



Lokal Metoprolol Uygulamasının Nosisseptif Etkileri

Nociceptive Effects of Locally Treated Metoprolol

Nursima Çukadar¹, Furkan Baran¹, Kadir Ercan Özsoy¹, Fatih B. Uyanık¹, Tuba Sürer¹, Tufan Mert², Yasemin Güneş³

¹Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi, 3.Sınıf Öğrencileri, ²Biyofizik Anabilim Dalı, KAHRAMANMARAŞ

³Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anesteziyoloji Anabilim Dalı, Balcalı, ADANA

Cukurova Medical Journal 2015;40(2):258-266

ABSTRACT

Purpose: Beta (β -)adrenergic receptor antagonists, such as metoprolol, are often used to avoid circulatory complications during anesthesia for their antihypertensive and anti-tachycardia effects in patients with cardiovascular diseases. Although a few previous studies have been reported to exert antinociceptive and anesthetic effects of these drugs, knowledge about their action mechanisms in nociceptive process including pain perception is limited. This study therefore designed to identify the roles underlying the probable anti or hyper nociceptive effects of metoprolol, a β -adrenergic receptor antagonist. In addition, effects of metoprolol were compared the dobutamin, a β -adrenergic agonist.

Material and Methods: To investigate the effects of β -adrenergic receptor blocker, metoprolol, sensor functions using thermal plantar test (hyperalgesia) and dynamic plantar aesthesiometer (allodynia) techniques were examined in the rats after local (intraplantar) injection to paws.

Results: Metoprolol, an antagonist, significantly decreased the thermal latency and mechanical thresholds with dose and time dependent manner. However, dobutamine, an agonist, enhanced the latency and thresholds dose and time dependent.

Conclusions: This results suggest that in contrast to dobutamine, locally treated metoprolol may cause hyperalgesic and allodynic actions. In addition, our results can demonstrate that peripheral β -adrenergic receptors can play important roles in nociceptive process.

Key words: Metoprolol, Intraplantar, Hyperalgesia, Allodynia, rat

ÖZET

Amaç: Beta (β -)adrenerjik reseptör antagonisti olan metoprolol, antihipertansif ve antişikardik etkileri nedeniyle kardiyovasküler sistem hastalığı olan kişilerde anestezi sırasında dolaşım sistemi komplikasyonları önlemek için kullanılmaktadır. Sistemik metoprolol'un antinosisseptif ve anestetik etkileri sahip olduğunu gösteren birkaç çalışma olmasına rağmen, ağrı algısını da içeren nosisseptif süreçlerindeki etkilerine ilişkin bilgi oldukça sınırlıdır. Bu nedenle bu çalışma bir β --adrenerjik reseptör antagonisti olan metoprolol'un lokal uygulama sonrası muhtemel anti nosisseptif veya hiper nosisseptif etkilerini belirlemek için planlandı. Metoprolol bulguları β --adrenerjik reseptör agonisti dobutaminle karşılaştırıldı.

Materyal ve Metod: Lokal (intraplantar) olarak uygulanan metoprololun etkileri, duysal fonksiyon testleri olan termal plantar test ve mekanik plantar test teknikleri kullanılarak araştırıldı.

Bulgular: Antagonist metoprolol termal latansı ve mekanik eşiği doza ve zamana bağlı olarak anlamlı bir şekilde azalttı. Bununla beraber, agonist dobutamin, metoprololun aksine latans ve eşik parametrelerini doz ve zaman bağlı olarak arttırdı.

Sonuç: Bulgular lokal olarak uygulanan metoprolol'un hiperaljezi ve allodini oluşturabileceğini göstermektedir. Metoprolol ve dobutamin kullanılarak elde edilen veriler, periferik β -adrenerjik reseptörlerin nosiseptif süreçte önemli roller oynayabileceğini işaret etmektedir.

Anahtar kelimeler: Metoprolol, İntraplantar, Hiperaljezi, Allodini, Sıçan

GİRİŞ

Ağrı vücudun herhangi bölgesinde hissedilen, organik bir nedene bağlı olan veya olmayan, sensoryal, emosyonel, hoş olmayan bir duygu veya deneyim olarak tanımlanmaktadır¹. Yapılan tüm çalışmalara, gelişen tıbbi tekniklere ve tedavi seçeneklerine rağmen, çözümünün tam olarak bulunamadığı ağrı gizemini korumaya devam etmektedir.

