

107693

Hypericum perforatum L.
BİTKİSİNİN ANALJEZİK ETKİSİNİN
MEKANİZMASI

Ecz. Sevinç ÖNDER

Anadolu Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Lisansüstü Öğretim Yönetmeliği Uyarınca
Farmakoloji Anabilim Dalında
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.

Danışman: Prof. Dr. Yusuf ÖZTÜRK

Ekim 1995

ANADOLU ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

76

Ecz. Sevinç ÖNDER'in YÜKSEK LİSANS tezi olarak hazırladığı "Hypericum perforatum L. Bitkisinin Analjezik Etkisinin Mekanizması" başlıklı bu çalışma jürimizce Lisansüstü Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

10/10/1995

Üye: Prof. Dr. Yusuf ÖZTÜRK

Üye: Prof. Dr. Nuray YILDIZOĞLU AKI

Üye: Doç. Dr. Keşer ERZ

Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun
...02.10.1995 gün ve25..... sayılı kararıyla
onaylanmıştır.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ŞEKİL ve ÇİZELGELER LİSTESİ	4
ÖZET	6
SUMMARY	7
TEŞEKKÜR	8
1. GİRİŞ VE AMAÇ	9
2. GENEL BİLGİLER	11
2.1. Ağrı nedir? Tanımı	11
2.2. Ağrıyı oluşturan temel etkenler	11
2.2.1. Mekanik, kimyasal ya da termal uyarılar	11
2.2.2. Somatik yada visseral doku hasarı	12
2.2.3. İç organlarda obstrüksiyon	12
2.2.4. Somatosensöriyal sistemin anormal uyarılması	12
2.2.5. Periferik ve santral sinir sistemi yaralanmaları	13
2.2.6. Refleks aktivasyon sonucu nosiseptörlerin uyarılması	13
2.2.7. Psikik ve psikososyal sorunlar	13
2.3. Ağrı oluşturan sinyallerin santral sinir sistemine iletilmesi	13
2.3.1. Ağrıyı periferden ileten sinir tipleri	13
2.3.1.1. A delta lifleri	13
2.3.1.2. C Lifleri	13
2.3.1.3. A beta lifleri	13
2.3.2. Santral sinir sistemindeki ağrı yolları	14
2.3.3. Ağrı sinyallerinin iletimi	14
2.3.3.1. Hızlı ağrı sinyallerinin seyri	14
2.3.3.2. Yavaş ağrı sinyallerinin seyri	15
2.3.4. Ağrı sinyallerin regülasyonu	15
2.3.5. Opiyat mekanizmaların ağrıdaki yeri	18
2.3.6. Pürinerjik sistemin analjezideki rolü	20
2.3.7. Antidepresan ilaçların analjezik etkileri ve ağrıdaki rolü	22
2.4. Aljezi ve analjezinin deneysel modellerde ölçümü	24
2.4.1. Narkotik analjezikler için analjezi ölçüm metodları	25
2.4.1.1. Kuyruk kıstırma	25
2.4.1.2. Kuyruk baskısının ölçülmesi	25

iÇİNDEKİLER (Devam)

	<u>Sayfa</u>
2.4.1.3. Termal uyarı	26
2.4.2. Non-narkotik analjezikler	26
2.4.2.1. Kimyasal maddelerle indüklenen kıvranma testi	26
2.4.2.2. Pododolimetre Yöntemi	27
2.4.2.3. Rektodolorimetre	27
2.5. Hypericum perforatum	28
3. YÖNTEM VE GEREÇLER	29
3.1. Bitkisel Materyal	29
3.2. Hayvanlar	29
3.3. Farelerde "Tail-Flick" Testi	29
3.3.1. Morfin enjeksiyonları	29
3.3.2. Trimepramin ve Dexipramin enjeksiyonları	30
3.3.3. Hypericum perforatum ekstresi enjeksiyonları	30
3.3.4. Fenoprofen enjeksiyonları	30
3.3.5. Kafein enjeksiyonları	30
3.3.6. D-fenilalanin enjeksiyonları	30
3.3.7. Rezerpin enjeksiyonu	30
3.4. Verilerin istatistiksel analizi	31
3.5. Kullanılan kimyasal madde ve ilaçlar	31
4. BULGULAR	32
4.1. ilaçların analjezik etkileri	32
4.2. ilaçların analjezik etki açısından etkileşimleri	32
4.2.1. Naloksonun etkisi	32
4.2.2. Rezerpinin etkisi	33
4.2.3. Kafeinin etkisi	33
4.2.4. D-Fenilalaninin etkisi	33
4. TARTIŞMA	60
KAYNAKLAR	64

ŞEKİL ve ÇİZELGELER LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 2.1. İnsan ve diğer memeli türlerinin santral sinir sisteminde bulunan bazı opioid peptidler.	19
Tablo 4.1. Bazı ilaçlar ve Hypericum perforatum ekstresinin farelerde "Tail-flick" testindeki analjezik etkileri	43
Şekil 2.1. Kapı kontrol kuramının şematik görünümü.	16
Şekil 2.2. Dorsal boynuzda inhibitör ve eksitatör sinapslar ve nörotransmitterleri	17
Şekil 4.1. Morfin'in fare "Tail-flick" testindeki analjezik etkisi.	35
Şekil 4.2. Trimeprimin'in fare "Tail-flick" testindeki analjezik etkisi.	36
Şekil 4.3. Dezipramin'in fare "Tail-flick" testindeki analjezik etkisi.	37
Şekil 4.4. Hypericum perforatum ekstresinin fare "Tail-flick" testindeki analjezik etkisi.	38
Şekil 4.5. Fenoprofen'in fare "Tail-flick" testindeki analjezik etkisi.	39
Şekil 4.6. Kafein'in fare "Tail-flick" testindeki analjezik etkisi.	40
Şekil 4.7. D-Fenilalanin'in fare "Tail-flick" testindeki analjezik etkisi.	41
Şekil 4.8. Rezerpin'in fare "Tail-flick" testindeki analjezik etkisi.	42
Şekil 4.9. Düşük doz nalokson'un morfin ile oluşan analjezi üzerine etkisi.	44
Şekil 4.10. Düşük ve yüksek doz nalokson'un trimeprimin ile oluşan analjezi üzerine etkileri.	45
Şekil 4.11. Düşük ve yüksek doz nalokson'un dezipramin ile oluşan analjezi üzerine etkileri.	46
Şekil 4.12. Düşük ve yüksek doz nalokson'un Hypericum perforatum ekstresi ile oluşan analjezi üzerine etkileri.	47
Şekil 4.13. Rezerpin'in morfin ile oluşan analjezi üzerine etkisi.	48
Şekil 4.14. Rezerpin'in trimeprimin ile oluşan analjezi üzerine etkisi.	49
Şekil 4.15. Rezerpin'in dezipramin ile oluşan analjezi üzerine etkisi.	50

ŞEKİL ve ÇİZELGELER LİSTESİ (Devam)

	<u>Sayfa</u>
Şekil 4.16. Rezerpin'in Hypericum perforatum ekstresi ile oluşan analjezi üzerine etkisi.	51
Şekil 4.17. Düşük ve yüksek doz kafein'in morfin ile oluşan analjezi üzerine etkileri	52
Şekil 4.18. Düşük ve yüksek doz kafein'in trimeprimin ile oluşan analjezi üzerine etkileri	53
Şekil 4.19. Düşük ve yüksek doz kafein'in dezipramin ile oluşan analjezi üzerine etkileri	54
Şekil 4.20. Düşük ve yüksek doz kafein'in Hypericum perforatum ekstresi ile oluşan analjezi üzerine etkileri	55
Şekil 4.21. Düşük ve yüksek doz D-fenilalanin'in morfin ile oluşan analjezi üzerine etkileri.	56
Şekil 4.22. Düşük ve yüksek doz D-fenilalanin'in trimeprimin ile oluşan analjezi üzerine etkileri.	57
Şekil 4.23. Düşük ve yüksek doz D-fenilalanin'in dezipramin ile oluşan analjezi üzerine etkileri.	58
Şekil 4.24. Düşük ve yüksek doz D-fenilalanin'in Hypericum perforatum ekstresi ile oluşan analjezi üzerine etkileri.	59

ÖZET

Geleneksel Türk halk tıbbında, *Hypericum perforatum* L. ve diğer *Hypericum* türleri çeşitli amaçlarla örneğin, sedatif, analjezik, antispazmodik, athelmintik, ekspektoran, diüretik, iştah açıcı, karaciğer koruyucu, antiseptik, yara iyi edici olarak kullanılmaktadır. Bu etnomedikal özelliklerinin yanısıra, *H. perforatum*'dan hazırlanan standardize ekstraler bazı nöropsikiyatrik bozuklukların klinik tedavisi için kullanılmaktadır. Bunların nöropsikiyatrik bozuklukların tedavisinde kullanımı avantajlıdır, çünkü bunları yan etkileri daha azdır ve ilaç bağımlılığı yapmazlar. *H. perforatum*'un içerdiği "hiperisin" e bağlı olarak oluşturduğu tek ciddi yan etki sadece albino hayvan türlerinde bildirilmiş olan fotosensitizasyondur.

Bu tez çalışmasında *Hypericum perforatum*'un daha önceden bildirilmiş olan analjezik etkisinin mekanizması araştırılmıştır. Bu amaçla, *H. perforatum* ekstresinin etkisi analjezik etkisi olan çeşitli ilaçlarla karşılaştırılmıştır. Çeşitli ilaç kombinasyonları ile de mekanizmaya yaklaşım sağlanmıştır. Elde edilen bulgular ışığında, *Hypericum perforatum*'un santral sinir sistemi aracılığıyla oluşan analjezik etkisinde endojen opiaterjik ve pürinerjik mekanizmaların önemli bir rol oynayabileceği anlaşılmıştır.

SUMMARY

In Turkish folk medicine, *Hypericum perforatum* L. and other *Hypericum* species have been used for various purposes, such as sedative, analgetic, antispasmodic, anthelmintic, expectorant, diuretic, appetitive, liver protective, antiseptic, wound healing etc. Beside of their ethnomedical properties, standardized extracts prepared from *H. perforatum* L. have been used for the clinical management of some neuropsychiatric disorders. Their use in the management of neuropsychiatric disorders is advantageous, as they possess lower side effect and lack of drug dependence. A mere serious side effect of *H. perforatum* extracts due to their "hypericin" content is the photosensitization which have been reported only in albino animal species.

In this thesis, mechanism of the previously reported analgesic effect of *Hypericum perforatum* was investigated. For this purpose, the effect of *H. perforatum* extract was compared to those of certain drugs having analgesic effects. Using various drug combinations, attempts were also made to approach its mechanism. Under the light of findings obtained in this study, it was understood that endogenous opiateergic and purinergic mechanisms may play an important role in the analgesic action of *Hypericum perforatum* which is mediated by central nervous system.

TEŞEKKÜR

Öncelikle, beni bugünlere getiren anne ve babama olmak üzere, tez çalışmalarımın her kademesinde büyük emeği geçen, fikir ve eleştirileri ile çalışmamın gerçekleşmesini sağlayan danışmanım, Prof.Dr. Yusuf ÖZTÜRK'e,

Tıbbi ve Aromatik Bitkiler ve ilaç Araştırma Merkezi (TBAM) müdürü ve Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanı Prof.Dr. K.Hüsnü Can BAŞER'e

Çalışmalarım sırasında bilgi ve yardımlarını esirgemeyen, Doç.Dr. Neşe KIRIMER'e

Deneyisel çalışmalarım süresince değerli yardımlarını esirgemeyen arkadaşlarım, Araş.Gör. Süleyman AYDIN'a, Araş.Gör. Rana BEİS'e ve Araş.Gör. Tuba HEREKMAN'a

Tez süresince yardımını ve desteğini esigemeyen, beni yalnız bırakmayan eşime ve

Tıbbi ve Aromatik Bitkiler ve ilaç Araştırma Merkezi (TBAM)ndeki tüm çalışan arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Ağrı, bazen başlıbaşına bir hastalık, bazen vücuttaki sistemik ve lokal hastalıkların belirtilerinden biri, bazen de zarar verici uyarılara karşı refleksif savunma mekanizmalarını harekete geçiren ivedi bir uyarı olup vücudun koruyucu bir mekanizması olarak da nitelendirilebilen, ancak hoş olmayan subjektif bir duydur.

Ağrı, tıbbın en eski ve en temel sorunlarından birisidir. Günümüzün gelişmiş ve yoğun araştırma temposuna karşın, ağrı sürecinin fizyopatolojisi ve ağrı kesicilerin etki mekanizmaları tam olarak aydınlatılamamıştır. Çünkü ağrının algılanmasında yer alan beyin yapısal ve işlevsel açıdan sergilediği komplekslik ağrı sürecinin hala gizemli noktalarının kalmasına neden olmaktadır. Ancak, bugüne kadar elde edilen bilgiler ışığında, ağrılı impulsların deri ve organlarda bulunan ve nosiseptör olarak adlandırılan duyarlı algılayıcılar tarafından oluşturulduğu, esas olarak nöronların aksonları olan sinirler tarafından omuriliğe taşındığını, burada değerlendirildiği (refleksif ve informasyonel süreçler) ve burada denetim altına alınmaya çalışıldığı (antinosiseptif mekanizmalar) anlaşılmaktadır. Bu son olay için omurilikte endojen opiyatların salındığı, son 20 yıl içinde gerçekleştirilen çarpıcı bilimsel araştırmalarla kanıtlanmıştır. Ancak, bu şekilde denetim altına alınamayan ağrılı impulslar spinotalamik yolak ile beyin üst merkezlerine (serebral kortekse kadar) taşınmaktadır. Ayrıca, ani bir ağrılı impulsa karşı medulla spinalis de motorik sinirleri uyarmak üzere başlatılan süreçle de çok kısa bir sürede refleklar oluşmaktadır. Bu iki olay ise ağrıda yer alan informasyonel ve refleksif süreçleri belirlemektedir. Ağrının algılanmasında ve tanımlanmasında beyin yaşamın başından itibaren oluşmaya başlayan informasyonel bellek birikimi rol oynamaktadır.

Ağrının önleminde, analjezik olarak adlandırılan, doğal ve sentetik pekçok ilaç kullanılmaktadır. Etki mekanizmaları açısından bakıldığında bu ilaçların bir kısmının periferik ağrı duyumsama mekanizmalarını baskıladığı (non-narkotik analjezik ilaçlar ve lokal anestezipler) bir kısmının ise santral sinir sisteminde (SSS) ağrı algılanmasını önlediği (narkotik

analjezikler ve antidepresan ilaçlar) görülmektedir. Klinik olgularda, hafif şiddetli ağrıların önlenmesinde non-narkotik analjezikler çoğunlukla yeterli olurken, şiddeti fazla olan ağrılarda ise narkotik ilaçların kullanımı gündeme gelmektedir. Bağımlılık oluşturma ve hızlı tolerans gelişimi nedeniyle narkotik analjeziklerin kullanımı ise klinik açıdan kısıtlama altına girmektedir. Bu durum, şiddeti fazla olan kronik ağrıların (kanser, romatoid artrit de olduğu gibi) güvenli biçimde önlenmesi için güçlü, ancak bağımlılık oluşturmeyen analjezik ilaçların bulunması için bilim dünyasında yoğun araştırmalara konu oluşturmıştır. Ne var ki, bugüne kadar bu amacı sağlayan bir bileşik ya da ilaç bulunamamıştır, sadece bu amaca yaklaşan bazı maddelerin varlığından söz edilebilir.

Gerek kimyasal gerekse farmakolojik açıdan oldukça fazla araştırılmış olan, halk arasında ağrı kesici olarak kullanımı olan ve bu etkinliği bazı deneysel çalışmalarla da kanıtlanmış olan *Hypericum perforatum* bitkisinin analjezik etki mekanizması bu tez kapsamında araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Ağrı nedir? Tanımı

Ağrı, bedenin bir bölgesinden köken alan, organik bir nedene bağlı olan yada olmayan, kişinin yaşam biçimi, kültürü, bulunduğu çevre, eğitim, cinsiyet vb. etkenlere bağlı olarak değişen, kişiyi uyanıklığa yada stimulustan kaçmaya yönelten, vücudun koruyucu mekanizması olarak da adlandırabileceğimiz, hoş olmayan, subjektif bir algılama şeklidir (1-4).

Ağrı, genellikle patolojik bir bozukluğu haber veren duyuşal bir süreçtir. Oluşturan nedene bağlı olarak şiddeti ve süresi geniş ölçüde değişkenlik göstermektedir. Aslında ağrıyı beyine ileten sinirler, sadece ağrı değil dokunma, sıcaklık, kaşıntı gibi diğer duyuşların uyarılarını da taşırlar, ancak sözü edilen bu son duyuşal uyarıların şiddeti genellikle ağrıya göre daha azdır.

2.2. Ağrıyı oluşturan temel etkenler

Çeşitli endojen ve eksojen uyarılara bağlı olarak organizmalarda ağrı oluşmaktadır. Bunları şu biçimde sınıflamak olasıdır:

1. Mekanik, kimyasal ya da termal uyarılar,
2. Somatik yada visseral doku hasarları,
3. İç organlarda obstrüksiyon,
4. Somato sensoriyal sistemin anormal uyarılması,
5. Periferik ve santral sinir sistemi yaralanmaları,
6. Refleks aktivasyon sonucu nosiseptörlerin uyarılması,
7. Psikik ve psikososyal nedenler.

Sayılan bu nedenler farklı tür fizyolojik olayları etkileyeceğinden gerek ağrının algılanış biçimi gerekse şiddeti geniş ölçüde değişkenlik gösterecektir. Yine bu nedenler arasında görülen psikososyolojik faktörlerin de ağrının algılanış biçimi ve şiddetini değiştirebilen ve de ağrı duyumsanmasında geniş ölçüde kişisel farklılıkların oluşumuna neden olabileceği görülmektedir.

2.2.1. Mekanik, kimyasal ya da termal uyarılar

Bu ağrılar, vücut içerisinde nosiseptör olarak tanımladığımız, özellikle deri derialtı dokuları, periost, arter çeperleri, eklem yüzleri, craniumun falk ve tentoriumunda ve bazı derin dokularda seyrekte olsa yeralan özelleşmiş, serbest sinir uçlarının uyarılmasıyla ortaya çıkar (1).

Vücutta mekanosensitif, termosensitif ve kemosensitif nosiseptörler vardır (1). Kas spazmı mekanosensitif ağrı reseptörlerinin uyarılmasıyla oluşur. Bunun yanında dokuda iskemi yaratmak suretiyle kemosensitif reseptörler de uyarılır. Kan akımının azalması ve kasta metabolizmanın hızlanmasıyla rölatif iskemi artar ve ağrı yaratan kimyasal maddelerin serbestleşmesi sağlanır (1). Termal kökenli ağrıların SSS ne iletiminde spinal N-metil-D-aspartat reseptörlerinin ve büyük olasılıkla da aspartat ve glutamat gibi eksitatör nörotransmitterlerin rol oynadığı gösterilmiştir (5). Dokunun sıcaktan zarar görmeye başladığı ısı derecesi 45°C dir. Isı sürekli bu sıcaklıkta kaldığı sürece doku haraplanması olur. Sıcaklık dokulara zarar verir. O bölgede doku iskemisi, doku yaralanması yada bakteri infeksiyonu varsa ağrı şiddeti daha da artar. Vücutta bulunan çeşitli kimyasal maddeler özellikle bradikinin, serotonin, histamin, potasyum iyonları, asitler, prostaglandinler, lökotrienler, asetilkolin ve proteolitik enzimler kemosensitif reseptörleri uyarırlar. İnflamasyonda serotonin ve histamin lokal olarak salınır. Serotonin ayrıca hücre zarlarını aktive ederek prostaglandinlerin salgılanmasını fasilite eder (1,6-9). Sonuç olarak, anılan bu kimyasal (alogenik) maddeler nosiseptör üzerindeki aktive edici ve duyarlılık arttırıcı özellikleriyle ağrı oluştururlar (10).

2.2.2. Somatik yada visseral doku hasarı

Somatik yapılardan kaynaklanan nosiseptif ağrı; sızlama, zonklama, bıçak batar gibi ifade edilebilir. Visseral ağrılar ise genellikle künt ve sızlayıcı nitelikte kolik yada kramp tarzındadır. Başka bölgelerde yansıyan ağrı olarak ta ortaya çıkabilir (2).

2.2.3. İç organlarda obstrüksiyon

Ağrı eğer obstrüksiyona bağlı ise kemirici ve kramp tarzındadır.

2.2.4. Somato-sensoriyal sistemin anormal uyarılması

Periferik sinir travması yada metabolik hastalıklar sonucu ortaya çıkar.

2.2.5. Periferik ve santral sinir sistemi yaralanmaları

Periferik ve santral sinir sistemi yaralanmaları sonucu somatosensoriyal uyarıların iletiminin santral sinir sistemi (SSS) ne akışının kesilmesi.

