T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
FARMAKOLOJİ ANA BİLİM DALI

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Ahmet ULUGÖL

NÖROPATİK FARELERDE OLUŞAN MEKANİK ALLODİNİ VE TERMAL HİPERALJEZİ ÜZERİNE MİNOSİKLİN'İN TEK BAŞINA VE MORFİN İLE BİRLİKTE KULLANILDIĞINDAKİ ETKİSİ

(Uzmanlık Tezi)

Dr. Filiz ÖZYİĞİT

EDİRNE-2007

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimimde emeği geçen değerli hocam Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. İsmet DÖKMECİ'ye, çalışmalarım süresince desteklerini gördüğüm tez hocam Prof. Dr. Ahmet ULUGÖL'e, Prof. Dr. Hakan KARADAĞ'a, Prof Dr. Dikmen DÖKMECİ'ye, Araş. Gör. Melek TAMER'e, Dr. Murat ŞAHİN'e, tüm bölüm arkadaşlarıma, Burhan ELMAS ve sekreterimiz Gülçin AKIN'a, İDOL ilaç firmasına,

Her zaman yanımda olan sevgili annem, babam ve kardeşim'e,

Teşekkür ederim.

Dr. Filiz ÖZYİĞİT

İÇİNDEKİLER

Sayfa

GİRİŞ VE AMAÇ 1
GENEL BİLGİLER.....3
AĞRI..... 3
NOSİSEPSİYON.....3
AĞRI SINIFLAMASI.....4
AĞRININ ANATOMİSİ VE FİZYOLOJİSİ.....4
ANATOMİK YAPILAR.....5
NÖROPATİK AĞRI.....7
DENEYSEL AĞRI MODELLERİ.....10
MORFİN.....13
TETRASİKLİNLER.....18
MİNOSİKLİN 19
GEREÇ VE YÖNTEMLER 23
BULGULAR 27
TARTIŞMA.....35
SONUÇLAR.....48
ÖZET 49
İNGİLİZCE ÖZET 50
KAYNAKLAR.....52
EKLER.....61

SİMGE ve KISALTMALAR

ADH	Antidiüretik hormon
ATP	Adenozin trifosfat
BDNF	Brain derived neurotrophic factor
cGMP	Siklik 3',5'-guanozin monofosfat
CGRP	Calsitonin gene related peptide
DKG	Dorsal kök ganglionu
FDA	Food and Drug Administration
FSH	Folikül stimülan hormon
GnRH	Gonadotropin salıverici hormon
i.c.v.	İntraserebroventriküler
İL-1β	İnterlökin-1Beta
İNH	İsoniazid
iNOS	İndüklenebilir nitrik oksid sentaz
i.pl.	İntraplantar
i.t	İntratekal
i.v.	İntravenöz
KKH	Kronik konstriksiyon hasarı
LH	Luteinizan hormon
L-NAME	N-nitro-L-arginine-methyl-ester
MAPK	Mitojen aktive protein kinaz
mRNA	Mesajcı RNA
NGF	Sinir büyüme faktörü
NMDA	N-metil-D-aspartat
NO	Nitrik oksid
NOS	Nitrik oksid sentaz
NPY	Nöropeptid Y
PET	Positron emisyon tomografisi
PGE_2	Prostaglandin E_2
PSSL	Parsiyel siyatik sinir ligasyonu

s.c.	Subkutan
SP	Substance P
SSL	Spinal sinir ligasyonu
TNF-α	Tümör nekrotizan faktör alfa
TTX	Tetrodotoksin
VİP	Vazoaktif instestinal polipeptid
VMPo	Posterior ventromedial çekirdek
VPL	Ventralis posterior lateralis
VPM	Ventralis posterior medialis
WDR	Wide dynamic range

GİRİŞ VE AMAÇ

Kronik ağrı durumlarının, özellikle nöropatik ağrının, ilaç tedavisine yanıtı oldukça yetersizdir (1). Analjezikler, trisiklik antidepresanlar ve bazı antikonvülsan ilaçların günümüzde nöropatik ağrı tedavisinde kullanılmalarına karşın, alınan yanıtlar ve ilaçların etkinlikleri belirgin değişkenlik göstermektedir (1-3). En güçlü analjezikler olarak nitelendirebileceğimiz morfin ve diğer opioid ilaçların etkinlikleri bile günümüzde tartışmalı olup, bu ilaçların ancak ciddi yan etkilerinin belirgin olarak ortaya çıktığı yüksek dozlarıyla etkinlik gösterebildikleri kabul edilmektedir (1,2,4). Morfin ve diğer opioid ilaçlara tolerans gelişmesi de bu ilaçların kullanımını kısıtlamaktadır. Bu nedenlerle nöropatik ağrı tedavisi için yeni ve etkin ilaçlara gereksinim duyulmaktadır.

Allodini (normal şartlarda ağrılı olmayan bir uyaranın ağrı oluşturması) ve hiperaljezi (normal şartlarda ağrı oluşturan bir uyaranın daha şiddetli bir şekilde ağrı oluşturması), nöropatik ağrının en önemli klinik belirtilerindendir. Bu davranışsal belirtilerin insanlarda oluşmasının yanı sıra, deneysel nöropatik ağrı modellerinde de görüldüğü belirlenmiştir. Sıçanlarda parsiyel sinir zedelenmesine bağlı olarak ortaya çıkan nöropati modelleri, en sık kullanılan ve en geçerli yöntemler arasındadır (5-8). Bu modellerde allodini ve hiperaljezi gibi nöropatik ağrının davranışsal belirtilerinin ortaya kolaylıkla çıktığı defalarca gösterilmiştir (5-8), ancak nöropatik ağrının moleküler temel ve mekanizmalarının tamamen aydınlatılabilmesi için sadece sıçan modelleri yeterli değildir. Farelerin belirli nörotransmiterler veya nöromodülatörler için genleri aşırı eksprese eden ya da etmeyen (knock-out) türleri kolaylıkla oluşturulabilmektedir, bu nedenle ve aynı zamanda çok daha kolay kullanılmaları ve ucuz

olmaları nedeniyle son zamanlarda benzer deneysel modeller farelerde de oluşturulmaya başlanmıştır (9-13).

Ağrılı durumların gerek başlangıcı gerekse sürdürülmesinde santral sinir sisteminin nöronal komponentinin yanısıra, glia hücreleri gibi nöronal olmayan hücrelerinin de rolünün olduğu yakın zamandaki araştırmalarla gösterilmiştir (14-16). Çeşitli rodent kronik ağrı modellerinde omurilik glia hücrelerinin (mikroglia ve astroglia) aktive olduğu belirlenmiş ve bu aktivasyonu takiben glia hücrelerinin ağrı iletimini kolaylaştıran bazı proinflamatuar sitokinleri ve diğer bazı mediyatörleri salıverdiği saptanmıştır (17,18). Glia fonksiyonunu inhibe eden bazı ilaçların da gerek nöropati gerekse inflamasyonla oluşan hiperaljezi ve allodini belirtilerini azalttığı belirtilmektedir (19,20).

Minosiklin, astroglia ya da nöronlar üzerine direkt etkisi olmayan, fakat mikroglia hücrelerini güçlü bir şekilde inhibe eden tetrasiklin grubu bir antibiyotiktir. Antiinflamatuar etkisinin antibakteriyel etkisinden tamamen bağımsız olduğu saptanmıştır. Minosiklinin mikroglial aktivasyonu önleyerek serebral iskemi, Parkinson hastalığı, travmatik beyin zedelenmesi, deneysel otoimmun ensefalomiyelit ve glutamata bağlı nörotoksisite üzerine olan nöroprotektif etkisi son yıllarda gösterilmiştir. Ayrıca, preemptif uygulandığında deneysel nöropatik ağrı belirtilerinden mekanik allodininin oluşmasını engellediği de belirtilmektedir (21).

Biz de bu verilerden yola çıkarak, öncelikle farelerde oluşturulan deneysel nöropatik ağrı belirtilerinden mekanik allodini ve termal hiperaljeziye karşı minosiklinin etkisinin olup olmadığını göstermeyi, ayrıca birlikte kullanıldığında morfinin nöropatik ağrıdaki düşük etkinliğini ne şekilde etkileyeceğini ve morfine karşı oluşan tolerans üzerine olası etkisini göstermeyi amaçladık.

GENEL BİLGİLER

AĞRI

Var olan veya olası doku hasarına eşlik eden veya bu bu hasar ile tanımlanabilen, hoşa gitmeyen duyusal ve emosyonel deneyimdir. Ağrı duyumu özneldir, kişiden kişiye, kişinin bulunduğu ortama göre değişkenlik gösterebilir. Bu nedenle ağrıyı değerlendirirken, hem fiziksel hem de fiziksel olmayan bileşenlerini birlikte değerlendirmemiz gerekir.

Nörofizyolojik, biyokimyasal, psikolojik, etnokültürel, dinsel, bilişsel, ruhsal, çevresel ögeler bir bütünlük içindedir. Bu yüzden, ağrı için kavram demek doğru olur. Tedavisi ve sınıflaması için multidisipliner yaklaşımlar gereklidir (22-24).

NOSİSEPSİYON

Nosisepsiyon, potansiyel olarak doku hasarı oluşturabilecek stimuluslar tarafından, özellikle ağrılı uyaranlara veya uzaması halinde ağrı olacak uyaranlara karşı duyarlı, sinir sistemi üzerinde nosiseptör adı verilen reseptörler üzerinde oluşturulan bir aktivitedir. Ağrı nosisepsiyon içinde algılama olayıdır (25). Tüm nosiseptif uyarılar ağrı oluşturur, fakat tüm ağrılar nosiseptif nitelikte değildir (26).

AĞRI SINIFLAMASI

Süreye Göre

1-Akut ağrı

2-Kronik ağrı

Mekanizmaya Göre

1-Nosiseptif ağrı

2-Nöropatik ağrı

3-Deaferantasyon ağrısı

4-Reaktif ağrı

5-Psikosomatik ağrı

Kaynaklandığı Bölgeye Göre

1-Somatik ağrı

2-Viseral ağrı

3-Sempatik ağrı

şeklinde sınıflamalar yapılabilmektedir.

AĞRININ ANATOMİSİ VE FİZYOLOJİSİ

Ağrı entegrasyonunda, duyusal sinir lifleri, medulla spinalis, orta beyin, retiküler formasyon, talamik yapılar birlikte görev alır. Nosiseptörler periferik terminalleri ağrılı uyaranlara hassas, primer afferent, tüm deri, deri altı dokularında bulunan çıplak ve serbest sinir uçlarıdır. Miyelinsiz C lifleri ile miyelinli A-delta liflerinin distal uzantılarından oluşmuşlardır. Bu aksonal sonlanmalar küçük kan damarları, mast hücre kenarlarında lokalize olmuştur.

A-delta lifleri, uyarı türüne göre termal veya mekanik nosiseptörler adını alır. Keskin, iğneleyici, iyi lokalize edilen bir ağrı oluştururlar.

C lifleri, şiddetli mekanik, kimyasal, aşırı sıcak ve soğuk uyaranlarla aktive olur, Polimodal reseptör adını alırlar. C lifleri, enflamasyonda olduğu gibi gecikmiş, yanıcı ve inatçı karakterdeki ağrıdan sorumludurlar. Donuk, yaygın, inatçı karakterdeki ağrıdan sorumludurlar (27-28).

A-beta lifleri, dokunma, basınç, vibrasyon gibi duyuların iletiminde görevli liflerdir (28). A-alfa liflerinin ağrı ile ilgili olmadığı bilinmektedir (23).

Nosiseptörler ve bunların çevresindeki düz kaslar, kapillerler, efferent sempatik sinir uçları, nosiseptörlerin mikroçevresini oluştururlar. Mekanik tipteki uyararanlarla uyarıldıkları zaman, endojen algojenik maddeler denilen biyokimyasal maddeler salgılanır.

Nosisepsiyonun Periferik Bileşenleri

Periferik nosisepsiyon mekanizmaları, mekanik uyaranın deriyi uyarmasını takiben başlar. A delta lifleri ile ileti gerçekleşir, ani ve erken olarak ağrı algılanır. Etkilenen bölgedeki dokularda hücre bütünlüğü ve permeabilitesi bozularak hücre yıkımı oluşur, bradikinin oluşumunu sağlayan öncül maddeler hücre dışına çıkar. Bradikinin nosiseptörleri doğrudan aktive eder, vazodilatasyon yapar, prostaglandin oluşumuna katkı sağlar. Prostaglandinler hem nosiseptör duyarlılığını artırırlar hem de vazodilatasyon yaparlar. Trombosit kaynaklı serotonin salgılanır, nosiseptörleri doğrudan aktive ettiği gibi, prostaglandin salınmasına katkıda bulunur. Hücre içi potasyum iyonları dışarı çıkar, nosiseptörleri aktive eder. SP, nörokinin-A gibi taşikininler, kalsitonin-geni ile ilişkili peptid (CGRP), ödem ve enflamasyonu tetikler, vazodilatör etki yaparlar. SP'nin mast hücrelerini etkilemesiyle histamin salgılanır (27).

ANATOMİK YAPILAR

Dorsal boynuz nöronal sistem: Primer afferent lifler omurilik gri maddede Rexed'in tanımladığı 10 lamina'da sonlanırlar. İlk beş lamina ağrı ile ilgili olarak önemlidir. Özellikle Substantia Gelatinosa adı verilen Lamina 2 ağrılı uyaranların iletiminde önemli rol oynamaktadır. Burada bulunan hücreler, dokunma, basınç ve ağrılı uyaranlarla aktive olabilirler, kendi aralarında ve Lamina 4 ile sinaps yaparlar (26,27,29).

Arka boynuzda 3 çeşit nöron bulunmaktadır.

a-Projeksiyon nöronları (santral geçiş hücreleri): Bu nöronlar iki grupta incelenir.

1-Lamina 1'de bulunan ve sadece A-delta ve C lifleri ile uyarılan

"nosiseptif spesifik" nöronlar

2-Lamina 1 ve 5'de bulunan hem nosiseptörlerden hem de düşük eşikli mekanoreseptörlerden lif uyarımı alan "wide dynamic range (WD)" nöronlar

b-Eksitatör nöronlar: ağrılı uyaranları projeksiyon nöronlarına ileterek eksite olmalarını sağlarlar.

c-İnhibitör nöronlar: geniş çaplı liflerle eksite olduklarında projeksiyon nöronlarında inhibisyona neden olurlar (26).

Ağrı Yolakları: Ağrı ile ilgili yolaklar 1-Nosiseptif çıkıcı yolaklar 2-Antinosiseptif inici yolaklar olmak üzere ikiye ayrılır.

1-Nosiseptif çıkıcı yolaklar:

a-Spinotalamik yolak b- Spinoretiküler yolak c- Spinomezensefalik yolak (23,27).

2-Antinosiseptif inici yolaklar:

a-Mezensefalik periakuaduktal gri maddede yer alan enkefalinerjik nöronlar

b-Pons ve bulbusta retiküler formasyonun medial kısmındaki nükleus retikülaris jigantoselularis ve nükleus retikülaris parajigantoselularis'ten başlayan yolak

c- Beyin sapındaki dorsal raphe nukleusu'ndan omurilik arka boynuzuna inen yolakta bulunan spinal lokalizasyonlu enkefalinerjik nöronlar (23).

Talamik çekirdekler: Talamustan serebral kortekse nosisepsiyon bilgisini ileten çeşitli çekirdekler bulunmaktadır. Ventroposteriolateral çekirdek (VPL), Ventroposteroior inferior çekirdek (VPI), Posterior ventromedial çekirdek (VMPo) (26). Bu çekirdeklerden ikisi özellikle parafasiküler ve santral çekirdekler ağrı ile ilgilidir. Bu çekirdeklerin uyarılması anksiyete ile ilgili hoş olmayan, lokalizasyonu zayıf bir duyu oluşturur. Beraberinde korkuya benzer cevaplar ve kaçınma davranışı ortaya çıkar. Bundan sonra ağrı iletimi üçüncü nöronlarla korteks ve limbik sisteme iletilir (29).

Ağrı algılanmasında kortikal yapılar: Ağrı algılanmasındaki kortikal uyarının rolü farklılıklar göstermektedir. Positron emisyon tomografisiyle yapılan çeşitli çalışmalarda, ağrılı uyaranın sensoryal, motor, premotor, frontal, parietal, oksipital ve anterior singulat bölgelerini etkilediği gösterilmiştir. Tam olmamakla birlikte parietal bölgenin ağrının değerlendirilmesinde, frontal bölgenin ise ağrıya karşı emosyonel cevapta etkili olduğu düşünülmektedir (30). Beyinde ağrı ile ilgili olarak 1. ve 2. duyusal alanlar, frontal lob, 9. ve 12. alanlar, posterolateral bölgeler, assosiyasyon liflerinin sorumlu olduğu kabul edilmektedir (26).

Ağrı iletiminde rol alan nörotransmiterler: Ağrı sürecinde çeşitli nörotransmiterler ve nöromodülatörler yer almaktadır. Özellikle glutamat ve aspartat gibi eksitatör aminoasidler arka boynuzda ağrının iletiminde rol alırlar. N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörlerinin aktivasyonu nitrik oksit sentazı (NOS) aktive eder ve nitrik oksit'in (NO) oluşur, sinir hasarlanması sonrasında gelişen allodini oluşumuna NO'nun katkıda bulunduğu düşünülmektedir (31). NO'nun nosiseptif süreçteki rolü hala tam olarak açıklığa

kavuşmamıştır ve akut nosisepsiyonda fazla önemli rolü olmadığı kabul edilmektedir.Ancak kronik ağrılı durumlarda NO'nun ağrı üzerinde pozitif feedback mekanizma oluşturduğu düşünülmektedir. NO blokajı nöropatik hayvan modellerinde ağrının azalmasına yol açmaktadır (30,32).

Nöropeptid yapılı nörotransmiterlerden SP, nörokinin-A, kolesistokinin ve CGRP'nin de ağrı iletiminde rolleri vardır (30). Ağrı oluşumunda noradrenalin, serotonin, asetilkolin, NO gibi monoaminler de nörotransmiter olarak rol oynarlar (33).

NÖROPATİK AĞRI

Tanım

IASP'nın (International Association for the Study of Pain) tanımına göre nöropatik ağrı, sinir sisteminin primer lezyonuna veya disfonksiyonuna bağlı ya da metabolik hastalıklar sonucu gelişen ağrıdır (34,35).

Sınıflama

Periferik ve santral olmak üzere iki grupta sınıflandırılır.

-Periferik: Nöropati ve polinöropatilerin etyolojisinde bir çok etken bulunmaktadır. Bunlardan bazıları travma, diyabet, radyasyon, alkol, iskemi, sinir kompresyonu, heredite kaynaklı, metabolik, toksik, inflamatuar ve nutrisyonel kaynaklı faktörlerdir. Ayrıca, amputasyon sonrası fantom ağrısı, post herpetik nevralji, trigeminal ve glossofaringeal nevralji, kanser ilişkili nöropati, nöroma, gerilme, kesilme, avulsiyon gibi nedenleri de sayabiliriz.

-Santral : Beyin sapı, talamus'da iskemi, hemoraji, tümör, malformasyonlar, omurilik zedelenmesi, multipl skleroz, siringomiyeli, sifiliz, epilepsi gibi nedenlerle meydana gelir.

Spinal korda bağlı nedenler (kontüzyon, iskemi, tümör), beyin sapı, talamus (enfarkt, tümör, travma), sinir sisteminde hasar sıklıkla geçici iskemi nedeni ile ortaya çıkar ki, bu durum kısmi nöronal kayıptan tam denervasyona kadar çeşitli değişikliklere yol açar (24,35).

Nöropatik ağrı ayrıca, anatomik, etyolojik, semptomatik ve simetrik-asimetrik olarak da sınıflandırılabilir:

Anatomik: Polinöropati, mononöropati, pleksopati,vb.

Etyolojik: Diyabetik nöropati, post herpetik nevralji, amputasyon, posttravmatik nevralji, vb.

Semptomatik: Süregelen ağrı, allodini, hiperaljezi, vb.

Simetrik Ağrılı Nöropatiler:

Metabolik: Diyabetes mellitus, pellegra, beriberi

Toksik/İlaçlar: Etanol, sitotoksik ilaçlar, izoniazid (İNH), talyum, arsenik, civa

İmmunolojik: Akut/kronik demiyelinizan nöropatiler, amiloidoz, Sjögren nöropatisi, pandisotonomi, paraproteinik proteinemi

İnfeksiyöz: HİV (Human immunodeficiency virus)

Herediter: Herediter duyusal nöropatiler, Fabry hastalığı

Asimetrik Ağrılı Nöropatiler :

Kraniyal nevraljiler: Trigeminal nevralji

Kompresyon: Karpal tünel, kök basısı, posttravmatik

Nöroma: Posttravmatik, postoperatif, amputasyon sonrası

Pleksopatiler: Pleksus nevriti, posttravmatik, tümör infiltrasyonu, radyasyona bağlı

Diyabetik: Akut oftalmopleji, diyabetik amyotrofi, vb.

Anjiopatik: İnflamatuvar, okluziv/iskemik

İnfeksiyöz: Herpes zoster, Herpes simpleks, borreliyozis (36).

Nöropatik Ağrının Temel ve Klinik Özellikleri

Nöropatik ağrı nöronal ağrı iletim sisteminde periferik ve santral lezyonlarla ortaya çıkan, genellikle analjeziklere yanıt vermeyen karmaşık bir ağrı sendromudur. Nöropatik ağrı sendromları heterojendir ve tek bir etyoloji veya mekanizma ile açıklanamazlar. Nöropatik ağrı sendromlarının tanısında ağrının nöroanatomik yayılımı, periferik sinir, sinir kökü, pleksus veya santral yolların tutulumu ile ilişkili duyusal disfonksiyonun varlığı, mikst sinir travmalarında zayıflık, kas atrofisi, derin tendon reflekslerinin kaybı gibi semptom ve bulguların tanınması önemlidir (37).

Nöropatik ağrı sinirde ve sinirin dağılım bölgesinde hissedilir, hafif dokunmayla bile ağrı olur. Ağrıyı başlatan birçok sebep vardır. Diyabet, AİDS, Herpes zoster gibi hastalıklarda

görülebilir. Kemoterapi ve AİDS ilaçları da nöropatik ağrıyı başlatabilir. Diğer bir neden de sinirin doğrudan travmaya uğramasıdır.

