



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**AKUT İNFLAMATUAR AĞRI
DUYARLILIĞININ WAG/RİJ EPİLEPTİK
SIÇANLARDA DAVRANIŞSAL VE
MOLEKÜLER MEKANİZMALARLA
İNCELENMESİ**

Eda Nur SARAL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Prof. Dr. Ahmet AYAR

TRABZON-2020



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**AKUT İNFLAMATUAR AĞRI
DUYARLILIĞININ WAG/RİJ EPİLEPTİK
SIÇANLARDA DAVRANIŞSAL VE
MOLEKÜLER MEKANİZMALARLA
İNCELENMESİ**

Eda Nur SARAL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Prof. Dr. Ahmet AYAR

TRABZON-2020

BEYAN

Bu tez çalışmasının Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Hazırlama ve Yazım Kılavuzu standartlarına uygun olarak hazırlanarak yazıldığını, tezin akademik ve etik kurallara bağlı kalınarak gerçekleştirilmiş özgün bir bilimsel araştırma eserim olduğunu, tezde yer alan ve bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve kullanılan kaynakların kaynaklar listesinde yer aldığını, tezin çalışılması ve yazımı aşamalarında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

16/01/2020
Eda Nur SARAL

İthaf

Tüm yaşamım boyunca varlıklarıyla bana güç veren, sevgilerini, anlayışlarını ve desteklerini her koşulda gösteren babacığım, anneciğim, kardeşlerim ve dostlarım iyi ki varsınız. Siz bana verilen en güzel armağansınız. Bu yüksek lisans tez çalışmamı onlara ithaf ediyorum

TEŞEKKÜR

İlk yüksek lisans öğrencisi olarak kendisiyle çalışabilme avantajına sahip olduğum, bu çalışmada bana yön veren her konuda benden bilgisini deneyimini ve yardımlarını esirgemeyen, birlikte çalışmaktan onur duyduğum, başta sevgili tez danışman hocam Prof. Dr. Ahmet AYAR’a

Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı’nda almış olduğum yüksek lisans eğitimi boyunca, eğitimimde katkıları bulunan değerli hocalarım, Doç. Dr. Mukadder OKUYAN, Dr. Öğr. Üyesi Zafer ŞAHİN, Dr. Öğr. Üyesi Ömer Faruk KALKAN’a

Sağlık Bilimleri Enstitüsü’ne ve adını sayamadığım Fizyoloji Anabilim Dalı’ndaki tüm çalışma arkadaşlarıma,

Tez sürecim boyunca sıkıntıya düştüğüm ve stresli olduğum her anda bana güç veren, beni sakinleştiren ve yardımlarını hiç esirgemeyen çok değerli dostlarıma,

Yaşamım boyunca beni koşulsuz seven ve destekleyen, yaptıkları fedakarlıklar ve aşıladıkları değerler ile bugünlere gelmemi sağlayan ve bu araştırmada bana destek olan hayatımın her aşamasında yılmadan yol almamı sağlayan babam Yunus SARAL ve annem Ayşe SARAL’a, umutlarım tükendiğinde bile bana güvenen ve her konuda sonsuz desteklerini hiç esirgemeyen kardeşlerim Elif Nur SARAL, Hilal SARAL ve Zeynep SARAL’a beni ben yaptıkları için ömür boyu minnettar olacağım.

Bu yüksek lisans tezi çalışmasını, 1001 – TÜBİTAK – Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Projelerini Destekleme Programınca 214S206 numaralı ve “Epilepside Ağrı Duyarlılığının Genetik Absans Epilepsili Sıçanlar Kullanılarak in Vivo ve in Vitro İncelenmesi” başlıklı proje ile destekleyen TÜBİTAK’a teşekkür ederim.

Eda Nur SARAL

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇ KAPAK SAYFASI	
ONAY	
BEYAN	
İthaf	
TEŞEKKÜR	
İÇİNDEKİLER	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
RESİMLER DİZİNİ	xi
KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ	xii
ÖZET	xiv
ABSTRACT	xv
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Ağrı	5
2.2. Ağrının Tarihçesi	6
2.3. Ağrının Sınıflandırılması	7
2.3.1. Ağrının Başlama Süresine Göre Sınıflandırılması	8
2.3.1.1. Akut ağrı	8
2.3.1.2. Kronik ağrı	8
2.3.2. Ağrının Mekanizmalarına Göre Sınıflandırılması	9
2.3.2.1. Nosiseptif ağrı	9
2.3.2.2. Nöropatik ağrı	9
2.3.2.3. Deafferantasyon ağrısı	9
2.3.2.4. Reaktif ağrı	9
2.3.2.5. Psikosomatik ağrı (Psikojenik ağrı)	9
2.3.3. Ağrının Kaynaklandığı Bölgeye Göre Sınıflandırılması	10
2.3.3.1. Somatik ağrı	10
2.3.3.2. Visseral ağrı	10
2.3.3.3. Sempatik ağrı	10
2.3.3.4. Periferik ağrı	10

2.4. Ağrının Algılanması	10
2.5. Ağrının Nöroanatomisi ve Nörofizyolojisi	11
2.6. Epilepsi ve Ağrı	13
2.6.1. Deneysel Epilepsi Modelleri ve WAG/Rij Sıçanlar	14
2.7. İnflamatuvar ve Ağrı	15
2.8. Ağrı Yolağı	16
2.8.1. Ağrı Yolağı, Periferel Nosiseptörler ve İnflamtuvar Ağrı	17
3. GEREÇ ve YÖNTEM	23
3.1. Davranışsal Ağrı Testleri	23
3.1.1. In Vivo Termal Plantar Analjezimetre ile Ağrı Eşiğinin Belirlenmesi	23
3.1.2. Elektronik von Frey Testi ile Mekanik Ağrı Eşiğinin Belirlenmesi	24
3.2. RNA Analizi için Doku Örneği İzolasyonu	24
4. BULGULAR	26
4.1. İntraplantar Zimosan Enjeksiyonuna Bağlı İnflamasyon Gelişimi	26
4.2. İntraplantar Zimosan Enjeksiyonuna Bağlı İnflamasyon ve Hiperaleji Gelişimi	27
4.3. İntraplantar Zimosan Enjeksiyonuna Bağlı İnflamasyon Gelişiminin Ağrı İle Alakalı Periferel ve Santral Yapılarda Gen İfadesi üzerine Etkisi	29
4.3.1. Dorsal Kök Gangliyonunda Gen İfadesindeki Değişiklikler	29
4.3.2. Trigeminal Gangliyonunda Gen İfadesindeki Değişiklikler	30
4.3.3. Periakuaduktal Gri Bölgede Ağrıyla Alakalı Bazı Moleküllerin Gen İfadesindeki Değişiklikler	31
4.3.4. Retiküler Talamik Nukleus Dokusunda Ağrıyla Alakalı Bazı Moleküllerin Gen İfadesindeki Değişiklikler	32
4.3.5. Rostral Ventromedial Nukleus Dokusunda Ağrıyla Alakalı Bazı Moleküllerin Gen İfadesindeki Değişiklikler	33
4.3.6. Anterior Singulat Kotreks Dokusunda Ağrıyla Alakalı Bazı Moleküllerin Gen İfadesindeki Değişiklikler	34
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	36
6. KAYNAKLAR	45
EKLER	58
EK 1. Etik Kurulu Onayı	59



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Sayfa	
Şekil 1.	WAG/Rij sıçanlarda intraplantar zimosan uygulamasına bağlı termal ağrı duyarlılığı gelişiminin zaman bağımlı seyri	28
Şekil 2.	İntraplantar zimosan uygulamasına bağlı mekanik ağrı duyarlılığı gelişiminin zaman bağımlı seyri	29
Şekil 3.	Intraplantar zimosan enjeksiyonuyla periferel inflamasyon tetiklenmesinin sağlıklı Wistar ve WAG/Rij epileptik sıçanların dorsal kök gangliyonu dokusunda IL-1 beta, TRPV1, NMDA ve NK1 reseptörlerinin RT-PCR ile tayin edilmiş mRNA düzeylerine etkisi	30
Şekil 4.	Intraplantar zimosan enjeksiyonuyla periferel inflamasyon tetiklenmesinin sağlıklı Wistar ve WAG/Rij epileptik sıçanların trigeminal gangliyon dokusunda IL-1 beta, TRPV1, NMDA ve NK1 reseptörlerinin RT-PCR ile tayin edilmiş mRNA düzeylerine etkisi	31
Şekil 5.	Intraplantar zimosan enjeksiyonuyla periferel inflamasyon tetiklenmesinin sağlıklı Wistar ve WAG/Rij epileptik sıçanların periakvaduktal gri bölge dokusunda IL-1 beta, TRPV1, NMDA ve NK1 reseptörlerinin RT-PCR ile tayin edilmiş mRNA düzeylerine etkisi	32
Şekil 6.	Intraplantar zimosan enjeksiyonuyla periferel inflamasyon tetiklenmesinin sağlıklı Wistar ve WAG/Rij epileptik sıçanların retiküler talamik nukleus dokusunda IL-1 beta, TRPV1, NMDA ve NK1 reseptörlerinin RT-PCR ile tayin edilmiş mRNA düzeylerine etkisi	33
Şekil 7.	Intraplantar zimosan enjeksiyonuyla periferel inflamasyon tetiklenmesinin sağlıklı Wistar ve WAG/Rij epileptik sıçanların rostral ventromedial nukleus dokusunda IL-1 beta, TRPV1, NMDA ve NK1	

reseptörlerinin RT-PCR ile tayin edilmiş mRNA düzeylerine etkisi 34

Şekil 8. Intraplantar zimosan enjeksiyonuyla perifer al inflamasyon tetiklenmesinin sağlıklı Wistar ve WAG/Rij epileptik sıçanların anterior singulat korteks dokusunda IL-1 beta, TRPV1, NMDA ve NK1 reseptörlerinin RT-PCR ile tayin edilmiş mRNA düzeylerine etkisi

35



RESİMLER DİZİNİ

Resim No		Sayfa
Resim 1.	İntraplantar zimosan enjeksiyonu ile inflamasyon ve inflamatuvar ağrı tetiklenmesi	27

KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ

Kısaltmalar

ACC	Anterior singulat korteks
AP5	D-2-amino-5-fosfonopentanoik asit
CRGP	Kalsitonin geni ile ilgili peptit
DKG	Dorsal kök gangliyonu
GABA	Gama-aminobütirik asid
GAD	Glutamik asit dekarboksilaz
IASP	Uluslararası Ağrı Araştırmalar Teşkilatı
IL-1β	İnterlökin-1 β
LPS	Lipopolisakarit
LTP	Uzun süreli potansiasyon
MSS	Merkezi sinir sistemi
NGF	Sinir büyütme faktörü
NK1	Nörokinin 1
NMDA	N-metil-D-aspartat
NMDAR	NMDA reseptörleri
NRM	Nukleus rafe magnus
PAG	Periaqueduktal gri cevher
PKCγ	Protein kinaz C gama
PZR	Polimeraz zincir reaksiyonu
RVM	Rostral ventromedial medulla
RTN	Retiküler talamik çekirdek
TG	Trigeminal ganglion
TNFα	Tümör nekroz faktörü-alfa

TRPV1 Transient reseptör potansiyeli kanalı V1 ailesi

VR1 Vanilloid reseptör 1

WAG/Rij Wistar Albino Glaxo rats of Rijswijk

WDR Geniş dinamik alan

Simgeler

% Yüzde

mg Miligram

Formüller

NO Nitrik oksit

ÖZET

Akut İnflamatuar Ağrı Duyarlılığının WAG/Rij Epileptik Sıçanlarda Davranışsal ve Moleküler Mekanizmalarla İncelenmesi

Epilepsinin migren, nöropatik ağrı ve fibromiyalji gibi ağrılı sendromlarla yaygın birlikteliği, epilepside ağrı duyarlılığının değişip değişmediğine yönelik araştırmaları tetiklemiştir; ancak epilepside artmış ağrı duyarlılığının inflammatuar ağrıyı içerip içermediğine dair bir bilgi yoktur. Bu tez çalışmasının amacı absans epilepside akut inflammatuar ağrı duyarlılığı ve rol alan mekanizmaları incelemektir. Araştırmada, absans epilepsi için genetik hayvan modeli olan WAG/Rij (Wistar Albino Glaxo rats of Rijswijk) sıçanlar kullanılarak, arka pençe içine enjekte edilerek zimosanla periferel inflamasyon ve inflammatuar ağrı tetiklendi. Bu sıçanlarda akut ağrı duyarlılığı, bazal koşullarda ve inflamasyonun tetiklenmesinden sonra davranışsal ağrı testleri olarak termal ağrı duyarlılığı (termal plantar testi) ve mekanik ağrı duyarlılığı (elektronik von Frey testleri) testleri ile belirlendi. Davranışsal ağrı testlerinin ardından kurifiye edilen hayvanlarda periferel (dorsal kök gangliyonlar (DKG) ve trigeminal gangliyonlar (TG)) ve santral ağrı (retikuler talamik nukleus (RTN), rostral ventomedial medullar nukleus (RVMN), periaquaduktal gri cevher (PAG) ile anterior singulat korteks (ASK)) yollarında ağrı ile alakalı mediyatör ve reseptörlerine (Transient reseptör potansiyeli kanalı V1 (TRPV1), N-metil-D-aspartat reseptörü (NMDA NR), nörokinin 1 reseptörü (NK1) reseptör ve interlökin 1 beta (IL-1beta)) ait gen ifade düzeyleri gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu ile incelendi.

İnflamasyon tetiklenmesi hem ısı hem de mekanik ağrı eşiğini anlamlı derecede düşürdü. İnterlökin 1beta mRNA düzeyi DKG hariç örnek alınan bütün dokularda anlamlı düzeyde yüksek bulundu. TRPV1 düzeyi RVMN hariç bütün dokularda yüksek bulundu. NK1 reseptörü ise TG hariç bütün dokularda yüksek bulundu.

Bu tez araştırması sonucunda elde edilen bulgular epileptik WAG/Rij sıçanlarda periferel inflammatuar ağrının geliştiğini ortaya koymakta ancak bu artmış ağrı duyarlılığına periferel mi santral mekanizmaların mı daha önemli katkı sağladığını ortaya koyamamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Ağrı duyarlılığı, epilepsi, inflammatuar ağrı, TRP V1, zimosan

ABSTRACT

Investigation of Acute Inflammatory Pain Sensitivity Among WAG/Rij Epileptic Rats with Behavioral Tests and Molecular Mechanisms

The common comorbidities epilepsy with pain syndromes including migraine, neuropathic pain and fibromyalgia lead to investigations and discovery of altered pain sensitivity in epilepsy but there is no an information that whether the increased pain sensitivity in epilepsy involves inflammatory pain. The aim of this thesis study was to investigate the acute inflammatory pain sensitivity and its mechanisms in absence epilepsy. Genetic animal model of WAG/Rij rats with epileptic symptoms were used and peripheral inflammation was induced with intraplantar injection of zymosan to hind paw.

Acute pain sensitivity was determined at basal conditions and after induction of inflammation by using behavioral pain tests including the thermal pain sensitivity (thermal plantar test) and the mechanical pain sensitivity (electronic von Frey tests). Following behavioral pain tests, the pain related mediators and receptors (transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1), N-methyl-D-aspartate (NMDA R), neurokinin 1 receptor (NK1 receptor) and interleukin 1 beta (IL-1beta)) expression levels in peripheral (dorsal root (DRG) and trigeminal ganglia (TG)) and central pain pathways (reticular thalamic nucleus (RTN), rostral ventromedial medulla (RVMN), periaqueductal grey (PAG) matter and anterior cingulate cortex (ACC)) in the sacrificed animals was investigated by real time polymerase chain reaction.

Induction of inflammation caused as significant decrease in pain threshold in both heat and mechanical stimulated pain. Interleukin 1beta mRNA levels was higher in all tissues except in DRG. TRPV1 mRNA levels was higher in all tissue samples except in RVMN. NK1 receptor was higher in all tissues except TG.

The results obtained from this thesis study indicates that increased pain sensitivity was developed in WAG/Rij epileptic rats as a result of peripheral inflammation but does not clarify whether the mechanism of increased pain sensitivity result from mainly from central or peripheral mechanisms.

Key Words: Epilepsy, inflammatory pain, pain sensitivity, TRP V1, zymosan

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Uluslararası Ağrı Araştırmalar Teşkilatı'nın (International Association for the Study of Pain=IASP) tanımına göre ağrı; "Var olan veya olası doku hasarına eşlik eden veya bu hasar ile tanımlanabilen, hoşla gitmeyen duysal ve emosyonel deneyim" olarak bilinmektedir (1). Ağrı subjektif niteliğe sahip olup, yaş, cinsiyet ve koşullar dahilinde değişkenlik gösterebilen bir algılama şeklidir (2).

Ağrı, sağlıklı hali korumaya yönelik fizyolojik bir duyu olmasının yanında patolojik ağrı çok önemli bir sağlık problemidir. Patolojik ağrıya yönelik klinik semptomlarının farklı olması; ağrı duyusunun kişisel, psikolojik, sosyal ve kognitif boyutlarının olması ve ağrıya ateş, genel halsizlik ve başka hastalıkların da sıklıkla eşlik etmesi, henüz ideal başarı sağlanamamış ağrı tedavisinde patofizyolojinin hastalık temelli olarak daha iyi anlaşılması gerektiğini ortaya koymaktadır (3, 4). Epilepsi de ağrılı sendromların (migren vd,...) eşlik ettiği bir hastalıktır.

Doku harabiyetinin sebebi olan zararlı tehdide karşı önlem alınmasını sağlayan özelleşmiş sinir uçları (nosiseptörler) ile algılanan ağrının santral sinir sistemine iletilmesi ile meydana gelen elektrokimyasal olaylar dizisi nosisepsiyon olarak adlandırılır (1). Ağrı, düşük iletim hızına sahip olan C-polimodal nosiseptörler sınıfından olan miyelinsiz C lifleriyle ya da iletim hızı daha yüksek olan ve daha kalın miyelinize olan A delta liflerinin elektriksel aktivitesi ile meydana gelir (2).

Amerika Birleşik Devletleri'nde, kronik ağrı oranları tahmini olarak %15-64'e kadar değişmekte olup benzer şekildeki anketler, global olarak (%2-55) veya Avrupa'da (%5-33) yapıldığında kronik ağrı oranları geniş aralıklarda bulunmuştur (5).

Ağrı, insanlık tarihi kadar eski olup, hayatında neredeyse hiç ağrıyı tecrübe etmemiş bir insanoğlu bulunmamaktadır. Dünya genelinde büyük bir problem haline gelen kronik ağrı, büyük oranda iş günü kaybına ve bunun getirisi olarak da büyük maddi kayıplara sebep olmaktadır (6).

Ağrı mekanizmasının daha iyi anlaşılması ve potansiyel yeni ilaçların test edilmesi için idealde insan üzerinde gerçekleştirilen ağrı araştırmaları yapılması gerekir. Çünkü bu modeller hem türler arası fark nedeniyle etkinlik bakımından, hem yan tesir profilinin de eş zamanlı incelendiği hem de insan için olası yan tesirlere ait verilerin eş zamanlı olarak elde edilmesine imkan verir (4, 7).

Ancak, deneysel ağrı modelleri alakalı faktörlerin kontrol edilebildiği koşullarda ağrı mekanizmasının incelenmesi ve analjezik etkinliği test etmeye imkan sağlar. Standardize uyarılar (ör., mekanik, termal, elektriksel veya kimyasal) deriye, iç organlara, kaslara uygulanarak ağrının mekanizması irdelenebilir. Bu amaçla, spontan, mekanik, termal ve kimyasal akut, kronik, nöropatik ve inflamatuvar ağrı modelleri geliştirilmiştir. Bu modeller yeni ajanların özellikle doz aralığı, alakalı biyobelirteç geliştirilmesi ve yan tesir profili bakımından önemli bilgiler sunma potansiyelindedir ve başarı öyküleri de mevcuttur (8, 9).

Spinal nosiseptif aktiviteyi modüle eden inen mekanizmalarda çok önemli bir rol oynayan periaqueductal gri cevher (PAG), birçok beyin bölgesinden aldığı verilerle ana nöronal yolu uyararak aktifleştirir. Ana nöronal yollar da nukleus raphe magnusa (NRM) gider. Lifler spinal kord dorsolateral funikulus boyunca ilerleyip dorsal boynuz ara nöronları ile sinaps yapar. Bu sinapslar da serotonin ve ara nöronlar, spinotalamik nöronların gücünü yitirmelerine mani olurlar. NRM, nukleus retikularis paragigantosellularis yolu ile spinotalamik nöronlardan imput alarak inhibitör inisi sistemin düzenleyici bir geri bildirim mekanizmasını oluşturur. Böylelikle talamusa giden uyarıya göre dorsal boynuz kontrol edilmiş olur (2).

Migren baş ağrıları ve fibromiyalji dahil olmak üzere epizodik ağrı sendromları, epilepsili bireylerde sık görülen yandaş hastalıklardır. Beyin hipereksitabilitesinin, nöronal ağ fonksiyon bozukluğuna ve ağrının ortaya çıkmasına katkıda bulunduğu öne sürülmüştür. Epilepsinin karakteristik spontan nöbetleri, nöronal ağın uyarılabilirlik eşiğinin genellikle belirgin bir neden olmadan düşürülmesinden kaynaklanmaktadır. İnteriktal ve iktal ağrı duyarlılıklarının analizi, bu komorbid bozuklukların altında yatan ortak nörobiyolojik mekanizmalar hakkında fikir verebilir. Eğer ağrı hassasiyeti interiktal dönemde değişiyorsa, normal olarak sessiz kortikotalamik devrelerin bazı modifikasyonları önerilebilir, bu da fizyolojik tepkileri engeller. Yeterince istikrarlı kayıt koşulları elde etmede daha büyük teknik zorluklar nedeniyle, insanlar üzerinde ağrı hassasiyeti ile ilgili nispeten az sayıda çalışma vardır (10, 11).

Travma, cerrahi girişim, metabolik disfonksiyon, iskemi ve enfeksiyon gibi etmenlere bağlı gelişen doku hasarı kompleks hücrel cevaplara yol açar. İnflamasyon olarak bilinen bu duruma ağrı ve artmış ağrı duyarlılığı eşlik eder. Bu sürecin akut aşaması iyileşmeye de yardımcı olduğu için koruyucu role sahiptir ancak inflamasyon doku sağlığı

ve tamiri için gerekenden daha uzun da sürebilir. Uzamış inflamasyon organizmayı çok ciddi bir durumla yüzleştirir; ki bu durum kronik ağrılı durum, fonksiyon kaybı, morbidite ve hatta ölüme yol açabilir. İnflamatuar yanıtın kompleksliği hem tetikleyici faktörü (enfeksiyon, travma, cerrahi, kanser veya otoimmün) hem de bu yanıtta rol alan heterojen hücre tipleri olarak sinirler (primer duyuşal afferent sinirler: dorsal kök gangliyonu, trigeminal gangliyon ve spinal kord), non-nöronal hücreler (endotelial, keratinositler, epitel ve fibroblastlar) ve immün hücreler (12-14). Bazı patolojilerle alakalı inflamasyon zararlı olmayan uyarılara aşırı ağrılı reaksiyon olarak bilinen allodinia veya ağrılı uyarılara orantısız reaksiyonu ifade eden hiperaljeziye yol açar (15, 16).

