



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**DİYABETİK NÖROPATİ VE EGZERSİZ:
DİYABETİK NÖROPATİK AĞRIYA İRİSİNİN
ETKİLERİ ÜZERİNE DENEYSEL İNCELEME**

ÖMER FARUK KALKAN

DOKTORA TEZİ

Prof. Dr. AHMET AYAR

TRABZON-2017

ONAY

Bu tez Doktora Tezi Standartlarına Uygun Bulunmuştur

Prof.Dr. Ahmet AYAR

Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı Doktora öğrencisi Ömer Faruk KALKAN'ın hazırladığı “Diyabetik Nöropati ve Egzersiz: Diyabetik Nöropatik Ağrıya İrisinin Etkileri Üzerine Deneysel İnceleme” başlıklı tez KTÜ Lisansüstü Eğitim – Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman Prof. Dr. Ahmet AYAR

Doktora Sınav Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Ahmet AYAR

Prof. Dr. Selim KUTLU

Prof. Dr. Nurettin AYDOĞDU

Doç. Dr. Mukadder OKUYAN

Doç. Dr. Erhan ÇAPKIN

Tarih:../../2017

Bu tez KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun ../../2017 tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof.Dr. Ali Osman KILIÇ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

BEYAN

Bu tez çalışmasının KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzu standartlarına uygun olarak 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 kaynakların kaynaklar listesinde yer aldığını, tez çalışma ve yazım aşamalarında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

02/05/2017

Ömer Faruk KALKAN



İTHAF

Bu tezi kıymetli annem Havva KALKAN, kıymetli babam Prof.Dr. Ahmet KALKAN ve sevgili kardeşim Fatmanur KALKAN'a ithaf ediyorum.



TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince değerli bilgi ve deneyimlerini ve manevi desteğini benden esirgemeyen ve desteğini her zaman hissettiğim, sayın danışman hocam Prof. Dr. Ahmet AYAR'a gönülden teşekkür ederim. Eğitimim boyunca samimiyetini ve deneyimlerini esirgemeyen kıymetli hocalarım Prof.Dr. Mehmet YILDIRIM ve Doç.Dr. Mukadder OKUYAN'a teşekkür ederim. Deneylerim süresince kıymetli desteğini esirgemeyen Fizyoloji Anabilim Dalı yüksek lisans öğrencisi Yunus Emre SÜRMENELİ Fizyoloji Anabilim Dalı doktora öğrencisi Dr. Osman AKTAŞ, Fizyoloji Anabilim Dalı yüksek lisans öğrencileri Büşra Perihan YÜCEL ve Vildan KELEŞ GÜLER'e teşekkür ederim. Biyokimyasal analizlerinin gerçekleştirilmesinde değerli desteklerini esirgemeyen KTÜ Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi sayın Prof.Dr. Ahmet ALVER'e, analizlerde kıymetli yardımlarını esirgemeyen Biyokimya Anabilim Dalı doktora öğrencileri Akın BODUR, Elif ŞAHİN ve Şeniz DOĞRAMACI'ya teşekkürlerimi sunarım. İstatistiksel analizlerimi yapmamda yardımcı olan Fırat Üniversitesi Biyofizik Anabilim Dalı öğretim üyesi sayın Prof.Dr. Mete ÖZCAN'a teşekkür ederim. KTÜ Cerrahi Araştırmalar Merkezi çalışanlarına, tezimi destekleyen KTÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederim. Ayrıca zamansız kaybettiğimiz eğitim sürecimde benden manevi desteğini esirgemeyen Fizyoloji Anabilim Dalı hocamız rahmetli Doç.Dr. Şükrücan Hasan BAYTAN'a teşekkür ederim.

Arş. Gör. Ömer Faruk KALKAN

Bu çalışma, Karadeniz Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'nin TDK-2016-5352 ve TDK-2016-5385 numaralı projeleri ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

İç kapak sayfası	
KABUL ve ONAY	
BEYAN	
İTHAF	
TEŞEKKÜR	
TABLolar DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
SİMGELER, KISALTMALAR ve FORMÜLLER DİZİNİ	xi
1. ÖZET	1
2. SUMMARY	3
3. GİRİŞ ve AMAÇ	5
4. GENEL BİLGİLER	6
4.1. Ağrı Kavramı	6
4.2. Ağrının Sınıflandırılması	6
4.3. Akut Ağrı	7
4.4. Kronik Ağrı	7
4.5. Nosiseptif Ağrı	7
4.6. Nosiseptörler	7
4.7. Nosiseptif Süreç	8
4.8. Ağrı Duyusunun İletimi	9
4.9. Ağrı İletim Yolları	10
4.10. Ağrılı Uyarana Verilen Fizyolojik Cevaplar	11
4.11. İyon Kanalları ve Ağrıdaki Roller	11

4.12. Ağrı Oluşumunda Rol Alan Bazı Mediatorler	13
4.13. Dorsal Kök Gangliyon Nöronlarında Kalsiyumun Rolü	16
4.14. Diyabet	16
4.15. Diyabetik Nöropatik Ağrı Patofiyolojisi	18
4.16. Diyabetik Nöropatik Ağrı Tedavisi	22
4.17. Deneysel Ağrı Modelleri	23
4.18. Nörodejenerasyon ve Nörodejeneratif Hastalıklar	24
4.19. Egzersiz ve Egzersiz Tipleri	26
4.20. Egzersizin Sağlık Üzerine Etkileri	27
4.21. Egzersiz ve Nörodejeneratif Hastalıklar	28
4.22. Egzersiz Diyabet ve Ağrı	29
4.23. İrisin ve Egzersiz İrisin İlişkisi	30
5. GEREÇ ve YÖNTEM	34
5.1. Deney Hayvanlarının Bakım ve Beslenmeleri	34
5.2. Çalışma Protokolü	34
5.3. Kan Örnekleri	35
5.4. Ağrı Eşiği Değerlerinin Belirlenmesi	36
5.5. Biyokimyasal Değerlendirme	36
5.6. Serum İrisin Seviyelerinin Ölçülmesi	36
5.7. Eksojen İrisin Uygulaması	36
5.8. Hücre Kültürü	37
5.9. Hücre içi Kalsiyum Görüntüleme ve Görüntü Analizi	38
5.10. İstatistik	39
6. BULGULAR	46
6.1. Termal Ağrı Eşiği Bulguları	46

6.2. Mekanik Ağrı Eşiği Bulguları	51
6.3. Biyokimyasal Veriler	56
6.3.1. Serum İrisin Seviyeleri	56
6.4. Eksojen İrisin Uygulamasının Ağrı Üzerine Etkileri	61
6.5. Hücre İçi Kalsiyum Verileri	66
7. TARTIŞMA ve SONUÇ	69
8. KAYNAKLAR	73
9. EKLER	86
10. ETİK KURUL ONAYI	87
11. ÖZGEÇMİŞ	88

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo	Sayfa
Tablo 1. Duysal Nöron Tipleri ve Belli Özellikleri	8
Tablo 2. Çalışmada kullanılan gruplar, uygulanan dozlar ve çalışma protokolü	40
Tablo 3. Grupların açlık kan şekeri değerleri	42



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1. Periferel ağrı oluşumunda rol alan bazı araçılar ve iyon kanalları	15
Şekil 2. Egzersizin nöropatik ağrı üzerine olası faydaları	29
Şekil 3. İrisinin muhtemel salınım mekanizması	31
Şekil 4. Çizgili kaslardan salgılanan irisinin etki ettiğı dokular ve bilinen etki mekanizmaları	32
Şekil 5. Termal ağrı eşiğini ölçmek için kullanılan plantar test cihazı	43
Şekil 6. Mekanik ağrı eşiğini ölçmek için kullanılan elektronik von frey cihazı	44
Şekil 7. Sıçan treadmill egzersiz cihazı	45
Şekil 8. Tüm grupların termal ağrı eşiklerinin bazal değerleri	47
Şekil 9. Tüm grupların termal ağrı eşiklerinin 4. hafta değerleri	48
Şekil 10. Tüm grupların termal ağrı eşiklerinin 6. hafta değerleri	49
Şekil 11. Tüm grupların termal ağrı eşiklerinin 8. hafta değerleri	50
Şekil 12. Tüm grupların mekanik ağrı eşiklerinin bazal değerleri	52
Şekil 13. Tüm grupların mekanik ağrı eşiklerinin 4. hafta değerleri	53
Şekil 14. Tüm grupların mekanik ağrı eşiklerinin 6. hafta değerleri	54
Şekil 15. Tüm grupların mekanik ağrı eşiklerinin 8. hafta değerleri	55
Şekil 16. Tüm grupların 8. hafta irisin değerleri	57
Şekil 17. Diyabetli ve egzersiz yapan diyabetli grupların 8. hafta irisin değerleri	58
Şekil 18. Egzersiz yapan diyabetli grupların 4. ve 8. hafta irisin değerleri	59
Şekil 19. Egzersiz yapan diyabetli grupların 4. ve 8. hafta irisin değerlerinin kendi içinde kıyaslanması	60
Şekil 20. Kontrol grubu ve serum fizyolojik grubunun termal ağrı eşiklerinin zamana bağılı değişimi	62
Şekil 21. Diyabet grubu ve eksojen irisin (1 µg/kg) grubunun termal ağrı eşiklerinin zamana bağılı değişimi	63
Şekil 22. Diyabet grubu ve eksojen irisin (10 µg/kg) grubunun termal ağrı eşiklerinin zamana bağılı değişimi	64
Şekil 23. Diyabet grubu ve eksojen irisin (20 µg/kg) grubunun termal ağrı eşiklerinin zamana bağılı değişimi	65
Şekil 24. Tüm gruplarda hücre içi kalsiyum seviyelerindeki yüzde artış	67
Şekil 25. Kapsaisine verilen hücre içi kalsiyum seviyesi artış cevabı	68

SİMGELER, KISALTMALAR ve FORMÜLLER DİZİNİ

Kısaltmalar

ADP	Adenozin Difosfat
ATP	Adenozin Trifosfat
CaCl₂	Kalsiyum Klorür
CO₂	Karbon Dioksit
DKG	Dorsal Kök Gangliyonu
DNA	Diyabetik Nöropatik Ağrı
DSPN	Distal Simetrik Polinöropati
FNDC5	Fibronectin type III domain-containing protein
g	Gram
GABA	Gamma Aminobütirik Asit
IL	İnterlökin
i.p	İntraperitoneal
KCl	Potasyum Klorür
Kg	Kilogram
Km	Kilometre
LC	Locus coeruleus
M	Molar
Mg	Miligram
MgCl₂	Magnezyum Klorür
mL	Mililitre
mMol	Milimolar
mOsm	Miliozmol
NADP	Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat

NGF	Sinir Büyütme Faktörü
nm	Nanometre
NMDA	N-metil-D-aspartat
O₂	Oksijen
PBS	Fosfat Tamponlu Tuz
PgE	Prostaglandin E
PgF	Prostaglandin F
STZ	Streptozotosin
T2D	Tip 2 diyabet
TRP	Transient Reseptör Potansiyel
TTX	Tetrodotoksin
VKKK	Voltaj Kapılı Kalsiyum Kanalı
μM	Mikromolar

1. ÖZET

Diyabetik Nöropati ve Egzersiz: Diyabetik Nöropatik Ağrıya İrisinin Etkileri Üzerine Deneysel İnceleme

Periferik nöropati, periferik sinir sisteminde hasarlanmayla karakterize nörodejeneratif bir durumdur. Yaygın nedenlerinden biri diabetes mellitus olan bu duruma, ilerleyen süreçte nöropatik ağrı sıklıkla eşlik eder. Nöropatik ağrının mevcut tedavi seçeneklerinin yetersiz etkinlikleri ve belirgin yan etkileri, daha etkin ve güvenli tedavi seçenekleri geliştirmek için ağrıyı kontrol eden endojen mekanizmaların irdelenmesini ve etkinliğinden yararlanılma olasılığını cazip fikir ve hedef haline getirmiştir. Egzersizin nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde etkili olabileceği ileri sürülmektedir ancak etki mekanizması bilinmemektedir. Egzersize bağlı olarak salınan ve egzersiz hormonu olarak tanımlanan irisinin egzersizin sağlık üzerinde faydalı etkilerine aracılık etme potansiyeli düşünülmekle birlikte, nöropatik ağrı üzerine etkisi bilinmemektedir. Bu tez çalışmasının amacı, irisinin nöropatik ağrı üzerine olası etkilerini irdelemektir. Bu amaçla egzersiz yoluyla endojen irisin salıverilmesinin tetiklenmesine ilave olarak, eksojen uygulanan irisinin diyabetik nöropatik ağrı üzerine etkilerinin davranışsal ağrı modelinde incelenmesi hedeflenmiştir. Ayrıca egzersiz/irisinin periferik duyu nöronlarda “hücresel ağrı sinyalleşmesi” üzerine etkisi acı biberin etken maddesi kapsaisin ile uyarı yapılarak irdelenmiştir. Araştırma için 60 adet Sprague Dawley cinsi erişkin erkek sıçan; kontrol, egzersiz (düşük ve yüksek şiddet egzersiz), diyabet, diyabet + düşük şiddetli egzersiz, diyabet + yüksek şiddetli egzersiz şeklinde gruplandırıldı. Streptozotosin ile diyabet indüklenmesinden sonra, egzersiz grubundaki hayvanlara 8 hafta boyunca haftada 5 gün süre ile düşük (0.5 km/s 30 dk) ve yüksek şiddetli (1 km/s 60 dk) egzersiz yaptırıldı. Termal ve mekanik ağrı eşikleri 0., 4., 6. ve 8. haftalarda ölçüldü. Egzersiz gruplarının 4. ve 8. haftada, kontrol ve diyabet gruplarının ise 8. hafta sonunda serum irisin seviyeleri ölçüldü. Diyabetli grupta termal ve mekanik ağrı latansının uzadığı saptandı. Egzersiz yapan gruptaki sıçanlarda termal ağrı latansları 8. haftanın sonunda diyabetli gruba göre anlamlı düzeyde düştüğü belirlendi ($p < 0.05$). Diyabetli hayvanların mekanik ağrı eşikleri ise 6. haftadan itibaren hem düşük hem de yüksek şiddetli egzersiz gruplarında normale dönmeye başladı. Termal ve mekanik ağrı eşikleri üzerine egzersiz şiddetinin etkileri arasında anlamlı bir fark yoktu. İrisin seviyesinin diyabetli grupta anlamlı derecede düştüğü; egzersiz yapan

gruPlarda ise yükseldiği tespit edildi. Serum irisin seviyesinin, yüksek şiddetli egzersiz grubunda düşük şiddetli gruba göre sadece 4. haftada anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu tespit edildi. Diyabetli gruPlara 1, 10 ve 20 µg/kg, kontrol grubuna 10 µg/kg irisin intraperitoneal uygulanarak 0, 15, 30, 60 ve 90. dakikalarda termal ağrı eşikleri ölçüldü. Eksojen irisin uygulamasına cevaben, kontrol grubunda ağrı eşikleri değişmezken, tüm dozlarda 60. dakikada ağrı latansının eksojen irisin uygulaması sonucu diyabetli gruba göre azaldığı görüldü. Sonuç olarak, egzersizle salınması tetiklenen irisinin mevcut deneysel modelde diyabetik nöropatik ağrı gelişimini önleyemediği ancak ilerleyen sürede nöropatik ağrı latansını normale doğru döndürdüğu tespit edildi. Periferel duyusal nöronlarda kalsiyum sinyalleşme verileri, irisinin periferel ağrı duyarlılığını etkilemediğini vurgulamaktadır.

Anahtar Sözcükler: Diyabet, Egzersiz, İrisin, Kalsiyum, Nörodejenerasyon, Nöropatik Ağrı

2. SUMMARY

Diabetic Neuropathy and Exercise: Experimental Investigation of Effects of Irisin on Diabetic Neuropathic Pain

Peripheral neuropathy is a neurodegenerative condition characterised by damage to the peripheral nervous system. Diabetes mellitus is among to the most common cause of this condition which often associates with neuropathic pain. Because of the lacking of ideally effective therapy and prominent side effects of drugs used for the treatment of neuropathic pain, evaluation and utilization of endogenous mechanisms controlling pain has become an optimistic idea and promising target for this purpose. Exercise has been suggested to be an effective treatment modality for neurodegenerative diseases but the mechanism is not clear yet. Irisin, released in response to exercise and referred as exercise hormone, has been proposed to mediate the beneficial effects of exercise on neurodegenerative diseases but information on its effect on neuropathic pain is lacking. In this thesis study, possible effects of irisin on neuropathic pain is examined. For this purpose, in addition to the triggering endogenous irisin release by exercise, irisin was exogenously administered and effects of irisin on neuropathic pain was investigated by use of behavioral pain model. Additionally, effects of exercise/irisin on “painful signalling” in sensory neurones by capsaicin, the ingredient of chili peppers, stimulation. A total of 60 male Sprague Dawley rats were used. Animals were divided into groups consistent of control, diabetes, exercise + low-intensity, exercise + high-intensity exercise groups. Following diabetes induction by streptozotocin, animals in exercise groups performed low intensity (0.5 km/h 30 min) and high intensity (1 km/h 60 min) exercise, for 8 weeks. Thermal and mechanical pain thresholds were measured in all groups at 0th, 4th, 6th and 8th week. Serum irisin levels were measured at the 4th and 8th weeks for the exercise groups and at the 8th week for the control and diabetes groups. In exercise group, thermal pain thresholds returned to normal compared to diabetic group at the end of 8th week ($p<0.05$). Mechanical pain latencies tended to return basal levels from 6th week of exercise. Impact of exercise intensity did not differ significantly for both mechanical and thermal pain latencies in any time period. Irisin levels of the diabetic group were lower in diabetic group which were restored in the exercise groups. The levels of irisin was significantly different between the high and low-intensity exercise groups for only 4th week. In additional group, irisin was administered to diabetic groups (1, 10 and 20 $\mu\text{g/kg}$) and the control group (10 $\mu\text{g/kg}$). Thermal pain thresholds were measured at 0th, 15th,

30th, 60th and 90th minute time points. While the pain latencies were unchanged in the control group, for all doses, the pain latencies decreased at 60th minutes compared to the diabetic group. In conclusion, exercise mediated endogenous irisin release did not prevent the development of painful neuropathy in the current model but, as the exercise continued the pain latencies returned toward the baseline values. The calcium signalling data from peripheral sensory neurons indicates that endogenous irisin does not affect peripheral pain sensitivity.

Key Words: Calcium, Diabetes, Exercise, Irisin, Neurodegeneration, Neuropathic Pain



3. GİRİŞ ve AMAÇ

Sağlığın korunması ya da yeniden kazanılmasında günümüzde egzersizin rolü giderek önem kazanmaktadır. Egzersizin, santral ve periferel sinir sisteminde nöroprotektif etki gösterdiği nörodejeneratif hastalıkların gelişmesine karşı koruyucu bir yöntem olarak hekimler tarafından tavsiye edildiği ve vücudun genel halini sağlıklı olma yönünde tuttuğu bilinmektedir (1).

Egzersizin potansiyel koruyucu etkilerini, antiinflatuvar salınımını arttırarak ortaya çıkardığı vurgulanmaktadır. Kardiyovasküler direnci ve insülin direncini düzenleme egzersizin diğer bilinen etkileri arasındadır. Aynı zamanda duysal nöronlar üzerinde iyon kanalı ekspresyonunu değiştirerek ya da kanalın kendisini modüle ederek ağrı duyusunda azalma yarattığı ve nöropatik ağrı gelişimini de yavaşlattığı elde edilen veriler arasındadır (2).

Ancak egzersizin bu etkileri hangi mekanizma ya da mekanizmalar aracılığı ile gerçekleştirdiği henüz tam olarak bilinmemektedir. Özellikle egzersiz sırasında salınan miyokin ve adipokinlerin nöropatik ağrı gelişimi üzerindeki etkileri yanıtlanması gereken bilinmezler arasındadır. Son yıllarda keşfedilen irisin hormonu santral ve periferel etkileri olan, diyabet ve obezite gibi metabolik hastalıklarla mücadelede umut vaat eden bir miyokin ve adipokindir. İrisin hormonunun sinir doku üzerinde nöroprotektif etkisinin olabileceği vurgulanmaktadır ancak bu etkiyi nasıl ortaya koyduğu henüz açıklığa kavuşturulmamıştır (3).

Bu tez çalışmasında amaç; diyabetik nöropati ve buna bağlı gelişen nöropatik ağrı durumunun, egzersiz hormonu olarak lanse edilen irisin ile ilişkisini ve irisinin nöropatik ağrı gelişimindeki etkisini tip 2 diyabet indüklenmiş sıçanlarda araştırmaktır. Ayrıca egzersizin şiddetine bağlı olarak salınımının arttığı düşünülen irisinin etkisinin artıp artmayacağı da irdelenecektir.

Bunun yanı sıra diyabetle birlikte duysal nöronlarda bozulan hücre içi kalsiyum homeostazisinin egzersize bağlı olarak düzelip düzelmeyeceği de kalsiyum görüntüleme yöntemi ile irdelenecektir. İrisinin etkisini periferel ya da santral mekanizmalar üzerinden ortaya koyup koymadığı da eksojen irisin uygulamasıyla test edilecektir.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Ağrı Kavramı

İnsanlığın tarif etmekte zorlandığı ağrı duyusunun bilimsel kavram olarak tanımı da oldukça zordur. Fizyolojik yapı, çevre koşulları, genetik faktörler, din, ırk ve benzeri kavramlar ağrıya karşı verilen cevabın her toplumda hatta her bireyde farklılık göstermesine neden olmaktadır. Bir kişi tarafından ağrı olarak algılanabilen uyaran başka bir birey tarafından aynı şiddette algılanmayabilmektedir. Dolayısı ile ağrı bireye özgüdür ve bu nedenle bireysel farklılıklar gösterebilir (4).

