



**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DİYABETİK NÖROPATİDE MİRTAZAPİN'İN OMURİLİK
VE ARKA KÖK GANGLİYONLARINDA BULUNAN İYON
KANALLARI VE NÖROPEPTİDLER ÜZERİNE ETKİSİ**

**TEZ TİPİ
DOKTORA TEZİ**

NURİYE EZGİ BEKTUR

**DANIŞMAN
PROF.DR. CENGİZ BAYÇU**

EYLÜL- 2017



**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DİYABETİK NÖROPATİDE MİRTAZAPİN'İN OMURİLİK
VE ARKA KÖK GANGLİYONLARINDA BULUNAN İYON
KANALLARI VE NÖROPEPTİDLER ÜZERİNE ETKİSİ**

**TEZ TİPİ
DOKTORA TEZİ**

NURİYE EZGİ BEKTUR

**DANIŞMAN
PROF. DR. CENGİZ BAYÇU**

**Bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma
Projeleri Komisyonunca Desteklenmiştir.
Proje No: 2014-515**

KABUL VE ONAY SAYFASI

Nuriye Ezgi BEKTUR 'un Doktora Tezi olarak hazırladığı "Diyabetik Nöropatide Mirtazapin'in Omurilik Ve Arka Kök Gangliyonlarında Bulunan İyon Kanalları Ve Nöropeptidler Üzerine Etkisi"başlıklı bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddesi uyarınca değerlendirilerek "**KABUL**" edilmiştir.

Tarih
15 / 09 / 2017

Üye: Prof. Dr. Cengiz BAYÇU

Üye: Prof. Dr. Varol ŞAHİNTÜRK

Üye: Doç. Dr. Özgür Devrim CAN

Üye: Doç. Dr. Ümide DEMİR ÖZKAY

Üye: Yrd. Doç. Dr. Dilek BURUKOĞLU DÖNMEZ

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 22 / 09 / 2017 tarih ve 1139/554 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Hasan Veysi GÜNEŞ
Enstitü Müdürü

ÖZET

Nöropatik ağrı, Diabetes mellitus'un en yıkıcı komplikasyonlarından biridir ve yaşam kalitesi üzerinde önemli bir etkisi vardır. Nöropati zamanla ilerler ve bu nedenle araştırmacılar için sinir sistemini diyabetik hasardan korumak önemli bir hedef haline gelmiştir.

Antidepresanlar yaygın olarak depresif olmayan kişilerde çeşitli ağrıların tedavisinde serotonin veya noradrenalinin geri alımını engelleyerek analjezik olarak reçete edilmektedir. Ancak antidepresanların analjezik etkisinin mekanizması tam olarak açıklanmış değildir. Etki düzeneği trisiklik antidepresanlardan, selektif serotonin geri alım inhibitörlerinden ve monoaminooksidaz inhibitörlerinden farklı olan Mirtazapin, "bir noradrenerjik ve spesifik serotonerjik antidepresan" olarak tanımlanmaktadır. Genel olarak mirtazapin akut ve kronik ağrının tedavisinde ilginç ve geniş bir etkinlik alanı gösteren yeni bir tedavi seçeneğidir. Hayvan çalışmalarında akut termal nosisepsiyonda ve kronik konstrüksiyon hasarına bağlı olarak gelişen nöropati modellerinde mirtazapinin antinosiseptif etkisi bulunmuştur.

Çalışmamızda mirtazapinin diyabetik nöropatideki antinosiseptif etki yolağını araştırmak amacıyla soğuk/sıcak termal ve mekanik hiperaljeziyi ölçen testlerin yanı sıra P maddesi, nöropeptid Y ve somatostatin nöropeptidleri ile Geçici reseptör vanilloid-1 ve Aside duyarlı iyon kanalı-1 iyon kanallarının ağrının anlamlandırıldığı arka kök gangliyonu ve omuriliğin lumbal 4 ve 5 bölgelerindeki ekspresyon miktarlarını western blot ve immünohistokimya yöntemleri ile araştırdık. Çalışmamızın sonucunda diyabetik nöropati grubunda ağrı eşiği düşüp NPY, STT ve iyon kanalları ekspresyonları artarken; mirtazapin grubunda ağrı eşikleri kontrol grubuna yaklaşırken ekspresyon seviyeleri düşmüştür. P maddesinin ekspresyon seviyesi diyabet ve özellikle mirtazapin gruplarında kontrol grubuna göre düşmüştür.

Sonuç olarak çalışmamızda mirtazapinin diyabetik nöropatide alternatif tedavi seçeneği olarak kullanılabileceği bulunmuştur. Ancak mirtazapinin dozunun ya da analjezik etkisine ait farklı yolların belirlenmesi için çeşitli bilim dalları tarafından farklı çalışmaların yapılması gerektiğini öngörmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Diyabetik nöropati, Mirtazapin, SP, STT, NPY, TRPV1, ASIC1.

SUMMARY

Neuropathic pain is one of the most devastating complications of diabetes mellitus and has a significant impact on quality of life. Neuropathy progresses over time, and for this reason it has become an important goal for researchers to protect the nervous system from diabetic damage.

Antidepressants are commonly prescribed analgesically to inhibit serotonin or noradrenalin reuptake in the treatment of various pain in non-depressed individuals. However, the mechanism of the analgesic effect of antidepressants is not fully explained. Mirtazapine is defined as a noradrenergic and specific serotonergic antidepressant, which differs from effective tricyclic antidepressants, selective serotonin reuptake inhibitors and monoamine oxidase inhibitors. In general, mirtazapine is a new treatment option that shows an interesting and wide range of efficacy in the treatment of acute and chronic pain. In animal studies, antinociceptive effects of mirtazapine were found in acute thermal nociception and in neuropathy models produced by chronic constriction injury.

In our study, in order to investigate the pathway of antinociceptive effect of mirtazapine in diabetic neuropathy, we used cold and hot thermal and mechanical hyperalgesia tests as well as we investigated the amount of expression of substance P, neuropeptide Y, somatostatin neuropeptides, transient receptor vanilloid channel-1 and acid sensing ion channel 1 in the lumbar 4 and 5 regions of the dorsal root ganglion and spinal cord by western blot and immunohistochemistry.

As a result of our study, the pain threshold in the diabetic neuropathy group decreased and the expressions of NPY, STT and ion channels increased; in the mirtazapine group, pain thresholds approached the control group while the expression levels decreased. The expression level of P substance in the diabetic group and especially mirtazapine group were lower than the control group.

In conclusion, mirtazapine was found to be an alternative treatment for diabetic neuropathy in our study. But we foresee that different studies should be carried out by different branches of science to determine the dose of mirtazapine or different pathways.

Key words: Diabetic neuropathy, Mirtazapine, SP, STT, NPY, TRPV1, ASIC1.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
ÖZET	iv
SUMMARY	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLO DİZİNİ	vii
ŞEKİL ve GRAFİK DİZİNİ	viii
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. ANATOMİ	4
2.2. HİSTOLOJİ	9
2.3. EMBRİYOLOJİ	16
2.4. AĞRI ANATOMİSİ VE FİZYOLOJİSİ	19
2.5. MİRTAZAPİN	28
2.5.1. Etki Mekanizması	29
2.5.2. Farmakokinetik	29
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	31
3.1. KİMYASAL MADDELER VE UYGULAMALARI	31
3.2. DENEY GRUPLARI	31
3.3. DAVRANIŞ TESTLERİ	32
3.3.1. Termal Hiperalezi (Sıcak)	32
3.3.2. Mekanik Hiperalezi	32
3.3.3. Termal Hiperalezi (Soğuk)	33
3.4. İMMÜNOHİSTOKİMYA YÖNTEMİ	33
3.4.1. Anti-somatostatin Uygulaması	33
3.4.2. Anti- substance P Uygulaması	33
3.5. WESTERN BLOT YÖNTEMİ	34
3.6. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	34
4. BULGULAR	35
4.1. DAVRANIŞ TESTLERİNE AİT BULGULAR	35
4.2. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BULGULAR	39
4.3. WESTERN BLOT BULGULARI	41
5. TARTIŞMA	46
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	56
KAYNAKLAR DİZİNİ	57
EKLER DİZİNİ	60

TABLO DİZİNİ

Tablo 4.1. TRPV1 antikoru arka kök gangliyonu ekspresyon sonucu.....	42
Tablo 4.2. TRPV1 antikoru omurilik ekspresyon sonucu.....	42
Tablo 4.3. ASIC1 antikoru arka kök gangliyonu ekspresyon sonucu.....	43
Tablo 4.4. ASIC1 antikoru omurilik ekspresyon sonucu.....	43
Tablo 4.5. STT antikoru arka kök gangliyonu ekspresyon sonucu.....	44
Tablo 4.6. STT antikoru omurilik ekspresyon sonucu.....	44
Tablo 4.7. NPY antikoru arka kök gangliyonu ekspresyon sonucu.....	45
Tablo 4.8. NPY antikoru omurilik ekspresyon sonucu.....	45

ŞEKİL ve GRAFİK DİZİNİ

Şekil 2.1. Omuriliğin temel yapısı.....	5
Şekil 2.2. Omuriliğin substantia grisea tabakasında laminar yapı yerleşimi..	7
Şekil 2.3. Spinotalamik yol.....	8
Şekil 2.4. Omuriliğin embriyolojik gelişimi.....	17
Şekil 4.1. Kontrol, Diyabet, Mirtazapin ve Pregabalin Gruplarının Soğuk Plaka Testi ile Termal Hiperalezi Ölçüm değerlerinin karşılaştırılması.....	36
Şekil 4.2. Kontrol, Diyabet, Mirtazapin ve Pregabalin Gruplarının Randall-Selitto Testi ile Mekanik Hiperalezi Ölçüm değerlerinin karşılaştırılması.....	37
Şekil 4.3. Kontrol, Diyabet, Mirtazapin ve Pregabalin Gruplarının Plantar Testi İle Sıcak Uyarana Karşın Termal Hiperalezi Ölçüm değerlerinin karşılaştırılması.....	38
Şekil 4.4. Somatostatin'in omurilikte immünohistokimyasal ekspresyonu...	39
Şekil 4.5. P maddesi'nin omurilikte immünohistokimyasal ekspresyonu.....	40
Şekil 4.6. TRPV1 antikoru Western Blot ekspresyonları.....	42
Şekil 4.7. ASIC1 antikoru Western Blot ekspresyonları.....	43
Şekil 4.8. STT antikoru Western Blot ekspresyonları.....	44
Şekil 4.9. NPY antikoru Western Blot ekspresyonları.....	45

SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

STZ	:Streptozotosin
DRG	:Dorsal kök gangliyonu
SP	:P maddesi
ASIC 1	:Aside duyarlı iyon kanalı-1
TRPV1	:Geçici reseptör potansiyel vaniloid 1
STT	:Somatostatin
NPY	:Nöropeptid Y
CGRP	:Kalsitonin gen ilişkili peptid
NK-1	:Nörokinin-1
BDNF	:Beyin türevli nörotrofik faktör
GER	:Granüllü endoplazmik retikulum
DER	:Düz endoplazmik retikulum
Na	:Sodyum
Ca	:Kalsiyum
GABA	:γ-aminobütrik asit
5- HT1	:Serotonin reseptörü 1
TNF-α	:Tümör nekroz factor- α
IL-1β	:Interleukin-1β
IL-6	:Interleukin-6
PGE2	:Prostaglandin E2
NGF	:Sinir büyüme faktörü
VGSC	:Voltaj girişli sodyum kanalları
TRKA	:Tirozin kinaz A
TCA	:Trisiklik antidepresan
MAOI	:Monoaminoksidaz inhibitörü
SSRI	:Selektif serotonin geri alım inhibitörü
NaSSA	:Spesifik serotonerjik ve noradrenerjik antidepresan
IASP	:Uluslararası ağrı çalışma derneği

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Diyabetik nöropati, Diabetes mellitus (Tip 1 diyabet)'un yaygın bir komplikasyonudur ve hastanın yaşam kalitesini etkileyerek günlük yaşamını kısıtlamaktadır. Diyabetik nöropati sonucunda gelişen kronik ağrıda allodini (normalde ağrı duyusu oluşturmeyen uyarana karşı ağrı yanıtının alınması) ve hiperaljezi (normalden daha fazla hissedilen ağrı duyusu) oluşur (Brown & Asbury, 1984). Klinikte, periferel diyabetik nöropatili hastaların ağrı tedavileri oldukça zordur. Bu ağrı sinyallerinin periferel sinir sisteminden köken aldığı bilinse de, periferel diyabetik nöropati ile ilişkili kronik ağrının hücrenel mekanizması tam açıklanmış değildir. Yapılan çalışmalar nosiseptif primer nöronlarının anormal hipereksitabilitesinin diyabetik nöropati ile ilişkili abartılı ağrıya neden olduğu kanısını taşımaktadırlar (Sun, Miao, Wang, Duan, Wang, et al., 2012). Buradan yola çıkarak çalışmamızda oluşturduğumuz diyabetik nöropati modelinde iyon kanalları ve bazı nöropeptidlerin ekspresyonlarının nasıl değiştiği; spesifik serotonerjik ve noradrenerjik bir antidepresan olan Mirtazapin'in bu ekspresyonlar üzerindeki etkisini araştırmayı amaçladık. Voltaj kapılı sodyum ve potasyum kanalları nöronların uyarılabilirliğini düzenlemede önemlidir ve aksiyon potansiyelinin düzenlenmesinde anahtar rol oynamaktadırlar (Cummins, Sheets, & Waxman, 2007). Hücre içine doğru sodyumun geçici olarak geçişi aksiyon potansiyelinin oluşmasına neden olmaktadır. Streptozotosin (STZ) ile oluşturulmuş diyabetik sıçanların küçük çaplı dorsal kök gangliyon nöronlarında hücre içi sodyum miktarının belirgin olarak arttığı gözlenmiştir. Potasyum akımları dinlenme durumundaki membran potansiyelini etkileyerek nöronal uyarılabilirliği, repolarizasyonu ve aksiyon potansiyelinin ateşlenmesinin frekansını düzenler. Sodyum ve potasyum akımlarının diyabet modelinde çokça çalışılmasından dolayı çalışmamızda STZ ile oluşturulmuş diyabet modeline takiben oluşan diyabetik nöropatide kalsiyum iyon akımını düzenleyen kanallardan olan TRPV1 (Geçici reseptör potansiyel vaniloid 1) kanalının DRG ve omurilik nöronları üzerinde nasıl etki gösterdiği ve bu etkiye karşın Mirtazapin'in etkisini araştırmayı amaçladık.

Nosiseptif iletimde görev alan P maddesi (SP), nosiseptif duyusal nöronlarda sentezlenen ve serbestlenen primer nörokimyasallardan biridir. Memelilerde spinal duyusal nöronların % 10-20'si P maddesi içerir. P maddesi nöron düzeyinde eksitatör bir transmitterdir. Santral sinir sistemi dışında ince bağırsaklarda, sempatik gangliyonlarda ve tükrük bezlerinde de bulunur. Serebral yataklar da dahil olmak üzere pek çok vasküler yatakta vazodilatör etki göstermektedir (Uzby, 2007).

Aside duyarlı iyon kanalları (ASIC), hücre dışı proton iyonlarınca aktive olan ligand kapılı katyon kanallarıdır. Periferde, nosisepsiyon ve ağrı duyularının iletiminden sorumludur. Enflamasyon, iskemi/hipoksi ve tümör

gelişimine bağlı doku asidozisi ağrı duyusuna ve hiperaljeziye neden olmaktadır. Son çalışmalar DRG'deki ve merkezi sinir sistemindeki nöronların TRPV1 ve ASIC'lar aracılığı ile hücre dışındaki pH'ın doğrudan düşürülmesinde etkili olduğunu göstermişlerdir (Sun, Miao, Wang, Duan, Ye, et al., 2012). ASIC'lar duyu iletimi (dokunma, tat ve nosisepsiyon gibi) (Ugawa et al., 2003), davranışsal hafıza, retina fonksiyonu, kasılma ve iskemiye kadar pek çok fizyolojik ve patolojik durumlarda önemli rol oynamaktadır (Ugawa et al., 2003). Periferel enflamasyondan sonra ASIC1a, ASIC2b ve ASIC3'ün DRG'de ekspresyonlarının arttığı belirlenmiştir (Voilley, de Weille, Mamet, & Lazdunski, 2001). Enflamasyondan sonra artan ASIC ekspresyonu, DRG nöronlarının uyarılabilirliğinin artmasına neden olmaktadır. Ancak nosisepsiyonda ASIC'ların rolü DRG hücrelerinde sınırlıdır. Nosiseptif bilginin birleştirildiği, aktarıldığı ve modüle edildiği ilk merkez olan omuriliğin dorsal boynuzu araştırma için önemli bir merkezdir. Örneğin ASIC'ların transkriptleri omurilikte yerleşim göstermektedir ve asit ile aktive olan akımlar kültüre edilmiş omuriliğin ventral boynuzunda saptanmıştır. Fakat ASIC'ların omuriliğin dorsal boynuzundaki moleküler ve fonksiyonel rolü hakkında çok az şey bilinmektedir (L.-J. Wu et al., 2004). Bu sebeple çalışmamızda diyabetik nöropati sonucunda omurilik ve DRG'de ASIC1'in ekspresyonu ve bu ekspresyonu mirtazapinin nasıl etkilediğini araştırmayı amaçladık.

Periferel sinir hasarı genellikle nöropatik ağrı olarak bilinen, kontrolü kolay olmayan kronik ağrı durumu ile sonlanmaktadır (Ueda, 2006). Periferel sinir hasarı, hasarlı sinirle ilgili olan omurilik ve DRG'de P maddesi ve CGRP (kalsitonin gen ilişkili peptid) seviyelerini düşürürken; omurilikte galanin ve nöropeptid Y (NPY) seviyelerini arttırmaktadır. Santral duyarlılık hipotezine göre nöropatik ağrı gelişimine neden olan omurilikteki değişimlerin başlatılmasına neden olan hasarlı deşarj, omurilik içine salınan çok miktarda nörotransmitter ve nöromodülatörler aracılığı ile olmaktadır. Bu nörotransmitterler arasında ağrı iletimi veya ağrı düzenlenmesi gibi fonksiyonları olan P maddesi ve CGRP, ince miyelinli ve miyelinsiz primer duyu nöronlarının merkezi sonlanmalarından salınmakta ve merkezi sensitizasyon sürecinde rol oynatadıkları (Garry et al., 2005; Lee & Kim, 2007).

36 aminoasitlik bir peptid olan Nöropeptid Y (NPY), birçok fizyolojik süreci düzenleyen G protein çifti aracılığı ile Y reseptörleri üzerinden rol oynamaktadır (Hökfelt et al., 1998). NPY reseptörü, omuriliğin dorsal boynuzunun süperfisiyal laminasında bulunmaktadır ve enflamasyon sürecinde regülasyonu artmaktadır (Ji, Zhang, Wiesenfeld-Hallin, & Hokfelt, 1994). Omurilikte NPY reseptörlerinin yerleşimi ve fonksiyonu etkin bir şekilde araştırılmaktadır ve omurilikte nosiseptif süreci inhibe ettiği belirlenmiştir. Kemirgenlerde kronik ağrı modellerinde NPY'nin anti-hiperaljeziye neden olduğu, primer afferent sonlanmalarından SP salınımını

inhibe ettiği belirtilmiştir. Ancak anti-hiperaljezik etkisinin altında yatan mekanizma henüz açığa kavuşmamıştır (Taylor et al., 2014).

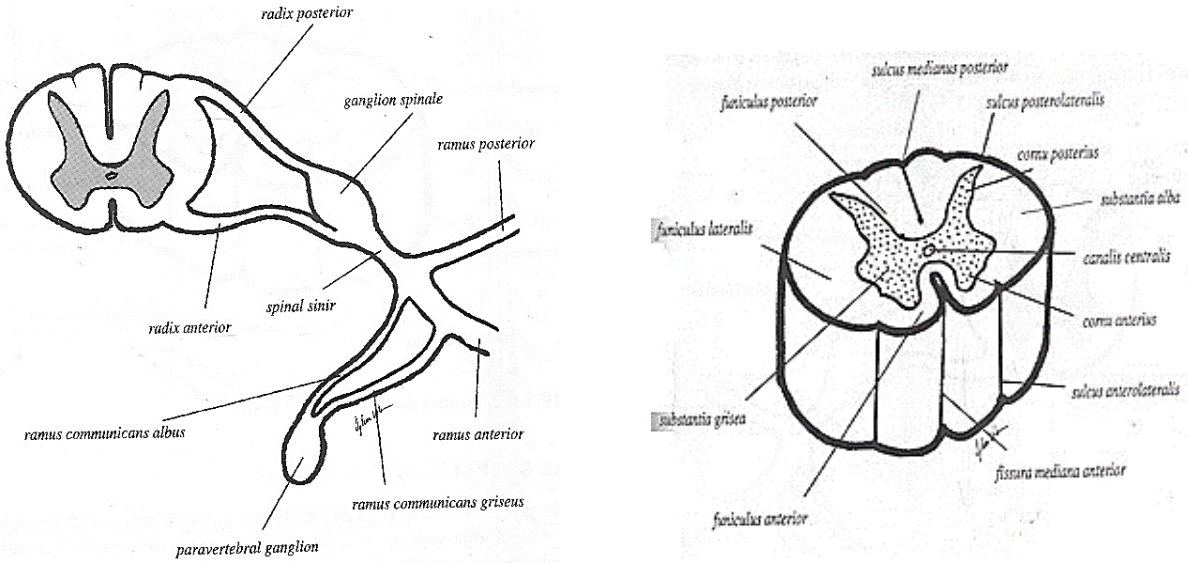
Somatostatin (SST), nöronlardan ve diğer pek çok çeşitteki hücrelerden üretilen düzenleyici bir peptittir. Hipotalamik büyüme hormonunu inhibe eden SST, hipotalamusun dışında periferel nöral ve nöral olmayan dokularda da geniş yayılım göstermektedir. nceki çalışmalarda beyin nöronlarında SST'nin baskılayıcı fonksiyonu gösterilmiştir (Hökfelt et al., 1976). SST kk DRG nöronlarında bulunmakta ve çoğu pre/protaşikinin zayıf bir şekilde eksprese ederken pek çoğu CGRP'yi eksprese etmektedir (Kashiba, Ueda, & Senba, 1996). Omuriliğin superfisiyal dorsal boynuzunda bulunan yoğun SST (+) lif pleksusları kk yerel ara nöronlardan köken almaktadır. Elektrofizyolojik alışmalarda SST'nin dorsal boynuz nöronlarında inhibitör etkileri gösterilmiştir (Yasaka, Tiong, Hughes, Riddell, & Todd, 2010). Hatta SST ve analogları deney hayvanlarında anti-nosiseptif ve anti-enflamatuvar etki gösterirken (Helyes et al., 2009; Imhof et al., 2011), insanda ağrıyı rahatlattığı belirtilmiştir (Shi et al., 2014). Çalışmamızda diyabetik nöropati modelinde SST ekspresyonunun nasıl etkilendiği ve bu etkilenmede mirtazapinin nasıl rol oynadığını araştırdık

Bütün bu bilgiler işığında çalışmamızda diyabetik nöropati modelinde çeşitli nöropeptidlerin ve iyon kanallarının ekspresyonuna mirtazapinin etkisini araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. ANATOMİ

Omurilik (*Medulla spinalis*), foramen occipitale magnum'dan başlayarak canalis vertebralis içerisinde kaudale doğru kesintisiz devam eden merkezi sinir sistemi kısmıdır. Erişkin bir erkekte ortalama uzunluğu 45 cm civarındadır. Omurilik kendine bağlanan otuz bir çift spinal sinir ile baş bölgesi de dahil olmak üzere tüm motor ve duyu innervasyonları gerçekleştirmektedir. Bir çift spinal sinirin çıktığı yere *segment* adı verilir. Buna göre omurilikte otuz bir *segment* vardır. Omurilik 5 bölgeye ayrılır. Bunlar servikal, torakal, lumbal, sakral ve koksigealdır. Servikal bölgede 8, torakal bölgede on iki, lumbal bölgede 5, sakral bölgede 5 ve koksigeal bölgede 1 adet segment vardır. Herbir spinal sinir, canalis vertebralis'i kendisine karşılık gelen vertebranın bir üstündeki foramen intervertebrale'den geçerek terk eder. Örneğin üçüncü lumbal spinal sinir, ikinci ve üçüncü lumbal vertebralar arasındaki foramen intervertebrale'den geçer. Omurilik, intrauterin hayatın 2-3. ayında vertebral kanalı tamamen doldururken, gelişim süresince omurga ve dura mater'in omurilikten daha hızlı büyümesinden dolayı omuriliğin alt ucu daha yüksek seviyede kalır. Segmental yapıda olan omurilik yeni doğanda 3. lumbal vertebrada, erişkinde ise 1. lumbal vertebrada sonlanmaktadır. Omurilik, omurga boyunca iki bölgede genişleme göstermektedir. Servikal bölgede üst ekstremitayı innerve eden sinirlerin çıktığı genişlemeye *intumescentia cervicalis*, lumbal bölgede alt ekstremitayı innerve eden sinirlerin çıktığı genişlemeye ise *intumescentia lumbosacralis* adı verilir. Omurilik, *intumescentia lumbosacralis* itibariyle incilir ve *conus medullaris* olarak sonlanır. Omuriliğin önden arkaya hafif basık olması nedeniyle 4 yüzlü olarak kabul edilir. Ön yüzde, yukarıdan aşağıya doğru uzanan orta hattaki yarığa *fissura mediana anterior*, arka taraftaki yukarıdan aşağı uzanan orta hattaki oluğa ise *sulcus medianus posterior* adı verilir. Bunlardan başka omuriliğin ön yarığının dış yüzünde *sulcus anterolateralis*, arka oluğun dış yüzünde *sulcus posterolateralis* yer alır. Omuriliğe sağ ve sol 2 *sulcus posterolateralis*'lerden giren ve periferdeki duyu getiren liflerin oluşturduğu yapıya *radix posterior* denir. Omuriliği sağ ve sol 2 *sulcus anterolateralis*'lerden çıkarak omuriliği terk eden motor karakterli liflerin oluşturduğu yapıya *radix anterior* denir. Radix anterior ve radix posterior foramen intervertebrale'de birleşerek bir *spinal sinir (nervus spinalis)*'i oluşturur (Şekil 2.1) (Taner, 2014).



Şekil 2.1. Omuriliğin temel yapısı

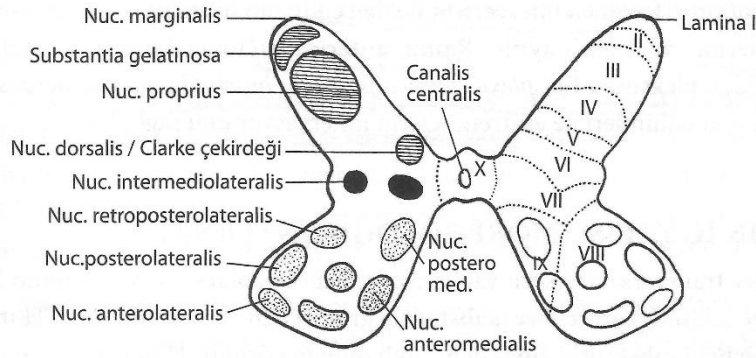
Omuriliği saran zarlar beyini saran zarların devamıdır. Dıştan içe doğru *dura mater*, *arachnoidea mater* ve *pia mater*'dir. Dura mater ve arachnoidea mater 2. sakral vertebra seviyesinde kapanırken, pia mater omuriliğin alt ucunda kapanır ve 2. sakral vertebraya kadar incelik uzanan *filum terminale*'yi oluşturur. Filum terminale, 2. sakral vertebra seviyesinden itibaren dura mater ile birlikte *lig. coccygeum* adını alır ve coccyx'e yapışarak sonlanır. Cisterna lumbaris'te radixler filum terminale etrafında atkuyruğuna benzer bir görüntü oluştururlar. Bu yapıya *cauda equina* adı verilir. Her bir radix, pia mater ve arachnoidea ile sarılı olarak dura mater'e ulaşır. Daha sonra da dura mater ile sarılır. Radix anterior ve posterior'un birleşimi ile oluşan spinal sinir daha sonra epineurium tabakasına karışır.

Omuriliğin transversal kesitinde, nöron gövdeleri ve bunların uzantılarının bulunduğu iç bölümünün H şeklinde gri madde'den (*substantia grisea*) ve çoğunluğunu miyelinli aksonların oluşturduğu dış bölümünün ak maddeden (*substantia alba*) oluştuğu görülür. H'nin tam ortasında tüm omurilik boyunca uzanan, içerisinde beyin-omurilik sıvısı (BOS) dolaşan *canalis centralis*'in kesiti yer alır. Canalis centralis çevresinde, ependim hücreleri ve glia hücreleri tarafından oluşturulmuş alana *substantia gelatinosa centralis* denir. Yukarıda ventriculus quartus ile devam eden canalis centralis, aşağıda conus medullaris'ten sonra filum terminale içerisinde 5-6 mm seyrederek sonlanır.

Substantia grisea sinir hücre gövdelerini, assosiasyon ve efferent nöronların dendritlerini, spinal gangliyon nöronlarının miyelinli aksonlarını içermektedir. Substantia grisea'nın sağ sol yarımları, *commisura grisea* ile (H'nin kemeri) birbirine bağlanır. Canalis centralis'in ön tarafındaki gri

maddede bulunan commisura grisea kısmına *commissura grisea anterior*, arka taraftaki gri madde kısmına ise *commissura grisea posterior* denir. Omuriliğin transversal kesitinde substantia grisea'nın öne doğru uzanan uzantılarına *cornu anterius* (ön boynuz), arka dışa doğru olan uzantılarına *cornu posterius* (arka boynuz), T1-L2 düzeyleri arasındaki columna intermedia'nın dış yana olan uzantısına *cornu laterale* adı verilir. Omurilik 3 boyutlu olarak düşünüldüğünde cornu anterius, *columna anterior*; cornu posterius, *columna posterior*; cornu laterale ise columna intermedia (columna lateralis) adını alır (Yıldırım, 2014).