2.2.6. Refleks aktivasyon sonucu nosiseptörlerin uyarılması

Motor yada sempatik afferentlerin refleks aktivasyonu sonucu nosiseptörlerin uyarılmasına bağlı olarak oluşan ağrı.

2.2.7. Psikik ve psikososyal sorunlar

Anksiyete ve depresyon gibi psikik ve psikososyal sorunların artması (2).

2.3. Ağrı oluşturan sinyallerin santral sinir sistemine iletilmesi

2.3.1. Ağrıyı periferden ileten sinir tipleri

Dış uyarı, reseptör membranında depolarizasyona neden olur ve bu, sinir impulsuna dönüşür. Bu süreç, transdüksiyon olarak tanımlanmaktadır. Sinir impulsu değişik tiplerde periferik sinir aksonları ile iletilir:

1. A delta lifleri,
2. C lifleri,
3. A beta lifleri.

2.3.1.1. A delta lifleri

2-5 mikron çaplı ince myelinli liflerdir. Bu liflerden akut keskin ağrı sinyalleri periferik sinirlerden medulla spinalise saniyede 6-30 m hızla iletilir.

2.3.1.2. C Lifleri

Çapları 0.3-3 mikrondur. Bunlar kronik ağrı lifleri olarak da bilinmektedir. Kronik ağrı sinyalleri, bu lifler ile saniyede 0.5-2 m hızla santral sinir sistemine iletilirler.

2.3.1.3. A Beta lifleri

6-22 mikron çaplı kalın myelinlerdir. Düşük şiddetli mekanik stimulusla uyarılırlar, hızlı iletirler. A Beta liflerinin elektrikle uyarımı ağrıya yolaçmaz (1,11-13).

Sinir gövdesinin orta derecede basınçla sıkıştırılmasıyla C lifleri bloke edilmeden A Delta lifleri bloke edildiğinde, akut keskin ağrı kaybolmaktadır. Aynı şekilde A Delta liflerine zarar verilmeden C lifleri bloke edildiğinde yavaş kronik, sızı şeklinde ağrılar kaybolur. Bu nedenle ani uygulanan stimulus sonucunda önce keskin ve hızlı bir ağrı, ardından yavaş sızı şeklinde bir ağrı ortaya çıkmaktadır (1).

A Delta ve C lifleri, arka köklerle medulla spinalise girince ikiye ayrılırlar ve medulla spinalisin gri maddesinde arka boynuzun gerisinde yer alan lissauer traktusunda, bir üç segment yukarı çıkar yada aşağı inerler. Bunların akson kollateralleri de dorsal boynuz içine girer (1,2).

2.3.2. Santral sinir sistemindeki ağrı yolakları

SSS deki ağrı yolakları üç sıra nörondan oluşmaktadır. Birinci sıra nöronlar hücre gövdeleri dorsal kökte ve trigeminal ganglionlarda bulunan iki sıra nöronlardır. Bunların periferik aksonları dokuları innerve eder, santral aksonları medulla spinalisin dorsal boynuzuna doğru uzanır. Dorsal boynuzda bu aksonlar, ikinci nöronlarla sinaps yapmaktadır. İkinci sıra nöronların büyük bir kısmının aksonları "Camissura anterior" da çaprazlaşarak medulla spinalisin karşı tarafına geçer ve anterolateral duysal yolların lateral bölümünde talamusa doğru yükselerek üçüncü sıra nöronlarla sinaps yapar. Üçüncü sıra nöronlar ise, talamustan serebral korteksin "Postcentral gyrus" una uzanırlar (1,14).

2.3.3. Ağrı sinyallerinin iletimi

Yavaş ve hızlı ağrı sinyalleri yukarıda da belirtildiği gibi farklı akson tipleriyle farklı biçimde iletilirler:

2.3.3.1. Hızlı ağrı sinyallerinin seyri

A Delta ağrı lifleri, arka boynuzda iki noktada sonlanırlar. Bunlar lamina 1 (Lamina marginalis) ve lamina 5 tir. Bu anatomik bölgelere gelen ağrı lifleri ikinci sıra nöronları uyarılırlar ve bu nöronlardan başlayan ikinci sıra nöronlar "Camissura anterior" da çaprazlaşırlar, medulla spinalisin karşı tarafına geçer ve duysal yolların lateral bölümünde beyne

doğru yükselirler. Akut ağrı lifleri dorsal kordon lemniscal yolla doğrudan talamusa gider ve talamusun ventrobazal kompleksi ve posterior çekirdek kısmında sonlanırlar. Sinyaller buradan talamusun diğer alanlarına ulaşırlar, somatik ve duyuşal kortekse taşıdırlar (1).

2.3.3.2. Yavaş ağrı sinyallerinin seyri

C tipi lifler lamina 2 ve 3 de sonlanırlar. Buradan sinyallerin büyük bir bölümü birkaç kısa nöron lifinden geçerek lamina 5 e ulaşırlar. Son nöron dizisinin uzun aksonlarının çoğu hızlı yolun liflerine katılarak "Camissura anterior" da çaprazlaşıp anterolateral yolun lateral bölümünde beyne iletilirler. Az sayıda lif çaprazlaşmayarak aynı tarafta beyne giderler. Lateral bölümde hızlı ve yavaş lifler birbirinden ayrılırlar (1). Ağrı liflerinin büyük bir bölümü medulla oblongota, pons ve mezensefalonun retiküler formasyonunda sonlanırlar. Buradan da talamus, hipotalamus, diensefalon ve cerebrumun öteki bölgelerine taşıdırlar. Yavaş ağrı liflerinin çoğunluğu beyin sapının retiküler formasyonunda sonlanırlar. Burada çok sayıda sinyal durakladıktan sonra retiküler aktive edici sistem olan talamusun intralaminal nukleuslarına ulaşırlar. Böylece beynin tüm bölümleri, serebral korteksin bütün bölümleri, talamus etrafındaki bazal gangliyonlar ve bu arada hipotalamusa aktive edici sinyaller ulaşmış olur. Böylece yavaş ağrı lifleri SSS de geniş kapsamlı bir aktivasyona neden olurlar (1). Bu arada, bazal gangliyonların ağrı sonucunda motorik sinir fonksiyonlarında oluşan değişimlerde bazal gangliyonların oldukça önemli rol oynadığı son yıllarda anlaşılmıştır (15)

2.3.4. Ağrı sinyallerinin regülasyonu

Her ağrı sinyalinin SSS de oluşturduğu etki ve oluşan ağrı yanıtları değişkendir bu da SSS de ağrıyı düzenleyen bir sistem olabileceğini düşündürmektedir (6).

1965 te Wall ve Melzack (16) tarafından ortaya atılan kapı kontrol kuramına göre periferden gelen yoğun afferent nosiseptif impulslarla eksitan ara nöronlar aktif hale gelmekte, bu durum inhibitör ara nöronlarını inhibe ederek projeksiyon nöronunu eksite ederek, ağrılı impulsların SSS ne geçmesine neden olmaktadır. Ancak aynı zamanda A ve B

grubu geniş miyelinli liflerin aktivasyonları ile inhibitör ara nöronları aktive ederek projeksiyon nöronlarını inhibe etmekte ve ağrı sinyallerinin geçişini durdurmaktadır (2).

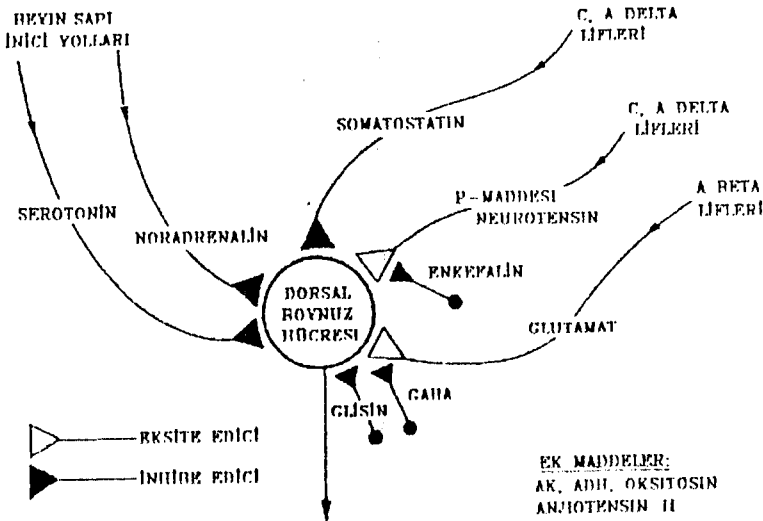


Şekil 2.1. Kapı kontrol kuramının şematik görünümü.

Kapı kontrol kuramı, ağrıyla ilgili yeni bir fikrin de ortaya çıkmasına öncülük etmiştir. Ağrı olayı ve ağrının algılanması hem nosiseptif hem de antinosiseptif sinyallerin aktivite düzeyine duyarlı bir olaydır. Sadece dorsal boynuzda değil, beyin sapı merkezlerinde ağrılı sinyallere karşı antinosiseptif bir aktivite ortaya çıkabilir. Özellikle, ağrılı impulslara karşı enkefalinerjik ve monoaminerjik bir inhibisyon varlığı gösterilmiştir.

Enkefalin ve endorfin içeren nöronlar bulbustaki serotonin nöronlarını aktive ederler, bu nöronlar da dorsal boynuz nosiseptif projeksiyon nöronları üzerinde presinaptik ve postsinaptik bağlantılarla inhibisyon

yaparlar. Aynı şekilde pons ve bulbusta lateral çekirdeklerdeki nörotransmitter olan noradrenalin, yine bu sistemle aynı şekilde dorsal boynuz projeksiyon nöronları üzerine inhibe edici etki gösterir ve SSS nin yüksek merkezlerinde de monoaminerjik mekanizmaların ağrı kontrolünde yer aldığı görülmektedir (17). Bu monoaminerjik mekanizmaların en azından bir bölümü opioid mekanizmalardan bağımsız çalışmaktadır (18,19). Bütün bu antinosiseptif etkiler, hücresele düzeyde K⁺ iyonunun projeksiyon nöronları üzerinde membran iletkenliğini arttırması ve hiperpolarizasyon oluşturmasıyla ortaya çıktığı düşünülmektedir. Nitekim farelere intratekal uygulanan diazoksit, minoksidil ve lemakalim gibi potasyum kanal açıcıların antinosiseptif (analjezik) etkileri olduğu gösterilmiştir (20). Ayrıca GABA, glisin (2), vazopressin (21), oksitosin (22), TRH (23), alfa-MSH (24), somatostatin (2), kalsitonin (25), nöropeptid FF (26), nörotensin (27), DSIP (Delta uykusu oluşturan peptid) (28), bombesin (2) gibi periferik kökenli yada santral ara nöronlardan çıkan aminoasit ve nöropeptitlerin omurilik dorsal boynuz nöronlarında ya da SSS üst merkezlerindeki inhibitör etkileri sonucunda analjezi ortaya çıkmaktadır. Bu regülasyonun omurilikte oluşan kısmı, şekil 2.2 de şematize edilmiştir (2).



Sekil 2.2. Dorsal boynuzdaki inhibitör ve eksitatör sinapslar ve nörotransmitterleri

2.3.5. Opiyat mekanizmaların ağrıdaki yeri

Opium (afyon), Papaver somniferum (haşhaş) bitkisinin lateksinden elde edilmektedir. İlk çağlardan beri halk arasında ağrı kesici olarak kullanılmıştır. Opium alkaloidi olan morfin, ilk defa Friedrich Sertürner tarafından izole edilmiş ve pek çok farmakolojik etkisi ortaya çıkarılmıştır. Yapılan deneyler morfin etkilerinin çok özgün olduğunu ve bunun da morfinle etkileşen reseptörlerden kaynaklandığı fikrini ortaya koymuştur (29). 1970 li yıllarda Mayer ve arkadaşları sıçanlarda beyin sapının elektriksel stimülasyonu sonucu analjezi olduğunu gözlemlemişlerdir (30). Söz konusu etki, opiyat reseptör antagonisti olan nalokson ile önlenmiştir (31). Ardından vücutta morfine benzer etkili peptid yapılı maddeler izole edilmiştir. İlk bulunanlar metionin-enkefalin ve lösin-enkefalindir (32,33). Daha sonra, opiyaterjik reseptörler aracılığı ile SSS de etki oluşturan peptidlere endojen opiyat peptidler adı verilmiştir (34). Bu maddelerin hepsi aminoasitlerin birleşmesiyle oluşmuş doğal bileşiklerdir.

Endorfinler, büyük molekül ağırlıklı maddelerdir. Enkefalinlere ait aminoasit zincirini tümüyle içerirler. Vücut içinde 3 farklı tipi bulunur. Alfa-endorfin 16, gama-Endorfin 17, beta-Endorfin 31 aminoasitten oluşmaktadır. En etkili olanı Beta Endorfindir ve mü reseptörlerine yüksek affinite gösterir. Enkefalinler, küçük molekül ağırlıklı bileşiklerdir. Vücutta beta-endorfinin enzimatik yıkıma uğramasıyla oluşurlar ve delta reseptörlerine yüksek affinite gösterirler. Endorfinler ve Enkefalinler SSS de talamus, hipotalamus, hipofiz, omurilik ve beyin omurilik sıvısında bulunurlar (35). Bugüne kadar izole edilen bellibaşlı opiyatlar ve içerdikleri aminoasit sayıları tablo 2.1. de gösterilmiştir.

Endojen opiyatların bulunuşundan sonra ağrının oluşumu ve önlenmesiyle ilgili pekçok kuram ortaya atılmıştır. Melzack ve Wall tarafından geliştirilen kapı kontrol kuramı, aynı zamanda Jessel tarafından P maddesi ve endojen opiyatların etkileşim mekanizmasını açıklamak için ortaya konan modele de uymaktadır (36).

Bu modele göre, omurilik dorsal boynuzu substantia gelatinosa tabakasında ağrı oluşum ve önlenmesiyle ilgili bir sinaps vardır. Periferden gelen uyarı P maddesi içeren sinir ucundan bu maddenin

saliverilmesini sağlar, bu da sinapstaki diğer nöron üzerindeki P maddesi reseptörü uyarır böylece periferden gelen ağrılı uyaran spinotalamik uzantıyla SSS ne iletilir. Bu sinapsta ayrıca inhibitör enkefalinergic sinir uçları da vardır. Bu uçlardan saliverilen enkefalin P maddesi içeren sinir ucundaki opiyat reseptörü ile etkileşir, P maddesinin salınımını inhibe eder, böylece ağrılı uyarının SSS ne iletimini önlemiş olur (37).

Tablo 2.1 insan ve diğer memeli türlerinin santral sinir sistemlerinde bulunan bazı opioid peptidler.

Endojen Opioidler	Aminoasid sayıları
Beta-endorfin	31
Gama-endorfin	17
Alfa-endorfin	16
Met-enkefalin	5
Lö-enkefalin	5
Met ⁵ -enkefalin-Arj ⁶ -Fen ⁷	7
Alfa-neoendorfin	12
Beta-neoendorfin	11
Kyotorfin	2
Neokyotorfin	5
Dinorfinler	Çeşitli
Beta-kazomorfinler	Çeşitli

Endojen opiyat peptidler, opiyat reseptörleri ile etkileşirler. Radyoligand bağlama yöntemleriyle bugüne kadar 6 tip opiyat reseptör varlığı gösterilmiştir. Opiyat peptidler ve opiyat analjezikler 3 tip opiyat reseptörü aktive ederek etki oluşturur (34):

1) Mü reseptörleri: Morfin yüksek affinite ile bu reseptörlere bağlanır. Mü₁ reseptörleri supraspinal analjezide rol oynayan periakvaduktal gri madde, nukleus reticularis, medial talamus, locus coeruleus'ta bulunur. Bu yerlere morfin injeksiyonu ağrıyı giderir. Mü₂ reseptörü analjezi oluşumunda rol oynamamaktadır.

2) Delta Reseptörler: Enkefalinlere özgü reseptörlerdir. Limbik sistemdeki nöronlar bu tür reseptörlerce zengindir, kappa reseptörleriyle birlikte spinal düzeydeki analjezik etkinlikte rol oynarlar.

3) Kappa Reseptörler; Beyin korteksinin derin tabakalarındaki nöronlarda, omurilik dorsal boynuzunda ağrı duyusunu taşıyan birinci sıra nöronların akson uçlarında ve serebellum, striatum gibi yerlerde buldukları gösterilmiştir. Serebral kortekste bulunan kappa reseptörler morfin vb. opiyatların yaptığı sedasyonda, omurilikteki delta reseptörleriyle birlikte spinal analjezide rol oynarlar.

Opiyaterjik ilaçlar bu reseptörlerden başka sigma, epsilon, mü, delta, kappa kompleksi ve öksürük kesici reseptörleri de etkilerler (34).

Yapılan bir çalışmada, opiyatların uyarısı sonucu oluşan solunum depresyonunda delta reseptörlerinin daha fazla etkili olduğu ve delta reseptör antagonisti olan naloksonun yüksek derecede antagonist etkisinin görüldüğü anlaşılmıştır (35).

Narkotik analjeziklerin ve opiyat peptidlerin opiyat reseptörlerini aktive etmesinin hücresel düzeyde eyleme dönüşmesinde 2 mekanizmanın katkıları olduğu ileri sürülmektedir:

1) Adenilat siklaz sisteminin inhibisyonu: Nöroblastoma, x glioma hibrit hücre kültürlerinde opiyat agonistlerinin adenilat siklazı inhibe ettikleri saptanmıştır.

2) Kalsiyum dengesinin değiştirilmesi: Kalsiyumun hücre içindeki depolara bağlanmasının opiyatlar tarafından arttırıldığı saptanmıştır (38).

Opiyat reseptörleri ile antagonistlerinin etkilerinin araştırılmasında "Tail Flick" testinden de yararlanılmaktadır. Morfinin bu testte görülen analjezik etkisi spesifik bir antagonist olan naloksonla önlenmektedir (39,40).

2.3.6. Pürinerjik sistemin analjezideki rolü

Pürinerjik otonomik sinir ucundan primer nörotransmitter olarak pürin türevlerinin (ATP, ADP, AMP, adenosin gibi) salıverildiği bilinmektedir. Bu maddeler aynı zamanda, hücrelerin ana enerji kaynağı olarak intraselüler metabolik reaksiyonlarda da yer almaktadır. ATP salıverildikten sonra Mg^{2+}

iyonuna bağımlı ATPaz ve 5'-nükleotidaz enzimleri tarafından hidroliz edilir ve adenozeine dönüştürülür. Bu nükleotidlerin çeşitli hücrelerde kendilerine özgü reseptörleri etkileyerek çeşitli fizyolojik etkiler oluşturdukları gözlenmiştir (41,42). Pürinerjik reseptörler intraselüler sıklık AMP düzeylerini azaltma ve arttırma özelliklerine göre sırasıyla A₁ ve A₂ olmak üzere iki alt tipe ayrılmıştır (43). Efektör hücrelerde yer alan A₁ reseptörü, adenozein ve AMP ye duyarlı pürinerjik bir reseptördür. A₁ reseptörlerinin aktivasyonu düz kasların gevşemesine, kalpte negatif inotrop ve kronotrop etkilere, trombositlerde agregasyona neden olur. Adenozein A₂ reseptörleri ise ATP ye duyarlıdır (34). Uyarılmaları sonucu protaglandin sentez ve salıverilmesini arttırırlar. Pürinerjik sistemin aljezi ve analjezi süreçleri ile ilgisi olduğuna ilişkin çeşitli deneysel ve klinik kanıtlar bulunmaktadır: Kafeinin klinik deneylerle asetanofen analjezisini arttırdığı gösterilmiş ve analjezik tedaviye bir adjuvan olarak katılması önerilmiştir (44,45). Pürinerjik sistemin ağrı ile ilgisini 1961 de ilk kez gösteren deneysel gözlem ise, adenozeinin intraserebroventriküler uygulanmasıyla sıçanlarda oluşan analjezik etkidir (46). Daha sonra bu deney, ATP, ADP, AMP ve adenozein ile yinelenmiş ve benzer sonuçlar alınmıştır, yani bu 4 madde de intratekal uygulama ile analjezik etki oluşturmaktadır (47). Daha sonra stabil adenozein analogları (pürinerjik agonistler) ile yapılan çalışmalarda bu analjezik etki doğrulanmış ve pürinerjik agonistlerin morfin ile oluşturulan analjezik etkiyi arttırdığı saptanmıştır (48-50).