Canlının zararlı bir uyarana maruz kalması sonrasında, bölgede inflamatuvar reaksiyon işaretleri ortaya çıkar². Lokal olarak salınan çeşitli kimyasal mediyatörlerin nosiseptörleri uyarmaları ile bu reseptörlerin eşiği düşer ve ağrı duyarlılığında değişerek hiperaljezi ve allodini ortaya çıkar^{1,3}. Bu işaretlerin ortaya çıkması sırasında makrofajların ve lökositlerin (polymorphonuclear leucocytes) dolaşım sisteminden uygulamanın yapıldığı doku bölgelerine sızması tetiklenirken, reaktif oksijen türleri (ROS) ve serbest radikal gibi pro-inflamatuvar mediyatörlerin salınımının arttığı da bilinmektedir⁴.

Yapılan deneysel çalışmalar, β -adrenerjik reseptörlerin ağrı sürecinin gelişmesinde önemli roller oynayabileceğini göstermektedir^{5,6}. Metoprolol gibi β -adrenerjik reseptör antagonistleri kardiyovasküler sistem hastalığı olan kişilerin anestezi gerektiren operasyonlarında dolaşım sistemine bağlı komplikasyonların gelişimini engellemeleri nedeniyle çok kliniklerde tercih edilmektedir⁵. Yapılan çalışmalarda bazı β -adrenerjik reseptör blokörleri (propranolol vb.), eksitabl hücrelerin sitoplazma membranındaki Na⁺ kanallarını bloke ederek hücre zarını depolarizasyona karşı korudukları gösterilmiştir⁵⁻⁸.

Metoprolol β -adrenerjik reseptör antagonistidir ve kardiyovasküler sistemi (toplardamar ve atardamarlar üzerinden kan akışını) etkileyerek

çalışır ve bu özellikleri nedeniyle hipertansiyon (yüksek tansiyon) ve anjina pektoris tedavisinde ve kalp krizinin engellenmesi amacıyla kullanılır⁹⁻¹¹. β -adrenerjik reseptör antagonistleri katekolaminlerin bağlandığı reseptörleri bloke ederek onların dolaşım sistemindeki etkilerini zayıflatır⁹⁻¹³.

Dobutamin etki mekanizması karmaşık olan selektif bir β -adrenerjik reseptör agonistidir. Etkilerinin adenil siklaz aktivitesinin stimülasyonu sonucunda oluştuğu düşünülmektedir¹⁴. Terapötik dozlarda, dobutaminin ayrıca hafif β_2 - ve α_1 -adrenerjik reseptör agonist etkileri de vardır ve bunlar göreceli olarak dengede olup sistemik damarsal yapıda minimal net bir direkt etki oluştururlar^{14,15}.

Bu çalışmada, nosiseptif süreçte periferik β -adrenerjik reseptörlerin katkılarının araştırılması hedeflendi. Bu amaca yönelik olarak çalışmamızda, lokal (intraplantar) olarak uygulanan β -adrenerjik reseptör antagonisti metoprolol ve agonisti dobutaminin etkinlikleri sensor testler kullanılarak araştırıldı ve karşılaştırmalı sunuldu.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmalarda yetişkin dişi Wistar sıçanlar (220-240 g) kullanıldı. Su ve yiyecek kısıtlaması olmaksızın, her kafeste dörder adet olarak yerleştirilmiş sıçanlar, 22-24 °C oda sıcaklığında ve döngüsel olarak 12/12 saat aydınlık/karanlık olacak şekilde hazırlanmış özel bir odada barındırıldı. Çalışmalar, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri yerel etik kurulu tarafından onaylandı (2012/02-4) ve IASP (International Association for the Study of Pain) ve yerel deney hayvanları kullanımı ve bakımı komitesi tarafından deklare edilen kurallara uygun olarak yürütüldü.

Bütün deneyler, 22-24 °C oda sıcaklığında, sessiz ortamda, gerçekleştirildi. Deneye

başlanmasından bir hafta önce, deneyin yapıldığı ortama getirilerek sıçanların ortama alışması sağlandı. Aynı şekilde, deney düzeneklerine alışmalarını sağlamak için, sıçanlar deney yapılmadan önce üç defa en az 30 dakika test cihazlarında herhangi bir uygulama yapılmadan bekletildi.

