

Nitrik oksit sentaz (NOS) inhibitörlerinin sıçanlarda çok düşük frekanslı manyetik alanın indüklediği analjezi üzerine etkileri*

Ercan Özdemir¹, Ayşe Demirkazık², Ahmet Şevki Taşkiran¹, Olca Kılınc², Gökhan Arslan¹

¹Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Sivas

²Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, Sivas

Not: Bu çalışma, Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından (CÜBAP T-629, 2015) desteklenmiştir.

Özet

Amaç: Elektromanyetik alanın (EMA) farklı ağrı türlerini azalttığı bilinmektedir. Bununla birlikte, manyetik alanın analjezik etki mekanizması tam olarak anlaşılammıştır. Bu çalışmanın amacı, nitrik oksit sentaz (NOS) inhibitörlerinin sıçanlarda çok düşük frekanslı EMA maruziyeti ile oluşan analjezi üzerine etkilerini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmada 72 yetişkin erkek Wistar albino sıçan (yaklaşık 230 ± 12 g ağırlığında) kullanıldı. Sıçanlar, 22 ± 2 °C oda sıcaklığında, 12 saat aydınlık/karanlık siklusun sağlandığı ve ses yalıtımı olan ortamda tutuldu. Elektromanyetik alan (50 Hz), her gün dört defa 30 dakika süre ve 15 dakika aralıklar ile 15 gün boyunca uygulandı. Analjezik etki ölçümü tail-flick ve hot-plate testleri ile gerçekleştirildi. Analjezi testinden önce sıçanlara nitrik oksit donörü SNAP (30 mg/kg) ve NOS inhibitörleri L-NAME (40 mg/kg) ve 7-NI (25 mg/kg) intraperitoneal olarak enjekte edildi. Verilerin istatistiksel analizinde varyans analizi (iki yönlü ANOVA) kullanılmış ve çoklu karşılaştırma Tukey testleri ile yapıldı. İstatistiksel olarak anlamlılık düzeyi p <0.05 olarak ifade edildi.

Bulgular: Analjezi testi sonuçları, elektromanyetik alanın maksimum analjezik etkisinin 5 mT kuvvetinde ve 7. gün ölçümlerinde olduğunu gösterdi. Manyetik alana maruz kalan sıçanlara L-NAME ve 7-NI verilmesi analjezik etkide, EMA grubu sıçanlara göre anlamlı derecede artış görülmüştür (p<0.05). Aksine, manyetik alana maruz sıçanlara SNAP uygulanması analjezik etkileri EMA grubuna kıyasla önemli ölçüde düşürmüştür (p <0.05).

Sonuç: Elde edilen veriler, elektromanyetik alana maruz kalmış sıçanlara L-NAME ve 7-NI verilmesinin analjezik etkinliği arttırdığını, buna karşın SNAP uygulamasının analjezik aktiviteyi azalttığını göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Analjezi, Elektromanyetik alan, NOS inhibitörleri, L-NAME, 7-NI

Abstract

Objective: It is known that the electromagnetic field (EMF) reduces the different types of pain. However, the mechanism of magnetic field analgesia is not fully understood. Our aim of this study is to investigate the effects of nitric oxide synthase (NOS) inhibitors on analgesia induced by extremely low frequency EMF in rats.

Material and Methods: In this study were used 72 adult male Wistar albino rats (approximately 230 ± 12 g). The rats were provided environment where is at 22 ± 2 °C room temperature, 12-hour light/dark cycle and insulated from sound. The application of electromagnetic field (50 Hz), the same times for 30 minutes each day for 15 days, and a total of four times every 15 minute intervals. The analgesic effect measurement was performed by tail-flick and hot-plate tests. Prior to analgesia test, nitric oxide donor SNAP (30 mg/kg) and NOS inhibitors L-NAME (40 mg/kg) and 7-NI (25 mg/kg) were injected intraperitoneally in rats. In the statistical analyzes of the data, analysis of variance (two-way ANOVA) was used and the multiple comparison determined by Tukey tests. The level of statistically significant was expressed p <0.05.

Results: Analgesia test results indicated that the maximum analgesic effect of electromagnetic field produces in 5 mT and on day 7. Administration of L-NAME and 7-NI in rats exposed to a magnetic field the analgesic effects were significantly higher than EMF group rats (p<0.05). On the contrary, administration of SNAP in rats exposed to a magnetic field the analgesic effects significantly reduced compared to the EMF group (p <0.05).

Conclusion: Obtained data suggested that the administration of L-NAME and 7-NI increased analgesic efficacy subjected to electromagnetic field in rats, whereas the administration of SNAP reduced the analgesic activity.

Key words: Analgesia, Electromagnetic field, NOS inhibitors, L-NAME, 7-NI

Genel Tıp Derg 2017;27(4):121-128

Alınan: 07.03.2017 / 17.04.2017 / 13.11.2017

Yazışma adresi: Ercan Özdemir, Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Sivas

E-posta: ercan_ozdemir@hotmail.com

Giriş

Elektromanyetik alanların (EMA) çok sayıda biyolojik fonksiyonları hücre, davranışsal ve nörobiyolojik düzeyde etkilediği bilinmesine rağmen etki mekanizmaları tam olarak aydınlatılmış değildir (1,2). Genel olarak, EMA ile ilgili parametrelerin değişkenliği ve gerçek biyolojik etkileri ilgili bilgilerin sınırlı olması nedeniyle aktiviteleri ile ilgili değerlendirme yapmak oldukça güçtür.