Ağrı spontan olarak ta başlayabilir. Ağrı eşiği düştüğü için normalde ağrısız olan uyaran ağrı yapabilir (allodini). Uyarıya yanıt, hem sürekli hem de amplitüd bakımından abartılı olabilir (hiperaljezi). Hipostezi veya hiperestezi (vücuda zararlı olmayan bir uyaranın azalan veya artan şiddette algılanması) veya hiperpati (aşırı ağrı yanıtı) ortaya çıkabilir. Ağrı hissi sağlam bölgelere yansıyabilir (25).

Zayıflık veya fokal otonomik değişiklikler gibi nörolojik bozukluklar olabilir. Fokal otonomik fenomen ödemi ve vazomotor instabilite (renk değişikliği, livedo retikularis ve fokal sıcaklık değişikliği olarak gözlemlenir) gelişebilir. Deri ve subkutan dokuda veya saçta ve tırnaklarda trofik değişiklikler de olabilir.

Otonom sinir sisteminden kaynaklanan nöropatik ağrılar kompleks rejiyonal ağrı sendromları adı altında incelenmektedir (35). Kronik ağrı sendromları hastadan hastaya değişmekte olup, kozalji, dizestezi, allodini, hipertansiyon belirtilerinden bir veya birkaçı nöropatiye eşlik edebilir. Kozalji çoğunlukla travma sonrası gelişir, hızlı bir seyir izler, devamlı ve şiddetli yanma tarzında ağrı ile kendini gösterir. Ağrı devamlı ve aynı şiddette olabildiği gibi alevlenme, hafifleme dönemleri olabilir.

Nöropatik ağrının oluşumunda ve devamlılığında sözü geçen patofizyolojik değişiklikler nöropatik ağrıyı klinik olarak diğer ağrılardan ayırmakta ve nöropatik ağrıya özgün çeşitli özellikler kazandırmaktadır. Bu özellikler:

1) Spontan hoş olmayan duygu (dizestezi) ve keskin, batıcı nitelikte, elektrik çarpması şeklinde ya da yanıcı ağrı

2) Ağrılı alanda duyusal kayıp ya da duyusal bozukluk

3).İlgili dokularda uyarılara karşı değişmiş yanıt hali. Bu değişmiş yanıtlar ağrılı olmayan uyarıya ağrı yanıtı (allodini), ağrılı uyarana artmış ağrı yanıtı (hiperaljezi), temporal sumasyon ve hiperpatidir.

Nöropatik Ağrı Patogenezi

Çeşitli etkenlerin nöropatik ağrı patogenezinde rol oynadığı gösterilmiştir. Periferik aksonun demiyelinizasyonu, aksonal transportun bozulması, DKG' da SP, CGRP düzeylerinde azalma, VİP, galanin, NPY düzeylerinde artma, nosiseptör sensitizasyonu, ektopik deşarj, Na^{++} kanallarında remodelling, K^{+} kanallarında remodelling, efatik transmisyon, cross depolarizasyon, aksonal ve kollateral yayılma, NO, sempatik sistemle etkileşim, eksitatör sistem, endojen opioid sistem, adenozerjik sistem ve GABAerjik sistem,

omurilik arka boynuzda C liflerinde atrofi, A-beta lif yayılması ve ara nöronlarda dejenerasyon olduğu saptanmıştır.

Tanı

Nöropatik ağrının doğru tanısı doğru tedaviyi sağlamaktadır. Tanıda ilk basamak ağrının yerini, şiddetini, niteliğini, süresini, arttıran ve azaltan faktörleri, yarattığı fiziksel ve psikolojik etkileri belirlemektir (35). Elektrodiyagnostik çalışmalar (elektromiyogram ve sinir iletim hızı) gibi yardımcı testler nörolojik bir lezyonun onaylanmasında yardımcı olabilir. Nöropatik ağrılı durumlarda somatik veya otonom sinirler asimetrik segmental hiper veya hipoemisyona neden olur. Termografi gibi testler bazen otonomik disregülasyonun onaylanmasında yardımcı olabilir (38).

Tedavi

Nöropatik ağrının fizyopatolojisi açıklanmaya çalışılmış, tedavi seçenekleri geliştirilmiştir (35). Nöropatik kaynaklı ağrının tedavisi oldukça zordur.

Patofizyolojinin daha iyi anlaşılıp yeterli bir tedavi sağlamak için günümüzde çeşitli hayvan modelleri ile çalışmalar yapılmıştır. Bu modeller ile yapılan araştırmalar yeni tedavi seçeneklerini gündeme getirmiştir.

Antidepresanlar (amitriptilin, imipramin, desipramin, venlafaksin, maprotilin, SSRI), antiepileptikler: (valproik asit, lamotrijin, pregabalin, gabapentin, topiramat, klonazepam, karbamezepin, fenitoin), opioidler (morfin, metadon, fentanil), tramadol, lokal anestezikler ve meksiletin, baklofen, guanetidin, alfa$_2$ adrenerjik agonistler (klonidin), NMDA reseptör antagonistleri (ketamin, dekstrometorfan), kalsiyum kanal blökerleri, kanabinoidler, NOS inhibitörleri, topikal ajanlar (kapsaisin, EMLA, lidokain) tedavide kullanılan veya denenen başlıca ilaçlardır (39,40).

DENEYSEL NÖROPATİK AĞRI MODELLERİ

Araştırmalarda amaç ya ağrının özelliklerini, doğasını açıklamaktır ya da herhangi bir maddenin ağrının algılanması üzerine olası etkisinin araştırılmasıdır. Amaç ne olursa olsun hayvan modellerine gereksinim vardır ve bu model o araştırma için ne kadar uygunsa elde edilen sonuçlar da o oranda doğru olacaktır.

IASP'ya göre, ağrı doku hasarı ile birlikte olsun ya da olmasın hoşa gitmeyen duyusal ve emosyonel deneyimlerin tümünü kapsar. Bu durum karşısında sözlü olarak kendini ifade

edemeyen hayvan, benzer durumlarda benzer motor davranışlarla kendisini ifade edecektir. Yanıt çoğu kez basit bir refleks, bazen vokalizasyon veya kaçma olabilir.

Fare çalışmalarının bir bölümü transgenik manipülasyonlarla (knock-out) üretilen farelerin ağrılı uyarana verdikleri yanıtın farklılığını araştırmaya yöneliktir. Ağrı modellerinde deney hayvanlarının kullanılması etik sorunları da beraberinde getirmiştir. Zimmerman (41) tarafından 1983 yılında yayınlanan hayvanlarda ağrı çalışmaları ve etiğine yönelik kuralları içeren editöryel yazı vardır. En temel kural deneklerin ve kontrol grubunun en az sayıda tutulması gerekliliğidir.

Hayvan Araştırmalarında Nöropatik Ağrı Modelleri

Hayvanlarda geliştirilen ve nöroma modeli olarak adlandırılan ilk ağrılı nöropati modelinde siyatik ve safen sinirlerin tam seksiyonu ile oluşturulmuştur. Nöropatik ağrıda hayvan modelleri periferik veya santral sinir sistemi hasarını takiben gelişen nörolojik disfonksiyon mekanizmalarının kavranmasında yardımcıdır. Söz konusu araştırmalar sinir hasarına bağlı gelişen nöropatik ağrı modellerinin yanısıra, pro-inflamatuar sitokinlerin enjeksiyonu ile oluşturulan ağrı modellerinin nöropatik ağrı ile ilişkilerinin irdelenmesi gibi mekanizmaya yönelik bilgileri de içerir. Hayvan araştırmalarında sürdürülen nöropatik ağrı modelleri total ve parsiyel denervasyon, santral sinir sistemi ve sistemik ilaç uygulamaları ile geliştirilen modeller olarak sınıflandırılabilir.

Total ve parsiyel denervasyon ile oluşturulan nöropatik ağrı modelleri: Total periferik nörektomiye bağlı oluşturulan deneylerde sıklıkla sıçan veya fare kullanılır. Uygulamada siyatik sinir orta uyluk seviyesinde açığa çıkartılır. Siyatik sinir, trifurkasyonun proksimalinden sıkıca bağlanır ve bağlandığı alanın distalinden kesilir. Nörektomi uygulamalarında siyatik sinir krioprob ile dondurulabilir veya elektrokoter, makas, bisturi ile kesilebilir. Arka pençenin tam denervasyonu gelişir. Meydana getirilen oluşum, nöroma modeli olarak değerlendirilebilir. Bu modelin en karakteristik özelliği, ototomi olarak adlandırılan yanıt davranışıdır. Ototomi, deneğin sinir transseksiyonu uygulanan taraftaki arka pençesini çiğneme ile koparması anlamına gelmektedir ve sıklıkla spontan ağrı ya da dizestezi de oluşmaktadır. Nöropatik hayvanlarda ortaya çıkan spontan ağrı bulguları Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Nöropatik hayvanlarda görülen spontan ağrı bulguları

Ototomi	Vokalizasyon
Pençenin titremesi	İştahsızlık, kilo kaybı
Kaşınma	Kanlı göz yaşı (chromodacryorrhea)
Yalama	Göz, kulak kepçesi ve pençelerin
Aşırı grooming	renklerinde soluklaşma
Isırma	Anormal uyku
Pençeyi ağızda tutma	Korunma davranışı
Tırnak çekme	

Bu uygulamaya alternatif olarak geliştirilen bir diğer modelde, kesilen siyatik sinir distali siyatik sinirin dalı olan tibiyal sinirle birleştirilir (42).

Uygulamayı takiben erken dönemde pençede parsiyel denervasyon gelişir ve ototomi, hiperaljezi, allodini ve kontralateral duyusal değişimler izlenir.

Sıçanlarda uygulanan parsiyel denervasyon ile oluşturulan üç farklı periferik nöropatik ağrı modeli en fazla tercih edilenlerdir:

1) Kronik konstriksiyon hasarı (KKH)

2) Parsiyel siyatik sinir ligasyonu (PSSL)

3) Spinal sinir ligasyonu (SSL)

Kronik konstriksiyon hasarı: Bennett ve Xie (5) tarafından geliştirilmiştir. Bu modelde sinir hasarı, sıçanların siyatik siniri çevresinde, siyatik sinir trifurkasyonunun proksimalinde, gevşek düğümler atılarak oluşturulur. KKH'lı sıçanlarda etkilenen arka pençeyi sallama ve sık yalama gibi spontan ağrıyı işaret eden davranışlar, beraberinde cinsel istekte azalma ve kilo kaybı gibi belirtiler görülür. Isıya ve mekanik uyaranlara karşı hiperaljezi ortaya çıkar. KKH'lı sıçanlarda, mekanik uyarı ve soğuğa karşı olmak üzere iki tip allodini görülür. KKH'lı hayvanların yaklaşık dörtte üçünde, hasarlı sinirin olduğu tarafta ısı anormallikleri olur. Laboratuarda bu ısı anormalliklerinin, sempatik sinir sistemi disfonksiyonunu yansıttığı varsayılır.

KKH modelinin patofizyolojisinde, periferik ve santral sinir sisteminin beraberce rol aldığı bildirilmiştir. Nöropatik ağrı araştırmalarında en sık uygulanan modellerinden olan KKH ile ilgili olarak, ketamin, dekstrorfan, memantin gibi çeşitli ilaçların özellikle spinal yoldan etkinliği araştırılmış ve bu alanda çok değerli bilgiler elde edilmiştir .

Parsiyel siyatik sinir ligasyonu: Bu model KKH'ın modifikasyonu olarak Seltzer ve Shir (6) tarafından tanımlanmıştır. Girişim için önce siyatik sinir dikkatli bir şekilde ortaya çıkarılarak çevre dokulardan ayrılır. Sinirin dorsal yüzünden 1/2 ila 1/3'ü gevşekçe bağlanır. Böylece sinirin parsiyel ligasyonu sağlanır. Bu model genellikle ototomi davranışı içermeyen spontan ağrı, allodini ve hiperaljezi belirtilerinin oluşmasına yol açar. KKH modellerinden farklı olarak PSSL modeli, her iki arka pençede hiperestezi oluşmasına neden olmuştur. Bu modelde sempatektomi ile ağrı bütünüyle durdurulabilmektedir.

Spinal sinir ligasyonu: Kim ve Chung (7) tarafından geliştirilmiş olan spinal sinir ligasyonu modelinde sıçanların arka pençesinin tek taraflı deafferentasyonu oluşturulur. Bu modelde, tek taraflı olarak lumbar spinal sinirlerin bir veya iki tanesi, dorsal spinal kökten çıktığı bölümün distalinde sıkıca bağlanır. Ototomi haricinde nöropatik ağrının diğer davranışsal belirtileri bu modelde de görülür.

Bu modellerde genellikle sıçanlar kullanılmasına karşın fareler de tercih edilebilmektedir. Farelerin genetik haritasının ayrıntılı olarak bilinmesi sonucunda transjenik (knock-out) fareler üretilmiştir. Bunun yanı sıra farelerin satın alınmalarının ve bakım koşullarının ucuzluğu da denek olarak seçilmesinde önemli bir etkendir. Gerek KKH modeli, gerekse PSSL ve SSL modelleri farelerde de geliştirilmiştir (9-13).

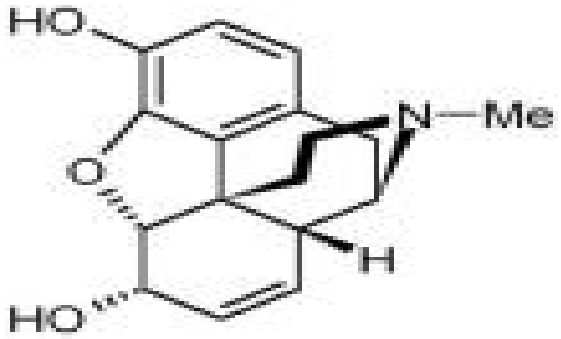
Santral sinir sistemine ve sistemik ilaç uygulamasına bağlı nöropatik ağrı modelleri: Stereotaksi yöntemiyle santral sinir sisteminin motor alanlarına çok az volümde penisilin, tetanoz toksini, kobalt, alüminyum oksit, striknin gibi maddelerin enjeksiyonu ile nöropati modelleri geliştirilmiştir. Ayrıca sıçanlarda tek doz subkutan streptozosin enjeksiyonu, pankreas beta hücrelerini geri dönüşümsüz olarak zedeleyerek, allodini ve hiperaljezi ile seyreden diyabetik nöropati bulgularına yol açar (43). Farelerde lumbar alan dorsal boynuzuna, AMPA reseptörleri aracılığı ile non-NMDA glutamerjik eksitotoksisite oluşturan kainik asit enjeksiyonu ile allodini oluşumu da bir metod olarak gösterilmiştir (44).

MORFİN

Opiyum (haşhaş, papaver somniferum) ilk çağlardan beri bilinen ilaçlardan biridir (45). Morfin, haşhaş bitkisinin yaş meyve kapsülünün çizilmesi ile çıkan özsuyunun kurutulmuş şeklidir.

Morfin, afyonun doğal alkaloidi'dir. Bir fenantren halkası ile bir piperidin halkasından oluşan çekirdek ve bu çekirdeğe bağlanmış kimyasal köklerden oluşur (46,47). (Yunanca

morpheus =uyku tanrısı) 1806'da Alman Sertürner tarafından afyondan izole edilmiştir. Morfin benzeri etkiler gösteren ilaçlara opioidler adı verilir. Aynı zamanda narkotik analjezikler olarak da adlandırılırlar. Opioid prekürsörleri 3 gruba ayrılır: Proenkefalinler, prodinorfin, pro-opiomelanokortin (46,48). Morfin opioid ilaçların prototipidir, kimyasal yapısı Şekil 1'de görüldüğü gibidir. Yapı olarak zayıf bazik özelliktedir, pKa değeri 7.9'dur.



Şekil 1. Morfinin kimyasal yapısı

Farmakokinetik

Morfin gastrointestinal kanaldan hızla ve tam olarak emilir, ancak karaciğerden ilk geçişte eliminasyona uğradığı için biyoyararlanımı oldukça düşüktür (%15-65). Rektal yoldan uygulandığında biyoyararlanımı daha yüksek olur (45). Narkotik ilaçlar içinde güçlü ve en ucuz olanıdır (23). Bağımlılık oluşturduğu için kırmızı reçete ile satılır (47). Morfin genellikle hidroklorür veya sülfat tuzu şeklinde kullanılır. Morfin genellikle 10-15 mg dozunda injeksiyon yoluyla veya cilt altına uygulanır (23).

Kan beyin engelini az miktarda, plesentayı ise kolaylıkla aşar (45). Karaciğerde 6- ve 3- glukuronid türevlerine metabolize olur, 6-glukuronid türevleri güçlü analjezik etkilidir (47). Glukuronat konjugatları şeklinde başlıca idrar yoluyla atılıma uğrar (49).

Az kısmı dışkı ve safra yoluyla atılır (46). Eliminasyon yarı ömrü 1,8-5 saattir (23). Plazma proteinlerine albumin başta olmak üzere değişik (%25-35) oranlarda bağlanır (23,49).

Morfin'in Analjezik Etkilerinin Lokalizasyonu

Morfin ağrı yolaklarını hem spinal hemde supraspinal düzeyde etkiler. Spinal düzeyde omurilik arka boynuzda birinci ağrı (duyusal) nöronu ile ikinci nöron arasındaki sinaps üzerine etkilidir. Morfin bu sinapsta hem presinaptik hem de postsinaptik opioid reseptörlerini aktive etmek suretiyle inhibisyon yapar. Supraspinal analjeziye, beyin sapı düzeyindeki opioid reseptörler aracılık eder. Ayrıca kısmen talamustaki nöronların ve diğer subkortikal

yapıların da supraspinal analjeziye katkısı bulunmaktadır. Sistemik olarak verilen morfin ve benzeri ilaçlar hem spinal hem de supraspinal düzeydeki etkileri ile kombine analjezi oluştururlar. Ayrıca periferik opioid reseptörlerini aktive etmesi de, analjezik etkisine, az da olsa, katkıda bulunur (50).

Etki Mekanizmaları, Opioid Reseptörler

Opioidler, SSS'deki nöronlarda nöromediyatör olarak görev yapan endojen opioid peptidlerin etkilediği opioid reseptörlerini aktive ederler (23). Başlıca 3 tip opioid reseptörü bulunmaktadır: mü, delta ve kappa reseptörleri. Ayrıca, yakın zamanda dördüncü opioid peptid grubu olan nosiseptin/orfanin FQ bulunmuş olup, bu endojen opioidin etkilediği reseptörlere ORL-1 adı verilmiştir. Opioid ilaçlar bu reseptörlerle agonist, parsiyel agonist, antagonistik etkileşimler gösterir (46,48,51).

Morfin incelenen bütün reseptör türleri üzerine agonistik etki yapar. Nalokson ise tam bir antagonisttir, ORL-1 hariç tüm opioid reseptörlerini bloke eder, ancak etkinliği reseptör türüne göre farklı derecede olur. Naloksonun antagonist etkisine en duyarlı olan reseptör türü mü reseptörlerdir (23,29,46).

Mü reseptörü opioidlerin analjezik etkilerinin büyük kısmından ve solunum depresyonu, öfori, sedasyon, bağımlılık gibi bazı belli başlı istenmeyen etkilerinden sorumludur. Analjezik opioidlerin çoğu mü reseptör agonistidir. Reseptörün $mü_1$ ve $mü_2$ alt tipleri saptanmıştır.

Delta reseptörü periferdeki etkileri daha fazla önemlidir. Analjezi oluşturmada katkısı vardır. Bağımlılık oluşmasında rolü bulunmamaktadır.

Kappa reseptörü Spinal ve periferik düzeyde analjeziye katkıda bulunur, sedasyon ve disfori etkilerine aracılık edebilirler. Bağımlılık oluşturmada katkısı azdır (47).

Opioid ilaçların ve de morfinin nöron düzeyindeki inhibitör etkilerine aracılık eden üç transmembranal indükleme mekanizması bulunmaktadır:

1- Adenil siklazın inhibisyonu

2- Nöron membranındaki voltaja- bağımlı kalsiyum kanallarından hücreye Ca^{++}girişinin azaltılması.

3- Gi proteini aracılığı ile nöron membranındaki K^+ kanallarının açılması (K^+ konduktansının artırılması)

Morfin'in Farmakolojik Etkileri

Santral sinir sistemi üzerine etkileri: Analjezik etki morfin'in santral sinir sistemi üzerinde terapötik açıdan en önemli etkisidir. Analjezik etkinliğinin selektifliği bakımından genel anesteziklerden üstündür. Ancak genel anestezikler gibi beş duyuyu ve periferden gelen çeşitli duyu modalitelerini değiştirmez. Miyozis nedeniyle görme keskinliğini azaltabilir. Miyozis, gözle ilgili parasempatik merkez olan Edinger-Westphall çekirdeği üzerinden supranükleer inhibisyonun morfin tarafından kaldırılmasına (disinhibisyona) bağlıdır. Anksiyete, endişe, ruhi gerginliği ortadan kaldırarak öforizan etki oluşturur. Motor hareketlerde yavaşlama, sedasyon, uyku oluşturur. Morfin'in en önemli yan etkisi solunumu deprese etmesidir. Solunumun hem hızını hem de derinliğini azaltır. Akut zehirlenme durumunda düzensiz ve periyodik solunum ortaya çıkar. Bulbustaki öksürük merkezini deprese eder, antitüsif etkilidir. Aşırı doz morfin konvülzan etki yapar. Hipotalamusa etkiyle hipotermi oluşturur (23).

Gastrointestinal etkiler: Bulantı ve kusma, 4. ventrikül tabanında Kemotrigger zonun stimüle edilmesiyle oluşur. Konstipasyon, safra stazı gibi diğer etkiler de morfine bağlı etkiler arasında sık görülür (46).

Kardiyovasküler etkiler: Morfin tedavisine bağlı olarak arteriyel ve venöz dilatasyon gelişir. Bu etki baroreseptörler üzerine inhibitör etkiyle ortostatik hipotansiyona neden olmaktadır (46). Ortaya çıkan vazodilatasyon kısmen histamin salınımından ileri gelmektedir. Morfin'in vazodilatör etkisinden akut pulmoner ödem tedavisinde yararlanılır.

Nöroendokrin etkiler: Morfin hipotalamohipofizer ekseni etkileyerek gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) salıverilmesini inhibe eder ve dolaşımdaki LH ve FSH düzeyini düşürür. Ayrıca CRF salıverilmesini azaltarak ACTH ve beta-endorfin konsantrasyonlarını düşürür. Hipofiz kaynaklı trofik hormonların konsantrasyonlarındaki azalmaya bağlı olarak plazmadaki testesteron ve kortizol düzeyleri de azalır. Buna karşın, morfin prolaktin ve büyüme hormonu'nun plazma düzeylerini artırır. ADH salınımını artırarak idrar retansiyonuna neden olur (46).

