanslarının zamansal değişimi.	54

Şekil 23. Kontrol, FEN, DEX ve FEN+DEX gruplarının TF ölçümlerinin günlere göre karşılaştırmalı değişimi.	56
Şekil 24. Kontrol, FEN, KSL ve FEN+KSL gruplarının TF ölçümlerinin günlere göre karşılaştırmalı değişimi.	57
Şekil 25. Grupların TF ölçümlerinin günlere göre karşılaştırmalı değişimi.	58
Şekil 26. Kontrol, FEN, DEX ve FEN+DEX gruplarının gruplarının HP 1.gün latanslarının zamansal değişimi.	60
Şekil 27. Kontrol, FEN, KSL ve FEN+KSL gruplarının HP 1.gün latanslarının zamansal değişimi.	61
Şekil 28. Kontrol, FEN, DEX ve FEN+DEX gruplarının HP 2.gün latanslarının zamansal değişimi.	64
Şekil 29. Kontrol, FEN, KSL ve FEN+KSL gruplarının HP 2.gün latanslarının zamansal değişimi.	65
Şekil 30. Kontrol, FEN, DEX ve FEN+DEX gruplarının HP 3.gün latanslarının zamansal değişimi.	67
Şekil 31. Kontrol, FEN, KSL ve FEN+KSL gruplarının HP 3.gün latanslarının zamansal değişimi.	69
Şekil 32. Kontrol, FEN, DEX ve FEN+DEX gruplarının HP ölçümlerinin günlere göre karşılaştırmalı değişimi.	71
Şekil 33. Kontrol, FEN, KSL ve FEN+KSL gruplarının HP ölçümlerinin günlere göre karşılaştırmalı değişimi.	72
Şekil 34. Grupların HP ölçümlerinin günlere göre karşılaştırmalı değişimi.	73
Şekil 35. Kontrol, FEN, DEX ve FEN+DEX gruplarının rotarod 1.gün latanslarının zamansal değişimi.	74
Şekil 36. Kontrol, FEN, KSL ve FEN+KSL gruplarının rotarod 1.gün latanslarının zamansal değişimi.	74
Şekil 37. Kontrol, FEN, DEX ve FEN+DEX gruplarının rotarod 2.gün latanslarının zamansal değişimi.	75
Şekil 38. Kontrol, FEN, KSL ve FEN+KSL gruplarının rotarod 2.gün latanslarının zamansal değişimi.	76
Şekil 39. Kontrol, FEN, DEX ve FEN+DEX gruplarının rotarod 3.gün latanslarının zamansal değişimi.	77
Şekil 40. Kontrol, FEN, KSL ve FEN+KSL gruplarının rotarod ölçümlerinin zamansal değişimi.	77

Şekil 41. Kontrol, FEN, DEX ve FEN+DEX gruplarının rotarod ölçümlerinin günlere göre grup içi karşılaştırmaları.....	78
Şekil 42. Kontrol, FEN, KSL ve FEN+KSL gruplarının rotarod ölçümlerinin günlere göre grup içi karşılaştırmaları.....	78
Şekil 43. Medulla spinalisten alınan örneklerin H&E boyama görüntüleri (x4). A: Kontrol grubu, B: FEN grubu, C: DEX grubu, D: KSL grubu, E: FEN+DEX grubu, F: FEN+KSL grubu.	79
Şekil 44. PAG'tan alınan örneklerin H&E boyama görüntüleri (x2). A: Kontrol grubu, B: FEN grubu, C: DEX grubu, D: KSL grubu, E: FEN+DEX grubu, F: FEN+KSL grubu.	80
Şekil 45. PAG'tan alınan örneklerin H&E boyama görüntüleri (x4). A: Kontrol grubu, B: FEN grubu, C: DEX grubu, D: KSL grubu, E: FEN+DEX grubu, F: FEN+KSL grubu.	80
Şekil 46. PAG'tan alınan örneklerin IHC boyama görüntüleri (x4), (Ok; pozitif boyanma). A: Kontrol grubu, B: FEN grubu, C: DEX grubu, D: KSL grubu, E: FEN+DEX grubu, F: FEN+KSL grubu.....	81
Şekil 47. Medulla spinalisten alınan örneklerin IHC boyama görüntüleri (x4), (Ok; pozitif boyanma). Özellikle gri cevherde ve arka boynuzda boyanma görülmektedir X4. A: Kontrol grubu, B: FEN grubu, C: DEX grubu, D: KSL grubu, E: FEN+DEX grubu, F: FEN+KSL grubu.	82

TABLULAR

Tablo 1. Işık mikroskobu ile doku takip protokolü	41
Tablo 2. Hematoksilen-Eozin boyama protokolü.....	43
Tablo 3. 1.Günde alınan tail-flick ölçümlerinin gruplar arası karşılaştırmaları	45
Tablo 4. 1.Günde alınan tail-flick ölçümlerinin gruplar arası karşılaştırmaları	46
Tablo 5. 1.Günde alınan tail-flick ölçümlerinin grup içi karşılaştırmaları.....	48
Tablo 6. 2.Günde alınan tail-flick ölçümlerinin gruplar arası karşılaştırmaları	48
Tablo 7. 2.Günde alınan tail-flick ölçümlerinin gruplar arası karşılaştırmaları	50
Tablo 8. 2.Günde alınan tail-flick ölçümlerinin grup içi karşılaştırmaları.....	51
Tablo 9. 3.Günde alınan tail-flick ölçümlerinin gruplar arası karşılaştırmaları	52
Tablo 10. 3.Günde alınan tail-flick ölçümlerinin gruplar arası karşılaştırmaları	53
Tablo 11. 3.Günde alınan tail-flick ölçümlerinin grup içi karşılaştırmaları.....	55
Tablo 12. Grupların tail-flick ölçümlerinin günlere göre karşılaştırmaları.....	55
Tablo 13. Grupların tail-flick ölçümlerinin günlere göre karşılaştırmaları.....	57
Tablo 14. Grupların tail-flick ölçümlerinin günlere göre grup içi karşılaştırmaları	58
Tablo 15. 1.Günde alınan hot-plate ölçümlerinin gruplar arası karşılaştırmaları.....	59
Tablo 16. 1.Günde alınan hot-plate ölçümlerinin gruplar arası karşılaştırmaları.....	60
Tablo 17. 1.Günde alınan hot-plate ölçümlerinin grup içi karşılaştırmaları	62
Tablo 18. 2.Günde alınan hot-plate ölçümlerinin gruplar arası karşılaştırmaları.....	62
Tablo 19. 2.Günde alınan hot-plate ölçümlerinin gruplar arası karşılaştırmaları.....	64
Tablo 20. 2.Günde alınan hot-plate ölçümlerinin grup içi karşılaştırmaları	66
Tablo 21. 3.Günde alınan hot-plate ölçümlerinin gruplar arası karşılaştırmaları.....	66
Tablo 22. 3.Günde alınan hot-plate ölçümlerinin gruplar arası karşılaştırmaları.....	68
Tablo 23. 3.Günde alınan hot-plate ölçümlerinin grup içi karşılaştırmaları	69
Tablo 24. 3.Grupların hot-plate ölçümlerinin günlere göre karşılaştırmaları	70
Tablo 25. 3.Grupların hot-plate ölçümlerinin günlere göre karşılaştırmaları	71
Tablo 26. Grupların hot-plate ölçümlerinin günlere göre grup içi karşılaştırmaları.....	72
Tablo 27. 1.Günde alınan rotarod ölçümlerinin gruplar arası karşılaştırmaları	73
Tablo 28. 2.Günde alınan rotarod ölçümlerinin gruplar arası karşılaştırmaları	75
Tablo 29. 3.Günde alınan rotarod ölçümlerinin gruplar arası karşılaştırmaları	76
Tablo 30. Grupların rotarod ölçümlerinin günlere göre grup içi karşılaştırmaları	77
Tablo 31. Grupların PAG bölgesindeki MOR ekspresyonlarının skorlanması	81
Tablo 32. Grupların medulla spinalis bölgesindeki MOR ekspresyonlarının skorlanması.....	82

1. GİRİŞ

Ağrı, potansiyel veya gerçek zararlı uyaran ya da doku hasarı tarafından meydana gelen rahatsızlık hissidir ve birçok hastalığın ana semptomudur (1). Ağrı tedavisinde kullanılan ve analjezi sağlayan maddeler, (I) opioidler/narkotikler ve (II) non-opioidler/non-steroidal anti-inflamatuar ilaçlar (NSAİİ) olacak şekilde iki farmakolojik gruba ayrılır (2). Opioidler (opiatlar), orta ve şiddetli ağrının tedavisinde klinik ortamda en sık kullanılan analjeziklerdir (3). Fakat, kullanılan opiatın tekrarlayan dozlarda sık kullanımını sonucu, etki gücünde azalma ve etki süresinde kısalma meydana gelmektedir. Bu fenomen “tolerans” olarak isimlendirilir. Opiat maddeye karşı tolerans geliştiği durumda, istenen farmakolojik etki için kullanılan dozun artırılması gerekmektedir. En güçlü analjezik ilaçlardan olan opioidlerin birçok etkilerine karşı tolerans gelişebilmektedir. Opioidlerin analjezik etkilerine karşı gelişen tolerans, klinikte kullanımlarını sınırlayan önemli bir sorundur. Tolerans gelişiminin moleküler temeli ve mekanizmaları tam olarak anlaşılammış olmakla birlikte, nedenlerinin aydınlatılabilmesi için çalışmalar halen devam etmektedir. Opiat tolerans mekanizmalarının açıklığa kavuşturulması, tedavide daha etkin şekilde kullanılabilmeleri bakımından önem taşımaktadır. Daha önce yapılmış çalışmalarda, opioidlerin farmakolojik etkilerinin oluşması bakımından μ -opioid reseptör (MOR)’lerinin çok önemli olduğu gösterilmiştir. MOR geni silinenlerde opioidlerin analjezik etkisi oluşmadığı gibi, analjezik toleransı, hiperanaljezi ve ilaç bağımlılığı gibi yan etkiler de gelişmez. Bu nedenle, opioid toleransı araştırılırken MOR’ların incelenmesi önemlidir. Yüksek dozlarda opioid kullanımının, MOR down-regülasyonu ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (4).

Noradrenerjik sistem, opioid analjezisinde önemli bir role sahiptir. α -2 adrenerjik sistemin, bir opiat olan morfine karşı gelişen toleransta rol oynayabilen bir modülatör olabileceğine dikkat çekilmiştir (4). α -2 adrenerjik reseptör (adrenoseptör) (AR) agonistlerinin morfin analjezisini güçlendirdikleri (5), (6), morfin tolerans gelişimini zayıflattıkları (5) ve noradrenerjik aktiviteyi azaltarak yoksunluk belirtilerini hafiflettikleri (6), (7), (8) bildirilirken; α -2 adrenoseptör antagonistinin morfin analjezisini zayıflattığı ve tolerans gelişimini artırdığı rapor edilmiştir (5).

Sıçanlarla yaptığımız bu deneysel çalışma, α -2 AR agonistlerin bir sentetik opioid olan fentanil (FEN)’e karşı gelişen toleransı önleyebilme etkinliğine ilişkindir.

FEN'in analjezik etkisine karşı tolerans gelişimini ve α -2 AR agonistlerden olan deksmedetomidin (DEX) ile ksilazin (KSL)'in FEN toleransı üzerine etkilerini analjezi testleri (tail-flick ve hot-plate) ile değerlendirdik. Ayrıca, opiat toleransında MOR düzeylerinin nasıl etkilendiğini tespit etmek amacıyla, sıçanların periaquaduktal gri cevher (PAG) ve omuriliklerinden alınan dokularda MOR protein ekspresyonunu inceledik. Bu çalışmada test edilen hipotezler şunlardı:

- FEN'in analjezik etkisine karşı tolerans gelişti mi? Gelişti ise kaçınıcı günde oluştu?
- α -2 AR agonistlerinin FEN tolerans gelişiminde etkileri var mı?
- Analjezik etki bakımından ilaç grupları arasında önemli bir fark var mıydı?
- Kombine ilaç alan gruplarda, tek bir ilaç alan gruplara kıyasla, daha güçlü analjezik etki oluştu mu?
- Kombine ilaç alan gruplarda, sadece FEN alan gruba göre, analjezik etki süresi uzadı mı?
- Her bir gruptaki analjezik etkinin zamana bağlı değişimi nasıldı?
- Kontrol grubu ve ilaç alan gruplarda PAG ve spinal kordtaki MOR protein ekspresyonları arasında fark var mıydı?

α -2 AR agonistlerin, opiat tolerans gelişimini azaltmaları, doz artışına gerek kalmaksızın opiat maddenin analjezik etkinliğini artırmaları ve opiat maddenin analjezik etki süresini uzatılmaları mümkün olabilir. Bu sayede, opioidlerin klinikte daha etkin, güvenli ve daha az yan etkiyle (tolerans gibi) kullanılmalarının yolu açılabilir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Ağrı

Ağrı “gerçek ya da olası doku hasarı ile ilişkili veya bu hasar ile tanımlanan, hoş olmayan duyuşsal ve emosyonel deneyim” şeklinde tanımlanmaktadır (9). Ağrı duyusu kişiye rahatsızlık verir. Fakat organizmayı korumaya yönelik olan önemli bir sinyaldir ve kişiyi tetikte tutar (10). Ağrı reseptörleri neredeyse hiçbir zaman tam adapte olmaz. Bu durum, kişinin zararlı uyarana karşı farkındalığının olmasını ve bu zararlı uyarana karşı bireyi önlem almaya sevk etmesi açısından önemlidir (11).

Doku hasarı meydana geldiğinde, kişi ağrı hissetmeye başlar ve ağrılı uyarandan uzaklaşmak veya onu ortadan kaldırmak için reaksiyon gösterir. Örneğin, kalça kemiklerimiz üzerinde uzun süre oturduğumuzda, vücut ağırlığımızla basınç altında kalan bölgenin kan akımı azalır. Bunun sonucunda doku hasarı oluşur ve ağrı hissetmeye başlarız. Hissettiğimiz bu ağrı hissine vereceğimiz reaksiyon, bilinçsiz olarak pozisyon değiştirmek olacaktır (11).

Tüm dokularımızda bulunan nosiseptörler, ağrı duyusuna spesifik reseptörlerdir (12). Nosiseptörler serbest ve çıplak sinir uçlarıdır. Vücudun herhangi bir yerinde doku hasarı oluştuğu zaman, periferel sinirlerde bulunan nosiseptörler aktive olur. Reseptörün fonksiyonu mekanik, kimyasal ve termal uyarıyı nosiseptörlerin duyuşsal uçlarında bir transdüser olarak elektriksel uyarıya (reseptör potansiyeline) dönüştürmektir. Reseptör potansiyelinin genliği, reseptörün bağlı olduğu sinir lifinde aksiyon potansiyeli oluşturacak eşik değerin üstüne ulaştığı zaman sinir lifinde aksiyon potansiyeli oluşur (11). Oluşan aksiyon potansiyeli, primer afferent lifler aracılığıyla medulla spinalise iletilir (12). Hızlı A δ ve yavaş C lifleri nosiseptif nöronlardır ve ağrı uyarısını kortekste bulunan duyuşsal ve bilişsel ağrı oluşumundan sorumlu bölgelere taşır. Bu sayede ağrı algısı oluşur ve bu tehdiye karşı biyokimyasal, fizyolojik ve psikolojik cevaplar verilir (1), (10). Nosiseptörlerin aracılık ettiği uyarıların tümü ağrıya neden olurken, tüm ağrılar nosiseptörler aracılığıyla meydana gelmez (9). Ağrının başlaması, iletilmesi, algılanması ve ağrılı uyarana verilen cevaplar karmaşık mekanizmalar sonucu meydana gelmektedir.

2.1.1. Ağrının Sınıflandırılması

2.1.1.1. Süresine Göre Ağrı

2.1.1.1.1. Akut Ağrı

Cerrahi, travma, doku hasarı veya enfeksiyon kaynaklı, ani oluşan, nosiseptif özellikteki ağrı tablosudur. Akut ağrı analjeziklerle kontrol altına alınabilir ve yara iyileşmesi sonucunda giderek azalır (13). Akut ağrı vücudu korumaya yöneliktir. Hızlı, batıcı ve keskin hissedilen bu ağrı, iyi lokalize edilir. Daima nosiseptiftir (9) ve Aδ lifleriyle santral sinir sistemine taşınır (11).

2.1.1.1.2. Kronik Ağrı

Çoğu zaman nosiseptif niteliktedir (9) ve genellikle üç aydan uzun süre devam eden, devamlı veya ara ara hissedilen, biyolojik açıdan yararlı amacı olmayan ağrıdır (14). C lifleriyle santral sinir sistemine taşınır. Künt, zonklayıcı, yanıcı ve tam lokalize edilemeyen ağrı tipidir (11).

2.1.1.2. Kaynaklandığı Bölgeye Göre Ağrı

2.1.1.2.1. Somatik Ağrı

Somatik sinir lifleriyle taşınan ağrıdır. Ani başlar, keskindir ve iyi lokalize edilir. Batıcı, zonklayıcı ve sızlayıcı tarzdadır (9), (11).

2.1.1.2.2. Sempatik Ağrı

Sempatik sinir sistemin aktive olmasıyla ortaya çıkan yanma tarzındaki ağrılardır (9).

2.1.1.2.3. Visseral Ağrı

İç organlardan kaynaklanan ağrılardır. Otonom sistemin C tipi lifleriyle taşınır. Her zaman doku harabiyeti ile ortaya çıkmadığı gibi her organdan da kaynaklanmaz (akciğer parankimi, böbrek ve karaciğer gibi solid organlar ağrıya hassas değildir). Yavaş başlar. Künt ve sızlayıcı tarzdadır. İyi lokalize edilemez, başka bölgelere yayılır. Kardiyak ağrının sol kol ve sol omuza yansması visseral ağrının yayılmasının klasik örneklerindedir (11).

2.1.1.3. Mekanizmalarına Göre Ağrı

2.1.1.3.1. Nosiseptif Ağrı

Nosiseptif ağrı, dokularda meydana gelen inflamasyon veya doku hasarı sonucunda oluşur. Meydana gelen fizyopatolojik olayların (immün hücrelerden salınan CGRP, histamin, P maddesi, bradikinin ve prostaglandin gibi pek çok algenik madde) nosiseptörleri uyarmasıyla oluşan impulslar, önce omuriliğe daha sonra talamusa iletilir. Talamustan kalkan 3.grup liflerle taşınan impulslar, serebral kortekse iletilir ve ağrı algısı oluşur. Nosiseptif ağrı, somatik veya visseral kaynaklı olabilir (13). Genellikle bıçak batır tarzda ve zonklama şeklinde tanımlanan ağrı hissidir (11).

2.1.1.3.2. Nöropatik Ağrı

Somatosensöriyel sistemin herhangi bir bölümünde meydana gelen hasar ve/veya disfonksiyondan kaynaklanan ağrılardır. Nöropatik ağrı santral ve periferik olmak üzere iki gruba ayrılır. Periferik ağrıya metabolik hastalıklar neden olurken, santral ağrıya spinal kord ya da beyin hasarı sebep olmaktadır (13). Aralıklı, batıcı, yanıcı, kısa süreli, karıncalanma ve keçeleşme şeklinde hissedilir. Nöropatik ağrının mekanizması incelendiğinde, nosiseptif uyarı veren herhangi bir kaynak bulunmamaktadır (10).

2.1.1.3.3. Deafferantasyon Ağrısı

Periferik ve/veya santral sinir sisteminde meydana gelen yaralanmalar sonucu, somatosensöriyel uyarıların merkezi sinir sistemine aktarılma işleminin kesilmesiyle ortaya çıkar (sinir ileti kesilmiştir). Periferik sinir kesileri ya da merkezi sinir sistemindeki lezyonlar nedeniyle oluşabilir. Deafferantasyon ağrılarında, talamik ağrı (Dejerine-Roussy Sendromu) ve fantom ağrısı örnek verilebilir (9).

2.1.1.3.4. Reaktif Ağrı

Reaktif ağrı, vücudun çeşitli olaylara verdiği bir reaksiyondur. Motor ya da somatik afferentler refleks olarak aktive olur, nosiseptörler uyarılır ve ağrı duyusu

oluşur. Bu ağrılara miyofasiyal ağrılar ve refleks sempatik distrofiler örnek gösterilebilir (9).

2.1.1.3.5. Psikosomatik (Psikojenik) Ağrı

Psikososyal ve psişik problemlerin arttığı durumlarda, kişi bu sorunlarını ağrı biçiminde ifade eder. Bu ağrı tipine psikosomatik ağrı adı verilir (9).

2.1.2. Nosisepsiyon

Vücudun herhangi bir bölgesinde doku hasarı meydana geldiğinde, uyarının nosiseptörlerce algılanarak merkezi sinir sistemine taşınması, entegre edilmesi, zararlı tehdidin algılanması ve buna karşı önlemlerin alınması olaylarının tümüne nosisepsiyon adı verilir. Nosiseptif süreçler, ağrıyı algılamada özelleşmiş sinir uçları olan nosiseptörlerde başlar. Nosiseptörler; mekanik, kimyasal, termal uyarıları ve nöromedyatör maddeleri (bradikinin, prostaglandinler, histamin, potasyum, serotonin, proteolitik enzimler gibi) algılayan sinir uçlarıdır. Ağrı ise, nosisepsiyon içinde meydana gelen bir algılama olayıdır (9), (13).

2.1.2.1 Ağrı Mekanizmaları ve İletim Aşamaları

Ağrılı uyarının üst merkezlere iletimi ve algılanması dört aşamada gerçekleşir (9). Bu aşamalar Şekil 1’de gösterilmiştir.

2.1.2.1.1. Transdüksiyon

Nosiseptörlerin uyarılmasıyla voltaj kapılı sodyum (Na^+) kanalları açılır, hücre içine Na^+ girişi meydana gelir, hücre depolarize olur ve aksiyon potansiyeli oluşur (12). Transdüksiyon eşik değeri aşan mekanik, kimyasal ve termal uyarıların, nosiseptörlerin sensorial uçlarında elektriksel stimulusa çevrildiği aşamadır (9).

2.1.2.1.2. Transmisyon

Nosiseptörlerce algılanan impulslar duyuusal sinirlerle merkezi sinir sistemine iletilir. Ağrı duyusu bu iletim sürecinde, miyelinli A δ lifleri ve miyelinsiz C lifleri ile üst merkezlere iletilir (9). Hücre gövdeleri merkezi sinir sistemi dışında yer alan

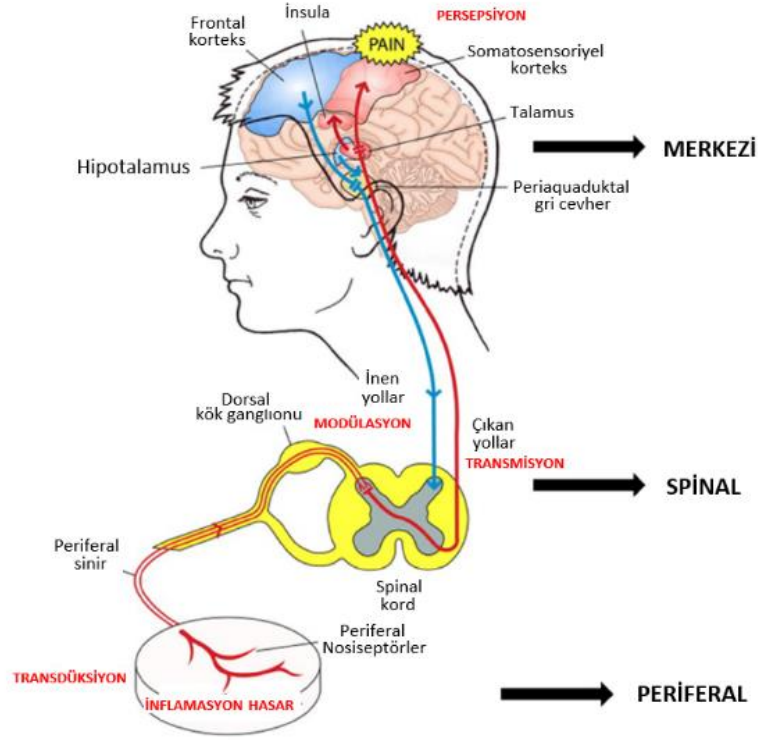
(Dorsal kök ganglionu) primer sensöriyel afferent duyu nöronları (1. sıra nöronlar) elektriksel iletiyi spinal korda iletir. Spinal korda gelen uyarı, uyarının alındığı medulla spinalis bölgesinde orta hattan karşı tarafa geçer ve asendan ileti sistemiyle (anterolateral yol) beyin sapı ve talamusa uzanan nöronlara (2. sıra nöronlar) aktarılır. Talamustan kalkan talamokortikal projeksiyon nöronlar (3. sıra nöronlar) aracılığıyla da somatosensoryel kortekse taşınır (11), (12).

2.1.2.1.3. Modülasyon

Ağrı uyarısının antinosiseptif nöronal yollarla, başlıca medulla spinalis olmak üzere, değişime uğratıldığı aşamadır (9). Bu değişim üst merkezlere iletilir (12). Modülasyon periferik, spinal ve supraspinal seviyelerde gerçekleşebilir. Kapı kontrol teorisine göre, ağrı ilk olarak medulla spinaliste kontrol edilir. Ayrıca, çeşitli beyin bölgelerinin inen inhibitörük yollara etki ettiği bilinmektedir. Bu yollardaki sinir lifleri medulla spinalis dorsal boynuz nöronlarıyla sinaps yapar; serotonin, endojen opiatlar, γ -amino bütirik asit (GABA) gibi inhibitörük maddeler salgılatır ve nosiseptif uyarının inhibisyonuna neden olur (11).

2.1.2.1.4. Persepsiyon

Medulla spinalisten supraspinal merkezlere çıkan uyarının, kortekste değerlendirilmesi ve kişinin emosyonel deneyimleriyle ağrı duygusu şeklinde algılanması aşamasıdır (9), (12).



Şekil 1. Nosisepsiyon aşamalarının gösterilmesi (15).

2.1.3. Ağrı Yolakları

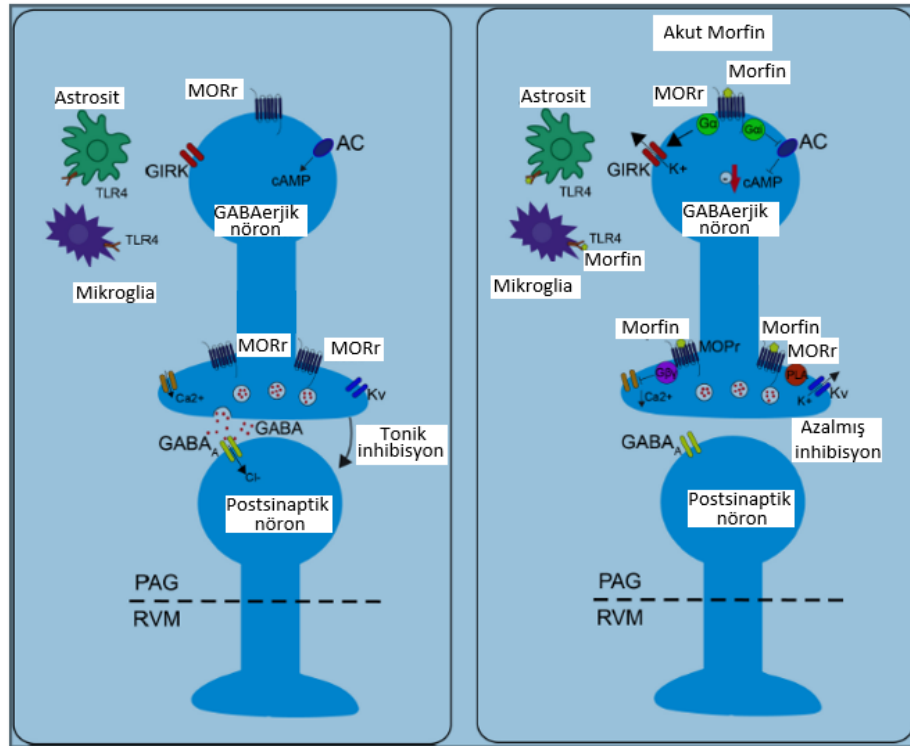
Ağrı iletimi, nosiseptif asendan sistemler ve antinosiseptif desendan sistemler olacak şekilde iki yoldan oluşmaktadır.

Nosiseptif Asendan Yolaklar: Spino-talamik, spino-retiküler, spino-mezensefalik, serviko-talamik ve spino-hipotalamik yollardır.

Antinosiseptif Desendan Yolaklar: Mezensefalik periaquaduktal gri cevherde bulunan ve supraspinal inhibisyondan sorumlu enkefalinerjik nöronlar, retiküler formasyonunun bazı nükleuslarından kalkan ve medulla spinalisin arka boynuzuna ulaşan supraspinal inhibisyondan sorumlu noradrenerjik lifler ve spinal yerleşimli enkefalinerjik nöronlardır. Antinosiseptif yolaklar, nosiseptif projeksiyon nöron membranında potasyum (K^+) iyon geçirgenliğini artırarak hiperpolarizasyona, uyarılabilirliğin azalmasına ve dolayısıyla ağrının inhibe olmasına neden olur (9), (10).

2.2. Ağrı Modülasyonu Periaquaduktal Gri Cevher ve Lokus Sereleus

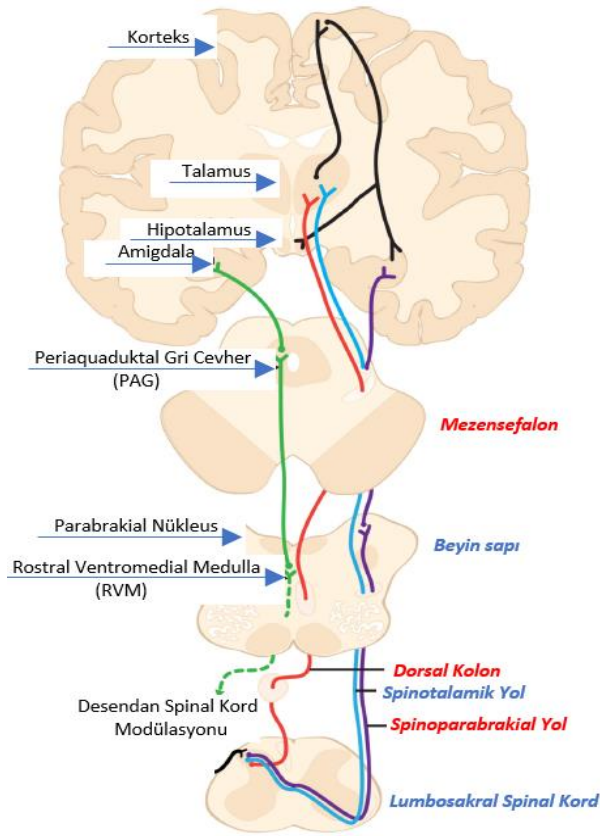
Ağrı modülasyonu, asendan ve desendan nöral sistemler arasında birçok etkileşimi içeren dinamik ve karmaşık bir süreçtir (6). Orta beyinde bulunan PAG tehdit, stres veya ağrıya karşı davranışsal, somatik ve otonomik tepkilerin bütünleştirilmesinde oldukça önemli bir role sahiptir. Endojen ağrı kontrol sisteminin ana bileşenlerindedir. Lateral PAG opiyatsız analjezide görevli iken, ventrolateral PAG opiat aracılı analjezide görev alır (16). Opioid maddeler, PAG içindeki GABAerjik nöronlar üzerinden etkilerini gösterir. Normal koşullar altında, bu GABAerjik nöronlar tonik aktiviteye sahiptir ve tonik inhibisyona neden olur (Şekil 2) (17). Opioidlerin PAG bölgesindeki MOR'lara bağlanması, GABAerjik nöronların aktivitesini azaltır ve PAG'tan rostral ventromedial medulla (RVM)'ya giden projeksiyonların inhibisyonunu bloke eder (16), (17).



Şekil 2. Morfinin nöronal iletimdeki etkileri (17).

Opiatlar, PAG ve RVM'yi de içine alan inen modülatör sistemi aktive ederek antinosisepsiyona neden olur. Opioidler, birçok beyin bölgesinde hem presinaptik hem de postsinaptik bölgelerde bulunan MOR'lara bağlanarak farklı sinyal

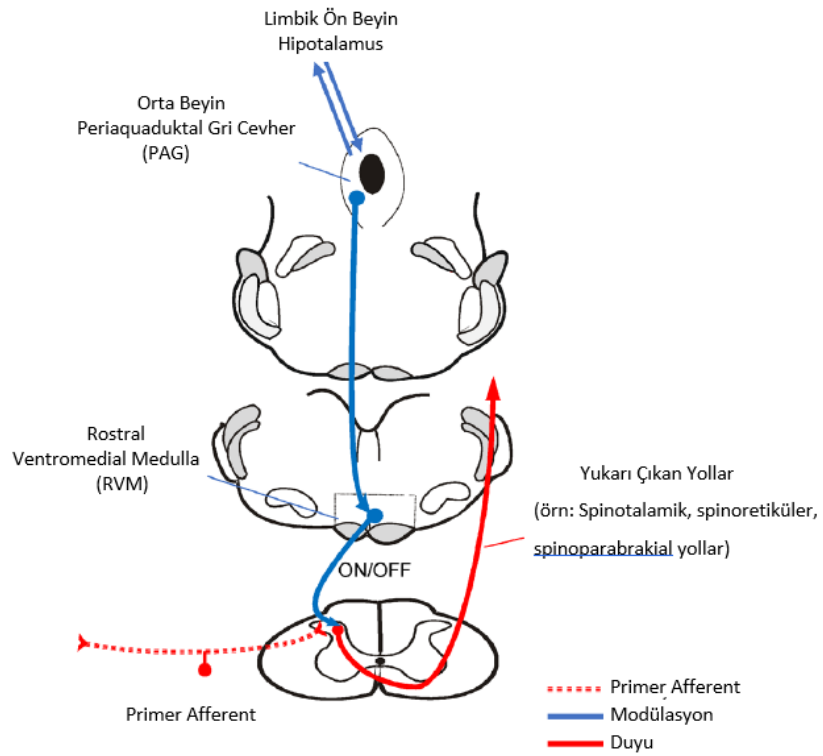
basamaklarını aktive eder (16), (17). Opioidin GABAerjik nöron üzerinde bulunan MOR'lara bağlanmasıyla G-proteininin aktivasyonu meydana gelir. Aktivasyon sonucu, adenil siklaz inhibe olur, siklik adenozin monofosfat (cAMP) düzeyleri düşer ve K^+ kanalları açılır. Sonuç olarak PAG'daki GABAerjik nöronda hiperpolarizasyon meydana gelir. Opioid maddenin presinaptik bölgede bulunan MOR'lara bağlanması, voltaj kapılı kalsiyum (Ca^{+2}) kanallarının blokajına ve K^+ kanallarının açılmasına neden olur. Bunun sonucunda, GABA nörotransmitterini içeren vesiküllerin ekzositozu gerçekleşmez ve GABA salınımı olmaz. Opioidin presinaptik veya postsinaptik bölgelerdeki MOR'lara bağlandığı her iki durumda da GABAerjik nöronal aktivite azalır. Dolayısıyla PAG'dan RVM'ye gidecek inhibitörük uyarılar azalır. Özetle, PAG bölgesinden RVM'ye giden uyarı disinhibe olur ve analjezi oluşur (Şekil 2) (17).



Şekil 3. Asendan ve desendan anatomik yollar (18).

PAG'ın nosisepsiyonu düzenlediği bilinmektedir. PAG'tan RVM nöronlarına iletilen ve omurilikte sonlanan inen yollar aracılığıyla nosisepsiyon düzenlenir (Şekil

3). Yapılmış immünohistokimya (IHC) ve konfokal mikroskopi çalışmalarında, PAG nöronlarının omuriliğe uzanan RVM nöronlarına yoğun şekilde projeksiyonlar yaptığı ve bu retikülospinal nöronların üçte ikisinin GABAerjik nöronlar olduğu gösterilmiştir. RVM'de farklı hücre grupları bulunur ve bu hücre grupları nosisepsiyonu ya fasilite eder ya da inhibe eder. RVM'de bulunan ON hücreleri, nosiseptif aktiviteyi artırır. Bu hücrelerin aktive olması nosisepsiyonu kolaylaştırır. RVM'de bulunan OFF hücreleri ise nosiseptif aktiviteyi azaltır. Bu hücrelerin aktive olması sonucunda antinosisepsiyon oluşur (19) (Şekil 4).



Şekil 4. PAG'tan RVM'ye inen ağrıyı modüle eden yol. Bu yol dorsal boynuz nöronları üzerinde kolaylaştırıcı veya inhibe edicidir (20).

PAG veya RVM'ye mikroenjekte edilen morfinin antinosisepsiyona neden olduğu gözlenmiştir (21). Opioidlerin, bütün PAG nöronlarında hem GABAerjik hem de glutamaterjik sinaptik iletimi inhibe ettiği gösterilmiştir (16). PAG'dan çıkan nöronlar RVM OFF hücrelerini uyarabilir, ON hücrelerini inhibe edebilir veya her ikisini de yaparak antinosisepsiyona sebep olabilir. Glutamatın eksitatörük, GABA'nın inhibitörük olduğu göz önünde bulundurulduğunda, RVM ON hücrelerine

yansıyan PAG nöronlarının GABA içerdiği düşünülmektedir. PAG'dan RVM OFF hücrelerine projeksiyon yapan nöronların ise glutamat içerdiği öne sürülmüştür. RVM'ye yansıyan PAG nöronlarında GABA'nın varlığı bu hipotezi destekler niteliktedir (19).

Opioiderjik ve noradrenerjik yollar, nosisepsiyon ve analjezide çok önemli rollere sahiptir. Opioid reseptörler ve α -2 AR'ler aktive olduğunda, spinal ve supraspinal seviyelerde ağrı iletimi bloke olur. α -2 AR'ler nosisepsiyonu inhibe ederken ve opioid maddelerle analjezik sinerjiye sahipken; α -1 AR'lerin nosisepsiyonu kolaylaştırabileceğine ve opioid analjezisini engelleyebileceğine dair kanıtlar vardır (6). α -2 AR'ler merkezi sinir sistemi, periferik sinirler (otonomik ve somatik) ve otonomik ganglionlarda bulunur. Özellikle sempatik innervasyona sahip dokularda bulunur. Bunun yanı sıra, bütün vücuda dağılmış durumdadır. α -2 reseptörler nöronlarda presinaptik ve postsinaptik yerleşim gösterirken; nöronal olmayan dokular ve vasküler düz kas gibi efektör organlarda ekstrasinaptik olarak da bulunurlar (22). Presinaptik α -2 reseptörler, norepinefrin (NE) ve adozin trifosfat salınımını negatif feedback ile düzenledikleri için klinik açıdan büyük öneme sahiptir (23).

PAG, spinal dorsal boynuz ve trigeminal sinirin nosiseptif nöronlarını kontrol eden modülatör devrenin bir parçasıdır (24) ve nosisepsiyonun düzenlenmesinde rol oynayan çok önemli bir beyin sapı bölgesidir (25). PAG, α -2 AR'ler üzerinden, dorsal boynuz nöronlarına gelen nosiseptif girdileri inhibe eder (24). PAG'ta ve omuriliğin dorsal boynuzunda noradrenerjik nöron bulunmadığından, PAG'daki non-katekolaminerjik nöronlar pons ve medullada bulunan katekolaminerjik nöronlara projeksiyonlar yapar ve onları aktive eder (25). Yapılmış çalışmalar, ventrolateral PAG (vPAG)'daki nöronların, ponsa bulunan ve noradrenerjik nöron içeren A5, A6 (lokus seruleus-LC) ve A7 (subseruleus) hücre gruplarına projeksiyonlar yaptığını ortaya koymuştur. Bu üç noradrenerjik hücre grubu (A5, A6 ve A7) omuriliğe projeksiyonlar yapmaktadır (25).

vPAG'da bulunan nöronların fokal elektriksel (26) ve kimyasal (eksitatör amino asit glutamat) (27) uyarılması sonucunda, tail-flick latansında uzama (antinosisepsiyon) meydana geldiği bildirilmiştir. Oluşan bu antinosiseptif etkinin, intratekal uygulanan serotonin reseptör blokleri (metiserjid) ve α -AR antagonistleri

tarafından bloke olduğu rapor edilmiştir (26), (27). Sıçan PAG bölgesi uyarıldığı zaman deriye uygulanan mekanik uyarılara verilen tepkilerde inhibisyon meydana geldiği; bir α -2 AR agonist olan klonidin (KLO) uygulandığında mekanik uyarılara verilen tepkinin azaldığı; α -2 AR antagonistler (idazoksan veya yohimbin) uygulandığında ise mekanik uyarılara verilen tepkinin arttığı bildirilmiştir. Bu sonuçlar, α -2 AR'lerin PAG'ın ağrı inhibisyonunda rol aldıklarını düşündürmektedir (28). Öte yandan, PAG'a uygulanan morfin mikroenjeksiyonunun oluşturduğu antinosiseptif etkinin (tail-flick latansında uzama), intratekal uygulanan α -AR antagonistlerce azaltılabildiği gösterilmiştir (29), (30). Buna karşın, sıçan vPAG bölgesine mikroenjekte edilen α -2 AR agonistlerinin antinosiseptif etkili olmadığı bildirilmiştir. Çalışma sonuçlarına dayanılarak, vPAG'ın, opiat antinosisepsiyonda önemli bir bölge olduğu ama α -2 AR aracılı antinosisepsiyonda rolünün olmadığı ileri sürülmüştür (31).