Esas olarak omuriliğin ön kolonları motor nöronlardan, arka kolonları duyuusal nöronlardan ve orta bölümünün dış yan boynuzu ise sempatik nöronlardan oluşur. Substantia grisea, içerdiği nöronların şekli, büyüklüğü, değişik bölgedeki yerleşim yoğunlukları ve hücresel özelliklerine göre on laminaya ayrılmıştır. Lamina I, cornu posterius'un en arka sınırında, lamina IX ise cornu anterius'tadır. Diğer laminalar bunların arasında küçükten büyüğe doğru sıralanırken, lamina X canalis centralis'in çevresinde yer almaktadır. Lamina I'e *nucleus marginalis*, lamina II'ye *substantia gelatinosa* denir. Nöroseptörlerden gelen ağrı ile ilgili duyuular özellikle bu 2 lamina da sonlanır. Lamina III ve IV'e birlikte *nucleus proprius* adı verilir. Lamina I- IV, genel olarak deriden gelen afferent liflerin sinaps yaptığı laminalardır. Hareketlerin düzenlenmesi ile ilgili fonksiyonları olan lamina V ve VI'ya, proprioseptif afferentler ile motor ve duyu korteksin veya daha alt merkezlerden başlayan yollar gelir. Postür ve hareketlerin düzenlenmesi ile ilgili fonksiyonların gerçekleştiği lamina VII'nin mezensefalon ve beyincik ile çok sayıda bağlantıları vardır. Bu lamina da sempatik pregangliyonik nöronların yer aldığı *nucleus intermediomedialis*; visseral ve somatik afferent impulslara bağlı olarak ortaya çıkan bazı otonomik refleksleri düzenleyen ara nöronların bulunduğu *nucleus intermediomedialis* ve ayrıca *nucleus thoracicus posterior* bulunur. Lamina VIII'de bulunan internöronlar komşu laminalardan, kontralateral lamina VIII'den ve bazı inen yollardan gelen aksonlarla sinaps yapar. Bu internöronlar, cornu anterius'taki alfa motor nöronlar aracılığı ile iskelet kaslarının kasılmasını düzenler. Lamina IX, çok sayıda internöronun yanı sıra iskelet kaslarını uyaran (ekstrafusal kaslar) alfa motor nöronlarını, intafusal kas liflerini uyaran gamma motor nöronlarını içermektedir. Lamina X'da ise radix posterior ile gelen afferent liflerin bir bölümü sinaps yapar (Şekil 2.2).

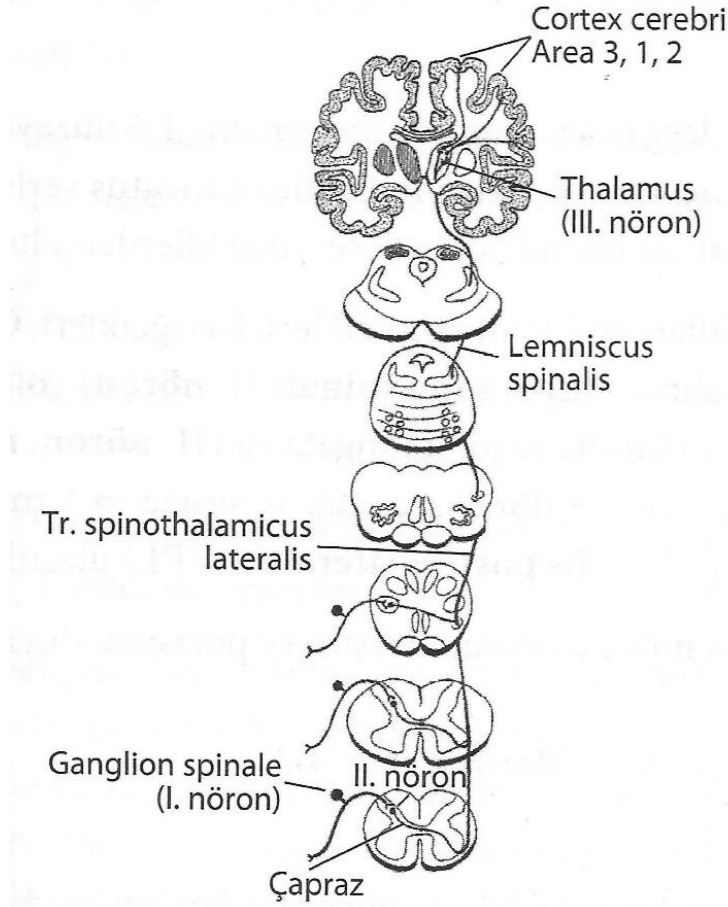


Şekil 2.2. Omuriliğin substantia grisea tabakasında laminar yapı yerleşimi

Miyelinli sinir lifleri ve nöroglialardan oluşan substantia alba, substantia grisea'ya göre daha açık renkte boyanmaktadır. Sağ ve sol substantia alba bölümleri arkadan septum medianum posterior ile birbirinden ayrılırken, önden fissura mediana anterior'un derinliğinde commissura alba anterior ile birbirine bağlıdır. 3 çift *funiculus* bulunmaktadır. *Funiculus posterior*, sulcus medianus posterior ile sulcus posterolateralis arasında; *funiculus lateralis*, sulcus posterolateralis ile sulcus anterolateralis arasında ve *fulcus anterior* ise sulcus anterolateralis ile fissura mediana anterior arasında bulunur. Funiculus'ta omurilik boyunca belirli bir fonksyonu yerine getiren ve genellikle sinir liflerinin büyük çoğunluğunun aynı nucleus'ta sonlandığı tractus ya da fasciculus denilen akson demetleri bulunur. Bu tractus ya da fasciculuslar omurilik boyunca uzanan inen (descending tracts) ya da çıkan yolları (ascending tracts) oluştururlar. Çıkan yollar çevreden üst merkezlere yani merkezi sinir sistemi elemanlarına duyusal impulsları taşıırken, inen yollar merkezi sinir sisteminden çevreye motor impulsları taşımaktadırlar.

Ağrı ve ısı duyuları çıkan yollardan biri olan *Tractus spinothalamicus lateralis* aracılığı ile merkezi sinir sistemine iletilmektedir. Bu yola ait birinci nöronların hücre gövdeleri spinal gangliyonda bulunmaktadır. Bu nöronların aksonları periferde serbest sinir uçları şeklinde sonlanarak ağrı, sıcak ve soğuk duyularını alan reseptörleri oluşturur. Nöronların merkezi uzantıları ince miyelinli veya miyelinsiz aksonlar olup radix posterior ile biliçli veya bilinçaltı motor hareketlerin (proprioception) duyusunu taşıyan liflerin lateralinden omuriliğe girerler. Omuriliğin substantia alba kısmında inen ve çıkan dallar verirler. Bu dallardan ayrılan kollateraller, substantia grisea'ya girmeden önce birkaç segment yukarıya ve aşağıya giden dallar verirler. Bu dallar omuriliğin cornu posterius'unun dorsolateral kısmında bulunan ve tractus posterolateralis (Lissauer's tract) adı verilen yol içerisinde seyrettikten sonra substantia grisea içerisindeki lamina I, IV ve V'de bulunan ikinci nöronlar ile sinaps yaparlar. İkinci nöronların aksonları aynı segment seviyesinde ya da bir alt-üst segment seviyelerinde commissura alba anterior'dan karşı tarafa geçer ve funiculus lateralis'te *tractus*

spinothalamicus lateralis'i oluştururlar. Karşı tarafa geçmeyen az sayıda akson ise ipsilateral tractus spinothalamicus lateralis'te yükselir. Sakral ve lumbal segmentlerden gelen aksonlar daha lateralde yerleşim gösterirken, torakal ve servikal segmentlerden gelen aksonlar daha medialde yer alır. Tractus spinothalamicus lateralis, beyin sakında tractus spinothalamicus anterior ile birlikte ve lemniscus medialis'in posterolateralinde talamusa kadar yükselir. Tractus spinothalamicus lateralis'i oluşturan aksonların büyük bir kısmı thalamus'un ventral posterolateral nucleus'unda (VPL) bulunan üçüncü nöronlar ile sinaps yapar. Üçüncü nöronların aksonları capsula interna'nın crus posterius'undan ve daha yukarıda corona radiata'dan geçerek cortex'e ulaşır ve gyrus postcentralis'te Brodmann'ın 3, 1, 2 numaralı alanlarındaki nöronlar ile sinaps yaparak sonlanır (Şekil 2.3) (Taner, 2014).



Şekil 2.3. Spinothalmik yol

2.2. HİSTOLOJİ

Çok sayıda bağlantı kurmuş trilyonlarca nörondan oluşan sinir dokusu vücutta karmaşık bir yapı oluşturmaktadır. Mekanik, kimyasal ya da termal uyarıları almaya özelleşmiş nöronlar reseptörleri aracılığı ile bu uyarıları sinir merkezlerine taşımaya yarayacak sinir impulslarına dönüştürmektedirler. Bu impulslar daha sonra diğer nöronlara aktarılarak duyuların algılanması ya da motor yanıtın başlaması için daha üst merkezlere iletilir. Bu fonksiyonları yerine getirmek için sinir sistemi anatomik olarak beyin ve omurilikten oluşan **merkezi sinir sistemi** ve merkezi sinir sistemi dışında beyinden çıkan kranial sinirleri, omurilikten çıkan spinal sinirleri ve onlarla ilişkide olan gangliyonları içeren **periferik sinir sisteminden** oluşmaktadır. Periferik sinir sistemi impulsları alıp merkezi sinir sistemine ileten duyu (afferent) yolundan ve merkezi sinir sisteminden köken alan ve impulsları efektör organlara taşıyan motor (efferent) yoldan oluşur. Sinir sisteminde motor komponent somatik sistem ve otonomik sistem olmak üzere 2'ye ayrılır. **Somatik sistem**, merkezi sinir sisteminden köken alan impulsları tek bir nöron aracılığı ile iskelet kasına doğrudan iletirken; **otonomik sistem** merkezi sinir sistemindeki impulsları bir nöron aracılığı ile otonomik gangliyona ileten, otonomik gangliyondan köken alan ikinci nöron aracılığı ile impulsları düz kas, kardiyak kas veya bezlere iletir. Sinir dokusunda nöronların yanı sıra destek görevi gösteren; kan- beyin bariyerini yapan astrosit, merkezi sinir sisteminde miyelin kılıfı yapan oligodendrosit, fagositoz fonksiyonu gösteren mikroglia, beyin-omurilik sıvısının içinden geçtiği canalis centralis'in etrafını döşeyen ependim hücresi ve periferik sinir sisteminde miyelin kılıfı yapan Schwann hücresi; nöroglial hücreler yer almaktadır (Michael H. Ross & Pawlina, 2013).

Nöronlar 3 ana kısımdan oluşmaktadır. **Hücre gövdesi** (soma ya da perikaryon), çok sayıda **dendrit** uzantısı ve uzunluğu 100 cm'ye kadar ulaşabilen, son kısımları genişleyerek akson terminallerini oluşturan tek bir **akson**.

Nöronun en göze çarpan bölgesi nöron gövdesidir. Ancak nöron sitoplazmasının en geniş hacmi hücre gövdesinden köken alan çıkıntılarda bulunur. Genellikle sferik ya da oval şekilli olan çekirdek, merkezi yerleşimlidir. Aktif hücreler olmalarından dolayı genellikle ökromatin çekirdeğe sahiptirler. Ancak daha küçük nöronlarda yoğun, inaktif heterokromatin çekirdek bulunur. Özellikle büyük motor nöronların hücre gövdelerinin sitoplazmalarında birbirine paralel sisternaları bulunan bol miktarda granüllü endoplazmik retikulum (GER) ve poliribozomlar bulunur. Temel boyalarla boyama yapıldığında GER ve poliribozomlar bazofilik kümeler halinde gözlenen Nissl cisimcikleri şeklinde görülmektedir. GER'ler

dendritlerde de bulunmasına karşın akson tepeciklerinde gözlenmez. Aksonlarda düz endoplazmik retikulum (DER) bulunur.

Çekirdeğe komşu bulunan golgi kompleksi, nörotransmitterlerin üretiminde görev alan enzimlerin veya nörotransmitterlerin paketlenmesinde görev alır.

Özellikle akson sonlanımları olmak üzere soma, dendrit ve aksonlarda çok sayıda mitokondri bulunur. Nöronlardaki mitokondriyonlar, diğer hücrelere nazaran daha ince ve uzundur, kristalları longitudinal yerleşim gösterir. Nöronal mitokondriyonlar sitoplazma içerisinde mikrotübüller boyunca hareket eder. Pek çok yetişkin nöronda silin bazal cisimciği tek bir sentriyol ile ilişkilidir. 9+0 mikrotübül yerleşimine sahiptir. Nöronlar bölünme yeteneği gösteremediğinden, sentriyollerinin işlevini kaybetmiş yapılar olduğu düşünülmektedir.

Dendritler, nöron gövdelerinin plazma membranlarının uzantılarıdır. Herbir nöronun kendine özgü dendrit uzantıları vardır. Golgi kompleksi hariç genel organel içeriğine sahiptir. Dendritlerin distal sonlarına gidildikçe organel sayısı azalmakta hatta kimi dendritlerde organel bulunmamaktadır. En çok bulunan organel mitokondridir. Dendrit, dalları ile pek çok sinaptik sonlanmayı yapan ve yüzlerce belki binlerce impulsu ileten uzantılardır. Bazı dendritlerin yüzeyinde bulunan çıkıntılar diğer nöronlar ile sinaps oluşturur. Bu çıkıntılar yaş, kötü beslenme ile azalmakta ve trizomi 13 ya da 21'li kişilerde yapısal değişiklikler göstermektedir. Dendritler bazen diğer dendritlere impuls iletmek için veziküller içerebilmektedir.

Aksonlar, hücre gövdesindeki **akson tepesinden** köken alır, dendritlerden daha uzak mesafelere uzanan ince uzantılardır. Bazı motor nöronların aksonları 1 metre veya daha uzun olabilir. Akson kalınlığı doğrudan iletim hızı ile ilgilidir. Akson çapı arttıkça iletim hızı artar. Akson kalınlığı, nöron tipine göre değişmektedir. Nöron gövdesinin piramid şekilli bölgesi olan akson tepesi ribozomdan yoksundur. Miyelin kılıfın başladığı bölgeye ise **başlangıç segmenti** denir. Başlangıç segmentinin aksolemması ince, elektron yoğun tabakadır ve fonksiyonu bilinmemektedir. Yapı itibarıyla Ranvier düğümünü andırmaktadır. Bu alan ribozom ve GER'den yoksun olsa da akson çapının düzenlenmesinde görev alan mikrotübül ve nörofilamentleri bol miktarda içermektedir. Aksoplazmaları kısa DER ve nispeten ince, uzun mitokondri ve pek çok mikrotübül içermektedir. Fakat GER ve poliribozom bulunmaz. Bu nedenle akson proteine bağlı ihtiyaçlarını somadan gidermektedir (Gartner & Hiatt, 2007).

Merkezi sinir sisteminde pek çok nöron konkav yüzeyi ile poligonal şekilliysen, arka kök gangliyonu (periferik sinir sisteminin duyu gangliyonu)

yuvarlak hücre gövdesi ve tek bir uzantıya sahiptir. Nöronlar uzantılarına göre 3 ana tipe ayrılır: Bipolar, pseudounipolar (unipolar) ve multipolar nöronlardır. Somadan bir dendrit ve tek bir aksonun çıktığı bipolar nöronlar vestibular ve kohlear gangliyonda ve nazal boşluktaki olfaktör epitelinde bulunmaktadır. Pseudounipolar nöronlarda somadan tek bir uzantı çıksa da daha sonra periferik ve merkezi yönde seyredecek dallanmalar yapar. Her bir uzantı morfolojik olarak aksonal olmakla beraber sinir impulslarını yaysa da çok distaldeki periferik dallar küçük dendritik sonlanmalar olarak dallanmaktadır ve reseptör fonksiyonu göstermektedir. Pseudounipolar nöronlar embriyonal dönemde bipolar nöronlardan gelişmektedir. Unipolar nöronlar dorsal kök gangliyonda ve bazı kranial sinir gangliyonlarında bulunmaktadır. En yaygın olan multipolar nöronlar ise somadan çıkan tek bir akson ve birden fazla dendritlerden oluşmaktadır. Pek çoğu motor nöron olan multipolar nöronlar morfolojilerine (piramidal hücre) göre ya da bulan kişinin ismi (purkinje) ile tanımlanmaktadır. Nöronlar fonksiyonlarına göre 3 ana gruba ayrılmaktadır: Dendritik sonlanmalardan duyu bilgisini alan ve merkezi sinir sistemine bilgiyi ileten duyu nöronları; merkezi sisteminden köken alan ve impulsları kas, bez ve diğer nöronlara ileten motor nöronlar; tamamı merkezi sinir sisteminde bulunan ve duyu, motor ve diğer ara nöronlar arasında nöronal ağı kuran ara nöronlar (internöronlar) dır. Sinir uyarıları dendritler aracılığı ile alınıp somaya doğru iletilmektedir. Her bir nöron tek bir aksona sahiptir. Aksonların son kısımları akson terminalleri ya da akson sonlanmaları adı verilen genişlemeler gösterir. Aksonlar somadan gelen uyarıları diğer nöronlara, kaslara veya bezlere iletmektedir. Akson sonlanmaları diğer hücrelere ulaşarak, impulsların hücreler arası iletimini sağlayan sinapsları oluşturur. Nöroglial hücrelerin hücre zarları hem merkezi hem de periferik sinir sisteminde aksonların etrafını saran miyelin kılıfı oluşturmaktadır. Miyelinli aksonların iletim hızı miyelinsizlere göre fazladır. Taze dokuda, miyelinli aksonların yoğun olarak bulunduğu bölge açık renkte gözlenir. Bu nedenle bu bölgeye ak madde (substantia alba) denirken, miyelinli aksonların bulunmadığı bölge gri madde (substantia grisea) olarak adlandırılmaktadır (Leslie P. Gartner & Hiatt, 2016).

İmpuls iletiminin yanı sıra aksonların bir diğer önemli fonksiyonu soma ile akson terminalleri arasında materyallerin aksonal transportudur. Hücre gövdesinden akson sonlanmasına doğru aktarım anterograd transportken, akson sonlanmalarından hücre gövdesine doğru aktarım ise retrograd transporttur. Aksonal iletim hızı hızlı, orta ve düşüktür. En hızlı taşınım (400 mm/gün) sitoplazma içerisinde daha hızlı hareket eden organellerin anterograd transportundadır. Retrograd taşınım, anterograd taşınım göre yarısından daha az hızla iletim gerçekleşir, yaklaşık olarak 0.2 mm/gün'dür. Anterograd taşınım, akson terminallerindeki nörotansmitterlerin sentezindeki gerekli bazı enzimler, klatri (hücre dışı veziküllerin gelişmesinde rolü olan temel protein), aktin ve miyozin gibi makro moleküllerin yanı sıra

organellerin ve veziküllerin translokasyonunda görev alır. Aksonlardan hücre gövdesine retrograd taşınım ile dönen maddeler arasında virüs ve toksinler gibi endositoz ile alınan materyaller, çözünebilir enzimler, mikrotübül alt birimleri, protein yapımındaki nörofilament blokları yer almaktadır. Ek olarak, küçük moleküller ve degrade olacak proteinler soma endolizozomlarına retrograd yolla taşınır.

Periferal sinir liflerinin taşınım hızı miyelinizasyon miktarına bağlıdır. Miyelinli sinir liflerinde iyonlar aksonal plazma membranını geçerek, sadece Ranvier düğümlerinde 2 sebepten dolayı depolarizasyonu başlatır: Akson plazmalemmasındaki voltaj kapılı Na^+ kanallarının çoğunlukla Ranvier düğümlerinde yığılı olması ve düğümlerin arasının miyelin kılıfla kaplı olması aksiyon potansiyeli ile ilgili aksoplazmadan dışarıya aşırı Na^+ çıkışını önler. Miyelinsiz lifler ise kalın miyelin kılıftan ve Ranvier düğümlerinden yoksundur. Periferal sinir lifleri, iletim hızlarına bağlı olarak 3 büyük gruba ayrılmaktadır: İletim hızları 0.5- 2 m/saniye arasında olan ince miyelinsiz lifler (C tipi lifler) 0.5- 1.5 μm çapında yavaş hıza sahip liflerdir. Postganglionik otonomik efferent lifler ve kronik ağrıda fonksiyon göstermektedir. İletim hızı 15- 120 m/saniye olan miyelince zengin lifler (A tipi lifler) 1- 20 μm çapında yüksek hızlı lifler akut ağrı, ısı, dokunma, basınç, proriosepsiyon ve somatik efferent liflerde fonksiyon göstermektedir. İletim hızı 3- 15 m/saniye arasında olan orta hızlı az miyelinli lifler (B tipi lifler) ise 1- 3 μm çapında olup visseral afferentlerde ve preganglionik otonomik efferent liflerde bulunur (Kim E. Barret, Susan M. Barman, Scott Boitano, & Brooks, 2011).

Beyin ve omurilikten oluşan merkezi sinir sistemi meninges adı verilen 3 adet bağ dokusu ile çevrilidir. En dıştaki **dura mater**, orta tabakada **araknoid** ve iç tabakada **pia mater** bulunmaktadır. Dura mater beyini saran, yetişkinde 2 tabakalı, yoğun, kollajenöz içeriğe sahip bağ dokusudur. **Periosteal dura mater** osteoprogenitör hücreler, fibroblast ve kollajen lif demetlerinden oluşur. Sutürler ve kafatasının tabanı hariç, kafatasının iç yüzeyine zayıf bağlanır. Periosteal dura mater, kafatasının iç yüzeyinin periosteumu olarak işlev göstermektedir ve çok yüksek damarlanma göstermektedir. Dura mater'in iç tabakası olan **meningeal dura mater** koyu boyanan sitoplazmaya sahip fibroblastlar, uzun çıkıntıları, ovoid şekilli çekirdeği, belirgin kollajen lif yerleşimi içermektedir. Bu tabaka ayrıca küçük kan damarları içermektedir. Omuriliği çeviren dura mater, spinal dura mater, vertebral kanalın duvarına bağlı değildir. Foramen magnum'dan sakrumun ikinci segmentine kadar devalı bir tüp şeklinde uzanır ve spinal sinirler tarafından delinir. Vertebral kanalın kemiksi duvarı ve dura arasındaki boşluk olan epidural boşluk epidural yağ ve venöz pleksusları içerir. Araknoid tabakası, damarsız olmakla beraber fibroblast, kollajen ve bazı elastik lifleri içermektedir. Fibroblastlar birbirlerine desmozom ve gap junction'lar ile bağlanırlar. Araknoid, 2 bölgeden oluşmaktadır. İlk bölge düz ve dura mater

ile temas halindedir. İkinci katman daha derindedir ve örümcek ağına benzeyen bu bölge kollajen lifler boyunca yerleşim gösteren modifiye fibroblastlar olan araknoid trabeküler hücrelerin gevşek bir şekilde yerleşimi ile oluşmuştur. Bu şekilde oluşan trabeküller pia mater ile temas halindedir. Araknoid trabeküler hücrelerin uzun çıkıntıları birbirlerine desmozom ile bağlıdır ve bir diğeri ile gap junction'lar ile iletişim kurmaktadır. Dura ve araknoid arasında bulunan subdural boşluk potansiyel boşluk olarak düşünülmektedir. Çünkü subdural kanamaya neden olan hasar sonucunda kan bu alana geçtiğinde subdural boşluk gözlenebilmektedir. Araknoid ile pia mater arasındaki alan çok zor ayırt edilebilmektedir. Bu yüzden ince skuamöz epitelooid hücrelerden oluşan modifiye fibroblastlarla döşeli olan iki tabaka genellikle pia-araknoid olarak isimlendirilmektedir. En iç tabakada bulunan pia mater ise doğrudan beyin dokusu ile ilişkilidir. Pia mater, araknoid trabeküler hücrelere benzer düz, modifiye fibroblastların ince katmanından oluşur. Kan damarlarından son derece zengin olan bu menings tabakası kan damarlarının etrafında makrofaj, mast hücreleri ve lenfositleri içermektedir. Pia mater ne nöral dokunun arasında çok miktarda kollajen ve elastik lifler bulunur. Pia mater altındaki nöral dokudan nöroglial hücreler tarafından ayrılmaktadır. Kan damarları nöral dokulara penetre olmakta ve merkezi sinir sistemine karakterize olan kesintisiz kapiller pia mater tarafından çevrelenmektedir. Astrositlerin son ayakları olan pediseller, pia materden ziyade nöral doku içerisindeki kapilleri sarmaktadır (Leslie P. Gartner & Hiatt, 2016).

Merkezi sinir sistemi bağ dokusundan yoksundur ve bu nedenle kısmen jelimsi kıvamdadır. Beyinde periferde gri madde merkezde ak madde bulurken; omurilikte periferde ak madde merkezde gri madde enine kesitte H harfi şeklinde bulunmaktadır. Ependimal hücreleri ile çevrili ve orijini nöral tüpün lümeni olan küçük merkezi kanal (canalis centralis) H'nin merkezinde yer almaktadır. H'nin üst vertikal dorsal boynuzudur. Burası hücre gövdeleri arka kök gangliyonunda bulunan duyu nöronlarının merkezi uzantılarını aldığı bölgedir. Ara nöronların hücre gövdeleri de dorsal boynuzda bulunmaktadır. Duyu ve motor nöronlar arasında iletişimi sağlamaktadır. H'nin alt vertikal kısmında, omuriliğin ventral boynuzu, geniş multipolar nöronların hücre gövdeleri bulunmaktadır. Multipolar nöronların aksonları omuriliği ventral kökleri aracılığı ile terk etmektedir (Michael H. Ross & Pawlina, 2013).

Periferal sinirler, merkezi sinir sisteminin dışında yerleşim gösteren sinir lifleri (akson) demetleridir ve bağ dokusunda oluşan kılıflarla çevrilidirler. Bu demetler (fasiküller) çıplak gözle görülmemektedir. Genellikle her bir sinir lifi demeti çapından bağımsız olarak hem duyu hem de motor komponente sahiptir. Periferal sinirleri çeviren bağ dokusu yapıları epinöryum, perinöryum ve endonöryum olarak adlandırılmaktadır. Sinirleri çevreleyen en dış kılıf olan epinöryum, sıkı, düzensiz kollajen liflerden ve

kalın elastik liflerden oluşur ve siniri tümüyle çevreler. Kollajen lifler sinir demetlerinin aşırı gerilmesinde oluşabilecek hasarlara karşın korumada görevlidir. Spinal ve kranial sinirlerin köken aldığı beyin ve omurilikte dura ile devamlılık gösteren epinöryum, bu bölgede en kalındır. Orta tabakada bulunan perinöryum, sinir içerisindeki her bir sinir lifi demetlerini sarmaktadır. Epinöryumdan daha ince sıkı bağ dokusundan oluşmaktadır. Perinöryumun iç yüzeyi, nöral çevreden izole bir bazal lamina ile çevrili ve zonula okludens tarafından birbirine bağlı olan çok sayıda epitelooid katman tarafından çevrelenmiştir. Epitelooid hücrelerin tabakaları arasında longitudinal düzlemde yerleşmiş seyrek kollajen lifler ve bir miktar elastik lif bulunur. Siniri çevreleyen üç bağ dokusundan en içteki olan endonöryum, her bir sinir lifini sarmaktadır. İnce retiküler liflerden, dağılık fibroblastlardan, makrofaj, kapiller ve ekstrasellüler sıvı içerisindeki perivasküler mast hücrelerini içeren gevşek bir bağ dokusu yapısındadır. Endonöryum, Schwann hücrelerinin bazal laminası ile temas halindedir. Bu nedenle endonöryum perinöryum ve Schwann hücrelerinden tamamen izole bir ortam sağlayarak, sinir liflerinin mikroçevresinin düzenlenmesinde önemli bir faktördür. Aksonların distal uçlarına yakın yerde, aksonların Schwann hücrelerinin bazal laminalarını çevreleyen retiküler lifler azalmaktadır (Gartner & Hiatt, 2007).

Merkezi sinir sistemi dışındaki nöron gövdesi topluluklarına gangliyon denir. Duyu ve otonomik gangliyon olmak üzere iki çeşittirler. Duyu gangliyonları V., VII., IX. Ve X. kranial sinirlerle ilişkilidir ve herbiri omurilikten köken almaktadır. Gangliyonlar genellikle ilişkili oldukları sinirlerin spesifik isimleri ile tanımlanırlar. Spinal sinirlerin duyu gangliyonları **dorsal kök gangliyonu** olarak adlandırılmaktadır. Duyu gangliyonları, kuboidal kapsül hücreleri ile çevrili, duyu liflerinin unipolar hücre gövdelerini barındırmaktadır. Bu kapsül hücreleri uydu (satellite) hücreleri ve kollajenden oluşan bağ dokusu kapsülü ile çevrilidir. Her aksonun endonöryumunu gangliyonu çeviren bağ dokusu ile devam etmektedir. Nöronların periferik uzantıları, iç ve dış ortamlardan çeşitli uyarılara uyum sağlamak amacıyla sonlanmalarında özelleşmiş reseptörleri barındırmaktadır. Merkezi uzantılar, gangliyon ile sinaps yapmadan kranial sinirler içerisinde beyine veya spinal sinirler içerisinde omuriliğe geçmektedir. Bir diğer gangliyon tipi olan otonomik gangliyonun sinir hücre gövdeleri motor fonksiyon göstermektedir. Düz ve kalp kası kasılmaları veya bez sekresyonu gibi fonksiyonları yerine getirmektedir. Sempatik sistemde, pregangliyoniksempatik lifler, ya omuriliğe yakın sempatik zincirde ya da abdomende abdominal aort boyunca kollateral gangliyonda yer alan sempatik gangliyonlar postgangliyonik sempatik hücre gövdeleriyle sinaps yaparlar. Bu gangliyonlardan köken alan postgangliyonik sempatik sinirler periferik sinir olarak ayrılır ve innerve ettiği efektör organda sonlanırlar. Parasempatik sistem içerisinde bulunan pregangliyonik parasempatik lifler iki ayrı yerden köken almaktadır. Bunlar belirli kranial sinirler ve sakral omuriliğin belirli segmenteleridir. Bu sinirler

terminal gangliyonda bulunan postgangliyonik hücre gövdelerinde sinaps yapmaktadırlar. Kranial sinirlerin çekirdeklerinden köken alan pregangliyonik parasempatik lifler baş bölgesinde bulunan dört terminal gangliyondan biri ile sinaps yapar. X. kranial sinir ile ilişkili terminal gangliyon ve sakral omurilikten uzanan pregangliyonik lifler visseral duvarda yer almaktadır. Baş bölgesindeki terminal gangliyondan köken alan postgangliyonik parasempatik sinirler gangliyondan ayrılır ve genellikle trigeminal sinire (V. kranial sinir) katılarak efektör organlara uzanır. Vissera duvarında bulunan gangliyonlardan köken alan postgangliyonik parasempatik sinirler, vissera içerisindeki efektör organlara doğrudan geçmektedir (Leslie P. Gartner & Hiatt, 2016).