Kafeinin ve diğer bazı ksantin türevlerinin deney hayvanlarında morfin analjezisini etkileyebildikleri ortaya konmuştur (34). Metilksantin türevi bir alkaloid olan kafeinin stimulan etkisi SSS deki pürinerjik nöromodülatör sistemde sinir ucundan salıverilen yada diğer tür sinir uçlarından salıverilen adenozeini antagonize etmesine bağlıdır. Kafeinin SSS aracılığıyla oluşturduğu analjezik etkinin mekanizması ise tam olarak anlaşılamamıştır: Kafein, büyük bir olasılıkla pürinerjik A₁ reseptörlerine spesifik bir antagonisttir (51). Gerçekten de kafeinin (subkutan 10 mg/kg dozda), adenozein reseptör agonisti 5'-N-etilkarboksamidoadenozein tarafından oluşturulan analjeziyi spesifik biçimde antagonize ederken, morfin analjezisini etkilemediği gösterilmiştir (50). Ancak daha yüksek dozlardaki (örn: 100 mg/kg intraperitoneal) kafeininin morfin sıçanlarda analjezisini

potansiyalize ettiği gösterilmiştir (52,53). Bunun aksi olarak, düşük doz kafeinin morfin analjezisini pürinerjik bir mekanizma ile antagonize ettiği gösterilmiştir (53,54). Kafein analjesinde muhtemelen şu mekanizmalar da rol oynamaktadır: fosfodiesteraz inhibisyonuna bağlı olarak sıklık AMP miktarlarının artması, prostaglandin sentez inhibisyonunun artması (55), noradrenalin ve/veya dopamin "turnover" ının artması (56), beyindeki serotonin (5-HT) ve triptofan düzeylerini, "turnover"da değişiklik oluşturmaksızın arttırması (57). İlginç olarak, kafeinin sıçanlarda sistemik dolaşımdaki beta-endorfin düzeylerini arttırdığı, buna karşın beyin-omurilik sıvısındaki beta-endorfin düzeylerini değiştirmedeği saptamıştır (58).

2.3.7. Antidepresan ilaçların analjezik etkileri ve ağrıdaki rolü

Antidepresan ilaçlar, afektif hastalıkların (duygulanım hastalıklarının) tedavisinde kullanılırlar. Depresyon oluşmasında beyinde noradrenalin ve serotonin yapımında bir eksikliğin rol oynayabileceğini gösteren farmakolojik kanıtlar vardır. Beyinde noradrenerjik ve serotonerjik sistemlerin hipoaktivitesine bağlı olarak depresyon ortaya çıkar. Imipramin ve desipramin, noradrenalinin "uptake" ini inhibe ederken, amitriptilin sinir ucunda serotonin "reuptake" ini inhibe ederek antidepresan etkinlik gösterirler.

Trisiklik antidepresanlar

Trisiklik antidepresanlar, kimyasal olarak moleküllerinde 3 halka içerirler. İki uçta benzen halkası ve ortada kükürt içermeyen azotlu yedi üyeli heterosiklik bir halka vardır.

Trisiklik antidepresan ilaçların, davranış üzerindeki etkileri normal bir insanla depresyonlu hastada çok farklıdır. Normal bir kişide sedasyon oluştururken, depresyonlu hastada bu etki ilaç kullanımından 15 gün sonra belirgin hale gelir. Hastada depresyon kaybolur, psikik etkinlik artar ve ruhsal durum normale döner. Trisiklik antidepresanların antikolinerjik kardiovasküler etkileri de vardır. Toksik dozda solunumu deprese ederler. Bu ilaçların önemli düzeyde analjezik etkileri vardır. Özellikle klomipramin ve amitriptilinin intrinsik analjezik etki gösterdiği ve morfinle birlikte verildiğinde morfinin analjezik etkisini potansiyalize ettiği gösterilmiştir. Analjezik etkisinin ağrı ile ilgili yolda

serotonin etkinliğini arttırmalarına bağlı olabileceği ileri sürülmüştür. Morfinle hem farmakodinamik etkileşim gösterirler hem de oral kullanımda biyoyararlanımı arttıırırlar (34).

Antidepresan ilaçların ağrı üzerine etkileri ile ilgili pekçok deneysel çalışma yapılmıştır. Desipraminin operasyon sonrası ağrının önlenmesinde opiyatların etkisini arttırıcı özelliği olduğu ileri sürülmüştür. Bunun da endojen opiyat sistem ve dolaylı olarak noradrenerjik sistemdeki komponentin artışına bağlı olduğu sonucuna varılmıştır (59). Deneysel akut ağrı modeli oluşturulduğunda, klomipramin, desipramin, maprotilin, viloksazin ve nomifensinin antinosiseptif etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (60). Bir diğer deneysel çalışma, amitriptilinin serotonin "uptake" ini bloke ettiğini, böylece opiyat analjezik sistemle etkileşen serotoninin analjezik etki ortaya çıkardığını, morfinle verilen amitriptilinin morfinin ağrı kesici etkisini potansiyalize ettiğini göstermiştir (61). Klomipramin ve maprotilinin analjezik etkisi morfin ve pentazosinle denenmiş ve klomipraminin morfin analjezisini ile toleransını arttırdığı görülmüştür. Maprotilin ise morfinle kombine edildiğinde morfin toleransını arttırdığı gösterilmiştir (62). Bir başka çalışmada ise antidepresanların etki mekanizmasında kortikal opiyat reseptörlerindeki değişmelerin önemli olabileceği tartışılmıştır (63). Yine, başka bir çalışmada, desipraminin sıçan glioma hücrelerinde sterospesifik opiyat bağlanmasını ve lipit modifikasyonunu indüklediği ortaya konmuştur (64). Tüm bu bulgular trisiklik antidepresanların analjezik etkilerinde endojen opiyaterjik mekanizmaların rolünün olduğunu göstermektedir.

Trisiklik antidepresanların analjezik etkileri üzerine Ca kanal blokörlerinin etkisi araştırılmış ve Trisiklik antidepresan Ca kanal blokörü kombinasyonunun analjezik etkiyi arttırdığı ve birlikte alındıklarında Trisiklik antidepresan ilaç dozunun düşük tutulabileceği (65), bir başka çalışmada da Ca kanal blokörü Nitrendipin in Trisiklik antidepresan larla kombine edildiğinde beyin bazı yörelerinde kortikal Ca kanallarının yoğunluğunda bir artış görülmüş ve analjezi ile hiperanaljezide rol oynayabilecekleri düşünölmüştür (66).

Trisiklik antidepresan ilaçlar, kanser ağrısına karşı morfin vb. opioidlerin analjezik etkinliğini arttırmak için adjuvan olarak kullanılırlar (67). Bir başka çalışmada da trisiklik antidepresan ve morfin kombinasyonunun kanser ağrısında kullanılabileceği saptanmıştır (68).

Kanser hastalıklarında ağrı insidansı %51 dolaylarındadır. Ağrılar kanserin evreleriyle yakından ilgilidir. Opiyatlar kronik kanser ağrılarının tedavisinde kullanılan temel analjeziklerdir. Ciddi ve inatçı ağrılarda opioidleri düzenli aralıklarla uygulamak iyi sonuç verir. Opiyatların parenteral etkileri daha fazladır. Opiyatların etki süresi genellikle kısadır, fentanil transdermal uygulamada 72 saat süre ile etki sağlar. Parenteral morfin ise 10 mg dozda 3-4 saatlik etki oluşturmaktadır.

Kullanılan opioidlerin etkinliği etki süresi kadar yan etkileriyle de ilgilidir. Kronik kanser ağrısının tedavisinde genellikle morfin kullanılır. ABD de bir çok opioid aspirin yada asetaminofen ile kombine haldedir. Özellikle orta şiddetli ağrılarda kullanılır. Tedavi sırasında tolerans, fizikselbağımlılık yada psikolojik bağımlılık gelişebilir. Bu nedenle, opioidler dışında trisiklik antidepresan ilaçlar, nonsteroidal analjezik-antiinflamatuvar ilaçlar, fenitoin gibi çeşitli terapötik modaliteler ile kombine biçimde veya tek başlarına kanser ve romatoid artrit gibi bazı kronik ağrılarının semptomatik tedavisinde kullanılabilmektedir (69-71).

2.4. Aljezi ve analjezinin deneysel modellerde ölçümü

Ağrının tanımlanması ve ölçülmesi çok zordur, çünkü ağrı eşiği ve ağrıya duyarlık türden türe ve aynı tür içinde de bireyden bireye ve cinsiyet farkına göre geniş ölçüde değişkenlik gösterir. Deney hayvanlarına uygulanan zararlı uyarının insanlar tarafından tanımlanan ağrıya yakın olup olmadığı da bilinmediği için bu durum analjeziklerin araştırılmasında bir sorun oluşturmaktadır.

Bilindiği gibi analjezikler geleneksel olarak, a) Narkotik analjezikler, b) Non-narkotik analjezikler olarak iki grupta toplandığı (72) için, bu grup ilaçlar için uygulanan yöntemler de iki grupta toplanabilmektedir:

1. Narkotik analjezikler için analjezi ölçüm metodları,
2. Non-narkotik analjezikler için analjezi ölçüm metodları.

2.4.1. Narkotik analjezikler için analjezi ölçüm metodları

Bunları da şu alt gruplarda toplamak olasıdır:

1. Kuyruk kıştırma (The tail-clip),
2. Kuyruk baskısının ölçülmesi.(Measured Caudal Compression),
3. Termal uyarı,
4. Petidin potansiyasyonu,
5. Nalorfin antagonizması,
6. Oksitosin krampı,
7. Lenste oposite.

Bu testlerden ilk üçü narkotik analjezikler için en yaygın biçimde kullanılan testlerdir. Bu nedenle, bunlardan aşağıda daha ayrıntılı olarak söz edilecektir.

2.4.1.1. Kuyruk kıştırma (The tail-clip)

Bir grup fareye, deney maddesi ya subkutan yada i.v. olarak verilir. 30 dk sonra farenin kuyruğunun taban kısmı küçük bir arter klipi ile 30 sn sıkıştırılır. ilaç verilmeyen fareler, uygulanan klipi 3 sn gibi kısa bir sürede farkedebilir ve ısırarak klipi açmak için sürekli çaba sarfederler. Analjezikler, farenin klipi farketmesine geciktirir ve reaksiyon için gereken süreyi uzatır. Klip tarafından uygulanacak basınç ayarlaması önemlidir. Özellikle kontrol grubundaki farelere klipi açmak için çaba göstermelerine yetecek kadar basınç uygulanmalıdır (73,74).

Bu testte subkutan uygulama, toksisitesi az ve analjezik etkisi daha fazla olan maddeler için tercih edilmelidir. Bu test "Sıcak levha (Hot-Plate)" testine göre daha üstündür. İnsanlardaki ağrı, daha çok talamus ve cortexle ilgilidir. Oysa, hayvanlarda ısı ile verilen zararlı uyaran omurilikle ilgilidir. Bu yüzden, yüksek merkezleri kapsayan analjezi testleri daha caziptir (72).

2.4.1.2. Kuyruk baskısının ölçülmesi (Measured Caudal Compression)

içi sıvı ile dolu, bükülebilir elastik olmayan plastik tüple birbirine ucuca bağlanmış iki şırıngadan oluşan araç farenin kuyruğuna artan bir basınç uygulamak için kullanılmıştır. Tüpün yan kolu bir manometreye bağlıdır. İlk şırınga ucu yukarıda olacak şekilde dik pozisyonda tutulur. Farenin kuyruğu bu pistonun altına yerleştirilir. İkinci şırıngaya basınç uygulandığında bu basit hidrolik sistem aracılığıyla birinci şırıngaya ve farenin kuyruğuna iletilir. İkinci şırınganın düzenli olarak sıkıştırılmasıyla farenin kuyruğundaki basınç artar. Rat önce çaba gösterir, ardından bağıрма şeklinde yanıt alınınca manometre okunur. İstirahat pozisyonunda manometre okunur daha sonra kontrol ve ilaç alan gruptaki manometre düzeyi okunur (72).

2.4.1.3. Termal uyarı

Burada iki ayrı tip teknikten söz etmek mümkündür. Birinci teknikte, kuyruğu sıcak su içine daldırılır ve reaksiyon süresi belirlenir (52,75,76). İkinci teknik olan, Eddy'nin sıcak levha (Hot plate) tekniğinde fareler sıcak bir levha üzerine konur (77,78). Reaksiyon zamanı hayvanların levha üzerine konulduğu andan, ayaklarını yaladığı yada levhadan atlayıp çıktığı an arasındaki zamandır. Bu uygulama dışında, termal uyarı olarak radian ısıtıcıların kullanılması da daha kesin gözlemler yapılmasına olanak sağlamaktadır (72). Sıcak plaka yöntemi, yalnızca analjezik aktivite testinde değil, ataraktik aktivite testinde de kullanılmaktadır. Analjezik, ataraktik yada sakinleştirici etkisi olan her madde test edilebilir.

2.4.2. Non-narkotik analjezikler

Non-narkotik analjezikler için şu yöntemler yaygın olarak kullanılmaktadır:

1. Kimyasal maddelerle indüklenen kıvranma testi,
2. Pododolimetre Yöntemi,
3. Rektodolorimetre.

2.4.2.1. Kimyasal maddelerle indüklenen kıvranma testi

Bu test non narkotik analjeziklerin taranmasında en sık kullanılan yöntemdir. Farelere ya asetik asit ya fenilkinon yada p-benzokinon verilir (79,80). İntraperitoneal enjeksiyonla zayıf analjeziklerle antagonize edilebilen yanıt ortaya çıkarılır. Farelere fenilkinon çözeltisi enjekte

edilir ve 20 dk lık sürelerle gözlenerek farelerdeki kıvranmalar sayılır. Verilen non narkotik analjeziklerle de grubun % 50 sinde kıvranma yanıtını engelleyen ED₅₀ bulunmaktadır (72).

2.4.2.2. Pododolimetre Yöntemi

Bu yöntem zararlı uyaran olarak elektrik akımını kullanır (81-83). Fare kafesinin tabanına bilinen voltajda akım alan şeritler yerleştirilir . Fare kafese konur, hayvanın bağırmasına neden olan minimal voltaj bulunur, 1 saat boyunca her 10 dk da bir ölçüm yapılır. Test maddesi enjekte edilir, voltaj tespiti 10 dk. da bir yapılır. Analjezik özelliğe sahip madde, bağırma neden olan voltajı arttırır. Voltaj değeri kontrol değerine dönünceye kadar tespite devam edilir (72,81).

2.4.2.3. Rektodolorimetre

Rat, indüksiyon bobinine bağlı bakır tabanı olan kafese yerleştirilir. Bobinin iki ucu rektuma yerleştirilen silindirik bakır elektroda bağlıdır. 0.1 V.a duyarlı bir voltmetre bobine bağlı kondüktöre bağlanır. Rektal elektrod kuyruğa bağlanarak sabitleştirilir ve kafesin dışına uzatılır. Bağırma ve zıplama reaksiyonları belirlenir (82).

2.5. Hypericum perforatum

Hypericum perforatum L. halk arasında binbirdelik otu, yaraotu, kanotu, mayasilotu, kuzukıran yada sarıkantaron olarak bilinmektedir. Guttiferae familyasına aittir. Türkiye'de ve Avrupa'da yaygın olarak yetişmektedir (84). Bileşiminde tanen (%10), uçucu yağ(%0.1), flavonoit(%4-5), hiperisin ve pseudohiperisin adı verilen diantron yapısında renk maddesi taşımaktadır. Taşıdığı tanen ve uçucu yağdan dolayı dahilen %1 lik infüzyon halinde antispazmotik, kabız, yatıştırıcı, kurt düşürücü olarak kullanılmaktadır. Zeytinyağı ile hazırlanan ekstresi yara iyi edici ve antiseptik olarak kullanılmaktadır (85-88). Bunun yanısıra mide ülseri, şeker hastalığı, soğukalgınlığı (89), mide-barsak hastalıkları, safra hastalıkları, sarılık ve karaciğer hastalıklarında kullanıldığı bildirilmektedir (90). Halk arasında haricen, inflamasyon ve hemoroidlerde, romatizma, koksajji ve siyatik tedavisinde kullanılmaktadır (90,91). Antitümoral etkisinin olduğu da söylenmektedir (91). Halk arasında kullanımının yanısıra bilimsel olarak deneysel çalışmalarda, gelecek için

Önem taşıyan etkileri olduğu bildirilmiştir. Özellikle antiviral (92,93,94), anti-HIV (95), hepatoprotektif (96) ve immünostimülan (97) etkiler önem kazanmıştır.

Ancak, bu tez kapsamında ele alınan aktiviteler SSS ni ilgilendirmektedir. İngiltere ve Rusya'da sedatif ve analjezik olarak ayrıca siyatik ve menopozomal nevroz durumlarında kullanıldığı bildirilmektedir (90,98). Bu bitkiyle yapılan klinik çalışmalarda depresif semptomlar gösteren kadınlarda anksiyete, anoreksi, hipersomnia, insomnia ve ilgi kaybı gibi depresyon belirtilerinin önemli ölçüde düzelme gösterdiği anlaşılmıştır (99). İspanya'da antiepileptik ve antihisterik, stimulan ve analjezik olarak kullanıldığı bildirilmektedir (100). Batı avrupa ülkelerinde H. perforatum ekstresi içeren ticari müstahzarlar nörolojik amaçlarla satışa sunulmuştur (101). Bağımlılık oluşturmadığı ve kullanımına bağlı olarak önemli bir yan etkisi bulunmadığı için son zamanlarda hafif ve orta derecede depresyonun tedavisi için psikiatrik kullanımı yaygınlaşmaktadır (102-104). Ayrıca, diğer klasik antidepresan ilaçlardan farklı olarak kullanımı sırasında sedasyon oluşturmadığı için ayakta tedavi gören depresyonlu hastaların tedavisi için Hypericum perforatum ekstresi son derece avantajlı olarak görülmektedir (104-106). Antidepresif etkisinin Monoamin oksidaz enzim (MAO) inhibisyonundan kaynaklandığı sanılmaktadır. Gerek bitkinin, gerekse bileşimindeki hiperisin isimli kinoid yapıllı bileşiğin MAO inhibisyonu yaptığı ileri sürülmüştür (100,107,108). Ancak son zamanlarda, bu bitkinin ekstresinden hazırlanan hiperisince fakir fraksiyonların, fazla hiperisin içeren fraksiyonlara göre daha yüksek MAO inhibisyonu sağladığı saptanmıştır (109). Son zamanlarda gerçekleştirilen bir dizi çalışma ile bu bitkinin analjezik etkinliği deneysel olarak kanıtlanmıştır (110). Bu arada, H. perforatum ile görülen analjezik etkinin de MAO inhibisyonu ile ilişkili olduğu kabul edilemektedir, ancak tek başına bu tür bir inhibisyonun yeterli düzeyde analjezik etki sağlayamayacağı fikri savunulmaktadır (111). Bu durumda, sözkonusu bitki ekstresi ile gözlenen analjezik etkide diğer SSS mekanizmalarının da en azından kısmen rolünün olacağı fikri doğmaktadır. Bu tez kapsamında, Hypericum perforatum bitkisinin analjezik etki mekanizmasında yer alabilecek diğer fizyolojik süreçler araştırılacaktır.

3. YÖNTEM VE GEREÇLER

3.1. Bitkisel Materyal

İnegöl-Domaniç karayolu civarından toplanıp gölgede kurutulduktan sonra herbaryum örnekleri alınmış *Hypericum perforatum* L. bitkisinin herbasından 50 g alınıp % 50 (h/h) alkol-su ile ekstre edilmiş, ekstre süzülükten sonra vakum altında alkolü uzaklaştırıldıktan sonra liyoflizasyon ile kuru ekstre elde edilmiştir. Ekstre verimi % 27.4 (a/h) olarak hesaplanmıştır.

3.2. Hayvanlar

Tüm çalışmalarda 30-45 g ağırlığında yetişkin erkek albino fareler kullanılmıştır. Fareler, farmakolojik deneylerin öncesinde $20\pm 6^{\circ}\text{C}$ de, iyi havalandırılmış odalarda yaşatılmıştır. Ayrıca, deneyler öncesinde hayvanların, gürültü vb. stres yaratan koşullardan olabildiğince uzak tutulmalarına özen gösterilmiştir. Beslenmeleri amacıyla standart yem palletleri verilmiş istedikleri kadar yem ve su tüketmelerine izin verilmiştir.

3.3. Farelerde "Tail-Flick" Testi

Farelerde "Tail-flick" testi daha önce tanımlanmış olan yöntemler esas alınarak yapılmıştır (74,112). Bu testin uygulaması için her grupta beşer fare olmak üzere aşağıda belirtilen gruplardaki hayvanlara çeşitli ilaçlar ve bitki ekstraları verildi. Herbir durum için enjeksiyonlar 0.2 ml yi geçmeyen hacimlerde uygulandı. Kontrol grubuna ise sadece 0.2 ml %0.9 serum fizyolojik enjekte edildi. Enjeksiyonlardan yarım saat sonra farelerin kuyruklarına birer damar pensu (Bull clamp) tutturularak hayvanın reaksiyon zamanı bir kronometre yardımı ile ölçüldü. Burada gözlenmesi gereken reaksiyon hayvanın dönerek kuyruğundaki pensu ısırma ve pensten kurtulmaya yeltenmesidir. Her grup için reaksiyon sürelerinin ortalamaları hesaplandı.