Çok düşük frekanslı (ÇKF, 0 - 300 Hz) elektromanyetik alanlar sağlığa olumlu etkileri tespit edildikten sonra kemik kırıkları, bacak ülserleri, çeşitli ekstremitte yaralanmaları, migren, osteoartrit ve nörodejeneratif hastalıklar gibi çeşitli klinik vakalarda tedavi amaçlı kullanılmıştır (3-5). Transkranyal elektromanyetik alan uygulaması Alzheimer hastalığı için etkili bir tedavi seçeneği olabileceği ifade edilmiştir (6). Bunun dışında, manyetik stimülasyonun deney hayvanları hastalık modellerinde çeşitli fizyolojik fonksiyonları düzenlediği ve tedavi edici etkileri olduğu gösterilmiştir. Manyetik alan serebral iskemiyi azaltmakta ve depresyon, Parkinson ve Huntington hastalığında tedavi edici özellikler göstermektedir (7). EMA protein ekspresyonlarını modüle ettiği gibi nörotransmitter ve nöromodülatör sistemleri düzenleyerek nöroprotektif etkiler oluşturur ve beyinde oksidatif hasarı azaltır (8, 9). Elektromanyetik alan uygulamasının bu olumlu etkileri yanında olumsuz etkileri olduğunu gösteren çalışmalar da bulunmaktadır. Bu çalışmalardan birinde sıçanlara EMA uygulaması ile uzun dönemde akciğer ve karaciğerde hücre hasarı olduğu, bunun çinko verilmesi ile düzeldiği gösterilmiştir (10). Diğer bir çalışmada ise elektromanyetik alanın sıçan beyin dokusunda oluşturduğu hasarın çinko ile iyileştiği tespit edilmiştir (11).

Çok düşük frekanslı manyetik alanların analjezik etkileri ile ilgili ilk bilgiler Ossenkopp ve ark. tarafından 1985 yılında fareler üzerinde yaptıkları bir çalışmada ortaya konmuştur (12). Daha sonra, Kavaliers ve ark.'nın toprak solucanı *Cepaea nemoralis* üzerindeki elektromanyetik alan çalışmalarını bu bulguları desteklemiştir (13). 50 Hz elektromanyetik alana maruz bırakılan diyabetik sıçanlarda antinöroseptif etki tespit edilmiştir (14). Çeşitli çalışmalar manyetik alanın romatoid artrit, psöriazis ve tendinit sonucu oluşan enflamatuvar ağrıyı azalttığını göstermiştir (15, 16). ÇDF-EMA'nın analjezik etkileri ile ilgili çok sayıda çalışma olsa da bunun aksine, ağrı duyarlılığını arttırdı-

ğına dair farklı deneysel araştırmalar da bulunmaktadır. Bu çalışmalarda, manyetik alanın endojen opioidlerin analjezik etki mekanizmalarına etki ederek ağrı duyusunu arttırdığı ifade edilmektedir (17).

Elektromanyetik alan maruziyeti ile oluşan analjezik etki mekanizması konusunda birçok farklı teoriler öne sürülmüştür. Bu mekanizmalar opioid, P-maddesi, beta-endorfin ve serotonin (5-HT) ile ilgilidir (18). Toprak solucanları (*Cepaea nemoralis*) üzerinde yapılan bir çalışmada, manyetik alana 0.1 - 0.8 militesla (mT) gücünde ve 0.5 Hz frekansta 15-30 dakika maruziyet ile opioid agonistlerin analjezik etkisinde önemli artmalar olduğu tespit edilmiştir (19). Diğer taraftan, çok sayıda çalışma eksternal ÇDF-EMA uygulamasının beyinde nitrik oksiderjik, serotonerjik ve dopaminerjik nöral iletimi de düzenlediğini ortaya çıkarmıştır (20).

Çok sayıda çalışma, nitrik oksit (NO) termal olmayan elektromanyetik alanların oluşturduğu biyolojik yanıtlarda önemli bir role sahip olduğunu göstermiştir. Elektromanyetik alanlar Ca^{2+} bağlanma kinetiklerini hızlandırıp kalmodulini düzenleyerek NO üretimini yaklaşık 3 kat artırmaktadır (21). Ayrıca, klinik çalışmada ve hayvan modellerinde EMA'nın Ca/CaM -bağımlı NO üretimi ile doku iyileşmesi, anjiyogenez, inflamasyon ve ağrı üzerine önemli etkiler oluşturduğu bildirilmiştir (22). Manyetik alan maruziyetinin insan keratinosit hücrelerinde (HaCaT hücre hattı) nitrik oksit sentaz (NOS) aktivasyonu ve NO ekspresyonunu arttırdığı tespit edilmiştir (23). Nitrik oksit sinir sistemi boyunca ağrı oluşum mekanizmasına karıştığı bilinmektedir. Bununla uyumlu olarak, akut ve kronik nöropatik ağrı modellerinde NOS inhibitörlerinin hiperanaljezik ağrı oluşumunu azalttıkları gösterilmiştir (24). Ayrıca, akut ve kronik ağrıda intratekal olarak verilen L-NG-Nitroarginine methyl ester (L-NAME) ve 7-Nitroindazol (7-NI)'un ağrı iletimini inhibe ettiği rapor edilmiştir (25, 26).

Elektromanyetik alanların analjezik etkilerine yönelik çok sayıda kanıt olmasına rağmen, etki mekanizmaları ilgili yeterli sayıda çalışma bulunmamaktadır. Bizim bu çalışmada amacımız, NOS inhibitörleri olan L-NAME ve 7-NI'nin elektromanyetik alanın oluşturduğu analjezi üzerine etkilerini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem

Nitrik oksit sentaz (NOS) inhibitörlerinin sıçanlarda çok düşük frekanslı manyetik alanın indüklediği analjezi üzerine etkileri - Özdemir E, Demirkazık A, Taşkıran AŞ, Kılınç O. ve Arslan G.