Morfin zehirlenmesi ya aşırı doz alınması ya da intihar amacıyla kullanımına bağlı olarak görülür. Sonuçta koma, solunum depresyonu, pupillalarda toplu iğne başı belirtisi görülür (23). Semptomatik tedaviye ek olarak opioid reseptör antagonisti nalokson verilir.

Morfin Bağımlılığı ve Toleransı

Morfine karşı gelişen tolerans reseptör duyarlılığının azalmasına bağlı oluşan farmakodinamik toleranstır. Tolerans gelişim sürecinde dozun giderek artırılması gerekir Morfine karşı gelişen tolerans diğer narkotik analjeziklere karşı da gelişir. Buna çapraz tolerans adı verilir (23). Tolerans ilk dozun başlanmasıyla birlikte gelişmesine rağmen klinik bulgular 2-3 hafta sonrasında görülür (49).

Tablo 2. Opioidlerin bazı etkilerine tolerans gelişme dereceleri

Yüksek derecede tolerans	**Orta derecede tolerans**	**Çok az ya da hiç tolerans gelişmeyen etkiler**
Analjezi	Bradikardi	Miyozis
Öfori, disfori		Konstipasyon
Sedasyon		Konvulsiyonlar
Solunum depresyonu		Antagonist ilaçların etkileri
Antidiürezis		
Bulantı, kusma		
Öksürük kesici etki		

Yoksunluk Belirtileri

Morfin bağımlılarında morfinin birden kesilmesi son dozdan 8-12 saat sonra başlayan yoksunluk (abstinens) sendromuna neden olur. Yoksunluk belirtilerinin şiddeti bireysel değişkenlik gösterir. Önce ıslak belirtiler (lakrimasyon, rinore, terleme, esneme) gözlenir. Daha sonra, uyku bozuklukları, irritabilite, tremor, midriyazis, taşikardi, kan basıncında artma, citte "kaz derisi" görünümü, bulantı, kusma, şiddetli hapşırma, diyare, esneme, kas ağrıları, bacaklarda klonik kasılma gibi belirtiler ortaya çıkar (23).

Klinik Kullanımı

Morfin klinikte, akut ve kronik ağrılı durumlar, kanser ağrısı, pre- ve post-operatif ağrılara karşı analjezik olarak kullanılır. Ayrıca akut pulmoner ödem ve kalp yetmezliği tedavisi, öksürük, diyare ve anestezik uygulamalar da diğer endikasyonları arasındadır (46,49).

Kontrendikasyonları

Kafa travması gibi klinik durumlarda KİBAS artar, solunum depresyonu, midriyazis görülür, morfin kullanımı bu bulguları artırır, kullanılması kontrendikedir. Biliyer kanal ameliyatlarında, safra koliklerinde, bronşiyal astımda, solunum rezervi bozuk hastalarda, aşırı obezlerde, hipovolemide, konvulsif hastalarda, deliryum tremenste, miksödemli hastalarda kullanılmamalıdır (23). Ayrıca, prostat hipertrofisinde idrar retansiyonu yaptığı için, kullanımı sakıncalıdır (47).

MAO inhibitörleri, trisiklik antidepresanlar ve fenotiyazinler, morfinin etkilerini şiddetlendirir. Düşük doz amfetamin ve hidroksizin ise morfin analjezisini artırırlar (47).

TETRASİKLİNLER

İlk defa 1948 yılında *Streptomyces aureofaciens*'den izole edilen klortetrasiklin'den sonra geliştirilen tetrasiklinler fizikoşimik, antienfeksiyöz ve farmakolojik özellikleri yönünden birbirine benzemektedir. Yapıca naftasenkarboksamid türevi bileşiklerdir. Asid ve alkalide iyi erirler, ultraviyolede floresans oluştururlar. Suda az erirler (52-56).

Etki Mekanizması

Tetrasiklinler bakteriyostatik etkilidirler. Aktif transportla hassas organizmalarca alınırlar. Hücre içinde konsantre olurlar (53). Bakteri ribozomlarının 30 S alt ünitelerine reversibl bir şekilde bağlanarak, amino-asil-t RNA kompleksinin ribozom-mRNA ile birleşmesini engelleyerek, protein sentezini durdururlar (52,55,57,58).

Spektrum

Antibakteriyel spektrumları oldukça geniştir. Gram (+) bakterilere, Gram (–) bakterilerden daha fazla etkindirler. Bunun yanı sıra Riketsiyalar'a, Spiroketler'e, Brucella'ya, Legionella'ya, Vibrio kolera'ya, Mikoplazmalar'a karşı etkilidirler. (52,53,57).

Direnç

Bir tetrasikline dirençli bakteri, istisnalar haricinde, tüm tetrasiklinlere karşı dirençlidir (53,57,59). Tetrasiklin direnci ile ilgili üç mekanizma ileri sürülmektedir:

1- Aktif transportla içeri girişin bozulmasına veya dışarı pompalanmaya bağlı olarak hücre içi konsantrasyonun azalması (en önemli mekanizma)

2- Tetrasiklinlerin ribozomlara bağlanmasına engel olan protein sentezi yapılması veya bakterinin tetrasiklinin bağlanamayacağı yeni bir 30S alt ünite oluşturması

3- Tetrasiklinlerin enzimatik inaktivasyonu

Farmakojik Özellikler

Tetrasiklinler başlıca gastrointestinal sistemden absorbe edilirler. Absorbsiyonunu aluminyum, kalsiyum, magnezyum, demir, çinko iyonları, bizmut subsalisilat gibi divalen ve trivalen katyonlar azaltırlar. Tüm vücuda yaygın biçimde dağılırlar. Plasentayı geçerek fetal dolaşıma ve amniyon sıvısına katılırlar. Tüm tetrasiklinler karaciğerde birikirler ve burada çözünürlüğü daha yüksek glukuronid bileşiklerine dönüşürler. Eliminasyonlarının büyük bir kısmı böbreklerden glomerüler filtrasyon yoluyla, bir kısmı da safra yoluyla olmaktadır (52). Başlıca oral, parenteral, topikal formları bulunmaktadır. Klinikte, riketsiyal enfeksiyonlar, mikoplazma enfeksiyonları, klamidyal enfeksiyonlar, seksüel yolla geçen enfeksiyonlar, basiller enfeksiyonlar, üriner yol enfeksiyonları, başlıca kullanıldığı alanlardır (52,54,57).

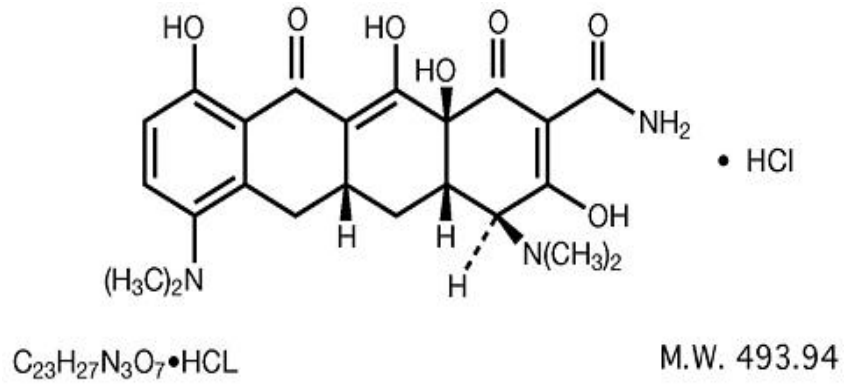
Yan Etkiler ve Kontrendikasyonları

Tetrasiklinlerin bazı istenmeyen ve toksik etkileri bulunmaktadır. Oral alınımını takiben, gastrointestinal sistemde irritasyon, bulantı, kusma, abdominal rahatsızlık oluştururlar. Fotosensitivite, hepatik toksisite, renal toksisite, özellikle çocuklarda kemiklerde ve dişlerde diskolarasyon (esmerleşme, sararma, dental diskromi) ve mine hipoplazileri önemli istenmeyen etkilerindendir.

Tetrasiklinler kafaiçi basıncını artırırlar, psödotümörserebri oluşmasına yol açabilirler. Morbiliform döküntülerden eksfolyatif döküntülere kadar değişen farklı deri reaksiyonları oluşturabilirler (52). İntravenöz uygulanmaları sonrasında venöz tromboz oluşabilir (54). Süperenfeksiyonlara (*Clostridium difficile*, Candida veya dirençli stafilokoklara bağlı enfeksiyonlar) en sık neden olan antibakteriyel ilaçlar arasındadırlar (53-55,57). Böbrek bozuklukluğu olanlarda, gebeliğin 4. ayından sonra, emziren annelerde ve 8 yaşın altındaki çocuklarda kullanılmamalıdır (53,57).

MİNOSİKLİN

Minosiklin tedaviye giren en son tetrasiklindir (53,59). Gram (+) ve Gram (-) çok sayıda bakteri üzerine etkili geniş spektrumlu, yarı sentetik yapılı bir antibiyotiktir (60). Minosiklinin kimyasal yapısı Şekil 2.de görüldüğü gibidir.



Şekil 2. Minosiklinin kimyasal yapısı

Minosiklin uzun etki süreli, ikinci kuşak tetrasiklin türevidir. Plazma yarılanma ömrü 16-18 saattir (53). Gastrointestinal kanaldan %100 oranında absorbe edilir. Mikroflorayı pek fazla bozmaz, metabolizasyonu karaciğer yoluyla olur, enterohepatik siklusa girer. FDA tarafından 100-200 mg/gün dozunda uygulanılması önerilmektedir. Başlıca eliminasyon yolu böbreklerdir, böbrek yetmezliği gibi durumlarda dozun ayarlanması gerekir (55,61). Minosiklinin uzun süreli tedavide kullanımlarında, tedavi öncesi ve tedavi süresince karaciğer ve böbrek fonksiyonlarının düzenli olarak izlenmesi gereklidir (62).

Yapıca çok fazla lipofilik olduğundan karaciğere, yağ dokusuna, dış salgılara özellikle orta kulak sıvısı, göz yaşı ve tere önemli ölçüde geçer (54). Güçlü bir tetrasiklin türevi olmasına karşın yüksek oranda vestibüler yan etkilere sahiptir (53,56). Minosiklinin vestibüler toksisitesi yüksek derecede lipofilik olması yüzünden iç kulakta lipitten zengin denge reseptörlerinde birikmesine bağlıdır, vertigo, sarhoşluk benzeri bir duygu oluşturabilmektedir (45,52,54-57)

Diğer tetrasiklin türlerine rezistan olan *Staph. aureus* suşları minosiklin'e duyarlı olabilir (56). Minosiklin *Neisseria menengitis*'e karşı da etkin olduğu için taşıyıcılarda bu mikroorganizmayı nazofarenksten eradike eder (53).

Minosiklin arteriyel kan gazlarını, arteriyel kan basıncını, plazma kortizolünü, rektal ısıyı etkilememektedir. 25 mg/kg'ın üzerindeki dozlarda deri irritasyonu, trigliserid ve hepatik enzimlerde yükselme, K^+ atılımında hafif azalma yapmaktadır (63,64). Ayrıca, minosiklin ile tedavi sırasında psödotümör serebri görüldüğünü bildiren yayınlar da bulunmaktadır (65). Gebe kadınlarda kullanımı kontrendikedir (59). FDA'in gebelerde ilaç kategorileri içinde D grubundandır (45).

Semisentetik tetrasiklin türevi olan minosiklin'in serebral iskemik hasarlı durumlar üzerine, nöroprotektif ve antiinflamatuvar etkileri bulunmaktadır, beyin kaynaklı fokal ve

global iskemiyi mikroglial aktivasyonu azaltarak önlemektedir (64). Apopitotik hücre ölümü, nitrik oksit, matriks proteinleri, mikroglial aktivasyon, inflamasyon üzerinde olumlu özellikleri bulunmaktadır (64).

Bununla uyumlu olarak, inme, multipl skleroz, parkinson hastalığı'nın deneysel modellerinde uygulanılmış, çeşitli nörolojik durumların tedavisinde nöroprotektif etkili olduğu gösterilmiştir (66). Düşük toksisitesi nedeniyle Huntington hastalığı tedavisinde yeni ve güçlü bir terapötik ajan olarak minosiklin önerilmektedir (67). Deneysel hayvan modellerinde minosiklinin hastalıklar üzerine olan etkileri Tablo.3'de gösterilmiştir.

Tetrasiklinlerle tedavide olduğu gibi, minosiklinle tedavide de tırnaklarda, dişlerde, ağızda, konjonktivada, kemikte, tiroidde, substantia nigrada, aortada, koroner arterlerde, mitral kapakta yaygın pigmentasyonlar görülmektedir (68,69). Deney hayvanlarında (sıçan, köpek, eşek ve fare) yapılan çalışmalarda minosiklinin farklı dozları, farklı uygulama yollarıyla kullanımlarında çeşitli morfolojik etkiler saptanmıştır. İ.v yoldan uygulama sonrasında köpeklerde hemolitik anemi görülmüştür. Köpek ve sıçanlarda yapılan çalışmalarda tiroid bezinde pigmentasyon artışı ile birlikte tiroid bezinde ve pineal bezde hiperplastik değişiklikler olduğu belirlenmiştir. Minosiklinin oral verilmesini takiben büyümekte olan kemiklere zararlı etkisi olmaksızın kafatası ve femurda sarı renkli pigmentasyonlar gözlenmiştir (70). Hipersensitivite sendromu ve otoimmün hepatit görülen diğer yan etkiler arasındadır (71,72).

Tablo 3. Deneysel hayvan modellerinde minosiklinin hastalıklar üzerine olan etkileri

Model	**Minosiklinin etkileri**
İskemik inme	İnfark büyüklüğünde azalma
İntraserebral hemoraji	Lezyon hacminde azalma
Amyotrofik lateral skleroz (ALS)	Yaşam sürelerinde uzama
Parkinson hastalığı	Nigrostial yolağın korunması
Huntington hastalığı	Yaşam süresinde uzama, hastalığın ilerlemesinde gecikme
Deneysel otoimmün ensefalomiyelit	Demiyelinizasyon ve nöroinflamasyonda azalma
Travmatik beyin hasarı	Lezyon büyüklüğünde azalma, rotarod testi performasında iyileşme
Spinal kord hasarı	Aksonal, nöronal, oligodendroglial kayıp fonksiyonlarında iyileşmeye neden olmak

İnterlökin-6 ve sinir büyüme faktörünün (nerve growth factor) artışının trigeminal sinir hasarı sonrasında mekanik allodini gelişimine katkıda bulunduğu ileri sürülmüş, minosiklinin bazı kronik ağrılı durumlarda analjezik ve antiinflamatuvar etkili olduğu gösterilmiştir (73,74). Siyatik sinir hasarı sonrasında dorsal ve ventral boynuzda hem ipsilateral hem de kontralateral olarak ağrı düzeyi ile paralel bir şekilde interlökin-6 düzeylerinde artış saptanmıştır (75). Minosiklinin formalin ile oluşturulmuş ağrı modelinde de spinal mikroglial aktiviteyi inhibe ettiği gösterilmiştir (76).

Nörodejeneratif hastalıklarda nöroprotektif tedavilere dramatik ihtiyaç bulunmaktadır. Son zamanlarda yapılan deneysel veriler minosiklinin in vivo ve in vitro nöronal dejenerasyon modellerinin her ikisinde de yararlı özellikleri bulunduğunu göstermektedir (66,77).

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Deney Hayvanı

Deneyimizde ağırlıkları 20-25 gr olan her iki cinsten Balb/c türü 2-3 aylık fareler kullanıldı. Beslenmeleri serbest bırakılarak oda ısısında (22± 1°C) ve standart ortamda tutuldular. Tüm fareler deney protokolüne uygun olarak, günlük ritimlerinde farklılık olmaması için hafta içi ve hafta sonu 09:00-17:00 saatleri arasında çalışıldı. Deneyimizde kullanılmış olan fareler, İdol İlaç Fabrikası Deney Hayvanları Merkezi'nden kullanılmamış hayvanlar içinden ücretsiz olarak temin edildi ve daha sonra tüm deneyler boyunca, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı Hayvan Laboratuvarı'nda standart koşullar altında barındırıldılar. Çalışmamız için Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Yerel Etik Kurulu'ndan onay alındı.

Siyatik Sinir Ligasyonu

Deney öncesinde tüm denekler önce tartılıp sonrasında her birinin kuyrukları boyanarak işaretlendi. Böylece karışma ihtimali ortadan kaldırıldı.

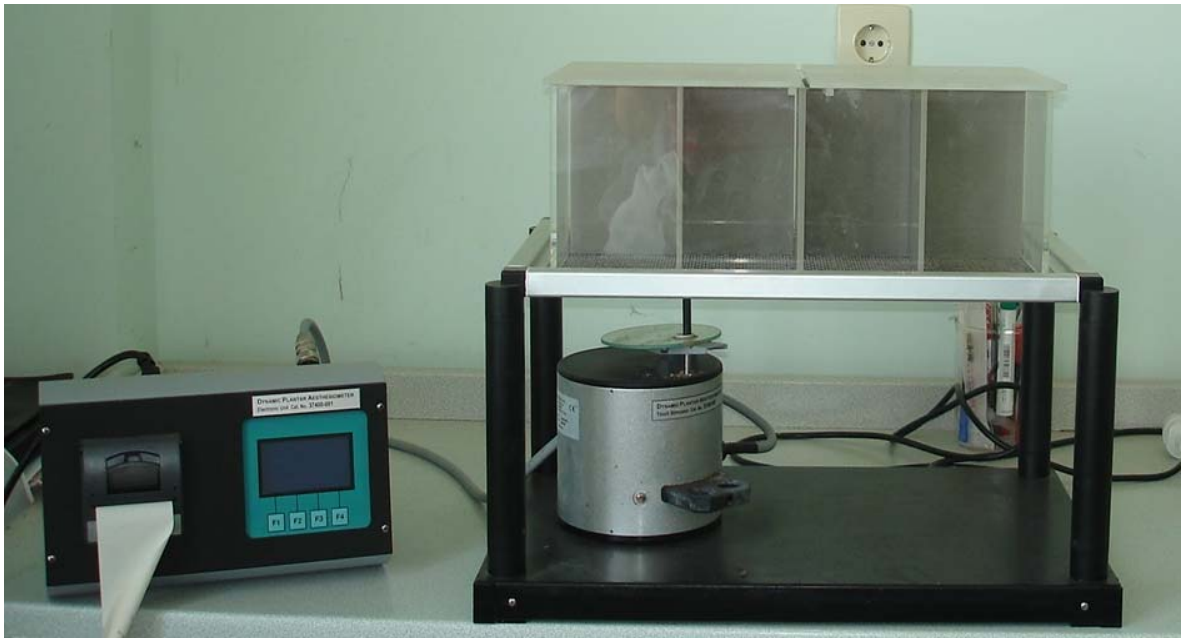
Deney başlangıcında sırasıyla hayvanlara ketamin (10 mg/kg) / ksilazin (100 mg/kg) anestezisi uygulandı. Anestezi sonrasında hayvanların sağ alt ekstremitesinin siyatik sinir bölgesindeki alanda tüyleri temizlendi. Işık altında keskin bistüri ucuyla çevre dokular travmatize edilmeden, orta uyluk hizasından siyatik sinire uyan traseye longitudinal kesi uygulandı, sinir çevre dokulardan temizlendikten sonra, Seltzer ve ark. (6)'nın sıçanlarda, Malmberg ve ark. (10)'nın farelerde yaptıkları şekilde siyatik sinirin arka kısmının 1/2 ila 1/3'lük kısmı sıkıca bağlandı. Daha sonra tüm tabakalar dikilerek pansuman yapıldı. Benzeri sinir zedelenmesi girişimlerinin birkaç gün sonrasından başlayıp 1 aydan daha uzun süreyle

devam eden allodini ve hiperaljezi gibi nöropatik ağrının bazı davranışsal belirtilerinin ortaya çıktığı bilinmektedir (5-13).

Cerrahi girişimden sonra deneyler yaklaşık 10 gün boyunca devam etti ve bu süre içinde aşırı zayıflayan ve hastalanan sıçanlar deneyden çıkarıldılar. Deney bitiminde tüm hayvanlar yüksek doz anestezi ile öldürüldüler.

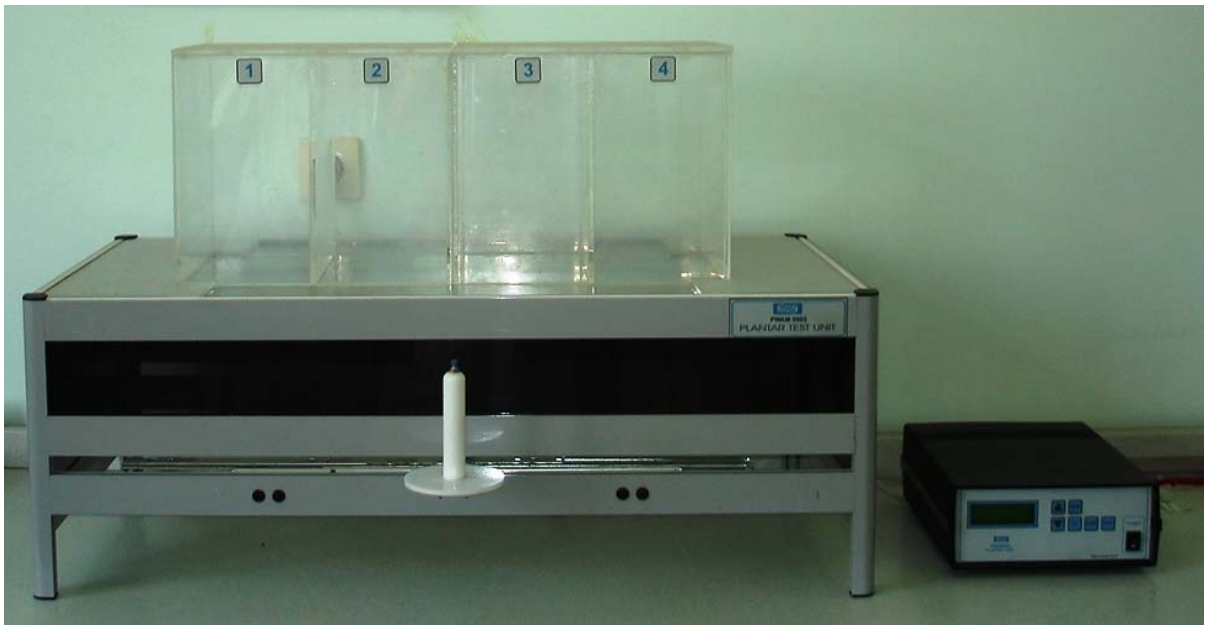
Deneyde kullanılan gereçler, Mekanik allodini, Termal hiperaljezi ölçümü

Mekanik allodini ölçümleri, TÜBİTAK projesi [SBAG-HD-95 (105S507)] ile alınmış olan (Dynamic Plantar Aesthesiometer, Ugo Basile, Varese, İtalya) cihaz ile yapıldı. Von Frey filamentlerinin çalışma prensiplerinin esas alındığı bu cihazda dokunmaya bağlı hassasiyet ölçümü yapılmaktadır. Denekler metal tabla üzerine yerleştirildikten sonra uyum sağlaması için 15 dk beklendi ve uyarıcı prob (çelik çubuk, çapı 0.5 mm) arka pençenin plantar yüzüne gelecek şekilde yerleştirildi. Hayvan hareketsiz olduğunda cihaz çalıştırılarak metal filament yukarı doğru yükseltildi ve arka pençenin plantar yüzeyine önceden ayarlanmış parametre değerlerine (10 sn süreyle 0-20 g arasında artacak şekilde dik olarak) uygun olarak artan şiddette güç uygulandı. Hayvan arka pençesini çektiğinde mekanik uyarı otomatik olarak sonlandı ve hayvanın ayağını çektiği andaki değer cihaz tarafından kaydedildi. Bu değerin belirlenmesi için ardarda yapılan üç ölçümün aritmetik ortalaması alındı (78).