Sinir sistemi hücreleri çoğunlukla sinyal moleküllerinin salınımı ile birbirleriyle iletişim kurmaktadır. Salınan moleküller, hedef hücrenin plazmalemmasından çıkıntı yapmış reseptör molekül ile ilişki kurar ve hedef hücrede bir yanıt oluşturur. Bu sinyal molekülleri nörotransmitter olarak adlandırılmaktadır. Sinyal molekülleri "birincil mesajcı sistem" olarak görev yapıyorsa (örneğin reseptörler iyon kanalları ile doğrudan ilişki içindeyse) nörotransmitter adını almaktadır. Sinyal molekülleri "ikincil mesajcı sistemi" üzerinden işlev gösteriyorsa nöromodülatör veya nörohormon adını almaktadır. Bilinen 100 tane nörotransmitter (ve nöromodülatör) madde bulunmaktadır. 3 grup altında incelenmektedir:

- Küçük molekül transmitterleri
- Nöropeptidler
- Gazlar

Küçük molekül nöropeptidler 3 ana tiptedir:

- ❖ Asetilkolin (Bu grupta tek aminoasit kökenli olmayan)
- ❖ Aminoasitler: Glutamat, aspartat, glisin ve γ -aminobütrik asit (GABA)
- ❖ Biogenik aminler: (monoaminler) serotonin ve 3 katekolamin: Dopamin, nöroepinefrin (noradrenalin) ve epinefrin (adrenalin)

Pek çoğu nöromodülatör olan nöropeptidler geniş bir gruptur. Bu grup içerisinde:

- Opioid peptitler: Enkafalin ve endorfin
- Diffüz nöroendokrin hücreleri tarafından üretilen Gastrointestinal peptidler: P Maddesi, nörotensin ve vazoaaktif intestinal peptid
- Hipotalamik salgılatıcı hormon: Tirotropin salgılatıcı hormon ve somatostatin
- Nörohipofizden salınan ve depolanan hormonlar: Antidiüretik hormon ve oksitosin.

Gazlar, nöromodülatör görevi göstermektedir. Nitrik oksit (NO) ve karbon monoksit (CO) gibi (Kim E. Barret et al., 2011).

2.3. EMBRİYOLOJİ

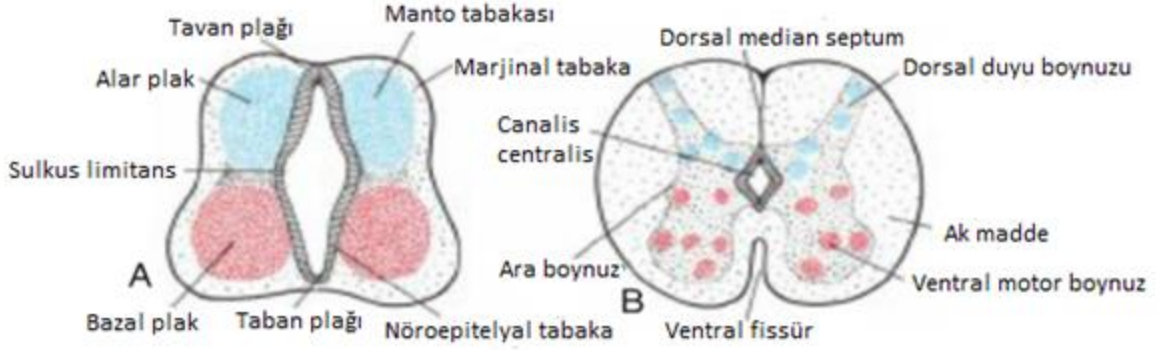
Embriyoda ilk gelişen sistemlerden biri olan merkezi sinir sistemi, 3. haftanın başında primitif çukurun önünde orta-dorsal düzlemde kalınlaşmış bir ektodermal plak yapısındaki terlik benzeri bir yapı olan nöral plak'dan köken alır. Önce nöral plağın lateral kenarları nöral katlantıları oluşturmak üzere yukarıya doğru katlanır. Daha sonra nöral tüpü (kanalis nöralis) oluşturmak üzere bu katlantılar birleşir. Nöral tüp kapanmaya önce servikal bölgede başlar, kaudal ve sefalik yönlere doğru devam eder. Kranial ve kaudal nöroporlar aracılığı ile nöral tüp amniyon sıvısı ile geçici olarak ilişkisini sürdürür. Kranial nöropor kapanmasını 25. günde, 18-20 somit evresinde tamamlarken, kaudal nöropor bundan yaklaşık 2 gün sonra 27-28. günde, 30-32 somit evresinde kapanır.

28. günde nöral tüpün sefalik bölgesinde 3 adet dilate bölge primer beyin veziküllerini oluşturur. Prosensefalon (ön beyin), mezensefalon (orta beyin), rhombensefalon (arka beyin). Sefalik bölgede beyin vezikülleri ile eş zamanlı olarak 2 adet fleksür gelişir. Arka beyin ile omuriliğin birleşim yerinde servikal fleksür, orta beyin bölgesinde ise sefalik fleksür oluşur. 5 haftalık embriyoda prosensefalon 2 parçadan oluşur: Bir orta bölge ve iki lateral çıkıntı yani telensefalon ile optik veziküllerin dışı doğru büyümesi sonucunda oluşan diensefalon. Mezensefalon rhombensefalondan derin bir yarık olan rhombensefalik isthmus ile birbirinden ayrılır. Rhombensefalon daha sonra pons ve serebellumu oluşturacak olan metensefalon ve myelensefalon olarak ikiye bölünür.

Omuriliğin lümeni olan santral kanal, beyin vezikülleri ile devam eder. Rhombensefalon boşluğu dördüncü ventrikül, diensefalon boşluğu üçüncü ventrikül ve beyin hemisferlerindeki boşluklar da lateral ventriküller adını alır. Üçüncü ve dördüncü ventriküller birbirlerine giderek daralacak olan mesensefalon lümeni, akuaduktus serebri (Sylvius kanalı) ile bağlanırlar. Lateral ventriküller ile üçüncü ventrikül birbirine foramen monro (interventriküler foramen) yoluyla ilişki kurar (Dudek, 2016).

Yeni kapanmış bir nöral tüpün duvarı, duvarın tüm kalınlığı boyunca devam eden ve birbirlerine lümendeki birleşim kompleksleriyle bağlı olan yalancı çok katlı (pseudostatifiye) epitel ile döşelidir. Nöral tüpün tamamen kapanmasından hemen sonra hücreler hızla bölünmeye başlar ve nöroepitelyal tabakayı (nöroepitelyumu) oluşturur. Nöral tüp kapandıktan sonra nöroepitelyumu oluşturan hücrelerin bir kısmı geniş ve yuvarlak çekirdekli, soluk sitoplazmalı ve çekirdekçikli bir başka hücre tipini oluşturur.

Bu hücreler primitif sinir hücreleri, nöroblastlardır. Nöroblastlar, nöroepitelyal tabakanın çevresinde manto tabakası olarak bilinen bir tabakayı oluşturur. Bu tabaka daha sonra omuriliğin gri maddesini oluşturur. Omuriliğin en dış katmanı ise manto tabakasındaki nöroblastlardan çıkan sinir liflerini içerir ve marjinal tabakayı oluşturur. Bu tabaka sinir liflerinin miyelinizasyonu sonucu beyaz bir görünüm kazanır ve omuriliğin beyaz maddesini oluşturur (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Omuriliğin embriyolojik gelişimi

Nöroblastların mitoz bölünmeleri sonucunda manto tabakasına yeni nöroblastlar katılır ve nöral tüpün her iki yanında duyu bölgelerini meydana getirecek olan alar plak denilen dorsal ve ventral motor boynuz hücrelerini içeren ve omuriliğin motor bölgesini oluşturan ventral kalınlaşmalar ortaya çıkar. Bu iki kalınlaşma arasındaki sınır sulkus limitans adlı uzunlamasına oluk belirler. Tavan ve taban plakları arasında nöroblast bulunmaz. Bu bölgeler bir taraftan diğer tarafa sinir liflerin geçişine zemin oluşturur.

Ventral motor ile dorsal duyu boynuzları arasında bir grup nöron küçük bir ara boynuz olan intermediate boynuz'u oluşturur. Bu boynuzda otonom sinir sisteminin sempatik kısmına ait nöronlar bulunur. Bu yapı sadece omuriliğin T1- T12 torakal ve L1- L3 üst lumbal bölgesinde bulunur.

Nöroepitelyal hücrelerin bölünmesi ile ortaya çıkan primitif sinir hücreleri olan nöroblastlar, başlangıçta geçici bir dendrite sahipken, manto tabakasına göç ettiklerinde bu çıkıntılar kaybolur ve yuvarlak şekilli, apolar nöroblastlar oluşur. Devam eden farklanmalar sonucunda hücre gövdesinin iki farklı uçlarından iki yeni çıkıntı belirir ve bipolar nöroblastlar oluşur. Hücrenin bir tarafındaki uzantı hızla uzayarak primitif aksonu oluşturur ve hücre artık bu haliyle multipolar nöroblast olarak bilinir. Bu nöroblastlar gelişmesine devam ederek erişkin sinir hücresi yani nöronu oluşturur. Hücreler nöroblast haline geldikten sonra artık bölünme yeteneğini kaybetmiştir. Bazal plaktaki nöronların aksonları marjinal bölgeyi delerek kordun ventral kökünden çıkan

aksonlar şeklinde görünür hale gelir. Bunlar topluca **spinal sinirlerin ventral motor kökü** olarak bilinir, omurilikten kaslara giden uyarıları taşırlar. Alar plak olarak da bilinen dorsal duyu boynuzundaki nöronların aksonları marjinal tabakaya penetre olur ve hem daha aşağı hem de daha yukarı düzeylere ulaşan **asosiyasyon nöronlarını** oluştururlar.

İlkel destek dokusu hücreleri olan gliablastların büyük kısmı, nöroblastların oluşumu bittikten sonra geride kalan nöroepitelyal hücreler tarafından oluşturulur. Gliablastlar, yalancı çok katlı (pseudostrafiye) epitel tabakasından manto ve marjinal tabakalarına göç ederler. Manto tabakasından farklı olarak protoplazmik ve fibriler astrositlere dönüşürler. Bir diğer destek hücre tipi olan oligodendrositler ise gliablastlardan köken almakla beraber, marjinal tabakada bulunmakta ve buradaki inen ve çıkan aksonların çevresindeki miyelin kılıflarını oluştururlar. Bir diğer destek hücresi olan mikroglia hücresi ise gelişimin ikinci yarısında mezenşimal hücrelerden köken almakla beraber fagositik özelliği dikkat çekmektedir. Nöroepitelyal hücreler, nöroblast ve gliablastlara dönüşümünü tamamladıktan sonra en son omuriliğin merkezi kanalını döşeyen ependimal hücrelere farklılıklar.

Nöral plağın katlanması sonucunda nöral oluşun her iki kenarı boyunca nöral krest hücreleri adıyla bilinen hücre grubu ortaya çıkar. Nöral krest hücreleri ektoderm kökenlidir ve nöral tüp boyunca yerleşirler. Krest hücreleri bu bölgeden laterale doğru göç ederek, spinal sinirlerin duyu gangliyonlarını (dorsal kök gangliyonlarını, DRG) ve diğer hücre tiplerini meydana getirirler. Perifere doğru büyüyen uzantılar ise ventral motor kök lifleriyle birleşerek spinal sinir gövdesini oluştururlar. En sonunda da duyu reseptör organlarında sonlanır. Kısaca, nöral krest hücrelerinden köken alan duyu gangliyonlarındaki nöroblastların, dorsal kök gangliyonunda bulunan gangliyon hücrelerini meydana getirdiği söylenebilir. Nöral krest hücreleri, duyu gangliyonlarının oluşumunun yanı sıra sempatik nöroblastlara, Schwann hücrelerine, pigment hücrelerine, odontoblastlara, meninkslere ve faringeal arkusların mezenşimine de farklılıklar.

Omuriliğin bazal plaklarında embriyonal gelişimin 4. haftasında motor sinir hücreleri meydana gelir. Demetler halinde bir araya gelerek ventral sinir köklerini oluştururlar. Dorsal kök gangliyonlarından perifere uzanan dorsal sinir kökleri ile ventral sinir kökleri birleşerek spinal siniri oluştururlar. Daha sonra spinal sinirler dorsal ve ventral primer ramuslara bölünürler. Dorsal primer ramuslar dorsal aksiyel kasları, vertebral eklemleri ve sırtın derisini innerve ederler ve majör sinir pleksuslarını (kranial, brakial ve lumbosakral) oluştururlar.

Periferik sinirde miyelinizasyon Schwann hücreleri tarafından gerçekleştirilmektedir. Nöral krestten köken alan Schwann hücreleri perifere

göç ederek periferik sinirlerin aksonlarının çevresini sararak nörolemma kılıfını oluştururlar. Fetal yaşamın 4. ayının başında Schwann hücre membranının akson üzerinde birçok kez kıvrılması sonucu beyazımsı bir görüntüye neden olan miyelin birikimi oluşur. Omurilik içerisindeki sinir liflerini çevreleyen miyelin kılıfı ise oligodendrositler oluşturmaktadır. Miyelinizasyon her ne kadar fetal yaşamın 4. ayının başında başlasa da doğumdan sonra 1 yaşına kadar devam eder. Sinir sistemindeki traktuslar, fonksiyon görmeye başladıkça miyelinize olurlar.

Nöral plak evresinde omuriliğin gelişeceği bölgenin tümünden PAX3, PAX7, MSX1 ve MSX2 gibi transkripsiyon faktörleri eksprese edilir. Bunların ekspresyonları ise sonic hedgehog (SHH) ve kemik morfogenetik proteinleri 4 ve 7 (BMP4 ve BMP 7) tarafından kontrol edilir. SHH, PAX ve MSX genlerini baskılayarak nöral tüpün ventral bölgesini geliştirir. Oluşan ventral bölge, SHH eksprese eden taban plağını ve bazal plakta motor nöronları oluşturma yeteneği kazanır. BMP4 ve BMP7 ekspresyonu da alar plakta duyu nöronların olduğu nöral tüpün dorsal parçasında PAX3 ve PAX 7 ekspresyonunu başlatır ve devam ettirirler. Bir süre sonra ventral bölgede bu genlerin ekspresyonları SHH tarafından durdurulmaktadır (Sadler, 2014).

2.4. AĞRI ANATOMİSİ VE FİZYOLOJİSİ

Ağrı, çevresel ya da endojen kaynaklı, organizmaya zararlı uyanların, bu uyanlara duyarlı serbest sinir uçlarını uyarması ile oluşan aksiyon potansiyelinin santral sinir sistemine taşınması, orada bilgisel kodlara çevrilerek anlaşılması ve buna uygun reaksiyonların verilmesi olarak tanımlanır.

Nosisepsiyon ise vücudun herhangi bir yerinde meydana gelen doku hasarına ait bilgiyi özelleşmiş sinir uçları (nosiseptör) tarafından merkezi sinir sistemine iletilerek hasarın algılanması sonucunda fizyolojik, psikolojik ve biyokimyasal önlemlerin harekete geçirilmesine denir. Tüm ağrılar nosisepsiyondan kaynaklanmaz ancak tüm nosiseptör aracılı uyarılar ağrı oluşturur.

Ağrı duyusu için özel bir reseptör yoktur ancak subepidermal serbest sinir sonlanmaları tarafından algılanır. Her bir reseptör farklı çap ve kalınlıktaki miyelin kılıf ile çevrili, bu nedenle de farklı iletim hızı ve uyarılma eşikleri olan sinirler aracılığı ile omuriliğe iletilir. Duyu iletiminden sorumlu başlıca 4 lif tipi vardır:

Grup I Lifler (Aα)	Grup II Lifler (Aβ)	Grup III Lifler (Aδ)	Grup IV Lifler (C)
Kalın miyelinlidirler. (12-22 mm)	Daha ince miyelinlidirler. (6-12 mm)	İnce miyelinlidirler. (1-5 mm)	En küçük çaplı liflerdir. Miyelinsizdirler.
Hızlı iletim gösterirler. (70-120 m/sn)	Biraz daha yavaş iletim hızına sahiptirler. (35-75 m/sn)	Düşük iletim hızına sahiptirler. (4-30 m/sn)	En düşük iletim hızına sahiptirler. (0,4- 2 m/sn)
Kas içcikleri ve golgi tendon organından çıkan afferent uyarıları taşır.	Yüzeyel dokunma (Meissner reseptörlerine bağlıdır.)	Hem termal hem mekanik uyarılara yanıt verirler.	Seçici olarak nosiseptif ya da ağrılı uyarıları saptar.
	Aktivasyon eşikleri düşüktür.	Aktivasyon eşikleri daha yüksektir.	Aktivasyon eşiği en yüksek olan liflerdir.

Mekanik, termal ya da kimyasal zararlı uyarıların iletilmesinden sorumlu olan ağrı lifleri (nosiseptörler) A δ ve C lifleridir.

Deriden gelen tüm afferentlerin % 60- 90'ı C liflerinden oluşmaktadır. Tip 1 ve Tip 2 C lifleri olmak üzere 2'ye ayrılır:

Tip 1 C- lifleri: P maddesi ve CGRP (Kalsitonin gen ilişkili peptid) gibi peptidleri içerdiği için peptiderjik C- lifleri de denir. Fibroblast ve Schwann hücreleri gibi yapılardan salgılanan NGF (Nerve growth factor)'nin bağlandığı Trk A (Tirozin kinaz A) reseptörünü taşırlar. Bu liflerden salınan peptidler periferik sinirdeki ya da çevrede dinlenme durumunda olan mast hücrelerini uyararak histamin salgılanmasına yol açar. Vazoaktif bir peptid olan histamin kızarıklık, ödem ve deride hiperaljezi gibi lokal belirtilere neden olur. Bu liflere ait DRG'lerin santral uzantıları omuriliğin arka boynuzundaki lamina I'de ve lamina II'nin dış kısmında sonlanır. Kapsaisin'e duyarlı TRPV1 reseptörüne sahiptirler.

Tip 2 C- lifleri: Substans P ve CGRP peptidlerini içermedikleri için non-peptiderjik C- lifleri adı verilir. Schwann hücrelerinden salınan GDNF'nin reseptörü Trk-RET reseptörünün yanı sıra ATP'nin reseptörü P2X3 reseptörü bu liflerde taşınırlar. Tip 2 C- liflerine ait DRG nöronlarının santral uzantıları ise arka boynuzdaki lamina II'nin iç tabakalarında bulunan internöronlar ile

bağlantı yapar. Kapsaisin'e duyarlı TRPV1 (Transient reseptör vanilloid-1) reseptörlerine sahiptir.

C liflerinin yaklaşık % 10-20'si sessiz liflerdir. Sinir hasarı ya da enflamasyon durumunda bu sessiz C lifleri hiperaljezi oluşumuna katkıda bulunur. Bir diğer nosiseptör grubu olan ince miyelinli Aδ lifleri CGRP ve başka peptidler içerirler. VRL-1 (Vanilloid Receptor Like-1) reseptörlerinin yanı sıra NGF ailesinden TrkA, TrkB ve TrkC gibi reseptörleri barındırır. Bu liflere ait DRG nöronlarının merkezi uzantıları ise dorsal boynuzun lamina I ve lamina IV-V tabakalarında sonlanırlar (Tan, 2009).

Nosiseptörler sodyum, potasyum ve kalsiyum gibi iyon kanallarının yanı sıra aside duyarlı kanallar (ASIC ailesi), bradikinin ve adreno reseptörler ile TRPV reseptörleri gibi bir takım reseptörleri taşırlar. Bu kanalların duyarlılığı enflamatuvar araçlar tarafından düzenlenir. Kapsaisin'e duyarlı olan vanilloid reseptörlerinin adı, bu reseptörlerin ısının aktive ettiği TRP (Transient Receptor Potential) iyon kanalları ailesine ait oldukları anlaşıldıktan sonra TRPV1 olarak değiştirilmiştir. TRPV1-4, TRPM8 ve TRPA 1 kanalları termoreseptörlerdir. TRPV1 ve TRPV2 zararlı sıcak, TRPA1 zararlı soğuk uyarılar ile, TRPV3, TRPV4 ve TRPM8 ise zararsız ısıya bağlı uyarılar ile aktive olur. Merkezi sinir sisteminde omuriliğin arka boynuzunda TRPV1 kanallarının yaklaşık % 50'si bulunurken, periferde derinin dermis ve epidermis katmanlarında, Meissner korpusküllerinde, keratinositlerde ve miyelinsiz C- liflerinin üzerinde yer alırlar. TRPV1 taşıyan nöronların büyük kısmı NGF reseptörü TrkA'nın yanı sıra SP ve CGRP gibi nöropeptidler taşırlar. Kronik enflamatuvar durumda ve sinir hasarından sonra DRG nöronlarında TRPV1 reseptör yapımı artar ve periferik nosiseptör terminallerine transportu ileri derecede hızlanır. TRPV1 kanal fonksiyonunun artışı ya kanalın direkt aktivasyonu ya da aktivasyon eşiğinin düşürülmesi şeklinde olur.

ATP'nin bağlandığı iki tip purinerjik reseptör vardır. Bunlar iyonotropik P2X ve metabotropik P2Y reseptörleridir. P2X purinerjik reseptörler ekstrasellüler ATP'nin bağlanmasıyla açılan katyon kanallarıdır ve 7 alt tipi vardır (P2X1-7). P2X3, P2X4 ve P2X7 özellikle nosiseptif süreçlerle ilgili P2X reseptör alt tipleridir. Daha çok duyusal liflerin periferik ve santral sonlanmalarında P2X3 reseptörleri bulunmaktadır. Sinir hasarından sonra ATP düzeylerinde görülen artış, DRG nöronlarda büyük ölçüde depolarizasyona neden olur. Bu da hiperaljezinin gelişimine katkıda bulunur.

Ağrı iletiminde rol oynayan bir başka önemli yapı da voltaj girişli sodyum kanallarıdır (VGSC). VGSC'ler uyarılabilen hücrelerdeki aksiyon potansiyelleri sonucu depolarize olarak hücre içine sodyumun hızlı girişini sağlayan kompleks transmembran yapılarıdır. Bu sayede aksiyon potansiyelleri hızla büyütülmüş ve akson boyunca devam etmeleri sağlanmış olur. VGSC'ların

nosisepsiyonda çalışan on izoformu saptanmıştır. Nav 1.3 diyabetik nöropatinin yanı sıra deneysel sinir lezyonu olgularında yetişkin nöronlarda da ortaya çıkar. VGSC'lerin ağrı ve doku enflamasyonuna eşlik eden hipersensitivitede anahtar rol oynarlar ve özellikle A δ ve C- nosiseptörlerin sensitize olmasına yol açar.

Dinlenme durumundaki immün hücreler periferik sinir hasarından sonra aktive olur ve mast hücreleri, nötrofiller makrofajlar ve T hücreleri gibi non-nöronal hücreler hasar bölgesinde toplanıp proliferer olurlar. Toplanan ve aktive olan bu hücrelerden TNF- α (Tumor necrosis Factor- α), IL-1 β (Interleukin-1b), IL-6 (Interleukin-6), histamin, PGE2 (Prostaglandin E2) ve NGF (Nerve growth factor) gibi duyuşal hasarları başlatan ve sürdüren faktörler salınır. Bu faktörler ya doğrudan ya da anterograd olarak DRG'lere taşınarak nöronun gen yapısını değiştirirler. İlk olarak nöronun içinde dinlenme durumunda olan mast hücreleri aktive olur. Aktive olmuş mast hücrelerinden histamin, serotonin, sitokinler ve proteazlar salgılanır. Bu durum diğer enflamatuvar hücrelerin lezyon bölgesinde toplanması ve yeni mediyatörlerin bağlanması ile sonuçlanmaktadır. Hasarlı hücreler, mast hücreleri ve enflamatuvar hücreler tarafından içinde kininler, aminler, prostanooidler, nörotrofik faktörler, kemokinler ve sitokinler ile protonlar ve ATP'nin de bulunduğu "enflamatuvar bir çorba" salgılanır. Bu çorba nosiseptörleri ya doğrudan ya da uyarılma eşiklerini düşürerek duyarlı hale getirir. Bunun sonucu zararlı uyarılara duyarlı olan nosiseptörler, zararsız uyarılara karşı da duyarlı hale gelirler (Vranken, 2009).

Doku hasarından sonra hasar bölgesinde ortaya çıkan enflamatuvar çorbanın en önemli bileşenlerinden biri de sitokinlerdir. Sitokinler enflamatuvar hücrelerden salgılanan proteinlerdir. TNF- α , IL-1 β ve IL-8 gibi sitokinler proenflamatuvar etkidedirler. IL-4, IL- 10 ve IL- 13 gibi sitokinler ise antienflamatuvar etki gösterirler. IL-1 β 'nın kendi reseptörüne bağlanması bir transkripsiyon faktörü olan NF- κ B'nin (nükleer faktör- κ B) çekirdeğe geçmesine neden olur. Bunun sonucu olarak enflamasyon ve nosisepsiyon ile ilgili genlerin transkripsiyonu ve nitrik oksit, bradikinin, prostaglandin ve proenflamatuvar sitokinlerin üretimi başlar. Bunlara ek olarak IL-1 β , nosiseptörleri direkt olarak etkileyip sıcak uyarılara karşı artmış yanıtla yol açabilir. TNF- α hem bazı sitokinler ve büyüme faktörlerinin (GF, growth factor) aktivasyon kaskadını başlatarak dolaylı yolla hem de DRG'ler üzerine doğrudan etkiyle nöropatik ağrıyı başlatabilir. Nöropatik ağrı modellerinde TNF- α ve TNF- α mRNA'sındaki artışlar hiperaljezi ve allodini gelişimi ile paraleldir.

Periferden iletilen nosiseptif duyuların oluşturduğu depolarizasyon arka boynuzdaki presinaptik sinir ucunda bulunan voltaj girişli kalsiyum kanallarının (VGCC) aktive olmasına ve bunun sonucu olarak presinaptik sinir

ucuna kalsiyum girişine neden olur. VGCC'lerin açılmasındaki anahtar molekül bu kanalların üzerinde bulunan $\alpha 2\delta$ alt birimidir. Hücre içine giren Ca^{+2} , sinir sonlanmalarındaki glutamat ve SP veziküllerinin sinaptik aralığa boşalmasını sağlar. Sinaptik aralıkta bulunan glutamat, postsinaptik membran üzerindeki glutamat reseptörlerinin (NMDA- N- methyl- D- aspartate- reseptörleri ve daha az oranda AMPA reseptörlerini) aktive ederek postsinaptik duyuşal nöron içine Ca^{+2} girişine neden olur. Ek olarak G- proteinine bağılı metabotropik glutamat reseptörlerinin ve P maddesinin aktive ettiğı NK-1 reseptörlerinin etkisiyle hücre içinde fosfokinaz-C (PKC) aktive olur. Bu yolla ikinci duyuşal nöron aktive edilmiş olur. Sinaptik aralıktaki glutamat sadece postsinaptik membran üzerinde etki göstermez. Aynı zamanda arka boynuz üzerinde inhibitör etki gösteren GABAerjik internöronların NMDA reseptörlerine de bağılanarak bu GABAerjik internöronların inhibitör etkilerini azaltır.

Nöropatik ağıı durumlarında hem DRG nöronlarında hem de omurilikte $\alpha 2\delta$ proteininde ve $\alpha 2\delta$ mRNA'sında belirgin bir artış ortaya çıkar. VGCC'lerin $\alpha 2\delta$ alt birim miktarındaki artış bu kanalların aktivasyon eşiğini düşürür ve hücreye sürekli Ca^{+2} girişı ile sinaptik aralığa P maddesi ve glutamatın salgılanmasının artmasına neden olur. Postsinaptik membrandaki reseptörlerin kronik uyarılması hücre içine sürekli Ca^{+2} girişine ve PKC yolağıının sürekli aktive edilmesine neden olur. Buna bağılı olarak ikinci duyuşal nöron membranındaki reseptör sayısının artışı şeklinde plastik değışiklikler ortaya çıkar. Bunun sonucu olarak nöronların uyarılma eşikleri düşer. Normal koşullarda glutamatın GABAerjik inhibitör internöronlar üzerindeki inhibitör etkisi, glutamatın aşırı salgılanması ile bu hücrelerdeki NMDA reseptörlerinde bir alt birim değışikliğine yol açarak yerini internöronların apoptozisine bırakır. İternöronların bu apoptotik kaybı sonucu arka boynuzdaki inhibitör etkisi ortadan kalkar ve **santral sensitizasyon** gelişimine daha fazla katkı sağlar (Vranken, 2009).

Ağıı nöroanatomik ve nörofizyolojik olarak 5'e ayrılır:

1. Nosisseptif Ağıı
2. Deafferentasyon Ağıısı
3. Reaktif Ağıı
4. Psikosomatik Ağıı
5. Nöropatik Ağıı

Nosisseptif Ağıı: Serbest sinir uçlarındaki ağıı reseptörlerinin uyarılması sonucu ağıı ileten lifleri ile önce omuriliğe oradan da talamusa iletilen ve beyin korteksi tarafından ağıı olarak algılanan uyarılar nosisseptif ağıı olarak tanımlanır. Nosisseptörlerce algılanırlar. Somatik ve visseral ağıı olarak ikiye ayrılırlar. Somatik ağıı, iç organlar hariç deri, kas ve eklemleri de içeren tüm vücut bölgelerinde oluşan ağııdır. Deriden kaynaklanan ağıı yüzeysel somatik

ağrı olarak tanımlanırken; derin somatik ağrı ise iskelet kasları, eklemler, bağ dokusu ve fasiyalardan kaynaklanan ağrı olarak belirtilmiştir. Visseral ağrı, i organlardan kaynaklanmaktadır. Ancak her organdan kaynaklanmaz. Örneğin karaciğer, böbrek gibi solid organlar ya da akciğer parankimi ağrıya hassas değildir. Ayrıca bağırsakların kesilmesi gibi kimi doku harabiyetleri ağrıya neden olmaz. Genellikle sindirim kanalı, safra yolları, üreter gibi lümenli organların aşırı gerilmesi ve düz kasların aşırı kasılması; böbrek, dalak, karaciğer gibi kapsüllü organların kapsüllerinin zorlanması sonucu ağrı duyulur. Arter duvarları, periton, plevra, dura mater ve diğer bağ dokusu bulunan yerlerde ağrı reseptörleri bulunurken; iç organların parankimasında ve beyinde ağrı reseptörü bulunmaz. Organlardan kaynaklanan ağrı merkezi sinir sistemine sempatik sistem içinde iletilir. Organlardan gelen otonom afferentlerin omurilik arka boynuzunda somatik ağrı yoluna taşınması ile buradaki somatik sinirin innerve ettiği cilt alanında ağrı (yansıyan ağrı) duyulur.

