



**T. C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL İNFLAMATUVAR AĞRI MODELİNDE
CDP-KOLİNİN ANALJEZİK ETKİSİ VE ETKİ MEKANİZMASI**

Deniz BAĞDAŞ

(DOKTORA TEZİ)

BURSA-2008



T. C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI

DENEYSEL İNFLAMATUVAR AĞRI MODELİNDE
CDP-KOLİNİN ANALJEZİK ETKİSİ VE ETKİ MEKANİZMASI

Deniz BAĞDAŞ

(DOKTORA TEZİ)

Danışman: Prof. Dr. Songül SONAL
II. Danışman: Prof. Dr. M. Sibel GÜRÜN

Bursa-2008

İÇİNDEKİLER

TÜRKÇE ÖZET	II
İNGİLİZCE ÖZET	III
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLERİ	4
1. CDP-kolin'in Genel Özellikleri	4
2. Ağrı ve Analjezi	14
GEREÇ ve YÖNTEM.....	24
1. Cerrahi ve Deneysel İşlemler.....	24
2. Deney Planı.....	25
3. Carrageenanla Oluşturulan Hiperalejik Yanıtın Değerlendirilmesi.....	26
4. CDP-kolin'in İnflamatuvar Ağrı Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi.....	27
5. CDP-kolin'in Carrageenana Bağlı Gelişen Pençe Ödemi Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi.....	29
6. İlaçlar ve Serebral Ventriküle Enjeksiyon.....	30
7. İstatistiksel değerlendirme.....	31
BULGULAR.....	32
TARTIŞMA ve SONUÇ.....	52
KAYNAKLAR	60
TEŞEKKÜR.....	75
ÖZGEÇMİŞ.....	76

ÖZET

CDP-kolin, vücutta endojen üretilen nükleotid yapısında bir bileşik olup, sıçanlarda akut ağrı modellerinde analjezik etkisi gösterilmiştir. Çalışmada; deneysel inflamatuvar ağrı modelinde CDP-kolin'in, carrageenan uygulamasına bağlı gelişen hiperaljezi ve pençe ödemi üzerine etkisi araştırıldı; analjezik etkileri değerlendirildi.

Deneysel Sprague-Dawley erkek sıçanlar kullanıldı. İlaçlar, tuzlu su içinde hazırlanarak intraserebroventriküler yolla 10 µl hacimde uygulandı. İnflamasyon, sıçanların sağ arka pençelerine intraplantar % 2'lik λ-carrageenan enjeksiyonu (100 µl) yapılarak oluşturuldu. İnflamatuvar ağrı duyarlılığı termal ve mekanik pençe çekme testleriyle, carrageenana bağlı gelişen pençe ödeminde pençe genişliği dijital mikrometreyle ölçülerek değerlendirildi.

CDP-kolin (0.5, 1 ve 2 µmol) her iki testte doza ve zamana bağlı olacak şekilde antihiperalezik etki oluşturdu. Antihiperalezik etki eşmolar dozlardaki (1 µmol) kolin ve CDP-kolin uygulamasında benzer şekilde ortaya çıkarken; sitidin için aynı etki termal pençe çekme testinde görülmeyip, mekanik pençe çekme testinde 5. dakikada saptandı. CDP-kolin'in antihiperalezik etkisi her iki testte de, uygulanan hemikolinium-3 (yüksek afiniteli kolin geri alım blokörü, 1 µg), mekamilamin (seçici olmayan nikotinik reseptör antagonisti, 50 µg), alfa-bungarotoksin (α7 nöronal nikotinik reseptör antagonisti, 2 µg) ve CGP-35348 (GABA_B reseptör antagonisti, 20 µg) ön tedavileri ile baskılandı. Atropin (seçici olmayan muskarinik reseptör antagonisti, 10 µg) ve nalokson (seçici olmayan opioid reseptör antagonisti, 10 µg) ön tedavileri ise CDP-kolin'in antihiperalezik etkisini değiştirmedir. CDP-kolin'in (2µmol, intraserebroventriküler) carrageenana bağlı gelişen pençe ödeminin azaltmadığı gözlemlendi.

Elde edilen bulgular, sıçanlarda inflamatuvar ağrı modelinde CDP-kolin'in antihiperalezik etki yaptığını ortaya koymuştur. Presinaptik kolinerjik mekanizmaların aktivasyonu aracılığıyla santral α7 nikotinik kolinerjik reseptörlerin uyarılması CDP-kolin'in antihiperalezik etkisindeki muhtemel mekanizma olarak görünmektedir. Santral GABA_B reseptörler, CDP-kolin'in antihiperalezik etkisinde rol oynarken; opioid reseptörlerin rolü görülmemiştir.

Anahtar kelimeler: CDP-kolin, inflamatuvar ağrı, analjezik, antihiperalezik, nikotinik reseptörler

SUMMARY

The Analgesic Effect of CDP-Choline in Experimental Inflammatory Model of Pain and The Mechanisms Involved in The Effect

CDP-choline, a nucleotid compound endogenously produced by the organism, elicits analgesic effects in acute pain models in rats. In this study, the effects of CDP-choline on both hyperalgesia and the carrageenan-induced paw edema were investigated and the analgesic effect was evaluated in an experimental inflammatory pain model.

Experiments were performed on male Sprague-Dawley rats. All drugs were prepared in saline and administered intracerebroventricularly in 10 μ l volume. Inflammation was produced by injection of 2% lambda-carrageenan (100 μ l) to right hind paws of rats intraplantarly. Thermal paw plantar test and mechanical paw pressure test were used to measure the antihyperalgesic effect. The width of hind paws was measured with digital microcaliper to expose the effect of CDP-choline on the carrageenan-induced paw edema.

CDP-choline (0.5, 1, 2 μ mol) exerted antihyperalgesic effect in a dose and time dependent manner in both tests. Equimolar doses of CDP-choline (1 μ mol) and choline showed similar antihyperalgesic effects, while cytidine (1 μ mol) did not change the thermal paw withdrawal latency but showed antihyperalgesic effect at the fifth minute of the mechanical paw pressure test. Hemicholinium-3 (*high affinity choline uptake blocker*, 1 μ g), mecamylamine (*nonspecific nicotinic receptor antagonist*, 50 μ g), alpha-bungarotoxin (*selective α 7 nicotinic receptor antagonist*, 2 μ g) and CGP-35348 (*GABA_B receptor antagonist*, 20 μ g) pretreatments abolished the antihyperalgesic effect of CDP-choline in both experimental pain models in rats. Atropine (*nonspecific muscarinic receptor antagonist*, 10 μ g) and naloxone (*non-specific opioid receptor antagonist*, 10 μ g) pretreatments failed to alter the antihyperalgesic effect of CDP-choline. CDP-choline (2 μ mol, *intracerebroventricularly*) did not decrease the edema induced by carrageenan.

These results indicate that CDP-choline induced dose and time dependent antihyperalgesic effect in inflammatory model of pain in rats. Activation of specific α 7 nicotinic cholinergic receptors through the activation of presynaptic cholinergic mechanisms appear to be involved in the antihyperalgesic effect of this drug. Central GABA_B receptors, but not opioid receptors, seem to be involved in this effect of CDP-choline.

Key words: CDP-choline, inflammatory pain, analgesic, antihyperalgesic, nicotinic receptors

GİRİŞ

CDP-kolin (sitidin-5'-difosfat kolin, sitidindifosfokolin, sitikolin), hücre membran fosfolipidlerinden fosfatidilkolin sentezinde bir ara ürün olarak ortaya çıkarak hız kısıtlayıcı basamakta rol oynayan, endojen olarak vücutta meydana gelen nükleotid yapısında bir bileşiktir (1). Farklı deneysel ve klinik çalışmalarla bu molekülün dışarıdan verildiği durumlarda, hücre ve membran fonksiyonları üzerine yararlı fizyolojik etkileri olduğu kanıtlanmıştır. CDP-kolin ile yapılan klinik çalışmalarla çeşitli nörodejeneratif hastalıklarda; *Alzheimer hastalığı* (2-4), *serebrovasküler patolojiler* (5-8), *kafa travmaları* (9, 10); *glokom* (11) ve *ambliyopi* (12, 13) gibi bazı göz hastalıklarında; öğrenme ve hafıza fonksiyonlarının iyileştirilmesinde (14, 15) yararlı etkileri olduğu bildirilmiştir. Deneysel akut ağrı araştırmalarında (16-18) CDP-kolin'in analjezik etkinliği gösterilmiştir. CDP-kolin değişik ticari isimlerle çalışılmış, bazı Avrupa ülkeleri ile Japonya'da felç ve kafa travmalı hastalarda kullanımı onaylanmıştır.

CDP-kolin dışarıdan verildiğinde, vücutta hızla sitidin ve koline hidrolize edilir (19, 20). Oral, parenteral veya serebral yolla uygulanan bileşiğin hidrolizlenmesinde hücre duvarında bulunan fosfodiesterazlar görev alır; önce sitidinmonofosfat ve fosfakolin ile ana metabolitleri olan kolin ve sitidine dönüşür (1), ve plazmadaki miktarı artar. Bütün vücut dokularına dağılabilen kolin ve sitidin, kolaylıkla kan-beyin bariyerini geçer ve metabolik yollarına girerek CDP-kolin'in birçok fizyolojik ve farmakolojik etkilerine aracılık ederler (1).

Kolin, nörotransmitter olan asetilkolin (ACh) başta olmak üzere; membran fosfolipidlerinden lesitin (fosfatidilkolin), sfingomyelin ve plazmalojenlerin ön maddesidir (21). Ayrıca betaine dönüşerek metil grubu metabolizmasında ve lipid transportunda rol alır ve trombosit aktive edici faktör gibi bazı biyolojik bileşiklerin yapısında da yer alır (21). Kolin fizyolojik konsantrasyonlarında, dolaşımdaki kolini beyne ileten transport sistemi ile sinir ucunda kolini ACh'e çeviren kolinasetiltransferaz (CAT) enzimi sistemi doyurulmamış haldedir. Dolaşımda kolin düzeylerini artıran tedaviler, beyin kolin düzeylerini (22-25) ve takiben ACh sentez ve salıverilmesini arttırarak (23,24, 26-28) kolinerjik nörotransmisyonunda artışa yol açar (29, 30). Kolin ve CDP-kolin'in, sıçanlarda periferik (intravenöz, intraperitoneal) veya merkezi (intraserebroventriküler/ i.s.v.) yolla uygulanmalarını takiben gelişen nöroendokrin, metabolik ve kardiyovasküler etkileri ayrıntılı olarak incelenmiştir (20, 31-40).

Kolinerjik sistem ağrı modülasyonunda rol oynamaktadır. Deney hayvanlarına merkezi, spinal veya periferik yolla uygulanan kolinerjik agonistler ve antikolinesteraz etkili ilaçların, belirgin analjezik etki oluşturduğu gösterilmiştir (41-47). Postoperatif ağrı olgularında; bir kolinesteraz inhibitörü olan neostigmin diğer analjeziklerle kombine edilerek kullanılmasına (42) karşın, yan etkilerinin fazla olması dolayısıyla kolinomimetik ajanlar ideal bir analjezik olarak tanımlanamamaktadır.

Nikotinic asetilkolin (nACh) reseptörleri üzerine yapılan çalışmalar, kolinerjik sistemin aracılık ettiği analjezik etkide bu reseptörlerin önemi üzerine dikkat çekmiştir (48, 49). Spinal ve supraspinal nikotinic reseptör aktivasyonunun değişik ağrı modellerinde analjezik etki oluşturduğu gösterilmiş ve son yıllarda nikotinic reseptörleri etkileyen bileşikler yeni analjezik ajanlar olarak ilgi uyandırmıştır (50, 53). Memeli santral sinir sisteminde farklı nACh reseptör alt tipleri sentez edilmektedir. Bugüne değin nikotinic reseptörleri hedef alan ajanların neden olduğu analjezik etkiye, nöronal yollardaki dağılımları nedeniyle muhtemel $\alpha 4\beta 2$ ve $\alpha 7$ nACh reseptör alt tiplerinin aracılık ettiği öne sürülmüştür (54, 55). Kolin, $\alpha 7$ nACh reseptör alt tipine seçici agonistik etki göstermektedir (56-58). Deney hayvanlarına merkezi veya periferik yolla kolin verilmesinin, belirgin analjezik etki oluşturduğu bildirilmiştir (48, 49). Merkezi yolla verilen CDP-kolin'in, sıçanlarda akut ağrı modellerindeki analjezik etkisi ve bu etkide rol oynayan mekanizmalar ortaya konmuştur (17, 18).

İnflamatuvar ağrı modelleriyle yapılan çalışmalarla ortaya konulan sonuçlar da; santral kolinerjik sistem aktivasyonunun analjezik ve antihiperaljezik etkiler oluşturduğu yönünde bilgiler sunmuştur (49, 59-62). Bununla ilişkili olarak, inflamatuvar ağrı modellerinde kullanılan kolinerjik ajanların antinosiseptif, antihiperaljezik ve antiinflamatuvar etkileri olabileceği gösterilmiştir (63). Yine yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlara dayanarak nikotinic kolinerjik reseptörler, inflamatuvar ağrı tedavisinde yeni hedef alanı olmuştur (60). Kolinin tek başına kullanıldığında; hem inflamatuvar ağrıda analjezik etki oluşturduğu (49) ve hem de solunum yolu inflamasyonunda antiinflamatuvar etkinlik meydana getirdiği (64) gösterilmiştir.

Kolinerjik antiinflamatuvar yolak, inflamasyonun nöral inhibisyonunu açıklamada bir mekanizma olarak karşımıza çıkmaktadır (65). nACh reseptörlerinin $\alpha 7$ alt tipinin, inflamasyonda esensiyel bir düzenleyici olduğu ortaya konmuştur (65-67). Endotoksemi ve şokun deneysel hayvan modellerinde, vagus sinirinin antiinflamatuvar rolü gösterilmiştir (65). Kolinerjik antiinflamatuvar yolağın, epiteliyal inflamatuvar hastalıklarda da önemli bir düzenleyici mekanizma olduğu ortaya konmuştur (66). *In vitro*

olarak da, makrofajlardaki tümör nekroz faktör α (TNF α) salınımının kolinerjik antiinflamatuvar yolak aracılığıyla inhibisyonu için, $\alpha 7nACh$ reseptörlerinin esansiyel olduğu gösterilmiştir (67). Nikotik antiinflamatuvar yolak ve diğer endojen antiinflamatuvar mekanizmaları daha iyi anlamının, çeşitli inflamatuvar hastalıkların (perodontit, psoriasis, sarkoidozis, ülseratif kolit) spesifik tedavi stratejilerini geliştirmede gerekli olduğu görüşü öne sürülmüştür (66).

Ağrı; potansiyel bir doku hasarı ile ortaya çıkan, yaşam kalitesini etkileyen, duyuşal ve duygusal bir deneyim olup, geçmişten bugüne araştırmacıları tedavi arayışına götüren en önemli sağlık sorunlarından birisidir. Yan etkisi az, güvenilir ve güçlü etkinlikte ağrı kesici ilaçların araştırılması günümüzde daha da artmıştır. Yukarıda da söz edildiği gibi bazı hastalıkların tedavisinde etkin olarak kullanılan CDP-kolin diğer kolinomimetik ajanlarda ortaya çıkan yan etkilere sahip olmayan, güvenli bir ilaçtır. Ayrıca daha önce sıçanlarda yapılan çalışmalarda akut ağrıda güçlü analjezik etkisinin olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle biz çalışmamızda; lambda-carrageenan (λ -carrageenan) ile oluşturulan inflamatuvar ağrı modelini kullanarak, merkezi yolla uygulanan CDP-kolin'in antihiperalezik ve olası antiinflamatuvar etkisini ve etkide rol oynayan mekanizmaları araştırmayı amaçladık.

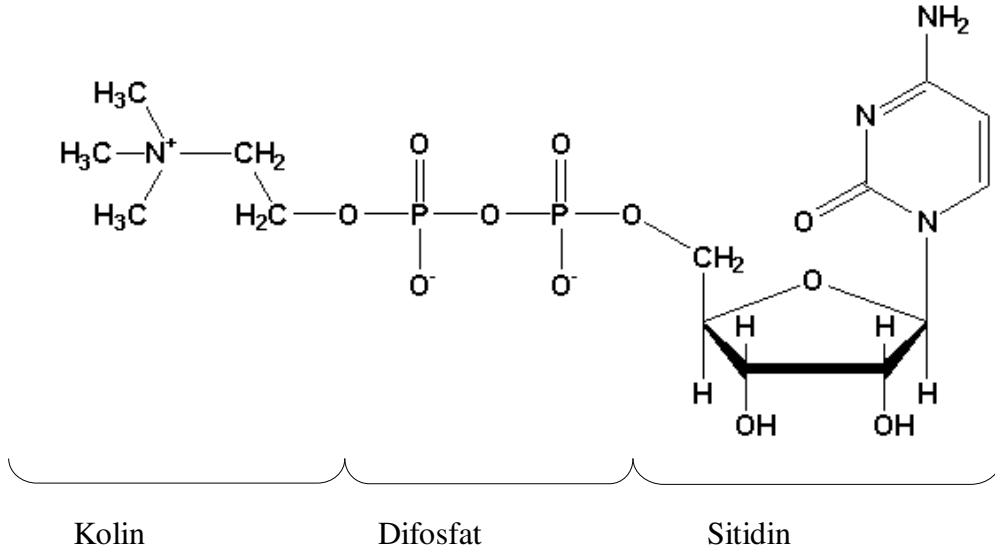
GENEL BİLGİLER

1. CDP-kolin'in Genel Özellikleri

1.1. CDP-kolin'in Yapısı ve Sentezi

CDP-kolin ($C_{14}H_{26}N_4O_{11}P_2$) hücre metabolizmasında görev almak üzere vücutta endojen olarak üretilen, nükleotid yapısında, molekül ağırlığı 488.33 g/mol olan büyük ve polar bir bileşiktir (Şekil – 1). Monosodyum tuzu beyaz, kristalize ve suda yüksek çözünürlüğe sahiptir (1).

Birçok ülkede satış alanı bulan CDP-kolin'in, 50'den fazla ticari ismi bulunmakla birlikte, uluslararası alanda önerilen tescil edilmemiş ismi “*Sitikolin*” dir.

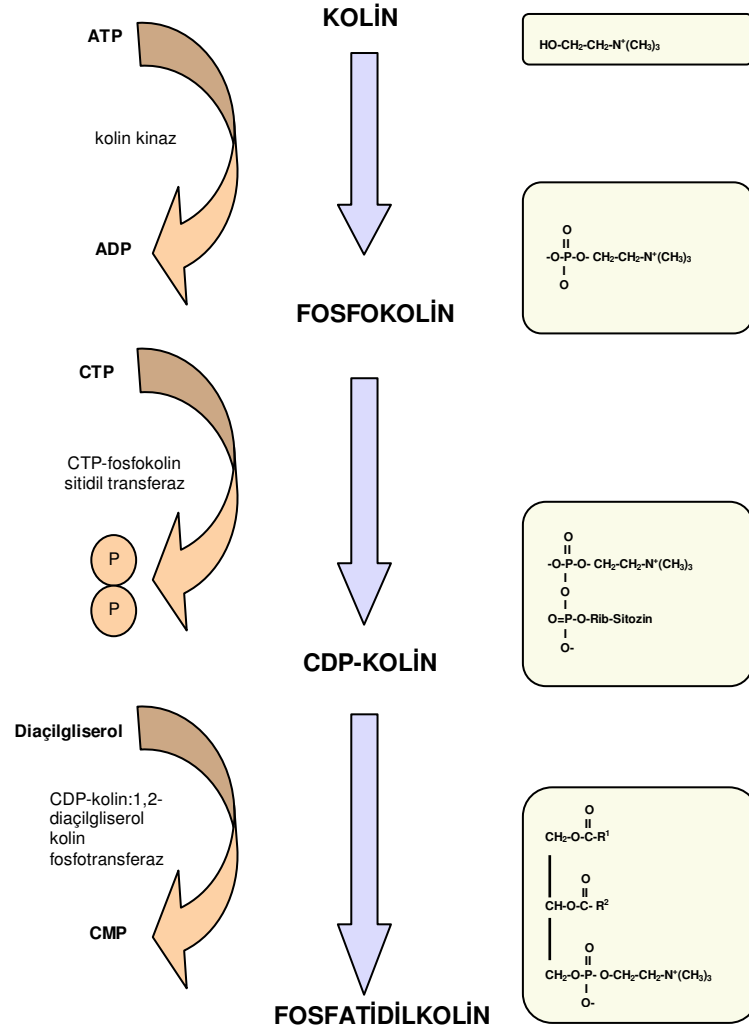


Şekil – 1: CDP-kolin'in molekül yapısı.

(IUPAC tarafından sistematik adı: 2- [{ [5-(4- amino- 2- oxopyrimidin-1-yl)-3, 4- dihydroxy-oxolan- 2-yl]methoxy- hydroxyphosphoryl } oxy- oxido- phosphoryl } oxyethyl- trimethyl-azanium)

Kennedy ve Weiss tarafından 1956'da tanımlanan “*Kennedy yolağı*”, hücre membranında kolinden fosfatidilkolin sentezlenmesinde sorumlu üç basamaklı sentez yoludur (68) ve yolağın hız kısıtlayıcı basamağında CDP-kolin bir ara ürün olarak sentezlenir (1, 69). Daha az olmakla beraber, fosfatidilkolinin sentezinde bu yolağın dışında; karaciğerde gelişen “*fosfatidiletanolamin metilasyon*” yolu, fosfatidilserin ile fosfatidiletanolamindeki serin ve etanolamin gruplarının serbest kolin grubu ile yer değiştirmesinden ibaret “*baz değişimi yolağı*” da vardır. Membran fosfolipidlerinden fosfatidilkolinin büyük bölümünün sentezinden sorumlu olan Kennedy yolağının birinci

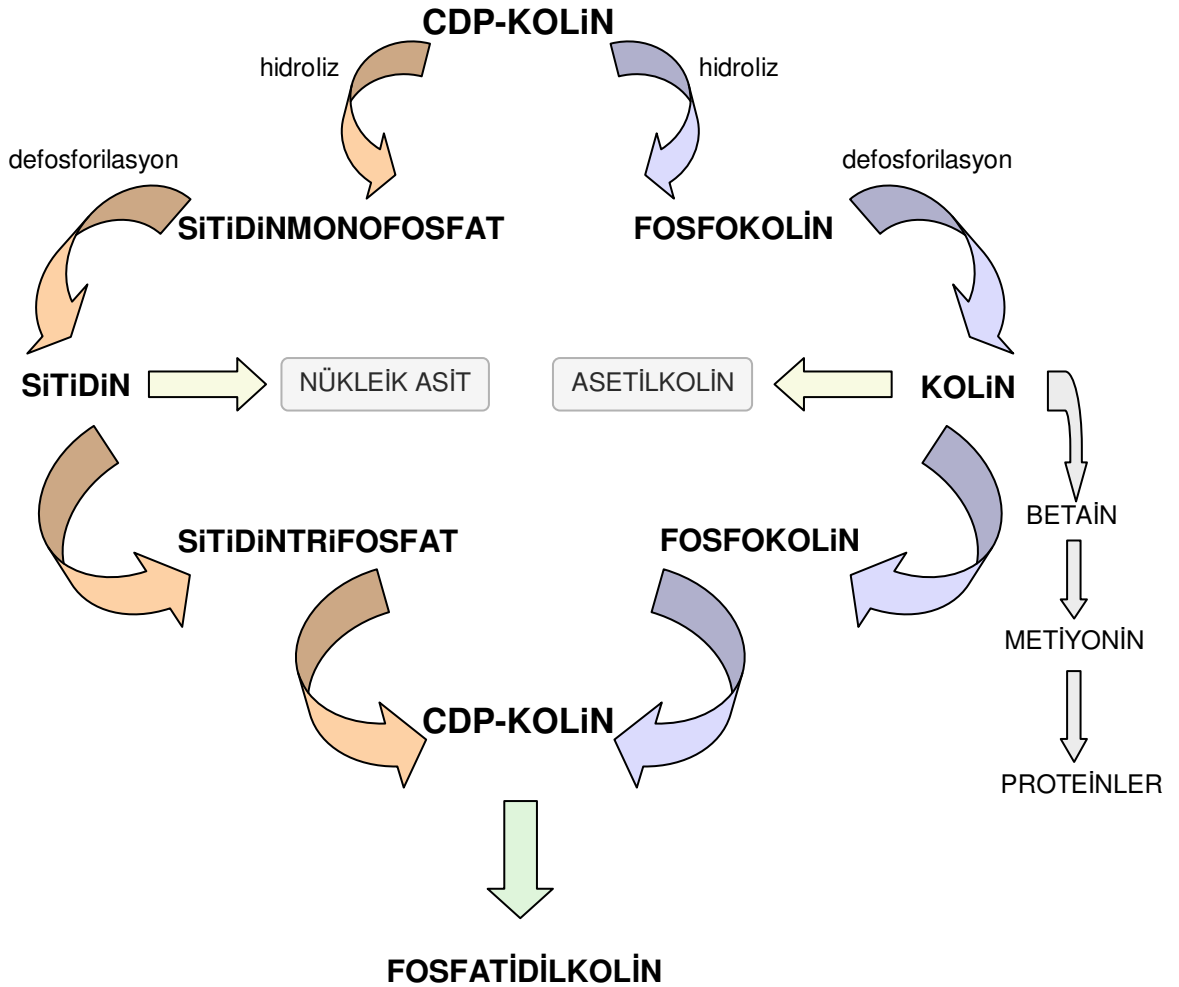
basamağında; kolin kinaz enziminin katalizlediği geri dönüşlü bir reaksiyonla kolin, fosforile edilerek fosfokoline dönüşür. Kennedy yolağının hız kısıtlayıcı basamağı da olan ikinci basamakta; CTP:fosfokolin sitidil transferaz (CCT) enzimi aracılığıyla fosfokolin ve sitidin-5'-trifosfat (CTP) reaksiyona girerek CDP-kolin'i oluşturur. Son olarak üçüncü basamakta da; 1,2-diaçilgliserol kolin fosfotransferaz enziminin katalizlediği bir reaksiyonla, CDP-kolin'in fosfokolin grubu olan sitidindifosfokolin, diaçilgliserole aktarılarak fosfatidilkolin sentezi gerçekleşir (70-75) (Şekil – 2). Endojen CDP-kolin miktarını arttırmaya yönelik kolin, sitidin, orotik asit gibi ön tedavilerle ya da doğrudan CDP-kolin verilmesiyle fosfatidilkolin sentezinde artış sağlanabilmektedir (19, 76, 77).



Şekil – 2: Kennedy yolağı aracılığıyla CDP-kolin sentezi; CMP: Sitidinmonofosfat, ATP: Adenozin trifosfat, ADP: Adenozin difosfat, Rib: Riboz, P: Fosfat grubu

1.2. CDP-kolin'in Metabolizması

In vivo koşullarda CDP-kolin, hücre membranında yerleşik fosfodiesterazlar tarafından hızla sitidinmonofosfat ve fosfokoline hidroliz edilir. Ardından bu iki molekülün defosforilasyonu sonucu sitidin ve kolin açığa çıkar. Sitidin ve kolin hücre içine alınarak, hücre içinde CDP-kolin'in yeniden sentezlenmesini sağlarken aynı zamanda kendilerine ait etkilere de aracılık ederler (Şekil – 3). Bir pirimidin nükleozidi olan sitidin, hücre içinde nükleik asitler ve proteinlerin yapısına katılır. Ayrıca hücre içinde sitidin, sitidintrifosfata dönüşür ve membran fosfatidilkolin yapısına kolin katılımını artırır (78). Kolin, hücre membranlarında fosfatidilkolin, sfingomyelin ve plazmalojenlerin polar alt ünitesini oluşturur. Ayrıca betain üzerinden metiyonin sentezine katkıda bulunurken; asetilasyon yoluna da girerek, nörotransmitter ACh sentezinde de kullanılır.



Şekil – 3: CDP-kolin'in metabolizması

1.3. CDP-kolin'in Periferik Dokularda ve Beyin Dokusundaki Dağılımı

CDP-kolin oral yolla verildiğinde, molekül yapısı nedeniyle parçalanarak aktif metabolitlerine dönüşmeden absorbe edilmesi güçtür. Oral yolla uygulanan CDP-kolin, emilim öncesi ya da emilim sırasında parçalanmak suretiyle hızla aktif metabolitleri olan kolin ve sitidine dönüşür.

Radyoizotopla işaretli CDP-kolin oral yolla verilerek radyoaktivite izlenmiş; 30 dakika sonra midede büyük oranda CDP-kolin, barsakta ise daha çok kolin ve sitidin fraksiyonları olduğu gösterilmiştir (79). Sitikolin, intestinal mukozada kısa sürede kolin ve sitidin metabolitlerine ayrılmaktadır (79). Sıçanlara oral yolla verilen ¹⁴C ile işaretli CDP-kolinin biyoyararlanımının neredeyse tama yakın olduğu (% 95) bulunmuştur (74). CDP-kolin'in oral veya intravenöz yolla verilmesini takiben hızla metabolize olduğu, dağılım ve metabolizma bakımından da her iki yolla verilmiş arasındaki farkın daha çok kantitatif yönde olduğu belirtilmiştir. CDP-kolin oral yolla uygulandığında kolin ve sitidinin plazmadaki derişimlerinin daha yavaş yükseldiği, ancak idrarla atılımının daha yüksek miktarlarda olduğu gösterilmiştir (80). Sağlıklı insanlara oral yolla 300 mg ¹⁴C işaretli sitikolinin bir kez uygulamasını takiben, toplanan gaitada verilen dozun ancak %1'inden daha azı saptanabilmiştir. Bu bulgular CDP-kolin'in gastrointestinal sistemden absorpsiyonunun tama yakın olduğunu göstermektedir (81). CDP-kolin'in oral yolla uygulanmasından sonra metabolitlerinin sıçanlarda ve insanlarda farklılık gösterdiği bulunmuştur. Sıçanlarda plazma kolin ve sitidin düzeylerinin arttığı (19, 80), insanlarda ise plazma kolin ve üridin düzeylerinin arttığı saptanmıştır (82).

CDP-kolin'in büyük ve polar bir bileşik yapıda olması kan-beyin bariyerinden geçişini zorlaştırır (83). Periferik verilen total dozun ancak % 0.25'nin beyin dokusuna ulaşabildiği gösterilmiştir (83, 84). CDP-kolin'in beyine geçişini arttırmak amacıyla; molekülün lipozomlara entegre edilmiş formları, *in vivo* serebral iskemi modeli uygulanan sıçanlarda kullanılmış ve terapötik etkinliğinin arttığı bildirilmiştir (83, 85).

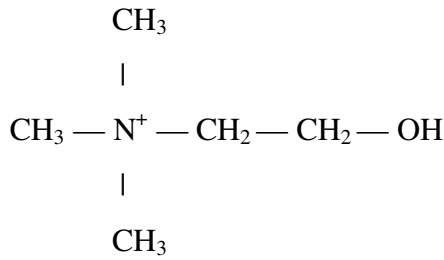
Oral yolla verilen CDP-kolin, beyin dokusuna kolin ve sitidin olarak alınmakta ve beyinde başlıca endojen CDP-kolin ile fosfolipid, nükleik asit ve proteinlerin sentezinde kullanılmaktadır (84). Farelere ¹⁴C işaretli CDP-kolin uygulanmasından sonra; otoradyografik ve elektron mikroskopik yöntemlerle beyinleri incelendiğinde, radyoaktivitenin seçici olmaksızın hücre membranlarında (86), kolinerjik nöronlarda ve Purkinje hücrelerinin subsellüler membranlarında yoğunlaştığı görülmüştür (87). İ.s.v. yolla verilen CDP-kolin'in, hipotalamus ve lateral serebral ventrikülde kolin derişimini yükselttiği gösterilmiştir (88).

1.4. CDP-kolin'in Metabolitleri

1.4.1. Kolin

Kolin (2-hidroksi-N, N, N-trimetiletanolamin), tüm hücre membranlarında fosfatidilkolin ve sfingomyelinin polar subünitini oluşturan pozitif yüklü kuarterner bir bazdır (Şekil – 4). Hidrofilik yapıda ve molekül ağırlığı 105 g dır. Ticari formları klorür ve tartarat tuzu halindedir. CDP-kolin'in ana metabolitlerinden biridir ve kolinerjik nörotransmitter olan ACh'in ön maddesidir.

Kolin bir çeşit B vitamini olarak da nitelendirilebilen günlük beslenmedeki temel bileşiklerdendir. Özellikle yumurtada, balıkta, soya fasulyesinde, hububatlarda (buğday), kabuklu yemişlerde (yerfıstığı), yağsız ette ve sebzelerde bulunur. Anne sütü de kolin içermektedir. Gıdalarla alındığında barsaklardan kolaylıkla emilir ve kan-beyin bariyerini geçebilir.



Şekil – 4: Kolin'in molekül yapısı

Kolinin, beyin gelişimi ve fonksiyonu açısından kritik görevi bulunmaktadır (89-91). Vücut için gerekli kolin, diyetle alınımının yanı sıra, hücre membranında bulunan fosfatidilkolinden birkaç yol ile sentezlenebilir. Fosfatidilkolinin vücuttaki kolin molekülünün ana deposu ve kaynağı olduğu söylenebilir. Fosfatidilkolinden olan sentez başlıca karaciğer ve böbrekte olurken, çok sınırlı bir şekilde beyin nöronlarında da gerçekleşir (92, 93).