3.3.1. Morfin enjeksiyonları

Distile su içinde çözülen morfin sülfat 0.2 ve 2.0 mg/kg dozlarda intraperitoneal olarak farelere verildikten yarım saat sonra hayvanların "tail-flick" reaksiyon zamanları ölçüldü. Bazı hayvanlara ise 0.2 mg/kg

morfin enjeksiyonundan yarım saat önce nalokson (0.2 mg/kg), rezerpin (0.25 mg/kg), kafein (10 ve 75 mg/kg) ya da D-fenilalanin (3.3 ve 6.6 mg/kg) intraperitoneal olarak verilerek etkileşimler incelendi.

3.3.2. Trimeprimin ve Dezipramin enjeksiyonları

Distile su içinde çözülen trimeprimin maleat (5 ve 10 mg/kg dozlarda) ve dezipramin hidroklorür (7.5 ve 15 mg/kg dozlarda) intraperitoneal olarak farelere verildikten yarım saat sonra hayvanların "tail-flick" reaksiyon zamanları ölçüldü. Bazı hayvanlara ise 10 mg/kg trimeprimin ve 15 mg/kg dezipramin enjeksiyonlarından yarım saat önce nalokson (0.2 mg/kg), rezerpin (0.25 mg/kg), kafein (10 ve 75 mg/kg) ya da D-fenilalanin (3.3 ve 6.6 mg/kg) intraperitoneal olarak verilerek etkileşimler incelendi.

3.3.3. Hypericum perforatum ekstresi enjeksiyonları

Distile su içinde çözülen liyofilize H.perforatum ekstresi, 125 ve 250 mg/kg dozlarda intraperitoneal olarak farelere verildikten yarım saat sonra hayvanların "tail-flick" reaksiyon zamanları ölçüldü. Bazı hayvanlara ise 250 mg/kg ekstre enjeksiyonundan yarım saat önce nalokson (0.2 mg/kg), rezerpin (0.25 mg/kg), kafein (10 ve 75 mg/kg) ya da D-fenilalanin (3.3 ve 6.6 mg/kg) intraperitoneal olarak verilerek etkileşimler incelendi.

3.3.4. Fenoprofen enjeksiyonları

Distile su içinde çözülen fenoprofen sodyum 4 ve 10 mg/kg dozlarda intraperitoneal olarak farelere verildikten yarım saat sonra hayvanların "tail-flick" reaksiyon zamanları ölçüldü.

3.3.5. Kafein enjeksiyonları

Distile su içinde çözülen kafein 10 ve 75 mg/kg dozlarda intraperitoneal olarak farelere verildikten yarım saat sonra hayvanların "tail-flick" reaksiyon zamanları ölçüldü.

3.3.6. D-fenilalanin enjeksiyonları

Distile su içinde çözülen D-fenilalanin 3.3 ve 6.6 mg/kg dozlarda intraperitoneal olarak farelere verildikten yarım saat sonra hayvanların "tail-flick" reaksiyon zamanları ölçüldü.

3.3.7. Rezerpin enjeksiyonu

Distile su içinde çözülen rezepin 0.25 mg/kg dozda intraperitoneal olarak farelere verildikten yarım saat sonra hayvanların "tail-flick" reaksiyon zamanları ölçüldü.

3.4. Verilerin istatistiksel analizi

Hayvanlardan elde edilen tüm değerler, tek tek deneysel verilerin aritmetik ortalamasıdır. Ayrıca, ortalamanın standart hatası (OSH) hesaplanmış ve bu ortalama değerlerin sağ tarafında (\pm) olarak verilmiştir. Her bir deneyde kullanılan hayvan sayısı (n) olarak ifade edilmiştir. Kontroller ile bitki ekstresi uygulanan hayvanlar arasında görülen farklılıklar Student t-testi ve varyans analizi uygulanarak istatistiksel açıdan araştırılmıştır (113,114). Farklı dozlara karşı alınan yanıtların doza bağımlılık derecelerini saptamak için lineer regresyon analizi uygulanmıştır (114). Deney sonuçları olarak elde edilen tüm verilerin istatistik analizleri için IBM PS/2 Model 80 marka bilgisayarda işletilen ve BASIC programlama dilinde yazılmış bir hesaplama programı kullanılmıştır (115). Tezde kullanılan grafikler Harvard Graphics Version 3.0 kullanılarak çizilerek ve tez Lotus Manuscript Versio 2.0 programı ile yazılarak bilgisayarda hazırlanmıştır.

3.5. Kullanılan kimyasal madde ve ilaçlar

Morfin sülfat (Sigma, St.Louis, ABD), dezipramin hidroklorür (Sigma, St.Louis, ABD), trimeprimin maleat (Specia, Paris, Fransa), nalokson hidroklorür (Sigma, St.Louis, ABD), D-Fenilalanin (Sigma, St.Louis, ABD), fenoprofen sodyum (Lilly, Surrey, İngiltere), kafein (Sigma, St.Louis, ABD), rezepin (Ciba, İstanbul, Türkiye).

4. BULGULAR

4.1. İlaçların analjezik etkileri

Belirtilen dozlarda kullanılan morfin (Şekil 4.1.), trimeprimin (Şekil 4.2.), dezipramin (Şekil 4.3.), Hypericum perforatum ekstresi (Şekil 4.4.), fenoprofen (Şekil 4.5.), kafein (Şekil 4.6.) ve D-fenilalanin (4.7.) ile "Tail-flick" testinde belirgin analjezik etkiler gözlenmiştir. Yapılan regresyon analizlerinin sonuçlarına göre, D-Fenilalanin dışında, bu ilaçların hepsinin analjezik etkileri doza bağımlı biçimde ortaya çıkmaktadır. Düşük regresyon parametreleri ($r^2=0.750$; $p<0.10$) D-fenilalaninin analjezik etkisinin doza bağımlılık göstermediğini ortaya koymaktadır. Benzer biçimde, 0.25 mg/kg dozda intraperitoneal olarak uygulanan rezepin ile de belirgin analjezik aktivite gözlenmiş (Şekil 4.8.), ancak bu etkinin doza bağlı olmadığı görülmüştür. Bu yüzden grafikte rezepinin sadece tek dozu gösterilmiştir. Bu durum, "Tail-flick" testinde rezepinin "Hep-veya-hiç" tarzında bir etkisinin olduğunu göstermektedir. Bilindiği gibi bazı nöronal elemanlarda bir fizyolojik uyarının etkisi bazen uyarının şiddeti ile orantılı olarak değişmemekte, uyarının şiddeti ne olursa olsun aynı boyutta cevap alınmaktadır. Ancak bunun için belli bir eşik uyarının oluşması gerekmektedir (116). Tablo 4.1 de yukarıda sözü edilen bu etkiler birarada görülmektedir.

4.2. İlaçların analjezik etki açısından etkileşimleri

4.2.1. Naloksonun etkisi

Tek başına 0.2 ve 3 mg/kg dozlarda intraperitoneal uygulanan naloksonun farelerle yapılan "Tail-flick" testinde herhangi bir analjezik ya da analjezik bir etkisi gözlenmemiştir. Ancak 0.2 mg/kg nalokson, 2 mg/kg dozda uygulanan morfinin analjezik etkisini belirgin biçimde antagonize etmektedir (Şekil 4.9.). Buna karşın 0.2 mg/kg dozda nalokson antidepresan ilaçlar, trimeprimin ve dezipramin ile oluşan analjezik aktiviteyi azaltmamış, hatta trimepriminin etkisini hafifçe arttırmıştır (Şekil 4.10.). 3 mg/kg dozda uygulanan nalokson ise gerek trimeprimin (Şekil 4.10.) gerekse dezipramin (Şekil 4.11.) ile oluşan analjezik etkiyi belirgin istatistiksel olarak anlamlı biçimde antagonize ettiği saptanmıştır. Benzer gözlemler Hypericum perforatum ekstresi ile de elde

edilmiştir: Buna göre, ekstrenin fare "Tail-flick" testinde gözlenen analjezik etkisi ancak 3 mg/kg intraperitoneal nalokson uygulaması ile antagonize edilmektedir (Şekil 4.12.).

4.2.2. Rezerpinin etkisi

Intraperitoneal yoldan 0.25 mg/kg dozda uygulanan rezerpinin tek başına analjezik etkisi görülmesine rağmen, morfin (Şekil 4.13.), trimeprimin (Şekil 4.14.), dezipramin (Şekil 4.15.) ve H.perforatum ekstresi (Şekil 4.16.) ile fare "Tail-flick" testinde oluşan analjezik etkiyi istatistiksel açıdan anlamlı biçimde değiştirmedeği anlaşılmıştır.

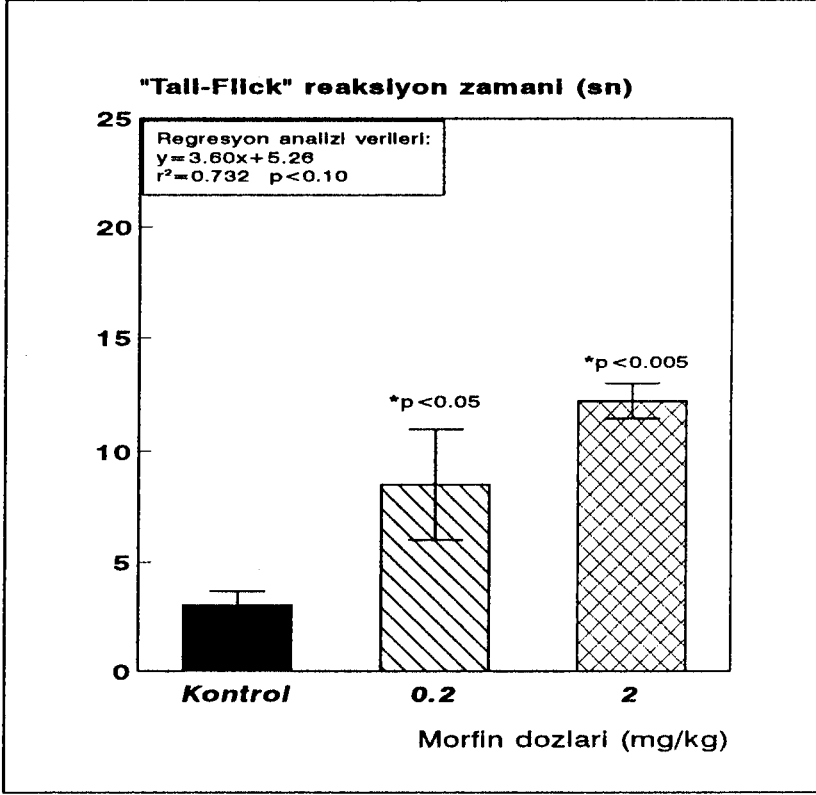
4.2.3. Kafeinin etkisi

Kafeinin 10 ve 75 mg/kg dozlarda intraperitoneal uygulandığında analjezik etkinin olduğu yukarıda belirtilmişti. Düşük doz (10 mg/kg) kafeinin morfinin "Tail-flick" testindeki analjezik etkisini istatistiksel açıdan anlamlı bir biçimde değiştirmedeği görülürken, yüksek doz kafein ile bu testte analjezik etkinin arttığı gözlenmiştir (Şekil 4.17). Düşük ve yüksek doz kafein ile gerek trimeprimin (Şekil 4.18.) gerekse dezipramin (Şekil 4.19) cevaplarının istatistiksel açıdan anlamlı bir şekilde değişmediği anlaşılmıştır. Hem düşük hem de yüksek doz kafein ile H.perforatum ekstresinin "Tail-flick" testindeki analjezik etkisinin inhibe edildiği görülmektedir (Şekil 4.20).

4.2.4. D-Fenilalaninin etkisi

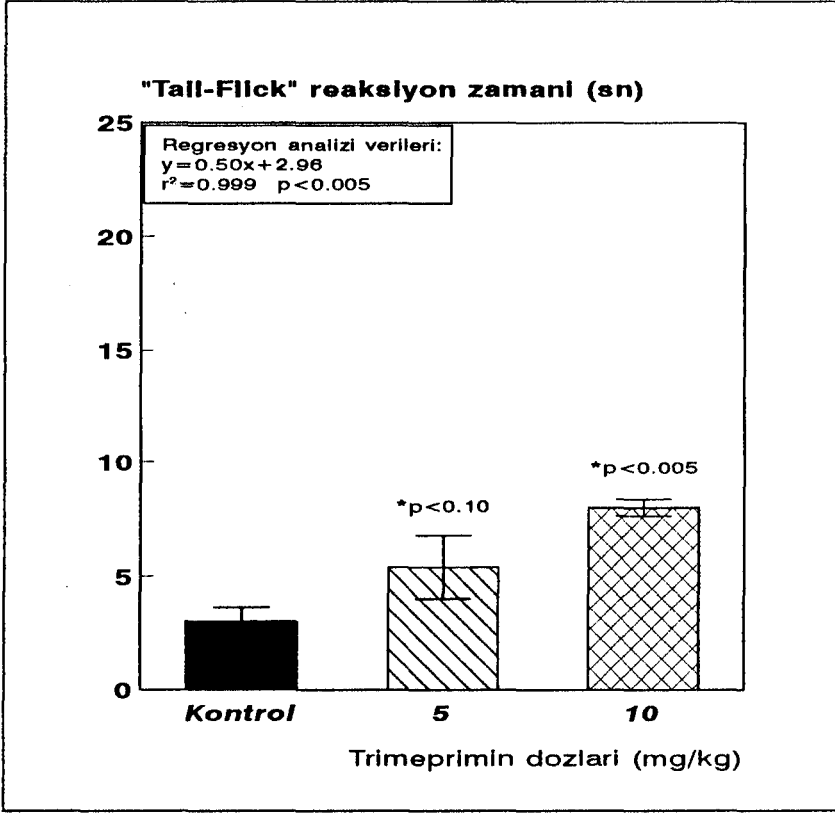
Tek başına farelere uygulandığında analjezik etkinliği olmayan düşük doz (3.3 mg/kg) D-fenilalaninin "Tail-flick" testinde morfin analjezisini hafifçe fakat istatistiksel açıdan anlamlı olmayan düzeyde arttırdığı anlaşılmıştır. Yüksek dozda (6.6 mg/kg) uygulandığında ise yüksek oranda analjezik etkinlik gösteren D-fenilalaninin morfin etkisini etkilemediği görülmektedir. Üstelik bu durumda sanki morfin D-fenilalaninin etkisini antagonize ediyor gibi görünmektedir (Şekil 4.21.). Düşük doz D-fenilalaninin gerek trimeprimin (Şekil 4.22.) gerek dezipramin (Şekil 4.23.) gerekse Hypericum perforatum ekstresi (Şekil 4.24.) ile fare "Tail-flick" testinde oluşan analjeziyi azalttığı görülmektedir. Ancak, burada bitki ekstresinin analjezik etkisinde görülen azalmanın

istatistiksel açıdan anlamlı olmadığı anlaşılmıştır. D-fenilalaninin düşük dozu ile görülen bu etki yüksek dozda (6.6 mg/kg) her üç madde için aynı şekilde kaybolmaktadır (Şekil 4.21., 4.22., 4.23.).



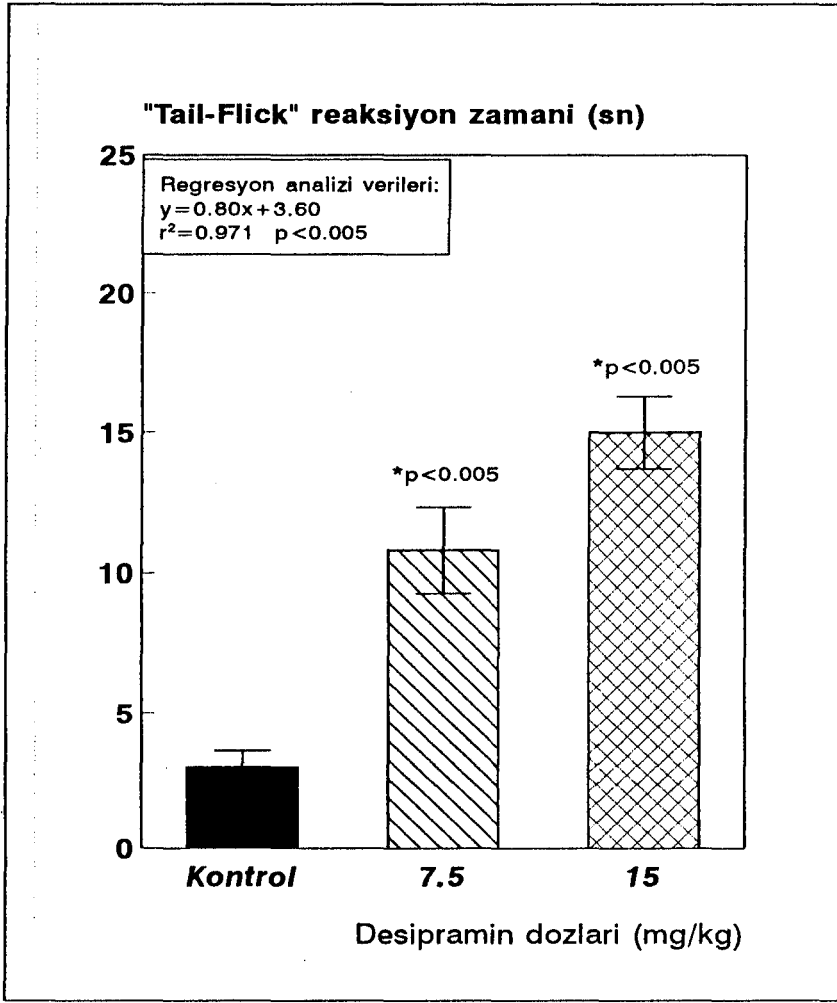
Vertikal çizgiler \pm standart hataları göstermektedir

Şekil 4.1 Morfin'in fare "Tail-flick" testindeki analjezik etkisi.*p: kontrole göre istatistiksel anlamlılık düzeyini göstermektedir.



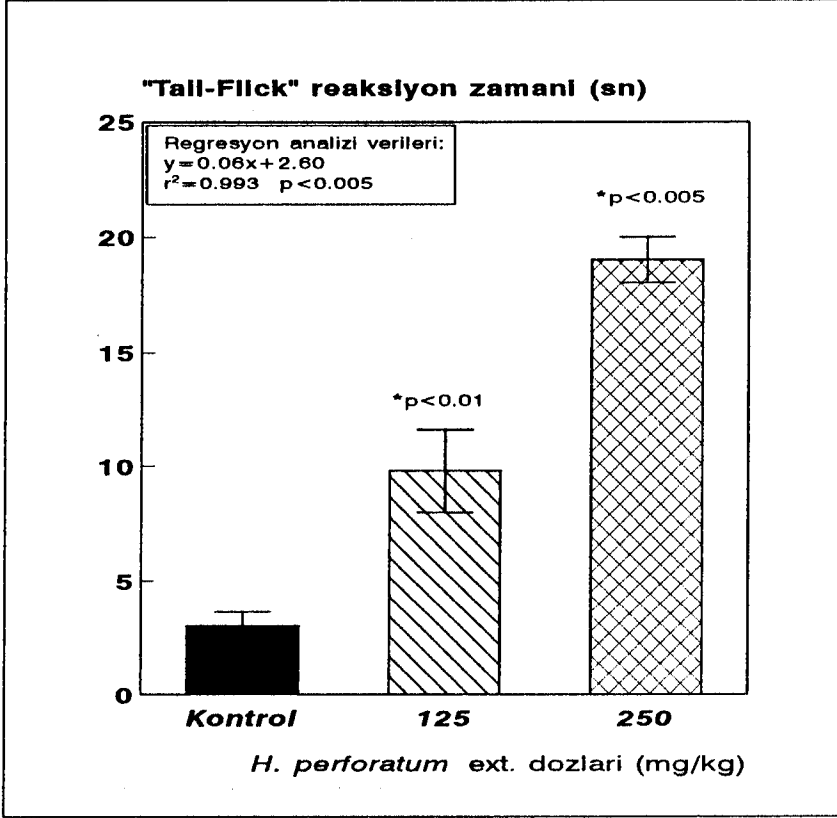
Vertikal çizgiler \pm standart hataları göstermektedir

Sekil 4.2 Trimeprim'in fare "Tail-flick" testindeki analjezik etkisi.*p: kontrole göre istatistiksel anlamlılık düzeyini göstermektedir.