2.3. Opioid Analjezikler

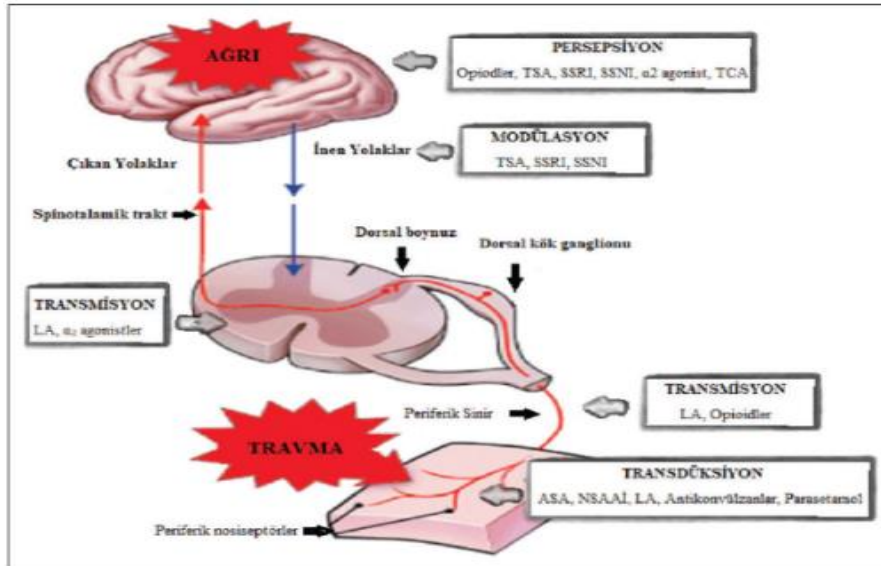
Ağrı kişinin yaşam kalitesini etkileyen önemli bir sağlık sorunudur. Kişide bilinç kaybına neden olmaksızın, ağrının kesilmesi ya da azaltılmasına analjezi adı verilir. Merkezi sinir sisteminde etkili olan ve analjezi sağlayan ajanlara analjezik maddeler denir. Analjezik ilaçlar, narkotik analjezikler ve NSAİİ'ler olmak üzere iki grupta toplanır. Ağrıyı tedavi etmek amacıyla yeni analjezik maddeler geliştirilmesine rağmen, opioidler klinik ortamlarda halen en sık kullanılan ağrı kesicilerdir (3). Orta ve şiddetli aljezi algısını hafifletmek amacıyla kullanılan en güçlü ve en etkili, geniş spektrumlu analjezikler olarak kabul edilirler (32), (33). Opioidlerin en yaygın endikasyonu ağrı yönetimidir (hipoaljezi veya analjezi) (34).

Haşhaş, milattan önce 3400 yılında Mezopotamya'da yetiştirilmiş bir bitkidir. Afyon, haşhaş tohumlarından elde edilen alkaloidlerin karışımı olan, insanoğlunun bildiği en eski uyuşturucu maddelerden biridir (35). Afyonun analjezide kullanımı, MÖ 2000'den önce eski Çin ve Mısır kayıtlarında belgelenmiştir (36). Morfin ve kodein gibi opiatlar afyon bitkisinin özünden elde edilen alkaloidlerdir (35). Afyon klinikte kullanılmazken; morfin ve morfin benzeri bileşikler, şiddetli ağrının tedavisinde klinik ortamda kullanılan önemli analjezik maddelerdir. Özellikle içi boş visseral organ ağrıları, travma veya ameliyat ağrılarının dindirilmesinde sıklıkla

tercih edilmektedir. Bağımlılık gelişme riski nedeniyle, kronik ağruların tedavisinde kullanılmazlar. Fakat istisna olarak terminal dönemdeki kanser hastalarının şiddetli ağrılarını hafifletmek amacıyla bağımlılık riski göze alınarak uygulanabilmektedir (36).

Opiat veya opioid terimi, opioid reseptörlerine etki eden tüm bileşikleri tanımlamak için kullanılırken, narkotik terimi uykuya neden olan ilaçları tanımlamak için kullanılırdı. Daha sonraları, opioidleri tanımlamak için narkotik sözcüğü kullanılmıştır. Günümüzde ise, narkotik terimi kötü amaçlı alınan opioid ilaçların belirtmesi amacıyla kullanılmaktadır (35).

Opioidler akut, nöropatik ve kanser ağrılarının kontrolünde kullanılan NSAİİ'lerdir. Hastada kaygıyı ortadan kaldırarak öfori ve sedasyon yapmakla birlikte, asıl etkileri analjezi sağlamaktır. Opioid ajanlar beyin, medulla spinalis ve periferik sinir uçlarında bulunan spesifik reseptörlerine bağlanarak morfin benzeri etki oluşturan doğal ve sentetik (endojen peptitler ve ekzojen) maddelerdir (36) (Şekil 5). Bu ajanlar, merkezi sinir sisteminde ve diğer dokularda bulunan presinaptik ve postsinaptik reseptörlerine bağlanarak etki gösterir (17). Spinal kordta ağrının iletilmesinden sorumlu eksitatorik maddelerin presinaptik salınımını, postsinaptik yanıtı ve beyinde ağrı algısının oluşumunu inhibe ederler (12), (37).



Şekil 5. Farklı seviyelerde ağrı iletim yollarına etki eden farmakolojik ajanlar (12).

Opioidler merkezi sinir sisteminde iki ayrı seviyede analjezik etki gösterir. Birinci etkileri, ağrı yollarıyla gelen uyarıların iletimi, entegrasyonu ve yorumlanmasına müdahale etmektir. Bu müdahaleler özellikle opiat reseptörlerin bol bulunduğu alanlardan olan PAG, medüller ve talamik çekirdeklerde gerçekleşir. Opioidlerin ikinci etkisi, kişinin ağrı sürecine karşı tutumunu değiştirmeleridir. Ağrı algılanmaya devam ediliyor olmasına rağmen, kişinin ağrıya verdiği önem azalır. Bu durum, opiat maddelerin limbik sistem (opioid reseptörlerince zengindir) üzerinden gerçekleştirdikleri düşünülen ruh hali değişiklikleridir. Gerçek olmayan iyi olma duygusu olarak bilinen öfori, opioidlerin limbik sistemdeki etkilerinin dışavurumudur. Bu ruh hali, opioidlerin kötüye kullanımından sorumlu tutulmaktadır (36).

Endokrin süreçleri ve bağışıklık sistemini de modüle ettikleri bilinen opioidler, omuriliğin dorsal boynuzunda bulunan ve ağrıyı modüle eden nöronları etkileyerek ağrıyı yönetirler (38). Opioidler birincil ve ikincil nosiseptif afferent nöronları inhibe ederek, omuriliğin dorsal boynuzundaki eksitatörük nörotransmitterlerin presinaptik salınımını inhibe ederek ve inen inhibitör sistemleri aktive ederek analjezik etki oluştururlar. Supraspinal opioid reseptörlerin (gri cevher, nükleus raphe magnus ve locus coeruleus'ta bulunan reseptörler) aktive olması, omuriliğin dorsal boynuzunda nosiseptif bilginin işlenmesini inhibe eden-inen inhibitörük serotonerjik ve noradrenerjik yolların aktivitesini artırmaktadır (37).

2.4. Opioid Reseptörler

Opioid reseptörler, özellikle beyin ve omurilikte bulunur. Bunun yanı sıra, sinovyum, gastrointestinal sistem, uterus, idrar yolları ve lökositlerde buldukları bildirilmiştir (34). Opioid reseptör sistemi iştahın düzenlenmesi, termoregülasyon, solunumun kontrolü ve ağrı kontrolünde çok önemli rollere sahiptir (39). Bu reseptörler morfin gibi opiatların terapötik etkilerine aracılık eder. Normal şartlarda, bu reseptörler zararlı uyarılara yanıt olarak salınan endojen peptitlerce (endorfinler, enkefalinler ve dinorfinler) uyarılır (35).

Opiat reseptörler farklı şekillerde sınıflandırılmıştır. Bu sınıflamalar, geleneksel farmakolojik isimlendirme (Yunanca semboller), moleküler biyoloji isimlendirmeleri (MOR, KOR, DOR, NOR) ve Uluslararası Farmakoloji Tavsiyeleri

Birliği'nin (OP 1–3 sınıflandırması) önerdiği isimlendirmelerle yapılmıştır (35), (39). Endojen endorfinler μ -reseptörlerini, enkefalinler μ - ve δ -reseptörlerini, dinorfinler κ -reseptörlerini, nosiseptin/orfanin peptitler ise FQ/ORL-1 reseptörlerini aktive etmektedir (39). Dört ana tip opioid reseptör varlığına rağmen, morfin, metadon, fentanil ve oksikodon gibi çoğu opioid ajan analjezik etkilerini MOR'lar üzerinden gösterir. vPAG, RVM ve omuriliğin dorsal boynuzundaki MOR'ların ekspresyonu, opiat kaynaklı antinosisepsiyona ve opiat toleransının gelişimine katkıda bulunur (17).

Mu (μ) (agonist madde morfin): μ -opioid reseptörler esas olarak spinal (spinal kordta substantia jelatinoza) ve supraspinal (PAG, amigdala, korpus striatum, medial talamus ve hipotalamus) düzeylerdeki analjezide rol oynar (35), (39). Ayrıca, solunum depresyonu, öfori, sedasyon, gastrointestinal motilitenin yavaşlaması ve fiziksel bağımlılıktan sorumludurlar. μ -opioid reseptörlerin seçici agonistleri morfin, fentanil, sufentanil, methadon ve DAMGO'dur. Alt tipleri μ -1 ve μ -2'dir (35). μ -1 reseptörler supraspinal analjezide rol oynayan bölgelerde bulunur. Ayrıca, limbik sistem ve neokortekste, beyinde bulunan kolinerjik sinir sonlanmalarında ve dopaminerjik nöronlarda bulunur. μ -2 reseptörlerin analjezide rolleri olmadığı bilinmektedir. μ -1'lerin aktivasyonu derin analjezi, öfori ve dinginlikten sorumlu iken; μ -2'lerin aktivasyonu solunum depresyonu (hipoventilasyon), vagal tonus artışı (bradikardi), kaşıntı, prolaktin salınımı, fiziksel bağımlılık, anoreksi ve sedasyon ile ilgilidir (35), (39). μ reseptörlerine, OP3 veya MOR (morfin opioid reseptörler) da denir (35). Hücrenin farklı bölümlerinde (soma, dendrit ve terminaller) lokalize olan MOR'lar farklı fonksiyonel işlemlere sahiptir. Somatodendritik bölgede lokalize reseptörlerin aktivasyonu sonucu hücrenin uyarılabilirliği azalırken, terminal bölgede lokalize reseptörlerin aktivasyonu sonucu transmitter salınımı inhibe olur (33).

Kappa (κ) (agonist madde dinorfin-ketosiklazosin): Kappa reseptörler limbik ve diğer diensefalik alanlar, beyin sapı, ağrı duyusunu taşıyan akson uçları, talamus ve omurilikte bulunur (35). Bu reseptörlerin uyarılmasıyla spinal analjezi, hafif sedasyon, miyozis, dispne, bağımlılık, disfori, solunum depresyonu ve vagal aracılı bradikardi meydana gelir (35), (39). κ -opioid agonistler genellikle hafif ve orta şiddetteki ağrıların kontrolünde kullanılır. şiddetli ağrıların kontrolünde MOR'lar

kadar etkili olamasalar da, visseral organ ağrılarını hafifletebilirler (39). Kappa reseptörler, OP2 veya KOR (kappa opioid reseptörler) olarak da bilinir (35).

Delta (δ) (agonist madde delta-alanin-delta-lösin-enkefalin): Delta reseptörler beyinde bulunur, etkileri iyi çalışılmamıştır. Psikomimetik ve disforik etkilerden sorumlu oldukları düşünülmektedir. OP1 veya DOR (delta opioid reseptörler) olarak da isimlendirilirler (35).

Sigma (σ) (agonist madde N-allilnormetazosin): Sigma reseptörler psikomimetik etkilerden, disforiden ve stres kaynaklı depresyondan sorumludur. Günümüzde opioid reseptörler olarak değil, fensiklidin ve analogları için hedef bölgeler olarak kabul edilirler (35).

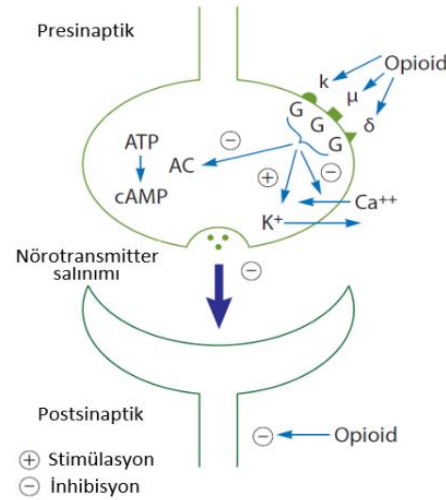
Endojen opioid veya endorfin reseptörlerin MSS'deki lokalizasyonları 1973'te keşfedilmiştir. Endojen opioid olan enkefalin ise 1975'te bulunmuştur. Opioidlerin MSS'deki konumları, onların nörotransmitter olarak işlev görmelerine olanak tanımaktadır. Bu sayede hormon salgılanması, termoregülasyon ve kardiyovasküler kontrolde rol oynarlar. Enkefalinler, pro-enkefalinden türetilir ve nispeten seçici δ ligandlardır. Endorfinler, pro-opiomelanokortinden türetilir ve μ -reseptörlere bağlanır. Dinorfinler ise pro-dinorfinlerden türetilir ve μ -reseptörlere oldukça seçicidir. 1995'te tanımlanan nosiseptinlerin (nosiseptin/orphanin FQ [N/OFQ]) (orfanin) ise güçlü hiperaljezik etkilere sahip olabileceği düşünülmektedir. μ , δ veya κ reseptörlerine çok az afiniteleri vardır. Nosiseptin reseptörleri ORL-1 (opioid reseptörü benzeri) olarak adlandırılır. Nosiseptin antagonistleri antidepresanlar ve analjezikler olabilir (35).

2.5. Opioidlerin Etki Mekanizmaları

Opioid reseptörler muskarinik, adrenerjik, GABA ve somatostatin reseptörlerin de dahil olduğu G-protein (guanin nükleotid-bağlayıcı protein)'ine bağlı reseptör ailesinin üyesidir. Bütün opioid reseptörler inhibitör G-proteinine kenetli halde bulunur ve adenil siklazı inhibe eder. Ayrıca, iyon kanallarını etkileyerek nöronal ateşlenmeyi ve nörotransmitter salınımını engellerler. Bu reseptörler voltaja duyarlı Ca^{+2} kanallarını kapatan, K^{+} akışını uyaran, cAMP oluşumunu azaltan (39), (40) hücre sinyal kaskatlarıyla bağlantılı yedi transmembran birimden oluşur (33), (41), (42).

Nosiseptif A- δ ve C liflerinin presinaptik terminallerinde bulunan opioid reseptörler aktive olduğunda, presinaptik nöronda bulunan voltaja duyarlı Ca^{+2} kanalları dolaylı olarak bloke olur. Ca^{+2} 'nın hücre içine girişi azalırken K^{+} 'nın hücre dışına akımı artar (39), adenil siklaz inhibe olur (42), (43), cAMP seviyeleri düşer (44) ve nosiseptif liflerden eksitatörük ağrı nörotransmitterlerinin (glutamat, P maddesi ve kalsitonin geni ile ilişkili peptid gibi) salınımı azalır (35). Tüm bunların sonucunda hücre hiperpolarize olur, nörotransmitter salınımı ve nöronal uyarılabilirlik azalır dolayısıyla da ağrı iletimi engellenir (37), (39) (Şekil 6).

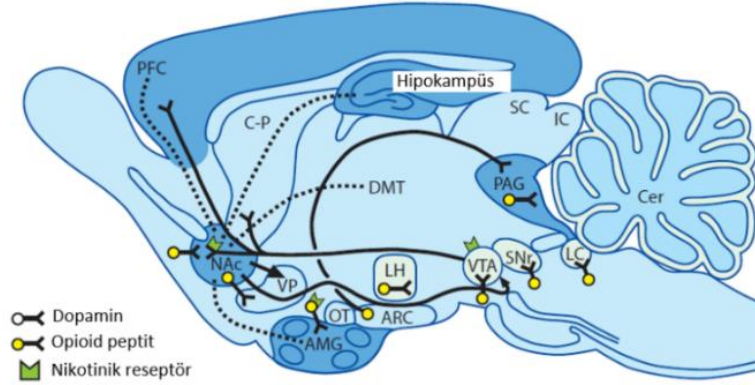
Opiat madde postsinaptik membrandaki reseptörüne bağlandığında, nörondan hücre dışına K^{+} çıkışı olur. Buna bağlı olarak nosiseptif nöronlarda ve nosiseptörlerde hiperpolarizasyon oluşur ve analjezi meydana gelir (34), (35). Opioid reseptör agonistleri $\mu 1$, $\mu 2$, $\delta 1$, $\delta 2$, $\kappa 1$ ve $\kappa 3$ opioid reseptörleri uyarmak suretiyle analjezik etkilerini ortaya çıkarmaktadır (35) (Şekil 6).



Şekil 6. Opioid maddelerin presinaptik ve postsinaptik bölgelerdeki etkileri (35).

Opioid agonistler ve endojen opioidler, ventral tegmental alanda bulunan GABAerjik nöronlar üzerindeki presinaptik opiat reseptörlerini aktive eder (Şekil 7). Opioid reseptörlerin aktive olması, GABAerjik nöronların inhibisyonuna neden olur. GABAerjik nöronların inhibe olmasıyla, dopaminerjik nöronlar daha güçlü şekilde ateşlenir ve bunun sonucunda nükleus accumbense (yapısında fazlaca dopamin reseptörü vardır) ekstra dopamin salınımı olur. Bu ekstra dopamin salınımı, kişiye

yoğun şekilde zevk verir (35). Dopaminerjik yolağın uyardığı nükleus akkumbensin, bağımlılığa sebebiyet veren maddelerin keyif uyandıran etkisini artırdığı belirlenmiştir.



Şekil 7. Opioid peptitlerin beyindeki etki bölgeleri (35).

2.6. Opioid Agonistler

Afyonun ana etken maddesi olan morfin 1803'te Sertumer tarafından izole edilmiştir. Morfinin laboratuvarında sentezlenmesi zordur. Buna karşın, morfinin sentetik türevleri kolaylıkla hazırlanabilmektedir. Tamamen sentetik bir opioid olan petidin (meperidin), ilk olarak 1939'da Eisleb ve Schaumann tarafından hazırlandı. Daha sonra başka sentetik bileşikler de üretildi. Bunların en önemlileri olan fentanil ve türevleri, yapısal olarak pethidine benzeyen fenilpiperidinlerdir (36).

2.7. Opioidlerin Sınıflandırılması

Opioidler, etki güçlerine göre güçlü ve zayıf olmak üzere iki gruba ayrılmıştır.

Güçlü Opioidler: Fentanil, alfentanil, remifentanil, sufentanil, morfin, diamorfin, hidromorfon, meperidin, oksikodon ve methadon.

Zayıf Opioidler: Kodein, dekstropropoksifen, hidroksidon ve tramadol (45).

Opioid ilaçlar etkinliklerine göre agonist, agonist/antagonist veya parsiyel (kısmi) agonist veya antagonist olarak sınıflandırılabilir. Afinite, reseptör ile reseptörüne bağlanan bileşik arasındaki etkileşim gücünün ölçüsüdür. Etkinlik, reseptöre bağlanma sonucunda oluşan etkiyi veya aktiviteyi temsil eder. Agonist

maddenin hem afinitesi hem de etkinliği varken; antagonist maddenin afinitesi vardır ancak etkinliği yoktur (35). Antagonist madde yüksek afiniteli bir reseptöre bağlanır, hiçbir etki oluşturmaz ancak agonistlerin (hem endojen hem de eksojen) bağlanmasını inhibe eder (34). Kısmi agonist maddenin ise afinitesi ve kısmi etkinliği vardır. Agonist, antagonist veya kısmi agonist bileşikler, opioid reseptörlere farklı derecelerde afiniteye ve etkinliğe sahip olabilir (35).

Agonistler: Fentanil, alfentanil, remifentanil, sufentanil, morfin, kodein, diamorfin, hidromorfon, meperidin, oksikodon ve metadon.

Kısmi Agonist, Agonist-Antagonistler: Pentazosin, nalbufin, butarfanol, buprenorfin, ketobemidon, tramadol.

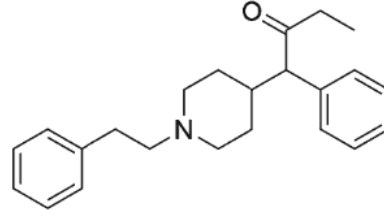
Antagonistler: Naltrekson ve naloksan (12), (34), (35), (39).

Opioidlerin çoğu hepatik konjugasyon yoluyla metabolize edilir ve oluşan opiat metabolitleri idrarla atılır. Karaciğer hastalığı (siroz v.b) olan hastalarda opioidlerin etki süresi uzar. Böbrek yetmezliği olan hastalarda ise ilacın veya aktif metabolitlerinin birikimi meydana gelebilir, bu durum da toksik etkilere yol açabilir. Bazı opioidler (fentanil, propoksifen, buprenorfin) yağda daha fazla çözünür ve vücudun yağ dokularında depolanabilir (46).

2.7.1. Fentanil

Fentanil parenteral, transdermal ve transbukkal preparatları olan tam bir opioid agonisttir. MOR'lara yüksek afinite gösterir. Bilinen en eski sentetik opioid olan piperidinin agonistidir (35). Potent bir analjezik maddedir. Fenilpiperidin türevi olan fentanilin morfinden 75-125 kat daha güçlü olduğu bildirilmiştir (39). Fentanil oldukça lipofilik bir madde iken; morfinin lipid çözünürlüğu çok düşüktür. Lipid çözünürlüğünün yüksek olması, fentanilin kan-beyin bariyerini kolaylıkla geçmesini ve merkezi sinir sistemine hızlıca ulaşmasını sağlar (36). Lipofilik yapısı sayesinde morfine göre daha hızlı etki eder ve hızlı elimine edilir (39). Tedavi edici indeksi oldukça yüksektir. Plazma proteinlerine güçlü şekilde bağlanır (35). Morfinden daha az bulantı ve kusmaya neden olmasının yanında, antiemetik etkisi vardır. İntravenöz, subkutan veya intramüsküler uygulanan fentanilin etki süresi uzun değildir (34). Küçük veya orta dozlarda (<10 µg/kg) uygulanan fentanilin etki süresinin kısa olduğu belirtilmiştir. Plazmadan dokulara hızlı şekilde dağılır ve aktivitesi hızlı sona

erer. İnsanlarda 10 µg/kg intravenöz uygulanan fentanil dozunun %99'u 60 dakika içinde plazmadan elimine edilir (36). Etki süresi doza ve uygulama yoluna bağlı olarak 30 dakika ila 2 saat arasındadır (34). Karaciğerde hidroksifentanil ve norfentanile metabolize olur. CYP3A4 tarafından inaktif ve toksik olmayan metabolitlere dönüştürülür (35). Primer metaboliti olan norfentanil, fentanilden daha az analjezik etkiye sahiptir (39). Kimyasal yapısı Şekil 8'da gösterilmiştir.



Şekil 8. Fentanilin kimyasal yapısı (47).

2.8. Opioid Toleransı

Opioid analjeziklerin kullanımı sonucu sedasyon, solunum inhibisyonu, kardiyovasküler depresyon, kognitif bozukluk, bulantı, kabızlık, kaşıntı ve analjezik tolerans gibi birçok yan etki oluşabilmektedir (48). Uzun süreli veya yüksek dozlarda opioid maruziyeti, zamanla ilaca verilen tepkide azalmaya sebep olur. Diğer bir deyişle, ilaç kullanımına ilk başlandığında kullanılan ilaç miktarının bir süre sonra aynı düzeyde etki oluşturamadığı görülür. Tolerans adı verilen bu fenomen, bir ilacın veya tedavinin zaman içinde in vivo potensinin (doz-yanıt eğrisinin sağa kayması) kaybıdır. Tolerans, opioidlerin birçok etkisine karşı hızla gelişebilmektedir. Bir ilaca tolerans geliştikten sonra, yeterli analjezi sağlamak için daha yüksek dozda opiat maddeye ihtiyaç duyulur (3), (34), (49).

Tolerans tipleri öğrenilmiş, farmakokinetik ve farmakodinamik olacak şekilde üç gruba ayrılmıştır. Öğrenilmiş tolerans geliştirmiş bir bireyde, kişi ilacı kullanırken bazı davranışları öğrenir ve onları uygulayabilir. Örneğin, opioid bağımlısı biri sarhoş olmasına rağmen normal davranmayı (örneğin düz bir çizgide yürümeyi) öğrenir (49). Diğer bir tolerans tipi olan farmakokinetik tolerans, ilacın emilimi, dağılımı, biyotransformasyonu veya eliminasyonundaki değişikliklere bağlı olarak

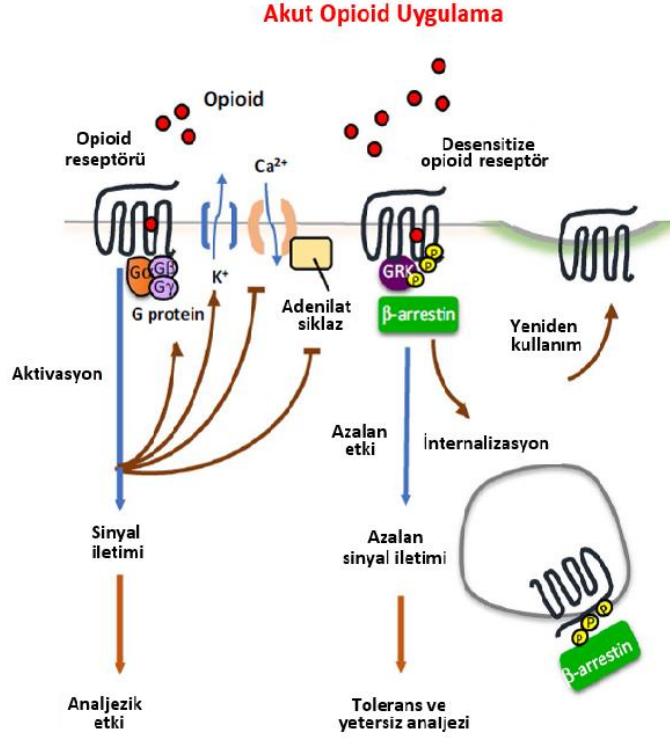
konsantrasyonunda meydana gelen değişiklik şeklinde tanımlanır. Bu tolerans subsellüler veya hücresele düzeyde reseptörlerin, ikincil haberci sistemlerin ve iyon kanallarının duyarlılığında meydana gelen değişiklikler sonucunda oluşur (50). Opioidlerle ilgili en önemli toleransın, üçüncü tip olan farmakodinamik tolerans olduğu düşünülmektedir. Farmakodinamik toleransta, hücre ve reseptörlerin opiat maddeye sürekli maruz kalması sonucunda hücresele uyum gelişir ve opioid reseptörlerinde nöroadaptif değişiklikler meydana gelir (opiat reseptör yoğunluğundaki değişiklikler, sinyal iletim yollarında ve G-proteinine kenetli opioid reseptörlerindeki değişiklikler) (49). Reseptör sayısında, duyarlılığında ve diğer hücre içi yapıların yanıt verme yeteneğinde azalma olur. Reseptör işleminde meydana gelen bu azalmanın insanlarda opioid tolerans ve bağımlılığına katkıda bulunduğu varsayılmaktadır (51).

Yapılmış araştırmalar farmakodinamik toleransa aracılık eden hücresele ve moleküler mekanizmalar hakkında bilgi sahibi olmamızı sağlamıştır. Opioid toleransı iki farklı şekilde gerçekleşmektedir (49). Birincisi, reseptör düzeyinde meydana gelir. Opioidlerin uzun süreli ve/veya tekrarlanan dozlarda uygulanması sonucu, reseptör aktivasyonu azalır ve reseptörlerde desensitizasyon (duyarsızlaşma) gelişir (49), (50). Reseptörlerin duyarsızlaşması görüşü, klasik opioid toleransı hipotezinin temelini oluşturur (49). Reseptör işlemindeki azalma (1) duyarsızlaşma, (2) internalizasyon, (3) tutma ve (4) down-regülasyon şeklinde gelişir. Down-regülasyon, reseptör degradasyonundaki (yıkımındaki) artış veya reseptör sentezindeki azalış sonucunda protein yapıdaki reseptörlerin sayısındaki azalmadır. Tolerans gelişiminin altında yatan moleküler olaylar, reseptörlerde meydana gelen bu mekanizmalarla ilişkilendirilmiştir (51). Hücre yüzeyinde bulunan opiat reseptörler, transkripsiyonda meydana gelen azalma ve bunu takiben opioid reseptör sayısındaki azalma, endositozla hücre yüzeyinden hücre içine reseptörün alınması (internalizasyon) dolayısıyla hücre yüzeyindeki opioid reseptör sayısının azalması ve opiat reseptörlerin bağlı buldukları G-proteinlerinden ayrılması gibi mekanizmalarla yavaş yavaş duyarsızlaşmaktadır. Fakat tolerans gelişiminin esas nedeni olduğu düşünülen bu klasik hipotez kanıtlanmamıştır. Farmakodinamik toleransın ikinci mekanizması, cAMP'nin up-regülasyonudur. Opiatlar akut dönemde cAMP sentezini katalizleyen adenil siklaz enzimini bloke ederek, cAMP yolunun

aktivitesini inhibe eder. Buna karşın, opiatlara uzun süre maruz kalındığında cAMP yolu yavaş yavaş eski aktivitesini gerçekleştirebilir duruma gelir; bunun sonucunda ilaca karşı tolerans gelişir. Artan cAMP sentezinin, fiziksel bağımlılık ve yoksunluktan sorumlu olabileceği düşünülmektedir. Reseptöre opiat maddenin bağlanması aniden kesilirse, cAMP aktivitesi başlangıç seviyelerinin çok üzerine çıkar. cAMP'nin up-regülasyonu beyinde (loqus seruleusta) gösterilmiştir. Up-regülasyonun gösterildiği diğer alanlar: PAG, nukleus akumbens, ventral tegmental alan, amigdala, omuriliğin dorsal boynuzu ve bağırsağın myenterik plexusudur. Spinal kordun dorsal boynuzunda meydana gelen cAMP up-regülasyonunun opiat analjezisine karşı gelişen toleranstan sorumlu olduğu düşünülmektedir (49).

Opioidler kısa süreli uygulandıklarında, G-proteinine bağlı opioid reseptör aktive olur. $G\alpha$ birimi $G\beta\gamma$ alt birimlerinden ayrılır, K^+ kanalları aktive olur, voltaj kapılı Ca^{+2} kanalları ile adenil siklaz inhibe olur. Adenil siklazın inhibe olması, cAMP oluşumu üzerinde inhibitörük etkilidir. cAMP-bağımlı protein kinaz A aktivitesi ve cAMP yanıt elemanı bağlayan protein (cAMP response element binding protein) fosforilasyonu azalır (3), (41). Hücrede hiperpolarizasyon meydana gelir ve nörotransmitter salınımı azalır. Bunun sonucunda antinosisepsiyon meydana gelir (3).

Opioidler uzun süreli uygulandıklarında, adenilat siklaz ve cAMP'ye bağımlı protein kinaz aktivitelerinde artış meydana gelir (44). cAMP up-regüle olur ve G-proteini reseptör kinaz (GRK)'lar aracılığıyla reseptör fosforilasyonu meydana gelir (3). Fosforilasyon sonrası reseptörlerde konformasyonel değişim olur ve reseptörlerin sitozolik β -arrestin proteinlere (reseptör duyarsızlaştırma proteindir, G-proteini kenetli reseptörlere agonist olarak bağlanır ve reseptörün G-proteinle bağlanmasını engeller) afinitesi artar (41). Fosforile olan reseptörün, down regülatörlerden biri olan β -arrestin proteini ile bağlanması sonucunda internalizasyon, bozulma ve membran reseptör sayısında azalma meydana gelir. β -arrestine bağlı reseptörde reseptör aktivasyonu durur ve hücre içi sinyal iletimi olmaz (3). Reseptör fosforilasyonu ve bunu takiben meydana gelen reseptör internalizasyonunun, reseptör sayısını azaltmak suretiyle tolerans gelişimine doğrudan katkıda buldukları görüşü uzun zamandır kabul görmektedir (41). Opioid reseptör sinyali Şekil 9'da gösterilmiştir.



Şekil 9. Opioid reseptörün akut tedaviye verdiği yanıt sinyali (3).

2.9 Opioid Tolerans Mekanizmasında İnen Sistemlerin Rolü

Orta beyinde bulunan PAG bölgesi, opioidlerin merkezi sinir sistemindeki analjezik etkilerinde kilit rol oynamaktadır (3). Opioidler, GABAerjik hücre gövdelerine ve sinaps bölgelerine direkt etki ederek GABAerjik aktiviteyi inhibe eder. Bu sayede PAG içerisindeki analjezi sistemi aktive olur (3), (17), (52). PAG’da meydana gelen bu GABAerjik disinhibisyon, birbirinden bağımsız iki mekanizma ile gerçekleşir. Birincisi GABAerjik nöronların direkt postsinaptik inhibisyonudur. İkincisi ise sinir terminallerinden GABA salınımının presinaptik inhibisyonudur. Bu bağımsız mekanizmalar, PAG’dan medulla spinalis dorsal boynuzuna inen analjezi sisteminin aktivasyonunu kolaylaştıran önemli inhibisyonlardır (3).

vPAG'a morfin ve fentanil uygulandıktan sonra antinosiseptif toleransın hızla geliştiği belirlenmiştir (53). Yapılan araştırmalar, opioid toleransın PAG’da bulunan GABAerjik nöronlarda meydana gelen değişikliklerden kaynaklandığını düşündürmektedir. Literatürde bu düşüncüyü destekleyen veriler vardır. PAG veya

RVM'ye uygulanan morfin antinosisepsiya neden olmuştur. PAG bölgesine tekrarlayan şekilde enjekte edilen morfin, toleransa sebep olurken; RVM'ye tekrarlayan şekilde enjekte edilen morfinin tolerans gelişimine neden olmadığı bildirilmiştir (17), (21). PAG bölgesindeki MOR'lar inhibe edildiğinde ise sistemik uygulanan morfine karşı tolerans gelişmediği görülmüştür. Ayrıca, PAG bölgesine direkt morfin uygulandığı sırada bir GABA agonisti kullanılarak RVM inhibe edildiğinde de morfin toleransının geliştiği belirlenmiştir. Bu verilerden yola çıkarak, PAG bölgesindeki MOR'ların opioid tolerans gelişimi için gerekli ve yeterli olduğu ifade edilmiştir. Bunun yanı sıra, RVM'nin opioid toleransında rol oynadığı ama RVM'ye doğrudan yapılan enjeksiyonların PAG bölgesine yapılan enjeksiyonlara kıyasla daha az tolerans gelişimine yol açabileceği bildirilmiştir (17). Opioidlere uzun süre maruz kalındığında ise, PAG bölgesindeki GABAerjik sinirlerde postsinaptik ve GABAerjik sinir terminallerinde presinaptik inhibisyonun azaldığı raporlanmıştır (3).

Opioidlerin, Nmetil-D-aspartat reseptörleri antagonize ederek beyin sapından inen serotonin ve noradrenalin ağrı yollarını aktive edebileceği öne sürülmüştür (35). Ayrıca, MOR'ların aktive olmasıyla LC nöronlarında aksiyon potansiyeli oluşumunu doğrudan engelleyecek olan K⁺ kapılarının açıldığı da belirtilmiştir (52).

2.9.1. Ağrı Modülasyonunda Noradrenerjik Sistem

Noradrenerjik sistem, ağrının düzenlenmesinde önemli rol oynar ve inen analjezi sistemde önemli yeri vardır (28). NE, nosisepsiya ve analjezinin modülasyonunda rol alan önemli bir nörotransmitterdir (54). NE'nin ana kaynağı periferde bulunan sempatik sinirler ve beyinde bulunan noradrenerjik A1-A7 beyin sapı çekirdekleridir. A5-A7 hücre gruplarının, omuriliğe inen önemli noradrenerjik projeksiyonları vardır. Ponsa bulunan A5, A6 ve A7 nükleuslardan köken alan noradrenerjik nöronlar, spinal kordun arka boynuzuna projeksiyonlar yapar. Bu nükleusların stimülasyonu ile NE salınır ve antinosisepsiya meydana gelir (25).

Ponsa dördüncü serebral ventrikülün rostralinde tabana yakın bulunan LC, noradrenerjik bir nükleustur (55). Bu bölgede, merkezi sinir sistemindeki total NE'nin %70'inin kaynağı olan (55) noradrenerjik nöron gövdeleri bulunur (54). Bu nedenle, LC nosiseptif nörotransmisyonun önemli bir modülatörü olan inen

medullospinal noradrenerjik yolun çıkış yeridir (23). Bu nükleus, merkezi sinir sisteminin çoğu bölgesine projeksiyonlar gönderir (56). LC'den çıkan noradrenerjik lifler, serebral ve serebellar korteksi, beyin sapını ve medulla spinalisi innerve eder (55). Beyin sapından köken alan inen noradrenerjik liflerin hem antinosisepsiyonda hem de spinal nosiseptif iletimin inhibisyonunda rol oynadığı gösterilmiştir (56).

Antinosiseptif inen yollardan salınan NE'nin omurilikte ağrı iletimini üç yolla inhibe ettiği bildirilmiştir. (1) Primer afferent nosiseptörlerin (A ve C) terminallerinde bulunan α -2A AR'leri etkileyerek (presinaptik inhibisyon), (2) ağrı iletimini taşıyan nöronlar üzerindeki α -2 AR'leri direkt etkileyerek (postsinaptik inhibisyon) ve (3) α -1 AR'ler aracılığıyla inhibitörük internöronları aktive ederek ağrıyı baskılamaktadır (57).

Sıçanlara intratekal uygulanan NE ve α -AR agonistlerin doz bağımlı antinosiseptif etkili oldukları bildirilmiştir. Sıçan lokus coeruleus/subcoeruleus nükleuslarının elektriksel stimülasyonu sonucunda oluşan TF yanıtının, selektif α -2 AR bloker yohimbin ve non-selektif adrenerjik antagonist fentolamin ile zayıflatıldığı ama selektif α -1 AR antagonist prazosinden etkilenmediği gösterilmiştir. Araştırmacılar bu sonuçlara dayanarak, spinal TF refleks yanıtının noradrenerjik postsinaptik α -2 AR aracılı olduğunu ifade etmişlerdir (56).