Sentezlenen veya dışarıdan diyetle alınan kolin dolaşıma geçerek bütün vücuda dağılır. Kolinin kan-beyin bariyerinden geçişi hızlıdır. Bu geçiş kapiller endotele yerleşik bir taşıyıcı sistem aracılığıyla gerçekleşmektedir. Kolinin kan-beyin bariyerini geçişi iki yönlü çalışmaktadır. Metabolik enerjiye ihtiyaç duymadan çalışan ve konsantrasyon gradiyenti oluşturmeyen bu taşıyıcı sistem normal koşullarda kolin ile doyurulmamış haldedir. Taşıyıcı sistemin plazmadaki kolinle doyurulmamış olması nedeniyle dışarıdan kolin verilerek dolaşımdaki kolin yoğunluğu artırılmadıkça kolin akış yönü beyinden kana

doğrudur (92). Dolaşımdaki kolin derişiminin artırılması beyindeki kolin seviyesini yükseltir (22-25).

Kandan, beyin ekstrasellüler kompartmanına geçen kolinin nöron içine alınması başlıca iki sistem aracılığı ile olmaktadır:

a) Yüksek afiniteli transport sistemi: Presinaptik kolinerjik nöronun terminallerinde bulunan, sodyum iyonuna bağımlı çalışan ve hemikolinium-3 (HC-3) tarafından bloke edilen bir taşıma sistemidir. Fizyolojik plazma (10 μ M) ve beyin kolin konsantrasyonlarında bu sistem doyurulmuş haldedir (K_m : 0.1-10 μ M). ACh sentezinde hız sınırlayıcı basamak olduğu düşünölen bu taşıyıcı sistem ile ACh'in hidrolizlenmesiyle ortaya çıkan kolin, presinaptik kolinerjik nörona geri alınarak bu nöronlarda ACh sentezinde kullanılır (92, 94).

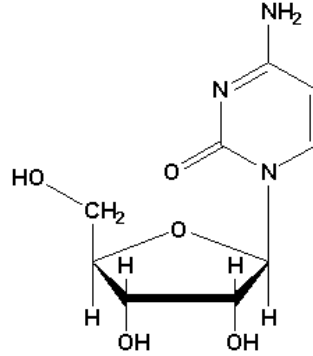
b) Düşük afiniteli transport sistemi: Nöron gövdesinde bulunan, sodyum iyonuna bağımlı olmayan ve K_m değeri daha yüksek (30-100 μ M) olan, normal şartlarda doyurulmamış bir taşıyıcı sistemdir. Bu sistem temel olarak fosfatidilkolin ve diğer fosfolipidler için gerekli olan kolin desteğini sağlamada görev alır. Yüksek afiniteli transport sisteminin aksine insan dokularında yaygın olarak bulunduğu; özellikle enterositler, hepatositler, plasental doku, mitokondri ve sinaptozomlarda varlığı gösterilmiştir (95, 96).

Kolin, ACh'in hem ön maddesi hem de yıkım ürünüdür. ACh, CAT enziminin katalizörlüğünde kolin ve asetil CoA'nın birleşmesi sonucu oluşur. CAT enzimi, fizyolojik koşullarda doyurulmamış halde olup, kapasitesinin altında çalışmaktadır (K_m : 400 μ M, kolin konsantrasyonu: 50–60 μ M) (92). Dışarıdan uygulamalarla plazma kolin derişiminin artırılması, beyin kolin derişimlerinde ve ACh sentezinde artışa yol açar. Yapılan çalışmalarla, dolaşımdaki kolin düzeyi arttırıldığında, beyindeki kolin (22-25) ve ACh düzeylerinde (23, 24, 27) artış olduğu gösterilmiştir. Ayrıca beyin dilimlerinde ve *in vivo* mikrodiyaliz çalışmalarında, kolin düzeylerinde sağlanan artışın, ACh sentez ve saliverilmesinde de artış meydana getirdiği gösterilmiştir (26, 28, 97-99). Bu uygulamalar sonucunda kolinerjik iletide artış ve (29, 30) fonksiyon değışiklikleri meydana gelmektedir (31, 100-102).

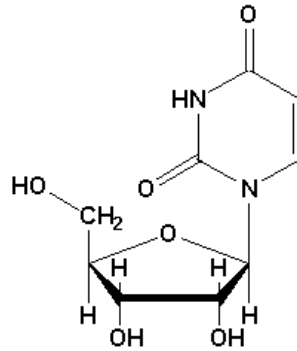
1.4.2. Sitidin ve Üridin

Sitidin (Şekil – 5) ve üridin (Şekil – 6) birer primidin nükleozididirler. Primidin nükleozidleri, içerdikleri şeker molekülünün tek bir hidroksil grubunun fosforile edilmesiyle, primidin mononükleotidlerine dönüşerek yıkımlanmaktan korunurlar. Kısaca

nükleotid molekülü, nükleozid molekülünün fosfat esteridir. Primidin nükleotidleri genetik bilgi transferi, nükleik asid oluşumu, enerji metabolizması, lipid biyosentezi, metabolik reaksiyonlar ve sinyalizasyon gibi önemli fonksiyonlarda rol alan kritik moleküllerdir.



Şekil – 5: Sitidin'in molekül yapısı



Şekil – 6: Üridin'in molekül yapısı

Primidin bazlarına (sitozin, timin, urasil) bir pentoz şeker molekülünün bağlanmasıyla *primidin nükleozidleri* (sitidin, üridin, deoksisitidin, deoksiüridin, deoksitimidin), bunlara fosfat grubu eklenmesiyle *primidin mononükleotidleri* (sitidin 5'-monofosfat [CMP, sitidilat], deoksisitidin 5'-monofosfat [dCMP, deoksisitidilat], deoksitimidin 5'-monofosfat [TMP, deoksitimidilat], üridin 5'-monofosfat [UMP, üridilat]), pürin veya primidin nükleotidinin 5'-fosfat esterinin ikinci bir fonksiyonel alkol grubuyla (-OH) esterlenmesiyle çoklu nükleotid grupları (oligonükleotidler, polinükleotidler) ve bunların kovalent bağlarla birleşmesiyle de *nükleik asidler* (deoksiribonükleotid polimeri ⇒ DNA: deoksiribonükleik asid, ribonükleotid polimeri ⇒ RNA: ribonükleik asid) oluşur.

Pirimidin türevi CTP, hayvansal dokularda bazı fosfolipidlerin biyosentezinde; seramid ve CDP-kolin'in bir araya gelmesiyle sfingomyelin ve diğer substitüe sfingozinleri oluşturmada görev alır. CDP-kolin'in hem yıkım ürünlerinden biri, hem de sentezine katılan bir ön madde olan sitidinin, membran fosfotidilkolinine kolin eklenmesini artırarak membran fosfolipid sentezini artırdığı gösterilmiştir (76, 78). Yeni çalışmalarla (82, 103) üridinin de, CTP'ye dönüşerek CDP-kolin sentezine ve bu yolla membran fosfolipidlerinin sentezine katkıda bulunduğu ortaya konmuştur. Oral yolla üridin verilen gerbillerde beyinde UTP, CTP ve CDP-kolin seviyelerinin arttığı (104); sinaptik proteinlerin ve fosfolipidlerin düzeyinde artış meydana geldiği gösterilmiştir (105). Sıçan beyin dilimlerinin sitidin, üridin veya kolinle ve kolin de katılmış sitidin ya da üridinle inkübe edildiği bir çalışmada, sitidin ve üridinin striatal, hipokampal, kortikal beyin dilimlerinde ACh sentez veya salınımını etkilemeden CDP-kolin seviyesini artırdığı tespit edilmiştir (106). Daha önce yapılan bir çalışmada sitidinin striatal ACh seviyesini bir miktar azaltabileceği gösterilmişken (76), son çalışmada sitidin ve üridinin ACh seviyesinde artış ya da azalış yaratmadan membran fosfolipid sentezine katılabileceği gösterilmiş (106) ve bu farklılığın metod değişikliğinden kaynaklandığı ileri sürülmüştür.

Primidinler hidrofobik yapıda olmaları sebebiyle nötral pH'da suda çözünmezler. Pirimidin biyosentezi, pürin biyosentezi ile beraber yürür; dolayısıyla pürin ve pirimidin nükleotid biyosentezlerinin kontrolü birlikte sağlanır. Pürin ve primidin nükleotidlerinin sentezi birbirine benzerdir; sentez için genel mekanizma ile düzenlenen iki yolak tarif edilmiştir.

1) *De Novo yolak:* Primidin nükleotidlerinin sentezinde fosforibozil pirofosfat (PRPP), glutamin, CO₂ ve aspartat kullanılır. Sentez basamaklarının ilk ikisinde kullanılan enzimler allosterik olarak düzenlenmiştir. Yolağın ilk üç enzimi, son iki enzimin bunlar üzerine represyon ve depresyon mekanizmalarıyla kontrol altında tutulur. Dihidroorotat dehidrojenaz enzimi dışında kalan enzimler sitozolden sağlanır.

2) *Kurtarma yolakları:* Parçalanmış nükleik asitlerin yıkım ürünleri olarak ortaya çıkan serbest pürin ve pirimidin bazlarının tekrar kullanılmasıyla pürin ve pirimidin nükleotidleri sentezlenir. Pirimidin nükleozidlerinden üridin ve sitidin, üridin-sitidin kinaz enziminin, timidin ise timidin kinaz enziminin katalizlediği reaksiyonla uygun nükleotide dönüşerek yıkımdan korunur. Nükleik asitlerin yıkımı, hücre içi veya hücre ölümünün sonucu meydana gelebileceği gibi, hayvanlarda diyetle alınan nükleik asitlerin sindirilmesi sonucu da olabilir. Bazlar ya da nükleotidler kurtarma yolakları üzerinden nükleik asit sentezi için

tekrar kullanılamazsa pirimidin β -üredopropionata yıkımlanır. Pürin bazlarında ise aynı durumda son ürün ürik asit olmaktadır.

Deney hayvanlarında merkezi yolla uygulanan CDP-kolin'in ve sitidinin, hemorajik şok oluşturulmuş sıçanlarda kan basıncında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış meydana getirdiği bildirilmiştir (88). Sıçanlarda intraperitoneal yolla verilen CDP-kolin'in antidepresan etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada (107), kendisinin anlamlı bir etkisi bulunmazken; metabolitlerinden sitidinin antidepresan ve kolinin ise aksine prodepresan etki gösterdiği ortaya konmuştur.

1.5. CDP-kolin'in Etkileri

1.5.1. ACh Sentezi ve Kolinerjik Sistem Üzerine Olan Etkileri

CDP-kolin vücuda girdiğinde, metabolize olur ve dolaşımında kolin düzeyinin artışına yol açar (19, 108). Plazma kolin düzeyinin artışı, beyin kolin düzeyine yansır ve artışa neden olur (22-25). CDP-kolin'in intravenöz verilmesi plazma ve beyin kolin düzeyini (20); i.s.v. yolla uygulanması da beyindeki kolin miktarını artırmaktadır (88). İntraperitoneal CDP-kolin uygulamasının, dorsal hipokampus ve neokortekste ekstrasellüler ACh düzeyinde artış sağladığı gösterilmiştir (109). Dışarıdan CDP-kolin verildiğinde plazma ve beyin kolin düzeylerinde artış ve buna bağlı ACh sentezinde de artış sağlanır; kolinerjik aktivite desteklenir ve buna uyan fonksiyon değişiklikleri ortaya çıkar (27, 32, 33, 88).

1.5.2. Membran Fosfolipidleri Üzerine Olan Etkileri

CDP-kolin verilmesiyle sitidin ve kolin metabolitlerinin plazma düzeylerinde artış meydana gelir. Kolin, membran fosfolipidlerinden fosfatidilkolinin yapısına girerken, sitidin hücre içinde CTP'ye dönüşür ve membran fosfatidilkolin yapısına kolin katılımını artırır (78). Dışarıdan CDP-kolin uygulamasının beyinde fosfatidilkolin ile birlikte fosfatidilserin ve fosfatidiletanolamin seviyelerinde de artış sağladığı gösterilmiştir (19). Oral CDP-kolin uygulamasının fosfolipaz A₂ enzim aktivasyonunu inhibe ederek fosfatidilkolin yıkımını azalttığı, dolayısıyla membran yapısında koruyucu rol üstlendiği ortaya konmuştur (110).

1.5.3. Kardiyovasküler Sistem Üzerine Olan Etkileri

Kardiyovasküler düzenlemede kolinerjik sistem önemli rol oynamaktadır. Beyinde kolinerjik aktivite artışı, kan basıncında artışa yol açmaktadır (31, 111, 112). Merkezi

veya periferik yolla uygulanan CDP-kolin'in, normal ve hipotansif koşullarda kan basıncını arttırdığı yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (20, 88). Hemorajik şoklu hayvanlara, anestezi altında verilen CDP-kolinin süperior mezenterik arter ve renal arter kan akımını arttırdığı ve yaşam oranlarını yükselttiği bildirilmiştir (40). Ayrıca deneysel miyokardiyal iskemi-reperfüzyon hasarında, intravenöz verilen CDP-kolin'in kalbi koruyucu etkiye sahip olduğu ortaya konmuştur (113).

1.5.4. Endokrin Sistem Üzerine Olan Etkileri

Hipotalamo hipofizer sistemin yoğun kolinerjik innervasyona sahip olması nedeniyle insan ve hayvanlarda yapılan çalışmalarda CDP-kolin'in endokrin sistem üzerine etkileri araştırılmıştır. İnsanlarda intravenöz uygulanan CDP-kolin'in kanda büyüme hormonu (GH) seviyesini yükselttiği, prolaktin seviyesini ise azalttığı gösterilmiştir (114, 115). Sıçanlara i.s.v. yolla verilen CDP-kolin'in, normal koşullarda plazma vazopressin ve adrenokortikotropik hormon (ACTH) düzeylerini artırdığı, uyarılmış koşullarda ise tiroid uyarıcı hormon (TSH), luteinizan hormon (LH) ve GH düzeylerinde artışlar sağladığı gösterilmiştir (32). İ.s.v. veya intravenöz verilen CDP-kolin, plazma katekolamin ve vazopressin düzeylerinde artışa yol açmıştır (20, 33, 88). Sıçanlara intraperitoneal yolla CDP-kolin uygulaması da serum insülin, plazma glukagon ve katekolamin düzeylerini yükseltmiştir (116).

1.6. CDP-kolin'in Kullanımı ve Terapötik Potansiyeli

CDP-kolin'in yan etki profili düşük, güvenlik aralığı geniş olmasına karşın çeşitli yollarla verildiğinde ortaya çıkabilecek farmakolojik etkileri tamamen ortaya konmamıştır. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji A. D. bünyesinde bu maddenin güvenilirliği hakkında detaylı bilgi edinmek ve kullanım alanlarını aydınlatmak üzere bir seri çalışma planlanmış, bu çalışmaların bir kısmı tamamlanmış, bir kısmı da halen yürütülmektedir. Hayvanlarda ve insanlarda yapılan çalışmalarda yan etkisi ve toksisitesi az görülmüştür (117-120). CDP-kolin'in günümüzde ilaç olarak kullanıldığı veya kullanılma potansiyelinin bulunduğu alanlar şunlardır:

a) Serebral iskemi ve hipoksi: İskemik ve hipoksik patolojik durumlarda fosfatidilkolin, kardiyolipin, sfingomyelin ve CCT enziminin kaybı söz konusudur. Fosfatidilkolinin yıkımlanması ve kaybıyla serbest yağ asidi salınımı artar (121, 122). CDP-kolin uygulanmasıyla başlıca, bu önemli moleküllerin vücuttaki gerekli düzeyleri korunmuş olur. Dışarıdan CDP-kolin verildiğinde, fosfatidilkolin sentezinin arttığı ve

araşidonik asit gibi serbest yağ asitleri salınımının azaldığı gösterilmiştir (123, 124). Fosfatidilkolin sentezinde görevli CTP, CCT enziminin aktivitesindeki düşüşü önleyerek, fosfatidilkolin düzeylerindeki azalmayı engellemiştir (125). Deneysel çalışmalarda, dışarıdan uygulanan CDP-kolin'le kardiyolipin ve sfingomyelin kayıpları karşılanmış, glutatyon sentezi arttırılmış, glutatyon redüktaz aktivitesi uyarılmış, lipid peroksidasyonu azaltılmış ve Na⁺ / K⁺ ATPaz aktivitesi yenilenebilmiştir (126). CDP-kolin'in nöron koruyucu etkisinde fosfolipaz A₂ aktivasyonunun engellenmesi rol oynar (110, 126-128). Klinik ve laboratuvar çalışmalarında CDP-kolin'in, serebral iskemi ve hipoksi patolojilerinde kullanılmasıyla ödem ve infarkt miktarının azaldığı ve nörolojik hasarların geri döndüğü tespit edilmiştir (6-8, 129-135).

b) Kafa travmaları: Deneysel kafa travmaları çalışmalarında CDP-kolin'in oluşan beyin ödemi azalttığı ve bulguları hafiflettiği gösterilmiştir (109, 136). Klinik çalışmalarda CDP-kolin'in motor, bilişsel ve psikolojik fonksiyonlarda düzelme ve hastanede yatış sürelerinde kısalma sağladığı bildirilmiştir (10, 137). Günümüzde bazı Avrupa ülkeleri ve Japonya'da klinik kafa travmaları olgularında CDP-kolin tedavisi onaylanmıştır.

c) Nörodejeneratif hastalıklar: Dışarıdan verilen CDP-kolin, beyinde yarattığı fosfatidilkolin, fosfatidilserin ve fosfatidiletanolamin artışıyla nöronlarda membran koruyucu etki gösterir (19). Bazı nörodejeneratif hastalıklarda (Alzheimer ve multiinfarkt demans gibi) bu etkisinden yararlanmak için kullanılmaktadır (2-4, 138-140).

d) Diğer durumlar: CDP-kolin'in Parkinson hastalığında (141-143), bazı göz hastalıklarında [glokom (11, 144) ve ambliyopi (12, 13, 145)], öğrenme ve hafıza fonksiyonlarının iyileştirilmesinde (14, 15, 146-148) yararlı etkileri olduğu bildirilmiştir. Deneysel miyokardiyal iskemi çalışmalarında CDP-kolin'in reperfüzyon açısından etkili olduğu gösterilmiştir (113). Deneysel akut ağrı araştırmalarında (16-18) CDP-kolinin analjezik etkinliği ortaya konmuştur.

2. Ağrı ve Analjezi

2.1. Ağrının Tanımı ve Santral Sinir Sistemine İletilmesi

Ağrı; Uluslararası Ağrı Araştırmaları Derneği'nin (International Association for the Study of Pain-IASP) Taksonomi Komitesi tarafından vücudun belli bir bölgesinden kaynaklanan, bir doku hasarına bağlı olan ya da olmayan, duysal, hoşça gitmeyen bir duyum ve davranış şekli olarak tanımlanmıştır (149). Somatik duyunun bir alt modilitesi olan ağrı

öznel yapıya sahip olup bireyler arasında algıda değişkenlik gösterir ve ağrı sonrasında bireyde gelişen davranışsal değişiklikler de buna bağlı olarak farklılık gösterir.

Ağrılı uyarının algılanmasını sağlayan reseptörler bütün vücutta yaygın olarak bulunur. *Nosiseptör* adı verilen bu yapılar, dokuya bağlı olarak özelleşen serbest sinir sonlanmalarıdır ve ağrının türüne spesifiktir. *Nosisepsiyon ise;* vücudun herhangi bir bölgesinde bir doku harabiyeti olduğu zaman, bu bölgeden salınan mediyatörler ve aljeziklerin nosiseptörleri uymaları ile algılanması, merkezi sinir sisteminin belirli bölgelerinde nöral yapılarda değerlendirilmesi ve buna karşı gereken fizyolojik, biyokimyasal ve psikolojik önlemlerin harekete geçirilmesidir. Kısacası nosisepsiyon ağrılı uyarılara karşı sinir sistemi içerisinde oluşturulan aktivasyondur ve her zaman ağrı deneyimiyle sonuçlanmayabilir. Ağrı ile nosisepsiyon arasındaki ilişki, algının duysal girdilerinin beyinde yoğunlaştırıldığı görüşünü destekler. Nosisepsiyonun ağrıyı kapsadığı düşünülebilir (150-152).

Nosiseptörler termal, mekanik ve polimodal olmak üzere üç tipte bulunur. Deride ve daha derin dokularda tüm nosiseptör tipleri bulunurken visseral organlarda sessiz nosiseptör adını alan ancak inflamasyon ve bazı kimyasal ajanlarla aktive olarak ağrı algısına yol açan reseptörler bulunur. Termal nosiseptörler 45°C ve üzerine çıkan artmış sıcaklık değerlerinde ya da 5°C altına düşmüş sıcaklık değerlerinde miyelinli A-delta (A δ) tipi lifler (5-30 m/sn hızda taşınırlar) aracılığıyla aktive olurlar. Mekanik nosiseptörler deriye uygulanan yoğun uyarıyı alırlar ve A δ tipi lifleri ile yanıt oluştururlar. A δ tipi liflerin hem termal, hem mekanik reseptörler aracılığıyla aktive olmaları nedeniyle diğer nosiseptör sınıflandırmasında mekanotermal reseptörler olarak geçmektedir. C-Polimodal nosiseptörler ise miyelinsiz C tipi liflerin (< 1 m/sn hızda taşınırlar) sorumlu olduğu yüksek şiddette mekanik, termal veya kimyasal uyarılarla uyarılırlar. İyi lokalize edilen akut, keskin, batıcı karakterde ağrıyı A δ lifleri taşır ve yanıt oluştururken, daha az lokalize edilebilen kronik ve yaygın ağrıyı C-lifleri iletir ve cevap oluştururlar. Örneğin, keskin bir cismin periferik dokuya batması önce mekanotermal nosiseptörlerin uyarılmasına (A δ tipi lifler) ve dolayısıyla keskin bir ağrı algısına yol açar; ardından polimodal reseptörlerin aktivasyonu (C tipi lifler) uzamış ve yanıcı tipte ağrı algısı devam eder (150-153).

Bu özel reseptörler tarafından algılanan, ağrılı ya da uzamış ağrısız uyarana (endojen aljezik maddelerin ortama salınmasına neden olabilecek uyarılar) maruz kalma ile nosisepsiyon başlatılır ve dört aşamada ağrılı uyarı üst merkezlere iletilir (150-152, 154, 155) (Şekil – 7):

a)Transdüksiyon: Duyusal sinir uçlarında bulunan termal, mekanik veya polimodal nosiseptörler aracılığıyla algılanan ağırlı uyarının sinir sistemi içerisinde iletimini sağlayabilmek için bu reseptörler tarafından elektriksel aktiviteye dönüştürülür. Nosiseptörler tarafından ağırlı uyarının elektriksel aktiviteye çevrilmesiyle impuls (uyartı) oluşur.

b)Transmisyon: Ağrı impulsunun sinir sistemi içerisinde üst merkezlere, kortekse doğru iletilmesidir. Bu aşama periferden kortekse kadar uzanan nosiseptif yolak olup, 3 ana nöron grubundan oluşmaktadır.

i) A δ ile C tipi lifler, oluşan ağrı impulsunu nosiseptörlerden alıp spinal kordun dorsal boynuzuna ulaştırıran primer aferent duyuşal (I. sıra nöronlar) nöronlardır. Primer aferent nöronların hücre gövdeleri, spinal köklerin dorsal kök ganglionunda veya trigeminal ganglion gibi kafa çiftlerinin duyuşal ganglionlarında bulunur. Medulla spinalisin dorsal boynuzunda Rexed (156) tarafından tanımlanmış olan laminalardan başlıca Lamina I-II ve V alanlarında sonlanırlar.

ii) Spinal kordun dorsal boynuzunda sonlanan primer aferent nöronlar, burada beyin sapı ve talamusa uzanan (çıkan, assendan) spinal nöronlar (II. sıra nöronlar, projeksiyon nöronları) ile sinaps yaparlar. Spinotalamik yolak (STT), bu grup nöronlar içerisinde en önemli yolaktır ve retiküler formasyon, periakvaduktal gri madde (PAG) ve hipotalamus ile yakın ilişki içerisinde. Projeksiyon nöronları aracılığıyla, çıkan (assendan) sistem ile spinal kord boyunca ilerleyerek ağrı impulsu üst merkezlere iletilir. Nosiseptif impuls, spinal kordda bulunan eksitatuvar internöronlar ile de ön boynuzdaki preganglioner sempatik nöronları ve motor çekirdekleri uyarak sempatik ve motor refleks cevaba yol açar.

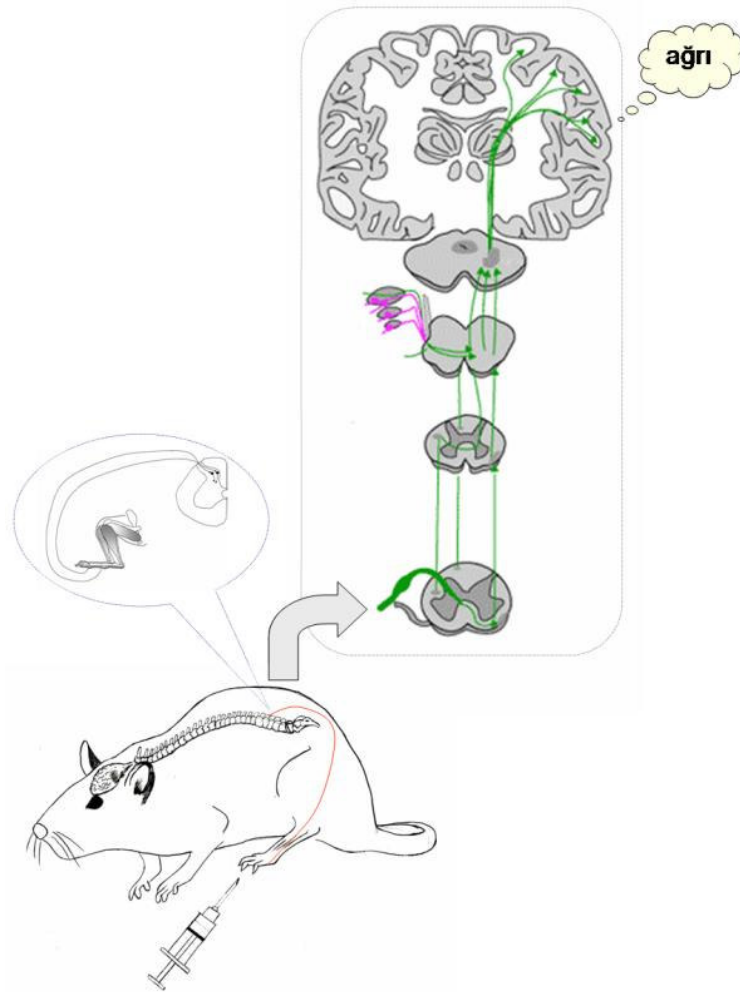
iii) Supraspinal sistem veya yolak olarak da tanımlanan kortekse ağrı impulsunun iletim basamağı talamo-kortikal projeksiyon nöronları (III. sıra nöronlar) aracılığıyla olur. Medial talamustan projekte olan lifler, limbik sisteme uğrayarak anterior singulat korteks ve prefrontal kortekste sonlanırlar. Lateral talamustan projekte olan lifler ise somatosensoryal kortekste (primer ve sekonder korteks) sonlanırlar.

c)Modülasyon: Ağrı impulsuna yanıt oluşması ve inen (dessendan) nöral yollar ile ağırlı uyarının inhibe edilmeye çalışılmasıdır. Özetle transmisyon iletiminin azaltılmasıdır. Modülasyon periferik, spinal ve supraspinal düzeylerde olabilmektedir. Kapı kontrol teorisi, ağrının ilk olarak spinal kordda kontrol edildiği düşüncesini ortaya koyarak modülasyonu açıklamada önemlidir (157). Çeşitli beyin bölgeleri desendan inhibitör

yolaklara etkir ve bu yolaklardaki sinir lifleri dorsal boynuz nöronlarıyla sinaps yaparak, sinaptik aralığa endojen opiadlar, serotonin, norepinefrin ve gama amino bütirik asit (GABA) gibi inhibitör maddeler salıverirler. Bu mediyatörler primer aferent ve/veya dorsal boynuz nöronları üzerindeki reseptörlere bağlanarak nosiseptif transmisyonu inhibe ederler.

d) *Persepsiyon*: Supraspinal düzeye ulaşan ağrı impulsunun kortekste değerlendirilerek ağrı duyusu olarak algılanmasıdır. Talamus ve korteksteki nöronların ağrılı uyarının şiddetine paralel yanıt oluşturması burada önemlidir.

Ağrının iletiminin dört aşamasına ek olarak beşinci aşama sayılabilecek, ağrı duyusu olarak algılanan bilginin hasar bölgesine iletilerek birey tarafından dile getirilmesini ve cevap davranışın sergilenmesini betimleyen *ekspresyon* son yıllarda dile getirilmektedir.



Şekil – 7: Ağrılı uyarının santral sinir sistemine iletilmesi ve ağrı algısı

2.2. İnflamasyon ve İnflamatuvar Ağrı Modelleri

İnflamasyon (yangı), Hippokrates zamanından bu yana bilinmektedir. Celsius, inflamasyon için dört ana klinik bulgu ortaya koymuştur: Isı, kırmızılık, şişme ve ağrı. Bu komponentler akut inflamasyonun klasik lokal belirtilerine yol açar. Daha sonra yangıda fonksiyon bozukluğunu ifade etmek amacıyla beşinci bir klinik belirti sayılabilecek fonksiyon kaybı ilave edilmiştir. İnflamasyon, çeşitli zararlı etkenler nedeniyle gelişen doku irritasyonu veya enfeksiyonuna karşı, organizmanın kendini onarma çabasıyla gösterdiği vasküler, humoral ve hücrel reaksiyonları içeren koruyucu yanıttır. Yangı bir savunma mekanizması olmakla birlikte, aynı zamanda zararlı yönleri bulunmaktadır. Zedelenme, fiziksel, kimyasal ve biyolojik ajanların yol açtıkları anormal uyarı nedeniyle, etkilenmiş kan damarlarında ve çevre dokularda oluşan sitolojik ve histolojik reaksiyonlardan meydana gelen dinamik kompleksi içeren temel bir patolojik süreçtir. İnflamasyonda en önemli özellik; ağrılı olmayan bir uyarının ağrı meydana (allodini) getirmesi ya da hafif bir uyarının daha şiddetli ağrıya (hiperaljezi) neden olmasıdır (153). İnflamatuvar yanıt bağ dokuyu, plazmayı, dolaşım hücrelerini, kan damarlarını, bağ dokunun sellüler ve ekstrasellüler komponentlerini içerir. Akut inflamasyon nispeten kısa süreli, birkaç dakika, birkaç saat veya birkaç gün olup, esas özellikleri plazma protein ve sıvısının eksudasyonu, başlıca nötrofiller olmak üzere makrofajlar ve lökositlerin emigrasyonudur. İnflamasyonun erken dönemde vasküler ve geç dönemde hücrel yanıtları, inflamatuvar bir stimulusla (uyarım) meydana gelen kimyasal faktörlerle plazma ve hücrelerden çıkan kimyasal mediyatörler vasıtasıyla ortaya çıkmaktadır. Bu endojen maddeler birlikte veya sırayla etki yaparak inflamasyonun yanıtının oluşmasını etkiler (153, 158, 159).

Deney hayvanlarında kullanılan inflamatuvar ağrı modelleri genelde arka pençe içine irritan bir ajanın intraplantar uygulanmasına ve bu ajanın bulunduğu bölgede yangının kriterleri olan ödem, kaşıntı, kızarıklık ve ağrı oluşturmasına dayanır. Sıçanlarda çalışılan başlıca deneysel modeller arasında carrageenan enjeksiyonu, formalin enjeksiyonu, complete freud's adjuvant (CFA) enjeksiyonu, kapsaisin enjeksiyonu, mustard oil (hardal yağı) enjeksiyonu, zymosan enjeksiyonu ve artrit modelleri sayılabilir. Bu modeller arasında carrageenan en çok kullanılan inflamatuvar ağrı modelidir. İrlanda yosunu olarak da bilinen inflamatuvar bir etmen olan "carrageenan" ya da diğer adıyla "carrageenin", kırmızı deniz yosunlarından elde edilen, lineer sülfatlanmış polisakarit familyasındandır. Carrageenan'ın 1930'lu yıllarda endüstriyel ölçekte ilk kez ortaya çıkması da, M.Ö. 600 civarında Çin'de ve M.S. 400 civarında İrlanda'da jelatin özütünün besin katkı maddesi

olarak kullanıldığı bilinmektedir ve halen kullanılmaktadır. Klinikte gözlemlenmiş olan inflamatuvar ağrı hallerini modellemede kullanılan bu madde, enjeksiyonundan üç saat sonra doruğa ulaşan lokalize şişlik ve ağrıya yol açar (160-162). Carrageenan deney modeli aynı zamanda antiinflamatuvar etkisi araştırılan etken maddeleri için de kullanılmaktadır (162-164). Carrageenan'ın neden olduğu inflamasyon ve buna bağlı gelişen hiperaljezik yanıtta periferik doku ve hücrelerden ortama salgılanan TNF- α , interlökin 1 β (IL-1 β) ve bazı prostasiklinlerin aracı olduğu gösterilmiştir (165-167).