Bu çalışma, Deneysel Hayvanları Yerel Etik Kurul izni (CU-HEK/2014-67) alındıktan sonra Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Deneysel araştırmada toplam 72 adet Wistar albino sıçan (ağırlığı yaklaşık 230 ± 12 g) kullanıldı. Sıçanlar $22 \pm 2^\circ\text{C}$ oda sıcaklığında 12 saatlik aydınlık/karanlık siklusunun sağlandığı ve sestem yalıtılmış ortamda tutuldu ve kafeste yeterli miktarda yem ve su bulunduruldu. Analjezi testleri öncesinde tüm deney hayvanlarının laboratuvar koşullarına uyumu sağlandı. Deneysel çalışmalar, 10: 00 - 17: 00 saatleri arasında gerçekleştirildi.

Analjezi Testleri

Termal ağrıyı değerlendirmek için standardize edilmiş Tail-flick test (May TF 0703 Tail-flick Unit, Commat) ve Hot-plate test (May AHP 0603 Analgesic HP, Commat) cihazları kullanıldı. Tail-flick testinde, radyant ısı kaynağından çıkan ışınlar salin solüsyonu veya test ilaçlarının intraperitoneal (i.p.) olarak verilmesinden sonra sıçan kuyruğunun 3 cm distaline uygulandı. Sıçan kuyruğuna radyant ısı uygulanmasından sonra tail-flick latans (TFL) süreleri tespit edildi. Hayvanların bazal TFL süreleri yaklaşık olarak 2.9 ± 0.5 saniye (s) düzeyinde tespit edildi. 2.4 s altında veya 3.4 s üzerinde bazal latans sürelerine sahip olan sıçanlar araştırmaya dahil edilmedi. Doku hasarını önlemek için, test sonlandırma süresi (cutoff latency) 15 s ile sınırlandırıldı. 15 saniyeden daha uzun üzere yanıt vermeyen hayvanlar çalışma dışı kaldı. Bu testte elde edilen cevaplar ağrının merkezi mekanizmalarına işaret etmektedir (27, 28).

Hot-plate testte, sıçanlardan herbiri sıcaklığı $55 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 'ye ayarlanmış ısı tabloları üzerine bırakıldı. Hayvanın sıcaktan korunmak için, ayağını ilk yalama veya kaldırma hareketi ağrı eşiğini ve latans süresini vermektedir. Bu testte, sıçan ayağının yaralanmasını önlemek için test kesme süresi (cutoff latency) 30 s ile sınırlandırıldı. Hot-plate teste verilen cevaplar, ağrının periferik ve merkezi mekanizmalarının bir kombinasyonunu oluşturur (27).

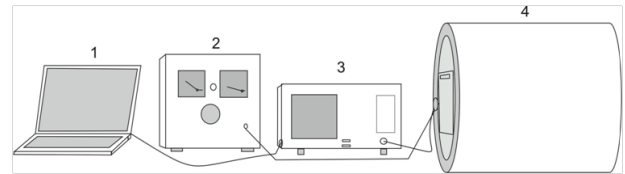
Elektromanyetik Alan Uygulaması

Elektromanyetik alan maruziyet sistemi 4 bölümden oluşur (Şekil 1): 1. Bilgisayar, 2. Güç kaynağı, 3. Dijital Teslametre (Phywe, 80010), 4. Selenoid ve kafes. EMA uygulamasından önce tüm hayvanların 1 hafta süresince ortama adaptasyonları sağlandı. Bu süre boyunca sıçanlar günde

en az 3 kez, her defasında 30 dakika olmak üzere selenoid içindeki kafeste tutuldular. Deneysel çalışma sırasında sıçanlar, 15 gün boyunca önceden belirlenmiş periyotlarla 50 Hz frekans ve 3 farklı manyetik akı yoğunluğunda (1 mT, 5 mT ve 10 mT) elektromanyetik alana maruz bırakıldılar.

Elektromanyetik alan oluşturmak için, 1.4 mm kalınlığındaki izole edilmiş bakır telin 500 mm boyunda ve 210 mm çapında selenoide 1400 kez sarılması ile oluşan özel olarak tasarlanmış düzenek kullanılmıştır. Zaman rölesi içeren cihaz ile alternatif elektrik akımı (50 Hz, 220 V) selenoid içinden geçirildi. Alternatif EMA sıçanlara günde dört defa olacak şekilde 30 dk süre ve 15 dk aralıklar ile uygulandı. Böylece, EMA uygulaması hergün yaklaşık aynı saatlerde (sabah 9.00-12.00) ve 165 dk süre boyunca gerçekleştirilmiş oldu. Elektromanyetik alan yoğunluğu aksiyal prob içeren dijital teslametre (Phywe, 80010) ile ölçülüp değerlendirildi. Selenoidin yönü, kuzey-güney doğrultusunda tutuldu ve sıcaklık yaklaşık olarak $22.0 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de sabitlendi. Pleksiglas kafes ($40 \times 17 \times 13$ cm boyutlarında) selenoidin içerisine yerleştirildi. Her defasında eşzamanlı olarak, 3 adet sıçan EMA maruziyeti için kafes içine konuldu. Kontrol grubu sıçanlar da kafeslere yerleştirildi ancak elektromanyetik alana maruziyetleri engellendi. Sıçanlar için kafeste yeterli miktarda sıçan yemi ve su bulunduruldu.

Şekil 1. Elektromanyetik alan maruziyet sistemi: 1. Bilgisayar, 2. Güç kaynağı, 3. Dijital Teslametre (Phywe, 80010), 4. Selenoid ve kafes.