Lokal (İntraplantar) uygulamalar

İlaç uygulamaları sıçanların sol pençelerine yapıldı (Resim 1). Aynı sıçanın hiçbir uygulama yapılmayan sağ pençelerinden alınacak test verileri ise lokal ilaç uygulamalarının sistemik bir etki gösterip göstermediğinin belirlenmesi için kullanıldı.

İntraplantar enjeksiyonda sıçanların sol arka pençelerine araştırılacak test ajanları (antagonist metaprolol ve agonist dobutamin) intraplantar olarak 0,6 ve 1,2 mg / 100 µl dozlarda hafif anestezi altında uygulandı. Test ajanlarının kontrol çalışmalarında ise test ajanı yerine eşit hacimde serum fizyolojik enjekte edildi.

Nosiseptif değişikliklerin değerlendirilmesi

Plantar testler kullanılarak yapılan elde edilen bulgular, ilaçların insanlarda nosiseptif süreçlerdeki aktivitesini değerlendirmek için oldukça etkili ve anlamlı olabileceğini göstermektedir.

Termal Plantar Test

Termal plantar testte, radyan ısı kaynağından sıçanın pençesini geri çekme latansı ölçülerek değerlendirilmeler yapılır (Resim 2). Bu test yönteminde, herhangi bir kısıtlama olmadan serbestçe hareket edebilen sıçanların arka pençelerine uygulanacak, deride herhangi bir hasar oluşturmadan ağrı hissi oluşturan, termal bir uyarı sonrasında hayvanın vereceği bir refleks yanıt olan pençesini uyarandan geri çekme süresi ölçülmektedir.

Termal hiperaljezinin varlığı, 25oC ye ayarlanmış ve sabitlenmiş pürüzsüz cam zemin üzerine plastik bölmeler (10x20x24 cm) konularak

oluşturulmuş termal uyarı sisteminde, hayvanın ayağını geri çekme latansı ölçülerek belirlendi.

Cam tabakanın altında bulunan hareketli tutucudaki radyan ısı kaynağı (8 V- 50 W halojen ampul), hayvanın arka pençesinin plantar bölgesinin orta kısmına termal uyarıyı vermek üzere yerleştirildi. Sıçan ağrıyı hissedip ayağını çektiğinde, bir fotosel yansıyan ışık demetindeki kesintiyi dedekte ederek infrared radyasyon (IR) jeneratörünün otomatik olarak kapanmasını ve zaman sayacın durdurarak gecikme zamanının (latans) belirlenmesini sağlamakta olup, bu yöntemde, gecikme zamanı 0,1 s duyarlık ölçülebilmektedir. Hayvana fazla acı çekirtmemek için eğer hayvan ayağını 20 s'de (cut-off latansı, CL) çekmemişse ısı kaynağı otomatik olarak duracak şekilde ayarlandı.

Dokunsal Duyarlılık Testi (Mekanik plantar test):

Mekanik plantar testi sıçanın pençesine yapılacak dokunmaya hayvanın duyarlılığının belirlenmesi için yapıldı (Resim 3). Kullanılacak olan dynamic plantar aesthesiometer klasik von frey sisteminin otomatize edilerek geliştirilmiş halidir.

Bu sistemde sıçanlar gözenekli temiz metal bir zemin üzerinde tutuldu. Paslanmaz çelikten 0,5 mm kalınlığındaki filamentle kuvvet uygulaması yapıldı. Uygulanan bu mekanik kuvvet sağlıklı sıçanlarda herhangi bir ağırlı durum oluşturmamakta, dokunma duyusuna neden olmaktadır. Sıçan pençesini mekanik uyarandan çektiğinde, uyarım otomatik olarak duracak ve kuvvet kaydedildi. Bu geri çekme yanıtları (mekanik eşik-threshold) en az 10 saniyelik aralıklarla ve 3 defa tekrarlanarak ortalaması alındı.

İstatistiksel Analiz

İlaç uygulaması öncesinde alınan kayıtlar, uygulama sonrası 60 ve 120 dakika sonrasında tekrarlandı ve sonuçlar grafiklerde sunuldu.

Deneyler sonrasında elde edilen veriler ortalama ($n=6$) \pm S.E. olarak ifade edildi. İstatistiksel değerlendirmeler repeated measures of ANOVA ve post-hoc testleri kullanılarak yapıldı.