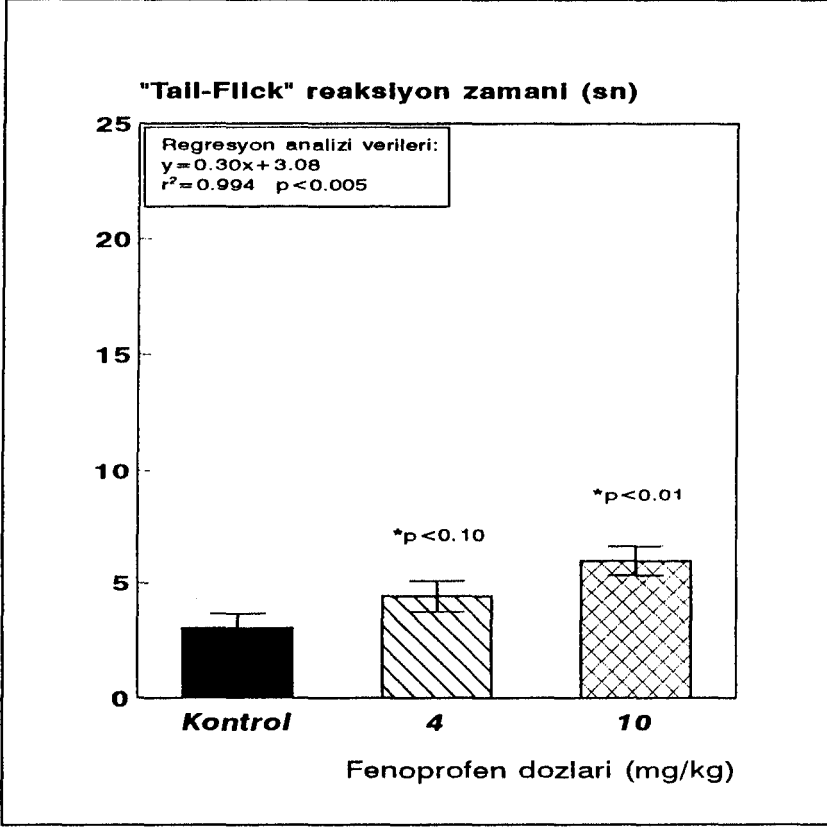
Vertikal çizgiler \pm standart hataları göstermektedir

Şekil 4.3 Desipramin'in fare "Tail-flick" testindeki analjezik etkisi.*p: kontrole göre istatistiksel anlamlılık düzeyini göstermektedir.



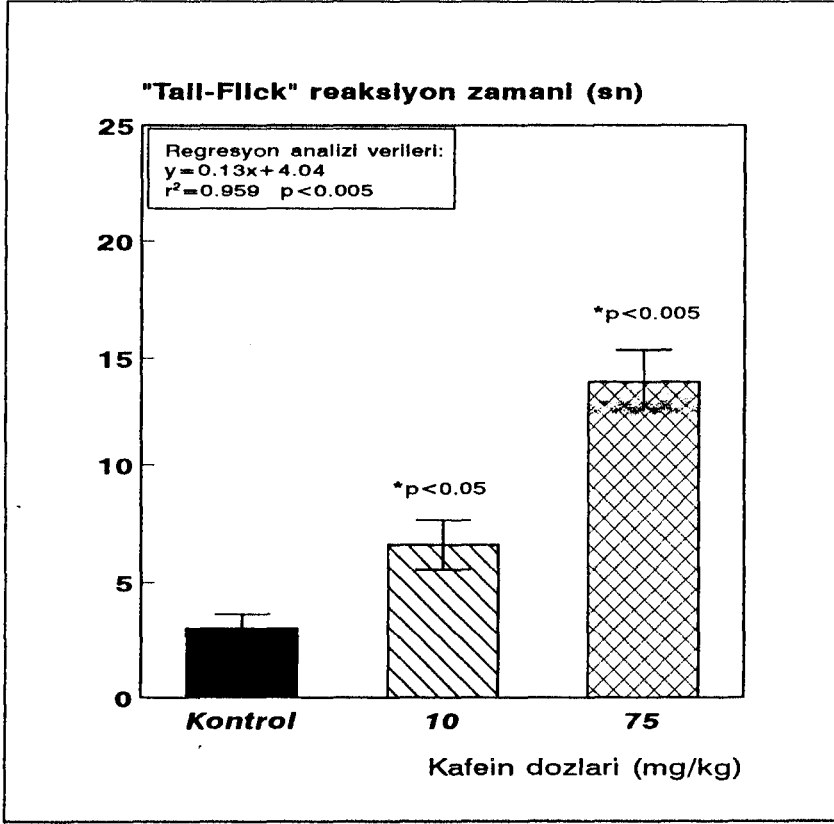
Vertikal çizgiler \pm standart hataları göstermektedir

Şekil 4.4 *Hypericum perforatum* ekstresinin fare "Tail-flick" testindeki analjezik etkisi.*p: kontrole göre istatistiksel anlamlılık düzeyini göstermektedir.



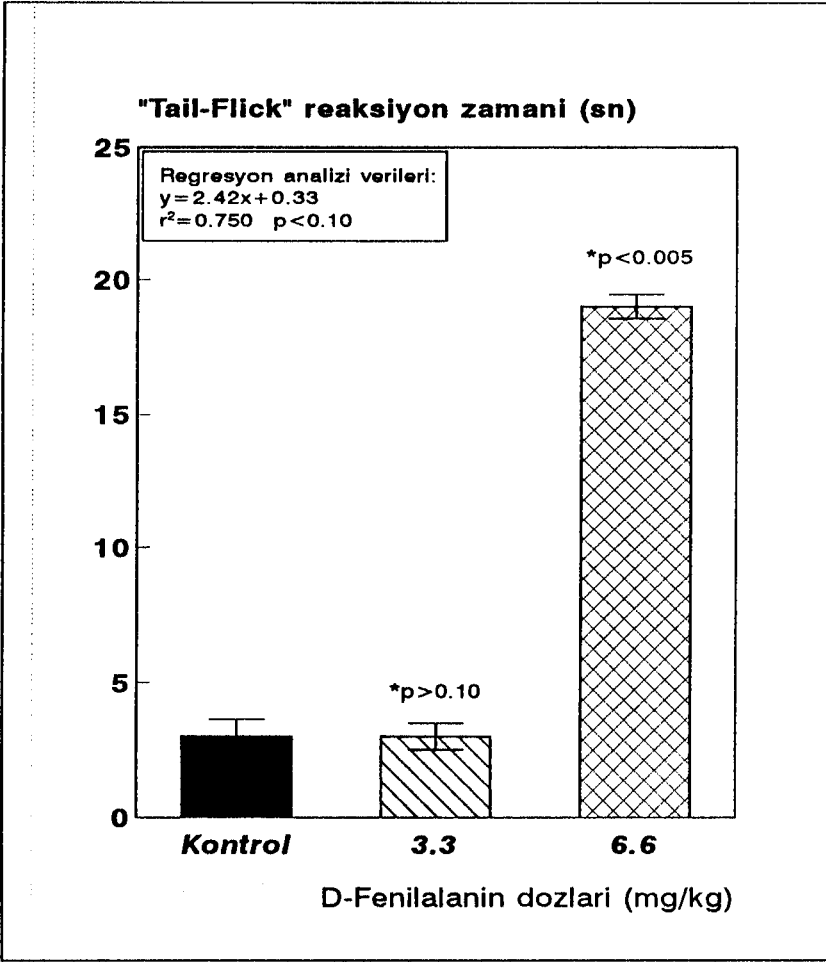
Vertikal çizgiler \pm standart hataları göstermektedir

Şekil 4.5 Fenoprofen'in fare "Tail-flick" testindeki analjezik etkisi.*p: kontrole göre istatistiksel anlamlılık düzeyini göstermektedir.



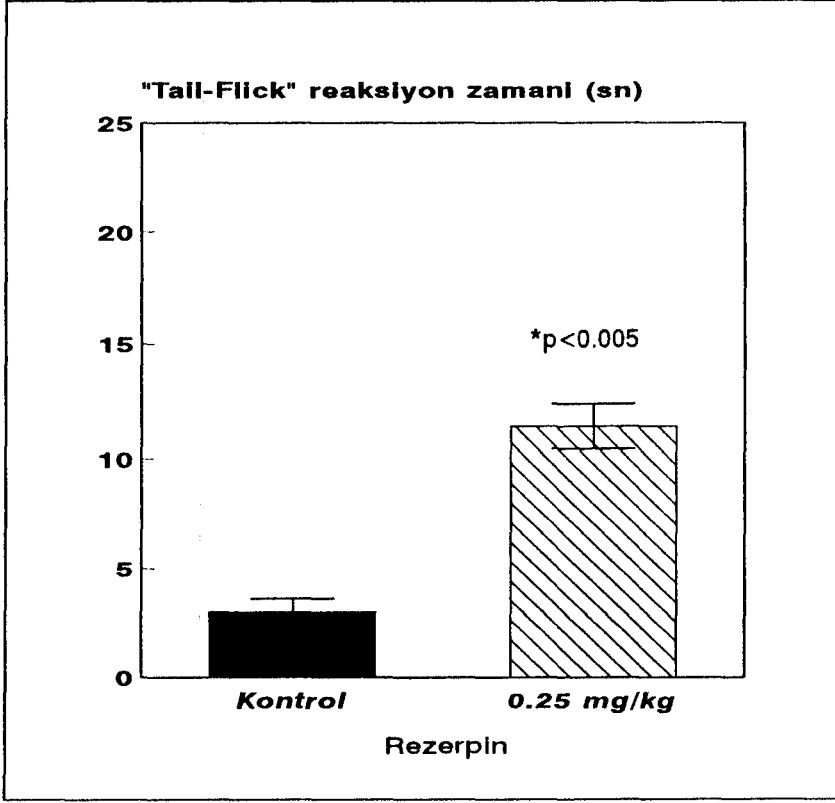
Vertikal çizgiler \pm standart hataları göstermektedir

Sekil 4.6 Kafein'in fare "Tail-flick" testindeki analjezik etkisi.*p: kontrole göre istatistiksel anlamlılık düzeyini göstermektedir.



Vertikal çizgiler \pm standart hataları göstermektedir

Sekil 4.7 D-Fenilalanin'in fare "Tail-flick" testindeki analjezik etkisi.*p: kontrole göre istatistiksel anlamlılık düzeyini göstermektedir.

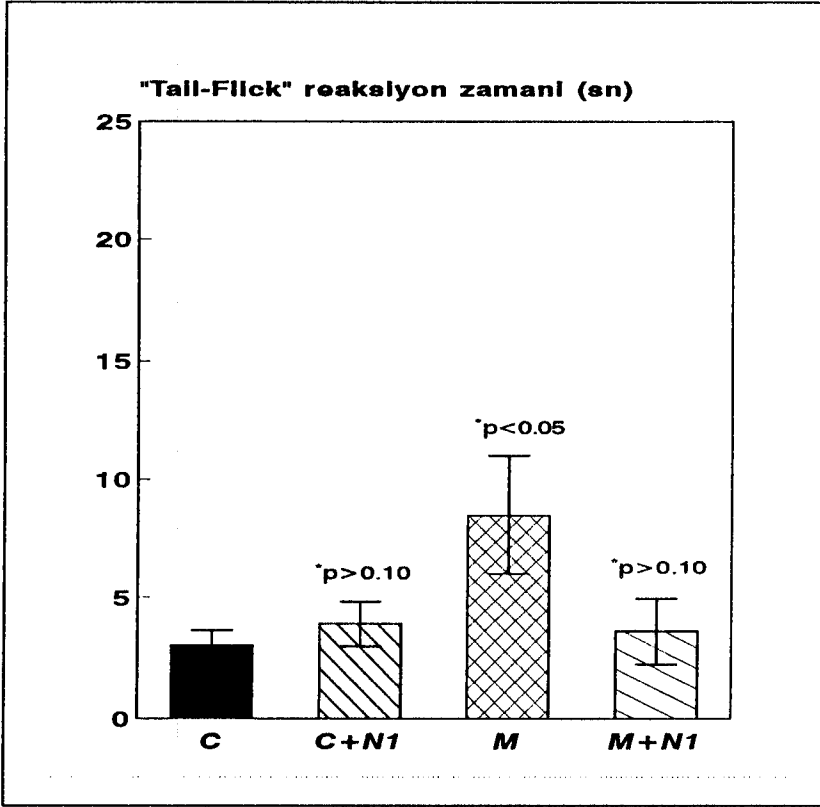


Vertikal çizgiler \pm standart hataları göstermektedir

Şekil 4.8 Rezerpin'in fare "Tail-flick" testindeki analjezik etkisi. *p: kontrole göre istatistiksel anlamlılık düzeyini göstermektedir.

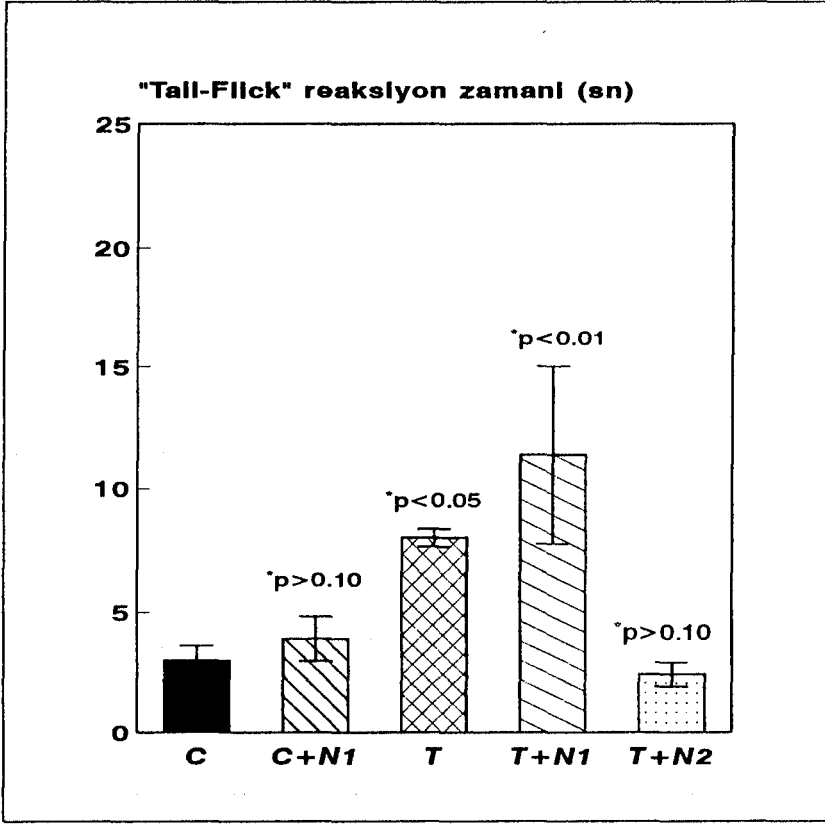
Tablo 4.1. Bazı ilaçlar ve *Hypericum perforatum* ekstresinin farelerde "Tail-flick" testindeki analjezik etkileri. (n, herbir deney grubunda kullanılan deney hayvanı sayılarını; OSH, ortalama değerlerin standart hatalarını göstermektedir.

Grup	Reaksiyon zamanı \pm OSH (sn)	n	istatistik anlam
Kontrol	3.00 \pm 0.63	10	
H.perforatum			
125 mg/kg	9.80 \pm 1.80	5	p<0.01
250 mg/kg	19.00 \pm 0.99	5	p<0.005
Morfin			
0.2 mg/kg	8.50 \pm 3.49	5	p<0.05
2 mg/kg	12.22 \pm 0.77	5	p<0.005
Trimeprimin			
5 mg/kg	5.40 \pm 1.39	5	p<0.10
10 mg/kg	8.00 \pm 0.36	5	p<0.005
Dezipramin			
7.5 mg/kg	10.80 \pm 1.51	5	p<0.005
15 mg/kg	15.00 \pm 1.31	5	p<0.005
Fenoprofen			
4 mg/kg	4.40 \pm 0.69	5	p<0.10
10 mg/kg	6.00 \pm 0.65	5	p<0.01
Kafein			
10 mg/kg	6.60 \pm 1.05	5	p<0.05
75 mg/kg	14.00 \pm 1.35	5	p<0.005
D-Fenilalanin			
3.3 mg/kg	3.00 \pm 0.49	5	p>0.10
6.6 mg/kg	19.00 \pm 0.45	5	p<0.005
Rezerpin			
0.25 mg/kg	11.40 \pm 0.97	5	p<0.005



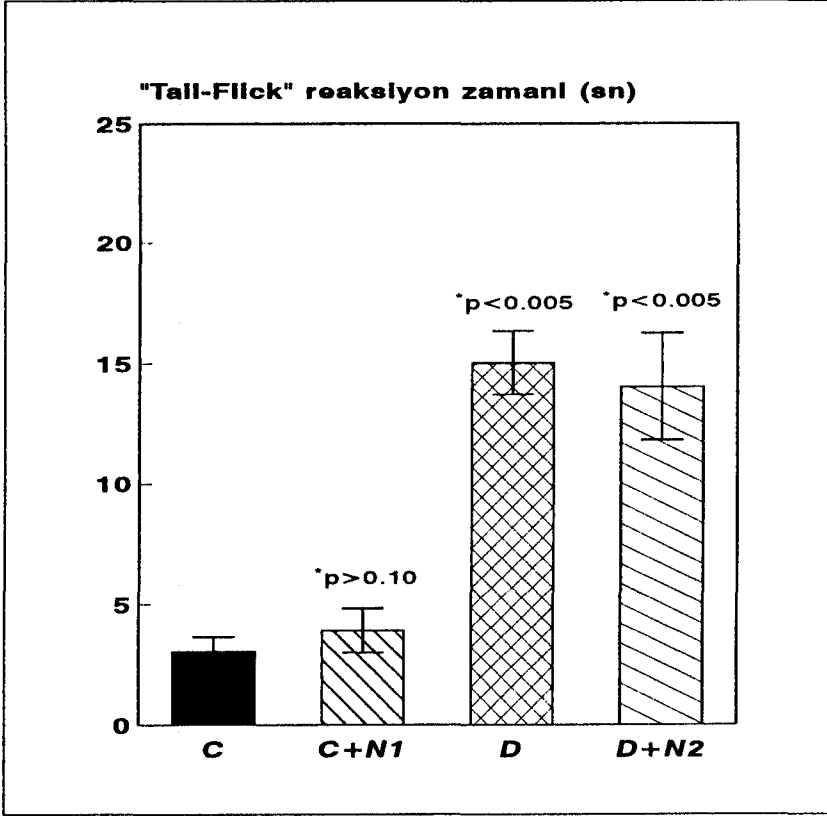
Vertikal çizgiler \pm standart hataları göstermektedir

Şekil 4.9 Düşük doz nalokson'un morfin ile oluşan analjezi üzerine etkisi. (N1: 0.2 mg/kg dozda nalokson; C: kontrol ve M: 2 mg/kg dozda morfin). *p: kontrole göre istatistiksel anlamlılık düzeyini göstermektedir.



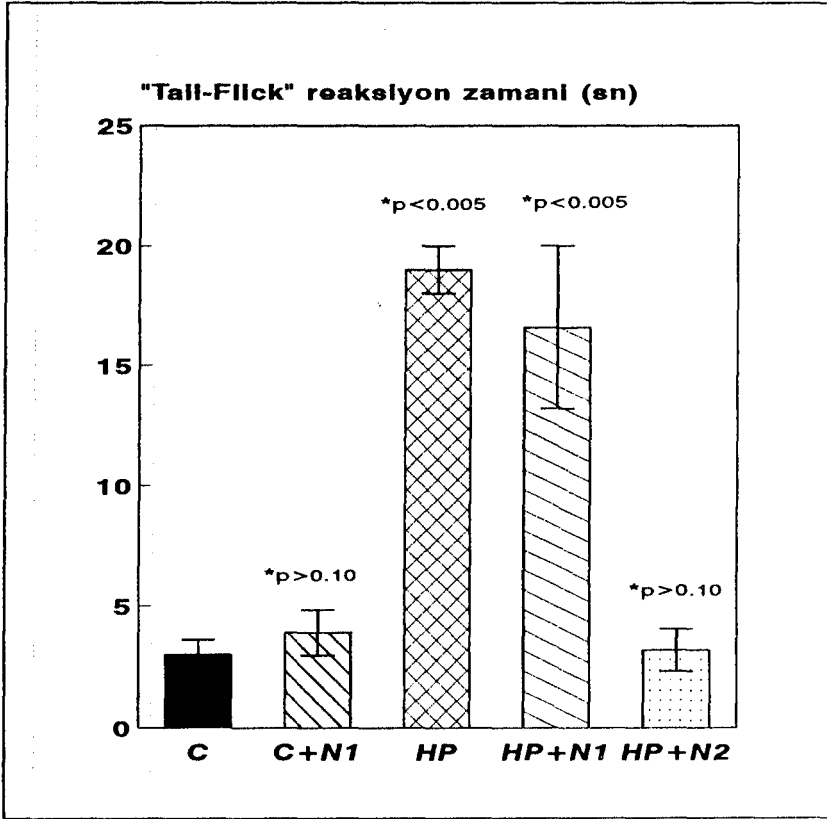
Vertikal çizgiler \pm standart hataları göstermektedir

Şekil 4.10 Düşük ve yüksek doz nalokson'un trimeprimin ile oluşan analjezi üzerine etkileri. (N1: 0.2 mg/kg ve N2: 3 mg/kg dozda nalokson; C: kontrol ve T: 10 mg/kg dozda trimeprimin). *p: kontrole göre istatistiksel anlamlılık düzeyini göstermektedir.