Şekil 3. Mekanik allodini ölçümü için kullanılan cihaz

Hiperaljezi ölçümleri, Anabilim dalımız laboratuvarında bulunan nöropatik ağrı deneyleri için kullanılan (Plantar test unit MAY PWAM, Ankara, Türkiye) plantar test cihazı ile yapıldı. Hargreaves metodu kullanılarak yapılan termal hiperaljezi ölçümleri için, farelerin arka ayak pençelerinin plantar yüzeylerinin ortasına fokuslanmış ışık demeti şeklinde aşağıdan radyan ısı uygulandı (80). Fareler pençelerini çektikleri anda ısı uygulaması otomatik olarak sonlandı ve en yakın 0.1 saniye belirtilecek şekilde uygulama süresi cihazdan okundu. Farelerin deneye başlamadan 15 dk önceden ortama alışmaları sağlandı ve doku zedelenmesini önlemek için cut-off süresi 20 sn. olarak belirlendi (81).



Şekil 4. Termal hiperaljezi ölçümü için kullanılan cihaz

Deney Düzeni

Çalışmamızda her biri 3 alt gruptan oluşan (aynı ilacın üç farklı dozda i.p. uygulanması nedeniyle), 7 farklı deney grubu oluşturuldu. Minosiklin ve morfin deney protokülüne uygun olmak üzere operasyon öncesinde, operasyon sonrasında, tek olarak veya birlikte uygulandılar.

Grup I (Kontrol grubu): Hiçbir ilaç verilmemiş, ancak siyatik sinir ligasyonu yapılmış farelerde girişimden sonraki 10 gün süresince allodini ve hiperaljezi ölçümü yapıldı (n=10).

Grup II (Minosiklinin allodini ve hiperaljezi üzerine preemptif etkisi): Siyatik sinir ligasyonunun hemen öncesinden başlayıp 10 gün süresince farklı dozlarda (5, 15, 45 mg/kg) minosiklin vererek allodini ve hiperaljezi ölçümü yapıldı (her doz için n=6).

Grup III (Minosiklinin allodini ve hiperaljezi üzerine terapötik etkisi): Siyatik sinir ligasyonundan 5 gün sonra başlayıp 5 gün süresince farklı dozlarda (5, 15, 45 mg/kg) minosiklin vererek allodini ve hiperaljezi ölçümü yapıldı (her doz için n=6).

Grup IV (Morfinin allodini ve hiperaljezi üzerine etkisi ve bu etkisine tolerans gelişimi): Siyatik sinir ligasyonundan 5 gün sonra başlayıp 5 gün süresince günde 2 kez morfin (10 mg/kg) vererek allodini ve hiperaljezi ölçümü yapıldı (n=6).

Grup V (Minosiklinin morfin ile etkileşimi – preemptif etki): Siyatik sinir ligasyonunun hemen öncesinden başlayıp 5 gün süresince farklı dozlarda (5, 15, 45 mg/kg) minosiklin verdikten sonra, ikinci 5 gün süresince günde 2 kez 10 mg/kg morfin vererek allodini ve hiperaljezi ölçümü yapıldı (her doz için n=6).

Grup VI (Minosiklinin morfin ile etkileşimi – terapötik etki): Siyatik sinir ligasyonundan 5 gün sonra başlayıp 5 gün süresince günde 2 kez morfin (10 mg/kg) + farklı dozlarda (5, 15, 45 mg/kg) minosiklin vererek allodini ve hiperaljezi ölçümü yapıldı (her doz için n=6).

Grup VII (Minosiklinin morfin ile etkileşimi – total etki): Siyatik sinir ligasyonunun hemen öncesinden başlayıp 5 gün süresince farklı dozlarda (5, 15, 45 mg/kg) minosiklin verdikten sonra, ikinci 5 gün süresince günde 2 kez morfin (10 mg/kg) + farklı dozlarda (5, 15, 45 mg/kg) minosiklin vererek allodini ve hiperaljezi ölçümü yapıldı (her doz için n=6).

Morfin (Galen İlaç, İstanbul) s.c., minosiklin (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) i.p. olarak uygulandı. Teknikteki farklılıkları minimize etmek için davranış deneyleri aynı araştırıcı tarafından gerçekleştirildi.

İstatistiksel Analiz

Deneye sokulacak hayvanlar istatistik yapılabilecek minimum sayıda kullanıldı (her grup için yaklaşık n=6-10). İstatistiksel değerlendirme Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Bilgi İşlem Merkezi'nin S0064 MINITAB (Lisans No: WCP 1331.00197) istatistik programı ile yapıldı. Elde edilen yanıtlar bilgisayara aktarılarak, ilaçların etkinliğini kontrol grubu ile ve kendi aralarında karşılaştırabilmek için iki yönlü varyans analizi (ANOVA) ve takiben Tukey HSD testi kullanıldı. $p<0.05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

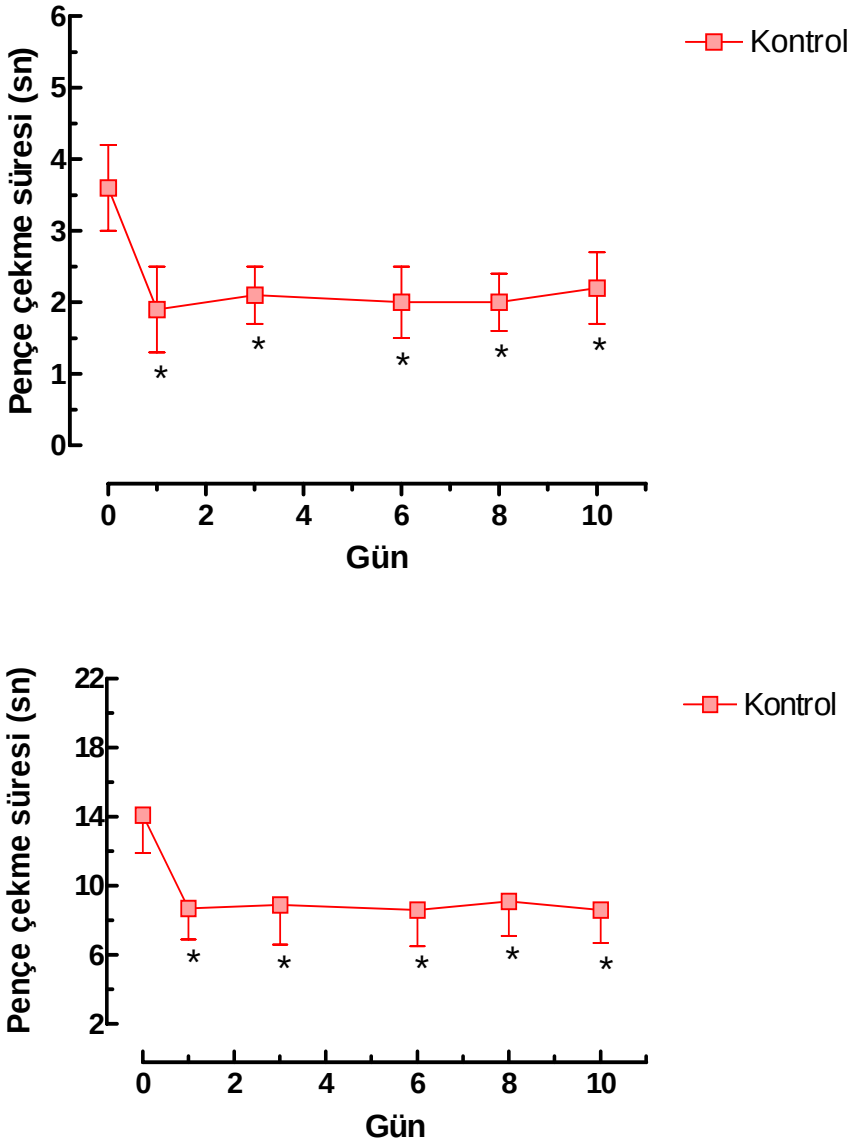
BULGULAR

Allodini ve Hiperaljezi Oluşumu

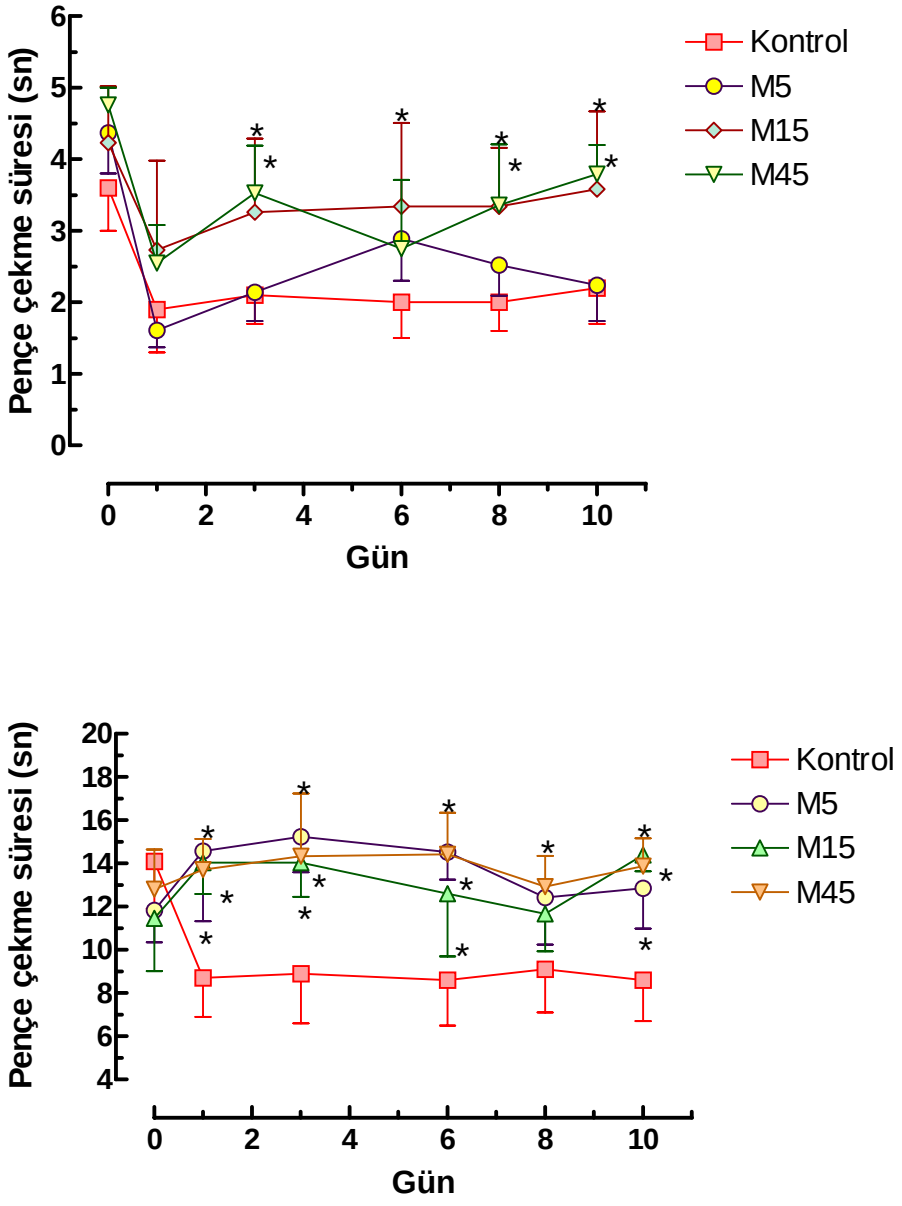
Siyatik sinir ligasyonu yapılmadan önce saptanan pençe çekme süreleri ile girişim yapıldıktan sonraki tüm ölçümlerdeki (1., 3., 6., 8. ve 10. günler) pençe çekme süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlılık saptanmıştır ($p<0.05$). Bu durum cerrahi girişim yapıldıktan sonraki deneylerin sürdüğü 10 gün süresince hayvanlarda nöropatik ağrının en önemli davranışsal belirtileri olan allodini ve hiperaljezinin oluştuğunu göstermektedir (Şekil 5a, b).

Deney Süresince Minosiklin Uygulanmasının Allodini ve Hiperaljezi Üzerine Etkisi

Siyatik sinir ligasyonunun hemen öncesinden başlayıp 10 gün süresince farklı dozlarda (5, 15, 45 mg/kg) minosiklin verildiğinde, 5 mg dozunun allodini üzerine etkili olmadığı gözlenmiş, diğer dozların tüm ölçümlerde (45 mg dozun 6. gün ölçümü hariç) allodini oluşumunu önlediği belirlenmiştir ($p<0.05$, Şekil 6a). Hiperaljezi oluşumu üzerine ise 45 mg minosiklin tüm ölçümlerde etkili olmuş, 5 ve 15 mg minosiklin 8. gün ölçümleri dışında etkili olmuşlardır ($p<0.05$, Şekil 6b).



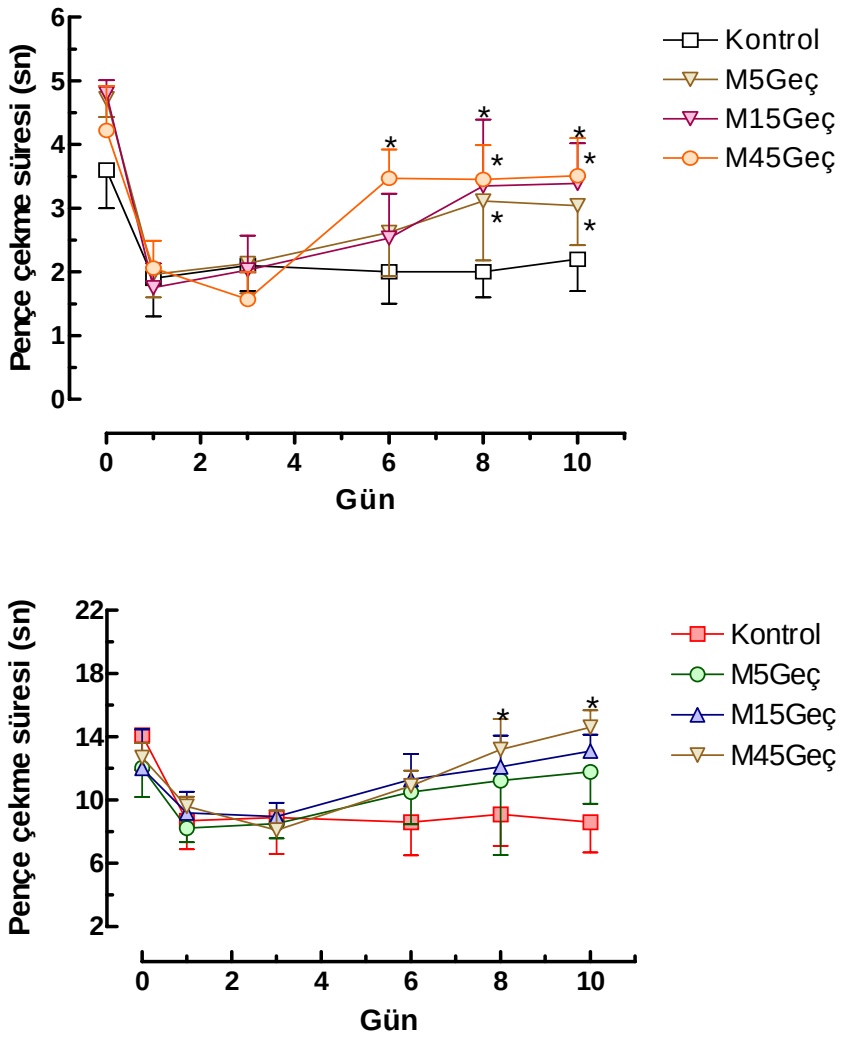
Şekil 5. Siyatik sinir ligasyonu yapıldıktan sonra allodini (a) ve hiperaljezi (b) oluşumu (kontrol grubu). *p<0.05, cerrahi girişim yapılmadan önceki (0. gün) değer ile karşılaştırıldığında.



Şekil 6. Cerrahi girişimden hemen önce başlayıp deney süresince uygulandığında minosiklinin farklı dozlarının (5, 15, 45 mg/kg, i.p.) allodini (a) ve hiperaljezi (b) üzerine etkisi. * $p<0.05$, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.

Beşinci Günden Sonra Minosiklin Uygulanmasının Allodini ve Hiperaljezi Üzerine Etkisi

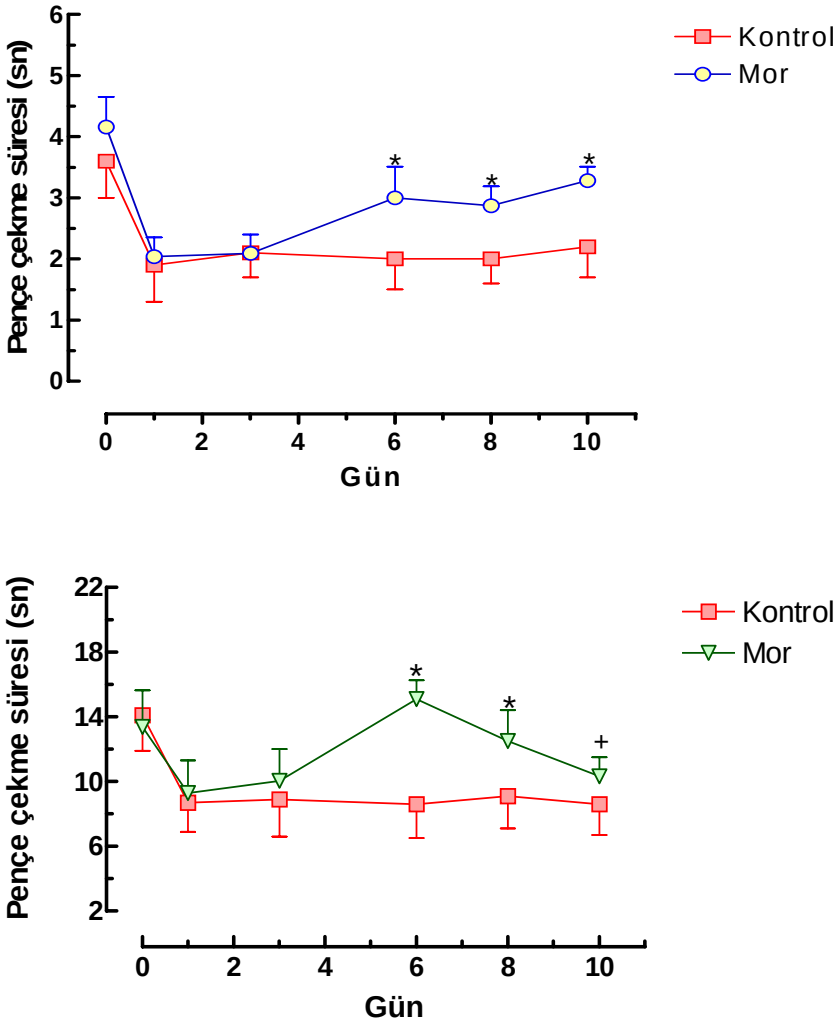
Siyatik sinir ligasyonundan 5 gün sonra başlayıp 5 gün süresince farklı dozlarda (5, 15, 45 mg/kg) minosiklin verildiğinde, 5 ve 15 mg minosiklinin 6. gün ölçümleri dışında tüm dozlarda antiallodinik bir etkinlik gösterdiği saptanmış ($p<0.05$, Şekil 7a), hiperaljezi oluşumunu ise minosiklin sadece 45 mg dozuyla 8. ve 10. günlerde önleyebilmiştir ($p<0.05$, Şekil 7b).



Şekil 7. Beşinci günde başlayıp 5 gün süresince uygulandığında minosiklinin farklı dozlarının (5, 15, 45 mg/kg, i.p.) allodini (a) ve hiperaljezi (b) üzerine etkisi. * $p<0.05$, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.