Uluslar Arası Ağrı Araştırma Derneği (IASP) tarafından görevlendirilen bir komitenin sunduğu tanıma göre ağrı; “vücudun belirli bir bölgesinden kaynaklanan, bir doku harabiyeti sonucu oluşan ya da doku harabiyeti olmaksızın meydana gelen, bireyin edindiği deneyimler ile ilgili hoş olmayan emosyonel bir duyum ve davranış şeklidir (4).”

Ağrının hem duysal hem de emosyonel olarak istenmeyen bir durum olduğu vurgulanması gereken temel niteliğidir. Bu tanımdan yola çıkarak ağrı duyusunun hissedilmesi için doku harabiyeti gerekliliğinin olmadığı da söylenebilmektedir. Örneğin nöropatik ağrı gelişen durumlarda her zaman nöron hasarına bağlı olarak ağrı ortaya çıkmamakta bazı durumlarda nöron hasarı olmaksızın ağrı görülebilmektedir. Yapılan bütün tanımlar bilimsel verilere dayandırılmasına rağmen hala bütün otoriteler tarafından kabul edilen net ve kesin bir ağrı tanımı olmaması ağrı duyusunun ne kadar karmaşık bir süreç olduğunu bize göstermektedir.

4.2. Ağrının Sınıflandırılması

Ağrı, patofizyolojik mekanizmalar, lokalize olduğu bölge, ağrının süresi gibi faktörler göz önüne alınarak sınıflandırılabilir (5).

Nosiseptif ağrı: Zararlı uyarana veya doku haraplanması sonucu verilen normal ağrı cevabıdır. Deri, eklemler, kaslar, viseral organlar veya kemikler gibi vücut bölgeleri bu tip cevaplar verebilir. Somatik ve viseral ağrı nosiseptif ağrıya örnek olarak verilebilir.

Nöropatik ağrı: Somatosensör sinir sistemini etkileyen primer lezyonlar veya hastalıklar sonucu ortaya çıkan ağrı türüdür.

İnflamatuvar ağrı: Doku inflamasyonu sonucu nosiseptif ağrı yollarının aktivasyonu ve sensitizasyonu sonucu ortaya çıkan ağrı türüdür.

Şiddetine göre ağrı: Ağrılı uyarının bireyde oluşturduğu şiddete göre, hafif, orta ve şiddetli ağrı olarak sınıflandırılmasıdır.

Süresine göre ağrı: Akut ya da kronik ağrı olarak ikiye ayrılmaktadır.

4.3. Akut Ağrı

Akut ağrı; genel olarak doku hasarı, hastalık veya inflamasyon sonucu ortaya çıkan kısa süreli ağrı türüdür. Lokalizasyonu yüksek olan akut ağrının iyileşme süresi de hızlıdır. Keskin bir ağrı olarak algılanan bu ağrı türünün temel rolü organizmayı zararlı uyarılara karşı uyarmaktır (6). Akut ağrı kısa süreli olarak nosiseptörler de duyarlılığa yol açar ve hiperaljeziye neden olur (7).

4.4. Kronik Ağrı

Kronik ağrı akut ağrıdan farklı olarak, ağrı duyusunu tetikleyen faktörlerin ortadan kaldırılmasına rağmen devam eden şiddetli ve ızdırap verici ağrı türüdür. Ağrının kronik hale gelme süresi klinik verilerden yola çıkarak 2 ila 3 ay arasında değişmektedir (8). Diyabet kanser gibi kronik hastalıklar sonucu ortaya çıkabileceği gibi ağır yaralanmalar sonucu da görülebilir. Kronik ağrıya neden olan mekanizmalar henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Ancak araştırmacıların ortak kanaati, uzun süreli etkiye maruz kalan nosiseptörlerin yapısının bozulması sonucu ortaya çıktığıdır. Artmış duyarlılık, azalmış ağrı dindirici faktörler, santral ve periferik sensitizasyon ile karakterize edilebilir. Bu bozulma sonucu nosiseptörler direkt olarak uyarılmasa bile aktif hale gelen nosiseptörler sürekli olarak ağrı duyusu oluşturabilmektedir (9).

4.5. Nosiseptif Ağrı

Vücudun neredeyse her bölgesinde bulunan ve ağrı duyusunu algılayan nosiseptörlerin uyarılması sonucu oluşan cevap nosisepsiyon olarak tanımlanmaktadır. Ağrı ve nosisepsiyon kavramı her ne kadar iç içe geçmiş kavramlar olsa da bu iki kavram tam olarak örtüşmemektedir. Nosisepsiyon ağrı algılanmasının ilk basamağıdır daha açık bir ifade ile zararlı uyarının nöral olarak kodlanmasıdır (10).

4.6. Nosiseptörler

Nosiseptörler 1906 yılında Charles Scott Sherrington tarafından keşfedilmiştir. Sherrington yaptığı deneylerde farklı tipte uyarıların sinirlerde farklı cevaplar oluşturduğunu, bazı uyarıların çekilme refleksi, otonom cevaplar ve ağrıyı tetiklediğini

göstermiştir (11). Bu spesifik uyarınları algılayan reseptörlere nosiseptör adını vermiştir. Nosiseptörler deri, iç organlar, kas, eklem gibi farklı vücut bölgelerinde bulunmaktadır. Nosiseptörlerin hücre gövdeleri dorsal kök gangliyonlarında (DKG) lokalizedir (12).

Duysal reseptörler A ve C lifleri olarak iki gruba ayrılır. A lifleri kendi içinde A α , A β , A δ ve A γ olmak üzere dörde ayrılır. A tipi lifler geniş ve orta kalınlıkta miyelinli liflerdir. Nosiseptörler A δ ve C lifleri olmak üzere iki tiptedir. A δ lifleri zayıf miyelinli akson çapları C liflerine göre daha kalındır. C lifleri ise miyelinsiz ve akson çapları küçüktür. A δ liflerinin reseptif alanları kümeler halinde iken C liflerinininkilerde böyle bir durum görülmemektedir (13).

Tablo 1. Duysal Nöron Tipleri ve Belli Özellikleri

Duysal Nöron Tipleri					
Tip	Sınıflandırma	Çap (μm)	Miyelin	İleti Hızı (m/s)	İlişkili Oldukları Duysal Reseptötler
Ia	A α	13-20	Var	80-120	Kas iççiğinin primer reseptörleri
Ib	A α	13-20	Var	80-120	Golgi tendon organı
II	A β	6-12	Var	33-75	Kas iççiğinin sekonder reseptörleri Derideki tüm mekanoreseptörler
III	A δ	1-5	Zayıf	3-30	Dokunma ve basınçla ilgili serbest sinir uçları Neospinotalamik trakt Soğuk termoreseptörleri
IV	C	0.2-1.5	Yok	0.5-2	Paleospinotalamik trakt Sıcak termoreseptörleri

4.7. Nosiseptif Süreç

Nosisepsiyon 3 aşamada gerçekleşir, bunlar; periferik aşama, transmisyon aşaması ve ağrının entegrasyonudur. Kimyasal, termal ya da mekanik uyarı

nosiseptörlerin uyarılmasını sağlar. Nosiseptörlerin uyarılmasına neden olan bazı maddeler şunlardır; serotonin, histamin, glutamat, GABA, sinir büyütme faktörü (NGF) taşıkininler, P maddesi, bradikinin, prostaglandinler den bazıları (PgE, PgF), laktik asit ATP, ADP (14).

Ağrıyı periferde ve santralde modüle eden birçok farklı kimyasal vardır. Bu kimyasalların ağrı iletimindeki rolü birbirinden farklıdır, örneğin; GABA ağrı iletimini baskımlarken, ATP ağrı iletimini hızlandırır. Periferde kimyasallar sayesinde nosiseptörlerin uyarılması, aksiyon potansiyelinin ateşlenmesine ve ilgili nosiseptör boyunca taşınmasına neden olur. Taşınan bu ağrı sinyalleri önce DKG'den geçtikten sonra santral sinir sistemine girer duysal kortekse kadar taşınır. Her bir kimyasalın nosiseptör üzerinde bağlandığı reseptör tipi farklıdır.

4.8. Ağrı Duyusunun İletimi

Ağrı duyusunun iletimi dört aşamada gerçekleşir;

Transdüksiyon: Mekanik, kimyasal ya da termal uyarılar doku hasarı veya yaralanması oluşturur. Bu uyarılar sonucu nosiseptörler uyarılır. Hasarlanan doku bölgesinde lökositler, trombositler, vasküler endotel hücreler ve immün hücrelerden salınan sitokinler ve nöropeptitlerin salınması gerçekleşir. Salınan bu nöropeptid ve nöromediatörler Aδ ve C liflerinin uyarılmasına neden olur. Uyarılan nosiseptörlerden salınan P maddesi, nosisepsiyonun artmasına, vazodilatasyona, kan akımının hızlanmasına ve ödeme neden olur. Artan P maddesi, trombositlerden serotonin ve bradikinin, mast hücrelerinden ise histamin salınmasını tetikler. Sonuç olarak kimyasal uyarılar nosiseptörleri uyarak kimyasal uyarıların uygun elektriksel sinyale yani aksiyon potansiyeline dönüştürülmesi sağlanmış olur (15).

Transmisyon: Artık transdüke olan sinyalin spinal korda taşınması olayıdır. Spinal kord da sinaps yapan nosiseptörler substantia jelatinosada nörotransmitter salınımına neden olur. Nörotransmitter salınımını ağrı iletiminin baskılanmasına veya artarak devam etmesine neden olur. Transdüksiyon işlemi sonucu, A delta lifleri ile 0,1 sn de spinal korda taşınan ilk ağrı keskin ağrı olarak tanımlanır. C lifleri ile taşınan ikinci ağrı yavaş ağrı olarak tanımlanır (10).

Modülasyon: Doku hasarını takiben perifer ve ya santralde ağrı algılanmasının değiştirilmesi olayıdır. Fizyolojik bir süreç olan ağrı modülasyonu nosiseptörlerin

çevresinde, merkezi sinir sisteminde, omurilik arka boynuzunda ya da supraspinal yapılarda gerçekleşir. Ağrı modülasyonu sonucu ağrı duyusunun algılanması baskılanabilir ya da daha şiddetli algılanabilir. Başlıca ağrı modülasyon sistemleri şunlardır;

- İnici inhibitör sistem
- Endojen opioid sistem
- Segmental inhibisyon (16).

Persepsiyon: Ağrılı uyarının farklı tipte yollar izleyerek santral sinir sistemine ulaşarak algılanması olayıdır. Santral sinir sistemi ilk olarak kısa süren keskin bir ağrı algılar bunu daha uzun süre ve sızı şeklinde devam eden yavaş ağrı takip eder. Bunun sebebi ağrıyı taşıyan nosiseptörlerin fizyolojik özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Duysal kortekse gelen ağrı sinyalleri daha sonra kortikal ve subkortikal yapılarla entegre edilerek ağrılı uyarana karşı verilecek tepkiler ortaya konur. Bu yapıların ağrı sinyalleri ile aktivasyonu aynı zamanda geçmişten edinilen deneyimler ile karşılaştırılarak ağrı şiddetinin algılanma derecesi de belirlenmiş olur (10).

4.9. Ağrı İletim Yolları

Ağrılı uyarıyı taşıyan birinci sıra nöronların gövdeleri arka kök gangliyonunda bulunur. Nosiseptörlerin uzantıları omuriliğe giriş yaptıktan sonra iki dala ayrılır. Birkaç segment yukarı ve aşağı hareket ederek Lissauer traktusunu oluştururlar. Santral terminalleri dorsal boynuzun gri cevherinin marjinal zonu (lamina-I) ile subsantia jelinosa (lamina-II)'da yer alan nöronlarla sinaps yaparlar. Bu nöronlar ağrı yolağının ikinci sıra nöronları olarak adlandırılır. Üçüncü sıra nöronlar ise talamusta bulunurlar. Talamustan çıkan nöronlar duysal kortekse ulaşır (17). Spinal korda giren ağrı sinyalleri farklı yolları izleyerek üst beyin bölgelerine ulaşırlar. Bu yollar;

Spino-Talamik Yol: Spinal korda giren ağrılı uyarılar burada gri gölgede bulunan lamina I, V ve VII. Bölgede bulunan nöronlarla sinaps yapar. Buradan köken alan nöronlar orta hattı geçtikten sonra anterolateral çıkıcı sistem içinde ilerleyerek spinal kordun karşı tarafında talamusun ventral posterolateral nükleusunda sonlanır. Bu nükleus vücudun özel bölgeleri için farklı bölümlere ayrılmıştır. Talamustan çıkan uzantılarda kortekse ulaşarak postsantral girusta sonlanır. Bu yolak ağrının yer, şiddet ve zaman gibi niteliklerinin algılanmasını sağlar (17).

Spino-Retiküler Yol: Bu yolak anterolateral çıkıcı sistem içerisinde ilerler. Ponstaki retiküler çekirdeklere ve bulbusa uzanır veya kollateral verir. Buradan sağ ve sol talamus intralaminar çekirdeklerine çıkar. Buraya ulaşan enformasyon amigdala hipotalamus gibi birçok beyin bölgesine projekte olur. Kortikal ve subkortikal yapıları genel uyarıcı özelliği vardır. Acı yolağı olarak bilinir (17).

Spino-Mezensefalik Yol: Lamina I ve V'teki nosiseptif nöronlar anterolateral sistem içinde yol alır, spino-retiküler yola yakın olarak mezensefalik periakvaduktal gri cevhere kadar uzanır. Buradan çıkan nöronlar amigdala ve hipotalamus gibi beyin merkezlerine projekte olur. Bu yolağın periakvaduktal gri cevher ile bağlantı kurması oldukça kritiktir, bu bölgedeki analjezik etkinliği olan nöronlar bu yolak sayesinde aktive olur (17).

4.10. Ağrılı Uyarana Verilen Fizyolojik Cevaplar

Ağrılı uyarana maruz kalan bireylerde stres durumu gözlenir. Bu stres sempatik sistemi devreye sokar ve bazı fizyolojik cevaplar oluşur, bu cevaplar akut ve kronik olmak üzere iki farklı süreçte gözlenebilir (18).

Akut cevaplar; ağrıya odaklanma, inilti, yüzü buruşturma, pupilla dilatasyonu, inspirasyonda artış, kalp hızında artış, tükürük sekresyonunda azalma.

Kronik cevaplar; anksiyete, korku, uykusuzluk, kognitif fonksiyonlarda azalma, mental konfüzyon, yüksek somatizasyon, sistemik ve koroner damar direnci, kan basıncında artış gastrik ve intestinal motilitede azalma, üriner sistem fonksiyonunda azalma, antidiüretik hormon, epinefrin, aldosteron ve glukangonda artış, insülin ve testesteronda azalma hiperglisemi, glikoz intöleransı, insülin direnci, protein katabolizması.

4.11. İyon Kanalları ve Ağrıdaki Roller

İyon kanalları vücutta birçok fizyolojik süreçte önemli rol oynar. Bunların bazıları; kas kasılması, aksiyon potansiyelinin ateşlenmesi olarak sıralanabilir. Birçok hastalığın temelinde iyon kanallarının fonksiyonlarının bozulması yatmaktadır. İyon kanalları ağrının algılanması ve iletiminde oldukça önemli rol oynar. Nosiseptörlerin periferik uçlarında ve santral kısımlarında farklı tipte iyon kanalları bulunur. Ağrı tedavisinde iyon kanalı blokerleri önemli bir yere sahiptir (19).

Sodyum Kanalları: Sodyum (Na^+) fizyolojik koşullarda hücre dışında 142 mEq/L hücre içinde ise 14 mEq/L konsantrasyonunda bulunur. Nöronlarda aksiyon potansiyeli

sırasında aktifleşen voltaj kapılı Na^+ kanalları hücre içine hızlı bir sodyum girişine neden olarak aksiyon potansiyelinin ateşlenmesini sağlar. Araştırmaların sonucunda Na^+ kanallarının duysal nöronlarda özellikle küçük çaplı DKG nöronlarında yoğun bir şekilde bulunduğu görülmüştür (17). Tetrodotoksin (TTX) sodyum kanallarının doğal blokeridir. DKG nöronlarında TTX'e duyarlı iki tip Na^+ kanalı bulunmaktadır. Bunları hızlı (TTX-S) ve yavaş (TTX-R) inaktive olan sodyum kanallarıdır. TTX-R kanallarının aksiyon potansiyelinin süresi ve sinir terminallerinden nörotransmitter salıverilmesi üzerine modüle edici özeliğinin bulunduğu bilinmektedir. Deneysel çalışmalar nöron hasarlanması durumlarında duysal ve motor nöron hücre gövdeleri ve dentritlerinde anormal Na^+ kanalı artışı olduğunu göstermiştir (20).

Potasyum Kanalları: Potasyum (K^+) hücre içinde 140 mEq/L, hücre dışında ise 4 mEq/L konsantrasyonda bulunur. Aksiyon potansiyelinin ateşlenmesinden sonra K^+ kanalları hızla açılarak hücrenin repolarize olmasına ve aksiyon potansiyelinin susturulmasına neden olur. Ağrının oluşumu ve iletiminde K^+ kanalları önemli rol üstlenir. Bazı G-protein eşli reseptörlerin K^+ kanallarını açarak analjezik etki gösterdiği bilinmektedir (21).

Klor Kanalları: Klor (Cl^-) hücre dışındaki konsantrasyonu 103 mEq/L, hücre içinde ise 4 mEq/L olan negatif yüklü bir iyondur. Klor kanalları nöron eksitabilitesinin düzenlenmesinde rol alır. Transmembran klor gradyanındaki değişim GABA_A ve glisin kanallarının aktivasyonunda rol alarak analjezik süreçte görev alır (22).

Kalsiyum Kanalları: Kalsiyum (Ca^{+2}) vücutta birçok biyolojik süreçte oldukça önemli rol oynayan ikincil haberci bir iyondur. Ca^{+2} vücutta birçok biyolojik süreçte oldukça önemli rol oynar örneğin; hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonundaki geçici artış, sinaptik aralığa salınan nörotransmitter miktarında artmaya ve hücre zarının uyarılabilirliğinin modüle edilmesine neden olur, aynı zamanda bu etki iyon kanalları sayesinde hücre dışından hücre içine kalsiyumun girmesi sonucunda gerçekleşir. Hücre içine Ca^{+2} girişi 3 yolla meydana gelir bunlar;

- a- Mebranın depolarize olması sonucu açılan voltaj kapılı Ca^{+2} kanalları aracılı
- b- Ligand kapılı non spesifik Ca^{+2} kanalları aracılı
- c- Reseptör-duyarlı Ca^{+2} kanalları aracılı

Neredeyse bütün uyarılabilir hücrelerin plazma membranında voltaj kapılı Ca^{+2} kanalları bulunmaktadır. Bu kanallar elektriksel aktiviteyi hücre içinde kimyasal sinyaller

haline dönüştürürler. Hücre zarının dinlenim halinde bu kanallar kapalı durumdadır, zar depolarize olduğu anda kanallar açılarak kalsiyumun hücre içine girmesine neden olur. Voltaj kapılı kalsiyum kanalları (VKKK), uyarılabilirlik olarak iki gruba ayrılır, bunlar; yüksek voltajla aktive olan kalsiyum kanalları (L-,N-,P/Q-,R- tip) ve düşük voltajda aktive olan kalsiyum kanalları (T- tip) dır. L-,N- ve P/Q- tip kalsiyum kanalları proksimal dentritlerde, santral sinir sistemi nöronlarının hücre gövdelerinde ve bazı glutamaterjik sinapslarda bulunmaktadır. N- tip kalsiyum kanalları ise spinal kordun dorsal boynuzunda lamina I ve II de yoğun olarak bulunmakta ve primer efferentlerden nörotransmitter salınımında anahtar rol üstlenmektedir. P/Q- tip kalsiyum kanalları da neredeyse bütün kimyasal sinapslarda hızlı sinaptik transmisyonunda önemli rol oynamaktadır. Pek çok farklı sinir bölgesinde kalsiyum kanalları nosiseptif süreçte önemli roller üstlenmektedir (23).

4.12. Ağrı Oluşumunda Rol Alan Bazı Mediatörler

P maddesi: P maddesi taşıkinin protein ailesine bağlı bir proteindir. Bir nöropeptid olan P maddesi, nöromodülatör ve nörotransmitter gibi davranır (24). P maddesi nosiseptörlerin terminalinden ağrılı uyarana cevap olarak salınır ve ağrı persepsiyonunda oldukça kritik bir öneme sahiptir. Ağrı duyusunun santral sinir sistemine transmisyonunda görev alır (25). P maddesi reseptör (NK-1) antagonisti klinik olarak periferel inflamasyon ve inflamasyonla ilintili nosisepsiyon tedavisinde kullanılmaktadır (26).

Bradikinin: Doku hasarı ve inflamasyon proteolitik kallikreinlerin aktive olmasına neden olur. Kallikreinler, kininojenden bradikinin gibi kininlerin oluşmasına yol açar. Bradikinin inflamasyon ve ağrı tetiklenmesinden sorumlu olan bir proteindir. Aktive olan bradikinin iki adet G-protein kenetli reseptör olan B₁ ve B₂ reseptörünün aktifleşmesine neden olur. Aktive olan bu reseptörler fosfolipaz C beta ve fosfolipaz A₂ yolaklarını devreye sokar. Fosfolipaz C beta ise protein kinaz C yolağını aktive eder. Protein kinaz C yolağı nöronlarda inflamatuvar sinyalleşmede kritik rol üstlenir. Bradikinin B₂ reseptör antagonistleri antiinflamatuvar ve analjejik olarak klinik kullanıma sahiptir (27).