BULGULAR

Termal ve mekanik plantar testlerde, enjeksiyon yapılan sıçanlardan alınan sonuçlar ile herhangi bir uygulama yapılmayan diğer pençelerinden alınan sonuçlar arasında anlamlı bir fark belirlenemedi. Bu bulgu lokal uygulanan araştırma ajanlarımızın sistemik bir etkiye neden olmadığını göstermektedir.

İlaçlarla aynı hacimde (100 μ l) intraplantar olarak saline uygulanmış hayvanlardan alınan termal latans ve mekanik eşik değerleri de başlangıç değerleir karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi.

Doza bağlı etkilerin karşılaştırılması

Lokal metoprolol uygulaması doza bağlı olarak termal latansta azalma meydana getirdi (Şekil 1). Latanstaki bu azalma, metoprolol uygulamasının doz artıkça hiperaljezik durumun ortaya çıkmasına neden olabileceğini göstermektedir. Buna karşın lokal dobutamin uygulaması doza bağlı olarak latansın uzamasına neden oldu. Dobutaminin doza

bağlı olarak latansı uzatması, dobutaminin anti-nosiseptif etkinliğini göstermektedir (Şekil 1).

Metoprolol ve dobutaminin mekanik eşik üzerine etkileri, termal latansta ortaya koydukları etkilerle oldukça benzerdi (Şekil 2). Metoprolol doz artışına bağlı olarak eşik değerini azalttı. Eşik değerindeki bu etki, lokal olarak uygulanan metoprololun allodiniye neden olabileceğini göstermektedir. Dobutamine eşik değerinde uygulanan doza bağlı olarak artmaya neden oldu (Şekil 2)

Zamana bağlı olarak etkilerin karşılaştırılması

İlaçların intraplantar uygulanmalarından 60 ve 120 dakika sonra alınan sonuçları Şekil 3 ve 4 de karşılaştırılmalı olarak gösterilmektedir.

Serum fizyolojik uygulaması ölçülen parametrelerde 120 dakika süresince herhangi bir değişime neden olmadı. 1,2 mg/100 μ l dozda uygulanan metoprolol, uygulamadan 120 dakika sonra termal latans üzerindeki azaltıcı etkisini gösterirken, dobutaminin latansı uzatıcı etkisi zaman bağlı olarak arttı (Şekil 3). Metoprolol zamana bağlı olarak mekanik eşik değerini azaltırken, dobutamin eşik değerini arttırdı (Şekil 4).



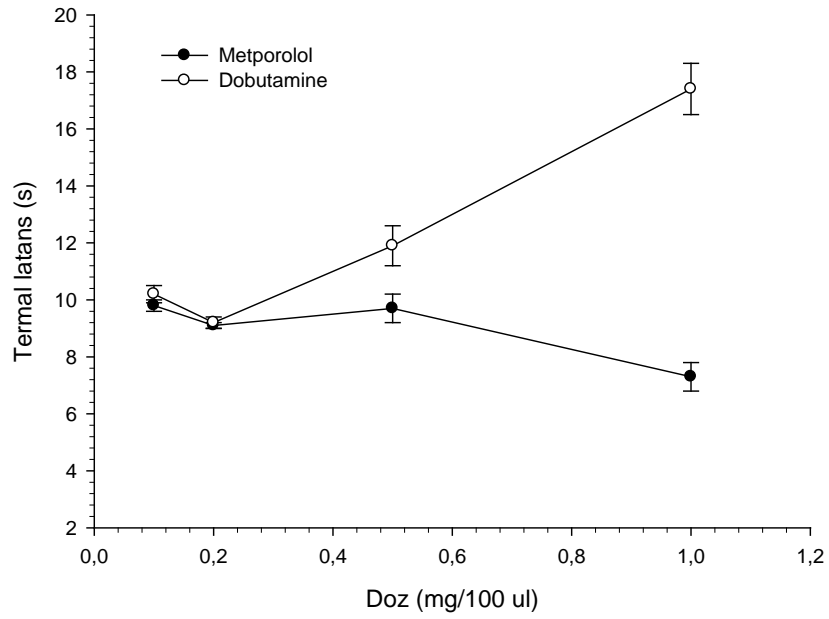
Resim 1. Sıçanlara intraplantar ilaç enjeksiyonu