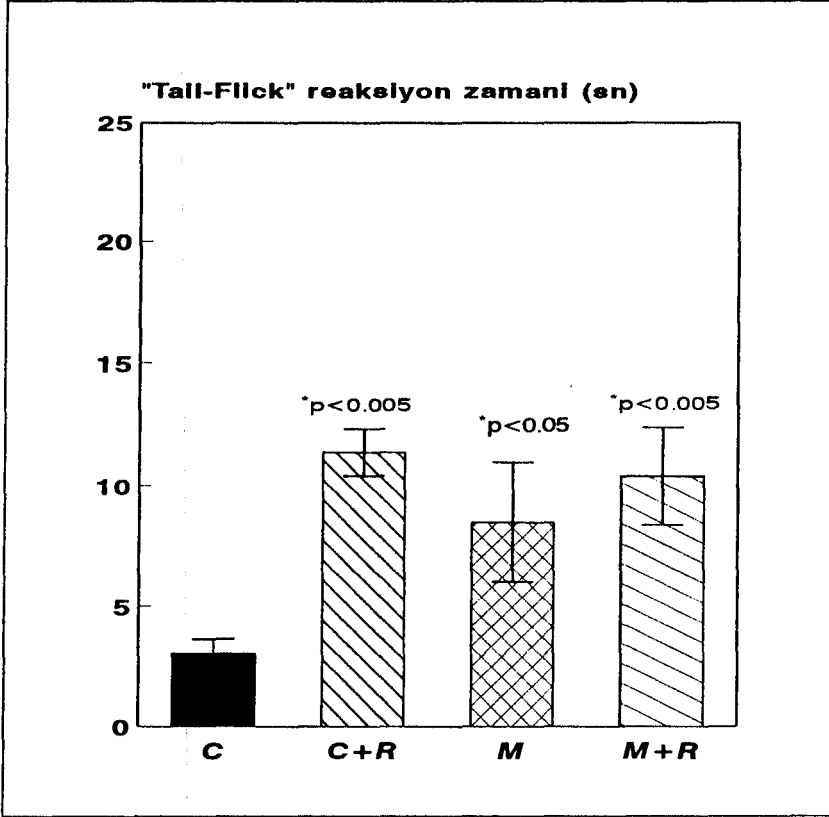
Vertikal çizgiler \pm standart hataları göstermektedir

Sekil 4.11 Düşük ve yüksek doz nalokson'un dezipramin ile oluşan analjezi üzerine etkileri. (N1: 0.2 mg/kg ve N2: 3 mg/kg dozda nalokson; C: kontrol ve D: 15 mg/kg dozda dezipramin). *p: kontrole göre istatistiksel anlamlılık düzeyini göstermektedir.



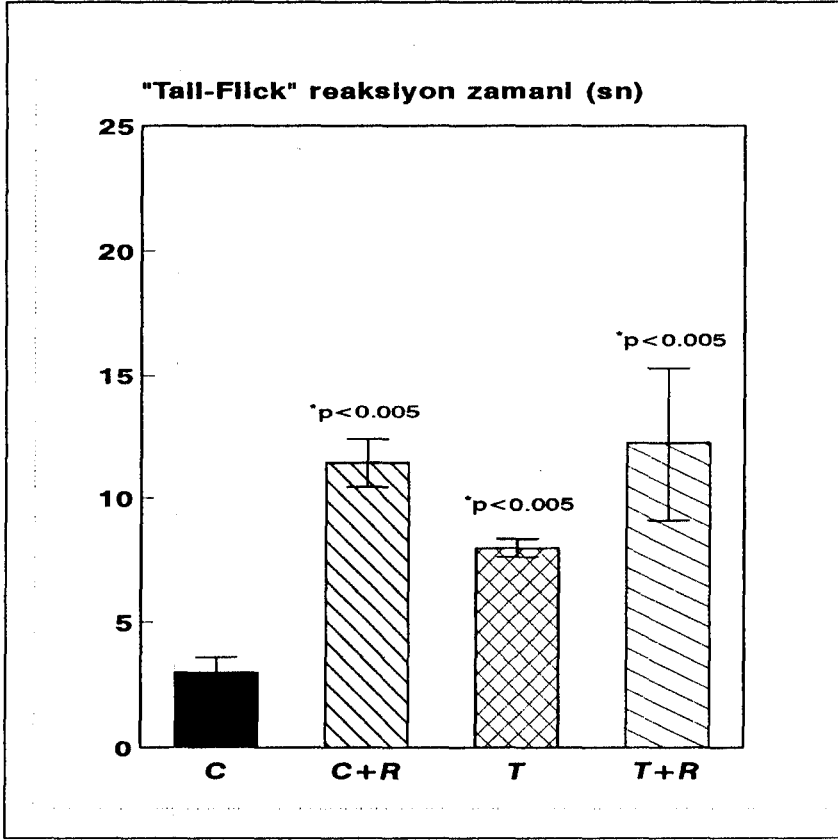
Vertikal çizgiler \pm standart hataları göstermektedir

Sekil 4.12 Düşük ve yüksek doz nalokson'un *Hypericum perforatum* ekstresi ile oluşan analjezi üzerine etkileri. (N1: 0.2 mg/kg ve N2: 3 mg/kg dozda nalokson; C: kontrol ve HP: 250 mg/kg dozda *H.perforatum* ekstresi). *p: kontrole göre istatistiksel anlamlılık düzeyini göstermektedir.



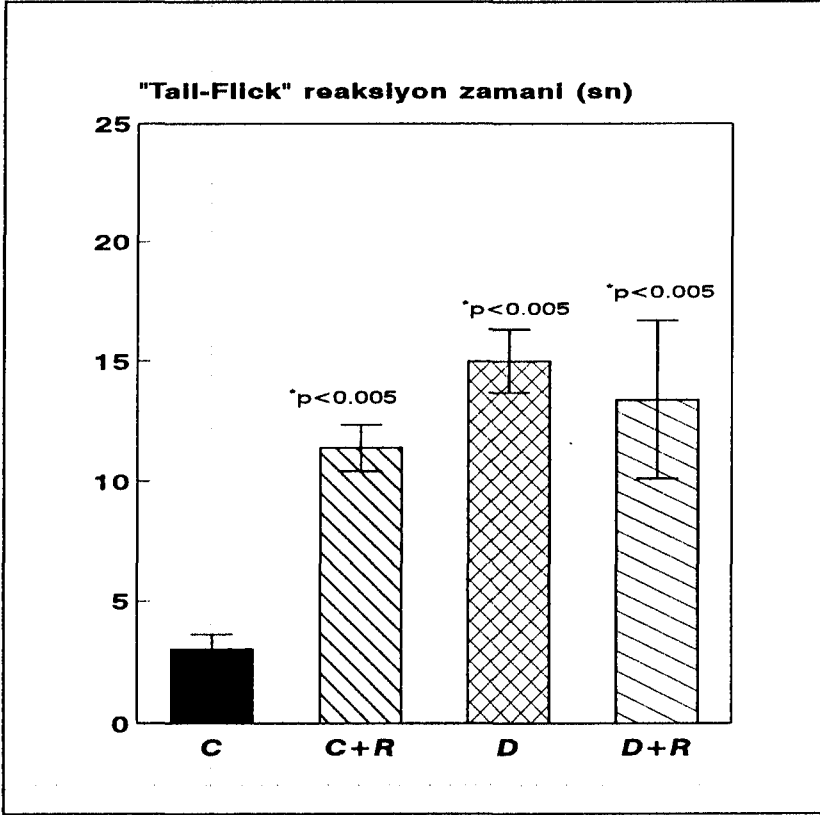
Vertikal çizgiler \pm standart hataları göstermektedir

Şekil 4.13 Rezerpin'in morfin ile oluşan analjezi üzerine etkisi. (R: 0.25 mg/kg dozda rezerpin; C: kontrol ve M: 2 mg/kg dozda morfin). *p: kontrole göre istatistiksel anlamlılık düzeyini göstermektedir.



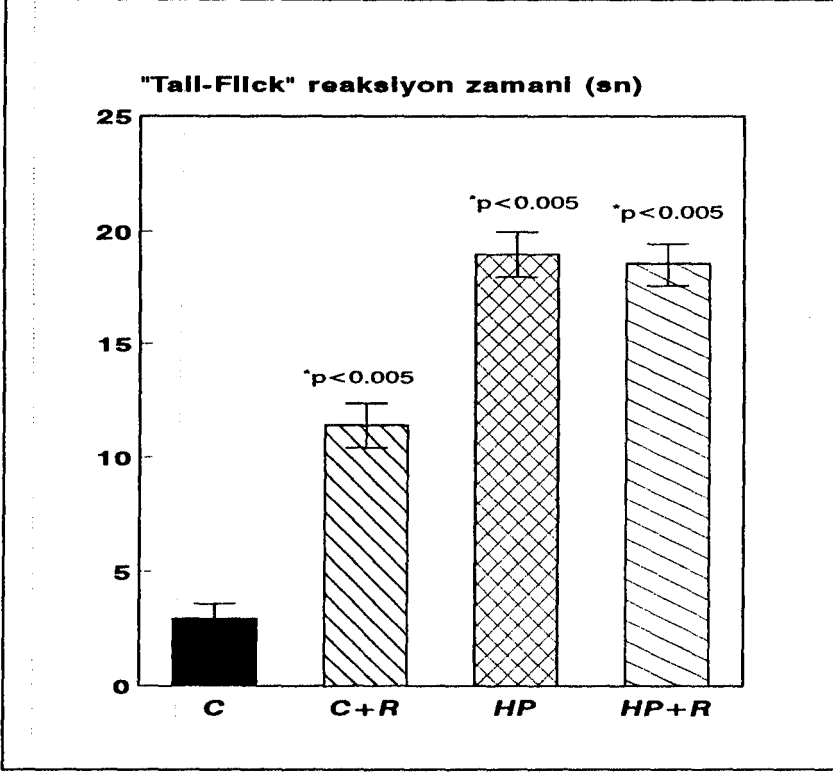
Vertikal çizgiler \pm standart hataları göstermektedir

Şekil 4.14 Rezerpin'in trimeprimin ile oluşan analjezi üzerine etkisi. (R: 0.25 mg/kg dozda rezerpin; C: kontrol ve T: 10 mg/kg dozda trimeprimin). *p: kontrole göre istatistiksel anlamlılık düzeyini göstermektedir.



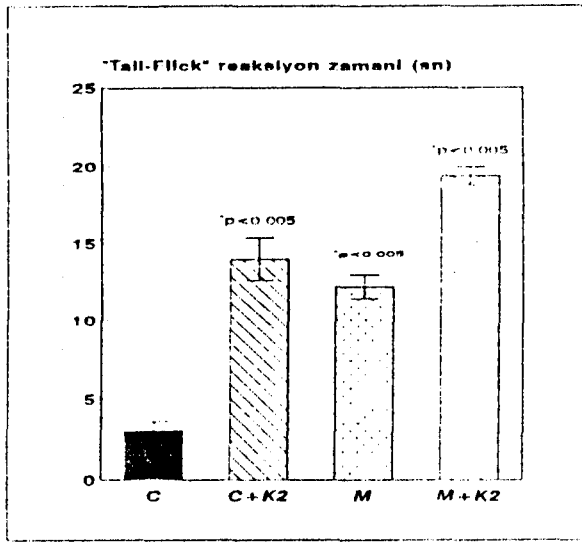
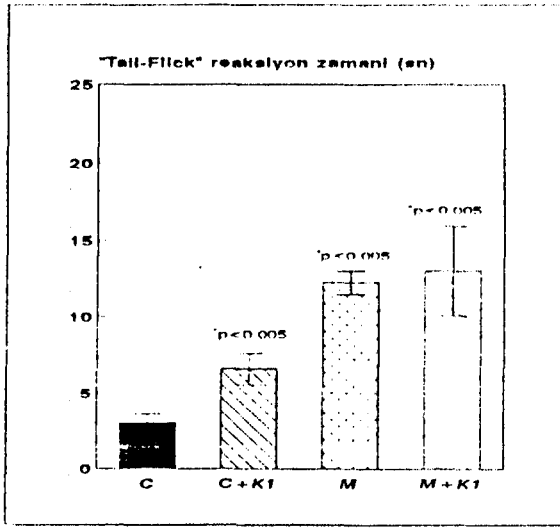
Vertikal çizgiler \pm standart hataları göstermektedir

Sekil 4.15 Rezerpin'in dezipramin ile oluşan analjezi üzerine etkisi. (R: 0.25 mg/kg dozda rezerpin; C: kontrol ve D: 15 mg/kg dozda dezipramin). *p: kontrole göre istatistiksel anlamlılık düzeyini göstermektedir.



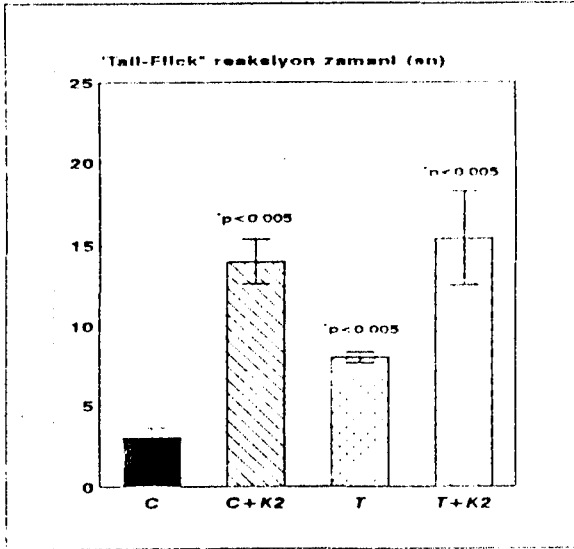
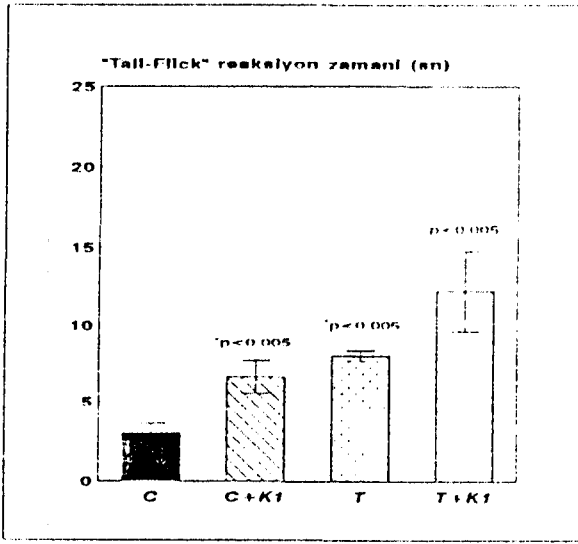
Vertikal çizgiler \pm standart hataları göstermektedir

Sekil 4.16 Rezerpin'in *Hypericum perforatum* ekstresi ile oluşan analjezi üzerine etkisi. (R: 0.25 mg/kg dozda rezerpin; C: kontrol ve HP: 250 mg/kg dozda H.perforatum ekstresi). *p: kontrole göre istatistiksel anlamlılık düzeyini göstermektedir.



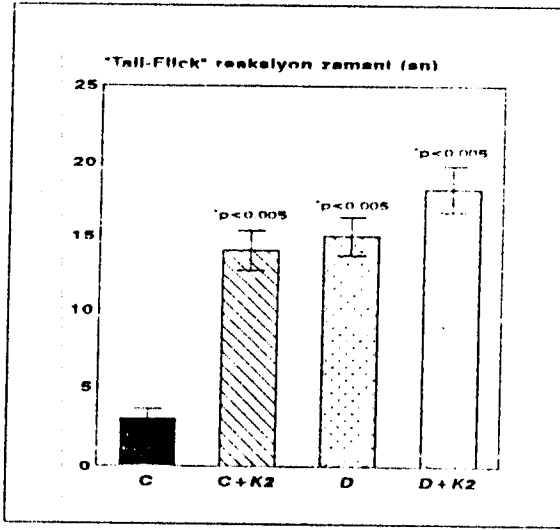
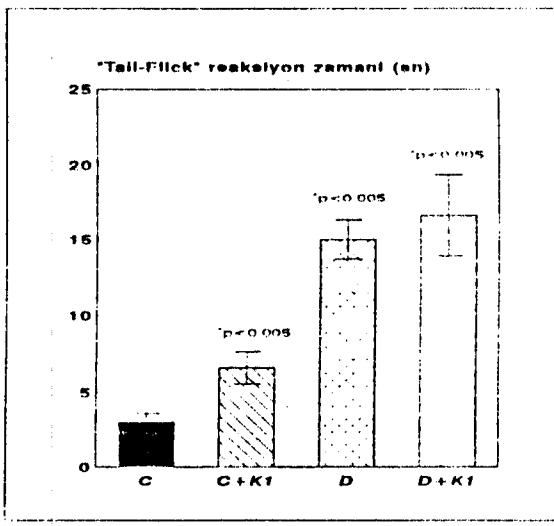
Vertikal çizgiler \pm standart hataları göstermektedir

Şekil 4.17 Düşük ve yüksek doz kafein'in morfin ile oluşan analjezi üzerine etkileri. (K1: 10 mg/kg ve K2: 75 mg/kg dozda kafein; C: kontrol ve M: 2 mg/kg dozda morfin). *p: kontrole göre istatistiksel anlamlılık düzeyini göstermektedir.



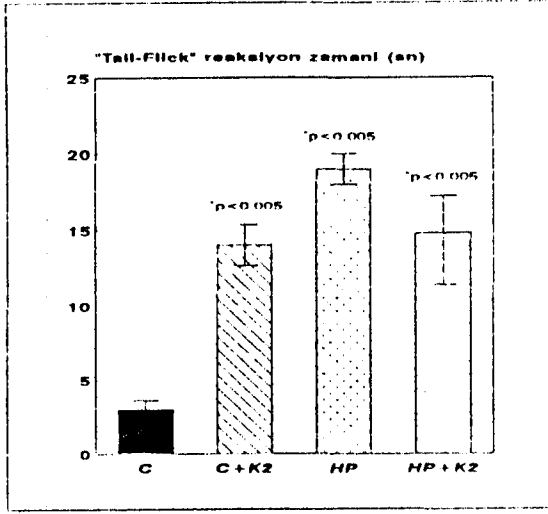
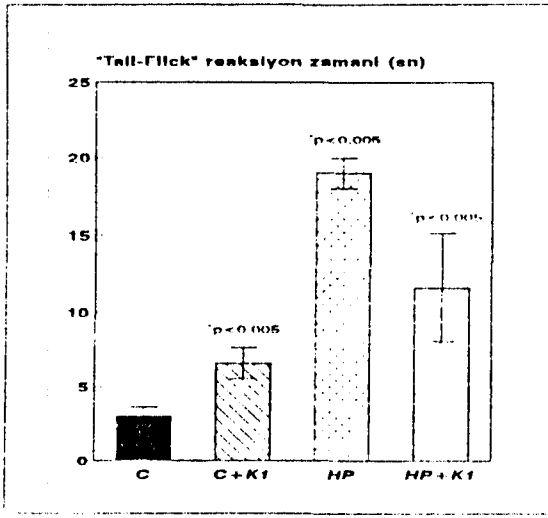
Vertikal çizgiler + standart hataları göstermektedir

Şekil 4.18 Düşük ve yüksek doz kafein'in trimeprimin ile oluşan analjezi üzerine etkileri. (K1: 0.2 mg/kg ve K2: 3 mg/kg dozda kafein; C: kontrol ve T: 10 mg/kg dozda trimeprimin). *p: kontrole göre istatistiksel anlamlılık düzeyini göstermektedir.



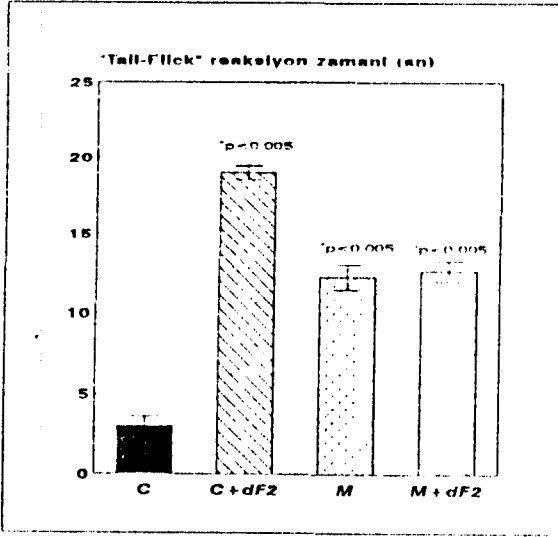
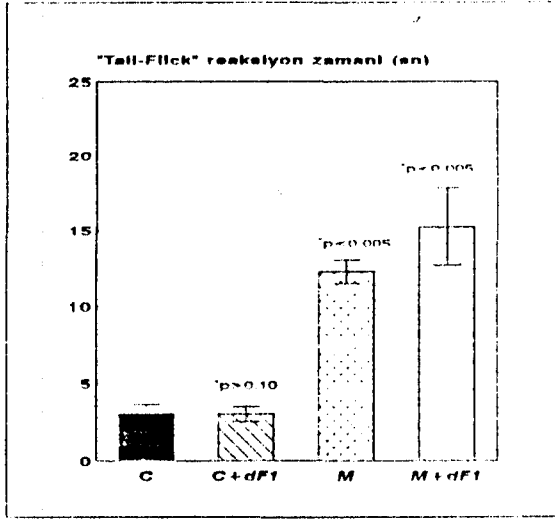
Vertikal çizgiler ± standart hataları göstermektedir.