2.3. İnflamatuvar Ağrı Mekanizması

İnflamasyon sürecinde doku hasarlanması sonucu hasarlanmış dokudan bazı mediyatörler salınır ve salınan bu mediyatörler, inflamatuvar ağrı patogenezinde primer rol oynar. H⁺, K⁺, ATP, bradikinin, prostaglandinler, lökotrienler, proinflamatuvar sitokinler, serotonin, histamin ve sinir büyüme faktörü bunlar arasında bulunmaktadır (150-152, 154, 158, 167, 168). Kendi reseptörleri üzerinden primer aferent lifleri uyarabilirler, bunun dışında nosiseptörlerin diğer uyarılara karşı duyarlılığını da artırabilirler. Bu sırada primer aferent liflerin ucundan, aksonal refleks mekanizması ile ortama salınan substans-P, kalsitonin gen ilişkili peptid (CGRP) ve nörokinin-A ile nosiseptörlerin uyarılması artar. Ortama gelen mast hücrelerinden histamin degranülasyonu aracılığı ile şekillenen nörojenik inflamasyon sonucu, ortama daha fazla algojen madde (bradikinin, serotonin gibi) akışı sağlanır (151, 152, 154, 158, 168-170). Gelişen bu olaylarla hasarlı bölgede nosiseptörlerin uyarılabilirliği artar ve ağrı eşiği düşer. Sonuçta *primer hiperaljezi* oluşur. Uyarılmanın kronikleşmesi ile inflamasyonlu bölgenin etrafındaki sağlıklı dokuda bulunan nosiseptörler de uyarılır ve burada da ağrı eşiği düşer ve *sekonder hiperaljezi* meydana gelir (150-154, 159, 171). Tüm bu patofizyolojik ağrı süreci "*periferik sensitizasyon*" olarak adlandırılır (150-154, 155, 170, 171).

I. sıra nöronların nosiseptif uyarıyı periferden alıp taşıyan A- δ ve C-lifleri, medulla spinalisin arka boynuzundaki Lamina I-II ve V'te sonlanır. Spinal kord arka boynuzuna gelen I. sıra nöronlar burada II. sıra nöronlar ile sinaps yaparlar. II. sıra nöronlarına aktarılan ileti medulla spinaliste ilerleyerek üst merkezlere taşınır. Bu esnada ağrılı uyarım spinal kordda bulunan eksitatuvar internöronları da uyarır ve ön boynuzdaki preganglioner sempatik nöronlar ile motor çekirdeklerin uyarılmasıyla sempatik ve motor refleks cevap açığa çıkar (150-154).

I. ve II. sıra nöronların arasındaki sinapsta eksitatuvar aminoasitler (glutamat, aspartat) ve nöropeptidler (substans-P, nörokinin-A ve CGRP) iletiyi sağlayan başlıca

nörotransmitterlerdir. Birincil nöronların santral uçlarından iletinin devamlılığı için sinaptik aralığa salınırlar ve projeksiyon nöronlarında yavaş ve uzun süreli depolarizasyon yaparak “*santral sensitizasyon*” a yol açarlar (150-155, 171).

II. sıra nöronlar, nosiseptif uyarıyı üst merkezlere spinal kord içerisinde STT aracılığıyla taşırlar. Talamusa ulaşan II. nöronlar, burada III. sıra nöronlar ile sinaps yaparlar. III. sıra nöronlar vasıtasıyla da kortekse kadar nosiseptif uyarı iletilir. Nosiseptif uyarının periferden üst merkezlere taşınması esnasında, ağrılı uyaran çeşitli seviyelerde kontrol edilmeye çalışılır. Kısaca hem santral (supraspinal-spinal) hem de periferik düzeyde nosiseptif impuls inhibe edilmeye çalışılır ki, bu da vücudun nosiseptif uyarıya bir endojen analjezi sistemi şeklindeki cevabıdır (150-154, 159, 172).

Spinal inhibisyonda etkili nörotransmitterler başlıca GABA, glisin ve opioid peptidlerdir (enkefalin ve dinorfin). Supraspinal inhibisyonda rol oynayan başlıca nörotransmitterler ise opioid peptidler (β -endorfin, enkefalin, dinorfin), serotonin ve noradrenalindir (151-154, 172). Ağrının periferik inhibisyonunda ise, antiinflamatuvar sitokinlerin (IL-3, IL-4 ve IL-10) önemli rolleri olduğu gösterilmiştir. Bu sitokinler inflamatuvar yanıtı baskılamak suretiyle periferik analjezide rol oynarlar. Son yıllarda yapılan çalışmalarda ise opioid peptidler (bilhassa inflamatuvar durumlarda) ve somatostatinin ağrılı stimulusun periferik inhibisyonuna katkıda buldukları gösterilmiştir (151, 152, 154).

2.4. Ağrı Kontrolünde Kolinerjik Sistemin Rolü

İlk olarak 1975 yılında Pedigo ve arkadaşlarının (46) deney hayvanlarına i.s.v. yolla ACh enjekte ederek yaptıkları çalışmada, belirgin analjezi oluştuğunu göstermelerinden bu yana kolinerjik sistem aktivasyonunun analjezi meydana getirdiği bilinmektedir. Daha sonra karbakol, oksotremorin, McN-A-343, pilokarpin gibi kolinerjik agonistlerle ve fizostigmin, neostigmin gibi antikolinesteraz ajanlarla kolinerjik sistem aktivasyonu sağlandığında, deney hayvanları ve insanlarda analjezik etkiler elde edilmiştir (41-44, 47, 173, 174).

Kolinerjik sistem aktivasyonu ile elde edilen analjezik etkide muskarinik ve/veya nikotinik kolinerjik reseptörler rol oynamaktadır. Santral, spinal veya sistemik yolla spesifik muskarinik reseptör agonistlerinin verilmesinin ardından deney hayvanlarında analjezi oluşmakta ve analjezik etkide başlıca M₁, M₂, M₄ ve daha az katkısı olmakla birlikte M₃ muskarinik reseptör alt tiplerinin rol oynadığı düşünülmektedir (42, 175, 176).

nACh reseptörlerinin santral sinir sisteminde medulla, ortabeyin, talamus, pedunkulopontin tegmental nukleus, nukleus rafe magnus ve spinal kord gibi analjezide önemli rolleri olan bölgelerde yoğun olarak bulunduğu bilinmektedir (51, 177-181). Nikotinin analjezik etkileri uzun zamandan beri bilinmektedir (182, 183). Çeşitli akut ve kronik ağrı modellerinde yapılan araştırmalarla nöronal nACh reseptör aktivasyonunun analjezik etki oluşturduğu gösterilmiştir (16-18, 45, 48, 49). Deney hayvanlarına güçlü bir nACh reseptör agonisti olan epibatidin uygulamasının meydana getirdiği analjezik etkinin morfinden yaklaşık 200 kat daha potent olduğu tespit edilmiştir (184). Akut ve kronik ağrı modellerinde epibatidin sentetik türevi olan bir diğer nöronal nACh reseptör agonisti ABT-594'in analjezik etki meydana getirdiği bildirilmiştir (185). Diğer nöronal nACh reseptör agonistleri ve farklı ağrı modelleri kullanılarak yapılan çalışmalarda benzer analjezik etkiler gösterilmiştir (50, 51, 53, 54, 186).

Santral sinir sisteminde bulunan nöronal nACh reseptörlerinden özellikle $\alpha 4\beta 2$ ve $\alpha 7$ alt tiplerinin, nöronal yolaklardaki dağılımları nedeniyle nikotinic agonistlerin analjezik etkisinde doğrudan rol oynadığı saptanmıştır (54, 55, 187-189). Spesifik $\alpha 4\beta 2$ nikotinic reseptör antagonistisi olan dihidrobetaeritroidin (Dh β E) ön tedavisinin farelerde nikotinin meydana getirdiği analjezik etkiyi ortadan kaldırdığı gösterilmiştir (51). Nöronal $\alpha 7$ nACh reseptör alt tipine seçici agonistik etki gösteren kolinle yapılan çalışmalarda (56-58), oluşan analjezik etkinin bu reseptörler aracılığıyla etki mekanizması oluşturdukları tespit edilmiştir. Merkezi ve periferik yolla uygulanan kolinin deney hayvanlarında analjezik etki meydana getirdiği görülmüştür. Kolinin indüklediği analjezik etkinin spesifik $\alpha 7$ nACh reseptör antagonistisi olan metillikakonitin (MLA) ve α -bungarotoksin ile ortadan kaldırıldığı, ancak spesifik $\alpha 4\beta 2$ nACh reseptör antagonistisi olan Dh β E ile analjezik etkinin devam ettiği gösterilmiştir (48, 49).

2.5. İnflamatuvar Ağrı ve Kolinerjik Sistem İlişkisi

İnflamatuvar ağrı modelleriyle yapılan çalışmalarda da santral kolinerjik sistem aktivasyonunun analjezik ve antihiperaljezik etkiler oluşturduğu gösterilmiştir (49, 59-63). İnflamatuvar ağrı modellerinde muskarinik kolinerjik reseptörleri hedefleyen ajanların antinosiseptif, antihiperaljezik etkileri bildirilmiştir (63). Nikotinic kolinerjik reseptörler de, inflamatuvar ağrı tedavisinde yeni hedef alanı oluşturmuştur. Carrageenanla oluşturulan eklem inflamasyonunda, nikotinic kolinerjik reseptörlerin inflamatuvar ağrının ve inflamasyonun santral modülasyonunda etkili olduğu gösterilmiştir (60). Kolinin akut ağrıda olduğu gibi inflamatuvar ağrı modelinde de analjezik etkisi olduğu gösterilmiştir

(49). İnflamatuvar bir hastalık olan akut arthritis tedavisinde nikotinik kolinerjik ajan olan epibatidinin etkili olabileceği (60) ve yine epibatidin ve ABT-594'ün inflamatuvar ve nöropatik ağrıda etkili olabileceği bildirilmiştir (190). Ayrıca, epibatidinin formalin modelinde antihiperalezik etkisi gösterilmiştir (61).

2.6. Kolinerjik Antiinflamatuvar Yolak

Son yıllarda yapılan çalışmalar, kolinerjik sistem ile inflamasyona verilen immün yanıt arasında bir ilişki olduğunu ortaya çıkarmıştır. Buna göre santral sinir sistemi nervus vagus siniri aracılığıyla, inflamasyonun önemli komponentlerinden birisi olan makrofajlardan TNF- α salınımını belirgin ve hızlı bir şekilde önleyebilir ve böylece sistemik inflamatuvar sonuçları hafifletebilir. Kolinerjik antiinflamatuvar yolak olarak adlandırılan bu fizyolojik mekanizma, bağışıklık sistemi ve terapötikler açısından da çok önemli olup periferde bulunan $\alpha 7nACh$ reseptörlerinin aracılık ettiği bir yolaktır (67, 191-194). Söz konusu kolinerjik antiinflamatuvar yolakta $\alpha 7nACh$ reseptörlerinin rolü ortaya konduğundan (65-67) yazarlar tarafından nikotinik antiinflamatuvar yolak olarak da adlandırılmaktadır. Konu ile ilgili yapılan çalışmalarda (67, 191-193, 195-197) nikotinin, merkezi ve periferik sinir sistemi aracılığı ile inflamasyonu baskıladığı gösterilmiştir. Ayrıca, $\alpha 7nACh$ reseptörü silinmiş (knockout) fareler kullanılarak yapılan çalışmalar vagus sinir stimülasyonunun periferde TNF- α salınımını önleyemediği gösterilmiştir (67). Bunlara ek olarak yapılan çalışmalarda $\alpha 7nACh$ reseptörlerinin periferde makrofajlar, endotel hücreler, dendritik hücreler, keratonisitler ve lenfositlerde sentez edildiği gösterilmiştir (198-204). Bu hücreler aynı zamanda kolinerjik sistemin diğer belirteçleri olan ACh, CAT ve asetilkolinesterazı da sentez ederler ve böylece nöronal olmayan kolinerjik sistemin öğelerini oluştururlar (200, 201, 203). Her ne kadar bu hücreler muskarinik kolinerjik reseptörleri sentez etseler de, periferde bulunan bu reseptörlerin kolinerjik antiinflamatuvar yanıtta rol oynamadığı gösterilmiştir (205). Bununla birlikte santral sinir sisteminde yer alan muskarinik reseptörlerin uyarılmasının sıçanlarda yüksek oranda vagus uyarılmasına yol açtığı, böylece uyarının nervus vagus aracılığı ile perifere taşındığı ve periferde $\alpha 7nACh$ reseptörler aracılığı ile makrofajlardan TNF- α salınımını önleyerek endotoksemiye bağlı inflamasyonu önlediği gösterilmiştir (205). Bu bilgilere dayanılarak yapılan çalışmalarda (206, 207) carrageenan ile oluşturulmuş inflamatuvar ağrı modelinde santral etkili kolinerjik ajanların hem inflamasyonu ve hem de inflamasyona bağlı gelişen ağrıyı önleyici etkileri gösterilmiştir.

Sonuç olarak kolinerjik sistem aktivasyonunun analjezideki rolünün anlaşılması ile analjezik etkili ilaç geliştirilmesinde yeni bir çalışma alanı yaratılmıştır (52, 53, 60). CDP-kolin de toksisitesinin ve yan etkilerinin az olması nedeniyle ilgi çekici bir kolinerjik ilaçtır ve birçok ülkede çeşitli nörolojik hastalıkların tedavisinde başarı ile kullanılmaktadır. Ayrıca daha önce yapılan çalışmalarda CDP-kolin'in, deneysel akut ağrı modellerinde güçlü analjezik etkisi gösterilmiştir. Biz bu çalışmamızda, yukarıda verilen bulgulardan da yola çıkarak, merkezi yolla uygulanan CDP-kolin'in deneysel inflamatuvar ağrı modelindeki olası analjezik ve antiinflamatuvar etkisini ve etkiye aracılık eden mekanizmaları araştırmayı hedefledik. Bilindiği gibi "ağrı" geçmişten bugüne araştırmacıları tedavi arayışına götüren en önemli sağlık sorunlarından birisi olmuştur. Yan etkisi az, güvenilir, güçlü etkinlikte ağrı kesici ilaçların araştırılması günümüzde daha da artmıştır. Bu nedenle, bu çalışmadan elde edilen sonuçların da, gelecekte hem hayvan hem de insanlar için yeni analjezik ilaç geliştirme çabalarına katkı sağlayacağını umuyoruz.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada Sprague-Dawley türü, 300-350 g canlı ağırlıkta, 5 aylık yaşta, erkek sıçanlar (Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Merkezi, Uludağ Üniversitesi, Bursa) kullanıldı. Sıçanlar çalışmadan on gün önce deney hayvanları merkezinden alınıp, dört tanesi bir kafese konularak bakıldı. Sıçanlar 12 saat aydınlık - 12 saat karanlık döngüsü olan ısı kontrollü (22-24° C) odalarda tutulup, yem ve su alımları serbest bırakıldı.

Uludağ Üniversitesi Hayvan Bakımı ve Kullanımı Etik Komitesi, çalışmadaki tüm cerrahi ve deneysel işlemlere onay verdi.

(Onay no: 19.09.2005/2 nolu karar)

1. Cerrahi ve Deneysel İşlemler

İ.s.v. kanülasyon, eter anestezisi altında sıçanların sağ serebral yan ventriküllerine [bregmaya göre A -1.0 mm; L 1.5 mm; V -4.2 mm) enjeksiyon kanülü yerleştirilerek yapıldı. Serebroventriküler kanül yerleştirmek amacıyla Hamurtekin ve Gürün tarafından (17) tarif edildiği şekilde, cerrahi işlem yapılacak bölgede sıçanların kafasına ensizyon yapıldı. Orta hattın cilt ve cilt altı dokular geçilerek yapılan bu ensizyonla, kanama kontrol altına alınarak, fasyalar uzaklaştırılıp bregma görünür hale getirildi. Kafatası bölgesinin steril gazlı bezle kurutulmasından sonra kafatasına bir delik açıldı. Bu deliğin yerinin tespitinde bregma referans noktası kabul edilerek sıçan beyin atlasından (208) yardım alındı. Orta hattın 1.5 mm laterali ile bregmanın 1 mm arkasında kesişen nokta delindi. Bu delikten sağ serebral lateral ventriküle 21-gauge' luk (21G) hipodermik paslanmaz çelik iğneden kesilerek hazırlanmış el yapımı kılavuz kanül, alt ucu kafatası yüzeyinden 4.2 mm kadar derinliğe inecek şekilde dik olarak yerleştirildi. Kafatası yüzeyinde kalan üst kısım dişçi akriliği (Zinc polycarboxylate cement, *Adhesor Carbofine*, *SpofaDental a.s., Praha*) ile kafatasına sabitlendi. Kanülün deney gününe kadar tıkanmaması için ucu hazırlanan bir tıpa ile kapatıldı. Cerrahi işlemin bitiminde sıçanlar tek başlarına kutulara yerleştirilerek anesteziden çıkmaları için 3 saat kadar bekletildi. Ardından yine her kafeste bir sıçan olacak şekilde deney gününe kadar kafeslerinde, bakım odasında tutuldu. Kanülasyon sonrasında ertesi gün deney yapıldı.

İ.s.v. kanül takılmasını takip eden gün, hafif eter sedasyonu altında sıçanların sağ arka pençelerine carrageenan enjeksiyonu yapıldı. Bu amaçla λ -carrageenan 2 mg kuru madde 0.1 ml distile su içinde olacak şekilde sonikatör yardımı ile hazırlandı ve sıçanların sağ

arka pençelerine 24G iğne yardımı ile hafif eter sedasyonu altında subkutan olarak intraplantar enjeksiyon ile 100 µl hacimde uygulandı. Yapılan ön çalışmalarda, carrageenanla oluşan hiperalejinin 3. saatte gelişip 6. saate kadar değişmediği gözlemlendi; bu nedenle carrageenan enjeksiyonundan 3,5 saat sonra deneye başlandı.

Deney sonrasında sağ serebral ventriküle yerleştirilen kanül yerinin doğrulanması için bazı sıçanlara i.s.v. yolla 10 µl çini mürekkebi enjeksiyonu yapıldı. Takiben bu sıçanlar dekapite edilerek beyin dokusu çıkarıldı ve -80°C sıcaklık kontrollü dondurucuda 2 saat bekletildikten sonra beyin kesitleri alınarak makroskopik olarak kanülün ventriküle ulaşımını ulaşıp ulaşmadığı incelendi.

2. Deney Planı

Birinci seri çalışmada, carrageenana bağlı gelişen termal hiperalejik ve mekanik hiperalejik yanıtın devam süresi sırasıyla termal ve mekanik pençe çekme testleri kullanılarak takip edildi. Bunun için carrageenan uygulamasından önce sıçanların her iki pençenin de ortalama kontrol değerleri alındı; ardından sağ pençeye intraplantar % 2 λ-carrageenan 100 µl enjeksiyonu yapıldı. Enjeksiyondan 3 saat sonra başlayıp 48 saat boyunca belirlenen zamanlarda carrageenan ile gelişen hiperalejik yanıt değerlendirildi. Bu amaçla, bu grupta toplam 12 sıçan kullanıldı.

İkinci seri çalışmada, CDP-kolin'in carrageenan ile oluşturulmuş inflamatuvar ağrıdaki antihiperalejik etkisi araştırıldı. Bunun için sağ pençeye yapılan intraplantar % 2 λ-carrageenan 100 µl enjeksiyonundan 3.5 saat sonra, değişen dozlarda CDP-kolin (0.5, 1 ve 2 µmol/10 µl) veya tuzlu su (10 µl) i.s.v. yolla enjekte edildi. Ardından iki farklı ölçüm metoduyla, değişik zaman aralıklarında antihiperalejik etkiler değerlendirildi. Bu amaçla, bu grupta toplam 57 sıçan kullanıldı.

Üçüncü seri çalışmada, CDP-kolin'in hidroliz ürünleri olan kolin ve sitidin'in carrageenan ile oluşturulmuş inflamatuvar ağrıdaki antihiperalejik etkileri araştırıldı. Bu amaçla yine carrageenan enjeksiyonundan 3.5 saat sonra, eşmolar dozlardaki (1 µmol/10 µl) CDP-kolin, kolin ve sitidin veya tuzlu su (10 µl) i.s.v. yolla enjekte edilerek antihiperalejik etkileri değerlendirildi. Bu amaçla, bu grupta toplam 58 sıçan kullanıldı.

Dördüncü seri çalışmada, çeşitli antagonistler kullanılarak CDP-kolin'in carrageenan ile oluşturulmuş inflamatuvar ağrıdaki antihiperalejik etkisine aracılık eden mekanizmalar araştırıldı. Bunun için sıçanlara carrageenan enjeksiyondan 3.5 saat sonra, selektif olmayan muskarinik kolinerjik reseptör antagonisti atropin sülfat (10 µg/10 µl), selektif olmayan nikotinik kolinerjik reseptör antagonisti mekamilamin (50 µg/10 µl), yüksek

affiniteli nöronal kolin geri alım inhibitörü HC-3 (1 µg/10 µl), selektif α_7 nACh reseptör antagonisti alfa-bungarotoksin (2 µg/10 µl), selektif olmayan opioid reseptör antagonisti nalokson (10 µg/10 µl), spesifik GABA_B reseptör antagonisti CGP-35348 (20 µg/10 µl) veya tuzlu su (10 µl) i.s.v. yolla enjekte edildi. 15 dakika sonra CDP-kolin (1 µmol/10 µl) veya tuzlu su (10 µl) i.s.v. yolla enjekte edilerek antihiperaljezik etkileri değerlendirildi. Bu amaçla, bu grupta toplam 158 sıçan kullanıldı.

Çalışmada kullanılan antagonistlerin dozları daha önce yapılan çalışmalara dayanılarak seçildi. Buna göre; atropin ve mekamilaminin dozları, CDP-kolin'in muskarinik ve nikotinik etkilerini önlediği gösterilen dozlardır (32, 33, 88). Alfa-bungarotoksin, HC-3, nalokson ve CGP-35348 dozları, ağrı ve analjezi ile ilgili çalışmalarda kullanılan ve santral yolla kullanıldıklarında ilgili agonistlerin analjezik etkilerini geri döndürmeye yeterli olduğu gösterilen dozlardır (48, 51, 209-212).

Beşinci seri çalışmada, i.s.v. uygulanan CDP-kolin'in carrageenana bağlı gelişen pençe ödemi üzerine etkisi olup olmadığı pençe genişliğinin dijital mikrometre ile ölçülmesi aracılığıyla test edildi. Önce normal şartlardaki sol ve sağ pençe genişlikleri tespit edildi. Pençe içine ilaç uygulamasından 5 dakika önce, i.s.v. CDP-kolin (2 µmol/10 µl) veya tuzlu su (10 µl) enjekte edildi. Ardından sol arka pençeye uygulanan intraplantar tuzlu su (100 µl) ve sağ pençeye verilen intraplantar % 2'lik λ -carrageenandan (100 µl) 1, 2, 3 ve 4 saat sonra, her pençe için pençe genişliği ortalama değerleri kaydedildi. Bu amaçla, bu grupta toplam 14 sıçan kullanıldı.

3. Carrageenanla Oluşturulan Hiperaljezik Yanıtın Değerlendirilmesi

CDP-kolin'in carrageenanla oluşturulmuş deneysel inflamatuvar ağrı modelindeki antihiperaljezik etkisinin değerlendirilmesinden önce, carrageenanla oluşturulan hiperaljezinin süre ve pençe çekme yanıtı eşik değerleri olarak değerlendirilmesi yapıldı. Bunun için carrageenan uygulamasından önce sıçanların her iki pençenin de ortalama kontrol değerleri alınıp kaydedildi. Ardından sağ pençeye intraplantar % 2 λ -carrageenan 100 µl enjeksiyonu yapıldı. Carrageenan enjeksiyonundan 3 saat sonra carrageenan sonrası kontrol pençe çekme yanıt eşik değerleri ardışık üç ölçümle alındı. 48 saat boyunca (3, 4, 5, 6, 24 ve 48. saatlerde) carrageenan ile gelişen hiperaljezik yanıt değerlendirildi.

4. CDP-kolin'in İnflamatuvar Ağrı Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi

Bu çalışmada carrageenan sonrası gelişen hiperaljezi termal ve mekanik yolla değerlendirildi. İki farklı yöntem olarak, termal ve mekanik pençe çekme testleri kullanıldı. Termal pençe çekme testi için plantar test cihazı (Commat Ltd., Ankara, Türkiye), mekanik pençe çekme testi için Randall-Sellitto test cihazı-analjezimetre (Ugo-Basile, Comerio, VA, İtalya) kullanıldı.

4.1. Termal Pençe Çekme Testi

Bu testte daha önce tarif edildiği şekilde (213), termal uyaran kullanılarak, sıçanlarda nosiseptif duyarlılık, arka pençeye odaklanan ışık kaynağının sağladığı ısı uyarısına karşı verdikleri pençe çekme yanıtının süresi olarak değerlendirildi (Şekil – 8). Bunun için sıçanlar pleksiglas (30x15x15 cm) kutular içerisinde önceden ısıtılmış sabit bir yüzey ($30\pm 1^{\circ}\text{C}$) sıcaklığı olan cam zemin üzerine yerleştirildi ve 45 dakika boyunca ortama uyum sağlamaları için beklenildi. Cam yüzey altından kontrolü sağlanabilen ve hareket edebilen radyan ışık kaynağı sıçanların arka pençe ortalarına ayna yardımı ile odaklandırılıp, ışığın oluşturduğu ısı ile sıçanların pençelerini çekmesi üzerine, arada geçen süre ölçüldü. Otomatik olarak çalışan bir zaman ölçer sistem ile bu süre 0,1 saniye hassasiyetle pençelerini çektikleri anda ışığın kendiliğinden kesilmesi suretiyle ölçüldü. Doku hasarı olmaması için cut-off süresi 20 saniye olarak sabit tutuldu. 10 dakika ara ile ardışık olarak alınan ilk üç ölçümün ortalaması sol ve sağ arka pençe carrageenan öncesi kontrol değerleri olarak kaydedildi. Kontrol ölçümlerini takiben carrageenanın subkutan yolla intraplanlar enjeksiyonu yapıldı ve yaklaşık 2 saat sonra yukarıda bahsedilen şekilde sıçanların ortama adaptasyonları sağlandı. Carrageenan uygulamasını takiben 3 saat sonra da onar dakika aralarla alınan üç ölçümün ortalaması intraplanlar carrageenan sonrası kontrol değerleri olarak kaydedildi. Nosiseptif eşiğinin carrageenanla düşürüldüğü bu iki kontrol değerleri arasındaki farkla gösterilmiş oldu. Carrageenan uygulamasından 210 dakika sonra başlatılan ilaç enjeksiyonlarını takiben ölçümler 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50 ve 60. dakikalarda alındı.

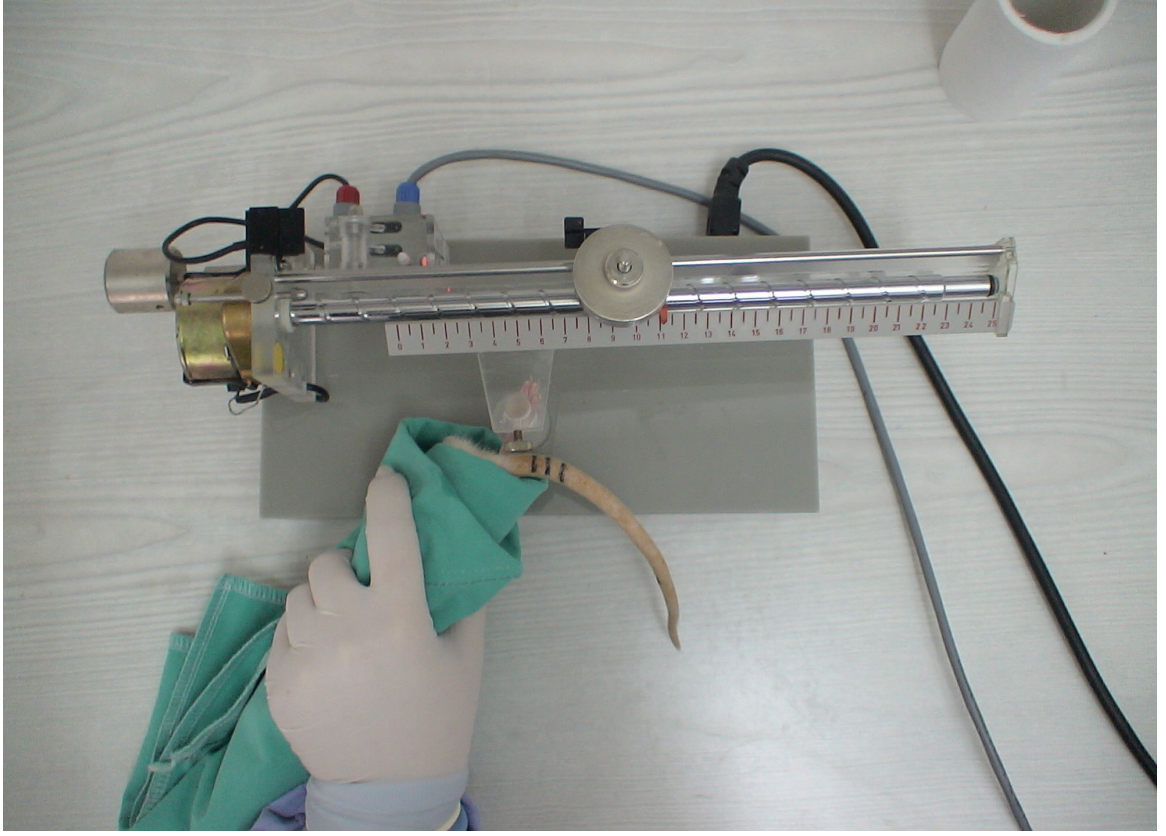


Şekil – 8: Termal Pençe Çekme Testi

4. 2. Mekanik Pençe Çekme Testi

Bu testte daha önce tarif edildiği şekilde (214), mekanik uyarın kullanıldı ve sıçanlarda nosiseptif duyarlılık, arka pençelerine sabit hızda artan mekanik bası uygulamasına verdikleri pençe çekme yanıtının gram cinsinden kaydedilmesi ile değerlendirildi (Şekil – 9). Deney gününden önce iki gün süreyle sıçanların ölçüm cihazına ve el ile tutulmaya adaptasyonları sağlandı. Bunun için sıçanlar üstü açık, altlıksız bir kafeste dördü bir arada olarak bırakılıp, 45 dakika boyunca ortama uyum sağlamaları için beklendi. Ardından sağ arka pençeleri cihazın konik uçlu sıkıştırıcısına sıkıştırılarak pedala basılmak suretiyle pençeye sabit hızda artan bir mekanik bası uygulandı. Sıçanın ağrı duyup pençesini çektiği ağırlık cihaz üzerinde bulunan skala üzerinden okunarak gram cinsinden kaydedildi. Doku hasarı olmaması için cut-off değeri 300 g olarak sabit tutuldu. 10 dakika ara ile ardışık olarak alınan üç ölçümün ortalaması kontrol değeri olarak kaydedildi. Deney günü carrageenan enjeksiyonundan 2 saat sonra sıçanların ortama adaptasyonlarını sağlamak amacıyla, yukarıda bahsedilen şekilde sıçanlar aynı kafese konulup, adaptasyonları sağlandı. Carrageenan uygulamasını takiben 3 saat sonra onar dakika ara ile alınan üç ölçümün ortalaması da, carrageenan sonrası

kontrol deęerleri olarak kaydedildi. Aęrı eřięinin carrageenanla dūřurūldūęu de gōsterilmiř oldu. Carrageenanın intraplantar enjeksiyonundan 3,5 saat sonra bařlatılan ilaę enjeksiyonlarını takiben ōlçūmler 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50 ve 60. dakikalarda alındı.