Deaferentasyon Ağrısı: Yanıcı bir his olarak algılanan deaferentasyon ağrısı, periferik ve merkezi sinir sistemindeki lezyonlar ile somatosensoryal uyarıların, merkezi sinir sistemindeki iletiminin kesilmesiyle ortaya çıkar.

Reaktif Ağrı: Miyofasiyal ağrılar gibi motor ve sempatik afferentlerin refleks aktivasyonu sonucu nosiseptörlerin uyarılması ile ortaya çıkan ağrıdır.

Psikosomatik Ağrı: Çeşitli kişisel, ekonomik ve toplumsal sorunlar gibi psikososyal ve psişik sorunların hasta tarafından ağrı duyusu olarak algılanmasıdır (Tan, 2009).

Nöropatik Ağrı: Uluslararası ağrı çalışma derneğinin (IASP) yapmış olduğu tanıma göre nöropatik ağrı, sinir sisteminin disfonksiyonu ya da primer lezyonun neden olduğu veya başlattığı ağrı olarak tanımlanmaktadır. Ağrı sendromu sinir sisteminde lezyonun bulunduğu yere göre merkezi ve periferik olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Periferik nöropatik ağrı içerisinde diyabetik periferik nöropati, HIV'e bağlı nöropati, travma sonrası pleksopati ve post herpetik nöropati bulunurken; merkezi nöropatik ağrı içerisinde inme sonrası ağrı, siringomiyeli, post iskemik miyelopati, parkinson hastalığı ile ilişkili ağrı veya multipl skleroz ve travma sonrası omurilik hasarı ağrıları bulunmaktadır. Kanseri ile ilişkili olan nöropatik ağrı tümör büyümesine bağlı oluşan bası veya sinir Enfiltrasyonu nedeni ile periferik; metastatik Enfiltrasyon veya omurilik basısı nedeni ile de merkezi nöropatik ağrıya örnektir (Rasmussen, Sindrup, Jensen, & Bach, 2004).

Nöropatik Ağrı Mekanizmaları: Hayvan modellerindeki çalışmalar, sinir hasarı sonrası nöropatik ağrı mekanizmasında periferik ve merkezi patofizyolojik süreçleri tanımlamaktadır. Nöropatik ağrıda değişen karakteristik duyarlılığın altında yatan sebep fonksiyondaki, kimya ve nöronların yapısındaki (nöral plastisite)değişikliklerdir. Periferik duyarlılık nosiseptörler üzerinde etkili iken, merkezi duyarlılık dorsal boynuzdan beyine kadar çeşitli seviyelerde yer almaktadır. Ayrıca sempatik ve duyu yolları arasında anormal bağlantılar nöropatik ağrının mekanizmasının düzenlenmesinde katkıda bulunmaktadır (Romanelli & Esposito, 2004).

Nöropatik ağrının gelişimi ve sürdürülmesinde periferik sinir sonlanmalarından merkezi sinir sisteminin korteks bölümüne kadar tüm duyu yolları görev yapmaktadır. Bu süreçte duyu yollarındaki reseptörler, nöronlar ve diğer hücrelerden salınan mediyatörler de rol oynamaktadır. Bu yolların her birinin aktivasyonu statik ve dinamik allodini, hiperaljezi, spontan ağrı ve "wind up" gibi nöropatik ağrı semptomlarının ortaya çıkmasına neden olur. Bu semptomların ortaya çıkışı periferik sinir sonlanmaları, sinir gövdesi, omurilik arka boynuzu, omurilik, beyin sapındaki merkezler ile subkortikal ile kortikal yapıların birinde ya da daha fazlasında nöropatik ağrıya yol açan plastisite değişikliklerine bağlıdır.

Nöropatik Ağrıda Periferik Süreç

Periferde, doğrudan bir sinir hasarına neden olan bir olay meydana geldikten sonra, belirgin bir lokal enflamasyon yanıtı ortaya çıkmaktadır. Hasarlı primer afferent nöronların çevresinde enflamatuvar hücrelerin infiltrasyonu (mast hücreleri, makrofajlar ve diğer immünokomponent hücreler), damar düzeni ve sempatik terminallerden "enflamatuvar çorba"nın salınımı ile sonuçlanmaktadır. Bu "çorba" içerisinde histamin, brakinin, serotonin, ATP (iyonotropik P2X purinoseptörlerin stimülasyonu), siklooksijenaz ürünleri (prostaglandin E2), araziidon asit metabolizmasında (enflamatuvar dokuda prostaglandinlerin birincil kaynağı) lipooksijenaz yolları (likotrien B4), protonlar, sinir büyüme faktörü (NGF) ve sitokinler (IL-1 β , IL-6, TNF- α ve lösemi inhibitör faktör) bulunmaktadır. Merkezi sinir sisteminde hiperaljezinin oluşmasında önemli bir düzenleyicinin nitrik oksit olduğuna dair önemli kanıtlar bulunmaktadır. Ek olarak, dejenerasyon olmuş nosiseptif nöronlardan hem kalsitonin gen ilişkili peptid (CGRP) hem de P maddesi (SP) salınmaktadır. Bu nöropeptidler vazodilatasyonu ve ekstrasvazasyonu tetiklemekte ve mast hücreleri ile lökositlerden (nörojenik enflamasyon) enflamatuvar düzenleyicilerin salınmasını tetiklemektedir. SP, 1931 yılında Von Euler Gaddum tarafından at beyini ve bağırsak ekstrasında keşfedilmiştir. Hipotansiyonu ve kas kasılmalarını indüklemektedir. TAC1 geni tarafından kodlanan SP, taşıyıcının peptid hormonu ailesinin bir üyesidir. Bu aile SP'nin yanı sıra nörokinin A, nöropeptid K ve nöropeptid δ

nöropeptidlerini içermektedir. Nöronlar, astrosit, mikroglia, epitel hücreleri, endotel hücreleri, T hücreler gibi immün hücreler, makrofajlar, dendritik hücreler, eozinofiller belirgin SP ekspresyonu göstermektedir. Tüm bu hücrelerin yanı sıra immün düzenleyici mezenseyal kök hücreleri içeren bazı kök hücreler ve progenitör hücrelere SP'yi eksprese etmektedir. Nöronlar tarafından salınan SP, nosisepsiyon ve enflamasyon gibi pek çok biyolojik süreçte görev almaktadır. Sinir kökenli SP immün hücre proliferasyon oranları ve sitokin üretimini düzenleyerek nöronlar ve immün hücreler arasında etkileşimi sağlamaktadır (Mashaghi et al., 2016). Normal durumlarda görece inaktif ve tepkisiz olan nosiseptörler, enflamasyondan dolayı nosiseptörler spontan boşalma gelişimi ile beraber artan duyarlılık (uyarıya düşük eşik değeri ve uzatılmış yanıt) gösterebilir (Ito, Okuda-Ashitaka, & Minami, 2001; Sommer & Kress, 2004).

Primer afferent nöron hasarına bağlı olarak, iyon kanallarının fonksiyon ve yoğunlukları değişmekte, elektrik impulsunda anormal paternler ve dorsal boynuzda anormal afferent imputlar oluşmaktadır. Duyu nöronlarının sonlanmalarından nörotransmitter salınımını kontrol eden voltaja duyarlı- N tipi Ca^{+2} kanalları bu sinir sonlanmalarında ektopik ateşlenme ve nöronal hipereksitabilite ile aşırı faal olmuştur. Hasarlı yapıdan H^{+} iyonları ve ATP açığa çıkar. H^{+} iyonu ASIC1 reseptörü ile etkileşerek TRPV1 reseptörlerinin duyarlılaşmasına neden olur. Hem TRPV1 hem de aktive olan P2X3 reseptörleri nosiseptörler üzerindeki katyon kanallarının açılmasına ve periferik sinir uçlarının depolarize olmasına neden olur. Devamında enflamatuvar süreçte görev alan histamin, biradikin, prostaglandinler, lökotrienler, proenflamatuvar sitokinler ve NGF periferik sinirin duyarlılaşmasına neden olur. Bu mediyatörler kendi reseptörlerine bağlanarak sinirin aktive olmasına ve sonucunda primer hiperaljeziye yol açar. Histamin, reseptörü olan $H1$ 'e bağlanır ve protein kinaz C ile protein kinaz A'nın aktivasyonuna ve bu yolla pek çok reseptörün fosforile olmasını sağlar. Bunun sonucunda nöron membranında bulunan voltaj girişli sodyum kanallarına (VGSC) bağlanarak kanalın çalışmasını engelleyen tetradotoksin dirençli sodyum kanalları aktive olur ve TRPV1 kanallarının uyarılma eşiği düşer. Hasarın oluşmasından sonra periferik dokulardan ve Schwann hücrelerinden salınan NGF, reseptörü olan TrkA'ya bağlanarak hücre içine alınır ve DRG hücre gövdesine taşınır. DRG içerisinde tetradotoksin dirençli sodyum kanalları ve BDNF başta olmak üzere bir dizi protein sentezi başlar. Enflamatuvar mediyatörler ve sitokinlere yanıt olarak periferik sinir ucundan P maddesi (SP) ve CGRP gibi substantlar salgılanır. Bu salgılanma sadece etkilenen akson ucunda değil, sinir hasarı sonucunda oluşan proksimale doğru uzanan depolarizasyon dalgası aracılığı ile hasarsız sinir uçlarına da yayılarak bu bölgelerde de SP ve CGRP salgılanmasına neden olur. Periferde açığa çıkan SP, mast hücrelerinde bulunan NK-1 reseptörüne bağlanarak mast hücrelerinden histamin salınmasına ve hasar bölgesindeki olayların

sağlam bölgelerde de oluşmasına ve hiperaljezinin (sekonder hiperaljezi) yayılmasına neden olur (Vranken, 2009).

Nöropatik Ağrıda Merkezi Süreç

Nosiseptörlerin merkezi sonlanmaları omuriliğin süperfisiyel arka boynuzunda bulunmaktadır. Bu sonlanmalar zararlı uyarılar hakkındaki bilgiyi ikinci duyuşal nöronlara iletmek için sinaptik olayları yönetirler. Nosiseptörlerin merkezi sonlanmalarına ulaşan depolarizasyon dalgası, bu bölgedeki voltaj girişli kalsiyum kanallarını aktive ederek presinaptik sinir ucuna Ca^{+2} girişine yol açar. Buradaki kanallar N- tipi voltaj girişli kalsiyum kanallarıdır. Bu kanallar fonksiyonunu $\alpha 2\delta$ alt birimi tarafından düzenlenir. Ca^{+2} girişi, sinaptik aralığa nörotransmitter salınmasını sağlar. Böylece glutamat, SP ve BDNF sinaptik aralığa salınır.

Glutamat, postsinaptik membran üzerindeki NMDA ve AMPA reseptörlerine bağlanarak postsinaptik sinir ucunda Ca^{+2} girişine neden olur. Glutamatın G- proteinine bağlı metabotropik reseptörlere bağlanmasına ek olarak SP'nin NK-1 reseptörlerine bağlanması fosfokinaz C'nin aktive olmasıyla sonuçlanan olaylar serisini başlatır. BDNF'nin TrkB reseptörlerine bağlanması ile de hücre içinde PKA'nın aktivasyonu gerçekleşir. Fosfokinazların bu aktivasyonu ERK yolağı üzerinden yeni reseptörlerin yapılması ve postsinaptik membran üzerine taşınmasına yol açar. Bu olayların sonucunda ikincil duyuşal nöron aktive olur. Aşırı glutamat salınması GABAerjik nöronların seçici apoptozisine neden olur. Bu durum postsinaptik membran üzerinde kalıcı plastik değışiklikleri tetikler ve süperfisiyel arka boynuz nöronlarının (A δ ve C liflerinin sonlanmalarının bulunduğu ana bölge) uyarılabilirliğı artar. Periferde ağrı olarak algılanan bu olay **santral sensitizasyon** olarak adlandırılır. Normal koşullarda arka boynuzda gelen uyarılar eşik altıdır ve aksiyon potansiyeli oluşturmak için yetersizdir ancak santral sensitizasyonun gelişiminden sonra bu eşik altı uyarılar kolaylıkla bir aksiyon potansiyeli oluşturmaktadır. Santral sensitizasyon sonucunda arka boynuz nöronlarının aktivasyonu nosiseptif uyarıların varlığında saniyeler içinde ortaya çıkar ve birkaç saat boyunca kalıcı olur. Her ne kadar santral sensitizasyon arka boynuzun hem süperfisiyel hem de derin laminalarında görülse de özellikle NK-1 reseptörünü taşıyan lamina I'deki spinotalamik ya da spinoparabrakial nöronlar için çok önemlidir (Vranken, 2009).

Nöropatik Ağrıda Farmakolojik Tedavi Yöntemleri

Nöropatik ağrının hafifletilmesinde pek çok tedavi seçeneğı bulunmaktadır. Opioidler, nöropatik ağrının tedavisinde en çok önerilen ajanlardan biridir (Rowbotham et al., 2003). Ancak opioidlerin bu konudaki etkili özelliğine karşın, analjezik toleransın gelişmesi, bağımlılığa neden

olması ve ilaç bırakıldıktan sonra yoksunluk reaksiyonunun gelişmesi gibi sebeplerden dolayı kullanımı çok fazla memnun edici değildir (Rowbotham et al., 2003). Opioidlerin yanı sıra antikonvülsanlar, antidepresanlar, topikal uygulanan ajanlar (lidokain, kapsaisin vb.), NMDA reseptör antagonistleri, baklofen, lokal anestezipler ve klonidin gibi ajanların nöropatik ağrı tedavisinde etkili olduğu gözlenmiştir (Namaka et al., 2004).

Antidepresanlar: Nöropatik ağrının tedavisinde antidepresanların etkin olduğunu gösteren pek çok kanıt bulunmaktadır. Primer etkin mekanizması beyin kökü ve mezensefalonda bulunan serotonerjik ve noradrenerjik yapılardan omuriliğe doğru uzanan yollardaki etkileşimlerdir. Amitriptilin, nortriptilin, imipramin ve desipramin gibi trisiklik antidepresanlar (TCA), nöropatik ağrının hafifletilmesinde ilkin tercih edilen yaygın ilaç grubudur. TCA'ların çalışma mekanizması noradrenalin ve serotoninin geri alımını bloke ederken, nöron membranında bulunan iyon kanallarının blokajı (Ca^{+2} ve Na^{+} 'un nöron içerisine akışını azaltmak) ve adenozin ve NMDA reseptörlerinin etkileşimi ile karakterizedir. Ancak glokom, idrar retansiyonu ve kardiyovasküler hastalığı olan kişilerde TCA kullanımında dikkatli olunması gerekmektedir. Bunun yanı sıra monoaminoksidaz inhibitörleri (MAOI) ile birlikte kullanıldığında serotonin sendromuna neden olmaktadır (Sindrup, Otto, Finnerup, & Jensen, 2005). Venlafaksin, TCA'ların sahip olduğu antikolinerjik, antihistaminerjik, α_1 ve α_2 bloke edici yan etkilerini göstermez. Bu nedenle bu analjeziğin kullanımı daha az kontraendikasyon gösterir. Duloksetin, inen düzenleyici yolda hem serotonin hem de noradrenalin fonksiyonunu artırır. Dopamin taşıyıcılarına karşı zayıf afinitesi vardır. Ayrıca muskarinik, histamin, glutamat gibi çeşitli nörotransmitterlerinin yanı sıra GABA reseptörlerine karşı yok sayılabilecek derecede afinitesi vardır. Duloksetin'in diyabetik nöropatide belirgin derecede analjezik etkisi olduğu gösterilmiştir (Dworkin et al., 2007).

Selektif serotonin geri alım inhibitörleri (SSRI) (sertralin, paroksetin, floksatin ve sitalopram) seçici olarak serotoninin geri alımını inhibe eder. Bu antidepresanların yan etkileri TCA'lara göre daha fazla olmasına karşın nöropatik ağrıda analjezik etkisi daha belirgindir. Bu nedenle SSRI'lar çeşitli nöropatik ağrı türleri ile ilgili fizyolojik fonksiyon bozukluklarının düzenlenmesinde kullanımı daha uygundur (Sindrup et al., 2005)

2.5. MİRTAZAPİN

Mirtazapin, piperazinazepin grubundan bir antidepresan olup etki mekanizması TCA, SSRI ve MAOI'dan farklıdır. Spesifik serotonerjik ve noradrenerjik antidepresan (NaSSA) olarak tanımlanır. Mirtazapin ilk kez Organon International firması tarafından 1996 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde tanıtılmıştır. Türkiye'de 24.11.2009 tarihinde, 221/97

numarası ile Abdi İbrahim İlaç San. ve Tic. A.Ş. tarafından ilk kez ruhsatlanmıştır. Primer olarak depresyon tedavisinin yanı sıra anksiyolitik, hipnotik, antiemetik ve iştah açıcı olarak da kullanılmaktadır (Anttila & Leinonen, 2001)

2.5.1. Etki Mekanizması

Mirtazapin, özgül olarak merkezi presinaptik α_2 adrenerjik reseptörlerini antagonize eder, noradrenerjik oto ve heteroreseptörlerinin blokajı sonucu noradrenerjik ve serotonerjik iletiyi güçlendirir. Aynı zamanda serotonin 5-HT₂ ve 5-HT₃ reseptörlerini güçlü bir şekilde bloke eder ve 5-HT_{1A} reseptörlerinin aktivasyonuna neden olur. Mirtazapin'in bu özelliği anksiyolitik ve uyku üzerine olan etkisinde görev alır. 5-HT₂'nin blokajı hem hayvanlarda hem de insanlarda REM uykusunu azaltmaktadır (Ruigt, Engelen, Gerrits, & Verbon, 1993). Mirtazapinin dopaminerjik D1 ve D2 reseptörlerine önde gelen bir afinitesi yoktur. Merkezi ve periferik muskarinik kolinerjik reseptörlerine afinitesi düşüktür. Noradrenerjik sistem serotonerjik iletinin kontrolünde çift modülatör etkiye sahiptir. Rafe nükleusundaki serotonerjik hücrelerin aktivasyonu eksitatör α -1 adreno reseptörlerin noradrenalin aracılığı ile stimülasyonu sonucu ortaya çıkar. Serotonin salınımının inhibisyonu ise inhibitör α -2 adreno reseptörlerinin noradrenalin aracılığı ile aktivasyonu sonucu olur. Mirtazapin'in α -1 adreno reseptörlere afinitesi, presinaptik α -2 reseptörlerine göre göreceli olarak düşüktür. Mirtazapin'in α -1 adreno reseptörlere afinitesi noradrenerjik aktivasyona ve bu yolla uyarılma artışına yol açar. Ancak bu durum fonksiyonel olarak antihistaminerjik özellikleriyle de etkileşime yol açar. Sonuç olarak mirtazapinin etki mekanizmasının α_2 adrenerjik oto reseptörlerinin antagonizması 5-HT hücre ateşlenmesinin indirekt artışına yol açar. Öte yandan 5-HT terminallerinde bulunan α_2 - adrenerjik heteroreseptörlerinin blokajı endojen noradrenalinin neden olduğu tonik inhibisyonunu ortadan kaldırır. Sonuçta her iki düzende de hipokampüste serotonerjik iletiyi kolaylaştırır ve 5-HT salınımını artırır (Agargun & Ebrinc, 1998).

2.5.2. Farmakokinetik

Mirtazapin terapötik doz aralığında oral uygulamadan sonra gastrointestinal yoldan hızlı bir şekilde iyi absorbe edilir ve 2 saat içinde plazma konsantrasyonunda en üst düzeye ulaşır. Eliminasyon yarı ömrü 20-40 saattir. Sabit durum plazma konsantrasyonuna 3-5 gün içinde çıkar. Mirtazapin'in farmakokinetiği yaş ve cinsiyete bağlıdır. Kadınlar ve yaşlılarda, erkek ve genç yetişkinlere göre daha yüksek plazma konsantrasyonu görülür. Mirtazapin geniş ölçüde metabolize edilir. Uygulanan dozun % 75'inden fazlası idrar ile kalan kısmı feçes ile atılır.

Mirtazapin hepatic yolla büyük oranda sitokrom P450 (CYP) enzim sistemini kapsayan oksidatif yolak ile metabolize edilir. CYP2D6 ve CYP1A2 8-hidroksi metabolitinin oluşumunda; CYP1A2, CYP3A4 ve CYP2D6 N-demetil metabolitinin oluşumunda ve CYP1A2, CYP3A4 ve CYP2C9 N-oksit metabolitinin oluşumunda en yüksek enzimatik aktiviteye sahiptir. Bunlar arasında sadece demetil mirtazapin farmakolojik olarak aktif metabolittir (Dahl et al., 1997).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Araştırmamızda 2-3 aylık, 250- 300 gr ağırlığında, toplam 28 adet matür dişi Sprague- Dawley türü sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar Eskişehir Osmangazi Üniversitesi (ESOGÜ) Tıbbi Cerrahi Araştırma Merkezi (TICAM) tarafından sağlandı. Hayvanlara yapılacak uygulamalar için ESOĞÜ etik kurulundan 05.06.2014 tarihinde yapılan 71 sayılı toplantıda 405 dosya numaralı etik kurul onayı alındı. Sıçanlar deney süresince 12 saat aydınlık/karanlık ışıklandırması olan, ısı 24±2°C ve nemi % 55±5 olarak ayarlanmış ortamda yaşatıldı. Hayvanlar deneye başlamadan 2 hafta önce polikarbon şeffaf kafeslere konularak ortam koşullarına adaptasyonları sağlandı. Yiyecek ve su ihtiyaçları sınırsız ve günlük olarak sağlandı ve kontrol edildi. Sağlık durumları günlük olarak izlendi.

3.1. Kimyasal Maddeler ve Uygulamaları

Deneyde kimyasal maddeler olarak Streptozotosin (STZ, Calbiochem, Merck Millipore, Germany) ve sitrik asit tamponu kullanıldı. Tampon hazırlanırken 0,960615 gr $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$ ve 1,4705 gr $C_6H_5O_7Na_3 \cdot 2H_2O$ 1 litre % 0,09'luk serum fizyolojik içinde çözüldü. Tamponun pH'ı 4,5 olmalıdır. Tek doz 0,1 mol/l sitrik asit tamponu (pH 4,5) içinde çözülmüş 55 mg/kg streptozotosin (i.p.) uygulamasından 72 saat sonra, 12 saatlik açlığa bırakılmış sıçanların şeker düzeyi kan şekeri ölçüm cihazı (Lifecheck compact TD-4283, TaiDoc Technology Corporation, Taiwan) aracılığıyla kuyruk veninden alınan kan damlası ile ölçüldü. 300 mg/dL ve üstünde çıkan denekler diyabet kabul edildi (Kandhare, Raygude, Ghosh, Ghule, & Bodhankar, 2012). STZ enjeksiyonundan 4. Haftadan başlayarak 6. Hafataya kadar haftada bir kez davranış testleri yapıldı. Bu süre içerisinde mirtazapin (tablet) (Zestat 30 mg, Abdi İbrahim İlaç San. Ve Tic. A.Ş., İstanbul) ve pregabalin (kapsül) (Pregabalin, Pfizer İlaç Fabrikası A.Ş., Almanya) gruplarına ilaç uygulaması yapıldı. Deney süresi sonunda tüm gruplara 100 mg/kg pentobarbital ile anesteziye alındı. L4-L5 seviyesinde omurilik ve arka kök gangliyonları western blot ve immünohistokimya için izole edildi (Ling et al., 2014; Xu et al., 2012).

3.2. Deney Grupları

Araştırmamızda sıçanlar rastgele seçilerek her grupta 7 hayvan olacak şekilde 3 grup oluşturuldu.

Grup 1: Kontrol Grubu (n=7) : Bu gruptaki hayvanlara ilk gün 0,5 ml sitrat tamponu ve son 2 hafta SF (i.p) uygulama yapılmıştır.

Grup 2: Diyabetik Nöropati Grubu (n=7) : Bu gruptaki hayvanlara tek doz 55 mg/kg STZ, 0,1 mol/l sitrik asit tamponu içerisinde çözülerek i.p. olarak verildi. STZ enjeksiyonundan 4 hafta sonra 2 hafta süre ile haftada 1 kez

olmak üzere ağrı düzeylerini ölçmek için davranış testleri yapıldı. 6. haftanın sonunda doku örnekleri alındı (Kandhare et al., 2012).

Grup 3: Diyabetik Nöropati+Mirtazapin Grubu (n=7): Bu gruptaki hayvanlara tek doz 55 mg/kg STZ, 0,1 mol/l sitrik asit tamponu içerisinde çözülerek i.p. olarak verildi. STZ enjeksiyonundan 4 hafta sonra 2 hafta süre ile her gün oral yol ile 2 ml SF içerisinde çözülmüş 20 mg/kg mirtazapin uygulaması yapıldı (Liu et al., 2013). Bu süre içerisinde haftada bir davranış testleri yapıldı.

Grup 4: Diyabetik nöropati+ Pregabalin Grubu (n=7): Bu gruptaki hayvanlara tek doz 55 mg/kg STZ, 0,1 mol/l sitrik asit tamponu içerisinde çözülerek i.p. olarak verildi. STZ enjeksiyonundan 4 hafta sonra 2 hafta süre ile her gün oral yol ile 100 mg/kg Pregabalin SF içerisinde çözülerek uygulandı (Beyreuther, Callizot, & Stöhr, 2006). Bu süre içerisinde haftada bir davranış testleri yapıldı.

3.3. Davranış Testleri

3.3.1. Termal Hiperalezi (Sıcak):

Termal hiperalezi ölçümü için hayvanların arka ayak bölgesinin orta plantar yüzeyine radyant ısı uygulanarak termal noisepatif eşik ölçüldü (Hargreaves, Dubner, Brown, Flores, & Joris, 1988). Sıçanlar, ölçümlere başlamadan 30 dakika önce cam tabana sahip olan kabinlere yerleştirilerek ortama alışmaları sağlandı. Radyant ısı demeti arka ayakların orta plantar yüzeyine uygulandı. Pençe çekme gecikmesi, radyant ısının ilk uygulandığı andan itibaren pençenin geri çekilmesine kadar geçen süre olarak tanımlandı. Bu süre, kullanılan aletin fotoseli ve zamanlayıcısı ile tespit edildi. Hayvanların pençelerinde oluşacak olası doku hasarına karşı cut off 20 s olarak seçildi. On dakika ara ile ardışık olarak alınan üç ölçümün ortalaması kontrol değeri olarak kaydedildi.

3.3.2. Mekanik Hiperalezi:

Randall-Sellito testi ile mekanik hiperalezi ölçümü için hayvanların 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 250 gr olarak sabit tutuldu (Randall, 1957).

3.3.3. Termal Hiperalezi (Soğuk):

Soğuk termal hiperalezinin ölçülmesi için (Ugo Basile, Comerio, İtalya) soğuk/ sıcak plaka analjezimetresi kullanıldı. Hayvanlar $4,0 \pm 0,1$ °C' de tutulan bir plaka üzerine yerleştirildi. Hayvanların pençe çekme gecikmeleri 5 dakika boyunca izlendi ve elde edilen süreler kaydedildi (Yoon, Wook, Sik, Ho, & Mo, 1994).

3.4. İmmünohistokimya Yöntemi

Deney süresi sona erdiğinde sıçanlara anestezi (Ketamine 50 mg/kg, i.p.) uygulandı ve servikal dislokasyon ile ötenazi yapıldı. Sıçanların L4- L5 seviyesindeki omurilik ve arka kök gangliyon dokuları alınıp 48 saat süreyle % 10'luk formaldehit içine koyuldu. Fiksasyon işleminden sonra alınan dokulara uygun takip işlemi yapılarak parafin bloklar hazırlandı. Parafin blokları hazırlanan dokuların her birinden 4µm kalınlığında seri kesitler alındı. Bir gece 37°C'lik etüvde tutulduktan sonra ertesi gün etüvün sıcaklığı 60°C'ye çıkarılarak 1 saat beklendi. Ksilol ve azalan alkol serilerinden geçirildikten sonra endojen peroksidaz aktivitesini önlemek için % 3'lük hidrojen peroksit içerisinde bekletildi.

3.4.1. Anti-somatostatin Uygulaması

Anti-somatostatin primer antikoru ile muamele edilecek kesitlere normal keçi serumu ile bloklama yapıldı. Ardından anti-somatostatin primer antikoru (sc- 13099) ile +4°C'de bir gece inkübe edildi. PBS ile yıkama aşamasından sonra biotinle işaretlenmiş sekonder antikor (sc- 2018) ile oda sıcaklığında 1 saat beklendi. PBS ile tekrar yıkama yapıldıktan sonra streptavidin-HRP ile işlem gören dokular, son olarak % 0.05'lik diaminobenzidin ile muamele edildi. Hematoksilen ile zemin boyaması yapıldıktan sonra artan alkol serileri ve ksilolden geçirildi. Entellan ile kapatıldı. Son işlem olarak boyalı kesitler Olympus BX-51 marka ışık mikroskobu ile görüntülendi.

3.4.2. Anti- substance P Uygulaması

Anti- substance P primer antikoru ile muamele edilecek kesitler kullanıma hazır biyotinli keçi anti-polivalant kiti (TP-125-BN) içerisinde bulunan Ultra V Blok ile oda sıcaklığında 10 dakika bloklandı. Ardından anti-substance P primer antikoru (sc- 9758) ile +4°C'de bir gece inkübe edildi. PBS ile 4 kez yıkama işleminden sonra biyotinli keçi anti-polivalantı ile oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edildi. PBS ile 4 kez yıkandıktan sonra enzim ile işaretli streptavidin uygulandı. PBS ile 4 kez yıkandıktan sonra AEC kromojen uygulandı. Reaksiyon görülesiye kadar beklendi. Reaksiyonu durdurmak için suya kondu. Hematoksilen ile zemin boyaması yapıldıktan sonra su bazlı

kapatıcı ile kapatıldı. Boyalı kesitler Olympus BX-51 marka ışık mikroskobu ile görüntüledi.