Gen ifadesi, inflamatuvar ağrıda altta yatan mekanizmaları yansıtan önemli bir moleküler mekanizmadır, zira ağrı gelişimi ve kronikleşmesi esnasında nosisepsiyon/ağrı yolağında ağrı ile alakalı mediyatörlerin mRNA ve/veya protein düzeylerini aktif olarak değiştirir (15-18). Bu amaçla, bu tez çalışmasında ağrı yolağında yer alan anatomik yapılarda temel ağrı mediyatörlerinin gen ifade düzeyleri de incelenecektir.

Bu tez çalışmasında da absans epileptik sıçanlarda zimosanla tetiklenecek inflamatuvar ağrıda TRPV1 iyon kanalı/reseptör ifadesinin rol alıp almadığı hem perifer hem de santral ağrı iletim yollarında irdelendi. Bu tez çalışmasında kullanılan protokole benzer protokol ile epileptik olmayan farelerde gerçekleştirilen deneysel araştırmada, kasta indüklenen inflamasyonun tetiklediği termal ve mekanik ağrı duyarlılığı artışında TRPV1 iyon kanalı/reseptörlerinin anlamlı rol oynadığı tespit edilmiştir (19). Ancak, WAG/Rij sıçanlarda bu konuda bilgi mevcut değildir ve bu tez araştırmasına konu edilmiştir. Bu yönüyle TRPV1 antagonistleri inflamasyona bağlı hiperaljezi tedavisi için umut vaat etmektedir (20) ancak henüz yeterince etkin ve selektif bir ajan geliştirilememiştir. Ancak bazal koşullarda önemli fizyolojik rolleri (termoregülasyon, nörojenesis ve idrar kesesi fonksiyonu) olması nedeniyle TRP V1 antagonistlerinin ağrı dindirmek üzere genel bloğu rasyonalize edilmelidir ve diğer bütün anti-inflamatuar ajanlar gibi seçicilik dikkate alınmalıdır (21). Yani, bu tez çalışması ile epileptik hayvanlarda inflamatuvar ağrı duyarlılığında rol oynasa da çok seçici farmakolojik ajana ihtiyaç vardır. İnflamasyon sonucu aktive olan ve ağrı duyarlılığı artışına yol açan sitokin kaskadı da son derece kompleksir (22).

Bu tez çalışmasının amacı, absans epilepside inflamatuvar ağrı duyarlılığını incelemektir. Bu amaçla genetik olarak absans epilepsili WAG/Rij (Wistar albino Glaxo

rats of Rijswijk) sıçanlar kullanıldı ve pençe içine kimyasal ajan enjeksiyonu ile periferik inflamasyon tetiklenerek oluşturulan inflamatuvar ağrı modeli kullanıldı. Sıçanların arka ayak plantar yüzeyine zimosan enjekte edilmesiyle inflamatuvar ağrı oluşturulan ve in vivo nosiseptif davranış testleri ile ısıyla tetiklenen ("plantar test") ve mekanik ağrı (elektronik von Frey testi) duyarlılıkları belirlenmiştir.

Bu araştırma sonucunda elde edilen veriler absans epilepsi ile inflamatuvar ağrı arasındaki ilişkiyi daha iyi anlayabilmek için, inflamatuvar ağrı duyarlılığının epilepside nasıl değiştiğini anlamak ve gelecekte ağrı duyarlılığında santral ve periferik mekanizmaların rollerine yönelik literatüre katkıda bulunma potansiyeli olan veriler elde edildiğine inanılmaktadır.

Bu kapsamda termal ve mekanik ağrı duyarlılığı, davranışsal testlerle belirlendikten sonra, ağrı yolağında periferden (dorsal kök ve trigeminal gangliyonlar), santrale çıkıcı ve inisiyasyon yollarında yer alan önemli merkezlerde (retiküler talamik korteks, periaqueductal gri cevher, rostral ventromedial medulla ve anterior singulat korteks) inflamasyon belirteci (interlökin 1 beta) ve ağrı ile alakalı reseptör ve iyon kanalı (TRPV1, NMDA NR1, NK1 reseptörü) ifade düzeyleri gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyon (PZR) yöntemi ile belirlendi.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Ağrı

İlk Türkçe sözlük (XI. yüzyıl) olan Divan-ü-Lügat-it Türk adlı kitapta, ağrı olgusunu anlatmak için ağrımak ve ağrığ kelimeleri bulunmaktadır. Böylece ağrı kelimesinin Türkçe kökenli bir kelime olduğu anlaşılmaktadır. İngilizce’de ağrı anlamına gelen “pain” ceza anlamında olup eski Fransızca’dan İngilizce’ye geçmiştir. Asıl olarak Latince “poena” ve Grekçe “poine”’den türemiştir (23).

1979’da, Uluslararası Ağrı Araştırmalarının Teşkilatı (International Association for the Study of Pain=IASP), ağrıyı: “Gerçek veya potansiyel doku hasarı ile ilişkili veya böyle bir hasara ilişkin olarak tarif edilen tatsız bir duysal ve duygusal deneyim” olarak tanımlayarak hem evrensel bir tanım yapıldı hem de acının kendi başına çalışmaya değer bir konu olduğu konusunda çok önemli bir farkındalık yaratılmış oldu. Bu tanım Dünya Sağlık Örgütü tarafından da kabul edilerek yetkili olan geniş çevrelerce kabul görmüştür. Tanım, bize “her bireyin, erken yaşamda yaralanma ile ilgili deneyimler yoluyla kelimenin uygulamasını öğrendiğini” anlatmaya çalışmıştır (24).

Merskey ağrıyı; doku hasarı sonrasında oluşan, rahatsız edici duysal ve emosyonel tecrübe olarak tanımlamıştır. Esener için ağrı; doku hasarıyla birlikte ortaya çıkan, hoş olmayan bir algılama olup, hastanın doktora gitmesinin en önemli nedenlerinden biridir. Ertekin ise ağrıyı, bedenin bir köşesinden köken alan, hastayı rahatsız eden, panik ve kaçış davranışına sebep olan bir algılama şekli olarak tariflemiştir (23).

Hipokrat ağrıyı, sağlıklı bir bedendeki doğal denge durumunun bozulmasıyla meydana gelen durum olarak açıklamıştır. İbn-i Sina, ağrıyı “Bedene zararlı olanı hissetmektir” şeklinde tanımlar. İbn-i Sina, ağrıları 15 tipte toplamıştır; kazıyan, sertlik hissi veren, sıkıştırıcı, büzücü, kırıcı, yumuşak, delici, batıcı, uyuşturucu, darabanlı, ağırlık hissi veren, yoran ve yakıcı ağrılar. Leonardo da Vinci’ye göre; “Ağrı, dokunma duyusunun yoğunlaşmış bir uzantısıdır” (23).

Ağrı subjektif niteliğe sahip olup, yaş, cinsiyet ve koşullar dahilinde değişkenlik gösterebilen bir algılama şeklidir (2).

Ağrı, vücudun herhangi bir bölümünden köken alan hoş olmayan, canlıyı kaçma, çekme ve panik davranışına yönelten bir algılama şeklidir. Nosisepsiyon ise vücudun herhangi bir bölgesinde oluşan doku hasarından sonra, meydana gelen duyunun özelleşmiş

sinir uçları ile (nosiseptör) alınıp, santral sinir sistemine götürülmesidir. Başka bir deyişle, zararlı uyarının belirli bölge ve nöronal yapılarda düzenlenerek algılanması ve buna karşı gereken fizyolojik, biyosimik ve psikolojik önlemlerin harekete geçirilmesidir. Nosisepsiyon içinde bir algılama şekli olan ve ileri derecede sübjektif nitelik gösteren ağrı, canlıya ve içinde bulunduğu şartlara göre değişebilen bir algılama şeklidir. Ağrının yoğunluğu, tek başına olan uyarı dışındaki birçok faktörlerden etkilenir (2).

2.2. Ağrının Tarihçesi

Hekimlik mesleği, insanlar için ağrıyı azalttıkları veya ortadan kaldırmalarından ötürü yüzyıllar boyunca çok önemli bir meslek olarak görülmüştür. M.Ö.5. yüzyılda yaşayan Hipokrat “Ağrıyı dindirmek ilahi bir sanattır” diyerek hekimliğin kutsallığının ağrıyı dindirme eylemine bağlamıştır (23).

Ağrının kökeni hakkındaki en eski teorilerden biri, insan vücudunu istila eden yabancı bir unsur fıkından türemiştir. Yaralanma ile oluşan ağrının sebebi biliniyorken, sebebi bilinmeyen ya da yaralanma ile bağlantılı olmayan ağrının ruh ve şeytan gibi doğaüstü varlıklara bağlı olduğu düşünülüyordu ve bu yüzden şifa için şamanların ya da büyücülerin düzenlediği ayinlere başvuruluyordu. Koka adlı bitki, Papaver somniferum'un olgunlaşmamış kapsüllerinden insizyonla elde edilen afyon ve Sümerler tarafından “sevinç bitkisi” olarak nitelendirilen haşhaş gibi bitkiler hem dini hem de tedavi amacıyla kullanılan dönemin ağrı kesicileri olarak kullanılan bitkilerdi. Bunların dışında elektrikte sık kullanılan bir yöntem olmuştur ve bu konuda başvuru alan canlılar Nil elektrik balığı veya torpido balığıydı. Elektrikli balıklar, melankoli veya epilepsi gibi diğer durumların tedavisinde de kullanılmıştır (25).

Ağrının hasta ve sağlayıcılar arasındaki etkileşimin ana odağı olduğuna inanılıyordu. “Like with like”, zamanının felsefi düşüncesi idi. Bu nedenle ağrının ağrı ile tedavi edilmesi gerektiğine inanılıyordu. Roma İmparatorluğu döneminde, Celsus (1. yüzyıl), Kapadokya’lı Aretaeus (1. yüzyıl civarında yaşamıştır) ve Galen Pergamum (130 MS-210 MS) baskın Yunan doktorlarından, bu süre zarfında ağrı kendiliğinden bir hastalık olarak görüldü ve farklı biçimlerde sınıflandırıldı. Celsus ağrıyı 21. yüzyılda görülen kronik ağrı etiketine benzer bir şekilde görüyordu ve tedavi için dinlenme, egzersiz, kan alma, deriye kesi ve sıcak yemek uygulaması öneriyordu. Kapadokya’lı Aretaeus, soğuk ve kulunç kaynaklı ağrıların olduğuna inanılıyordu ve tedavi yöntemleri Celsus’un yaklaşımına

benziyordu. Galen, ağrı bilimini hayvanların kullanıldığı deneyler sayesinde etkileyerek ilk kez acının sadece insanlarda olmadığını kanıtlamıştır (26).

Descartes, acıyı vücudun varlığını test eden temel deneyimlerden biri olarak ifade eder. İlk olarak, bedenden aldığımız duyuların, bazen akli kandırdıkları gibi, bedenin varlığının kanıtı olarak ortaya çıkamayacağını gözlemler. Kullandığı örnek şimdilerde hayalet uzuv ağrısı olarak tanımlanan ağrıdır. "...Bir bacağı veya kolu kesilmiş olanların bazen vücudun eksik kısmında sürekli olarak ağrı hissettiğini duymuştum. Bu yüzden, kendi durumumda bile, belli bir uzuvun acı çektiği kesin değildi, acı çekiyor olsam bile. ” (Descartes, 1984, s. 53) (27).

1950’li yıllarda J.J.Bonica tarafından kurulan ilk multidisipliner interdisipliner ağrı kliniği kronik ağrının tedavisine olan bakış açısında büyük değişikliklerin olmasına sebep olmuştur. Sadece somatik patolojilerden değil aynı zamanda psikolojik ve toplumsal etkilerinde sebep olduğu kronik ağrı için multidisipliner uygulamalar, çeşitli kapsamlı yaklaşımlarla kabul görmüştür (6).

Uluslararası Ağrı Araştırmaları Birliği (IASP) 1975’te kurulduğunda, nosisepsiyon ve ağrının bilimsel temelindeki kayda değer gelişmelere uyum sağlamak ve acı çeken insanlar için pragmatik olmak için eşzamanlı olarak gereken tanımları oluşturma zorluğuyla karşı karşıya kaldı. 1979’da, IASP, yalnızca deneyimin duysal ve duygusal boyutlarını birleştiren bir ağrı tanımını onayladı, aynı zamanda doku yaralanması ve ağrı arasındaki ilişkiyi de kabul etti (28).

Bugün artık dünyada sayıları giderek artan ağrı tedavi merkezleri bulunmaktadır ve ağrı bilimi başlı başına bir tıp disiplini haline gelmiştir. Ülkemizde ilk olarak Prof. Serdar Erdine tarafından İstanbul Tıp Fakültesinde 1984 yılında kurulan Algoloji kliniği bugün bilim dalı olarak hizmet vermektedir (6).

2.3. Ağrının Sınıflandırılması

Bir taksonomiye olan ihtiyaç 1979’da Bonica tarafından dile getirilmiştir ve evrensel olarak sınıflandırmanın geliştirilmesinin önemini vurgulamasının yanı sıra bu sınıflandırmanın sabit olmaması gerektiğinin de altını çizmiştir. Böylece taksonominin benimsenmesini ve sınıflandırmanın bir kısmına katılmayacak kişiler için teşvik edici bir hal alacağını ortaya koymuştur. Bu şekilde yapılan sınıflandırmanın tedavi ve araştırmalar için daha geliştirici olduğunu vurgulamıştır. Sınıflandırmaların, en azından bildiğimiz

kadarıyla doğru olması gerektiği doğrudur, ancak tam tutarlılık, herhangi bir tıbbi sınıflandırma sisteminin umutlarının ötesindedir. İdeal bir sınıflandırma sisteminde, kategoriler dahil edilecek veriler açısından birbirini dışlayan ve tamamen kapsamlı olmalıdır. Sınıflandırma aynı zamanda sadece tek bir prensibi kullanmalıdır (29).

Daha önce yapılan sınıflandırmada ağrının bulunduğu yere veya bölgeye göre, ağrının kaynağına veya varsayılan patoloji bölgesine göre sınıflandırılması ve ayrıca bazı sınıflandırma sistemleri ağrıyı tanımlamayı da içeren kriterlere dayanıyordu. Ağrının yerine göre yapılan sınıflandırma basit ve mantıklı olsa da yeterli olmadığı için araştırmacıları daha çok ağrı tipini tanımlamaya yönlendirdi. Her ne kadar patoloji kaynağına göre sınıflandırma daha doğru gibi görünse de bilinmeyen bir patolojinin sebep olduğu ağrı kafa karışıklığına sebep olmaya başladığı için bu sınıflandırmada yeterli gelmedi. Tek bir kritere dayanan kapsamlı bir sınıflandırma sistemi üretmenin zor olduğu kabul edilmektedir. Sınıflandırma sisteminin mümkün olduğunca basit, açıkça tanımlanan ve anlaşılır terimlerden oluşması gerekir (30).

Uluslararası Ağrı Araştırma Birliği, 1994 yılında bölgelere, organ sistemlerine, zamansal özelliklere, yoğunluğa ve etiyolojiye göre ağrının tanımlanmasını sağlayan bir kodlama sistemi yayınladı (31).

2.3.1 Ağrının Başlama Süresine Göre Sınıflandırılması

2.3.1.1. Akut ağrı

Akut ağrı tipik olarak yumuşak doku yaralanması veya inflamasyondan kaynaklanan ve olumsuz bir kimyasal, termal veya mekanik uyarana öngörülen cevap olarak tanımlanır. Kronik ağrının duyusal özelliklerinin çoğunu paylaşır ve yanıt baskılanmazsa hızlı bir şekilde kronik ağrıya dönüşebilir. Yaralı ve iltihaplı bölgeyi aşırı duyarlı hale getirerek dış uyaranla temastan kaçınılmasını sağlayarak onarıcı işlev görür. 1 aydan daha kısa süreceği gibi bazı zamanlar da 6 aydan daha uzun sürebilir (32, 33).

2.3.1.2. Kronik ağrı

Kronik ağrı, nosiseptörler tarafından tehdit edilen dokulardaki akut olayların baskılanmaması sebebiyle devam eden ağrı sonucu oluşur. Periferik ve merkezi uyaran hasarını ve bozulmayı içerir. Kronik ağrı duyarsızlaşmayla karakterizedir (31).

2.3.2. Ağrının Mekanizmalarına Göre Sınıflandırılması

2.3.2.1. Nosiseptif ağrı

Nöral olmayan dokulara verilen gerçek veya tehdit edici hasardan kaynaklanan ve nosiseptörlerin aktivasyonundan kaynaklanan ağrıdır ve etkilenen yapıların seviyesine bağlı olarak somatik ve visseral olarak sınıflandırılabilir (34, 35).

2.3.2.2. Nöropatik ağrı

Sinir sisteminin hasarlanmasından kaynaklanan şiddetli ve inatçı olabilen ayrıca duysal eksikliklerin de yaygın olarak görüldüğü bir ağrıdır. Nöropatik ağrı hem periferik hem de merkezi uyarıların hassasiyetinin mekanizmalarını yansıtır. Yaşam kalitesini etkileyen ağrıya verilecek örnekler arasında diyabet, enfeksiyon, sinir sıkışması, sinir travması ve otoimmün hastalıklar vardır (36, 37).

2.3.2.3. Deafferantasyon ağrısı

Deafferantasyon ağrı, sinir yollarının yaralanmasıyla oluşan ve lezyonların takibinde vücudun bir kısmında oluşan duysal girdi kaybıyla ilişkili orta şiddetli kronik ağrıdır ve nihai olarak saplanma ve yanma hissi ile karakterizedir. Hastalar duyu kaybının yanı sıra, disestezi, hiperaljezi ve allodini gibi anormal duysal fenomenlerden şikayet ederler ve tedavisi zor olabilir (38, 39).

2.3.2.4. Reaktif ağrı

Motor veya sempatik afferentlerin refleks etkinleştirilmesiyle nosiseptörlerin uyarılması sonucu meydana gelen ağrıdır ve örnek olarak miyofasyal ağrı gösterilebilir (1).

2.3.2.5. Psikosomatik ağrı (Psikojenik ağrı)

Psikojenik ağrı, psikolojik faktörlerle ilişkili bir ağrı bozukluğudur ve faktörlere bağlı olarak ağrı artabilir yada süre olarak uzayabilir. Psikojenik ağrı bozukluğu olan bir kişi semptomlarına uymayan ağrıdan şikayetçi olabilir. Psikosomatik ağrılı hastalar, kötü niyetli hastalarla karıştırılmamalıdır çünkü kasıtlı ya da abartılı semptomlar üretmedikleri gibi yaşanan sendrom çok gerçekçi ve acı vericidir (40, 41).

2.3.3. Ağrının Kaynaklandığı Bölgeye Göre Sınıflandırılması

2.3.3.1. Somatik ağrı

Somatik ağrı, somatik sinirlerden kaynaklanan ve reseptörleri deri ve deri alt dokuları, fascia, diğer bağ dokuları, periosteum, endosteum ve eklem kapsüllerinde bulunan ani, keskin ve tanısı kolay, yaralanma bölgesine lokalize olan bir ağrıdır (42, 43).

2.3.3.2. Visseral ağrı

Visseral ağrı, göğüs ve karın içindeki iç organlardan kaynaklanan enfeksiyon veya doku hasarı gibi tanımlanabilir bir nedene sahip ağrıdır. Visseral ağrı mekanizmaları farklı organ ve organ sistemleri arasında farklılıklar gösterir. Tüm iç organlardan uyarılmaz ve her zaman visseral yaralanma ile bağlantılı değildir (44, 45).

2.3.3.3. Sempatik ağrı

Damarsal kökenli olup sempatik sinir sisteminin aktivasyonu ile ortaya çıkan ağrılardır (1).

2.3.3.4. Periferik ağrı

Kaslar, tendonlar ya da periferik sinirlerin kendinden köken alabilen ağrılardır (1).

2.4. Ağrının Algılanması

Ağrının mekaniği bir transdüksiyon, transmisyon, modülasyon ve persepsiyon modeli olarak iyi tanımlanmıştır.

1. Transdüksiyon:

Yaralanma bölgesinde, uyarının elektriksel aktiviteye dönüştürüldüğü ilk aşamadır. Bu dönüşüm; mekanik, termal veya kimyasal uyarılar, çevre içerisindeki birincil afferent nosiseptörler tarafından olur (46, 47).

2. Transmisyon:

Duyusal afferentlerin depolarizasyonunu sağladıktan sonra periferik A ve C lifleri vasıtasıyla omuriliğin dorsal boynundaki ikinci dereceli nöronlara aktarım başlar. Daha sonra bu ikinci mertebeden dorsal kök nöronlarının aksonları, afferent sinyalleri kontralateral talamustaki üçüncü derece nöronlara iletir ve talamusun ventroposterolateral çekirdeğindeki üçüncü mertebeden nöronlara sinaps ettikleri spinotalamik kanal yoluyla beyne doğru yükselir. Talamus daha sonra nosiseptif bilgiyi, ağrının yerini ve kalitesini

ayırt etmeye yardımcı olan somatosensörlü korteks ve ağrının duygusal ve davranışsal yönlerinden sorumlu olan limbik yapılara iletir (46).

3. Modülasyon:

İnen inhibisyon olarak adlandırılır ve beynin ağrılı uyaranları düzenlemesinde yardımcı olur (46). Özellikle, periaqueductal gray (PAG) talamustan ve çeşitli kortikal bölgelerden girdi alır ve rostroventral medulla (RVM) ve dorsolateral funiküler yoluyla omuriliğe inen ağrı yollarını uzatır ve böylece ağrı iletimi engellenir (48).

4. Persepsiyon:

Ağrının güçlü duygusal ve davranışsal yönlerini anlamamızı sağlayan son aşamadır. Sempatik aktivite, kas kasılması ve kortizol salınımındaki fizyolojik değişikliklerle de ilişkili öfke, korku, koruma ve empati de dahil olmak üzere acı ile yakından bağlantılı bir dizi duygunun oluşmasını sağlar (48). Çeşitli psikolojik ve fizyolojik faktörler tarafından değiştirilebilecek kişisel deneyim ve acının değerlendirilmesini tarif eder (46).

2.5. Ağrının Nöroanatomi ve Nörofizyolojisi

Sherrington, nosisepsiyon terimini (Sherrington, 1900) oluşturdu ve nosiseptif refleksleri ile ağrı algısını, sıkı bağlantılı süreçler olarak belirtti (Woodworth ve Sherrington, 1904). Bu ilk gözlemlerden bu yana, 100 yılı aşkın araştırma, nosiseptif mekanizmasını tanımlayan nöronal ve moleküler özelliklere ilişkin tartışılmaz kanıtlar üretti (49).