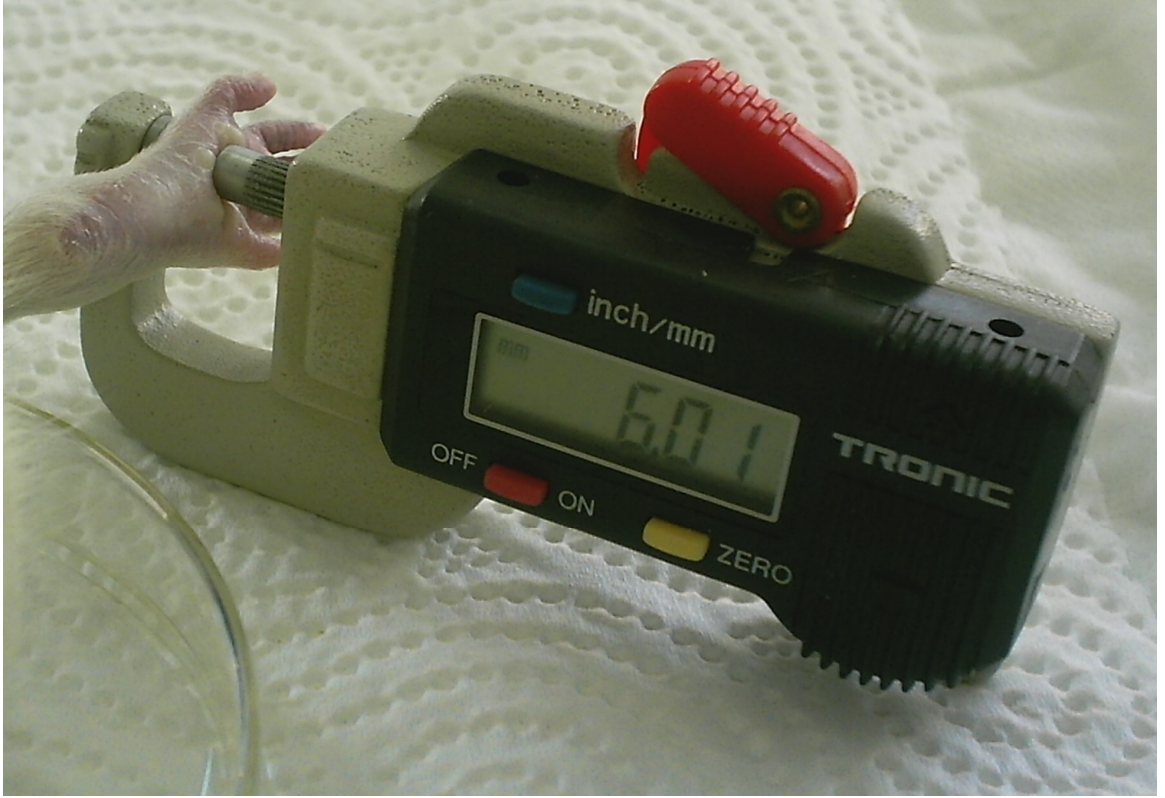


şekil – 9: Mekanik Penęe ekme Testi

5. CDP-kolin'in Carrageenana Bağlı Gelişen Penęe Ödemi Őzerine Etkisinin Değerlendirilmesi

İ.s.v. uygulanan CDP-kolin'in carrageenana baęlı geliřen penęe Ődemi Őzerine etkisi olup olmadıęı % 1 hassasiyetle test edildi. Bu amaçla kaliper adı da verilen kalibre edilmiř dijital mikrometre cihazı kullanılarak carrageenan Őncesi ve sonrası penęe kalınlıęı ōlçūmleri alındı (160, 162) (řekil – 10). Deney gūnū dijital mikrometre ile deney grubundaki her sıçanın saę ve sol penęelerinin merkezi konumuna denk gelen dūzlemde plantar ve dorsal penęe yūzeyleri arasındaki penęe geniřlięi, eter sedasyonu altında ardıřık beřer dakika arayla 3 kere ōlçūlerek i.s.v. ilaę enjeksiyonu Őncesi kontrol deęerleri olarak kaydedildi. İntraplantar enjeksiyonlardan 5 dakika Őnce i.s.v. CDP-kolin (2 μ mol/10 μ l) veya tuzlu su (10 μ l) uygulandı. Sol arka penęeye intraplantar tuzlu su, saę arka penęeye ise %2'lik λ -carrageenan 100 μ l hacimlerde enjekte edildi. Ődemin geliřimi carrageenan

enjeksiyonunu izleyen ilk 4 saat diliminde birer saat arayla, 5 dakika aralıklarla ardışık 3 kez ölçülen pençe kalınlığı ölçümlerinin ortalaması alınarak o saate denk gelen sağ ve sol pençe kalınlığı değeri olarak kaydedildi.



Şekil – 10: Dijital mikrometre (kaliper).

6. İlaçlar ve Serebral Ventriküle Enjeksiyon

Çalışmada kullanılan CDP-kolin ve nalokson hidroklorid dihidrat Fluka (Fluka Chemie GmbH, İsviçre); kolin klorür, atropin sülfat, mekamilamin hidroklorid, HC-3, CGP-35348, alfa-bungarotoksin Sigma (Sigma Chem. Co., MO, ABD); sitidin Acros (Acros Organics, Geel, Belçika) firmasından temin edildi. Deneyleerde kullanılan tüm ilaçlar tuzlu su (% 0.9 NaCl) içinde hazırlandı. İ.s.v. enjeksiyonlar kılavuz kanül içine yerleştirilen ve kılavuz kanülün ucundan 0.3 mm kadar çıkan 25G enjeksiyon kanülü aracılığı ile yapıldı. Enjeksiyon kanülü 25 µl'lik Hamilton mikroenjektörüne 10 µl hacimde ilaç veya tuzlu su içeren PE-50 katater aracılığı ile takıldı. Daha sonra 10 µl hacmindeki ilaç veya tuzlu su, 1 dakika içinde yavaşça enjekte edildi. Enjeksiyon kanülü 30 saniye kadar daha yerinde bırakılarak ilacın geri gelmesi önlenmiş oldu.

Çalışmada inflamatuvar ağrı modelini oluşturmak amacıyla kullanılan carrageenan (lambda [λ] carrageenan) Sigma Chem. Co, St. Louis, MO firmasından temin edildi. % 2'lik uygulanan λ -carrageenan, 2 mg kuru madde 0.1 ml distile su içinde olacak şekilde hazırlandı.

7. İstatistiksel değerlendirmeler

Çalışmada istatistiksel işlemlerde SigmaStat® (versiyon 2.03) bilgisayar programı kullanıldı. İstatistiksel değerlendirmeler tek veya iki yönlü ANOVA'yı takiben Student-Newman-Keuls test kullanılarak yapıldı. Elde edilen veriler "ortalama \pm standart hata" şeklinde verildi. Anlamlılık P değeri ile gösterilerek, karşılaştırılan gruplar arasındaki değerlerin istatistiksel ölçüsü olarak sunuldu. P 'nin 0.05'den küçük olduğu değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. *** $P < 0,001$; ** $P < 0,01$; * $P < 0,05$ ifade etmektedir (215, 216).

BULGULAR

1. Carrageenanla Oluşturulan İnflamatuvar Ağrıda Termal ve Mekanik Pençe Çekme Testlerindeki Hiperalezik Yanıt

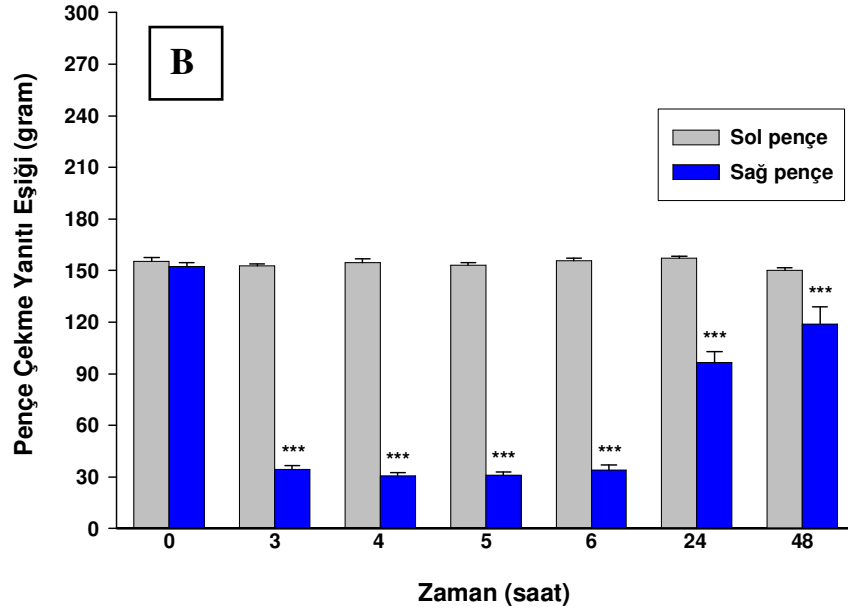
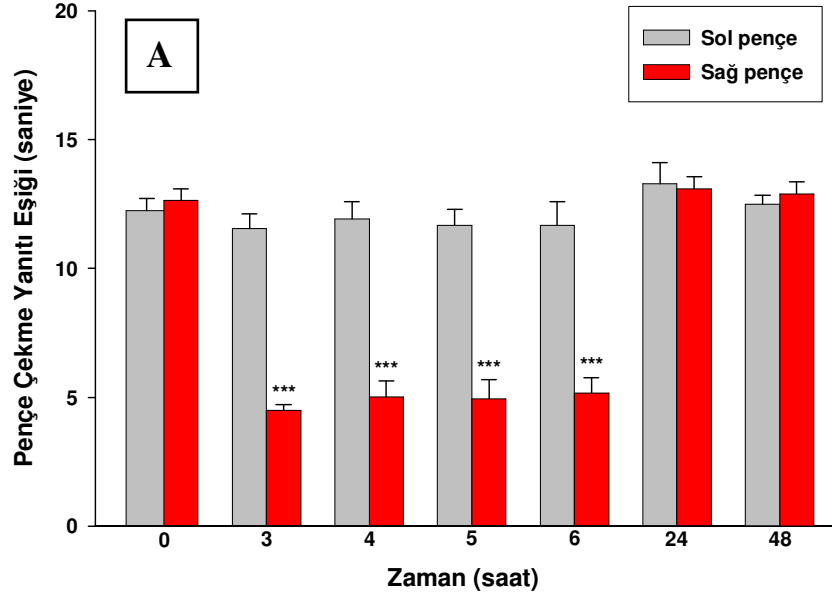
İlk olarak carrageenanın neden olduğu hiperalezik yanıt ve süresi değerlendirildi. Buna göre % 2'lik 100 µl λ-carrageenanın sağ arka pençeye intraplantar enjeksiyonu sonrasında maksimum hiperalezik yanıt elde edildi.

Termal pençe çekme testinde deneyde kullanılan tüm sıçanların carrageenan verilmeden kontrol pençe çekme yanıtı eşik değerleri ortalaması sağ pençe için 12.7 ± 0.4 saniye, sol pençe için 12.3 ± 0.5 saniye (n=6) olarak kaydedildi. Aynı sıçanların carrageenanın sağ pençeye enjekte edilmesinden sonraki 3. saatte pençe çekme yanıtı eşik değerleri ortalaması sağ pençe için 4.5 ± 0.2 saniye, sol pençe için 11.6 ± 0.6 saniye (n=6); 4. saatte pençe çekme yanıtı eşik değerleri ortalaması sağ pençe için 5.0 ± 0.6 saniye, sol pençe için 11.9 ± 0.7 saniye (n=6); 5. saatte pençe çekme yanıtı eşik değerleri ortalaması sağ pençe için 4.9 ± 0.7 saniye, sol pençe için 11.7 ± 0.6 saniye (n=6); 6. saatte pençe çekme yanıtı eşik değerleri ortalaması sağ pençe için 5.2 ± 0.6 saniye, sol pençe için 11.7 ± 0.9 saniye (n=6) olarak kaydedildi. Carrageenan enjeksiyonu sonrası 6. saatte hiperalezinin test edilmesini takiben sıçanlar kafeslerine konularak bakıldı. Ertesi gün carrageenan enjeksiyonundan 24 saat sonrasına gelen saat diliminde pençe çekme yanıtı eşik değerleri ortalaması sağ pençe için 13.1 ± 0.4 saniye, sol pençe için 13.3 ± 0.8 saniye (n=6) olarak kaydedildi. Aynı işlemlerin carrageenan enjeksiyonundan 48 saat sonra yapılmasıyla pençe çekme yanıtı eşik değerleri ortalaması sağ pençe için 12.9 ± 0.5 saniye, sol pençe için 12.5 ± 0.4 saniye (n=6) olarak bulundu. Sağ pençeye enjekte edilen carrageenanın, termal pençe çekme testindeki hiperalezik etkisi tek yönlü ANOVA analizine göre, gruplar arasındaki ilişki bakımından [F (6, 35)= 64.6; $P<0.001$)] istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Termal pençe çekme testinde kontrol grubu sol pençe için elde edilen veriler, tek yönlü ANOVA analizine göre gruplar arasındaki ilişki bakımından [F (6, 34)=0.9; $P=0.524$)] istatistiksel olarak anlamlı çıkmadı (Şekil – 11 A).

Mekanik pençe çekme testinde deneyde kullanılan tüm sıçanların carrageenan verilmeden kontrol pençe çekme yanıtı eşik değerleri ortalaması sağ pençe için 152.3 ± 2.1 gram, sol pençe için 155.3 ± 2.0 gram (n=6) olarak kaydedildi. Aynı sıçanların carrageenanın sağ pençeye enjekte edilmesinden sonraki 3. saatte pençe çekme yanıtı eşik değerleri ortalaması sağ pençe için 34.3 ± 2.3 gram, sol pençe için 152.7 ± 1.3 gram (n=6);

4. saatte pençe çekme yanıtı eşik değerleri ortalaması sağ pençe için 30.7 ± 1.8 gram, sol pençe için 154.7 ± 2.1 gram ($n=6$); 5. saatte pençe çekme yanıtı eşik değerleri ortalaması sağ pençe için 31.0 ± 2.0 gram, sol pençe için 153.0 ± 1.5 gram ($n=6$); 6. saatte pençe çekme yanıtı eşik değerleri ortalaması sağ pençe için 34.0 ± 2.9 gram, sol pençe için 155.7 ± 1.4 gram ($n=6$) olarak kaydedildi. Carrageenan enjeksiyonu sonrası 6. saatte hiperaljezinin test edilmesini takiben sıçanlar kafeslerine konularak bakıldı. Ertesi gün carrageenan enjeksiyonundan 24 saat sonrasına gelen saat diliminde pençe çekme yanıtı eşik değerleri ortalaması sağ pençe için 96.7 ± 6.1 gram, sol pençe için 157.3 ± 1.0 gram ($n=6$) olarak kaydedildi. Aynı işlemlerin carrageenan enjeksiyonundan 48 saat sonra yapılmasıyla pençe çekme yanıtı eşik değerleri ortalaması sağ pençe için 118.7 ± 10.3 gram, sol pençe için 150.0 ± 1.7 gram ($n=6$) olarak bulundu. Sağ pençeye enjekte edilen carrageenanın mekanik pençe çekme testindeki hiperaljezik etkisi tek yönlü ANOVA analizine göre, gruplar arasındaki ilişki bakımından [$F(6, 35) = 106.8; P < 0.001$] istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Mekanik pençe çekme testinde kontrol grubu sol pençe için elde edilen veriler, tek yönlü ANOVA analizine göre gruplar arasındaki ilişki bakımından [$F(6, 34) = 2.1; P = 0.084$] istatistiksel olarak anlamlı çıkmadı (Şekil – 11 B).

Analjezik etkili olduğu düşünülen ilaçların inflamatuvar ağrıya oluşturdukları etki, inflamasyonla düşen ağrı eşiği ile karakterize hiperaljezi üzerine olup, *antihiperalezik etki* olarak adlandırılır. CDP-kolin'in carrageenan uygulanan pençe üzerine etkisi antihiperalezik etki olup, buradan itibaren CDP-kolin'in inflamatuvar ağrıdaki etkisi bu şekilde belirtilecektir.



Şekil – 11: İntraplantar yol ile enjekte edilen λ -carrageenanla oluşturulmuş inflamatuvar ağrıdaki, termal (A) ve mekanik (B) pençe çekme testlerindeki hiperaljezik yanıt

Termal ve mekanik pençe çekme testinde, carrageenan öncesi pençe çekme yanıtı eşik değerleri alındıktan sonra intraplantar λ -carrageenan (% 2'lik, 100 μ l) enjeksiyonu yapıldı. Carrageenan enjeksiyonunu takiben 3, 4, 5, 6, 24 ve 48. saatlerde pençe çekme yanıtı eşik değerleri ölçüldü. Değerler 6 sıçanın ortalama \pm standart hatası olarak verildi. İstatistiksel değerlendirmeler tek yönlü ANOVA'yı takiben Student-Newman-Keuls testi ile yapıldı. *** $P<0.001$; carrageenan uygulaması öncesi pençe çekme yanıt eşik değerine (şekilde 0 zaman olarak gösterilmiştir) göre anlamlı farkı göstermektedir.

2. CDP-kolin'in İnflamatuvar Ağrı Üzerine Etkisi

İ.s.v. yolla uygulanan CDP-kolin'in sıçanlarda λ -carrageenanla oluşturulan inflamatuvar ağrıdaki antihiperalezik etkisi, termal ve mekanik pençe çekme testleri kullanılarak araştırıldı.

Termal pençe çekme testinde deneyde kullanılan tüm sıçanların carrageenan verilmeden, deney öncesi kontrol pençe çekme yanıtı eşik değerleri ortalaması sağ pençe için 11.1 ± 0.2 saniye, sol pençe için 11.2 ± 0.2 saniye (n=29) olarak kaydedildi. Aynı sıçanların carrageenanın sağ pençeye enjekte edilmesinden sonraki kontrol pençe çekme yanıtı eşik değerleri ortalaması sağ pençe için 4.7 ± 0.2 , sol pençe için 11.9 ± 0.2 saniye (n=29) olarak kaydedildi. Takiben CDP-kolin (0.5, 1 ve 2 $\mu\text{mol} / 10 \mu\text{l}$) veya tuzlu su (10 μl) i.s.v. yolla enjekte edildi. Termal pençe çekme testinde CDP-kolin, sol pençe üzerinde doza ve zamana bağlı olacak şekilde istatistiksel olarak anlamlı analjezik etki ve sağ pençe üzerinde doza ve zamana bağlı olacak şekilde istatistiksel olarak anlamlı antihiperalezik etki meydana getirdi (Şekil – 12 A ve Şekil – 13 A).

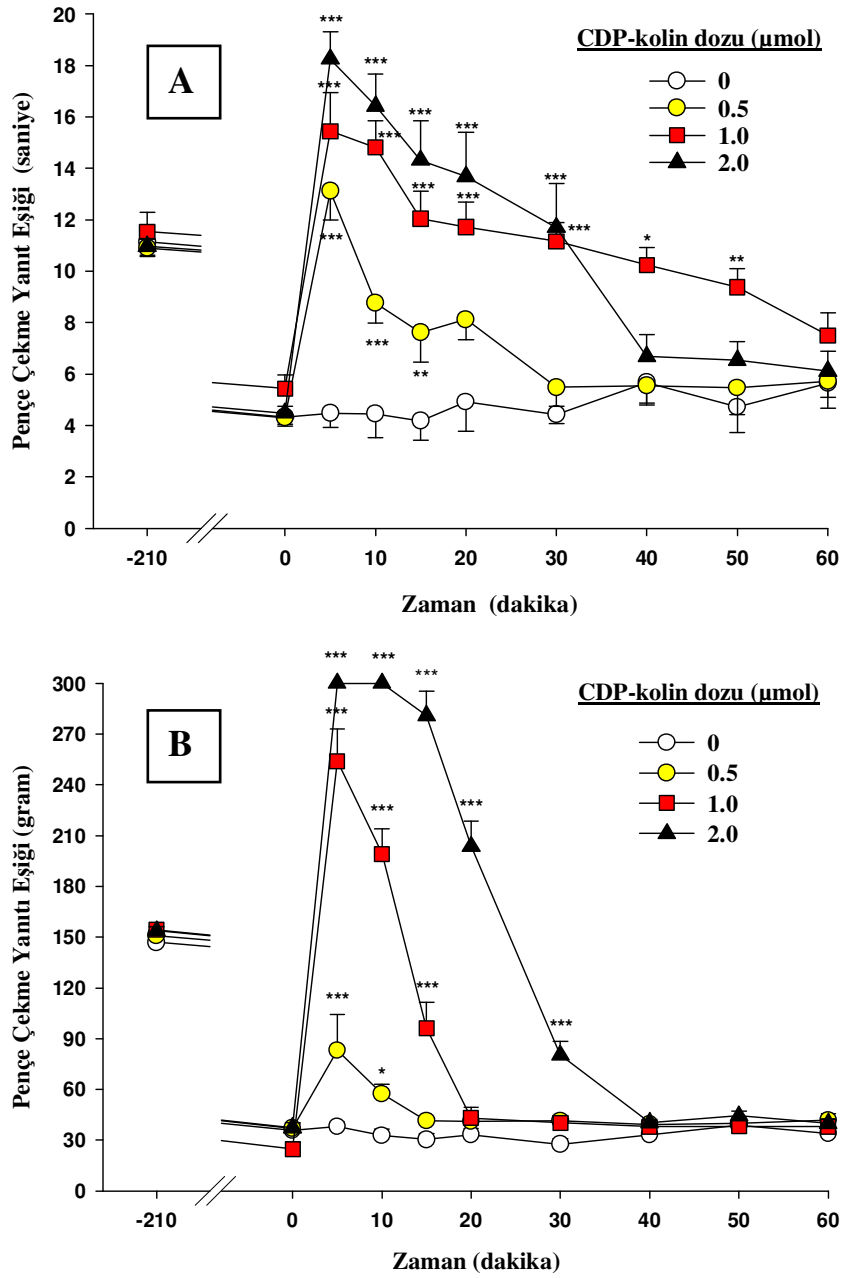
CDP-kolin'in antihiperalezik etkisi, i.s.v. yolla enjeksiyonu takiben 5. dakikada en yüksek değerine ulaştı [0.5, 1 ve 2 $\mu\text{mol} / 10 \mu\text{l}$ dozlarında pençe çekme yanıtı eşik değerleri carrageenan uygulanan sağ pençe için sırasıyla; 13.1 ± 1.1 (n=9), 15.4 ± 1.5 (n=8) ve 18.3 ± 1.1 saniye (n=6)]. Çalışmada kullanılan en düşük doz olan 0.5 μmol dozunda uygulanan CDP-kolin'in sağ pençe üzerinde antihiperalezik etkisi enjeksiyonu takiben 20. dakikada geri dönerken; 1 ve 2 μmol dozlarında ise sırasıyla 60. ve 40. dakikada geri döndü. İki yönlü RM-ANOVA analizine göre CDP-kolin'in termal pençe çekme testindeki sağ pençe üzerinde antihiperalezik etkisi doz [F (3, 25)= 24.11; $P<0,001$], zaman [F (9, 219)= 41.31; $P<0,001$] ve doz-zaman ilişkisi bakımından [F (27, 219)= 7.5; $P<0,001$] anlamlı bulundu (Şekil – 12 A).

CDP-kolin'in analjezik etkisi, i.s.v. yolla enjeksiyonu takiben 5. dakikada en yüksek değerine ulaştı [0.5, 1 ve 2 $\mu\text{mol} / 10 \mu\text{l}$ dozlarında pençe çekme yanıtı eşik değerleri carrageenan uygulanmayan sol pençe için sırasıyla; 16.1 ± 1.4 (n=9), 19.2 ± 0.5 (n=8) ve 19.3 ± 0.6 saniye (n=6)]. Çalışmada kullanılan en düşük doz olan 0.5 μmol dozunda uygulanan CDP-kolin'in sol pençe üzerinde analjezik etkisi enjeksiyonu takiben 10. dakikada geri dönerken; 1 ve 2 μmol dozlarında ise 20. dakikalarda geri döndü. İki yönlü RM-ANOVA analizine göre CDP-kolin'in termal pençe çekme testindeki sol pençe üzerinde analjezik etkisi doz [F (3, 25)= 4.0; $P<0.05$], zaman [F (9, 215)= 20.3; $P<0.001$] ve doz-zaman ilişkisi bakımından [F (27, 215)= 2.9; $P<0.001$] anlamlı bulundu (Şekil – 13 A).

Mekanik pençe çekme testinde deneye alınan bütün sıçanların carrageenan verilmeden, deney öncesi kontrol pençe çekme yanıtı eşik değerleri ortalaması sağ pençe için 151.5 ± 1.3 gram, sol pençe için 149.3 ± 1.5 gram ($n=28$) olarak ölçüldü. Aynı sıçanların carrageenanın sağ pençeye enjekte edilmesinden 3 saat sonraki kontrol pençe çekme yanıtı eşik değerleri ortalaması sağ pençe için 32.7 ± 2.0 gram, sol pençe için 150.0 ± 1.3 gram ($n=28$) olarak kaydedildi. Takiben CDP-kolin (0.5, 1 ve 2 $\mu\text{mol} / 10 \mu\text{l}$) veya tuzlu su (10 μl) i.s.v. yolla enjekte edildi. Mekanik pençe çekme testinde de CDP-kolin, sol pençe üzerinde doza ve zamana bağlı olacak şekilde istatistiksel olarak anlamlı analjezik etki ve sağ pençe üzerinde doza ve zamana bağlı olacak şekilde istatistiksel olarak anlamlı antihiperalezik etki meydana getirdi (Şekil – 12 B ve Şekil – 13 B).

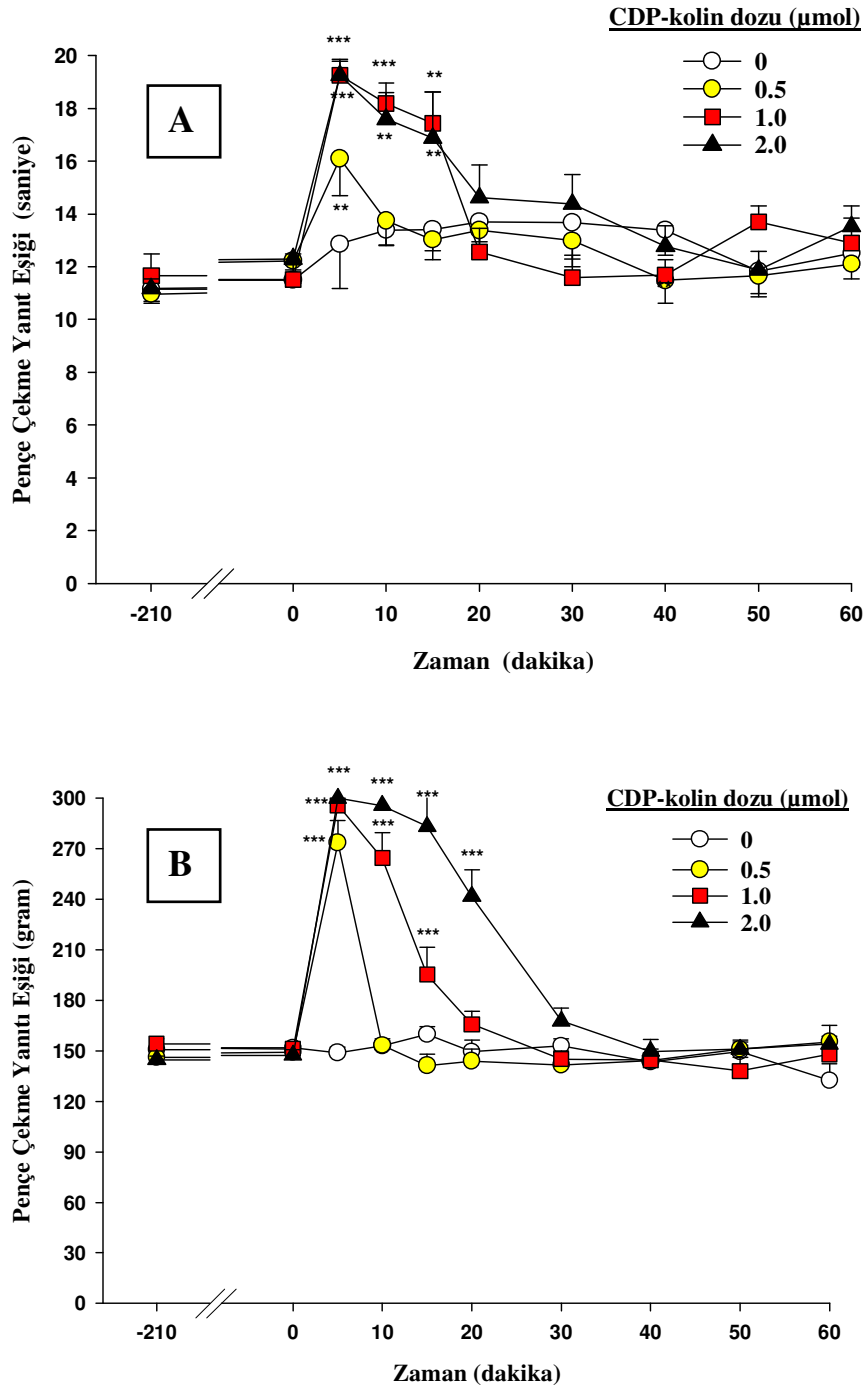
CDP-kolin'in antihiperalezik etkisi i.s.v. yolla enjeksiyonu takiben 5. dakikada en yüksek değerine ulaştı [0.5, 1 ve 2 $\mu\text{mol}/10 \mu\text{l}$ dozlarında pençe çekme yanıtı eşik değerleri carrageenan uygulanan sağ pençe için sırasıyla; 83.0 ± 21.4 ($n=6$), 254.0 ± 19.1 ($n=9$) ve 300.0 ± 0.0 gram ($n=6$)]. Antihiperalezik etki, 0.5 μmol CDP-kolin uygulamasını takiben 15. dakikada geri dönerken; 1 ve 2 μmol dozlarında ise sırasıyla 20. ve 40. dakikada geri döndü. İki yönlü RM-ANOVA analizine göre CDP-kolin'in mekanik pençe çekme testindeki sağ pençe üzerinde antihiperalezik etkisi, doz [$F(3, 21)=209.5$; $P<0.001$], zaman [$F(9, 180)=220.4$; $P<0.001$] ve doz-zaman ilişkisi bakımından [$F(27, 180)=67.1$; $P<0.001$] anlamlı bulundu (Şekil – 12 B).

CDP-kolin'in analjezik etkisi i.s.v. yolla enjeksiyonu takiben 5. dakikada en yüksek değerine ulaştı [0.5, 1 ve 2 $\mu\text{mol}/10 \mu\text{l}$ dozlarında pençe çekme yanıtı eşik değerleri carrageenan uygulanmayan sol pençe için sırasıyla; 273.7 ± 13.1 ($n=6$), 295.8 ± 4.2 ($n=9$) ve 300.0 ± 0.0 gram ($n=6$)]. Analjezik etki, 0.5 μmol CDP-kolin uygulamasını takiben 10. dakikada geri dönerken; 1 ve 2 μmol dozlarında ise sırasıyla 20. ve 30. dakikada geri döndü. İki yönlü RM-ANOVA analizine göre CDP-kolin'in mekanik pençe çekme testindeki sol pençe üzerinde analjezik etkisi, doz [$F(3, 24)=83.6$; $P<0.001$], zaman [$F(9, 213)=94.2$; $P<0.001$] ve doz-zaman ilişkisi bakımından [$F(27, 213)=20.5$; $P<0.001$] anlamlı bulundu (Şekil – 13 B).



Şekil – 12: İntraserebroventriküler yol ile enjekte edilen CDP-kolin’in sağ pençede λ -carrageenanla oluşturulmuş inflamatuvar ağrı modelinde, termal (A) ve mekanik (B) pençe çekme testlerindeki sağ pençe üzerine antihiperaljezik etkisi

Termal ve mekanik pençe çekme testinde, carrageenan öncesi kontrol pençe çekme yanıtı eşik değerleri alındıktan sonra sağ arka pençeye intraplantar λ -carrageenan (% 2’lik, 100 μ l) enjeksiyonu yapıldı. 3 saat bekleddikten sonra carrageenan enjeksiyonu sonrası kontrol pençe çekme yanıtı eşik değerleri alındı. Takiben intraserebroventriküler yolla CDP-kolin (0.5, 1 ve 2 μ mol / 10 μ l) ya da tuzlu su (10 μ l) enjekte edildi. Ardından 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50 ve 60 dakikalarda pençe çekme yanıtı eşik değerleri ölçüldü. Değerler 6-9 sıçanın ortalama \pm standart hatası olarak verildi. İstatistiksel değerlendirmeler iki yönlü RM-ANOVA’yi takiben Student-Newman-Keuls testi ile yapıldı. * p <0.05, ** p <0.01 ve *** p <0.001; tuzlu su grubuna (şekilde 0 doz olarak gösterilmiştir) göre anlamlı farkı göstermektedir.



Şekil – 13: İntraserebroventriküler yol ile enjekte edilen CDP-kolin’in sağ pençede λ -carrageenanla oluşturulmuş inflamatuvar ağrı modelinde, termal (A) ve mekanik (B) pençe çekme testlerindeki carrageenan uygulanmayan sol pençe üzerine analjezik etkisi

Termal ve mekanik pençe çekme testinde, carrageenan öncesi kontrol pençe çekme yanıtı eşik değerleri alındıktan sonra sağ arka pençeye intraplantar λ -carrageenan (% 2’lik, 100 μ l) enjeksiyonu yapıldı. 3 saat bekleddikten sonra carrageenan enjeksiyonu sonrası kontrol pençe çekme yanıtı eşik değerleri alındı. Takiben intraserebroventriküler yolla CDP-kolin (0.5, 1 ve 2 μ mol / 10 μ l) ya da tuzlu su (10 μ l) enjekte edildi. Ardından 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50 ve 60 dakikalarda pençe çekme yanıtı eşik değerleri ölçüldü. Değerler 6-9 sıçanın ortalama \pm standart hatası olarak verildi. İstatistiksel değerlendirmeler iki yönlü RM-ANOVA’ yı takiben Student-Newman-Keuls testi ile yapıldı. ** $P < 0.01$ ve *** $P < 0.001$; tuzlu su grubuna (şekilde 0 doz olarak gösterilmiştir) göre anlamlı farkı göstermektedir.