Deneysel Protokoller

Kontrol dışında tüm gruplar, 15 gün boyunca seçili günlerde (1, 4, 7, 11 ve 15. gün) manyetik alana maruz bırakıldı. Aynı günlerde tüm sıçanlara tail-flick ve hot-plate analjezi testleri uygulandı. Analjezi testlerine alınacak sıçanlar her grupta rastgele olarak belirlendi. Herbir gruptaki sıçan (n= 6) için üç farklı manyetik alan yoğunluğundaki (1 mT, 5 mT ve 10 mT) analjezik etkiler 30 dk aralıklarla (0, 30, 60, 90 ve 120 dk) ölçüldü. İlk olarak, elektromanyetik ala-

nın 15 gün içinde maksimum analjezik etkinlik gösterdiği gün tespit edildi. Daha sonra, manyetik alana maruz bırakılan sıçanlara NO donörü S-nitroso N asetil penisil amin (SNAP, 30 mg/kg; i.p.) ve NOS inhibitörleri L-NAME (40 mg/kg; i.p.) ve 7-NI (25 mg/kg; i.p.) verilerek analjezik etkileri tail-flick ve hot-plate testleri ile belirlendi.

Veri Analizi

Analjezi testleri (Tail-flick ve Hot-plate test) sonrası ölçülen latans süreleri kullanılarak antinoseptif etkinin göstergesi olan maksimal potansiyel etkinin yüzdesi (% MPE, maximum possible effect) aşağıda formüle göre hesaplandı:

$$\% \text{ MPE} = [(test \text{ süresi} - \text{ bazal latans süresi}) / (test \text{ kesme süresi} - \text{ bazal latans süresi})] \times 100$$

İstatistiksel Analiz

Verilerin (% MPE) istatistiksel analizinde çift-yönlü varyans analizi (ANOVA) ve tekrarlı ölçümler ANOVA testi kullanıldı. Gruplararası farklılığın hangi gruptan kaynaklandığı çoklu karşılaştırma testi olan Tukey HSD testi (post-hoc test) ile belirlendi (windows SPSS vers. 22.0). Tüm veriler ort. \pm standart hata (SH) olarak gösterildi ve istatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak ifade edildi.

Bulgular

Üç Farklı Yoğunluktaki (1 mT, 5 mT ve 10 mT) EMA'nın Analjezik Etkileri

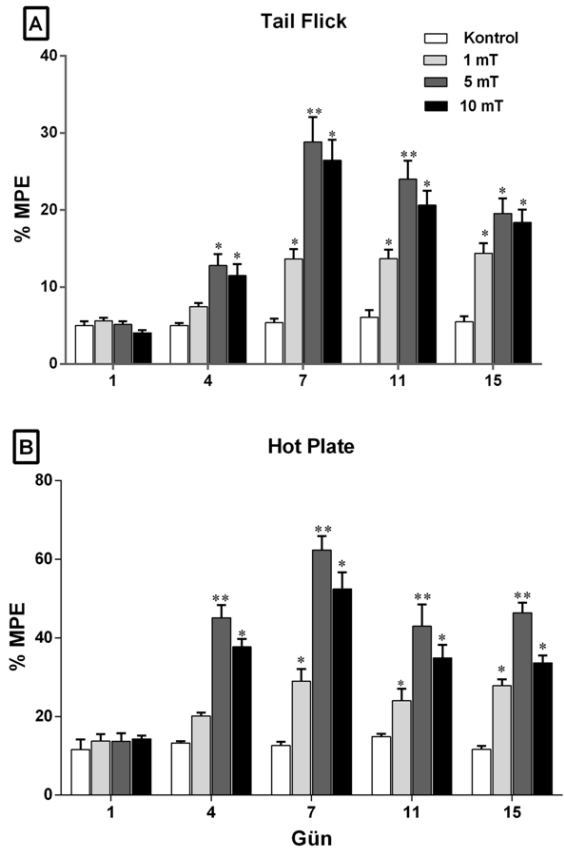
Manyetik alanın maksimal analjezik etkisi tüm gruplarda (1 mT, 5 mT ve 10 mT) 7. gün ölçümlerinde gözlenmiştir (Şekil 2). Maksimal analjezik etkinlik 5 mT manyetik alan yoğunluğunda elde edilmiştir. 1 mT (tail-flick: 13.61 ± 1.25 ve hot-plate: 29.05 ± 3.01), 5 mT (tail-flick: 25.91 ± 3.01 ve hot-plate: 62.23 ± 3.11) ve 10 mT (tail-flick: 25.35 ± 2.31 ve hot-plate: 53.52 ± 3.69) manyetik alanın analjezik aktivitesi kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek ölçülmüştür ($p < 0.01$). 5 mT manyetik alanda elde edilen analjezik etkiler 10 mT manyetik alana göre anlamlı olarak yüksek tespit edilmiştir ($p < 0.05$).

L-NAME'in Elektromanyetik Alanın Oluşturduğu Analjeziye Etkileri

Elde edilen bulgular, tüm gruplarda maksimal analjezik etkinin (% MPE) 90 dk ölçümlerinde elde edildiğini or-

taya koymuştur (Şekil 3). EMA maruziyeti (5 mT) olan sıçanlarda hem tail-flick (30.11 ± 2.45) hem de hot-plate (64.15 ± 4.50) testte salin grubuyla (sırasıyla 7.65 ± 0.98 ; 14.26 ± 2.12) karşılaştırıldığında anlamlı bir analjezik etki görülmüştür ($p < 0.01$). Test ölçümleri, manyetik alana maruz bırakılan sıçanlara bir NOS inhibitörü olan L-NAME verilen grupta (tail-flick: 37.98 ± 3.35 ve hot-plate: 75.26 ± 5.32) analjezik etkide EMA grubuna göre anlamlı bir artış olduğunu göstermiştir ($p < 0.05$).

Şekil 2. Üç farklı yoğunluktaki (1 mT, 5 mT ve 10 mT) elektromanyetik alanın (EMA) analjezik etkileri. * $p < 0.01$, gruplar kontrole göre karşılaştırıldığında, ** $p < 0.05$, 5 mT grubu analjezik etkileri 10 mT grubu ile karşılaştırıldığında.