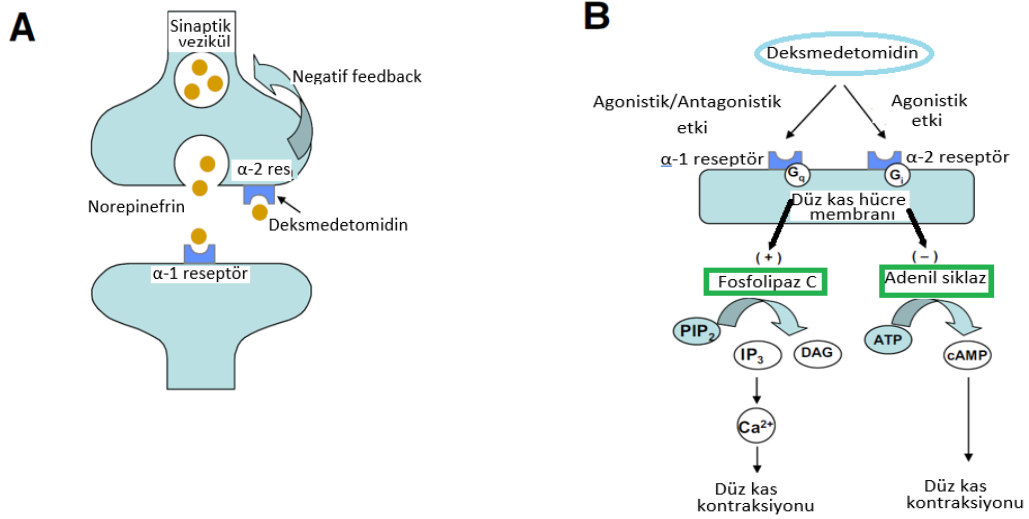
2.9.1.1. α -2 Adrenoseptörlerin Antinosiseptif Rolü

Adrenerjik reseptörler α -1 ve α -2 AR'ler olmak üzere bütün vücutta dağılmış durumdadır. Adrenoseptörler olarak da adlandırılan adrenerjik reseptörler (ya da katekolamin reseptörleri), G-proteinine kenetli reseptör ailesindedir. Bu membran reseptörlerine ligand bağlandığında G-proteini aktive olur (böylece hücre membranı bir ya da birden fazla iyon geçiren hale gelir) ve/veya reseptöre bağlı bir enzim aktive olur. Gs proteinler adenil siklaz enzimini aktive ederken; Gi proteinler adenil siklaz enzimini inhibe eder. Gq proteinler ise fosfolipaz C'yi aktive eder (58). Katekolamin reseptörler α ve β adrenoseptörler olmak üzere başlıca iki kategoriye ayrılır. α -adrenoseptörlerin alt tipleri 1A, 1B, 1D, 2A, 2B ve 2C; β -adrenoseptörlerin alt tipleri β -1, β -2, β -3 olarak belirlenmiştir (57). Adrenerjik reseptörlerin tümü katekolaminler tarafından aktive edilebilir (58). α AR'ler, NE'nin ağrı modülasyonundaki etkilerine aracılık etmede kilit role sahiptir. Buna karşın, β

AR'lerin daha çok epinefrin kaynaklı ağrı modülasyonuna aracılık ettikleri öne sürülmüştür (57).

Noradrenerjik nöronlarda bulunan adreseptörlere otoreseptörler; noradrenerjik olmayan nöronlarda bulunan adreseptörlere heteroreseptörler denir (22). Genel olarak, somatodendritik alanda bulunan noradrenerjik otoreseptörler, nöronların impuls deşarjını inhibe eder. Akson terminallerindeki noradrenerjik otoreseptörler ise NE salınımını inhibe eder).

Adreseptörlerin etkilerine genellikle G-proteinler aracılık eder. α -1 AR'ler santral sinir sisteminde sadece postsinaptik bölgelerde bulunur ve fosfolipaz C enzimini aktive eden uyarıcı Gq proteinlere(59) bağlanır. Bağlanma sonucu ikincil haberci inositol trifosfat oluşur ve endoplazmik retikulumdan sitozole kalsiyum salınır (57). Bu durum, protein kinaz C yoluyla enzimlerin fosforilasyonuna, iyon kanallarında değişikliğe ve hücrenin içine-dışına elektrolit akışına sebep olur (58), (Şekil 10).



Şekil 10. DEX'in, (A) merkezi sinir sisteminde presinaptik α -2 adrenerjik reseptörler ve (B) düz kas hücrelerinde bulunan α -1 ve α -2 adrenerjik reseptörler üzerindeki etkileri. PIP₂: fosfatidilinositol-4,5-bisfosfat; IP₃: inositol 1,4,5-trifosfat; DAG: diasilgliserol; Gq: fosfolipaz C aktive edici heterotrimerik G-proteini; Gi: adenil siklaz aktivitesini inhibe eden G-proteini (60).

α -2 AR'ler daha çok presinaptik bölgelerde olacak şekilde hem presinaptik hem de postsinaptik bölgelerde bulunur. Santral sinir sisteminde bulunan postsinaptik α -2 AR'lerin aktive olması, sempatik aktivitenin inhibisyonuna, kan

basıncı ve kalp atım hızında düşüşe sebep olur (sedatif ve anksiyolitik etkisi bu aktivite sonucu meydana gelir) (58). Medulla spinaliste bulunan α -2 AR'lerin uyarılmasıyla analjezi meydana gelir (23), (61). Omuriliğin dorsal boynuz nöronlarında bulunan α -2 AR'ler, P maddesi gibi nosiseptif nörotransmitterlerin salınımını engeller (62). KLO ve DEX gibi α -2 AR agonistler, adrenerjik sinapslarda etki gösteren ağrı yönetiminde etkili ajanlardır (54).

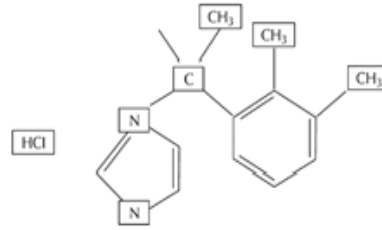
Sempatik sinir sonlanmalarında (adrenerjik sinir terminallerinde) lokalize presinaptik α -2 AR'ler, inhibitörük Gi proteinlere bağlanır ve adenil siklazı inaktive ederek (adenil siklaz aktivitesinin inhibisyonu) adenosin trifosfattan siklik adenosin monofosfat üretimini azaltır (58); Na^+/H^+ antiport mekanizmasını, Ca^{+2} veya K^+ kanalları gibi iyon kanallarının aktivitesini doğrudan değiştirerek hücrel aktiviteyi etkiler (57), (59), (63). Adrenerjik sinir terminallerinde lokalize presinaptik α -2 AR'lerin aktive olmasıyla Ca^{+2} iyonlarının nöron içine girişi azalır, NE içeren depo veziküllerin ekzositozu sınırlanır ve nörondan sinaptik aralığa NE salınımını engelleyen negatif feedback döngüsü başlar. Dolayısıyla ağrı sinyallerinin yayılımı engellenir (20), (49), (54) (Şekil 10). 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, α -1 AR'ler ağrı iletiminde eksitatorük etkili iken; α -2 AR'ler inhibitörük etkilidir (64). KLO'nun oluşturduğu antinosiseptif etkinin ATP-bağımlı K^+ kanal blokerleri tarafından antagonize edildiği gözlenmiş olup, K_{ATP} kanalları ile α -2 AR'lerin aktivasyonu ile oluşan antinosiseptif etki arasında ilişki olduğu ifade edilmiştir (65), (66).

α -2 AR agonistler veteriner anestezi ve analjezisinde yaygın olarak kullanılan ajanlardır (59). Günümüzde anestezi ve ağrı tedavisinde kullanılan spesifik α -2 AR agonistler arasında DEX, KLO ve tizanidin yer almaktadır (63). Bilimsel çalışmalarda, α -2 AR agonistlerinin antinosiseptif etkileri (67), (68), (69), (70), (71) ve farklı ajanların analjezik etkilerini güçlendirme özelliklerinin olduğu rapor edilmiştir (6), (72), (73).

2.9.1.1.1. Deksmetomidin

DEX geniş farmakolojik spektrumuna sahip, hem sedatif hem de analjezik etkileri olan çok güçlü ve oldukça seçici bir α -2 AR agonist maddedir (74).

Moleküler formülü $C_{13}H_{16}N_2-HCL$; moleküler ağırlığı 200'dür (75). Şekil 11'de DEX'in kimyasal formülü verilmiştir. Suda tamamen çözünür. Farmakolojik olarak medetomidinin aktif dekstro izomeridir (62). Plazma proteinlerine (albümin, $\alpha 1$ glikoprotein) bağlanma oranı %94, eliminasyon yarı ömrü 2 saattir. Karaciğerde metabolize olur, idrar (%95) ve feçesle (%5) atılır. $\alpha-2 / \alpha-1$ reseptörlerine 1620/1 oranında bağlanır (74). Detomidin (260/1) ve ksilazinden (160/1) çok daha seçicidir. DEX, $\alpha-2$ AR'lere KLO'dan sekiz kat daha güçlü bağlanır (74) ve KLO'dan çok daha kısa sürede etki gösterir (63), (76). KLO, $\alpha-2$ AR'ler üzerinde parsiyel agonist etkili iken; DEX, tam agonisttir. Sedatif, anksiyolitik ve kas gevşetici özellikleri onu veterinerlik tıbbında popüler bir yatıştırıcı ajan yapmaktadır. Veteriner hekimlikte premedikasyon için birçok türde anestetik maddeye ilave olarak kullanılmaktadır (22). DEX'in, KLO'ya kıyasla ağrı kontrolünde daha etkili olduğu (77) ve aynı güçteki medetomidinin oluşturduğu analjeziden daha uzun süreli analjezi sağladığı raporlanmıştır (22).



Şekil 11. Deksmetomidinin kimyasal yapısı (76).

DEX, ABD'de yoğun bakım hastalarında sedasyon oluşturmak amacıyla kullanım izni almıştır. Cerrahi girişim sonrası entübe edilerek mekanik ventilatöre bağlanan hastalarda sedasyon ve analjezi sağlamada klinik etkinliği göstermiştir ve iyi tolere edilmektedir (78). İntravenöz, transdermal, intramusküler, subkutan, oral, bukkal veya intranasal yollardan emilimi gerçekleşmektedir (77). Sedasyon oluştururken minimal düzeyde solunum depresyonu yaptığı için, opioidlere göre önemli terapötik avantaja sahiptir (66), (74). Bu sayede, obstrüktif hava yolu obstrüksiyonu olan hastalarda güvenli bir şekilde uygulanabilmektedir (77).

$\alpha-2$ AR'ler hem spinal hem de supraspinal seviyelerde bulunmaktadır (79). Beyinde $\alpha-2$ AR'lerin en yoğun bulunduğu yer, beyin baskın noradrenerjik nükleusu ve uyanıklığın modülatörü olan LC'dir (23). DEX, sedatif ve hipnotik

etkilerini, beyin sapındaki LC'de bulunan α -2 AR'ler üzerinden gösterir. Beyinde, α -2 AR'lerin aktive olması sonucunda adenil siklaz inhibe olur, cAMP miktarı azalır, potasyum kanallarından K^+ akışı artar, kalsiyum kanallarından Ca^{+2} girişi azalır, membran iyon iletkenliği değişir ve hücre hiperpolarize olur. Bu da LC'deki nöronal ateşlenmeyi ve noradrenerjik aktiviteyi baskılar. Laboratuvar hayvanlarına hipnotik dozda uygulanan DEX, LC'den NE salınımını inhibe eder (74). İnsanlarda, DEX dozu kademeli olarak artırıldıkça sedasyon daha da derinleşmektedir (63).

α -2 AR agonistlerin sedatif ve anksiyolitik etkilerine LC'deki supraspinal otoreseptörler aracılık ederken (63), analjezik etkilerine daha çok spinal kordun dorsal boynuzunda bulunan heteroreseptörler aracılık eder (22). Pertovaara ve ark. (80), selektif bir α -2 AR agonist olan medetomidinin analjezik ve sedatif etkilerini farklı bölgelerdeki α -2 AR'ler üzerinden gerçekleştirdiğini göstermiştir. Medetomidinin antinoseptif etkisi spinal α -2 AR'lerle, sedatif/hipolokomotor etkisi LC'da bulunan α -2 AR'lerle ilişkilendirmişlerdir.

DEX, hem spinal hem de supraspinal seviyelerde analjezik etkilere sahiptir (22), (81). Antinoseptif etkisini periferik, spinal ve supraspinal bölgelerde bulunan α -2A AR'lere bağlanarak ortaya çıkarır (23), (66), (77). α -2A AR'lere olan spesifitesi, KLO'dan çok daha etkili sedatif ve analjezik ajan olma nedenidir. Omuriliğin dorsal boynuzunda bulunan substantia jelatinozada, noreseptif nöronların ateşlenmesini ve noreseptif bir nörotransmitter olan P maddesinin salınımını engelleyen α -2 AR'ler bulunmaktadır (23). DEX'in omurilikteki α -2 AR'leri doğrudan uyardığı ve noreseptif nöronların ateşlenmesini engellediği gösterilmiştir. Presinaptik bölgede bulunan reseptörler aktive olduğunda, primer afferent liflerden katekolamin salınımını inhibe olur (77). Omurilik seviyesinde, postsinaptik α -2 AR'lerin uyarılmasıyla noreseptif nörotransmitter (glutamat ve P maddesi) salınımını azalır (35) ve G-protein aracılı K^+ kanallarından K^+ çıkışı meydana gelir. Spinal internöronların hiperpolarizasyonu sonucu noreseptif nörotransmisyon inhibe olur ve analjezi oluşur (22), (66).

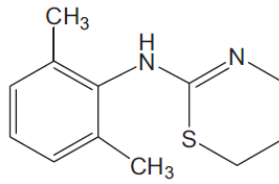
2.9.1.1.2. Ksilazin

KSL ilk olarak 1962'de sentezlenmiş, hipertansif sıçanlarda kan basıncını düşürdüğü ve bradikardi yaptığı gösterilmiş bir α -2 AR agonistidir (82). Moleküler

formülü $C_{12}H_{16}N_2S$, moleküler ağırlığı 220'dir. Oral, inhalasyon ve enjeksiyon yoluyla intravenöz, intramüsküler veya subkutan uygulanabilir. Genç sıçanlarda yarılanma ömrü bir saattir (83). Şekil 12'de KSL'in kimyasal yapısı gösterilmiştir. Veterinerlik hekimlikte sedasyon ve analjezide en çok kullanılan ajanlardan biridir (59).

Antinosiseptif etkisi ilk olarak, Bentley ve ark. (84) tarafından farelerde asetik asitle indüklenen kıvrınma testinde belirlenmiştir. Daha sonra yapılmış birçok çalışmada, KSL'nin analjezik etkinliği gözlenerek araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir (85), (86), (87), (88). Sıçanlara intratekal uygulanan KSL, DEX, KLO ve guanfasinin TF, HP ve tail pinch testlerinde doz bağımlı antinosisepsiyon oluşturdukları saptanmıştır (43). Bir alkaloid olan yohimbin ile antagonize edilebilen KSL'nin, supraspinal, spinal ve periferel antinosisepsiyon yaptığı tespit edilerek, antinosiseptif etkisinin α -2 AR aracılı olduğu bildirilmiştir (82).

KSL'nin periferel antinosiseptif etkisine K^+ kanallarının olası katkısının araştırıldığı bir çalışmada, analjezik etkinin ATP duyarlı K^+ kanallarının aktivasyonu ile oluştuğu gösterilmiştir. Yine aynı çalışmada, KSL analjezisinde voltaja duyarlı K^+ kanallarının ve Ca^{+2} ile aktive olan K^+ kanallarının rollerinin olmadığı bildirilmiştir (89). KSL'nin periferel antinosiseptif etkisinde α -2 AR'lerin rollerini görmek amacıyla yohimbin uygulanmış ve KSL'nin periferel antinosiseptif etkisinin tersine çevrildiği gözlenmiştir (84), (85).

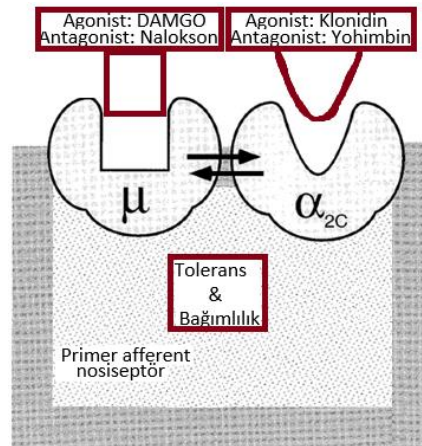


Şekil 12. Ksilazinin kimyasal yapısı (59).

2.10. α -2 Adrenoseptörler ile Opioid Reseptörler Arasındaki Etkileşim

Hem adrenerjik hem de opioid reseptörler, G-proteinine bağlı reseptörlerin rodopsin ailesine aittir (38). Benzer ikincil haberci sistemlerini (sinyal iletim yollarını) kullanır ve nosiseptif sistemi etkilerler. Bu reseptörler, spinal kord seviyesinde nörotransmitter salınımının engellenmesi gibi birçok biyolojik yanıtta

görev almaktadır (90). Farelere uygulanan opioid agonistler ile adrenerjik agonistlerin, P maddesinin indüklediği davranışsal nosiseptif yanıtları inhibe ettiği rapor edilmiştir (91). Daha önce yapılmış çalışmalarda, adrenoseptörler ile opioid reseptörler arasındaki etkileşime dikkat çekilmiştir (92), (93). Omuriliğin dorsal boynuzu, opioid ve α -2 adrenerjik mekanizmalar arasındaki antinosiseptif sinerjizm için önemli bir bölgedir (37). Jordan ve ark. (90), opioid reseptörler ile α -2 AR'ler arasındaki fiziksel etkileşimi ve bu etkileşimden doğacak sonuçları değerlendirmiştir. Çalışma bulgularına dayanarak, opioid reseptörler ile α -2 AR'ler arasında fiziksel etkileşimin olduğunu ve bu etkileşimin, opioid ve adrenerjik ilaçların analjezik etkileri bakımından önemli olabileceğini ifade etmişlerdir. Sıçan lomber kordunda α -2 AR'lerin ve opiat bağlanma bölgelerinin araştırıldığı bir çalışmada, dorsal boynuzun aynı katmanında hem opioid reseptörlerin hem de α -2 AR'lerin bulunduğu gösterilmiştir. Ayrıca, α -2 AR'ler ile opioid reseptörlerin sıçan omuriliğinde nosiseptif iletim modülasyonunda etkileşime girebilecekleri ifade edilmiştir (68). Bentley ve ark. (94), opioid agonistlerin efektör bir mekanizma ile α -AR'leri aktive ettiğini ileri sürmüştür. Ayrıca, bu reseptörlerin hücre membranında fiziksel etkileşime girdiklerini veya ikincil haberci sistemler aracılığıyla bağlantı kurduklarını belirtmişlerdir (Şekil 13). Stone ve ark. (95) ise, α -2A AR'leri olmayan farelere uyguladıkları morfinin, normal farelere göre, spinal analjezik etkinliğinin düşük olduğunu gözlemlemiştir. Çalışma sonuçlarına dayanarak, α -2A AR'lerin spinal analjezide oldukça önemli reseptörler olduklarına vurgu yaparak, opioidlerle analjezik sinerjizmdeki rollerine dikkat çekmişlerdir.



İnsanlarda opioid analjezisini desteklemek ve istenmeyen yan etkileri en aza indirmek için, α -2 AR'lerin uygun yardımcı maddeler oldukları düşünülmektedir (59), (63). Yapılmış birçok çalışmada, opiat analjezisinde α -AR agonistlerin rolü olduğu gösterilmiştir. α -2 AR agonistlerin, opiatlar gibi maddelerin analjezik etkinliğini artırabildiğine dair kanıtlar vardır (5), (6), (97), (98), (99). İntratekal uygulanan morfinin C lifleri üzerindeki inhibitörük etkisinin KLO tarafından güçlendirildiği gösterilmiştir (68). Oral uygulanan KLO ve epidural uygulanan morfin kombinasyonunun, büyük jinekolojik ameliyatlardan sonra yan etkilerin insidansını artırmaksızın, her iki ilaca göre daha güçlü ve daha uzun süreli postoperatif analjezi oluşturduğu bildirilmiştir (100).

Opioidlerin antinosiseptif etkisinin α -2 AR antagonistlerden etkilendiğini gösteren çalışmalar vardır. Sıçanlara intratekal uygulanan ve tail-flick latansını uzatan FEN'in antinosiseptif etkisi, intratekal uygulanan idazoksan (seçici α -2 AR antagonist) tarafından doz bağımlı şekilde baskılanmıştır (101). Benzer şekilde, morfinin analjezik etkisi MK-467 (5) ve yohimbin (102), (103), (104) (α -2 AR antagonistler) ile zayıflatılmıştır. Bunun yanı sıra, α -2 AR agonistlerin antinosiseptif etkileri üzerine opioid antagonistleri de etkili olmaktadır. α -2 AR agonist maddenin indüklediği antinosisepsiyon, opioid blokör nalokson tarafından zayıflatılmıştır (105), (106). Eldeki veriler, opioid reseptörler ile α -AR'ler arasında bağlantı olduğu görüşünü destekler niteliktedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Ege Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 22/04/2020 tarihli ve 2020-053 sayılı kararla onaylanarak (Ek-1), Ege Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi (EGE HAYMER)'nde gerçekleştirilmiş ve İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir.

3.1. Deney Kurgusu

3.1.1. Deney Hayvanları ve Laboratuvar Koşulları

Bu çalışmada, aynı jenerasyonda 8-10 haftalık, ağırlıkları 300-350 gram arasında değişen Wistar-Albino cinsi 48 adet erişkin erkek sıçan kullanıldı. Hayvanlar EGE HAYMER'den temin edildi ve deney süresince standart laboratuvar koşullarında tutuldu. Her kafese 4 hayvan yerleştirildi ve 12:12 saat aydınlık/karanlık siklusuna uyuldu. Ortalama $21 \pm 3^{\circ}\text{C}$ oda ısısında ve $\%50 \pm 5$ oranında nem içeren laboratuvar koşullarında barındırıldı. Sıçan refahına dikkat edildi ve bakımları aynı laboratuvar ortamında sorunsuz şekilde yapıldı. Beslenmeleri için standart pelet yem ve musluk suyu kullanıldı. Tüm sıçanlar ad libitum beslendi.

3.1.2. Çalışma Grupları

Bu çalışmada kırk sekiz adet sıçan kullanıldı. Her grupta sekiz adet olacak şekilde randomize altı gruba ayrıldı. (FEN+DEX grubundan bir, FEN+KSL grubundan iki adet hayvan kaybı olduğu için değerlendirmeler kırk beş hayvan üzerinden yapıldı). Kontrol, FEN, DEX, KSL, FEN+DEX ve FEN+KSL olacak şekilde gruplama yapıldı. Tüm sıçanlar, ilk iki gün iki doz (sabah 10:00 ve akşam 19:00'da), üçüncü gün tek doz (sabah 10:00'da) salin ya da ilaç aldı.

Bu çalışmada, nosiseptif test modellerinden termal akut ağrı testleri olarak sıkça tercih edilen hot-plate ve tail-flick testleri kullanıldı. Motor koordinasyon değerlendirmeleri için ise rotarod testi kullandı. Tüm testler birbirini takip eden üç gün boyunca her sabah yapıldı. Deney gruplarının nosiseptif testlerinin baseline ölçümü enjeksiyondan hemen önce alınırken, diğer ölçümler enjeksiyondan sonraki

15, 30, 60, 90 ve 120. dakikalarda alındı ve saniye cinsinden kaydedildi. Rotarod testi ise enjeksiyondan hemen önce (baseline) ve enjeksiyondan sonraki 30, 60, 90 ve 120. dakikalarda ölçüldü. Elde edilen veriler değerlendirildi ve latans-dakika ve latans-gün eğrileri şeklinde sunuldu.

Bütün testler 09:00-15:00 saatleri arasında gerçekleştirildi. Ortam şartlarına adaptasyon sağlamaları amacıyla, sıçanlar test uygulamalarından bir saat önce deney odasına alındı. Test ölçümleri deney protokollerine uygun olarak, her gün aynı saatte, normal oda ısısında ve sessiz ortamda yapıldı. Uygulamalar, çalışma gruplarına kör olan aynı araştırmacılar tarafından gerçekleştirildi.

3.1.3. Kullanılan İlaçlar ve Uygulanış Yöntemi

Çalışmada kullanılan deksmedetomidin Sigma-Aldrich firmasından, fentanil ve %0,9'luk NaCl çözeltisi eczaneden, ketamin ve ksilazin EGE HAYMER'den temin edildi. Tüm gruplara ilk iki gün sabah-akşam, üçüncü gün ise sadece sabah belirlenen dozlarda salin ya da ilaç (lar) yapıldı.

Kontrol Grubu (n=8): Bu gruptaki sıçanlara ilaç verilmedi. Plasebo olarak 5 doz %0,9'luk NaCl enjeksiyonu ip yoldan yapıldı.

FEN Grubu (n=8): Bu gruptaki sıçanlara her uygulamada 40 µg/kg/ip fentanil (totalde 5 doz) uygulandı.

DEX Grubu (n=8): Bu gruba her uygulamada 10 µg/kg/ip deksmedetomidin (totalde 5 doz) enjekte edildi.

KSL Grubu (n=8): Sıçanlara her uygulamada 1 mg/kg/ip ksilazin (totalde 5 doz) yapıldı.

FEN+DEX Grubu (n=7): Bu gruptaki deneklere her uygulamada 40 µg/kg/ip fentanil ve 10 µg/kg/ip deksmedetomidin (totalde 5'er doz) uygulandı.

FEN+KSL Grubu (n=6): Bu gruba her uygulamada 40 µg/kg/ip fentanil ve 1 mg/kg/ip ksilazin (totalde 5'er doz) yapıldı.

3.1.4. Analjezik Tolerans Gelişimi

FEN analjezisine karşı tolerans geliştirmek amacıyla, sıçanlara ilk iki gün iki kez (10:00 ve 19:00 saatlerinde), üçüncü gün bir kez (10:00'da) 40 µg/kg/ip FEN uygulandı. Tolerans gelişimi ve ilaçların antinösetif etkileri, sabah 10:00'da

yapılan enjeksiyonlarından sonra kullanılan tail-flick ve hot-plate testleriyle değerlendirildi. Bu işlemler üç gün boyunca her gün yapıldı. FEN'in antinosiseptif etkisinde meydana gelen azalma analjezi testleriyle değerlendirildi. Analjezik etkinin azalması, tolerans gelişiminin göstergesi olarak kabul edildi (5).

3.2. Ağrı Yanıtlarının Ölçülmesi

Nosiseptif uyarımın değerlendirildiği testlere verilen yanıtlar, basit spinal düzeyde oluşan refleksler olabileceği gibi, merkezi sinir sisteminin yüksek düzeylerinin de işe dahil olduğu komplike süreçler sonunda oluşmaktadır. Oluşan nosiseptif yanıtın, sinir sisteminin hangi düzeyinde oluştuğu önemlidir. Düzey ne kadar yüksekse, oluşacak yanıt potent analjezik maddelerden o kadar etkilenir (107). Fentanilin antinosiseptif etkisine karşı tolerans gelişimi ve ilaçların antinosiseptif etkileri analjezi testleri olan hot-plate (supraspinal düzey) ve tail-flick (spinal düzey) testleriyle değerlendirildi. Analjezi testlerine verilen yanıt süresindeki uzama, kullanılan ilaç ve/veya ilaçların antinosiseptif etkileri şeklinde yorumlandı. İlaç ve/veya ilaçların, sıçan motor koordinasyonunu bozup bozmadığı ya da sedasyon yapıp yapmadığı rotarod performans testiyle değerlendirildi.

3.2.1. Tail-flick Testi

İlk kez D'Amour ve Smith (108) tarafından tanımlanmış olan tail-flick testi, medulla spinalis düzeyinde kontrol edilen termal nosisepsiyon ve analjezi değerlendirmesinde kullanılan bir testtir (29), (109). Bu testte, nosiseptif yanıt değerlendirilmesi yapılacak kemirgenin kuyruğuna şiddeti ayarlanmış ışık uygulanır ve hayvanın kuyruğunu çekmesiyle değerlendirme yapılır. Işığın verildiği andan, ağrılı uyarana vereceği kuyruk çekme yanıtına kadar geçen süre o hayvanın ağrı eşiği olarak kabul edilir. Şekil 14'de gösterildiği gibi, TF (MAY TF 211-01 Tail-flick Unit, Commat Limited Şirketi, Türkiye) testinden önce sıçan restrainer içerisine yerleştirdi ve kuyruğunun 1/3'lük distal kısmı işaretlendi. Hareketsiz şekilde kalmaya alışana kadar hayvana gerekli süre tanındı. Daha sonra, kuyruğun işaretli ventral bölgesine radyan ısı uygulandı. Sıçanın ağrılı uyarana verdiği kuyruk çekme hareketine bağlı olarak TF testi otomatik olarak sonlandırıldı. Cihaz panelindeki değer, saniye cinsinden TF latansı olarak kaydedildi. Bu işlem her hayvan ve her bir

zaman dilimi için ikişer kez tekrarlandı. Ölçümlerin ortalamaları alındı ve istatistiksel değerlendirmelerde bu ortalamalar kullanıldı. Kuyrukta oluşabilecek doku zedelenmesini önlemek amacıyla cut-off (sonlandırma) süresi 15 saniye olarak ayarlandı. Bu süre sonunda, teste yanıt verilmediyse doku hasarı oluşmaması için ölçüm durduruldu. Sıçana ilaç uygulamadan hemen önce yapılan baseline ölçüm latansı, o hayvanın ağrı eşiği ve kontrol değeri olarak kabul edilerek, ilaç uygulandıktan sonraki 15, 30, 60, 90 ve 120.dk'lardaki ölçümlerle karşılaştırıldı.



Şekil 14. Sıçanlarda tail-flick testi.

3.2.2. Hot-plate Testi

Santral ağrı yollarını değerlendirmek amacıyla kullanılan hot-plate testi (sıcak plaka testi) ilk kez Woolfe ve MacDonald tarafından 1944 yılında tasarlandı (110). Bu test, kemirgenlerin ağrı eşiğini belirleme ve supraspinal seviyelerde kontrol edilen termal noisepsiyonun değerlendirilmesinde kullanılmaktadır (29), (109). Özellikle merkezi sinir sistemi üzerinde etkili olan analjezik maddeler, HP test latanslarını etkilemektedir. Bu test, santral sinir sisteminde etkili ağrı kesicilerin etkilerini değerlendirilmek amacıyla kullanılmaktadır. Opiat maddelerin HP latans sürelerini uzattığı bildirilmiştir (111). Şekil 15'te gösterilen bu cihaz (MAY AHP 0603, Analgesic Hot-plate, Commat Limited Şirketi, Türkiye) ısıtılabilen metal bir plaka, hayvanın kaçmasını engellemek için tasarlanmış şeffaf bir silindir ve süreyi otomatik olarak kaydeden bir panelden oluşmaktadır. $55\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ 'ye ısıtılmış sıcaklığı sabit tutulan zemin üzerine yerleştirilen deney hayvanının, sıcak plaka üzerinde

kalma süresi belirlenir. Bu süre, sıçanın ısıya verdiği reaksiyon zamanı şeklinde değerlendirilir. Sıçanın herhangi bir zamanda ön patisini yalaması normal kabul edildiği için, ön pati yalama hareketi reaksiyon zamanı değerlendirmelerine dâhil edilmemektedir. Deneğin sıcak plaka üzerine bırakılması ile arka patisini yalaması, arka patisini ağırlı uyarana yanıt olarak sallaması veya zıplama hareketi yapması arasında geçen süre hesaplandı (81). Hayvan bu davranışlardan herhangi birini yaptığı an test sonlandırıldı ve HP test panelindeki süre saniye cinsinden kaydedildi. Pati hasarını önlemek amacıyla HP testinin cut-off süresi 30 saniye olarak belirlendi. Sıcak plaka üzerine konan sıçan, 30 saniye boyunca herhangi bir yanıt vermediyse test sonlandırıldı ve sıcak plakadan uzaklaştırıldı. Baseline ölçümler herhangi bir ilaç veya salin uygulamadan önce alınarak o hayvanın kendi kontrol değeri olarak kabul edildi. Diğer ölçümler ise ilaç ve/veya salin uygulandıktan sonraki 15, 30, 60, 90 ve 120.dk'larda yapılarak baseline latansı ile karşılaştırıldı.



Şekil 15. Sıçanlarda hot-plate testi.

3.3. Rotarod Performans Testi

Deney hayvanlarında kas-iskelet sistemi veya sinir sistemindeki hasarın tespiti için lokomotor aktivite testi yapılmaktadır. Kemirgenlerin spontan lokomotor aktivitelerini değerlendirmek amacıyla yürütme ve yüzdürme deney modelleri kullanılmaktadır. Bu testler yardımıyla, kullanılan ilaçların kas gevşetici, sedatif ve psikostimulan etkileri hakkında fikir elde etmek mümkündür. Rotarod, deney hayvanının dönen mil üzerinde dengede kalması, hızlanan çubuk üzerinde yürümesi,

kavrama gücü ve motor koordinasyonunun değerlendirilmesi temeline dayanan bir performans testidir. Kullanılacak ilacın motor koordinasyonu bozabileceği veya sedasyon yapabileceği göz önünde bulundurulduğunda, analjezi testleriyle birlikte rotarod testinin yapılması oldukça önem arz eder. Sedatif etkili veya motor inkoordinasyona sebep olan ilaçlar, kemirgenin rotarod cihazı üzerinde kalma süresini azaltır (112). Bu değerlendirmenin yapılabilmesi amacıyla dizayn edilmiş rotarod cihazları, kemirgen türlerine göre farklı boyutlara sahiptir. Şekil 16'da gösterildiği gibi, test düzeneği her biri 7 cm'lik 4 ayrı bölmeyle birbirinden ayrılmış dönen bir silindir ve sıçanın cihaz üzerinde kaldığı süreyi gösteren bir gösterge panelinden oluşmaktadır (MAY RR 0702-R Rota Rod, Commat Limited Şirketi, Türkiye). Denek dönen çubuktan düştüğünde, cihazın zemininde bulunan sensör yardımıyla sıçanın test çubuğu üzerinde kalma süresi saniye cinsinden otomatik olarak kaydedilir.

Bütün deney hayvanlarına deney gününden hemen önce, birbirini takip eden 3 gün boyunca pre-training yaptırıldı. Sıçanlar, 4 rpm hızla başlayan ve 5 dakikada ivmeli olarak artarak 40 rpm hıza ulaşan mil üzerinde yürütüldü ve deney şartlarına alışmaları sağlandı. Deney günü, hayvanlar herhangi bir ilaç almadan hemen önce ve ilaç aldıktan sonraki 30, 60, 90 ve 120.dk'larda rota test çubuğuna yerleştirildi ve dönen çubuk üzerinde düşmeden kaldıkları süreler kaydedildi. Bu işlem, her sıçan ve her zaman dilimi için 5'er dk'lık dinlenme periyotlarıyla 3'er kez tekrar edildi. Elde edilen verilerin ortalamaları alınarak, rotarod test çubuğu üzerindeki dayanıklılık süresi olarak değerlendirildi.



Şekil 16. Rotarod cihazıyla lokomotor aktivitenin değerlendirilmesi.

3.4. Analiz yöntemleri

3.4.1. İstatistiksel Analiz

TF, HP ve rotarod testlerinden elde edilen veriler, SPSS 22.0 yazılım programı ile analiz edildi ve %95 güven düzeyi ile çalışıldı. Sayısal (nicel) değişkenlerin sonuçları, ortalama \pm standart hata olarak verildi. Kontrol, FEN, DEX ve KSL gruplarında 8'er, FEN+KSL grubunda 6, FEN+DEX grubunda 7 sıçan vardı. Gruplarda normal dağılım şartının sağlanması için her grupta en az 30 veri bulunması gerekmektedir (Merkezi Limit Teoremi). Bu nedenle analizlerde parametrik olmayan yöntemler kullanıldı.

Çalışmada test tekniklerinden Kruskal Wallis, Friedman, Mann Whitney, Wilcoxon testleri kullanıldı. Friedman testi, k ($k>2$) tane bağımlı sayısal değişkenin karşılaştırılmasında kullanılan test tekniği iken; Wilcoxon testi, 2 bağımlı sayısal değişkenin karşılaştırılmasında kullanılan test tekniğidir. Kruskal Wallis testi ise, k ($k>2$) gruplu bir kategorik değişkenin gruplarının sayısal değişken bakımından karşılaştırılmasında kullanılan test tekniğidir. Çalışmada tail-flick, hot-plate ve rotarod ölçümlerinin gruplar arası karşılaştırılmasında Kruskal Wallis, çoklu karşılaştırılmasında Mann Whitney testi kullanıldı. Tail-flick, hot-plate ve rotarod, ölçümlerinin zamana göre grup içi karşılaştırılmasında Friedman testi, zamana göre çoklu karşılaştırılmasında Wilcoxon testi kullanıldı. Histolojik değerlendirmelerde, grupların skor düzeyi ilişkisinde Ki-Kare testi kullanıldı. Ki-kare, iki kategorik değişken arasındaki ilişkinin belirlenmesinde kullanılır. Çoklu karşılaştırmalarda Bonferroni düzeltmesi (p değerinde düzeltme) yapıldı. Analiz sonucunda, $p < 0,05$ olması istatistiksel açıdan anlamlı kabul edildi.

3.4.2. Anestezi Uygulamaları ve Doku Örneklerinin Toplanması

Davranış testleri tamamlanan sıçanlara, deneyin son gününde (3.gün) anestezi amacıyla 100 mg/kg Ketamin ve 10 mg/kg Ksilazin uygulandı. Ayak pedal refleksleri kontrol edilen hayvanların derin anestezide olduklarından emin olduğunda, ventrikal abdominal insizyon yapılarak kalplerine ulaşıldı. Kalbe takılan kateter yardımıyla, %10'luk nötral formaldehit ile perfüzyon fiksasyon işlemi yapıldı. Ardından sıçanlar sakrifiye edildi. Histolojik çalışmalar için medulla spinalis

ile beyinleri çıkarıldı ve %10'luk nötral formalinde fikse edildi. Doku örnekleri, rutin hematoksilin&eoazin (H&E) ile boyandı ve ışık mikroskobunda değerlendirildi. Ardından immünohistokimyasal analizler yapıldı.

3.4.3. Doku Takip Aşamaları

Alınan medulla spinalis ve beyin dokularının takibi, kesit alma, boyama işlemleri ve immünohistokimyasal analizlerinin tamamı İKÇÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında gerçekleştirildi. %10'luk formaldehit ile tespit edilen doku örnekleri, fiksatiflerin uzaklaştırılması amacıyla 1 gece akarsu altında yıkandıktan sonra dehidratasyon amacıyla 30'ar dk %60'dan %100'e artan etil alkol serilerinden geçirildi. Ardından, doku takip cihazında (LEICA TP-1020) tutularak değişen oranlardaki alkol serilerinde (%60, 70, 80 ve 90'luk konsantrasyonlardaki etil alkolde) 30'ar dakika, %96 ve 100'lük konsantrasyonlardaki alkolde 60'ar dakika bekletildi ve dehidratasyon işlemleri gerçekleştirildi. Ardından şeffaflaştırma için 2 değişim şeklinde 30'ar dk ksilende tutuldu. 60 °C etüv içerisinde 1:1 oranındaki ksilen-parafinde 30 dk, daha sonra sadece parafinde 2'şer kez 60'şar dk tutularak infiltrasyon işlemi gerçekleştirildi. Bu işlemden sonra dokuların üzerine parafin döküldü ve doku gömme işlemi yapıldı (Tablo 1). Dokunun gömüldüğü kaset üzerine dokunun kimlik bilgileri yazıldıktan sonra gömme cihazının soğutucu bölümüne yerleştirildi. Dokular donduktan sonra blok kabından alındı ve +4 °C'de saklandı.

Tablo 1. Işık mikroskobu ile doku takip protokolü

İşlem	Madde	Süre
Tespit	% 10 formalin	24 saat-48 saat
Fiksatifin uzaklaştırılması	Akar su	1 gece
Dehidratasyon	% 60 etil alkol	30 dk
	% 70 etil alkol	30 dk
	% 80 etil alkol	30 dk
	% 95 etil alkol	30 dk
	% 100 etil alkol	30 dk
Şeffaflaştırma	Ksilen	30 dk
	Ksilen	30 dk
	Ksilen-parafin	30 dk
Emdirme	Parafin	1 saat
	Parafin	1 saat
Gömme	Parafin	

3.4.4. Parafin Bloklardan Kesit Alma

+4 °C'de tutulan parafin bloklar oda ısısında bekletildikten sonra blok tutucuya yerleştirildi. Bloкта bulunan fazla parafini uzaklaştırmak amacıyla, rotatuar mikrotomda (LEICA RM 2245) bloklar 10 µm kalınlığında trimlendi. Dokuya ulaşıldığında, 5 µm'lik kesitler alındı. Alınan kesitler fırça yardımıyla benmari içinde bulunan 40 °C'lik suya alınarak kırışıklıkların açılması sağlandı. Dokunun alınacağı lam üzerine dokunun kimlik bilgileri kaydedildikten sonra, su banyosunda bulunan kesitler lam üzerine aktarılarak dik konumda kurumaya bırakıldı. Kuruma işlemi tamamlanan kesitler, 37 °C'lik etüvde bir gece bekletildi. Bu sayede parafinden arınmaları ve lama iyi şekilde yapışmaları sağlandı.