Ağrıyı algılayan spesifik reseptörler nosiseptör olarak adlandırılır ve bu ağrı reseptörleri, serbest sinir sonlanmalarıdır. Uyarılma işlemi, reseptöre gelen uyarının bir reseptör potansiyeli oluşturmasıyla başlayıp, yeterli eşiğe ulaşmasıyla meydana gelen aksiyon potansiyelinin akson boyunca sinaptik uca kadar iletilmesi sonucu oluşur. Diğer reseptörler genelde şiddeti değişmeyen uyarılara karşı adaptasyon sağlayıp rahatsızlığı önlerken ağrı reseptörleri organizmayı korumak için kolay adapte olmaz (50).

Ağrı duyusu başlıca, ince termal ve mekanik uyaranları taşıyan miyelinli A delta ve mekanik, kimyasal ve termal uyaranları taşıyan miyelinsiz C sinir liflerinin serbest sinir sonlanmaları tarafından algılamasından sonra spinal korda taşınır. C lifleri, polimodal nosiseptörlerdir olup birçok ağrılı uyarıyı taşır (47).

Aδ lifleri, hızlı iletimi sağlar ve ilk ağrı hissinden sorumludur. Aδ lifleri ayrıca iki tipi vardır. Bunlar mekanik ve kimyasal uyaranlara yanıt veren tip I ve 42 ° C'ye yakın bir ısı eşiğine sahip olan ve bunların iletilmesinden sorumlu olan tip II nosiseptörlerdir (51).

Büyük çoğunluğu, lamina 5'te yer alan WDR (Geniş Dinamik Alan) nöronlarında sonlanan Aδ lifleri, CGRP (kalsitonin geni ile ilişkili peptid) ve Substans P gibi peptidler içerir. Ayrıca WDR nöronlarında, yüzeyel dokunma duyusunu da taşıyan A-Beta lifleri de sonlandığı için hem zararsız uyarılar hem de nosiseptif uyarılar cevaplanmaktadır. Bu özellik, WDR nöronlarının afferent gidiş gelişi bütünleştirmesine ve uyarının yoğunluğunu modalitesinden bağımsız olarak düzenleyebilmesine imkan verir (47).

C lifleri küçük çaplı liflerdir ve yavaş iletim ile ikinci ağrıdan sorumludur (51). C liflerinin genel olarak neredeyse %15'i sessiz nosiseptörler olarak adlandırılır. Doku yaralanması veya iltihaplanma olması halinde duyu uyaranlara karşı duyarlı hale gelirler (52). C lifleri, peptiderjik ve nonpeptiderjik olmak üzere iki gruba ayrılır. Peptiderjik Tip 1 C lifleri CGRP ve substans P gibi peptidler içerir. Bu liflerin salgıladığı peptidler, mast hücrelerini harekete geçirerek histamin salgılanmasını sağlar. Histamin, lezyon bölgesinde kızarıklık, ödem ve deride hiperaleji gibi lokal inflamasyon belirtilerine sebep olur. Tip 2 C lifleri ise non-peptiderjik C lifleri adını alır ve bu liflere ait dorsal kök gangliyon nöronlarının santral uzantıları, lamina 2'nin iç tabakalarında bulunan internöronlarla bağlantı yaparak ağrı modülasyonunda rol oynar (47).

Nosiseptif bilgi, lamina I, lamina II ve daha az miktarda lamina V'den alınmaktadır. Lamina I, nosiseptif bilginin iletimi için modülasyon ve projeksiyon nöronları için interneuronsa da, lamina II, esas olarak lamina I'e yansıyan interneuronları içermektedir (53).

C ve Aδ lifleri, omurilik gri maddesinin lamina I (marjinal bölge) ve lamina II'de (substantia gelatinosa), bazı Aδ lifleri de WDR hücreleri içeren lamina V'de sonlanır. Nosiseptif bilgi akışını düzenleyen uyarıcı veya inhibitör internöronlar lamina V ve VI'da bulunur (52).

Spinal lamina I, nosiseptif işleme sisteminde anahtar bir elementtir. Beyin sapı ve talamusun belirli bölgelerine yükselen izleri yansıtan deriye, eklemlere, kaslara ve iç organlara zarar veren ince afferentlerden girdiler alır (54). Lamina I / Marjinal Bölge. Bu, hem internöronları hem de projeksiyon nöronlarını içerir. Lamina I ayrıca lamina II'deki

uyarıcı vertikal hücrelerden girdi alır (53). Lamina I hücreleri, talamusun ventromedial çekirdeğinin arka kısmına yansıtır ve otonomik ve duygusal acı algısına aracılık eder (52).

Spinal Lamina II, duyuşal afferent bilgilerin modüle edilmesinde rol oynadığı bilinmektedir. Lamina II nöronlarının yaklaşık üçte birinin glutamik asit dekarboksilaz (GAD) enzimi tarafından glutamattan sentezlenen inhibitör nörotransmitter γ -aminobütirik asidi (GABA) içerir. GABA nöronları, primer aferent A δ -fiber ve C-fiber terminalleri üzerinde sinaps oluşturur ve presinaptik inhibisyona ve dorsal boynuz nöronlarına sinaptik inhibisyonda aracılık eder. GABA reseptörü agonistleri sinir yaralanmasından sonra ağrıya benzer davranışı azaltır (55).

Lamina III, A δ / A β miyelinli veya hafifçe miyelinli primer afferentlerden çevresel girdiyi alır ve gliserjik / GABA nöronlara ve uyarıcı internöronlara yansıtır. NR1 eksprese eden projeksiyon nöronları da lamina III'te bulunur.

Lamina IV, V ve VI., yüzeysel laminadan nosiseptif bilgi ileten polisaptik girdilerin yanı sıra birincil afferentlerden doğrudan A β fiber girişi alan WDR nöronları içerir. Bu nedenle, yüksek frekanslı salgılama meydana getiren acı hissi ve daha mütevazı salgılama üreten zararsız uyaranlara neden olan girdi türü ile ilişkilidir. Bu tabakalar, dokunsal bilgilerin karmaşık işlenmesinde rol oynarlar (53).

2.6. Epilepsi ve Ağrı

Epilepsi, bilinen bir sebep olmaksızın (inme, kafa travması, anoksik ensefalopati, alkol alımından derlenme esnasında yaşanan yoksunluk sendromu veya şiddetli metabolik bozukluklar ile tetiklenmiş nöbetler hariç) kişide zamanı ve şiddeti tahmin edilemeyen kısmi veya genel nöbetlerle karakterize kronik bir hastalıktır. Uluslararası Epilepsi ile Savaş Birliği (Ing: International League Against Epilepsy, ILAE) tarafından epilepsi; “kortikal nöronlardaki anormal ve aşırı elektriksel deşarj sonucu ortaya çıkan, ani, tekrarlayıcı, tanımlanabilen bir olayla tetiklenmemiş epilepsi nöbetleri ile karakterize” bir durumdur (56). ILEA, epilepsi tanımını tetiklenmemiş tekbir nöbet geçiren ve gelecekte nöbet yaşama olasılığı olanları da kapsayacak şekilde genişletmiştir (57).

Bununla birlikte epilepsi nöbetlerinin ailesel yatkınlık ve beyin hasarı gibi beraberinde başka hastalık sonucu gelişebilmekte ancak genelde sebep bilinmemektedir. Dünyada en yaygın dördüncü nörolojik hastalık olduğu kabul edilen epilepsi her yaşta ve cinsiyette görülebilir ve nöbet şiddetleri kişiden kişiye değişebilir. Belirtileri vücudun her

tarafında görülebilmesine rağmen, nöbeti tetikleyen elektriksel olaylar beyinde (beyin hücreleri arasında elektriksel sinyalleşme ve eksitasyon ile inhibisyon arasındaki denge geçici olarak bozulur) gerçekleşmektedir. Elektroensefalogram adlı bir teknik ile beyin aktivitelerinin deri yüzeyine yerleştirilen elektrotlar aracılığı ile kayıt edilerek nöbetlerin odağı ve epileptik sendromların alt tipleri belirlenmektedir.

Epilepsi prevalans veya insidansı üzerine 1985 yılından beri yayınlanan (MEDLINE veya EMBASE kapsamında yer alan dergilerde yayınlanmış 222 araştırmayı dahil ederek) toplum esaslı araştırmaların meta analizini kapsayan 2017 yılındaki bir analize göre; aktif epilepsi prevalansı 1,000 kişide 6.38 (%95 güven aralığı: 5.57-7.30), yaşam boyu görülme insidansı ise 1000 kişide 7.60 (%95 güven aralığı: 6.17-9.38) olarak belirlenmiştir. Epilepsi prevalansının yaş ve cinsiyete göre fark göstermediği ancak düşük sosyoekonomik statüye sahip ülkelerde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Yine aynı araştırmaya göre etiyojisi bilinmeyen ve jeneralize epilepsiler en büyük çoğunluğu oluşturmaktadır (58).

Epilepsi, patofizyolojisi inhibitör (γ -aminobutirik asit (GABA)) ve eksitator (glutamate) nörotransmisyonu arasındaki dengenin eksitasyon lehine kaymasına temelde dayanmaktadır. Bu denge bozulması, epileptik hasar (status epileptikus, strok ve travmatik beyin hasarı) sonucunda GABA-erjik inhibitör nöronların selektif kaybı ve/veya nöronal devrelerin re-organizasyonu sonucu nöronal popülasyonda hipersenkroni gelişmesi (dentat girustaki dentat hücreleri yani yosunsu lifler olarak bilinen yapıların hipersenkroni of neuronal populations) sonucu bozulabilir. GABA-aracılı sinyallerin defisitleri ve glutamaterjik transmisyonun güçlenmesi hepsinde olmasa da çoğu epilepside ortaya konduğundan tedavi için de temel hedefi oluşturmaktadır. Normal fizyolojik şartlarda eksitator sinaptik aktivite inhibitör internöronlar tarafından sıkı bir kontrol altındadır; ancak genetik mutasyon, travma, gelişme anormallikleri veya çeşitli zararlı etmenler bu düzenlemeyi bozarak kortikal networklerin hipereksitabl olmasına ve sonuçta epilepsiye yol açmaktadır (59, 60).

2.6.1. Deneysel Epilepsi Modelleri ve WAG/Rij Sıçanlar

Epilepsi ve epileptik nöbetlerin patofizyolojisini çeşitli olmasına rağmen, beyin sinapslarında uyarıcı (glutamaterjik sinyalleşme aracılığı ile) ve inhibitör (GABAerjik sinyalleşme aracılığı) uyarılar arasındaki dengenin uyarı lehine kayması, nöbet aktivitesi görülmesi için en temel mekanizmadır. Deneysel modellerde GABAA-reseptör

antagonistler ve glutamat-reseptör (NMDA, AMPA ve kainate) agonistlerinin normalde sağlıklı deney hayvanlarında nöbet tetikleyebileceğini göstermiştir.

Patofizyolojiyi aydınlatmak ve tedaviye hedef teşkil etmek üzere pek çok deneysel model geliştirilmiştir. Bu deneysel modeller deney hayvanlarında kimyasal konvülzan uygulaması, elektriksel uyarı, genetik modeller, yapısal lezyon indükleme, fiziksel uyarı (soğuk, basınç ve hipertermi) uygulamalarını kapsamaktadır. İyi tanımlanmış deney hayvanı modelleri epileptogenezisin (normal nöronal networklerin hipereksitabl networklere dönüşerek spontan nöbetlere yol açması) anlaşılmasına ve bugünkü bilgi seviyesinin başarılmasına önemli katkı sağladığı ve yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesinde rol oynayacağı kabul edilmektedir (61).

Konvülzan kimyasal uygulamaları fare ve sıçanlarda pentilentetrazol (PTZ, subkutan) yaklaşık 60 yıl önce geliştirilmiş ve ilaç geliştirilme amacıyla gerçekleştirilen laboratur çalışmalarında hala kullanımda olan bir modeldir (62).

Post-travmatik hayvan modeli, pre-klinik araştırmalar için bir başka seçenektir (63).

Genetik epileptik sıçan ve fare modelleri de mevcut olup absans epilepsi için GAERS, WAG/Rij, WER (Absans, Tonik-klonik), IER/Ihr (Tonik-klonik), NER/Kyo (Tonik-klonik, Oligogenik), SER/Kyo (Absans, Tonik, Tonik-klonik), TRM/Kyo (Absans), GEPR-3, GEPR-9 (odyojenik) olmak üzere çeşitli tipleri olup bu modellerin genel özellikleri, avantaj ve kısıtlılıkları güncel derlemelerde ele alınmıştır (64, 65).

Bu tez çalışmasında WAG/Rij genetik epilepsi modeli kullanılmıştır. Yaygın kullanılan, geçerli ve güncel modellerden biri olarak kabul edilmektedir (66).

2.7. İnflamatuar ve Ağrı

Cerrahi işlemlerden sonra hastaların % 80'inden fazlası komplikasyon riski taşıyan, yaşam kalitesini olumsuz yönde etkileyen, akut postoperatif ağrı çekmektedir. Bu nedenle, insizyonel ağrının ve araçlarının altında yatan mekanizmaların belirlenmesi, yeni tedavilerin gelişmesini kolaylaştıracaktır. Nosiseptif ağrı olarak da bilinen akut ağrı koruyucu ve inflamasyonun önemli bir özelliğidir. Cerrahi hasardan kaynaklanan iltihaplanma, periferik nosiseptörlerin hassasiyetine sebep olarak allodini ve hiperaljeziye yol açabilir (67).

İnflamasyon, savunma mekanizması olarak görev yaparak doku hasarını sınırlar ve tamir mekanizmalarını uyarır. Kimyasal haberciler travmayı tespit edip, bölgeye verilen yanıtı güçlendirdikten sonra alarm sinyalleri gönderen dokudaki hücreler tarafından tamir başlatılır. İnflamatuvar bir süreci gösteren klinik olarak gözlemlenebilir dört karakteristik özelliğe değinilmektedir: ağrı, ısı, kızarıklık ve şişme. İnflamasyonun diğer bir semptomu ise fonksiyon kaybıdır ve buradaki tamir mekanizması hareketi sınırlayarak daha fazla hasarı en aza indirmek için motor sinir fonksiyonunu kapatan nörolojik bir cevaptan kaynaklanır (68).

Histamin, tümör nekroz faktörü-alfa (TNFa) ve nitrik oksit (NO) kan damarlarının genişlemesine neden olarak dokuya kan akışını arttırmasıyla endotel hücre bağlantılarında sorun oluşturarak plazma proteinlerinin dokuya sızmasına izin verir. Artan kan perfüzyonu kızarıklığa ve sıcaklığa neden olurken, dokuya sıvı sızması şişmeye neden olur. Ağrının artması ise nöro reseptörleri hassaslaştıran sitokinlerden (prostaglandinler, TNFa ve interlökinler dahil) kaynaklanmaktadır. Sitokinler, cerrahi girişimden sonra nosiseptör duyarlılığa, hiperaljezi ve klinik ağrıya sebep olur (67, 68).

2.8. Ağrı Yolağı

İnsanda 31 çift spinal sinir otonomik, motor ve duysal bilgileri spinal kord ile perifer arasında iletir. Bu spinal sinirler, afferent duysal dorsal aksonlar (dorsal kök) ve motor ventral efferent aksonların (ventral kök) ardışık vertebral segmentlerde intervertebral nöral foraminadan çıkar (69). Dorsal duysal kök nöral foraminayı terk ettikten sonra dorsal kök gangliyonunu (DKG) oluşturur. DKG bipolar yapıdaki primer duysal nöronların hücre gövdeleri ve çevreleyen glial hücrelerden oluşur; DKG'lerin aksonları primer afferent duysal nöronları oluşturur. DKG nöronlarının tek bir akson gibi fonksiyon yapan iki dalı (distal ve proksimal uzantı) olduğundan ve bu iki dalın bir hücre gövdesi tarafından birleştiğinden bu duysal nöronları vücuttaki diğer bipolar nöronlardan ayırt etmek için bunlara psödounipolar nöronlar adı verilmektedir. Bu araştırmada sıçan dorsal kök gangliyonları kullanılacak olup; sıçanlarda 8 çift servikal spinal sinir, 13 çift torasik spinal sinir, 6 çift lumbar spinal sinir ve 4 çift sakral sinir bulunur (70). DKG nöronları primer olarak duysal bilgiyi sinir sinyaline dönüştürerek periferden merkezi sinir sistemine iletmekten sorumludur.

2.8.1. Ağrı Yolağı, Periferal Nositseptörler ve İnflamatuvar Ağrı

Mekanik, termal ve kimyasal zararlı uyarıları algılayan özelleşmiş primer afferent nöronlara nosiseptörler denir (71, 72). Primer nosiseptörlerin hücre gövdeleri primer olarak trigeminal ve dorsal kök gangliyonunda (DKG) bulunur ve beyin parankiması hariç vücudun neredeyse bütün dokuları hakkında duyuşal bilgi sağlar. Bünyelerinde mevcut özelleşmiş reseptörler, belli tip iyon kanalları ve yolaklar primer nosiseptörleri, mekanik, termal, kimyasal nitelikteki farklı uyarılara duyarlı kılar.

Nosiseptörler üzerinde bulunan bir katyon kanal alt tipi olan transient reseptör potansiyeli kanalı (İng: transient receptor potential cation channel subfamily) V1 ailesi (TRPV1) bu bağlamda tespit edilmiş ilk reseptör alt tipidir. Vanilloid reseptör 1 [VR1] olarak ta bilinen bu reseptörler inflamasyona katkı sağlayan çeşitli mediyatörlere duyarlıdır ve inflamasyonda ağrı algılanmasında en temel araçlardır. TRPV1 reseptörleri protonlar (hidrojen), anandamid, bradikinin ve sinir büyütme faktörüne (NGF) duyarlıdır (73-75). Lipoksijenaz yolağında araşidonik asit ürünleri 12-(S)-hidro peroksit kasa tetra enoik asit ve lökotrien B₄'ün in vitro olarak TRPV1 reseptörlerini aktive ettiğı ve bu aktivasyon sonucu ilgili nosiseptörlerin termal uyarı eşiğini düşürdüğü tespit edilmiştir (76, 77).

TRPV1, birincil olarak küçük çaplı primer afferentlerde, özellikle miyelinsiz C fiberlerde ve ince miyelinli A-δ liflerinde bulunur, ancak aynı zamanda, daha düşük seviyelerde de olsa, omurilik ve beyin gibi ağrı yolunun yukarı kısımlarında da ifade edilir (78).

TRPV1, derinin dermal ve epidermal tabakaları, oral ve nazal mukoza ve eklemler gibi hedef dokulardaki aşırı yüksek sıcaklıkları ve ağırlı uyarıları tespit eden afferent duyuşal nöronlarda ifade edilir. Bu nöronların hücre gövdeleri, omuriliğin sırt boynuzuna projeksiyon yoluyla MSS'ne çevresel uyarılarla ilgili bilgileri iletir (79).

TRPV1 reseptörü, çoklu zararlı uyarıları birleştiren ve inflamatuvar barsak hastalığı gibi çeşitli majör hastalıkların patofizyolojisi ile ilişkili, seçici olmayan bir katyon kanalıdır (80, 81). TRPV1 aktivitesinin kendi başına bloke edilmesi, zararlı ısı algılamalarına yol açar ve bu sıcaklık kapılı reseptörün homeostatik termoregülasyondaki rolünü kanıtlayan hipotermi üretir (82).

Zhang ve An (83) glial hücre, immün hücre ve nöronal hücre aktivasyon ve karşılıklı etkileşimini kapsadığını ileri sürmüştür. Aralarında TNF, interlökin-1 β (IL-1 β) ve IL-6'nın da yer aldığı sitokinler eklem inflamasyonuna bağlı yerel hasar durumlarında aktive olur (84).

IL-1 β bir pro-inflamatuar sitokin olup; ağrı, inflamasyon ve otoimmün yanıt durumlarında rol aldığı bilinmektedir. Aralarında inflamatuvar ağrının da yer aldığı çeşitli ağrı durumlarında IL-1 β kritik rol almaktadır. IL-1 β 'nin bloklanması da inflamatuvar ağrı tedavisinde potansiyel hedef olarak anılmaktadır ve ilaç firmalarının hedefleri arasında yer almaktadır (83, 85). IL-1 β 'nin aynı zamanda önemli homeostatik fonksiyonları vardır. Bunlar beslenme davranışının düzenlenmesi, uyku ve vücut ısısının düzenlenmesidir (86). Ancak IL-1 β 'nin aşırı üretimi aralarında romatoid artrit, nöropatik ağrı, inflamatuvar barsak hastalığı, osteoartrit, multipl skleroz ve Alzheimer hastalığının da (86) yer aldığı durumları doğuran patofizyolojik zemini doğurur. IL-1 β keratinositler, fibroblastlar, sinoviositler, endotelial, nöronal, makrofajlar, mast hücreleri ve Schwann hücreleri, mikroglia ve astrositler gibi glial hücreler tarafından salıverilebilir (86-88). “İnflamazom” olarak adlandırılan süreç ve mediyatörler aracılığı ile IL-1 β 'nin inflamasyon ve inflamatuvar ağrıda rol aldığı belirlenmiştir.

Akut inflamasyon glial hücreleri aktive eder ve spinal IL-1 β ifade edilme düzeyinin sıçanlarda inflamasyonla alakalı ağrı şiddeti ile yakın derecede korele olduğu gösterilmiştir (89).

IL-1 β 'nin sinir büyüme faktörü düzeyinde artışa ve bu yolla inflamatuvar hiperaljeziye yol açtığı tespit edilmiş (90). IL-1 β düzeyinin bazal ağrı seviyesi ve temporomandibular eklemden inflamatuvar ağrı ile yakından korele olduğu bildirilmiştir (91).

IL-1 β epileptik nöbetlerde de rol aldığı, glutamaterjik nörotransmisyonu güçlendirerek kainatla tetiklenen nöbetleri şiddetlendirdiği bilinmektedir (92-94). Dolayısı ile bu epileptik hayvan modelinde, inflamatuvar ağrıda bu sitokin düzeyinin irdelenmesi seçilmiştir.

İnsan aterosklerotik plaklarındaki makrofajlar kaspaz-1 içerir. Kaspaz-1 sırayla iltihaplanma olarak bilinen supramoleküler bir düzeneğin aktivasyonuna uğrar. Kaspaz-1, üyelerini iltihaplanma ve bağışıklık konusunda çok önemli rol oynayan kaspaz ailesinin üyesidir. Kaspaz-1'den yoksun farelerin, lipopolisakarit (LPS) kaynaklı endotoksik şoka

karşı oldukça dirençli oldukları ve serum-içi miktarlarının IL-1 β ve diğer iltihabik sitokinlerin serum miktarlarında azaldığı ve bunun, kaspaz-1'in IL-1 β işleminde önemli bir proteaz olduğunu gösterdiği bildirilmektedir. İnflamasyon, procaspaz-1'in parçalanmasıyla sonuçlanan iltihap sinyallerini iletir ve bu da IL-1 β 'yi aktive eder. Muckle-Wells sendromu ve kriyopirin ile ilişkili periyodik sendrom, inflamazomdaki fonksiyon kazancı mutasyonlarından kaynaklanmaktadır. Bu mutasyonlar belirgin bir şekilde IL-1 β olgunlaşmasını arttırır ve şüphesiz aktif IL-1 β 'nin aşırı üretimi nedeniyle çocuklarda zayıflatıcı iltihaplı hastalıklar üretir (95-97).