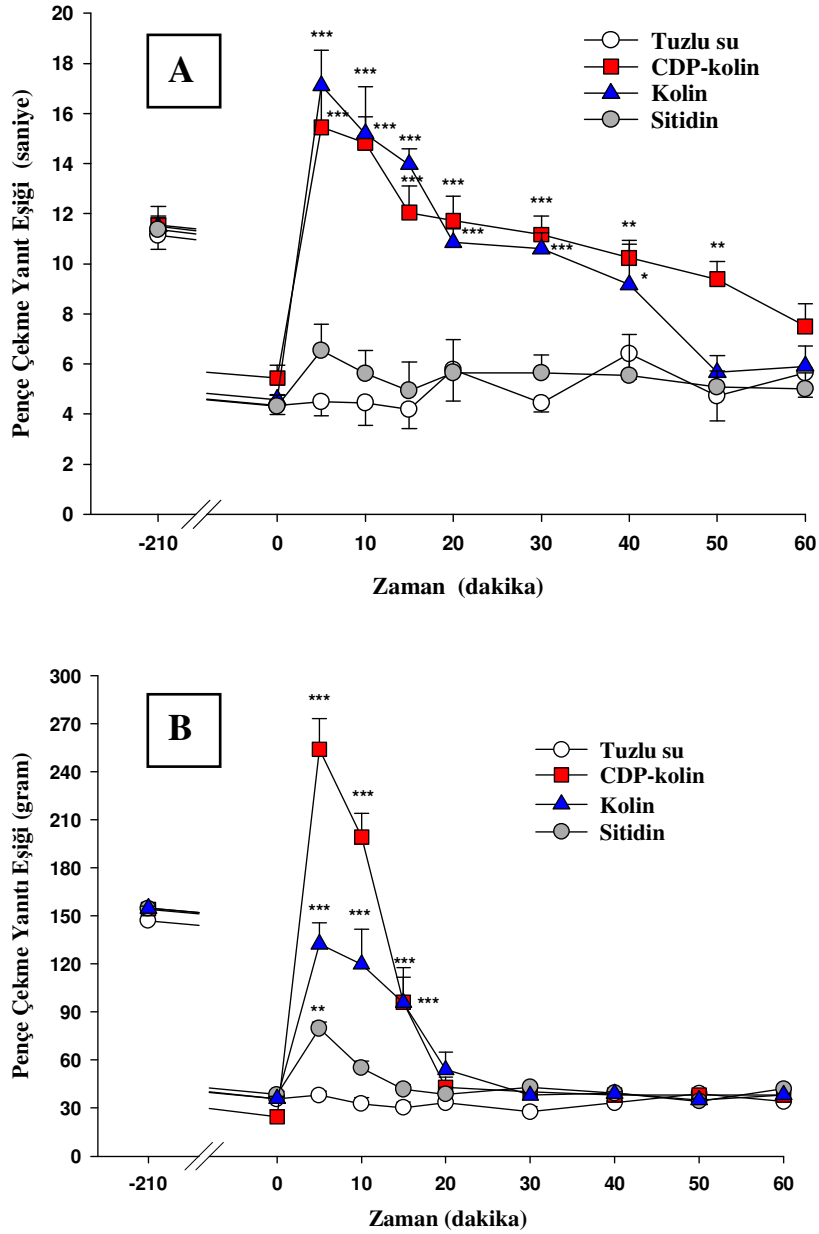
3. Eşmolar Dozlardaki Kolin ve Sitidinin İnflamatuvar Ağrı Üzerine Etkisi

CDP-kolin'in hidroliz ürünleri olan kolin ve sitidinin, λ -carrageenanla oluşturulan inflamatuvar ağrı modelindeki antihiperalezik etkilerini araştırmak amacıyla sıçanlara 10 μ l tuzlu su içinde hazırlanan CDP-kolin (1 μ mol), kolin (1 μ mol), sitidin (1 μ mol) veya tuzlu su (10 μ l) i.s.v. yolla enjekte edildi; termal ve mekanik pençe çekme testleri kullanılarak bu etkiler araştırıldı.

Termal pençe çekme testinde, deneye alınan bütün sıçanların kontrol pençe çekme yanıtı eşik değerleri ortalaması carrageenan verilmeden, deney öncesi kontrol pençe çekme yanıtı eşik değerleri ortalaması sağ pençe için 11.4 ± 0.3 saniye, sol pençe için 11.4 ± 0.2 saniye (n=26) bulundu. Aynı sıçanların carrageenanın sağ pençeye enjekte edilmesinden sonraki kontrol pençe çekme yanıtı eşik değerleri ortalaması sağ pençe için 4.7 ± 0.2 saniye, sol pençe için 11.6 ± 0.2 saniye (n=26) olarak kaydedildi. Takiben sıçanlara CDP-kolin, kolin, sitidin veya tuzlu su i.s.v. yolla enjekte edildi ve pençe çekme yanıtı eşik değerleri ölçüldü. Kolin (1 μ mol) uygulanmasını takiben meydana gelen antihiperalezik etki, aynı dozda CDP-kolin (1 μ mol) uygulamasından sonra görülen antihiperalezik etkiye benzer şekildeydi. CDP-kolin uygulamasında olduğu gibi kolinin enjeksiyonunu takiben de pençe çekme yanıtı eşik değeri, 5. dakikada en yüksek değerine ulaştı [17.1 ± 1.4 saniye (n=6)]. Daha sonra 60. dakikada antihiperalezik etkisi geri dönen CDP-kolin'e benzer şekilde, kolinin de etkisi azalarak 50. dakikada geri döndü. Sitidin (1 μ mol) ise, kolinden farklı olarak pençe çekme yanıtı eşik değeri istatistiksel olarak anlamlı bir değişikliğe yol açmadı. İki yönlü RM-ANOVA analizine göre, termal pençe çekme testinde CDP-kolin ve kolin, tedavi [$F(3, 22)=27.5; P<0.001$], zaman [$F(9, 189)=28.3; P<0.001$] ve tedavi-zaman ilişkisi bakımından [$F(27, 189)=7.6; P<0.001$] istatistiksel olarak anlamlı antihiperalezik etki oluşturdu (Şekil – 14 A).

Mekanik pençe çekme testinde deneye alınan bütün sıçanların carrageenan verilmeden, deney öncesi kontrol pençe çekme yanıtı eşik değerleri ortalaması sağ pençe için 152.8 ± 1.2 gram, sol pençe için 152.3 ± 1.1 gram (n=32) bulundu. Aynı sıçanların carrageenanın sağ pençeye enjekte edilmesinden 3 saat sonraki kontrol pençe çekme yanıtı eşik değerleri ortalaması sağ pençe için 33.0 ± 1.7 gram, sol pençe için 151.3 ± 1.2 gram (n=32) olarak kaydedildi. Takiben sıçanlara CDP-kolin, kolin, sitidin veya tuzlu su i.s.v. yolla enjekte edildi ve pençe çekme yanıtı eşik değerleri ölçüldü. Termal pençe çekme testinde olduğu gibi, mekanik pençe çekme testinde de kolin (1 μ mol) uygulanmasını takiben meydana gelen antihiperalezik etki, aynı dozda CDP-kolin (1 μ mol) uygulamasından sonra görülen antihiperalezik etkiye benzerdi. CDP-kolin uygulamasında

olduğu gibi kolinin enjeksiyonunu takiben de pençe çekme yanıtı eşiği, 5. dakikada en üst düzeyine ulaştı [132.4 ± 13.4 gram (n=10)]. Takiben CDP-kolin'e benzer şekilde etkisi azalarak 20. dakikada geri döndü. Sitidin (1 μ mol) ise, kolinin aksine pençe çekme yanıtı eşiği değerlerinde sadece 5. dakikada istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik oluşturdu. Sitidin, mekanik pençe çekme testinde carrageenanla oluşturulmuş inflamatuvar ağrıda 5. dakika pençe çekme yanıtı eşiği 79.7 ± 4.0 gram (n=6) olarak kaydedildi. İki yönlü ANOVA analizine göre, mekanik pençe çekme testinde CDP-kolin ve kolin tedavi [F(3, 28)=19.5; $P<0.001$], zaman [F(9, 238)=94.6; $P<0.001$] ve tedavi-zaman ilişkisi bakımından [F(27, 238)=16.5; $P<0.001$] istatistiksel olarak anlamlı antihiperalezik etki meydana getirdi (şekil – 14 B).



Şekil – 14: İntraserebroventriküler yol ile enjekte edilen eşmolar dozlardaki CDP-kolin, kolin ve sitidinin λ -carrageenanla oluşturulmuş inflamatuvar ağrıdaki, termal (A) ve mekanik (B) pençe çekme testlerindeki antihiperaljezik etkisi

Termal ve mekanik pençe çekme testinde, carrageenan öncesi kontrol pençe çekme yanıtı eşik değerleri alındıktan sonra intraplantar λ -carrageenan (% 2'lik, 100 μ l) enjeksiyonu yapıldı. 3 saat beklemeden sonra carrageenan enjeksiyonu sonrası kontrol pençe çekme yanıtı eşik değerleri alındı. Takiben intraserebroventriküler yolla CDP-kolin (1 μ mol / 10 μ l), kolin (1 μ mol / 10 μ l), sitidin (1 μ mol / 10 μ l) ya da tuzlu su (10 μ l) enjekte edildi. Ardından 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50 ve 60. dakikalarda pençe çekme yanıtı eşik değerleri ölçüldü. Değerler 6–10 sıçanın ortalama \pm standart hatası olarak verildi. İstatistiksel değerlendirmeler iki yönlü RM-ANOVA'yı takiben Student-Newman-Keuls testi ile yapıldı. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ ve *** $p < 0.001$; tuzlu su grubuna göre anlamlı farkı göstermektedir.

4. CDP-kolin'in Antihiperalezik Etkisinde Kolinerjik Reseptör Antagonistleri ile Yapılan Ön Tedavinin Etkisi

CDP-kolin'in λ -carrageenanla oluşturulan inflamatuvar ağrıdaki antihiperalezik etkilerine aracılık ettiği düşünülen santral kolinerjik reseptör tiplerinin araştırılması amacıyla, sıçanlara i.s.v. yolla CDP-kolin (1 μ mol / 10 μ l) veya tuzlu su (10 μ l) enjeksiyonundan 15 dakika önce, kolinerjik muskarinik reseptör antagonisti atropin sülfat (10 μ g / 10 μ l), kolinerjik nikotinik reseptör antagonisti mekamilamin (50 μ g / 10 μ l), α 7 nöronal nikotinik asetilkolin reseptör antagonisti alfa-bungarotoksin (2 μ g / 10 μ l) veya tuzlu su (10 μ l) i.s.v. yolla enjekte edildi. CDP-kolin'in antihiperalezik etkisi, termal ve mekanik pençe çekme testleri kullanılarak araştırıldı. Termal ve mekanik pençe çekme yanıtı eşik değerleri, ikinci enjeksiyondan 10 dakika sonra ölçüldü.

Termal pençe çekme testinde, tuzlu su veya CDP-kolin enjeksiyonu öncesi atropin, mekamilamin, alfa-bungarotoksin veya tuzlu su ön tedavisi uygulanan sıçanların carrageenan enjeksiyonu öncesi ortalama kontrol pençe çekme yanıtı eşik değerleri sağ pençe için 11.8 ± 1.1 saniye, sol pençe için 11.8 ± 0.1 saniye (n=47) olarak ölçüldü. Aynı sıçanların carrageenan enjeksiyonundan 3 saat sonra ortalama kontrol pençe çekme yanıtı eşik değerleri sağ pençe için 4.6 ± 0.1 saniye, sol pençe için 11.9 ± 0.2 saniye (n=47) olarak ölçüldü. Tuzlu su ön tedavisi sonrası i.s.v. yolla CDP-kolin enjeksiyonu yapılan sıçanların termal sağ pençe çekme yanıtı eşik değerleri 19.6 ± 0.3 saniye (n=7) iken tedavi olarak tuzlu su enjeksiyonu yapılan sıçanların sağ pençe çekme yanıtı eşik değerleri 4.9 ± 0.4 (n=6) idi. Buna göre tuzlu su sonrası CDP-kolin enjeksiyonu, termal pençe çekme yanıtı eşik değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı [$F(1, 11)=890.9; P<0.001$] bir artışa yol açtı (Şekil – 15 A).

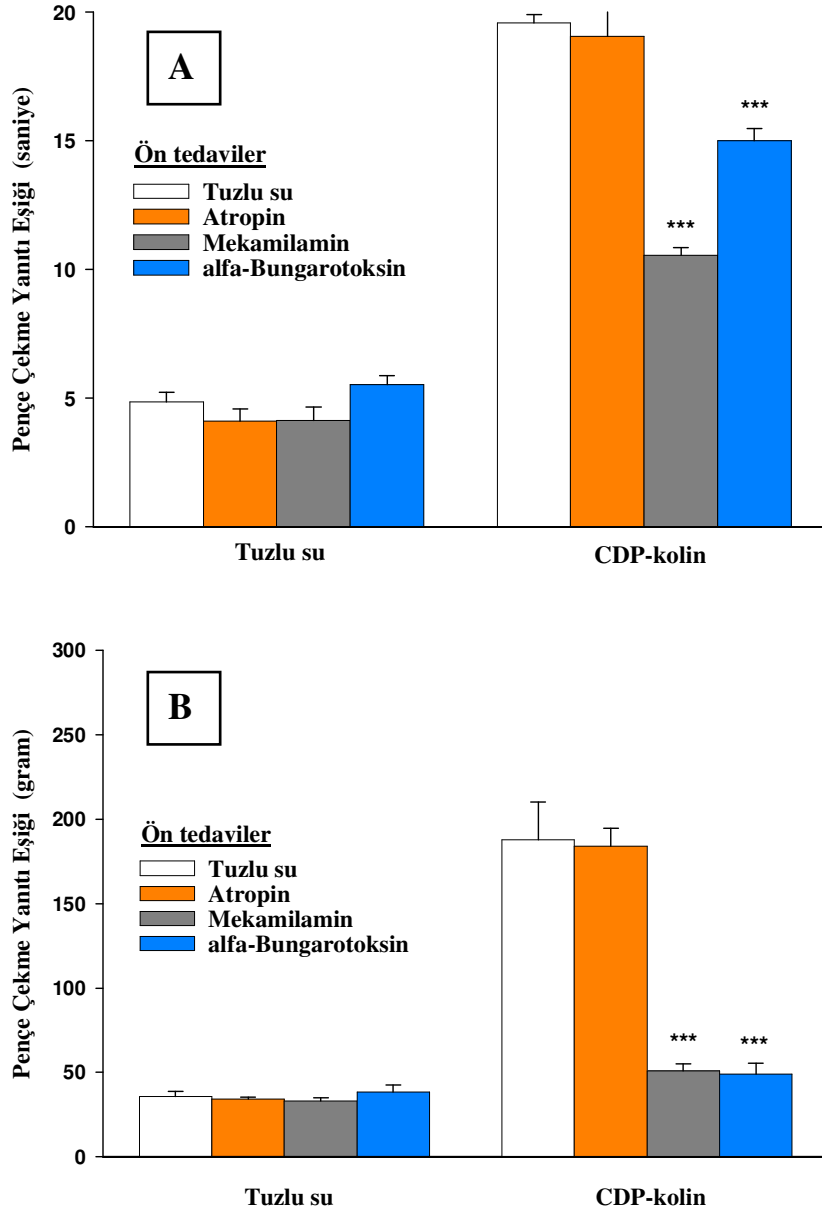
Atropin, mekamilamin ve alfa-bungarotoksin ön tedavisi sonrası CDP-kolin enjeksiyonu yapılan sıçanlarda 10. dakika sağ pençe çekme yanıtı eşik değerleri sırasıyla; 19.1 ± 0.9 (n=6); 10.6 ± 0.3 (n=7) ve 15.0 ± 0.5 saniye (n=6) olarak ölçüldü. Buna göre termal pençe çekme testinde mekamilamin ve alfa-bungarotoksin ön tedavileri, CDP-kolin'in antihiperalezik etkisini istatistiksel olarak anlamlı şekilde bloke ederken [sırasıyla $F(1, 12)=432.0; P<0.001$ ve $F(1, 11)=65.6; P<0.001$], atropin ön tedavisi ise CDP-kolin'in etkisinde anlamlı bir değişiklik meydana getirmedi [$F(1, 11)=0.3; P=0.587$] (Şekil – 15 A).

CDP-kolin'in inflamatuvar ağrıdaki antihiperalezik etkisinin kolinerjik sistemle ilişkisini araştırmak üzere kullanılan atropin, mekamilamin ve alfa-bungarotoksin ön tedavileri, tek başlarına termal pençe çekme yanıtı eşik değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişikliğe neden olmadı (Şekil – 15 A).

Mekanik pençe çekme testinde, tuzlu su veya CDP-kolin enjeksiyonu öncesi atropin, mekamilamin, alfa-bungarotoksin veya tuzlu su ön tedavisi uygulanan sıçanların carrageenan enjeksiyonu öncesi ortalama kontrol pençe çekme yanıtı eşik değerleri sağ pençe için 154.4 ± 0.7 , sol pençe için 152.7 ± 0.9 gram gram (n=45) olarak ölçüldü. Aynı sıçanların carrageenan enjeksiyonundan 3 saat sonra ortalama kontrol pençe çekme yanıtı eşik değerleri sağ pençe için 36.9 ± 0.7 gram, sol pençe için 152.7 ± 0.8 gram (n=45) olarak ölçüldü. Tuzlu su ön tedavisini takiben kontrol olarak i.s.v. yolla tuzlu su uygulanan sıçanların mekanik sağ pençe çekme yanıtı eşik değerleri 35.6 ± 3.0 (n=5) iken, CDP-kolin enjeksiyonu yapılan sıçanların sağ pençe çekme yanıtı eşik değerleri 187.7 ± 22.6 gram (n=7) olarak ölçüldü. Buna göre tuzlu su sonrası CDP-kolin enjeksiyonu mekanik pençe çekme yanıtı eşik değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı [$F(1, 10)=31.3$; $P<0.001$] bir artışa yol açtı (Şekil – 15 B).

Atropin, mekamilamin ve alfa-bungarotoksin ön tedavileri sonrası CDP-kolin enjeksiyonu yapılan sıçanlarda sağ pençe çekme yanıtı eşik değerleri sırasıyla; 184.0 ± 10.4 (n=6); 51.0 ± 4.0 (n=6) ve 49.0 ± 6.5 gram (n=6) olarak ölçüldü. Termal pençe çekme testinde olduğu gibi mekanik pençe çekme testinde de mekamilamin ve alfa-bungarotoksin ön tedavileri, CDP-kolin'in antihiperalezik etkisini istatistiksel olarak anlamlı şekilde bloke ederken [sırasıyla $F(1, 11)=30.4$; $P<0.001$ ve $F(1, 11)=30.2$; $P<0.001$], atropin ön tedavisi ise CDP-kolin'in antihiperalezik etkisini değiştirmede [$F(1, 11)=0.02$; $P=0.89$] (Şekil – 15 B).

Kolinerjik reseptör antagonistlerinden atropin, mekamilamin ve alfa-bungarotoksin ön tedavilerinin ise, tek başlarına mekanik pençe çekme yanıtı eşik değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişikliğe neden olmadığı saptandı (Şekil – 15 B).



Şekil – 15: İntraserebroventriküler yolla uygulanan CDP-kolin'in λ -carrageenanla oluşturulmuş inflamatuvar ağrıdaki, termal (A) ve mekanik (B) pençe çekme testlerindeki antihiperaljezik etkisinde kolinerjik reseptör antagonist ön tedavilerinin etkisi

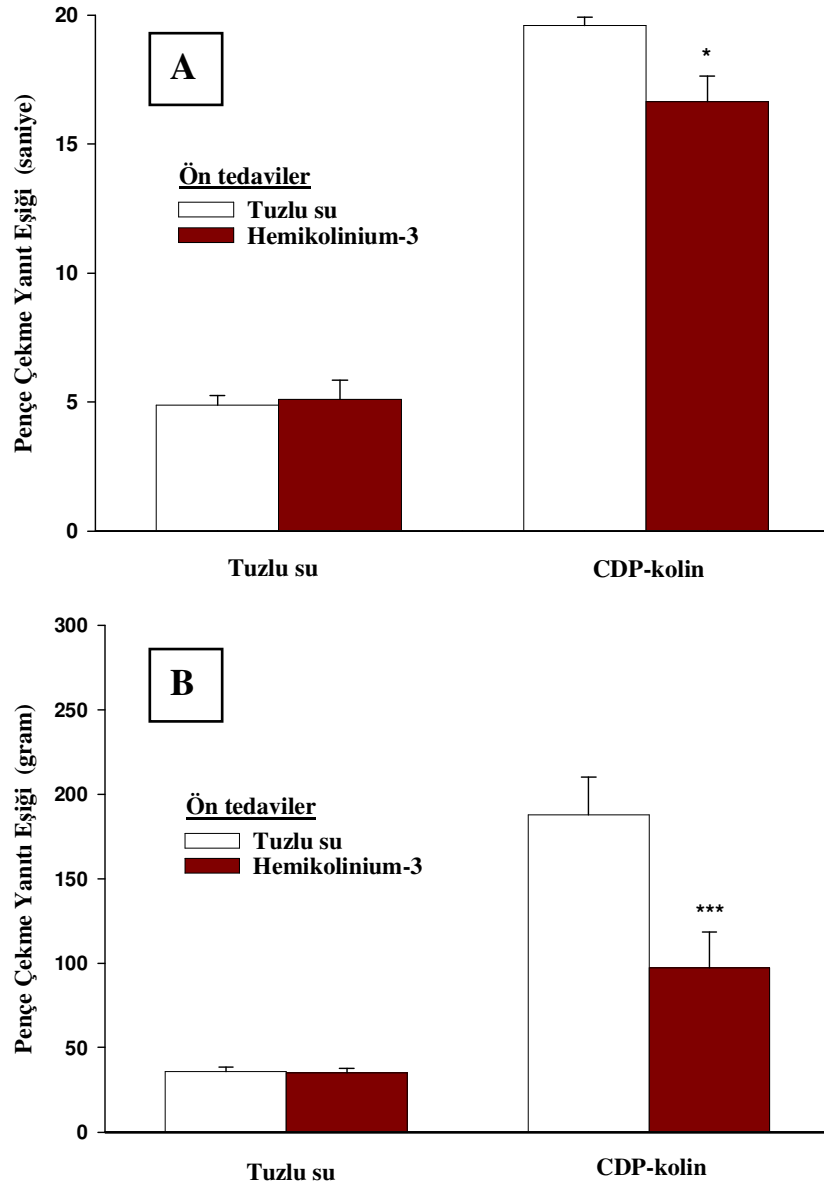
Termal ve mekanik pençe çekme testinde, intraplantar λ -carrageenan (% 2'lik, 100 μ l) enjeksiyonundan 3 saat sonra kontrol pençe çekme yanıtı eşik değerleri alındıktan sonra intraserebroventriküler yolla atropin sülfat (10 μ g / 10 μ l), mekamilamin (50 μ g / 10 μ l), alfa-bungarotoksin (2 μ g / 10 μ l) veya tuzlu su (10 μ l) ön tedavileri uygulandı. 15 dakika sonra intraserebroventriküler yolla CDP-kolin (1 μ mol / 10 μ l) ya da tuzlu su (10 μ l) enjekte edildi. İkinci enjeksiyondan 10 dakika sonra pençe çekme yanıtı eşik değerleri ölçüldü. Değerler 5-7 sıçanın ortalama \pm standart hatası olarak verildi. İstatistiksel değerlendirmeler tek yönlü ANOVA'yı takiben Student-Newman-Keuls testi ile yapıldı. *** p <0.001; kontrol grubuna göre anlamlı farkı göstermektedir.

5. CDP-kolin'in Antihiperalezik Etkisinde HC-3 Ön Tedavisinin Etkisi

λ -carrageenanla oluşturulan inflamatuvar ağrı modelinde CDP-kolin'in oluşturduğu antihiperalezik etkide presinaptik kolinerjik mekanizmaların rolünü araştırmak için, kolinin sinir ucuna geri alımını bloke eden bir ilaç olan HC-3 (1 μ g / 10 μ l) veya tuzlu su (10 μ l) i.s.v. yolla enjekte edildi. Takiben 15 dakika sonra sıçanlara CDP-kolin (1 μ mol / 10 μ l; i.s.v.) veya tuzlu su (10 μ l; i.s.v.) uygulandı. Oluşturulan inflamatuvar ağrıdaki CDP-kolin'in antihiperalezik etkisi, sıçanlarda termal ve mekanik pençe çekme testleri kullanılarak araştırıldı. Termal ve mekanik pençe çekme yanıtı eşik değerleri, ikinci enjeksiyondan 10 dakika sonra ölçüldü.

Termal pençe çekme testinde deneye alınan bütün sıçanların carrageenan enjeksiyonu öncesi ortalama kontrol pençe çekme yanıtı eşik değerleri sağ pençe için 12.0 ± 0.2 saniye, sol pençe için 12.0 ± 0.3 saniye (n=24) olarak ölçüldü. Aynı sıçanların carrageenan enjeksiyonundan 3 saat sonra ortalama kontrol pençe çekme yanıtı eşik değerleri sağ pençe için 4.7 ± 0.6 saniye ve sol pençe için 11.8 ± 0.2 saniye (n=24) olarak kaydedildi. HC-3 ön tedavisini takiben CDP-kolin uygulanan sıçanlarda 10. dakikada alınan sağ pençe çekme yanıtı eşik değeri 16.6 ± 1.0 saniye (n=6) iken kontrol grubunda ise 19.6 ± 0.3 (n=7) olarak ölçüldü. Bu sonuca göre termal pençe çekme testinde, HC-3 ön tedavisi CDP-kolin'in neden olduğu antihiperalezik etkiyi istatistiksel olarak anlamlı şekilde [F(1, 11)=9.2; $P<0.05$] bloke etti. HC-3 ön tedavisi tek başına termal pençe çekme yanıtı eşik değerlerini değiştirmede (Şekil – 16 A).

Mekanik pençe çekme testinde deneye alınan bütün sıçanların carrageenan enjeksiyonu öncesi ortalama kontrol pençe çekme yanıtı eşik değerleri sağ pençe için 154.5 ± 0.9 gram ve sol pençe için 151.7 ± 1.0 gram (n=23) olarak bulundu. Aynı sıçanların carrageenan enjeksiyonundan 3 saat sonra ortalama kontrol pençe çekme yanıtı eşik değerleri sağ pençe için 35.7 ± 1.0 gram, sol pençe için 152.0 ± 1.2 gram (n=23) olarak ölçüldü. HC-3 ön tedavisini takiben CDP-kolin uygulanan sıçanlarda 10. dakikada alınan sağ pençe çekme yanıtı eşik değeri 97.3 ± 20.9 gram (n=6) iken kontrol grubunda ise 187.7 ± 22.6 (n=7) oldu. Bu sonuca göre mekanik pençe çekme testinde, HC-3 ön tedavisi CDP-kolin'in antihiperalezik etkisini istatistiksel olarak anlamlı şekilde [F(1, 11)=8.4; $P<0.05$] bloke etti. HC-3 ön tedavisi ise tek başına mekanik pençe çekme yanıtı eşik değerlerini değiştirmede (Şekil – 16 B).



Şekil – 16: İntraserebroventriküler yolla uygulanan CDP-kolin'in λ -carrageenanla oluşturulmuş inflamatuvar ağrıdaki, termal (A) ve mekanik (B) pençe çekme testlerindeki antihiperaljezik etkisinde HC-3 ön tedavisinin etkisi

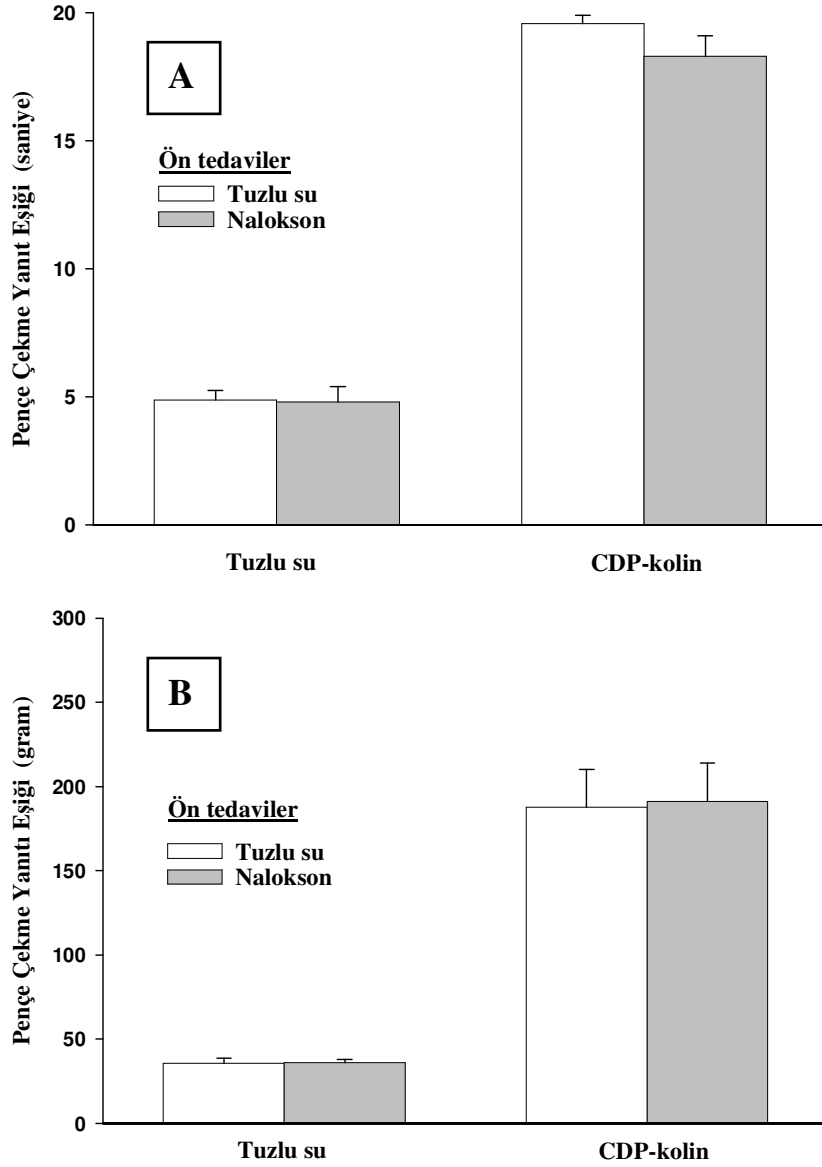
Termal ve mekanik pençe çekme testinde, intraplantar λ -carrageenan (% 2'lik, 100 μ l) enjeksiyonundan 3 saat sonra kontrol pençe çekme yanıtı eşik değerleri alındıktan sonra intraserebroventriküler yolla HC-3 (1 μ g / 10 μ l) veya tuzlu su (10 μ l) ön tedavileri uygulandı. 15 dakika sonra intraserebroventriküler yolla CDP-kolin (1 μ mol / 10 μ l) ya da tuzlu su (10 μ l) enjekte edildi. İkinci enjeksiyondan 10 dakika sonra pençe çekme yanıtı eşik değerleri ölçüldü. Değerler 5-7 sıçanın ortalama \pm standart hatası olarak verildi. İstatistiksel değerlendirmeler tek yönlü ANOVA'yı takiben Student-Newman-Keuls testi ile yapıldı. *** p <0.001; kontrol grubuna göre anlamlı farkı göstermektedir.

6. CDP-kolin'in Antihiperalezik Etkisinde Nalokson Ön Tedavisinin Etkisi

λ -carrageenanla oluşturulan inflamatuvar ağrı modelinde CDP-kolin'in oluşturduğu antihiperalezik etkide santral opioid sistem rolünü araştırmak amacıyla, seçici olmayan opioid reseptör antagonisti nalokson (10 μ g / 10 μ l) veya tuzlu su (10 μ l) i.s.v. yolla enjekte edildi. Takiben 15 dakika sonra sıçanlara CDP-kolin (1 μ mol / 10 μ l; i.s.v.) veya tuzlu su (10 μ l; i.s.v.) uygulandı. Oluşturulan inflamatuvar ağrıdaki CDP-kolin'in antihiperalezik etkisi, sıçanlarda termal ve mekanik pençe çekme testleri kullanılarak araştırıldı. Termal ve mekanik pençe çekme yanıtı eşik değerleri, ikinci enjeksiyondan 10 dakika sonra ölçüldü.

Termal pençe çekme testinde deneye alınan bütün sıçanların carrageenan enjeksiyonu öncesi ortalama kontrol pençe çekme yanıtı eşik değerleri sağ pençe için 12.2 ± 0.3 saniye ve sol pençe için 12.0 ± 0.2 saniye (n=24) olarak ölçüldü. Aynı sıçanların carrageenan enjeksiyonundan 3 saat sonra ortalama kontrol pençe çekme yanıtı eşik değerleri sağ pençe için 4.4 ± 0.2 saniye ve sol pençe için 11.7 ± 0.3 saniye (n=24) olarak bulundu. Nalokson ön tedavisini takiben CDP-kolin uygulanan sıçanlarda sağ pençe çekme yanıtı eşik değerleri 18.3 ± 0.8 saniye (n=6) iken tuzlu su ön tedavisi yapılan grupta ise 19.6 ± 0.3 (n=7) olarak ölçüldü. Bu sonuca göre termal pençe çekme testinde nalokson ön tedavisi, CDP-kolin ile ortaya çıkan antihiperalezik etkide istatistiksel olarak anlamlı bir değişikliğe yol açmadı [F(1, 11)=2.5; P=0.14]. Nalokson ön tedavisi ise tek başına termal pençe çekme yanıtı eşik değerlerinde değişiklik yapmadı (Şekil – 17 A).