3.4.5. Hematoksilen ve Eozin Boyama

Deparafinizasyon işlemi için bir gece etüvde bekletilen kesitler, 30'ar dk iki değişim ksilene tabi tutuldu. Daha sonra rehidratasyon işlemine geçilerek 2'şer dk %95, 80, 70 ve 60'luk alkol serilerinden geçirildi ve 5 dk akarsu altında yıkandı. 5 dk hematoksilen (01562E, Surgipath, Bretton, Peter Borough, Cambridgeshire) solüsyonunda tutulduktan sonra, fazla boyanın dokudan uzaklaştırılması için asit alkole batırılarak çıkarıldı. Ardından 5 dk akarsu altında yıkandı ve 4 dk eozin (01602E, Surgipath, Bretton, Peter Borough, Cambridgeshire) solüsyonunda tutuldu. 5 dk akarsu altında yıkama yapıldıktan sonra, sırasıyla %80 ve 95'lik alkol serilerinden geçirilerek havada kurutulmuş kesitler, şeffaflaştırma amacıyla 30'ar dk'lık iki değişim ksilende tutulduktan sonra entellan (UN 1866, Merck, Darmstadt, Germany) ile kapatıldı (Tablo 2). Bu işlemler, hücre çekirdeklerinin mavi-mor; stoplazma ve diğer kısımların pembe boyanmasını sağladı. H&E ile boyanan beyin ve medulla spinalis doku örneklerinin genel histolojik özellikleri Olympus B×43 (Tokyo, Japonya) ışık mikroskopunda incelenerek fotoğraflandı.

Tablo 2. Hematoksilen-Eozin boyama protokolü

İşlem	Madde	Süre
Deparafinizasyon	60°C etüvde	1 gece
Deparafinizasyon	2 değişim Ksilen	30 dk
Rehidratasyon	%95 alkol	2 dk
	%80 alkol	2 dk
	%70 alkol	2 dk
	%60 alkol	2 dk
Yıkama	Akar su	5 dk
Boyama	Hematoksilen	5 dk
Yıkama	Akar su	5 dk
Diferansiyasyon	Asit-Alkol	1-2 Saniye
Yıkama	Akar su	5 dk
Boyama	Eosin	4 dk
Yıkama	Akar su	5 dk
	%80 alkol	1 dk
	%95 alkol	1 dk
Şeffaflaştırma	2 değişim Ksilen	30 dk
Kapama	Entellan	

3.4.6. İndirekt İmmunohistokimya Yöntemi ve Değerlendirmesi

Alınan kesitler immunohistokimyasal boyama için bir gece 60 C°'lik etüvde tutulduktan sonra, 30'ar dk'lık iki değişim ksilen ile şeffaflaştırma işlemi gerçekleştirildi. % 95'ten %60'a azalan alkol serilerinden geçirilerek rehidratasyon sağlandı ve distile suda 5 dk bekletildi. Dakopen ile sınırlandırılan % 0,5'lik tripsin solüsyonu içinde oda sıcaklığında 15 dk tutulan kesitlere (doku endojen peroksidazı inhibe etmek amacıyla) 5 dk %3'lük H₂O₂ uygulandı. 3 defa 5'er dk fosfat tampon solüsyon (PBS; Posphate buffer solution) ile yıkanan kesitlere 1 saat bloklama solusyonu uygulandı. Bloklama solusyonu dokudan uzaklaştırıldıktan sonra primer opioid reseptör antikor (bs-0649R Bioss Antibodies, USA) ile bir gece inkübe edildi. Kesitler ertesi gün tampon solüsyon ile 3 defa yıkandı ve anti-mouse biotin-streptavidin hidrojen peroksidaz ikincil antikor ile 30'ar dk boyandı. Üç defa 5'er dk tampon solüsyon ile yıkanan kesitler, oluşturulan immunohistokimyasal reaksiyonun görünürlüğünü saptamak amacıyla DAB kromojenle 5 dk boyandı. Mayer's hematoksilen ile de boyama yapıldıktan sonra distile su ile 10 dk yıkanan kesitler, kapatma medyumuyla kapatıldı. İmmunohistokimyasal değerlendirme, immünoreaktivite şiddetine göre, alanında uzman ve gruplara kör histologlar tarafından yapıldı. Şiddet, pozitif boyanmış hücrelerin yoğunluğuna göre skorlandı: 1

(+) zayıf, 2 (+) orta ve 3 (+); güçlü pozitif. Elde edilen veriler istatistiksel olarak analiz edildi.

4. BULGULAR

4.1. Davranış Testlerinin Sonuçları

Tablo 3. 1.Günde alınan tail-flick ölçümlerinin gruplar arası karşılaştırmaları

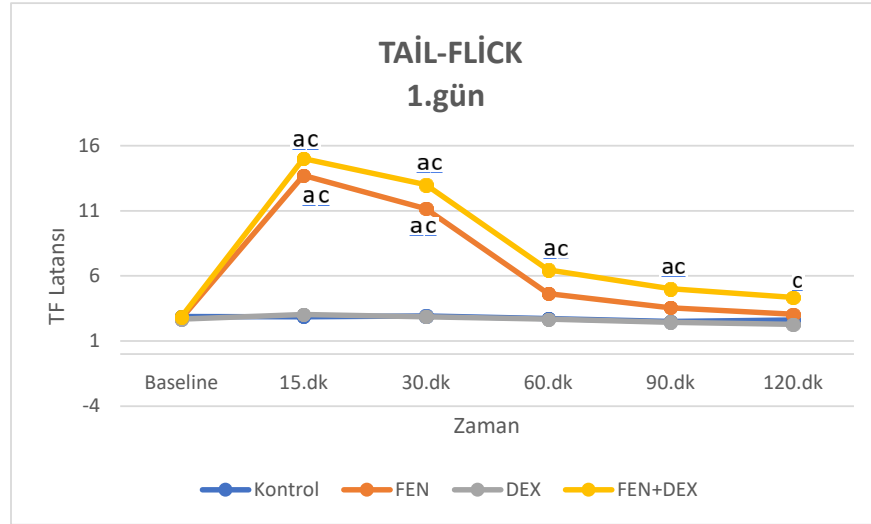
TAIL-FLICK 1.gün	Kontrol Ort±SS (sn)	FEN Ort±SS (sn)	DEX Ort±SS (sn)	FEN+DEX Ort±SS (sn)	Grup test	
					X ²	p
Baseline	2,88±0,49	2,73±0,85	2,68±0,7	2,84±0,48	0,485	0,922
15.dk	2,86±0,55	13,71±1,79 ^{a,c}	3,04±1,02	15±0 ^{a,c}	24,300	0,000*
30.dk	2,93±0,91	11,16±4,97 ^{a,c}	2,86±0,51	13±3,01 ^{a,c}	20,012	0,000*
60.dk	2,73±0,3	4,65±2,64	2,68±0,78	6,46±2,8 ^{a,c}	12,478	0,006*
90.dk	2,5±0,31	3,56±1,5	2,44±0,53	5,01±1,2 ^{a,c}	14,842	0,002*
120.dk	2,61±0,48	3,06±1,18	2,28±0,55	4,36±1,75 ^c	9,295	0,026*

*p<0,05 anlamlı fark var, p>0,05 anlamlı fark yok. Kruskal Wallis ve Mann Whitney testi kullanılarak, Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır (Bonferroni düzeltmesi p/4). a: Kontrol grubuna göre anlamlı (p<0,013), c: DEX grubuna göre anlamlı (p<0,013).

Tail-flick 1.gün ölçümleri incelendiğinde, grupların baseline latansları arasında anlamlı fark olmadığı görüldü (p>0,05). DEX grubunun tüm zaman dilimlerine ait ölçümleri, kontrol grubunun aynı zaman dilimlerindeki ölçümlerle karşılaştırıldığında, hiçbir zaman diliminde anlamlı fark olmadığı gözlemlendi (p>0,05). Bu durum, uygulanan 10 µg/kg DEX dozunun analjezi oluşturma açısından etkili bir doz olmadığını (ineffektif) göstermektedir. Kontrol ve DEX gruplarının aynı zaman dilimlerinde alınan latanslarla karşılaştırıldığında, FEN grubunun 15 ve 30.dk'lardaki tail-flick latanslarının anlamlı düzeyde yüksek olduğu gözlemlendi (p<0,013). Benzer şekilde, FEN+DEX grubunun 15, 30, 60 ve 90.dk'larda kaydedilen latans süreleri hem kontrol hem de DEX grubunun aynı zaman dilimlerine ait latanslara göre anlamlı şekilde uzundu (p<0,013).

FEN+DEX grubu ile FEN grubunun aynı zaman dilimlerine ait latanslar birbirleriyle karşılaştırıldığında, hiçbir zaman diliminde anlamlı fark yoktu (p>0,05). Fakat, istatistiksel açıdan anlamlı olmasa da, FEN+DEX grubunun ilaç sonrası tüm zaman dilimlerine ait latansları, FEN grubunun aynı zaman dilimlerine göre daha uzundu. Sadece FEN uygulanan grubun 15 ve 30.dk'larında analjezik etki oluşurken; FEN+DEX grubunun 15, 30, 60 ve 90.dk'larında analjezik etki oluştu (p<0,013). Bu veriler ışığında, DEX'in, FEN'in analjezik etki süresini uzattığını söylemek mümkündür. FEN ve FEN+DEX gruplarının latans süreleri dikkate alındığında,

uygulanan ilaçların analjezik etkileri 15.dk'da başlamıştı ve o zaman diliminde maksimum düzeyde idi. 15.dk'dan sonra ise giderek azaldı. Bu analjezik etki FEN grubunda 60, FEN+DEX grubunda 120.dk'da kayboldu. Ama yine de FEN+DEX grubunun 120.dk'da alınan latans süresi, DEX grubuna kıyasla hala uzundu ($p<0,013$) (Tablo 3), (Şekil 17).



Şekil 17. Kontrol, FEN, DEX ve FEN+DEX gruplarının TF 1.gün latanslarının zamansal değişimi.

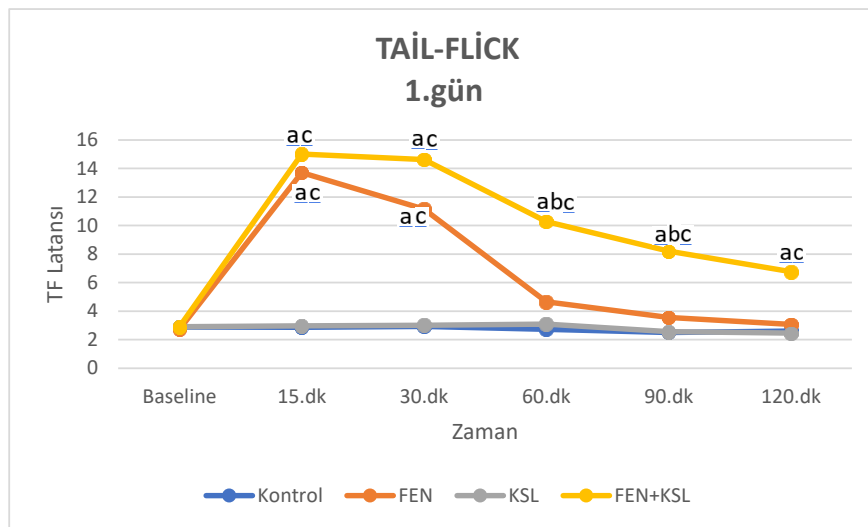
Tablo 4. 1.Günde alınan tail-flick ölçümlerinin gruplar arası karşılaştırmaları

TAİL-FLİCK 1.gün	Kontrol Ort±SS (sn)	FEN Ort±SS (sn)	KSL Ort±SS (sn)	FEN+KSL Ort±SS (sn)	Grup test	
					X ²	p
Baseline	2,88±0,49	2,73±0,85	2,91±0,78	2,9±0,44	0,476	0,924
15.dk	2,86±0,55	13,71±1,79 ^{a,c}	2,96±0,35	15±0 ^{a,c}	23,646	0,000*
30.dk	2,93±0,91	11,16±4,97 ^{a,c}	3,01±0,47	14,63±0,59 ^{a,c}	19,194	0,000*
60.dk	2,73±0,3	4,65±2,64	3,09±0,43	10,28±2,85 ^{a,b,c}	15,067	0,002*
90.dk	2,5±0,31	3,56±1,5	2,56±0,48	8,2±3,39 ^{a,b,c}	15,296	0,002*
120.dk	2,61±0,48	3,06±1,18	2,45±0,5	6,76±4,35 ^{a,c}	11,076	0,011*

* $p<0,05$ anlamlı fark var, $p>0,05$ anlamlı fark yok. Kruskal Wallis ve Mann Whitney testi kullanılarak Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır (Bonferroni düzeltmesi $p/4$). a: Kontrol grubuna göre anlamlı ($p<0,013$), b: FEN grubuna göre anlamlı ($p<0,013$), c: KSL grubuna göre anlamlı ($p<0,013$).

Kontrol, FEN, KSL ve FEN+KSL gruplarının tail-flick 1.gün ölçümleri incelendiğinde, grupların baseline latansları arasında anlamlı fark yoktu ($p>0,05$).

KSL grubunun tüm zamanlara ait latans ölçümleri kontrol grubunun aynı zaman dilimlerindeki ölçümlerle mukayese edildiğinde, iki grup arasında anlamlı fark olmadığı görüldü ($p>0,05$). Bu verilere dayanarak, uygulanan KSL dozunun analjezi oluşturma açısından etkili bir doz olmadığı söylenebilir. FEN grubunun 15 ve 30.dk'lardaki latans süreleri kontrol ve KSL gruplarının aynı zaman dilimleriyle karşılaştırıldığında, anlamlı düzeyde yüksek olduğunu gözlemledik ($p<0,013$). FEN grubunda oluşan bu analjezik etki 15.dk'da maksimum düzeyde idi, daha sonra kademeli olarak azaldı. 60.dk'da kontrol grubu ile FEN grubu arasındaki anlamlılığın ortadan kalktığı yani analjezik etkinin kaybolduğu görüldü. Buna karşın, FEN+KSL grubunun ilaç sonrası tüm zaman dilimlerine ait latanslar, hem kontrol hem de KSL gruplarına göre daha uzundu ($p<0,013$). Aynı grubun 60 ve 90.dk ölçümleri, FEN grubunun aynı zaman dilimlerindeki ölçümlere göre de daha uzundu ($p<0,013$). Bu durum, FEN grubunda 60.dk'da ortadan kalkan analjezik etkinin FEN+KSL grubunda devam ettiğini göstermekte ve KSL'nin FEN analjezisini güçlendirdiğini düşündürmektedir. Sadece FEN alan grubun 15 ve 30.dk'larında anlamlı latans uzamaları (analjezik etki) varken; FEN+KSL grubunun ilaç sonrası tüm zaman dilimlerinde uzama vardı ($p<0,013$). FEN grubu ile FEN+KSL grubunun latans süreleri incelendiğinde, FEN'in analjezik etki süresinin KSL tarafından uzatıldığı sonucuna varılabilir (Tablo 4), (Şekil 18).



Şekil 18. Kontrol, FEN, KSL ve FEN+KSL gruplarının TF 1.gün latanslarının zamansal değişimi.

Tablo 5. 1.Günde alınan tail-flick ölçümlerinin grup içi karşılaştırmaları

TAİL-FLİCK 1.gün	Kontrol	FEN	KSL	DEX	FEN+DEX	FEN+KSL	
	Ort±SS (sn)	Ort±SS (sn)	Ort±SS (sn)	Ort±SS (sn)	Ort±SS (sn)	Ort±SS (sn)	
Baseline	2,88±0,49	2,73±0,85	2,91±0,78	2,68±0,7	2,84±0,48	2,9±0,44	
15.dk	2,86±0,55	13,71±1,79	2,96±0,35	3,04±1,02	15±0	15±0	
30.dk	2,93±0,91	11,16±4,97	3,01±0,47	2,86±0,51	13±3,01	14,63±0,59	
60.dk	2,73±0,3	4,65±2,64	3,09±0,43	2,68±0,78	6,46±2,8	10,28±2,85	
90.dk	2,5±0,31	3,56±1,5	2,56±0,48	2,44±0,53	5,01±1,2	8,2±3,39	
120.dk	2,61±0,48	3,06±1,18	2,45±0,5	2,28±0,55	4,36±1,75	6,76±4,35	
Zaman test	X ²	3,859	33,949	11,165	6,594	31,266	27,222
	p	0,570	0,000*	0,048*	0,253	0,000*	0,000*

*p<0,05 anlamlı fark var, p>0,05 anlamlı fark yok. Grup içi karşılaştırmaların analizinde Friedman testi ve Wilcoxon testi kullanılarak Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır (anlamlılık: p<0,01, Bonferroni düzeltmesi p/6).

1. günde yapılan tail-flick testinin ilaç öncesi ve ilaç sonrası kaydedilen latans sürelerinin karşılaştırılmasında, parametrik olmayan yöntemlerden Friedman ve Wilcoxon testleri kullanıldı. p/6: Bonferroni düzeltmesi yapılarak, p<0,01 anlamlı kabul edildi. Post hoc analiz sonuçlarına göre, hiçbir grupta grup içi anlamlı fark olmadığı görüldü (p>0,01) (Tablo 5).

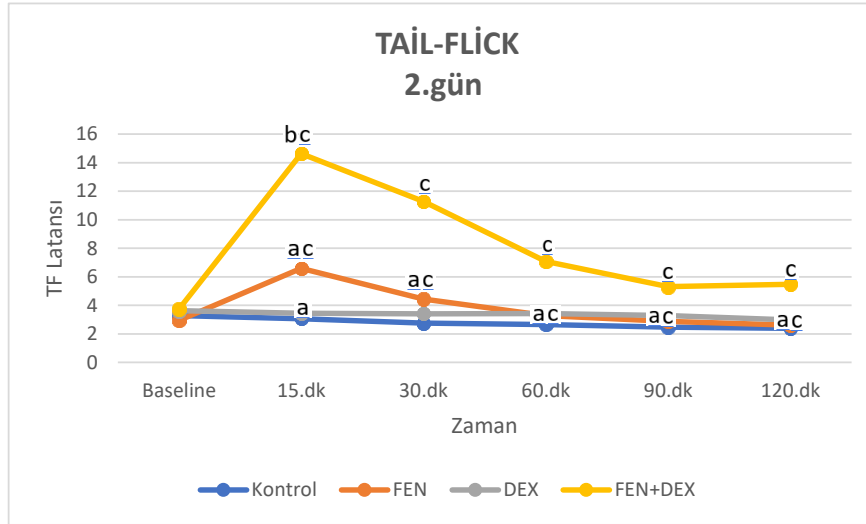
Tablo 6. 2.Günde alınan tail-flick ölçümlerinin gruplar arası karşılaştırmaları

TAİL-FLİCK 2.gün	Kontrol Ort±SS (sn)	FEN Ort±SS (sn)	DEX Ort±SS (sn)	FEN+DEX Ort±SS (sn)	Grup test	
					X ²	p
Baseline	3,29±0,52	2,94±0,42	3,62±0,71	3,73±1,52	3,520	0,318
15.dk	3,06±0,46	6,59±3,72 ^{a, c}	3,44±0,43 ^a	14,64±0,61 ^{b, c}	22,626	0,000*
30.dk	2,75±0,45	4,44±3,46 ^{a, c}	3,41±0,87	11,29±3,78 ^c	15,607	0,001*
60.dk	2,66±0,47	3,29±1,16 ^{a, c}	3,43±0,55	7,09±3,72 ^c	17,858	0,000*
90.dk	2,48±0,37	2,88±0,78 ^{a, c}	3,29±0,88	5,31±0,89 ^c	16,680	0,001*
120.dk	2,39±0,44	2,62±0,78 ^{a, c}	2,97±0,77	5,48±1,07 ^c	16,955	0,001*

*p<0,05 anlamlı fark var, p>0,05 anlamlı fark yok. Kruskal Wallis ve Mann Whitney testi kullanılarak Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır (Bonferroni düzeltmesi p/4). a: Kontrol grubuna göre anlamlı (p<0,013), b: FEN grubuna göre anlamlı (p<0,013), c: DEX grubuna göre anlamlı (p<0,013).

2. gün tail-flick ölçümleri değerlendirildiğinde, grupların baseline değerleri arasında anlamlı fark yoktu ($p>0,05$). DEX grubunun tüm zaman dilimlerinde kaydedilen latans süreleri, kontrol grubunun aynı zaman dilimleriyle karşılaştırıldığında, gruplar arası anlamlı fark olmadığı görüldü (15.dk hariç) ($p>0,05$). FEN grubunun ilaç sonrası zaman dilimlerinde kaydedilen latans süreleri, 1.gün kaydedilen aynı zaman dilimlerinin latans sürelerine göre daha kısaydı. FEN grubunun 15 ve 30.dk'larda alınan latans süreleri, hem kontrol hem DEX gruplarının aynı zaman dilimlerine göre; 60, 90 ve 120.dk'larda alınan latans süreleri ise sadece kontrol grubunun aynı zaman dilimlerinde alınan latans sürelerine göre yüksekti ($p<0,013$).

FEN ile FEN+DEX grupları incelendiğinde, en uzun latans sürelerinin her iki grupta da 15.dk'da olduğu, 15.dk'dan sonra ise giderek kısaldığı gözlemlendi. FEN+DEX grubunun 15.dk'da ölçülen latans süresi, FEN ve DEX gruplarının aynı zaman dilimindeki latans sürelerine göre; 30, 60, 90 ve 120.dk'larda ölçülen latans süreleri ise, DEX grubunun aynı zaman dilimlerindeki latans sürelerine göre anlamlı düzeyde yüksekti ($p<0,013$). Sadece FEN alan grubun 15.dk'daki latans süresi 6,59 iken; FEN+DEX grubunda bu latans süresinin 14,64 oluşu ($p<0,013$), FEN'in analjezik etkisinin DEX ile potansiyelize edildiğini göstermektedir. Öte yandan, FEN grubunda 1. günün 15.dk'sında (13,71) kaydedilen latans süresine göre, 2.günün 15.dk'sında (6,59) kaydedilen latans süresinin kısa olduğunu gördük. Aynı durum, FEN+DEX grubunda meydana gelmemiştir. Yani, FEN analjezisinde meydana gelen tolerans eğiliminin FEN+DEX grubunda olmadığı görülmektedir (Tablo 6), (Şekil 19).



Şekil 19. Kontrol, FEN, DEX ve FEN+DEX gruplarının TF 2.gün latanslarının zamansal değişimi.

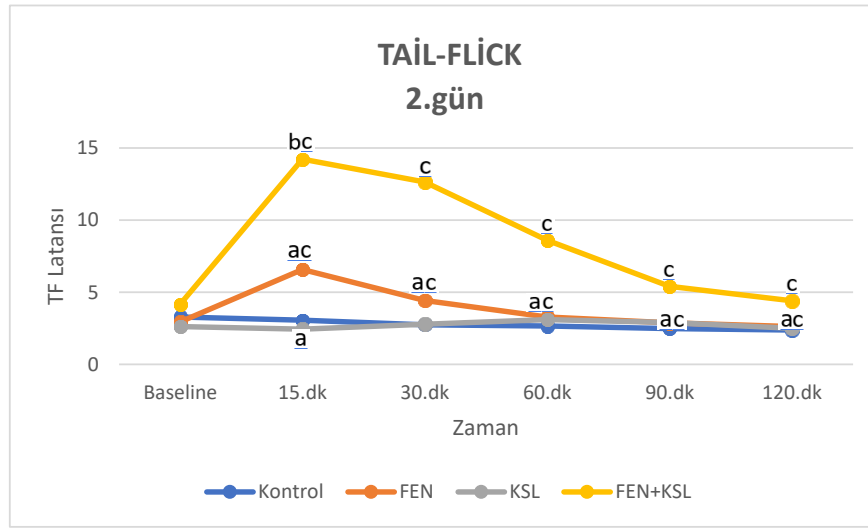
Tablo 7. 2.Günde alınan tail-flick ölçümlerinin gruplar arası karşılaştırmaları

TAİL-FLİCK 2.gün	Kontrol Ort±SS (sn)	FEN Ort±SS (sn)	KSL Ort±SS (sn)	FEN+KSL Ort±SS (sn)	Grup test	
					X ²	p
Baseline	3,29±0,52	2,94±0,42	2,62±0,47	4,17±1,33	13,198	0,004*
15.dk	3,06±0,46	6,59±3,72 ^{a,c}	2,45±0,34 ^a	14,23±1,04 ^{b,c}	23,546	0,000*
30.dk	2,75±0,45	4,44±3,46 ^{a,c}	2,79±0,55	12,65±2,4 ^c	13,913	0,003*
60.dk	2,66±0,47	3,29±1,16 ^{a,c}	3,11±0,47	8,6±1,74 ^c	15,647	0,001*
90.dk	2,48±0,37	2,88±0,78 ^{a,c}	2,91±0,62	5,41±1,29 ^c	14,707	0,002*
120.dk	2,39±0,44	2,62±0,78 ^{a,c}	2,5±0,62	4,41±1,12 ^c	12,818	0,005*

*p<0,05 anlamlı fark var, p>0,05 anlamlı fark yok. Kruskal Wallis ve Mann Whitney testi kullanılarak Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır (Bonferroni düzeltmesi p/4). a: Kontrol grubuna göre anlamlı (p<0,013), b: FEN grubuna göre anlamlı (p<0,013), c: KSL grubuna göre anlamlı (p<0,013).

2. gün tail-flick latans ortalamaları incelendiğinde, grupların baseline latansları arasında anlamlı farka rastlanmadı (p>0,013). Kontrol grubunun aynı zaman dilimlerine ait latanslarla karşılaştırıldığında, KSL grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı fark olmadığı gözlemlendi (15.dk hariç) (p>0,013). FEN grubunun 2.günde kaydedilen ilaç sonrası latans sürelerinin, 1.günde kaydedilen ilaç sonrası latans sürelerine göre oldukça kısa olduğu tespit edildi. Kontrol ve KSL gruplarının aynı zaman dilimleri latanslarıyla karşılaştırıldığında, FEN grubunun ilaç sonrası tüm

zaman dilimleri latanslarının daha uzun olduğu görüldü (90.dk hariç) ($p<0,013$). FEN ve FEN+KSL grubunun latans süreleri incelendiğinde, en uzun latansın 15.dk'da olduğu ve bu sürenin hem FEN hem de KSL gruplarının 15.dk ölçümlerinden uzun olduğu görüldü. Ayrıca, FEN+KSL grubunun 30, 60, 90 ve 120.dk'larına ait latans süreleri KSL grubunun aynı zaman dilimlerinde kaydedilen latanslara göre daha uzundu ($p<0,013$). FEN+KSL grubunun 15.dk'daki latans süresinin (14,23), FEN grubunun 15.dk'daki latans süresinden (6,59) anlamlı düzeyde yüksek oluşu ($p<0,013$), (Tablo 7), (Şekil 20).



Şekil 20. Kontrol, FEN, KSL ve FEN+KSL gruplarının TF 2.gün latanslarının zamansal değişimi.

Tablo 8. 2.Günde alınan tail-flick ölçümlerinin grup içi karşılaştırmaları

TAIL-FLICK 2.gün		Kontrol Ort±SS (sn)	FEN Ort±SS (sn)	KSL Ort±SS (sn)	DEX Ort±SS (sn)	FEN+DEX Ort±SS (sn)	FEN+KSL Ort±SS (sn)
Baseline		3,29±0,52	2,94±0,42	2,62±0,47	3,62±0,71	3,73±1,52	4,17±1,33
15.dk		3,06±0,46	6,59±3,72	2,45±0,34	3,44±0,43	14,64±0,61	14,23±1,04
30.dk		2,75±0,45	4,44±3,46	2,79±0,55	3,41±0,87	11,29±3,78	12,65±2,4
60.dk		2,66±0,47	3,29±1,16	3,11±0,47	3,43±0,55	7,09±3,72	8,6±1,74
90.dk		2,48±0,37	2,88±0,78	2,91±0,62	3,29±0,88	5,31±0,89	5,41±1,29
120.dk		2,39±0,44	2,62±0,78	2,5±0,62	2,97±0,77	5,48±1,07	4,41±1,12
Zaman test	X ²	15,323	21,133	11,630	8,116	23,631	28,254
	p	0,009*	0,001*	0,040*	0,150	0,000*	0,000*

* $p<0,05$ anlamlı fark var, $p>0,05$ anlamlı fark yok. Grup içi karşılaştırmaların analizinde Friedman testi ve Wilcoxon testi kullanılarak Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır (anlamlılık: $p<0,01$, Bonferroni düzeltmesi $p/6$).

Deney sürecinin 2.gününde kaydedilen tail-flick latans sürelerinin grup içi zamansal karşılaştırmasında Friedman ve Wilcoxon testleri kullanıldı. Elde edilen sonuçlar, her grubun kendi içindeki farklı zaman dilimleri arasında anlamlı fark olmadığını göstermiştir ($p>0,01$) (Tablo 8).

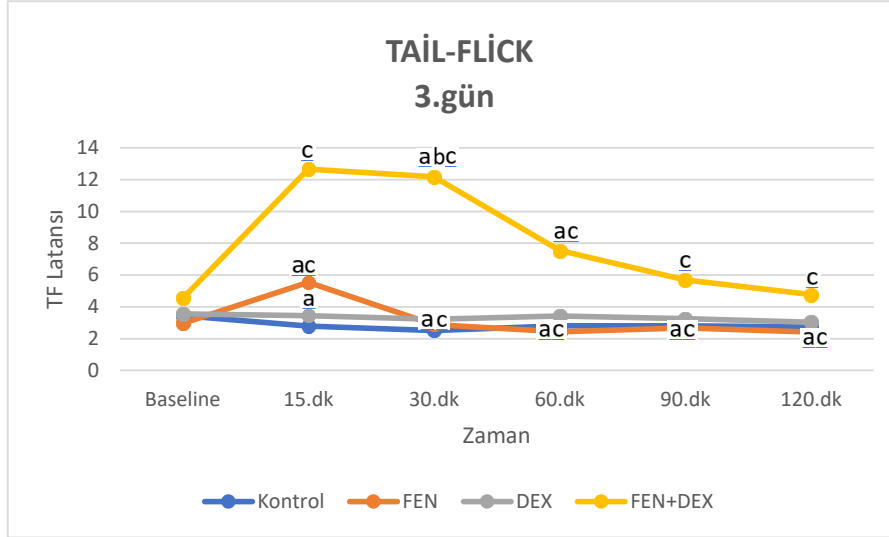
Tablo 9. 3.Günde alınan tail-flick ölçümlerinin gruplar arası karşılaştırmaları

TAIL-FLICK 3.gün	Kontrol Ort±SS (sn)	FEN Ort±SS (sn)	DEX Ort±SS (sn)	FEN+DEX Ort±SS (sn)	Grup test	
					X ²	p
Baseline	3,45±0,67	2,96±0,3	3,55±0,62	4,54±1,32 ^c	9,471	0,024*
15.dk	2,79±0,42	5,54±2,63 ^{a, c}	3,45±0,48 ^a	12,67±3,5 ^{a, b, c}	23,272	0,000*
30.dk	2,51±0,38	2,89±0,58 ^{a, c}	3,22±0,34	12,17±3,31 ^{a, c}	20,878	0,000*
60.dk	2,8±0,55	2,44±0,45 ^{a, c}	3,42±0,72	7,54±3,29 ^c	20,514	0,000*
90.dk	2,8±0,46	2,68±0,66 ^{a, c}	3,25±0,5	5,69±2,17 ^c	17,351	0,001*
120.dk	2,74±0,52	2,41±0,51 ^{a, c}	3,03±0,8	4,77±1,41 ^c	14,803	0,002*

* $p<0,05$ anlamlı fark var, $p>0,05$ anlamlı fark yok. Kruskal Wallis ve Mann Whitney testi kullanılarak Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır. a: Kontrol grubuna göre anlamlı ($p<0,013$), b: FEN grubuna göre anlamlı ($p<0,013$), c: DEX grubuna göre anlamlı ($p<0,013$) (Bonferroni düzeltmesi $p/4$).

Tail-flick 3.gün ölçümlerinin analiz sonuçlarına göre, grupların baseline latans süreleri arasında fark yoktu ($p>0,013$) (FEN+DEX ve DEX grupları hariç). DEX grubunun tüm zaman dilimlerine ait latans süreleri kontrol grubunun aynı zaman dilimleriyle karşılaştırıldığında, aralarında anlamlı fark olmadığı görüldü (15.dk hariç). FEN grubunun ilaç sonrası zaman dilimlerinde kaydedilen latanslar, 2.günde kaydedilen aynı zaman dilimindeki latanslara göre daha da kısalmıştı. FEN grubunun 15.dk'da alınan latans süresi, kontrol ve DEX gruplarının 15.dk'daki latans sürelerine; 30.dk'da alınan latans süresi, sadece kontrol grubuna göre uzundu ($p<0,013$). Buna karşın, FEN+DEX grubunun 2.günde kaydedilen latans süreleri ile 3.günde kaydedilen latans süreleri arasında anlamlı bir değişiklik meydana gelmedi. FEN+DEX grubunun 15.dk'da kaydedilen latans süresi kontrol, FEN ve DEX gruplarının aynı zaman dilimine göre; 30.dk'da kaydedilen latans süresi kontrol ve DEX gruplarının aynı zaman dilimine göre; baseline, 60, 90 ve 120.dk'larda kaydedilen latanslar süreleri DEX grubunun aynı zaman dilimlerine göre anlamlı düzeyde yüksekti ($p<0,013$). FEN grubunun 15 ve 30.dk'lardaki latans süreleriyle karşılaştırıldığında, FEN+DEX grubunun aynı zaman dilimlerinde alınan latans

sürelerinin önemli ölçüde uzun olduğu tespit edildi. Bu durum, DEX'in, FEN analjezisini güçlendirdiğine işaret etmektedir (Tablo 9), (Şekil 21).



Şekil 21. Kontrol, FEN, DEX ve FEN+DEX gruplarının TF 3.gün latanslarının zamansal değişimi.

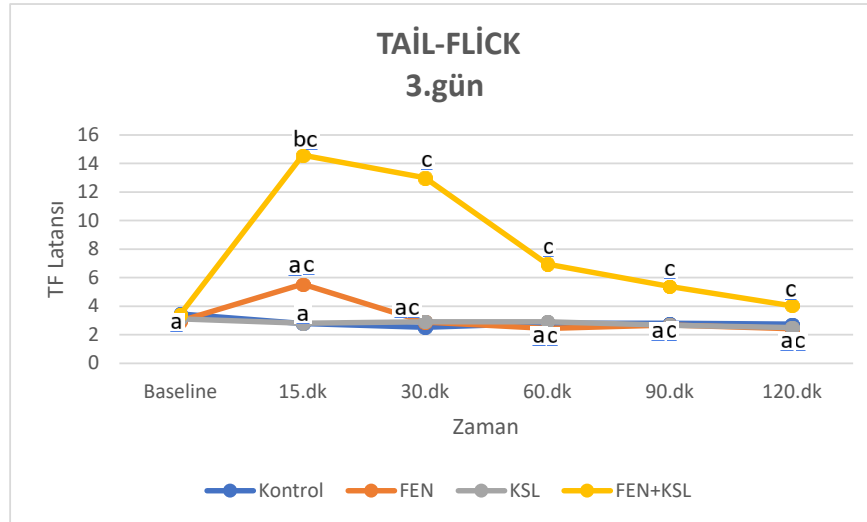
Tablo 10. 3.Günde alınan tail-flick ölçümlerinin gruplar arası karşılaştırmaları

TAYL-FLICK 3.gün	Kontrol Ort±SS (sn)	FEN Ort±SS (sn)	KSL Ort±SS (sn)	FEN+KSL Ort±SS (sn)	Grup test	
					X ²	p
Baseline	3,45±0,67	2,96±0,3 ^a	3,11±0,58	3,43±0,98	2,833	0,418
15.dk	2,79±0,42	5,54±2,63 ^{a, c}	2,81±0,53 ^a	14,58±0,97 ^{b, c}	20,876	0,000*
30.dk	2,51±0,38	2,89±0,58 ^{a, c}	2,91±0,44	12,99±1,93 ^c	16,261	0,001*
60.dk	2,8±0,55	2,44±0,45 ^{a, c}	2,91±0,44	6,95±1,08 ^c	16,668	0,001*
90.dk	2,8±0,46	2,68±0,66 ^{a, c}	2,67±0,66	5,38±1 ^c	14,323	0,002*
120.dk	2,74±0,52	2,41±0,51 ^{a, c}	2,5±0,61	4,03±0,45 ^c	14,610	0,002*

*p<0,05 anlamlı fark var, p>0,05 anlamlı fark yok. Kruskal Wallis ve Mann Whitney testi kullanılarak Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır (Bonferroni düzeltmesi p/4). a: Kontrol grubuna göre anlamlı (p<0,013), b: FEN grubuna göre anlamlı (p<0,013), c: KSL grubuna göre anlamlı (p<0,013).

3.günde kaydedilen tail-flick latanslarının gruplar arası karşılaştırma sonuçlarına göre, grupların baseline değerleri arasında anlamlı fark yoktu (FEN grubu hariç) (p>0,05). KSL grubunun tüm zaman dilimlerine ait latans süreleri kontrol grubunun aynı zaman dilimlerine ait latans süreleriyle kıyaslandığında, gruplar arası anlamlı fark yoktu (15.dk hariç) (p>0,013). FEN grubunun 2.günde kaydedilen ilaç sonrası tüm zaman dilimleri latanslarının, 3.günde daha da kısaldığı

gözlendi. FEN grubunun sadece 15.dk'daki latans süresi (kontrol ve KSL'ye göre) ile 30.dk'daki latans süresi (sadece kontrole göre) anlamlı düzeyde uzundu ($p<0,013$). Buna karşın, FEN+KSL grubunun 15.dk'da kaydedilen latans, hem FEN hem de KSL gruplarının aynı zaman dilimlerinde kaydedilen latans sürelerine göre; 30, 60, 90 ve 120.dk'larda kaydedilen latans süreleri, KSL grubunun aynı zaman dilimlerinde kaydedilen latans sürelerine göre anlamlı düzeyde uzundu ($p<0,013$). FEN+KSL grubunun 15 ve 30.dk'larda (14,58 ve 12,99) kaydedilen latans sürelerinin FEN grubunun aynı zaman dilimlerinde (5,54 ve 2,89) kaydedilen latans sürelerinden oldukça yüksek olduğu görülmektedir. Ayrıca, FEN grubunda gözlenen 15 ve 30.dk'lardaki latans kısalmaları, FEN+KSL grubunda meydana gelmemiştir. Bütün olarak değerlendirildiğinde, FEN grubunda gelişen analjezik etki kaybının FEN+KSL grubunda gelişmediği, dahası FEN analjezisinin KSL tarafından güçlendirildiği görülmektedir (Tablo 10), (Şekil 22).



Şekil 22. Kontrol, FEN, KSL ve FEN+KSL gruplarının TF 3.gün latanslarının zamansal değişimi.

Tablo 11. 3.Günde alınan tail-flick ölçümlerinin grup içi karşılaştırmaları

TAIL-FLICK 3.gün	Kontrol	FEN	KSL	DEX	FEN+DEX	FEN+KSL	
	Ort±SS (sn)	Ort±SS (sn)	Ort±SS (sn)	Ort±SS (sn)	Ort±SS (sn)	Ort±SS (sn)	
Baseline	3,45±0,67	2,96±0,3	3,11±0,58	3,55±0,62	4,54±1,32	3,43±0,98	
15.dk	2,79±0,42	5,54±2,63	2,81±0,53	3,45±0,48	12,67±3,5	14,58±0,97	
30.dk	2,51±0,38	2,89±0,58	2,91±0,44	3,22±0,34	12,17±3,31	12,99±1,93	
60.dk	2,8±0,55	2,44±0,45	2,91±0,44	3,42±0,72	7,54±3,29	6,95±1,08	
90.dk	2,8±0,46	2,68±0,66	2,67±0,66	3,25±0,5	5,69±2,17	5,38±1	
120.dk	2,74±0,52	2,41±0,51	2,5±0,61	3,03±0,8	4,77±1,41	4,03±0,45	
Zaman test	X ²	8,116	23,631	8,473	4,477	25,586	28,942
	p	0,150	0,000*	0,132	0,483	0,000*	0,000*

*p<0,05 anlamlı fark var, p>0,05 anlamlı fark yok. Grup içi karşılaştırmaların analizinde Friedman testi ve Wilcoxon testi kullanılarak Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır (anlamlılık: p<0,01, Bonferroni düzeltmesi p/6).

Farklı zaman dilimlerinde kaydedilen latans sürelerinin grup içi istatistiksel analizi Friedman testi ve Wilcoxon testi ile değerlendirilmiş, Bonferroni düzeltmesi yapılarak anlamlılık düzeyi p<0,01 kabul edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, tail-flick 3.gün ölçümlerinde her grubun kendi içindeki latans süreleri arasında anlamlı farkı yoktu (p>0,01), (Tablo 11).