Dorsal kök gangliyonu (DKG) fizyolojik olarak ağrı algılama mekanizmasında rol almasına ilave olarak; periferik akut ve kronik ağrı gelişimi, patolojik koşullara bağlı (inflamatuvar veya nöropatik) ağrı duyarlılık değişiminde de anahtar rol almasından dolayı ağrı tedavisinde de hedef teşkil etmektedir. Gerçekten de DKG ağrı kontrolünde, anti-inflamatuar ilaçlar (98), cerrahi ganglionektomi (99), radio-frekans ablasyon (100) ve elektrik nöromodulasyon terapilerinde klinik olarak anatomik uygulama hedefini oluşturur.

Trigeminal ganglion (TG) nöronları, baş yüz bölgesi nosisepsiyon dahil duyularından sorumlu olan duyuşal nöronlar olup; migren ve trigeminal nöralji gibi ağrılı sendromlarda aracılık etmektedir. TG nöronları da psödo-unipolar yapıdadır (101, 102).

Retiküler talamik çekirdek (RTN) korteks ve talamustan girdi alan ve talamik çekirdeğe inhibitör çıktı sağlayan nöronlardır. Serebral korteks ve dorsal talamus arasında topografik olarak konumlandırılan ve dorsal talamusun aktivitesini düzenlemek için gamma-aminobütirik asid (GABA) salgılayan ince, tabaka benzeri bir yapıdır (103). RTN spinotalamik projeksiyonlar alan mediyal ve intralaminar talamik nukleuslarının ağrı projeksiyonlarını baskılamasıyla, RTN'un fonksiyon bozukluğu ile santral ağrı oluşmaktadır (104).

Beyin sapı ağrı modüle edici devresindeki kritik bağlantılar orta beyin periaqueduktal gri cevher (PAG) ve rostral ventromedial medulla (RVM) olarak tanımlanmıştır. Anatomik olarak, bu sistem, spinal nosiseptif süreçleri değiştirerek ağrı üzerindeki bilişsel ve duygusal etkilere aracılık edecek şekilde konumlandırılmıştır: periaqueductal grisi ruh hali, dikkat ve yürütme kontrolü, stres ve uyarılma ile ilişkili ön beyin alanlarından büyük girdiler alır ve bu bilgileri dorsolateral fönikül ve aynı zamanda trigeminal dorsal boynuz yoluyla omuriliğin dorsal boynuzuna yansıyan RVM'ye iletir.

RVM ayrıca amigdala, insula ve hipotalamusun merkezi çekirdeği de dahil olmak üzere aynı alanlardan bazılarında doğrudan girdi alır (105).

Ağrı, ventromedial medullanın rostral kısmındaki beyin sapı nöronlarının çıkıntıları dahil olmak üzere azalan sistemler tarafından modüle edilir. RVM'nin aktivasyonu, nosisepsiyonu güçlü bir şekilde inhibe eder ve RVM'nin hem stimülasyon tarafından üretilen analjezi hem de afyon analjezisine aracılık ettiği öne sürülmüştür. Bununla birlikte, RVM ayrıca nosisepsiyonu kolaylaştırır ve spinal sinir ligasyonu sonrası aşırı duyarlılığın korunmasında önemli bir rol oynamaktadır (106).

Anterior cingulat korteks (ACC), dikkat, karar verme, eylem ve ödülleri tahmini gibi birçok bilişsel ve duyuşsal süreçte yer alır (107).

ACC, talamus yoluyla omurilikten nosiseptif girdi alır. ACC talamus yoluyla omurilikten nosiseptif girdi alır. ACC nöronları geniş bilateral reseptör alanları ve zararlı stimülasyona kalıcı yanıtlar gösterir. ACC ağrı modülasyonunda rol oynar. Duyuşsal durumlar ağrıyı büyük oranda etkiler ve bu etki genellikle değişen ACC aktivasyonları ile ilişkilidir (108).

Ağrı duyusu, ağrıya alakalı uyarak (fiziksel, kimyasal, termal zararlı uyaran ...) periferik nosiseptörler tarafından sinyale dönüştürüldükten sonra ağrıya alakalı bilgilerin yorumlandığı ve alakalı cevapların organize edildiği santral sinir sistemine iletilir. Primer afferent lifler, medulla spinalisin dorsal boynuzunda ikinci sıra nöronlarla sinaps yapar. Asendan spinotalamik ve spinoretikular traktuslar yoluyla beyine ulaşan uyarılar talamus tarafından işlenerek kortekse yönlendirilir. Ağrıya alakalı desendan yolak da mevcut olup, bu devrede yer alan mezensefalik periaquaduktal gri cevher ve nükleus rafe magnus ağrı modülasyonunda rol alır. Artmış ağrı duyarlılığı ve kronik ağrı gelişiminde bu yolakta yer alan bütün yapılar rol alabilir ve değişim her düzeyde gerçekleşebilir (109-111).

Miyelinsiz (C-fiber) nosiseptörler, nörotransmitterler olarak N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörlerine etki eden glutamat salgırlar. Glutamat, postsinaptik hücrenin duyarlılığında, tüm girdilerine daha kuvvetli tepki verecek şekilde, merkezi duyarlılık olarak adlandırılan bir etki yaratır. NMDA reseptörünün aktivasyonu, omurilik nöronunun, hasar görmüş veya hassaslaştırılmış nosiseptörler ve düşük eşikli mekanik iletilerinde dahil olmak üzere, tüm girişlere daha duyarlı hale gelmesine neden olur. NMDA-reseptör blokajı ile allodini ve hiperalezi tersine çevrilebilir (112).

Hayvan deneylerinde NMDA reseptör antagonistleri, nosiseptif reflekslerden ziyade, nosiseptif uyarıcılara ve nöropatik ağrı ile bağlantılı nosiseptif reaksiyonlara karşı merkezi duyarlılığı inhibe eder (113).

Uzun süreli potansiasyonun (LTP) uyarılması için NMDA reseptörlerinin (NMDAR'lar) aktivasyonu gerekir. NMDAR antagonisti d-2-amino-5-fosfonopentanoik asit (AP5) ile ön işlem, LTP'nin indüklenmesini önler. Daha sonraki farmakolojik ve genetik çalışmalar, hipokampustaki NMDAR LTP'nin, hipokampüsün mekansal hafızasında önemli roller oynadığını doğrulamıştır. Hipokampustaki sinaptik plastisite için yeni mekanizma topluca rapor edilmiştir (114).

NMDA reseptörü, otuz yıldan uzun bir süre önce keşfedildi. Bu tür reseptörler merkezi sinir sisteminin (MSS) hem içinde hem de dışında eksprese edilir. NMDA reseptörleri, nöronal gelişim, öğrenme, hafıza ve sinaptik plastisite gibi üst düzey beyin fonksiyonlarında kritik bir rol oynar. NMDA reseptörleri, ağrı, serebral iskemi / iskemik inme, travmatik beyin hasarı, Alzheimer hastalığı, Huntington hastalığı, Parkinson hastalığı, depresyon, şizofreni, bilişsel bozukluk, ve epilepsi dahil olmak üzere çeşitli nörolojik ve psikiyatrik bozuklukların patofizyolojisine dahil edilmiştir (115).

Nörofizyolojik olarak, glutamat reseptörlerinin aşırı aktivasyonunun, kronik ağrıdaki nosiseptif yollarda uyarıcı sinaptik geçişin arttırılmasında rol oynadığı bilinmektedir. Spinal dorsal boynuz nöronlarında glutamat reseptörlerinin aşırı aktivasyonunun üç ana nedeni, spinal dorsal boynuzundaki primer afferent terminallerden glutamat salımını arttırmak, glutamat reseptörlerinin sayısında ve fonksiyonunda artış ve glutamatın klirensinde azalmadır. Bunlar NMDAR'lara bağlanır, nosiseptif uyarıların tedavisi ile rol oynar (116).

Kaudal beyin sapındaki NMDA reseptörlerinin NR1 alt birimlerinin fosforilasyonu, kronik kas-iskelet sistemi ağrısı ve egzersize bağlı ağrı hayvan modellerinde hiperaljeziye aracılık eder. Öte yandan, opioidergik ve serotonerjik nöronların her ikisi de RVM'de eksprese edilir. NMDA reseptörlerinin aktivasyonu ve NMDA reseptörlerinin fosforilasyonu, hiperaljezi gelişiminin temelini oluşturur (117, 118).

NR-1 alt ünitesinin yaralanmaya bağlı artışını ve ayrıca proteinin gamma izoformu kinaz C (PKC γ) ekspresyonunu önleyerek siyatik sinir hasarı modelinde hem mekanik hem de termal allodiniyi başarıyla azalttığı gösterilmiştir. Bu PKC azalması, reseptör

kolaylaştırma için çok önemli olan ve merkezi sensitizasyonun gelişmesine katkıda bulunan NMDA reseptörlerinin NR1 alt ünitesinin fosforilasyonunu önler (119, 120).

Substans P, peptiderjik primer nosiseptörlerin merkezi terminallerinde yoğun çekirdek veziküllerde bulunan bir nöropeptittir. Bu nöronlar aktive edildiğinde, özellikle yüksek yoğunluklu stimülasyon sırasında, glutamat ile birlikte salınabilir. Substans P reseptörü NK1, lamina I'deki çoğu projeksiyon nöronu tarafından eksprese edilen bir G protein-bağlı reseptördür. NK1 reseptörlerinin aktivasyonu, projeksiyon nöronlarının yavaş depolarizasyonuna neden olan hücre içi kalsiyum seviyelerini artırır, böylece uyarılabilirliklerini artırır (121).



3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu araştırmada yaşa bağlı başlangıçlı genetik absans epilepsili WAG/Rij (Wistar albino Glaxo rats of Rijswijk) cinsi erkek erişkin sıçanlar kullanıldı. Deneyde kullanılan WAG/Rij cinsi sıçanlar genetik özellikleri nedeniyle erişkinlik dönemlerinden itibaren epilepsi semptomlarını göstermeye başlarlar. Bu nedenle çalışmanın amacına uygun olacak şekilde semptomatik erişkin WAG/Rij cinsi erkek sıçanlar kullanıldı. Ağrı davranışı testleri ve PCR tayini için 8 tane WAG/Rij cinsi sıçan kullanıldı.

Zimosan, maya hücre duvarlarında bulunan glukan içeriğine sahip, davranışsal hiperaljezi oluşturmada genel olarak kullanılan bir inflamatuvar ajandır. İntraplantar zimosan enjeksiyonu doza ve zamana bağımlı değişken mekaniksel ve termal hiperaljezi ve allodini oluşturmaktadır. Mekaniksel hiperaljezi, enjeksiyondan sonra maksimum 4 saat içinde meydana gelmektedir. Termal hiperaljezi ise bifazik ve doza bağlıdır. İlk faz ≥ 2.5 mg dozda enjeksiyondan sonra 30 dakika içinde pik yapmaktadır, ikinci faz ise maksimum 4 saat içinde pik değerine ulaşmaktadır. Yüksek doz (5 mg ve 6.25 mg her bir ayak için) uygulamalarında spontan ağrı gelişmektedir (122).

Bütün gruplarda kontrol nosiseptif latens değerleri (Plantar test ve von Frey testi) elde edildikten sonra; kronik inflamatuvar ağrı, zimosanın (200 mikrolitre volümde 6.25 mg) intraplantar enjeksiyonu ile indüklendi ve ilgili ağrı testleri tekrarlandı. Proje ekibi konuda tecrübeli olup; bu teknik protokoller kullanılarak laboratuvarımızda bir yüksek lisans tezi tamamlanmıştır (122).

3.1. Davranışsal Ağrı Testleri

3.1.1. In Vivo Termal Plantar Analjezimetre ile Ağrı Eşiğinin Belirlenmesi

Bu protokoller anestezi altında olmayan deney hayvanlarında deneysel ağrı araştırmaları için etik standartlar kılavuzuna uygun şekilde gerçekleştirildi. Termal plantar analjezimetre testi deney hayvanlarında ağrı eşiğini belirlemede geçerli ve oldukça hassas bir yöntemdir. Termal Plantar Analjezimetre cihazı yanları plastik saydam bariyerlerle hayvanların dışarı çıkmaları engellenecek şekilde kapatılmış, zemini saydam bir cihazdır. Hayvanın arka ayak pençelerinin plantar yüzeylerinin ortasına odaklanmak üzere ayarlanabilen hareketli infrared ışık demeti şeklinde aşağıdan radyan ısı uygulayabilir.

Bu termal akut ağrı modelinde hayvanlar ısı uyarısına cevap vermek üzere pençelerini çektikleri anda ısı uygulamasını otomatik olarak cihaz tarafından sonlandırılır

ve bu şekilde deney hayvanının ısı uyarana vermiş olduğu cevabın latensi ölçölerek ağrı eşiği tespit edilir. Bu çalışmada sıçanlar için uygun bölölölölteki Termal Plantar Analjezimetre (Commat Ltd, Ankara) kullanıldı. Deneye başlamadan en az 10 dakika önceden ortama alışmaları sağlandı.

Radyan ısı kaynağı kontrol grubu sıçanların pençelerini yaklaşık 5-6 sn sonra çekecekleri şiddete ayarlandı ve doku zedelenmesini önlemek için “cut-off” süresi 10 sn olarak belirlendi. Isı uyarana verildiğinde sıçanın pençesini çekmesi ve yalaması pozitif cevap olarak kabul edildi. Her bir hayvan için ölçölmler üst üste 3 kez tekrarlanıp cevapların ortalamaları alındı.

3.1.2. Elektronik von Frey Testi ile Mekanik Ağrı Eşiğinin Belirlenmesi

Bu deneyde, üstü hayvanların dışarı çıkmaları engellenecek şekilde kapatılmış saydam pleksiglass kaplı delikli bir tel zeminin üzerine yerleştirilerek düzenekle, mekanik uyarıya pençe çekme eşiği rijit uçlu von Frey filamentleri aracılığıyla elektronik von Frey aneljezi metre ile belirlendi. Sıanın ayak pençesini hızla çekmesi (tercihen yalaması) pozitif yanıt olarak kabul edildi ve deneğin her birinin üçer defa uygulanan filamentlere verdiği gücün ortalaması eşik değerı olarak kabul edildi. Deneye başlamadan en az 10 dakika önceden hayvanların ortama alışmaları sağlandı.

Bütün ağrı davranışı testleri saat 08:00 ve 12:00 saatleri arasında gerçekleştirildi. Testlerin uygulanması esnasında ortamın sessizliğine özen gösterilip hayvan cut off zamanı içerisinde cevap vermediği takdirde doku hasarını önlemek amacıyla, uygulamalar sonlandırıldı ve bu hayvanlar çalışmaya dahil edilmedi.

3.2. RNA Analizi için Doku Örneği İzolasyonu

PCR ile tayini yapılacak ağrı belirteci ve ilgili molekölmler TRPV1 reseptör ekspresyonu, TRPV1, NMDA NR1, NK1 reseptör, interlökin 1 beta ilgili nöroanatomik kısımlardan (dorsal kök ve trigeminal gangliyonlar, periakuaduktal gri cevher, retikuler talamik korteks, rostral ventomedial medulla ve anterior singulat korteks) alınan dokulardan elde edilen ekstraktlarda yapıldı.

Doku örnekleri çıkartılarak sıvı azotta dondurulup ölçölüm yapıłana kadar -80 derecede derin dondurucuda saklandı. Sıçanlar dekapitasyonla öldüröldükten sonra ilgili beyin bölgeleri sıçan beyin atlası ve sterotaksik cihaz yardımı ile elde edildi. Farklı beyin bölgelerinin doku örneklerinin çıkarılmasında literatürde tarif edilen yöntemlerden

yararlanıldı; bu amaçla çıkarılan beyin dondurularak uygun kesitler hazırlandı; Paxinos atlasından yararlanılarak ilgili anatomik kısımlardan numuneler mikropunch tekniği ile izole edildi.

Ağrı davranışı testlerinin tamamlanmasından sonra, her gruptan 3 (doku yetmemesi durumunda sayı artırılabilir) hayvan RNA analizi için kullanıldı. Medulla spinalisin dorsal boynuzundan doku örneği almak için spinal kordun L4-L6 kısımlarına denk gelen gangliyonlar (ipsi ve kontralateral) ve trigeminal gangliyonlar ayrıştırıldı.

Beyin çıkartılarak retikuler talamik korteks, rostral ventomedial medulla ve anterior singulat korteks numuneleri izole edildi.

PCR analizleri İstanbul Medipol Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde gerçekleştirildi.

Verilerin değerlendirilmesinde Tek yönlü varyans analizi yapıldı ve bu analizi takiben post-hoc Dunnet's testi kullanılarak gruplar arası farklılık ortaya konuldu. Veriler ortalama $\pm$ Standart sapma (mean $\pm$ SD) olarak sunuldu. $P \leq 0.05$ değeri istatistiksel açıdan anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. İntraplantar Zimosan Enjeksiyonuna Bağlı İnflamasyon Gelişimi

İntraplantar zimosan enjeksiyonunu takiben bütün sıçanların ilgili ayak tabanlarında şiddetli inflamasyonu gösteren belirgin şişkinlik ve kızarıklık meydana geldi. Bahsedilen inflamasyon belirtileri hem aynı ayak için zimosan enjeksiyonu öncesi hem de enjeksiyon yapılmayan diğer ayaklara kıyasla gözlemlenebilecek şekilde fark edilebilir boyuttaydı (Şekil 1).

Ayakta gerçekleşen akut inflamasyonun (şekil 1'deki resimde görülmektedir) bir belirteci olarak arka bacak bilek aynı eklemden kesilerek tartıldı ve erişkin Wistar sıçanlarda ayak ağırlığı 1.99 ± 0.28 'gramdan 4239 ± 0.098 'grama; WAG/Rij sıçanlarda ise 1.29 ± 0.11 'gramdan 2.69 ± 0.38 'grama anlamlı olarak ağırlık artışı tespit edildi. Bu deney protokolü için seçilen erişkin Wistar sıçanların toplam vücut ağırlığı erişkin (yaşıt) WAG/Rij sıçanlardan daha yüksek olduğu için başlangıç ağırlıkları da farklıydı. Ancak akut inflamasyonu yansıtmak üzere % ağırlık değişimi her iki grupta da benzer düzeydeydi.



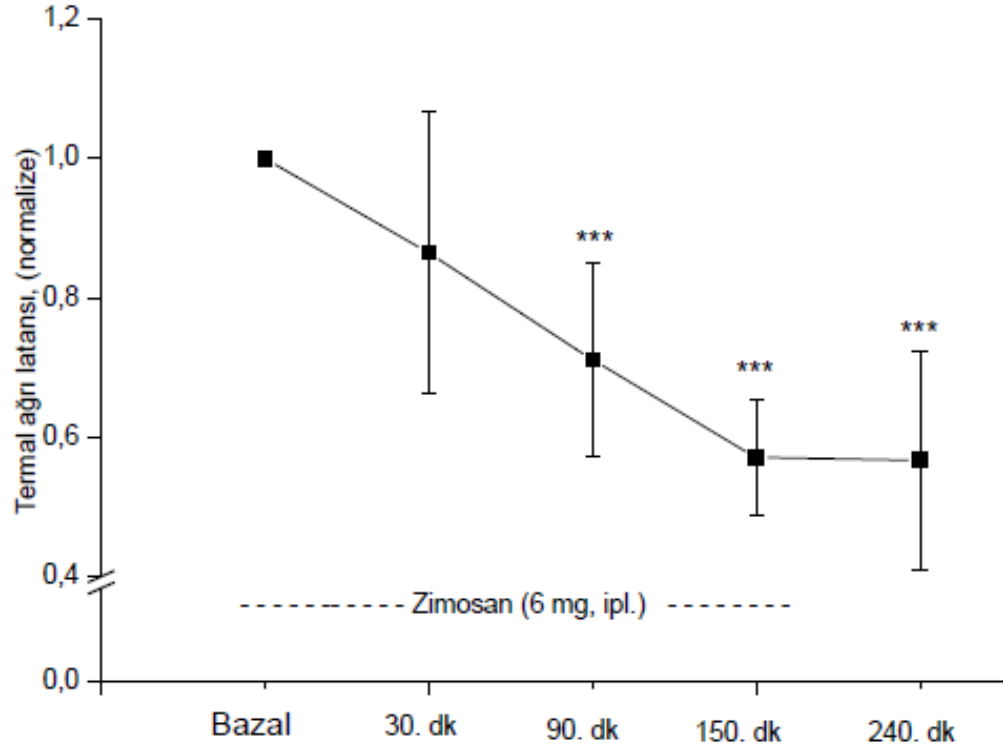
Resim 1. İntraplantar zimosan enjeksiyonu ile inflamasyon ve inflamatuvar ağrı tetiklenmesi.