Prostaglandin: Fosfolipaz A₂ tarafından membran fosfolipidlerinin yıkımı sonucu oluşan maddelerdir. PGE₂ ve PGI₂ aktivasyonu G-protein eşli reseptörler olan EP ve IP aracılığı ile gerçekleşir. Prostaglandinler vücutta pek çok dokuda reseptörü bulunur ve birçok fizyolojik süreçte yer alırlar. Hormon regülasyonu, kalsiyum mobilizasyonu,

intraoküler basıncın düşürülmesi, vasküler düz kas dilatasyon veya kontraksiyonu, hücre büyümesinin kontrolü, hipotalamusa etki ederek ateş oluşumu, inflamasyon tetiklenmesi bunlardan bazılarıdır. Prostaglandinler, dorsal boynuz ve spinal kordda duysal nöronların santral terminalinde pre- ve post- sinaptik reseptörleri etkileyerek bu nöronların uyarılabilirliğini artırır ve santral sensitizasyona neden olur. Prostaglandin inhibitörleri inflamasyon tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (28).

Serotonin: Serotonin, trombositlerden köken alan ve 14 den fazla reseptöre etki ettiği bilinen bir moleküldür. Bu reseptörlerden sadece 5-HT₃ G-protein eşli değildir, bu reseptör diğer serotonin reseptörü gibi ikincil haberci sistemlerini devreye sokmak yerine ligand kapılı iyon kanalları üzerinden Na⁺ girişine neden olarak nosiseptörlerde eksitasyona neden yol açar. 5-HT₃ antagonistlerinin dorsal kök gangliyonu ve periferde antinosisseptif özellik gösterdiği bilinmektedir (29).

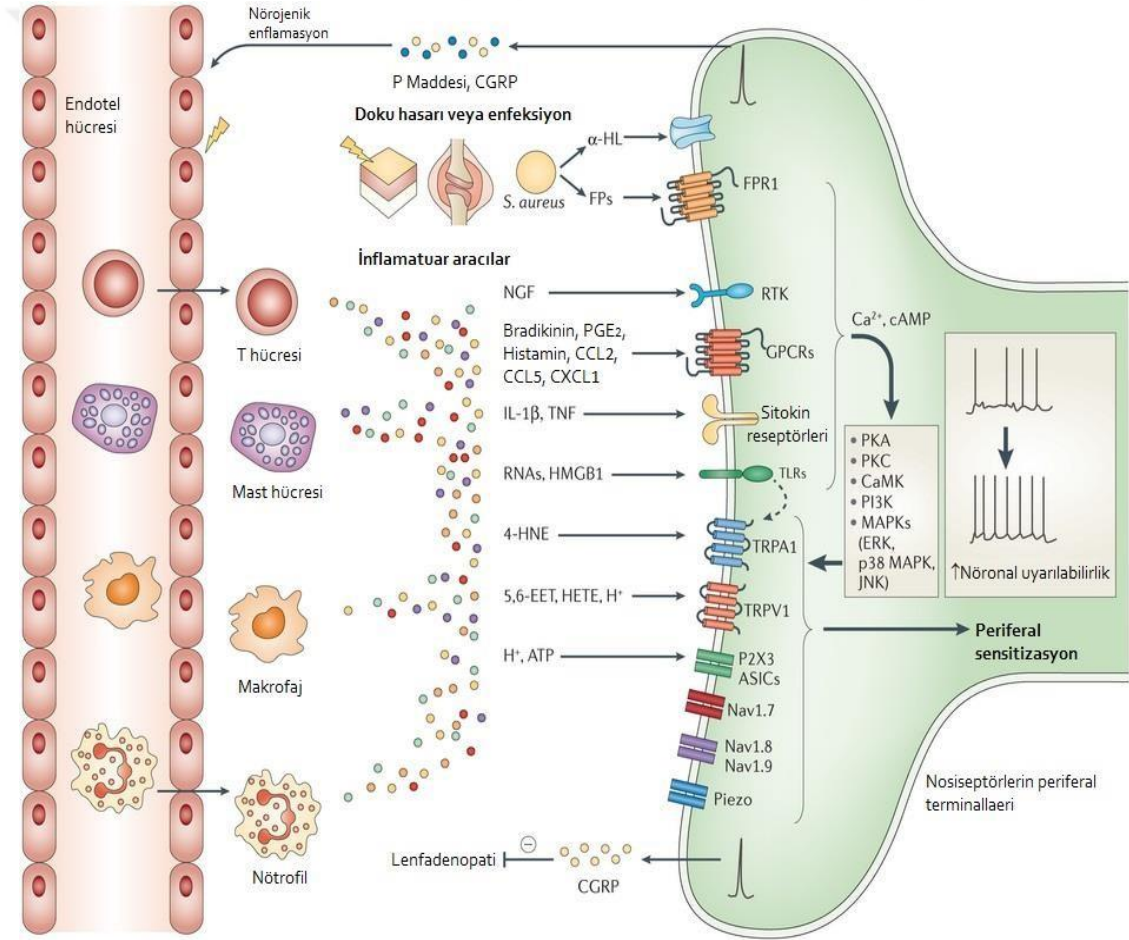
Sinir Büyütme Faktörü: Fizyolojik koşullarda sinir büyütme faktörü (NGF) nöronal gelişimi sağlar. Ancak doku hasarı ve ya inflamasyon sonucu NGF miktarında artış görülür. NGF hiperaljezik cevapların doğmasına neden olur. Mast hücreleri makrofajlar gibi farklı hücre tiplerinden de salınabilir. Özellikle nöropatik ağrı gelişen durumlarda NGF salınımı oldukça artar. NGF antagonizasyonu bu tip durumların tedavisinde başvurulacak etkin bir tedavi seçeneğidir (30).

Opioidler: Opioidler (morfin benzeri sentetik opioidler, endojen opioidler, yarı sentetik opioidler) kronik ve akut ağrı tedavisinde yaygın olarak kullanılan ilaçlardır. Orta ve küçük çaplı DKG nöronlarında bulunan opioid reseptörleri bu nöronların uyarılabilirliği üzerinde modüle edici etkiye sahiptir. Opioid reseptör aktivasyonu direkt ya da indirekt olarak voltaj kapılı kalsiyum ve sodyum kanallarının kapanmasına, potasyum kanallarının açılmasına neden olur. Opioidler non steroid antiinflamatuvar ajanlarla birlikte ağrı tedavisinde en yaygın kullanılan farmakolojik ajanlardır (31).

Pürinerjik Sistem Reseptörleri: Pürinerjik reseptörler P2X ve P2Y olmak üzere iki gruba ayrılır. Doku harabiyeti sonrası açığa çıkan ATP P2X reseptörleri üzerinden dorsal kök gangliyonu ve dorsal boynuz nöronlarını depolarize eder. P2X reseptörleri dorsal kök gangliyonu nöronlarında hem perifer terminalde hemde santral terminalde yerleşik durumdadır. P2X reseptörleri spinal korda duysal transmisyonu modüle etme özelliğine sahiptir. Şimdiye kadar tanımlanan yedi adet P2X reseptörü alt tipi tanımlanmıştır ve özellikle bazı tipleri ağrıda önemli rol oynar, örneğin P2X₄ ve P2X₇ reseptörleri kronik

ağrının oluşumunda önemli rol oynar. İnflamasyonun devam etmesi DKG nöronlarında P2X₃ ve P2X₄ reseptörlerinde artışa neden olur (32).

Transient Reseptör Potansiyel Kanalları: Transient reseptör potansiyel (TRP) kanalları, pek çok plazma membranında lokalize olmuş iyon kanallarıdır. Vaniloid reseptör olarak adlandırılan ve acı biberin etken maddesi kapsaisine duyarlı olan TRPV₁, Ca²⁺ a yüksek geçirgenlik gösterir. TRPV₁ ayrıca 43 °C üstündeki sıcaklıklarda aktive olarak ağrının oluşmasına neden olur. TRPV₁, ATP ve bradikininle sensitize olarak sıcaklık eşiği 30 °C'nin altına düşebilir. Diğer birçok TRP kanallarının da farklı sıcaklık değerlerinde aktive olduğu bilinmektedir, örneğin; TRPV₃ (34-38 °C), TRPM₈ 28 °C'nin altında ve TRPA₁ 17 °C'nin altında (33).



Şekil 1. Periferel ağrı oluşumunda rol alan bazı araçlar ve iyon kanalları. Ji RR (34) no'lu kaynaktan alınmıştır

4.13. Dorsal Kök Gangliyon Nöronlarında H crei i Kalsiyumun Rolü

Dorsal kök gangliyonları primer duysal afferent nöronların hücre gövdelerinin bulunduğu yapılardır. Proprioepsiyon, dokunma ve ağrı gibi duyuların santral sinir sistemine girmeden önce ilk uğradıkları anatomik bölgelerdir. DKG'ler ağrı iletim yollarının önemli bir bölgesi olması nedeni ile farmakolojik olarak ilgi çeken ve periferel ağrı kesicilerin araştırıldığı bir bölgedir.

Kalsiyum, nöronlarda önemli rol oynayan ikincil haberci bir iyonudur ve bu rolü DKG nöronlarında da  stelenmektedir. Kalsiyum seviyesindeki artış DKG nöronlarından nörotransmitter salıverilmesine neden olarak ağrı gibi duysal uyarınların santral sinir sistemine iletilmesine yol açar. Kalsiyumun hücre içine girerek, hücre içi kalsiyum depolarını uyarması ve bu depolardan hücre içine kalsiyum salınması olayı ‘‘kalsiyum tetiklemeli kalsiyum salınımı’’ olarak bilinir ki bu süreç DKG nöronlarında da geçerlidir. Dolayısı ile ağrı iletiminde kalsiyum homeostazisinin dengelenmesi, artan kalsiyum duyarlılığının azaltılması ya da kalsiyum kanallarının özelliklerinin yeterince aydınlatılabilmesi ağrı iletimin anlaşılmasında kritik rol oynar (35).

4.14. Diyabet

Diabetes mellitus genellikle diyabet olarak isimlendirilen, kalıtsal ve çevresel etkenlerin birleşimi ile oluşabilen, kan glikoz seviyesinin artışıyla (hiperglisemi) sonuçlanan patofizyolojik bir durumdur. Kan şekerinin düzenlenmesi çok sayıda kimyasal madde ve hormonun etkileşimi sonucunda sağlanır.

Glikoz metabolizmasının düzenlenmesinde rol oynayan hormonlardan en önemlisi pankreasın beta hücrelerinden salgılanan insülindir (36). Diyabet ya insülin üretiminin azalması yüzünden (Tip 1 diyabette) ya da insüline karşı direnç gelişmesiyle (Tip 2 diyabette ve gestasyonel diyabette) oluşur. Her iki durum da sonuçta kan şekerinin yükselmesine (hiperglisemi) neden olur. İnsülin, glikozun kandan hücrelere (başta kas ve yağ hücreleri olmak üzere, ama santral sinir sistemi hücrelerine değil) geçişini düzenleyen en önemli hormondur. Bu yüzden insülin yetersizliği ya da insülin reseptörünün insüline karşı hassasiyetinin kaybolması tüm diyabet türlerinde önemli bir rol oynar. Besinlerle alınan karbohidratlar alınmalarından birkaç saat sonra bir monosakkarit olan glikoza dönüştürülür. Glikoz, kanda bulunan temel karbohidrattır ve vücut tarafından enerji kaynağı olarak kullanılır. Bu dönüşüm işlemi, fruktoz, pek çok

disakkarit (sukroz ve bazı bireylerde laktoz haricinde), ve nişasta haricindeki hemen bütün polisakkaritler için geçerlidir. İnsülin pankreasın Langerhans adacıklarında bulunan Beta hücrelerinden (β hücreleri) kandaki glukoz seviyesinin artmasına (basitçe yemeklerden sonra) yanıt olarak salgılanır. İnsülin vücuttaki hücrelerin yaklaşık üçte ikisi tarafından kandaki glukozu alıp, onu enerji kaynağı olarak kullanmak, başka moleküllere çevirmek ya da depolamak için kullanılır. İnsülin ayrıca karaciğer ve kas dokusunda glukozu glikojen halinde depolamak için gerekli sinyali sağlayan ana hormondur. Kandaki glukoz seviyesinin düşmesi, hem pankreastan salgılanan insülin miktarının azalmasına hem de glikojenin parçalanarak glukozla dönüşmesine neden olur. Bu işlem esasen glukagon hormonu tarafından kontrol edilir. Glukagon insülinin etkisine ters etki gösteren bir hormondur. Glikojenin parçalanmasıyla oluşan glukoz tekrar dolaşıma verilerek kan glukoz seviyesi arttırılır. Bu mekanizma kas hücrelerinde mevcut değildir. Kas hücrelerinde depolanan glikojen glukozla dönüştürüldükten sonra sadece kas hücreleri tarafından acil ihtiyacı karşılamak için kullanılır.

Yüksek insülin seviyeleri hücre büyümesini ve hücre bölünmesini arttırmak, protein sentezini ve yağ depolanmasını arttırmak gibi bazı anabolik etkiler yapar. İnsülin pek çok iki yönlü metabolik yolda işlemin katabolizma'dan anabolizmaya doğru olması için gerekli sinyali sağlar. Bu durumda insülin yokluğu sözü edilen metabolik işlemlerin anabolizmadan katabolizmaya doğru olmasına yol açar. Yani düşük insülin düzeyleri vücudun yağ moleküllerini yakmaya başlamasına neden olur ve bunun sonucunda vücut ketozis denilen metabolik durum içerisine girer. Eğer mevcut insülin miktarı yeterli değilse, hücreler insüline zayıf derece yanıt veriyorlarsa ya da insülin molekülünde herhangi bir bozukluk varsa hücreler ihtiyaç duydukları glukozu hücre içerisine alamazlar ya da sonra kullanılmak üzere karaciğer ve kasta depolayamazlar. Bu durumun net sonucu olarak, kan şekeri yükselir, protein sentezi azalır ve asidoz gibi metabolik bozukluklar ortaya çıkar. Pankreasın Beta hücrelerinden insülinin salgılanması glukoz metabolizması tarafından uyarılır. Glukozun metabolize olmasıyla sentezlenen ATP hücre içindeki ATP/ADP oranı artırır. Bu durum ATP-duyarlı potasyum (K^+) kanallarının (K_{ATP}) kapanmasına neden olur. Hücre dışına çıkamayan K^+ hücre zarı potansiyelinin yükselmesine ve hücre membranının depolarize olmasına yol açar. Bu durum voltaj-duyarlı kalsiyum (Ca^{2+}) kanallarını açar ve hücre içine giren Ca^{2+} insülinin depo edildiği granüllerden ekzositoz yoluyla hücre dışına çıkmasına neden olur (37).

Diyabet tekrarlayan ya da kalıcı hiperglisemi ile karakterizedir. Açlık plazma glukoz seviyesinin 126 mg/dL (7,0 mMol/l) ya da daha yüksek olması veya hastanın hiperglisemi belirtileri göstermesi ve rastgele ölçülen plazma glukoz seviyesinin 200 mg/dL (11,1 mMol/l) ya da üzerinde olması bireye diyabet tanısı koymak için ölçüttür (38). Diyabet hem lokal hemde sistemik olarak organizmayı oldukça etkileyen metabolik bir süreçtir. Akut ve kronik dönemlerde oldukça yaygın etkili komplikasyonlara neden olabilmektedir. Akut komplikasyonlar; diyabetik ketoasidoz, hiperglisemik hiperozmolar aşama, hipoglisemi diyabetik koma, erektil disfonksiyon, solunum disfonksiyonları olarak sıralanabilir. Kronik komplikasyonlar ise; diyabetik kardiyomiyopati, diyabetik nefropati, diyabetik nöropati diyabetik retinopati, diyabetik miyonekroz vs. olarak sıralanabilir (39).

4.15. Diyabetik Nöropatik Ağrı Patofiyolojisi

Uluslararası Diyabet Federasyonu verilerine göre dünya genelinde 328 milyon insan diyabet hastalığı ile yaşamına devam etmektedir (40). Bu hastalarda en sık gelişen komplikasyonlardan biri diyabetik nöropatidir. Nöropatiler arasında en yaygın görülen distal simetrik polinöropati (DSPN) hastaların % 90'ına yakın bir oranda karşılaşılan primer nöropati tipidir. Genel olarak DSPN tırnak ve distal ayak kısımlarını etkilemekle birlikte hastalığın ilerleyen evrelerinde ayak ve bacakların proksimal kısımlarını da etkileyebilmektedir. İlerleyen evrelerde otonom ve somatik sinirleri de etkisi altına alabilen nöropati beraberinde retinopati ve nefropatiye de hastalık komplikasyonları olarak açığa çıkmaktadır (41). Ağrılı nöropati DSPN'nin en belirgin klinik semptomlarıdır. Morbidite ve mortalite oranı oldukça yüksektir (42). Sıklıkla hastaların ağrı duyusunu hissettikten sonra hekime başvurduğu gerçeği bilinmektedir. Bu hasta grubunda ağrı gelişimi oranının % 10 ila % 26 arasında olduğu görülmektedir (43).

Diyabetik nöropatik ağrı (DNA), karıncalanma, yanma, keskin ağrı, sızlama gibi hislerle karakterize bir ağrı türüdür. Bu semptomlar özellikle gece döneminde daha da aktifleşir ve uyku problemlerine yol açabilir (44). Oldukça ızdırap verici olan bu ağrı türü günlük aktivitelerin yapılmasına engel olabilmekte, hastayı sosyal olarak pasifize edebilmektedir. DNA sürekli olarak hissedilebilmekte ve bazen yüzeysel allodoni de DNA ye eşlik edebilmektedir (45).

DNA patogenezi henüz tam olarak anlaşılamasa da, elde edilen veriler ışığında bu sürecin nasıl geliştiği hakkında bazı teoriler ileri sürülmektedir. Bunlar; periferik sinirleri

besleyen damarların yapısında meydana gelen morfolojik ve fizyolojik hasarlar, metabolik ve otoimmün bozuklukların neden olduğu glial hücre aktivasyonu, sodyum ve kalsiyum kanal ekspresyonunda değişimler, santral sinir sisteminde artmış talamik vaskülarite, ağrı duyusunu kolaylaştırıcı ve inhibe edici inisiyasyon yollarının dengesinde bozulma olarak sıralanabilmektedir. Aynı zamanda ilerleyen yaş, sigara ve alkol kullanımı, glikoz intoleransı DNA oluşumuna katkıda bulunan faktörler arasında sayılabilir (41, 46). Diyabet oluşumu diyabetik komplikasyonların ortaya çıkması ve patofizyolojik süreçleri açıklayabilecek bazı preklinik ve klinik veriler olmasına rağmen neden bazı hastalarda ağrı görüldüğü bazılarında ise görülmediği henüz tam olarak açıklanamamıştır değildir. Özellikle metabolik hastalıklar diyabetik nöropati gelişimine neden olan primer etkenlerdir. Hiperglisemi, poliol yolağı aktivitesini arttırmaktadır. Bu yolak enzimlerinden biri olan aldoz redüktaz glikozdan sorbitol katalizlenmesine neden olur. Sorbitol ikinci basamakta nikotinamid adenin dinükleotit fosfat'ın (NADP) NADP⁺ ya dönüşmesine neden olur. Hiper glisemik süreçte aldoz redüktazın glikoza afinitesi oldukça yüksektir, bu afinite hücre membranının geçemeyen sorbitolun hücre içinde birikmesine ve hücrede ozmotik stres yaratmasına neden olmaktadır (47). Poliol yolak hiper aktivitesi patojenik etkenler yaratmaktadır, bunlar; NADPH ve NAD⁺ dönüştürücü faktörlerinden artış, buna bağlı olarak glutatyon rejenerasyonun da azalma, glikasyon son ürünlerinde artış, diaçilgliserol ve protein kinaz C üretim ve aktivasyonu olarak sıralanabilir. Bu süreçler oksidatif stres ve toksik türlerin birikiminde artışa neden olmaktadır (48). Artmış oksidatif strese paralel olarak antioksidan kapasitedeki azalma diyabetik nöropati gelişiminin tetikleyici faktörleri arasındadır. Ancak nöropati gelişimini hücresel stresle sınırlandırmak bütün patofizyolojik süreci açıklamada yetersizdir. DNA aynı zamanda bozulmuş mikrovaskülarite ile de ilişkilendirilmektedir. Mikrovaskülaritenin bozulmasının sonucu olarak periferik ve santral perfüzyon işlevi kısıtlanmakta ya da ortadan kalkmaktadır (49). Sinirleri besleyen damarların bazal laminalarında kalınlaşma ve hiyalinizasyon sonucu nöral iskemik oluşmaktadır (50). Damar yapısındaki bu değişimler, kapiller membran plazma protein uzantılarının endonöriyuma doğru hareketine neden olarak, şişkinliğe neden olmakta, bölgede biriken intersitisyel sıvıda sinirlerdeki basıncı arttırmaktadır. Artmış bu intersitisyel basınç artmış kapiller basınç eşlik ederek ilgili bölgedeki trombus ve fibrin gelişimi baskılanmaktadır. Hiperglisemi hipoksiyi tetikleyerek özellikle duysal sinirlerde

elektiriksel stabilitenin değişmesine de neden olabilmektedir (51). Sinir iskemisinin bir sonucu olarak hem diyabetik hastalarda hem de deney hayvanlarında özellikle proksimal ve distal segmentlerde sinir kaybı oluşmakta, buna bağlı olarak intraepidermal sinir yoğunluğunda azalma gözlenebilmektedir (52). Sinir kaybının yanı sıra, DNA patogeneğinde aksonal rejenerasyon ve miyelin kılıf değişimi de karakterize süreçlerdendir. Demiyelizasyon özellikle, miyelin kılıfı destekleyen Schwann hücrelerinin miyelin kılıf destek özelliğinin ortadan kalkması ile ilişkilidir (53). DNA hastalarında endotel fonksiyonunda azalma da göz ardı edilmemesi gereken etkenler arasındadır. Diyabetli hastalarda asetilkolin ile indüklenen vazodilatasyonda azalma, sempatik sinir sistemi aracılı vazokonstriksiyonda ise defektler görülmesi de olasıdır (54).