3.5. Western Blot Yöntemi

L4-L5 hizasından alınan omurilik ve arka kök gangliyonlarında, nöropeptid Y (NPY), somatostatin (SST), ASIC1 ve TRPV1 ekspresyonları Western blot yöntemi ile ölçüldü. Arka kök gangliyonu ve omurilik küçük parçalara ayrıldı ve 2,5 katı kadar lizis tamponu eklenip oda sıcaklığında 5 dakika beklendi. Daha sonra örnekler homojenizatöre kondu, 4°C'de 14000 g'de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonucunda sitozolik proteinlerin bulunduğu üstteki süpernatant alındı, daha sonra florometre yoluyla protein miktarını ölçen nanodropta (Qubit 2.0 Fluorometer, invitrogen, Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA) protein konsantrasyonu ölçüldü. 30 µg protein % 10'luk SDS jel içerisine elektroforez yöntemi ile ayrılması için kondu, ardından PVDF membrana transfer edildi. Membranlar % 5'lik BSA (Bovine serum albümin) olan bloklayıcı tamponu ile oda sıcaklığında 1 saat boyunca blokladı. Daha sonra gece boyunca 4 °C'de uygun primer antikolarlar (sc- 13099, sc- 9758, sc- 21625, sc- 28756, sc- 12498, cell signaling #11976, sc- 16236) ile inkübe edildi. Membranlar 10 dakika boyunca 3 kez yıkama solüsyonu ile yıkandıktan sonra uygun sekonder antikolarlar (sc- 2020, sc- 2004) ile inkübasyon yapıldı, immünreaktif bantlardaki proteinlerin ekspresyon seviyeleri görüntüleme sistemiyle (C-Digit, Licor, Cambridge, United Kingdom) gözlenir hale getirildi. Görüntü sonuçlarının analizleri Image J 1.49v ile yapıldı.

3.6. İstatistiksel Analiz

Davranış testlerinin gruplar arası ve haftalar arası istatistiksel karşılaştırılması Sigmapstat 3.0 Software programı ile yapılmıştır (San Jose, California, USA). Kontrol, diyabet, mirtazapin ve pregabalin gruplarının davranış testlerinin haftalar arası karşılaştırılması two-way ANOVA tekrarlı ölçümleri testi ve Holm- Sidak çoklu karşılaştırma testi ile yapılmıştır.

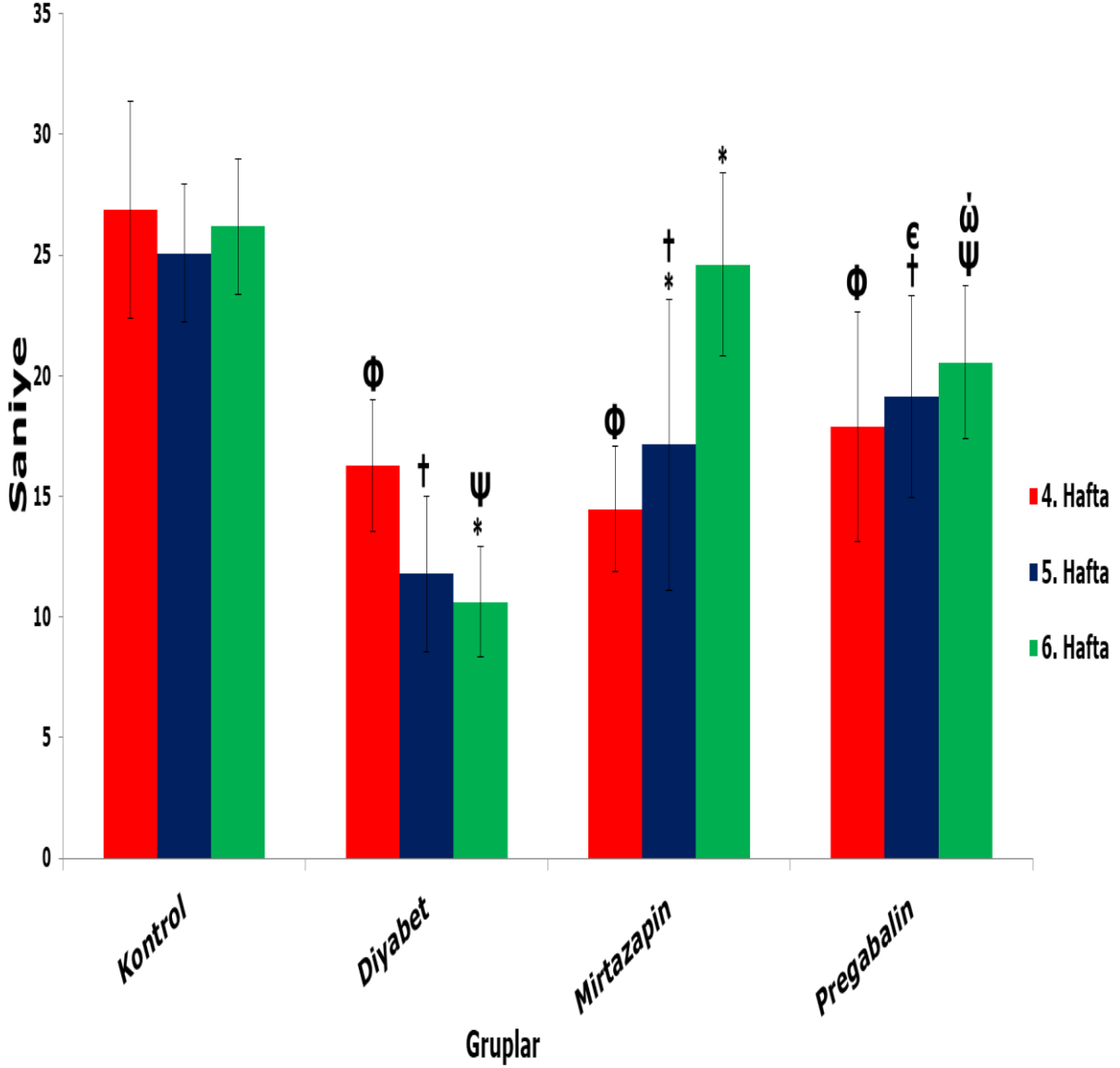
4. BULGULAR

4.1. Davranış Testlerine Ait Bulgular

Diyabet modelinin oluşturulmasından 4 hafta sonra nöropatinin başladığı bilinmektedir. Bu nedenle tüm gruplara 4., 5. ve 6. Haftaların ilk günleri termal hiperlajezi (sıcak) (Plantar testi) ve termal hiperaljezi (soğuk) (Soğuk plaka) ile mekanik hiperaljeziyi (Randall Sellitto) gösterecek davranış testi ölçümleri yapıldı. 4. haftada soğuk plaka ve Randall Sellitto testleri sonucunda kontrol ile diyabet grupları arasında anlamlı bir fark gözlenirken (Şekil 4.1, Şekil 4.2), "Plantar" testinde belirli bir fark gözlenmedi (Şekil 4.3). 4. hafta itibariyle 2 hafta boyunca hergün Mirtazapin ve Pregabalin uygulaması yapıldı. 5. haftada "Soğuk Plaka" testinde kontrol grubu ile diğer gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmasının yanı sıra diyabet ve pregabalin grupları arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlendi (Şekil 4.1). Plantar testinin 5. haftadaki sonuçlarına baktığımızda ise kontrol-diyabet, kontrol-mirtazapin ve kontrol-pregabalin grupları arasında anlamlı bir fark bulundu (Şekil 4.3). "Randall-Sellitto" testinde kontrol-diyabet ve kontrol-pregabalin gruplarının yanı sıra özellikle diyabet-mirtazapin grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlendi (Şekil 4.2). "Soğuk Plaka" testinin 6. haftadaki sonuçlarına baktığımızda kontrol-pregabalin, kontrol-diyabet ve diyabet- pregabalin grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu (Şekil 4.1). "Plantar" testinde kontrol-diyabet, diyabet-pregabalin ve diyabet-mirtazapin grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlendi (Şekil 4.3). "Randal- Sellitto" testinde ise kontrol-diyabet, diyabet-pregabalin ve özellikle diyabet-mirtazapin grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (Şekil 4.2).

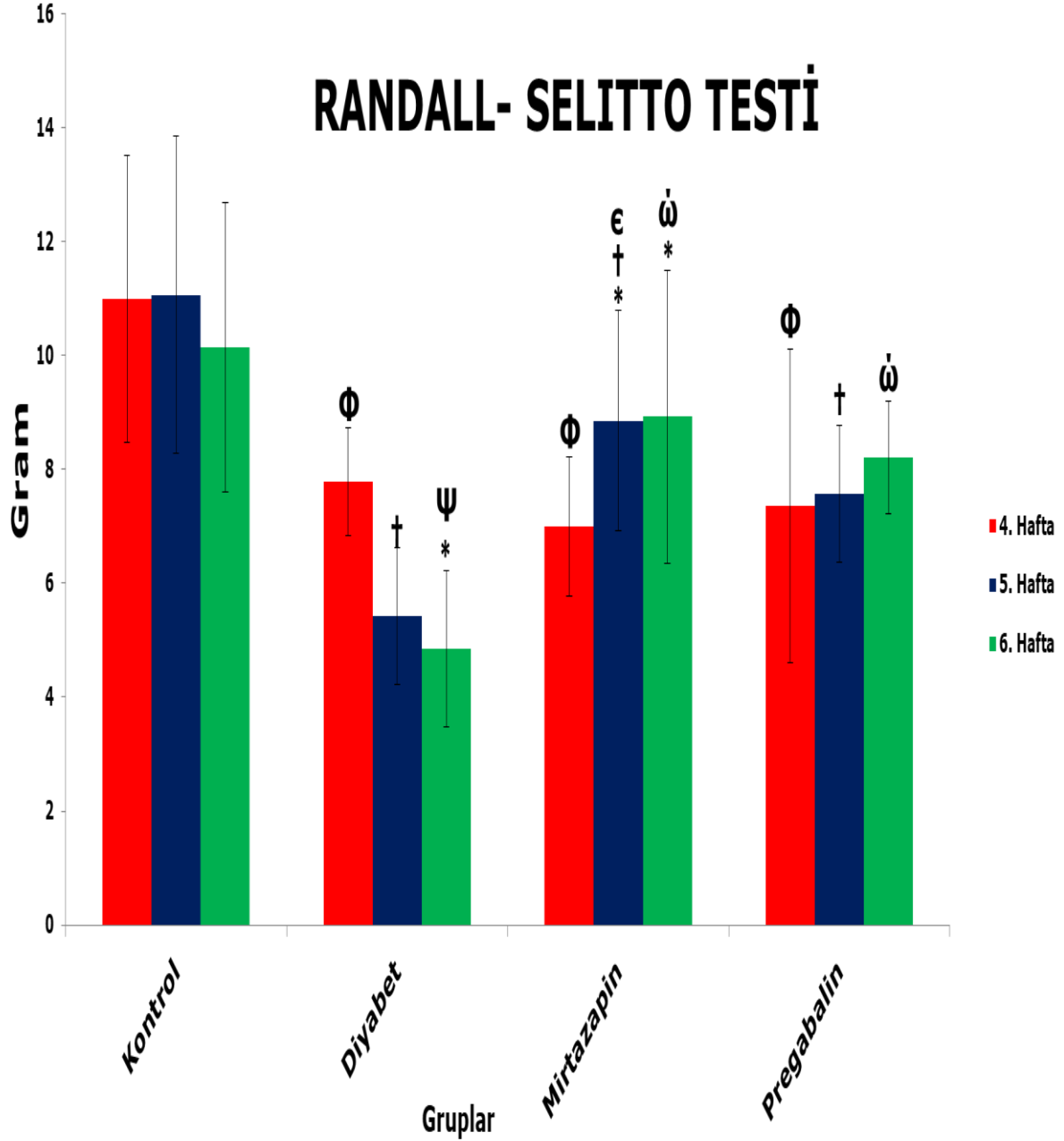
Aynı grup içerisinde haftalar arası karşılaştırmalara baktığımızda ise soğuk plaka testinde diyabet grubunda 4.- 6. haftalar arasında ve mirtazapin grubunda 4.-5. ve 5.-6. haftalar arasında anlamlı fark gözlendi (Şekil 4.1). Randall-Sellitto testinde diyabet grubunda 4.-6. haftalar arasında, mirtazapin grubunda 4.-5. ve 4.-6. haftalar arasında anlamlı fark bulundu (Şekil 4.2). Son olarak plantar testinde ise diyabet grubunda 4.-5. ile 5.-6. haftalar arasında ve mirtazapin grubunda 4.-6. haftalar arasında anlamlı fark belirlendi (Şekil 4.3).

SOĞUK PLAKA TESTİ

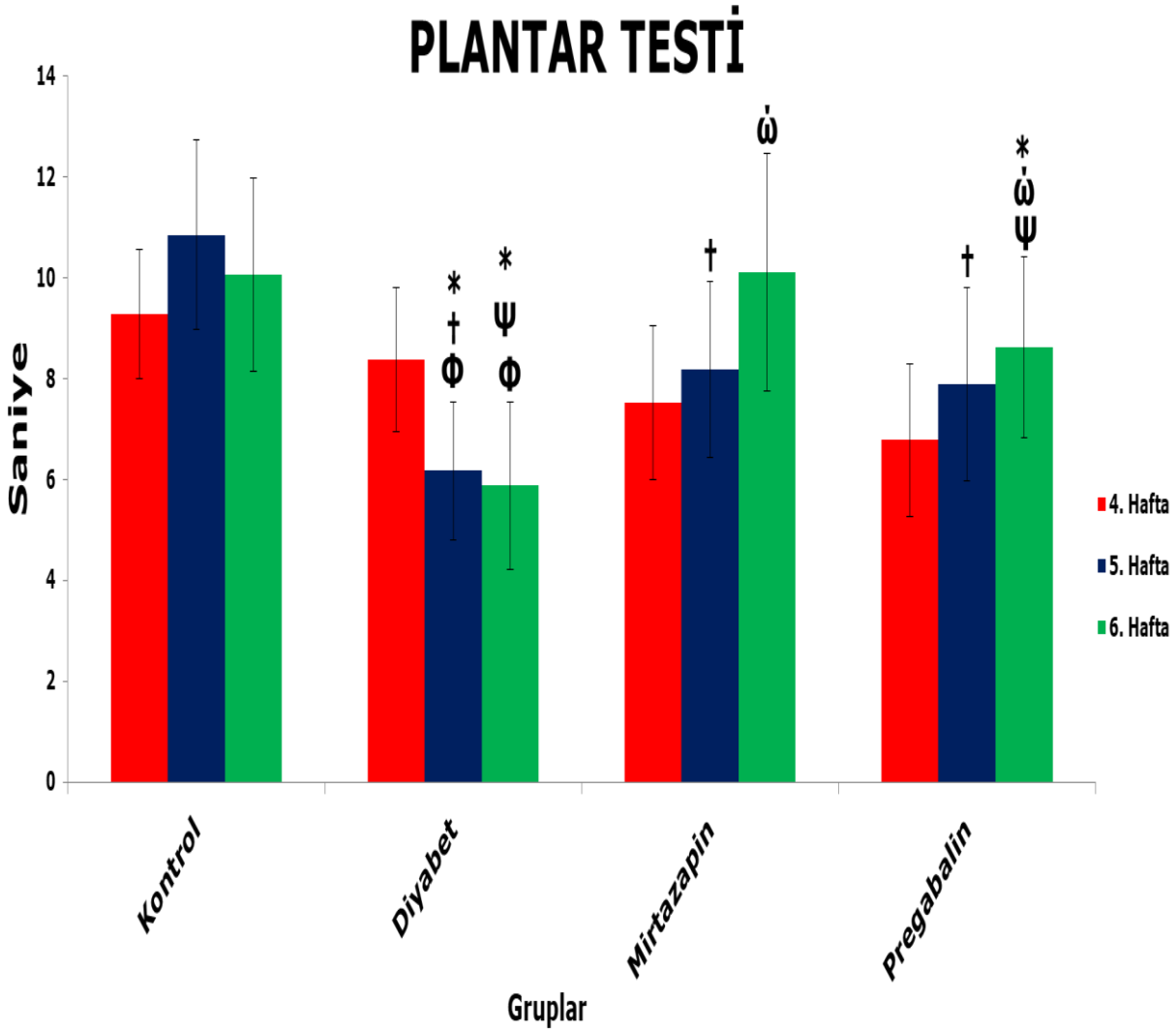


Şekil 4.1. Kontrol, Diyabet, Mirtazapin ve Pregabalin Gruplarının Soğuk Plaka Testi ile Termal Hiperaleji Ölçümünde İlk Pençe Kaldırmaya Kadar Geçen Süre (Saniye), 4. Haftaya göre Anlamli Farklilik * $p < 0.05$; 4. Hafta Kontrol Grubuna Göre Anlamli Farklilik Φ $p < 0.05$; 5. Hafta Kontrol Grubuna Göre Anlamli Farklilik \dagger $p < 0.05$; 5. Hafta Diyabet Grubuna Göre Anlamli Farklilik ϵ $p < 0.05$; 6. Hafta Kontrol Grubuna Göre Anlamli Farklilik Ψ $p < 0.05$; 6. Hafta Diyabet Grubuna Göre Anlamli Farklilik ω $p < 0.05$

RANDALL- SELITTO TESTİ



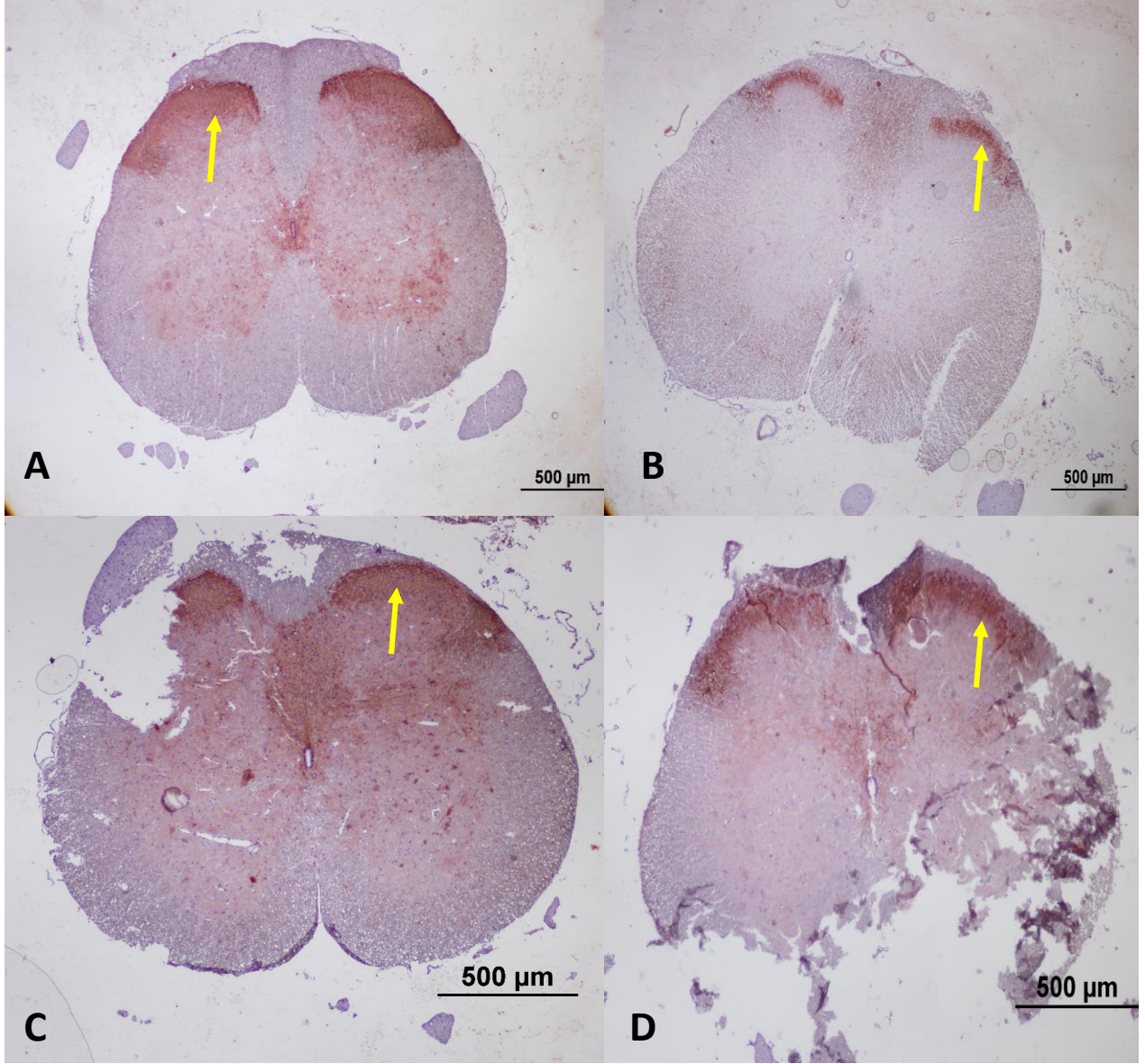
Şekil 4.2. Kontrol, Diyabet, Mirtazapin ve Pregabalin Gruplarının Randall- Selitto Testi İle Mekanik Hiperaleji Ölçümünde İlk Pençe Kaldırmanın Olduğu Ağırlık Miktarı (Gram), 4. Haftaya göre Anlamli Farklilik * $p < 0.05$; 4. Hafta Kontrol Grubuna Göre Anlamli Farklilik Φ $p < 0.05$; 5. Hafta Kontrol Grubuna Göre Anlamli Farklilik $\dagger p < 0.05$; 5. Hafta Diyabet Grubuna Göre Anlamli Farklilik $\ddagger p < 0.05$; 6. Hafta Kontrol Grubuna Göre Anlamli Farklilik $\S p < 0.05$; 6. Hafta Diyabet Grubuna Göre Anlamli Farklilik $\P p < 0.05$



Şekil 4.3. Kontrol, Diyabet, Mirtazapin ve Pregabalin Gruplarının Plantar Testi İle Sıcak Uyarana Karşın Termal Hiperaleji Ölçümünde İlk Pençe Kaldırmaya Kadar Geçen Süre (Saniye), 4. Haftaya göre Anlamli Farklılık * $p < 0.05$; 4. Hafta Diyabet Grubuna Göre Anlamli Farklılık Φ $p < 0.05$; 5. Hafta Kontrol Grubuna Göre Anlamli Farklılık \dagger $p < 0.05$; 6. Hafta Kontrol Grubuna Göre Anlamli Farklılık Ψ $p < 0.05$; 6. Hafta Diyabet Grubuna Göre Anlamli Farklılık ω $p < 0.05$

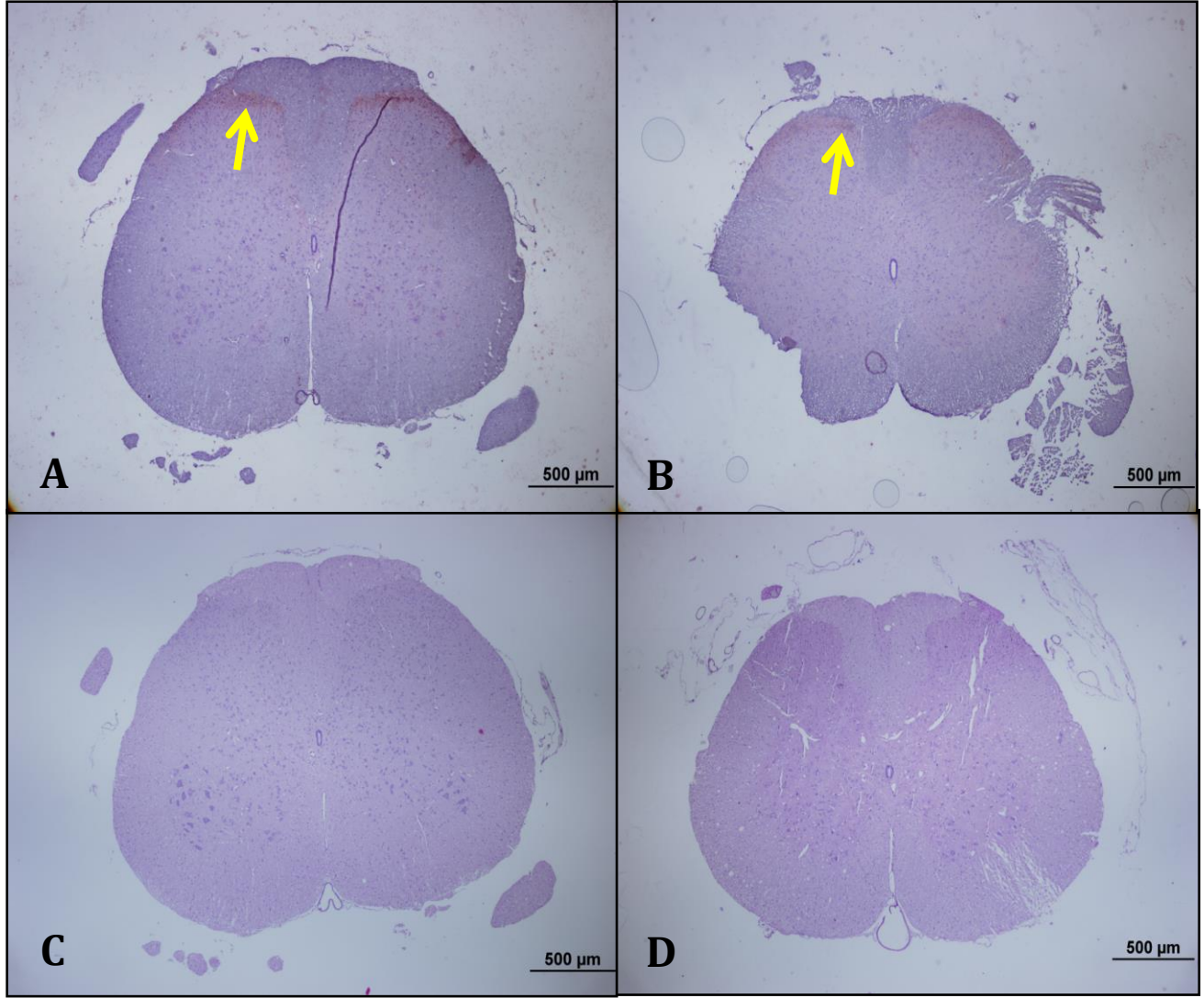
4.2. İmmünohistokimyasal Bulgular

Somatostatin antikorunun immünohistokimya reaksiyonuna baktığımızda diyabet grubunda kontrole göre reaksiyonun arttığı, mirtazapin ve özellikle pregabalin grubunda bu reaksiyonun azaldığı gözlenmiştir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Somatostatin'in omurilikte immünohistokimyasal ekspresyonu. **A)** Kontrol grubu, **B)** Diyabetik nöropati grubu, **C)** Mirtazapin grubu ve **D)** Pregabalin grubu

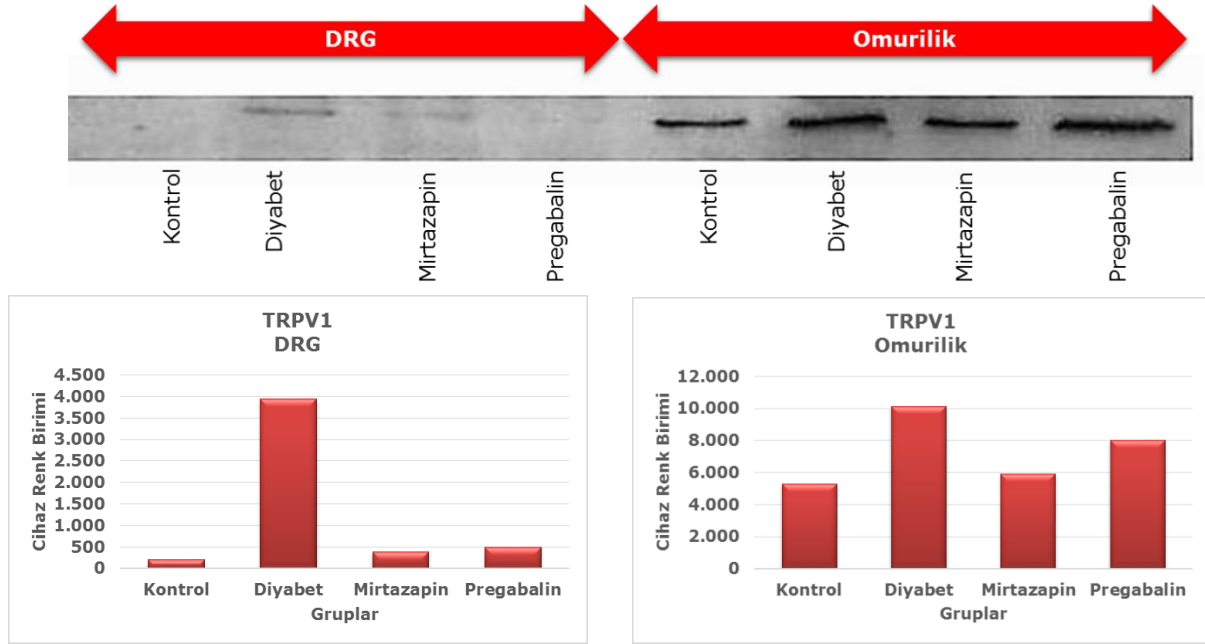
P maddesinin immünohistokimya reaksiyonuna baktığımızda kontrol grubunda immünreaksiyon gözlenirken; diyabet grubunda azalmış, mirtazapin ve pregabalin gruplarında reaksiyon gözlenmemiştir (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. P maddesi'nin omurilikte immünohistokimyasal ekspresyonu. **A)** Kontrol grubu, **B)** Diyabetik nöropati grubu, **C)** Mirtazapin grubu ve **D)** Pregabalin grubu

4.3. Western Blot Bulguları

Western blot sonuçlarına baktığımızda ise DRG ve omurilik dokularında iyon kanalı ve nöropeptid ekspresyonlarının kontrole göre diyabetik nöropatinin olduğu diyabet grubunda belirgin bir şekilde arttığı, mirtazapin ve pregabalin uygulamalarının bu artışı düşürdüğü gözlenmiştir. Nosiseptif primer nöronların anormal hipereksitabilitesi diyabetik nöropatide oluşan hiperaljeziye neden olmaktadır. Nöronların uyarılabilirliğini düzenlemede görev alan TRPV1 kanalının diyabet grubunda kontrol ile karşılaştırıldığında DRG'de 18, omurilikte 1,92 kat artan ekspresyonunun bu duruma bağlı olduğu düşüncesindeyiz. Mirtazapinin yükselmiş olan bu ekspresyonu hem omurilikte hem de DRG de kontrol değerine düşürmede pregabalinden daha etkin olduğunu belirledik (Şekil 4.6, Tablo 4.1, Tablo 4.2). ASIC'ların özellikle omurilikte diyabetik nöropati sonucunda nasıl etkilendiği bilinmekteydi. Çalışmamız sonucunda ASIC1 ekspresyonu diyabet grubunda kontrole göre DRG'de 14,3 kat, omurilikte 3 kat artarken; mirtazapinin pregabaline göre ASIC1 seviyesini kontrol grubu değerine düşürmede özellikle omurilikte daha etkin olduğunu gözlemledik (Şekil 4.7, Tablo 4.3, Tablo 4.4). Önceki çalışmalarda somatostatin uygulamasının anti-nosiseptif etkiye sahip olduğu bildirilmişti. Çalışmamızda ise diyabet grubunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında SST ekspresyonunun DRG'de 2,77 kat, omurilikte 1,64 kat arttığı, mirtazapin ve pregabalin uygulamalarının bu ekspresyonu düşürdüğünü bulduk (Şekil 4.8, Tablo 4.5, Tablo 4.6). Sağlıklı DRG dokusunda eksprese olmayan NPY'nin omurilikte nosiseptif süreci inhibe ettiği bilinmektedir. Çalışmamızda ise NPY'nin diyabetik nöropati durumunda ekspresyonunun DRG'de 10,53 kat, omurilikte 1,95 kat arttığı ancak mirtazapin uygulamasının bu ekspresyonu kontrol grubu seviyesine düşürmede özellikle DRG dokusunda daha etkin olduğunu belirledik (Şekil 4.9, Tablo 4.7, Tablo 4.8).