A: Pati içine intraplantar enjeksiyon; B: Enjeksiyondan sonra eklem inflamatuvar görünümü; C: Ağrı ölçümü sonrası dekapite edilmiş bir sıçanda ayakların görünümü; D: Ağırlık ölçümü için kesilmiş bacakların görünümü

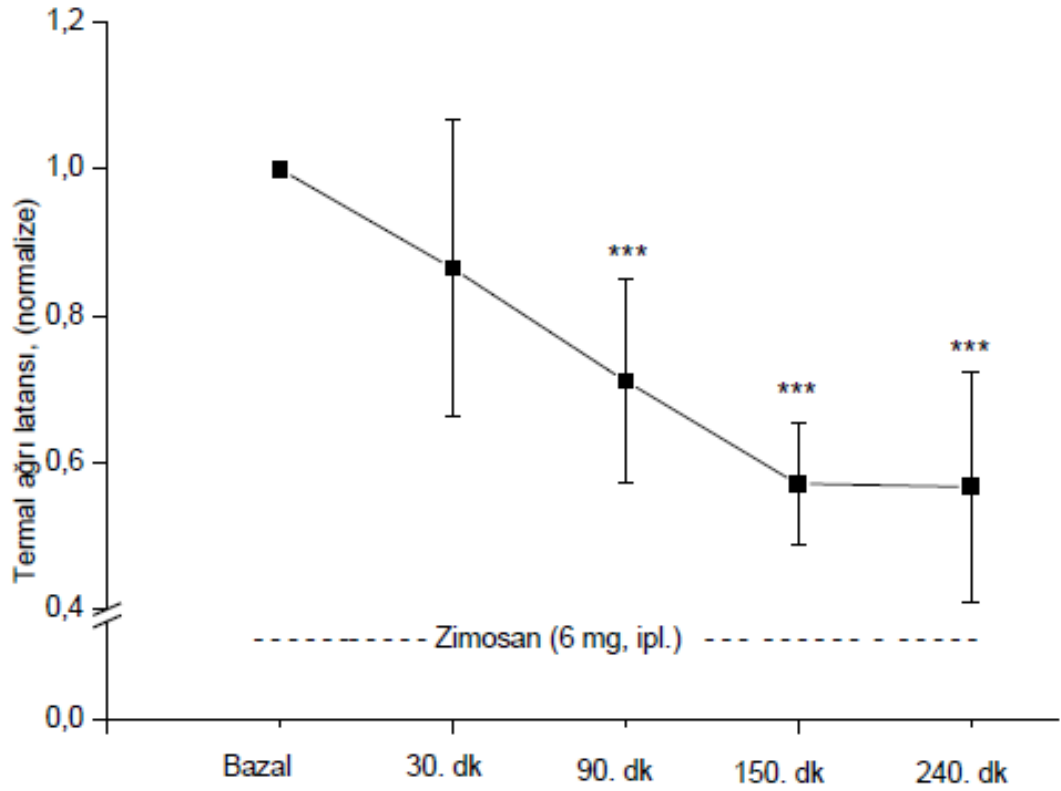
4.2. İntraplantar Zimosan Enjeksiyonuna Bağlı İnflamasyon ve Hiperaleji Gelişimi

Bu deneysel inflamatuvar ağrı modeli için literatürde tarif edilen ayrıntıya uygun olarak zimosan enjeksiyonunu takiben 30. dakikada yapılan ağrı eşiği testlerinde de ağrı duyarlılığının istatistiksel anlamlı düzeyde gerçekleştiği tespit edildi (* $P < 0.05$, ** $P < 0.001$, *** $P < 0.0001$) (Şekil 1, 2). WAG/Rij sıçanlarda zimosan ile indüklenmiş inflamatuvar ağrıda termal plantar analjezimetre testinde ağrı latensleri değerlendirildiğinde ağrı duyarlılığının 90 dakika sonra anlamlı derecede hiperaleji şeklinde gerçekleştiği ve bu artmış ağrı duyarlılığının 240. dakikada kararlı bir şekilde devam ettiği tespit edildi

(Şekil 1). Zimosan ile indüklenen inflamatuvar ağrının seyri ve etki düzeyi mekanik ağrı için de benzer profil gösterdi (Şekil 2).



Şekil 1. Erişkin WAG/Rij sıçanlarda intraplantar zimosan uygulamasına bağlı termal ağrı duyarlılığı gelişiminin zaman bağımlı seyri
Şekilde WAG/Rij sıçanlarda intraplantar zimosan enjeksiyonunu takiben termal uyarıya cevaben ağırlı ayak çekme yanıtının ortalama latansları görülmektedir. Normalize edilmiş veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak sunulmuştur. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$).

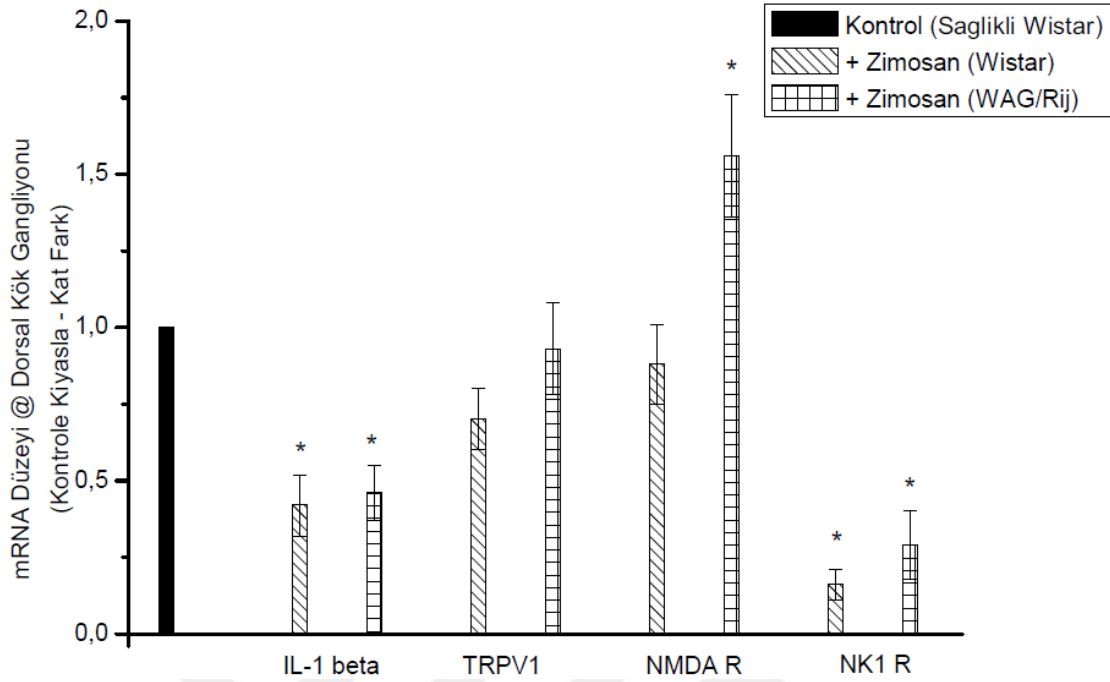


Şekil 2. İntraplantar zimosan uygulamasına bağlı mekanik ağrı duyarlılığı gelişiminin zaman bağımlı seyri
Şekilde WAG/Rij sıçanlarda intraplantar zimosan enjeksiyonunu takiben mekanik uyarıya cevaben ağırlı ayak çekme yanıtının ortalama latansları görülmektedir. Normalize edilmiş veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak sunulmuştur. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$).

4.3. İntraplantar Zimosan Enjeksiyonuna Bağlı İnflamasyon Gelişiminin Ağrı İle Alakalı Periferik ve Santral Yapılarda Gen İfadesi üzerine Etkisi

4.3.1. Dorsal Kök Gangliyonunda Gen İfadesindeki Değişiklikler

Farklı gruptaki sıçanlardan elde edilen dorsal kök gangliyonu doku örneklerinde gen anlatımındaki değişiklikler, 4 farklı gen için incelenmiştir. Gen anlatımında normalizasyon için GAPDH geni seçilmiştir. Gen anlatımlarındaki değişiklikler kendi kontrol grubuna (operasyon geçirmemiş) göre relatif kat değişimi olarak verilmiştir.

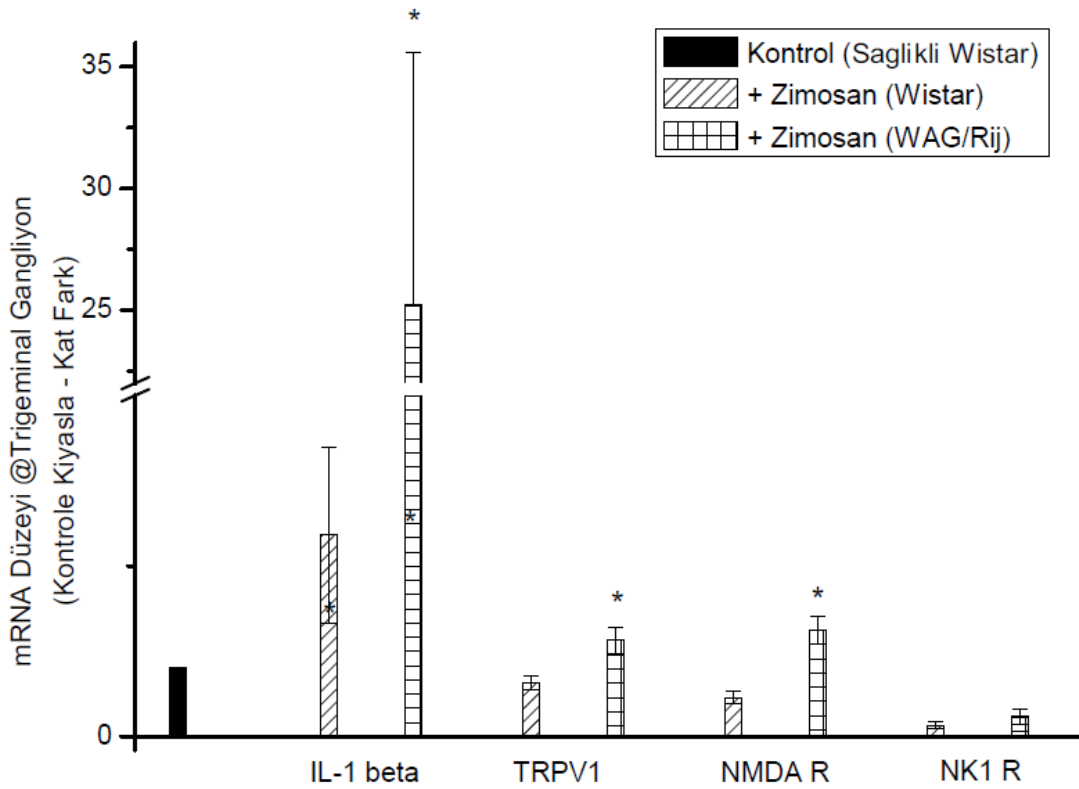


Şekil 3. Intraplantar zimosan enjeksiyonuyla periferel inflamasyon tetiklenmesinin sağlıklı Wistar ve WAG/Rij epileptik sıçanların dorsal kök gangliyonu dokusunda IL-1 beta, TRPV1, NMDA ve NK1 reseptörlerinin RT-PCR ile tayin edilmiş mRNA düzeylerine etkisi.

Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak sunulmuştur. Dokulardan izole edilen RNA'dan cDNA sentezlenmiş ve qPCR çalışması ile TRPV1, NMDAR1, NK1R ve IL-1 β olmak üzere dört ayrı genin ekspresyon seviyesindeki değişimler belirlenmiş ve kontrole göre relatif olarak ifade edilmiştir. GAPDH geni endojen kontrol olarak kullanılmıştır. *: $p < 0.05$ kontrol grubuna kıyasla.

4.3.2. Trigeminal Gangliyonunda Gen İfadesindeki Değişiklikler

Farklı gruplardaki sıçanlardan elde edilen trigeminal gangliyon doku örneklerinde gen anlatımındaki değişiklikler, 4 farklı gen için incelenmiştir. Gen anlatımında normalizasyon için GAPDH geni seçilmiştir. Gen anlatımlarındaki değişiklikler kendi kontrol grubuna (operasyon geçirmemiş) göre relatif kat değişimi olarak verilmiştir.

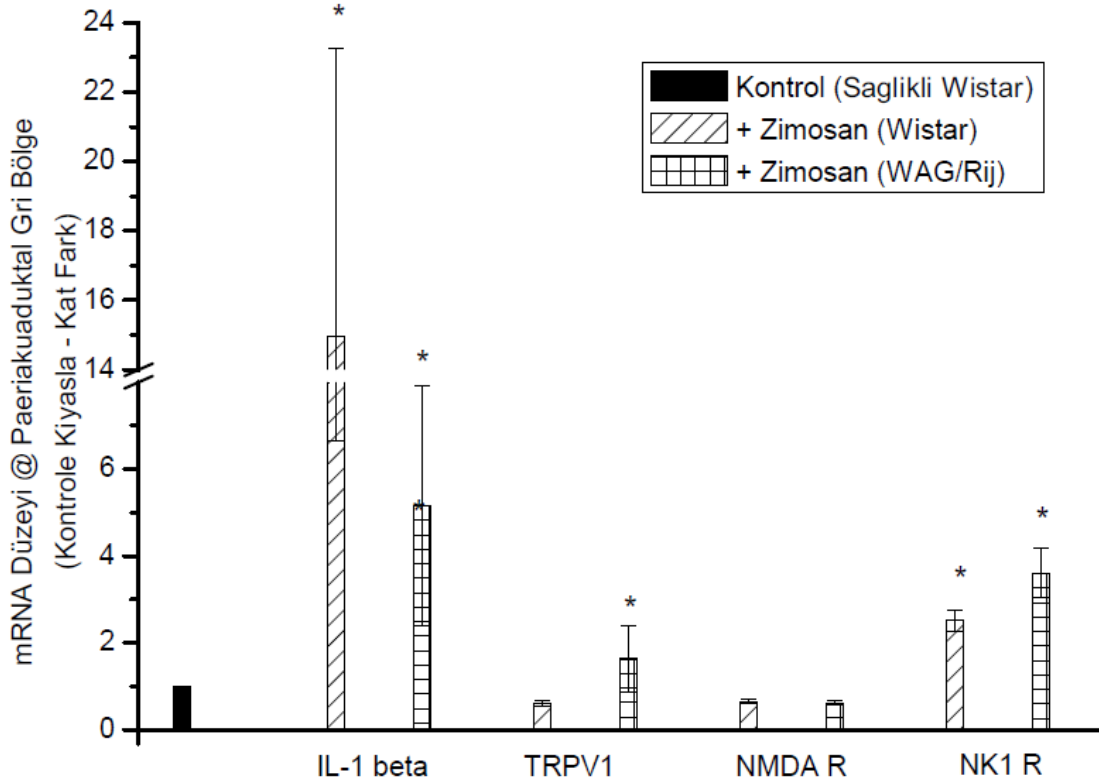


Şekil 4. İntraplantar zimosan enjeksiyonu ile periferel inflamasyon tetiklenmesinin sağlıklı Wistar ve WAG/Rij epileptik sıçanların trigeminal gangliyon dokusunda IL-1 beta, TRPV1, NMDA ve NK1 reseptörlerinin RT-PCR ile tayin edilmiş mRNA düzeylerine etkisi.

Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak sunulmuştur. Dokulardan izole edilen RNA'dan cDNA sentezlenmiş ve qPCR çalışması ile TRPV1, NMDAR1, NK1R ve IL-1 β olmak üzere dört ayrı genin ekspresyon seviyesindeki değişimler belirlenmiş ve kontrole göre relatif olarak ifade edilmiştir. GAPDH geni endojen kontrol olarak kullanılmıştır. *: $p < 0.05$ kontrol grubuna kıyasla.

4.3.3. Periaquaduktal Gri Bölgede Ağrıya Alakalı Bazı Moleküllerin Gen İfadesindeki Değişiklikler

Farklı gruplardaki sıçanlardan elde edilen periaquaduktal gri bölge doku örneklerinde gen anlatımındaki değişiklikler, 4 farklı gen için incelenmiştir. Gen anlatımında normalizasyon için GAPDH geni seçilmiştir. Gen anlatımlarındaki değişiklikler kendi kontrol grubuna (operasyon geçirmemiş) göre relatif kat değişimi olarak verilmiştir.

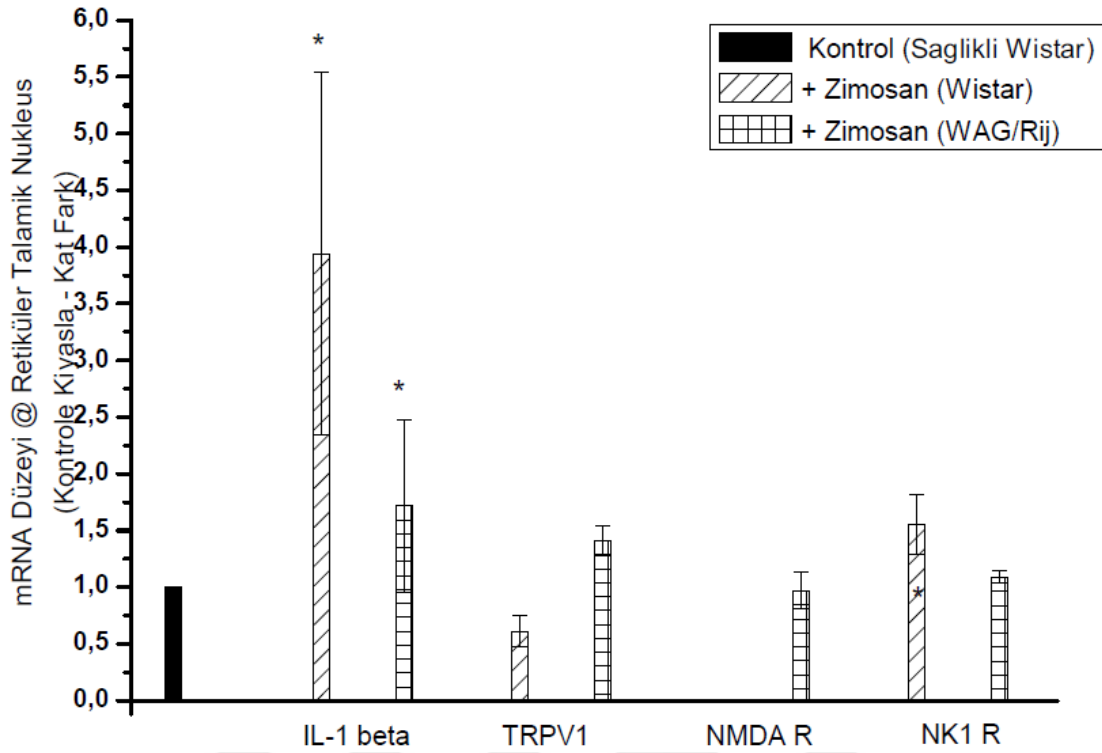


Şekil 5. İntraplantar zimosan enjeksiyonuyla periferel inflamasyon tetiklenmesinin sağlıklı Wistar ve WAG/Rij epileptik sıçanların periaküaduktal gri bölge dokusunda IL-1 beta, TRPV1, NMDA ve NK1 reseptörlerinin RT-PCR ile tayin edilmiş mRNA düzeylerine etkisi.

Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak sunulmuştur. Dokulardan izole edilen RNA'dan cDNA sentezlenmiş ve qPCR çalışması ile TRPV1, NMDAR1, NK1R ve IL-1 β olmak üzere dört ayrı genin ekspresyon seviyesindeki değişimler belirlenmiş ve kontrole göre relatif olarak ifade edilmiştir. GAPDH geni endojen kontrol olarak kullanılmıştır. *: $p < 0.05$ kontrol grubuna kıyasla.

4.3.4. Retiküler Talamik Nukleus Dokusunda Ağrıyla Alakalı Bazı Moleküllerin Gen İfadesindeki Değişiklikler

Farklı gruplardaki sıçanlardan elde edilen retiküler talamik nukleus doku örneklerinde gen anlatımındaki değişiklikler, 4 farklı gen için incelenmiştir. Gen anlatımında normalizasyon için GAPDH geni seçilmiştir. Gen anlatımlarındaki değişiklikler kendi kontrol grubuna (operasyon geçirmemiş) göre relatif kat değişimi olarak verilmiştir.

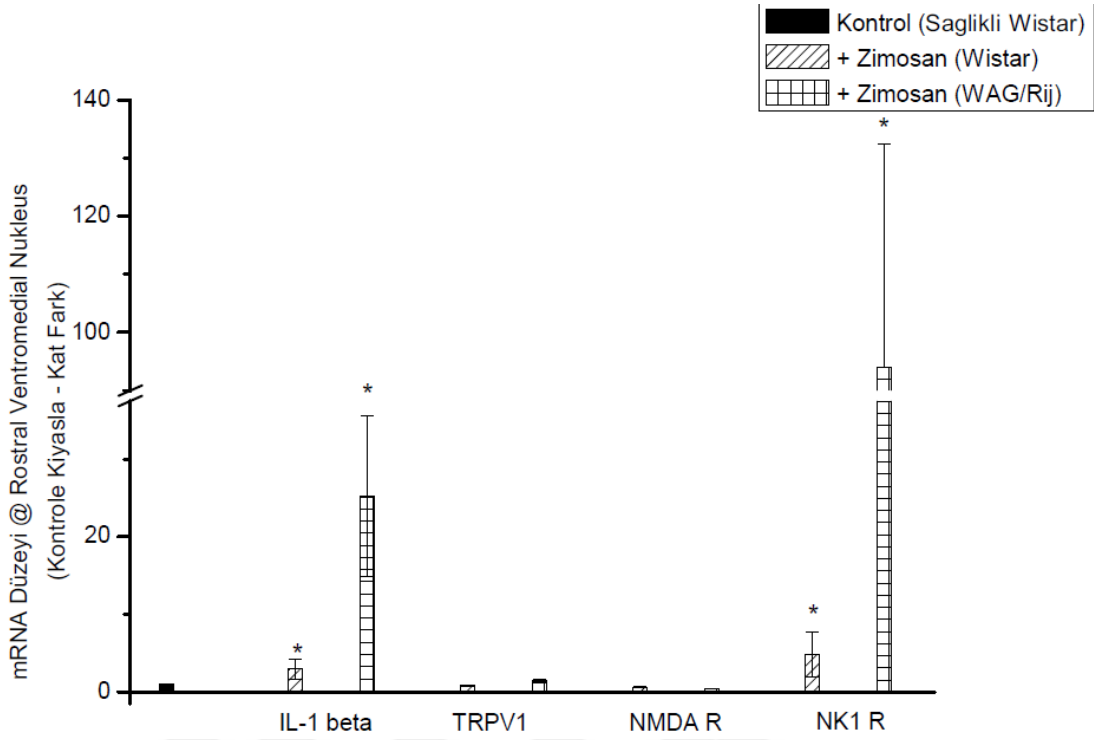


Şekil 6. İntraplantar zimosan enjeksiyonuyla periferel inflamasyon tetiklenmesinin sağlıklı Wistar ve WAG/Rij epileptik sıçanların retiküler talamik nukleus dokusunda IL-1 beta, TRPV1, NMDA ve NK1 reseptörlerinin RT-PCR ile tayin edilmiş mRNA düzeylerine etkisi.

Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak sunulmuştur. Dokulardan izole edilen RNA'dan cDNA sentezlenmiş ve qPCR çalışması ile TRPV1, NMDAR1, NK1R ve IL-1 β olmak üzere dört ayrı genin ekspresyon seviyesindeki değişimler belirlenmiş ve kontrole göre relatif olarak ifade edilmiştir. GAPDH geni endojen kontrol olarak kullanılmıştır. *: $p < 0.05$ kontrol grubuna kıyasla.

4.3.5. Rostral Ventromedial Nukleus Dokusunda Ağrıyla Alakalı Bazı Moleküllerin Gen İfadesindeki Değişiklikler

Farklı gruplardaki sıçanlardan elde edilen rostral ventromedial nukleus doku örneklerinde gen anlatımındaki değişiklikler, 4 farklı gen için incelenmiştir. Gen anlatımında normalizasyon için GAPDH geni seçilmiştir. Gen anlatımlarındaki değişiklikler kendi kontrol grubuna (operasyon geçirmemiş) göre relatif kat değişimi olarak verilmiştir.