Her ne kadar mikrovaskülarite bozukluğu, artan oksidatif stres, antioksidan etkinliğinin azalması, oksijenizasyonda azalma periferel sinir fizyolojisini bozsa da bu süreç ilgili sinir ya da sinirlerin bir takım moleküler ve hcreesel değişimi ile de karakterizedir. Zamanla beslenemeyen, hasarlanan sinir sonlanmalarında bir takım değişiklikler meydana gelmesi kaçınılmazdır. Bu moleküler değişimlerin de spontan ağrıya neden olduğuna inanılmaktadır. En yaygın kabul edilen hipoteze göre hasarlı sinir sonlanmalarının ürettiği aksiyon potansiyelleri santral sinir sistemi tarafından ağrı duyusu olarak yorumlanmaya başlamasıdır. Sinir hasarlanması sonucu periferel sinirlerde iyon kanalı ekspresyonunda ki değişimler ilgili sinirde hipereksitabiliteye neden olmakta bu da nöropatik ağrı olarak karşımıza çıkmaktadır (55). Bu iyon kanallarındaki değişim özellikle sodyum kanal tiplerinde görülmektedir. Nöropatik ağrı gelişimi sırasında voltaj kapılı sodyum kanallarının up-regülasyonu bir çok çalışmanın sonucu elde edilen bulgulardandır (56). Hayvan çalışmalarından elde edilen verilerde diyabetik hayvanlarda, dorsal kök ganliyonunda, Nav1.3 ve Nav1.7 voltaj kapılı sodyum kanalı alt tiplerinin sayısında artış görülmüştür. Bu kanallar özelikle aksiyon potansiyelinin tetiklenmesi sürecinde rol almaktadır (57). Nav1.3 kanal ekspresyonunun allodoni oluşmuş diyabetik sıçanlarda DKG'de bulunan küçük ve büyük çaplı nöronlarda arttığı da bulunmuştur. Periferel nosiseptrlerde bulunan Nav1.8 kanal ekspresyonunda azalma, ranvier boğumunda bulunan Nav1.6 kanal ekspresyonunun değişimi de göz önünde bulundurulduğunda aslında birçok sodyum kanalı alt tipinin nöropatik ağrı oluşumunda rol aldığı söylenebilir (58, 59). DKG gangliyonlarına özellikle küçük çaplı nöronlarda ortaya çıkan bu değişmiş sodyum akımı, polimodal C liflerinin duysal

enformasyon aktarımında artışı ve dolayısı ile nosiseptif transmisyonu açıklayabilmektedir (60). Klinik çalışmalardan elde edilen bulgularda da, diyabetli hastalarda nodal sodyum akımının arttığı gözlemlenmiş ve prelinik çalışmalarla örtüşen veriler elde edilmiştir (61).

Sodyum kanal arborizasyonundaki bu değişim, sinirlerde artmış uyarılmalara neden olmakta, ilgili sinir grubu aksiyon potansiyeli üretmekte, artan bu aksiyon potansiyeli frekansı da santral sinir sisteminde ağrı duyusu algısında artışa neden olacaktır.

İyon akımındaki bu değişimler sadece sodyum kalan değişimi ve buna bağlı olarak gözlemlenen sodyum akımındaki değişiklikler ile sınırlı değildir. Kalsiyum kanal ekspresyonunda da belirgin bazı değişimler görülmektedir. Bozulan bu kalsiyum akımı duysal nöronlarda artmış kalsiyum girişine ve P maddesi ile glutamat salınımında artışa neden olmaktadır (62, 63). Hücre dinlenim membran potansiyelini dengeleyen potasyum iyon akımı da değişerek nöronal hipereksitabiliteye katkı sağlayabilmektedir (64).

Glial hücreler (mikro ve makroglia), sinir sisteminde nöronlara destek olarak miyelin kılıf oluşumunu gerçekleştiren, nöronları beslenmesini ve oluşan metabolitlerin uzaklaştırılmasını sağlayarak nöronal homeostazisi sağlayan hücre çeşitleridir. Bu hücre tiplerindeki değişimlerin birçok sinir sistemi hastalığında önemli rol oynadığı bilinmektedir (65). DKG ve spinal kord hasarlanmasında bu hücrelerin anormal bir şekilde proliferasyon olduğu bilinmektedir (66). Periferik sinir yaralanması sonucu mikroglia hücrelerinde artış, beraberinde, sitokinler gibi bazı inflamatuvarlarda artışa, kemokin, nitrik oksit gibi sitotoksik artışına ve serbest radikallerde artışa sebep olmaktadır (65). Nörotransmitterlerin sinaptik aralıktan uzaklaştırılmasında rol alan bu hücreler, patolojik süreçlerde bu işlevlerini yerine getiremeyerek ağrı duyusunda rol alan nörotransmitterlerin sensitizasyonunun arttırmasını engelleyemez hale gelmektedir (67).

Periferik dokulardaki bu patolojik değişiklikler elbette nöropatik ağrı oluşum sürecinde karşımıza çıkan ve tedaviye ışık tutan yolaklardır. Ancak nöropatik ağrı gelişimi sadece bu bölgelerde bazı değişikliklere neden olmakla kalmamakta aynı zamanda santral sinir sisteminde de patolojik süreçler tetiklenmektedir. Bu yollardan en belirgin glutamat ve NMDA reseptör ekspresyonunda artış görülmesidir. Glutamat da ki bu artış santral sensitizasyonu arttırmaktadır (68). Bir diğer etki ise GABA_B reseptöründe azalma görülmesidir (69). GABA daki azalma glutamat etikliğindeki artış,

kalsiyum akımının artmasına, artmış kalsiyum akımı, eksitatör nörotansmitterlerin aktivitesinde artışa ve sonuç olarak ağrı duyusunun santral sinir sistemi tarafından algılanmasında artışa neden olacaktır.

4.16. Diyabetik Nöropatik Ağrı Tedavisi

DNA'nın patofizyolojisi'nin henüz tam olarak aydınlatılamamış olması, mekanizmanın çözülememesi, tedavi imkânlarını oldukça kısıtlamamaktadır. Özellikle tedavi seçeneklerinde ki yüksek maliyet ve yan etki tedaviyi güçleştirmektedir (70). Tek başına ya da kombine halde kullanılan birçok farklı ilacın diyabetik ağrıyı önlemede plaseboya göre daha etkili olduğunu göstermesine rağmen hastaların çoğunda ağrı hissini tam olarak ortadan kaldıramadığı görülmüştür. Klinik uygulamalarda genel olarak ağrı hissini % 50 oranında azaltılmış olması başarı olarak kabul edilmekte glisemik kontrol gibi tedavilerle kombine edilerek hastanın uyku bozukluğu, depresyon gibi durumları da kısmen iyileştirilebilmektedir (71). Tedaviye yönelik uygulamalar multidisipliner ve multimodal olmasına rağmen hepsi farmakolojik temellidir. Ağrı tedavisindeki yönelimler klinisyen yaklaşımları açısından farklılık gösterdiği için uygulanan ilaçlar da değişmektedir.

Antikonvülzanlar arasında yer alan pregabalin, DNA tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (72). Voltaj kapılı kalsiyum kanallarının $\alpha 2\delta$ içeren alt ünitelerine bağlanarak bu kanalların bloklanmasına ve eksitatör nörotransmitter salınımının baskılanmasına neden olur (73). Pregabaline benzer bir etki gösteren gabapentin de DNA tedavisinde kullanılmaktadır. Bazı antidepresanlar serotonin geri alımını engelleyerek çalışan ilaç tipleridir. Serotonin geri alımının baskılanması ile elde edilen analjezik etki DNA tedavisinde kullanılan bir başka farmakolojik yaklaşımdır (74). Opiodiler ikinci alternatifler arasında kullanılan ilaç grubudur. Tedavi etkinliği antikonvülzan ve antidepresanlara nazaran oldukça sınırlıdır (75). Kapsaisin içeren topikal kremler DNA tedavisinde alternatif olarak kullanılabilen lokal ajanlardır. Kapsaisin C liflerinin etkinliği değiştirerek ağrılı nosiseptif sinyallerin santral sinir sistemine aktarımı baskılar. Ancak düşük konsantrasyonlarda kapsaisin kullanımının etkisizliği, yüksek oranda kullanımın ise deri tahribatına yol açması nedeni ile bu tedavi yöntemi etkinlik olarak zayıf kalmaktadır (76). Duysal nöronlarda sodyum kanallarını bloklayan lidokain diğer DNA tedavi ajanları ile kombine edildiği zaman etkinliği artan ve tercih edilen ajanlardandır. Ancak lidokain irritasyonu olduğu göz önünde bulundurulduğunda kullanım süresi

kısıtlı olmaktadır (77). Oksidatif stresi azaltan alfa lipoik asit, nitrik oksit donörü olan isosorbid dinitrat spreylere de DNA tedavisinde kullanılan farmakolojik ajanlardır.

4.17. Deneysel Ağrı Modelleri

İnflamatuvar ağrı modelleri: Zararlı uyarıların arka pençenin tüysüz (termal) veya tüysüz ve kıllı (mekanik) derisine uygulanan yaygın inflamatuvar ağrı modelidir. Ağrı cevapları genel olarak ısıya (saniye) veya mekanik geri çekme eşiğine (g veya mN) göre latans cinsinden belirlenmektedir. Bazal ağrı eşikleri belirlendikten sonra, dorsal tüylü veya ventral tüysüz deri içine bir inflamojen enjekte edilir ve çekilme tepkileri zaman içinde (saatler ile günler) değerlendirilir. Enjeksiyon sonrası cevaplar hiperaljeziktir; yani, ısıya tepki gecikmesi daha hızlıdır ve mekanik ağrı eşikleri (her biri farklı eğilme kuvveti olan von Frey benzeri naylon monofilamentler kullanılarak değerlendirilir) daha düşüktür. Hiperaljezinin doğası ve süresi inflamasyonlar arasında farklılık gösterir, bazı inflamasyonlar daha fazla termal hiperaljezi ve bazıları ise daha büyük mekanik hiperaljezi oluşmasına neden olur.

Arka pençe enjeksiyonunda formalin veya kapsaisin yoğun (kısa süreli (bir dakika ile on dakika), sürekli ağrı) olarak kullanılmaktadır. Formalin etkisi konsantrasyona bağlıdır ve temel olarak iki aşamalı ortaya çıkan arka bacak yalama ve sallanması ile karakterizedir. Birinci aşama kısadır (yaklaşık 10 dakika) ve kısa bir süre (~ 5 dakika) göreceli durgunluk periyodu görülür bundan sonra ikinci bir sallama ve yalama fazı ek bir 50 dakika sürer. Kapsaisin'in intradermal enjeksiyonu, kapsaisinle üretilen ağrı çözüldükten sonra saatlerce devam eden, hiperaljezi ile ilişkili olarak nispeten kısa süreli (dakika) ancak yoğun ağrı oluşturur (78).

Tail Flick Modeli: Tail flick testi, hayvanlardaki ağrı tepkisini ölçen bir testtir. Temel ağrı araştırmalarında ve analjeziklerin etkinliğinin ısıya tepki gözlemlenerek ölçülmesinde kullanılır. İlk kez 1941'de D'Amour ve Smith tarafından tanımlanmıştır (79). Çoğunlukla, bir ışık demeti hayvanın kuyruğuna odaklanır ve bir zamanlayıcı başlar. Hayvan kuyruğunu oynattığında, zamanlayıcı durur ve kaydedilen süre (gecikme) ağrı eşiğinin bir ölçüsü olarak değerlendirilir. Uygulanan ilacın ağrı eşiğindeki etkinliğini test etmek amacıyla araştırmacılar test edilen ilacın uygulanan hayvan tarafından hissedilen ağrı miktarını ne ölçüde azalttığını ölçmek için genellikle kuyruk flikeri testini kullanmaktadır (80). Hem laboratuvar fareleri hem de sıçanlar, bu testler için kullanıma uygundur. Bu kemirgenlere genellikle ağrıya yanıtın zayıflamasından sorumlu olan

analjezikler verilir. Ağrıya karşı zayıflamış bu cevaplar altında etkinlik sıklıkla yutulduktan 30 dakika sonra zirve noktasına ulaşırken, araştırmacılar kuyrukları sabit ısıya maruz bırakarak ne kadar süreyle hareket ettiğini ölçüp analjeziklerin etkinliğini test ederler (81).

Nöropatik ağrı modeli: Nöropatik ağrı karmaşık patogenezi, mekanizmasının tam olarak irdelenememiş olması gibi nedenlerden dolayı araştırması oldukça zor bir patolojik süreçtir. Etik problemler ve nöropatik ağrının bireylerde oluşturduğu geri dönüşümsüz hasar nedeni ile insan çalışmaları oldukça kısıtlıdır. Bu sebeplerden dolayı tedaviye yönelik uygun farmakolojik ajan, doz, mekanizma irdelenmeleri deney hayvanları üzerinden yürütülmektedir.

Nöropati indüklenmesinde kullanılan yöntemler periferik ve santral nöropati indüklemesi olarak ayrılabilir. Uygulanan yöntemler kimyasal bir ajanla olabileceği gibi sinir hasarı fiziksel olarak da tetiklenebilir. Diyabetle indüklenmiş nöropati en yaygın kullanılan yöntemler arasındadır ve periferik diyabetik nöropati çalışmaları için oldukça uygun bir yöntemdir. Bu yöntemle tetiklenmiş nöropatinin semptomları artmış termal ve titreşim eşikleridir. Bu yöntemde gözlemlenebilen semptomlar parastezi, allodoni, hiperaljezi ve normal sinir fonksiyonlarına eşlik eden spontan ağrı olarak sıralanabilir (82). Diyabetle indüklenmiş nöropatinin çalışıldığı birkaç hayvan modeli bulunmaktadır. Bunlar arasında en yaygın kullanılan yöntem pankreatik β hücrelerini harap ederek diyabet oluşmasına neden olan streptozotosin (STZ) ve alloxan uygulamasıdır (83). Hayvan modellerinden subkutan STZ uygulanması yaklaşık 2-3 haftalık süreç sonunda C lifleri üzerinden hiperaljezi ve hipersensitivite oluşturmaktadır (84). Akut dönemden sonra özellikle 5 haftadan sonra hipoaljezi gelişimi hiperaljezinin yerini almaktadır (85).

4.18. Nörodejenerasyon ve Nörodejeneratif Hastalıklar

Nörodejenerasyon, giderek ilerleyen, nöronların yapı ya da fonksiyon kaybına neden olan, ileri evrelerde nöron ölümü de gözlemlenebilen karmaşık bir süreçtir. Nörodejenerasyon sinir sisteminin bütün bölümlerinde meydana çıkma ve o bölgeyi hasara uğratma potansiyeline sahiptir (86). Hücrel ve hücre altı boyutta oluşmaya başlayan nörodejenerasyon devamında Parkinson, Alzheimer gibi nörodejeneratif hastalıkların ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Son yıllarda dünya genelinde insidansı artan nörodejeneratif hastalıklar ülkemiz için de önemli bir sağlık sorunu haline gelmiş

bulunmaktadır. Genel itibarı ile nörodejeneratif hastalıklar kortikal, subkortikal serebellum, spinal kord, periferel sinirler gibi bölgelerin hasarlanması sonucu ortaya çıkan patolojik durumlar olarak sınıflandırılır (87). Özellikle yaşlılığa bağı olarak ortaya çıkan nörodejenerasyon yalnızca yaş faktörü ile açıklanabilecek bir patofizyolojik durum değildir. Yaş faktöründen bağımsız olarak santral sistemi etkileyecek pek çok süreç nörodejenerasyona ve devamında nörodejeneratif bir hastalığa neden olabilir. Örneğin; virüsler direkt olarak nöronları etkileyerek dejenerasyon yapabilme özelliğine sahiptir (88). Benzer şekilde kan beyin bariyerinin geçirgenliğindeki defektler, miyelin kılıf tahribatı, aksonal yaralanma, glial hücre defektleri, inflamatuvar hücre varlığı gibi santral sinir sistemini etkileyen faktörlerde nörodejenerasyona neden olabilmektedir (89). Özellikle miyelin kılıf kaybı nöropatik ağrı, paraliz, kas spazmları gibi klinik semptomları açığa çıkartarak hekime hastalık süreci hakkında bilgi sunmaktadır (90). Bu makro süreçlerin yanı sıra, proteopatiler, hücre içi sinyal yollarının bozulması, hücre membran bütünlüğün kaybolması, mitokondriyal bozukluklar, aksonal taşıyım bozuklukları, apoptosiz gibi daha mikro süreçlerde nörodejenerasyona neden olabilmektedir (91). Direkt santral sinir sistemini etkilemeyen bir toksisite veya diyabet gibi metabolik bir hastalık periferel duysal nöronları tahribata uğratarak periferel nöropatiyi tetikleyebilmekte ve nörodejeneratif bir hastalığın ortaya çıkmasına neden olabilmektedir (92). Nörodejeneratif hastalıkların sınıflandırılması, klinik bulgular, hücre kaybının görüldüğü anatomik bölgeler patojenik süreçle ilişkili proteinlerin konformasyonel değişimleri ve eğer biliniyorsa etiyolojik olarak gerçekleştirilebilir (93).

Klinik Sınıflandırma: Bu sınıflandırmada yüksek beyin fonksiyonlarındaki bozukluklar hareketle ilintili motor sistem disfonksiyonları veya kombine bir şekilde gözlemlenen semptomlar göz önüne alınmaktadır. Bu bulguların elde edildiği ve en sık nöron hasarı gözlenen bölgeler; hipokampus, limbik sistem, entorhial korteks, singulat korteks ve neokortikal alanlardır. Örneğin demans problemi özellikle frontal kortekste oluşan nörodejenerasyon sonucu ortaya çıkmaktadır. Bazal gangliyonlar, serebellum ve beyin sapı gibi bölümlerin hasarlanması sonucu hareket kısıtlılığı yani hipokinezi görülen Parkinson ve ya hiperkinezi görülen Chorea hastalığı oluşmaktadır.

Nöropatolojik Sınıflandırma: Nöropatolojik sınıflandırma şu temeller üzerine oturtulmaktadır; reaktif astrogliazis ve nöral kaybın anatomik dağılımındaki değişimler, buna ek olarak prion hastalığındaki spongiform gibi histolojik değişikliklerin görülmesi ya da protein katmanlarının sinir sistemindeki gelişimidir.

Nörodejeneratif hastalıklarla ilintili proteinler: Bu proteinler mikrotübüler sistem proteinleri, nükleer proteinler gibi farklı alt tipte proteinler olabilmektedir.

Nörodejeneratif hastalıkların gelişme mekanizmasının oldukça karmaşık olması tedavi maliyetlerinin yüksek ve tedavi seçeneklerinin nörodejeneratif hastalıkları ortadan kaldırmada yetersiz olması, araştırmacıları endojen mekanizmaların irdelenmesine yöneltmektedir. Parkinson, Alzheimer ve polimodal distal nöropati gibi hastalıklarda kök hücre tedavisi cerrahi müdahaleler, farmakolojik tedaviler her ne kadar kısmi başarılar sunsa da henüz tam manası ile etkin bir tedavi bulunmamaktadır (94).

4.19. Egzersiz ve Egzersiz Tipler

Fiziksel egzersiz, fiziksel fit olma durumunu arttıran ya da koruyan vücut aktivitesinin arttığı, sağlıklı olma yönünde vücudu harekete geçiren durumları için kullanılan bir kavramdır (95). Fiziksel egzersiz, kozmetik kaygıların giderilmesi, kilo verme, kardiyovasküler sistem düzenlemesine yardımcı olma, yaşlanmayı geciktirme kas kitlesinin gelişim ve şekillenmesi gibi birçok farklı sebepten ötürü uygulanabilmektedir. Düzenli yapılan egzersizin, immün sistemi güçlendirdiği metabolik hastalıklara yakalanma riskini azalttığı, nörodejeneratif hastalıkların görülme sıklığını düşürdüğüde, egzersizin bilinen faydalı etkileri arasında sayılabilir (96). Fiziksel egzersiz kavramı, yürüme, koşma, yüzme, tırmanış, kas kitlesini arttırmaya yönelik yapılan ağırlık kaldırma sporları gibi birçok farklı vücut aktivitesini arttıran eylem için kullanılabilen genel bir kavramdır. Fiziksel egzersiz, insan vücudunda meydana getirdiği toplam etkiye bakılarak 3 farklı sınıfa ayrılabilir (97), bunlar;

Aerobik egzersiz: Geniş kas gruplarının kullanıldığı ve dinlenim durumuna göre çok daha fazla oksijenin tüketildiği egzersiz tipi olarak tanımlanmaktadır. Aerobik egzersizin temel hedefi, kardiyovasküler direnci arttırmaktır (98). Aerobik egzersize bisiklet sürme, yüzme, tırmanış gibi aktiviteler örnek olarak verilebilir.

Anaerobik egzersiz: Laktatın oluşmasına yetecek şiddette egzersiz yoğunluğunun uygulandığı egzersiz tipidir. Genel olarak, direnç ve kuvvet kazanmak adına, kas tonusunun arttırıldığı egzersiz tipidir. Anaerobik egzersiz ile birlikte kemik direncinde artış koordinasyon, denge gibi yetilerde gelişim temel hedef olmaktadır (97). Ağırlık çalışılması anaerobik egzersize örnek olarak verilebilir.

Esneklik egzersizi: Kasların gerinme ve uzama egzersizi olarak tanımlanabilir. Bu tip egzersizde temel hedef olası yaralanma riskini en aza indirmek adına eklemleri ve kasları adapte etmektir (97).