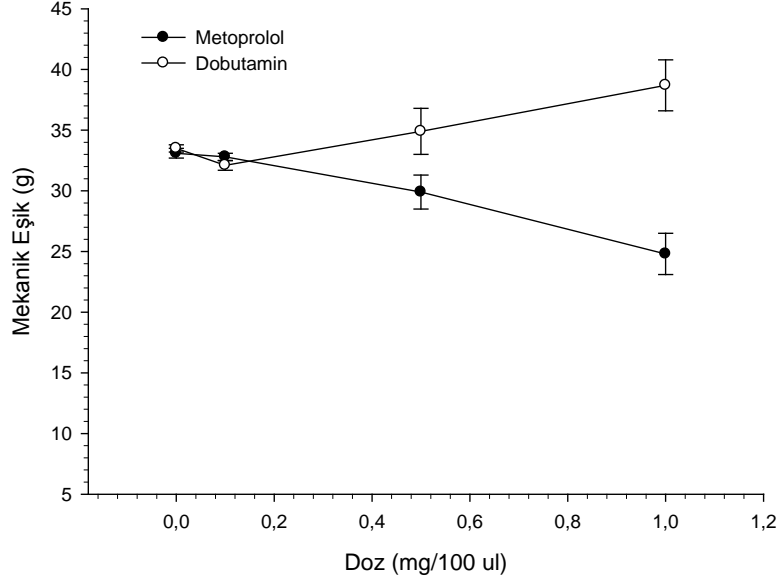
Resim 2. Termal plantar test sistemi



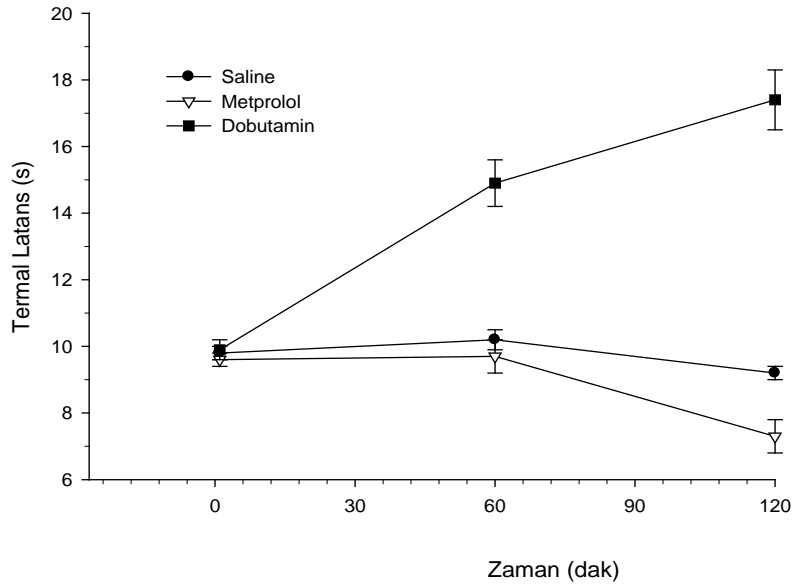
Resim 3. Dokumsal duyarlılık testi (Mekanik plantar test)



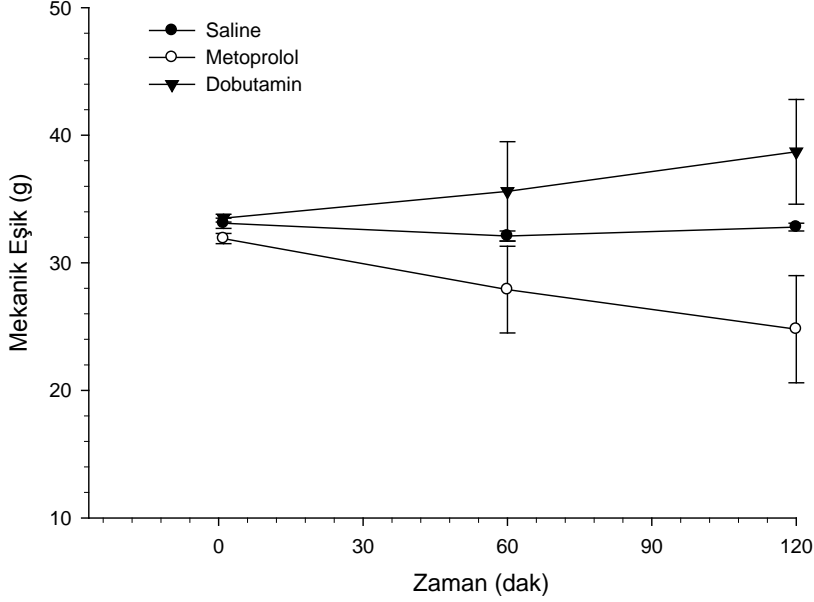
Şekil 1. Metoprolol ve dobutaminin termal latans üzerinde doza bağlı etkileri