Tablo 12. Grupların tail-flick ölçümlerinin günlere göre karşılaştırmaları

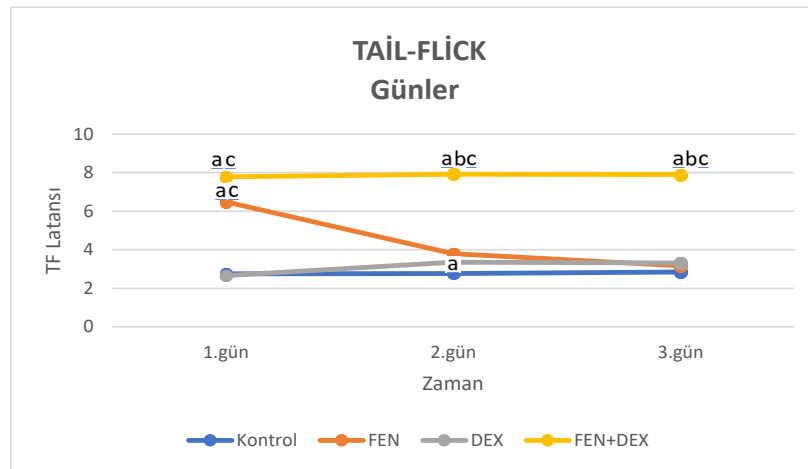
	Kontrol Ort±SS (sn)	FEN Ort±SS (sn)	DEX Ort±SS (sn)	FEN+DEX Ort±SS (sn)	Grup test	
					X ²	p
1.gün	2,75±0,39	6,48±1,61 ^{a, c}	2,66±0,52	7,78±1,22 ^{a, c}	23,355	0,000*
2.gün	2,77±0,23	3,79±1,54	3,36±0,53 ^a	7,92±1,49 ^{a, b, c}	18,357	0,000*
3.gün	2,85±0,33	3,16±0,75	3,32±0,46	7,9±1,93 ^{a, b, c}	17,928	0,000*

*p<0,05 anlamlı fark var, p>0,05 anlamlı fark yok. Kruskal Wallis ve Mann Whitney testi kullanılarak Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır. a: Kontrol grubuna göre anlamlı (p<0,013), b: FEN grubuna göre anlamlı (p<0,013), c: DEX grubuna göre anlamlı (p<0,013) (Bonferroni düzeltmesi p/4).

Grupların 1, 2 ve 3.günlerde kaydedilen tail-flick latans ortalamaları tablo 12 ve şekil 23'te verilmiştir. Yapılan istatistiksel analizlere göre, DEX grubunun 1.günde kaydedilen latans süresi ile kontrol grubunun 1.günde alınan latans süresi arasında anlamlı fark yoktu. DEX grubunun 2.günde kaydedilen latans süresi ise kontrol grubuna göre uzundu (p<0,013). FEN grubunun 1.günde kaydedilen latans süresi, kontrol ve DEX gruplarının 1.günde kaydedilen latans sürelerine göre anlamlı

düzeyde yüksek olduğunu gördük ($p<0,013$). Buna karşın, FEN grubunun 1.günde kaydedilen latans süresi ile FEN+DEX grubunun 1.gün kaydedilen latans süresi arasında fark yoktu. FEN grubunun 1.gün latans ortalamalarıyla karşılaştırıldığında, aynı grubun 2 ve 3.günlerdeki latans ortalamalarında kısalma meydana geldi. FEN grubundaki bu latans kısaltmaları, 1.günde gözlenen (kontrol ve DEX grupları ile FEN grubu arasındaki) anlamlılığın 2 ve 3.günlerde ortadan kalkma sebebidir. Tüm bu sonuçlar beraber ele alındığında, FEN'in analjezik etkisine karşı 2.günde tolerans geliştiği söylenebilir.

FEN+DEX grubunun 1.günde kaydedilen latans ortalaması, kontrol ve DEX gruplarının 1.günde kaydedilen latans ortalamalarına göre anlamlı düzeyde uzunken ($p<0,013$); FEN grubunun 1.günde kaydedilen latans ortalamasından farksızdı. 2 ve 3.günlerde kaydedilen latans süreleri incelendiğinde ise, FEN+DEX grubunun latansları hem kontrol hem DEX hem de FEN gruplarına göre anlamlı düzeyde uzundu ($p<0,013$). FEN grubunun 2 ve 3.günde latans süreleri kısalırken, FEN+DEX grubunun 2 ve 3.günde latans süreleri kısaltmamıştır. FEN+DEX ile FEN grupları arasında 2 ve 3.günlerde meydana gelen bu istatistiksel farkın sebebi, FEN grubunda 2.günde gelişen analjezik toleransın FEN+DEX grubunda 2 veya 3.günlerde gelişmemiş olmasıdır. Ayrıca, FEN+DEX grubunun 1, 2 ve 3.günlerdeki latans süreleri ile FEN grubunun aynı günlerdeki latans süreleri incelendiğinde, DEX'in FEN analjezisini güçlendirdiği sonucuna varılabilir.



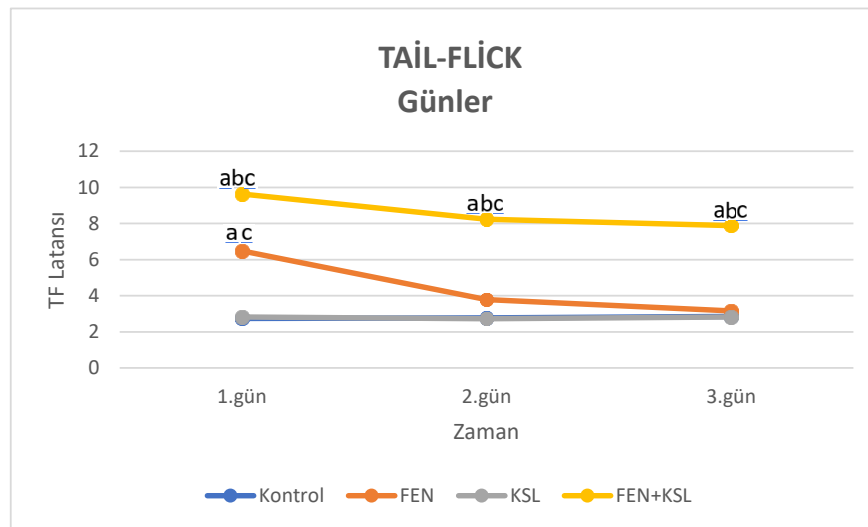
Şekil 23. Kontrol, FEN, DEX ve FEN+DEX gruplarının TF ölçümlerinin günlere göre karşılaştırmalı değişimi.

Tablo 13. Grupların tail-flick ölçümlerinin günlere göre karşılaştırmaları

	Kontrol Ort±SS (sn)	FEN Ort±SS (sn)	KSL Ort±SS (sn)	FEN+KSL Ort±SS (sn)	Grup test	
					X ²	p
1.gün	2,75±0,39	6,48±1,61 ^{a, c}	2,83±0,34	9,63±1,74 ^{a, b, c}	23,495	0,000*
2.gün	2,77±0,23	3,79±1,54	2,73±0,36	8,24±1,16 ^{a, b, c}	16,575	0,001*
3.gün	2,85±0,33	3,16±0,75	2,82±0,42	7,89±0,61 ^{a, b, c}	14,364	0,002*

*p<0,05 anlamlı fark var, p>0,05 anlamlı fark yok. Kruskal Wallis ve Mann Whitney testi kullanılarak Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır. a: Kontrol grubuna göre anlamlı (p<0,013), b: FEN grubuna göre anlamlı (p<0,013), c: KSL grubuna göre anlamlı (p<0,013) (Bonferroni düzeltmesi p/4).

Grupların tail-flick latans ortalamalarının günlere göre karşılaştırmalı verileri Tablo 13 ve Şekil 24’te verilmiştir. 1.güne ait latans ortalamaları değerlendirildiğinde, FEN grubu latansının kontrol ve KSL gruplarının latanslarına göre anlamlı düzeyde yüksek (p<0,013); FEN+KSL grubunun latansına göre anlamlı düzeyde kısa (p<0,013) olduğu belirlendi. FEN grubunun 1.gün latans süresi ile kontrol ve KSL gruplarının 1.gün latans süreleri arasındaki anlamlı fark, 2 ve 3.günlerde ortadan kalkmıştı (p>0,013). Bu durum, 2.günde FEN analjezisine karşı tolerans geliştiğini göstermektedir. FEN+KSL grubunun 1, 2 ve 3.günlerdeki latans süreleri incelendiğinde, hem kontrol hem KSL hem de FEN gruplarına göre anlamlı düzeyde uzundu (p<0,013). Tüm bu bulgular, KSL’nin FEN analjezisini potansiyelize etmiş olmasının yanı sıra, analjezik toleransı da önlediğine işaret etmektedir.



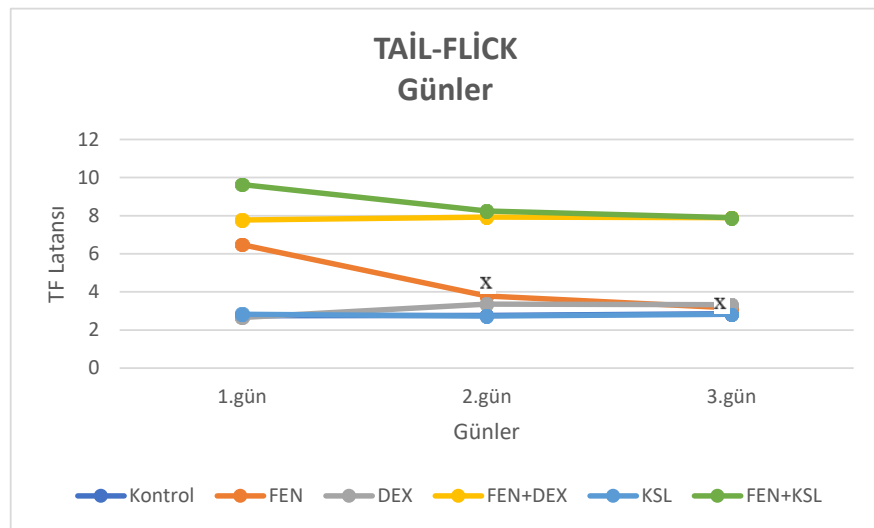
Şekil 24. Kontrol, FEN, KSL ve FEN+KSL gruplarının TF ölçümlerinin günlere göre karşılaştırmalı değişimi.

Tablo 14. Grupların tail-flick ölçümlerinin günlere göre grup içi karşılaştırmaları

		Kontrol Ort±SS (sn)	FEN Ort±SS (sn)	KSL Ort±SS (sn)	DEX Ort±SS (sn)	FEN+DEX Ort±SS (sn)	FEN+KSL Ort±SS (sn)
1.gün		2,75±0,39	6,48±1,61	2,83±0,34	2,66±0,52	7,78±1,22	9,63±1,74
2.gün		2,77±0,23	3,79±1,54 ^x	2,73±0,36	3,36±0,53	7,92±1,49	8,24±1,16
3.gün		2,85±0,33	3,16±0,75 ^x	2,82±0,42	3,32±0,46	7,9±1,93	7,89±0,61
Zaman	X ²	1,750	13,000	4,200	7,000	0,000	7,000
test	p	0,417	0,002*	0,122	0,030*	0,999	0,030*

*p<0,05 anlamlı fark var, p>0,05 anlamlı fark yok. Grup içi karşılaştırmaların analizinde Friedman testi ve Wilcoxon testi kullanılarak Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır (Bonferroni düzeltmesi p/3). x: 1.güne göre anlamlı (p<0,017).

Grupların 1, 2 ve 3.günlerde alınan tail-flick ölçüm ortalamalarının günlere göre karşılaştırmasında, non-parametrik testlerden olan Friedman testi ve Wilcoxon testi kullanıldı. p/3: Bonferroni düzeltmesi yapılarak p<0,017 olan gruplar anlamlı kabul edildi. Post hoc analiz sonuçlarına göre, FEN grubunun 1.gündeki latans süresi ile 2 ve 3.günlerde alınan latans süreleri arasında anlamlı fark olduğu görüldü (p=0,012). Bu veriler, 2.günde FEN grubunda analjezik tolerans geliştiği söylenebilir. Buna karşın, FEN+DEX ve FEN+KSL gruplarının farklı günlerde kaydedilen latans süreleri arasında anlamlı fark olmadığı tespit edildi (p>0,017). Tüm bu veriler, FEN'e ek olarak uygulanan DEX ve KSL'nin her ikisinin de FEN'e karşı gelişen analjezik toleransı önlediklerini ortaya koymaktadır (Tablo 14), (Şekil 25).



Şekil 25. Grupların TF ölçümlerinin günlere göre karşılaştırmalı değişimi.

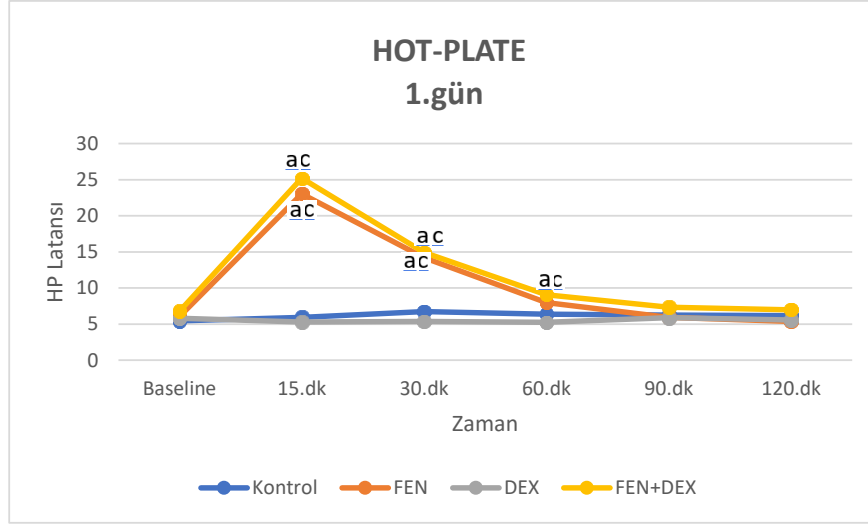
Tablo 15. 1.Günde alınan hot-plate ölçümlerinin gruplar arası karşılaştırmaları

HOT-PLATE 1.gün	Kontrol Ort±SS (sn)	FEN Ort±SS (sn)	DEX Ort±SS (sn)	FEN+DEX Ort±SS (sn)	Grup test	
					X ²	p
Baseline	5,44±0,86	6,06±1,32	5,81±1,69	6,79±1,41	3,637	0,303
15.dk	5,94±1,29	23,06±5,85 ^{a,c}	5,31±0,84	25,21±3,35 ^{a,c}	23,062	0,000*
30.dk	6,75±1,22	14,19±4,42 ^{a,c}	5,38±0,64	14,93±1,99 ^{a,c}	24,036	0,000*
60.dk	6,38±1,13	8±3,33	5,25±1,58	9,07±1,24 ^{a,c}	13,392	0,004*
90.dk	6,25±0,53	5,94±1,52	5,88±1,09	7,36±2,27	2,062	0,560
120.dk	6,19±1,03	5,38±1,71	5,56±1,61	7±2,02	2,830	0,419

*p<0,05 anlamlı fark var, p>0,05 anlamlı fark yok. Kruskal Wallis ve Mann Whitney testi kullanılarak Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır (Bonferroni düzeltmesi p/4). a: Kontrol grubuna göre anlamlı (p<0,013), c: DEX grubuna göre anlamlı (p<0,013).

1.gün hot-plate baseline ölçümlerinin istatistiksel analiz sonuçlarına göre, gruplar arası anlamlı fark yoktu (p>0,05). DEX grubunun farklı zaman dilimlerinde kaydedilen latans süreleri ile kontrol grubunun aynı zaman dilimlerinde kaydedilen latans süreleri karşılaştırıldığında, gruplar arasında anlamlı fark olmadığı saptandı (p>0,05). Tail-flick testinde olduğu gibi hot-plate testinde de bu iki grup arasında anlamlı farkın olmadığını gördük. Bu durum, uygulanan DEX dozunun analjezi oluşturma bakımından etkisiz bir doz olduğu düşüncemizi desteklemektedir. Kontrol ve DEX gruplarının aynı zaman dilimlerine ait latanslarla karşılaştırıldığında, FEN grubunun 15 ve 30.dk'lardaki latans sürelerinin anlamlı şekilde uzun olduğu görülmektedir (p<0,013). Uygulanan FEN'in analjezik etkisi 15.dk'da maksimum seviyede idi. Bu etki, 60.dk ve sonraki zaman dilimlerinde giderek kısalarak kontrol ve DEX gruplarına göre anlamlılığını kaybetti (p>0,013). Benzer şekilde, FEN+DEX grubunda da 15.dk'da maksimum analjezik etki gözlemlendi. Bu etki, daha sonraki zaman dilimlerinde kademeli olarak kısalma meylindeydi.

FEN+DEX grubunun 15, 30 ve 60.dk'larda kaydedilen latans süreleri, kontrol ve DEX gruplarının aynı zaman dilimlerinde kaydedilen latans sürelerine göre anlamlı düzeyde uzundu (p<0,013). Buna karşın, hiçbir zaman diliminde FEN+DEX grubu ile FEN grubu arasında anlamlı fark yoktu (p>0,05). FEN alan grupta 15 ve 30.dk'larda analjezik etki oluşurken; FEN+DEX alan grupta 15, 30 ve 60.dk'larda analjezik etki oluştu. Bu latans süreleri dikkate alındığında, FEN'in analjezik etki süresinin DEX tarafından uzatıldığı görülmektedir (Tablo 15), (Şekil 26).



Şekil 26. Kontrol, FEN, DEX ve FEN+DEX gruplarının gruplarının HP 1.gün latanslarının zamansal değişimi.

Tablo 16. 1.Günde alınan hot-plate ölçümlerinin gruplar arası karşılaştırmaları

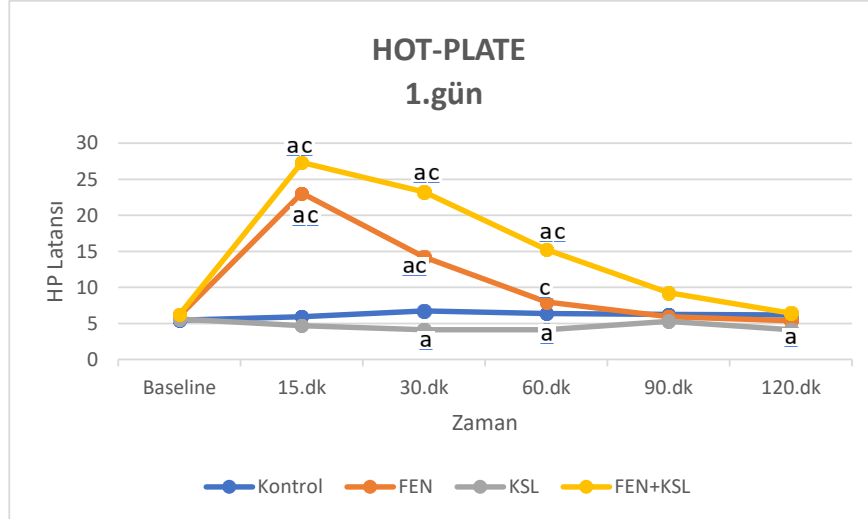
HOT-PLATE 1.gün	Kontrol Ort±SS (sn)	FEN Ort±SS (sn)	KSL Ort±SS (sn)	FEN+KSL Ort±SS (sn)	Grup test	
					X ²	p
Baseline	5,44±0,86	6,06±1,32	5,63±2,13	6,25±1,04	2,843	0,416
15.dk	5,94±1,29	23,06±5,85 ^{a,c}	4,69±1,1	27,33±3,71 ^{a,c}	23,369	0,000*
30.dk	6,75±1,22	14,19±4,42 ^{a,c}	4,13±1,33 ^a	23,25±3,87 ^{a,c}	25,914	0,000*
60.dk	6,38±1,13	8±3,33 ^c	4,13±1,46 ^a	15,25±7,36 ^{a,c}	19,603	0,000*
90.dk	6,25±0,53	5,94±1,52	5,31±1,94	9,25±5,45	5,840	0,120
120.dk	6,19±1,03	5,38±1,71	4,13±1,83 ^a	6,42±1,8	7,838	0,049*

*p<0,05 anlamlı fark var, p>0,05 anlamlı fark yok. Kruskal Wallis ve Mann Whitney testi kullanılarak Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır (Bonferroni düzeltmesi p/4). a: Kontrol grubuna göre anlamlı (p<0,013), b: FEN grubuna göre anlamlı (p<0,013), c: KSL grubuna göre anlamlı (p<0,013).

Grupların 1.gün hot-plate latans süreleri incelendiğinde, baseline latans süreleri arasında anlamlı farka rastlanmadı (p>0,05). FEN grubunun 15 ve 30.dk'lardaki latans ölçümleri hem kontrol hem de KSL gruplarının aynı zaman dilimindeki latans ölçümlerine göre (p<0,013); 60.dk'daki latans ölçümü, KSL grubunun aynı zaman dilimindeki latans ölçümüne göre uzundu (p<0,013). FEN'in maksimum analjezik etkisi 15.dk'da ortaya çıktı. Bu etki, daha sonraki zaman dilimlerinde giderek azaldı ve 60.dk'da tamamen ortadan kalktı (kontrol grubuna

göre anlamlılık kayboldu) ($p>0,013$). Benzer durum, FEN+KSL grubunda da vardı. Maksimum analjezik etki bu grupta da 15.dk'da oluştu. Daha sonraki zaman dilimlerinde dereceli olarak azalma gösterdi ve 90.dk'da tamamen kayboldu.

FEN+KSL grubunun 15, 30 ve 60.dk'larda kaydedilen latans süreleri hem kontrol hem de KSL gruplarının aynı zaman dilimlerinde kaydedilen latans sürelerine göre anlamlı düzeyde uzundu ($p<0,013$). FEN+KSL grubu ile FEN grubunun aynı zaman dilimleri birbirleriyle karşılaştırıldığında, gruplar arası anlamlı fark olmadığı görüldü ($p>0,05$). İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da, FEN+KSL grubunun ilaç sonrası tüm zaman dilimlerinde kaydedilen latans sürelerinin FEN grubunun aynı zaman dilimlerinde kaydedilen latans sürelerinden sayısal olarak daha yüksek olduğu belirlendi. Bu durum, KSL'nin FEN analjezisine katkıda bulunduğunu gösterir. Bunun yanında, oluşan analjezik etki FEN grubunda 15 ve 30.dk'larda ortaya çıkarken; FEN+KSL grubunda 15, 30 ve 60.dk'larda ortaya çıkmıştır. Bu da, KSL'nin FEN analjezi etki süresini uzattığını düşündürmektedir (Tablo 16), (Şekil 27).



Şekil 27. Kontrol, FEN, KSL ve FEN+KSL gruplarının HP 1.gün latanslarının zamansal değişimi.

Tablo 17. 1.Günde alınan hot-plate ölçümlerinin grup içi karşılaştırmaları

HOT-PLATE 1.gün	Kontrol	FEN	KSL	DEX	FEN+DEX	FEN+KSL	
	Ort±SS (sn)	Ort±SS (sn)	Ort±SS (sn)	Ort±SS (sn)	Ort±SS (sn)	Ort±SS (sn)	
Baseline	5,44±0,86	6,06±1,32	5,63±2,13	5,81±1,69	6,79±1,41	6,25±1,04	
15.dk	5,94±1,29	23,06±5,85	4,69±1,1	5,31±0,84	25,21±3,35	27,33±3,71	
30.dk	6,75±1,22	14,19±4,42	4,13±1,33	5,38±0,64	14,93±1,99	23,25±3,87	
60.dk	6,38±1,13	8±3,33	4,13±1,46	5,25±1,58	9,07±1,24	15,25±7,36	
90.dk	6,25±0,53	5,94±1,52	5,31±1,94	5,88±1,09	7,36±2,27	9,25±5,45	
120.dk	6,19±1,03	5,38±1,71	4,13±1,83	5,56±1,61	7±2,02	6,42±1,8	
Zaman test	X ²	6,920	33,593	15,571	3,673	31,582	27,611
	p	0,227	0,000*	0,008*	0,597	0,000*	0,000*

*p<0,05 anlamlı fark var, p>0,05 anlamlı fark yok. Grup içi karşılaştırmaların analizinde Friedman testi ve Wilcoxon testi kullanılarak Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır (anlamlılık: p<0,01, Bonferroni düzeltmesi p/5).

Farklı zaman dilimlerinde kaydedilen hot-plate 1.gün ölçüm latanslarının grup içi karşılaştırmaları Friedman ve Wilcoxon testleriyle analiz edildi. Bonferroni düzeltmeleri yapıldıktan sonra anlamlılık düzeyi p<0,01 olarak belirlendi. İstatistiksel analiz sonuçları, hiçbir grubun kendi içinde (farklı zaman dilimleri arasında) anlamlılığının olmadığını gösterdi (p>0,01), (Tablo 17).

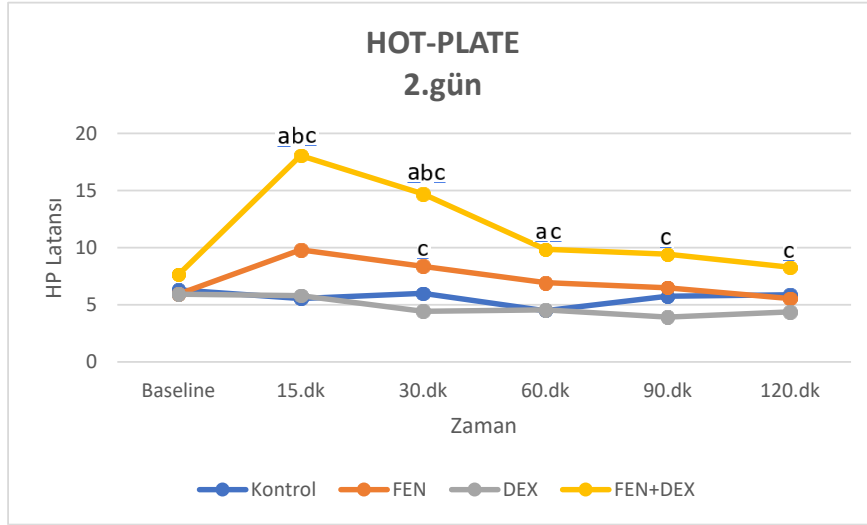
Tablo 18. 2.Günde alınan hot-plate ölçümlerinin gruplar arası karşılaştırmaları

HOT-PLATE 2.gün	Kontrol	FEN	DEX	FEN+DEX	Grup test	
	Ort±SS (sn)	Ort±SS (sn)	Ort±SS (sn)	Ort±SS (sn)	X ²	p
Baseline	6,31±2,14	5,94±1,37	5,94±1,59	7,64±1,6	4,372	0,224
15.dk	5,56±1,27	9,81±4,89	5,81±2,12	18,07±3,06 ^{a, b, c}	17,965	0,000*
30.dk	6±1,83	8,38±3,99 ^c	4,44±1,45	14,71±3,24 ^{a, b, c}	18,960	0,000*
60.dk	4,5±1,13	6,94±2,91	4,56±1,78	9,86±3,06 ^{a, c}	13,844	0,003*
90.dk	5,75±2,33	6,5±2,74	3,94±0,62	9,43±2,64 ^c	13,626	0,003*
120.dk	5,88±2,23	5,56±2,4	4,38±0,99	8,29±1,7 ^c	11,513	0,009*

*p<0,05 anlamlı fark var, p>0,05 anlamlı fark yok. Kruskal Wallis ve Mann Whitney testi kullanılarak Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır (Bonferroni düzeltmesi p/4). a: Kontrol grubuna göre anlamlı (p<0,013), b: FEN grubuna göre anlamlı (p<0,013), c: DEX grubuna göre anlamlı (p<0,013).

2.günde kaydedilen hot-plate latans sürelerinin gruplar arası karşılaştırma analizlerine göre, baseline değerleri arasında anlamlı fark olmadığı görüldü ($p>0,05$). DEX grubunun tüm zaman dilimlerinde ölçülen latans süreleri ile kontrol grubunun aynı zaman dilimlerinde ölçülen latans süreleri kıyaslandığında, bu iki grup arasında anlamlı fark olmadığı belirlendi ($p>0,05$). FEN grubunun ilaç sonrası tüm zaman dilimleri 1.günde ölçülen ilaç sonrası tüm zaman dilimleriyle karşılaştırıldığında, 2.gün latanslarının oldukça kısaldığı göze çarpmaktadır. Bu kısılmanın meydana gelmesinden dolayı (analjezik etkinin azalması), FEN grubu latans süreleri ile kontrol grubunun aynı zaman dilimlerinde kaydedilen latans süreleri karşılaştırıldığında, 1.günde oluşan anlamlı farkın 2.günde ortadan kalktığı görüldü ($p>0,05$). Bu sonuçlar, FEN'in analjezik etkisine karşı 2.günde tolerans geliştiğini ortaya koymaktadır.

FEN+DEX grubunun latans süreleri incelendiğinde, 15 ve 30.dk'larda kaydedilen latansların hem kontrol hem DEX hem de FEN gruplarının aynı zaman dilimlerindeki latanslara göre anlamlı düzeyde uzun olduğu belirlendi ($p<0,013$). FEN+DEX grubunun 60.dk'daki latans süresi, kontrol ve DEX'in aynı zaman dilimlerindeki latans sürelerine; 90 ve 120.dk'lardaki latans süreleri, DEX grubunun aynı zaman dilimlerindeki latans sürelerine göre anlamlı düzeyde uzundu ($p<0,013$). FEN+DEX grubunda, analjezik etkinin 15.dk'da pik yaptığı ve 90.dk'da ortadan kalktığı (kontrol grubuna göre) görülmektedir. FEN grubunun latans sürelerinde meydana gelen önemli ölçüdeki kısılma (toleranstan kaynaklı latans süreleri kısalmıştır), FEN+DEX grubunda meydana gelmemiştir. Bu durum, 15 ve 30.dk'larda FEN+DEX grubu ile FEN grubu arasında anlamlı farkın oluşma sebebidir. Bu verilere dayanarak, FEN grubunda 2.günde oluşan analjezik toleransın FEN+DEX grubunda oluşmadığı; diğer bir deyişle, DEX'in FEN analjezi toleransını engellediği söylenebilir. Öte yandan, FEN+DEX grubunun latans süreleri ile FEN grubunun latans süreleri arasındaki farklar göz önünde bulundurulduğunda, FEN'in analjezik etkisinin DEX ile güçlendirildiği de görülmektedir (Tablo 18), (Şekil 28).



Şekil 28. Kontrol, FEN, DEX ve FEN+DEX gruplarının HP 2.gün latanslarının zamansal değişimi.

Tablo 19. 2.Günde alınan hot-plate ölçümlerinin gruplar arası karşılaştırmaları

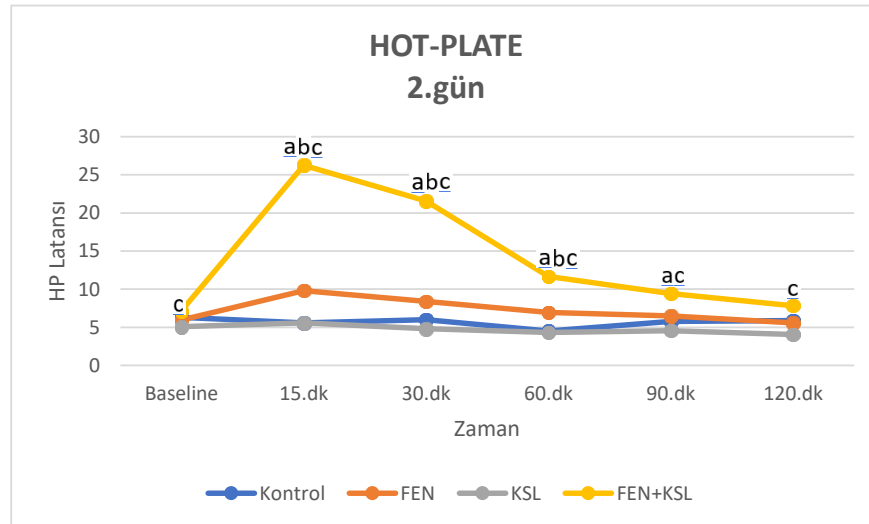
HOT-PLATE 2.gün	Kontrol Ort±SS (sn)	FEN Ort±SS (sn)	KSL Ort±SS (sn)	FEN+KSL Ort±SS (sn)	Grup test	
					X ²	p
Baseline	6,31±2,14	5,94±1,37	5,06±1,27	7,17±0,68 ^c	7,775	0,051
15.dk	5,56±1,27	9,81±4,89	5,56±1,43	26,25±3,74 ^{a, b, c}	17,765	0,000*
30.dk	6±1,83	8,38±3,99	4,81±1,33	21,58±3,38 ^{a, b, c}	17,781	0,000*
60.dk	4,5±1,13	6,94±2,91	4,31±1,1	11,67±1,37 ^{a, b, c}	15,884	0,001*
90.dk	5,75±2,33	6,5±2,74	4,56±1,29	9,42±1,46 ^{a, c}	11,110	0,011*
120.dk	5,88±2,23	5,56±2,4	4,06±1,24	7,83±1,75 ^c	10,299	0,016*

*p<0,05 anlamlı fark var, p>0,05 anlamlı fark yok. Kruskal Wallis ve Mann Whitney testi kullanılarak Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır (Bonferroni düzeltmesi p/4). a: Kontrol grubuna göre anlamlı (p<0,013), b: FEN grubuna göre anlamlı (p<0,013), c: KSL grubuna göre anlamlı (p<0,013).

Hot-plate 2.gün ölçümleri incelendiğinde, gruplar arası baseline değerleri arasında anlamlı fark olmadığı görüldü (p>0,05) (FEN+KSL hariç). Kontrol grubunun tüm zaman dilimlerinde alınan latans süreleri ile KSL ve FEN gruplarının aynı zaman dilimlerinde alınan latans süreleri birbirleriyle karşılaştırıldığında, gruplar arası anlamlı fark olmadığı gözlemlendi (p>0,05). FEN grubunun 2.günde kaydedilen latans süreleri, 1.günde kaydedilen aynı zaman dilimlerindeki latans sürelerine göre daha kısaydı (90 ve 120.dk'lar hariç). 2.günde FEN grubunun latans

sürelerinin kısalması sonucunda, 1.günde (15 ve 30.dk'larda) gözlenen FEN grubundaki (kontrol ve KSL gruplarına göre) anlamlılığın tamamen ortadan kalktığı belirlendi ($p>0,05$). Bu durum, FEN'in analjezik etkisine karşı 2.günde tolerans geliştiğini göstermektedir.

FEN+KSL grubunun 15, 30 ve 60.dk'larda kaydedilen latans süreleri kontrol, KSL ve FEN gruplarının her üçünün de aynı zaman dilimlerinde kaydedilen latans sürelerine göre anlamlı düzeyde uzundu ($p<0,013$). Ayrıca, FEN+KSL grubunun 90.dk'da alınan latans süresi, aynı zaman diliminde alınan kontrol ve KSL latans sürelerine; 120.dk'da alınan latans süresi, aynı zaman diliminde alınan KSL latans süresine göre uzun bulundu ($p<0,013$). FEN+KSL grubu latansları incelendiğinde, FEN grubunun aksine, FEN+KSL grubu latanslarında anlamlı bir kısalma meydana gelmedi. Bu veriler, FEN+KSL grubunda tolerans gelişmediğini gösterir. Yani, FEN'in analjezik etkisine karşı gelişen tolerans KSL tarafından önledi. Bunun yanı sıra, FEN+KSL grubunun tüm zaman dilimlerinde alınan latans süreleri aynı zaman diliminde kaydedilen FEN grubunun latans sürelerinden daha uzundu. Bu sonuçlar, KSL'nin, FEN analjezisini potansiyelize ettiğini göstermektedir (Tablo 19), (Şekil 29).



Şekil 29. Kontrol, FEN, KSL ve FEN+KSL gruplarının HP 2.gün latanslarının zamansal değişimi.

Tablo 20. 2.Günde alınan hot-plate ölçümlerinin grup içi karşılaştırmaları

HOT-PLATE 2.gün	Kontrol	FEN	KSL	DEX	FEN+DEX	FEN+KSL	
	Ort±SS (sn)	Ort±SS (sn)	Ort±SS (sn)	Ort±SS (sn)	Ort±SS (sn)	Ort±SS (sn)	
Baseline	6,31±2,14	5,94±1,37	5,06±1,27	5,94±1,59	7,64±1,6	7,17±0,68	
15.dk	5,56±1,27	9,81±4,89	5,56±1,43	5,81±2,12	18,07±3,06	26,25±3,74	
30.dk	6±1,83	8,38±3,99	4,81±1,33	4,44±1,45	14,71±3,24	21,58±3,38	
60.dk	4,5±1,13	6,94±2,91	4,31±1,1	4,56±1,78	9,86±3,06	11,67±1,37	
90.dk	5,75±2,33	6,5±2,74	4,56±1,29	3,94±0,62	9,43±2,64	9,42±1,46	
120.dk	5,88±2,23	5,56±2,4	4,06±1,24	4,38±0,99	8,29±1,7	7,83±1,75	
Zaman test	X ²	4,498	22,239	11,284	17,920	28,397	28,438
	p	0,480	0,000*	0,046*	0,003*	0,000*	0,000*

*p<0,05 anlamlı fark var, p>0,05 anlamlı fark yok. Grup içi karşılaştırmaların analizinde Friedman testi ve Wilcoxon testi kullanılarak Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır (anlamlılık: p<0,01, Bonferroni düzeltmesi p/5).

Grupların farklı zaman dilimlerinde kaydedilen 2.gün hot-plate latans sürelerinin grup içi karşılaştırma analiz sonuçları, grupların kendi içlerinde istatistiksel anlamlılığa sahip olmadığını gösterdi (p>0,01) (Tablo 20).

Tablo 21. 3.Günde alınan hot-plate ölçümlerinin gruplar arası karşılaştırmaları

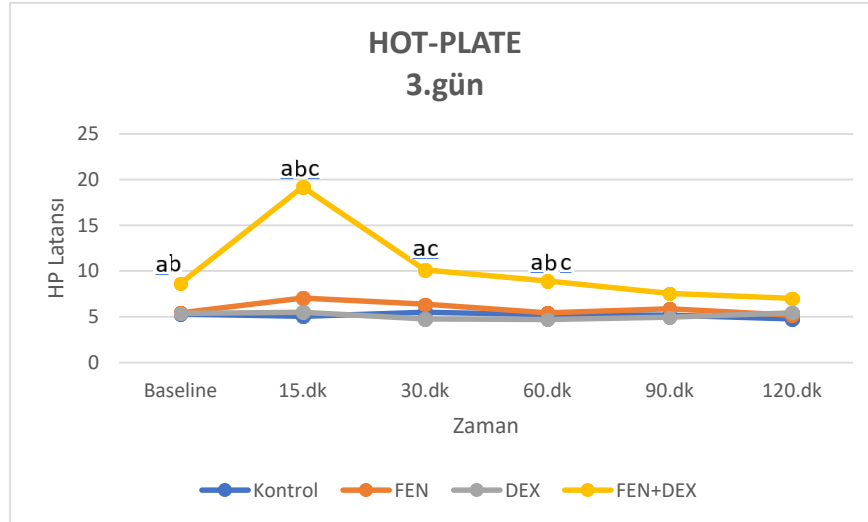
HOT-PLATE 3.gün	Kontrol	FEN	DEX	FEN+DEX	Grup test	
	Ort±SS (sn)	Ort±SS (sn)	Ort±SS (sn)	Ort±SS (sn)	X ²	p
Baseline	5,31±1,22	5,44±1,18	5,38±2,15	8,64±1,44 ^{a, b}	11,844	0,008*
15.dk	5,06±1,18	7,06±2,98	5,5±1,79	19,21±3 ^{a, b, c}	16,957	0,001*
30.dk	5,5±1,49	6,38±2,34	4,75±1,65	10,14±2,84 ^{a, c}	13,618	0,003*
60.dk	5,25±1,79	5,44±1,76	4,69±1,22	8,93±1,95 ^{a, b, c}	13,129	0,004*
90.dk	5,19±1,22	5,88±2,34	4,94±2,31	7,57±2,23	6,403	0,094
120.dk	4,75±1,36	5,19±1,25	5,44±3,05	7±2,31	4,460	0,216

*p<0,05 anlamlı fark var, p>0,05 anlamlı fark yok. Kruskal Wallis ve Mann Whitney testi kullanılarak Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır (Bonferroni düzeltmesi p/4). a: Kontrol grubuna göre anlamlı (p<0,013), b: FEN grubuna göre anlamlı (p<0,013), c: DEX grubuna göre anlamlı (p<0,013).

Grupların 3.günde alınan hot-plate baseline latans süreleri birbirleriyle kıyaslandığında, hot-plate latanslarında gruplar arası fark olmadığı görüldü (p>0,05) (FEN+DEX grubu ile kontrol ve FEN grubu hariç). FEN ve DEX gruplarının tüm

zaman dilimlerinde kaydedilen latans süreleri, kontrol grubunun aynı zaman dilimlerinde kaydedilen latans süreleriyle karşılaştırıldığında, gruplar arası anlamlı fark olmadığı görüldü ($p>0,05$). FEN grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı farkın olmaması, FEN analjezisine karşı tolerans geliştiği yönündeki fikrimizi onaylamaktadır.