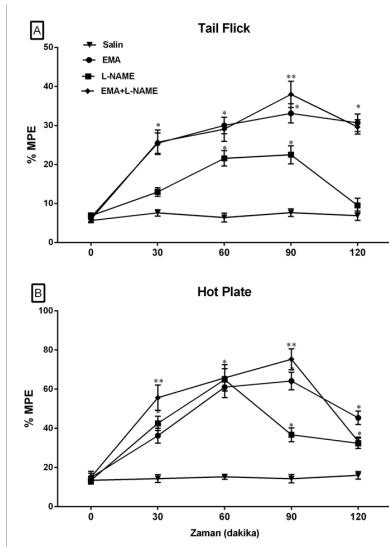
7-NI'ün Elektromanyetik Alanın Oluşturduğu Analjeziye Etkileri

L-NAME grubunda olduğu gibi 7-NI gruplarında da maksimal analjezik etki 90 dk ölçümlerinde elde edilmiştir (Şekil 4). EMA maruziyeti (5 mT) olan sıçanlarda hem tail-flick (31.10 ± 2.39) hem de hot-plate (65.01 ± 4.45) testte salin grubu (sırasıyla 7.65 ± 0.98 ; 14.26 ± 2.12) ile kar-

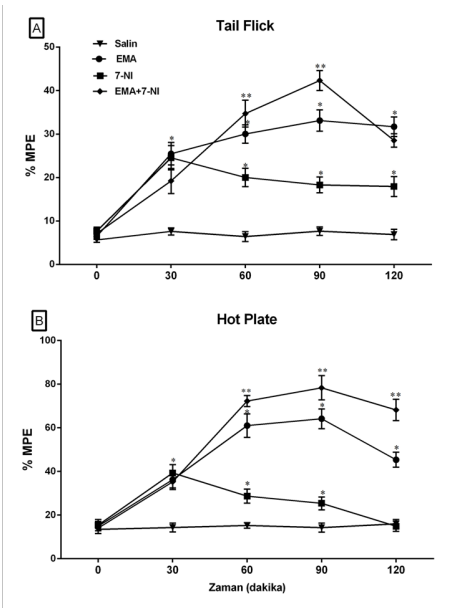
Nitrik oksit sentaz (NOS) inhibitörlerinin sıçanlarda çok düşük frekanslı manyetik alanın indüklediği analjezi üzerine etkileri - Özdemir E, Demirkazık A, Taşkıran AŞ, Kılınç O. ve Arslan G.

şılaştırıldığında anlamlı bir analjezik etki (% MPE) görülmüştür ($p<0.01$). Test ölçümleri, manyetik alana maruz bırakılan sıçanlara 7-NI (NOS inhibitörü) verilen grupta (tail-flick: 42.31 ± 2.31 ve hot-plate: 78.35 ± 5.61) analjezik etkide EMA grubuna göre anlamlı bir artış olduğunu göstermiştir ($p<0.05$).

Şekil 3. L-NAME'in elektromanyetik alanın oluşturduğu analjeziye etkileri. * $p<0.01$, gruplar salin grubu ile karşılaştırıldığında, ** $p<0.05$, EMA+L-NAME grubu analjezik etkileri EMA grubu ile karşılaştırıldığında.



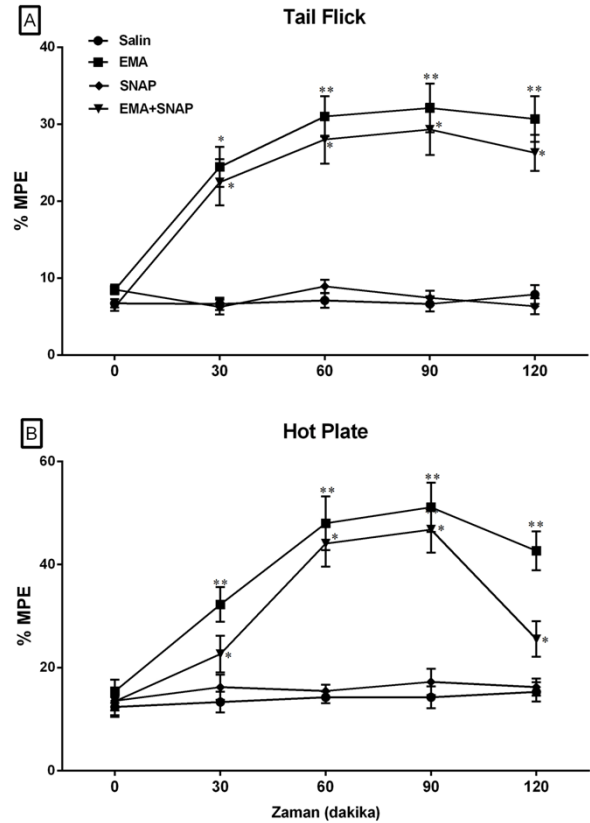
Şekil 4. 7-NI'nin elektromanyetik alanın oluşturduğu analjeziye etkileri. * $p<0.01$, gruplar salin grubu ile karşılaştırıldığında, ** $p<0.05$, EMA+7-NI grubu analjezik etkileri EMA grubu ile karşılaştırıldığında.



SNAP'in Elektromanyetik Alanın Oluşturduğu Analjeziye Etkileri

Tüm gruplarda maksimal analjezik etki 90 dk ölçümlerinde elde edilmiştir (Şekil 5). EMA maruziyeti (5 mT) olan sıçanlarda hem tail-flick (32.11 ± 2.31) hem de hot-plate (51.13 ± 4.78) teste salin grubu (sırasıyla 6.61 ± 0.99 ; 14.42 ± 2.33) ile karşılaştırıldığında anlamlı bir analjezik etki (% MPE) görülmüştür ($p<0.01$). Test ölçümleri, manyetik alana maruz bırakılan sıçanlara SNAP (NO donörü) verilen grupta (tail-flick: 29.31 ± 3.33 ve hot-plate: 46.78 ± 4.45) analjezik etkide EMA grubuna göre anlamlı bir azalma olduğunu göstermiştir ($p<0.05$).