Mekanik pençe çekme testinde deneye alınan bütün sıçanların carrageenan enjeksiyonu öncesi ortalama kontrol pençe çekme yanıtı eşik değerleri sağ pençe için 153.6 ± 0.8 gram ve sol pençe için 152.7 ± 1.1 gram (n=23) olarak bulundu. Aynı sıçanların carrageenan enjeksiyonundan 3 saat sonra ortalama kontrol pençe çekme yanıtı eşik değerleri sağ pençe için 36.4 ± 1.0 gram ve sol pençe için 152.7 ± 1.1 gram (n=23) olarak ölçüldü. Nalokson ön tedavisini takiben CDP-kolin uygulanan sıçanlarda sağ pençe çekme yanıtı eşik değerleri 191.3 ± 22.6 gram (n=6) iken tuzlu su ön tedavisi yapılan grupta ise 187.7 ± 22.6 (n=7) olarak ölçüldü. Elde edilen sonuçlara göre mekanik pençe çekme testinde de, nalokson ön tedavisi CDP-kolin ile ortaya çıkan antihiperalezik etkide istatistiksel olarak anlamlı bir değişikliğe yol açmadı [F(1, 11)=0.01; P=0.912]. Nalokson ön tedavisi tek başına mekanik pençe çekme yanıtı eşik değerlerini değiştirmede (Şekil – 17 B).



Şekil – 17: İntraserebroventriküler yolla uygulanan CDP-kolin'in λ -carrageenanla oluşturulmuş inflamatuvar ağrıdaki, termal (A) ve mekanik (B) pençe çekme testlerindeki antihiperaljezik etkisinde nalokson ön tedavisinin etkisi

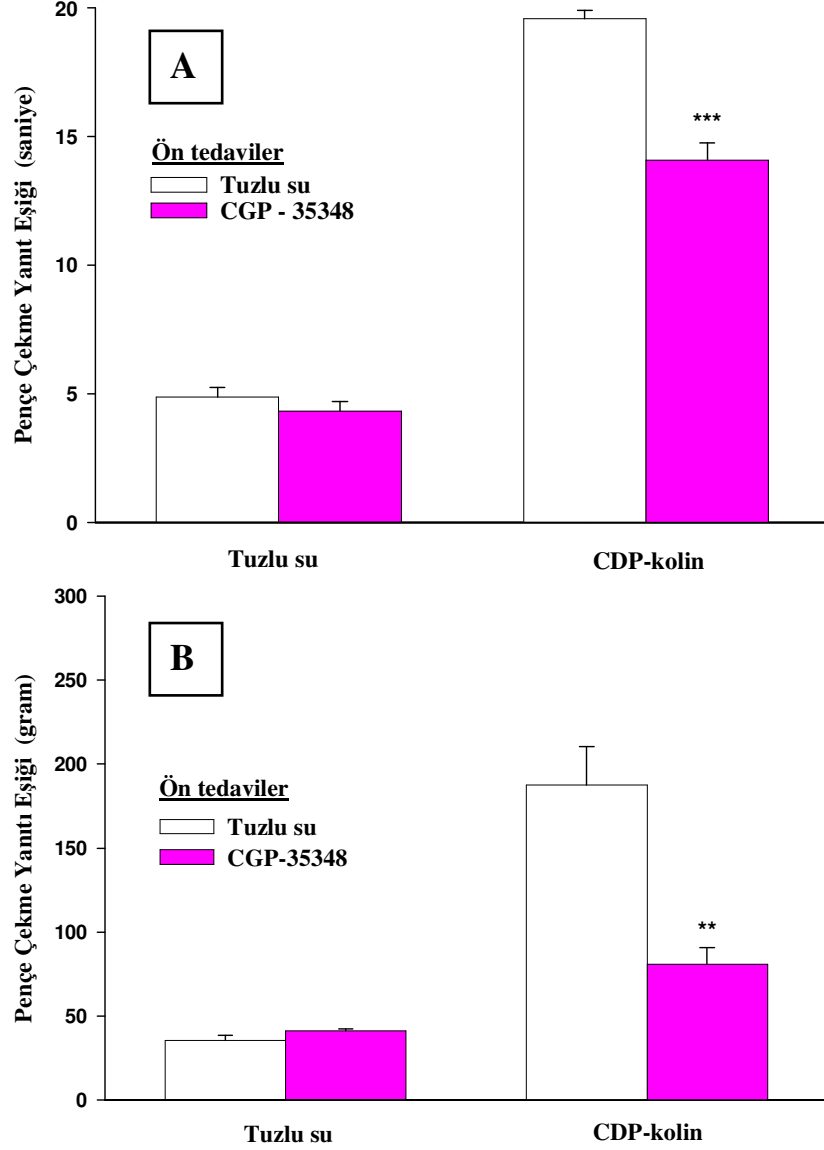
Termal ve mekanik pençe çekme testinde, intraplantar λ -carrageenan (% 2'lik, 100 μ l) enjeksiyonundan 3 saat sonra kontrol pençe çekme yanıt eşik değerleri alındıktan sonra intraserebroventriküler yolla nalokson (10 μ g / 10 μ l) veya tuzlu su (10 μ l) ön tedavileri uygulandı. 15 dakika sonra intraserebroventriküler yolla CDP-kolin (1 μ mol / 10 μ l) ya da tuzlu su (10 μ l) enjekte edildi. İkinci enjeksiyondan 10 dakika sonra pençe çekme yanıt eşik değerleri ölçüldü. Değerler 5-7 sıçanın ortalama \pm standart hatası olarak verildi. İstatistiksel değerlendirmeler tek yönlü ANOVA'yı takiben Student-Newman-Keuls testi ile yapıldı. Kontrol grubuna göre anlamlı fark yoktur.

7. CDP-kolin'in Antihiperalezik Etkisinde CGP-35348 Ön Tedavisinin Etkisi

λ -carrageenanla oluşturulan inflamatuvar ağrı modelinde CDP-kolin'in oluşturduğu antihiperalezik etkide, santral GABA_Aerjik sistemin rolünü araştırmak amacı ile GABA_B reseptör antagonisti CGP-35348 (20 μ g / 10 μ l) veya tuzlu su (10 μ l) i.s.v. yolla enjekte edildi. Takiben 15 dakika sonra sıçanlara CDP-kolin (1 μ mol / 10 μ l; i.s.v.) veya tuzlu su (10 μ l; i.s.v.) uygulandı. Oluşturulan inflamatuvar ağrıdaki CDP-kolin'in antihiperalezik etkisi, sıçanlarda termal ve mekanik pençe çekme testleri kullanılarak araştırıldı. Termal ve mekanik pençe çekme yanıtı eşik değerleri, ikinci enjeksiyondan 10 dakika sonra ölçüldü.

Termal pençe çekme testinde deneye alınan bütün sıçanların carrageenan enjeksiyonu öncesi ortalama kontrol pençe çekme yanıtı eşik değerleri sağ pençe için 11.9 ± 0.2 saniye ve sol pençe için 11.8 ± 0.2 saniye (n=24) olarak ölçüldü. Aynı sıçanların carrageenan enjeksiyonundan 3 saat sonra ortalama kontrol pençe çekme yanıtı eşik değerleri sağ pençe için 4.6 ± 0.1 saniye ve sol pençe için 11.9 ± 0.2 saniye (n=24) olarak bulundu. CGP-35348 ön tedavisini takiben CDP-kolin uygulanan sıçanlarda sağ pençe çekme yanıtı eşik değerleri 14.1 ± 0.7 saniye (n=6) iken tuzlu su ön tedavisi yapılan grupta ise 19.6 ± 0.3 (n=7) olarak ölçüldü. Bu sonuca göre termal pençe çekme testinde CGP-35348 ön tedavisi, CDP-kolin ile ortaya çıkan antihiperalezik etkiyi istatistiksel olarak anlamlı şekilde [F(1, 11)=60.7; $P<0.001$] bloke etti. CGP-35348 ön tedavisi ise tek başına termal pençe çekme yanıtı eşik değerlerinde değişiklik yapmadı (Şekil – 18 A).

Mekanik pençe çekme testinde deneye alınan bütün sıçanların carrageenan enjeksiyonu öncesi ortalama kontrol pençe çekme yanıtı eşik değerleri sağ pençe için 154.3 ± 0.7 gram ve sol pençe için 152.3 ± 1.2 gram (n=23) olarak bulundu. Aynı sıçanların carrageenan enjeksiyonundan 3 saat sonra ortalama kontrol pençe çekme yanıtı eşik değerleri sağ pençe için 37.7 ± 0.9 gram ve sol pençe için 153.7 ± 1.1 gram (n=23) olarak ölçüldü. CGP-35348 ön tedavisini takiben CDP-kolin uygulanan sıçanlarda sağ pençe çekme yanıtı eşik değerleri 80.7 ± 10.0 gram (n=6) iken tuzlu su ön tedavisi yapılan grupta ise 187.7 ± 22.6 (n=7) olarak ölçüldü. Bu sonuçlara göre mekanik pençe çekme testinde de CGP-35348 ön tedavisi, CDP-kolin ile ortaya çıkan antihiperalezik etkiyi istatistiksel olarak anlamlı şekilde [F(1, 11)=16.7; $P<0.01$] bloke etti. CGP-35348 ön tedavisi, tek başına mekanik pençe çekme yanıtı eşik değerlerini değiştirmede (Şekil – 18 B).

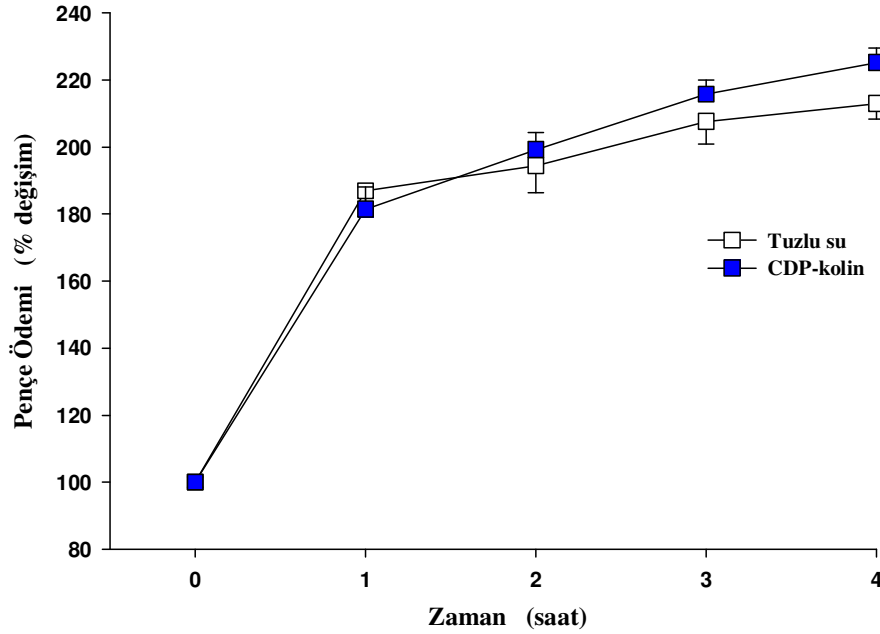


Şekil – 18: İntraserebroventriküler yolla uygulanan CDP-kolin'in λ -carrageenanla oluşturulmuş inflamatuvar ağrıdaki, termal (A) ve mekanik (B) pençe çekme testlerindeki antihiperaljzik etkisinde CGP-35348 ön tedavisinin etkisi

Termal ve mekanik pençe çekme testinde, intraplantar λ -carrageenan (% 2'lik, 100 μ l) enjeksiyonundan 3 saat sonra kontrol pençe çekme yanıt eşik değerleri alındıktan sonra intraserebroventriküler yolla CGP-35348 (20 μ g / 10 μ l) veya tuzlu su (10 μ l) ön tedavileri uygulandı. 15 dakika sonra intraserebroventriküler yolla CDP-kolin (1 μ mol / 10 μ l) ya da tuzlu su (10 μ l) enjekte edildi. İkinci enjeksiyondan 10 dakika sonra pençe çekme yanıt eşik değerleri ölçüldü. Değerler 5-7 sıçanın ortalama \pm standart hatası olarak verildi. İstatistiksel değerlendirmeler tek yönlü ANOVA'yı takiben Student-Newman-Keuls testi ile yapıldı. *** p <0.001; kontrole göre anlamlı farkı göstermektedir.

8. CDP-kolin'in Carrageenanla Gelişen Pençe Ödemi Üzerine Etkisi

İ.s.v. uygulanan CDP-kolin'in carrageenana bağlı gelişen pençe ödemi üzerine etkisi test edildi. Bu amaçla sıçanların sağ arka pençelerinin pençe genişlikleri dijital mikrometre aracılığıyla ölçüldü. Kontrol pençe genişliklerinin tespitini takiben CDP-kolin (2 $\mu\text{mol}/10 \mu\text{l}$) veya tuzlu su (10 μl) i.s.v. yolla enjekte edildi. 5 dakika sonra intraplantar yolla sıçanların sağ arka pençesine % 2'lik λ -carrageenan (100 μl) enjekte edildi. Takiben sağ pençe genişliği 1, 2, 3 ve 4. saatlerde değerlendirildi. Değerler pençe genişliklerinin yüzde değişim değerleri hesaplanarak verildi. İstatistiksel değerlendirmeler iki yönlü RM-ANOVA'yı takiben Student-Newman-Keuls testi ile yapıldı. CDP-kolin, carrageenana bağlı gelişen pençe ödemi üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişikliğe yol açmadı (Şekil – 19).



Şekil – 19: CDP-kolin'in Carrageenanla Gelişen Pençe Ödemi Üzerine Etkisi

Sağ arka pençelerin carrageenan öncesi kontrol pençe genişlikleri ölçüldükten sonra, intraserebroventriküler yolla CDP-kolin (2 $\mu\text{mol} / 10 \mu\text{l}$) ya da tuzlu su (10 μl) enjeksiyonu yapıldı. 5 dakika sonra sağ arka pençeye intraplantar yolla λ -carrageenan (% 2'lik, 100 μl) enjekte edildi. Carrageenan enjeksiyonunu takiben 1, 2, 3 ve 4. saat dilimlerinde pençe genişlikleri ölçüldü. Pençe genişliklerinin yüzde değişim değerleri hesaplanarak 6-8 sıçanın ortalama \pm standart hatası olarak verildi. İstatistiksel değerlendirmeler iki yönlü RM-ANOVA'yı takiben Student-Newman-Keuls testi ile yapıldı.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmadan elde edilen bulgular, i.s.v. yolla uygulanan CDP-kolin'in λ -carrageenanla oluşturulan deneysel inflamatuvar ağrı modelinde, termal ve mekanik pençe çekme testlerinde doza ve zamana bağlı olacak şekilde antihiperalezik etki meydana getirdiğini göstermiştir (Şekil – 12). İnflamatuvar ağrı modelinde, her iki testte de i.s.v. yolla eş molar dozda uygulanan kolin, CDP-kolin'e benzer etki meydana getirmiştir (Şekil – 14). Eş molar dozda uygulanan sitidin (i.s.v.) ise termal pençe çekme testinde anlamlı bir antihiperalezik etki meydana getirmezken, mekanik pençe çekme testinde 5. dakikada kısa süreli ama istatistiksel olarak anlamlı antihiperalezik etki oluşturmuştur (Şekil –14B). Çalışmamızda CDP-kolin'in meydana getirdiği antihiperalezik etki, i.s.v. yolla uygulanan mekamilamin, alfa-bungarotoksin, HC-3 ve CGP-35348 ön tedavileri ile ortadan kaldırılırken (Şekil – 15, Şekil – 16, Şekil – 18), atropin ve nalokson ön tedavileri CDP-kolin'in etkisini değiştirmemiştir (Şekil – 15, Şekil – 17). Bu çalışmada λ -carrageenan'ın neden olduğu pençe ödemi üzerine, i.s.v. yolla uygulanan CDP-kolin'in etkisi olmadığı bulunmuştur.

Pençe içine λ -carrageenan uygulamasıyla oluşturulan subakut inflamasyon modeli, yaygın olarak kullanılan bir inflamatuvar ağrı modelidir (160, 217, 218). Çalışmamızda önce, carrageenan ile oluşturulan hiperalezi termal ve mekanik pençe çekme testleri ile değerlendirildi (Şekil – 11). Sağ arka pençeye intraplantar yolla uygulanan carrageenan ile gelişen hiperalezi, termal pençe çekme testinde uygulamadan yaklaşık 3 saat sonra maksimuma ulaştı ve 6 saat süreyle aynı kaldı ve 24 saat sonra pençe çekme eşiği kontrol değerlerine geri döndü (Şekil – 11A). Mekanik pençe çekme testinde carrageenana bağlı olarak gelişen mekanik hiperalezinin, termal hiperalezideki ile aynı olacak şekilde carrageenan enjeksiyonundan sonra 3. saatte en yüksek düzeyine ulaştığı ve yaklaşık 6 saat süreyle alınan ölçümlerde aynı kaldığı gözlemlendi. Takiben, termal hiperaleziden farklı olarak 48 saat süreyle azalarak devam ettiği gözlemlendi (Şekil – 11B). Bu sonuçlar carrageenan kullanılarak yapılan çalışmalarla uyumlu bulundu (160, 213, 219, 220).

Çalışmamızda ilk olarak CDP-kolin'in antihiperalezik ve analjezik etkisi hem carrageenan uygulanan inflamasyonlu pençede ve hem de carrageenan uygulanmayan inflamasyonsuz pençede test edildi. Elde edilen sonuçlara göre CDP-kolin'in akut ağrıdaki analjezik etkisini gösteren daha önceki çalışma (17, 221) ile uyumlu olacak şekilde, kontrol pençede analjezik etki; inflamasyonlu pençede ise antihiperalezik etki meydana getirdiği

görüldü (Şekil – 12 ve Şekil – 13). Ayrıca, CDP-kolin akut ağrı modellerinde gösterdiği analjezik etkisiyle uyumlu olacak şekilde bu çalışmamızda da santral kolinerjik mekanizmaların aktivasyonu ile antihiperalezik etki meydana getirdi. Bunu destekleyen sonuçlarımızdan ilki aynı yolla ve eş molar dozda (1µmol) uygulanan kolinin, CDP-kolin'in antihiperalezik etkisini taklit etmesidir (Şekil – 14). Kolin (1 µmol; i.s.v.), termal pençe çekme testinde şiddet ve süre bakımından CDP-kolin'e benzer bir etki meydana getirmiştir (Şekil – 14A). Mekanik pençe çekme testinde ise kolin, pençe çekme yanıtı eşliğini kontrole göre anlamlı şekilde arttırmıştır. Kolinin bu etkisi şiddet bakımından olmasa bile zaman bakımından CDP-kolin'in etkisi ile tam olarak örtüşmektedir (Şekil – 14B). Santral kolinerjik aktivasyonun CDP-kolin'in antihiperalezik etkisine aracılık ettiğinin bir diğer göstergesi de, nöronal kolin geri alım inhibitörü olan HC-3'ün, CDP-kolin'in inflamatuvar ağrıya oluşturduğu antihiperalezik etkiyi her iki testte de istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaltmasıdır (Şekil – 16). Son olarak; CDP-kolin'in antihiperalezik etkisinin, seçici olmayan nikotinik kolinerjik reseptör antagonist mekamilamin ile termal ve mekanik pençe çekme testlerinde bloke edilmesi, santral kolinerjik aktivasyonun CDP-kolin'in çalışmadaki etkisine aracılık ettiği görüşünü güçlendirmiştir (Şekil – 15). Çalışmadan elde edilen bulgular analjezi oluşumunda kolinerjik sistem aktivasyonunun aracılığını gösteren diğer çalışmalarla da uyumlu bulunmuştur. Farklı deney hayvanları ve ağrı modelleri kullanılarak yapılan bu çalışmalarda da çeşitli kolinomimetik ajanların merkezi ya da periferik yolla verilmeleri sonrasında analjezik etki elde edilmiştir (17, 41-48, 53, 173, 174). İnflamatuvar ağrı modelleriyle yapılan çalışmalarla ortaya konulan sonuçlar da santral kolinerjik sistem aktivasyonunun antihiperalezik etkiler oluşturduğu yönünde bilgiler sunmuştur (49, 59, 60-62).

Sıçanlarda, dışarıdan uygulanan CDP-kolin'in hızla hidrolize edilerek başlıca kolin ve sitidin metabolitlerine ayrıştığı bilinmektedir (1). CDP-kolin'in bu metabolitlerinin sıçanlarda hem birbirine benzer hem de zıt etkiler oluşturduğu gösterilmiştir (20, 88, 107). Sıçanlara periferik yolla sitidin uygulandığında antidepresan etkiler, kolin uygulandığında ise prodepresan etkiler görülmüştür (107). Merkezi yolla verilen sitidinin kan basıncı ve kalp hızı üzerine olan etkileri ortaya konmuştur (88). Pürinerjik sistemin analjezideki rolü çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (223, 224). Eş molar dozlarda (1µmol; i.s.v.) uygulanan sitidin ve CDP-kolin'in şiddet ve süre bakımından termal ve mekanik pençe çekme testlerinde farklı şekilde antihiperalezik etki ortaya çıkardığı; sitidinin sadece mekanik pençe çekme testinde hafif ama anlamlı antihiperalezik etki oluşturduğu, ancak termal pençe çekme testinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik yapmadığı görülmüştür

(Şekil – 14). Sitidinin mekanik pençe çekme testinde oluşturduğu antihiperalezik etki, CDP-kolin'inkine göre şiddet ve süre bakımından düşük bulunmuştur (Şekil – 14B). Daha önce sıçanlarda akut ağrı modelleri kullanılarak yapılan bir çalışmada, merkezi yolla eş molar dozda sitidin ve CDP-kolin uygulanmış; sitidinin uygulamayı takiben bir miktar ağrı eşliğini yükselttiği, ancak istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik yapmadığı bulunmuştur (17, 221). Hamurtekin ve Gürün'ün (17) akut ağrı modellerinde yaptıkları çalışma ile bu çalışma arasındaki mekanik pençe çekme testinde sitidin uygulamasıyla elde edilen analjezik etkideki farklılığın, farklı ağrı modelleri kullanılmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Farklı hayvan türlerinde yapılan çalışmalarda termal (225) ve mekanik (226) hiperalezi ölçümlerinin farklı nosiseptörleri etkileyerek farklı sonuçlara sebep olabileceği gösterilmiş ve iki ölçüm metodunun arasındaki değişik cevapların mekanik uyarının hiperalezi ölçümünde daha duyarlı bir yöntem olmasından çok, mekanik uyarana termal uyarana göre farklı reseptör tiplerinin de uyarıldığı vurgulanmıştır (226, 227). Başlıca iki önemli reseptör alt tipi A-mekanoisi ve C-mekanoisi reseptörleridir ve hem mekanik basınç hem de termal uyarana karşı iki tip reseptör de cevap verirken, verdikleri yanıt şiddet yönünden farklılık göstermektedir. Bu reseptör tipleri tekrarlayan uyarana karşı sensitizasyon oluşturur ve yanıtta şiddet de değişir. A-mekanoisi reseptörlerinin, C-mekanoisi reseptörlerine göre daha hızlı sensitize oldukları bildirilmiştir (227, 228).

HC-3, kolinerjik nöronlarda yüksek afiniteli transport sistemi inhibe etmek suretiyle, kolinin presinaptik uçtan geri alınımını engelleyen bir ilaçtır. HC-3'ün bu etkisiyle, kolin ile indüklenen ACh sentezindeki artış engellenmektedir (98). Bu çalışmada, inflamatuvar ağrı modelinde CDP-kolin ile ortaya çıkan antihiperalezik etki her iki testte de HC-3 ile azaltılmıştır ve bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Şekil – 16). Bu bulgu, CDP-kolin'le elde edilen antihiperalezik etkide; presinaptik kolinerjik mekanizmaların aktivasyonunun rol oynadığı beyin kolin ve ACh düzeylerindeki artışının neden olduğunu düşündürmektedir. Dışarıdan verilen CDP-kolin'in beyin kolin ve ACh düzeylerini yükselttiği gösterilmiştir (88, 109). Çalışmadan elde edilen bulgularla daha önce yapılan bu araştırmaların sonuçları karşılaştırıldığında, CDP-kolin'in antihiperalezik etkisinde, ACh sentez ve saliverilmesini artıran presinaptik kolinerjik mekanizmalar ve kolinerjik aktivasyonun aracılığı yönünden uyumlu olduğu görülmektedir.

CDP-kolin'le yapılan önceki ağrı çalışmalarından (17, 221) ve çalışmamızda eş molar dozdaki kolinle CDP-kolin'in benzer etki yaptığından yola çıkarak, CDP-kolin'in antihiperalezik etkisinde rol oynayan kolinerjik reseptör tiplerini belirlemek amacıyla,

seçici olmayan muskarinik reseptör antagonisti atropin ve seçici olmayan nikotinik reseptör antagonisti mekamilamin ön tedavileri uygulanmıştır. CDP-kolin'in antihiperalezik etkisinde atropin bir değişikliğe yol açmazken, mekamilamin ise etkiyi bloke etmiştir (Şekil – 15). Elde edilen bu bulgu, CDP-kolin'in inflamatuvar ağrı modelindeki antihiperalezik etkisinde santral nikotinik reseptörlerin rol oynadığını düşündürmektedir. Çeşitli nikotinik agonistlerin uygulanmasının deney hayvanlarında farklı ağrı modelleri kullanılarak yapılan çalışmalarda analjezik ve antihiperalezik etkiler doğurduğu gösterilmiştir (49-53, 60-62, 184, 185, 190). Merkezi yolla uygulanan kolinin oluşturduğu analjezik etkide de santral nikotinik reseptörlerin rol aldığı gösterilmiştir (48, 49). Çalışmanın bulguları santral nikotinik reseptörlerin analjezideki rolünü gösteren çalışmalarla uyumluluk göstermektedir.

Nikotinik reseptör agonistleri ile oluşturulan analjezik etkide, nöronal yollardaki dağılımlarına bağlı olarak, özellikle $\alpha 4\beta 2$ ve $\alpha 7$ nikotinik reseptör alt tipleri rol oynamaktadır (54, 55, 187-189). Kolin, hem CDP-kolin'in hidroliz ürünü hem de ACh sentezinde bir ön madde olup, nöronal $\alpha 7nACh$ alt tipine agonistik etki gösterir (56-58). Kolin, nöronal $\alpha 7nACh$ 'ün aktivasyonu ve desensitizasyonunda ACh'e benzer kinetik özellikler gösterir (229). Çeşitli akut ağrı modelleri ile yapılan bazı çalışmalarda, santral kolin uygulamasıyla oluşturulan analjezik etki, spesifik $\alpha 7nACh$ reseptör antagonistlerinden MLA ve α -bungarotoksin ile bloke edilirken $\alpha 4\beta 2$ nikotinik reseptör antagonisti olan Dh β E ile bloke edilememiş ve etkide $\alpha 7nACh$ reseptörlerinin rol oynadığı belirtilmiştir (48, 49). Bu çalışmada da, benzer şekilde i.s.v. CDP-kolin'in antihiperalezik etkisine aracılık eden nikotinik kolinerjik reseptör alt tiplerini belirlemek amacıyla spesifik $\alpha 7nACh$ reseptör antagonisti olan α -bungarotoksin kullanılmıştır. α -Bungarotoksin hem termal hem de mekanik pençe çekme testlerinde antihiperalezik etkiyi bloke etmiştir (Şekil – 15). Termal pençe çekme testine oranla mekanik pençe çekme testinde tam blokaj görülmesi üzerine, bunun ölçüm metodundaki farklılıktan kaynaklanabileceği düşüncesine ve inflamatuvar ağrıda Randall-Sellitto cihazının daha spesifik bir ölçüm metodu olduğu kanaatine varılmıştır. α -Bungarotoksin ile elde edilen bulgu, CDP-kolin'in hidroliz metabolitlerinden biri olan kolinin, $\alpha 7nACh$ reseptör agonisti olarak CDP-kolin'in antihiperalezik etkisinde rol oynadığını düşündürmektedir.

Santral nikotinik kolinerjik reseptörler kadar santral muskarinik reseptörlerin de, analjezik etkilerdeki rollerinin araştırıldığı ve analjezik etkiye aracılık ettiğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Sıçanlara merkezi yolla uygulanan muskarinik reseptör agonisti oksotremorin, akut ağrı modellerinde analjezik etki oluşturmuştur (176). İ.s.v. kolinin

analjezik etkisinde santral nikotinic kolinerjik reseptörlerin yanında, santral muskarinik reseptörlerin de rol oynadığı saptanmıştır (48, 49). Merkezi yolla uygulanan CDP-kolin'in nikotinic etkilerine ek olarak muskarinik etkileri de gösterilmiştir (32, 88). Bu çalışmada ve daha önce CDP-kolin'in akut ağrıdaki etkisini araştıran çalışmada (17, 221) ise seçici olmayan muskarinik reseptör antagonisti atropin, CDP-kolin'in antihiperalezik ve analjezik etkisini değiştirmemiştir ve bu sonuç söz konusu etkide santral muskarinik reseptörlerin aracı olmadığını göstermektedir (Şekil – 15).

CDP-kolin'in inflamatuvar ağrıdaki etkisinde, santral kolinerjik sistemin aktivasyonundan başka rol oynayan diğer supraspinal nörotransmitter sistemler de araştırılmıştır. Bu amaçla ilk olarak santral opioidlerjik reseptörlerin aracılığı incelenmiştir. Çünkü; ağrı modülasyonunda, endojen analjezik sistemlerden opioidlerjik sistem, çeşitli seviyelerde önemli rol oynamaktadır. Korteks, talamus ve beyin sapı gibi ağrı iletiminde önemli rolü olan supraspinal bölgelerde μ , δ ve κ opioidlerjik reseptörler gösterilmiştir (230). Opioidlerjik sistem ve kolinerjik sistem çeşitli yönlerden birbiri ile ilişkili olarak ağrı modülasyonunda görev alır (231, 232). Nikotininin analjezik etkisinde, santral kolinerjik ve opioidlerjik reseptörlerin aracı olduğu ve nikotinin kolinerjik aktivasyon yaratarak morfinin analjezik etkisini artırdığı belirlenmiştir (233, 234). Opioidlerjik agonist uygulanmasını takiben, ACh'in beyin omurilik sıvısındaki derişiminin arttığı (235); sıçanlarda akut ağrı modelinde morfin ile fizostigmin kombinasyonunun analjezik etkide artış sağladığı gösterilmiştir (236). Nikotinic kolinerjik reseptörler ile μ -opioid reseptörleri, beyin çeşitli bölgelerinde birlikte yerleşim göstermekte ve ağrı iletiminin kontrolünde beraber rol oynamaktadırlar (237). Ayrıca, daha önce CDP-kolin ile yapılan çalışmada, nalokson tedavisinin CDP-kolin'in akut ağrıda meydana getirdiği analjezik etkiyi ortadan kaldırdığı gösterilmiştir (18, 221). Bu çalışmamızda da nalokson ön tedavisi yaparak, i.s.v. yolla uygulanan CDP-kolin'in antihiperalezik etkisinde supraspinal opioidlerjik reseptörlerin aracılığını araştırdık. Bu amaçla nalokson (10 μ g) CDP-kolin uygulanmasından 15 dakika önce i.s.v. yolla uygulandı. Nalokson ön tedavisi termal ve mekanik pençe çekme testlerinde CDP-kolin'in antihiperalezik etkisini değiştirmemiştir (Şekil – 17). Nalokson daha yüksek dozlarda kullanıldığında (100 μ mol) tek başına analjezik etki gösterebildiği için bu çalışmada kullanılmamıştır. Çalışmamızdan elde ettiğimiz bu sonuca göre, inflamatuvar ağrıda CDP-kolin'in antihiperalezik etkisine opioidlerjik reseptörler aracılık etmemektedir. Bu bulgu opioidlerjik reseptörlerin CDP-kolin'in akut ağrıdaki analjezik etkisine aracılık ettiğini gösteren diğer çalışma ile uyumlu değildir (18, 221). Bununla birlikte, inflamatuvar ağrı modeli, oluşturduğu santral

sensitizasyonla akut ağrı modelinden daha farklı kompleks bir modeldir ve inflamasyon sırasında primer ve sekonder ağrı liflerinin sürekli aktivasyonu ile santral sinir sisteminde yapısal değişiklikler olmaktadır (155). Bunlara ek olarak supraspinal kolinerjik ve opioidderjik sistemlerin birlikte analjezik etki oluşturduğunu destekleyen yukarıdaki çalışmaların aksine, bazı çalışmalar da nikotinik agonistler ile ortaya çıkan analjezik etkilere supraspinal opioid reseptörlerin aracılık etmediğini göstermektedir (185, 238). Ayrıca farelerde inflamatuvar ağrı oluşturarak kolinin analjezik etkisinin araştırıldığı bir diğer çalışmada da, supraspinal opioid reseptörlerin, kolinin analjezik etkisinde rolü olmadığı gösterilmiştir (49).