Allodini ve Hiperaljezi Üzerine Morfinin Etkisi

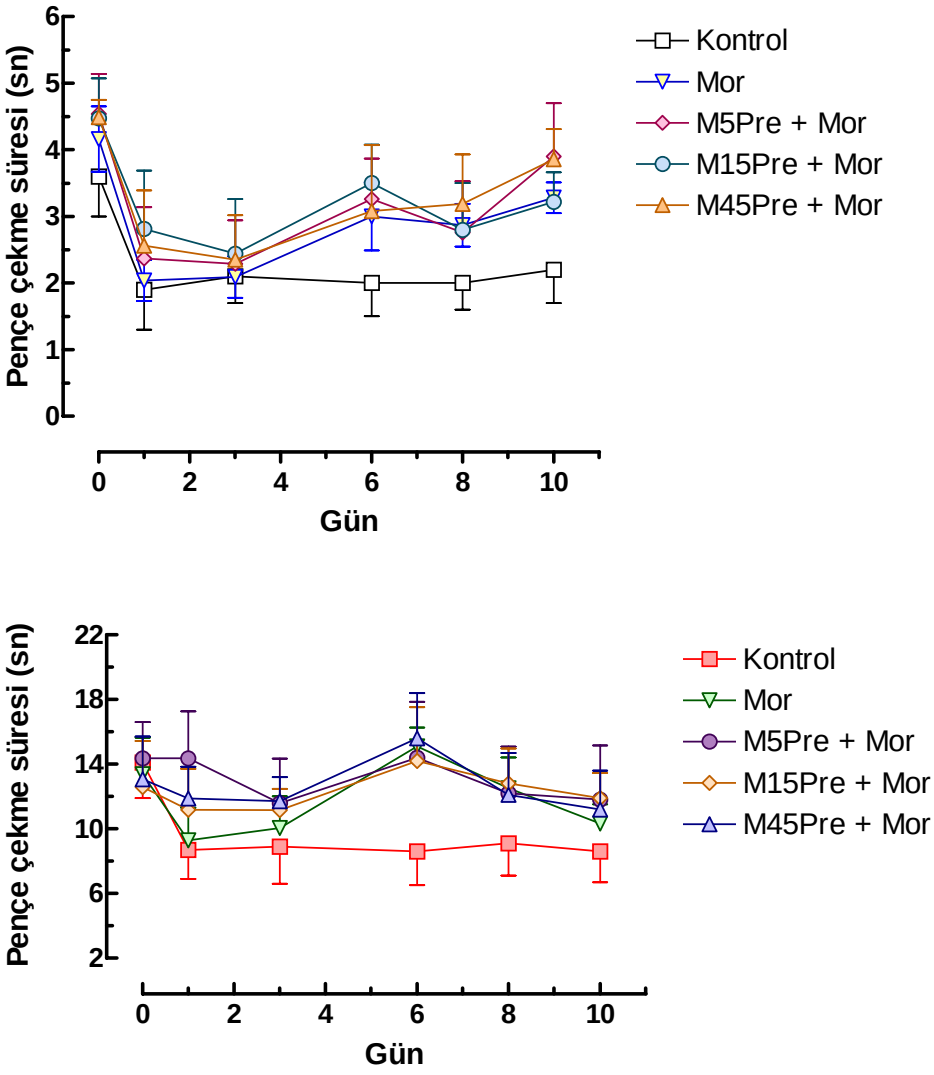
Siyatik sinir ligasyonundan 5 gün sonra başlayıp 5 gün süresince günde 2 kez morfin (10 mg/kg) verildiğinde, morfinin tüm ölçümlerde allodiniyi engellediği görülmüş ($p<0.05$, Şekil 8a), buna karşın hiperaljezi üzerine 6. ve daha az olmak üzere 8. günlerde etkili olmuş, 10. günde etki göstermemesi nedeniyle antihiperaljezik etkisine tolerans geliştiği belirlenmiştir ($p<0.05$, Şekil 8b).



Şekil 8. Allodini (a) ve hiperaljezi (b) üzerine morfinin (Mor) (10 mg/kg) etkisi. 5. günde başlanıp 5 gün boyunca sonra günde iki kez uygulanmıştır. * $p<0.05$, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; $^{+}p<0.05$, Morfinin 6. gün ölçümü ile karşılaştırıldığında.

Minosiklin Preemptif Uygulandığında Morfin İle Etkileşimi

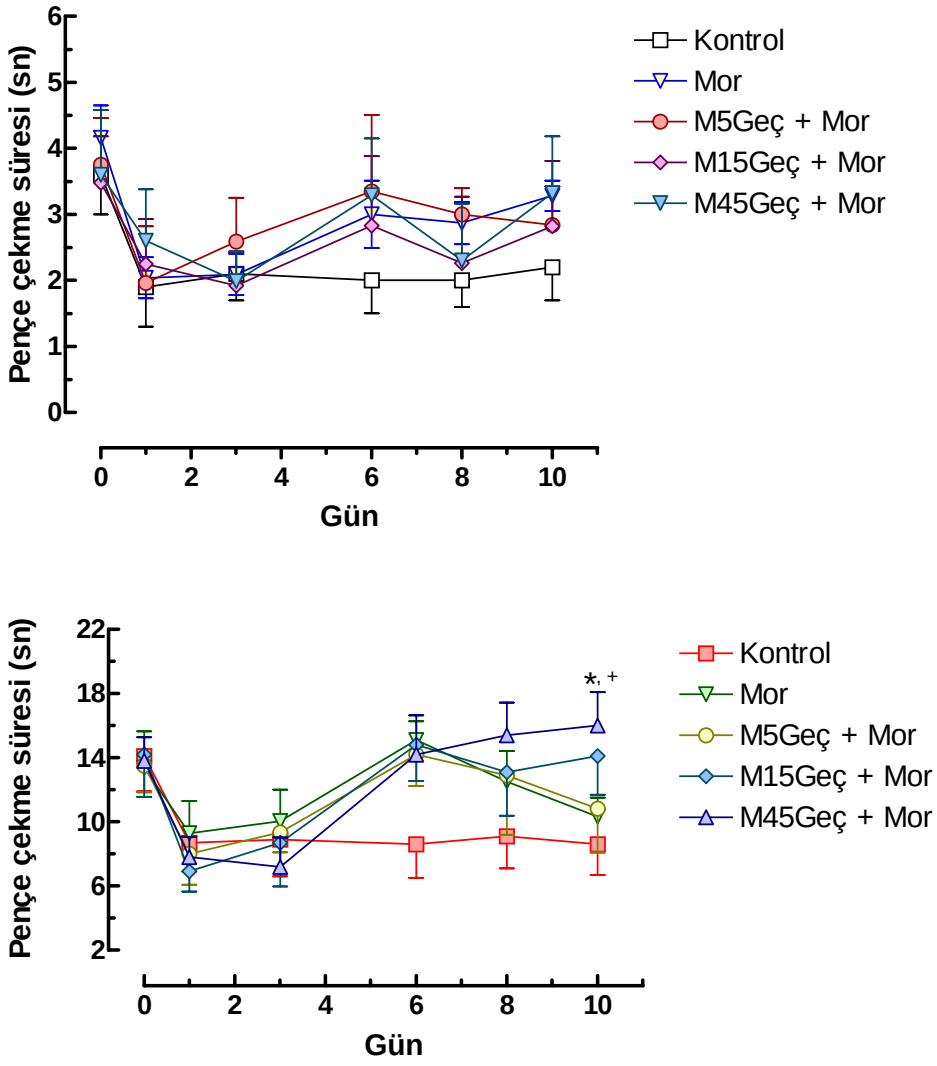
Siyatik sinir ligasyonunun hemen öncesinden başlayıp 5 gün süresince farklı dozlarda (5, 15, 45 mg/kg) minosiklin verdikten sonra, 5 gün süresince günde 2 kez 10 mg/kg morfin uygulandığında, minosiklin ile morfinin tek başlarına kullanıldıkları önceki değerleri ile karşılaştırıldığında hem allodini hem de hiperaljeziye ilişkin anlamlı bir farklılık görülmemiştir (Şekil 9a, b).



Şekil 9. Minosiklin (5, 15, 45 mg/kg) preemptif uygulandığında morfinin (10 mg/kg) antiallodinik (a) ve antihiperaljezik (b) etkinliği üzerine etkisi.

Minosiklin Geç Uygulandığında Morfin İle Etkileşimi

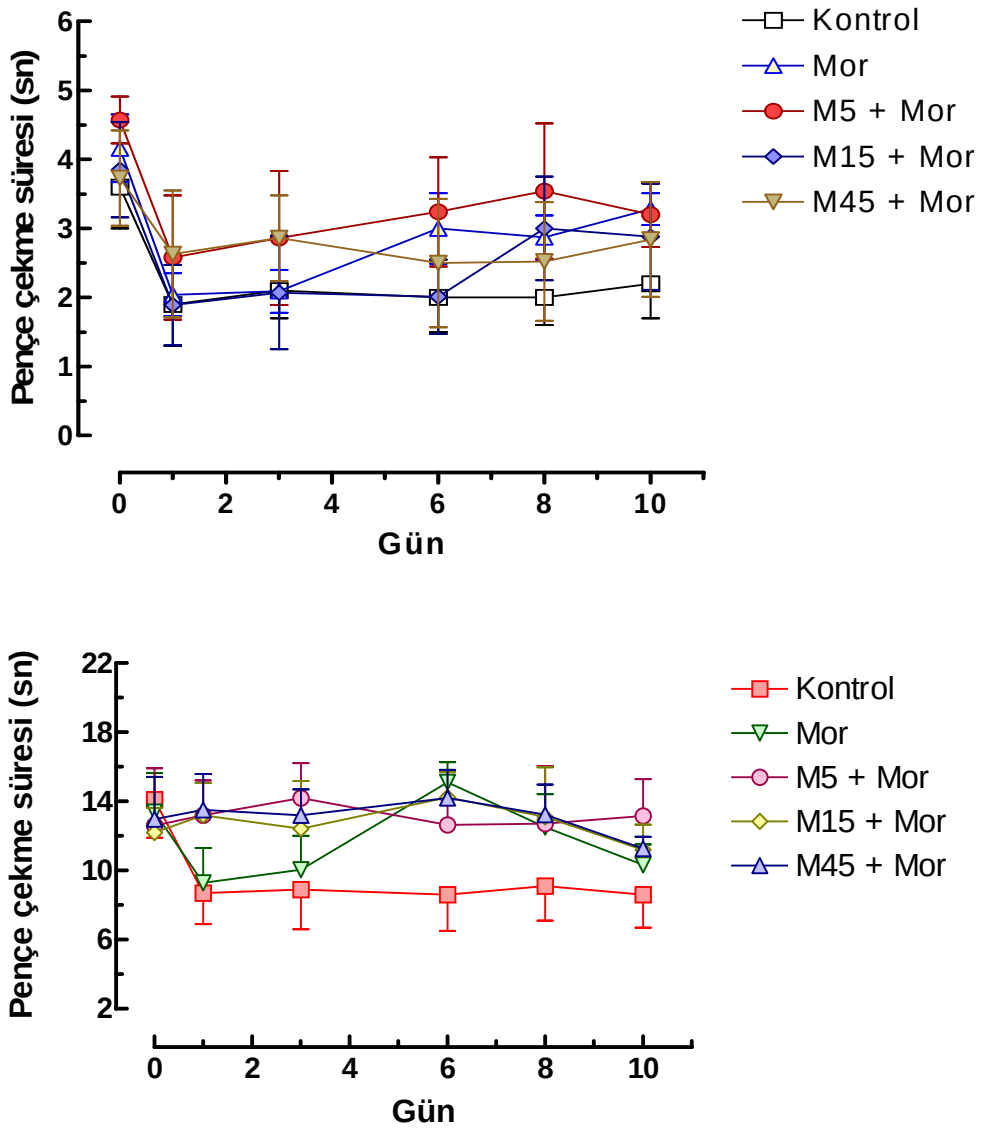
Siyatik sinir ligasyonundan 5 gün sonra 5 gün süresince günde 2 kez 10 mg/kg morfin + farklı dozlarda (5, 15, 45 mg/kg) minosiklin uygulandığında, minosiklin ile morfinin önceki değerleri ile karşılaştırıldığında hem allodini hem de hiperaljeziye ilişkin anlamlı bir farklılık görülmemiştir (Şekil 10a, b). Minosiklinin 10. gün 45 mg dozu morfinin antihiperaljezik etkisine karşı gelişen toleransı önler gibi gözükmesine karşın, bu değer minosiklinin tek başına uygulandığında elde edilen değerden farklı değildir.



Şekil 10. Minosiklin (5, 15, 45 mg/kg) geç uygulandığında morfinin (10 mg/kg) antiallodinik (a) ve antihiperaljezik (b) etkinliği üzerine etkisi. *p<0.05, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; +p<0.05, morfinin 10. gün ölçümü ile karşılaştırıldığında.

Deney Boyunca Minosiklin Uygulandığında Morfin İle Etkileşimi

Siyatik sinir ligasyonunun hemen öncesinden başlayıp 5 gün süresince farklı dozlarda (5, 15, 45 mg/kg) minosiklin verdikten sonra, 5 gün süresince günde 2 kez 10 mg/kg morfin + farklı dozlarda (5, 15, 45 mg/kg) minosiklin uygulandığında, minosiklin ile morfinin tek başlarına kullanıldıkları önceki değerleri ile karşılaştırıldığında hem allodini hem de hiperaljeziye ilişkin anlamlı bir farklılık görülmemiştir (Şekil 11a, b).



Şekil 11. Minosiklin (5, 15, 45 mg/kg) deney süresince uygulandığında morfinin (10 mg/kg) antiallodinik (a) ve antihiperaljezik (b) etkinliği üzerine etkisi.

TARTIŞMA

Nöropatik ağrı sıklıkla periferik sinirlerin parsiyel zedelenmesi sonucu ortaya çıkar ve bu durumun tedavisinde, diğer tüm nöropatik ağrı şekillerinde olduğu gibi, etkin ilaç sayısı son derece azdır. Bu nedenle, özellikle son 15 yıl içinde, hem nöropatik ağrının etyopatogenezini tam olarak açıklayabilmek hem de tedavide daha etkili ilaçlar bulabilmek için çok sayıda deneysel nöropatik ağrı modelleri geliştirilmiştir. Bunlardan, parsiyel sinir zedelenmesi modelleri deneylerde çok sık kullanılmakta olup, özellikle Bennett, Seltzer ve Chung (5-7) modellerinin en sık kullanılan üç sıçan modeli olduğu söylenebilir. Moleküler biyoloji ve genetik alanlarındaki hızlı gelişme sonucu, farelerin, gen manipülasyonunun kolaylıkla yapılabildiği hayvanlar durumuna gelmesi nedeniyle, farelerde son zamanlarda geliştirilen nöropatik ağrı modelleri bu alanda önemli gelişmeler sağlayabilecektir (9-13,82,83). Biz de çalışmamızda Malmberg ve Basbaum'un (10) farelerde uyguladığı parsiyel sinir zedelenmesi modelini tercih ettik.

Nöropatik ağrı heterojen faktörlerin bir arada bulunduğu tek bir etyoloji ya da tek bir anatomik lezyon ile açıklanamayacak kadar kompleks bir durumdur (84,85). Genel populasyonun % 2-4'ünde nöropatik ağrı olgularının görüldüğü belirtilmektedir (86). Etyoloji-patoloji ilişkisinden yola çıkılarak bu bağlamda oldukça fazla araştırma yapılmış, bizim yapmış olduğumuz çalışmamıza benzer veya farklı, çeşitli sonuçlar elde edilmiştir.

Sözü edilen çalışmalar, spesifik mikroglia ve astrosit inhibitörlerinin veya modulatörlerinin inhibisyonunun nöropatili durumları geri çevirdiğini göstermektedir. Bu bileşiklerden çalışmamızda kullanmış olduğumuz minosiklin yaygın olarak kullanılan ajanlardan birisidir. Ayrıca fluorositratda bu amaçla kullanılan non selektif bir glial metabolik inhibitörüdür, çalışmalar fluorositratın preemptif ve küratif tedavisinin mikroglia ve astrosit metabolizmalarını selektif olarak inhibe ederek nöropatik ağrıyı azalttığını, i.t. yoldan

uygulanması ile allodini ve hiperaljeziyi 48 sonrasında önleyebildiğini bildirmektedir. Fluorositratın allodini ve hiperaljeziyi önleyici etkisi nonspesifik glial inhibitör etkisi ile açıklanmakta, minosiklinin var olan patolojilerdeki etkisizliği de spesifik (sadece mikroglialara) özellikleri ile açıklanmaktadır (87). Çalışmamızda kullanmış olduğumuz, bir mikroglia inhibitörü olan minosiklin i.t. yoldan nöropatik ağrı gelişimini engellemekle birlikte var olan ağrıyı azaltamamaktadır denilmektedir, ayrıca yine farklı bir çalışmada preemptif olarak verilen minosiklinin allodini ve termal hiperaljezi gelişimini tamamıyla önlediği bildirilmekle birlikte, post-MA (monoartrit sonrası) gelişen nöropatik ağrıda etkisiz bulunmuştur. Bu bağlamda nöropatik ağrının diğer modellerinden olan spinal sinir transeksiyon modeli, siyatik sinir enflamasyon modelinde, spinal HIV modelinde allodini ve hiperaljeziyi önlediği, önceden oluşmuş hiperaljezi ve allodini üzerinde etkisiz olduğu görülmüştür (88,89). Çalışmamızda parsiyel siyatik sinir ligasyon modelinde i.p. yoldan uyguladığımız minosiklini preemptif ve küratif olarak verdiğimizde allodini ve hiperaljezi oluşumu öncesinde ve sonrasında etkili olarak bulduk. İntratekal HIV-1 gp 120 kullanılarak da nöropati modeli oluşturmak mümkündür. HIV-1 gp 120 verilmesini takiben spinal glial aktivasyon olmakta ve TNF alfa ve İL-1β gibi sitokinler açığa çıkmakta, beraberinde allodini gelişmektedir. Çalışmamızda da kullanmış olduğumuz minosiklinin bu çalışmada i.t. yolla uygulanması ile allodini gelişimi önlenmekte ve açığa çıkan TNF alfa ve İL-1β gibi sitokinlerde süpresyon görülmektedir (89,90). Sıçanlarda oluşturulan nöropatik ağrının siyatik sinir ligasyon modelinde ise minosiklin hem allodini hem de hiperaljezi üzerinde önleyici yönde etki sağlamaktadır (91). Biz de siyatik sinir ligasyon modelini ve minosiklini kullanarak allodini ve hiperaljezi gelişimini önlemede etkili olarak bulduk. Ancak biz çalışmamızda farklı uygulama yolu ve farklı tür denek tercih ettik, sıçan yerine fareleri, i.t. yol yerine i.p. yolu kullanarak, benzer sonuçları elde ettik. Tüm bu veriler mikrogliaların nöropatik ağrıda önemli rol oynadığına dikkat çekmektedir.

Mikrogliyaların aktivasyonunda çeşitli uyaranların rol oynadığı tahmin edilmektedir. Biyolojik aktif maddeler, peptidler, hormonlar, sinir büyüme faktörü, sitokinler, CGRP, ATP, İL-1β mikrogliyaları aktive ettiği bilinen uyaranlardır. Mikrogliaların fonksiyonel olarak nörotrofik ve sitotoksik olmak üzere iki karşıt etkisi bulunmaktadır. Patolojik ve rejeneratif olaylarda bu etkilerin belirgin rolü bulunmaktadır (92).

Aktive mikrogliaların SSS'de doku bütünlüğünün korunması ve sürdürülmesi gibi iki düzenleyici fonksiyonları vardır. Fagositoz yoluyla veya toksik faktörler salgılamak suretiyle (TNF-α, İL-1β, vb.) gibi ölen hücreleri ortamdan uzaklaştırırlar, IL ve BDNF gibi nörotropik faktörlerin salınımı yoluyla hasarlı hücreleri tamir etmeye çalışılır (93,94). Minosiklin ile

tedavi edilen hayvanlarda mikroglialarda IL-1β-converting enzim üretiminde, prostaglandin oluşumunda, COX-2 miktarında azalma görülmekte, nörotrofik etkisini enflamasyonla ilgili enzimleri inhibe ederek yaptığı bildirilmektedir. Nöroprotektif etkisi ile ilgili olarak astroglia ve nöronlar üzerinde direk etkili olmadığı, ancak mikroglialar üzerinde rodentlerde yapılan çalışmalarla antibiyotik özelliğinin dışında akut ve kronik nörodejenerasyon modellerinde doğrudan etkili olduğu açıkça gösterilmiştir (95-97).

Araşidonik asidi metabolize eden enzimlerden birisi olan 5-lipooksijenaz (5-LOX) enzimi de iskemi sonrası enflamasyonda artmaktadır. Nöronal hücrelere benzeyen PC12 hücrelerinde minosiklinin NMDA'nın neden olduğu hasarlanma sonucu aktive olan 5-LOX aktivasyonunu inhibe etmesine bağlı koruyucu etkisi araştırılmış, eksitotoksisite karşısında koruyucu etkinin bir kısmını 5-LOX aktivasyonunu inhibe ederek gerçekleştirdiği sonucuna ulaşılmıştır (98). Çalışma stratejimizi minosiklin-mikroglia-nöropati modeli ekseninde, uygulamış olduğumuz siyatik sinir ligasyonu sonrasında gelişen enflamasyon açısından değerlendirdiğimizde etken-etkileşim-sonuç bağlamında nöroprotektif etkiyi açıklama adına biz de benzer sonuçlara ulaştık.

Minosiklinin nöropatik ağrıyı farklı yollardan, farklı mekanizmalar ile önlediği belirtilmektedir. Bu mekanizmalar; mikroglial aktivasyonun inhibisyonu, apopitozun önlenmesi, serbest radikallerin üretiminin baskılanması, MMPs'nin inhibisyonu, lökosit fonksiyonlarında değişiklikler, solunumla ilgili sistemlerde nötrofil düzeylerindeki artışın baskılanması, Ca^{++} şelasyonu yapması, indüklenebilir nitrik oksid sentaz gen expresyonunun inhibisyonu, peroksinitrit artıklarının inhibisyonu, MAP kinazı inhibe etmesi, bunlardan önem taşıyanlarıdır (99,100). Minosiklin-kemokinler-kemokin kemokin reseptörleri, mikroglial aktivasyon ve inhibisyonu ile ilgili olarak, nöropatik ağrının enflamatuar bileşenleri araştırılmış, minosiklinin lipopolisakkarid uyarımını takiben gelişen mikroglial aktivasyonu inhibe ettiği bildirilmiştir. Minosiklinin antienflamatuar etkisinde, proenflamatuar sitokinleri ve proenflamatuar sitokin reseptörlerini inhibe ettiği belirtilmiştir. Bu çalışmalar yeni doğan hücre kültürlerinde araştırılmış, minosiklinin anti-enflamatuar etkisiyle ilgili olarak insanlarda da enflamasyon olgularında kullanılabilecek farmakolojik ajan olarak tavsiye edilmiştir (101).

Minosiklinin spinal mikroglial aktiviteyi inhibe ederek antiallodinik ve antihiperaljezik etkileri sıçanlardaki (EA) elektroakupunktur modelinde de araştırılmış, deneysel monoartrit modeli complete freund's adjuvan (CFA) ile oluşturulmuş, minosiklin nöropatik ağrının enflamatuar türünde ağrıyı önlemede etkin olarak bulunmuştur. CFA sonrası bilinen proenflamatuar sitokinler (İL-1β, TNF-α, İL-6) açığa çıkmakta i.t. yoldan verilen minosiklin mikrogliaları inhibe etmekte, minosiklinin bu etkileri proenflamatuar sitokinlerin

sentez/salınımının inhibisyonu yolu ile açıklanmaktadır. Elektroakupunkturun antiallodinik ve antihiperaljezik etkileri, EA+minosiklin verildiğinde potansiyalize olmaktadır. Ayrıca EA endojen opioidlerin salınımını da artırmakta, SSS'de analjezik etkisine opioid peptidlerle katkı sağlamaktadır. EA+minosiklin ile elde edilen bu sonuçları bizim sonuçlarımızla karşılaştırdığımızda morfin+minosiklin'de benzer sonuçlar sağlamıştır (102).