Şekil 2. Metoprolol ve dobutaminin mekanik eşik parametresi üzerinde doza bağlı etkileri.



Şekil 3. Termal latans parametresinde zamana bağlı değişiklikler. Metoprolol latansı azaltırken, dobutamine arttırdı.



Şekil 4. Mekanik eşik parametresinde zamana bağlı değişiklikler. Metoprolol ve dobutaminin doza bağlı zıt etkileri.

TARTIŞMA

Çalışmalar sonunda elde edilen veriler, lokal olarak uygulanan β -adrenerjik reseptör antagonist, metoprolol ve agonist, dobutaminin nosiseptif süreçler üzerindeki etkilerini ortaya koymaktadır.

Primer afferent nosiseptörler mekanik, termal ve kimyasal uyarılara yanıt veren sinir uçlarıdır ve nosiseptif sürecin başlangıç noktasıdır¹. Ağrı algısının oluşmasını da kapsamı içine alan nosisepsiyon, vücudun herhangi bir bölgesindeki bir doku hasarını takiben lokal olarak salınan mediyatörlerin nosiseptörleri uyarmasıyla başlar³. Nosiseptörün yanıt özelliklerine bağlı olarak spinal korda doğru bilginin iletimi meydana gelir. Daha önce yapılan çalışmalar nosiseptif süreçte temel rol alan ince miyelinli ve miyelinsiz kutanöz sensor sinir liflerinin uçlarında adrenerjik reseptörlerin varlığı gösterilmiştir^{1,2,16}.

Çalışmalarımızda kullandığımız ilaç uygulama metodu olan lokal intraplantar enjeksiyon, sistemik uygulamalarda ortaya çıkabilecek olası yan etkileri ortadan kaldırması ve ilaçların direk periferik sinir

uçlarındaki etkinliğinin araştırılmasına imkân vermesi nedeniyle tercih edildi¹⁷.

Lokal uygulanan β -adrenerjik reseptör antagonisti metoprolol doza ve zamana bağlı olarak termal latans ve mekanik eşik değerini azalttı. Bu bulgu, metoprolol dokusal duyarlılığı arttırabileceğini, allodini oluşumuna neden olabileceğini göstermektedir. Allodini ağrılı olmayan bir uyarıda ağrı algısının ortaya çıkması durumudur. Lokal metoprolol uygulamasının aynı şekilde latans parametresini azaltması, ağrılı bir uyarana daha agresif yanıt oluşturulması olarak tanımlanan hiperalejinin göstergesidir.

Sensor sinir liflerinin (A δ ve C tipi lifler) deri ve deri altında bulunan serbest sinir sonlanmaları olan nosiseptörler ağrı bilgisinin iletiminde çok önemli rol oynar^{2,4}. Dokunun zedelenmesi veya inflamasyonu sonrasında, bu bölgede hasarlı dokulardan veya çevre dokulardan lokal olarak salınan çeşitli kimyasal maddelerin (Bradikinin, Histamin, Prostaglandinler, Lökotrienler, Asetilkolin (Ach), Serotonin, P maddesi) nosiseptörleri uyarmaları ile nosiseptörlerde eşik düşürürler ve

ağrı duyarlılığında bir artışa neden olur. Normal ağırlı bir uyarın çok daha ağırlı bir duruma (hiperaljezi), hafifçe dokunma gibi ağrısız bir uyaranda ağırlı bir uyarana (allodini) dönüşebilir¹⁻⁴.

B-adrenerjik reseptör agonisti dobutaminin sıçanların pençesine lokal uygulanması doza ve zamana bağılı olarak latans ve eşik değerini artırdı. Bu bulgu, dobutamin ağırlı uyarın iletimini engellediğini, dokusal duyarlılığı azattığını göstermektedir.