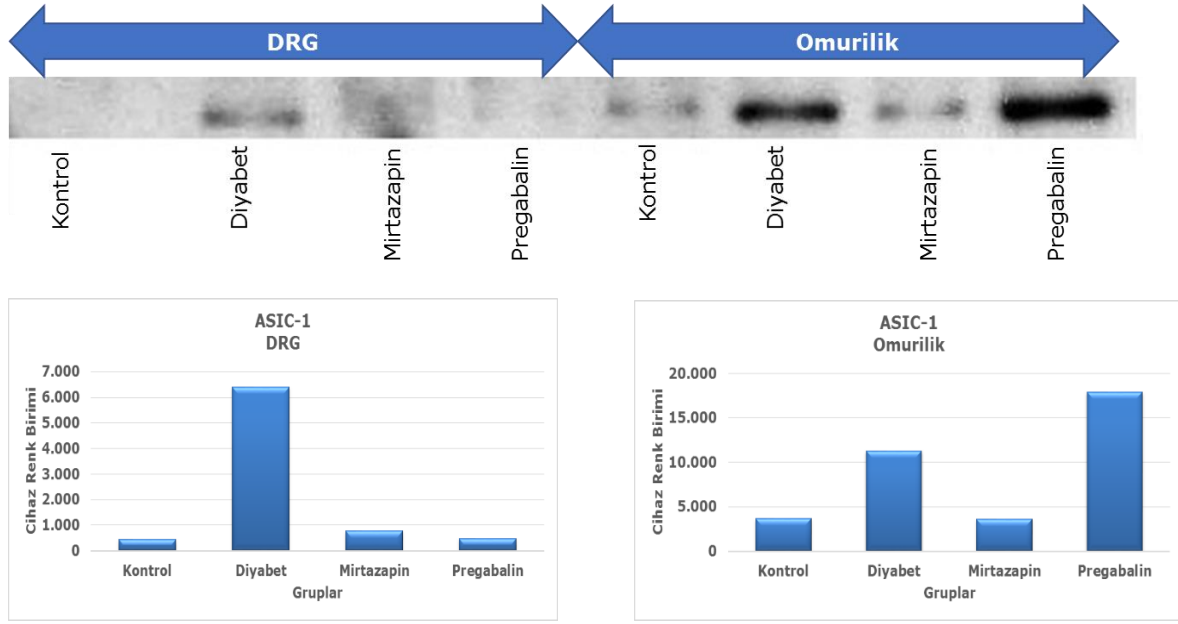
Şekil 4.6. TRPV1 antikoru Western Blot ekspresyonları

Tablo 4.1. TRPV1 antikoru arka kök gangliyonu ekspresyon sonucu

Transient resptör potansiyel vanilloid 1 (TRPV1)		
DRG	Cihaz Renk Birimi	Kat Değişimi
Kontrol	216	1
Diyabet	3938	18,23
Mirtazapin	391	1,81
Pregabalin	500	2,31

Tablo 4.2. TRPV1 antikoru omurilik ekspresyon sonucu

Transient resptör potansiyel vanilloid 1 (TRPV1)		
Omurilik	Cihaz Renk Birimi	Kat Değişimi
Kontrol	5284	1
Diyabet	10143	1,92
Mirtazapin	5907	1,11
Pregabalin	8029	1,52



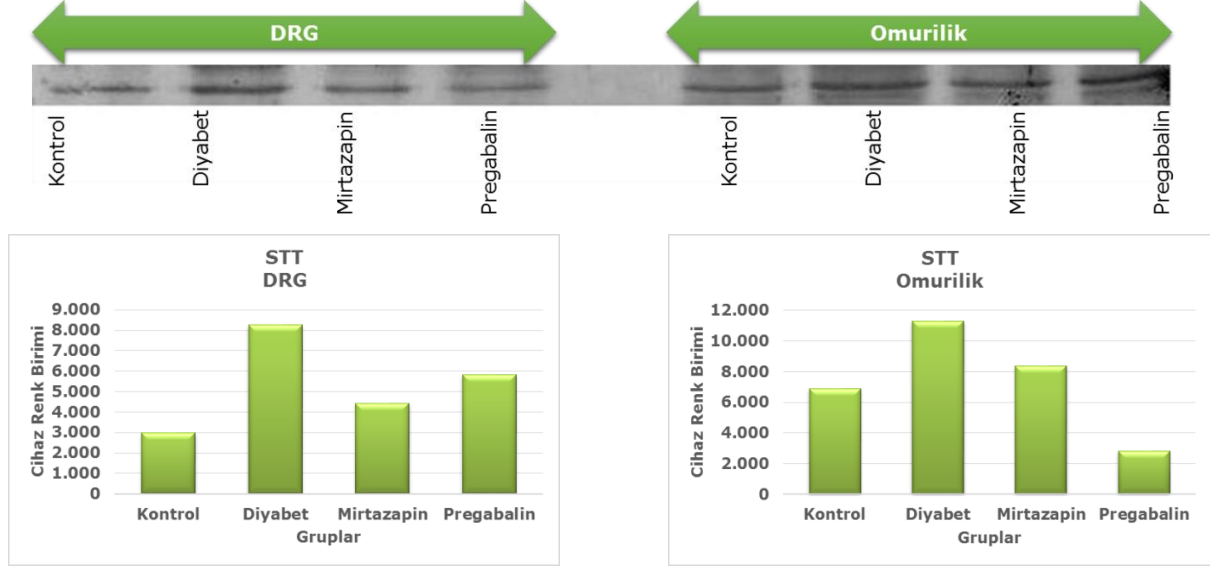
Şekil 4.7. ASIC1 antikoru Western Blot ekspresyonları

Tablo 4.3. ASIC1 antikoru arka kök gangliyonu ekspresyon sonucu

Aside duyarlı iyon kanalı-1 (ASIC1)		
DRG	Cihaz Renk Birimi	Kat Değişimi
Kontrol	448	1
Diyabet	6407	14,3
Mirtazapin	779	1,74
Pregabalin	483	1,08

Tablo 4.4. ASIC1 antikoru omurilik ekspresyon sonucu

Aside duyarlı iyon kanalı-1 (ASIC1)		
Omurilik	Cihaz Renk Birimi	Kat Değişimi
Kontrol	3683	1
Diyabet	11283	3,01
Mirtazapin	3643	0,99
Pregabalin	17933	4,87



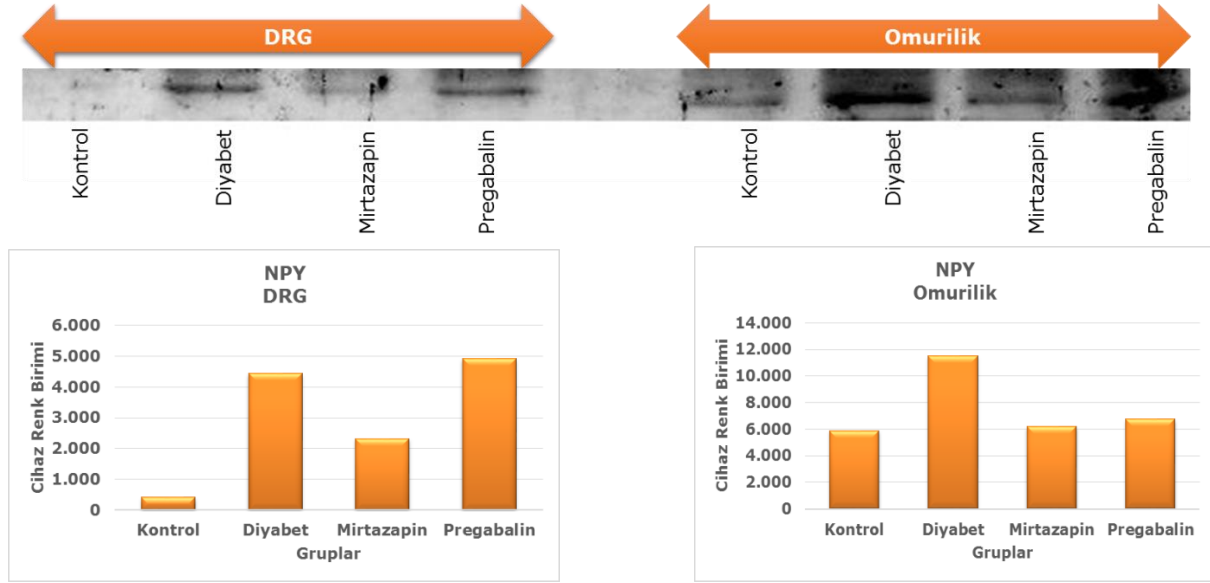
Şekil 4.8. STT antikoru Western Blot ekspresyonları

Tablo 4.5. STT antikoru arka kök gangliyonu ekspresyon sonucu

Somatostatin (STT)		
DRG	Cihaz Renk Birimi	Kat Değişimi
Kontrol	2987	1
Diyabet	8266	2,77
Mirtazapin	4429	1,48
Pregabalin	5839	1,95

Tablo 4.6. STT antikoru omurilik ekspresyon sonucu

Somatostatin (STT)		
Omurilik	Cihaz Renk Birimi	Kat Değişimi
Kontrol	6908	1
Diyabet	11316	1,64
Mirtazapin	8383	1,21
Pregabalin	2845	0,41



Şekil 4.9. NPY antikoruna Western Blot ekspresyonları

Tablo 4.7. NPY antikoruna arka kök gangliyonu ekspresyon sonucu

Nöropeptid Y (NPY)		
DRG	Cihaz Renk Birimi	Kat Değişimi
Kontrol	422	1
Diyabet	4444	10,53
Mirtazapin	2331	5,52
Pregabalin	4931	11,68

Tablo 4.8. NPY antikoruna omurilik ekspresyon sonucu

Nöropeptid Y (NPY)		
Omurilik	Cihaz Renk Birimi	Kat Değişimi
Kontrol	5885	1
Diyabet	11507	1,95
Mirtazapin	6205	1,05
Pregabalin	6766	1,15

5. TARTIŞMA

Diyabet, dünyada yaygın olan epidemik ve nöropati ile ilişkili masraflı bir komplikasyondur. Diyabetik nöropati, sadece Diabetes mellitus ile gelişen, sinir sisteminin farklı elemanlarını ve tüm tipte sinir liflerini etkileyen bir sendromdur. Periferal diyabetik nöropati, diyabete bağlı somatik ve otonom sinirlerde meydana gelen hasarların tedavilerinin zor olduğu nöropatik ağrıya neden olmaktadır. Ağrı şiddetinin artmasıyla, hastanın günlük fonksiyonları etkilenir ve yaşam kalitesi düşer. Ağrılı diyabetik nöropatinin ana tedavi yöntemi diyabetin tedavisi ve ağrının giderilmesi için ilaçların yönetimine bağlıdır (Peltier, Goutman, & Callaghan, 2014).

Sıkı glisemik kontrol, nöropatik ağrı sürecinin yavaşlamasında en iyi yoldur. Glisemik kontrolün yanı sıra antidepresanlar (duloksetin, amitriptilin, imipramin), antikonvülsanlar (pregabalin, gabapentin), opioidler (tramadol) ve α -lipoik asit ağrının semptomatik tedavisinde kullanılırlar. Nöropatik ağrının tedavisinde klinikte yaygın olarak antidepresanlar ve antikonvülsanlar kullanılmaktadır. Son çalışmalar supraspinal ve spinal mekanizmalar tarafından düzenlenen merkezi etkilerinin yanı sıra antidepresanların lokal periferal analjezik etkisinden dolayı periferal diyabetik nöropatinin tedavisinde önemli bir alternatif tedavi yöntemidir (Sawynok, Esser, & Reid, 2001; Üçel, Can, Özkay, & Öztürk, 2015).

Periferden köken alan ağrı uyaranları, primer duyu nöronları aracılığı ile omuriliğin dorsal boynuzuna ve çıkan ağrı yolu boyunca pek çok beyin bölgesine iletilir. Omurilikte, beyin kökünden köken alan inen lifler ağrı nörotransmisyonunu baskılar; bu baskılama homeostatik düzenleyici olarak görev yapar. Serotonin ve noradrenalin inen lifler tarafından salınan nörotransmitterlerdir ve bu sistemde oluşan fonksiyon bozukluğu, inen antinosiseptif yolları indüklemektedir. Bu durum da hastalarda eş zamanlı ağrı semptomları ve depresyonu açıklamaktadır (Morris et al., 2009). Antidepresanlar artrit, merkezi ağrı sendromu, fibromiyalji, migren, diyabetin neden olduğu sinir hasarı (diyabetik nöropati) ve postherpetik nevralji gibi kronik ağrı durumlarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Antidepresan ilaçların analjezik potansiyeli merkezi sinir sisteminde monoamin geri alımının inhibisyonu sonucunda antinosiseptif aktivitenin inen yolda artması şeklinde olduğu düşünülmektedir (Mika, Zychowska, Makuch, Rojewska, & Przewlocka, 2013).

Diğer antidepresan gruplarından farklı olarak atipik antidepresanlar, dopamin-noradrenalin geri alım inhibitörü ve serotonin reseptör modülasyonu fonksiyonları aracılığı ile kronik ağrının tedavisinde etkilidir.

Mirtazapin, noradrenerjik ve spesifik serotonerjik (NaSSA) içeriğe sahip dual etkili bir antidepresandır. Diğer iki etkili antidepresanlara karşın, mirtazapin pre ve postsinaptik α -2 reseptör antagonisti etkinliği aracılığıyla noradrenerjik ve serotonerjik nörotransmisyonun artışını sağlar (Anttila & Leinonen, 2001). Mirtazapin'in postsinaptik 5-HT₂ ve 5-HT₃ antagonist etkisinden dolayı serotonerjik yan etkilerini engelleyerek, serotonerjik nörotransmisyon artışını 5-HT₁ reseptörleri ile gerçekleştirmektedir. 5-HT_{1A} ile düzenlenen nörotransmisyonu arttırması, α ₂ adrenerjik, 5-HT₂ ve 5-HT₃ serotonerjik reseptörlerin güçlü bir antagonisti ve amin geri alımında minimum etkisi ile antidepresanlar arasında tek farmakolojik profil sergiler (De Boer, 1996). Mirtazapin baş ağrısı, bulantı, insomnia tedavisi, anksiyete ve kanser ağrısı olan hastaların depresif tedavilerinde tercihen kullanılmaktadır (Cankurtaran et al., 2008; Li et al., 2011).

Hayvan deneyleri mirtazapinin antinosiseptif etkisinin serotonerjik, noradrenerjik ve opioid mekanizmaları aracılığı ile düzenlendiğini göstermiştir (Schreiber, Rigai, Katz, & Pick, 2002).

Klinikte kronik tansiyonu olan kişilerdeki baş ağrısı üzerine yapılan çalışmada Mirtazapin'in profilaktik tedavisinin başarılı olduğunu belirtmişlerdir (Bendtsen & Jensen, 2004).

Theobald ve arkadaşları kanserli kişilerde Mirtazapin'in etkinliğini araştırmışlardır. Memoriyal ağrı değerlendirme kartları aracılığı ile ağrı, ağrı giderimi, ruh hali, bulantı ölçme sayısal derecelendirme ölçekleri, anksiyete, insomnia ve iştah durumu incelenmiştir. Çalışmanın sonucunda ileri evre kanser hastalarında Mirtazapin'in depresyonu engellemesinin yanı sıra kansere bağlı gelişen çok sayıda semptom üzerinde etkin olabileceği kanaatine varılmıştır (Theobald, Kirsh, Holtsclaw, Donaghy, & Passik, 2002).

Freyenhagen ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada siyatik sinir hasarı oluşumunu takiben mirtazapin uygulaması sonucunda bloke olan 5-HT_{2A} reseptörü hasarlı siyatik sinire bağlı arka ayakta hiperaljezik ağrı eşiğinin yükselmesine neden olurken, sağlıklı diğer arka ayakta herhangi bir etki göstermemiştir (Freyenhagen, Vogt, Lipfert, & Muth-Selbach, 2006).

Spinal 5-HT₁ reseptörleri, kompleks bir yol içinde ağrı sürecini düzenlemektedir ve 5-HT_{1A} reseptörlerinin farklı etkileri gösterilmiştir (Nadeson & Goodchild, 2002). Nosiseptif ağrıya neden olan unsur dahi bu farklı etkilerin nedeni olabilmektedir (Kayser et al., 2007). Nöropatik ağrıda 5-HT_{2A} reseptörlerinin önemi hakkında pek çok kanıt bulunmaktadır. Siyatik sinir hasarı ile oluşturulan nöropatik ağrı modelinde 5-HT_{1A/B} ve 5-HT_{3/4} reseptörlerinin antagonistleri ağrı eşiğini etkilemeseler de, spesifik 5-HT_{2A}

reseptör antagonistleri hiperaljezi oluşan ayakta ağrı eşliğini belirgin bir şekilde arttırmıştır (Nitanda et al., 2005).

Deneysel olarak oluşturulmuş ağrı modellerinde serotonin ve noradrenalin geri alım inhibitörlerinin antinosisseptif etkilerinin, inhibitör etkisi tek mekanizma ile çalışan antidepresanlara göre daha etkin ve günlük klinik kullanımlarında daha uyumlu olduğu belirtilmiştir (Burke, 2004; Pedersen, Nielsen, & Blackburn-Munro, 2005).

Omurgalılarda pek çok fiziksel hastalık enflamasyona neden olur. Enflamasyon doku sıvısının hücre membranları ve hücre yüzeylerinden geçişi ile hastalığa, kas fonksiyonlarında değişime ve ağrı oluşmasına neden olmaktadır. Bu hastalık süreci iyon kanallarının fonksiyonu veya sayılarındaki değişim ile açıklanabilmektedir. Enflamasyona bağlı ağrı doğrudan kanıt iyon transportlarındaki değişimdir. Enflamasyon durumunda sodyum, klorid, kalsiyum, potasyum, geçici reseptör potansiyeli, purinerjik reseptör ve aside duyarlı iyon kanalları gibi pek çok iyon kanallarının ekspresyonu ve fonksiyonu sitokinler, kemokinler, prostaglandinler, lökotrienler, histamin, ATP, reaktif oksijen radikalleri ve protonlar tarafından etkilenmektedir (Eisenhut & Wallace, 2011).

Geçici reseptör potansiyel (TRP) kanalları seçici olmayan katyon kanallarıdır. Bu aileden biri olan kapsaisin reseptörü veya geçici reseptör potansiyel vanilloid 1 (TRPV1) hem termal hem de kimyasal ağrı algısını düzenlemektedir. TRPV1 knockout fareler akut termal ve kimyasal uyarılara karşın daha az duyarlı olmanın yanı sıra aynı zamanda bu farelerde enflamatuvar termal hiperaljezi düzeyi azalmaktadır (Nilius, Owsianik, Voets, & Peters, 2007). Enflamatuvar düzenleyicilerin etkisinin araştırıldığı ilk çalışmada, lipooksijenaz ürünleri olan 12 ve 15- (S)- hidroperoksi eikosa tetra enoik asitler, 5- ve 15- (S)- hidroperoksi eikosa tetra enoik asitler ve lökotrien B4, neonatal sıçanların dorsal kök gangliyonlarından izole edilen duyu nöronlarının primer kültürasyonunda TRPV1'i aktive etmiştir. Enflamasyon sürecinde kemokinler tarafından TRPV1 yoluyla ağrı algısının arttığını belirten 3 moleküler mekanizma tanımlanmıştır: Protein kinaz C (PKC) fosforilasyonu dolayısıyla artan TRPV1 duyarlılığı, protein kinaz A (PKA) fosforilasyonundan dolayı inhibisyon adaptasyonu ve endojen inhibitör PIP2'nin uzaklaştırılması (Zhang & Oppenheim, 2005).

TRPV1 reseptörlerinin diyabetik periferik nöropatide önemli rol oynadığı belirtilmiştir. STZ ile oluşturulmuş diyabet modelinde termal hiperaljezi, nosiseptif DRG nöronlarındaki TRPV1 reseptörlerinin artan ekspresyonu ile beraber gözlenmiştir (Pabbidi et al., 2008). Omurilik dorsal boynuzunda, mikrogliyal hücreler aktive olmakta ve IL-1 β , IL-6 ve TNF- α proenflamatuvar düzenleyicilerin seviyesi artmaktadır. Yapılan bir çalışmada TRPV1 aktivatörü,

kapsaisin analogu olan resiniferatoksin (RTX)'in intratekal uygulaması STZ'ye bağı termal hiperaljeziyi belirgin şekilde azaltmış ancak mekanik allodinayı azaltmamıştır. Bu nedenle omurilikte bulunan TRPV1 reseptörlerinin rolünün diyabetle ilişkili termal hiperaljezide önemli olduğu sonucuna varılmıştır (Bishnoi, Bosgraaf, Abooj, Zhong, & Premkumar, 2011).

Dorsal kök gangliyonunda TRPV1'in ekspresyonu spinal sinir ligasyonu (Rasband et al., 2001), kronik sıkıştırma hasarı (Schäfers, Sorkin, Geis, & Shubayev, 2003) ve parsiyel sinir ligasyonu (Hudson et al., 2001) modellerinde azalmıştır. Diyabetik nöropati, sural sinir ve siyatik sinir aksotomisi sonrası DRG nöronlarının çoğunluğunda TRPV1 ekspresyonunun azaldığı gözlenmiştir (Facer et al., 2007; Lauria et al., 2006). Parsiyel sinir ligasyonu sonrası sağ kalan DRG nöronal hücrelerin soma kısmında TRPV1 ekspresyonunun arttığı belirtilmiştir (Tetsuo Fukuoka et al., 2002). Başka bir çalışmada siyatik sinirin kronik sıkıştırma modeli sonucunda oluşan nöropatik ağrı modelinde omurilikte ipsilateral yönde spinal TRPV1 protein seviyesinin belirgin bir şekilde arttığı bildirilmiştir (Premkumar & Ahern, 2000). Wu ve arkadaşları yapmış oldukları çalışmada omurilik hasarı sonrası spinal TRPV1 reseptörlerinin ekspresyonlarını incelemişlerdir. Torasik bölgede oluşturulan kontuzif omurilik hasarından 1 ay sonra lumbal bölge DRG'lerinde TRPV1 reseptör ekspresyonunun artmış olduğunu, küçük çaplı DRG nöronlarının dissosiasyonunda kapsaisin akımının arttığı belirtilmiştir. TRPV1 antagonisti olan AMG9810 uygulaması, zararlı ısıyı algılamayı etkilemeden TRPV1 reseptörlerinin ısı ve mekanik uyarıların artan duyarlılığını tersine çevirdiğini göstermişlerdir (Z. Wu, Yang, Crook, O'Neil, & Walters, 2013).

Nöropatik ağrıya neden periferik sensitizasyonun ortaya çıkışında sodyum kanalları, TRPV1 reseptörleri ve adreno reseptörlerinin önemli rolleri vardır. Çalışmamızda da diyabetik nöropati oluşturduğumuz grupta soğuğa karşı azalan termal ve mekanik hiperaljezi sürelerine paralel olarak diyabetik sıçanların özellikle DRG'de olmak üzere omurilikte de TRPV1 ekspresyonu artmıştır. Beyinden omuriliğe inen yollardaki inhibitör etkiler endojen opiyatlar, serotonin ve noradrenalin gibi nörotransmitterler vasıtasıyla oluşur. Bu nedenle serotonin ve noradrenalin üzerinden etkili olan antidepresanlar bu inhibitör yollardaki serotonin ve noradrenalin seviyelerini arttırarak nöropatik ağrıyı azaltırlar. Buna bağı olarak noradrenerjik ve spesifik serotonerjik antidepresan olan Mirtazapin ise diyabette yükselmiş olan TRPV1 ekspresyonunu pregabaline kıyasla belirgin bir şekilde kontrol seviyesine düşürmüştür.

TRPV1 kanallarının pH duyarlılığı aside duyarlı iyon kanallarından (ASIC) farklıdır. Çünkü TRPV1 kanalı ancak ekstrasellüler sıvının pH'ı 6'nın altına düşünce açılır fakat pH'ın 6-7 arasında olduğu orta derecede asidozis durumlarda TRPV1 kanalları ısı gibi uyarılara karşı duyarlı hale gelmektedir.

Proton ile uyarılmış duyarlılaştırmada geçerli aktivasyon oranı artarken, geçerli deaktivasyon oranı ise düşmektedir (Holzer, 2009). Bradikinin ve NGF gibi enflamatuvar düzenleyiciler TRPV1'in ısı ve proton duyarlılığında artmaktadır (White et al., 2010).

Doku asidozisi pek çok ağırlı durumda gerçekleşen genel özelliklerden biridir. Enflamasyon sürecinde, hasarlı hücrelerden salınan ilk mediyatör (aracı) madde protonlardır ve doku asidozisi iskemi, hematoma, tümör gelişimi, cerrahi müdahale sonrası deri ve kas insizyonu, artrit ve sindirim sistemi hastalıkları gibi pek çok ağırlı durumlarda oluşan yaygın bir olaydır. Asidik pH'ın ağrı oluşturan etkisi, periferde tehlikeli uyarı alan nosiseptif nöronların serbest sonlanmalarındaki depolarizasyondan kaynaklanmaktadır. Bu depolarizasyon protonlar tarafından doğrudan aktive edilen iyonik kanalların aktivasyonu ile gerçekleşmektedir. Bu kanallar TRP ve ASIC'lerdir. ASIC'lerin kimi alt grupları başta olmak üzere çok küçük asidik durumlarda bile aktive olmakta ve depolarizasyonu devam ettirmektedir. ASIC'ler özellikle ağrı sinyallerinin düzenlenmesi ve iletiminde görev alan omurilik başta olmak üzere merkezi sinir sisteminde yaygın bir şekilde eksprese olmaktadır (Deval et al., 2010). Kemirgenlerde, 4 farklı gen (ACCN1-4) tarafından kodlanan ASIC ailesi en az 6 alt birimden (ASIC1a, ASIC1b, ASIC2a, ASIC2b, ASIC3 ve ASIC4) oluşmaktadır. ASIC'ler voltajdan bağımsız, çoğunlukla Na⁺ iyonuna geçirgen olan depolarize edici katyonik kanaldır. Homomerik ASIC1a'nın ayrıca Ca²⁺ iyonunu da ilettiğine dair bilgiler mevcuttur. ASIC akımı ekstrasellüler asidifikasyonu, eşik değerinin aktivasyonunu, pH duyarlılığını, kanalların alt birimlerinin kompozisyonuna bağlı akım kinetiğini aktive eder. ASIC'lerdeki bu çeşitlilik protonlara karşı farklı yanıt vermelerini sağlar. ASIC'ler arasında ASIC1 ve ASIC3 protona karşı en duyarlı ve en küçük asidifikasyonlardan aktive olabilen ASIC kanallarıdır (Deval et al., 2010; Deval et al., 2008).

ASIC izoformları somada veya DRG'lerin periferik sinir sonlanmalarında, özellikle ASIC1-3 küçük ve orta nosiseptif nöronlarda belirgin bir şekilde eksprese olmaktadır (Lingueglia, 2007). Çeşitli enflamatuvar süreçlerde ASIC'lerin rolü belirtilmiştir. Merkezi sinir sisteminin otoimmün enflamasyonunda aksonal dejenerasyonda ASIC1a regülasyonu artmaktadır (Friese et al., 2007). NGF, serotonin, interlökin-1 ve bradikinin gibi proenflamatuvar mediyatör karışımı ASIC- benzeri amplitüdü, ASIC eksprese eden nöronları ve duyu nöron uyarılmasını arttırmaktadır (Mamet, Baron, Lazdunski, & Voilley, 2002). Tip 1 diyabet ile ilişkili immün olaylar ve periferik enflamasyondan dolayı ASIC aktivasyonu/regülasyonu olması beklenmektedir. Pankreastaki beta hücrelerinin azalması sonucunda insülin üretimindeki yetersizlik tip 1 diyabetin en iyi bilinen özelliğidir. Plazma membranında ASIC1a'nın düşük ekspresyonu, ekstrasellüler nöronal medyunda azalması, endoplazmik retikulumdan plazma membranına

ASIC1a'nın translokasyonunun belirlenmesinde insülin anahtar bir faktördür (Chai, Li, Branigan, Xiong, & Simon, 2010). Bu nedenle insülin yetmezliğinden dolayı tip 1 diyabette ASIC ekspresyonunda değişim beklenmektedir. Tip 1 diyabetteki insülin dengesizliği duyu nöronlarında ASIC değişimini tetiklemektedir. Radu ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada insülin terapisinin yapılmadığı, ağır diyabet durumlarında ASIC'ların biyofiziksel ve ekspresyon karakteristiğinin değiştiğini göstermişlerdir (Radu et al., 2014). Chai ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada ekstrasellüler membranda bulunan düşük ASIC1a ekspresyonuna insülinin neden olduğunu beirtmişlerdir (Chai et al., 2010) . Tip 1 diyabette ASIC1a'yı eksprese eden nöronların artan yüzdesi, düşük insülin seviyesine yanıt olarak hücre yüzeyinden ASIC1a'nın kaçıışı sonucunda oluşmaktadır. Fosfoinozid-3 (PI3) kinaz aktivasyonu ASIC1a kaçışının artmasına neden olmakta (Duan et al., 2012) ve yüksek olasılıkla PI3-kinaz/Akt yolağı aracılığı ile insülin ASIC1a'ya karşı etkisini düzenlemektedir (Zha, 2013).