Minosiklin kullanılarak yapılan klinik çalışmalar romatoid artrit (103) ve diğer enflamatuar hastalıklarda yarar sağladığını göstermektedir. Minosiklin preemptif olarak sistemik kullanıldığında, periferik sinir hasarlanmalarına yanıt olarak spinal korddan salınan ve sentezlenen proenflamatuar sitokinleri süprese etmektedir. Raghavendra ve arkadaşları ile Ledeboer' in çalışmalarında da minosiklinin ağrı gelişimini önlediği bildirilmiştir (89,131).

Minosiklinin başka bir yararlı özelliği de, oligodentritlerdeki apopitozu, var olan lezyon büyüklüğünü, mikroglia/makrofaj aktivasyonunu azaltmaktadır. Spinal sinir hasarı sonrasında gelişen fonksiyonel bozukluklarda düzelmeye neden olmaktadır (100). Çeşitli nörodejeneratif hastalıklarda da minosiklin ile ilgili olarak farklı çalışmalar yapılmış olup, minosiklinin bu hastalıkların bazılarında yararlı etkileri olduğu gösterilmiştir: demiyelinizasyonla seyreden multipl skleroz, amiloid nedenli nörotoksisite ile seyreden Alzheimer hastalığı, iskemik, hemorajik inmeler, spinal kord hasarlanması, serebral iskemi, travmatik beyin zedelenmesi, deneysel otoimmün ensefalomiyelit, glutamata bağlı nörotoksisite (105-7). NMDA reseptörlerinin aracılık ettiği nörotoksik patolojiler, amyotrofik lateral skleroz, Huntington hastalığı gibi olgularda glial hücrelerin anahtar rol oynadığı bildirilmiş, özellikle mikroglia ve astrositlerin bu durumlarla yakından ilgili oldukları gösterilmiştir. Minosiklinin yukarıda sözü edilen tüm bu hastalıklarda etkin rol oynadığı gösterilmiş olup, bu etkilerini sözü edilen yolaklar üzerinden gerçekleştirdiği bildirilmiştir.

Tikka ve ark. (109)'nın transgenik farelerdeki çalışmalarında Huntington hastalığında minosiklin ile mortalite süresinde gecikme saptanmış, minosiklinin koenzim Q ile kombine edilerek kullanıldığında Huntington hastalığında yararlı etkileri olduğu ileri sürülmüştür. ALS hastalığında, minosiklin - kreatinin kombinasyonu ile yaşam süresinde ve motor performansta olumlu sonuçlar elde edilmiş, yine ALS hastalığında minosiklinin riluzole ve nimodipin ile birlikte üçlü kombinasyonunda kas gücü kaybında yavaşlama, hastalığın başlamasında gecikme gibi önemli bulgular elde edilmiştir (109). Benzer şekilde, multipl sklerozda minosiklin-interferon beta ve minosiklin-glatiremer aceta kombinasyonları denenmiş ve olumlu sonuçlar elde edilmiştir (99,108). NMDA kaynaklı nöronal hücre ölümü ile ilgili olarak, mikroglialardaki aktivasyon ve proliferasyonu minosiklinin tamamıyla inhibe edebildiği (64,67,105,109), farelerde MPTP ve 6-OHDA kullanılarak oluşturulan iki ayrı

deneysel Parkinson modelinde de minosiklinin nörodejenerasyonu önlediği bildirilmektedir (110-112). İskemik ve spinal kord hasarlı hayvan modellerinde minosiklinin nörodejenerasyon olgularında nöroprotektif özelliği ve bizim sonuçlarımızda da elde ettiğimiz antiallodinik ve antihiperaljezik etkisinin yanı sıra motor fonksiyonlarda düzelmeye de neden olduğu bilinmektedir. (109,113). Ancak gerek klinik gerekse deneysel çalışmalar minosiklinin tamamıyla küratif nöroprotektif etkili ajan olmadığına işaret etmektedir. Minosiklin ile bizim fareler üzerinde yapmış olduğumuz çalışmamızda, motor fonksiyonlar ile ilgili olarak post-op dönemde bozulan yürüme fonksiyonlarında belirgin biçimde iyileşme gözlemledik. Minosiklin ile yapılan bir diğer çalışmada da sıçanlarda düşük doz i.v minosiklinin orta cerebral arter oklüzyon perfüzyon modelindeki nöroprotektif etkileri araştırılmış, arter oklüzyonundan 4 saat sonra 3 mg/kg dozda verildiği zaman, infarkt büyüklüğünde azalmaya neden olduğu bulunmuş, 10 mg/kg dozlarında verildiği zaman ise nörolojik bozukluklarda iyileşme saptanmıştır. 3 mg/kg'lık dozlarının insanlarda ki standart olarak uyguladığımız 200 mg/kg'a eşdeğer olduğu belirtilmiş, minosiklinin insanlarda ki şok tedavisinde faz1 uygulama olarak, klinikte doz rejimine uyarak en az 4-5 saat içinde uygulanması önerilmiştir, sonuç olarak minosiklin antibiyotik etkisinin dışında nöroprotektif olarak serebrovasküler bozukluklarda da kullanılabileceği belirtilmektedir. (114).

Minosiklin için antioksidan özelliğe sahip bir ilaç olduğu ileri sürülmektedir, özellikle düşük doz minosiklinin yüksek dozlarına oranla antioksidan özelliği bakımından daha etkili olabileceğini belirtilmiş ve bu özelliğinden yararlanılarak nöronal hasarlanmalarda nöroprotektif olarak kullanılabileceği belirtilmiş olup, bu özelliği ile çalışmamızda kullanmış olduğumuz minosiklinin nöroprotektif etkisi ile ilgili tüm ileri sürülen mekanizmalara ek olarak, antioksidan özelliği de katkı sağlamış olabilir (115).

Son yıllarda yapılan çalışmalar SSS'de eskiden nöronlara destek sağlamak amacı ile bulundukları düşünülen glia hücrelerinin (mikroglia-astrositler) santral immun hücre olarak görev yaptıklarını ortaya koymuştur (116). Glia hücrelerinin aktivasyonunun ağrının oluşumu ve sürdürülmesindeki öneminin anlaşılmasıyla birlikte (14-18), bu fonksiyonu inhibe eden ilaçların nöropati belirtileri üzerine etkinliklerinin gösterildiği araştırmalar da önem kazanmıştır (19,20). Bu veriler birleştirildiğinde mikroglia hücrelerinin inhibisyonuna neden olan minosiklinin nöropatik ağrı belirtileri üzerine koruyucu ve/veya terapötik etki göstermesi beklenebilir. Benzer şekilde düşünen Ledeboer ve ark. (21) minosiklini intratekal uygulamışlar ve nöropatik ağrı belirtilerinden allodininin oluşmasını engellediğini göstermişlerdir. Biz de çalışmamızda intraperitoneal minosiklinin hem önceden hem de nöropati oluştuktan sonra uygulandığında, kullanılan dozları arasında anlamlı bir farklılık

olmaksızın, allodiniyi engellediğini saptadık. Sonuçlarımız Ledeboer ve ark. (21)'nın bulgularını desteklemekle birlikte, nöropatik ağrının diğer bir önemli davranışsal belirtisi olan ve onların incelemediği hiperaljezi üzerine de minosiklinin etkinliğini araştırdık. Araştırma sonuçlarımız minosiklinin antiallodinik etkisinin yanısıra, antihiperaljezik etkisinin de bulunduğuna işaret etmektedir ki, bu sonuçlar ilk defa tarafımızdan gösterilmiştir.

Yapılan son çalışmalarda, hiperaljezi ve allodini oluşumunda periferik ve santral immun sistem aktivasyonunun birincil rol oynadığı ileri sürülmektedir. Non nöronal olan hücreler olan periferdeki immun hücreler ve spinal glial hücreler allodini ve hiperaljezi oluştururlar. Doku, periferik sinir veya spinal kord düzeyinde meydana gelen herhangi bir zararlı uyaran ile aktive olan mikroglia ve astrositler proinflamatuar sitokinler (PIC) adı verilen proteinleri üretir ve salgılarlar. Aktif gliadan salınan PIC'ler primer afferent nöronun sinaptik terminalinden eksitatuar nörotransmitterlerin salınımına ve spinal kord transmisyon nöronlarında hipereksitasyona neden olur. PIC'lerin hem periferik hemde santral düzeyde ağrıyı artıran en önemli mediyatörler oldukları iddia edilmektedir. (117,118). Sitokinler periferik immun hücrelerde sentez edilip salındıkları gibi, MSS'nin immun hücreleri olan (beyin ve spinal kord) glia hücrelerinden de (mikroglia ve astrositler) sentez edilip salınmaktadırlar (119). İL-1β'nın en güçlü hiperaljezik etkili olan sitokin olduğu gösterilmiştir. Güç sıralarına göre sıralanmaları ise İL-1β >TNF-α >>> İL-6 şeklindedir (120).

İL-6'nın ağrının patofizyolojisinde ve nosisepsiyonun fizyolojisinde özel önemi bulunmaktadır. Bu sitokin, fibroblastlardan, monositlerden, B ve T hücrelerinden, endotelyal hücrelerden, astrositlerden ve çalışmamız için önem taşıyan mikroglial hücrelerden salınmaktadır. İnsanlarda ve rodentlerdeki periferik sinir hasarlanması sonrasında gelişen mekanik allodini ve termal hiperaljezide anahtar rol oynamaktadır. Nöropatik ağrılı durumlarda periferik sinir hasarlanmalarına yanıt olarak spinal kord kaynaklı İL-6 düzeylerinde artış görülmektedir. Bizim kullanmış olduğumuz nöropati modeli olan parsiyel siyatik sinir ligasyonu yapılan hücrelerden iki hafta sonrasında bile İL-6 salınımının devam ettiği bildirilmektedir. Mekanik allodini gelişimi ile İL-6 düzeylerinin korelasyonlu olduğuna işaret edilmektedir. Sonuçlarımızda gözlemlediğimiz mekanik allodini gelişimi birebir İL-6 ile ilgili gibi görülmektedir. Ayrıca çalışmamızda kullanmış olduğumuz minosiklinin siyatik sinir hasarlanmalarındaki antihiperaljezik etkisinin bir kısmının İL-6 salınımının önlenmesi yoluyla gerçekleştirebildiği ileri sürülmektedir (90,121).

Yaygın olarak kabul gören yaklaşım spinal kord glia hücrelerinin aktivasyonu ile salınan proenflamatuar sitokinlerin ve diğer maddelerin ağrının taşınmasında etkin olduğudur. Mikrogliaların nöropatik ağrınının başlangıç fazında görev aldığı bildirilmektedir. Bu yüzden

verilecek tedavinin preemptif tedavi ile desteklenmesinin önemi ortaya çıkmaktadır. Preemptif destekli tedavilerin tek başına olan uygulamalara oranla daha fazla etkili olduğu çeşitli çalışmalarla desteklenmektedir. Biz de çalışmamızda minosiklini preemptif destekli olarak uyguladık ve sonuçlarımız ileri sürülen preemptif destekli tedavilerin gerçekten de daha etkili oluğunu doğrulayıcı niteliktedir (88,89).

Mika ve ark. (122)'nın minosiklin ve pentoksifilin ile yapmış oldukları çalışmalarında, sıçanlarda ve farelerde kronik konstiktif ligasyon modeli oluşturmuşlar, minosiklini preemptif, tekrarlayan dozlarda i.p olarak verdiklerinde, mikrogilaları güçlü biçimde inhibe ettiğini bulmuşlar, allodini ve hiperaljezi üzerinde de önemli ölçüde azalma sağladığını bildirmişlerdir. Aynı çalışmalarında morfini minosiklin ile birlikte vermişler, allodini ve hiperaljezi üzerine önleyici etkilerinin olduğunu saptamışlardır. Bizim yapmış olduğumuz çalışmamızda da, minosiklinin antiallodinik ve antihiperaljezik etkinliği olduğunu gösterdik, ancak farklı olarak minosiklinin morfinin analjezik etkinliğini değiştirmediğini saptadık. Raghavendra ve ark. (88)'nın çalışmalarında sıçanlardaki L_5 sinir transeksiyonu modelinde i.t. yoldan verilen minosiklinin gelişen hipersensitiviteyi ve mikroglial aktiviteyi azalttığı, ancak bizim bulgularımızdan farklı olarak allodini ve hiperaljezi üzerine herhangi bir etki sağlamadığı belirtilmektedir. Bizim uygulama yolumuz i.p. yoldu, farklı uygulama yollarının farklı etkiler göstermesininin açıklanması adına önemli bir sonuç olarak değerlendirilebilir (88). Raghavendra ve ark. (123)'nın yapmış olduğu bir diğer çalışmada ise minosiklinin preemptif olarak i.p. 10, 20 ve 40 mg/kg/gün'lük tekrarlayan dozlarıyla verilmesi sonucunda, periferik sinir hasarına bağlı olarak gelişen taktil allodini ve mekanik hiperaljeziyi azalttığı gösterilmiş ve minosiklinin antiallodinik ve antihiperaljezik özelliğinin santral immün proenflamatuar yanıtları baskılayabilme yeteneğinden ileri geldiği bildirilmiştir. Gelişmiş olan allodini ve hiperaljezi üzerine ise aynı etkiyi saptamamışlardır; bu çalışmanın bizim sonuçlarımızla kısmen uyumlu olduğu görülmektedir.

Minosiklinin değişik mekanizmalarla etkinliğine ilişkin bir diğer yaklaşım, P-38 (MAPK) ile ilgilidir. Minosiklinin analjezik etkisinin, mikroglial aktivasyonun inhibisyonunun, mitojen aktive edici kinazın inhibisyonu yoluyla olduğu bildirilmekte ve minosiklinin bizim sonuçlarımızda elde ettiğimiz analjezik etkisiyle ilgili olarak: a) İL-1β, TNF-α, İL-1β converting enzim, TNF-α-converting enzim gibi sitokinlerin açığa çıkmasında azalma, b) serebrospinal sıvıda İL-1β, TNF-α protein düzeylerinde azalma, c) serumdaki İL-6 protein düzeylerinde azalma yaptığı ileri sürülmektedir (89). Bu etkiler minosiklinin çalışmamızda göstermiş olduğumuz analjezik etkinliğinin nedenini açıklayıcı niteliktedir. Bu

hipotezler minosiklinin antiallodinik ve antihiperaljezik etkilerinde mikrogliaların üzerinde odaklanmaktadır (112).

Mikroglial Toll-like reseptörleri (TLR4)'nin de nöropatik ağrıda önemli rolü olduğu ileri sürülmektedir. Fare ve sıçanlarda yapılan çalışmalarda, L_5 sinir transeksiyon modelinde minosiklinin preemptif uygulanması sonucunda, TLR4 düzeylerinde, proenflamatuar sitokinlerde, davranışsal hipersensitivitede azalma bulunmuştur, minosiklin bu etkisini mikroglial aktivasyonu inhibe ederek ve mikroglial Toll-like reseptörleri (TLR4) ile etkileşerek gerçekleştirmektedir. Bu çalışma nöropatik ağrının etyolojisi, SSS'deki immünitede TLR4 reseptörlerinin rolü ve bizim çalışmamızda kullanmış olduğumuz minosiklinin mikroglial aktivasyonu inhibe edebilme özelliği ile ilgili olarak, oldukça katkı sağlayan bir çalışma olarak düşünülebilir (124).

Fraktalkin ile de nöropatik ağrı geliştirmek mümkündür. Sıçanlara i.t fraktalkin uygulandığı zaman nöropatik ağrının davranışsal belirtilerinden olan allodini ve hiperaljezi gelişmekte, fraktalkin nötralizan antikorlar (CX3CR1) ile gelişen allodini ve hiperaljezi azaltılmakta veya gerilemektedir. Fraktalkin bu etkilerini mikrogliaları aktive ederek gerçekleştirmektedir. Minosiklin mikroglial aktivasyonun inhibisyonu etkisi ile fraktalkin kaynaklı nöropatik hasar sonrası 1. günde etkili gibi görülmekte, bu etkisinin 1 haftada azaldığı belirtilmektedir. Fraktalkin kullanılarak yapılan spinal sinir ligasyon modelinde de minosiklin akut dönemde etkili görülmekte ancak kronik dönemde etkisi bulunmadığı belirtilmektedir, nöroprotektif özelliği için ise hem akut hem de kronik dönemde etkili bulunmuştur. SNL modelindeki antiallodinik etkisinin 10 gün boyunca sürdüğü belirtilmektedir. Aynı modelde minosiklin uygulanmasını takiben 30 dk. sonra mikroglial aktivasyon inhibe olmakta, 3. saatte antiallodinik etki saptanmaktadır (125,126).

Periferik sinir hasarlanması sonrasında formalin ile oluşturulmuş siyatik sinir enflamasyon modeli, spinal sinir ligasyon modeli, parsiyel sinir ligasyon modeli gibi farklı modellerde minosiklin mikroglial aktivasyonu farklı yollardan farklı mekanizmalarla inhibe etmektedir. Mikrogliaların nöropatik ağrı olgularında başlangıç fazında görev aldığı ileri sürülmektedir (88). L_5 spinal sinir transeksiyon modelinde minosiklinin preemptif uygulanmasıyla, allodini ve hiperaljezide gerileme saptanmıştır; bu etki başlangıç fazındaki mikroglial inhibisyon ile açıklanmaktadır. Ancak 5. günde antiallodinik ve antihiperaljezik etkisinde azalma saptanmıştır. Çalışmamızda minosiklini 5. günden itibaren uyguladığımızda 5, 15, 45 mg'lık dozlarda 6. gün hariç allodini üzerinde etkili olarak bulduk, ancak hiperajeziyi 45 mg'lık dozda 8. ve 10. günde önleyebildiğini bulduk. Aynı modelde i.t.

NMDA ile oluşturulan akut ağrılı durumları ve hiperaljeziyi de ertelediği gösterilmiştir (77,89).

Spinal kord hasarlanmaları sonrasında gelişen allodini ve hiperaljezide de geçici gerileme oluşturmaktadır, bu durumda minosiklinin etkisizliğinin ilaç öncesinde var olan ağrı düzeylerinde kendiliğinden azalma ile olabileceği şeklinde açıklanmaktadır. Periferik sinir hasarlanmaları sonrası gelişen kronik ağrıda mikrogliaların yerini zamanla astrositler almakta ve bu veriler minosiklinin periferik ağrılı durumlar üzerindeki etkisizliğine açıklama kazandırmaktadır. Biz açıklanan mekanizmalara rağmen minosiklini parsiyel siyatik sinir ligasyon modelinde hem allodiniyi hem de hiperaljeziyi önleyici olarak bulduk (127).

Nöropatik ağrı tedavisinde morfinin analjezik etkinliğinin genel olarak düşük olduğunun kabul edilmesinin yanısıra, morfin ile ilgili bir diğer problem de analjezik etkisine tolerans gelişmesidir. Nöropatik ağrı durumlarında morfine karşı gelişen toleransa ilişkin olarak farklı sonuçlar elde edilmiştir. Bazı araştırıcılar nöropatinin morfinin analjezik etkisine tolerans gelişmesini kolaylaştırdığını (107,128-130), bazı araştırıcılar ise tam tersine geciktirdiğini belirtmişlerdir (129,130). Raghavendra ve ark. (131) morfinin hem allodini hem de hiperaljezi üzerine etkilerine tolerans geliştiğini göstermiş, buna karşın Christensen ve Kayser (138) antihiperaljezik etkisine tolerans gelişmediğini belirtmiştir. Biz ise her iki araştırmacı grubundan farklı olarak, morfinin allodini üzerine etkisinde değişiklik olmadığını, hiperaljezi üzerine etkisine ise tolerans geliştiğini gözlemledik. Bu farklılıkların nedeni olarak, kullanılan deneysel modellerin farklılığı, ölçüm yöntemlerindeki çeşitlilik, ilaç uygulama yöntemlerindeki farklılıklar gösterilebilir; ayrıca bizim diğer araştırıcılardan farklı olarak fare kullanmamız da bu farklı sonuçların çıkmasında bir neden olabilir. Konuya ilişkin yapılan çalışma sayısı çok azdır, yeni araştırmaların yapılmasıyla morfinin allodini ve hiperaljezi üzerine etkinliğine karşı gelişen toleransa ilişkin bilgiler netleşecektir.

Morfine tolerans gelişmesinde glia hücrelerinin aktivasyonunun önemi son zamanlarda belirtilmiştir (14,132). Minosiklin ise glial aktivasyonu inhibe etmekte ve nöropatik ağrı üzerine etkinliği bu çalışmada da olduğu gibi son senelerde denenmektedir. Bu bulgular birlikte değerlendirildiğinde minosiklinin morfinin analjezik etkisine karşı gelişen toleransı engellemesi beklenebilir. Benzer bir yaklaşımla, proinflamatuar sitokinlerin spinal inhibisyonunun nöropatik ağrılı durumlarda morfine karşı gelişen toleransı önlediği gösterilmiş (132), ancak morfin ile minosiklinin etkileşimi ilk defa tarafımızdan araştırılmıştır. Bulgularımız minosiklinin morfin ile birlikte kullanıldığında etkilerinde herhangi bir değişiklik olmadığını, ayrıca morfine karşı gelişen toleransı da beklenenin aksine engellemediğini göstermektedir. Ancak, araştırmamızın morfin-minosiklin etkileşimine ilişkin

ilk çalışma olduğu göz önüne alındığında, söz konusu etkileşimin farklı yönleriyle ve daha detaylı şekilde yapılacak çalışmalarla araştırılması, (ör. minosiklin ve morfin dozlarının artırılması, farklı tür deneklerin, farklı deneysel modellerin ve farklı ilaç uygulama yollarının kullanılması gibi) konuyla ilgili yeni gelişmeler sağlayabilecektir.