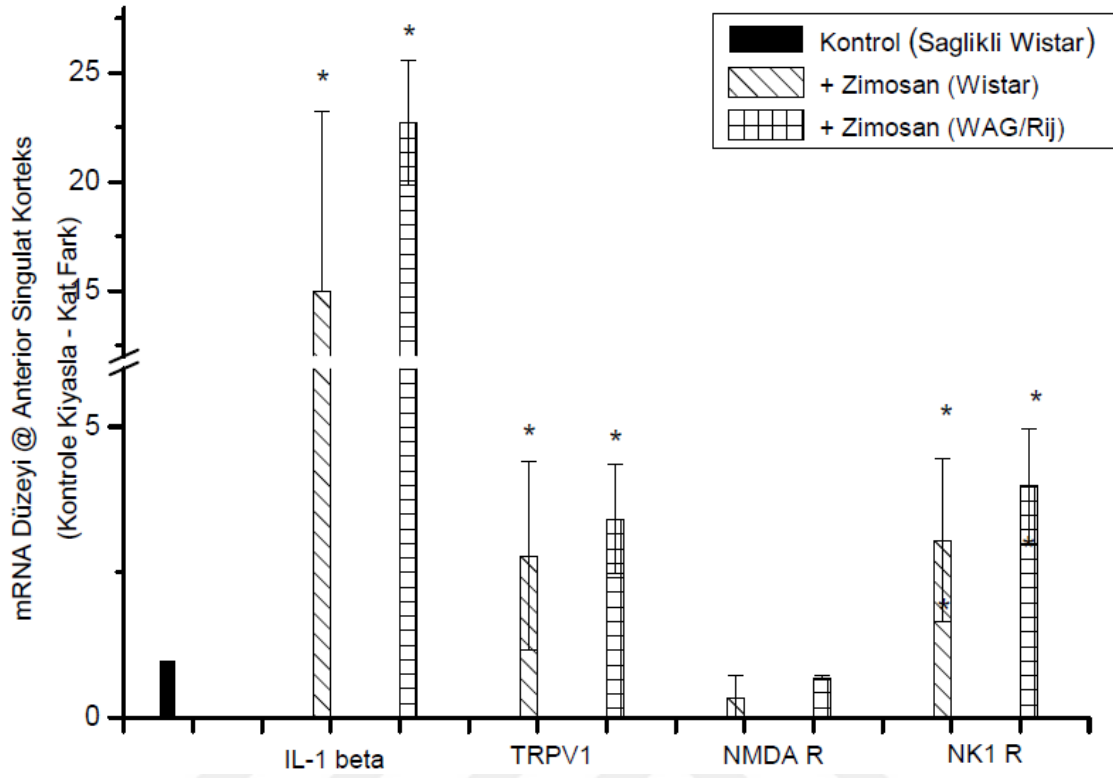


Şekil 7. İntraplantar zimosan enjeksiyonu ile periferel inflamasyon tetiklenmesinin sağlıklı Wistar ve WAG/Rij epileptik sıçanların rostral ventromedial nukleus dokusunda IL-1 beta, TRPV1, NMDA ve NK1 reseptörlerinin RT-PCR ile tayin edilmiş mRNA düzeylerine etkisi.

Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak sunulmuştur. Dokulardan izole edilen RNA'dan cDNA sentezlenmiş ve qPCR çalışması ile TRPV1, NMDAR1, NK1R ve IL-1 β olmak üzere dört ayrı genin ekspresyon seviyesindeki değişimler belirlenmiş ve kontrole göre relatif olarak ifade edilmiştir. GAPDH geni endojen kontrol olarak kullanılmıştır. *: $p < 0.05$ kontrol grubuna kıyasla.

4.3.6. Anterior Singulat Korteks Dokusunda Ağrıyla Alakalı Bazı Moleküllerin Gen İfadesindeki Değişiklikler

Farklı gruplardaki sıçanlardan elde edilen anterior singulat korteks doku örneklerinde gen anlatımındaki değişiklikler, 4 farklı gen için incelenmiştir. Gen anlatımında normalizasyon için GAPDH geni seçilmiştir. Gen anlatımlarındaki değişiklikler kendi kontrol grubuna (operasyon geçirmemiş) göre relatif kat değişimi olarak verilmiştir.



Şekil 8. İntraplantar zimosan enjeksiyonuyla periferel inflamasyon tetiklenmesinin sağlıklı Wistar ve WAG/Rij epileptik sıçanların anterior singulat korteks dokusunda IL-1 beta, TRPV1, NMDA ve NK1 reseptörlerinin RT-PCR ile tayin edilmiş mRNA düzeylerine etkisi.

Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak sunulmuştur. Dokulardan izole edilen RNA'dan cDNA sentezlenmiş ve qPCR çalışması ile TRPV1, NMDAR1, NK1R ve IL-1 β olmak üzere dört ayrı genin ekspresyon seviyesindeki değişimler belirlenmiş ve kontrole göre relatif olarak ifade edilmiştir. GAPDH geni endojen kontrol olarak kullanılmıştır. *: $p < 0.05$ kontrol grubuna kıyasla.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Ağrı, yaşam kalitesini olumsuz yönde etkilemesine rağmen aslında vücutta oluşan patolojik durumlara karşı koruyucu yönde işlev görür. Ağrının fizyopatolojisinin karmaşıklığından kaynaklı ağrının nedeni ve tedavisinde izlenilecek doğru yolun belirlenmesinde zorluklar yaşanmaktadır (123). İnflamasyon ise hücrel zararlı oluşumlara karşı organizmanın koruyucu bir yanıtıdır. İnflamasyon, vasküler düz kas hücreleri, nöronlar, immün ve inflamatuvar hücreleri hedeflediği için salınan kimyasal mediatörlerin hücreler üzerine etkileri değişkendir (124). Ağrı ve iltihaplanma, çeşitli akut ve kronik hastalıkların ayırt edici özellikleri olmasından dolayı insan sağlığı için güvenli, etkili ve bağımlılık yapıcı olmayan tedavi yöntemlerinin bulunmasına büyük bir ihtiyaç vardır (125).

Epilepsi bilişsel ve duyu bozukluklarının eşlik ettiği, tekrarlayan nöbetler ile karakterize kronik bir nörolojik bozukluktur. Bugüne kadar, hayvan modelleri ve epilepsili insan hastaları kullanan çalışmalar, epilepsi patogenezinin, glial hücreler, beyin vaskülatörü ve çevredeki lökositler gibi hem nöronal hem de nöronal olmayan bileşenlerle ilişkili olabileceğini göstermiştir (126).

Nörojenik nöroinflamasyonun, inflamatuvar ve yaralanmaya bağlı ağrı, psikolojik stres ve epilepsi de dahil olmak üzere normal ve hastalıklı MSS'de çok çeşitli koşullarda rol oynaması muhtemeldir. Nöropatik ağrı, migren, uyku, öğrenme ve hafıza oluşumu, duygudurum bozuklukları ve otizm gibi diğer işlevleri ve durumları da etkileyebilir (127).

Dünyada yaklaşık 50 milyon epilepsi hastası olduğu tahmin edilmektedir. Epilepsi hastalığının ortaya çıkışı %50'den fazla bir kesimde tespit edilebilen bir hasara veya risk faktörüne dayanmamaktadır. Tümör, felç, beyin oksijensiz kalması, nörolojik, sistematik, metabolik, toksik veya travmatik beyin hasarı, beyni etkileyen enfeksiyonlar gibi sebeplerden dolayı epilepsi sekonder olarak sonradan gelişebilir (128).

Epileptik nöbet, IL-1 β reseptörünün serum düzeylerini yükseltir. Epileptik odağın anterior temporal lobektomi ile cerrahi olarak çıkarılması sadece bu hastalarda başka epileptik nöbetleri önlemekle kalmaz, aynı zamanda IL-1 β 'nın dolaşım düzeylerini de önemli ölçüde azaltır. Mevcut veriler epileptik nöbetler sırasında nöronal aktivitenin sadece glial hücreleri aktive etmekle kalmayıp, pro-inflamatuvar sitokinlerin salınmasına

yol açtığını, aynı zamanda nörojenik nöroinflamasyonun birkaç ek parametresini de etkilediğini göstermektedir. Ayrıca epileptik nöbetlerin sıklığını ve şiddetini artırır (127).

Diken-dalga deşarjları (SWD'ler) yokluk epilepsisi ile ilişkili elektroensefalografi (EEG) özelliğidir. EEG kayıtlarından SWD'lerin belirlenmesi hem klinikte hem de yokluk epilepsisi tanısı için bir araç olarak ve araştırmada son derece önemlidir. Klinikte, hastanın EEG'sinde nöbetle ilişkili olayların varlığının belirlenmesi, uygun tedavileri tanımlamak için yeterli olabilir. Bununla birlikte, daha iyi hasta bakımı ve potansiyel hastalık mekanizmalarını belirlemek veya araştırma laboratuvarlarında ilaç tedavilerinin etkinliğini araştırmak için epilepsi ile ilgili olayların ayrıntılı skorlanması gerekir (129).

Absans epilepsisinin tedavisi genellikle çocukluk döneminde nöbetlerin tespitinden kısa bir süre sonra, tipik olarak 5-6 yaşlarında başlatılır. Genellikle çoğu çocuk ergenlik dönemindeki nöbetleri aşar, ancak önemli bir azınlık yetişkinliğinde de nöbet geçirmeye devam eder ve bu sebeple beraber önemli psikososyal sorunlara sahip olurlar (130).

Absans epilepsi ortalama 6-7 sene süren bir epilepsi türüdür. Nöbetler esnasında belirgin motor görünüm olmayıp ani olarak başlayıp biterler. Bu esnada kısa süreli bilinç kaybı, çevresel uyaranlara cevap vermeme, süregelen aktivitenin kesintiye uğraması, boş bakış gözlemlenmektedir. Bu nöbetler 5 saniye ile 2 dakika arasında değişen süreye sahiptir. Bilateral, senkron diken-dalga EEG deşarjları meydana gelmektedir. Saniyede tipik olarak 3 kere görülen bu diken-dalga deşarjların temel frekansı yaklaşık 3 Hz (2.5-4.0 Hz), genlikleri ise 100 – 1200 μV 'dir (128).

Wistar Albino Glaxo/Rijswijk sıçanları (WAG / Rij) absans epilepsinin mekanizmasını anlamaya yönelik fizyolojik ve patofizyolojik araştırmalarda sıklıkla kullanılan bir hayvan modelidir. Bu hayvanlar insan absans epilepsisi ile benzer klinik, farmakolojik ve elektroensefalografik özellikleri taşımaları sebebiyle uygun/geçerli absans modeli olarak kabul edilmektedirler. WAG / Rij sıçanları, SWD eşliğinde benzer davranışsal yanıt vermeme bölümleri geliştirir; bununla birlikte, çocuklardan farklı olarak, sıçan SWD'si daima yetişkinlikte de devam eder (128, 130). Bu hayvanlarda nöbetler esnasında davranışsal tutulma, boş bakma, nefes almada hızlanma ve bıyık hareketleri/seğrilmesi gözlemlenmektedir. WAG/Rij ırkı sıçanlarda insan absans epilepsisine benzer şekilde absans nöbetleri esnasında EEG sinyallerinde diken-dalga deşarjları oluşmaktadır. Alınan EEG sinyallerinde nöbetler esnasındaki diken-dalga deşarjların temel frekansı 7-10 Hz arasında bulunmaktadır. Diken-dalga deşarjların süresi

1-30 saniye arasında olabilmektedir. 6 aylık yetişkin sıçanlarda saatte 16-18 (günde 300-400) diken-dalga deşarjı oluşmaktadır (128).

Bu tez çalışmasında epilepsi ile inflamatuvar ağrı arasındaki ilişki deneysel modelde incelenmiştir. Periferal inflamasyon yoluyla tetiklenen ağrının davranışsal ağrı ölçümleri (hem termal hem de mekanik ağrı) ve ağrı oluşum ve algılanma mekanizmasında rol alan belirgin anatomik yapı/bölgelerde ağrı mediyatörlerinin ifade düzeyleri sağlıklı ve genetik epileptik hayvan modelinde karşılaştırmalı olarak irdelendi. Araştırmanın temel bulguları, inflamatuvar ağrı yatkınlığı ve şiddeti bakımından sağlıklı ve epileptik deney hayvanları arasında anlamlı bir fark olmadığını ortaya koymaktadır.

Dünyada yaklaşık 70 milyon insanı etkileyen epilepsi en sık görülen üçüncü nörolojik bozukluktur. Merkezi sinir sistemi bozukluğu olarak tanımlanan bu hastalık beyin aktivitesini etkileyerek nöbet ve davranış değişikliklerine yol açar. Epilepsi multifaktöryel bir hastalık olup; tekrarlayan spontan nöbetlerle karakterizedir. Mevcut anti-epileptik ilaçlara rağmen hastaların yaklaşık %30'u tedaviye dirençlidir ve hastalarda ilerleyen kognitif kayıp dahil morbiditeye yol açmakta ve epileptik odağın cerrahi uzaklaştırılması gibi alternatif yöntemlere başvurulmaktadır (131). Epilepsi tedavisinde başarıyı artırmak için patogenezin daha iyi aydınlatılmasına ihtiyaç vardır. Genetik yatkınlık, gelişme bozuklukları ve bu esnada maruz kalınan hasarlar (travmatik beyin hasarı, serebrovasküler olaylar, febril nöbetler, merkezi sinir sistemi enfeksiyonları ve strok epilepsi vakalarının yaklaşık %70'inde rol ilişkisi kurulabilen faktörlerdir (132, 133). Epilepside inflamasyonun rolü (hem sebep hem de sonuç olduğuna yönelik görüş ve kanıtlar vardır) belirgin olmakla birlikte (134); bu inflamasyonun epileptogenezin sebebi mi sonucu mu olduğu konusu hala tartışma konusudur (135). İnflamasyon sonucu kan beyin bariyerinin artmış geçirgenliğinin epileptogeneze yol açan sürecin erken safhalarında belirgin olduğu kabul edilmekte; artmış kan beyin bariyeri geçirgenliği sonucu inflamatuvar mediyatörlerin beyine nüfuz ettiği ve nöroinflamasyonu güçlendirdiği kabul edilmektedir (136, 137).

Aralarında interlökinler (IL-1 beta ve IL-6 dahil), interferonlar, siklo-oksijenaz 2,tömör nekrozis faktör, nükleer faktör kappa B ve prostoglandin E'nin de yer aldığı inflamatuvar mediyatörlerin aktivasyonu nöbet gelişimine katkıda bulunur (138, 139).

İnflamatuvar mediyatörler farklı beyin bölgelerinde reseptörlerine bağlanarak moleküler düzeyde çeşitli hücresel süreçleri ve beyin tamir mekanizmalarını aktive eder ve

bu aktivasyonlar nöbet gelişimine aracılık eder (140). İnflamatuar hücre ve moleküllerin aktivasyon/rezolüsyonunun düzenlenmesindeki aksaklıkların epilepsi gelişiminde rol aldığı kabul edilmektedir. Bu sayılan inflamatuvar faktörlerin santral yolla epileptogeneze katkı sağladığı ve nöbetleri tetiklemesi yanında periferel inflamasyonun da benzeri etki gösterdiğine yönelik kanıtlar mevcuttur (141). Bu tez çalışmasında periferel inflamasyon modeli kullanılmıştır; aslında periferel inflamatuvar ağrı tetiklenerek sağlıklı ve genetik epileptik sıçan modelinde ağrı duyarlılığı irdelenmiştir. Ancak, mevcut tez çalışmasında tetiklenen periferel inflamasyonun nöbetlerin sıklığı üzerine etkileri incelenmemiş; bulgular ve bu tartışmanın ilerleyen kısmında daha ayrıntılı olarak ele alındığı gibi ağrı latansı üzerine ve ağrı yolağında yer alan önemli anatomik bölgelerde ağrıyla alakalı mediyatörler üzerine etkileri incelenmiştir.

İlaçlara dirençli epileptik (temporal lob epilepsili hastalar dahil olmak üzere) hastaların beyin bölgelerinden rezeke edilen dokularda çeşitli inflamatuvar mediatörler tespit edilmiştir (142, 143).

Beyinde inflamasyon nöbetlerin gelişmesi ve hücre ölümüne; bu da ilave inflamasyon ve epilepsiye yani birbirini tetikleyen kör düğüm sürecine yol açmaktadır. Yine deneysel epilepsi modellerinde akut nöbetin inflamasyonu tetiklediğini, kronik nöbetin ise kronik inflamasyona yol açtığını göstermiştir (142, 144).

Bu araştırmada, özellikle IL-1 beta düzeyi bakımından epileptik WAG/Rij sıçan ve epileptik olmayan sağlıklı Wistar cinsi sıçanlar arasında anlamlı fark bulunmuştur. Bu fark, RVMN, RTN, ACC dokularında belirgin iken; dorsal kök gangliyonunda mevcut değildi.

İlave olarak, anti-inflamatuar ilaçların direk uygulanması standart anti-epileptik ilaçlara dirençli bazı epilepsi tiplerinde nöbetleri baskıladığı bilinmektedir. Örneğin adrenokortikotropik hormon (ACTH) infantil spazmların tedavisinde ilk seçenek tedavidir (145). ACTH tedavisi ile steroid hormon düzeyinin artırılmasının başka tedavilere cevapsız West sendromunda etkili olduğu bilinmektedir (146). İlave olarak, intravenöz immunoglobulin (IVIG) uygulamasının da dirençli epilepsilerde kontrol sağladığı ve bunu sitokin düzeyinde azalma astrosit aktivitesini baskılayarak sağladığı tespit edilmiştir (147, 148). Epilepsi tedavisinde kullanılan ilaçların anti-glial etkilerinin yanında anti-inflamatuar etkinliğe sahip olması gerektiği fikrinin doğmasına yol açan bu bulgular epilepside inflamasyonun da belirgin olduğunu ortaya koymaktadır. IL-1 β hasar sonucu açığa çıkan bir pro-inflamatuar sitokin olup çeşitli kalıcı ağrı durumlarında ifade düzeyinin arttığı

bilinmektedir (149, 150). IL-1 β 'nın akut ve kronik ağrıyla ilişkisi ile uyumlu olarak, IL-1 β 'nin kendi reseptörüne bağlanması sonucunda nöropatik ağrı da ateşlenir (151). Nositseptif duyuşal nöronlarda (bu tez çalışmasında DKG nöronlarında seviyesi irdelenmiştir) voltaj kapılı iyon kanallarının açılmasını modüle ederek hücre uyarılabilirliğini artırır. Mevcut tez çalışmasında DKG hücrelerinde IL-1 beta ekspresyonu incelenmiş ve inflamasyon tetiklenmesi sonrası hem sağlıklı kontrol hem de WAG/Rij epileptik hayvanlarda anlamlı derecede bulunmuştur. Trigeminal gangliyonda da benzeri bulgular elde dildi. Literatürde farelerde zimosanla indüklenen peritonitte IL-1 beta düzeyinin 4-24 saat arasında pik yaparak ardından düşüş gösterdiği bildirilmiştir (152). Bu araştırmada kullanılan inflamatuvar modelde daha önce yapılan araştırmalarda DKG dahil IL-1 beta ölçümü yapılan anatomik bölgelerde yapılmadığından bulguların kıyası yapılamamaktadır. Ancak, periferel inflamasyonun bu mediyatör aktivitesinde artışa yol açtığı açıktır.

IL-1 beta düzeyi PAG'de sağlıklı kontrole göre, zimosan enjekte edilmiş sağlıklı Wistar ve WAG-Rij sıçanlarda anlamlı derecede yüksek tespit edildi. IL-1 beta ifadesi bakımından WAG-Rij sıçanlar sağlıklı Wistarlara göre daha kısıtlı bir artış tespit edildi. Kıyas yapılacak benzer çalışma bulunmamakla beraber; epileptik WAG/Rij sıçanlarda tespit edilen bu yüksek IL-1 beta seviyesi ağrı iletim yolağında yer alan bu merkezi sinir sistemi kısmında inflamasyonun belirgin olarak daha yüksek olduğunu göstermektedir. IL-1 beta düzeyi RTN'de sağlıklı kontrole göre, zimosan enjekte edilmiş sağlıklı Wistar ve WAG-Rij sıçanlarda anlamlı derecede yüksek tespit edildi. IL-1 beta ifadesi bakımından WAG-Rij sıçanlar sağlıklı Wistarlara göre daha kısıtlı bir artış tespit edildi. Kıyas yapılacak benzer çalışma bulunmamakla beraber; epileptik WAG/Rij sıçanlarda tespit edilen bu yüksek IL-1 beta seviyesi ağrı iletim yolağında yer alan bu merkezi sinir sistemi kısmında inflamasyonun belirgin olarak daha yüksek olduğunu göstermektedir. IL-1 beta düzeyi DKG'da sağlıklı kontrole göre, zimosan enjekte edilmiş sağlıklı Wistar ve WAG-Rij sıçanlarda anlamlı derecede düşük tespit edildi. Kıyas yapılacak benzer çalışma bulunmamakla beraber; epileptik WAG/Rij sıçanlarda tespit edilen bu yüksek IL-1 beta seviyesi ağrı iletim yolağında yer alan bu merkezi sinir sistemi kısmında inflamasyonun belirgin olarak daha yüksek olduğunu göstermektedir. IL-1 beta düzeyi ACC'de sağlıklı kontrole göre, zimosan enjekte edilmiş sağlıklı Wistar ve WAG-Rij sıçanlarda anlamlı derecede yüksek tespit edildi. IL-1 beta ifadesi bakımından WAG-Rij sıçanlar sağlıklı

Wistarlara göre çok belirgin olarak yüksek tespit edildi. Kıyas yapılacak benzer çalışma bulunmamakla beraber; epileptik WAG/Rij sıçanlarda tespit edilen bu yüksek IL-1 beta seviyesi ağrı iletim yolağında yer alan bu merkezi sinir sistemi kısmında inflamasyonun belirgin olarak daha yüksek olduğunu göstermektedir. IL-1 beta düzeyi RVM’de sağlıklı kontrole göre, zimosan enjekte edilmiş sağlıklı Wistar ve WAG-Rij sıçanlarda anlamlı derecede yüksek tespit edildi. IL-1 beta ifadesi bakımından WAG-Rij sıçanlar sağlıklı Wistarlara göre çok belirgin olarak yüksek tespit edildi. Bu dokularda IL-1 β ifade düzeyinin yüksek bulunması epilepsi ve eklenen ağrıya bağlı olarak bu dokularda uyarılmanın arttığını gösterebilir. Zira, *in vivo* deneysel çalışmaların bulguları IL-1 β ’nın hipereksitabiliteye yol açtığını ve intraserebroventriküler olarak uygulanan IL-1 β ’nın kemirgenlerde kainik asit veya bikukulinden önce uygulandığında; bu ajanlarla tetiklenen nöbetleri artırdığı gösterilmiştir (153, 154). Uyumlu olarak; farelerde IL-1 reseptör antagonisti uygulaması sonucunda antikonvulzan etki göstermektedir (154).