Bizim çalışmamızda da omurilik ve özellikle DRG dokularında ASIC1 ekspresyonu diyabetik nöropatide belirgin bir şekilde artmıştır. ASIC1'in artan aktivasyonu hücre içine Na^+ ve Ca^{2+} 'un girmesi ile hücre membranında depolarizasyonun oluşmasına neden olmaktadır. Mirtazapin aynı zamanda ligand kapılı iyon kanalı olan 5-HT₃'ün antagonistidir ve dolayısıyla doğrudan nöronal aktivasyonu inhibe etmektedir. Çalışmamızda antinosiseptif etkisini araştırdığımız mirtazapinin bu yol aracılığı ile de antinosiseptif etkisini gösterdiği düşüncesindeyiz.

Nörohormonal aktivasyonun, diyabet, insülin direnci, kardiyovasküler hastalıklar ve nosiseptif ağrı yolağında güçlü patofizyolojik rolü vardır. Glikozilasyon, sinir liflerinde metabolik hasar, otoimmün hasar, nörovasküler, nörohormonal büyüme faktörlerinde yetersizlik ve oksidatif stres diyabetik nöropatide gerçekleşen patojenik süreçlerdendir. Nöropeptid Y (NPY), P maddesi (SP), kalsitonin- gen ilişkili peptid (CGRP), atriyal natriüretik peptid (ANP) gibi nöropeptidler nöropatik ağrı dahil pek çok patolojik süreçlerde rol oynayan, merkezi ve periferel sinir sisteminden salınan vazomodülatörlerdir. 36 aminoasitlik bir peptid olan NPY, merkezi ve periferel sinir sisteminde yoğun miktarda bulunan nörotransmitterlerden biridir. Merkezi sinir sisteminde özellikle hipotalamusun paraventriküler çekirdeğinden salgınır ve serebrospinal sıvıda bulunur. G-protein çifti üzerinden aktivitesini gösteren reseptörü 6 alt birimden oluşur (NPY1-6R). NPY1R, NPY2R ve NPY5R diyabet, kalp yetmezliği, hipertansiyon ve beslenme bozukluğu gibi pek çok hastalığın patofizyolojisinde rol oynamaktadırlar. Bolinder ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada tip 1 diyabetli kardiyak otonomik nöropatili hastaların serum NPY seviyesinin düşmüş olduğunu gözlemlemişlerdir (Bolinder, Sjöberg, Persson, Ahrén, & Sundkvist, 2002). Başka bir çalışmada STZ kaynaklı diyabetik sıçanlarda frontal korteks, hipokampus ve kalp

dokularında NPY ekspresyonunun düştüğünü göstermişlerdir (Kuncová, Švíglerová, Tonar, & Slavíková, 2005). Aksine Watanabe ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada ise sıçanların arkuat nükleuslarında insülin ve hipoglisemi NPY gen transkripsiyonunu arttırmıştır (Watanabe et al., 2008). NPY, nosiseptif ağrı ve enflamasyon yolağında rol oynamaktadır. Y1R ve Y2R reseptörleri aracılığı ile NPY, dorsal kök gangliyonunda ağrı sinyalini düzenlemektedir (Amir & Devor, 1996). Sağlıklı DRG'lerde NPY eksprese olmazken, siyatik sinir hasarı sonrasında hasarlı DRG'lerdeki farklı nöronlardan NPY'nin eksprese olduğu gösterilmiştir (T Fukuoka & Noguchi, 2015). Brumovsky ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada periferde aktif Y2R antagonistlerinin DRG'de ağrı duyarlılık eşiğini düşürme amacıyla kullanımının yararlı olabileceğini belirtmişlerdir. NPY'nin ağrı hissini periferden beyne kadar iletilmesinde kısmen sorumlu olduğu belirtilmiştir (Mantyh et al., 1997). Jung ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada NPY'nin nöropatik ağrılı deneklerin beyin köküne enjeksiyonu analjezik etki göstermiştir (Jung et al., 2009). Brothers ve Wahlestedt, NPY'nin primer olarak ağrı eşiğinin düzenlenmesinde, ayrıca ağrı hissini iletilmesinde doğrudan görev alabildiğini belirtmişlerdir (Brothers & Wahlestedt, 2010). Bu nedenle NPY'nin periferden beyin köküne kadar ve belki de daha geniş alanda tüm ağrı yolağı boyunca önemli bir rol oynadığı açıktır.

NPY, koroner damarların ve insan kardiyak miyositlerinin sempatik sinir sonlanmalarında bulunur. Sıçanlarda, postsempatik sinir sonlanmalarında ATP ve noradrenalinle, adrenal medullada ise adrenal ile beraber depolanıp salınmaktadır. Fakat presinaptik sinir sonlanmalarında negatif- geri besleme mekanizması tarafından NPY, noradrenalin salınımını inhibe etmektedir (Olcese, 1991). Sıçan modellerinde, NPY dolaylı yoldan noradrenaline bağlı kalsiyum sinyalini yoğunluğunu arttırarak ve doğrudan hücre içi kalsiyum seviyesini arttırarak vazokonstriksiyona neden olmaktadır (Wier, Zang, Lamont, & Raina, 2009).

NPY makrofaj, nötrofil veya lenfosit gibi immün hücreleri aktive ederek TNF- α , IL-6 ve IFN- γ gibi proinflamatuvar sitokinlerin salınmasını arttırmakta ve L5 spinal sinir kesisi ile oluşturulmuş nöropatik ağrı modelinde hiperaljezinin gelişmesine neden olmuştur (Zhu et al., 2008). Aynı çalışmada mirtazapin beyin dokusunda TNF- α , IL-1 β ve NF- $\kappa\beta$ seviyelerinin düşmesi ile termal ve mekanik hiperaljezinin azalmasına neden olmuştur. Çalışmamızda diyabetik nöropati durumunda özellikle DRG olmak üzere omurilik dokularında NPY ekspresyonunun artışına paralel salındığını düşündüğümüz proinflamatuvar sitokinlerin, termal ve mekanik hiperaljezinin artmasına neden olduğunu düşünmekteyiz.

P maddesi (SP), nörotransmitter ve nöromodülatör olarak görev yapan, dorsal kök gangliyonlarında bulunan ağrıdan sorumlu nöronların uyarımını

etkileyen, 11 aminoasitlik bir zincirden oluşan peptittir. Ağrı sinyalinin anahtar düzenleyicisidir. Merkezi ve periferel sinir sistemlerinden eksprese edilir ve duyu sinir liflerinden salınır. SP reseptörü olan nörokinin 1 reseptörü (NK1R), G-protein çifti reseptör ailesi (GPCR) alt sınıfı olan taşıkinin reseptör ailesine aittir. NK1R immün, epitel, endotel hücreleri, glia hücreleri ve nöronlarda bulunur. SP, NK1R'ye bağlandıktan sonra G_q 'nın aktivasyonu ile fosfolipaz C aktive olur ve Ca^{+2} seviyesi artar (Ejaz, LoGerfo, & Pradhan, 2011). Tip 1 ve tip 2 diyabetli hastaların kan serumlarında SP'nin ekspresyonunun düştüğü belirtilmiştir (Kunt et al., 1999). Başka bir çalışmada ise diyabetik sıçanların DRG'lerinde NK1R ekspresyonunun düştüğü bulunmuştur (Boer, de Lima Rossi, Mesquita, & Gontijo, 2010). Ancak bunun aksine sonuç veren çalışmalar da mevcuttur. Noguchi ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada aksotomi sonrası büyük ve orta çaptaki DRG nöronlarında SP immünreaksiyonunun arttığı belirtilmiştir (Noguchi, Dubner, De Leon, Senba, & Ruda, 1994). Glutamat ve SP, DRG'lerin küçük nöronlarında, lamina I, II ve spinal dorsal boynuzun derin tabakalarında sonlanan duyu liflerinde birlikte bulunmaktadır (Kai-Kai, 1989). İnflamasyon modellerinde omuriliğin lumbal bölgesinin dorsal boynuzunda ve DRG'de SP'nin arttığı belirtilmesinin yanı sıra, SP'nin reseptörü NK-1 dorsal boynuzda artmaktadır (Ohtori et al., 2002).

Tüm bu çalışmalar şunu göstermiştir ki diyabet durumunda NPY'nin ekspresyonu düşük ya da yüksek regülasyon gösterebilirken, SP ekspresyonu diyabet durumunda her zaman düşük regülasyon göstermekte ancak farklı ağrı modellerinde arttığı da gözlenmiştir. Diyabet ve hiperglisemiden kaynaklanan SP'nin düşük regülasyonu duyu denervasyonu ve nöropatiye neden olabilmektedir (Ejaz et al., 2011).

Biz ise çalışmamızda omurilikte P maddesi ekspresyonunun diyabet grubunda kontrole göre azalmış olduğunu, mirtazapin uygulaması sonrasında ise P maddesinin eksprese olmadığını gördük. Mirtazapin uygulaması ile artan nöronal serotonin ve noradrenalin iletimine bağlı olarak SP miktarının düşmüş olduğunu söyleyebiliriz. Mirtazapin, α_2 adrenoreseptörleri inhibe ederek serebral kortekste noradrenerjik sonlanmalarda noradrenalin ve dopaminin korele şekilde salınmasını sağlamaktadır (Devoto, Flore, Pira, Longu, & Gessa, 2004). SP sistemi, dopamin D1 reseptörlerindeki değişim tarafından düzenlenmektedir. Mirtazapinin analogu olan mianserin, dopamin D2 reseptörlerini etkilemezken, D1 reseptörlerinin sayısını azaltmaktadır (Shirayama, Mitsushio, Takashima, Ichikawa, & Takahashi, 1996). Buradan yola çıkarak mirtazapinin SP üzerindeki etkisinin 5-HT₂ ve D1 reseptörleri üzerinden gerçekleştiği düşüncesindeyiz.

14 aminoasitten oluşan somatostatin (SST), geniş bir fizyolojik etkinliği olan, analjezik etkinliği bulunan bir hormondur. 14 ve 28 aminoasitlik

peptidler halinde, kapsaisine duyarlı TRPV1'i eksprese eden nosiseptif afferentler içerisinde sentez edilip saklanmaktadır. Somatostatin; afferent aksonlar, substantia gelatinosa bölgesindeki 2 numaralı Rexed lamina, hipotalamus ve periaqueductal gri maddenin oluşturduğu somatostatinerjik antinoseptif sistem içerisinde eksprese olan, nosiseptif bilgi için önemli bir nörotransmitterdir. Bu etkilerini G- protein çifti reseptör ailesi alt tipi olan 5 adet reseptörü (SSTR1-5) aracılığı ile göstermektedir (Dahaba et al., 2009). SST, az bir kısmı zayıf bir şekilde pre/protaşikin A'yı, büyük bir çoğunluğu kalsitonin gen ilişkili peptidi (CGRP) eksprese eden küçük DRG nöronlarında bulunmaktadır (Hökfelt et al., 1976; Ju et al., 1987; Kashiba et al., 1996; Lawson, 1995).

Carlton ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada küçük çaplı DRG hücrelerinde bulunması, reseptörlerinin aktivasyonu ile hem insanlardaki akut ve kronik ağrı hem de hayvanlardaki nosiseptif davranışlar inhibe olması ve dorsal boynuzdaki nöronal aktiviteyi inhibe ederek SST'nin nosiseptif süreçte önemli olduğunu belirtmişlerdir (Carlton, Du, Zhou, & Coggeshall, 2001).

Superfisiyal dorsal boynuzda bulunan yoğun SST (+) lifler, küçük yerel ara nöronlardan köken almaktadır (Proudlock, Spike, & Todd, 1993). Elektrofizyolojik çalışmalarda SST'nin dorsal boynuz nöronları üzerinde inhibitör etkisi olduğunu göstermişlerdir (Yasaka et al., 2010). Eksojen olarak uygulanan SST ve analoglarının deney hayvanları üzerinde nörojenik enflamasyonu inhibe ettiği, anti-noseptif etkisi olduğu, insanlarda ağrıyı azalttığı bildirilmiştir (Imhof et al., 2011; Mollenholt, Rawal, Gordh Jr, & Olsson, 1994; Schuelert et al., 2015).

SST'yi eksprese eden nosiseptif duyu nöronları miyelinsiz aksonlarını, omurilikte lamina II'ye uzatmaktadır. Periferik sinirlerdeki ağrılı uyarıları takiben omurilikte bulunan miyelinsiz aksonlardan salınan SST, nosiseptif nöronlar üzerinde inhibitör etki oluşturmaktadır. Shi ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada siyatik sinir ligasyonu modeli ile nöropatik ağrı oluşturmuşlar, DRG ve omurilikte SST ve SST2R ekspresyonuna bakmışlardır. Hem insan hem de fare DRG'lerinde SST ve sst2A proteinlerinin varlığı, omurilik dorsal boynuzunun lamina II'sinde sst2A immünreaktivite gösteren hücre gövdeleri ve uzantılar gözlemişlerdir. Periferik sinir hasarı sonrasında DRG'de sst2A immünreaksiyonu azalmış, SST reaksiyonu ise artmıştır. Siyatik sinirin sıkıştırıldığı yerin distal kısmında daha güçlü olmak üzere, proksimal kısmında da sst2A reaksiyonu gözlenmiştir (Shi et al., 2014).

Ruan ve arkadaşlarının yapmış oldukları başka bir çalışmada ise SST'nin intratekal enjeksiyonu omurilikte SP tarafından indüklenmiş ağrı eşikini arttırmış, ağrı yanıtının oluşumunu ve c-fos ekspresyonunu önlemiştir. Arka

ayağına yapılan formalin enjeksiyonu ağrı yanıtının oluşumunu indüklemiş, SST enjeksiyonu ile inhibe olan SP'nin ekspresyonunun artmasına neden olmuştur. Çalışmanın sonucunda Ruan ve arkadaşları SST'nin analjezik etkisinin SP tarafından indüklenen ağrılı yanıtın inhibisyonu sonucunda oluştuğu kanaatine varmışlardır (Ruan, Li, & Cai, 1997).

Serotonin merkezi sinir sisteminin çeşitli yolaklarında CGRP, enkafalin, galanin, nörokinin A, nörotensin, STT, SP ve tiotropin salan hormon gibi pek çok nöropeptit ile beraber bulunmaktadır. Bunun yanı sıra serotonin sıçan striatumunda NPY ve STT'nin biyosentezini inhibe ederken; hipokampus ve frontal kortekste bu peptitlerin salınımını uyarmaktadır (Fuller, 1996). Çalışmamızda DRG ve omurilikte diyabet grubunda kontrole kıyasla STT ekspresyonu artarken; Mirtazapinin DRG'de, pregabalinin ise omurilikte STT ekspresyonunu düşürme de daha etkili olduğunu gördük. Buradan yola çıkarak Mirtazapine bağlı olarak serotonin, diyabetle artan STT ekspresyonunu DRG ve omurilikte de azalttığını söyleyebiliriz.

Nöropatik ağrıda 5-HT_{2A} reseptörlerinin önemi hakkında pek çok kanıt bulunmaktadır. Siyatik sinir hasarı ile oluşturulan nöropatik ağrı modelinde 5-HT_{1A/B} ve 5-HT_{3/4} reseptörlerinin antagonistleri ağrı eşiğini etkilemeseler de, spesifik 5-HT_{2A} reseptör antagonistleri hiperaljezi oluşan ayakta ağrı eşiğini belirgin bir şekilde arttırmıştır (Nitanda et al., 2005). Zhu ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada L5 spinal sinir kesisi ile oluşturulmuş nöropatik ağrı modelinde immün hücreler aktive olarak TNF- α , IL-6 ve IFN- γ gibi proinflamatuvar sitokinlerin salınması artmış ve hiperaljezinin gelişmesine neden olmuştur. Aynı çalışmada mirtazapin beyin dokusunda TNF- α , IL-1 β ve NF- κ B seviyelerinin düşmesi ile termal ve mekanik hiperaljezinin azalmasına neden olmuştur (Zhu et al., 2008). Freynhagen ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada siyatik sinir hasarı oluşumuna takiben mirtazapin uygulaması sonucunda bloke olan 5-HT_{2A} reseptörü hasarlı siyatik sinire bağlı arka ayakta hiperaljezik ağrı eşiğinin yükselmesine neden olurken, sağlıklı diğer arka ayakta herhangi bir etki göstermemiştir (Freynhagen et al., 2006). Çalışmamızda mirtazapin uygulanan grupta haftalar ilerledikçe hem termal hem de mekanik hiperaljezi süresinin kontrol grubuna yaklaşmasını mirtazapinin 5-HT₂ reseptörünü bloke etmesine bağlamaktayız.

Sonuç olarak çalışmamızda STZ ile oluşturulan diyabetik nöropatiye bağlı gelişen ağrı tedavisinde yeni nesil bir antidepresan olan Mirtazapin'in pek çok mekanizma üzerinden antinosisepsiyon etkisini gösterdiğini söyleyebiliriz.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Diyabetik nöropati durumunda omurilik ve arka kök gangliyonlarında eksprese olan iyon kanalı ve nöropeptidler üzerine Mirtazapin'in antinosiseptik etkisini araştırmayı amaçladık. Nosisepsiyon ölçümü için davranış testleri, nöropeptid ve iyon kanallarının ekspresyonlarının ölçünleri için ise immünohistokimya ve western blot yöntemlerini kullandık. Sonucunda,

- 4. Haftada diyabetik nöropati oluşmaktadır.
- 4. Haftada diyabetik nöropatiye bağlı nosisepsiyon gelişmekte, zaman geçtikçe mekanik hiperaljezi, soğuk ve sıcaklığa bağlı gelişen termal hiperaljeziye karşı duyarlılık artmaktadır.
- 4. Haftada diyabet grubunda soğuk hiperaljezi ve mekanik hiperaljezi gelişirken, termal hiperaljezi gelişmedi.
- 5. Haftada termal hiperaljezi de oluşmaktadır. Mirtazapin antinosiseptik etkisini kısa dönemde göstermektedir. Mirtazapin mekanik hiperaljeziyi azaltırken, Pregabalin ise etkinliğini henüz göstermemiştir.
- 6. Haftada Pregabalin soğuk hiperaljezinin tedavisinde daha etkindir. Termal hiperaljezinin önlenmesinde hem Pregabalin hem de Mirtazapin etkilidir. Mekanik hiperaljezinin tedavisinde ise özellikle Mirtazapin daha etkindir.
- Mirtazapin mekanik ve soğuk hiperaljeziye karşı etkisini erken dönemde göstermektedir.
- Pregabalinle kıyasla mirtazapin mekanik hiperaljezinin önlenmesinde daha etkilidir.
- Diyabetik nöropatide omurilik ve özellikle DRG'de TRPV1, ASIC1, NPY ve STT'nin artan ekspresyonları pregabalinle kıyasla mirtazapin uygulaması sonucunda etkin bir şekilde düşmüştür.
- Diyabetik nöropatide diğer nöropeptidlere kıyasla omurilikte SP'nin immünreaktivitesi düşerken, mirtazapin bu reaksiyonun daha da azalmasına neden olmuştur.

Çalışmamız sonucunda elde ettiğimiz tüm bu bilgiler ışığında diyabetik nöropatide sinir hasarı sonucunda oluşan ağrının giderilmesinde klinikte kullanılan pregabalin ve gabapentin gibi ilaçlara Mirtazapin alternatif olabilir. Ancak Mirtazapin'in klinikte kullanımı için daha detaylı çalışmaların yapılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Agargun, M., & Ebrinc, S. (1998). Mirtazapin: Bir gözden geçirme. *Klinik Psikofarmakoloji Bulteni*, 8, 59-68.
- Amir, R., & Devor, M. (1996). Chemically mediated cross-excitation in rat dorsal root ganglia. *The Journal of neuroscience*, 16(15), 4733-4741.
- Anttila, S. A., & Leinonen, E. V. (2001). A review of the pharmacological and clinical profile of mirtazapine. *CNS drug reviews*, 7(3), 249-264.
- Bendtsen, L., & Jensen, R. (2004). Mirtazapine is effective in the prophylactic treatment of chronic tension-type headache. *Neurology*, 62(10), 1706-1711.
- Beyreuther, B., Callizot, N., & Stöhr, T. (2006). Antinociceptive efficacy of lacosamide in a rat model for painful diabetic neuropathy. *European journal of pharmacology*, 539(1), 64-70.
- Bishnoi, M., Bosgraaf, C. A., Abooj, M., Zhong, L., & Premkumar, L. S. (2011). Streptozotocin-induced early thermal hyperalgesia is independent of glycemic state of rats: role of transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) and inflammatory mediators. *Molecular pain*, 7(1), 1.
- Boer, P. A., de Lima Rossi, C., Mesquita, F. F., & Gontijo, J. A. (2010). Early potential impairment of renal sensory nerves in streptozotocin-induced diabetic rats: role of neurokinin receptors. *Nephrology Dialysis Transplantation*, gfq512.
- Bolinder, J., Sjöberg, S., Persson, A., Ahrén, B., & Sundkvist, G. (2002). Autonomic neuropathy is associated with impaired pancreatic polypeptide and neuropeptide Y responses to insulin-induced hypoglycaemia in Type I diabetic patients. *Diabetologia*, 45(7), 1043-1044.
- Brothers, S. P., & Wahlestedt, C. (2010). Therapeutic potential of neuropeptide Y (NPY) receptor ligands. *EMBO molecular medicine*, 2(11), 429-439.
- Brown, M. J., & Asbury, A. K. (1984). Diabetic neuropathy. *Annals of neurology*, 15(1), 2-12.
- Burke, W. J. (2004). Selective versus multi-transmitter antidepressants: are two mechanisms better than one? *The Journal of clinical psychiatry*, 65(suppl 4), 1,478-445.
- Cankurtaran, E. S., Ozalp, E., Soygur, H., Akbiyik, D. I., Turhan, L., & Alkis, N. (2008). Mirtazapine improves sleep and lowers anxiety and depression in cancer patients: superiority over imipramine. *Supportive care in cancer*, 16(11), 1291-1298.
- Carlton, S. M., Du, J., Zhou, S., & Coggeshall, R. E. (2001). Tonic control of peripheral cutaneous nociceptors by somatostatin receptors. *Journal of Neuroscience*, 21(11), 4042-4049.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM EDİYOR)

- Chai, S., Li, M., Branigan, D., Xiong, Z.-G., & Simon, R. P. (2010). Activation of acid-sensing ion channel 1a (ASIC1a) by surface trafficking. *Journal of Biological Chemistry*, 285(17), 13002-13011.
- Cummins, T. R., Sheets, P. L., & Waxman, S. G. (2007). The roles of sodium channels in nociception: implications for mechanisms of pain. *Pain*, 131(3), 243-257.
- Dahaba, A. A., Mueller, G., Mattiassich, G., Rumpold-Seitlinger, G., Bornemann, H., Rehak, P. H., Metzler, H. (2009). Effect of somatostatin analogue octreotide on pain relief after major abdominal surgery. *European Journal of Pain*, 13(8), 861-864.
- Dahl, M.-L., Voortman, G., Alm, C., Elwin, C.-E., Delbressine, L., Vos, R., Bertilsson, L. (1997). In vitro and in vivo studies on the disposition of mirtazapine in humans. *Clinical drug investigation*, 13(1), 37-46.
- De Boer, T. (1996). The pharmacologic profile of mirtazapine. *Journal of Clinical Psychiatry*.
- Deval, E., Gasull, X., Noël, J., Salinas, M., Baron, A., Diochot, S., & Lingueglia, E. (2010). Acid-sensing ion channels (ASICs): pharmacology and implication in pain. *Pharmacology & therapeutics*, 128(3), 549-558.
- Deval, E., Noël, J., Lay, N., Alloui, A., Diochot, S., Friend, V., Lingueglia, E. (2008). ASIC3, a sensor of acidic and primary inflammatory pain. *The EMBO journal*, 27(22), 3047-3055.
- Devoto, P., Flore, G., Pira, L., Longu, G., & Gessa, G. L. (2004). Mirtazapine-induced corelease of dopamine and noradrenaline from noradrenergic neurons in the medial prefrontal and occipital cortex. *European journal of pharmacology*, 487(1), 105-111.
- Duan, B., Liu, D.-S., Huang, Y., Zeng, W.-Z., Wang, X., Yu, H., Xu, T.-L. (2012). PI3-kinase/Akt pathway-regulated membrane insertion of acid-sensing ion channel 1a underlies BDNF-induced pain hypersensitivity. *The Journal of neuroscience*, 32(18), 6351-6363.
- Dudek, R. W. (2016). Embryoloji. In Tülay İrez & M. Erkan (Eds.), (Vol. 6). İSTANBUL: İstanbul Medikal Sağlık ve Yayıncılık Hiz. Tic. Ltd. Şti.
- Dworkin, R. H., O'connor, A. B., Backonja, M., Farrar, J. T., Finnerup, N. B., Jensen, T. S., Nurmikko, T. J. (2007). Pharmacologic management of neuropathic pain: evidence-based recommendations. *Pain*, 132(3), 237-251.
- Eisenhut, M., & Wallace, H. (2011). Ion channels in inflammation. *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology*, 461(4), 401-421.
- Ejaz, A., LoGerfo, F. W., & Pradhan, L. (2011). Diabetic neuropathy and heart failure: role of neuropeptides. *Expert reviews in molecular medicine*, 13, e26.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM EDİYOR)

- Facer, P., Casula, M. A., Smith, G. D., Benham, C. D., Chessell, I. P., Bountra, C., Anand, P. (2007). Differential expression of the capsaicin receptor TRPV1 and related novel receptors TRPV3, TRPV4 and TRPM8 in normal human tissues and changes in traumatic and diabetic neuropathy. *BMC neurology*, 7(1), 1.
- Freyenhagen, R., Vogt, J., Lipfert, P., & Muth-Selbach, U. (2006). Mirtazapine and its enantiomers differentially modulate acute thermal nociception in rats. *Brain research bulletin*, 69(2), 168-173.
- Friese, M. A., Craner, M. J., Etzensperger, R., Vergo, S., Wemmie, J. A., Welsh, M. J., Fugger, L. (2007). Acid-sensing ion channel-1 contributes to axonal degeneration in autoimmune inflammation of the central nervous system. *Nature medicine*, 13(12), 1483-1489.
- Fukuoka, T., & Noguchi, K. (2015). A potential anti-allodynic mechanism of GDNF following L5 spinal nerve ligation; Mitigation of NPY up-regulation in the touch sense pathway. *Neuroscience*, 304, 240-249.
- Fukuoka, T., Tokunaga, A., Tachibana, T., Dai, Y., Yamanaka, H., & Noguchi, K. (2002). VR1, but not P2X 3, increases in the spared L4 DRG in rats with L5 spinal nerve ligation. *Pain*, 99(1), 111-120.
- Fuller, R. W. (1996). Mechanisms and functions of serotonin neuronal systems. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 780(1), 176-184.
- Garry, E. M., Delaney, A., Anderson, H. A., Sirinathsinghji, E. C., Clapp, R. H., Martin, W. J., Fleetwood-Walker, S. M. (2005). Varicella zoster virus induces neuropathic changes in rat dorsal root ganglia and behavioral reflex sensitisation that is attenuated by gabapentin or sodium channel blocking drugs. *Pain*, 118(1), 97-111.
- Gartner, L. P., & Hiatt, J. L. (2007). *Color Textbook of Histology*. China: Saunders Elsevier.
- Hargreaves, K., Dubner, R., Brown, F., Flores, C., & Joris, J. (1988). A new and sensitive method for measuring thermal nociception in cutaneous hyperalgesia. *Pain*, 32(1), 77-88.
- Helyes, Z., Pintér, E., Sándor, K., Elekes, K., Bánvölgyi, Á., Keszthelyi, D., Kereskai, L. (2009). Impaired defense mechanism against inflammation, hyperalgesia, and airway hyperreactivity in somatostatin 4 receptor gene-deleted mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(31), 13088-13093.
- Holzer, P. (2009). Acid-sensitive ion channels and receptors *Sensory Nerves* (pp. 283-332): Springer.
- Hökfelt, T., Broberger, C., Zhang, X., Diez, M., Kopp, J., Xu, Z.-Q., Koistinaho, J. (1998). Neuropeptide Y: some viewpoints on a multifaceted peptide in the normal and diseased nervous system. *Brain research reviews*, 26(2), 154-166.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM EDİYOR)

- Hökfelt, T., Elde, R., Johansson, O., Luft, R., Nilsson, G., & Arimura, A. (1976). Immunohistochemical evidence for separate populations of somatostatin-containing and substance P-containing primary afferent neurons in the rat. *Neuroscience*, *1*(2), 131-124.
- Hudson, L. J., Bevan, S., Wotherspoon, G., Gentry, C., Fox, A., & Winter, J. (2001). VR1 protein expression increases in undamaged DRG neurons after partial nerve injury. *European Journal of Neuroscience*, *13*(11), 2105-2114.
- Imhof, A. K., Glück, L., Gajda, M., Lupp, A., Bräuer, R., Schaible, H. G., & Schulz, S. (2011). Differential antiinflammatory and antinociceptive effects of the somatostatin analogs octreotide and pasireotide in a mouse model of immune-mediated arthritis. *Arthritis & Rheumatism*, *63*(8), 2352-2362.
- Ito, S., Okuda-Ashitaka, E., & Minami, T. (2001). Central and peripheral roles of prostaglandins in pain and their interactions with novel neuropeptides nociceptin and nocistatin. *Neuroscience research*, *41*(4), 299-332.
- Ji, R.-R., Zhang, X., Wiesenfeld-Hallin, Z., & Hökfelt, T. (1994). Expression of neuropeptide Y and neuropeptide Y (Y1) receptor mRNA in rat spinal cord and dorsal root ganglia following peripheral tissue inflammation. *The Journal of neuroscience*, *14*(11), 6423-6434.
- Ju, G., Hökfelt, T., Brodin, E., Fahrenkrug, J., Fischer, J., Frey, P., Brown, J. (1987). Primary sensory neurons of the rat showing calcitonin gene-related peptide immunoreactivity and their relation to substance P-, somatostatin-, galanin-, vasoactive intestinal polypeptide- and cholecystokinin-immunoreactive ganglion cells. *Cell and tissue research*, *247*(2), 417-431.
- Jung, R. E., Gasparovic, C., Chavez, R. S., Flores, R. A., Smith, S. M., Caprihan, A., & Yeo, R. A. (2009). Biochemical support for the "threshold" theory of creativity: a magnetic resonance spectroscopy study. *The Journal of neuroscience*, *29*(16), 5319-5325.
- Kai-Kai, M. (1989). Cytochemistry of the trigeminal and dorsal root ganglia and spinal cord of the rat. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, *93*(1), 183-193.
- Kandhare, A. D., Raygude, K. S., Ghosh, P., Ghule, A. E., & Bodhankar, S. L. (2012). Neuroprotective effect of naringin by modulation of endogenous biomarkers in streptozotocin induced painful diabetic neuropathy. *Fitoterapia*, *83*(4), 650-659.
- Kashiba, H., Ueda, Y., & Senba, E. (1996). Coexpression of preprotachykinin-A, α -calcitonin gene-related peptide, somatostatin, and neurotrophin receptor family messenger RNAs in rat dorsal root ganglion neurons. *Neuroscience*, *70*(1), 179-189.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM EDİYOR)