Şekil 4.19 Düşük ve yüksek doz kafein'in dezipramin ile oluşan analjezi üzerine etkileri. (K1: 0.2 mg/kg ve K2: 3 mg/kg dozda kafein; C: kontrol ve D: 15 mg/kg dozda dezipramin). *p: kontrole göre istatistiksel anlamlılık düzeyini göstermektedir.



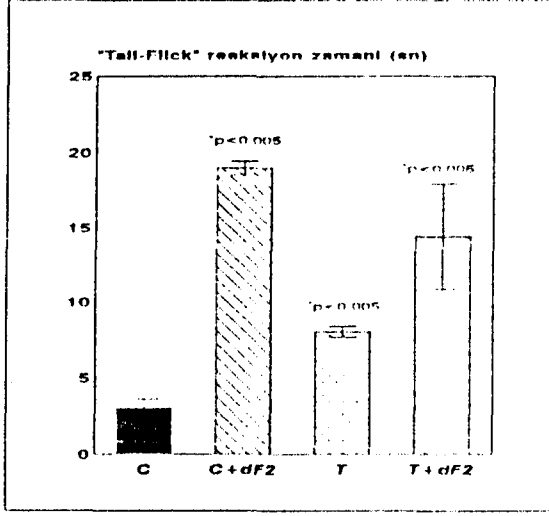
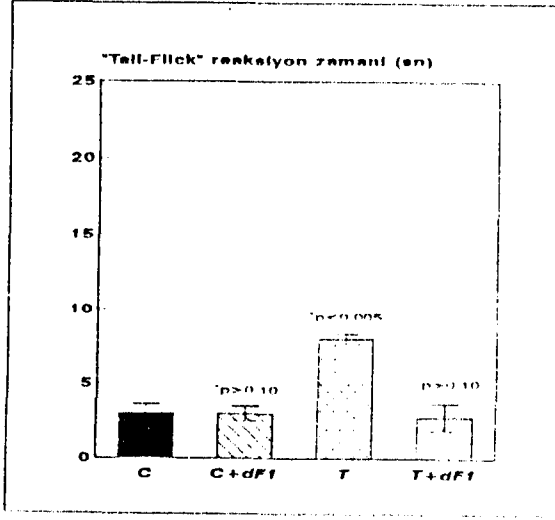
Vertikal çizgiler = standart hataları göstermektedir

Şekil 4.20 Düşük ve yüksek doz kafein'in *Hypericum perforatum* ekstresi ile oluşan analjezi üzerine etkileri. (K1: 0.2 mg/kg ve K2: 3 mg/kg dozda kafein; C: kontrol ve T: 10 mg/kg dozda trimeprimin). *p: kontrole göre istatistiksel anlamlılık düzeyini göstermektedir.



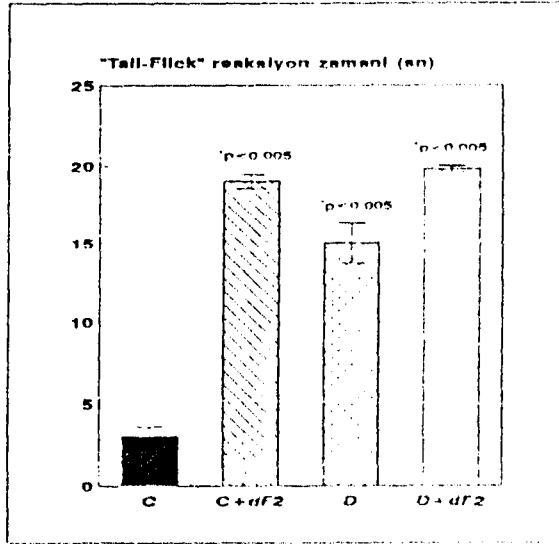
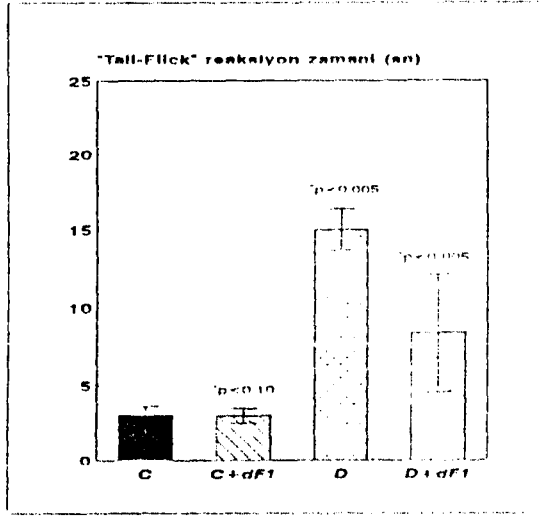
Vertikal çizgiler \pm standart hataları göstermektedir

Şekil 4.21 Düşük ve yüksek doz D-fenilalanin'in morfin ile oluşan analjezi üzerine etkileri. (dF1: 3.3 mg/kg ve dF2: 6.6 mg/kg dozda D-fenilalanin; C: kontrol ve M: 2 mg/kg dozda morfin). *p: kontrole göre istatistiksel anlamlılık düzeyini göstermektedir.



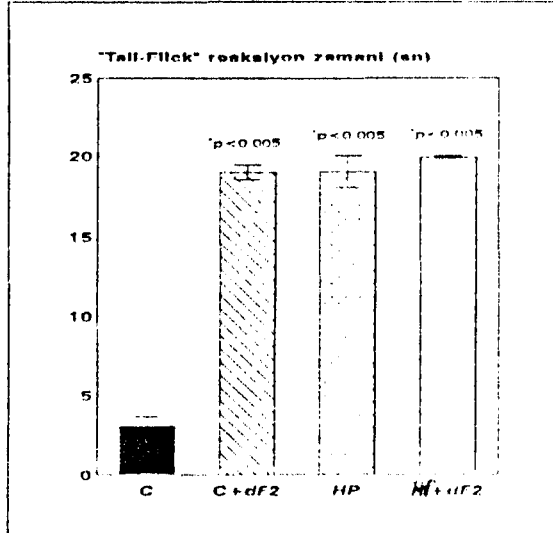
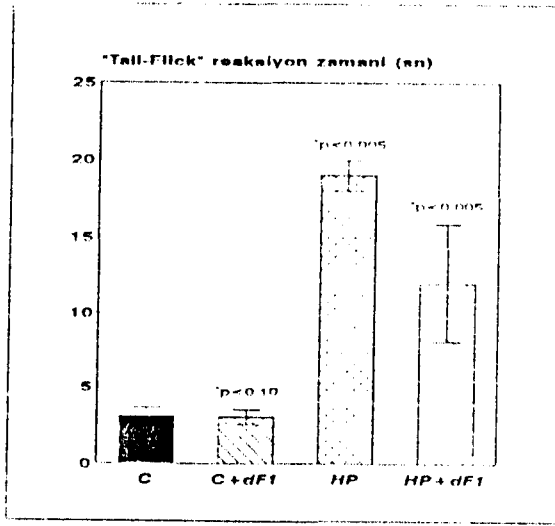
Vertikal çizgiler = standart hataları göstermektedir

Sekil 4.22 Düşük ve yüksek doz D-fenilalanin'in trimeprimin ile oluşan analjezi üzerine etkileri. (dF1: 3.3 mg/kg ve dF2: 6.6 mg/kg dozda D-fenilalanin; C: kontrol ve T: 10 mg/kg dozda trimeprimin). *p: kontrole göre istatistiksel anlamlılık düzeyini göstermektedir.



Vertikal çizgiler ± standart hataları göstermektedir

Sekil 4.23 Düşük ve yüksek doz D-fenilalanin'in dezipramin ile oluşan analjezi üzerine etkileri. (dF1: 3.3 mg/kg ve dF2: 6.6 mg/kg dozda D-fenilalanin; C: kontrol ve D: 15 mg/kg dozda dezipramin). *p: kontrole göre istatistiksel anlamlılık düzeyini göstermektedir.



Vertikal çizgiler ± standart hataları göstermektedir.

Sekil 4.24 Düşük ve yüksek doz D-fenilalanin'in *Hypericum perforatum* ekstresi ile oluşan analjezi üzerine etkileri. (dF1: 3.3 mg/kg ve dF2: 6.6 mg/kg dozda D-fenilalanin; C: kontrol ve HP: 250 mg/kg dozda *H.perforatum* ekstresi). *p: kontrole göre istatistiksel anlamlılık düzeyini göstermektedir.

4. TARTIŞMA

Hypericum perforatum L. bitkisinin SSS kökenli analjezik özellikleri daha önce gerek etnomedikal gerekse deneysel olarak gözlenmiştir (90,98,110). Psikiyatrik amaçla hafif ve orta derecede depresyon tedavisi için kullanılan ve bağımlılık yapıcı hiçbir özelliği bildirilmeyen bu bitki ekstresinin klinik kullanımında önemli bir yan etkisi de gözlenmemiştir (102-104). Bu önemli özellikler nedeniyle H.perforatum'un daha önceki çalışmalar ile bildirilen analjezik etkisinin mekanizmasının araştırılması bu tez kapsamında amaçlanmıştır.

Hypericum perforatum bitkisinden hazırlanan ekstrenin fare "Tail-flick" testinde tıpkı morfin, trimeprimin, dezipramin, kafein ve fenoprofen gibi doza bağımlı analjezik etkilerinin olduğu anlaşılmaktadır. Doza bağımlılık, ilaç için gerekli en temel öğelerden birisidir, çünkü tedavinin hastalığın şiddetine bağlı olarak yönlendirilmesi ancak bu şekilde mümkün kılınabilmektedir. Bitki ekstresinin "tavan etkisinin" morfin, trimeprimin, dezipramin ve kafein gibi yüksek olduğu fark edilmektedir. Non-narkotik bir analjezik olan fenoprofenin doz-yanıt çizgisi yatık iken, sözkonusu bu ilaçların ve H.perforatum ekstresinin doz-yanıt çizgileri oldukça dik bir eğimle yükselmektedir. Bilindiği gibi non-narkotik analjeziklerin etkisi oldukça yatık bir doz-yanıt eğrisi ile karakterize edilirken, SSS aracılığıyla etki eden analjezik ilaçların dik bir doz-yanıt eğrisi ile karakterize edilen farmakolojik bir etki profili vardır. Non-narkotik ilaçlar doz ne kadar arttırılırsa arttırılsın narkotik analjezik ilaçların oluşturduğu maksimum analjezik etkiyi sağlayamazlar. Bu olay, "Tavan Etkisi" olarak adlandırılmaktadır (117). Tavan etkisinin yüksekliği Hypericum perforatum'un SSS kökenli analjezik etkisi için ilk deneysel kanıtı oluşturmaktadır. İkinci kanıt ise bu bitki ekstresinin antidepresan (102-104) ve MAO inhibe edici (100,107,108) özelliklerinin olmasıdır. Antidepresan ilaçların SSS aracılıklı analjezik özellikleri zaten bilinmektedir (59-71). Yeterli düzeyde olmamakla birlikte salt MAO inhibisyonunun analjezik etki sağlaması olası görülmektedir (111). SSS aracılığıyla oluşan analjezik etkiye son kanıt ise, aşağıda belirtilen ilaçlar ile H. perforatum ekstresi arasında görülen etkileşimlerdir.

Hypericum perforatum ile oluşan analjezi ancak yüksek doz nalokson ile antagonize edilebilmektedir. Bu durum, diğer antidepresan ilaçlar, trimeprimin ve dezipramin ile de görülmektedir. Ancak farklı olarak, morfin düşük doz nalokson ile bloke edilebilmektedir. Bu gözlemler, morfinin daha farklı bir opioid reseptör alt popülasyonu aracılığıyla etki ettiğini göstermektedir. Yine bu gözlemler sonucunda, gerek H.perforatum ekstresinin gerekse tez çalışmaları sırasında kullanılan diğer antidepresan ilaçların etkisinde kısmen de olsa endojen opioid peptidlerin analjezik etkilere aracılık ettiği düşünülebilir. Gerçekten de, klasik antidepresan ilaçların endojen opioid sistem ile ilişkileri oldukça iyi bir biçimde araştırılmıştır (Bknz: Bölüm 2.3.7). Alternatif olarak H.perforatum ekstresindeki bazı etkili maddelerin morfinin esas olarak bağlandığı opioid alt reseptör tiplerinden (m reseptörler) farklı bir alt reseptör tipine/tiplerine (delta/kappa reseptörler) bağlandığı düşünülebilir.

Daha nceki araştırmalarla enkefalinaz inhibitörü olduğu gösterilen D-fenilalanin (118,199) ile tez deneyleri kapsamında ilginç etkileşimler fark edilmiştir. Düşük doz D-fenilalanin ile morfin etkisi beklenildiği gibi artarken, trimeprimin, dezipramin ve Hypericum perforatum ekstresinin analjezik etkisi bu madde ile azaltılmaktadır. Bu durum, düşük doz D-fenilalaninin SSS de monoaminerjik mekanizmaları da etkileyebileceğini düşündürmektedir. Morfin ile yüksek doz D-fenilalanin arasındaki ilginç etkileşimde sanki morfin D-fenilalaninin analjezik etkisini azaltmış gibi gzlmektedir. Bu durum belki de, morfinin daha önceden bildirilmiş olan sıçan omuriliğindeki met-enkefalin salınımını azaltıcı etkisi ile bağlantılı olabilir (120).

Yüksek doz kafeinin farelerde "Tail-flick" testinde morfinle oluşan analjezik etkiyi arttırması, daha önceki gözlemleri doğrulamaktadır (52,53). Gerçekten de kafeinin morfin analjezisini arttırdığı bu gözlemler doğrulanmıştır. Ayrıca, bu tez çalışmasında kafeinin tek başına doza bağımlı bir analjezik etkisinin olduğu gözlenmiştir. Kafeinin bu etkisi büyük bir olasılıkla fosfodiesteraz inhibisyonuna bağlı olarak siklik AMP miktarlarının artması, prostaglandin sentez inhibisyonunun artması (55), noradrenalin ve/veya dopamin "turnover" ının artması (56), beyindeki serotonin (5-HT) ve triptofan düzeylerini, "turnover"da değişiklik oluşturmaksızın arttırması (57) ve sistemik dolaşımdaki beta-endorfin

düzeylerini arttırması (58) gibi nedenlere bağlı olarak ortaya çıkmış olabilir. Trisiklik antidepresanlar, trimeprimin ve dezipramin ile oluşan analjezik etki düşük ya da yüksek doz kafein kafein ile istatistiksel açıdan anlamlı şekilde etkilenmemektedir. Bu durum, sözkonusu antidepresan ilaçların analjezik etkisinde pürinerjik mekanizmaların önemli bir rolünün olmadığını göstermektedir. Hem yüksek hem de düşük doz kafeinin Hypericum perforatum ekstresinin "Tail-flick" testindeki analjezik etkisini inhibe ettiği görülmektedir. Bu durum, trimeprimin ve dezipraminden farklı olarak, bitki ekstresinin analjezik etkisinde büyük bir olasılıkla pürinerjik mekanizmaların rolünün olduğunu göstermektedir. Kafeinin pürinerjik A₁ reseptörlerine spesifik bir antagonist olduğu ileri sürülmüştür (51). Gerçekten de kafeinin (subkutan 10 mg/kg dozda), adozin reseptör agonisti 5'-N-etilkarboksamidoadenozin tarafından oluşturulan analjeziyi spesifik biçimde antagonize ederken, morfin analjezisini etkilemediği gösterilmiştir (50). Kafein ile H.perforatum ekstresinin analjezik etkisinin inhibisyonunda dikkat çeken bir durum sözkonusudur. Burada düşük doz kafeinin (10 mg/kg) daha belirgin ve fazla bir inhibisyon oluşturduğu, buna karşın yüksek doz (75 mg/kg) ile daha düşük düzeyde bir inhibisyon ortaya çıkardığı fark edilmektedir (Şekil 4.20.). Bunun nedeni büyük bir olasılıkla yukarıda mekanizması tartışılan analjezik kafein etkisidir.

Rezerpinin 0.25 mg/kg dozda tek başına uygulandığında analjezik etkisi görülmesine karşın kombine edildiği hiçbir maddeyi potansiyalize ya da inhibe etmemesi, rezerpinin oluşturduğu intraselüler havuzlardan monoamin tüketici etkinin morfin, trimeprimin, dezipramin ve Hypericum perforatum ekstresinin analjezik etkisi ile ilişkili olmadığı düşüncesini akla getirmektedir. Üstelik "Tail-flick" testi ile rezerpinin intraperitoneal uygulaması arasında geçen kısa sürenin de (yarım saat) sinir uçlarından katekolamin tüketimi için yeterli bir süre olamayacağı düşünülürse rezerpin uygulamasının ardından görülen analjezik etkinin intraselüler havuzlardan monoamin tüketimi ile ilişkili olamayacağı fikri doğmaktadır. Ancak, bu olayın mekanizmasının anlaşılması ayrı bir araştırma konusu olabilecek niteliktedir.

Özetlemek gerekirse, bu tez deneyleri kapsamında Hypericum perforatumun daha önce tanımlanan analjezik etkisi doğrulanmakta ve oluşturduğu analjezik etkinin doza-bağımlı olduğu anlaşılmaktadır. Farmakolojik bakış açısıyla, doza bağımlılık spesifik etkinin en önemli işaretidir. Çalışmamızın deneysel bulguları ışığında, bu spesifik etkinin SSS kökenli olduğu, SSS deki endojen opiaterejik ve pürinerjik mekanizmalar ile yakından ilgili olduğu anlaşılmaktadır. Halen klinik amaçlarla kullanımı olan bu bitkisel ürünün bağımlılık oluşturmaması ve yan etkilerinin çok az olması da, iyi bir analjezik ilaç geliştirme amacına yönelik olarak Hypericum perforatum'un potansiyel bir kaynak olabileceğine işaret olarak kabul edilebilir. Ancak, bunun için bitki ekstresinin bundan sonraki araştırmalar için fraksiyonlanarak etkili madde(ler)nin bulunması gerekli basamak olacaktır.

KAYNAKLAR

- 1) Guyton, A.C.: Textbook of Medical Physiology, W.B.Saunders, Philadelphia, pp.546-631; p.845, 1986.
- 2) Yegül, İ.: Ağrı Ve Tedavisi., izmir, 1993.
- 3) Lithell, E.H.: Gating and sensory transmission in the thalamus. In: Yasic Neuroscience for Health Professionals, Slock Inc., Thonaifore, pp.153-162, 1990.
- 4) Mersky, H., Albe-Fessand, D.G., Bonica, J.J.: Pain terms: A list with definitions and notes on usage. Pain 6: 249-252, 1979.
- 5) Kolheker, R., Meller, S.T., Gebhart, G.F.: Characterization of the role of spinal N-methyl-D-aspartate receptors in thermal nociception in the rat. Neuroscience 57: 385-395, 1993.
- 6) Rang, H.P., Dale, M.M (Ed.): Analgesic Drugs. In: Pharmacology, Churcill Livingstone, Edinburgh, p.547-567, 1987.
- 7) Weil-Fugazza, J., Godefroy, F., Bars, D.: Increase in 5-HT synthesis in the dorsal root of the spinal cord, induced by a nociceptive stimulus: blockade by morphine. Brain Res. 297: 257-264, 1984.
- 8) Bisgaard, H., Kristensen, J.K.: Leukotriene C₄ produces hyperalgesia in humans. Prostaglandins 30: 791-797, 1985.
- 9) Juan, H. : Mechanism of action of bradyknin-induced release of prostaglandin E., Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 300: 77-82, 1979.
- 10) Torebjork, H.E.: Afferent C units responding to mechanical, thermal and chemical stimuli in human non-glaborous skin. Acta Physiol. Scand. 92: 374-390, 1974.
- 11) Raj, P.P.: Basic functions and organization of the nervous system In: Practical managment of pain, Year Book Medical Publishers, Chicago, pp.47-60, 1986.
- 12) Bonica, JJ.: Anatomic and physiologic basis of nociception and pain. The management of pain, Lea and Febiger, Philadelphia, 1990.