Şekil 5. SNAP'in elektromanyetik alanın oluşturduğu analjeziye etkileri. * $p<0.01$, gruplar salin grubu ile karşılaştırıldığında, ** $p<0.05$, EMA grubu analjezik etkileri EMA+SNAP grubu ile karşılaştırıldığında.



Tartışma

Elde ettiğimiz bulgular üç önemli sonuç ortaya koymuştur. Birincisi, 15 günlük elektromanyetik alana maruz bırakılan sıçanlarda maksimal analjezik etki 7. günde ve 5 mT

manyetik alan kuvvetinde tespit edilmiştir. İkincisi, NOS inhibitörleri (L-NAME ve 7-NI) elektromanyetik alanın oluşturduğu analjezik etkiyi artırmıştır. Üçüncüsü ise, NO donörü SNAP manyetik alan analjezisini azaltmıştır.

Manyetik alanın analjezik etkinliği ile ilgili hayvanlar üzerinde yapılan çok sayıda çalışma bulunmaktadır (29, 30). Ayrıca, manyetik alanın insanlarda psöriazis, tendinit ve romatoid artrit gibi inflamatuvar ağrıları azalttığı gösterilmiştir (16, 31). Çok düşük frekanslı EMA maruziyetinin farelerde analjezik etkiye ve bazı davranış değişikliklerine neden olduğu gösterilmiştir (32). Benzer şekilde, günlük olarak 60 frekansta tekrarlı manyetik alan maruziyeti top- rak solucanlarında analjezik etkiye neden olmuştur (33). Bu çalışmada, tüm gruplarda maksimal analjezik etki 4. günde elde edilmiştir. Bizim sıçanlarda yaptığımız çalışmada ise maksimal analjezik etki tüm gruplarda 7. gün ölçümlerinde tespit edilmiştir.

Son zamanlarda, araştırmalar manyetik alanın analjezik etki mekanizması üzerine yoğunlaşmıştır. Manyetik alan analjezisinde opioidler ile ilgili mekanizmalar oldukça popüler olmuştur (30, 33). Bu çalışmaların çoğu opioidlerin periferik analjezi ölçümlerine yoğunlaşmıştır. Ancak, çok az çalışma merkezi sinir sistemi ile ilgili araştırmalardan oluşmaktadır. Manyetik alanın analjezik etkisinin opioid antagonistler ile bloke olduğu gösterilmiştir (34). Buna ilave olarak, Thomas ve ark. (35) opioidlere karşı tolerans gelişmiş toprak solucanlarında manyetik alanın analjezik etkisinin azaldığını ancak tam olarak ortadan kalkmadığını bildirmişlerdir. Ayrıca, çok düşük frekanslı 100 µT manyetik alanın farelerde morfinin analjezik etkisini artırdığı ifade edilmiştir (30).

Opioid olmayan ve ağrı regülasyonunda rol alan serotonin (5-HT), endorfin ve P- maddesinin de manyetik alanın analjezik etkisini düzenlediği bildirilmiştir (18). Bu çalışmada, sıçanlar 55 frekans ve 8.1 mT kuvvetinde manyetik alana maruz bırakıldığında hipotalamusta β-endorfin ve serotonin düzeyinde artış, P-maddesi düzeyinde ise azalma tespit edilmiştir. Tail-flick test ile ölçülen analjezik etkide ise anlamlı bir artış görülmüştür. P- maddesi ağrı iletiminin akut ve kronik düzenlenmesine katılır ve opioidlerin analjezik etkilerine katkıda bulunur. Ayrıca, manyetik alan beyinde hem endorfin hem de 5-HT düzenlenmesini sağlar (36).

Nitrik oksit, vücutta L-arjinin'den NOS enzimi ile devamlı

olarak üretilen çok önemli bir fizyolojik medyatördür. NO vasküler düz kası gevşetir, trombosit agregasyonunu önler ve öğrenme, görme, inflamatuvar reaksiyonlarda önemli roller üstlenir (37). Tüm bu etkilerin yanında, NO sinir sistemi boyunca ağrı oluşum mekanizmasına katılır ve ağrının sinirsel iletim yollarında düzenleyici olarak görev üstlenir (38, 39). Bununla birlikte, selektif NOS1 inhibitörleri olan 7-NI ve (1-(2-Trifluoromethylphenyl) imidazol'un (TRIM) etkin analjezik aktiviteleri olduğu in vitro çalışmalarda gösterilmiştir (40, 41). Elektromanyetik alan maruziyetinin farklı dokularda NO seviyesini etkilediği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. İnsan hücre kültüründe yapılan bir çalışmada çok düşük frekanslı manyetik alanın NOS enzimini inhibe ederek NO düzeylerini azalttığı gösterilmiştir (23). EMA'nın analjezik etkisini açıklayan bir mekanizma nitrik oksit düzeylerini azaltıp endojen opioidleri indüklemesidir (1). Bunun aksine, fareler üzerinde yapılan bir çalışmada ise EMA maruziyetinin hipokampüste NO oluşumunu arttırdığı ifade edilmiştir (42, 43). Benzer şekilde ÇDF-EMA'nın Ca/CaM yolağına bağlı olarak NO sentezini indüklediği bildirilmiştir (21). Bundan başka, farelerde çok düşük frekanslı elektromanyetik alan maruziyeti ile nitrik oksit sentaz enzimini düzenleyerek hiperanaljezik etki yaptığı gösterilmiştir (44). Elde ettiğimiz bulgularla uyumlu olarak, sıçanlara bir NOS inhibitörü olan L-NAME verilmesi ile opioidlerin analjezik etkisinin arttığı rapor edilmiştir (45).