Kontrol, FEN ve DEX gruplarının aynı zaman dilimleriyle karşılaştırıldığında, FEN+DEX grubunun 15, 30 ve 60.dk'larda kaydedilen latans sürelerinin daha uzun olduğu tespit edildi ($p<0,013$) (30.dk FEN hariç). FEN+DEX grubunda analjezik etki 15.dk.'da maksimum düzeydeydi. 30.dk ve sonraki zaman dilimlerinde kademeli olarak azaldı ve 90.dk'da tamamen ortadan kalktı. Bu grubun latans süreleri incelendiğinde, FEN grubunun aksine, bu grupta tolerans gelişmediği saptandı. Başka bir deyişle, DEX'in tolerans gelişimini engellediği görüldü. Ayrıca, FEN grubunun latans sürelerine göre, FEN+DEX grubunun latans sürelerinin uzun olması, DEX'in analjezik etkiyi güçlendirdiğine işaret eder (Tablo 21), (Şekil 30).



Şekil 30. Kontrol, FEN, DEX ve FEN+DEX gruplarının HP 3.gün latanslarının zamansal değişimi.

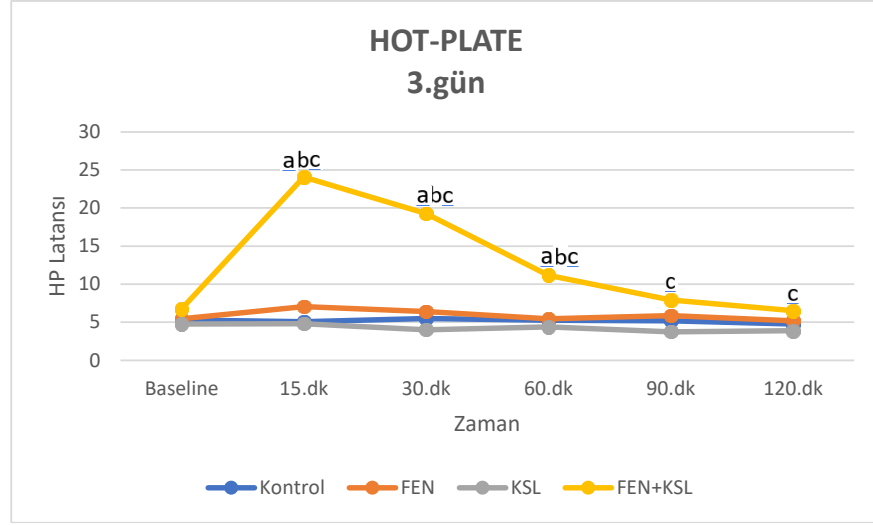
Tablo 22. 3.Günde alınan hot-plate ölçümlerinin gruplar arası karşılaştırmaları

HOT-PLATE 3.gün	Kontrol Ort±SS (sn)	FEN Ort±SS (sn)	KSL Ort±SS (sn)	FEN+KSL Ort±SS (sn)	Grup test	
					X ²	p
Baseline	5,31±1,22	5,44±1,18	4,75±1,49	6,75±0,99	7,197	0,066
15.dk	5,06±1,18	7,06±2,98	4,81±1,22	24,08±2,52 ^{a, b, c}	16,010	0,001*
30.dk	5,5±1,49	6,38±2,34	4±0,89	19,25±1,7 ^{a, b, c}	17,845	0,000*
60.dk	5,25±1,79	5,44±1,76	4,38±0,95	11,17±1,86 ^{a, b, c}	15,060	0,002*
90.dk	5,19±1,22	5,88±2,34	3,75±0,89	7,92±2,01 ^c	12,906	0,005*
120.dk	4,75±1,36	5,19±1,25	3,88±1,46	6,5±1,34 ^c	9,344	0,025*

*p<0,05 anlamlı fark var, p>0,05 anlamlı fark yok. Kruskal Wallis ve Mann Whitney testi kullanılarak Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır (Bonferroni düzeltmesi p/4). a: Kontrol grubuna göre anlamlı (p<0,013), b: FEN grubuna göre anlamlı (p<0,013), c: KSL grubuna göre anlamlı (p<0,013).

3.günde kaydedilen hot-plate latans sürelerinin analiz sonuçları, grupların baseline değerleri arasında fark olmadığını gösterdi (p>0,05). Kontrol grubunun tüm zaman dilimlerinde kaydedilen latanslar, FEN ve KSL gruplarının aynı zaman dilimlerinde kaydedilen latanslarla karşılaştırıldığında, gruplar arası istatistiksel fark olmadığı görüldü (p>0,05). FEN grubunun 1.güne göre kısalan 2.gün latanslarının, 3.gün daha da kısaldığı ve kontrol grubuna yakın değerler oldukları gözlemlendi. Bu durum, 2.gün gelişen FEN toleransını doğrulamaktadır.

FEN+KSL grubunun 15, 30 ve 60.dk'larda kaydedilen latans süreleri, kontrol, FEN ve KSL gruplarının aynı zaman dilimlerinde kaydedilen latans sürelerinden; 90 ve 120.dk'larda kaydedilen latans süreleri, KSL grubunun aynı zaman dilimlerinde kaydedilen latans sürelerinden daha uzundu (p<0,013). FEN+KSL grubunda maksimum analjezik etki 15.dk'da oluştu ve 90.dk'da tamamen ortadan kalktı. FEN grubunda oluşan analjezik toleransın FEN+KSL grubunda oluşmadığı ve FEN+KSL grubu latanslarının FEN grubu latanslarından daha uzun olduğu dikkatleri çekmektedir. Bu durum, KSL'nin FEN analjezisini güçlendirdiği ve tolerans gelişimini önlediğini ortaya koymaktadır (Tablo 22), (Şekil 31).



Şekil 31. Kontrol, FEN, KSL ve FEN+KSL gruplarının HP 3.gün latanslarının zamansal değişimi.

Tablo 23. 3.Günde alınan hot-plate ölçümlerinin grup içi karşılaştırmaları

HOT-PLATE 3.gün	Kontrol	FEN	KSL	DEX	FEN+DEX	FEN+KSL	
	Ort±SS (sn)	Ort±SS (sn)	Ort±SS (sn)	Ort±SS (sn)	Ort±SS (sn)	Ort±SS (sn)	
Baseline	5,31±1,22	5,44±1,18	4,75±1,49	5,38±2,15	8,64±1,44	6,75±0,99	
15.dk	5,06±1,18	7,06±2,98	4,81±1,22	5,5±1,79	19,21±3	24,08±2,52	
30.dk	5,5±1,49	6,38±2,34	4±0,89	4,75±1,65	10,14±2,84	19,25±1,7	
60.dk	5,25±1,79	5,44±1,76	4,38±0,95	4,69±1,22	8,93±1,95	11,17±1,86	
90.dk	5,19±1,22	5,88±2,34	3,75±0,89	4,94±2,31	7,57±2,23	7,92±2,01	
120.dk	4,75±1,36	5,19±1,25	3,88±1,46	5,44±3,05	7±2,31	6,5±1,34	
Zaman test	X ²	1,960	6,385	9,177	6,167	24,125	28,062
	p	0,855	0,271	0,102	0,290	0,000*	0,000*

*p<0,05 anlamlı fark var, p>0,05 anlamlı fark yok. Grup içi karşılaştırmaların analizinde Friedman testi ve Wilcoxon testi kullanılarak Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır (anlamlılık: p<0,01, Bonferroni düzeltmesi p/5).

3.günde kaydedilen hot-plate latans sürelerinin grup içi karşılaştırma sonuçlarına göre, grupların hiçbirinde grup içi anlamlılık olmadığı görüldü (p>0,01), (Tablo 23).

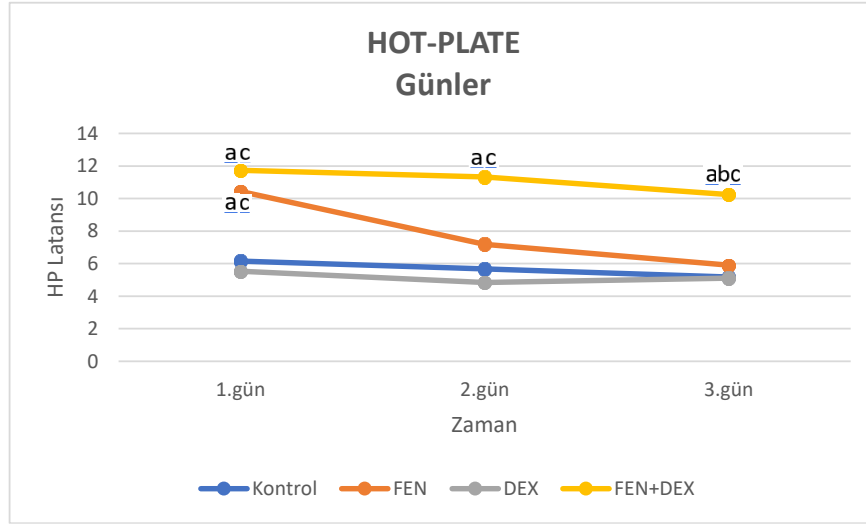
Tablo 24. 3.Grupların hot-plate ölçümlerinin günlere göre karşılaştırmaları

	Kontrol Ort±SS (sn)	FEN Ort±SS (sn)	DEX Ort±SS (sn)	FEN+DEX Ort±SS (sn)	Grup test	
					X ²	p
1.gün	6,16±0,61	10,44±1,86 ^{a,c}	5,53±0,97	11,73±1,32 ^{a,c}	23,306	0,000*
2.gün	5,67±1,43	7,19±2,49	4,84±1,12	11,33±2,1 ^{a,c}	16,224	0,001*
3.gün	5,18±1,01	5,9±1,63	5,11±1,9	10,25±1,69 ^{a,b,c}	16,356	0,001*

*p<0,05 anlamlı fark var, p>0,05 anlamlı fark yok. Kruskal Wallis ve Mann Whitney testi kullanılarak Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır (Bonferroni düzeltmesi p/4). a: Kontrol grubuna göre anlamlı (p<0,013), b: FEN grubuna göre anlamlı (p<0,013), c: DEX grubuna göre anlamlı (p<0,013).

Grupların 1, 2 ve 3.günlerde alınan hot-plate latans sürelerinin ortalamaları tablo 23 ve şekil 32’de sunulmuştur. Kontrol grubunun 1, 2 ve 3.günlerde kaydedilen latans ortalamaları ile DEX grubunun aynı günlerde kaydedilen latans ortalamaları arasında fark yoktu (p>0,05). FEN grubunun 1.günde kaydedilen latans ölçüm ortalamaları, kontrol ve DEX gruplarının 1.günde kaydedilen latans ölçüm ortalamalarından anlamlı düzeyde uzundu (p<0,013). Fakat, 1.günün aksine, 2 ve 3.günlerde bu anlamlı fark tamamen ortadan kalkmıştır (p>0,013). Bu verilere dayanarak, FEN’in analjezik etkisine karşı toleransın 2.günde geliştiği söylenebilir.

FEN+DEX grubunun 1, 2 ve 3.günlerde kaydedilen latans süreleri ile kontrol ve DEX gruplarının aynı günlerde kaydedilen latans süreleri arasında anlamlı fark vardı (p<0,013). Ayrıca, 3.gün ölçümlerinde FEN+DEX grubu ile FEN grubu arasında anlamlı fark vardı (p<0,013). FEN grubunda oluşan tolerans, FEN+DEX grubunda oluşmamıştır. FEN grubu ile FEN+DEX grubu arasında anlamlı fark oluşmasının başlıca nedeni, FEN grubunda meydana gelen latans kısalmalarıdır (tolerans geliştiği için), (Tablo 24).



Şekil 32. Kontrol, FEN, DEX ve FEN+DEX gruplarının HP ölçümlerinin günlere göre karşılaştırmalı değişimi.

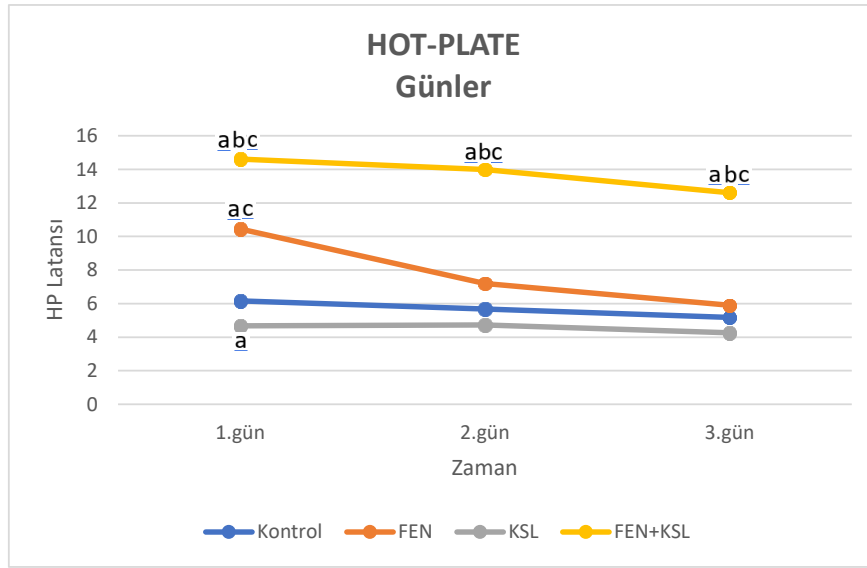
Tablo 25. 3.Grupların hot-plate ölçümlerinin günlere göre karşılaştırmaları

	Kontrol Ort±SS (sn)	FEN Ort±SS (sn)	KSL Ort±SS (sn)	FEN+KSL Ort±SS (sn)	Grup test	
					X ²	p
1.gün	6,16±0,61	10,44±1,86 ^{a, c}	4,67±1,43 ^a	14,62±3,25 ^{a, b, c}	25,052	0,000*
2.gün	5,67±1,43	7,19±2,49	4,73±1,01	13,99±1,43 ^{a, b, c}	17,005	0,001*
3.gün	5,18±1,01	5,9±1,63	4,26±0,91	12,61±1,35 ^{a, b, c}	17,243	0,001*

*p<0,05 anlamlı fark var, p>0,05 anlamlı fark yok. Kruskal Wallis ve Mann Whitney testi kullanılarak Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır (Bonferroni düzeltmesi p/4). a: Kontrol grubuna göre anlamlı (p<0,013), b: FEN grubuna göre anlamlı (p<0,013), c: KSL grubuna göre anlamlı (p<0,013).

Grupların hot-plate latans ortalamalarının günlere göre karşılaştırılmış verileri tablo 24 ve şekil 33'te verilmiştir. 1.günde kaydedilen FEN grubu latans ortalamaları, 1.günde kaydedilen kontrol ve KSL gruplarının latans ortalamalarından anlamlı düzeyde daha uzunken; 1.günde kaydedilen FEN+KSL grubunun latans ortalamalarından anlamlı düzeyde daha kısaydı (p<0,013). 2 ve 3.günlerde kaydedilen FEN grubu latans ortalamaları, 2 ve 3.günlerde kaydedilen kontrol ve KSL gruplarının latans ortalamalarından farksızdı (p>0,05). Yani, 1.günde FEN grubunda oluşan anlamlı fark, 2 ve 3.günlerde ortadan kalkmıştır. Bunun sebebi, FEN grubunun latans sürelerinin, 2 ve 3.günlerde tolerans gelişmesi nedeniyle, kısalmış olmasıdır (Tablo 25).

1, 2 ve 3. günlerde kaydedilen FEN+KSL grubu latans süreleri, aynı günlerde kaydedilen kontrol, KSL ve FEN gruplarının her üçünün de latans sürelerinden anlamlı şekilde daha uzundu ($p<0,013$). 1.gün ölçümlerine dayanarak, KSL'nin FEN analjezisini güçlendirdiğini; 2 ve 3.gün ölçümlerine dayanarak, FEN grubunda gelişen toleransın FEN+KSL grubunda toleransın gelişmediğini söylemek mümkündür.



Şekil 33. Kontrol, FEN, KSL ve FEN+KSL gruplarının HP ölçümlerinin günlere göre karşılaştırmalı değişimi.

Tablo 26. Grupların hot-plate ölçümlerinin günlere göre grup içi karşılaştırmaları

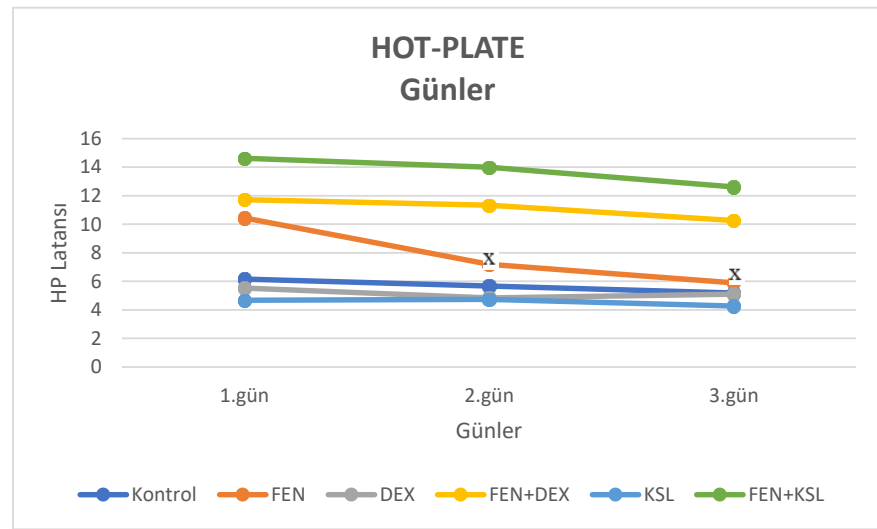
		Kontrol Ort±SS (sn)	FEN Ort±SS (sn)	KSL Ort±SS (sn)	DEX Ort±SS (sn)	FEN+DEX Ort±SS (sn)	FEN+KSL Ort±SS (sn)
1.gün		6,16±0,61	10,44±1,86	4,67±1,43	5,53±0,97	11,73±1,32	14,62±3,25
2.gün		5,67±1,43	7,19±2,49 ^x	4,73±1,01	4,84±1,12	11,33±2,1	13,99±1,43
3.gün		5,18±1,01	5,9±1,63 ^x	4,26±0,91	5,11±1,9	10,25±1,69	12,61±1,35
Zaman test	X ²	3,800	14,250	0,250	4,839	2,741	6,333
	p	0,150	0,001*	0,882	0,089	0,254	0,042*

* $p<0,05$ anlamlı fark var, $p>0,05$ anlamlı fark yok. Grup içi karşılaştırmaların analizinde Friedman testi ve Wilcoxon testi kullanılarak Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır (Bonferroni düzeltmesi $p/3$). x: 1.güne göre anlamlı ($p<0,017$).

Grupların 1, 2 ve 3.günlerde alınan hot-plate latans ortalamalarının günlere göre grup içi karşılaştırmalarında Friedman ve Wilcoxon testleri kullanıldı. Yapılan analizlerde, FEN grubunun 1.gün latans ortalamaları ile 2 ve 3.gün latans

ortalamaları arasında anlamlı fark olduğu tespit ettik ($p=0,012$). FEN grubunun 1.günde uzun olan latans süresi, 2 ve 3.günlerde giderek kısalmıştır ($p<0,017$). Bu sonuçlar, FEN analjezisine karşı 2.günde tolerans geliştiğini göstermektedir.

FEN grubunun aksine, (yapılan post-hoc analiz sonuçlarına göre) FEN+DEX ve FEN+KSL gruplarının farklı günlerde alınan latans süreleri arasında istatistiksel fark olmadığı saptadık ($p>0,017$). Yani sadece FEN alan grupta 2.günde analjezik tolerans gelişirken; kombine ilaç alan gruplarda 2 ya da 3.günlerde tolerans gelişmediğini belirledik (Tablo 26), (Şekil 34).



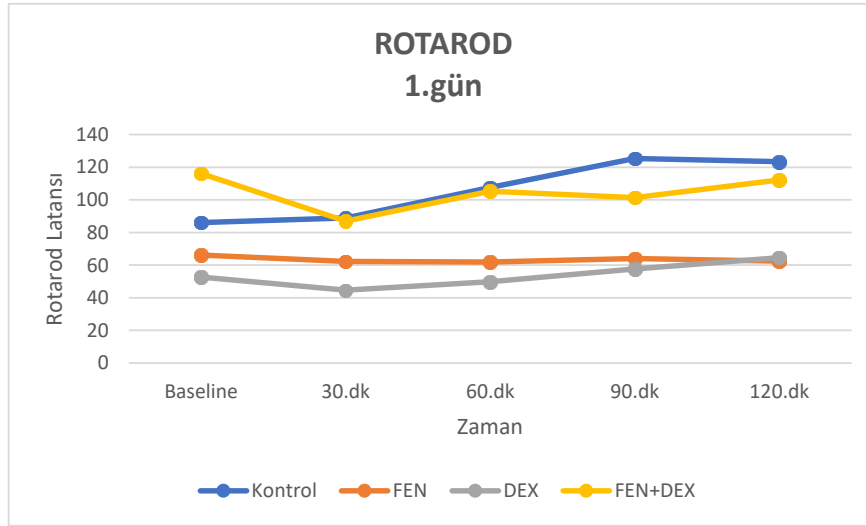
Şekil 34. Grupların HP ölçümlerinin günlere göre karşılaştırmalı değişimi.

Tablo 27. 1.Günde alınan rotarod ölçümlerinin gruplar arası karşılaştırmaları

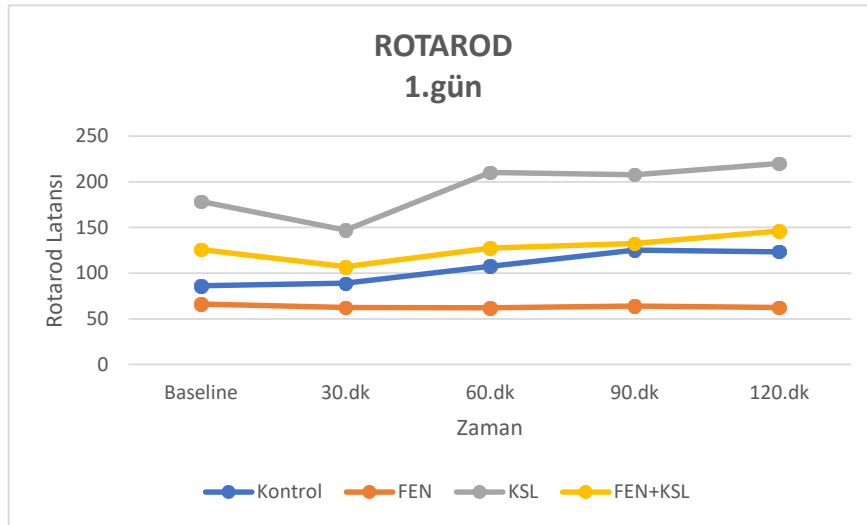
ROTAROD 1.gün	Kontrol Ort±SS (sn)	FEN Ort±SS (sn)	KSL Ort±SS (sn)	DEX Ort±SS (sn)	FEN+DEX Ort±SS (sn)	FEN+KSL Ort±SS (sn)
Baseline	86,13±58,7	66,13±56,0	178,38±75,5	52,75±38,8	116,14±52,8	125,83±57,1
30.dk	89±56,13	62,25±37,3	147,25±63,1	44,63±24,7	87±51,1	107±45
60.dk	107,5±60,2	62±39,9	210,13±83,0	49,75±30,6	105,29±55,3	127,5±52,1
90.dk	125,38±72,3	64±35,9	207,75±79,0	57,63±33,6	101,43±59,3	132,67±48,4
120.dk	123,38±67,1	62,38±34,0	220,13±62,1	64,63±39,3	112,14±64,1	146,17±42,6
Zaman test	X ² 22,314	0,478	12,900	14,557	6,971	4,133
	p 0,000*	0,976	0,012*	0,006*	0,137	0,388

* $p<0,05$ anlamlı fark var, $p>0,05$ anlamlı fark yok. Grup içi karşılaştırmaların analizinde Friedman testi ve Wilcoxon testi kullanılarak Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır (anlamlılık: $p<0,01$, Bonferroni düzeltmesi $p/5$).

Uygulanan ilaçların motor koordinasyon üzerine etkilerinin incelenmesi için, sıçanlar farklı zaman dilimlerinde rotarod cihazında yürütüldü. Her grubun kendi içinde, ilaç uygulanmadan önce ve uygulandıktan sonraki zaman dilimlerinde kaydedilen latanslarının karşılaştırılmasında Friedman ve Wilcoxon testleri kullanılarak p/5: Bonferroni düzeltmesi yapıldı. İstatistiksel anlamlılık değeri $p < 0,01$ kabul edildi. Analiz sonuçlarına göre, hiçbir grubun ilaç öncesi ve ilaç sonrası zaman dilimleri arasında anlamlı fark yoktu ($p > 0,01$). Bu durum, uygulanan ilaçların motor koordinasyon üzerine olumsuz etkileri olmadığını göstermektedir (Tablo 26), (Şekil 35-36).



Şekil 35. Kontrol, FEN, DEX ve FEN+DEX gruplarının rotarod 1.gün latanslarının zamansal değişimi.



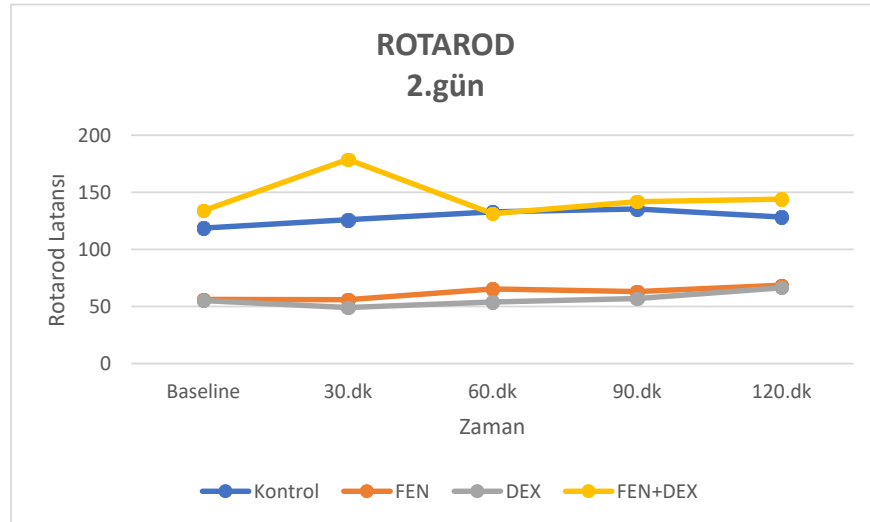
Şekil 36. Kontrol, FEN, KSL ve FEN+KSL gruplarının rotarod 1.gün latanslarının zamansal değişimi.

Tablo 28. 2.Günde alınan rotarod ölçümlerinin gruplar arası karşılaştırmaları

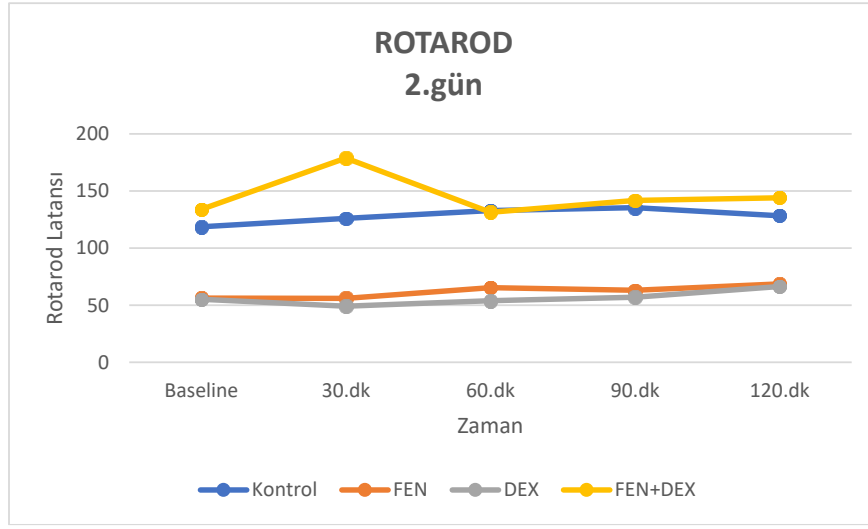
ROTAROD 2.gün	Kontrol	FEN	KSL	DEX	FEN+DEX	FEN+KSL	
	Ort±SS (sn)	Ort±SS (sn)	Ort±SS (sn)	Ort±SS (sn)	Ort±SS (sn)	Ort±SS (sn)	
Baseline	118,63±64,1	56,25±27,7	192,13±77,3	55,25±35,3	134±74,2	164±57,4	
30.dk	126±79,0	56,13±31,2	151,63±35	49,25±28,7	179±200,6	118,67±49	
60.dk	132,88±78,9	65,5±42,9	182,25±48	53,88±32,2	131,43±68,1	162,5±50,7	
90.dk	135,38±75,3	63,13±30,8	203,75±54,3	57,13±34,7	141,86±70,7	176±72,4	
120.dk	128,5±81,0	68,63±30,6	222,75±60,3	66,5±36,8	144,14±41,5	172,5±70,2	
Zaman test	X ²	2,893	9,283	11,346	7,465	1,839	10,454
	p	0,576	0,054	0,023*	0,113	0,765	0,033*

*p<0,05 anlamlı fark var, p>0,05 anlamlı fark yok. Grup içi karşılaştırmaların analizinde Friedman testi ve Wilcoxon testi kullanılarak Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır (anlamlılık: p<0,01, Bonferroni düzeltmesi p/5).

Grupların ilaç öncesi ve ilaç sonrası farklı zaman dilimlerinde kaydedilen rota test çubuğunda kalma süreleri tablo 28 ve şekil 37-38’te verilmiştir. Her grubun ilaç öncesi ve ilaç sonrası tüm zaman dilimlerinin karşılaştırılması sonucunda, hiçbir grupta anlamlı fark olmadığı gözlemlendi (p>0,01). Elde edilen sonuçlar, ilaçların motor inkoordinasyona/sedasyona sebep olmadıklarını düşündürmektedir.



Şekil 37. Kontrol, FEN, DEX ve FEN+DEX gruplarının rotarod 2.gün latanslarının zamansal değişimi.



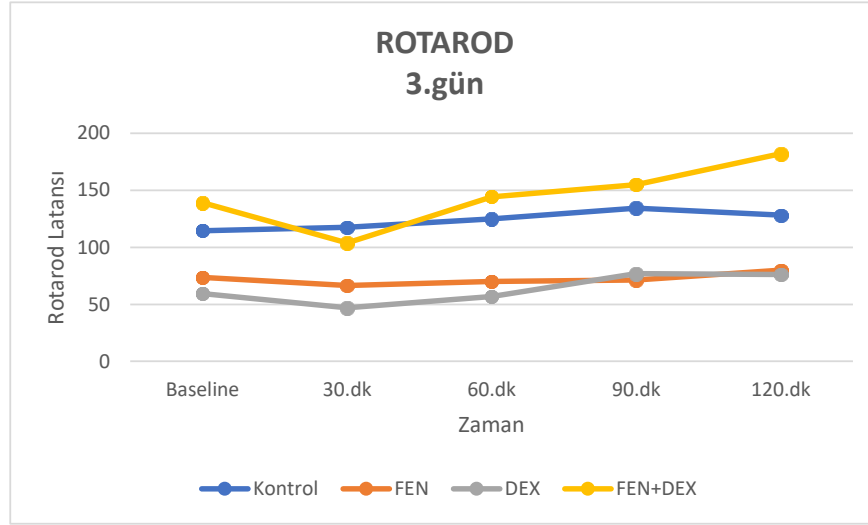
Şekil 38. Kontrol, FEN, KSL ve FEN+KSL gruplarının rotarod 2.gün latanslarının zamansal değişimi.

Tablo 29. 3.Günde alınan rotarod ölçümlerinin gruplar arası karşılaştırmaları

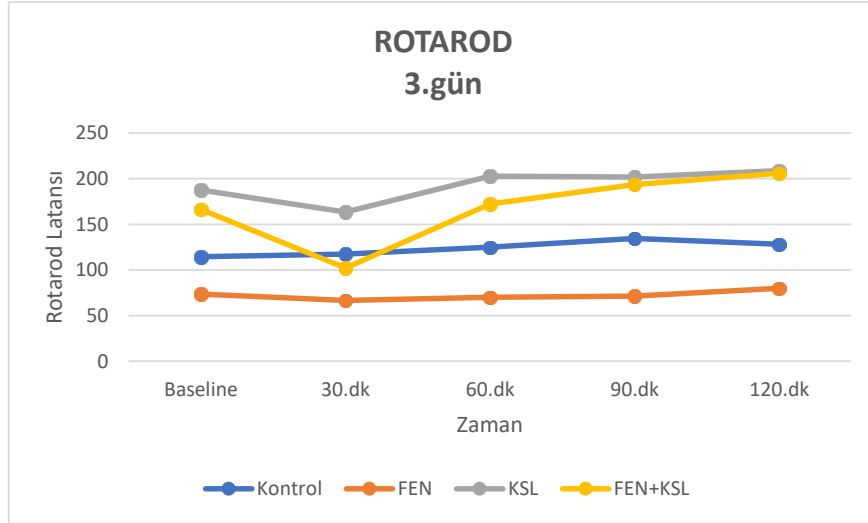
ROTAROD 3.gün		Kontrol Ort±SS (sn)	FEN Ort±SS (sn)	KSL Ort±SS (sn)	DEX Ort±SS (sn)	FEN+DEX Ort±SS (sn)	FEN+KSL Ort±SS (sn)
Baseline		114,5±69,8	73,5±42,5	187,38±68,5	59,5±30,1	139±61,9	166,17±53
30.dk		117,5±87,3	66,5±29	163,5±61,9	46,88±22,2	103,71±27,4	102±37,5
60.dk		124,88±91,1	70±25,7	202,75±71,1	56,75±34	144,29±69,7	172,33±58,1
90.dk		134,38±101,5	71,38±30,3	201,75±49,1	76,88±36,2	154,86±78	193,67±76,9
120.dk		128,13±80,3	79,88±32,6	208,63±46,8	76,13±34,2	182±85,3	205,83±73,8
Zaman test	X ²	3,950	2,800	8,541	11,462	12,288	14,689
	p	0,413	0,592	0,074	0,022*	0,015*	0,005*

*p<0,05 anlamlı fark var, p>0,05 anlamlı fark yok. Grup içi karşılaştırmaların analizinde Friedman testi ve Wilcoxon testi kullanılarak Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır (anlamlılık: p<0,01, Bonferroni düzeltmesi p/5).

Grupların farklı zaman dilimlerinde kaydedilen rota test çubuğunda kalma süreleri analiz edildiğinde, grupların ilaç öncesi ve ilaç sonrası farklı zaman dilimlerinin karşılaştırmalarında anlamlı farka rastlanmadı (p>0,01) (Tablo 29) (Şekil 39-40).



Şekil 39. Kontrol, FEN, DEX ve FEN+DEX gruplarının rotarod 3.gün latanslarının zamansal değişimi.



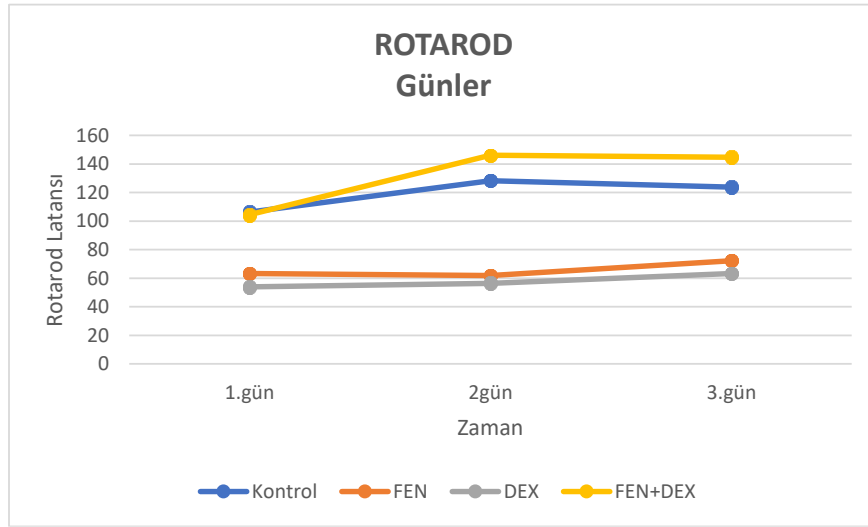
Şekil 40. Kontrol, FEN, KSL ve FEN+KSL gruplarının rotarod ölçümlerinin zamansal değişimi.

Tablo 30. Grupların rotarod ölçümlerinin günlere göre grup içi karşılaştırmaları

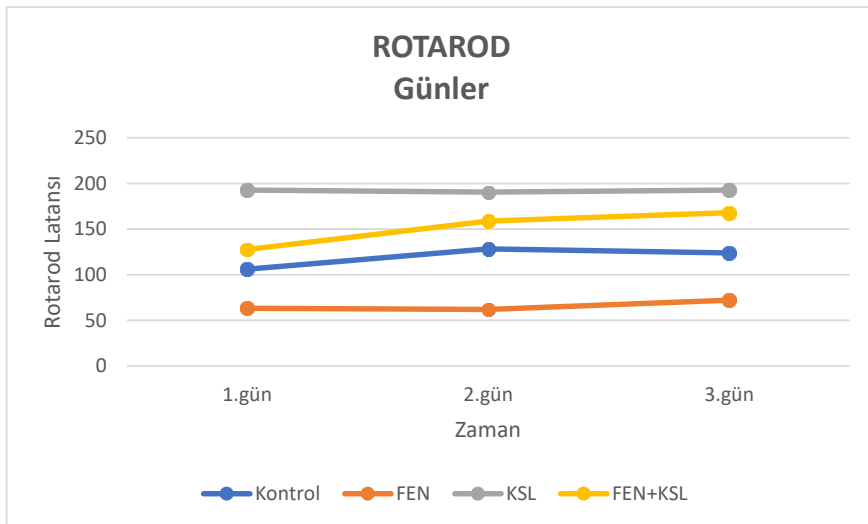
		Kontrol Ort±SS (sn)	FEN Ort±SS (sn)	KSL Ort±SS (sn)	DEX Ort±SS (sn)	FEN+DEX Ort±SS (sn)	FEN+KSL Ort±SS (sn)
1.gün		106,28±61,7	63,35±39,5	192,73±67	53,88±32,7	104,4±53,7	127,83±43,6
2.gün		128,28±74,6	61,93±31,5	190,5±47,8	56,4±30,7	146,09±76,6	158,73±51,5
3.gün		123,88±84,6	72,25±30,1	192,8±53,3	63,23±27,1	144,77±61,6	168±53,1
Zaman test	X ²	5,250	1,742	1,000	5,150	8,000	5,333
	p	0,072	0,419	0,607	0,072	0,018*	0,069

*p<0,05 anlamlı fark var, p>0,05 anlamlı fark yok. Grup içi karşılaştırmaların analizinde Friedman testi ve Wilcoxon testi kullanılarak Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır (anlamlılık: p<0,01, Bonferroni düzeltmesi p/5).

1, 2 ve 3.günlerde yapılan rotarod ölçümlerinin grup içi karşılaştırmaları Friedman ve Wilcoxon testleriyle analiz edildi. Analiz sonuçları, günlere göre hiçbir grupta anlamlılık olmadığını gösterdi ($p>0,01$). Tüm sonuçlar beraber değerlendirildiğinde, sıçanlara uygulanan ilaç ve/veya ilaç kombinasyonlarının motor inkoordinasyon/sedasyona sebep olmadığı yorumu yapılabilir (Tablo 30), (Şekil 41-43).



Şekil 41. Kontrol, FEN, DEX ve FEN+DEX gruplarının rotarod ölçümlerinin günlere göre grup içi karşılaştırmaları.