- 13) Abram, S.E.: Pain Pathways and mechanisms. In: The Pain Clinic, Ed. Marval, J.P., Nippincott, Philadelphia, pp.23-29, 1990.
- 14) Cross, S.A.: Pathophysiology of pain, Mayo Clinic Proc. 69: 375-383, 1994.
- 15) Chundler, E.H., Dong, W.K.: The role of the basal ganglia in nociception and pain. Pain 60: 3-38, 1995.
- 16) Melzack, R., Wall, P.D.: Pain mechanisms: a new theory. Science 150: 971-979, 1965.
- 17) Akil, H., Liebeskind, J.C.: Monoaminergic mechanisms of stimulation-produced analgesia. Brain Res. 94: 279-294, 1975.
- 18) Chan, S.H.H.: Differential effects of clonidine on pain, arterial blood pressure, and heart rate in the cat: lack of interactions with naloxone. Exp. Neurol. 84: 338-346, 1984.
- 19) Drago, F., Caccamo, G., Continella, G., Scapagnini, U.: Amphetamine-induced analgesia does not involve brain opioids. Eur. J. Pharmacol. 101: 267-269, 1984.
- 20) Welch, S.P., Dunlow, L.D.: Antinociceptive activity of intrathecally administered potassium channel openers and opioid agonists: a common mechanism of action? J. Pharmacol. Exp. Ther. 267: 390-399, 1993.
- 21) Berson, B.S., Berntson, G.G., Zipf, W., Torello, M.W., Kirk, W.T.: Vasopressin-induced antinociception: an investigation into its physiological and hormonal basis. Endocrinology 113: 337-343, 1983.
- 22) Uvnäs-Molberg, K., Bruzelius, G., Alster, P., Lundeberg, T.: The antinociceptive effect of non-noxious sensory stimulation is mediated partly through oxytocinergic mechanisms. Acta Physiol. Scan. 149: 199-204, 1993.
- 23) Kawamura, S., Sakurada, S., Sakurada, T., Kisara, K., Sasaki, Yç, Suzuki, K.: The antinociceptive effects of histidinyl-proline diketopiperazine and thyrotropin-releasing hormone in the mouse. Eur. J. Pharmacol. 112: 287-294, 1985.
- 24) Ohkubo, T., Shibata, M., Takahashi, H., Naruse S.: Naloxone prevents the analgesic action of α -MSH in mice. Experientia 41: 627-628, 1985.

- 25) Fabri, A., Fraioli, F., Pert, C.B., Pert, A.: Calcitonin receptors in the rat mesencephalon mediate its analgesic actions: autoradiographic and behavioral analysis. Brain Res. 343: 205-215, 1985.
- 26) Oberlink, P., Stinus, L., Le Moal, M., Simonnet, G.: Biphasic effect on nociception and antioplate activity of neuropeptide FF (FLFQPQRFamide) in the rat. Peptides 14: 919-924, 1993.
- 27) Behbehani, M.M., Pert, A.: A mechanism for the analgesic effect of neurotensin as revealed by behavioral and electrophysiological techniques. Brain Res. 324: 35-42, 1984.
- 28) Yehuda, S., Carasso, R.L.: The effects of DSIP on pain threshold during light and dark periods in rats are not naloxone-sensitive. Int. J. Neurosci. 37: 85-88, 1987.
- 29) Meyers, F.H., Jawetz, E., Goldfien, A.: Review of Medical Pharmacology, Lange, Los Altos, CA, pp.264-279, 1980.
- 30) Mayer, D.J., Wolfle, T.L., Akil, H., Gordon, B., Liebeskind, S.C.: Analgesia from electrical stimulation in the brainstem of the rat. Science 174: 1351-1354, 1971
- 31) Akil, H., Mayer, D.J., Liebeskind, J.C.: Antagonism of stimulation-produced analgesia by naloxone, a narcotic antagonist. Science 191: 961-962, 1976
- 32) Hughes, J.T.: Isolation of an endogenous compound from the brain with pharmacological properties similar to morphine. Brain Res. 88: 295-298, 1975
- 33) Hughes, J.T., Smith, T.W., Kosterlitz, H.W., Fothergill, L.A., Morgan, B.A., Morris, H.R: Identification of two related pentapeptides from the brain with potent opiate agonist activity. Nature 258: 577-579, 1975.
- 34) Kayaalp, S.O.: Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, Cilt 2, sf.1916-2023, Ankara, 1990.
- 35) Öztürk, Y.: Vücudumuzdaki doğal ağrı kesiciler: Endorfinler ve enkefalinler. Bilim Teknik 16: 11-12 (1983).

- 36) Jessel, T.M.: Opiate inhibition of substance P release from the rat trigeminal nucleus in vitro. *J. Physiol* 270: 50-57P, 1977.
- 37) Florez, J., Pazos, A.: Comparative effects of opioid peptides on respiration and analgesia in rats. *Life Sci.* 31: 1275-1277, 1982.
- 38) Heris, R.A., Hoh, H.H., Way, E.L.: Antinociceptive effects of lanthanum and cerium in nontolerant and morphine tolerant, dependent animals. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 196: 288-297, 1976.
- 39) Gray, A.P, Guardina, W.J.: Long-acting narcotic antagonist complexes. *Natl. Inst. Drug Abuse Res. Monogr. Ser.* 4: 21-26, 1976.
- 40) Ushiashi, Y, Kuribana, H, Marita, T., Fujita, T.: The repeated administration of ketamine induces and enhancement of its stimulant action in mice. *Jpn. J. Pharmacol.* 61: 149-151, 1993.
- 41) Londos, C., Cooper, D.M.F., Wolff, J.: Subclasses of external adenosine receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77: 2551-2554, 1980.
- 42) Williams, M., Risley, E.A.: Biochemical characterization of putative central purinergic receptors by using 2-chloro ³H adenosine, a stable analog of adenosine. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77: 6892-6896, 1980.
- 43) Van Calker, D., Müller, M., Hamprecht, B.: Adenosine regulates via two different types of receptors, the accumulation of cyclic AMP in cultured brain cells. *J. Neurochem.* 33: 999-1006, 1979.
- 44) Laska, E.M., Sunshine, A., Zighelboim, I., Roure, C., Marrero, I., Wanderling, J., Olson, N.: Effect of caffeine on acetaminophene analgesia. *Clin. Pharmacol. Ther.* 33: 498-509, 1983.
- 45) Laska, E.M., Sunshine, A., Elvers, W.B., Mueller, F.: Caffeine analgesia (Letter to editor). *J. Am. Med. Assoc.* 253: 780, 1985.
- 46) Su, C., Bevan, J.A., Carr, C.J., Miyata, T.S.: A pharmacologic study of some nucleosides and nucleotides. *J. Pharmacol.* 13: 290-299, 1961.
- 47) Doi, T., Kuzuna, S., Maki, Y.: Spinal antinociceptive effects of adenosine compounds in mice. *Eur. J. Pharmacol.* 137: 227-231, 1987.

- 48) Mantegazza, P., Tammiso, R., Zambotti, F., Zecca, L., Zonta, N.: Purine involvement in morphine antinociception. *Br. J. Pharmacol.* 83: 883-888, 1984.
- 49) Contreras, E., Germany, A., Villar, M.: Effects of some adenosine analogs on morphine-induced analgesia and tolerance. *Gen. Pharmacol.* 21: 763-767, 1990.
- 50) Woolfolk, D.R., Holtzman, S.G.: Restraint stress potentiates analgesia induced by 5'-N-ethylcarboxamidoadenosine: comparison with morphine. *Eur. J. Pharmacol.* 239: 177-182, 1993.
- 51) Daly, J.W., Bruns, R.F., Snyder, S.H.: Adenosine receptors in the central nervous system: relationship to the central actions of methylxanthines. *Life Sci.* 28: 2083-2097, 1981.
- 52) Misra, A.L., Pontani, R.B., Vadlamani, N.L.: Potentiation of morphine analgesia by caffeine. *Br. J. Pharmacol.* 84: 789-791, 1985.
- 53) Ahlijanian, M.K., Takemori, A.E.: Effects of (-)-N⁶-(R-phenylisopropyl)-adenosine (PIA) and caffeine on nociception and morphine-induced analgesia, tolerance and dependence in mice. *Eur. J. Pharmacol.* 112: 171-179, 1985.
- 54) Malec, D., Michalska, E.: The effect of methylxanthines on morphine analgesia in mice and rats. *Pol. J. Pharmacol. Pharm.* 40: 223-232, 1988.
- 55) Butcher, R.W., Sutherland, E.W.: Adenosine 3',5'-phosphate in biological materials. *J. Biol. Chem.* 237: 1244-1250, 1962.
- 56) Berkowitz, B.A., Tarver, J.H., Spector, S.: Release of norepinephrine in the central nervous system by theophylline and caffeine. *Eur. J. Pharmacol.* 10: 64-71, 1970.
- 57) Fernstrom, M.H., Bazil, C.W., Fernstorm, J.D.: Caffeine injection raises tryptophane level but does not stimulate the rate of serotonin synthesis in rat brain. *Life Sci.* 35: 1241-1247, 1984.
- 58) Arnold, M.A., Carr, D.B., Togasaki, D.M., Pian, M.C., Martin, J.B.: Caffeine stimulates β -endorphine release in blood but not in cerebrospinal fluid. *Life Sci.* 31: 1017-1024, 1982.

- 59) Levine, J.O., Garden, N.C., Smith, R., McBryde, R.: Desipramine enhances opiate postoperative analgesia. *Pain* 27: 45-49, 1986.
- 60) Rigal, F., Escholier, A., Devoize, J.L., Pachandre, J.C.: Activities of five antidepressants in a behavioral pain test in rats. *Life Sci.* 32: 2965-2971, 1983.
- 61) Botney, M., Fields, H.L.: Amitriptyline potentiates morphine analgesia by a direct action on the central nervous system. *Ann. Neurol.* 13: 160-164, 1983.
- 62) Lee, R.L., Spencer, P.S.: Effect of tricyclic antidepressants on analgesic activity in laboratory animals. *Postgrad. Med. J.* 56(Suppl.1): 19-24, 1980.
- 63) Reisine, T., Soubrie, P.: Loss of cerebral cortical opiate receptors following chronic desipramine treatment. *Eur. J. Pharmacol.* 77: 39-44, 1982.
- 64) Albouz, S., Tocque, B., Hauw, J.J., Boutry, J.M., Le Saux, F., Bourdon, R., Baumann, N.: Tricyclic antidepressant desipramine induces stereospecific opiate binding and lipid modifications in rat glioma C6 cells. *Life Sci.* 31: 2549-2554, 1982.
- 65) Muthal, A.V., Chopde, C.T.: Modifications of tricyclic antidepressant analgesia by calcium channel blockers. *Ind. J. Physiol. Pharmacol.* 37: 238-240, 1993.
- 66) Antkiewicz-Michaluk, L., Romanska, I., Michaluk, J., Vetulani, J.: Role of calcium channels in effects of antidepressant drugs on responsiveness to pain. *Psychopharmacology* 105: 269-274, 1991.
- 67) Ventafridda, V., Bianchi, M., Ripamonti, C., Sacerdote, P., De Conno, F., Zecce, E., Panerai, A.E.: Studies on the effects of antidepressant drugs on the nociceptive action of morphine and plasma morphine in rat and man. *Pain* 43: 155-162, 1990.
- 68) Panerai, A.E., Bianchi, M., Sacerdote, P., Ripamonti, C., Ventafridda, V., De Conno, F.: Antidepressants in cancer pain. *J. Palliat. Care* 7: 42-44, 1991.

- 69) Clifford, D.B.: Treatment of pain with antidepressants. *Am. Fam. Physician* 31: 181-185, 1985.
- 70) Frank, R.G., Kashani, J.H., Parker, J.C., Beck, N.C., Brownle-Duffeck, M., Elliot, T.R., Haut, A.E., Atwood, C., Smith, E., Kay, D.R.: Antidepressant analgesia in rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.* 15: 1632-1638, 1988.
- 71) Egbunike, I.G., Chaffee, B.J.: Antidepressants in the management of chronic pain syndromes. *Pharmacotherapy* 10: 262-270, 1990.
- 72) Turner R.A.: *Screening Methods in Pharmacology*, Academic Press, New York, Vol.1, pp.100-117, 1965.
- 73) D'Amour, F.E., Smith, D.L.: A method for determining loss of pain sensation. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 72: 74-79, 1941.
- 74) Kuniyama, M., Ohshima, M., Nakano, M.: Central monoaminergic mechanisms in mice and analgesic activity of spiradoline mesylate, a selective kappa-opioid receptor agonist. *Eur. J. Pharmacol.* 214: 111-118, 1992.
- 75) Ben Bassat, J., Peretz, R., Sulman, F.G.: Analgesimetry and ranking of analgesic drugs by the receptacle method. *Arch. Int. Pharmacodyn.* 122: 434-447, 1959.
- 76) Janssen, P.A.J., Niemegeers, C.J.E., Dong, J.G.H.: The inhibitory effects of fentanyl and other morphine-like analgesics on the warm water induced tail withdrawal reflex in rats. *Arzneim.-Forsch.* 13: 502-507, 1963.
- 77) Eddy, N.B., Leimbach, D.: Synthetic analgesics: II. dithienylbuteryl- and dithienylbutylamines. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 107: 385-393, 1953.
- 78) Johansson, T., Woods, L.A.: Analgesic action and brain and plasma levels of morphine and codeine in morphine tolerant, codeine tolerant and non-tolerant rats. *Acta Pharmacol.* 21: 381-387, 1964.
- 79) Collier, H.O.J., Dinneen, L.C., Johnson, C.A., Schneider, C.: The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drug in the mouse. *Br. J. Pharmacol.* 32: 295-310, 1968.

- 80) Hayashi, G., Takemori, A.E.: The type of analgesic-receptor interaction involved in certain analgesic assays. Eur. J. Pharmacol. 16: 63-66, 1971.
- 81) Markowitz, R., Jacobsen, J., Bain, G., Kornetsky, C.: Naloxone blockade of morphine analgesia: a dose-effect study of duration and magnitude. J. Pharmacol. Exp. Ther. 199: 385-388, 1976.
- 82) Kamata, K., Ogawa, K., Kameyama, T.: Effects of narcotic and non-narcotic analgesics on the abdominal or tail stimulation-induced struggling in rats. Jap. J. Pharmacol. 31: 347-353, 1981.
- 83) Türker, R.K.: Analgesia from captopril, an inhibitor of angiotensin converting enzyme and enkephalinase. In: Degradation of Endogenous Opioids: Its Relevance in Human Pathology and Therapy, Ed. Ehrenpreis, S., Sicuteri, F., Raven Press, New York, pp.147-159, 1983.
- 84) Baytop, T.: Türkiye'nin Tıbbi ve Zehirli Bitkileri, i.Ü.Yay. No 3255, İstanbul, 1984.
- 85) Baytop, A.: Farmasötik Botanik, i.Ü. Eczacılık Fak., s.249, İstanbul, 1983.
- 86) Baytop, T.: Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi, i.Ü. Eczacılık Fak., s.185, İstanbul, 1984.
- 87) Baytop, T.: Farmakognozi, Cilt 2, i.Ü.Eczacılık Fak., İstanbul, s.202, 1980.
- 88) Yazaki, K., Okuda, T.: Procyanidins in callus multiple shoot cultures of Hypericum erectum. Planta Med. 56: 490-491, 1990.
- 89) Başer, K.H.C., Honda, G., Miki, W.: Herbs Drugs and Herbalists in Turkey, Studia Cultures of Asia and Africa, Tokyo, 1986.
- 90) British Herbal Pharmacoeia, British Herbal Medicine Association, Part 1, p.242, West Yorks, 1985.
- 91) Duke, J.A.: Handbook of Medicinal Herbs. CRC Press, Boca Ranton, Florida, p.242, 1985

- 92) Abraham, Z., Bhakuni, D.S., Gang, H.S., Garel, A.K., Mehrotra, B.N., Patraik, G.K.: Screening of Indian plants for biological activity. Part XII. Ind. J. Exp. Biol. 24: 48-68, 1986.
- 93) Barbofollo, C., Chison, I.G.: Antimicrobial activity of three *Hypericum* species. *Fitoterapia* 58: 175-177, 1987.
- 94) Serkedjieva, J., Manolova, N., Nowosielska, I.Z., Zawilinska, B., Grzybeck, J.: Antiviral activity of the infusion (SHS-174) from flowers of *Sambucus nigra* L., aerial parts of *Hypericum perforatum* L., and roots of *Saponaria officinalis* L. against influenza and Herpes simplex viruses. *Phytother. Res.* 4: 97-101, 1990.
- 95) Lavie, G., Valentie, F., Levin, B., Mazur, Y., Gallo, G., Lavie, D., Weiner, D., and Meruelo, D.: Studies of the mechanisms of action of the antiretroviral psedohypericin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86: 5963-5967, 1989.
- 96) Öztürk, Y., Aydın, S., Başer, K.H.C., Kırimer, N., Kurtar-Öztürk, N.: Hepatoprotective activity of *Hypericum perforatum* L. alcoholic extract in rodents. *Phytother. Res.* 6: 44-46, 1992.
- 97) Delavue, P., Lalloutte, P., Tessier, A.M.: Stimulation of the phagocytic activity of reticuloendothelial system by plant drugs. *Planta. Med.* 40: 49-54, 1980.
- 98) Vohora, S.B., Dandiya, P.C.: Herbal analgesic drugs. *Fitoterapia* 63: 195-205, 1992.
- 99) Muldner, H., Zoller, M.: Antidepressive effect of a *Hypericum* extract standardized to the active hypericine complex: Biochemistry and clinical studies. *Arzneim. Forsch.* 34: 918-920, 1984.
- 100) Wichtl, M.: *Teedrogen.*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, p.257, 1989.
- 101) Frances, C.: *Hypericum: historcal study of Hypericum.* In: The history of medicinal and aromatic plants, Ed. Adly, A., Hamdard Foundation, Karachi, Pakistan, p.100, 1982.

- 102) Okpanyi, S.N., Weischer, M.L.: Tier experimentelle untersuchungen zur psychotropen wirksamkeit eines Hypericum extractes. *Arzneim. Forsch.* 37: 10-13, 1987.
- 103) Laudahn, D.: High dosed St.-John's Wort extract for treatment of mild and moderate depressions. *Acta Hortic.* 332: 265-272, 1993.
- 104) Harrer, G., Sommer, H.: (1994) Treatment of mild/moderate depression with Hypericum. *Phytomedicine* 1: 3-8, 1994.
- 105) Halama, P.: Wirksamkeit des Hypericum-Extracts LI 160 bei 50 Patienten einer psychiatrischen Fachpraxis. *Nervenheilkunde* 10: 305-307, 1991.
- 106) Schmidt, U.: Konstant Reaktionsvermögen unter antidepressiver Therapie mit dem Hypericum-Präparat LI 160. *Nervenheilkunde* 10: 311-312, 1991.
- 107) Suzuki, O., Katsumato, Y., Oya, M., Blandt, S., Wagner, H.: Inhibition of monoamino oxidase by hypericin. *Planta Med.* 50: 272-274, 1984.
- 108) Teucher, E.: *Pharmazeutische Biologie*, Friedr. Vieweg and Sohn, Braunschweig, p.250-293, 1990.
- 109) Reuter, H.D.: Hypericum als pflanzliches antidepressivum. *Ztschr. Phytother.* 14: 239-254, 1993.
- 110) Berberoğlu, H.: Hypericum perforatum L. ve Hypericum calycinum bitkilerinin santral sinir sistemi üzerine etkileri. *Doktora Tezi, Anadolu Üniversitesi, Eskişehir, 1994.*
- 111) Bianchi, M., Mantegazza, P., Panerai, A.E. Effects of two different reversible monoamine oxidase A inhibitors on nociceptive threshold in rat. *Eur. J. Pharmacol.* 219: 113-116, 1992.
- 112) Aydın, S., Öztürk, Y., Beis, R., Başer, K.H.C.: Investigation of *Origanum onites*, *Sideritis congesta* and *Satureja cuneifolia* essential oils for analgesic activity. *Phytother. Res.* 1995, Baskıda.
- 113) Finney, D.J.: *Statistical methods in biological assay*, Griffin, London, pp. 69-75, 1978.
- 114) Goldstein, A.: *Biostatistics. An introductory text*, Mac Millan, New York, pp. 51-60, 1964.

- 115) Tallarida, R.J. and Murray, R.B.: Manual of Pharmacological Calculation with Computer Programs, Springer-Verlag, New York, pp.1-50, 1981.
- 116) Ganong, W.F.: The Nervous System, Lange, Los Altos, CA, pp.21-34, 1979.
- 117) Wilson, A., Schild, H.O., Modell, W.: Applied Pharmacology, Edinburgh, Churchill Livingstone, pp.16-51, 1975.
- 118) Ehrenpreis, S.: Pharmacology of enkephalinase inhibitors: animal and human studies. Acupuncture Electro-ther. Res. Int. J. 10: 203-208, 1985.
- 119) Halpern, L., Dong, W.K.: D-Phenylalanine: a putative enkephalinase inhibitor studied in a primate acute pain model. Pain 24: 223-237, 1986.
- 120) Collin, E., Maubourgne, A., Bourgoin, S., Benoliel, J.J., Hamon, M., Cesselin, F.: Morphine reduces the release of met-enkephalin-like material from the rat spinal cord in vivo by acting at delta opioid receptors. Neuropeptides 27: 75-83, 1994.