Morfin santral sinir sisteminde spinal ve supraspinal düzeyde analjezik etkisiyle nöropatik ağrıya karşı gerektiğinde kullanılan önemli bir ilaçtır. (23). Akut ve kronik ağrının çeşitli formlarında, gerek preklinik gerekse klinik kullanımda yeni ilaçlarla alternatif tedavi seçenekleri araştırılıyor olsa da güncelliğini korumaktadır. Etkilerine bir süre sonra tolerans gelişmesi, doz artırma gereksinimi ve artan dozlara bağlı olarak yan etki insidansında artış olmasına rağmen nöropatik ağrıda kullanımı ile ilgili çalışmalar devam etmektedir (14). Morfin'in nöropatik ağrıdaki etkisine tolerans gelişmesinin mekanizması tamamıyla anlaşılamamıştır. İleri sürülen pek çok mekanizma bulunmakla birlikte, bunlardan ilgi çekenlerinden birisine göre sinir hasarlanmasını takiben primer afferent nöronlarda dejenerasyon gelişmekte, sonrasında presinaptik opioid reseptörlerde azalma görülmekte, böylece morfinin analjezik etkisine tolerans geliştiği iddia edilmektedir (133).

Bu mekanizmalara ek olarak adrenerjik ve kolinerjik sistem nörotransmiyonları arasındaki ilişkiler, opioid sistem-opioid reseptör ilişkisi, opioid kaynaklı adenil siklaz aktivasyonundaki inhibisyonun desensitizasyonu irdelenmiştir. İki tür opioid toleranstan söz edilmekte olup, akut ve kronik morfin toleransı olarak sınıflama yapılmaktadır. Gelişen toleransın uygulama yolu ile ilgili olabileceği düşünülmektedir. Farelerdeki akut toleransın i.c.v. uygulamadan 2 saat sonra geliştiği bildirilmektedir (134). Kronik tolerans için uygulanma sıklığının ve uygulanma süresinin daha fazla olması gerekliliği ileri sürülmektedir. Morfinin spinal etkisi ile ilgili intratekal ve epidural yolla uygulanmasının sistemik uygulamadaki dezavantajları göz önüne alındığında daha efektif olduğu ileri sürülmektedir (135).

Morfinin nöropatik ağrı semptomlarından birisi olan allodini üzerine etkileri s.c., i.t., ve i.c.v. gibi üç farklı yoldan uygulanarak, etki düzeyleri incelenmiş, farklı sonuçlar elde edilmiştir. subsedatif dozda sistemik yolla verildiği zaman allodini üzerinde etkisiz bulunmuş, i.c.v. yolla uygulandığında ise sadece allodininin vokalizasyon bileşeninde azalma saptanırken, i.t. yoldan uygulamayla sedasyon oluşturmadan doz bağımlı olarak allodinide azalma bulunmuştur, bu sonuçlar spinal kord hasarlı hastalarda santral ağrı tedavisinde morfinin spinal yoldan verildiğinde etkili olabileceğini işaret etmektedir, bizim çalışmamızla karşılaştırdığımızda ise, biz morfini sistemik yoldan uyguladık ve gerek allodini gerekse hiperaljezi üzerinde etkili olarak bulduk (136). Morfinin farklı yollardan uygulanması ile ilgili

olarak yapılan bir diğer çalışmada, morfinin antiallodinik ve antinosiseptif etkileri i.t ve i.c.v. yoldan uygulamalar ile karşılaştırılarak mekanik allodiniye benzer davranışlar üzerinde etkili bulunmuş, sistemik yoldan (i.p., s.c.) morfin verildiğinde ise allodini üzerine etkisiz olarak bulunmuştur (137). Benzer bir çalışmayı Perrot ve ark. (138) yapmışlar, sıçanlara morfini i.pl. olarak uygulamışlar, morfinin akut enflamasyondaki etkisini araştırmışlar, morfinin periferik etkisinden yola çıkarak akut enflamatuar ağrıdan çok tekrarlayan enflamatuar ağrılı durumlar üzerinde daha etkili olduğunu bulmuşlardır, bizim çalışmamızda ise morfini s.c sistemik yoldan vererek nöropatik ağrıdaki etkilerini araştırdık sonuç olarak benzer verilere ulaştık.

Morfinin etkilerinde kullanılan nöropati modeline göre de değişkenlikler görülebilmektedir. Nöropatinin davranışsal belirtilerinden olan allodini ve hiperaljezi üzerine etkileri de morfin-nöropati modeli ile yakından ilgilidir. Bizim çalışmamızda morfini kullanmış olduğumuz bir nöropati modeli olan siyatik sinir ligasyon modelinde allodini ve hiperaljezi üzerinde etkili olarak bulduk.

Morfinin etkinliğindeki farklılıklara ilişkin dikkat çeken bir diğer nokta da uyarının yapısı, yoğunluğu, kaynaklandığı farklı yolaklardır (135,139). Bu bağlamda, Formalin testi ile sıçanlarda yapılan çalışmalarda antinosisepsiyonda morfinin nitrik oksit-cGMP yolağı ile ilgisi araştırılmış, lokal olarak uygulanan morfin ve sonrasında gelişen antinosisepsiyonun bu yolağın aktivasyonu sonucu gelişebileceği görüşü ileri sürülmüştür (140) ve L-NAME'in morfin kaynaklı antinosisepsiyonu potansiyalize ettiği bildirilmiştir (135,139). Santral sinir sistemi glia hücreleri, kronik nöropatik ağrıda opioidlerin etkilerinde azalma ve hipersensitivite ile ilgili olarak proenflamatuar sitokinler yoluyla önemli ölçüde katkı sağlamaktadır (131). Mikroglia ve astrositler ile mü opioid reseptörleri arasında bağ kurularak kronik morfin uygulamasında görülen spinal glial aktivasyonun uzun süreli uygulamalardaki kompansasyon mekanizmaları ile geliştiği ileri sürülmektedir (88).

Biz de çalışmamızda morfin ile ilgili olarak tolerans gelişimi gözlemledik. Bu toleransın glia hücre kaynaklı olabileceği öngörüsünden yola çıkarak glia hücreleri ile yakından ilgili olan minosiklin ile kombine ederek araştırdığımız morfin-minosiklin etkileşim mekanizmalarında anahtar rol oynayan faktörün glia hücreleri ve sitokinlerin olabileceğini söyleyebiliriz

Terapötik olarak sitokin antagonistleri, İL-1 reseptör antagonisti, anti TNF ve anti İL-6 verilmesiyle morfin analjezisinde restorasyon, morfin toleransı gelişiminde inhibisyon gelişebileceği ileri sürülmektedir (14). İL-1 ağrı oluşumunu kolaylaştıran ve anti-analjezik etkiye sahip proenflamatuar bir sitokindir. Farelerde İL-1'nin morfin analjezisini ortadan kaldırdığı bildirilmiş, morfine karşı tolerans gelişiminde de İL-1'in rolünün olabileceği

düşünülmektedir (140). Rodentler üzerinde yapılan bir çalışmada da, İL-1β, İL-6, TNF-α santral ve periferik yollarda verilmiş, uygulamayı takiben, bu üç sitokinin allodini, hiperaljezi gelişiminde/sürdürülmesinde önemli rol oynadığı belirtilmiştir. (15). Ayrıca, İL-1β'nın eksojen olarak verilmesiyle morfin analjezisinde azalma görülmüş, selektif İL-1β ve kollektif proenflamatuar sitokin inhibitörleri ile morfin toleransı, morfin yoksunluğu, hiperaljezide azalma saptanmıştır. İL-6-morfin etkileşimi henüz yeterince net anlaşılamamıştır. İL-6 knock out farelerde erken morfin toleransı ve morfin analjezisinde azalmaya neden olmaktadır. Wild tip farelerle karşılaştırmalı çalışmalarda, knock out farelerde İL-6'nın beynin farklı bölgelerinde ki mü-opioid reseptörlerinde azalma, beta-endorfin düzeylerinde artmaya neden olduğuna işaret edilmiştir (141).

Kontinen ve ark. (142) sıçanlarda yapmış oldukları çalışmalarında, bir nöropatik ağrı modeli olan spinal sinir ligasyon modelini kullanmışlar, bu model ile mekanik ve soğuk allodini gelişimini saptamışlardır. Nöropatik ağrının davranışsal belirtilerinden olan bu semptomlar için s.c. morfini, ligasyon öncesinde ve ligasyon sonrasında tekrarlayan dozlarda uygulamışlar, hem premedikasyonda hem de yüksek dozda sistemik morfin uygulanmasının postoperatif ağrıyı azaltmada etkisiz olduğunu göstermişlerdir. Bu durum morfinin postoperatif nöropatik ağrıyı önleyici etkisi ile ilgili olarak bizim sonuçlarımızla benzerlik göstermemektedir.

Nöropati kaynaklı hiperaljezi gelişimi, morfin toleransının hızlanmasının ve analjezik etkisinde azalmanın, primer afferent liflerde duyarlılık sonucu nedeniyle geliştiği bildirilmektedir. Morfin toleransı ve hiperaljezi ile ilgili olarak başka bir mekanizmada ise NMDA reseptörleri ve NO sorumlu tutulmaktadır (14,143), ancak etki mekanizması net olarak açıklanamamıştır. Olası mekanizmalar arasında, protein kinaz C, kalsiyum, gen expresyonları ve opioid reseptörlerinde azalmanın rolleri üzerinde durulmaktadır (144).

Kronik morfin uygulanması ve glial aktivasyon sonucunda GLAST ve GLT-1 gibi glial glutamat taşıyıcılarında downregülasyonda artış saptanmaktadır (144). Nöropati ve morfin toleransı gelişiminin, lumbal spinal kordda glial taşıyıcılarda azalma ve glial aktivasyonun benzer moleküler ve hücresel mekanizmalarla gelişme olasılığı ileri sürülmektedir. Bu çalışmayı üzerinde çalıştığımız nöropati ve morfin toleransını hücresel ve moleküler olarak kısmen de olsa açıklama olasılığı olan bir mekanizma olarak düşünebiliriz.

Morfinin analjezik etkisinin azalması, morfin toleransı ile ilgili olarak HIV virüsünün kapsül glikoproteini gp120 ile yapılmış çalışmada gp120 i.t yolla uygulanmış, güçlü bir mikroglial aktivasyon sağlandığı ve morfinin analjezik etkisinde belirgin biçimde azalma

görüldüğü bildirilmiştir, her ne kadar farklı bir nöropati modeli olsa da çalışmamızda kullanmış olduğumuz hem morfini hem de minosiklini etki-sonuç bağlamında yakından ilgilendiren bu çalışmada da mikroglialar önemli rol oynamaktadır ve sonuçlarımızı değerlendirmemizde katkı sağlamaktadır (145).

Kronik morfin uygulanmasında ve sinir hasarlanmaları sonrasında morfin toleransı ile ilgili dikkat çeken diğer bir mekanizma da dinorfin ile ilgilidir. İ.t. yoldan verilen dinorfinin spinal kord üzerinde eksite edici, depresif ve nörotoksik etkileri bulunmaktadır. Dinorfin düzeyi kronik morfin uygulanması sonrasında ve sinir hasarlanmalarını takiben artmış olarak bulunmaktadır. Dinorfin aktivitesinin nötralize edilmesinin morfinin spinal antinosisepsiyonunda düzelmeye, sinir hasarlanması sonrasında gelişen hiperaljezide azalmaya neden olmakta ve sıçanlardaki opioid toleransını önlediği bildirilmektedir. Sonuçlarımızda gördüğümüz kronik morfin uygulamamızı takiben gelişen morfin toleransı, hiperaljezi gelişimi kısmen dinorfin ile ilişkili olabilir (136,146,147).

Çalışmamızı nöropatik ağrı, sonrasında gelişen davranışsal belirtilerde etkin tedavi araştırmaları, bu tedavilerde her tedavide olduğu gibi istenmeyen etkiler, bu tedavileri elimizde bulunan etki mekanizmaları tamamen farklı ama sonuçları benzer ajanlarla kombine ederek alternatif tedavi seçenekleri olarak değerlendirdiğimizde vardığımız sonuç mikroglialar üzerinde odaklanmaktadır.

SONUÇLAR

Araştırmamızın sonuçları,

1-minosiklinin hem önceden hem de nöropati oluştuktan sonra uygulandığında nöropatik ağrının davranışsal belirtileri olan allodini ve hiperaljeziyi ortadan kaldırdığını,

2-morfinin analjezik etkisine karşı geliştiği bilinen toleransın antiallodinik etkisinde görülmediğini, sadece antihiperaljezik etkisine karşı ortaya çıktığını,

3-minosiklinin hem preemptif hem de terapötik uygulamalarının morfinin analjezik etkinliğini değiştirmediğini göstermektedir. Minosiklinin nöropatik ağrı üzerine etkinliğine ilişkin benzeri çalışmaların yapılması, tedavisinde az sayıda ilacın kullanılabildiği bu endikasyon için belki de yeni ve etkili bir ilacın bulunabilmesine yol açacaktır. Morfin ve minosiklin arasındaki etkileşimin tam olarak açıklanabilmesi ve bunun sonucunda morfine karşı gelişen analjezik toleransın engellenebilmesi için ise daha kapsamlı araştırmalara gereksinim vardır.

ÖZET

Bu çalışma siyatik siniri parsiyel olarak sıkıca bağlanmış nöropatik farelerde gelişen mekanik allodini ve termal hiperaljezi üzerine minosiklinin etkinliğini saptamak ve bu etki üzerine minosiklin ile morfinin etkileşimini belirlemek için yapılmıştır. Siyatik sinirin arka kısmının 1/3 ila 1/2' si sıkıca bağlanarak gerçekleştirilen parsiyel sinir ligasyonundan sonra, davranışsal belirtiler farelerin arka pençelerinin plantar yüzeylerinden test edildi. Sinir zedelenmesine bağlı olarak ortaya çıkan mekanik allodini ölçümleri Dynamic Plantar Aesthesiometer kullanılarak, termal hiperaljezi ise bir plantar analjezi metre aracılığı ile fare pençesinde ölçüldü. Nöropatik farelerde cerrahi girişimi takiben 1. günden başlayarak belirgin allodini ve hiperaljezi gelişimi gözlendi. Minosiklinin (5, 15, 45 mg/kg, i.p.) hem preemptif hem de terapötik uygulaması mekanik allodini ve termal hiperaljezi oluşumunu engelledi. 5 gün süreyle günde iki kez morfin (10 mg/kg, s.c.) uygulandığında, morfinin analjezik etkisine karşı geliştiği bilinen toleransın antiallodinik etkisinde görülmediği, sadece antihiperaljezik etkisine karşı ortaya çıktığı belirlendi. Minosiklinin hem preemptif hem de terapötik uygulamalarının ise morfinin antiallodinik ve antihiperaljezik etkinliğini değiştirmediği gözlendi. Bu sonuçlar minosiklinin gelecekteki nöropatik ağrı tedavisi için ümit veren bir ilaç olduğunu göstermektedir, ancak morfin ve minosiklin arasındaki etkileşimin tam olarak açıklanabilmesi ve bunun sonucunda morfine karşı gelişen analjezik toleransın engellenebilmesi için daha kapsamlı araştırmalara gereksinim vardır.

Anahtar sözcükler: mikroglia; hiperaljezi; minosiklin; morfin; nöropatik ağrı

THE EFFECT OF MINOCYCLINE ALONE AND IN COMBINATION WITH MORPHINE ON MECHANICAL ALLODYNIA AND THERMAL HYPERALGESIA IN NEUROPATHIC PAIN

SUMMARY

The present study was undertaken to determine the effects of minocycline on mechanical allodynia and thermal hyperalgesia in mice with partial tight ligation of the sciatic nerve, and how minocycline interacts with morphine in this condition. Mice was tested for behavioral effects on the plantar surface of the hind paw after the surgery, in which a partial nerve ligation of the sciatic nerve was made by tightly tying 1/3 to 1/2 of the dorsal portion of the sciatic nerve. A plantar analgesic meter was used to assess thermal hyperalgesia, and nerve injury-induced mechanical hyperalgesia was assessed with Dynamic Plantar Aesthesiometer. Beginning from the 1st day following the surgery, marked allodynia and hyperalgesia developed in neuropathic mice. Both preemptive and therapeutic treatments with minocycline (5, 15, 45 mg/kg, i.p.) blocked mechanical allodynia and thermal hyperalgesia. An analgesic tolerance against antihyperalgesic, but not antiallodynic, effect was observed with twice daily injections of morphine (10 mg/kg, s.c.) for 5 days. Neither preemptive nor therapeutic treatments of minocycline changed the efficacy of morphine on allodynia and hyperalgesia. These results suggest that minocycline may have clinical utility in neuropathic pain therapy in the future; however, further experiments are required to delineate the

interaction between morphine and minocycline and to prevent the development of tolerance to the antinociceptive effects of morphine.

Key words: microglia; hyperalgesia; minocycline; morphine; neuropathic pain

KAYNAKLAR

1. MacFarlene BV, Wright A, O'Callaghan J, Benson HAE. Chronic neuropathic pain and its control by drugs. Pharmacol Ther 1997;75:1-19.
2. Watson CP. The treatment of neuropathic pain: antidepressants and opioids. Clin J Pain 2000;16:49-55.
3. Woolf CJ, Mannion RJ. Neuropathic pain: aetiology, symptoms, mechanisms, and managemen. Lancet 1999;353:1959-64.
4. Benedetti F, Vighetti S, Amanzio M, Casadio C, Oliaro A, Bergamasco B, Maggi G. Dose-response relationship of opioids in nociceptive and neuropathic postoperative pain. Pain 1998;74:205-11.
5. Bennett GJ, Xie YK. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. Pain 1988;33:87-107.
6. Seltzer Z, Dubner R, Shir Y. A novel behavioral model of neuropathic pain disorders produced in rats by partial sciatic nerve injury. Pain 1990;43:205-18.
7. Kim SH, Chung JM. An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat. Pain 1992;50:355-63.
8. Decosterd I, Woolf CJ Spared nevre injury: an animal model of persistent peripheral neuropathic pain. Pain 2000;87:149-58.
9. Sommer C, Schafers M Painful mononeuropathy in C57BL/Wld mice with delayed Wallerian degeneration: differential effects of cytokine production and nerve regeneration on thermal and mechanical hypersensitivity. Brain Res 1998;784:154-62.
10. Malmberg AB, Basbaum AI. Partial sciatic nevre injury in the mouse as a model of neuropathic pain: behavioral and neuroanatomical correlates. Pain 1998;76:215-22.
11. Mogil JW, Wilson SG, Bon K, Lee SE, Chung K, Raber P, et al. Heritability of nociception. I. Responses of 11 inbred mouse strains on 12 measures of nociception. Pain 1999;80:8067-82.
12. Shields SD, Eckert WA, Basbaum AI. Spared nevre injury model of neuropathic pain in the mouse. A behavioral and anatomic analysis. J Pain 2003;8:465-70.
13. Petrenko AB, Yamakura T, Baba H, Sakimura K. Unaltered pain-related behavior in mice lacking NMDA receptor GluR epsilon1 subunit. Neurosci Res 2003;46:199-204.

14. DeLeo JA, Tanga FY, Tawfik VL. Neuroimmune activation and neuroinflammation in chronic pain and opioid tolerance/hyperalgesia. Neuroscientist 2004;10:40-52.

15. Watkins LR, Milligan ED, Maier SF. Spinal cord glia: new players in pain. Pain 2001a;93:201-5.

16. Watkins LR, Milligan ED, Maier SF. Glial activation: a driving force for pathological pain. Trends Neurosci 2001b;24:450-5.

17. Coyle DE. Partial peripheral nerve injury leads to activation of astroglia and microglia which parallels the development of allodynic behavior. Glia 1998;23:75-83.

18. Colburn RW, Rickman AJ, DeLeo JA. The effect of site and type of nerve injury on spinal glial activation and neuropathic pain behavior. Exp Neurol 1999;157:289-304.

19. Meller ST, Dykstra C, Grzybycki D, Murphy S, Gebhart GF. The possible role of glia in nociceptive processing and hyperalgesia in the spinal cord of the rat. Neuropharmacology 1994; 33:1471-8.

20. Sweitzer SM, Schubert P, DeLeo JA. Propentofylline, a glial modulating agent, exhibits antiallodynic properties in a rat model of neuropathic pain. J Pharmacol Exp Ther 2001;297:1210-7.

21. Ledeboer A, Sloane EM, Milligan ED, Frank MG, Mahony JH, Maier SF, et al. Minocycline attenuates mechanical allodynia and proinflammatory cytokine expression in rat models of pain facilitation. Pain 2005;115:71-83.

22. Raj PP. Ağrı Taksonomisi. Erdine S (Editör) Ağrı, İzmir: Nobel Tıp Kitabevleri; 2000. s.12-3.

23. Dökmeci İ, Dökmeci AH. Opioidler ve diğer narkotik analjezikler, Zehirlenme belirtileri ve mekanizmaları. Dökmeci İ, Dökmeci AH (Editörler). Toksikoloji, Zehirlenmelerde tanı ve tedavi, İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi, 2005.s.252-3.

24. Kutsal YG, Varlı K, Çeliker R, Özer S, Orer H, Aypar Ü ve ark. Ağrıya multidisipliner yaklaşım. Hacettepe Tıp Dergisi 2005;36:111-28.

25. Türkoğlu M. Ağrının tanımlaması ve ölçümü, Yegül İ (Editör), Ağrı ve Tedavisi, İzmir: Deva Holding 1993.s.19-20.

26. Aydın ON. Ağrı ve ağrı mekanizmalarına güncel bakış. Adnan Menderes Üniv Tıp Fak Derg 2002;3(2):37-48.

27. Ertekin C. Ağrının nöroanatomi ve nörofizyolojisi. Yegül İ (Editör), Ağrı ve Tedavisi, İzmir: Deva Holding 1993.s.1-2.

28. Guyton AC, Hall JE. (Çeviri: H. Çavuşoğlu). Somatik duyular: II. Ağrı, başağrısı ve termal duyular, Tıbbi Fizyoloji, 10. Basım, Philadelphia: Nobel Tıp Kitabevleri, 2001;552-3.

29. Işık G. Ağrı Fizyolojisi. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji Ana Bilim Dalı, 2006, http://lokman.cu.edu.tr/anestezi/anestezinot/agri.htm.

30. Erdine S. Ağrı Mekanizmaları. Erdine S (Editör), Ağrı.İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 2000.s.19-27.

31. Luo ZD, Chaplan SR, Scott BP, Cizkova D, Calcutt NA, Yaksin TL. Neuronal nitric oxide synthase mRNA upregulation in rat sensory neurons after spinal nerve ligation: Lack of a role in allodynia development. J Neurosc 1999;19:9201-8.

32. Tedesco LS, Fusuler J, Grisham M, Wolf R, Roerig SC. Therapeutic administration of nitric oxide synthase inhibitors reverses hyperalgesia but not inflammation in a rat model of polyarthritis. Pain 2002;95:215-23.