Tranzient reseptör potansiyeli vaniloid tip 1 (TRPV1) reseptörleri (aynı zamanda kapsaisin reseptörü olarak da anılırlar), duyuşal sistemde yoğun olarak bulunur ve ağrı ve inflamasyon için kritik role sahiptir (155). Kronik, özellikle inflamatuvar ağrıda anahtar rol üstlendikleri de bilinmektedir. TRPV1 reseptörlerinin fiziksel (ısı ve mekanik uyarı) ve kimyasal faktörler (ör., protonlar, kapsaisin, resiniferatoksin ve endovanilloidler gibi endojen kimyasallar) tarafından aktive edildikleri bilinmektedir. Aynı zamanda ısı detektörü olarak da görev yapan alt tipleri olan TRP kanallarının TRPV1 alt tipinin epilepside, özellikle febril epilepside kritik rol oynadığı fare modelinde gösterilmiş; pro-inflamatuvar faktörlerle birlikte beyinde arttığı tespit edilmiştir. Ayrıca, TRPV1 knock-out fare modelinde febril epilepsi nöbet tetiklemenin yabani farelere göre latansının uzadığı, süresinin kısaldığı ve şiddetinin azaldığı bildirilmiştir. İlgili araştırmanın bulguları TRPV1 ifadesinin azalmasının bir koruma mekanizması olduğu ve düşüşün febril konvülsiyonlara karşı bir koruyucu mekanizma olarak devreye girdiği yorumlanmıştır (156).

Bu tez çalışmasında periferel ağrı duyarlılığı için irdelenen dokulardan DKG nöronlarında inflamasyon tetiklenmesi sonucunda DKG hücrelerinde TRPV1 ekspresyonunun anlamlı bir düzeyde değişmediği; TG gangliyonunda ise WAG/Rij epileptik sıçanlarda arttığı tespit edildi. Zimosanla inflamasyon tetiklenen WAG/Rij epileptik sıçanlarda PAG ve ACC dokularında kontrole göre anlamlı düzeyde arttığı (sağlıklı Wistarlarda değil) RTN ve RVM’de anlamlı düzeyde değişmediği tespit edildi. Bu

araştırmada kullanılan inflamatuvar modelde daha önce yapılan araştırmalarda DKG dahil TRPV1 ifade düzeyi ölçümü yapılan anatomik bölgelerde yapılmadığından bulguların direk olarak literatür verisi ile kıyası yapılamamaktadır. Ancak, bu modelde TRPV1 düzeyinin ağrı iletiminde rol alan merkezi yapılarda periferden daha belirgin arttığı dikkat çekmektedir.

N-methyl-D-aspartat (NMDA) reseptörleri, glutamat iyonotropik reseptör ailesine aittir. Epilepsi ve inflamasyon ilişkisi bakımından irdelendiğinde; temel inflamatuvar mediyatör olan IL-1 β 'nin post-sinaptik hücrelerde NMDA reseptörlerini upregule ederek epileptik nöbetleri tetiklediği gösterilmiştir (157). Yine, periferel NMDA, sıçanlarda tetiklenen temporomandibular eklem ağrısında duyarlılık artışına yol açtığı bildirilmiştir (158). Çeşitli deneysel epilepsi modellerinde NMDA reseptör antagonistlerinin monoterapi şeklinde uygulamasının status epilepsi nöbetlerini durdurduğu (159). Bu bilgiler NMDA reseptör antagonsitlerinin epilepsi tedavisinde ilaç olama ihtimalini gündeme getirmiştir (160). Aynı durum, ağrı için de geçerlidir (161). NMDA reseptörlerinin WAG/Rij sıçanlarda gerçekleşen nöbetlere katkı sağladığı bildirilmiştir (162).

Bu tez çalışmasında periferel ağrı duyarlılığı için irdelenen dokulardan DKG nöronlarında inflamasyon tetiklenmesi sonucunda DKG hücrelerinde TRPV1 ekspresyonunun kontrole göre anlamlı bir düzeyde arttığı bu artışın WAG/Rij epileptik sıçanlarda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde olduğu, sağlıklı Wistarlarda ise anlamlı bir değişim olmadığı tespit edildi. TG'de ise durumun tam ters olduğu tespit edildi. Zimosanla inflamasyon tetiklenen WAG/Rij epileptik sıçanlarda PAG, RTN, RVMN ve ACC dokularında kontrole göre anlamlı düzeyde değişmediği tespit edildi. Bu araştırmada kullanılan inflamatuvar modelde daha önce yapılan araştırmalarda DKG dahil NMDA ifade düzeyi ölçümü yapılan anatomik bölgelerde yapılmadığından bulguların direk olarak literatür verisi ile kıyası yapılamamaktadır. Ancak, bu modelde TRPV1 düzeyinin ağrı iletiminde rol alan merkezi yapılardan ziyade periferel yapılarda daha belirgin arttığı dikkat çekmektedir.

Taşikininler (ör P maddesi), merkezi ve periferel sinir sisteminde çeşitli fonksiyon yapmaktadır. P maddesi nörokinin-1 (NK1R) reseptörüne bağlanır ve baktetiyel, viral, parazitik ve nörodejeneratif hastalıklarda rol almaktadır. P maddesi ve NK1 reseptörleri epilepsiye ilave olarak akut ve kronik ağrıda da rol oynamaktadır (163). Temporal lob epilepside NK1 reseptör sistem aracılı sinaptik transmisyon ve epileptiform aktivitenin arttığı

tespit edilmiştir (164). NK1 reseptör antagonistlerinin kainik asit ile tetiklenen epileptiform aktiviteyi baskıladığı bilinmektedir (165, 166).

Bu tez çalışmasında periferik ağrı duyarlılığı için irdelenen dokulardan DKG nöronlarında inflamasyonun tetiklenmesi sonucunda DKG hücrelerinde NK1 ekspresyonunun kontrole göre anlamlı bir düzeyde düştüğü bu düşüşün hem WAG/Rij epileptik sıçanlarda hem de sağlıklı Wistarlarda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde olduğu tespit edildi. TG'de de belirgin düşüş olmasına rağmen bu düşüşün anlamlı derecede olmadığı tespit edildi.

Zimosanla inflamasyon tetiklenen WAG/Rij epileptik sıçanlarda PAG, RTN, RVMN ve ACC dokularında kontrole göre anlamlı düzeyde arttığı tespit edildi. Bu araştırmada kullanılan inflamatuvar modelde daha önce yapılan araştırmalarda DKG dahil NMDA ifade düzeyi ölçümü yapılan anatomik bölgelerde yapılmadığından bulguların direk olarak literatür verisi ile kıyası yapılamamaktadır. Ancak, bu modelde NK1 düzeyinin ağrı iletiminde rol alan merkezi yapılarda periferik yapılardan daha belirgin arttığı dikkat çekmektedir.

Bu tez çalışmasında da absans epileptik sıçanlarda zimosanla tetiklenen inflamatuvar ağrıda TRPV1 iyon kanalı/reseptör ifadesinin rol alıp almadığı hem periferik hem de santral ağrı iletim yollarında irdelendi. Bu tez çalışmasında kullanılan protokole benzer protokol ile epileptik olmayan farelerde gerçekleştirilen deneysel araştırmada, kasta indüklenen inflamasyonun tetiklediği termal ve mekanik ağrı duyarlılığı artışında TRPV1 iyon kanalı/reseptörlerinin anlamlı rol oynadığı tespit edilmiştir (17). Ancak, WAG/Rij sıçanlarda bu konuda bilgi mevcut değildir ve bu tez araştırmasına konu edilmiştir. Bu yönüyle TRPV1 antagonistleri inflamasyona bağlı hiperaleji tedavisi için umut vaat etmektedir (18) ancak henüz yeterince etkin ve selektif bir ajan geliştirilememiştir. Ancak bazal koşullarda önemli fizyolojik rolleri (termoregülasyon, nörojenesis ve idrar kesesi fonksiyonu) olması nedeniyle TRP V1 antagonsitlerinin ağrı dindirmek üzere genel bloğu rasyonalize edilmelidir ve diğer bütün anti-inflamatuvar ajanlar gibi seçicilik dikkate alınmalıdır (19). Yani, bu tez çalışması ile epileptik hayvanlarda inflamatuvar ağrı duyarlılığında rolü ortaya konabilse de çok seçici farmakolojik ajana ihtiyaç vardır. İnflamasyon sonucu aktive olan ve ağrı duyarlılığı artışına yol açan sitokin kaskadı da son derece komplekstir (20).

Sonuç olarak, bu araştırma sonucunda elde edilen veriler absans epilepsi ile inflamatuvar ağrı arasındaki ilişkiyi daha iyi anlayabilmek için, inflamatuvar ağrı duyarlılığının epilepside nasıl değiştiğini anlamak ve gelecekte ağrı duyarlılığında santral ve periferik mekanizmaların rollerine yönelik literatüre katkıda bulunma potansiyeli olan veriler elde edilmiştir. Ancak patofizyolojinin kompleks olması ve deney tasarımının kısıtlılıkları nedeniyle; santral ve periferik mekanizmalar ve ağrı mediyatörlerinin rolü net olarak açıklanamamıştır. Bu konuda ileri araştırmalara ihtiyaç vardır.



6. KAYNAKLAR

1. Aydın ON (2002). Ağrı ve ağrı mekanizmalarına güncel bakış. Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 3: 37-48.
2. Önal A (2005). Ağrı duyusu ile ilgili temel kavramlar: nörofizyopatolojik mekanizmalar, endojen opioid peptidler ve opioidergik reseptörler. Türkiye Klinikleri Dahili Tıp Bilimleri Dergisi 1: 1-14.
3. König HH, Bernert S, Angermeyer MC (2005). Health status of the German population: results of a representative survey using the EuroQol questionnaire. Gesundheitswesen 67: 173-182.
4. Olesen AE, Andresen T, Staahl C, Drewes AM (2012). Human experimental pain models for assessing the therapeutic efficacy of analgesic drugs. Pharmacol Rev 64: 722-779.
5. Ossipov MH, Morimura K, Porreca F (2014). Descending pain modulation and chronification of pain. Curr Opin Support Palliat Care 8: 143-151.
6. Karaman H, Kavak ÖG (2010). Ağrı kliniğimizin bir yıllık olgu analizi. Pamukkale Tıp Dergisi 3: 17-22.
7. Leber PD, Davis CS (1998). Threats to the validity of clinical trials employing enrichment strategies for sample selection. Control Clin Trials 19: 178-187.
8. Bovenkerk B, Kaldewaij F (2015). The use of animal models in behavioural neuroscience research. Curr Top Behav Neurosci 19: 17-46.
9. Verma R, Viridi JK, Singh N, Jaggi AS (2019). Animal models of spinal cord contusion injury. Korean J Pain 32: 12-21.
10. Velioglu SK, Gedikli O, Yıldırım M, Ayar A (2018). Does pain sensitivity increase during ictal period? Evidence from absence epileptic WAG/Rij rats. Epilepsy & Behavior 87: 14-17.
11. Velioglu SK, Gedikli O, Yıldırım M, Ayar A. (2017). Epilepsy may cause increased pain sensitivity: Evidence from absence epileptic WAG/Rij rats. Epilepsy & Behavior 75: 146-150.
12. Kidd BL, Urban LA (2001). Mechanisms of inflammatory pain. Br J Anaesth 87: 3-11.
13. Su YS, Sun WH, Chen CC (2014). Molecular mechanism of inflammatory pain. World J Anesthesiol 3: 71-81.

14. Guan Z, Hellman J, Schumacher (2016). Contemporary views on inflammatory pain mechanisms: TRPping over innate and microglial pathways. *F1000 Res* 5: 2425.
15. Woolf CJ, Costigan M (1999). Transcriptional and posttranslational plasticity and the generation of inflammatory pain. *Proc Natl Acad Sci USA* 96: 7723–7730.
16. DeLeo JA (2006). Basic science of pain. *J Bone Joint Surg Am* 88: 58–62.
17. Imbe H, Iwata K, Zhou QQ, Zou S, Dubner R, Ren K (2001). Orofacial deep and cutaneous tissue inflammation and trigeminal neuronal activation. Implications for persistent temporomandibular pain. *Cells Tissues Organs* 169: 238–247.
18. Pace MC, Mazzariello L, Passavanti MB, Sansone P, Barbarisi M, Aurilio C (2006). Neurobiology of pain. *J Cell Physiol* 209: 8–12.
19. Walder RY, Radhakrishnan R, Loo L, Rasmussen LA, Mohapatra DP, Wilson SP, Sluka KA (2012). TRPV1 is important for mechanical and heat sensitivity in uninjured animals and development of heat hypersensitivity after muscle inflammation. *Pain* 153: 1664-1672.
20. Roberts LA, Connor M (2006). TRPV1 antagonists as a potential treatment for hyperalgesia. *Recent Pat CNS Drug Discov* 1: 65-76.
21. Alawi K, Keeble J (2010). The paradoxical role of the transient receptor potential vanilloid 1 receptor in inflammation. *Pharmacol Ther* 125: 181-195.
22. Cook AD, Christensen AD, Tewari D, McMahon SB, Hamilton JA (2018). Immune cytokines and their receptors in inflammatory pain. *Trends Immunol* 39: 240-255.
23. Ökten Aİ (2016). Ağrı ve sanat. *Türk Nöroşirürji Dergisi* 26: 1-4.
24. Cohena M, Quintnerb J, Rysewyk S (2018). Reconsidering the international association for the study of pain definition of pain. *Pain Rep* 3: e634.
25. Sabatowski R, Schäfer D, Kasper SM, Brunsch H, Radbruch L (2004). Pain treatment: a historical overview. *Curr Pharm Des* 10: 701-716.
26. Germossa GN (2018). History pain and pain management. *Res Med Eng Sci* 3: 247-249.
27. Duncan G (2000). Mind-body dualism and the biopsychosocial model of pain: what did descartes really say? *J Med Philos* 25: 485-513.
28. Cohen M, Quintnerb J, Rysewykc SV (2018). Reconsidering the international association for the study of pain definition of pain. *Pain Rep* 3: e634.
29. Merskey H (1994). Classification of chronic pain. Bogduk (eds): 2nd ed. IASP Task Force on Taxonomy IASP Press, Seattle.

30. Siddall PJ, Taylor DA, Cousins MJ (1997). Classification of pain following spinal cord injury. *Spinal Cord* 35: 69–75.
31. Walk D, Poliak-Tunis M (2016). Chronic pain management. *Med Clin North Am* 100: 1–16.
32. Woolf CJ (1995). Somatic pain-pathogenesis and prevention. *Br J Anaesth* 75: 169–176.
33. Carr DB, Goudas LC (1999). Acute pain. *Lancet* 353: 2051-2058.
34. IASP. IASP Taxonomy (2012). Available online: <http://www.iasp-pain.org/Education/Content.aspx?ItemNumber=1698&navItemNumber=576>
35. Caraceni A, Shkodra M (2019). Cancer pain assessment and classification. *Cancers (Basel)* 11: 510.
36. Campbell JN, Meyer RA (2006). Mechanisms of neuropathic pain. *Neuron* 52: 77–92.
37. Saarto T, Wiffen PJ (2007). Antidepressants for neuropathic pain. *Cochrane Database Syst Rev* 4: 1–79.
38. Hussein AE, Esfahani DR, Moisak GI, Rzaev JA, Slavin KV (2018). Motor cortex stimulation for deafferentation pain. *Curr Pain and Headache Rep* 22: 45.
39. Sumitani M, Miyauchi S, McCabe CS, Shibata M, Maeda L, Saitoh Y, Mashimo T (2008). Mirror visual feedback alleviates deafferentation pain, depending on qualitative aspects of the pain: a preliminary report. *Rheumatology (Oxford)* 47: 1038–1043.
40. Joychan S, Kazi R, Patel DR (2016). Psychosomatic pain in children and adolescents. *J Pain Manage* 9: 155-160.
41. Chhabria A (2015). Psychogenic pain disorder - Differential diagnosis and treatment. *J Assoc of Physicians India* 63: 36-40.
42. Aygin D, Var G (2012). Travmalı hastanın ağrı yönetimi ve hemşirelik yaklaşımları. *Sakarya Tıp Dergisi* 2: 61-70.
43. Aronoff GM (2016). What do we know about the pathophysiology of chronic pain? *Med Clin North Am* 100: 31–42.
44. Moloney RD, Johnson AC, O'Mahony SM, Dinan TG, Greenwood-Van Meerveld B, Cryan JF (2015). Stress and the microbiota-gut-brain axis in visceral pain: relevance to irritable bowel syndrome. *CNS Neurosci Ther* 22: 102–117.
45. Cervero F, Malaird J (1999). Visceral pain. *Lancet* 353: 2145–2148.

46. Blanton HL, Bergeson SE, Morgan DJ, Guindon J (2019). Alcohol and pain interactions. In: Preedy VR (Ed.), *Neuroscience of Alcohol*. Academic Press, United States, Pages: 217–226.
47. Uyar M, Köken İ (2017). Kronik ağrı nörofizyolojisi Neurophysiology of chronic pain. *Türk Ortopedi ve Travmatoloji Birliği Derneği Dergisi* 16: 70–76.
48. Gupta A, Tankha P, Ahmad M (2017). Chronic pain management and maxillofacial surgery. In: Ferneini EM, Bennett JD (Eds.), *Perioperative Assessment of the Maxillofacial Surgery Patient*. Springer, Switzerland, Pages: 359–371.
49. Baliki MN, Apkarian AV (2015). Nociception, pain, negative moods, and behavior selection. *Neuron* 87: 474–491.
50. Yağcı Ü, Saygın M (2019). Ağrı fizyopatolojisi. Pain physiopathology. *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 26: 209-220.
51. Rajneesh K, Bolash R (2018). Pathways of pain perception and modulation. In: Cheng J, Rosenquist R (Eds.), *Fundamentals of Pain Medicine*. Springer, Cham, Pages: 7-11
52. Farag E, Yared M, Esa WAS, Ritchey M, Soliman LM (2018). Surgical Pain. In: Cheng J, Rosenquist R (Eds.), *Fundamentals of Pain Medicine*. Springer, Cham, Pages: 103–111.
53. Alles SRA, Smith PA (2018). Etiology and pharmacology of neuropathic pain. *Pharmacol Rev* 70: 315–347.
54. Luz LL, Fernandes EC, Sivado M, Kokai E, Szucs P, Safronov BV (2015). Monosynaptic convergence of somatic and visceral C-fiber afferents on projection and local circuit neurons in lamina I. *Pain* 156: 2042–2051.
55. Zhang H, Li Y, Yang Q, Liu XG, Dougherty PM (2018). Morphological and physiological plasticity of spinal lamina II GABA neurons is induced by sciatic nerve chronic constriction injury in mice. *Front Cell Neurosci* 12: 143.
56. Fisher RS, Boas W van E, Blume W, Elger C, Genton P, Lee P, Engel J (2005). Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). *Epilepsia* 46: 470–472.
57. Fisher RS, Acevedo C, Arzimanoglou A, Bogacz A, Cross JH, Elger CE, Engel J Jr, Forsgren L, French JA, Glynn M, Hesdorffer DC, Lee BI, Mathern GW, Moshé SL,

- Perucca E, Scheffer IE, Tomson T, Watanabe M, Wiebe S (2014). ILAE official report: a practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia* 55: 475–482.
58. Fiest KM, Sauro KM, Wiebe S, Patten SB, Kwon CS, Dykeman J, Pringsheim T, Lorenzetti DL, Jetté N (2017). Prevalence and incidence of epilepsy: a systematic review and meta-analysis of international studies. *Neurology* 88: 296-303.
 59. Engelborghs S, D'Hooge R, De Deyn PP (2000). Pathophysiology of epilepsy. *Acta Neurol Belg* 100: 201-213.
 60. Manford M (2017). Recent advances in epilepsy. *J Neurol* 264: 1811-1824.
 61. Becker AJ (2018). Review: Animal models of acquired epilepsy: insights into mechanisms of human epileptogenesis. *Neuropathol Appl Neurobiol* 44: 112-129.
 62. White HS, Smith-Yockman M, Srivastava A, Wilcox KS (2006). Therapeutic assays for the identification and characterization of antiepileptic and antiepileptogenic drugs. In: Pitkänen A, Schwartzkroin PA, Moshé SL (Eds.), *Models of seizures and epilepsy*. Elsevier, Amsterdam, Pages: 539–549.
 63. Lu XM, Browning J, Liao Z, Cao Y, Yang W, Shear DA (2020). Post-traumatic epilepsy and seizure susceptibility in rat models of penetrating and closed-head brain injury. *J Neurotrauma* 37: 236-247.
 64. Erikawa T, Mashimo T, Kuramoro T, Voigt B, Ohno Y, Sasa M (2015). Advances on genetic rat models of epilepsy. *Exp Anim* 64: 1-7.
 65. Wong M, Roper SN (2016). Genetic animal models of malformations of cortical development and epilepsy. *J Neurosci Methods* 260: 73-82.
 66. Russo E, Citraro R, Constanti A, Leo A, Lüttjohann A, van Luijckelaar G, De Sarro G (2016). Upholding WAG/Rij rats as a model of absence epileptogenesis: hidden mechanisms and a new theory on seizure development. *Neurosci Biobehav Rev* 71: 388-408.
 67. Chen X, Zhang B, Li J, Feng M, Zhang Y, Yao W, Wan L (2018). Celastrol attenuates incision-induced inflammation and pain associated with inhibition of the NF- κ B signalling pathway via SARM. *Life Sci* 205: 136–144.
 68. Munn LL (2016). *Cancer and inflammation*. Wiley Interdiscip Rev Syst Biol and Med 9: e1370.

69. Sheng SR, Wang XY, Xu HZ (2010). Anatomy of large animal spines and its comparison to the human spine: A systematic review. *Eur Spine J* 19: 46–56.
70. Gelderd JB Chopin SF (1976). The vertebral level of origin of spinal nerves in the rat. *Anat Rec* 188: 45–47.
71. Levine JD, Fields HL, Basbaum AI (1993). Peptides and the primary afferent nociceptor. *J Neurosci* 13: 2273–2286.
72. Dubin AE, Patapoutian A (2010). Nociceptors: the sensors of the pain pathway. *J Clin Invest* 120: 3760–3772.
73. Schumacher MA (2010). Transient receptor potential channels in pain and inflammation: therapeutic opportunities. *Pain Pract* 10: 185–200.
74. Billeter AT, Hellmann JL, Bhatnagar A, Polk HC Jr (2014). Transient receptor potential ion channels: powerful regulators of cell function. *Ann Surg* 259: 229–235.
75. Dai Y (2016). TRPs and pain. *Semin Immunopathol* 38: 277–291.
76. Premkumar LS, Ahern GP (2000). Induction of vanilloid receptor channel activity by protein kinase C. *Nature* 408: 985–990.
77. Viana F (2018). Nociceptors: thermal allodynia and thermal pain. *Handb Clin Neurol* 156: 103–119.
78. Gunthorpe MJ, Chizh BA (2009). Clinical development of TRPV1 antagonists: targeting a pivotal point in the pain pathway. *Drug Discov Today* 14: 56–67.
79. Riera CE, Huising MO, Follett P, Leblanc M, Halloran J, Van Andel R, Dillin A (2014). TRPV1 pain receptors regulate longevity and metabolism by neuropeptide signaling. *Cell* 157: 1023–1036.
80. Ross RA (2003). Anandamide and vanilloid TRPV1 receptors. *Br J Pharm* 140: 790–801.
81. Csekö K, Beckers B, Keszthelyi D, Helyes Z (2019). Role of TRPV1 and TRPA1 Ion channels in inflammatory bowel diseases: potential therapeutic targets? *Pharmaceuticals* 12: 1–19.
82. Hanack C, Moroni M, Lima WC, Wende H, Kirchner M, Adelfinger L, Siemens J (2015). GABA blocks pathological but not acute trpv1 pain signals. *Cell* 160: 759–770.
83. Zhang JM, An J (2007). Cytokines, inflammation, and pain. *Int Anesthesiol Clin* 45: 27–37.