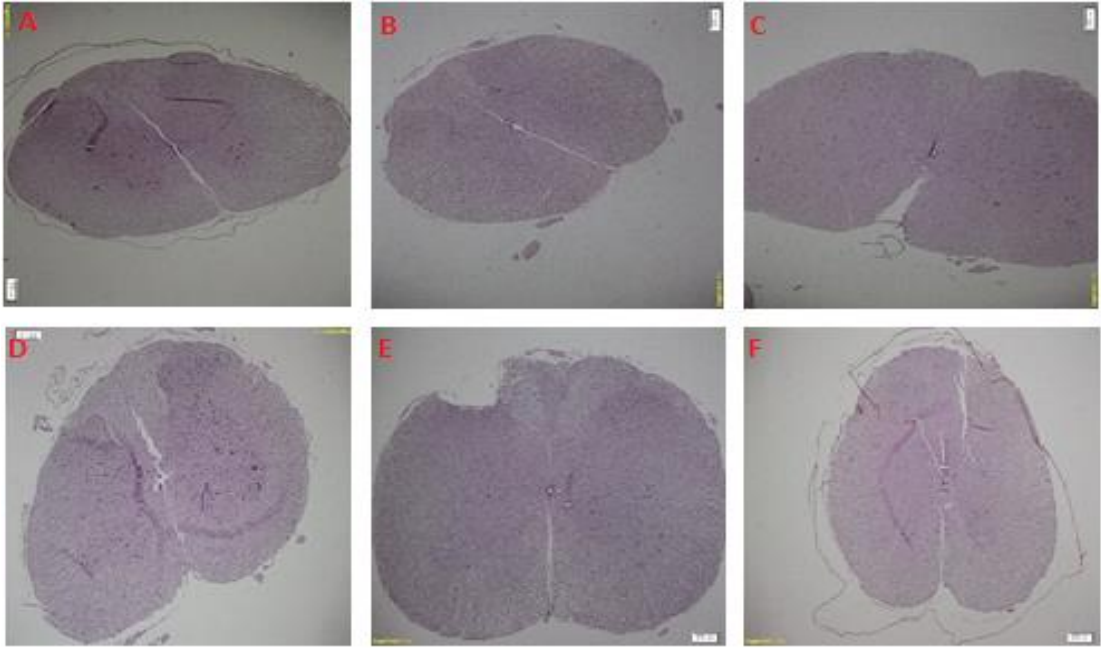


Şekil 42. Kontrol, FEN, KSL ve FEN+KSL gruplarının rotarod ölçümlerinin günlere göre grup içi karşılaştırmaları.

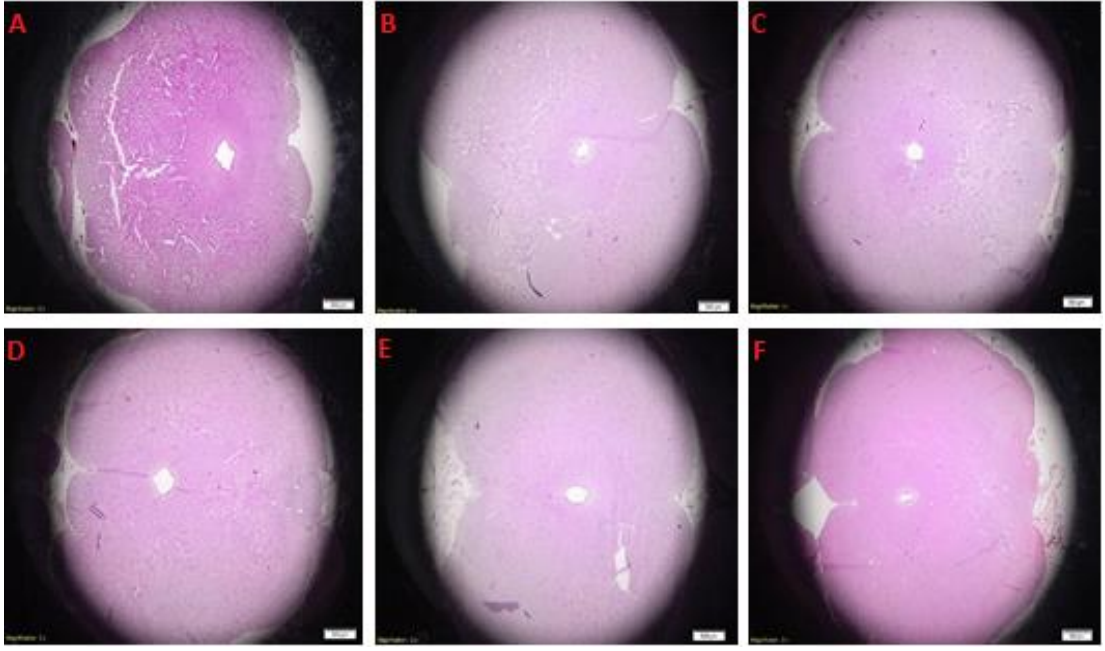
4.2. Histolojik Analiz Sonuçları

4.2.1. Hematoksilen Eozin Boyama Sonuçları

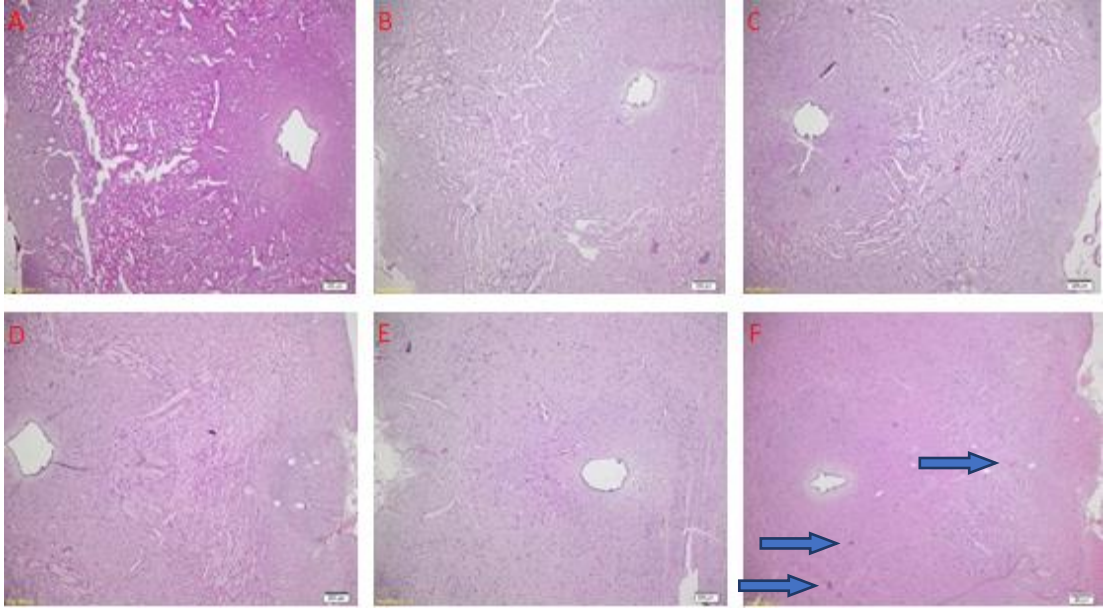
Sıçanların medulla spinalis ve PAG bölgesinden alınan kesitler H&E ile boyanarak fotoğraflandı. Boyama sonuçlarına göre, kontrol, FEN, KSL, DEX ve FEN+DEX gruplarında herhangi bir histopatolojik bulguya rastlanmadı. Fakat, FEN+KSL grubunun PAG bölgesinden alınan kesitlerde vaskülarizasyon ve özellikle hiperemi gözlemlendi (Şekil 45'te ok ile gösterilmiştir).



Şekil 43. Medulla spinalisten alınan örneklerin H&E boyama görüntüleri (x4). A: Kontrol grubu, B: FEN grubu, C: DEX grubu, D: KSL grubu, E: FEN+DEX grubu, F: FEN+KSL grubu.



Şekil 44. PAG'tan alınan örneklerin H&E boyama görüntüleri (x2). A: Kontrol grubu, B: FEN grubu, C: DEX grubu, D: KSL grubu, E: FEN+DEX grubu, F: FEN+KSL grubu.



Şekil 45. PAG'tan alınan örneklerin H&E boyama görüntüleri (x4). A: Kontrol grubu, B: FEN grubu, C: DEX grubu, D: KSL grubu, E: FEN+DEX grubu, F: FEN+KSL grubu.

4.2.2. İmmünohistokimyasal Analiz Sonuçları

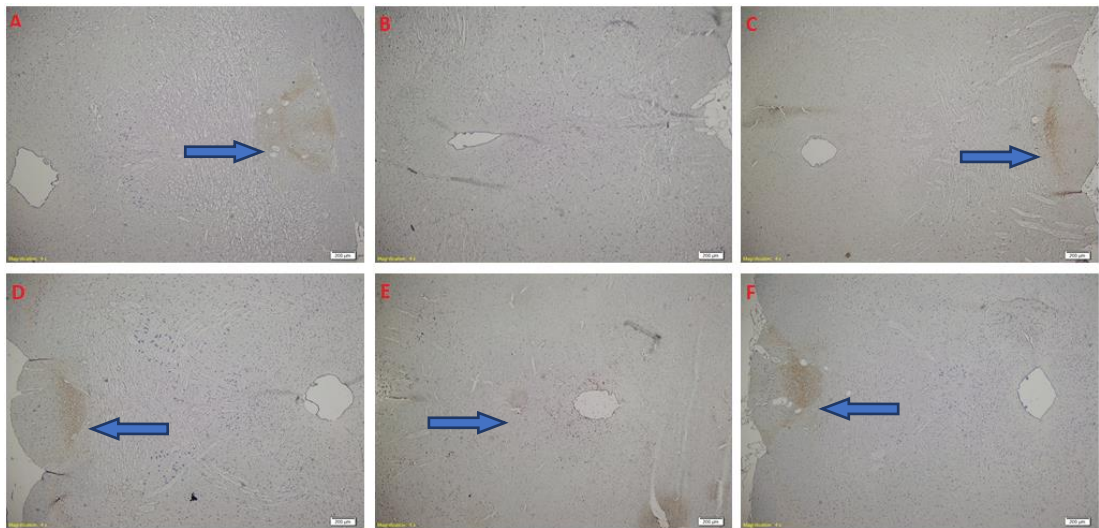
Sıçanların medulla spinalis ve PAG bölgelerinden alınan doku örneklerinde indirekt immünohistokimyasal yöntem kullanılarak MOR protein ekspresyonu incelendi. MOR immünreaktivite dereceleri, pozitif boyanan hücrelerin yoğunluklarına göre skorlandı. Grup skorlamaları Ki-kare testi ile analiz edildi.

Tablo 31. Grupların PAG bölgesindeki MOR ekspresyon skorlamaları

	PAG Bölgesi				X ²	p
	Yok	Zayıf	Orta	Güçlü pozitif		
Kontrol	0 (0)	3 (42,9)	4 (57,1)	0 (0)	27,421	0,001*
FEN	4 (57,1)	3 (42,9)	0 (0)	0 (0)		
DEX	0 (0)	3 (42,9)	4 (57,1)	0 (0)		
KSL	0 (0)	4 (57,1)	3 (42,9)	0 (0)		
FEN+DEX	0 (0)	3 (42,9)	4 (57,1)	0 (0)		
FEN+KSL	0 (0)	0 (0)	2 (33,3)	4 (66,7)		

*p<0,05 anlamlı ilişki var, p>0,05 anlamlı ilişki yok. Ki-kare analizi yapıldı.

PAG bölgesinden alınan kontrol grubuna ait dokuların %42,9'u zayıf, %57,1'i orta düzeyde; FEN grubuna ait dokuların %57,1'i boyasız, %42,9'u zayıf düzeyde; DEX ile FEN+DEX gruplarına ait dokuların %42,9'u zayıf, %57,1'i orta düzeyde; KSL grubuna ait dokuların %57,1'i zayıf, %42,9'u orta düzeyde boyandı. Bu sonuçlara göre, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında FEN, DEX, KSL ve FEN+DEX gruplarında anlamlı fark olmadığı görüldü (p>0,05). Buna karşın, FEN+KSL grubunun %33,3'ü orta, %66,7'si güçlü pozitif boyandı. Bonferroni düzeltmeleri yapılan sonra uygulanan istatistiksel analizlerden elde edilen sonuçlara göre, kontrol grubu ile FEN+KSL grubu arasında da anlamlı fark olmadığı belirlendi (Tablo 31) (Şekil 46).



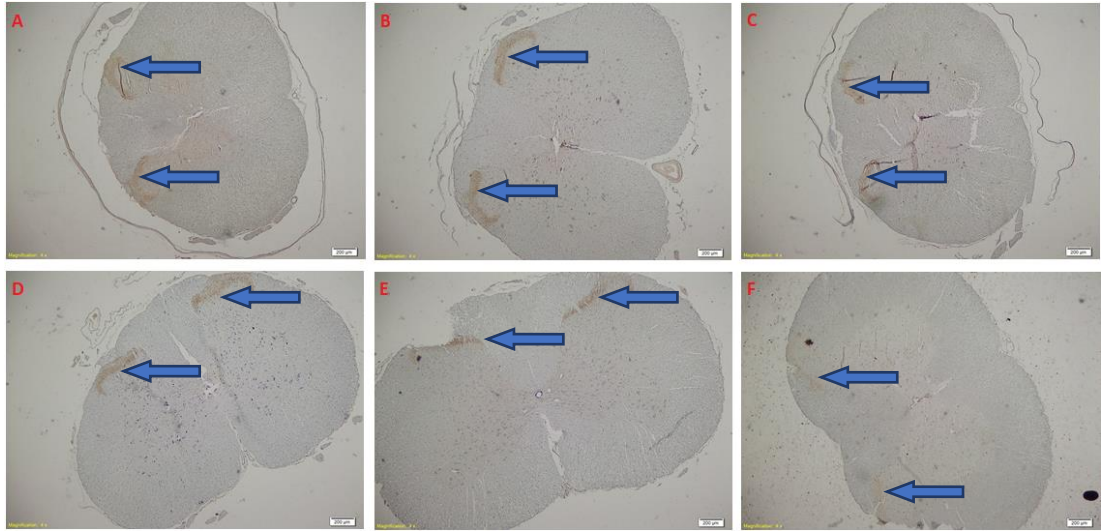
Şekil 46. PAG'tan alınan örneklerin IHC boyama görüntüleri (x4), (Ok; pozitif boyanma). A: Kontrol grubu, B: FEN grubu, C: DEX grubu, D: KSL grubu, E: FEN+DEX grubu, F: FEN+KSL grubu.

Tablo 32. Grupların medulla spinalis bölgesindeki MOR ekspresyon skorlamaları

	Medulla Spinalis Bölgesi			X ²	p
	Zayıf	Orta	Güçlü pozitif		
Kontrol	2 (28,6)	5 (71,4)	0 (0)	1,064	0,755
FEN	1 (14,3)	6 (85,7)	0 (0)		
DEX	1 (14,3)	6 (85,7)	0 (0)		
KSL	1 (14,3)	5 (71,4)	1 (14,3)		
FEN+DEX	1 (14,3)	5 (71,4)	1 (14,3)		
FEN+KSL	2 (33,3)	3 (50)	1 (16,7)		

*p<0,05 anlamlı ilişki var, p>0,05 anlamlı ilişki yok. Ki-kare analizi yapıldı.

Grupların medulla spinalis örneklerinde yapılan IHC boyama skorlarının çoklu karşılaştırma sonuçları incelendiğinde, kontrol grubunun %28,6'sı zayıf, %71,4'ü orta; FEN ve DEX gruplarının %14,3'ü zayıf, %85,7'si orta; KSL ve FEN+DEX gruplarının %14,3'ü zayıf, %71,4'ü orta ve %14,3'ü güçlü pozitif boyandı. İstatistiksel analiz sonuçlarına göre, medulla spinalis düzeyinde gruplar arası herhangi bir farka rastlanmadı (p>0,05), (Tablo 32) (Şekil 47).



Şekil 47. Medulla spinalisten alınan örneklerin IHC boyama görüntüleri (x4), (Ok; pozitif boyanma). Özellikle gri cevherde ve arka boynuzda boyanma görülmektedir X4. A: Kontrol grubu, B: FEN grubu, C: DEX grubu, D: KSL grubu, E: FEN+DEX grubu, F: FEN+KSL grubu.

5. TARTIŞMA

Ağrı tedavisinde oldukça etkili olan opioidler beyin, omurilik ve periferik dokularda eksprese edilen spesifik opioid reseptörleri aktive ederek güçlü analjezi sağlar. Opiatlar diğer analjezik maddeler gibi, merkezi sinir sisteminin farklı bölgelerini etkileyerek farmakolojik etkilerini gösterir. Fakat bu ilaçların uzun süreli ya da yüksek dozlarda kullanımları sonucu tolerans ve bağımlılık gelişebilmektedir. Bu durum, opioidlerin klinikte gönül rahatlığıyla kullanımını engelleyen önemli bir problemdir. Potent analjezik maddeler olmalarına rağmen, hızlı tolerans gelişimi fentanil ve diğer opioidlerin uzun vadede kullanımlarına engel olmaktadır. Bu nedenle klinik kullanımları sınırlandırılmıştır. Opioid tolerans gelişiminin altında yatan moleküler mekanizmalar oldukça karmaşıktır ve günümüzde belirsizliğini halen korumaktadır (5). Opiat ve diğer ilaçların analjezik etkilerine karşı tolerans gelişimini önleyen veya geciktiren ajanlar üzerinde araştırmalar halen devam etmektedir.

Opioid tolerans ve bağımlılığı, noradrenerjik sistemin de dahil olduğu karmaşık fenomenlerdir (6). Noradrenerjik sistem opioid analjezisinde önemli rol oynar (5). Yapılmış çalışmalarda NE'nin ağrı kontrolünde önemli rol oynadığı gösterilmiştir (59), (113), (114). Beyin sapından medulla spinalise inen noradrenerjik liflerin aktive olmasıyla nosiseptif iletim spinal seviyede baskılanır (113). İnen bu noradrenerjik yolların analjezik etkiyi nasıl oluşturduğu tam olarak anlaşılamamış olsa da, yapılmış bazı çalışmalar fikir sahibi olmamızı sağlamaktadır. Sıçanlardan izole edilmiş substantia jelatinoza (SG) (Lamina II) nöronlarında NE'nin presinaptik sinir terminallerinde bulunan α -1 AR'leri aktive ettiği ve hem GABA hem de glisin salınımını artırdığı bildirilmiştir. SG'de α -2 AR'lerin yoğun şekilde bulunduğu ve membran hiperpolarizasyonuna neden oldukları göz önünde bulundurulduğunda, NE'nin α -1 ve α -2 AR'ler üzerinden SG nöronlarının uyarılabilirliğini azaltabileceği ve ağrı iletimini engelleyebileceği öne sürülmüştür (113). Aynı araştırmacıların bir başka çalışmasında NE'nin inhibitörük GABAerjik internöronları aktive edip edemeyeceği araştırılmıştır. Çalışma verilerine dayanarak, SG'deki GABAerjik internöronların somatodendritik α -1 reseptörlere sahip olduğunu, NE'nin α -1 reseptörler üzerinden inhibitörük internöronları uyararak postsinaptik inhibisyon yaptığını ifade etmişlerdir (114).

α -2 AR'ler hem spinal hem supraspinal düzeylerde bulunur (79). α -2 AR agonistlerin köklü bir analjezik profili vardır (59). Daha önce yapılmış çalışmalarda α -2 AR agonistlerinin analjezik etkinlikleri ortaya konmuştur. İnsanlara intratekal veya epidural uygulanan KLO ve ST-91'in (68), farelere topikal uygulanan KLO'nun (71), sıçanlara intratekal uygulanan NE, KLO, ST-91 ve tizanidinin (70), atlara intravenöz uygulanan KSL, detomidin ve romifidinin (88), siyatik sinir hasarı oluşturulmuş sıçanlara (nöropatik ağrı modelinde) intratekal uygulanan KLO'nun (73) antinosiseptif etkili olduğu gösterilmiştir. Hamalainen ve Pertovaara (69)'nın elektrofizyolojik çalışmasında spinal ve supraspinal uygulanan medetomidin spinal antinosisepsiyon oluşturmuştur. İnsanlara düşük dozda eklem içine uygulanan KLO ise, diz eklem ameliyatı sırasında ve ameliyat sonrası dönemde ağrıyı önemli ölçüde hafifletmiştir (115).

DEX, çok seçici bir α -2 AR agonist maddedir; spinal ve supraspinal düzeylerde analjezi oluşturur (22), (81). Bir elektrofizyolojik çalışmada, DEX'in spinal dorsal boynuz nöronlarında C lifi ile uyarılmış yanıtları tamamen inhibe edebildiği gösterilmiştir (105). Perioperatif prosedür sırasında DEX'in analjezik etkili olduğu belirtilmiştir (77). İnsanlara sistemik uygulanan DEX'in, akciğer transplantasyonlu hastalarda (116), gebe annede (117) ve kardiyovasküler hastalıklarda (118) postoperatif ağrıyı kontrol etmede uygun bir ajan olduğu rapor edilmiştir. Sıçanlara sistemik uygulanan ya da LC'ye enjekte edilen DEX tail-flick latansında uzamaya sebep olmuştur (analjezik etki) (119). L5-6 spinal sinir ligasyonu yapılmış ve nöropatik hiperanaljezi oluşmuş sıçanlara sistemik uygulan DEX'in analjezik etkisine vurgu yapılmıştır (120).

KSL elli yılı aşkın süredir çeşitli hayvan türlerinde sedatif bir ajan olarak kullanılmaktadır (43). Sedatif, antinosiseptif ve kas gevşetici özellikleri olan KSL, veterinerlik tıbbında ve hayvan deneylerinde geniş kullanım alanı bulmuştur (82). Sistemik uygulanan KSL'nin antinosiseptif etkisi ilk olarak Bentley ve ark. (84) tarafından gösterildikten sonra, başka araştırmacılar tarafından intratekal (101) ve intraserebroventriküler yollarla uygulanmış ve analjezik etkinliği ortaya konmuştur (82). Başka araştırmacılar tarafından sıçanlarda (85), kemirgenlerde (87), kuzu ve koyunlarda (86) etkili bir analjezik madde olduğuna dikkat çekilmiştir. Taherianfard ve Khazae (121), KSL'nin dişi sıçanların östrus siklus döngüsünün tüm fazlarında

analjezik etkisinin varolduğunu gözlemlemiştir. Goodchild ve ark. (101), intratekal uyguladıkları KSL'nin antinosisseptif etkili olduğunu ve bu etkisini medulla spinalisteki α -2 AR'ler üzerinden oluşturduğunu bildirmiştir.

İnflamatuvar infiltratta bulunan immün sistem hücrelerinde endorfin, enkefalin ve dinorfin gibi opioid peptitlerin varlığından söz edilmektedir (82). Romero ve ark. (82), KSL'nin opioid peptitleri içeren bağışıklık sistemindeki hücreleri uyararak dolaylı yoldan periferik antinosisepsiyona neden olduğunu ileri sürmüştür. Pettibone ve Mueller (122), sıçanlara uygulanan KLO'nun plazma β -endorfin seviyelerini artırabildiğini bildirirken; Binder ve ark. (123), sempatik nöronlardan salınan NE'nin, β -endorfin salgılayacak immün hücreler üzerindeki adrenerjik reseptörleri aktive ettiğini öne sürmüştür. Bir başka çalışmada, KSL'nin endojen opioid peptitleri serbestleyen immün hücreleri aktive ederek dolaylı yoldan periferik antinosisepsiyonu indükleyebileceğini ve nosiseptörler üzerinde bulunan opioid reseptörlerini aktive edebileceğini bildirilmiştir (82).

α -2 AR agonistlerin sedatif, anksiyolitik ve sempatotolitik etkilerinin yanı sıra, analjezik maddelerin etkilerini güçlendirme özellikleri de vardır (76). α -2 AR agonistler ile opioid maddeler birlikte kullanıldığında sinerjistik (aditif etkiden daha büyük) analjezik etki meydana gelebilmektedir (48). Kullanılan iki ajanın aditif veya sinerjistik etkileri sayesinde, daha düşük dozlarda daha güçlü analjezik etki oluşturulabilir (104), (124). Bu araştırmamızda, α -2 AR agonistlerden olan DEX ve KSL'nin tek başlarına analjezi oluşturmayan dozlarını kullandık ve FEN analjezisi üzerine etkilerini inceledik. Çalışma verilerimiz, ineffectif dozlardaki DEX ve KSL'nin her ikisinin de FEN analjezisini potansiyelize ettiklerini göstermiştir. Daha önce yapılmış çalışmalar araştırma sonuçlarımızla paralellik göstermektedir. α -2 AR'lerin uyarılmasıyla opiat analjezisinin güçlendiği (4), (5), (6), (125), (126); α -2 AR agonistler ile opioid maddeler arasında analjezik sinerjizmin varlığı bildirilmiştir (5), (125), (127), (128). DEX'in opiat maddeler ve lokal anestetiklerle antinosisseptif sinerjizm gösterdiği bildirilirken (77); KLO-opioid kombinasyonunun analjeziyi güçlendirdiği rapor edilmiştir (129). Cerrahi girişimlerden sonra hastalara uygulanan DEX-opioid kombinasyonu daha iyi analjezi sağlamıştır (97). Drasner ve Fields (93), sıçanlara intratekal yoldan KLO ve sistemik yoldan morfin uyguladıklarında, aditif etkiden daha büyük analjezik etki oluştuğunu gözlemlemiştir. Kemirgenlerde yapılan

bir araştırmada, α -2 AR agonistlerin morfin analjezisini güçlendirdiği, fare ve sıçan omuriliğinde endojen α -2 noradrenerjik ve opioidlerjik mekanizmalar arasında analjezik sinerjim olduğu rapor edilmiştir (125). Lokal anestetikler ve opioidlerle kombine edilerek epidural uygulanan KLO'nun ise, diz artroplastiden sonra postoperatif analjeziyi önemli ölçüde iyileştirdiği bildirilen raporlar arasındadır (59). Ulger ve ark. (106), sıçanlara intravenöz uyguladıkları DEX'in antinosiseptif etkili olduğunu gözlemlemiş ve bu antinosiseptif etkiye kısmen de olsa, opioid reseptörlerinin aracılık ettiğini bildirmiştir. Tamagaki ve ark. (130) ise, α -2 AR agonist maddelerin analjezik etkisinin opiatlar tarafından güçlendirilip güçlendirilemeyeceği sorusuna ışık tutmuştur. Bu amaçla, 14 gün boyunca uyguladıkları morfinin DEX'in antinosiseptif etkisinin arttırdığını gözlemlemişlerdir. Ayrıca, morfinin lumbal dorsal kök gangliyonu ve dorsal boynuzda bulunan α -2A, α -2B ve α -2C AR'lerin immünreaktivitelerini arttırdığını da tespit ettiler. Tüm bu araştırma verileri, α -2 AR'ler ile MOR'lar arasındaki ilişkinin varlığını doğrular niteliktedir.

DEX'in opiat maddeler dışında başka analjezik maddelerin de etkilerini güçlendirebildiği gösterilmiştir. İntravenöz uygulanan DEX'in sezeryan doğum analjezisi ve anesteziisini önemli ölçüde güçlendirdiği gözlenmiştir (117). Karadas ve ark. (131), topikal COX-2 inhibitörlerini DEX ile kombine ettiklerinde, ek analjezik etki oluştuğunu saptadılar. Çalışma sonuçları NSAİİ'ler ile DEX arasında additif analjezik etkileşimin varlığını göstermektedir.

Farklı ilaç grupları, nosiseptif iletimi bloke ederek antinosisepsiyon oluşturabilir. Spinal düzeyde uygulanan lokal anestetikler, opioidler ya da non-opioidlerin hiçbiri yan etki olmaksızın analjezi sağlayamamaktadır. α -2 adrenerjik agonistler gibi opioid olmayan maddeler, tek başlarına analjezik ajan olarak kullanılmaktan ziyade adjuvan olarak kullanılmaları daha uygun olabilir. Bu ajanların esas rolü, diğer analjezik maddelerin doz gereksinimlerini azaltmalarıdır (132). Daha önce yapılmış çalışmalarda α -2 AR agonistlerin opiat ihtiyacını azalttıkları gösterilmiştir. KLO postoperatif dönemdeki hastaların opiat ihtiyacını azaltırken (132), DEX postoperatif dönemde morfin (77), (126), (133) intraoperatif ve postoperatif dönemde fentanil (134) ihtiyacını azaltmıştır. Benzer şekilde, farklı cerrahi girişimlerden sonra opioidlerle kombine uygulanan DEX'in, opioid

gereksinimini azalttığını gösteren başka çalışmalar da vardır (135), (136), (137). Laparoskopik tüp ligasyonu yapılan kadınlara intravenöz uygulanan DEX, ağrıyı hafifletmiş ve opioid gereksinimini azaltmıştır (138). DEX hasta anksiyetesini, sempatoadrenal yanıtları (plazma NE konsantrasyonu düşürür) ve perioperatif dönemde opioid analjezik gereksinimini azaltmada etkili bir premedikasyon sağlamıştır (139). Scheinin ve ark. (140), DEX'in anestezi sırasında plazma katekolamin konsantrasyonlarını düşürdüğünü ve perioperatif dönemde fentanil gereksinimini azalttığını göstermiştir.

Çalışma sonuçlarımız ayrı ayrı uygulanan DEX ve KSL'nin her ikisinin de FEN analjezisini güçlendirdiklerini ortaya koydu. Bunun yanı sıra, her iki madde de FEN'in analjezik etki süresini uzatmıştır. FEN+DEX ve FEN+KSL gruplarında oluşan analjezik etki, FEN grubundakinden daha geç sonlanmıştır. Bu durum, her iki α -2 AR agonistin de FEN analjezi süresini uzattığını ortaya koymaktadır. Bilimsel literatürde, bir α -2 AR agonist olan KLO'nun diğer birçok analjezik maddenin etki süresini uzattığına dair kanıtlar bulunmaktadır. KLO primigravid kadınlarda bupivakain analjezi süresini önemli ölçüde uzatmıştır (141). Ayrıca morfin, fentanil, sufentanil gibi opioidlerin (132) ve birçok lokal anestetik ajanın analjezik etkisini uzatan önemli bir adjuvan madde olduğu rapor edilmiştir (129), (142), (143).

Araştırma bulgularımız, FEN ile kombine uygulanan DEX ve KSL'nin her ikisinin de 2.günde oluşan FEN toleransını önlediklerini gösterdi. FEN grubunun 2 ve 3.günlerdeki TF ve HP latans süreleri 1.güne göre kısalıyordu. Buna karşın, FEN+DEX ve FEN+KSL gruplarının 2 ve 3.günlerdeki TF ve HP latans sürelerinde kısalma meydana gelmedi. Bu sonuçlar, her iki α -2 AR agonistin FEN tolerans gelişimini önlediğini göstermektedir. Daha önce yapılmış çalışmalardan elde edilen veriler çalışma bulgularımızla paralellik göstermektedir. Zhang ve ark. (4), kanser ağrısı olan sıçanlara 7 gün boyunca morfin uygulayarak morfine karşı tolerans geliştirdiler ve DEX'in morfin toleransına etkilerini incelediler. Çalışma sonuçları, intratekal uygulanan DEX'in morfin analjezisini artırdığını ve morfin toleransını azalttığını gösterdi. Albino sıçanlarda yapılmış bir başka çalışmada, morfinin analjezik etkisine karşı tolerans gelişiminde DEX ile guanfasinin etkileri incelenmiştir. Bulgular, her iki α -2 AR agonistin de morfin toleransını zayıflatabildiklerini göstermiştir (5).

Seçici olmayan α -2 AR antagonistlerin ultra düşük dozlarının, spinal morfin antinosisepsiyonunu artırdığı ve morfin toleransını inhibe ettikleri ileri sürülmüştür. Fakat, bu etkilere aracılık eden reseptör ya da reseptörler bilinmemektedir (144), (145). Sıçanlara ultra düşük dozda uygulanan seçici α -2A AR antagonist BRL-44408'in, NE ile morfin analjezisi ve tolerans gelişimi üzerine etkisini araştırmak amacıyla TF ve pençe basınç testleri yapılmıştır. İntratekal uygulanan BRL-44408, her iki nosisepsiyon testinde de hem NE hem de morfinin etkilerini önemli ölçüde uzatmış; morfin ile NE'nin tekrarlanan uygulamaları sonucunda meydana gelen ilaç potens kaybını engellemiştir (144). Benzer şekilde, ultra düşük dozda kullanılan α -2 AR antagonist efaroksan stereo-izomerlerinin, akut morfin tolerans gelişimini inhibe ettiği saptanmıştır (145). Lilius ve ark. (146), seçici olmayan bir α -2 AR antagonist olan atipamezolün, morfinin antinosiseptif etkisi ve morfin toleransı üzerine etkilerini değerlendirdiler. Düşük dozda intratekal uygulanan atipamezolün, spinal uygulanan morfinin antinosiseptif etkisini artırdığını ve morfin toleransını zayıflattığını; subkutan uygulanan atipamezolün ise, sistemik uygulanan morfinin antinosiseptif etkisi üzerinde anlamlı etki yapmadığını ve morfin toleransını azaltmadığını rapor etmişlerdir (146). Boronat ve ark. (147), bir α -2 AR antagonist olan idazoksanın tek başına kullanımının TF latansında değişikliğe neden olmadığını ama opiatlardan 30 dk önce uygulandığında morfin toleransını tamamen önlediğini ve pentazosin toleransını belirgin şekilde azalttığını tespit ettiler. Tüm bu veriler ışığında, günümüzde mekanizması hala belirsiz olan opioid tolerans gelişiminde α -2 AR'lerin rollerinin olduğu açıktır.

Opioid maddelere uzun süreyle ve/veya tekrarlanan dozlarda maruz kalındığında, G-proteinine kenetli opioid reseptörlerin yanıt verebilirliği azalmaktadır. Bu durum, opiatlara karşı gelişen toleransa katkıda bulunur (148). Opioid reseptörler G-proteinine bağlı reseptör ailesine aittir. Bu reseptörlerin uyarılması sonucu nöronda hiperpolarizasyon meydana gelir ve ağrı iletimi baskılanır (34), (39), (88). Yapılan in vitro ve in vivo çalışmalar, kronik uygulanan opioidlerin hücresel düzeyde etkilerinin varlığını ortaya koymuştur (41). Opioid tolerans gelişiminde meydana geldiği düşünülen olası birkaç durumdan söz edilmektedir. Bunlar: opioid reseptörlerinin desensitizasyonu, cAMP yolağının up-regülasyonu, nitrik oksit (NO)-cGMP sistemlerinin indüksiyonu ve sinyal iletim kaskadlarında

protein kinaz bağımlı nöroadaptatif değişikliklerdir (ikincil haberciye bağımlı protein kinazlar ve G-protein-bağılı reseptör kinazlar) (5). Toleransın erken döneminde opiat reseptörlerinin fosforilasyonu, reseptörlerin G-proteinlerinden ayrılması ve reseptör internalizasyonunun meydana geldiği düşünülürken; geç dönemde opiat reseptörlerinin down-regülasyonu, cAMP yolağının up-regülasyonu ve sinyal iletiminde değişikliklerin meydana geldiği düşünülmektedir (40), (41).

Desensitizasyon, agonist maddeye sürekli olarak maruz kalan reseptörde gelişen işlev kaybı durumudur. Desensitizasyonun başlangıç safhasında reseptör fosforilasyonu meydana gelir (41). Daha önce yapılmış çalışmalar uzun süreli opioid maruziyeti sonrası meydana gelen hücrel ve moleküler adaptasyonun, bazı proteinlerin fosforilasyonundan kaynaklandığını göstermiştir. Desensitizasyon ile, ikincil haberciye bağımlı protein kinazlar (protein kinaz C, siklik AMP'ye bağılı protein kinaz, Ca²⁺/kamodulin bağımlı protein kinaz II), G-proteinine bağılı reseptör kinazlar (GRK) ve opioid sinyal iletiminin transdüksiyonunda önemli rolleri olan mitojenle aktive olan protein kinazlar (MAPK)'ın aracılık ettiği opioid reseptör fosforilasyonu arasında pozitif korelasyon olduğu saptanmıştır (40), (41). Uzun süreli opioid maruziyetinin, MOR fosforilasyonunda artışa sebep olduğu ifade edilmiştir (41). Zhang ve ark. (42), morfinin MOR fosforilasyonunu yaklaşık 5 kat artırdığına dikkat çekmiştir. Ayrıca MOR fosforilasyonu ile opioid kaynaklı desensitizasyon arasında doz-cevap ilişkilerinin paralellik gösterdiği ortaya konmuştur. Morfin ve alkaloid agonistlere maruziyet sonucu hızlı ve geçici MAPK aktivasyonunun meydana geldiği raporlanmıştır. MAPK kaskadının aktive olması sonucu, MOR fosforilasyon ve desensitizasyonuna sebep olacak olayların tetiklenebileceği öne sürülmüştür (149). GRK aracılı MOR fosforilasyonu, β -arrestin bağlanması ve MOR desensitizasyonu arasında güçlü korelasyon vardır. Bu nedenle, GRK'ların MOR fonksiyonunda çok önemli bir rol oynayabileceği düşünülmektedir (40).

Opiatlar uzun süre kullanıldıklarında, GRK'lar aracılı reseptör fosforilasyonu meydana gelir. Daha sonra, fosforile reseptörde konformasyonel değişiklikler olur ve reseptörlerin sitozolik β -arrestin proteinlerine afinitesi artar. β -arrestinler, opiat reseptörün G-proteinden ayrılmasını hızlandır ve reseptörün internalizasyonunu kolaylaştırır. Bu durumda, reseptör plazma zarından hücre içine alınır (41). Reseptöre

sürekli β -arrestin bağlanması, membran reseptöründe degradasyona, içselleştirmeye ve sayısında azalmaya yol açar (3).

Çok sayıda çalışma, opioidlerin bağlanma bölgelerinde meydana gelen değişikliklerin kronik morfin tedavisinden sonra meydana gelen fonksiyonel değişikliklerden sorumlu olup olmadığını açıklamaya çalışmıştır. Ancak, opioid toleransında MOR sayısında meydana gelen değişikliklerin yönü, büyüklüğü ve rolü hakkında tam bir fikir birliği yoktur (148). Kronik opioid uygulamalarından sonra opioid reseptörlerde meydana gelen down-regülasyon, internalize olmuş reseptörlerin degradasyonundan ve/veya reseptör sentezinin azalmasından kaynaklanabilen uzun süreli adaptif bir süreçtir. Uzun zamandır, opioid maddenin kronik uygulaması sonucu MOR sayısında meydana gelen değişikliklerin, reseptör desensitizasyonuna dolayısıyla opioid tolerans gelişimine doğrudan katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Fakat bilimsel çalışma sonuçları bu varsayımda çelişki arz etmektedir. Farklı opioid agonistler uygulandığında, opioid reseptörlerinin arttığı (150), (151), (152), azaldığı (152), (153), (154), (155), (156) veya değişmediği (155), (157), (158) görülmüştür. Bu durum, tolerans gelişiminin opioid reseptör düzenlemesinden bağımsız geliştiğini düşündürmektedir. Öte yandan, opioid reseptörlerde meydana gelen down-regülasyon, uygulanan opiata, incelenen beyin bölgelerine (41), opiat maddenin uygulama dozuna ve uygulama süresine bağlı olabilir.

Bu çalışmamızda, sıçanların PAG ve medulla spinalislerindeki MOR ekspresyon seviyelerini inceledik. Çalışma bulgularımız, kısa süreli uyguladığımız FEN, DEX, KSL ve kombine ilaçların, sıçanların PAG ve medulla spinalislerindeki MOR ekspresyon düzeylerinde anlamlı değişikliğe sebep olmadığını gösterdi. Daha önce yapılmış çalışmalarda, reseptör down-regülasyonun, reseptör desensitizasyonuna göre, daha yüksek dozlarda ve daha uzun süreli opiat maruziyetiyle geliştiği öne sürülmüştür (159), (160). Reseptör sayısında meydana gelen azalmanın ancak yüksek konsantrasyonlarda (161), (162) ve uzun süreli (160), (163) opiat maruziyetinden sonra oluşabileceği ifade edilmiştir. Araştırma bulgularımız, akut uygulanan opiat maddenin reseptör düzeyinde değişikliğe neden olmadığını bildiren Puttfarcken ve Cox (160) ile Bernstein ve Welc (163)'ün bulgularıyla paralellik göstermektedir. Puttfarcken ve Cox (160), 5 saatlik morfin tedavisinden sonra reseptör sayısında herhangi bir değişiklik olmadığını; ancak, 48

saatlik morfin tedavisinden sonra veya çok daha yüksek konsantrasyonlardaki morfin tedavisinden sonra reseptör sayısında %25 oranında azalma meydana geldiğini tespit etmiştir. Benzer şekilde, Bernstein ve Welch (163), akut uygulanan morfinin MOR düzeyinde hiçbir değişiklik yapmadığını; kronik uygulanan morfinin, plasebo ile tedavi edilen örneklere göre reseptör protein miktarında %50 oranında azalmaya sebep olduğunu gözlemlemiştir.