33. Lee DH, Singh JP, Lodge D. Experiments with nitric oxide synthase inhibitors in spinal nerve ligated rats provide no evidence of a role for nitric oxide in neuropathic mechanical allodynia. Neuroscience 2005;385:179-83.

34. Önal A. Ağrı, Algoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2004:1-3.

35. Erdine S. Nöropatik ağrı. Erdine S (Editör). Ağrı sendromları ve tedavisi'nde. İstanbul: Sanovel İlaç San. 2003;207-8.

36. Zimmermann M. Pathobiology of neuropathic pain. Eur J Pharmacol 2001;429:23-37.

37. Berker E. Nöropatik Ağrı ve Fizyopatolojik Mekanizmalar. Türk Fiz Tıp Rehab Derg 2005;51 (Özel Ek A): A1-A5.

38. Edward MG, Mikhail MS (Çeviri: N.Lüleci) Ağrı Tedavisi. Klinik Anesteziyoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2002.s.274-86.

39. Gordon DB, Love G. Pharmacologic management of neuropathic pain. Pain Management Nursing 2004;5:19-33.

40. Martin TJ, Eisenach JC. Pharmacology of opioid and nonopioid analgesic in chronic pain states. JPET 2001;299:811-17.

41. Zimmermann M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. Pain 1983;16:109-10.

42. Erichsen HK, Munro GB. Pharmacological characterisation of spared nerve injury model of neuropathic pain. Pain 2002;98:151-61.

43. Chen SR, Pan HK. Hypersensitivity of spinothalamic tract neurons associated with diabetic neuropathic pain in rats. J Neurophsiol 2002;87:2726-33.

44. Kartal F, Özyalçın NS. Hayvanlarda akut ve kronik ağrı modellerinin değerlendirilmesi. Önal A (Editör). Algoloji. Ankara: Medipres, 2004;s.299-315.

45. Kayaalp SO. Opioid analjezikler; Rasyonel Tedavi yönünden Tıbbi Farmakoloji, 11. Basım, Ankara, Hacettepe-Taş Kitapçılık, 2005:796-7.

46. Dökmeci İ. Opiyoid analjezikler, Farmakoloji, ilaçlar ve etkileri. İstanbul: Alfa Yayınları, 2007.s.559-71.

47. Süzer Ö. Opioid analjezikler ve antagonistleri, Süzer Farmakoloji. Ankara: Klinisyen Tıp Kitapevleri, 2005.s.245-6.

48. Prezewlocki R, Prezewlocka B. Opioids in chronic pain. Eur J Pharmacol 2001;429:79-91.

49. Schumacher MA, Walter WL. Opioid analgesics and antagonists. In: Katzung BG (Ed). Basic and clinical pharmacology. 9th ed. San Francisco: Appleton and Lange; 2004.p.497-508.

50. Kayaalp SO. Santral sinir sistemi farmakolojisinin temelleri, Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji. 11. Basım, Ankara: Hacettepe-Taş Kitapçılık, 2005;652-4.

51. Mika J, Schafer MKH, Obara I, Weihe E, Przewlocka B. Morphine and endomorphine-1 differently influence pronociceptin//orphanin FQ system in neuropathic rats. Pharmacol Biochem Behav 2004;78:171-8.

52. Chambers HF. Antimicrobial Agent. In:Gilman AG (Ed.). Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis Of Therapeutics. 10th ed. Dallas: Mc Graw-Hill Co; 2001.p.1143-241.

53. Süzer Ö. Protein sentezine etki eden antibiyotikler, Süzer Farmakoloji. Ankara: Klinisyen Tıp Kitapevleri, 2005:s.363-5.

54. Chambers HF. Chloramphenicol, tetracyclines, macrolides, clindamycin and streptogramins. In: Katzung BG (Ed.). Basic and clinical pharmacology. 9th ed. San Francisco: Appleton and Lange, p.754-6.

55. Dökmeci İ. Antibakteriyal İlaçlar, Farmakoloji, İlaçlar ve etkileri. İstanbul: Alfa Yayınları, 2007:1020-82.

56. Kayaalp SO. Tetrasiklinler, Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji. 11. Basım, Ankara: Hacettepe-Taş Kitapçılık, 2005:209-13.

57. Mycek MJ, Harvey RA, Champe PC. Protein sentezi inhibitörleri. Lippincott Farmakoloji. İstanbul: Nobel Kitapevi, 1997;311-2.

58. Sum PE, Ross AT, Petersen PJ, Testa RT. Synthesis and antibacteriel activity of 9-substituted minocycline derivatives. P J Bioorg Med Chem Lett 2006;16:400-3.

59. Dökmeci İ. Bakteri protein sentezini inhibe eden antibiyotikler, Farmakoloji temel kavramlar. İstanbul: Nobel Kitabevi, 2000;857-91.

60. Zemke D, Majid A. The potential of minocycline for neuroprotection in human neurologic disease. Clin Neuropharmacol 2004;27:293-8.

61. Good MI, Hussey DL. Minocycline: stain devil? Br J Dermatol 2003;149:237-9.

62. Knowles SR, Shapiro L, Shear NH. Serious adverse reactions induced by minocycline. Arch Dermatol 1996;132:934.

63. Smith DL, Woodman BB, Mahal A, Sathasivam K, Noori SG, Lowden PA et al. Minocycline and doxycycline are not benefical in a model of Huntington's disease. Ann Neurol 2003;54:186-96.

64. Yrjanheikki J, Keinanen R, Pellikka M, Hökfelt T, Koistinaho J. Tetracyclines inhibit microglial activation and are neuroprotective in global brain ischemia. Neurobiology 1998;95:15769-74.

65. Chiu AM, Chuenkongkaew WL, Cornblath WT, Trobe JD, Digre KB, Dotan SA, et al. Minocycline treatment and pseudotumor cerebri syndrome. Am J Ophthalmol 1998;126:116-21.

66. Blum D, Chtarto A, Tenenbaum L, Brotchi J, Levivier M. Clinical potential of minocycline for neurodegenerative disorders. Neurobiol Dis 2004;17:359-66.

67. Chen M, Ona VO, Li M, Ferrante RJ, Fink KB, Zhu S, et al. Minocycline inhibits caspase-1 and caspase-3 expression and delays mortality in a transgenic mouse model of Huntington disease. Nat Med 2000;6:797-801.

68. Gerson DM, Robinson MJ. Black pigmentation of atherosclerotic plaques associated with chronic minocycline therapy. Cardiovasc Pathol 2005;15:168-70.

69. Ambrogio SS, Connelly J, DiMaio D. Minocycline pigmentation of heart valves. Cardiovasc Pathol 1999;8:329-32.

70. Benitz KF, Roberts GK, Yusa A. Morphologic effects of minocycline in laboratory animals. Toxicol Appl Pharmacol 1967;11:150-70.

71. Settgast AM, Groth T, Gertner E. Minocycline-induced central nervous system-pulmonary hypersensitivity syndrome. Int J Dermatol 2003;42: 316-7.

72. Teitelbaum JE, Atayde AR, Cohen M, Bousvaros A, Jonas MM. Minocycline –related autoimmune hepatitis. Arch Pediatr Adolesc Med 1998;152:1132-6.

73. Anderson LC, Rao RD. Interleukin-6 and nerve growth factor levels in peripheral nerve and brainstem after trigeminal nerve injury in the rat. Arch Oral Biol 2001;46:633-40.

74. Zanjani TM, Sabetkasaei M, Mosaffa N, Manaheji H, Labibi F, Farokhi B. Suppression of interleukin-6 by minocycline in rat model of neuropathic pain. Eur J Pharmacol 2006;538:66-72.

75. De Jongh RF, Vissers KC, Meert TF, Booji DJ, Deyne CS, Heylen RJ. The role of interleukin-6 in nociception and pain. Anesth Analg 2003;96:1096-103 .

76. Cho IH, Chung YM, Park CK, Park SH, Li HY, Kim D, et al. Systemic administration of minocycline inhibits formaline-induced inflammatory pain in rat. Brain Res 2006;1072:208-14.

77. Hua XY, Svensson CI, Matsui T, Fitzimmons B, Yaksh TL, Webb M. Intrathecal minocycline attenautes peripheral inflammation-induced hyperalgesia by inhibiting p38 MAPK in spinal microglia. Eur J Neurosci 2005;22:2431-40.

78. Szabo A, Helyes Z, Sandor K, Bite A, Pinter E, Nemeth J, et al. Role of transient receptor potential vanilloid 1 receptors in adjuvant-induced chronic arthritis: In vivo study using gene-deficient mice. J Pharmacol Exp Ther 2005;314:111-9.

79. Maarouf AE, Kolesnikov Y, Pasternak G, Rutishauser U. Polysialic acid-induced plasticity reduces neuropathic insult to the central nervous system. PNAS 2005;102:11516-20.

80. Hargreaves K, Dubner R, Broun F, Flores C, Joris J. A new and sensitive method for measuring thermal nociception in cutaneous hyperalgesia. Pain 1988;32:77-8.

81. Rachel LC, Moore PK. Effects of selective inhibitors of neuronal nitric oxide synthase on carrageenan-induced mechanical and thermal hyperalgesia. Neuropharmacology 1998;37:37-43.

82. Özyiğit F, Tamer M, Dökmeci D, Ulugöl A. Farelerde periferik nöropati için yeni bir deneysel model: Tibial sinir ligasyonu.Trakya Univ Tıp Fak Derg 2006;23:140-4.

83. Ulugol A, Dokmeci D, Guray G, Sapolyo N, Ozyigit F, Tamer M. Antihyperalgesic, but not antiallodynic, effect of melatonin in nerve-injured neuropathic mice: Possible involvements of the L-arginine-NO pathway and opioid system. Life Sci 2006;78:1592-7.

84. Sindrup SH, Jensen TS. Efficacy of pharmacological treatments of neuropathic pain : In update and effect related to mechanism of drug action. Pain 1999;83:389-400.

85. Jensen TS, Gottrup H, Sindrup SH, Bach FW. The clinical picture of neuropathic pain. Eur J Pharmacol 2001;429:1-11.

86. Serpell M. Pharmacological treatment of chronic pain, Anaesthesia And Intensive Care Medicine 2005;6:7-10.

87. Shan S, Hong C, Mei H, Ting LT, Li PH, Qi ZZ et al. New evidence for the involvement of spinal fractalkine receptor in pain facilitation and spinal glial activation in rat model of monoarthritis. Pain 2007;129:64-75.

88. Raghavendra V, Tanga F, Rutkowski MD, DeLeo JA. Anti-hyperalgesic and morphine-sparing actions of propentoxifylline following peripheral nerve injury in rats: Mechanistic implications of spinal glia and proinflammatory cytokines. Pain 2003;104:655-64.

89. Zhang JH, Huang YG. The immun system: A new look at pain. Chin Med J 2006; 119:930-8.

90. Minami M, Katayama T, Satoh M. Brain cytokines and chemokines: Roles in ischemic injury and pain. J Pharmacol Sci 2006;100:461-70.

91. Zanjani TM, Sabetkasaei M, Mosaffa N, Manaheji H, Labibi F, Farokhi B. Supression of interleukin-6 by minocycline in a rat model of neuropathic pain. Eur J Pharmacol 2006;538:66-72.

92. Nakajima K, Kohsaka S. Microglial activation and their signifinance in the central nervous system. J Bıochem 2001;130:169-75.

93. Inoue T, Mashimo T, Shibata M, Shibuta S, Yoshiya I. Rapid development of nitric oxide-induced hyperalgesia depends on an alternate to the cGMP-mediated pathway in the rat neuropathic pain model. Brain Res 1998;792:263-70.

94. Mogami YS, Koizumi S, Tsuda M, Ohsawa K, Kohsaka S, Inoue K. Mechanisms underlying extracellular ATP-evoked interleukin-6 release in mouse microglial cell line, MG-5. J Neurochem 2001;78:1339-49.

95. Domercq M, Matute C. Neuroprotection by tetracyclines. Trends Pharmacol Sci 2004;25:609-12.

96. Yrjanheikki J, Tikka T, Keinanen R, Goldsteins G, Chan PH, Koistinaho J. A tetracyline derivative, minocycline, reduces inflammation and protects against focal cerebral ischemia with a wide therapeutic window. PNAS 1999;96:13496-500.

97. Peeling J, Yan H, Buist R, Sitar DS, Corbett D. Protective effect of minocycline treatment on striatal ischemia. J Stroke Cerebrovas Dis 2006;15:101-5.

98. Song Y, Wei EQ, Zhang WP, Ge QF, Liu J, Wang ML et al. Minocycline protects PC12 cells against NMDA-induced injury via inhibiting 5-lipooxygenase activation. Brain Res 2006;1085:57-67.

99. Yong VW, Wells J, Giuliani F, Casha S, Power C, Metz LM. The promise of minocycline in neurology. Lancet Neurol 2004;3:744-51.

100. Stirling DP, Khodarahmi K, Liu L, Mc Phail LT, Mc Bride CB, Steeves JD, et al. Minocycline treatment reduce delayed oligodendrocyte death, attenuates axonal dieback, and improves functional outcome after spinal cord injury. J Neurosci 2004;4:2182-90.

101. Kremlev SG, Roberts RL, Palmer C. Differential expression of chemokines and chemokine receptors during microglial activation and inhibition. J Neuroimmunol 2004;149:1-9.

102. Shan S, Qi-Liang MY, Hong C, Tingting L, Mei H, Haili P, et al. Is functional state of spinal microglia involved in the anti-allodynic and anti-hyperalgesic effects of electroacupuncture in rat model of monoarthritis? Neurobiol Dis 2007;26:558-68.

103. Stone M, Fortin FR, Pacheco TC, Inman RD. Should tetracycline treatment be used more extensively for rheumatoid arthritis: Metaanalysis demonstrates clinical benefit with reduction in disease activity. J Rheumatol 2003;30:2112-22.

104. Frank JW, Maier SF, Watkins LR. Central proinflammatory cytokines and pain enhancement. Neurosignals 2005;14:166-74.

105. DiBernardo AB, Cudkowicz ME. The clinical potential of minocycline ALS. Us Neurological Dısease 2006.

106. Bernhardi RV, Ramirez G. Microglia astrocyte interaction in Alzheimer's disease: Friends or foes for the nervous system? Biol Res 2001;34:p.123-8.

107. Mao J, Price DD, Mayer DJ. Experimental mononeuropathy reduces the antinociceptive effects of morphine: Implications for common intracellular mechanisms involved in morphine tolerance and neuropathic pain. Pain 1995;61:353-64.

108. Stack EC, Smith KM, Ryu H, Cormier K, Chen M, Hagerty SW, et al. Combination therapy using minocycline and coenzym Q_{10} in R6/2 transgenic Huntington's disease mice. Biochim Biophys Acta 2006;1762:373-80.

109. Tikka T, Koistinaho JE. Minocycline provides neuroprotection against N-Methyl-D-aspartate neurotoxicity by inhibiting microglia. J Immunol 2001;166:7527-33.

110. Du Y, Ma Z, Lin S, Dodel RC, Gao F, Bales KR et al. Minocycline prevents nigrostriatal dopaminergic neurodegeneration in the MPTP model of Parkinson's disease. PNAS 2001;98:14669-74.

111. Wu DC, Lewis VJ, Vila M, Tieu K, Teismann P, Vadseth C et al. Blockade of microglial activation is neuroprotective in the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine mouse model of Parkinson disease. J Neurosci 2002;22:1763-71.

112. He Y, Apel S, Le W. Minocycline inhibits microglial activation and protects nigral cells after 6-hydroxydopamine injection into mouse striatum. Brain Res 2001;909:187-93.

113. Kyung KS, Gon JH, Geun KY, Sup JJ, Suk WJ, Ho KJ, et al. 6-Shogaol, a naturel product, reduces cell death and restores motor function in rat spinal cord ınjury. Eur J Neurosci 2006;24:1042-52.

114. Xu L, Fagan SC, Waller JL, Edwards D, Borlongan CV, Zheng J. Low dose intravenous minocycline is neuroprotective after middle cerebral artery occlusion-reperfusion in rats. BMC Neurol 2004;4:1-7.

115. Kraus RL, Pasieczny R, Willingham KL, Turner MS, Jiang A, Trauger JW. Antioxidant properties of minocycline: Neuroprotection in an oxidative stres assay and direct radical-scavenging activity. J Neurochem 2005;94:819-27.

116. Watkins LR, Steven FM. Beyond neurons: Evidence that immune and glial cells contribute to pathological pain states. Physiol Rev 2002;82:981-1011.

117. Aydınlı I, Keskinbora K. Ağrı patolojisinde yeni yaklaşım immün sistem-sensoryal sistem etkileşimi. Ağrı 2004;16:2.

118. Sommer C, Kress M. Recent finding on how proinflammatory cytokines cause pain: Peripheral mechanisms in inflammatory and neuropathic hyperalgesia. Neurosci Lett 2004;361:184-7.

119. Rutkowski MD, DeLeo J. The role of cytokines in the initiation and maintenance of chronic pain. Drug News Perspect 2002;15:626-32.

120. Watkins LR, Maier SF. The pain of being sick: Implications of immune-to-brain communication for understanding pain. Annu Rev Psychol 2000;51:29-57.

121. Watkins LR, Maier SF. Glia: A novel drug discovery target for clinical pain. Nat Rev Drug Discov 2003;2;973-85.

122. Mika J, Osikowicz M, Makuch W, Przewlocka B. Minocycline and pentoxifylline attenaute allodynia and hyperalgesia and potantiate the effects of morphine in rat and mouse models of neuropathic pain. Eur J Pharmacol 2007;560:142-9.

123. Raghavendra V, Tanga F, DeLeo J. Inhibition microglial activation attenuates the development but not existing hypersensitivity in a rat model of neuropathy. J Pharmacol Exp Ther 2003;306:624-30.

124. Tanga FY, McMenemy NN, DeLeo J. The CNS role of Toll-like receptor 4 in innate neuroimmunity and painful neuropaty. PNAS 2005;102:5856-61.

125. Owolabi SA, Saab CY. Fractalkine and minocycline alter neuronal activity in the spinal cord dorsal horn. FEBS 2006;580:4306-10.

126. Milligan E, Zapata V, Schoeniger D, Chacur M, Gren P, Poole S, et al. An initial investigation of spinal mechanisms underlying pain enhancement induced by fractalkine, a neuronally released chemokine. Eur J Neurosci 2005;22:2775-82.

127. Hains BC, Waxman SG. Activated microglia contribute to the maintenance of chronic pain after spinal cord injury. J Neurosci 2006;26:4308-17.

128. Christensen D, Kayser V. The development of pain-related behavior and opioid tolerance after neuropathy-inducing surgery and sham surgery. Pain 2000;88:231-8.

129. Bachonja MM, Miletic G, Miletic V. The effect of continuous morphine analgesia on chronic thermal hyperalgesia due to sciatic construction injury in rats. Neurosci Lett 1995;96:61-4.

130. Cathelini G, Kayser V, Guilbaud G. Further evidence for a peripheral component in the enhanced antinociceptive effect of systemic morphine in mononeuropathic rats: involvement of κ-, but not δ-opioid receptors. Eur J Pharmacol 1996;315:135-43.

131. Raghavendra V, Ruthowski MD, Deleo JA. The role of spinal neuroimmune activation in morphine tolerance/hyperalgesia in neuropathic and sham-operated rats. J Neurosci 2002;22:9980-9.

132. Song P, Zhao Z-Q. The involvement of glial cells in the development of morphine tolerance. Neurosci Lett 2001;39:281-6.

133. Przewlocki R, Przewlocka B. Opioids in neurropathic pain. Curr Pharm Des 2005;11:3013-25.

134. Xu JY, Hill KP, Bidlak JM. The nitric oxide/cyclic GMP system at the supraspinal site is involved in the development of acute morphine antinociceptive tolerance. JPET 1998;284:196-201.

135. Dickenson AH, Suzuki R. Opioids in neuropathic pain: Clues from animal studies. Eur J Pain 2005;9:113-6.

136. Hao JX, Yu W, Hallin ZW, Xu XJ. Treatment of chronic allodynia in spinally injured rats: Effects of intrathecal selective opioid receptor agonists. Pain 1998;75:209-17.

137. Yu W, Hao JX, Xu XJ, Hallin ZW. Comparison of the anti-allodynic and antinociceptive effects of systemic intrathecal and intracerebroventricular morphine in a rat model of central neuropathic pain. Eur J Pain 1997;1:17-29.

138. Perrot S, Guilbaud G, Kayser V. Effects of intraplantar morphine on paw edema and pain-related behaviour in a rat model of repeated acute inflammation. Pain 1999;83:249-57.

139. Soto VG, Rufino MO, Lopes LD, Ferreira SH. Evidence for the involvement of the nitric oxide-cGMP pathway in the antinociception of morphine in the formalin test. Eur J Pharmacol 1997;340:177-80.

140. Shavit Y, Wolf G, Goshen I, Livshits D, Yirmiya R. Interleukin-1 antagonizes morphine analgesia and underlies morphine tolerance. Pain 2005;115:50-9.

141. Bianchi M, Maggi R, Pimpinelli F, Rubino T, Parolaro D, Poli V, et al. Presence of a reduced opioid response in interleukin-6 knock out mice. Eur J Neurosci 1999;11:1501-7.

142. Kontinen VK, Paananen S, Kalso E. Systemic morphine in the prevention of allodynia in the rat spinal nerve ligation model of neuropathic pain. Eur J Pain 1998;2:35-42.

143. Soriano FX, Papadia S, Hofmann F, Hardingham NR, Bading H, Hardingham GE. Preconditioning doses of NMDA promote neuroprotection by enhancing neuronal excitability. J Neurosci 2006;26:4509-4518.

144. Bryant CD, Roberts KW, Byun JS, Fanselow MS, Evans CJ. Morphine analgesic tolerance in 129 P3/J and 129S6/Sv mice. Pharmacol Biochem Behavior 2006;4:769-79.

145. Johnston IN, Milligan ED, Frank JW, Frank MG, Zapata V, Campisi J, et al. A role for proinflammatory cytokines and fractalkine in analgesia, tolerance and subsequent pain facilitation induced by chronic intrathecal morphine. J Neurosci 2004;24:7353-65.

146. Raghavendra V, Tanga FY, DeLeo JA. Attenuation of morphine tolerance, withdrawal-induced hyperalgesia and associated spinal inflammatory immune responses by propentofyllline in rats. Neuropsychopharmacol 2004;29:327-34.

147. Wegert S, Ossipov MH, Nichols ML, Bian D, Vanderah TW, Malan JR, et al. Differential activities of intrathecal MK-801 or morphine to alter responses to thermal and mechanical stimuli in normal or nerve injured rats. Pain 1997;71:57-64.

EKLER