- Kayser, V., Elfassi, I. E., Aubel, B., Melfort, M., Julius, D., Gingrich, J. A., . . . Bourgoin, S. (2007). Mechanical, thermal and formalin-induced nociception is differentially altered in 5-HT 1A-/-, 5-HT 1B-/-, 5-HT 2A-/-, 5-HT 3A-/- and 5-HTT-/- knock-out male mice. *Pain*, 130(3), 235-248.
- Kim E. Barret, Susan M. Barman, Scott Boitano, & Brooks, H. L. (2011). *Ganong'un Tıbbi Fizyolojisi* (Vol. 23). İSTANBUL: Nobel Tıp Kitabevleri.
- Kuncová, J., Švíglerová, J., Tonar, Z., & Slavíková, J. (2005). Heterogenous changes in neuropeptide Y, norepinephrine and epinephrine concentrations in the hearts of diabetic rats. *Autonomic Neuroscience*, 121(1), 7-15.
- Kunt, T., Forst, T., Schmidt, S., Pfützner, A., Schneider, S., Harzer, O., Pohlmann, T. (1999). Serum levels of substance P are decreased in patients with type 1 diabetes. *Experimental and clinical endocrinology & diabetes: official journal, German Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association*, 108(3), 164-167.
- Lauria, G., Morbin, M., Lombardi, R., Capobianco, R., Camozzi, F., Pareyson, D., Geppetti, P. (2006). Expression of capsaicin receptor immunoreactivity in human peripheral nervous system and in painful neuropathies. *Journal of the Peripheral Nervous System*, 11(3), 262-271.
- Lawson, S. (1995). Neuropeptides in morphologically and functionally identified primary afferent neurons in dorsal root ganglia: substance P, CGRP and somatostatin. *Neuropeptides in the Spinal Cord*, 104(1131), 161.
- Lee, S. E., & Kim, J.-H. (2007). Involvement of substance P and calcitonin gene-related peptide in development and maintenance of neuropathic pain from spinal nerve injury model of rat. *Neuroscience research*, 58(3), 245-249.
- Leslie P. Gartner, & Hiatt, J. L. (2016). *Hücre Biyolojisi ve Histoloji* (Vol. 1). İSTANBUL: İstanbul Medikal Sağlık ve Yayıncılık Hiz. Tic. Ltd. Şti.
- Li, T.-C., Shiah, I.-S., Sun, C.-J., Tzang, R.-F., Huang, K.-C., & Lee, W.-K. (2011). Mirtazapine relieves post-electroconvulsive therapy headaches and nausea: a case series and review of the literature. *The journal of ECT*, 27(2), 165-167.
- Ling, Q., Liu, M., Wu, M.-X., Xu, Y., Yang, J., Huang, H.-H., & Yu, C.-X. (2014). Anti-allodynic and neuroprotective effects of koumine, a Benth alkaloid, in a rat model of diabetic neuropathy. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 37(5), 858-864.
- Lingueglia, E. (2007). Acid-sensing ion channels in sensory perception. *Journal of Biological Chemistry*, 282(24), 17325-17329.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM EDİYOR)

- Liu, X., Zhang, G., Dong, L., Wang, X., Sun, H., Shen, J., Xu, J. (2013). Repeated administration of mirtazapine attenuates oxaliplatin-induced mechanical allodynia and spinal NR2B up-regulation in rats. *Neurochemical research*, 38(9), 1973-1979.
- Mamet, J., Baron, A., Lazdunski, M., & Voilley, N. (2002). Proinflammatory mediators, stimulators of sensory neuron excitability via the expression of acid-sensing ion channels. *The Journal of neuroscience*, 22(24), 10662-10670.
- Mantyh, P. W., Rogers, S. D., Honore, P., Allen, B. J., Ghilardi, J. R., Li, J., Simone, D. A. (1997). Inhibition of hyperalgesia by ablation of lamina I spinal neurons expressing the substance P receptor. *Science*, 278(5336), 275-279.
- Mashaghi, A., Marmalidou, A., Tehrani, M., Grace, P. M., Pothoulakis, C., & Dana, R. (2016). Neuropeptide substance P and the immune response. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 73(22), 4249-4264.
- Michael H. Ross, & Pawlina, W. (2013). Histoloji konu anlatımı ve atlas. In B. Baykal (Ed.), (Vol. 6). ANKARA: Palme Yayın, Dağıtım, Pazarlama, İç ve Dış Ticaret Ltd. Şti.
- Mika, J., Zychowska, M., Makuch, W., Rojewska, E., & Przewlocka, B. (2013). Neuronal and immunological basis of action of antidepressants in chronic pain—clinical and experimental studies. *Pharmacological Reports*, 65(6), 1611-1621.
- Mollenholt, P., Rawal, N., Gordh Jr, T., & Olsson, Y. (1994). Intrathecal and epidural somatostatin for patients with cancer. Analgesic effects and postmortem neuropathologic investigations of spinal cord and nerve roots. *Anesthesiology*, 81(3), 534-542.
- Morris, D. W., Trivedi, M. H., Fava, M., Wisniewski, S. R., Balasubramani, G., Khan, A. Y., Rush, A. J. (2009). Diurnal mood variation in outpatients with major depressive disorder. *Depression and anxiety*, 26(9), 851-863.
- Nadeson, R., & Goodchild, C. (2002). Antinociceptive role of 5-HT1A receptors in rat spinal cord. *British journal of anaesthesia*, 88(5), 679-684.
- Namaka, M., Gramlich, C. R., Ruhlen, D., Melanson, M., Sutton, I., & Major, J. (2004). A treatment algorithm for neuropathic pain. *Clinical therapeutics*, 26(7), 951-979.
- Nilius, B., Owsianik, G., Voets, T., & Peters, J. A. (2007). Transient receptor potential cation channels in disease. *Physiological reviews*, 87(1), 165-217.
- Nitanda, A., Yasunami, N., Tokumo, K., Fujii, H., Hirai, T., & Nishio, H. (2005). Contribution of the peripheral 5-HT 2A receptor to mechanical

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM EDİYOR)

- hyperalgesia in a rat model of neuropathic pain. *Neurochemistry international*, 47(6), 394-400.
- Noguchi, K., Dubner, R., De Leon, M., Senba, E., & Ruda, M. (1994). Axotomy induces preprotachykinin gene expression in a subpopulation of dorsal root ganglion neurons. *Journal of neuroscience research*, 37(5), 596-603.
- Ohtori, S., Takahashi, K., Ino, H., Chiba, T., Yamagata, M., Sameda, H., & Moriya, H. (2002). Up-regulation of substance P and NMDA receptor mRNA in dorsal horn and preganglionic sympathetic neurons during adjuvant-induced noxious stimulation in rats. *Annals of Anatomy-Anatomischer Anzeiger*, 184(1), 71-76.
- Olcese, J. (1991). Neuropeptide Y: an endogenous inhibitor of norepinephrine-stimulated melatonin secretion in the rat pineal gland. *Journal of neurochemistry*, 57(3), 943-947.
- Pabbidi, R. M., Yu, S.-Q., Peng, S., Khardori, R., Pauza, M. E., & Premkumar, L. S. (2008). Influence of TRPV1 on diabetes-induced alterations in thermal pain sensitivity. *Molecular pain*, 4(1), 9.
- Pedersen, L. H., Nielsen, A. N., & Blackburn-Munro, G. (2005). Antinociception is selectively enhanced by parallel inhibition of multiple subtypes of monoamine transporters in rat models of persistent and neuropathic pain. *Psychopharmacology*, 182(4), 551-561.
- Peltier, A., Goutman, S. A., & Callaghan, B. C. (2014). Painful diabetic neuropathy. *Bmj*, 348, g1799.
- Premkumar, L. S., & Ahern, G. P. (2000). Induction of vanilloid receptor channel activity by protein kinase C. *Nature*, 408(6815), 985-990.
- Proudlock, F., Spike, R., & Todd, A. (1993). Immunocytochemical study of somatostatin, neurotensin, GABA, and glycine in rat spinal dorsal horn. *Journal of Comparative Neurology*, 327(2), 289-297.
- Radu, B. M., Dumitrescu, D. I., Marin, A., Banciu, D. D., Iancu, A. D., Selescu, T., & Radu, M. (2014). Advanced type 1 diabetes is associated with ASIC alterations in mouse lower thoracic dorsal root ganglia neurons. *Cell biochemistry and biophysics*, 68(1), 9-23.
- Randall, L. O. (1957). A method for measurement of analgesic activity on inflamed tissue. *Arch Int Pharmacodyn*, 111, 409-419.
- Rasband, M. N., Park, E. W., Vanderah, T. W., Lai, J., Porreca, F., & Trimmer, J. S. (2001). Distinct potassium channels on pain-sensing neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(23), 13373-13378.
- Rasmussen, P. V., Sindrup, S. H., Jensen, T. S., & Bach, F. W. (2004). Symptoms and signs in patients with suspected neuropathic pain. *Pain*, 110(1), 461-469.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM EDİYOR)

- Romanelli, P., & Esposito, V. (2004). The functional anatomy of neuropathic pain. *Neurosurgery Clinics of North America*, 15(3), 257-268.
- Rowbotham, M. C., Twilling, L., Davies, P. S., Reisner, L., Taylor, K., & Mohr, D. (2003). Oral opioid therapy for chronic peripheral and central neuropathic pain. *New England Journal of Medicine*, 348(13), 1223-1232.
- Ruan, H., Li, X., & Cai, W. (1997). [Somatostatin inhibited pain modulation action of substance P in spinal cord]. *Sheng li xue bao:[Acta physiologica Sinica]*, 49(1), 13-17.
- Ruigt, G., Engelen, S., Gerrits, A., & Verbon, F. (1993). Computer-based prediction of psychotropic drug classes based on a discriminant analysis of drug effects on rat sleep. *Neuropsychobiology*, 28(3), 138-153.
- Sadler, T. W. (2014). Langman Medikal Embriyoloji. In C. Başaklar (Ed.), (Vol. 11). ANKARA: Palme Yayıncılık.
- Sawynok, J., Esser, M. J., & Reid, A. R. (2001). Antidepressants as analgesics: an overview of central and peripheral mechanisms of action. *Journal of Psychiatry and Neuroscience*, 26(1), 21.
- Schäfers, M., Sorkin, L., Geis, C., & Shubayev, V. (2003). Spinal nerve ligation induces transient upregulation of tumor necrosis factor receptors 1 and 2 in injured and adjacent uninjured dorsal root ganglia in the rat. *Neuroscience letters*, 347(3), 179-182.
- Schreiber, S., Rigai, T., Katz, Y., & Pick, C. G. (2002). The antinociceptive effect of mirtazapine in mice is mediated through serotonergic, noradrenergic and opioid mechanisms. *Brain research bulletin*, 58(6), 601-605.
- Schuelert, N., Just, S., Kuelzer, R., Corradini, L., Gorham, L. C., & Doods, H. (2015). The somatostatin receptor 4 agonist J-2156 reduces mechanosensitivity of peripheral nerve afferents and spinal neurons in an inflammatory pain model. *European journal of pharmacology*, 746, 274-281.
- Shi, T.-J. S., Xiang, Q., Zhang, M.-D., Barde, S., Kai-Larsen, Y., Fried, K., . . . Zvyagin, A. V. (2014). Somatostatin and its 2A receptor in dorsal root ganglia and dorsal horn of mouse and human: expression, trafficking and possible role in pain. *Molecular pain*, 10(1), 1.
- Shirayama, Y., Mitsushio, H., Takashima, M., Ichikawa, H., & Takahashi, K. (1996). Reduction of substance P after chronic antidepressants treatment in the striatum, substantia nigra and amygdala of the rat. *Brain research*, 739(1), 70-78.
- Sindrup, S. H., Otto, M., Finnerup, N. B., & Jensen, T. S. (2005). Antidepressants in the treatment of neuropathic pain. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*, 96(6), 399-409.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM EDİYOR)

- Sommer, C., & Kress, M. (2004). Recent findings on how proinflammatory cytokines cause pain: peripheral mechanisms in inflammatory and neuropathic hyperalgesia. *Neuroscience letters*, 361(1), 184-187.
- Sun, W., Miao, B., Wang, X.-C., Duan, J.-H., Wang, W.-T., Kuang, F., Song, X.-J. (2012). Reduced conduction failure of the main axon of polymodal nociceptive C-fibres contributes to painful diabetic neuropathy in rats. *Brain*, 135(2), 359-375.
- Sun, W., Miao, B., Wang, X.-C., Duan, J.-H., Ye, X., Han, W.-J., Hu, S.-J. (2012). Gastrodin inhibits allodynia and hyperalgesia in painful diabetic neuropathy rats by decreasing excitability of nociceptive primary sensory neurons. *PLoS one*, 7(6), e39647.
- Tan, E. (2009). Nöropatik Ağrı (Vol. 1). ANKARA: Nobel Tıp Kitabecileri Ltd. Şti.
- Taner, D. (2014). *Fonksiyonel Nöroanatomi* (Vol. 13). ANKARA: ODTÜ Geliştirmek Vakfı Yayıncılık ve İletişim A.Ş.
- Taylor, B. K., Fu, W., Kuphal, K. E., Stiller, C.-O., Winter, M. K., Chen, W., Marvizon, J. C. (2014). Inflammation enhances Y1 receptor signaling, neuropeptide Y-mediated inhibition of hyperalgesia, and substance P release from primary afferent neurons. *Neuroscience*, 256, 178-194.
- Theobald, D. E., Kirsh, K. L., Holtsclaw, E., Donaghy, K., & Passik, S. D. (2002). An open-label, crossover trial of mirtazapine (15 and 30 mg) in cancer patients with pain and other distressing symptoms. *Journal of pain and symptom management*, 23(5), 442-447.
- Ueda, H. (2006). Molecular mechanisms of neuropathic pain-phenotypic switch and initiation mechanisms. *Pharmacology & therapeutics*, 109(1), 57-77.
- Ugawa, S., Yamamoto, T., Ueda, T., Ishida, Y., Inagaki, A., Nishigaki, M., & Shimada, S. (2003). Amiloride-insensitive currents of the acid-sensing ion channel-2a (ASIC2a)/ASIC2b heteromeric sour-taste receptor channel. *The Journal of neuroscience*, 23(9), 3616-3622.
- Uzbay, I. (2007). Nöropsikofarmakoloji: Rasyonel ilaç kullanımı. *İstanbul, Yorum Yayıncılık-İstanbul Tıp Kitabevi*, 81-99.
- Üçel, U. İ., Can, Ö. D., Özkay, Ü. D., & Öztürk, Y. (2015). Antihyperalgesic and antiallodynic effects of mianserin on diabetic neuropathic pain: A study on mechanism of action. *European journal of pharmacology*, 756, 92-106.
- Voilley, N., de Weille, J., Mamet, J., & Lazdunski, M. (2001). Nonsteroid anti-inflammatory drugs inhibit both the activity and the inflammation-induced expression of acid-sensing ion channels in nociceptors. *The Journal of neuroscience*, 21(20), 8026-8033.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM EDİYOR)

- Vranken, J. H. (2009). Mechanisms and treatment of neuropathic pain. *Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Central Nervous System Agents)*, 9(1), 71-78.
- Watanabe, M., Arima, H., Fukushima, K., Goto, M., Shimizu, H., Hayashi, M., Nagasaki, H. (2008). Direct and indirect modulation of neuropeptide Y gene expression in response to hypoglycemia in rat arcuate nucleus. *FEBS letters*, 582(25), 3632-3638.
- White, J. P., Cibelli, M., Fidalgo, A. R., Paule, C. C., Noormohamed, F., Urban, L., Nagy, I. (2010). Role of transient receptor potential and acid-sensing ion channels in peripheral inflammatory pain. *The Journal of the American Society of Anesthesiologists*, 112(3), 729-741.
- Wier, W. G., Zang, W. j., Lamont, C., & Raina, H. (2009). Sympathetic neurogenic Ca²⁺ signalling in rat arteries: ATP, noradrenaline and neuropeptide Y. *Experimental physiology*, 94(1), 31-37.
- Wu, L.-J., Duan, B., Mei, Y.-D., Gao, J., Chen, J.-G., Zhuo, M., Xu, T.-L. (2004). Characterization of acid-sensing ion channels in dorsal horn neurons of rat spinal cord. *Journal of Biological Chemistry*, 279(42), 43716-43724.
- Wu, Z., Yang, Q., Crook, R. J., O'Neil, R. G., & Walters, E. T. (2013). TRPV1 channels make major contributions to behavioral hypersensitivity and spontaneous activity in nociceptors after spinal cord injury. *Pain®*, 154(10), 2130-2141.
- Xu, X., Yang, X., Zhang, P., Chen, X., Liu, H., & Li, Z. (2012). Effects of exogenous galanin on neuropathic pain state and change of galanin and its receptors in DRG and SDH after sciatic nerve-pinch injury in rat. *PLoS one*, 7(5), e37621.
- Yasaka, T., Tiong, S. Y., Hughes, D. I., Riddell, J. S., & Todd, A. J. (2010). Populations of inhibitory and excitatory interneurons in lamina II of the adult rat spinal dorsal horn revealed by a combined electrophysiological and anatomical approach. *Pain®*, 151(2), 475-488.
- Yıldırım, M. (2014). *Temel Nöroanatomi* (Vol. 2). İSTANBUL: Nobel Tıp Kitabevleri Tic. Ltd. Şti.
- Yoon, C., Wook, Y. Y., Sik, N. H., Ho, K. S., & Mo, C. J. (1994). Behavioral signs of ongoing pain and cold allodynia in a rat model of neuropathic pain. *Pain*, 59(3), 369-376.
- Zha, X.-m. (2013). Acid-sensing ion channels: trafficking and synaptic function. *Molecular brain*, 6(1), 1.
- Zhang, N., & Oppenheim, J. J. (2005). Crosstalk between chemokines and neuronal receptors bridges immune and nervous systems. *Journal of leukocyte biology*, 78(6), 1210-1214.

Zhu, J., Wei, X., Feng, X., Song, J., Hu, Y., & Xu, J. (2008). Repeated administration of mirtazapine inhibits development of hyperalgesia/allodynia and activation of NF- κ B in a rat model of neuropathic pain. *Neuroscience letters*, 433(1), 33-37.

EKLER DİZİNİ



T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU (HADYEK)

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARI

TOPLANTI TARİHİ : 05. 06. 2014
TOPLANTI SAYISI : 71
DOSYA KAYIT NUMARASI : 405
KARAR NUMARASI : 405
ARAŞTIRMA YÜRÜTÜCÜSÜ : Yrd.Doç.Dr.Dilek Burukoğlu Dönmez
YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR : Prof. Dr. Cengiz BAYÇU
Doç. Dr. Devrim Özgür CAN
Arş. Gör. Ezgi BEKTUR
Arş. Gör. Erhan ŞAHİN

HAYVAN TÜRÜ ve SAYISI : Sprague-Dawley (50 adet erkek)

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim üyesi Yrd.Doç.Dr.Dilek Burukoğlu DÖNMEZ'in araştırma yürütücüsü olduğu 405//2014 kayıt numaralı ve "Diyabetik nöropatide mirtazapinin omurilik ve arka kök ganglionlarında bulunan iyon kanalları ve nöropeptidler üzerine etkisi" konulu çalışma; Deneysel Hayvanlar Etik Kurulu Yönergesi'ne göre değerlendirilmiş ve gerekçede belirtildiği şekilde yapılması kabul edilerek onaylanmasına karar verilmiştir.

Prof. Dr. Kevser EROL (Başkan)

Prof. Dr. Kubilay UZUNER (Üye)

Prof. Dr. Hasan Y. GÜNEŞ (Üye)

Prof. Dr. Emel ULUPINAR. (Üye)

Doç. Dr. Engin YILDIRIM (Üye)

Yrd. Doç. Dr. Ünal ÖZELMAS (Üye)

Yrd.Doç.Dr.Nurda KIRIMLIOĞLU (Üye)

Vet.Hek .Yrd.Doç.Dr.Oya ERALP İNAN (Üye)

Vet. Hek. Refik ARTAN (Üye)

Avukat Şükrü KIRDEMİR (Üye)

Adres: Meşelik Kampüsü 26480 Eskişehir
Telefon: 0 222 239 29 79 / (45 63)

ÖZGEÇMİŞ

Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı : Nuriye Ezgi BEKTUR
Doğum tarihi ve yeri : 31.10.1987- ANKARA
Uyruğu : T.C.
Medeni durumu : Bekar
İletişim adresleri :ESOGÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AbD.

Eğitim Durumu

(Tarih sırasına göre eskiden yeniye doğru ilköğretim, lise, üniversite, yabancı dil / diller) :

2002: İzzet Latif Aras İlköğretim Okulu

2005: Sokullu Mehmet Paşa Lisesi

2009: Gazi Üniversitesi İlköğretim Bölümü Fen Bilgisi Eğitimi Anabilim Dalı

2012: Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı (Yüksek Lisans)

2017: Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı (Doktora)

Mesleki Deneyim

1 Aralık 2010- Halen: Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı (Araştırma Görevlisi)

Üye Olunan Bilimsel Kuruluşlar:

Türk Histoloji ve Embriyoloji Derneği

Yayınlar

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler:

1. Repic Tihana, Madirazza Katarina, BEKTUR NURİYE EZGI, Sapunar Damir (2016). Characterization of dorsal root ganglion neurons cultured on silicon micro pillar substrates. Scientific Reports, 6, 39560, Doi: 10.1038/srep39560 (Yayın No: 2981199)

2. Burukoglu Dönmez Dilek, Bayçu Cengiz, Taplamacioğlu Fulya, Sahin Erhan, Bektur Nuriye Ezgi (2016). Effects of nonsteroidal anti inflammatory meloxicam on stomach kidney and liver of rats. Toxicology and Industrial Health, 32(6), 980-986., Doi: 10.1177/0748233714538484 (Yayın No: 1706195)

3. Sahin Erhan, Bayçu Cengiz, Koparal Ayse Tansu, Burukoğlu Dönmez Dilek, Bektur, Nuriye Ezgi (2016). Resveratrol reduces IL 6 and VEGF secretion from co cultured A549 lung cancer cells and adipose derived mesenchymal stem cells. Tumor Biology, 37(6), 7573-7582., Doi: 10.1007/s13277-015-4643-0 (Yayın No: 1706248)

4. Bektur Nuriye Ezgi, Sahin Erhan, Ünver Gönül, Bayçu Cengiz (2016). Protective effects of silymarin against acetaminophen induced hepatotoxicity and nephrotoxicity in mice. Toxicology and Industrial Health, 32(4), 589-600., Doi: 10.1177/0748233713502841 (Yayın No: 510252)

5. Özbek Zühtü, Aydın Hasan Emre, Koçman Atacan Emre, Özkara Emre, Sahin Erhan, Bektur Nuriye Ezgi, Vural Murat, Köse Aydan Ayse, Arslantas Alı, Bayçu Cengiz (2016). Neuroprotective effect of genistein in peripheral nerve injury. Turkish Neurosurgery, Doi: 10.5137/1019-5149.JTN.18549-16.1 (Yayın No: 3497046)

6. Aydın Hasan Emre, Bektur Nuriye Ezgi, Özbek Zühtü, Öner Kevser Setenay, Bayçu Cengiz, Kılıç Fatma Sultan (2016). Comparison Of The Effects And Mechanism Of The Curcumin With Different Acting Drugs In Experimental Vasospasm After Subarachnoid Hemorrhage. Turkish Neurosurgery, Doi: 10.5137/1019-5149.Jtn.17432-16.2 (Yayın No: 3496969)

B. Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında (proceedings) basılan bildiriler :

1. Bektur Nuriye Ezgi, Sahin Erhan, Bayçu Cengiz (2016). The Effects Of Mirtrazapine On Diabetic Nephropathy. 1st International Cell Death Research Congress (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:2812554)

2. Bektur Nuriye Ezgi, Sahin Erhan, Burukoglu Dönmez Dilek, Bayçu Cengiz (2015). Mirtazapine Affects The Ion Channels And Neuropeptides Levels In Diabetic Neuropathy. XXIV International Symposium On Morphological Sciences, 9(2), 111-111. (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:1706276)

3. Aydın Hasan Emre, Bektur Nuriye Ezgi, Bayçu Cengiz, Kılıç Fatma Sultan (2014). The Effects And Mechanisms Of Curcumin On Vasospasm Induced By Subarachnoid Hemorrhage In Rats. 17th World Congress Of Basic And Clinical Pharmacology, 1(1), 217-218. (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:1706473)

D. Ulusal Hakemli Dergilerde Yayımlanan Makaleler :

1. Sahin Erhan, Bayçu Cengiz, Koparal Ayse Tansu, Burukoglu Dönmez Dilek, Bektur Nuriye Ezgi (2015). Mezensimal Kök Hücre Sitokinlerinin Kansere Hücreleri Üzerine Olumsuz Etkileri. Osmangazi Tıp Dergisi, 37(3), 7-12. (Kontrol No: 1976275)

E. Ulusal Bilimsel Toplantılarda Sunulan Ve Bildiri Kitaplarında Basılan Bildiriler:

1. Bektur Nuriye Ezgi, Sahin Erhan, Burukoglu Dönmez Dilek, Bayçu Cengiz (2016). Long Term Administration Of Tamoxifen S Effect On The Heart Tissue. 17. Ulusal Anatomik Kongresi (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:2885211)

2. Bektur Nuriye Ezgi,Sahin Erhan,Demir Özkay Ümide,Can Özgür Devrim,Bayçu Cengiz (2016). Mirtazapine S Effect On Appetite Metabolism İn Diabetic Liver. 17. Ulusal Anatomi Kongresi (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:2885214)
3. Bektur Nuriye Ezgi,Sahin Erhan,Demir Özkay Ümide,Can Özgür Devrim,Bayçu Cengiz (2016). Diyabetik Sıçan Beyinlerinde Leptin Ekspresyonu. 17. Ulusal Anatomi Kongresi (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:2885215)
4. Bektur Nuriye Ezgi,Sahin Erhan,Bayçu Cengiz (2016). Diyabetik Beyincik Üzerine Mirtazapin Ve Pregabalin İn Etkileri. 14. Ulusal Sinirbilim Kongresi (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:2824171)
5. Sahin Erhan,Bayçu Cengiz,Koparal Ayse Tansu,Burukoglu Dönmez Dilek,Bektur Nuriye Ezgi (2016). Resveratrol Ortak Kültüre Edilmiş A549 Akciger Kanser Hücreleri Ve Yag Doku Kaynaklı Mezensimal Kök Hücrelerde Il 6 Ve Vegf Salınımını Azaltmaktadır. 13. Ulusal Histoloji Ve Embriyoloji Kongresi (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:2812573)
6. Bektur Nuriye Ezgi,Sahin Erhan,Burukoglu Dönmez Dilek,Bayçu Cengiz,Kaygısız Bilgin (2016). Deneysel Olarak Olusturulmuş Hipotiroid Hipertiroid Ve Ötroid Modellerinde Miyokardiyal Yag Asidi Metabolizması İle İnflamasyon Arasındaki İlişkinin İncelenmesi. 13. Ulusal Histoloji Ve Embriyoloji Kongresi (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:2812564)
7. Özcan Öykü,Bektur Nuriye Ezgi,Sahin Erhan,Bayçu Cengiz (2016). Mirtazapin İn Diyabetik Karaciger Üzerine Etkisi. 13. Ulusal Histoloji Ve Embriyoloji Kongresi (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:2812558)
8. Aydın Hasan Emre,Bektur Nuriye Ezgi,Bayçu Cengiz,Kılıç Fatma Sultan (2013). Sıçanlarda Curcuminin Subaraknoid Kanamaya Bağlı Olusan Vazospazm Üzerine Etkisi Ve Mekanizmalarının Aydınlatılması. 22. Ulusal Farmakoloji Kongresi (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:1733156)

Bilimsel Etkinlikler

Burslar :
Tubitak 2211- AYurt içi Doktora Burs Programı

Projeler :

1. Diyabetik nöropatide mirtazapin in omurilik ve arka kök gangliyonlarında bulunan iyon kanalları ve nöropeptidler üzerine etkisi, Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi, Arastirmacı, 21/08/2014 - 25/12/2015 (ULUSAL)
2. Sıçanlarda siyatik sinir yaralanması sonrası gabapentin ve genisteinin nöroprotektif etkilerinin araştırılması, Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi, Arastirmacı, 26/01/2015 - 25/11/2016 (ULUSAL)

3. A549 Kanser Hücreleri İnsan Küçük Hücreli Olmayan Akciger Kanser Hücresi Üzerinde Resveratrol İle Muamele Edilmiş Yağ Doku Kaynaklı Mezansimal Kök Hücre Sitokinlerinin Etkileri, Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi, Araştırmacı, , 26/03/2014 - 25/12/2015 (ULUSAL)

4. Deneysel Olarak Oluşturulmuş Hipotiroid Hipertiroid ve ötroid Modellerinde Miyokardiyal Yağ Asidi Metabolizması ile İnflamasyon Arasındaki İlişkinin İncelenmesi, Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi, Araştırmacı, , 17/03/2014 - 24/06/2016 (ULUSAL)

5. Streptozotosin (Stz) ile Diyabet Oluşturulmuş Sıçanlarda Kuersetin'in Testis Dokusuna Etkisi, Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi, Araştırmacı, 16/06/2016 -10/04/2017 (ULUSAL)

6. Sıçanlarda Vazospazm Çözücü İlaçların Etkilerinin Deneysel Nöroendovasküler Yöntemler Kullanılarak Karotid Arter Üzerinde Gösterilmesi, Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi, Araştırmacı, , 07/01/2014 - 31/07/2015 (ULUSAL)

7. Sıçanlarda Curcumin in Subaraknoid Kanamaya SAK Bağlı Olan Vazospazm ve Anksiyeteye Etkisinin ve Bunun Mekanizmalarının İncelenmesi, Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi, Araştırmacı, , 03/03/2013 - 18/04/2014 (ULUSAL)

Kurslar ve Eğitim Programları :

28-30 Kasım, 1-2 Aralık 2016: Eğitim Becerileri Kursu (Eskişehir Osmangazi Üniversitesi).

13-15 Kasım 2016: Progleme Dayalı Öğrenim Kursu (Eskişehir Osmangazi Üniversitesi).

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince BİDEB-2211A Yurt içi Doktora Burs Programı kapsamında destek veren Türkiye Bilimsel Ve Teknolojik Araştırma Kurumu'na (TUBİTAK) teşekkür ederim.