GABA_Aerjik sistem de opioidderjik sistem gibi, spinal ve supraspinal düzeyde ağrı inhibisyonuna aracılık eder (239, 240). Daha önce yapılan çalışmalar, GABA_Aerjik nöronlar üzerinde $\alpha 7$ nACh reseptörlerin varlığını göstermiş ve bu reseptörlerin aktivasyonunun GABA salıverilmesini artırdığını ortaya koymuştur (241-243). ACh ve ACh metaboliti olan kolinin, $\alpha 7$ nACh reseptörleri üzerinden GABA_Aerjik iletiyi artırdığı gösterilmiştir (244). Bu çalışmada, i.s.v. CDP-kolin'in antihiperaljezik etkisini GABA_B reseptör antagonisti CGP-35348, termal ve mekanik pençe çekme testlerinde bloke etmiştir (Şekil – 18). Bu bulgu, inflamatuvar ağrı modelinde CDP-kolin'le elde edilen antihiperaljezik etkide supraspinal GABA_Aerjik mekanizmaların rolü bulunduğunu göstermektedir. Bu sonuçlar, daha önce CDP-kolin'in akut ağrıdaki analjezik etkisine GABA_B reseptörlerinin aracılık ettiğini gösteren sonuçlar ile uyumludur (18).

λ -Carrageenan ile oluşturulan inflamatuvar ağrı modeli aynı zamanda antiinflamatuvar etkisi olduğu düşünülen ilaçların söz konusu etkilerini değerlendirmek için de kullanılır ve carrageenanana bağlı gelişen pençe ödemi geri döndüren ilaçların antiinflamatuvar etkili oldukları kabul edilir (160, 162, 218, 245-247). Carrageenan enjeksiyonundan sonra gelişen ödem, enjeksiyondan 1 saat sonra başlayıp 3. saatte maksimum genişliğe ulaşmaktadır (160). Carrageenan enjeksiyonunu takiben çevre doku ve hücrelerden ortama salınan bazı sitokinlerin (TNF- α , IL-1 β , PGE₂, PGI₂) inflamasyona ve takiben pençe ödemi gelişmesine aracılık eden mekanizmalar olduğu bilinmektedir (165, 166). Carrageenanana bağlı gelişen pençe ödeminin değerlendirilmesinde, başlıca pençe kalınlığı ve ağırlığındaki değişimlerin tespitine yönelik yöntemler kullanılır (162, 163, 248-250).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda kolinerjik antiinflamatuvar yolak, inflamasyonun nöral inhibisyonunu açıklamada bir mekanizma olarak karşımıza çıkmaktadır (65, 67, 191, 195). Santral sinir sistemi vagus siniri aracılığıyla, inflamasyonu inhibe etmekte ve böylece inflamatuvar sonuçları hafifletmektedir (67, 194, 191-193). Efferent vagus

sinirinin yeni bir fonksiyonu olarak tarif edilen kolinerjik antiinflamatuvar yolakla ilişkili olarak, inflamasyonda ortaya çıkan makrofajlardan TNF- α salınımı yine makrofajlarda eksprese edilen periferel $\alpha 7nACh$ reseptörlerinin aracılığıyla önlenmekte ve dolayısı ile inflamatuvar yanıt kontrol edilmektedir (65, 67, 191-193). Ayrıca santral sinir sisteminde yer alan muskarinik reseptörlerin uyarılmasının, sıçanlarda yüksek oranda vagus uyarılmasına yol açtığı; böylece uyarının vagus siniri aracılığı ile periferde taşındığı ve periferde $\alpha 7nACh$ reseptörler aracılığı ile makrofajlardan TNF- α salınımını önlediği gösterilmiştir (205). Bu bilgilere ek olarak nikotinin, merkezi ve periferik sinir sistemi aracılığı ile inflamasyonu baskıladığı gösterilmiştir (195, 196).

Çalışmamızda santral yolla etkili kolinerjik bir ilaç olan CDP-kolin'in antihiperalezik etkisi ile birlikte antiinflamatuvar etkisinin de olup olmadığı dijital mikrometre ile pençe kalınlığındaki değişimler gözlenerek araştırılmıştır. Bu amaçla pençe içine carrageenan uygulanmasını takiben 3 saat sonra tuzlu su veya CDP-kolin (2 $\mu g/10 \mu l$) i.s.v. yolla uygulandı ve takiben 4 saat süreyle sıçanların pençe genişlikleri kontrol pençe ile karşılaştırılacak şekilde ölçüldü. Elde edilen bulgulara göre çalışmada kullanılan en yüksek dozda kullanılan CDP-kolin pençe genişliği ve dolayısı ile pençe ödemi üzerine etki göstermemiştir (Şekil – 19). Elde edilen sonuca göre merkezi yolla uygulanan CDP-kolin'in antiinflamatuvar etkisi bulunmamaktadır. Buna göre merkezi yolla uygulanan CDP-kolin'in santral etkili kolinerjik antiinflamatuvar yolak üzerine etkisi bulunmamaktadır ve meydana getirdiği antihiperalezik etki, inflamasyonun azalmasından bağımsız olarak meydana gelen bir etkidir.

CDP-kolin'in, sıçanlarda motor fonksiyonlar üzerine olumsuz bir etki oluşturmadığı daha önce yapılan çalışmada gösterilmiştir (17, 221).

Sonuç olarak; merkezi yolla uygulanan CDP-kolin, λ -carrageenanla oluşturulmuş deneysel inflamatuvar ağrı modelinde, termal ve mekanik pençe çekme testlerinde doza ve zamana bağlı olacak şekilde antihiperalezik etki meydana getirmektedir. Presinaptik kolinerjik mekanizmaların aktivasyonu aracılığı ile santral $\alpha 7nACh$ reseptörlerin uyarılması, CDP-kolin'in antihiperalezik etkisindeki muhtemel mekanizma olarak görülmektedir. Supraspinal GABA_B reseptörleri de, CDP-kolin'in antihiperalezik etkisinde rol oynamaktadır. Akut ağrı modellerinden farklı olarak inflamatuvar ağrı modelinde opioidlerjik mekanizmaların, CDP-kolin'in antihiperalezik etkisinde rolü bulunmamaktadır. İ.s.v. yolla verilen CDP-kolin, sıçanlarda carrageenana bağlı gelişen pençe ödemi üzerine etki göstermemiştir. Bu tez çalışması ile CDP-kolin'in antihiperalezik etkisi olduğu gösterilmiş ve inflamasyonun neden olduğu ağrılı

durumlarda analjezik bir ilaç olarak kullanılabilme potansiyeline sahip olabileceği ortaya çıkarılmıştır. Konuyla ilişkin daha sonra yapılacak çalışmalar, klinik ağrı ve hiperaljezi ile seyreden hastalıkların tedavisi ile ilgili araştırmalara ışık tutacaktır.

KAYNAKLAR

1. WEISS GB. Metabolism and actions of CDP-choline as an endogenous compound and administered exogenously as citicoline. *Life Sci.*, 56: 637-660, 1995.
2. AMENTA F, PARNETTI L, GALLAI V, WALLIN A. Treatment of cognitive dysfunction associated with Alzheimer's disease with cholinergic precursors. Ineffective treatments or inappropriate approaches? *Mech Ageing Dev.*, 122(16): 2025-2040, 2001.
3. CAAMANO J, GOMEZ MJ, FRANCO A, CACABELOS R. Effects of CDP-choline on cognition and cerebral hemodynamics in patients with Alzheimer's disease. *Methods Find Exp Clin Pharmacol.*, 16(3): 211-218, 1994.
4. CACABELOS R, ALVAREZ A, FENANDEZ-NOVOA L, LOMBARDI VR. A pharmacogenomic approach to Alzheimer's disease. *Acta Neurol Scand.*, 176: 12-19, 2000.
5. CLARK WM, WECHSLER LR, SABOUNJIAN LA, SCHWIDERSKI UE. Citicoline Stroke Study Group. A phase III randomized efficacy trial of 2000 mg citicoline in acute ischemic stroke patients. *Neurology*, 57(9): 1595-1602, 2001.
6. DAVALOS A, CASTILLO J, ALVAREZ-SABIN J, SECADES JJ, MERCADAL J, LOPEZ S, COBO E, WARACH S, SHERMAN D, CLARK WM, LOZANO R. Oral citicoline in acute ischemic stroke: an individual patient data pooling analysis of clinical trials. *Stroke*, 33(12): 2850-2857, 2002.
7. D'ORLANDO KJ, SANDAGE BW JR. Citicoline (CDP-choline): mechanisms of action and effects in ischemic brain injury. *Neurol Res.*, 17(4): 281-284, 1995.
8. KAKIHANA M, FUKUDA N, SUNO M, NAGAOKA A. Effects of CDP-choline on neurologic deficits and cerebral glucose metabolism in a rat model of cerebral ischemia. *Stroke*, 19(2): 217-222, 1988.
9. LEVIN HS. Treatment of postconcussional symptoms with CDP-choline. *J. Neurol. Sci.*, 103: 39-42, 1991.
10. CALATAYUD-MALDONADO V, CALATAYUD-PEREZ JB, ASO ESCARIO J. Effects of CDP-choline on the recovery of patients with head injury. *J Neurol Sci.*, 103 Suppl: 15-18, 1991.
11. GRIEB P, REJDAK R. Pharmacodynamics of citicholine relevant to the treatment of glaucoma. *J. Neurosci. Res.*, 67: 143-148, 2002.
12. CAMPOS EC, SCHIAVI C, BENEDETTI P, BOLZANI R, PORCIATTI V. Effect of citicoline on visual acuity in amblyopia: preliminary results. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.*, 233(5): 307-312, 1995.
13. CAMPOS EC, BOLZANI R, SCHIAVI C, BALDI A, PORCIATTI V. Cytidin-5'-diphosphocholine enhances the effect of part-time occlusion in amblyopia. *Doc Ophthalmol.*, 93(3): 247-263, 1996-1997.
14. AGUT J, ORTIZ JA. Age-related changes in memory and their pharmacologic modulation. *Ann N Y Acad Sci.*, 640: 295-297, 1991.
15. TEATHER LA, WURTMAN RJ. Dietary cytidine (5')-diphosphocholine supplementation protects against development of memory deficits in aging rats. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 27(4): 711-717, 2003.
16. HAMURTEKIN E, GURUN MS. The antinociceptive effect of centrally administered CDP-choline in rats. *Neuroanatomy, Abstract book, Vol.4, Suppl. 1, p 17, 2005.*

17. HAMURTEKIN E, GURUN MS. The antinociceptive effects of centrally administered CDP-choline on acute pain models in rats: the involvement of cholinergic system. *Brain Res.*, 1117(1): 92-100, 2006.
18. HAMURTEKIN E, BAGDAS D, GURUN MS. Possible involvement of supraspinal opioid and GABA receptors in CDP-choline-induced antinociception in acute pain models in rats. *Neurosci Lett.*, 420(2): 116-121, 2007.
19. LOPEZ-COVIELLA I, AGUT J, SAVCI V, ORTIZ JA, WURTMAN RJ. Evidence that 5'-cytidinediphosphocholine can affect brain phospholipid composition by increasing choline and cytidine plasma levels. *J. Neurochem.*, 65: 889-894, 1995.
20. SAVCI V, GOKTALAY G, CANSEV M, CAVUN S, YILMAZ MS, ULUS IH. Intravenously injected CDP-choline increases blood pressure and reverses hypotension in haemorrhagic shock: effect is mediated by central cholinergic activation. *Eur J Pharmacol.*, 468(2): 129-139, 2003.
21. BLUSZTAJN JK. Choline, a vital amine. *Science*, 281(5378): 794-795, 1998.
22. COHEN EL, WURTMAN RJ. Brain acetylcholine: increase after systemic choline administration. *Life Sci.*, 16(7): 1095-1102, 1975.
23. COHEN EL, WURTMAN RJ. Brain acetylcholine: control by dietary choline. *Science*, 191(4227): 561-562, 1976.
24. HIRSCH MJ, WURTMAN RJ. Lecithin consumption increases acetylcholine concentrations in rat brain and adrenal gland. *Science*, 202(4364): 223-225, 1978.
25. KÖPPEN A, KLEIN J, HOLLER T, LÖFFELHOLZ K. Synergistic effect of nicotinamide and choline administration on extracellular choline levels in the brain. *J Pharmacol Exp Ther.*, 266(2): 720-725, 1993.
26. BUYUKUYSAL RL, ULUS IH, AYDIN S, KIRAN BK. 3,4-Diaminopyridine and choline increase in vivo acetylcholine release in rat striatum. *Eur J Pharmacol.*, 281(2): 179-185, 1995.
27. HAUBRICH DR, WANG PF, CLODY DE, WEDEKING PW. Increase in rat brain acetylcholine induced by choline or deanol. *Life Sci.*, 17(6): 975-980, 1975.
28. MARSHALL DL, WURTMAN RJ. Effect of choline on basal and stimulated acetylcholine release: an in vivo microdialysis study using a low neostigmine concentration. *Brain Res.*, 629 (2): 269-274, 1993.
29. ULUS IH, HIRSCH MJ, WURTMAN RJ. Trans-synaptic induction of adrenomedullary tyrosine hydroxylase activity by choline: evidence that choline administration can increase cholinergic transmission. *Proc Natl Acad Sci USA*, 74(2): 798-800, 1977.
30. SCALLY MC, ULUS IH, WURTMAN RJ. Choline administration to the rat increases urinary catecholamines. *J Neural Transm.*, 43(2): 103-112, 1978.
31. ARSLAN BY, ULUS IH, SAVCI V, KIRAN BK. Effects of intracerebroventricular injected choline on cardiovascular functions and sympathoadrenal activity. *J Cardiovasc Pharmacol.*, 17(5): 814-821, 1991.
32. CAVUN S, SAVCI V. CDP-choline increases plasma ACTH and potentiates the stimulated release of GH, TSH and LH: the cholinergic involvement. *Fundam Clin Pharmacol.*, 18(5): 513-523, 2004.
33. CAVUN S, SAVCI V, ULUS IH. Centrally injected CDP-choline increases plasma vasopressin levels by central cholinergic activation. *Fundam Clin Pharmacol.*, 18(1): 71-77, 2004.
34. GURUN MS, SAVCI V, ULUS IH. Intracerebroventricular choline reverses hypotension induced by acute chemical sympathectomy. *J Auton Pharmacol.*, 17(3): 155-163, 1997.

35. GURUN MS, SAVCI V, ULUS IH, KIRAN BK. Centrally administered choline increases plasma prolactin levels in conscious rats. *Neurosci Lett.*, 232(2): 79-82, 1997.
36. GURUN MS, ILCOL YO, TAGA Y, ULUS IH. Hyperglycemia induced by intracerebroventricular choline: involvement of the sympatho-adrenal system. *Eur J Pharmacol.*, 438(3): 197-205, 2002.
37. GURUN MS, MILLINGTON WR, ULUS IH. Choline potentiates the pressor response evoked by glycyl-glutamine or naloxone in haemorrhaged rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol.*, 30(9): 640-642, 2003.
38. SAVCI V, ULUS IH. Cardiovascular effects of central choline during endotoxin shock in the rat. *J Cardiovasc Pharmacol.*, 30(5): 667-675, 1997.
39. SAVCI V, ULUS IH. Choline administration reverses hypotension in spinal cord transected rats: the involvement of vasopressin. *Neurochem Res.*, 23(5): 733-741, 1998.
40. YILMAZ MS, YALCIN M, SAVCI V. Cytidine 5'-diphosphocholine restores blood flow of superior mesenteric and renal arteries and prolongs survival time in haemorrhaged anaesthetized rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol.*, 33(5-6): 415-420, 2006.
41. BARTOLINI A, GHELARDINI C, FANTETTI L, MALCANGIO M, MALMBERG-AIELLO P, GIOTTI A. Role of muscarinic receptor subtypes in central antinociception. *Br J Pharmacol.*, 105(1): 77-82, 1992.
42. EISENACH JC. Muscarinic-mediated analgesia. *Life Sci.*, 64(6-7): 549-554, 1999.
43. IRESON JD. A comparison of the antinociceptive actions of cholinomimetic and morphine-like drugs. *Br J Pharmacol.*, 40(1): 92-101, 1970.
44. GURUN MS, LEINBACH R, MOORE L, LEE CS, OWEN MD, EISENACH JC. Studies on the safety of glucose and paraben-containing neostigmine for intrathecal administration. *Anesth Analg.*, 85(2): 317-323, 1997.
45. YUE CQ, YE J, LI CL, LI RT, SUN Q. Antinociceptive effects of the novel spirocyclopiperazinium salt compound LXM-10 in mice. *Pharmacol Biochem Behav.*, 86(4): 643-650, 2007.
46. PEDIGO NW, DEWEY WL, HARRIS LS. Determination and characterization of the antinociceptive activity of intraventricularly administered acetylcholine in mice. *J Pharmacol Exp Ther.*, 193(3): 845-852, 1975.
47. YAKSH TL, DIRKSEN R, HARTY GJ. Antinociceptive effects of intrathecally injected cholinomimetic drugs in the rat and cat. *Eur J Pharmacol.*, 117(1): 81-88, 1985.
48. DAMAJ MI, MEYER EM, MARTIN BR. The antinociceptive effects of alpha7 nicotinic agonists in an acute pain model. *Neuropharmacology*, 39(13): 2785-2791, 2000.
49. WANG Y, SU DM, WANG RH, LIU Y, WANG H. Antinociceptive effects of choline against acute and inflammatory pain. *Neuroscience*, 132(1): 49-56, 2005.
50. BADIO B, DALY JW. Epibatidine, a potent analgetic and nicotinic agonist. *Mol Pharmacol.*, 45(4): 563-569, 1994.
51. DAMAJ MI, FEI-YIN M, DUKAT M, GLASSCO W, GLENNON RA, MARTIN BR. Antinociceptive responses to nicotinic acetylcholine receptor ligands after systemic and intrathecal administration in mice. *J Pharmacol Exp Ther.*, 284(3): 1058-1065, 1998.
52. DECKER MW, MEYER MD. Therapeutic potential of neuronal nicotinic acetylcholine receptor agonists as novel analgesics. *Biochem Pharmacol.*, 58(6): 917-923, 1999.

53. DECKER MW, RUETER LE, BITNER RS. Nicotinic acetylcholine receptor agonists: a potential new class of analgesics. *Curr Top Med Chem.*, 4(3): 369-384, 2004.
54. GILLBERG PG, AQUILONIUS SM, Cholinergic, opioid and glycine receptor binding sites localized in human spinal cord by in vitro autoradiography. Changes in amyotrophic lateral sclerosis. *Acta Neurol Scand.*, 72(3): 299-306, 1985.
55. KHAN IM, YAKSH TL, TAYLOR P. Ligand specificity of nicotinic acetylcholine receptors in rat spinal cord: studies with nicotine and cytisine. *J Pharmacol Exp Ther.*, 270(1): 159-166, 1994.
56. PAPKE RL, BENCHERIF M, LIPPIELLO P. An evaluation of neuronal nicotinic acetylcholine receptor activation by quaternary nitrogen compounds indicates that choline is selective for the alpha 7 subtype. *Neurosci Lett.*, 213(3): 201-204, 1996.
57. ALKONDON M, PEREIRA EF, CORTES WS, MAELICKE A, ALBUQUERQUE EX. Choline is a selective agonist of alpha7 nicotinic acetylcholine receptors in the rat brain neurons. *Eur J Neurosci.*, 9(12): 2734-2742, 1997.
58. ALKONDON M, PEREIRA EF, ALBUQUERQUE EX. alpha-bungarotoxin- and methyllycaconitine-sensitive nicotinic receptors mediate fast synaptic transmission in interneurons of rat hippocampal slices. *Brain Res.*, 810(1-2): 257-263, 1998.
59. FLORES CM, HARGREAVES KM. Neuronal nicotinic receptors: new targets in the treatment of pain. Editors: ARNERIC SP, BRIONI JD, *Neuronal nicotinic receptors: pharmacology and therapeutic opportunities*, New York: Wiley-Liss, Page 359–378, 1998.
60. LAWAND NB, LU Y, WESTLUND KN. Nicotinic cholinergic receptors: potential targets for inflammatory pain relief. *Pain*, 80(1-2):291-9, 1999.
61. GILBERT SD, CLARK TM, FLORES CM. Antihyperalgesic activity of epibatidine in the formalin model of facial pain, *Pain* 89: 159–165, 2001.
62. YOON SY, KWON YB, KIM HW, ROH DH, KANG SY, KIM CY, HAN HJ, KIM KW, YANG IS, BEITZ AJ, LEE JH. Intrathecal neostigmine reduces the zymosan-induced inflammatory response in a Mouse air pouch model via adrenomedullary activity: involment of spinal muscarinic type 2 receptors, *Neuropharmacology* 49: 275–282, 2005.
63. SHANNON HE, JONES CK, LI DL, PETERS SC, SIMMONS RMA, IYENGAR S. Antihyperalgesic effects of the muscarinic receptor ligand vedaclidine in models involving central sensitization in rats, *Pain* (93): 221-227, 2001.
64. MEHTA AK, GAUR SN, ARORA N, SINGH BP. Effect of choline chloride in allergen-induced mouse model of airway inflammation, *Eur Respir J*, 30: 662-671, 2007.
65. PAVLOV VA, WANG H, CZURA CJ, FRIEDMAN SG, TRACEY K. The cholinergic anti-inflammatory pathway: A missing link in neuroimmunomodulation. *Molecular Medicine* 9 (5-8): 125-133, 2003.
66. CHOWDHURY P. Exploitation of the nicotinic anti-inflammatory pathway for the treatment of epithelial inflammatory diseases, *World J. Gastroenterol*, 12 (46): 7451-7459, 2006.
67. WANG H, YU M, OCHANI M, AMELLA CA, TANOVIC M, SUSARLA S, LI JH, WANG H, YANG H, ULLOA L, AL-ABED Y, CZURA CJ, TRACEY KJ. Nicotinic acetylcholine receptor $\alpha 7$ subunit is an essential regulator of inflammation, *Nature*, 421: 384-388. 2003.
68. KENNEDY EP, WEISS SB. The function of cytidine coenzymes in the biosynthesis of phospholipides. *J Biol Chem.*, 222(1): 193-214, 1956.

69. LAKHER MB, WURTMAN RJ. Molecular composition of the phosphatidylcholines produced by the phospholipid methylation pathway in rat brain in vivo. *Biochem J.*, 244(2): 325-330, 1987.
70. MILLER BE, HOOK GE. Regulation of phosphatidylcholine biosynthesis in activated alveolar type II cells. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 1 (2):127-136, 1989.
71. SUNDLER R, AKESSON B. Biosynthesis of phosphatidylethanolamines and phosphatidylcholines from ethanolamine and choline in rat liver. *Biochem J.*, 146(2): 309-315, 1975.
72. TOBACK FG. Phosphatidylcholine metabolism during renal growth and regeneration. *Am J Physiol.*, 246 (3 Pt 2): 249-259, 1984.
73. TOKMAKJIAN S, HAINES DS, POSSMAYER F. Pulmonary phosphatidylcholine biosynthesis. Alterations in the pool sizes of choline and choline derivatives in rabbit fetal lung during development. *Biochim Biophys Acta*, 663(2): 557-568, 1981.
74. VAN HEUSDEN GP, VANDEN BOSCH H. Utilization of disaturated and unsaturated phosphatidylcholine and diacylglycerols by cholinephosphotransferase in rat lung microsomes. *Biochim. Biophys. Acta*, 711(2): 361-368, 1982.
75. WIENZKE M, MAN RY, CHOY PC. Choline glycerophospholipid biosynthesis in the guinea pig heart. *Biochem. Cell Biol.*, 65(10): 860-868, 1987.
76. SAVCI V, WURTMAN RJ. Effect of cytidine on membrane phospholipid synthesis in rat striatal slices. *J Neurochem.*, 64(1): 378-384, 1995.
77. HAINES DS, TOKMAKJIAN SD. Actions of dietary orotic acid on liver synthesis of phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine in rats. *Biochem Cell Biol.*, 65(2): 105-111, 1987.
78. G-COVIELLA IL, WURTMAN RJ. Enhancement by cytidine of membrane phospholipid synthesis. *J Neurochem.*, 59(1): 338-343, 1992.
79. YASHIMA K, TAKAMATSU M, OKUDA K. Intestinal absorption of cytidine diphosphate choline and its changes in the digestive tract. *J Nutr Sci Vitaminol.*, 21(1): 49-60, 1975.
80. PARONI R, CIGHETTI G, DEL PUPPO M, KIENLE MG. Evidence for a different metabolic behaviour of cytidine diphosphate choline after oral and intravenous administration to rats. *Pharmacol Res Commun.*, 17(9): 805-829, 1985.
81. DINSDALE JR, GRIFFITHS GK, ROWLANDS C, CASTELLO J, ORTIZ JA, MADDOCK J, AYLWARD M. Pharmacokinetics of [14C]-CDP-choline. *Arzneim.-Forsch./Drug Res.*, 33(7A): 1066-1070, 1983.
82. WURTMAN RJ, REGAN M, ULUS IH, YU L. Effect of oral CDP-choline on plasma choline and uridine levels in humans. *Biochem. Pharmacol.*, 60: 989-992, 2000.
83. FRESTA M, WEHRLI E, PUGLISI G. Enhanced therapeutic effect of cytidine-5'-diphosphate choline when associated with GM1 containing small liposomes as demonstrated in a rat ischemia model. *Pharm Res.*, 12(11): 1769-1774, 1995.
84. GALLETTI P, DE ROSA M, COTTICELLI MG, MORANA A, VACCARO R, ZAPPIA V. Biochemical rationale for the use of CDPcholine in traumatic brain injury: pharmacokinetics of the orally administered drug. *J Neurol Sci.*, 103:19-25, 1991.
85. FRESTA M, PUGLISI G. Survival rate improvement in a rat ischemia model by long circulating liposomes containing cytidine-5'-diphosphate choline. *Life Sci.*, 61(13): 1227-1235, 1997.
86. ROMERO A, SERRATOSA J, SACRISTAN A, ORTIZ JA. High-resolution autoradiography in mouse brain 24 h after radiolabelled CDP-choline administration. *Arzneimittelforschung*, 33(7A): 1056-1058, 1983.

87. ROMERO A, SERRATOSA J, SACRISTAN A, ORTIZ JA. High-resolution autoradiography in mouse brain and cerebellum 10 days after radiolabelled CDP-choline administration. *Arzneimittelforschung*, 33(7A): 1058-1060, 1983.
88. SAVCI V, CAVUN S, GOKTALAY G, ULUS IH. Cardiovascular effects of intracerebroventricularly injected CDP-choline in normotensive and hypotensive animals: the involvement of cholinergic system. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.*, 365(5): 388-398, 2002.
89. CERMAK JM, HOLLER T, JACKSON DA, BLUSZTAJN JK. Prenatal availability of choline modifies development of the hippocampal cholinergic system. *FASEB J.*, 12(3): 349-357, 1998.
90. ZEISEL SH. Choline: essential for brain development and function. *Adv Pediatr.*, 44: 263-295, 1997.
91. ZEISEL SH. Nutritional importance of choline for brain development. *J Am Coll Nutr.*, 23(6 Suppl): 621-626, 2004.
92. BLUSZTAJN JK, WURTMAN RJ. Choline and cholinergic neurons. *Science*, 221(4611): 614-620, 1983.
93. ZEISEL SH. Formation of unesterified choline by rat brain. *Biochim Biophys Acta*, 835(2): 331-343, 1985.
94. OKUDA T, HAGA T. Functional characterization of the human high-affinity choline transporter. *FEBS Lett.*, 484(2): 92-97, 2000.
95. ALLEN DD, LOCKMAN PR. The blood-brain barrier choline transporter as a brain drug delivery vector. *Life Sci.*, 73(13): 1609-1615, 2003.
96. LOCKMAN PR, ALLEN DD. The transport of choline. *Drug Dev Ind Pharm.*, 28(7): 749-771, 2002.
97. MAIRE JC, WURTMAN RJ. Effects of electrical stimulation and choline availability on the release and contents of acetylcholine and choline in superfused slices from rat striatum. *J Physiol.*, 80(3): 189-195, 1985.
98. KOSHIMURA K, MIWA S, LEE K, HAYASHI Y, HASEGAWA H, HAMAHATA K, FUJIWARA M, KIMURA M, ITOKOWA Y. Effects of choline administration on in vivo release and biosynthesis of acetylcholine in the rat striatum as studied by in vivo brain microdialysis. *J Neurochem.*, 54(2): 533-539, 1990.
99. KOPPEN A, KLEIN J, ERB C, LOFFELHOLZ K. Acetylcholine release and choline availability in rat hippocampus: effects of exogenous choline and nicotinamide. *J Pharmacol Exp Ther.*, 282(3): 1139-1145, 1997.
100. SAVCI V, GURUN MS, ULUS IH, KIRAN BK. Effect of intracerebroventricularly injected choline on plasma ACTH and beta-endorphin levels in conscious rats. *Eur J Pharmacol.*, 309(3): 275-280, 1996.
101. SAVCI V, GURUN S, ULUS IH, KIRAN BK. Intracerebroventricular injection of choline increases plasma oxytocin levels in conscious rats. *Brain Res.*, 709(1): 97-102, 1996.
102. SAVCI V, ULUS IH. Central choline reverses hypotension caused by alpha-adrenoceptor or ganglion blockade in rats: the role of vasopressin. *Eur J Pharmacol.*, 311: 153-161, 1996.
103. RICHARDSON UI, WATKINS CJ, PIERRE C, ULUS IH, WURTMAN RJ. Stimulation of CDP-choline synthesis by uridine or cytidine in PC12 rat pheochromocytoma cells. *Brain Res.*, 971: 161-167, 2003.
104. CANSEV M, WATKINS CJ, van der BEEK EM, WURTMAN RJ. Oral uridine 5' monophosphate (UMP) increases brain CDP-choline levels in gerbils. *Brain Res.*, 1058: 101-108, 2005.

105. WURTMAN RJ, ULUS IH, CANSEV M, WATKINS CJ, WANG L, MARZLOFF G. Synaptic proteins and phospholipids are increased in gerbil brain by administering uridine plus docosahexaenoic acid orally. *Brain Res.*, 1088: 83-92, 2006.
106. ULUS IH, WATKINS CJ, CANSEV M, WURTMAN RJ. Cytidine and Uridine Increase Striatal CDP-Choline Levels Without Decreasing Acetylcholine Synthesis or Release. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 26(4-6): 561-575, 2006.
107. CARLEZON WA, PLIAKAS AM, PAROW AM, DETKE MJ, COHEN BM, RENSHAW PF. Antidepressant-like effects of cytidine in the forced swim test in rats. *Biol Psychiatry*, 51(11): 882-889, 2002.
108. BABB SM, APPELMANS KE, RENSHAW PF, WURTMAN RJ, COHEN BM. Differential effect of CDP-choline on brain cytosolic choline levels in younger and older subjects as measured by proton magnetic resonance spectroscopy. *Psychopharmacology*, 127(2): 88-94, 1996.
109. DIXON CE, MA X, MARION DW. Effects of CDP-choline treatment on neurobehavioral deficits after TBI and on hippocampal and neocortical acetylcholine release. *J Neurotrauma*, 14(3): 161-169, 1997.
110. ARRIGONI E, AVERET N, COHADON F. Effects of CDP-choline on phospholipase A2 and cholinephosphotransferase activities following a cryogenic brain injury in the rabbit. *Biochem Pharmacol.*, 36(21): 3697-3700, 1987.
111. GUARINI S, TAGLIAVINI S, FERRARI W, BERTOLINI A. Reversal of haemorrhagic shock in rats by cholinomimetic drugs. *Br J Pharmacol.*, 98(1): 218-224, 1989.
112. ULUS IH, ARSLAN BY, SAVCI V, KIRAN BK. Restoration of blood pressure by choline treatment in rats made hypotensive by haemorrhage. *Br J Pharmacol.*, 116(2): 1911-1917, 1995.
113. YILMAZ MS. Şıçanda Deneysel Miyokardiyal İskemi-Reperfüzyon Modelinde CDP-Kolin ve Metabolitlerinin Etkileri, Tıpta Uzmanlık Tezi, Uludağ Üniversitesi, Bursa, 2005.
114. CEDA GP, CERESINI G, DENTI L, MAGNANI D, MARCHINI L, VALENTI G, HOFFMAN AR. Effects of cytidine 5'-diphosphocholine administration on basal and growth hormone-releasing hormone-induced growth hormone secretion in elderly subjects. *Acta Endocrinol (Copenh.)*, 124(5): 516-520, 1991.
115. MATSUOKA T, KAWANAKA M, NAGAI K. Effect of cytidine diphosphate choline on growth hormone and prolactin secretion in man. *Endocrinol Jpn.*, 25(1): 55-57, 1978.
116. CANSEV M. CDP-Kolin'in Kardiyovasküler, Metabolik ve Nöroendokrin Etkileri, Tıpta Uzmanlık Tezi, Uludağ Üniversitesi, Bursa, 2003.
117. DINSDALE JR, GRIFFITHS GK, CASTELLO J, MADDOCK J, ORTIZ JA, AYLWARD M. CDP-choline: repeated oral dose tolerance studies in adult healthy volunteers. *Arzneimittelforschung*, 33(7A): 1061-1065, 1983.
118. LOZANO FERNANDEZ R. Efficacy and safety of oral CDP-choline. Drug surveillance study in 2817 cases. *Arzneimittelforschung*, 33(7A): 1073-1080, 1983.
119. ROMERO A, GRAU T, SACRISTAN A, ORTIZ JA. Study of subacute toxicity of CDP-choline after 30 days of oral administration to rats. *Arzneimittelforschung*, 33(7A): 1035-1038, 1983.
120. ROMERO A, GRAU T, SACRISTAN A, ORTIZ JA. CDP-choline: 6-month study on toxicity in dogs. *Arzneimittelforschung*, 33(7A): 1038-1042, 1983.
121. ADIBHATLA RM, HATCHER JF. Citicoline mechanisms and clinical efficacy in cerebral ischemia. *J Neurosci Res.*, 70(2): 133-139, 2002.