Egzersiz tipinin yanı sıra egzersiz şiddeti de egzersizin niteliğini belirleyen temel kavramlardan biridir. Egzersiz şiddeti, egzersiz sırasında kullanılan enerjinin bir ölçüsü olarak tanımlanabilir. Aynı egzersiz şiddetinde yakılan enerji bireysel farklılık gösterebilmektedir. Egzersiz şiddetinin temel niteliği, egzersiz sırasında ve sonrasında vücudun hangi enerji tipini kullandığı ve ne tür adaptasyonlar gösterdiği olarak tanımlanabilir. Egzersiz şiddeti aktivite sırasında vücudun kullandığı fiziksel gücün (maksimum oksijen kullanımı) miktarıdır (99). Kalp hızı egzersiz şiddetini belirlenmesinde bir kriter olarak kullanılabilir. Ancak egzersiz şiddetinin belirlenmesinde göz önünde bulundurulacak temel kriter oksijen kullanımıdır (VO_2). İnsanlarda VO_2 temel alınarak belirlenen egzersiz şiddeti deney hayvanlarında da özellikle treadmill egzersizi yaptırılarak ayarlanabilmektedir (100).

4.20. Egzersizin Sağlık Üzerine Etkileri

Genel sağlık ve iyi hissetme hali akut ya da kronik stres sonucu bozulabilir. Bu bozulma fizyolojik ya da psikolojik etmenler sayesinde ortaya çıkabilir (101). Günlük stres oluşturan faktörler, uyku bozukluğu, sigara tüketimi aşırı alkol alımı, savaş ya da kaç cevabının doğmasına neden olabilecek stresörler gibi faktörler vücutta genel bir stres oluşturarak sağlığı olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Kronik stresin depresyon ve Alzheimer gibi psikiyatrik ve nörolojik bozukluklara sebep olduğu da bilinmektedir (102). Kronik stres aynı zamanda santral sinir sistemi tarafından koordine edilen kardiyak ritim, santral metabolik fonksiyon, sirkadiyen ritim ve stres cevabını oluşturan hipotalamik-hipofiz aksisi regülasyonu gibi işlevlerin yerine getirilmesinde engeller çıkarabilir (103).

Temel ve klinik düzeydeki araştırmalar fiziksel egzersizin psikiyatrik ve nörolojik hastalıkların oluşumunu önlediği, hastalığa yakalandıktan sonraki süreçte ise bu hastalıkların ilerleme süresini yavaşlattığı ya da bazı durumlarda hastalıkla birlikte seyreden semptomları hafiflettiği bilinmektedir. Egzersizin bu etkisini nöroinflamasyonu kısıtlayarak, oksidatif stresi azaltarak ya da beyinde trofik faktörleri artırarak gerçekleştirdiğine dair veriler literatüre sunulmuş bulunmaktadır (104, 105). Ancak egzersizin bu faydalı etkilerini hangi mekanizma ya da mekanizmalar üzerinden

gerçekleştirdiği hala bilim dünyasında merak uyandıran sorular arasındadır. Elde edilen veriler ışığında egzersizin farklı beyin bölgelerinde katkıda bulunduğu faydalı etkiler şu şekilde özetlenebilir;

Beyin Sapı Bölgeleri ve Egzersizin Etkisi: Dorsal rafe nükleusu beyin sapında bulunan ve serotonerjik nöronlardan oluşan beyin bölgesidir. Bu bölge amigdala, hipokampus ve serebral korteks gibi davranış, total vücut modu, anksiyete, stres, depresyon, öğrenme hafızayı kontrol eden birçok beyin bölgesine projekte olur (106). Aynı zamanda bu bölge ağrı modülasyonunda da oldukça etkin bir rol oynar (107). Deney hayvanlarında yapılan çalışmalar da egzersizin bu bölgeyi modüle ederek stres ve aksiyetik cevapları azalttığı tespit edilmiştir (108). Locus coeruleus (LC), nöradrenerjik nöronların bulunduğu, dikkat, ayrosol ve strese karşı kontrollü davranışların verilmesini sağlayan beyin sapı bölgesidir (109). LC de oluşan stres cevaplarına norepinefrin ile birlikte galanın de eşlik etmektedir. Galanın nöronların hipereksitabilitesini zayıflattığı için strese karşı nöradrenerjik adaptasyonu kolaylaştırabileceği vurgulanmaktadır (110). Egzersizin bu bölgede galanın ekspresyonunu artırarak strese adaptasyon cevabına katkıda bulunmaktadır (111).

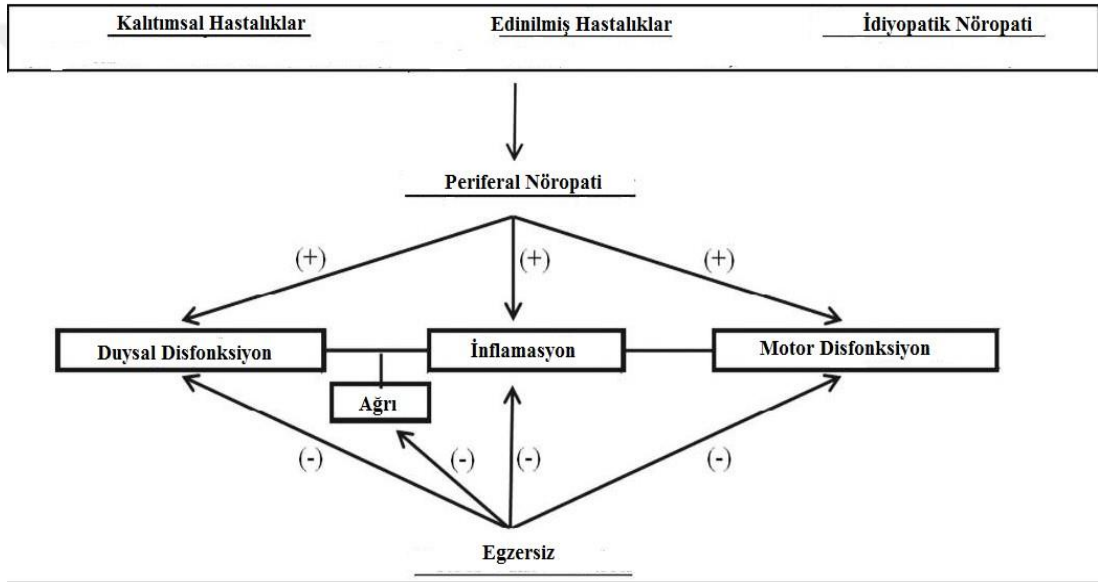
Hipotalamus: Hipotalamus visceral bölgenin koordinasyonunda görev alan beyin bölgelerinden biridir. Bu görevler; enerji dengesi, metabolizma, otonom sinir sistem modülasyonu ve sirkadiyen ritim düzenlemesi olarak sıralanabilir. Kronik stres ve ya nörodejenerasyonla işlevi bozulabilen sirkadiyen ritim kontrolünün deney hayvanlarında egzersizle birlikte düzelme gösterdiği veri olarak sunulmuştur (112).

Bu santral etkilerin yanı sıra egzersizin, beslenme davranışı, otonom sinir sistemi üzerinden kardiyovasküler düzenleme sağladığı da yapılan temel araştırma çalışmaları ile gösterilmiştir (113, 114).

4.21. Egzersiz ve Nörodejeneratif Hastalıklar

Egzersiz, özellikle son yıllarda nörodejeneratif hastalıklarla mücadelede önemli bir koruyucu yöntem olarak kabul edilmektedir (115). Santral sinir sisteminde nörotrofik faktörlerde artış, nöroinflamatuvar salınımında azalma, sitokin ve preinflamatuvar mediatör azalımı egzersizin bilinen fizyolojik etkilerindendir. Her ne kadar egzersizin bu yararlı etkileri bilinse de bu etkilerin nasıl ortaya çıktığı hakkındaki mekanizma ya da mekanizmalar henüz aydınlığa kavuşturulmamıştır. Hangi egzersiz türünün ne kadar süre ve şiddet ile yapılmasının optimum fayda sağladığı cevaplanması gereken sorular

arasında bulunmaktadır (116). Egzersizin nöroprotektif etkisini irdeleyen klinik ve hayvan çalışmalarından elde edilen veriler kısmi aydınlatıcı olmakla birlikte rutin uygulamaya sokulacak kadar yeterli tam ve etkin veriler henüz bulunmamaktadır. Egzersizin nöroproteksiyonu sadece kan akımını kuvvetlendirerek değil, aynı zamanda nöroenezisi ve oksidatif stresi azaltarak gerçekleştirdiği bilinmektedir. Düzenli ve şiddetli egzersiz yapmanın hipokampusda ve prefrontal korteksde nöroenezisi arttırdığı ve böylelikle öğrenme ve hafıza sürecinin gelişmesine katkı sağladığı belirlenmiştir (117). Egzersizin yalnızca lokal olarak değil komple beyin aktivitesinin arttırdığına inanılmaktadır.



Şekil 2. Egzersizin nöropatik ağrı üzerine olası faydaları (118).

4.22. Egzersiz Diyabet ve Ağrı

Diyabet, kardiyovasküler kısıtlamalar ve oluşturduğu hareketi kısıtlayan komplikasyonlar nedeni ile bireyleri sedanter yaşamaya zorlayan metabolik bir hastalıktır. Bu kısıtlamaların temelinde, diyabetli bireylerde azalan oksijen alımı, alınan azalmış oksijenin kısıtlı bir şekilde dokulara sunulabilmesi, bozulan endotel tabaka fonksiyonu, vasküler problemler sayılabilir. Bu problemlerin aşılabilmesi ve diyabet kaynaklı mortalitenin azaltılabilmesi adına egzersiz önemli bir tedavi ya da uygulanan tedaviye destek şeklinde tavsiye edilmektedir. Diyabetli bireylerde düzenli egzersiz yapılması, insülin direnci, oksijen kullanım kapasitesinde artış, endotel bozukluğun giderilmesi gibi iyileştirmeler ortaya çıkarmaktadır (119). Diyabet sonucu artan oksidatif stres ve

antioksidan kapasitede azalma düzenli ve dirençli egzersiz sayesinde büyük oranda giderilebilmektedir. Aynı zamanda anti inflamatuvar salınımı da egzersizin baskıladığı bir başka süreç olarak karşımıza çıkmaktadır (120).

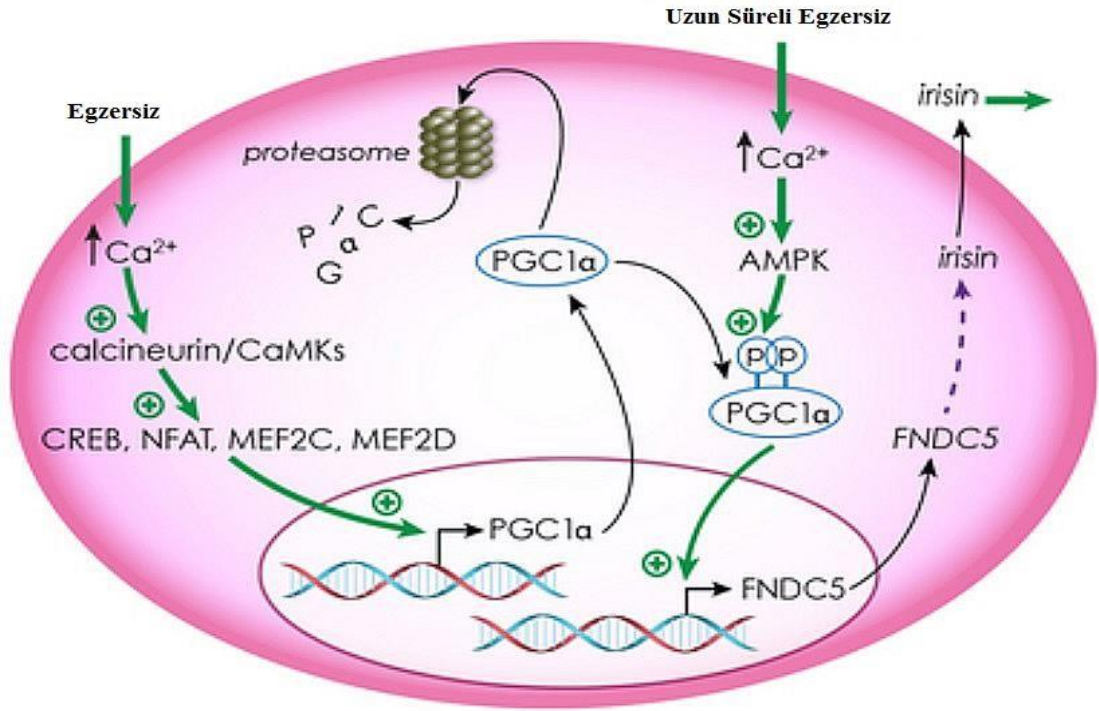
Egzersizin bu etkisini mitokondriyal biyogenezi ve nitrik oksit üzerinden anjiyogenezi tetikleyerek ortaya çıkardığı düşünülmektedir (121). Oksidatif stres ve inflamasyon diyabet patogenezinde oldukça kritik bir rol oynamaktadır. Egzersiz yapan bireylerde yapılan ölçümlerde daha düşük miktarda CRP, IL-6 ve TNF- α salınım gözlenirken, artmış adiponektin, IL-4 ve IL-10 salınımı görülmüştür. Egzersizle indüklenen miyokin ve adipokinlerinde kritik öneme sahip olacağı araştırmacılar tarafından vurgulanmaktadır.

Bu etkilerin yanı sıra gerek deney hayvanları gerek ise klinik çalışmalardan elde edilen verilerde fiziksel egzersizin ağrı algılanma sürecini değiştirdiği tespit edilmiştir. Diyabetli sıçanlarla yapılan bir çalışmada zorlu egzersizin nöropatik ağrı gelişim sürecini sedanter diyabetik hayvanlara oranla geciktirdiği saptanmıştır. Bu etkiyi DKG küçük çaplı nöronlarında kalsiyum kanalını modüle ederek ortaya çıkarmıştır (122). Egzersiz sırasında salınan follistatin like 1 adipo-miyokininin endotel hücre fonksiyonunu düzelterek revaskülarizasyona neden olduğu da bilinmektedir (123).

4.23. İrisin ve Egzersiz İrisin İlişkisi

İrisin 2012 yılında Boström ve arkadaşları tarafından keşfedilen ve egzersiz sırasında kaslardan salınarak kana karıştığı ve hormon benzeri etki gösterdiği için egzersiz hormonu olarak tanımlanan bir miyokindir (124).

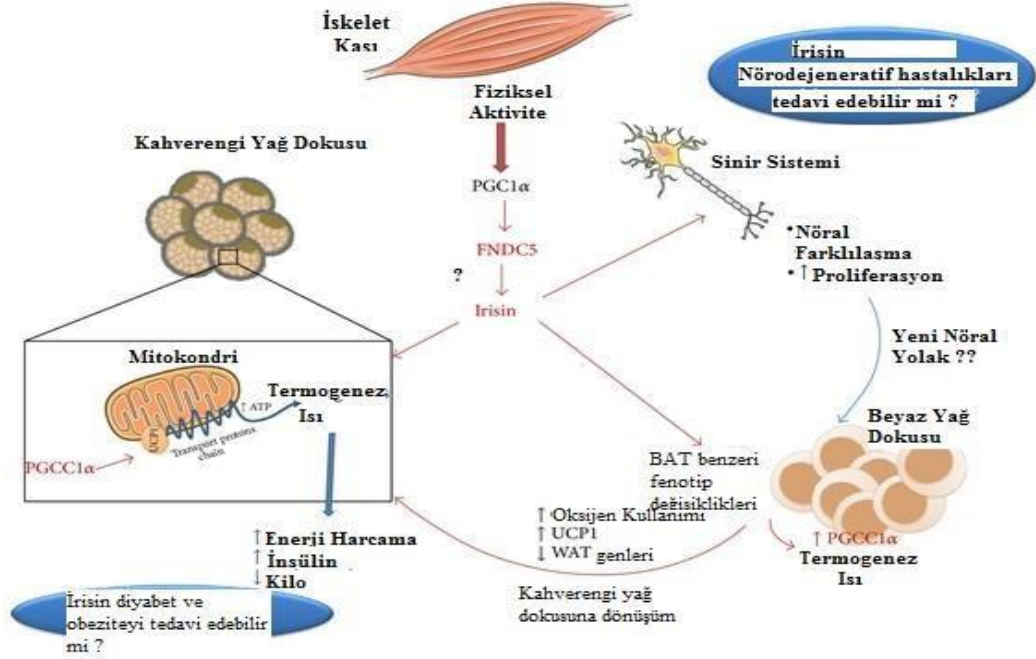
İrisin prekürsörü FNDC5 geni tarafından kodlanan fibronektinin Tip III domain 5 (FNDC5) proteinidir. Bir membran proteini olan FNDC5 proteini henüz tespit edilememiş bir enzim tarafından irisine dönüştürülmektedir (125). FNDC5 geni insanlarda 212 amino asitli fare ve sıçanlarda 209 amino asitli FNDC5 proteinini kodlamaktadır. Egzersizin bilinen faydalı etkilerinin nasıl gerçekleştiğine dair keşfedilmiş en temel mekanizmalardan biri PPAR- γ co-activator-1 α (PGC1- α) tarafından kontrol edilmektedir. Egzersize bağlı olarak kaslarda meydana gelen PGC1- α ekspresyonu FNDC5 ekspresyonunu tetiklemekte ileri aşamada irisine dönüşmektedir (126).



Şekil 3. İrisinin muhtemel salınım mekanizması (126).

Son yıllarda elde edilen veriler ışığında iskelet kası bir salgı organı olarak tanımlanmaktadır. Kas lifleri tarafından eksprese edilen ve salgılanan, otokrin, parakrin ve endokrin etkileri olan sitokinlerin, miyokinler olarak adlandırılması gerektiği vurgulanmaktadır (127). İrisinden elde edilen ilk bulgulara bu yeni keşfedilmiş miyokininin, yağ dokuda termogeneze neden olduğu, beyaz yağ dokusunu kahverengi yağ dokusuna çevirdiği ve böylelikle obezitede umut vaat edici yeni bir endojen madde olabileceği yönündedir. Aynı zamanda genel metabolizmayı düzenleyici rol üstlenmesi sebebi ile de tip 2 diyabet ile de baş etmede faydalı olabileceği vurgulanmıştır (128). Obezite indüklenmiş sıçanlarda FNDC5 geni ekspresyonunun azaldığı, insülin direnci olan sıçanlarda da dolaşımdaki irisin seviyesinin azaldığı tespit edilmiştir (129). Klinik bir araştırma çalışmasında da hayvan deneylerinden elde edilen verilere paralel veriler elde edilmiş, Tip 2 diyabet (T2D)'li hastalarda serum irisin seviyesinin azaldığı tespit edilmiştir (130).

Başlarda sadece çizgili kaslardan salındığı tespit edilen irisinin, aslında sadece bu dokuda salgılanmadığı benzer şekilde yağ dokusunda da salgılandığı tespit edilmiştir, bu verinin de eklenmesi ile birlikte irisinin sadece bir miyokin değil aynı zamanda bir adipokin olduğu da vurgulanmıştır (131).



Şekil 4. Çizgili kaslardan salgılanan irisinin etki ettiği dokular ve bilinen etki mekanizmaları (132).

Obezite ve özellikle T2D gibi metabolik hastalıkların patofizyolojik süreçlerinde irisin rol almakta ve gerek preklinik gerek ise klinik araştırmalarla bu ilişki irdelenmektedir. Hem obezite hemde diyabet gibi durumlarda azalan irisin seviyesinin replase edilmesi, hastaları egzersiz ile yerine getirilmeye çalışılma yönünde telkine götürmektedir. İlerleyen süreçte eksojen irisin uygulaması yapılarak tedaviye yönelik direkt uygulamalar elde edilen verilen ışığında olası bir durum olarak karşımıza çıkmaktadır.

İrisin yalnızca metabolik süreçlerde rol alan ve etkinliği sadece bu tip araştırmalarda test edilen bir adipo-miyokin değildir. Egzersizin hangi dokuda ne kadar irisin ekspresyonunda artışa neden olduğu, egzersiz şiddetinin dolaşımdaki irisin seviyesini arttırıp arttırmadığı ve santral sinir sisteminde ne gibi etkilere yol açabileceği de kısmen bazı çalışmalarla irdelenmiştir.

Santral irisin uygulamasının beslenme davranışını baskıladığı buna bağlı bulunmuştur (133). İrisin egzersiz sırasında, egzersiz şiddetine bağlı olarak salınımı artan bir miyokindir egzersiz şiddeti ve süresi irisinin serumda bulunma miktarını

arttırmaktadır (134). Santral irisin uygulamasının lokomotor aktiviteyi arttırdığı yine deneysel çalışmalardan elde edilen başka bir veridir (135).

Elde edilen veriler ışığında irisinin santral uygulamalarının ve periferde artan irisin seviyesinin santral sinir sistemini etkilediği görülmektedir. Nöroprotektif etkisinin olabileceği vurgulanan irisinin bu etkiyi nasıl ortaya çıkardığı henüz aydınlatılmış değildir. Özellikle nörodejeneratif hastalıkların seyrini iyileştirdiği ve ya bu tip hastalıklara yakalanma riskini azalttığı bilinen egzersizin, egzersiz hormonu olarak tanımlanan irisin ile nasıl bir etki gösterdiği yanıtlanması gereken sorular arasındadır (136, 137).



5. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmanın deneysel aşaması Karadeniz Teknik Üniversitesi (KTÜ), Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalında gerçekleştirilmiştir. Çalışma, KTÜ, Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 2015/15 protokol numaralı onayıyla kabul edildi. Tez çalışmasında kullanılan deney hayvanları, kimyasal malzemeler araç ve gereçler için KTÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

5.1. Deney Hayvanlarının Bakım ve Beslenmeleri

Çalışmada kullanılan sıçanlar, deneylere başlamadan 1 hafta önce adaptasyon amacı ile termal plantar analjezimetre (MAY PWAM093), mekanik plantar analjezimetre (IITC Life Science, Electronic von Frey Anesthesiometer) ve sıçan koşu bandında (MAY TME 0805-R) alıştırdı. Sirkadiyen ritmin devamı için sıçanlar ışığı (12/12 saat aydınlık ve karanlık), sıcaklığı ($22^{\circ}\text{C} \pm$) ve nemi $\% 55 \pm 5$ olarak kontrollü ortamda tutuldu. Çalışmada zaman saati uygulaması takip edildi ve ortamın aydınlatılmasında gün ışığına yakın değer olan 5152 lüks ışık kaynağı kullanıldı. Sabah 07.00'de başlatılan ışık periyodu 12 saat aydınlık süresinin ardından 19.00'da sonlandırılarak karanlık periyoda geçildi.

Sıçanlar standart sıçan yemi (Bayramoğlu Yem Fabrikası/Erzurum) ve musluk suyu ile beslendi.

5.2. Çalışma Protokolü

Çalışmada erişkin 60 adet Sprague Dawley cinsi erkek sıçanlar kullanıldı. Diyabet gelişimi sırasında oluşabilecek hayvan kayıpları göz önünde bulundurularak her grupta 10 adet ($n=10$) sıçan olacak şekilde ayarlandı. Denekler adaptasyon aşamasına alınmadan önce rastlantısal olarak 6 gruba ayrıldı (Tablo 2). Sıçanlar 3 gün boyunca herhangi bir işlem uygulanmadan kafeslerinde bırakılarak ortama ve grup üyelerine adaptasyonu sağlandı. Termal ağrı testine alıştırmak için sıçanlar 5 gün boyunca her sabah 10.00-12.00 arasında her bölüme 2 sıçan gelecek şekilde kabine alındı ve yarım saat süre ile bekletildi. Termal plantar test adaptasyonu devam ederken aynı gün içerisinde saat 12.0-13.00 arası tüm gruplar elektronik Von Frey kafesinde her bölmeye bir hayvan gelecek şekilde yerleştirilerek 30 dakika süre ile bekletildi. Egzersize tabi tutulacak sıçanların egzersiz cihazına adapte edilmesi sırasında farklı şiddet ve süre ile adaptasyon sağlandı. Düşük şiddetli egzersiz grubu önce 0.1 km/saat hız ve 10 dakika olacak şekilde birinci gün, 0.2 km/saat 15 dakika ikinci gün, 0.3 km/saat 20 dakika üçüncü gün, 0.4 km/saat 25

dakika dördüncü gün ve 0.5 km/saat 30 dakika beşinci gün olacak şekilde beş gün boyunca cihaza adaptasyon sağlandı. Yüksek şiddetli egzersiz grubu ise önce 0.5 km/saat hız ve 20 dakika olacak şekilde birinci gün, 0.6 km/saat 25 dakika ikinci gün, 0.7 km/saat 30 dakika üçüncü gün, 0.5 km/saat 45 dakika dördüncü gün ve 1 km/saat 60 dakika beşinci gün olacak şekilde beş gün boyunca cihaz adaptasyonu sağlandı (138).

Adaptasyon tamamlandıktan sonra tüm grupların açlık kan şekerleri ölçüldü. Ölçüm için hayvanlar 12 saat öncesinden aç bırakıldı. Sabah yapılan ölçümlerde kuyruk veninden elde edilen kan kullanıldı. Bu işlem için glukometre cihazı (Accu-check Active, Roche, ALMANYA) kullanıldı. Ölçümler yapıldıktan sonra kontrol grubu hariç diğer beş grupta bulunan sıçanlara 50 mg/kg streptozosin intraperitoneal olarak enjekte edildi. Streptozosin 0.1 M sodyum sitrat tamponunda çözüldü ve hayvan başı 0.5 ml olacak şekilde enjekte edildi (139). Kontrol grubuna ise yalnızca 0.1 M sodyum sitrat enjeksiyonu yapıldı. Enjeksiyondan sonra sıçanlarda diyabet oluşması bir hafta beklendi. Bir hafta sonunda sıçanlar tekrar 12 saat önceden aç bırakılarak açlık kan şekerleri ölçüldü, açlık kan şekeri 200 mg/dL üzerinde olan hayvanlar diyabetik olarak kabul edildi (Tablo 3), (140).

Diyabet oluşuktan sonra kontrol grubu ve eksojen irisin uygulanacak sıçanlar nöropatik ağrı gelişimi için bırakıldı ve herhangi bir egzersiz işlemi uygulanmadı. Egzersiz yapacak hayvanlar, düşük şiddetli egzersiz grubu her gün sabah 10'da 0.5 km/saat hız ve 30 dakika boyunca, yüksek şiddetli egzersiz grubu ise 1 km/saat ve 60 dakika boyunca egzersize tabi tutuldu. Hafta boyu egzersiz yaptırılan hayvanlar hafta sonu dinlendirildi. Tüm grupların hem termal hem de mekanik ağrı eşikleri hafta sonunda ölçüldü. Bu ölçüm işlemi ikinci, dördüncü, altıncı ve sekizinci haftanın sonunda tekrarlandı.

Ağrı eşiği ölçümleri, termal plantar test için sağ arka ayaktan iki dakika ara ile iki kez, mekanik plantar test için sol arka ayaktan iki dakika ara ile iki kez olacak şekilde ölçülerek bu iki değerlerin ortalaması alındı. Burada amaç hatayı en aza indirmektir.

5.3. Kan Örnekleri

Egzersiz yaptırılan hayvanlar egzersizin hemen bitiminde, treadmillden alınarak sıçan tutma aparatına konuldu ve hızlı bir şekilde kuyruk veninden 300 µl kan alındı. Kan alma işlemi her hayvan için uygulandı. Bu işlem kontrol grubunda sekizinci haftanın

sonunda seçilen bir diyabetli grupta sekizinci haftanın sonunda, egzersiz yaptırılan sıçanlarda ise dördüncü ve sekizinci haftanın sonunda uygulandı. Alınan kanlar oda sıcaklığında 20 dakika bekletildikten sonra yarım saat boyunca 5000 rpm’de santrifüj edilerek serum kısmı alındı ve deney sonunda irisin miktarını tayin etmek için 20 °C soğutucuda bekletildi.

5.4. Ağrı Eşiği Değerlerinin Belirlenmesi

Hayvanlarda ağrı eşiği belirlenmesi mekanik ve termal olarak irdelendi. Termal ağrı eşiği belirlenmesin de hayvanlar cihaza her bölmeye bir adet hayvan gelecek şekilde yerleştirildi (Şekil 5). Hayvanların sağ arka ayağına ısı uygulandı, ısı uygulanmaya başlandığı andan hayvanın ağrılı uyarıyı hissedip ayağını çekmesi arasında geçen süre saniye cinsinden cihaz tarafından otomatik olarak tespit edilerek ağrı latansı olarak kayıt edildi. Mekanik ağrı eşiği değerlendirmesi amacı ile von Frey cihazı kullanıldı, hayvanlar her bölmeye bir adet olacak şekilde yerleştirildi (Şekil 6). Hayvanların sol arka ayağına rijit uçlu plastik bir iğne ile ağrılı uyaran uygulandı. Hayvanların uyarandan sonra ayağını çektiği ana kadar uygulanan basınç gram cinsinden kayıt edilerek mekanik ağrı eşiği olarak belirlendi.

5.5. Biyokimyasal Değerlendirme

Biyokimyasal analizler için alınan tüm örnekler KTÜ Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı’ndaki soğutucularda muhafaza edildi. Tüm parametrelerin ölçümü için KTÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı’ndaki cihazlar kullanıldı.

5.6. Serum İrisin Seviyelerinin Ölçülmesi

Serum irisin seviyeleri enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit (Sunlong-Biotech, Cat NO:SL0827Ra, Çin Halk Cumhuriyeti) kullanılarak belirlendi. Örneklerin absorbansları VERSA (Molecular Devices, Kalifornia, ABD) marka mikroyuvarlak okuyucuda 450 nm dalga boyunda ölçüldü. Sonuçlar ng/mL cinsinden verildi.

5.7. Eksojen İrisin Uygulaması

Sekizinci haftanın sonunda egzersize tabi tutulmayan sıçanlara eksojen olarak irisin uygulandı. İrisin (Sigma-Aldrich, Cat No: SRP8039 10 UG, ABD) serum fizyolojik içinde çözüldü. Kontrol grubuna 10 µg/kg, 1. diyabet Grubuna 1 µg/kg, 2. diyabet grubuna 10 µg/kg 3. diyabet grubuna 20 µg/kg ve hayvan başı 0.3 ml intraperitoneal olacak

şekilde uygulandı. Enjeksiyondan hemen sonra termal plantar testte 0. 15. 30. 60. ve 90. dakikada sıçanların ağrı eşikleri ölçüldü.

5.8. Hücre Kültürü

Sıçanlar *in vivo* davranışsal ağrı testleri bittikten sonra, primer dorsal kök gangliyonu hücre kültürü yapılmak üzere her gruptan temsili hayvanlar kullanıldı. Primer kültürlerin yapımı ve hücrelerin saklanması sırasında kontaminasyona karşı gerekli asepti kurallarına azami özen gösterildi. Bu amaçla diseksiyon ve enzimatik ayrıştırma işlemleri sabit akımlı güvenlik kabini içinde gerçekleştirildi (Laminar Flow Caninet, ESCO, İspanya). Kullanılan bütün gereç ve solüsyonlar steril şartlar altında hazırlandı ve muhafaza edildi.

Hücre kültürüne başlanmadan önce gerekli malzemeler hazırlandı. Etanolde (%70'lik) tutulan cam lameller (Thermo Scientific, Almanya) kültür yapımından önce çıkarılarak laminar akımlı kabin altında kurutuldu. Daha sonra 100 µl poli-d-lizin (Sigma; 25 mg/ml stok solüsyon) 5 ml'lik distile su eklendi, oluşturulan bu sıvı kurutulmuş lamellerin yüzeyini kaplayacak şekilde, lamellerin üzerine ekildi ve iki saat boyunca kabin içinde bekletildi. Daha sonra bu sıvı aspire edilerek her bir lamelin üzerine 100 µl laminin (Sigma) eklendi ve bir saat beklemeye bırakıldı. Bir saat sonunda laminin uzaklaştırılarak hücre ekimine hazır hale getirildi.

Diseksiyon işlemine başlanmadan önce 10 ml fosfatla tamponlanmış fizyolojik tuzlu su (PBS) ve kültür medyumu (Dulbeco, Gibco Laboratuvarlar, İngiltere) 37 °C'de % 96 oksijen, % 5 karbon dioksit ihtiva eden inkübatörde (Thermo Scientific, Forma Steri-Cycle CO₂ Incubator, Almanya) bekletilerek ısıtıldı. Cerrahi işlem sırasında kullanılacak bütün malzemeler uygun koşullarda steril hale getirildi.

Sıçanlar dekapitasyonla öldürülerek alkollendi ve kabin içine alındı. Uygun bir makasla vertebral kolon ayrıldı, kaudal uçtan başlayarak boyuna kadar spinal kolonun içi açıldı. Petri kutularına yerleştirilmiş PBS ile izole spinal kolon yıkandı. Ardından bütün dorsal kök gangliyonları mikroskop altında forsepsle hassas bir şekilde çıkarılıp PBS içine alınarak toplandı. DKG gövdeleri disekte edilip toplandıktan sonra, prosesleri ince doku makası ile temizlenerek ayrıştırıldı. DKG gövdeleri ayrı bir petri kabına alınarak bir araya getirildi. Daha sonra bu petriye 900 µl kültür vasatı, 100 µl kollagenaz (Sigma, % 0.125) ilave edilip, 45 dk boyunca inkübatörde bekletildi. Süre sonunda hızlı bir şekilde gangliyonlar PBS ile yıkanarak enzim aktivitesi durduruldu.

Bu yıkama işlemi üç kez tekrarlandı. Daha sonra 100 µl tripsin (Sigma, 0.25 %) ve 900 µl PBS eklenen gangliyonlar tekrar inkübatöre alındı ve 15 dk burada bekletildi. Ardından 15 ml’lik steril plastik tüpe aktarılan gangliyonla kültür vasatı ile 5 kez 3’er dakika boyunca yıkandı. İşlem bittikten sonra gangliyonlar steril pastör pipeti ile mekanik olarak ayrıştırıldı ve hücrelerin izole olması sağlandı.

Daha sonra hazırlanan lamellere yüzeylerini kaplayacak şekilde bu kültür süspansiyonundan eklendi. Petrilere mikroskop altında bakılarak hücrelerin genel durumu ve sayısı tespit edildi. Uygun petrilere daha sonra petri başı 20 µl sinir büyütmeye faktörü ilave edilerek inkübatöre kaldırıldı.

5.9. Hücre içi Kalsiyum Görüntüleme ve Görüntü Analizi

Kültür edilen hücreler ertesi gün kalsiyum görüntüleme deneylerinde kullanıldı. Hücrelerin aksonal ve dentritik uzantıları görüntülemeyi engelleyeceği için en fazla bir günlük hücreler tercih edildi. Hücreler inkübatörden çıkarıldıktan sonra kayıt aparatına alınarak ekstrasellüler kayıt solüsyonu [130 mM NaCl, 3,0 mM KCl, 2mM CaCl₂, 0,6 mM MgCl₂, 5,0 mM glukoz, 10, 0 mM HEPES] (ozmolarite 310-320 mOsm) ile yıkandı. Hücreler fura-2-AM (5 µM, Molecular Probes, İngiltere) ile oda sıcaklığında bir saat inkübe edilerek floresan boya yüklemesi gerçekleştirildi. Bir saat sonunda hücreler en az üç kere kayıt solüsyonu ile tekrar yıkandı.

Bütün deneyler oda sıcaklığında gerçekleştirildi. Floresan boyanın ışığa maruz kalıp ağarmaması için en ideal pozlama zamanı seçildi. Hücreler kayıt esnasında kısa bir süre (30 sn) yüksek kapsaisin (10 µM) ile uyarılarak hücre içi serbest kalsiyum sevieleri takip edildi.

Fura-2 floresanı, bir Xenon ışık kaynağından (VisiChrome High Speed Polychromoter System, Almanya) gönderilen UV ışınının hızlı bir otomatize filtre sürücüsüne yerleştirilen fura-2 filtre seti 340 ve 380 nm filtreden gönderilerek mikroskop optikleri (Zeiss, Almanya) aracılığı ile dual eksitasyon ve 510 nm’de emisyon gerçekleştirildi. Floresan görüntüleri yüksek hızlı soğutmalı dijital bir CCD kamera (Cool SNAP_{EZ}, Photometrics, Tucson, AZ) aracılığı ile veri kazanım yazılım programı aracılığı ile bilgisayar hafızasına kayıt edildi.

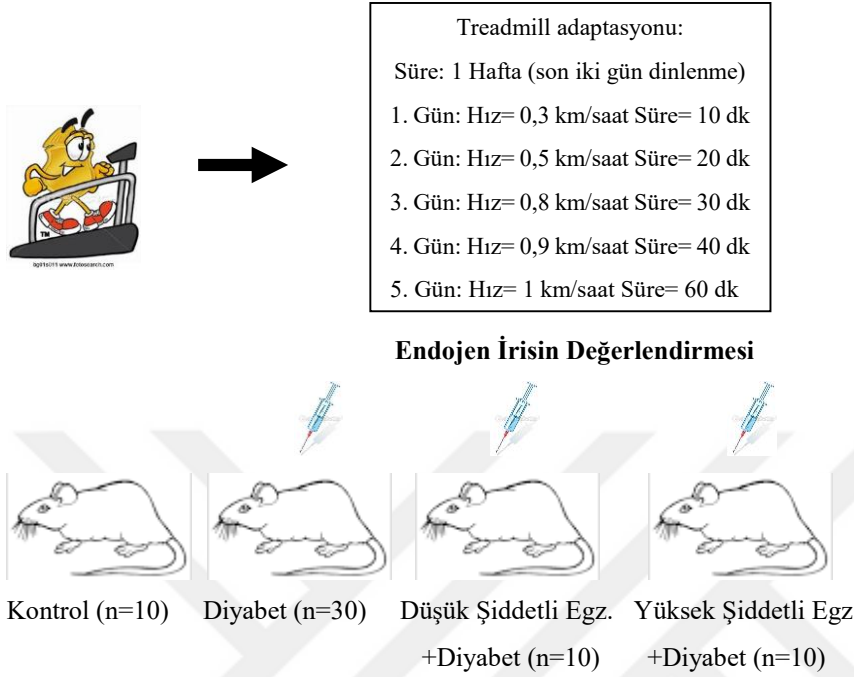
Floresan oranı analizleri offline olarak cevap veren hücrelerde ilgili alan seçimleri yapılarak yazılım programı aracılığı ile gerçekleştirildi. [Ca⁺²]_i hesaplanmasında, 510

nm'de emisyon gerçekleştirilerek 340 nm eksitasyonda elde edilen floresan yoğunluğunun 380 nm eksitasyonla elde edilen floresan yoğunluğuna oranlanması (dual uyarı:340 nm/380 nm, emisyon:510 nm) esas alındı.

5.10. İstatistik

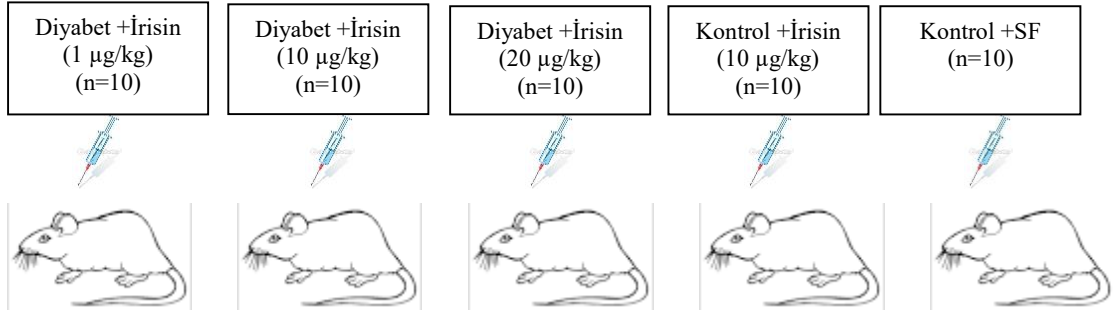
Öncelikli olarak varyansların normal dağılıma uygunluğu tek örneklem Kolmogorov Smirnov testi ile değerlendirildi, verilerin normal dağılıma uygun olduğu görüldü ($p>0.05$). Varyansların homojen dağılıma uyup uymadıkları Levene istatistiğine göre belirlendi. Bütün veriler Dunnett test (2-sides) kullanılarak analiz edildi. $p<0.05$ istatistiksel anlamlılık düzeyi olarak kabul edildi. Tüm testlerde veriler ortalama $\pm$ SS (Standart Sapma) olarak ifade edildi. Tüm istatistiksel analizler SPSS programı kullanılarak gerçekleştirildi.

Tablo 2. Çalışmada kullanılan gruplar, uygulanan dozlar ve çalışma protokolü



- 3 gün, günde yarım saat termal ve mekanik ağrı eşiği ölçüm cihazlarına adaptasyon
- 3. gün, tüm gruplarda termal ve mekanik bazal ağrı eşiği ölçüldü.
- 4. gün: açlık kan şekeri ölçüldü
- 5. gün, STZ enjeksiyonu (60 mg/kg, i.p)
- 10. gün açlık kan şekeri ölçüldü (200 mg/dl üzeri açlık kan şekeri diyabet olarak kabul edildi)
- Diyabetli hayvanlar tespit edildikten sonra hemen egzersiz programı başlatıldı
- 4 hafta, haftada beş gün egzersiz, hafta sonu dinlendirilecek şekilde düşük ve yüksek şiddet egzersiz diyabet grupları koşturuldu.
 - Düşük Şiddetli egzersiz grubu (n=10) (Süre: 30 dk Hız: 0.5 km/saat)
 - Yüksek Şiddetli egzersiz grubu (n=10) (Süre: 60 dk Hız: 1 km/saat)
- 4. Hafta sonunda tüm gruplarda mekanik ve termal ağrı eşiği ölçüldü, düşük ve yüksek şiddetli egzersiz yapan diyabetli gruplarda egzersiz sonrası hemen kan örneği alınarak irisin seviyesi ölçüldü.
- 6. haftaya kadar egzersiz programı devam ettirildi
 - Düşük Şiddetli egzersiz grubu (n=10) (Süre: 30 dk Hız: 0.5 km/saat)
 - Yüksek Şiddetli egzersiz grubu (n=10) (Süre: 60 dk Hız: 1 km/saat)
- 6. haftanın sonunda tüm gruplarda termal ve mekanik ağrı eşiği ölçüldü
- 6. ve 8. hafta arası egzersiz programına devam edildi
 - Düşük Şiddetli egzersiz grubu (n=10) (Süre: 30 dk Hız: 0.5 km/saat)
 - Yüksek Şiddetli egzersiz grubu (n=10) (Süre: 60 dk Hız: 1 km/saat)
- 8. hafta sonunda kontrol, diyabet, diyabet+düşük şiddet ve diyabet+yüksek şiddet egzersiz gruplarından kan örnekleri alındı (egzersiz gruplarından, egzersizden hemen sonra kan örneği alındı).
- 8. hafta sonunda tüm gruplarda termal ve mekanik ağrı eşiği ölçüldü.