Bulgular, periferel β -adrenerjik reseptörlerinin ağrı bilgisinin iletilmesinde etkin rol oynayabileceğini göstermektedir. Bu periferel reseptörlerin bir antagonist ile blokajı ağrı bilgisinin iletilmesinde rol alan nosiseptörlerini aktivasyonuna ve ağırlı yanıtın ortaya çıkmasına yol açabilir. Sonuç olarak, yüksek dozlarda uygulanan β -adrenerjik reseptörler için antagonist ilaçlar tedavi edici etkinlikleri yanında bir yan etki olarak nosiseptif yollarda aktivasyona neden olabilir.

KAYNAKLAR

1. Bars DL, Gozariu M, Cadden SW. Animal models of nociception. *Pharmacol Rev.* 2001;53:597–652.
2. Andrew D, Greenspan JD. Mechanical and heat sensitization of cutaneous nociceptors after peripheral inflammation in the rat. *J. Neurophysiol.* 1999;82:2649–56.
3. Fechoa K, Nackley AG, Wu Y, Maixner W. Basal and carrageenan-induced pain behavior in Sprague-Dawley, Lewis and Fischer rats. *Physiol Behav.* 2005;85:177-86.
4. Mert T, Ocal I, Gunay I, Pain relieving effects of pulsed magnetic fields in a rat model of carrageenan-induced hindpaw inflammation. *Int Rad Biol.* 2014;90:95–103.
5. Volz-Zang C, Eckrich B, Jahn P, et al. Esmolol, an ultrashort-acting, selective beta 1-adrenoceptor antagonist: pharmacodynamic and pharmacokinetic properties. *Eur J Clin Pharmacol.* 1994;46:399–404.
6. Davidson EM, Doursout MF, Szmuk P, Chelly JE. Antinociceptive and cardiovascular properties of esmolol following formalin injection in rats. *Can J Anaesth.* 2001;48:59–64.
7. Tanahashi S, Lida H, Dohi S, Oda A, Osawa Y, Yamaguchi S. Comparative effects of ultra-short-acting β_1 -blockers on voltage-gated tetrodotoxin-resistant Na channels in rat sensory neurons. *Eur J Anaesth.* 2009;26:196–200.
8. Johansen JW, Flaishon R, Sebel PS. Esmolol reduces anesthetic requirement for skin incision during propofol/nitrous oxide/morphine anesthesia. *Anesthesiology.* 1997;87:461–2.
9. Khasar SG, Mccarter G, Levine JD. Epinephrine Produces a β -Adrenergic Receptor-Mediated Mechanical Hyperalgesia and In Vitro Sensitization of Rat Nociceptors. *J Neurophysiol.* 1999;81:1104-12
10. Hein L, Kobilka BK. Adrenergic receptor signal transduction and regulation. *Neuropharmacol.* 1995;34:357–66.
11. Hein L. Adrenoreceptors and signal transduction in neurons. *Cell Tissue Res.* 2006;326:541–51.
12. Yu BH, Dimsdale JE, Mills PJ. Psychological states and lymphocyte beta-adrenergic receptor responsiveness. *Neuropsychopharmacol.* 1999;21:147–52.
13. Zhang HT, Huang Y, O'Donnell JM. Antagonism of the antidepressant-like effects of clenbuterol by central administration of beta-adrenergic antagonists in rats. *Psychopharmacol.* 2003;170:102–7.
14. Tuttle RR, Mills J. Dobutamine: development of a new catecholamine to selectively increase cardiac contractility. *Circ Res.* 1975;36:185–96.
15. Najafipour H. Alteration in alpha- and beta-adrenoceptor profile of rabbit knee joint blood vessels due to acute inflammation. *Exp Physiol.* 2000;85:267–73.
16. Koltzenburg M. Neural mechanisms of cutaneous nociceptive pain. *Clin J Pain.* 2000;16:131–8.
17. Sawynok, J. Topical and peripherally acting analgesics. *Pharmacological Reviews.* 2003;55:1–20.

Yazışma Adresi / Address for Correspondence:

Dr. Tufan Mert
Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi
Biyofizik Anabilim Dalı
KAHRAMANMARAŞ
E-mail: tufanmert@yahoo.com

Geliş tarihi/Received on :12.09.2014

Kabul tarihi/Accepted on: 03.11.2014