Sonuç olarak, elde ettiğimiz bulgular elektromanyetik alan uygulanan sıçanlara NOS inhibitörleri L-NAME ve 7-NI verilmesi analjezik etkiyi arttırmış, buna karşın NO donörü SNAP uygulanması manyetik alanın analjezik etkisini azaltmıştır. Elektromanyetik alanın analjezik etki mekanizmasını, NO ve NOS enzimi ile ilişkisini tam olarak ortaya çıkarmak için daha ileri çalışmalara gereksinim vardır.

Kaynaklar

1. Del Seppia C, Ghione S, Luschi P, Ossenkopp K-P, Choleris E, Kavaliers M. Pain perception and electromagnetic fields. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 2007; 31:619-42.
2. Sienkiewicz Z, Jones N, Bottomley A. Neurobehavioral effects of electromagnetic fields. *Bioelectromagnetics* 2005;7:116-26.
3. Vallbona C, Richards T. Evolution of magnetic therapy from alternative to traditional medicine. *Physical Medicine and Rehabilitation Clinics of North America* 1999;10:729-54.
4. Bachl N, Ruoff G, Wessner B, Tschan H. Electromagnetic

- interventions in musculoskeletal disorders. *Clin Sports Med* 2008; 27:87-105.
5. Eming SA, Krieg T, Davidson JM. Inflammation in wound repair: molecular and cellular mechanisms. *J Invest Dermatol* 2007;127:514-25.
 6. Arendash GW. Review of the evidence that transcranial electromagnetic treatment will be a safe and effective therapeutic against Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease* 2016;53:753-71.
 7. Medina FJ, Túnez I. Huntington's disease: the value of transcranial magnetic stimulation. *Curr Med Chem* 2010;17:2482-91.
 8. Cuccurazzu B, Leone L, Podda MV, et al. Exposure to extremely low-frequency (50 Hz) electromagnetic fields enhances adult hippocampal neurogenesis in C57BL/6 mice. *Exp Neurol* 2010; 226:173-82.
 9. Keck ME, Sillaber I, Ebner K, et al. Acute transcranial magnetic stimulation of frontal brain regions selectively modulates the release of vasopressin, biogenic amines and amino acids in the rat brain. *Eur J Neurosci* 2000;12:3713-20.
 10. Baltaci AK, Mogulkoc R, Salbacak A, Celik I, Sivrikaya A. The role of zinc supplementation in the inhibition of tissue damage caused by exposure to electromagnetic field in rat lung and liver tissues. *Bratisl Lek Listy* 2012;113:400-3.
 11. Bediz CS, Baltaci AK, Mogulkoc R, Oztekin E. Zinc supplementation ameliorates electromagnetic field-induced lipid peroxidation in the rat brain. *Tohoku J Exp Med* 2006;208:133-40.
 12. Ossenkopp K-P, Kavaliers M, Prato FS, Teskey GC, Sestini E, Hirst M. Exposure to nuclear magnetic resonance imaging procedure attenuates morphine-induced analgesia in mice. *Life Science* 1985;37:1507-14.
 13. Kavaliers M, Ossenkopp KP, Tysdale DM. Evidence for the involvement of protein kinase C in the modulation of morphine-induced 'analgesia' and the inhibitory effects of exposure to 60-Hz magnetic field in the snail, *Cepaea nemoralis*. *Brain Research* 1991;554:65-71.
 14. Kosar MI, Demir T, Demirkazık A, Deveci K, Ozdemir E, Gulturk S. Antinociceptive effects in normal and diabetic rats exposed to 50 hz magnetic field. *Neurophysiology* 2012;44:56-62.
 15. Thomas AW, White KP, Drost DJ, Cook CM, Prato FS. A comparison of rheumatoid arthritis and fibromyalgia patients and healthy controls exposed to a pulsed (200 microT) magnetic field: Effects on normal standing balance. *Neurosci Lett* 2001; 309:17-20.
 16. Johnson MT, Waite LR, Nindl G. Noninvasive treatment of inflammation using electromagnetic fields: Current and emerging therapeutic potential. *Biomed Sci Instrum* 2004; 40: 469-74.
 17. Lai H, Carino M. Intracerebroventricular injection of mu- and delta-opiate receptor antagonists block 60 Hz magnetic field-induced decreases in cholinergic activity in the frontal cortex and hippocampus of the rat. *Bioelectromagnetics* 1998;19:432-7.
 18. Bao X, Shi Y, Huo X, and Song T. A possible involvement of β -endorphin, Substance P, and serotonin in rat analgesia induced by extremely low frequency magnetic field. *Bioelectromagnetics* 2006; 27: 467-72.
 19. Kavaliers M, Ossenkopp K-P. Magnetic fields inhibit opioid-mediated "analgesic" behaviour of the terrestrial snails, *Cepaea nemoralis*. *Journal of Comparative Physiology A* 1988;162:551-8.
 20. Sieron A, Labus L, Nowak P, et al. Alternating extremely low frequency magnetic field increases turnover of dopamine and serotonin in rat frontal cortex. *Bioelectromagnetics* 2004; 25: 426-30.
 21. Pilla AA. Electromagnetic fields instantaneously modulate nitric oxide signaling in challenged biological systems. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2012; 426: 330-3.
 22. Cheng G, Zhai Y, Chen K, et al. Sinusoidal electromagnetic field stimulates rat osteoblast differentiation and maturation via activation of NO-cGMP-PKG pathway. *Nitric Oxide* 2011; 25: 316-25.
 23. Patruno A, Amerio P, Pesce M, et al. Extremely low frequency electromagnetic fields modulate expression of inducible nitric oxide synthase, endothelial nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 in the human keratinocyte cell line HaCat: potential therapeutic effects in wound healing. *British Journal of Dermatology* 2010; 162: 258-66.
 24. Moore PK, Oluoyomi A, Babbidge RC, Wallace P, Hart SL. L-NG-nitro arginine methyl ester exhibits antinociceptive activity in the mouse. *Br J Pharmacol* 1991;102: 198-202.
 25. Machelska H, Przewlocki R, Radomski MW, Przewlocka B. Differential effects of intrathecally and intracerebroventricularly administered nitric oxide donors on noxious mechanical and thermal stimulation. *Pol J Pharmacol* 1998; 50:407-15.
 26. Wong CS, Cherng CH, Tung CS. Intrathecal administration of excitatory amino acid receptor antagonists or nitric oxide synthase inhibitor reduced autotomy behavior in rats. *Anesth Analg* 1998;87:605-8.
 27. Kanaan SA, Saade NE, Haddad JJ, et al. Endotoxin-induced local inflammation and hyperalgesia in rats, a new model for inflammatory pain. *Pharmacology* 1996;66:373-9.
 28. Ramabadran K, Bansinath M, Turndorf H, Puig MM. The hyperalgesic effect of naloxone is attenuated in streptozotocin-diabetic mice. *Psychopharmacology (Berl.)* 1989; 97:169-74.
 29. Martin LJ, Persinger MA. Thermal analgesia induced by 30-min exposure to 1 mT burst-firing magnetic fields is strongly enhanced in a dose-dependent manner by the α_2 agonist clonidine in rats. *Neurosci Lett* 2004;366:226-9.
 30. Shupak NM, Hensel JM, Cross-Mellor SK, Kavaliers M, Prato FS, Thomas AW. Analgesic and behavioral effects of a 100 mT specific pulsed extremely low frequency magnetic field on control and morphine treated CF-1mice. *Neurosci Lett* 2004; 354:30-3.
 31. Nindl G, Balcavage WX, Vesper DN, et al. Experiments showing that electromagnetic fields can be used to treat