Bütün opiat maddeler opioid reseptörlerde down-regülasyona sebep olmaz. Opioid reseptörlerin down-regülasyonu, yüksek intrinsik etkinliğe sahip opioid agonistlere (etorfin) kronik maruziyetten sonra kolayca meydana gelirken; düşük intrinsik etkinliğe sahip opioid agonistlere (morfin) kronik maruziyetten sonra gözlemlenmeyebilir (155). Ayrıca, tolerans oluşumu için MOR'larda down-regülasyon meydana gelmesi şart değildir (155), (162). Bilimsel literatürde bu hipotezi destekleyen çalışmalar vardır. Uzun süre uygulanan morfin ve etorfinin opioid tolerans gelişimi ve MOR düzeyleri üzerindeki etkilerinin incelendiği bir çalışmada, hem morfin hem de etorfinin toleransı indüklediği; ama yalnızca etorfinin MOR düzeyinde down-regülasyona sebep olduğu saptanmıştır (164). Stafford ve ark. (162)'nin yaptığı in vivo çalışmada, MOR down-regülasyonunun opiat toleransına katkısı incelenmiştir. Çalışma sonuçlarına göre, opioidlerin analjezik etkisine karşı gelişen toleransın hem morfin hem de etorfinle doz bağımlı şekilde olduğu bildirilmiştir. Her iki ilaç da toleransa neden olmasına rağmen, morfin uygulanan farelerin beyinde MOR down-regülasyonu meydana gelmezken, etorfin uygulanan farelerin beyinde MOR down-regülasyonu meydana gelmiştir (etorfinin sadece yüksek dozlarında). Araştırmacılar, bu bulgulara dayanarak, opioid toleransının hem reseptör yoğunluğuna bağlı mekanizmalarla hem de reseptör yoğunluğundan bağımsız mekanizmalarla oluşabildiği sonucuna varmışlardır. Bu veriler ışığında, opioid tolerans gelişimi için reseptörlerde down-regülasyon meydana gelmesi şart değildir. Puttfarcken ve Cox (160)'un da ifade ettiği gibi, reseptörlerde meydana gelen desensitizasyon ve down-regülasyon olayları opioid maruziyetinin farklı sonuçlarıdır ve agonist maddeye verilen cevabın azalmasında veya kaybolmasında, reseptör down-regülasyonunun meydana gelmesi şart değildir.

Yapılmış bir çalışmada, opioid toleransı ile reseptör up-regülasyonunun aynı anda geliştiği gösterilmiştir. Morfin uygulandığı sırada, opioid antagonist naltrekson

uygulanmış ve opioid reseptörlerde naltrekson kaynaklı up-regülasyon meydana gelmiştir. Araştırmacılar, morfin desensitizasyonu (tolerans) ile reseptör up-regülasyonunun aynı anda geliştiğini ve morfin toleransının duyarsızlaştırma yoluyla meydana geldiğini rapor etmiştir (151). Morfin toleransı geliştiği halde reseptör down-regülasyonunun meydana gelmediğini gösteren başka çalışmalar da mevcuttur (161), (165). Nishino ve ark. (165) akut, kronik ve kombine şekilde uyguladıkları morfinin opiat reseptörlerde down-regülasyona sebep olmadığını ve sıçan omuriliğinde reseptör down-regülasyonu olmaksızın da toleransın gelişebileceğini ifade etmiştir. Bu bilgiler ışığında, tolerans gelişimi sırasında opioid reseptörlerde down-regülasyon meydana gelmeyebilir. Buna karşın, reseptör desensitizasyonun toleransta önemli rol üstlendiği söylenebilir. Öte yandan, reseptör yoğunluğunda meydana gelen azalma agonist maddenin gücünü azalması da muhtemeldir. Tolerans gelişimi için down-regülasyon şart olmasa da, meydana gelen down-regülasyon opioid toleransının büyüklüğüne katkıda bulunmaktadır (161), (162). MOR yoğunluğunda azalmaya neden olan etorfin dozları kullanıldığında, tolerans büyüklüğünün belirgin şekilde arttığı gösterilmiştir (162).

Bulgularımız, daha önce yapılmış çalışma sonuçlarıyla tutarlılık göstermektedir. Kısa süreli uyguladığımız FEN, sıçan PAG ve medulla spinalisinde bulunan MOR ekspresyonunda değişikliğe sebep olmamıştır. Mevcut bilgilerle birlikte ele alındığında, reseptör yoğunluğunda değişikliğe neden olmayan opioid tolerans mekanizmalarının olduğu açıktır. Reseptör desensitizasyonunun gelişmediği ya da reseptör yoğunluğunda değişikliğin oluşmadığı durumlarda, sinyal yollarındaki değişiklikler opioid toleransa aracılık edebilir. cAMP'ye bağımlı protein kinaz (PKA), PKC ve β -adrenerjik reseptör kinaz tarafından cAMP, adenil siklaz ve reseptör fosforilasyonun düzenlenmesi gibi olaylar "reseptör yoğunluğunun düzenlenmesinden bağımsız" tolerans mekanizmaları olarak tanımlanmıştır (162). cAMP-PKA'nın, MOR down-regülasyonu ve opioid toleransı üzerindeki rolü incelenmiştir. Araştırmacılar, opioid kaynaklı reseptör down-regülasyonunda PKA'nın rolünün var olduğunu ve opioid toleransında "reseptör yoğunluğunun düzenlenmesinden bağımsız" tolerans gelişiminde PKA'nın kritik rol oynayabileceğini bildirmişlerdir (161). Bir başka çalışmada, opioid reseptör antagonisti naloksonun hem opioid aracılı PKC translokasyonunu hem de reseptör

down-regülasyonunu zayıflattığı rapor edilmiştir. Aynı çalışmada, opioidlerin PKC'yi aktive edebildiği ve PKC'nin opioid reseptör plastisitesinde fizyolojik role sahip olabileceği iddia edilmiştir (166). Morgan ve ark. (167), tolerans gelişimine katkıda bulunan sinyal moleküllerinin (JNK ve GRK/PKC) kullanılan opiat maddeye (morfin, fentanil) ve uygulama metodolojisine bağlı olarak değiştiğini göstermiştir. Çalışma ekibi, JNK'nin morfin toleransına, GRK/PKC'nin ise fentanil toleransına katkıda bulunduğunu ortaya koymuştur. Bu veriler, çoklu sinyal yollarının opioid toleransında rol oynadığına dair önerileri destekler niteliktedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışma sonuçlarımız, α -2 AR agonistlerinin opioid analjezisini güçlendirdiğini, analjezik etki süresini uzattığını ve opioidlere karşı tolerans gelişimini engellediğini ortaya koymuştur. Kısa süreli uyguladığımız FEN'e karşı analjezik tolerans gelişmesine rağmen MOR ekspresyonunda değişiklik olmadığını gözlemledik. Biz de, tolerans gelişim sürecinin opiat maddenin özelliğine bağlı olarak değişik derecelerde desensitizasyonu, down-regülasyonu ve hücre içi yollardaki değişiklikleri içeren multifaktöriyel bir süreç olduğuna dair daha önce bildirilen sonuçlarla aynı fikirdeyiz. Opioid toleransının engellenmesinde α -2 AR agonistlerinin etkili olduğunu gözlemledik ama bu etki reseptör düzeyinde değildi. Bu etkinin hücre içi ikincil habercilerle ve sinyal yollarıyla ilişkili olabileceğini düşünmekteyiz. Bu konuda daha fazla kanıt elde edene kadar çalışma sonuçlarımız ön hazırlık niteliğindedir.

KAYNAKLAR

1. Schaible H, Richter F. Pathophysiology of pain. *Langenbecks Arch Surg.* 2004;389:237–43.
2. Unal M, Gursoy S, Altun A, Duger C, Kol IO, Kaygusuz K, et al. Ineffective doses of dexmedetomidine potentiates the antinociception induced by morphine and fentanyl in acute pain model. *Korean Journal of Physiology and Pharmacology.* 2013;17:417–22.
3. Mercadante S, Arcuri E, Santoni A. Opioid-Induced tolerance and hyperalgesia. *CNS Drugs.* 2019;33(10):943–55.
4. Zhang P, Bu J, Wu X, Deng L, Chi M, Ma C, et al. Upregulation of μ -opioid receptor in the rat spinal cord contributes to the α 2-adrenoceptor agonist dexmedetomidine-induced attenuation of chronic morphine tolerance in cancer pain. *Journal of Pain Research.* 2020;13:2617–27.
5. Gursoy S, Ozdemir E, Bagcivan I, Altun A, Durmus N. Effects of alpha 2-adrenoceptor agonists dexmedetomidine and guanfacine on morphine analgesia and tolerance in rats. *Upsala Journal of Medical Sciences.* 2011;116:238–46.
6. Özdoğan ÜK, Lähdesmäki J, Scheinin M. Influence of prazosin and clonidine on morphine analgesia, tolerance and withdrawal in mice. *European Journal of Pharmacology.* 2003;460:127–34.
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. Taylor J, Elsworth J, Garcia E, Grant S, Roth R, Redmond D. Clonidine infusions into the locus coeruleus attenuate behavioral and neurochemical changes associated with naloxone-precipitated withdrawal. *Psychopharmacology.* 1988;96:121–34.
9. Aydın O. Ağrı ve ağrı mekanizmalarına güncel bakış. *ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi.* 2002;3(2):37–48.
10. Yağcı Ü, Saygın M. Ağrı Fizyopatolojisi. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi.* 2019;26(2):209–20.
11. Guyton A, Hall J. *Tıbbi Fizyoloji.* 2016. 797–849 p.
12. Reisli R, Akkaya ÖT, Arıcan Ş, Can ÖS, Çetingök H, Güleç MS, et al. Akut postoperatif ağrının farmakolojik tedavisi: Türk Algoloji-Ağrı Derneği klinik uygulama kılavuzu. *Ağrı.* 2021;33(1):1–51.
13. Uyar M, Köken İ. Kronik ağrı nörofizyolojisi. *TOTBID Dergisi.* 2017;16:70–6.
14. Altaş Ö, Eser U. Akılcı Analjezik Kullanım İlkeleri. *Klinik Tıp Aile Hekimliği Dergisi.* 2016;8(4):44–7.
15. Zhao Y, He J, Yu N, Jia C, Wang S. Mechanisms of dexmedetomidine in

- neuropathic pain. *Frontiers in Neuroscience*. 2020;14:1–11.
16. Vaughan C, Christie M. Presynaptic inhibitory action of opioids on synaptic transmission in the rat periaqueductal grey in vitro. *Journal of Physiology*. 1997;498(2):463–72.
 17. Lueptow LM, Fakira AK, Bobeck EN. The contribution of the descending pain modulatory pathway in opioid tolerance. *Frontiers in Neuroscience*. 2018;12:1–9.
 18. Sadler KE, Kolber BJ. Urine trouble: Alterations in brain function associated with bladder pain. *J Urol*. 2016;196(1):24–32.
 19. Morgan MM, Whittier KL, Hegarty DM, Aicher SA. Periaqueductal gray neurons project to spinally projecting GABAergic neurons in the rostral ventromedial medulla. *Pain*. 2008;140(2):376–86.
 20. Chen Q, Heinricher MM. Descending Control Mechanisms and Chronic Pain. *Current Rheumatology Reports*. 2019;21(13):1–7.
 21. Morgan MM, Clayton CC, Boyer-Quick JS. Differential susceptibility of the PAG and RVM to tolerance to the antinociceptive effect of morphine in the rat. *Pain*. 2005;113:91–8.
 22. Kumar R, Aakanksha, Das AK, Verma NK, Saxena AC, Hoque M. Systemic effects and clinical application of dexmedetomidine. *The Pharma Innovation Journal*. 2020;9(11):241–6.
 23. Gertler R, Brown HC, Mitchell DH, Silvius EN. Dexmedetomidine: A novel sedative-analgesic agent. *Bumc Proceedings*. 2001;14:13–21.
 24. Budai D, Harasawa I, Fields HL. Midbrain periaqueductal gray (PAG) inhibits nociceptive inputs to sacral dorsal horn nociceptive neurons through α_2 - Adrenergic receptors. *J Neurophysiol*. 2018;80(5):2244–54.
 25. Bajic D, Proudfit HK. Projections of neurons in the periaqueductal gray to pontine and medullary catecholamine cell groups involved in the modulation of nociception. *The Journal of Comparative Neurology*. 1999;405:359–79.
 26. Aimone LD, Jones SL, Gebhart GF. Stimulation-produced descending inhibition from the periaqueductal gray and nucleus raphe magnus in the rat : mediation by spinal monoamines but not opioids. *Pain*. 1987;31:123–36.
 27. Jensen T, Yaksh T. Spinal monoamine and opiate systems partly mediate the antinociceptive effects produced by glutamate at brainstem sites. *Brain Research*. 1984;321:287–97.
 28. 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.
 29. Jensen T, Yaksh T. II. Examination of spinal monoamine receptors through which brainstem opiate-sensitive systems act in the rat. *Brain Research*. 1986;363:114–27.
 30. Fang F, Proudfit HK. Spinal cholinergic and monoamine receptors mediate the antinociceptive effect of morphine microinjected in the periaqueductal gray on

the rat tail , but not the feet. *Brain Research*. 1996;722:95–108.

31. Ossipov MH, Gebhart GF. Absence of antinociceptive effect of alpha-2 agonists microinjected in the periaqueductal gray of the rat. *Brain Research*. 1983;289:349–54.
32. Smith HS. Opioids and neuropathic pain. *Pain physician*. 2012;15:93–110.
33. Williams JT, Ingram SL, Henderson G, Chavkin C, Zastrow M, Schulz S, et al. Regulation of μ -opioid receptors: Desensitization, phosphorylation, internalization and tolerance. *Pharmacological Reviews*. 2013;65:223–54.
34. KuKanich B, Wiese AJ. Opioids. *Veterinary Anesthesia and Analgesia*. 2015. 207–226 p.
35. Trescot AM, Datta S, Lee M, Hans H. Opioid pharmacology. *Pain Physician*. 2008;11:133–53.
36. Bovill JG. Which Potent Opioid? *Drugs*. 1987;33:520–30.
37. Özdoğan ÜK, Lähdesmäki J, Scheinin M. The analgesic efficacy of partial opioid agonists is increased in mice with targeted inactivation of the α 2A-adrenoceptor gene. *European Journal of Pharmacology*. 2006;529:105–13.
38. Jordan B, Devi L. Molecular mechanisms of opioid receptor signal transduction. *British Journal of Anaesthesia*. 1998;81:12–9.
39. Duke-Novakovski T. Opioids. *Pain Management in Veterinary Practice*. 2014. 41–67 p.
40. Liu JG, Anand KJS. Protein kinases modulate the cellular adaptations associated with opioid tolerance and dependence. *Brain Research Reviews*. 2001;38:1–19.
41. Koch T, Höllt V. Role of receptor internalization in opioid tolerance and dependence. *Pharmacology and Therapeutics*. 2008;117:199–206.
42. Zhang L, Yu Y, Mackin S, Weight FF, Uhl GR, Wang JB. Differential μ opiate receptor phosphorylation and desensitization induced by agonists and phorbol esters. *The Journal of Biological Chemistry*. 1996;271(19):11449–54.
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. Stephens E. Opioid toxicity. *Drugs, Diseases & Procedures*. 2012;1–5.
47. Beardsley PM, Zhang Y. Synthetic opioids. *Handbook of Experimental Pharmacology*. 2018. 353–381 p.

48. Stone LS, German JP, Kitto KF, Fairbanks CA, Wilcox GL. Morphine and clonidine combination therapy improves therapeutic window in mice: Synergy in antinociceptive but not in sedative or cardiovascular effects. *Plos One*. 2014;9(10):1–11.
49. Mitra S, Sinatra RS. Perioperative management of acute pain in the opioid-dependent patient. *Anesthesiology*. 2004;101:212–27.
50. Pırbudak L. Opioid hiperaljezisi, opioid toleransı, mekanizması, önleme yolları, tedavisi. *The Journal of The Turkish Society of Algology*. 2012;1–19.
51. Ueda H, Inoue M, Mizuno K. New approaches to study the development of morphine tolerance and dependence. *Life Sciences*. 2003;74:313–20.
52. Christie MJ. Cellular neuroadaptations to chronic opioids: Tolerance, withdrawal and addiction. *British Journal of Pharmacology*. 2008;154:384–96.
53. Bobeck EN, Haseman RA, Hong D, Ingram SL, Morgan MM. Differential development of antinociceptive tolerance to morphine and fentanyl is not linked to efficacy in the ventrolateral periaqueductal gray of the rat. *The Journal of Pain*. 2012;13(8):799–807.
54. 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;93:363–9.
55. Uzbay İ. Anksiyetenin Nörobiyolojisi. *Klinik Psikiyatri*. 2002;1:5–13.
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. Pertovaara A. Noradrenergic pain modulation. *Progress in Neurobiology*. 2006;80:53–83.
58. Motiejunaite J, Amar L, Vidal-Petiot E. Adrenergic receptors and cardiovascular effects of catecholamines. *Ann Endocrinol*. 2020;18:1–5.
59. Giovannoni MP, Ghelardini C, Vergelli C, Piazz VD. α 2-Agonists as analgesic agents. *Medicinal Research Reviews*. 2009;29(2):339–68.
60. Seyrek M, Halici Z, Yildiz O, Ulusoy HB. Interaction between dexmedetomidine and α -adrenergic receptors: Emphasis on vascular actions. *Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia*. 2011;25(5):856–62.
61. Eisenach JC, Shafer SL, Bucklin BA, Jackson C, Kallio A. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of intraspinal dexmedetomidine in sheep. *Anesthesiology*. 1994;80:1349–59.
62. Peden CJ, Prys-Roberts C. Editorial II:Dexmedetomidine- a powerful new adjunct to anaesthesia. *British Journal of Anaesthesia*. 1992;68(2):123–5.
63. Smith H, Elliott J. Alpha 2 receptors and agonists in pain management. *Current Opinion in Anaesthesiology*. 2001;14:513–8.
64. 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.
65. 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.
 66. 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.
 67. 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.
 68. 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.
 69. 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.
 70. 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.
 71. Dogrul A, Uzbay IT. Topical clonidine antinociception. *Pain*. 2004;111(3):385–91.
 72. Eisenach J, Du Pen S, Dubois M, Miguel R, Allin D. Epidural clonidine analgesia for intractable cancer pain. *Pain*. 1995;61:391–9.
 73. 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.
 74. Carollo DS, Nossaman BD, Ramadhyani U. Dexmedetomidine: a review of clinical applications. *Current Opinion in Anaesthesiology*. 2008;21:457–61.
 75. <https://en.wikipedia.org/wiki/Dexmedetomidine#Pharmacology>. Dexmedetomidine wikipedia. 2021.
 76. Coursin DB, Coursin DB, Maccioli GA. Dexmedetomidine. *Current Opinion in Critical Care*. 2001;7:221–6.
 77. Zhang X, Bai X. New therapeutic uses for an alpha2 adrenergic receptor agonist-Dexmedetomidine in pain management. *Neuroscience Letters*. 2014;561:7–12.
 78. Bhana N, Goa KL, Clellan KJM. Dexmedetomidine. *Drugs*. 2000;59(2):263–8.
 79. 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*. 2020;9:797–804.

80. Pertovaara A, Hamalainen M, Kauppila T, Mecke E, Carlson S. Dissociation of the α 2-adrenergic antinociception from sedation following microinjection of medetomidine into the locus coeruleus in rats. *Pain*. 1994;57:207–15.
81. Karna SR, Kongara K, Singh PM, Chambers P, Lopez-Villalobos N. Evaluation of analgesic interaction between morphine, dexmedetomidine and maropitant using hot-plate and tail-flick tests in rats. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*. 2019;46:476–82.
82. Romero TRL, Perez AC, Francischi JN, Duarte IDG. Probable involvement of α 2C-adrenoceptor subtype and endogenous opioid peptides in the peripheral antinociceptive effect induced by xylazine. *European Journal of Pharmacology*. 2009;608:23–7.
83. Xylazine wikipedia. <https://en.wikipedia.org/wiki/Xylazine>. 2021.
84. Bentley GA, Copeland IW, Starr J. The actions of some alpha-adrenoceptor agonists and antagonists in an antinociceptive test in mice. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. 1977;4:405–19.
85. Zemlan FP, Corrigan SA, Pfaff DW. Noradrenergic and serotonergic mediation of spinal analgesia mechanisms. *European Journal of Pharmacology*. 1980;61:111–24.
86. Grant C, Upton RN. The anti-nociceptive efficacy of low dose intramuscular xylazine in lambs. *Research in Veterinary Science*. 2001;70:47–50.
87. Schmitt H, Ledouarec J-C, Petillot N. Antinociceptive effect of some α -sympathomimetic agents. *Neuropharmacology*. 1974;13:289–94.
88. Moens Y, Lanz F, Doherr M, Schatzmann U. A comparison of the antinociceptive effects of xylazine, detomidine and romifidine on experimental pain in horses. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*. 2003;30:183–90.
89. Romero TRL, Duarte IDG. Involvement of ATP-sensitive K⁺ channels in the peripheral antinociceptive effect induced by the α 2-adrenoceptor agonist xylazine. *Journal of Pharmacological Sciences*. 2009;111:323–7.
90. Jordan BA, Gomes I, Rios C, Filipovska J, Devi LA. Functional interactions between μ opioid and α 2A-adrenergic receptors. *Molecular Pharmacology*. 2003;64(6):1317–24.
91. Roerig SC, Lei S, Kitto K, Hylden JK, Wilcox GL. Spinal interactions between opioid and noradrenergic agonists in mice: Multiplicativity involves delta and alpha-2 receptors. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 1992;262(1):365–74.
92. Ossipov MH, Lopez Y, Bian D, Nichols ML, Porreca F. Synergistic antinociceptive interactions of morphine and clonidine in rats with nerve-ligation injury. *Anesthesiology*. 1997;86(1):196–204.
93. Drasner K, Fields HL. Synergy between the antinociceptive effects of intrathecal clonidine and systemic morphine in the rat. *Pain*. 1988;32:309–12.
94. Bentley GA, Newton SH, Starr J. Studies on the antinociceptive action of

- α -agonist drugs and their interactions with opioid mechanisms. *British Journal of Pharmacology*. 1983;79:125–34.
95. Stone LS, MacMillan LB, Kitto KF, Limbird LE, Wilcox GL. The α_2 adrenergic receptor subtype mediates spinal analgesia evoked by α_2 agonists and is necessary for spinal adrenergic–opioid synergy. *The Journal of Neuroscience*. 1997;17(18):7157–65.
 96. Aley KO, Levine JD. Multiple receptors involved in peripheral α_2 , μ , and A1 antinociception, tolerance, and withdrawal. *Journal of Neuroscience*. 1997;17(2):735–44.
 97. Alhashemi J, Kaki A. Dexmedetomidine in combination with morphine PCA provides superior analgesia for shockwave lithotripsy. *Can J Anaesth*. 2004;51(4):342–7.
 98. Meert TF, De Kock M. Potentiation of the analgesic properties of fentanyl-like opioids with α_2 -adrenoceptor agonists in rats. *Anesthesiology*. 1994;81:677–88.
 99. Karna SR, Chambers P, Johnson CB, Singh P, Stewart LA, Lopez-Villalobos N, et al. Effect of combinations of morphine, dexmedetomidine and maropitant on the electroencephalogram in response to acute electrical stimulation in anaesthetized dogs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 2020;43:538–46.
 100. Goyagi T, Tanaka M, Nishikawa T. Oral clonidine premedication enhances postoperative analgesia by epidural morphine. *Anesthesia and Analgesia*. 1999;89:1487–91.
 101. Goodchild CS, Guo Z, Davies A, Gent JP. Antinociceptive actions of intrathecal xylazine: interactions with spinal cord opioid pathways. *British Journal of Anaesthesia*. 1996;76:544–51.
 102. Kihara T, Kaneto H. Important role of adrenergic function in the development of analgesic tolerance to morphine in mice. *Japan J Pharmacol*. 1986;42:419–23.
 103. Iglesias V, Alguacil F, Alamo C, Cuenca E. Effects of yohimbine on morphine analgesia and physical dependence in the rat. *European Journal of Pharmacology*. 1992;211:35–8.
 104. Ossipov MH, Suarez LJ, Spaulding TC. Antinociceptive interactions between α_2 -adrenergic and opiate agonists at the spinal level in rodents. *Anesthesia and Analgesia*. 1989;68:194–200.
 105. Sullivan AF, Kalso EA, McQuay HJ, Dickenson AH. The antinociceptive actions of dexmedetomidine on dorsal horn neuronal responses in the anaesthetized rat. *European Journal of Pharmacology*. 1992;215:127–33.
 106. Ulger F, Bozkurt A, Bilge SS, Ilkaya F, Dilek A, Bostanci MÖ, et al. The antinociceptive effects of intravenous dexmedetomidine in colorectal distension-induced visceral pain in rats: The role of opioid receptors. *Anesthesia and Analgesia*. 2009;109:616–22.
 107. Akın H. Farelerde asetil-L-karnitin uygulamasının deneysel ağrı modelleri

- üzerine etkileri. Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı. 2005.
108. D'Amour F, Smith D. A method for determining loss of pain sensation. *J Pharmacol Exp Ther.* 1941;72:74–9.
 109. Singh P, Kongara K, Harding D, Ward N, Dukkipati VSR, Johnson C, et al. Comparison of electroencephalographic changes in response to acute electrical and thermal stimuli with the tail flick and hot plate test in rats administered with opiorphin. *BMC Neurology.* 2018;18(1):1–10.
 110. Grabow TS, Hurley RW, Banfor PN, Hammond DL. Supraspinal and spinal delta2 opioid receptor-mediated antinociceptive synergy is mediated by spinal alpha2 adrenoceptors. *Pain.* 1999;83:47–55.
 111. Ocak UM. Deneysel ağrı modellerinde atorvastatinin antinosiseptif etkisi. Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı. 2014.
 112. Şahin EA, Bozanoğlu D. Lokomotor aktivitenin ölçümünde rotarod. In: 12 Bilim Günleri. 2019.
 113. 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.
 114. Baba H, Goldstein PA, Okamoto M, Kohno T, Ataka T, Yoshimura M, et al. Norepinephrine facilitates inhibitory transmission in substantia gelatinosa of adult rat spinal cord (Part 2): Effects on somatodendritic sites of GABAergic neurons. *Anesthesiology.* 2000;92:485–92.
 115. Gentili M, Juhel A, Bonnet F. Peripheral analgesic effect of intra-articular clonidine. *Pain.* 1996;64:593–6.
 116. Ohashi Y, Ohta N, Hirao O, Uchiyama A, Mashimo T, Fujino Y. Analgesic effect of dexmedetomidine in a patient with herpetic stomatitis after living-donor lung transplantation. *Journal of Anesthesia.* 2008;22:297–9.
 117. Palanisamy A, Klickovich RJ, Ramsay M, Ouyang DW, Tsen LC. Intravenous dexmedetomidine as an adjunct for labor analgesia and cesarean delivery anesthesia in a parturient with a tethered spinal cord. *International Journal of Obstetric Anesthesia.* 2009;18:258–61.
 118. Naguib AN, Dewhirst E, Winch PD, Simsic J, Galantowicz M, Tobias JD. Pain management after comprehensive stage 2 repair for hypoplastic left heart syndrome. *Pediatric Cardiology.* 2013;34:52–8.
 119. Guo T-Z, Jiang J-Y, Buttermann AE, Maze M. Dexmedetomidine injection into the locus ceruleus produces antinociception. *Anesthesiology.* 1996;84:873–81.
 120. Poree LR, Guo TZ, Kingery WS, Maze M. The analgesic potency of dexmedetomidine is enhanced after nerve injury: a possible role for peripheral alpha2-adrenoceptors. *Anesth Analg.* 1998;87:941–8.

121. Taherianfard M, Khazaei Z. Effect of xylazine and yohimbine on the phasic pain during the estrous cycle in the rat. *Iranian Journal of Veterinary Research*. 2006;7(4):33–9.
122. Pettibone DJ, Mueller GP. α -Adrenergic stimulation by clonidine increases plasma concentrations of immunoreactive β -endorphin in rats. *Endocrinology*. 1981;109(3):798–802.
123. Binder W, Mousa SA, Sitte N, Kaiser M, Stein C, Schäfer M. Sympathetic activation triggers endogenous opioid release and analgesia within peripheral inflamed tissue. *European Journal of Neuroscience*. 2004;20:92–100.
124. Chabot-Doré A-J, Schuster DJ, Stone LS, Wilcox GL. Analgesic synergy between opioid and α 2-adrenoceptors. *British Journal of Pharmacology*. 2015;172:388–402.
125. 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.
126. Lin TF, Yeh YC, Lin FS, Wang YP, Lin CJ, Sun WZ, et al. Effect of combining dexmedetomidine and morphine for intravenous patient-controlled analgesia. *British Journal of Anaesthesia*. 2009;102(1):117–22.
127. Guneli E, Karabay Yavasoglu NU, Apaydin S, Uyar M, Uyar M. Analysis of the antinociceptive effect of systemic administration of tramadol and dexmedetomidine combination on rat models of acute and neuropathic pain. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2007;88:9–17.
128. Ahsan MZ, Khan FU, Zhao M-J, Wang Y-X. Synergistic interaction between butorphanol and dexmedetomidine in antinociception. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2020;149:1–10.
129. Tryba M, Gehling M. Clonidine—a potent analgesic adjuvant. *Current Opinion in Anaesthesiology*. 2002;15:511–7.
130. Tamagaki S, Suzuki T, Hagihira S, Hayashi Y, Mashimo T. Systemic daily morphine enhances the analgesic effect of intrathecal dexmedetomidine via up-regulation of alpha 2 adrenergic receptor subtypes A, B and C in dorsal root ganglion and dorsal horn. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2010;62:1760–7.
131. Karadas B, Kaya T, Gulturk S, Parlak A, GURSOY S, Cetin A, et al. Additive interaction of intraperitoneal dexmedetomidine and topical nimesulide, celecoxib and DFU for antinociception. *European Journal of Pharmacology*. 2007;556:62–8.
132. Rawal N. Spinal antinociception: clinical aspects. *Annals of Medicine*. 1995;27:263–8.
133. Gunes Y, Ozbek TH, Gunduz HM, Gedik YE, Erman T, Ozcengiz D. Patient-controlled analgesia comparison of morphine to dexmedetomidine plus morphine in patients undergoing laminectomy. *Neurosurgery Quarterly*. 2008;18(3):178–81.
134. Scheinin H, Jaakola ML, Sjøvall S, Ali-Melkkilä T, Seppo K, Trunen J, et al.

- Intramuscular dexmedetomidine as premedication for general anesthesia: a comparative multicenter study. *Anesthesiology*. 1993;78:1065–75.
135. Arain S, Ruehlow R, Uhrich T, Ebert T. The efficacy of dexmedetomidine versus morphine for postoperative analgesia after major inpatient surgery. *Anaesth Analg*. 2004;98:153–8.
 136. Venn RM, Bradshaw CJ, Spencer R, Brealey D, Caudwell E, Naughton C, et al. Preliminary UK experience of dexmedetomidine, a novel agent for postoperative sedation in the intensive care unit. *Anaesthesia*. 1999;54:1136–42.
 137. Arain SR, Ebert TJ. The efficacy, side effects, and recovery characteristics of dexmedetomidine versus propofol when used for intraoperative sedation. *Anesthesia and Analgesia*. 2002;95:461–6.
 138. Aho MS, Erkola OA, Scheinin H, Lehtinen AM, Korttila KT. Effect of intravenously administered dexmedetomidine on pain after laparoscopic tubal ligation. *Anesthesia and Analgesia*. 1991;73(2):112–8.
 139. Jaakola ML. Dexmedetomidine premedication before intravenous regional anesthesia in minor outpatient hand surgery. *J Clin Anesth*. 1994;6:204–11.
 140. Scheinin B, Lindgren L, Randell T, Scheinin H, Scheinin M. Dexmedetomidine attenuates sympathoadrenal responses to tracheal intubation and reduces the need for thiopentone and preoperative fentanyl. *British Journal of Anaesthesia*. 1992;68:126–31.
 141. Parker RK, Connelly NR, Lucas T, Serban S, Pristas R, Berman E, et al. Epidural clonidine added to a bupivacaine infusion increases analgesic duration in labor without adverse maternal or fetal effects. *Journal of Anesthesia*. 2007;21:142–7.
 142. 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.
 143. Bonnet F, Brun-Buisson V, Saada M, Boico O, Rostaing S, Touboul C. Dose-related prolongation of tetracaine spinal anesthesia by oral clonidine in humans. *Anesthesia and Analgesia*. 1989;68:619–22.
 144. Milne B, Jhamandas K, Sutak M, Grenier P, Cahill CM. Analgesia, enhancement of spinal morphine antinociception, and inhibition of tolerance by ultra-low dose of the α_2A -adrenoceptor selective antagonist BRL44408. *European Journal of Pharmacology*. 2014;743:89–97.
 145. Milne B, Jhamandas K, Sutak M, Grenier P, Cahill CM. Stereo-selective inhibition of spinal morphine tolerance and hyperalgesia by an ultra-low dose of the alpha-2-adrenoceptor antagonist efaroxan. *European Journal of Pharmacology*. 2013;702:227–34.
 146. Lilius TO, Rauhala P V., Kambur O, Rossi SM, Väänänen AJ, Kalso EA. Intrathecal atipamezole augments the antinociceptive effect of morphine in rats. *Anesthesia and Analgesia*. 2012;114(6):1353–8.
 147. Boronat MA, Olmos G, García-Sevilla JA. Attenuation of tolerance to opioid-

- induced antinociception and protection against morphine-induced decrease of neurofilament proteins by idazoxan and other I2-imidazoline ligands. *British Journal of Pharmacology*. 1998;125:175–85.
148. Starowicz K, Obara I, Przewłocki R, Przewlocka B. Inhibition of morphine tolerance by spinal melanocortin receptor blockade. *Pain*. 2005;117:401–11.
 149. Schmidt H, Schulz S, Klutzny M, Koch T, Händel M, Höllt V. Involvement of mitogen-activated protein kinase in agonist-induced phosphorylation of the μ -opioid receptor in HEK 293 cells. *Journal of Neurochemistry*. 2000;74:414–22.
 150. Zadina J, Kastin A, Ge L-J, Gulden H, Bungart K. Chronic, but not acute, administration of morphine alters antiopiate (Tyr-Mif-1) binding sites in rat brain. *Life Sciences*. 1988;44:555–61.
 151. Yoburn B, Sierra V, Lutfy K. Simultaneous development of opioid tolerance and opioid antagonist-induced receptor upregulation. *Brain Research*. 1990;529:143–8.
 152. Yoburn B, Billings B, Duttaroy A. Opioid receptor regulation in mice. *Pharmacol Exp Ther*. 1993;265(1):314–20.
 153. Dingledine R, Valentino R, Bostock E, King M, Chang J. Down regulation of δ but not μ opioid receptors in the hippocampal slice associated with loss of physiological response. *Life Sciences*. 1983;33(1):333–6.
 154. Tao P, Law P, Loh H. Decrease in delta and mu opioid receptor binding capacity in rat brain after chronic etorphine treatment. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 1987;240:809–16.
 155. Gomes BA, Shen J, Stafford K, Patel M, Yoburn BC. μ -Opioid receptor down-regulation and tolerance are not equally dependent upon G-protein signaling. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2002;72:273–8.
 156. Diaz A, Pazos A, Florez J, Hurlle MA. Autoradiographic mapping of μ -opioid receptors during opiate tolerance and supersensitivity in the rat central nervous system. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. 2000;362:101–9.
 157. Klee W, Streaty R. Narcotic receptor sites in morphine-dependent rats. *Nature*. 1974;248:61–3.
 158. Höllt V, Dum J, Bläsig J, Schubert P, Herz A. Comparison of in vivo and in vitro parameters of opiate receptor binding in naive and tolerant/dependent rodents. *Life Sciences*. 1975;16:1823–8.
 159. Puttfarcken P, Werling L, Cox B. Effects of chronic morphine exposure on opioid inhibition of adenylyl cyclase in 7315c cell membranes: a useful model for the study of tolerance at mu opioid receptors. *Molecular Pharmacology*. 1988;33:520–7.
 160. Puttfarcken P, Cox B. Morphine-induced desensitization and down-regulation at mu-receptor in 7315 C pituitary tumor cells. *Life Sciences*. 1989;45(20):1937–42.
 161. Shen J, Gomes BA, Stafford K, Yoburn BC. Role of cAMP-dependent protein

- kinase (PKA) in opioid agonist-induced μ -opioid receptor downregulation and tolerance in mice. *Synapse*. 2000;38:322–7.
162. Stafford K, Gomes AB, Shen J, Yoburn B. μ -Opioid receptor downregulation contributes to opioid tolerance in vivo. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2001;69:233–7.
 163. Bernstein MA, Welch SP. μ -opioid receptor down-regulation and cAMP-dependent protein kinase phosphorylation in a mouse model of chronic morphine tolerance. *Molecular Brain Research*. 1998;55:237–42.
 164. Patel MB, Patel CN, Rajashekara V, Yoburn BC. Opioid agonists differentially regulate μ -opioid receptors and trafficking proteins in vivo. *Molecular Pharmacology*. 2002;62(6):1464–70.
 165. Nishino K, Su YF, Wong C-S, Watkins WD, Chang K-J. Dissociation of mu opioid tolerance from receptor down-regulation in rat spinal cord. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 1990;253(1):67–72.
 166. Kramer HK, Simon EJ. Role of protein kinase C (PKC) in agonist-induced μ -opioid receptor down-regulation: I. PKC translocation to the membrane of SH-SY5Y neuroblastoma cells is induced by μ -opioid agonists. *Journal of Neurochemistry*. 1999;72:585–93.
 167. Morgan MM, Reid RA, Saville KA. Functionally selective signaling for morphine and fentanyl antinociception and tolerance mediated by the rat periaqueductal gray. *PLoS ONE*. 2014;9(12):1–17.

EKLER

EGE ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

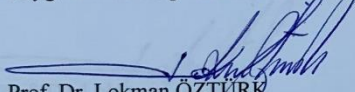
SAYI: 2020-053
KONU: Onay

22.04.2020

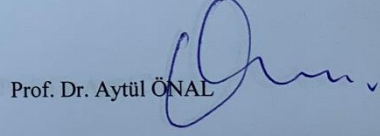
Etik kurulumuza yapmış olduğunuz başvuru doğrultusunda “SIÇANLARDA DEXMEDETOMİDİN VE KSİLAZİNİN FENTANİLİN ANALJEZİK ETKİSİ VE FENTANİL TOLERANSI ÜZERİNE ETKİSİ” isimli araştırma projeniz değerlendirilmiştir.

Yürütücü: Prof. Dr. Ahmet KOYU, İKÇÜ Tıp Fakültesi, Fizyoloji AD
Dr. Öğr. Üyesi Ali Yücel KARA, İKÇÜ Tıp Fakültesi, Fizyoloji AD
Arş. Gör. Deniz YILDIZ PEHLİVAN, İKÇÜ Tıp Fakültesi, Fizyoloji AD
Dr. Öğr. Üyesi Fatma ŞİMŞEK, İKÇÜ Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD

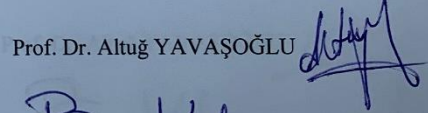
Proje başvuru formunuzda belirtildiği koşullarda 48 adet wistar albino erkek sıçan deney hayvanı kullanarak araştırmayı gerçekleştirmeniz kurumumuz tarafından uygun bulunmuştur. Saygılarımla bilgilerinizi rica ederim.

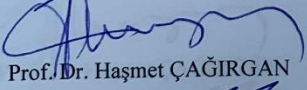

Prof. Dr. Lokman ÖZTÜRK
(E.Ü. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanı)

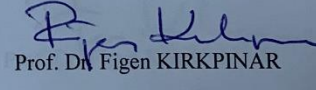

Prof. Dr. N. Ülkü KARABAY YAVAŞOĞLU

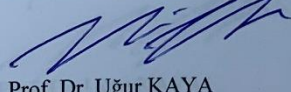

Prof. Dr. Aytül ÖNAL



Prof. Dr. Hüseyin TEZEL


Prof. Dr. Altuğ YAVAŞOĞLU

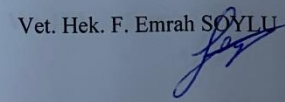

Prof. Dr. Haşmet ÇAĞIRGAN


Prof. Dr. Figen KIRKPINAR



Prof. Dr. Uğur KAYA


Dr. Öğr. Üyesi Sumru SÖZER KARADAĞLI

Öğr. Gör. Dr. M. Ayberk OKTAY


Vet. Hek. F. Emrah SOYLU

Özcan NALBANTOĞLU


Melek Merve AFSAROĞLU

ÖZGEÇMİŞ

1987 yılında Mardin'in Savur ilçesinde dünyaya geldim. İlk ve ortaokul eğitimimi Mardin'in Kızıltepe ilçesinde tamamladım. 2004 yılında Kızıltepe Anadolu Lisesi'nden, 2009 senesinde Selçuk Üniversitesi Hemşirelik bölümünden mezun oldum. İzmir Tepecik Eğitim Araştırma Hastanesi ve Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde hemşire olarak görev yaptım. 2011 yılında Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimime başladım. 2013 yılında İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'na yüksek lisansa kabul edildim. 2016 yılında mezun olarak, aynı yıl doktora eğitimime başladım. Şubat 2014'ten bu yana İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevlisi olarak görev yapmakta ve eğitimimi sürdürmekteyim.