122. ADIBHATLA RM, HATCHER JF. Phospholipase A2, reactive oxygen species, and lipid peroxidation in cerebral ischemia. *Free Radic Biol Med.*, 40(3): 376-387, 2006.
123. RAO AM, HATCHER JF, DEMPSEY RJ. CDP-choline: neuroprotection in transient forebrain ischemia of gerbils. *J Neurosci Res.*, 58(5): 697-705, 1999.
124. TROVARELLI G, DE MEDIO GE, DORMAN RV, PICCININ GL, HORROCKS LA, PORCELLATI G. Effect of cytidine diphosphate choline (CDP-choline) on ischemia-induced alterations of brain lipid in the gerbil. *Neurochem Res.*, 6(8): 821-833, 1981.
125. ADIBHATLA RM, HATCHER JF, DEMPSEY RJ. Cytidine-5'-diphosphocholine affects CTP-phosphocholine cytidyltransferase and lyso-phosphatidylcholine after transient brain ischemia. *J Neurosci Res.*, 76(3): 390-396, 2004.
126. ADIBHATLA RM, HATCHER JF, DEMPSEY RJ. Citicoline: neuroprotective mechanisms in cerebral ischemia. *J Neurochem.*, 80(1): 12-23, 2002.
127. ADIBHATLA RM, HATCHER JF. Citicoline decreases phospholipase A2 stimulation and hydroxyl radical generation in transient cerebral ischemia. *J Neurosci Res.*, 73(3): 308-315, 2003.
128. ADIBHATLA RM, HATCHER JF, LARSEN EC, CHEN X, SUN D, TSAO FH. CDP-choline significantly restores phosphatidylcholine levels by differentially affecting phospholipase A2 and CTP: phosphocholine cytidyltransferase after stroke. *J Biol Chem.*, 281(10): 6718-6725, 2006.
129. CENTRONE G, RAGNO G, CALICCHIO G. Use of citicoline in high dosages in acute cerebrovascular disease. *Minerva Med.*, 77(11): 371-373, 1986.
130. CLARK WM, WARACH SJ, PETTIGREW LC, GAMMANS RE, SABOUNJIAN LA. A randomized dose-response trial of citicoline in acute ischemic stroke patients. Citicoline Stroke Study Group. *Neurology*, 49(3): 671-678, 1997.
131. HAMDORF G, CERVOS-NAVARRO J. Study of the effects of oral administration of CDP-choline on open-field behaviour under conditions of chronic hypoxia. *Arzneimittelforschung*, 40(5): 519-522, 1990.
132. HAMDORF G, CERVOS-NAVARRO J, MULLER R. Increase of survival time in experimental hypoxia by cytidine diphosphate choline. *Arzneimittelforschung*, 42(4): 421-424, 1992.
133. TAZAKI Y, SAKAI F, OTOMO E, KUTSUZAWA T, KAMEYAMA M, OMAE T, FUJISHIMA M, SAKUMA A. Treatment of acute cerebral infarction with a choline precursor in a multicenter double-blind placebo-controlled study. *Stroke*, 19(2): 211-216, 1988.
134. WARACH S, PETTIGREW LC, DASHE JF, PULLICINO P, LEFKOWITZ DM, SABOUNJIAN L, HARNETT K, SCHWIDERSKI U, GAMMANS R. Effect of citicoline on ischemic lesions as measured by diffusion-weighted magnetic resonance imaging. Citicoline 010 Investigators. *Ann Neurol.*, 48(5): 713-722, 2000.
135. YAMAMOTO M, SHIMIZU M, OKAMIYA H. Pharmacological actions of a new TRH analogue, YM-14673, in rats subjected to cerebral ischemia and anoxia. *Eur J Pharmacol.*, 181(3): 207-214, 1990.
136. BASKAYA MK, DOGAN A, RAO AM, DEMPSEY RJ. Neuroprotective effects of citicoline on brain edema and blood-brain barrier breakdown after traumatic brain injury. *J Neurosurg.*, 92(3): 448-452, 2000.
137. LEON-CARRION J, DOMINGUEZ-ROLDAN JM, MURILLO-CABEZAS F, DEL ROSARIO DOMINGUEZ-MORALES M, MUNOZ-SANCHEZ MA. The role of citicholine in neuropsychological training after traumatic brain injury. *NeuroRehabilitation*, 14(1): 33-40, 2000.

138. CACABELOS R, CAAMANO J, GOMEZ MJ, FERNANDEZ-NOVOA L, FRANCO-MASIDE A, ALVAREZ XA. Therapeutic effects of CDP-choline in Alzheimer's disease. Cognition, brain mapping, cerebrovascular hemodynamics, and immune factors. *Ann N Y Acad Sci.*, 777: 399-403, 1996.
139. FRANCO-MASIDE A, CAAMANO J, GOMEZ MJ, CACABELOS R. Brain mapping activity and mental performance after chronic treatment with CDP-choline in Alzheimer's disease. *Methods Find Exp Clin Pharmacol.*, 16(8): 597-607, 1994.
140. ALVAREZ XA, MOUZO R, PICHEL V, PEREZ P, LAREDO M, FERNANDEZ-NOVOA L, CORZO L, ZAS R, ALCARAZ M, SECADES JJ, LOZANO R, CACABELOS R. Double-blind placebo-controlled study with citicoline in APOE genotyped Alzheimer's disease patients. Effects on cognitive performance, brain bioelectrical activity and cerebral perfusion. *Methods Find Exp Clin Pharmacol.*, 21(9): 633-644, 1999.
141. AGNOLI A, RUGGIERI S, DENARO A, BRUNO G. New strategies in the management of Parkinson's disease: a biological approach using a phospholipid precursor (CDP-choline). *Neuropsychobiology*, 8(6): 289-296, 1982.
142. CUBELLS JM, HERNANDO C. Clinical trial on the use of cytidine diphosphate choline in Parkinson's disease. *Clin Ther.*, 10(6): 664-671, 1988.
143. EBERHARDT R, BIRBAMER G, GERSTENBRAND F, RAINER E, TRAEGER H. Citicoline in the treatment of Parkinson's disease. *Clin Ther.*, 12(6): 489-495, 1990.
144. PARISI V, MANNI G, COLACINO G, BUCCI MG. Cytidine-5'-diphosphocholine (citicoline) improves retinal and cortical responses in patients with glaucoma. *Ophthalmology*, 106(6): 1126-1134, 1999.
145. PORCIATTI V, SCHIAVI C, BENEDETTI P, BALDI A, CAMPOS EC. Cytidine-5'-diphosphocholine improves visual activity, contrast sensitivity and visually-evoked potentials of amblyopic subjects. *Curr. Eye Res.*, 17(2): 141-148, 1998.
146. BRUHWYLER J, LIEGEOIS JF, GECZY J. Facilitatory effects of chronically administered citicoline on learning and memory processes in the dog. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 22(1): 115-128, 1998.
147. PETKOV VD, KEHAYOV RA, MOSHARROF AH, PETKOV VV, GETOVA D, LAZAROVA MB, VAGLENOVA J. Effects of cytidine diphosphate choline on rats with memory deficits. *Arzneimittelforschung*, 43(8): 822-828, 1993.
148. SPIERS PA, MYERS D, HOCHANADEL GS, LIEBERMAN HR, WURTMAN RJ. Citicoline improves verbal memory in aging. *Arch Neurol.*, 53(5): 441-448, 1996.
149. MERSKEY H, BOGDUK N. *Classification of Chronic Pain*, 2nd edition, I.A.S.P. Press, Seattle, 1994.
150. BESSON JM, CHAOUCH A. Peripheral and spinal mechanism of nociception. *Physiol Rev.*, 67: 67-186, 1987.
151. LOESER JD, BUTLER SH, CHAPMAN CR, TURK DC. (eds) *Bonica's Management of Pain*, 3rd edition, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2001.
152. Mc MAHON S, KOLTZENBURG M. (eds) *Wall and Melzack's Textbook of Pain*, 5th edition, Churchill Livingstone, Edinburg, 2005.
153. MIZUMURA K. Peripheral mechanisms of hyperalgesia – sensitization of nociceptors, *Nagoya J. Med. Sci.*, 60: 69-87, 1997.
154. MILLAN MJ. Descending control of pain. *Prog Neurobiol.*, 66(6): 355-474, 2002.
155. KIDD BL, URBAN LA. Mechanisms of inflammatory pain, *British Journal of Anaesthesia*, 87(1): 3-11, 2001.

156. REXED B. A cytoarchitectonic atlas of the spinal cord in the cat. *J Comp Neurol*, 100(2): 297-379, 1954.
157. MELZACK R, WALL PD. Pain mechanisms: a new theory. *Science*, 150: 971-979, 1965.
158. DRAY A. Inflammatory mediators of pain, *British Journal of Anaesthesia*, 75: 125-131, 1995.
159. VANEGAS H. To the descending pain-control system in rats, inflammation-induced primary and secondary hyperalgesia are two different things. *Neuroscience Letters*, 361: 225-228, 2004.
160. FECHO K, NACKLEY AG, WU Y, MAIXNER W. Basal and carrageenan-induced pain behavior in Sprague-Dawley, Lewis and Fischer rats. *Physiology & Behavior*, 85: 177-186, 2005.
161. LOUBARIS N, CROS G, SERRANO JJ, BOUCARD M. Circadian and aircannual variation of the carrageenin inflammatory effect in rat. *Life Sciences*, 32(12): 1349-1354, 1983.
162. WINTER CA, RISELEY EA, NUSS GW. Carrageenan-induced edema in the hind paw of the rat as an assay for anti-inflammatory drugs. *Proceeding of the Society of Experimental Biology Medicine*, 111: 544-547, 1962.
163. MORRIS, CJ. Carrageenan-induced paw edema in the rat and mouse. *Methods Mol. Biol.* 225: 115-121, 2003.
164. WINTER CA, RISLEY EA, SILBER RH. Antiinflammatory activity of indomethacin and plasma corticosterone in rats, *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 162(1): 196-201, 1968.
165. CUNHA FQ, POOLE S, LORENZETTI BB, FERREIRA SH. The pivotal role of tumour necrosis factor alpha in the development of inflammatory hyperalgesia. *Br. J. Pharmacol.* 107: 660-664, 1992.
166. LORAM LC, FULLER A, FICK LG, CARTMELL T, POOLE S, MITCHELL D. Cytokine profiles during carrageenan-induced inflammatory hyperalgesia in rat muscle and hind paw. *J Pain*, 8(2): 127-136. 2007.
167. SOMMER C, KRESS M. Recent findings on how proinflammatory cytokines cause pain: peripheral mechanisms in inflammatory and neuropathic hyperalgesia. *Neuroscience Letters*, 361: 184-187, 2004.
168. HADDAD JJ. On the enigma of pain and hyperalgesia: A molecular perspective, *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 353: 217-224, 2007.
169. DRAY A, PERKINS MN. Bradykinin and inflammatory pain. *Trends Neurosci*, 16: 99-104, 1993.
170. HUANG J, ZHANG X, McNAUGHTON PA. Inflammatory pain: The cellular basis of Heat Hyperalgesia. *Current Neuropharmacology*, 4: 197-206, 2006.
171. COUTAUX A, ADAM F, WILLER JC, Le BARS D. Hyperalgesia and allodynia: peripheral mechanisms. *Joint Bone Spine*, 72(5): 359-371, 2005.
172. DICKENSON AH. Spinal cord pharmacology of pain. *Br J Anaesth*, 75: 193-200, 1995.
173. HENDERSHOT LC, FORSAITH J. Antagonism of the frequency of phenylquinone-induced writhing in the mouse by weak analgesics and nonanalgesics. *J Pharmacol Exp Ther.*, 125(3): 237-240, 1959.
174. YAKSH TL, GRAFE MR, MALKMUS S, RATHBUN ML, EISENACH JC. Studies on the safety of chronically administered intrathecal neostigmine methylsulfate in rats and dogs. *Anesthesiology*, 82(2): 412-427, 1995.
175. NAGUIB M, YAKSH TL. Characterization of muscarinic receptor subtypes that mediate antinociception in the rat spinal cord. *Anesth Analg.*, 85(4): 847-853, 1997.

176. WESS J, DUTTARROY A, GOMEZA J, ZHANG W, YAMADA M, FELDER CC, BERNARDINI N, REEH PW. Muscarinic receptor subtypes mediating central and peripheral antinociception studied with muscarinic receptor knockout mice: a review. *Life Sci.*, 72(18-19): 2047-2054, 2003.
177. IWAMOTO ET. Characterization of the antinociception induced by nicotine in the pedunculopontine tegmental nucleus and the nucleus raphe magnus. *J Pharmacol Exp Ther.*, 257(1): 120-133, 1991.
178. IWAMOTO ET, MARION L. Adrenergic, serotonergic and cholinergic components of nicotinic antinociception in rats. *J Pharmacol Exp Ther.*, 265(2): 777-789, 1993.
179. KHAN IM, YAKSH TL, TAYLOR P. Epibatidine binding sites and activity in the spinal cord. *Brain Res.*, 753(2): 269-282, 1997.
180. MARUBIO LM, DEL MAR ARROYO-JIMENEZ M, CORDERO-ERAUSQUIN M, LÉNA C, LE NOVÈRE N, DE KERCHOVE D'EXAERDE A, HUCHET M, DAMAJ MI, CHANGEUX JP. Reduced antinociception in mice lacking neuronal nicotinic receptor subunits. *Nature*, 398(6730): 805-810, 1999.
181. SCHMIDT BL, TAMBELI CH, GEAR RW, LEVINE JD. Nicotine withdrawal hyperalgesia and opioid-mediated analgesia depend on nicotine receptors in nucleus accumbens. *Neuroscience*, 106(1): 129-136, 2001.
182. JAMNER LD, GIRDLER SS, SHAPIRO D, JARVIK ME. Pain inhibition, nicotine, and gender. *Exp Clin Psychopharmacol.*, 6(1): 96-106, 1998.
183. POMERLEAU OF. Nicotine as a psychoactive drug: anxiety and pain reduction. *Psychopharmacol Bull.*, 22(3): 865-869, 1986.
184. FLORES CM. The promise and pitfalls of a nicotinic cholinergic approach to pain management. *Pain*, 88(1): 1-6, 2000.
185. BANNON AW, DECKER MW, HOLLADAY MW, CURZON P, DONNELLY-ROBERTS D, PUTTFARCKEN PS, BITNER RS, DIAZ A, DICKENSON AH, PORSOLT RD, WILLIAMS M, ARNERIC SP. Broad-spectrum, non-opioid analgesic activity by selective modulation of neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *Science*, 279(5347): 77-81, 1998.
186. BANNON AW, DECKER MW, CURZON P, BUCKLEY MJ, KIM DJ, RADEK RJ, LYNCH JK, WASICAK JT, LIN NH, ARNOLD WH, HOLLADAY MW, WILLIAMS M, ARNERIC SP. ABT-594 [(R)-5-(2-azetidylmethoxy)-2-chloropyridine]: a novel, orally effective antinociceptive agent acting via neuronal nicotinic acetylcholine receptors: II. In vivo characterization. *J Pharmacol Exp Ther.*, 285(2): 787-794, 1998.
187. MARKS MJ, PAULY JR, GROSS SD, DENERIS ES, HERMANS-BORGMEYER I, HEINEMANN SF, COLLINS AC. Nicotine binding and nicotinic receptor subunit RNA after chronic nicotine treatment. *J Neurosci.*, 12(7): 2765-2784, 1992.
188. SÉGUÉLA P, WADICHE J, DINELEY-MILLER K, DANI JA, PATRICK JW. Molecular cloning, functional properties, and distribution of rat brain alpha 7: a nicotinic cation channel highly permeable to calcium. *J Neurosci.*, 13(2): 596-604, 1993.
189. WADA E, WADA K, BOULTER J, DENERIS E, HEINEMANN S, PATRICK J, SWANSON LW. Distribution of alpha 2, alpha 3, alpha 4, and beta 2 neuronal nicotinic receptor subunit mRNAs in the central nervous system: a hybridization histochemical study in the rat. *J Comp Neurol.*, 284(2): 314-335, 1989.
190. KESINGLAND AC, GENTRY CT, PANESAR MS, BOWES MA, VERNIER, JM, CUBE R, WALKER K, URBAN L. Analgesic profile of the nicotinic acetylcholine receptor agonists, (+)-epibatidine and ABT-594 in models of persistent inflammatory and neuropathic pain. *Pain*, 86: 113-118, 2000.

191. ANDERSSON J., The inflammatory reflex--introduction. *J Intern Med.*, 257(2): 122-125, 2005.
192. CLOËZ-TAYARANI I., CHANGEUX JP. Nicotine and serotonin in immune regulation and inflammatory processes: a perspective. *Journal of Leukocyte Biology*, 81: 599-606, 2007.
193. GALLOWITSCH-PUERTA M., PAVLOV VA. Neuro-immune interactions via the cholinergic anti-inflammatory pathway. *Life Sci.*, 80(24-25): 2325-2329, 2007.
194. PAVLOV VA, TRACEY KJ. The cholinergic anti-inflammatory pathway. *Brain, Behavior and Immunity*, 19: 493–499, 2005.
195. CZURA CJ, ROSAS-BALLINA M, TRACEY KJ. Cholinergic Regulation of Inflammation. Editor: ADER R. *Psychoneuroimmunology (Fourth Edition)*, Academic Press, NY, Page 85-96, 2007
196. MIAO FJ, GREEN PG, BENOWITZ N, LEVINE JD. Central terminals of nociceptors are targets for nicotine suppression of inflammation. *Neuroscience*, 123: 777-784, 2004.
197. WANG H, LIAO H, OCHANI M, JUSTINIANI M, LIN X, YANG L ET AL. Cholinergic agonists inhibit HMGB1 release and improve survival in experimental sepsis. *Nat Med.*, 10: 1216-1221, 2004.
198. BOROVIKOVA LV. Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin. *Nature*, 405: 458-61, 2000.
199. GRANDO SA, HORTON RM, PEREIRA EFR, GEORGE PM, ALBUQUERQUE EX, CONTI-FINE BM. A nicotinic acetylcholine receptor regulating cell adhesion and motility is expressed on human keratinocytes. *J Invest Dermatol*, 105: 774-781, 1995.
200. GRANDO SA, KAWASHIMA K, WESSLER I. Introduction: the non-neuronal cholinergic system in humans. *Life Sci.*, 72(18-19): 2009-2012, 2003.
201. KAWASHIMA K, YOSHIKAWA K, FUJII YX, MORIWAKI Y, MISAWA H., Expression and function of genes encoding cholinergic components in murine immune cells, *Life Sci.* 80(24-25): 2314-2319, 2007.
202. NGUYEN VT, HALL LL, GALLACHER G, NDOYE A, JOLKOVSKY DL, WEBBER RJ, BUCHLI R, GRANDO SA, Choline acetyltransferase, acetylcholinesterase, and nicotinic acetylcholine receptors of human gingival and esophageal epithelia. *J Dent Res.*, 79: 939-949, 2000.
203. SAEED RW, VARMA S, PENG-NEMEROFF T, SHERRY B, BALAKHANEH D, HUSTON J, TRACEY KJ, AL-ABED Y, METZ CN. Cholinergic stimulation blocks endothelial cell activation and leukocyte recruitment during inflammation. *J Exp Med.*, 201(7): 1113-1123, 2005.
204. WANG Y, PEREIRA EF, MAUS AD, OSTLIE NS, NAVANEETHAM D, LEI S, ALBUQUERQUE EX, CONTI-FINE BM. Human bronchial epithelial and endothelial cells express alpha7 nicotinic acetylcholine receptors. *Mol Pharmacol* 60: 1201-1209, 2001.
205. PAVLOV VA, OCHANI M, GALLOWITSCH-PUERTA M, OCHANI K, HUSTON JM, CZURA CJ, AL-ABED Y, TRACEY KJ. Central muscarinic cholinergic regulation of the systemic inflammatory response during endotoxemia., *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 103(13):5219-5223, 2006.
206. BHATTACHARYA SK, SEN AP, DAS GUPTA G, SETH K, SETH PK, Central muscarinic receptor subtypes and carrageenin-induced paw oedema in rats., *Res Exp Med*, 191(1): 65-76, 1991.
207. SULLIVAN NR, LEVENTHAL L, HARRISON J, SMITH VA, CUMMONS TA, SPANGLER TB, SUN SC, LU P, UVEGES AJ, STRASSLE BW, PIESLA MJ,

- RAMDASS R, BARRY A, SCHANTZ J, ADAMS W, WHITESIDE GT, ADEDOYIN A, JONES PG. Pharmacological characterization of the muscarinic agonist (3R,4R)-3-(3-hexylsulfanyl-pyrazin-2-yloxy)-1-aza-bicyclo[2.2.1]heptane (WAY-132983) in in vitro and in vivo models of chronic pain. *J Pharmacol Exp Ther.*, 322(3): 1294-1304, 2007.
208. PAXINOS G, WATSON C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, 5th Ed., Elsevier Academic Press, Burlington, MA, 2005.
209. GHELARDINI C, GALEOTTI N, CALVANI M, MOSCONI L, NICOLAI R, BARTOLINI A. Acetyl-L-carnitine induces muscarinic antinociception in mice and rats. *Neuropharmacology*, 43(7): 1180-1187, 2002.
210. MAHMOUDI M, ZARRINDAST MR. Effect of intracerebroventricular injection of GABA receptor agents on morphine-induced antinociception in the formalin test. *J Psychopharmacol.*, 16(1): 85-91, 2002.
211. MALCANGIO M, GHELARDINI C, GIOTTI A, MALMBERG-AIELLO P, BARTOLINI A. CGP 35348, a new GABAB antagonist, prevents antinociception and muscle-relaxant effect induced by baclofen. *Br J Pharmacol.*, 103(2): 1303-1308, 1991.
212. SIBILIA V, LATTUADA N, RAPETTI D, PAGANI F, VINCENZA D, BULGARELLI I, LOCATELLI V, GUIDOBONO F, NETTI C. Ghrelin inhibits inflammatory pain in rats: involvement of the opioid system. *Neuropharmacology*, 51(3): 497-505, 2006.
213. HARGREAVES K, DUBNER R, BROWN F, FLORES C, JORIS J. A new and sensitive method for measuring thermal nociception in cutaneous hyperalgesia. *Pain*, 32(1): 77-88, 1988.
214. RANDALL LO, SELITTO JJ. A method for measurement of analgesic activity on inflamed tissue. *Arch Int Pharmacodyn Ther.*, 111(4): 409-419, 1957.
215. KAN İ. Biyoistatistik, Gözden Geçirilmiş 3. Baskı, Uludağ Üniversitesi Basımevi, Uludağ Üniversitesi Güçlendirme Vakfı Yayın No: 128, Bursa, 1998.
216. ÖZDAMAR K. Paket Programlar ile İstatistiksel Veri Analizi 2, Kaan Kitabevi, 4. Baskı, Ankara, 2002.
217. CORUZZI G, ADAMI M, GUAITA E, DE ESCH IJ, LEURS R., Antiinflammatory and antinociceptive effects of the selective histamine H4-receptor antagonists JNJ7777120 and VUF6002 in a rat model of carrageenan-induced acute inflammation. *Eur J Pharmacol.*, 563(1-3): 240-244, 2007.
218. ABDEL-SALAM OME, NOFAL SM, EL-SHENAWY SM. Evaluation of the anti-inflammatory and anti-nociceptive effects of different antidepressants in the rat. *Pharmacological Research*, 48: 157-165, 2003.
219. CUI JG, MEYERSON BA, LINDEROTH B. Opposite effects of spinal cord stimulation in different phases of carrageenan-induced hyperalgesia. *European Journal of Pain*, 3: 365-374, 1999.
220. KOLHEKAR R, MURPHY S, GEBHART GF. Thalamic NMDA receptors modulate inflammation-produced hyperalgesia in the rat. *Pain*, 71(1): 31-40, 1997.
221. HAMURTEKİN E. CDP-kolin'in analjezik etkisi ve etkiye aracılık eden mekanizmalar. *Tıpta Uzmanlık Tezi*, Bursa, 2007.
222. VINCLER M. Neuronal nicotinic receptors as targets for novel analgesics. *Expert Opin. Investig. Drugs*, 14(10): 1-8, 2005.
223. KENNEDY C. P2X receptors: targets for novel analgesics? *Neuroscientist*, 11(4): 345-356, 2005.
224. LIU XJ, SALTER MW. Purines and pain mechanisms: recent developments. *Curr Opin Investig Drugs*, 6(1): 65-75, 2005.

225. TAYLOR PM, ROBERTSON SA, DIXON MJ. Adaptation of thermal threshold analgesiometry for NSAIDs in cats: effects of ketoprofen. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, 30: 92, 2003.
226. TAYLOR PM, STEAGALL PVM, DIXON MJ, FERREIRA TH, LUNA SPL. Carprofen and buprenorphine prevent hyperalgesia in a model of inflammatory pain in cats. *Research in Veterinary Science* 83: 369–375, 2007.
227. RAFFE M. Recent advances in our understanding of pain: how should they affect management?, *Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animals)* 12, Page 75–79, 1997.
228. MEYER RA, RINGKAMP M, CAMPBELL JN, RAJA SN. Neural mechanisms of hyperalgesia after tissue injury. *John Hopkins Apl Technical Digest*, 26(1): 56-66, 2005
229. MIKE A, CASTRO NG, ALBUQUERQUE EX. Choline and acetylcholine have similar kinetic properties of activation and desensitization on the alpha7 nicotinic receptors in rat hippocampal neurons, *Brain Res.*, 882(1-2): 155-168, 2000.
230. HOLDEN JE, JEONG Y, FORREST JM. The endogenous opioid system and clinical pain management. *AACN Clin Issues*, 16(3): 291–301, 2005.
231. ABE K, ISHIDA K, KATO M, SHIGENAGA T, TAGUCHI K, MIYATAKE T. Effect of morphine-induced antinociception is altered by AF64A-induced lesions on cholinergic neurons in rat nucleus raphe magnus. *Acta Pharmacol Sin.*, 23(11): 961-966, 2002.
232. LEITE-PANISSI CR, BRENTGANI MR, MENESCAL-DE-OLIVEIRA L. Cholinergic-opioidergic interaction in the central amygdala induces antinociception in the guinea pig. *Braz J Med Biol Res.*, 37(10): 1571-1579, 2004.
233. ZARRINDAST MR, NAMI AB, FARZIN D. Nicotine potentiates morphine antinociception: a possible cholinergic mechanism. *Eur Neuropsychopharmacol.*, 6(2): 127-133, 1996.
234. ZARRINDAST MR, PAZOUKI M, NASSIRI-RAD S. Involvement of cholinergic and opioid receptor mechanisms in nicotine-induced antinociception. *Pharmacol Toxicol.*, 81(5): 209-213, 1997.
235. BOUAZIZ H, TONG C, YOON Y, HOOD DD, EISENACH JC. Intravenous opioids stimulate norepinephrine and acetylcholine release in spinal cord dorsal horn. Systematic studies in sheep and an observation in a human. *Anesthesiology*, 84(1): 143-154, 1996.
236. BEILIN B, NEMIROVSKY AY, ZEIDEL A, MAIBORD E, ZELMAN V, KATZ RL. Systemic physostigmine increases the antinociceptive effect of spinal morphine. *Pain*, 70(2-3): 217-221, 1997.
237. MANSOUR A, WATSON SJ, AKIL H. Opioid receptors: past, present and future. *Trends Neurosci.*, 18(2): 69-70, 1995.
238. DAMAJ MI, GLASSCO W, ACETO MD, MARTIN BR. Antinociceptive and pharmacological effects of metanicotine, a selective nicotinic agonist. *J Pharmacol Exp Ther.*, 291(1): 390-398, 1999.
239. IVERSEN L. GABA pharmacology--what prospects for the future? *Biochem Pharmacol.*, 68(8): 1537-1540, 2004.
240. SAWYNOK J, LABELLA FS. On the involvement of GABA in the analgesia produced by baclofen, muscimol and morphine. *Neuropharmacology*, 21(5): 397-403, 1982.
241. ALKONDON M, PEREIRA EF, EISENBERG HM, ALBUQUERQUE EX. Choline and selective antagonists identify two subtypes of nicotinic acetylcholine receptors

- that modulate GABA release from CA1 interneurons in rat hippocampal slices. *J Neurosci.*, 19(7): 2693-2705, 1999.
242. MAGGI L, SHER E, CHERUBINI E. Regulation of GABA release by nicotinic acetylcholine receptors in the neonatal rat hippocampus. *J Physiol.*, 536(Pt 1): 89-100, 2001.
243. YANG X, CRISWELL HE, BREESE GR. Nicotine-induced inhibition in medial septum involves activation of presynaptic nicotinic cholinergic receptors on gamma-aminobutyric acid-containing neurons. *J Pharmacol Exp Ther.*, 276(2): 482-489, 1996.
244. ALKONDON M, BRAGA MF, PEREIRA EF, MAELICKE A, ALBUQUERQUE EX, alpha7 nicotinic acetylcholine receptors and modulation of gabaergic synaptic transmission in the hippocampus. *Eur J Pharmacol.*, 393(1-3): 59-67, 2000.
245. EL-SHENAWEY SM, ABDEL-SALAM OME, BAIUOMY AR, EL-BATRAN S, ARBID MS. Studies on the anti-inflammatory and anti-nociceptive effects of melatonin in the rat. *Pharmacological Research*, 46(3): 235-243, 2002.
246. ABDEL-SALAM OME, BAIUOMY AR, ARBID MS. Studies on the anti-inflammatory effect of fluoxetine in the rat. *Pharmacological Research*, 49: 119-131, 2004.
247. LAZZARINI R, MAIORKA PC, LIU J, PAPADOPOULOS V, PALERMO-NETO J. Diazepam effects on carrageenan-induced inflammatory paw edema in rats: Role of nitric oxide. *Life Sciences*, 78: 3027-3034, 2006.
248. SHARMA JN, SAMUD AM, ASMAWI MZ. Comparison between plethysmometer and micrometer methods to screening anti-inflammatory activity in mice, *Inflammopharmacology*, 12(1): 89-94, 2004.
249. LANHERS MC, FLEURENTIN J, DORFMAN P, MORTIER F, PELT JM. Analgesic, antipyretic and anti-inflammatory properties of *Euforbia hirta*. *Planta Medica*. 57: 225-231, 1991.
250. REED RK, WESTERBERG EJ. Effect of α -trinositol on carrageenan-induced rat paw edema and lowering of interstitial fluid pressure. *European Journal of Pharmacology*, 376: 279-284, 1999.

TEŞEKKÜR

Eğitim-öğretimim süresince bana her konuda emek harcayan ve doktora tezimi hazırlamamda sonsuz katkıları bulunan başta tez danışmanlarım Prof. Dr. Songül SONAL, Prof. Dr. M. Sibel GÜRÜN ve tez izleme komite üyem Prof. Dr. R. Levent BÜYÜKUYSAL olmak üzere; Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji Anabilim Dalı olanaklarını kullanmama izin vermeleri nedeniyle Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Vahide SAVCI'ya, bilimsel bakış açımaya yön veren Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Songül SONAL, Doç. Dr. H. Hüseyin ORUÇ ve emekli öğretim üyesi Prof. Dr. Selahattin CEYLAN'a, yardımseverlikleri ve hoşgörülerini esirgemeyen Uludağ Üniversitesi Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Merkezi çalışanlarına, bilimsel faaliyetlerimdeki destekleri için Fakülteme, Sağlık Bilimleri Enstitüme ve Üniversiteme teşekkürlerimi sunarım.

Her zaman yanımda hissettiğim, her konuda beni destekleyen eşim Uzm. Yiğit BAĞDAŞ, tatlı kızım Alya Peren, dostlarım Uzm. Dr. Emre HAMURTEKİN ve Araş. Gör. Ömer KALKANLI ile bugünlere ulaşabilmem için her türlü fedakarlığı yapan en büyük dayanağım Aileme özel olarak teşekkür ederim.

ÖZGEÇMİŞ

1 Ağustos 1979, Bursa doğumluyum. Sırasıyla Mithatpaşa İlkokulu, Bursa Kız Lisesi (ortaokul), Bursa Erkek Lisesi, Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Anadolu Üniversitesi Açıköğretim Fakültesi Halkla İlişkiler Bölümü'nde eğitim ve öğretim gördüm. Halen Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım. Sosyal Bilimler Enstitüsü "İnsan, Toplum ve Felsefe" tezsiz yüksek lisans programı öğrenciliğimi sürdürmekteyim. Evliyim ve bir kız çocuk annesiyim.