84. Schaible, H.G. (2014) Nociceptive neurons detect cytokines in arthritis. *Arthritis Res Ther* 16: 470.
85. Ren K, Torres R (2009). Role of interleukin-1 β during pain and inflammation. *Brain Res Rev* 60: 57–64.
86. Dinarello CA (2004). Therapeutic strategies to reduce IL-1 activity in treating local and systemic inflammation. *Curr Opin Pharmacol* 4: 378–385.
87. Perrin FE, Lacroix S, Avilés-Trigueros M, David S (2005). Involvement of monocyte chemoattractant protein-1, macrophage inflammatory protein-1 α and interleukin-1 β in Wallerian degeneration. *Brain* 128: 854-866.
88. Guo W, Wang H, Watanabe M, Shimizu K, Zou S, LaGraize SC, Wei F, Dubner R, Ren K (2007). Glial cytokine-neuronal interactions underlying the mechanisms of persistent pain. *J Neurosci* 27: 6006–6018.
89. Sweitzer SM, Colburn RW, Rutkowski M, DeLeo JA (1999). Acute peripheral inflammation induces moderate glial activation and spinal IL-1 β expression that correlates with pain behavior in the rat. *Brain Res* 829: 209–221.
90. Safieh-Garabedian B, Poole S, Allchrone A, Winter J, Woolf CJ (1995). Contribution of interleukin-1 β to the inflammation-induced increase in nerve growth factor levels and inflammatory hyperalgesia. *Br J Pharmacol* 115: 1265–1275.
91. Alstergren P, Ernberg M, Kvarnström M, Kopp S (1998). Interleukin-1 β in synovial fluid from the arthritic temporomandibular joint and its relation to pain, mobility, and anterior open bite. *J Oral Maxillofac Surg* 56: 1059–1065.
92. Vezzani A, Baram TZ (2007). New roles for interleukin-1 β in the mechanisms of epilepsy. *Epilepsy Curr* 7: 45–50.
93. Youn Y, Sung IK, Lee IG (2013). The role of cytokines in seizures: interleukin (IL)-1 β , IL-1Ra, IL-8, and IL-10. *Korean J Pediatr* 56: 271-274.
94. Claycomb RJ, Hewett SJ, Hewett JA (2012). Neuromodulatory role of endogenous interleukin-1 β in acute seizures: possible contribution of cyclooxygenase-2. *Neurobiol Dis* 45: 234–242.
95. Libby P (2017). Interleukin-1 β as a target for atherosclerosis therapy. *J Am Coll Cardiol* 70: 2278–2289.

96. Afonina IS, Müller C, Martin SJ, Beyaert R (2015). Proteolytic processing of interleukin-1 family cytokines: variations on a common theme. *Immunity* 42: 991–1004.
97. Manchikanti L (2000). Transforaminal lumbar epidural steroid injections. *Pain Physician* 3: 374–398.
98. Acar F, Miller J, Golshani KJ, Israel ZH, McCartney S, Burchiel KJ (2008). Pain relief after cervical ganglionectomy (C2 and C3) for the treatment of medically intractable occipital neuralgia. *Stereotact Funct Neurosurg* 86: 106–112.
99. Nash TP (1986). Percutaneous radiofrequency lesioning of dorsal root ganglia for intractable pain. *Pain* 24: 67–73.
100. Love S, Coakham HB (2001). Trigeminal neuralgia: pathology and pathogenesis. *Brain* 124: 2347–2360.
101. Henssen DJ, Kurt E, Kozicz T, van Dongen R, Bartels RH, van Cappellen van Walsum AM (2016). New insights in trigeminal anatomy: a double orofacial tract for nociceptive input. *Front Neuroanat* 10: 1–14.
102. Treede RD (2003). Neurophysiological studies of pain pathways in peripheral and central nervous system disorders. *J Neurol* 250: 1152–1161.
103. Liu J, Zhang MQ, Wu X, Lazarus M, Cherasse Y, Yuan MY, Li RX (2017). Activation of parvalbumin neurons in the rostro-dorsal sector of the thalamic reticular nucleus promotes sensitivity to pain in mice. *Neuroscience* 366: 113–123.
104. Uludağ B (2007). Nöropatik ağrı nedenleri. *Klinik Gelişim* 18: 1–68.
105. Heinricher MM (2016). Pain modulation and the transition from acute to chronic pain. *Adv Exp Med Biol* 904: 105–115.
106. Leong ML, Speltz R, Wessendorf M (2016). Effects of chronic constriction injury and spared nerve injury, two models of neuropathic pain, on the numbers of neurons and glia in the rostral ventromedial medulla. *Neurosci Lett* 617: 82–87.
107. Urien L, Xiao Z, Dale J, Bauer EP, Chen Z, Wang J (2018). Rate and temporal coding mechanisms in the anterior cingulate cortex for pain anticipation. *Sci Rep* 8: 8298.
108. Navratilova E, Xie JY, Meske D, Qu C, Morimura K, Okun A, Porreca F (2015). Endogenous opioid activity in the anterior cingulate cortex is required for relief of pain. *J Neurosci* 35: 7264–7271.

109. Woolf CJ (2010). What is this thing called pain? *J Clin Invest* 120: 3742-3744.
110. Ross SE (2011). Pain and itch: insights into the neural circuits of aversive somatosensation in health and disease. *Curr Opin Neurobiol* 21: 880-887.
111. Bennett GJ (2000). Update on the neurophysiology of pain transmission and modulation. *J Pain and Symptom Manage* 19: 2–6.
112. Mathisen LC, Skjelbred P, Skoglund LA, Oye I (1995). Effect of ketamine, an NMDA receptor inhibitor, in acute and chronic orofacial pain. *Pain* 61: 215–220.
113. Li XH, Miao HH, Zhuo M (2018). NMDA receptor dependent long-term potentiation in chronic pain. *Neurochem Res* 44: 531-538.
114. Kreutzwiser D, Tawfic QA (2019). Expanding role of NMDA receptor antagonists in the management of pain. *CNS Drugs* 33: 347-374.
115. Aiyer R, Mehta N, Gungor S, Gulati A (2017). A systematic review of NMDA receptor antagonists for treatment of neuropathic pain in clinical practice. *The Clin J Pain* 34: 450-467.
116. Lima LV, Abner TSS, Sluka KA (2017). Does exercise increase or decrease pain? Central mechanisms underlying these two phenomena. *J Physiol* 595: 4141–4150.
117. Yu X, Cao H (2015). Curcumin attenuates the expression of NMDAR-NR1 in chronic constructive injury model of neuropathic pain. *IJPR* 5: 35-43.
118. Joksimovic SL, Covey DF, Jevtovic-Todorovic V, Todorovic SM (2018). Neurosteroids in pain management: a new perspective on an old player. *Front Pharmacol* 9: 1-10.
119. González SL, Meyer L, Raggio MC, Taleb O, Coronel MF, Patte-Mensah C, Mensah-Nyagan AG (2018). Allopregnanolone and progesterone in experimental neuropathic pain: former and new insights with a translational perspective. *Cell Mol Neurobiol* 39: 523-537.
120. McDowell TS (2019). Neurotransmitters involved in pain modulation. In: Abd-Elseyed A (Eds.), *Pain*. Springer, Cham, Pages: 49–51.
121. Luo J, Wang Y, Yasuda RP, Dunah AW, Wolfe BB (1997). The majority of N-Methyl-d-Aspartate receptor complexes in adult rat cerebral cortex contain at least three different subunits (NR1/NR2A/NR2B). *Mol Pharmacol* 51: 79–86.
122. Kurt A (2014). Opiorfinin analjezik etkinliği ve noradrenerjik mekanizmalarla olası etkileşiminin zimosan ile tetiklenmiş kronik inflamatuvar ağrı modelinde incelenmesi,

Yüksek lisans tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fizyoloji Anabilim Dalı, Trabzon.

123. Yazğan B, Yazğan Y, Nazıroğlu M (2016). Ağrı moleküler yollarında TRPV1 katyon kanalının önemi. *Fırat Tıp Dergisi* 21: 1-10.
124. Kuralay F, Çavdar Z (2006). İnflamatuar medyatörlere toplu bir bakış. *Genel Tıp Dergisi* 16: 1-10.
125. Ruskin DN, Kawamura M, Masino SA (2009). Reduced pain and inflammation in juvenile and adult rats fed a ketogenic diet. *PLoS ONE* 4: 1-6.
126. Shimada T, Takemiya T, Sugiura H, Yamagata K (2014). Role of inflammatory mediators in the pathogenesis of epilepsy. *Mediators Inflamm* Pages: 1–8.
127. Xanthos DN, Sandkühler J (2013). Neurogenic neuroinflammation: inflammatory CNS reactions in response to neuronal activity. *Nat Rev Neurosci* 15: 43–53.
128. Sayli O (2015). Detection of spike-wave discharges in the EEG signals of WAG/Rij rats. 23rd Signal Processing and Communications Applications Conference (SIU), Malatya, 16-19 Mayıs 2015, 1-4.
129. Pfammatter JA, Maganti RK, Jones MV (2019). An automated, machine learning–based detection algorithm for spike-wave discharges (SWDs) in a mouse model of absence epilepsy. *Epilepsia Open* 4: 110-122.
130. Blumenfeld H, Klein JP, Schridde U, Vestal M, Rice T, Khera DS, Levin AR (2008). Early treatment suppresses the development of spike-wave epilepsy in a rat model. *Epilepsia* 49: 400–409.
131. Laxer K, Trinkka E, Hirsch L (2014). The consequences of refractory epilepsy and its treatment. *Epilepsy Behav* 37: 59–70.
132. Tomkins O, Feintuch A, Benifla M, Cohen A, Friedman A, Shelef I (2011). Blood-brain barrier breakdown following traumatic brain injury: a possible role in posttraumatic epilepsy. *Cardiovascular Psychiatry and Neurology* 2011: 765923.
133. Klein P, Dingledine R, Aronica E, Bernard C, Blümcke I, Boison D (2018). Commonalities in epileptogenic processes from different acute brain insults: do they translate? *Epilepsia* 59: 37-66.
134. Terrone G, Salamone A, Vezzani A (2017). Inflammation and epilepsy: preclinical findings and potential clinical translation. *Curr Pharm Des* 23: 5569-5576.

135. Vezzani A, French J, Bartfai T, Baram TZ (2011). The role of inflammation in epilepsy. *Nature Reviews. Neurology* 7: 31-40.
136. Gorter JA, Van Vliet EA, Aronica E (2015). Status epilepticus, blood-brain barrier disruption, inflammation and epileptogenesis. *Epilepsy Behav* 49: 13-16.
137. Liebner S, Dijkhuizen RM, Reiss Y, Plate KH, Agalliu D, Constantin G (2018). Functional morphology of the blood-brain barrier in health and disease. *Acta Neuropathol* 135: 1-26.
138. Alyu F, Dikmen M (2017). Inflammatory aspects of epileptogenesis: contribution of molecular inflammatory mechanisms. *Acta Neuropsychiatr* 29: 1-16.
139. Rana A, Musto AE (2018). The role of inflammation in the development of epilepsy. *J Neuroinflammation* 15(1): 144.
140. Chiang N, Serhan CN (2017). Structural elucidation and physiologic functions of specialized pro-resolving mediators and their receptors. *Mol Aspects Med* 58: 114-129.
141. Riazi K, Galic MA, Pittman QJ (2010). Contributions of peripheral inflammation to seizure susceptibility: cytokines and brain excitability. *Epilepsy Res* 89: 34-42.
142. Vezzani A, Granata T (2005). Brain inflammation in epilepsy: experimental and clinical evidence. *Epilepsia* 46: 1724–1743.
143. Choi J, Nordli DR Jr, Alden TD, DiPatri A Jr, Laux L, Kelley K, Rosenow J, Schuele SU, Rajaram V, Koh S (2009). Cellular injury and neuroinflammation in children with chronic intractable epilepsy. *J Neuroinflammation* 6: 3-14.
144. De Sarro G, Russo E, Ferreri G, Giuseppe B, Flocco MA, Di Paola ED, De Sarro A (2004). Seizure susceptibility to various convulsant stimuli of knockout interleukin-6 mice. *Pharmacol Biochem Behav* 77: 761-766.
145. Vigevano F, Cilio MR (1997). Vigabatrin versus ACTH as first-line treatment for infantile spasms: a randomized, prospective study. *Epilepsia* 38: 1270–1274.
146. Shumiloff NA, Lam WM, Manasco KB (2013). Adrenocorticotrophic hormone for the treatment of West syndrome in children. *Ann Pharmacother* 47: 744–754.
147. Yamagata K, Andreasson KI, Kaufmann WE, Barnes CA, Worley PF (1993). Expression of a mitogeninducible cyclooxygenase in brain neurons: regulation by synaptic activity and glucocorticoids. *Neuron* 11: 371–386.

148. Crow AR, Song S, Semple JW, Freedman J, Lazarus AH (2007). A role for IL-1 receptor antagonist or other cytokines in the acute therapeutic effects of IVIg? *Blood* 109: 155–158.
149. Sweitzer SM, Colburn RW, Rutkowski M, DeLeo JA (1999). Acute peripheral inflammation induces moderate glial activation and spinal IL-1 β expression that correlates with pain behavior in the rat. *Brain Res* 829: 209–221.
150. Nadeau S, Filali M, Zhang J (2011). Functional recovery after peripheral nerve injury is dependent on the pro-inflammatory cytokines IL-1 β and TNF: implications for neuropathic pain. *J Neurosci* 31: 12533–12542.
151. Gabay E, Wolf G, Shavit Y (2011). Chronic blockade of interleukin-1 (IL-1) prevents and attenuates neuropathic pain behavior and spontaneous ectopic neuronal activity following nerve injury. *Eur J Pain* 15: 242–248.
152. Török K, Németh K, Erdő F, Arányi P, Székely JI (1995). Measurement and drug induced modulation of interleukin-1 level during zymosan peritonitis in mice. *Inflamm Res* 44: 248–252.
153. Vezzani A, Conti M, De Luigi A, Ravizza T, Moneta D, Marchesi F, De Simoni MG (1999). Interleukin-1 β immunoreactivity and microglia are enhanced in the rat hippocampus by focal kainate application: functional evidence for enhancement of electrographic seizures. *J Neurosci* 19: 5054–5065.
154. Vezzani A, Moneta D, Conti M, Richichi C, Ravizza T, De Luigi A, De Simoni MG, Sperk G, Andell-Jonsson S, Lundkvist J, Iverfeldt K, Bartfai T (2009). Powerful anticonvulsant action of IL-1 receptor antagonist on intracerebral injection and astrocytic overexpression in mice. *Proc Nat Acad Sci USA* 97: 11534–11539.
155. Brain SD (2011). TRPV1 and TRPA1 channels in inflammatory pain: elucidating mechanisms. *Ann N Y Acad Sci* 1245: 36–37.
156. Huang WX, Yu F, Sanchez RM, Liu YQ, Min JW, Hu JJ, Bsoul NB, Han S, Yin J, Liu WH, He XH, Peng BW (2015). TRPV1 promotes repetitive febrile seizures by pro-inflammatory cytokines in immature brain. *Brain Behav Immun* 48: 68–77.
157. Viviani B, Bartsaghi S, Gardoni F, Vezzani A, Behrens MM, Bartfai T, Binaglia M, Corsini E, Di Luca M, Galli CL, Marinovich M (2003). Interleukin-1 β enhances NMDA receptor-mediated intracellular calcium increase through activation of the Src family of kinases. *J Neurosci* 23: 8692–8700.

158. Ivanusic JJ, Beaini D, Hatch RJ, Staikopoulos V, Sessle BJ, Jennings EA (2011). Peripheral N-methyl-d-aspartate receptors contribute to mechanical hypersensitivity in a rat model of inflammatory temporomandibular joint pain. *Eur J Pain* 15: 179-85.
159. Mazarati AM, Wasterlain CG (1999). N-methyl-D-aspartate receptor antagonists abolish the maintenance phase of self-sustaining status epilepticus in rat. *Neurosci Lett* 265: 187–190.
160. Ghasemi M, Schachter SC (2011). The NMDA receptor complex as a therapeutic target in epilepsy: a review. *Epilepsy Behav* 22: 617-640.
161. Muir WW (2010). NMDA receptor antagonists and pain: ketamine. *Vet Clin North Am Equine Pract* 26: 565-578.
162. Peeters BW, van Rijn CM, Vossen JM, Coenen AM (1990). Involvement of NMDA receptors in non-convulsive epilepsy in WAG/Rij rats. *Life Sci* 47: 523-529.
163. Zieglgänsberger W (2019). Substance P and pain chronicity. *Cell Tissue Res* 375: 227-241.
164. Danfors T, Åhs F, Appel L, Linnman C, Fredrikson M, Furmark T, Kumlien E (2011). Increased neurokinin-1 receptor availability in temporal lobe epilepsy: a positron emission tomography study using [(11)C]GR205171. *Epilepsy Res* 97: 183-189.
165. Wang XF, Ge TT, Fan J, Yang W, Cui RJ (2017). The role of substance P in epilepsy and seizure disorders. *Oncotarget* 8: 78225-78233.
166. Chi G, Huang Z, Li X, Zhang K, Li G (2018). Substance P Regulation in Epilepsy. *Curr Neuropharmacol* 16: 43-50.



Ek 1. Etik Kurulu Onayı

T.C. KARADENİZ
TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ
YEREL ETİK KURUL
BAŞKANLIĞI



KARADENİZ
TECHNICAL UNIVERSITY
ANIMAL CARE AND ETHICS
COMMITTEE

Sayı: 17522305/ 401
Konu:

Tarih: 12/06/2013

Sayın : Prof.Dr.Ahmet AYAR
Fizyoloji ABD.

"Epilepside Ağrı Duyarlılığının Genetik Absans Epilepsili Sıçanlar Kullanılarak *in Vivo ve in Vitro* İncelenmesi" başlıklı 2013/37 protokol no'lu tez çalışması incelenmiş olup bilimsel ve etik yönden uygun olduğuna karar verilmiştir.

Bilgilerinize ve gereğini rica ederim.

Prof. Dr. Yavuz ÖZORAN
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanı

Ek: 1 adet onay belgesi

Ek 1. (Devam)

T.C. KARADENİZ
TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ
YEREL ETİK KURUL
BAŞKANLIĞI



KARADENİZ
TECHNICAL UNIVERSITY
ANIMAL CARE AND ETHICS
COMMITTEE

TOPLANTI NUMARASI : 10/2013
TOPLANTI TARİHİ : 11.06.2013

KTÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 11.06.2013 tarihinde saat 16:00'da, Dekanlık Toplantı Salonunda Prof.Dr.Yavuz ÖZORAN'ın başkanlığında toplanmış; toplantıya; Prof.Dr.Etem ALHAN, Prof.Dr.Bilal KUTRUP, Doç.Dr.Ahmet ALVER, Doç.Dr.Ali CANSU, Doç.Dr.Rezzan ALİYAZICIOĞLU, Y.Doç.Dr.Celal ÇANDIRLI, Öğr.Ömer SIRTAKAYA katılmışlardır.

ETİK KURUL KARARLARI



Mehmet ÇOBAN
K.T.Ü. Tıp Fakültesi
Fakülte Sekreteri

- 5- KTÜ Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'ndan Prof.Dr.Ahmet AYAR'ın sorumluluğunda yürütülen Prof.Dr.Sibel VELİOĞLU'na ait "Epilepside Ağrı Duyarlılığının Genetik Absans Epilepsili Sıçanlar Kullanılarak *in Vivo* ve *in Vitro* İncelenmesi" başlıklı 2013/37 no'lu doktora tez çalışmasının etik kurul görüşleri doğrultusunda bilimsel ve etik açıdan uygun olduğuna,

Prof.Dr.Yavuz ÖZORAN
Başkan: Patoloji

Prof.Dr.Etem ALHAN
Üye:Genel Cerrahi

Prof.Dr.Bilal KUTRUP
Üye:Biyoloji

Prof.Dr.Murat TOPBAŞ
Üye: Halk Sağlığı
İZİNLI

Doç.Dr.Ahmet ALVER
Üye: Tıbbi Biyokimya

Doç.Dr.Ali CANSU
Üye: Pediyatri

Y.Doç.Dr. Zerrin PULATHAN
Üye:Kalp-Damar Cerrahisi
İZİNLI

Uzm.Dr.Çiğdem ŞİVİLOĞLU
Üye:Patoloji
İZİNLI

Doç.Dr.Rezzan ALİYAZICIOĞLU
Üye:Temel Eczacılık Bil.Biyokimya

Y.Doç.Dr.Celal ÇANDIRLI
Üye:Ağız-Diş Cerrahisi

Ömer SIRTAKAYA
Üye: Öğretmen

* Toplantıda gündeme alınarak görüşülen konularda yukarıda/aşağıda sıralanan.....araştırma/tez veya gündem maddesinde adı geçen etik kurul üyesi değerlendirmeye/oylamaya veya karara dahil edilmemiştir.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Soyadı, Adı : Saral, Eda Nur
Uyruğu : T.C.
Doğum Tarihi ve Yeri : Mart 1990, TRABZON
Telefon : 05388404876
E-Posta : edanursaral@gmail.com
ORCID ID : 0000-0002-6025-7495

EĞİTİM BİLGİLERİ

Derece	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Lisans	Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Fakültesi-Biyoloji Bölümü	2015
Lise	Hıdır Sever Lisesi	2007

YABANCI DİL

İngilizce

BİLDİRİLER

- 1 Malkoc A, Kalkan OF, Yucel BP, Saral EN, Sahin Z, Ayar A (2018). Epilepsy and neuropathic pain: investigation of pain sensitivity in schiatic nerve chronic constriction injury-induced neuropathic pain model in absence epileptic WAG/Rij rats. Europhysiology, London, PCB-309.
- 2 Ayar A, Saral E, Sahin Z, Kurt A, Malkoc A (2019). Increased Expression of Transient Receptor Potantial Vanilloid 1 Receptors in Zymosan-induced Inflammatory Pain Model in Absence Epileptic WAG/Rij Rats. Proc Physiol Soc 43, Aberdeen, PC24.

ÖDÜLLER/ TEŞVİKLER/ BURSLAR

1. 214S206 numaralı ve “Epilepside Ağrı Duyarlılığının Genetik Absans Epilepsili Sıçanlar Kullanılarak in Vivo ve in Vitro İncelenmesi” başlıklı projede TÜBİTAK bursiyerliği (Ekim 2017- Mayıs 2018)