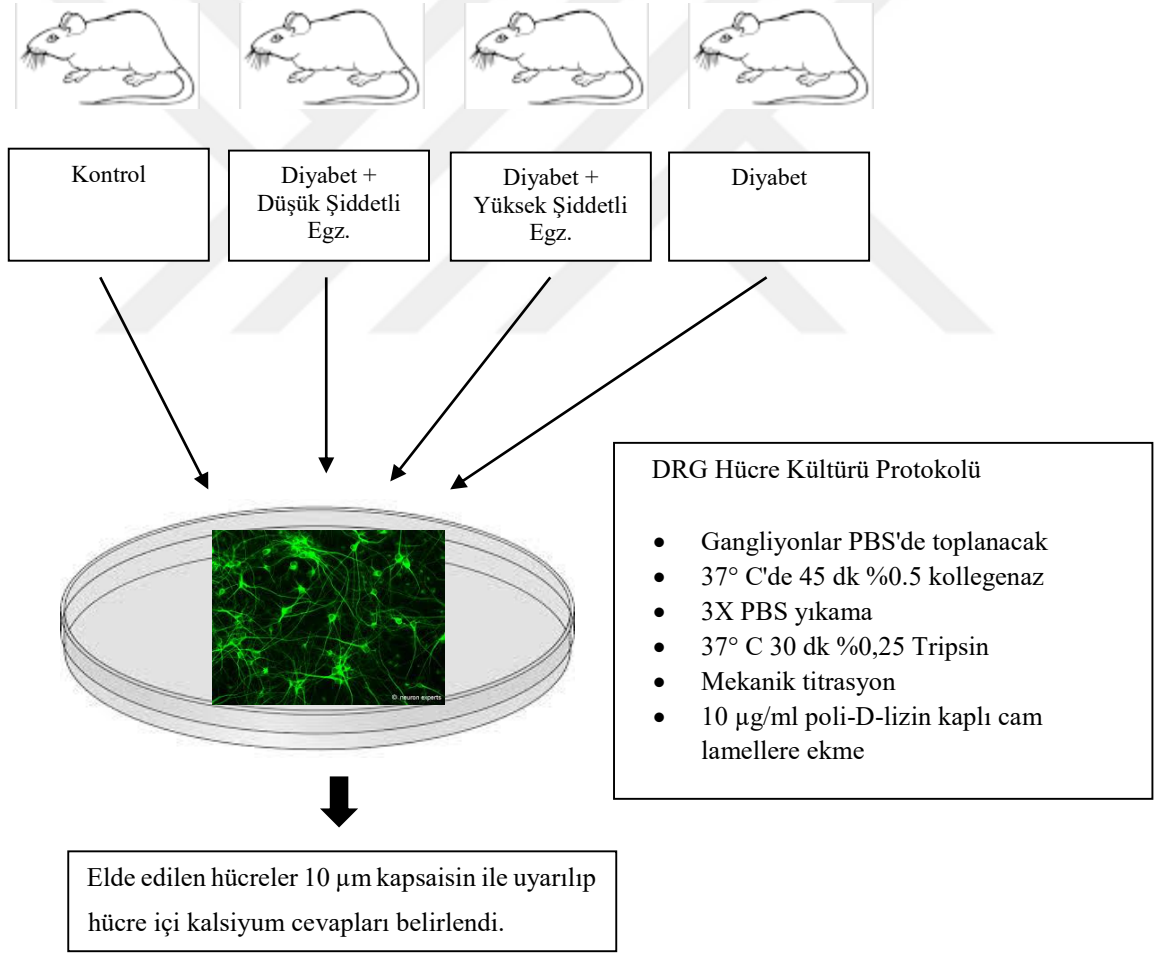
Ekzojen İrisin Değerlendirmesi



Egzersize tabi tutulmayan diyabet ve kontrol grupları 8. haftanın sonunda ekzojen irisin uygulamasına tabi tutulacak (0.3 ml, i.p). Enjeksiyondan hemen sonra 0. 15. 30. 60. ve 90. dakikada termal ağrı eşikleri ölçüldü.

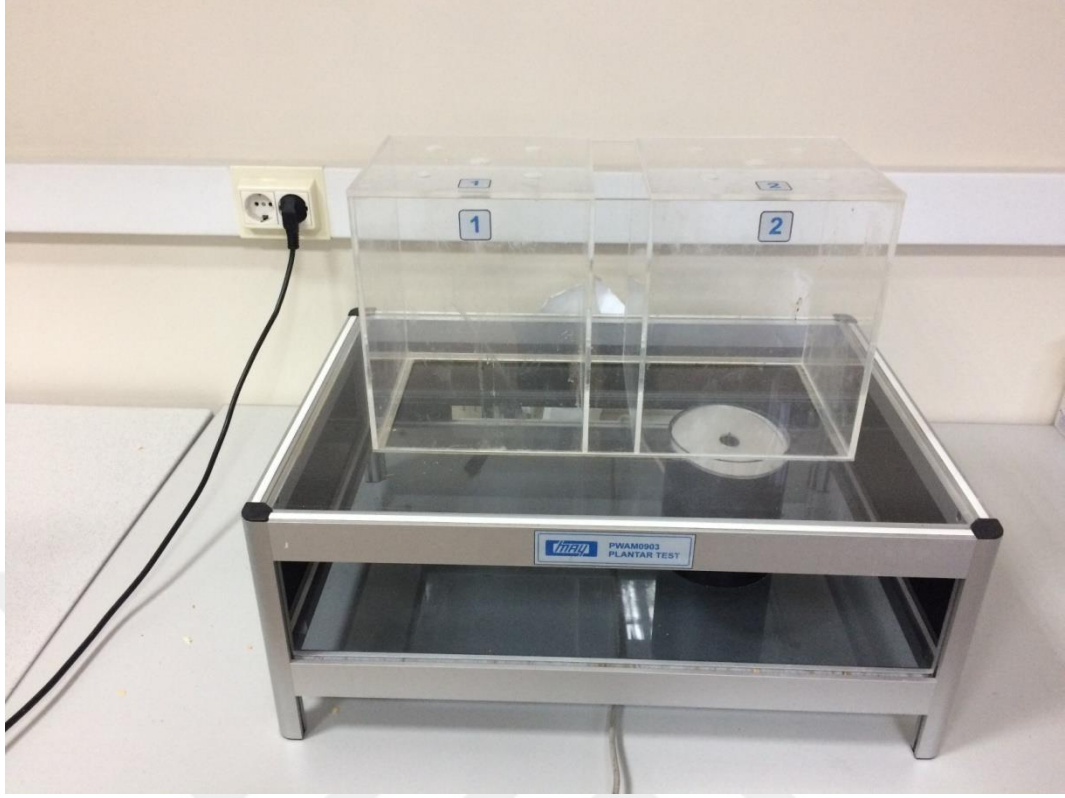
Dorsal Kök Gangliyon (DRG) Hücre Kültürü Protokolü

Tanımlanan deney gruplarına yukarıda belirtilen prosedürler uygulandıktan sonra kalsiyum homeostazisini araştırmak için DRG hücre kültürü protokolü uygulandı.

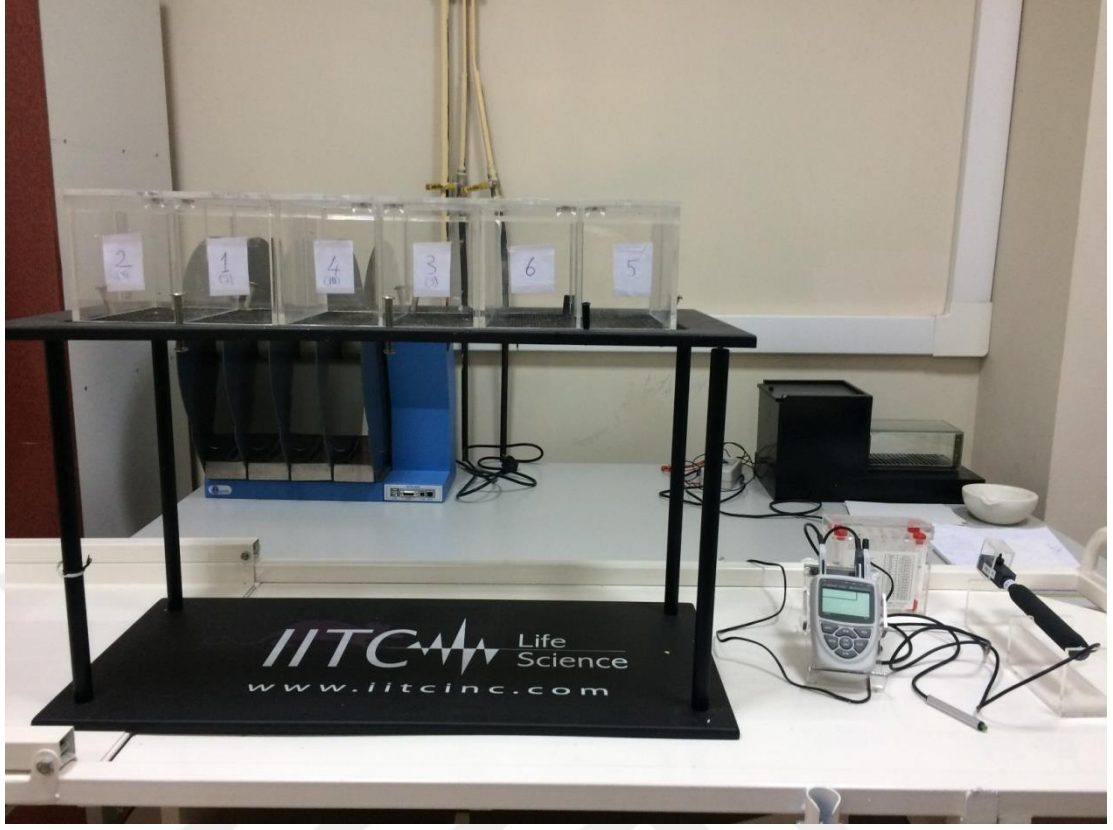


Tablo 3. Grupların açlık kan şekeri değerleri (mg/dL)

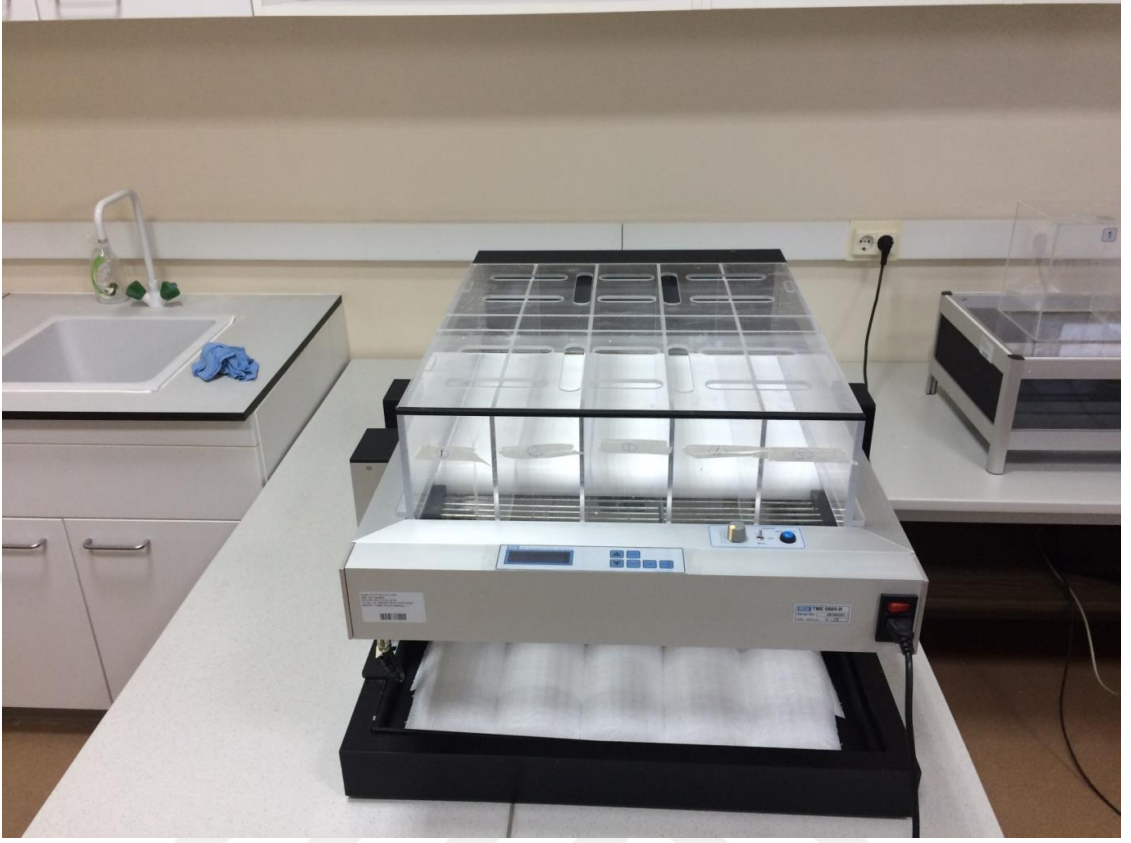
Gruplar	STZ öncesi	STZ sonrası
Kontrol	75 ± 18	68 ± 23
1.Diyabet Grubu	68 ± 12	224 ± 21
2.Diyabet Grubu	57 ± 31	238 ± 31
3.Diyabet Grubu	81 ± 27	334 ± 65
Diyabetli düşük şiddetli egzersiz grubu	86 ± 40	276 ± 58
Diyabetli yüksek şiddetli egzersiz grubu	63 ± 30	296 ± 73



Şekil 5. Termal ağrı eşiğini ölçmek için kullanılan plantar test sistemi



Şekil 6. Mekanik ağrı eşiğini ölçmek için kullanılan elektronik von Frey sistemi



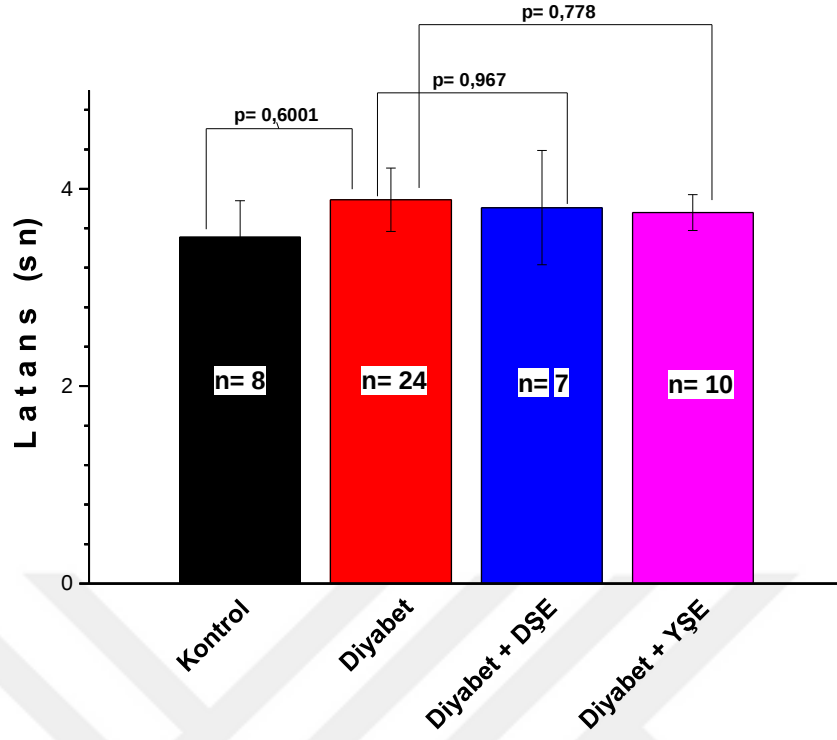
Şekil 7. Sıçan treadmill egzersiz cihazı (TME 0804, MAY)

6. BULGULAR

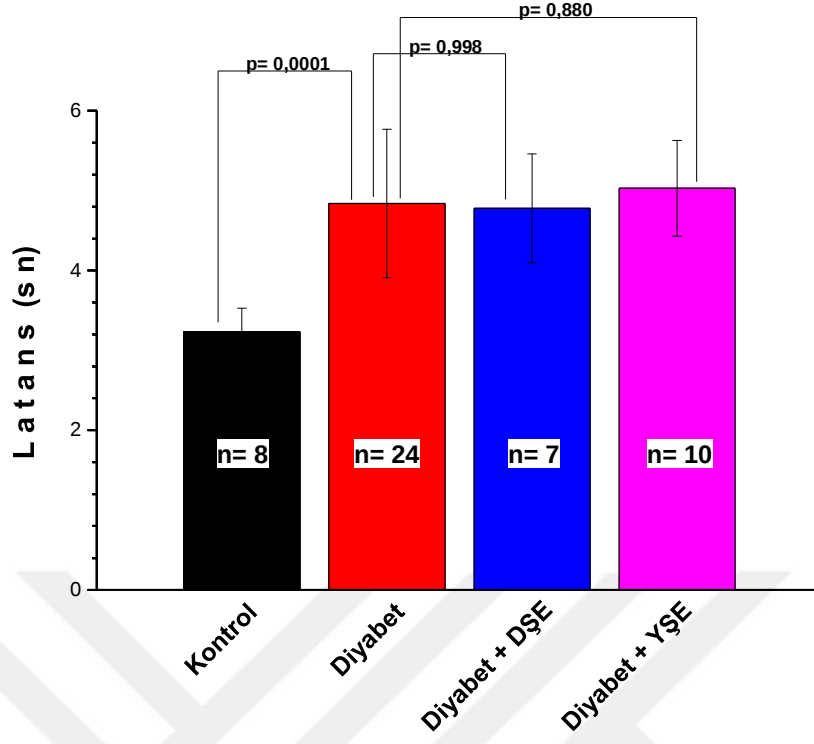
6.1. Termal Ağrı Eşiği Bulguları

Termal ağrı eşiği ölçümleri, grupların ölçüm yapılacak cihaza adaptasyonundan sonra gerçekleştirildi. Ölçümler her hayvan için ikişer dakika ara ile üç kez yapılarak bu değerlerin aritmetik ortalaması alındı ve her hayvanın ağrı eşiği değeri olarak kayıt edildi. Bazal ağrı eşikleri elde edildikten sonra diyabet indüklenmesi gerçekleştirildi. Diyabet indüklemesinden sonra 4. 6. ve 8. haftada tüm grupların termal ağrı eşiği ölçümü gerçekleştirildi.

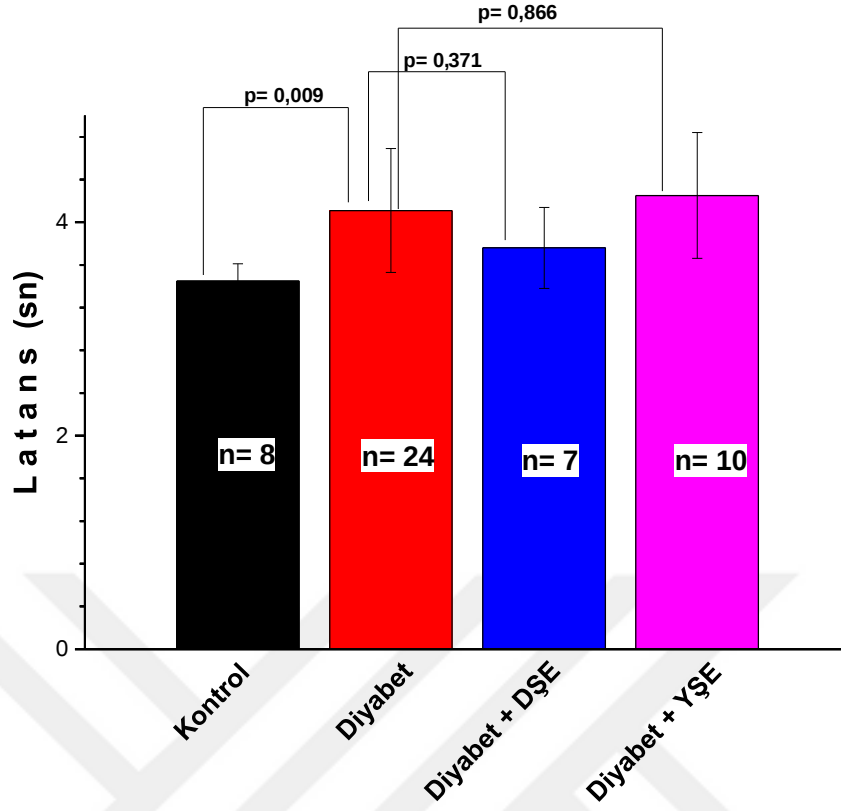
İstatistiksel olarak, grupların ağrı eşikleri değerlendirilirken verilerin homojen olup olmadığı test edildi. İstatistiksel değerlendirmede Dunnett's test kullanıldı. Bazal ağrı eşiklerinin istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermediği görüldü. Dördüncü haftada diyabetli grubun ağrı eşiklerinin kontrol grubuna göre yüksek olduğu tespit edildi ($p<0.05$). Düşük şiddetli ve yüksek şiddetli egzersiz yapan grupların ise diyabetli gruba göre ağrı eşiklerinin anlamlı olarak farklı olmadığı tespit edildi. Altıncı haftada yapılan ölçümlerde, diyabetli grubun ağrı eşiği verilerinin kontrol grubuna göre yüksek olduğu ancak düşük ve yüksek şiddetli egzersiz gruplarının ise farklı olmadığı görüldü. Sekizinci hafta ölçümlerinde ise diyabetli grubun ağrı eşiklerinin yine kontrol grubuna göre artmış olduğu ancak düşük ve yüksek şiddetli egzersiz yapan grupların ağrı eşiklerinin ise diyabetli gruba göre düşük olduğu tespit edildi (Şekil 8-11).