inflammatory diseases. Biomed Sci Instrum 2000; 36: 7-13.

32. Kavaliers M, Ossenkopp KP. Tolerance to morphine-induced analgesia in mice: Magnetic fields function as environmental specific cues and reduce tolerance development. Life Sci 1985;37:1125-35.
33. Kavaliers M, Ossenkopp KP. Repeated naloxone treatments and exposures to weak 60 Hz magnetic fields have analgesic effects in snail. Brain Res 1993;620:159-62.
34. Thomas AW, Kavaliers M, Prato FS, Ossenkopp KP. Pulsed magnetic field induced "analgesia" in the Land Snail, *Cepaea nemoralis*, and the effects of m, d, and k opioid receptor agonists/antagonists. Peptides 1997a;18:703-9.
35. Thomas AW, Kavaliers M, Prato FS, Ossenkopp KP. Analgesic effects of a specific pulsed magnetic field in the land snail, *Cepaea nemoralis*: Consequences of repeated exposures, relations to tolerance and cross-tolerance with DPDPE. Peptides 1997b;19:333-42.
36. Rosen A, Zhang YX, Lund I, Lundeberg T, Yu LC. Substance P microinjected into the periaqueductal gray matter induces antinociception and is released following morphine administration. Brain Res 2004;1001:87-94.
37. Atalık KE, Doğan N. Nitrik oksit ve fizyolojik etkileri. Genel Tıp Derg 1997;7:167-9.
38. Makuch W, Mika J, Rojewska E, Zychowska M, Przewlocka B. Effects of selective and non-selective inhibitors of nitric oxide synthase on morphine- and endomorphin-1-induced analgesia in acute and neuropathic pain in rats. Neuropharmacology 2013;75: 445-57.
39. Ozdemir E, Bagcivan I, Durmus N, Altun A, and Gursoy S. The nitric oxide-cGMP signaling pathway plays a significant role in tolerance to the analgesic effect of morphine. Canadian Journal of Physiology and Pharmacology 2011;89:89-95.
40. Moore PK, Wallace P, Gaffen Z, Hart SL, Babbedge RC. Characterization of the novel nitric oxide synthase inhibitor 7-nitro indazole and related indazoles: antinociceptive and cardiovascular effects. Br J Pharmacol 1993;110:219-24.
41. Handy RL, Wallace P, Gaffen ZA, Whitehead KJ, Moore PK. The antinociceptive effect of 1-(2-trifluoromethylphenyl) imidazole (TRIM), a potent inhibitor of neuronal nitric oxide synthase in vitro, in the mouse. Br J Pharmacol 1995;116:2349-50.
42. Bawin SM, Satmary WM, Jones RA, Adey WR, Zimmerman G. Extremely low frequency magnetic field disrupt rhythmic slow activity in rat hippocampal slices. Bioelectromagnetics 1996; 17: 388-95.
43. Yoshikawa T, Tanigawa M, Tanigawa T, Imai A, Hongo H, Kondo M. Enhancement of nitric oxide generation by low frequency electromagnetic field. Pathophysiology 2000;7:131-5.
44. Jeong JH, Kum C, Choi HJ, Park ES, Sohn UD. Extremely low frequency magnetic field induces hyperalgesia in mice modulated by nitric oxide synthesis. Life Science 2006;78:1407-12.
45. Machelska H, Labuz D, Przewlocki R, Przewlocki B. In-

hibition of nitric oxide synthase enhance antinociception mediated by mu, delta and kappa opioid receptors in acute and prolonged pain in the rat spinal cord. The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 1997; 282: 977-84.