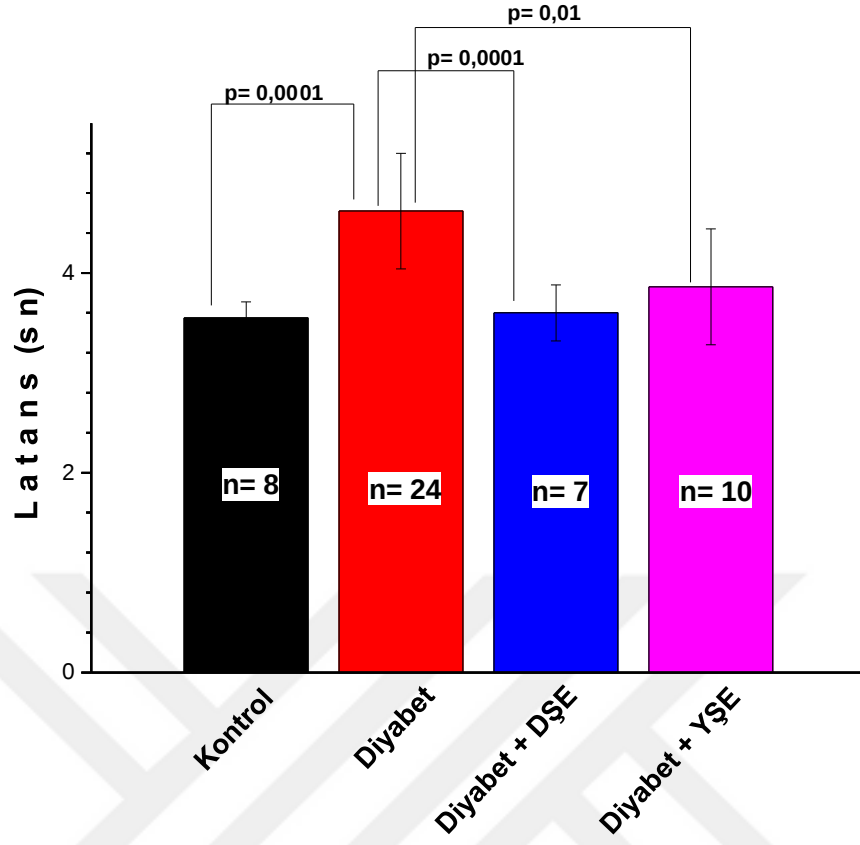
Şekil 8. Tüm gruplarda bazal termal ağrı eşiği değerleri
DŞE: Düşük şiddet egzersiz
YŞE: Yüksek şiddet egzersiz



Şekil 9. Tüm grupların termal ağrı eşiklerinin 4. hafta değerleri
DŞE: Düşük şiddet egzersiz
YŞE: Yüksek şiddet egzersiz



Şekil 10. Tüm grupların termal ağrı eşiklerinin 6. hafta değerleri
DŞE: Düşük şiddet egzersiz
YŞE: Yüksek şiddet egzersiz

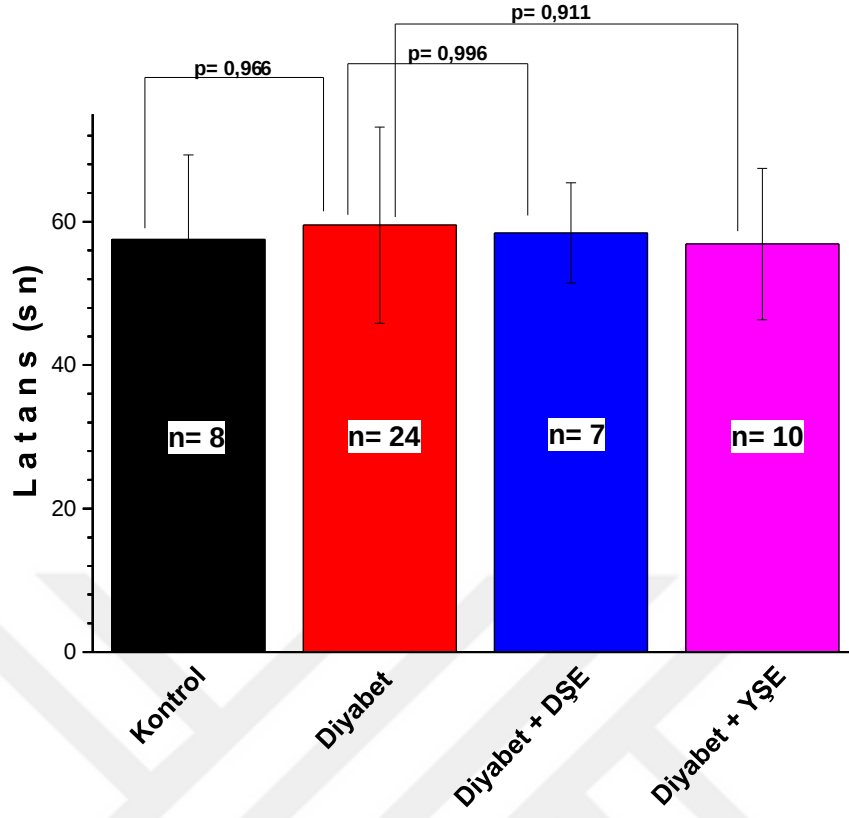


Şekil 11. Tüm grupların termal ağrı eşiklerinin 8. hafta değerleri
DŞE: Düşük şiddet egzersiz
YŞE: Yüksek şiddet egzersiz

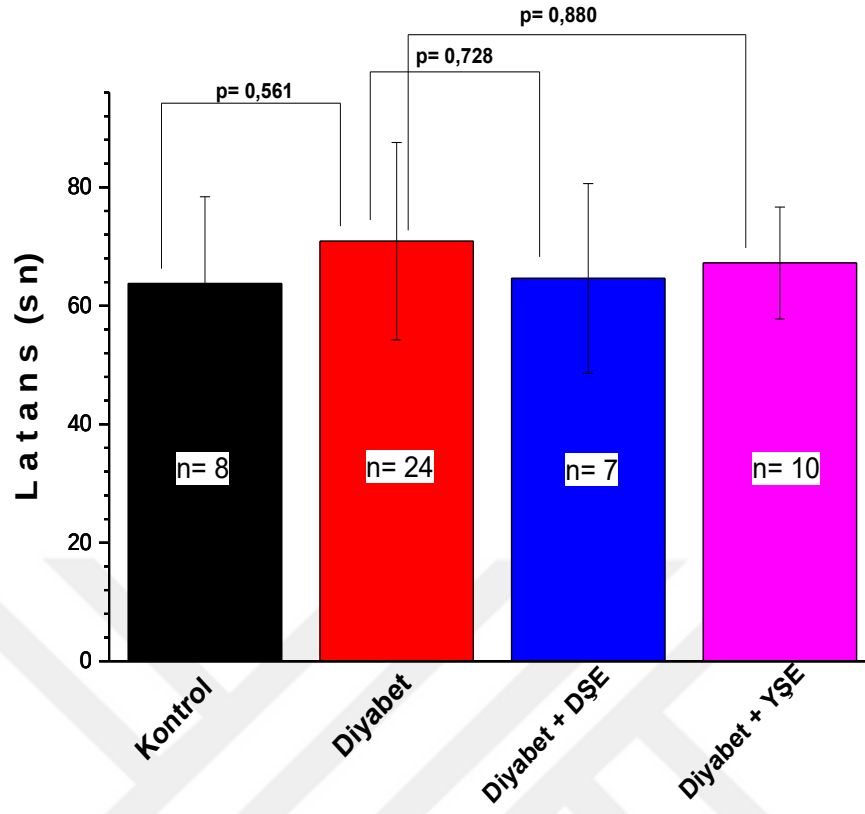
6.2. Mekanik Ağrı Eşiği Bulguları

Mekanik ağrı eşiği değerleri ölçülmeden önce tüm gruptaki hayvanlar test cihazına adapte edildi. Adaptasyondan sonra hayvanlar test cihazına her bir bölmeye bir hayvan gelecek şekilde yerleştirildi. Birer dakika ara ile üç ölçüm yapılarak bu değerlerin aritmetik ortalaması alındı. Hayvanların bazal mekanik ağrı eşikleri belirlendikten sonra diyabet indüklenmesi gerçekleştirildi. Termal ağrı eşiğine paralel olarak mekanik ağrı eşiği ölçümleri de gerçekleştirildi.

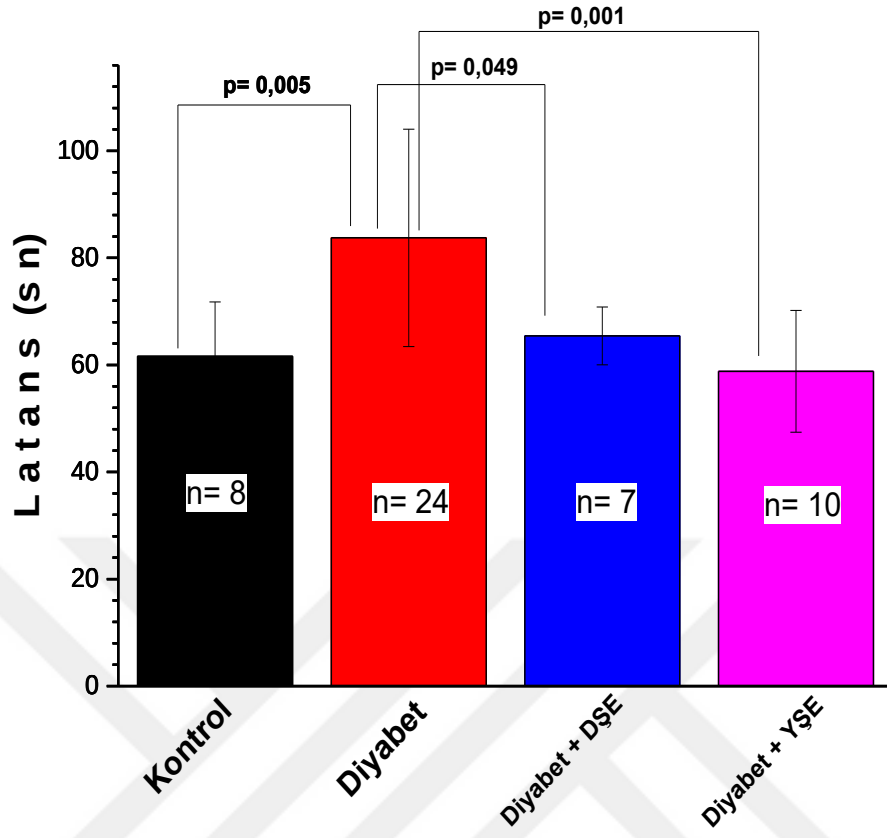
İstatistiksel olarak, grupların ağrı eşikleri değerlendirilirken verilerin homojen olup olmadığı test edildi. İstatistiksel değerlendirmede Dunnett's test kullanıldı. Bazal ağrı eşiklerinin istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermediği görüldü. Dördüncü haftada diyabetli grubun ağrı eşiklerinin kontrol grubuna göre değişmediği görüldü. Düşük şiddetli ve yüksek şiddetli egzersiz yapan grupların da diyabetli gruba göre ağrı eşiklerinin anlamlı olarak değişmediği görüldü. Altıncı haftada yapılan ölçümlerde, diyabetli grubun ağrı eşiği verilerinin kontrol grubuna göre arttığı ancak düşük ve yüksek şiddetli egzersiz gruplarının ise diyabetli gruba göre düştüğü görüldü. Sekizinci hafta ölçümlerinde ise diyabetli grubun ağrı eşiklerinin yine kontrol grubuna göre artmış olduğu, düşük ve yüksek şiddetli egzersiz yapan grupların ağrı eşiklerinin ise diyabetli gruba göre düşük olduğu görüldü (Şekil 12-15).



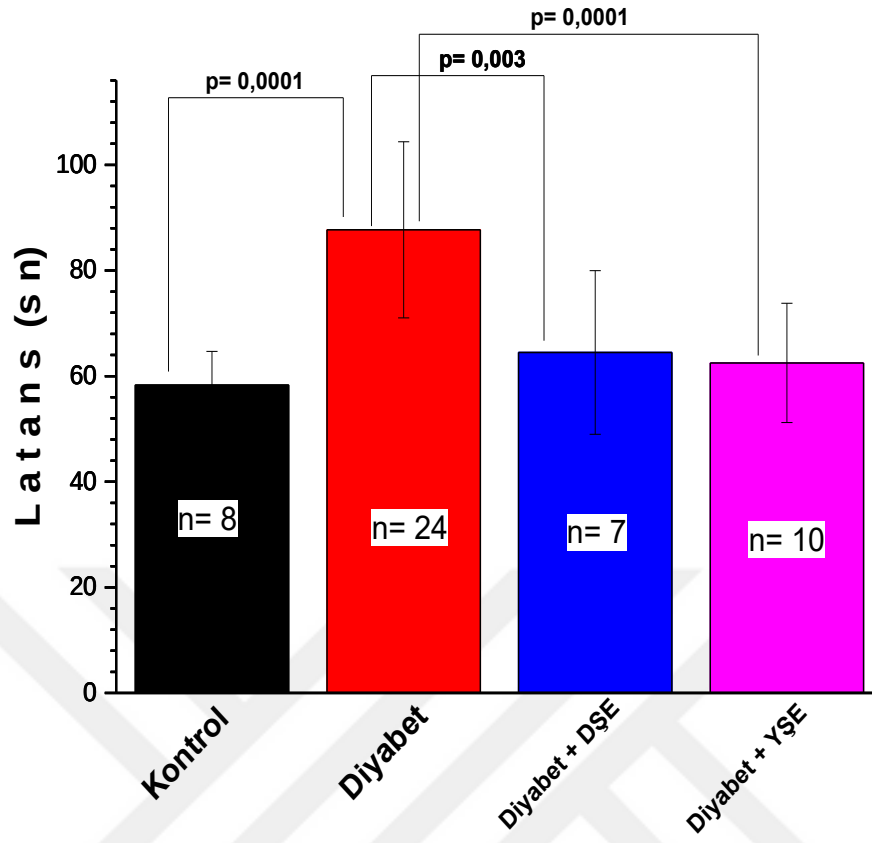
Şekil 12. Tüm grupların mekanik ağrı eşiklerinin bazal değerleri
DŞE: Düşük şiddet egzersiz
YŞE: Yüksek şiddet egzersiz



Şekil 13. Tüm grupların mekanik ağrı eşiklerinin 4. hafta değerleri
DŞE: Düşük şiddet egzersiz
YŞE: Yüksek şiddet egzersiz



Şekil 14. Tüm grupların mekanik ağrı eşiklerinin 6. hafta değerleri
DŞE: Düşük şiddetli egzersiz
YŞE: Yüksek şiddetli egzersiz

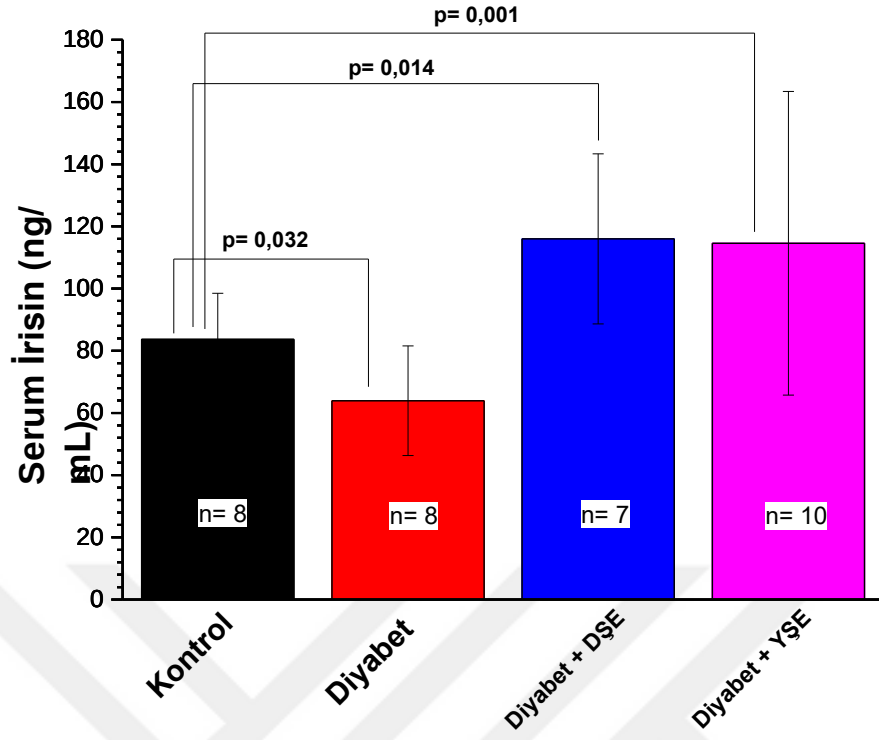


Şekil 15. Tüm grupların mekanik ağrı eşiklerinin 8. hafta değerleri
DŞE: Düşük şiddet egzersiz
YŞE: Yüksek şiddet egzersiz

6.3. Biyokimyasal Veriler

6.3.1. Serum İrisin Seviyeleri

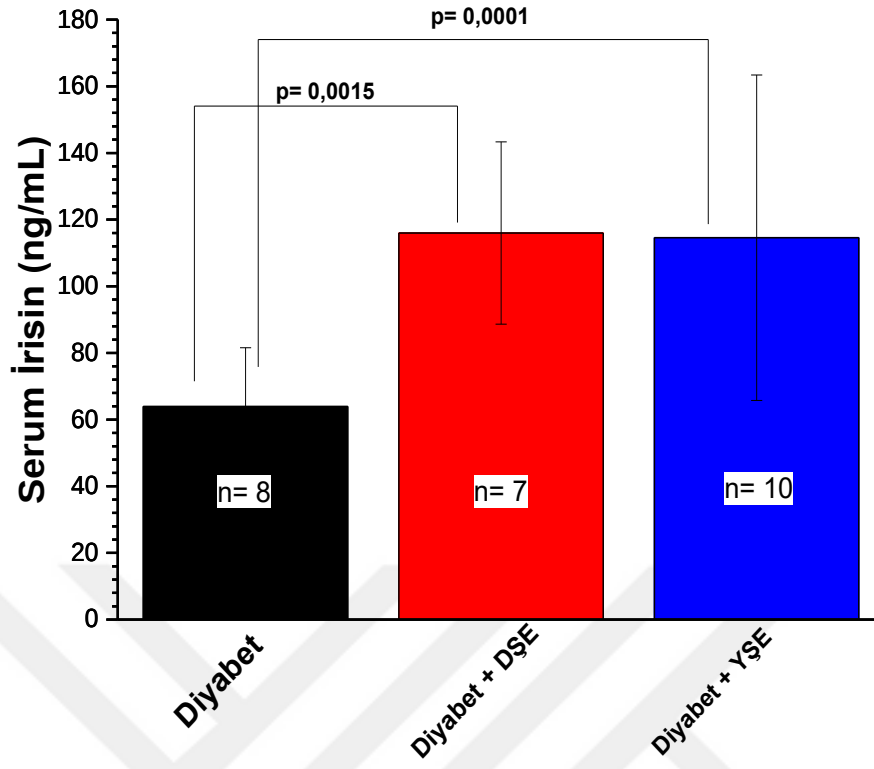
Serum irisin seviyeleri tüm gruplarda sekizinci haftanın sonunda ölçülerek değerlendirildi. Bu ölçümlerde irisin seviyesinin diyabetli grupta kontrol grubuna göre düşük olduğu tespit edildi. Düşük ve yüksek şiddet egzersiz gruplarında ise irisin seviyesinin kontrol grubuna göre yüksek olduğu tespit edildi. Egzersiz yapan grupların dördüncü ve sekizinci hafta irisin seviyeleri karşılaştırıldığında yalnızca 4. haftada yüksek şiddet egzersiz yapan diyabetli grubun düşük şiddet egzersiz yapan diyabetli gruba göre irisin seviyesinin yüksek olduğu saptandı. Düşük şiddet ve yüksek şiddet egzersiz gruplarının irisin seviyeleri karşılaştırıldığında 4. hafta irisin seviyeleri yüksek şiddetli egzersiz grubunda daha fazla iken bu fark 8. hafta sonunda ortadan kalktığı tespit edildi. Egzersiz gruplarının irisin seviyeleri diyabetli grup ile karşılaştırıldığında ise her iki egzersiz grubunda irisin seviyesinin diyabetli gruba göre yüksek olduğu tespit edildi (Şekil 16-19).



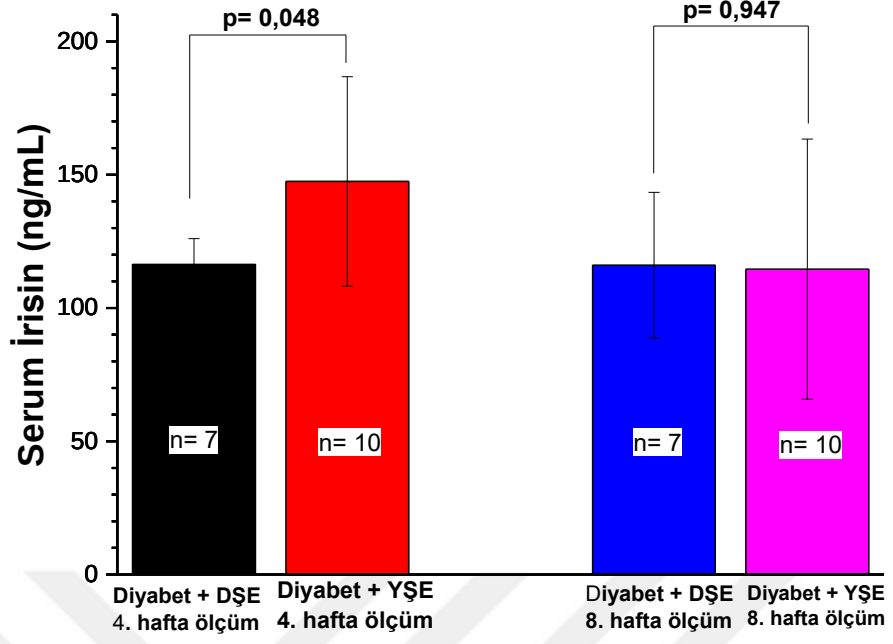
Şekil 16. Tüm grupların 8. hafta irisin değerleri

DŞE: Düşük şiddet egzersiz

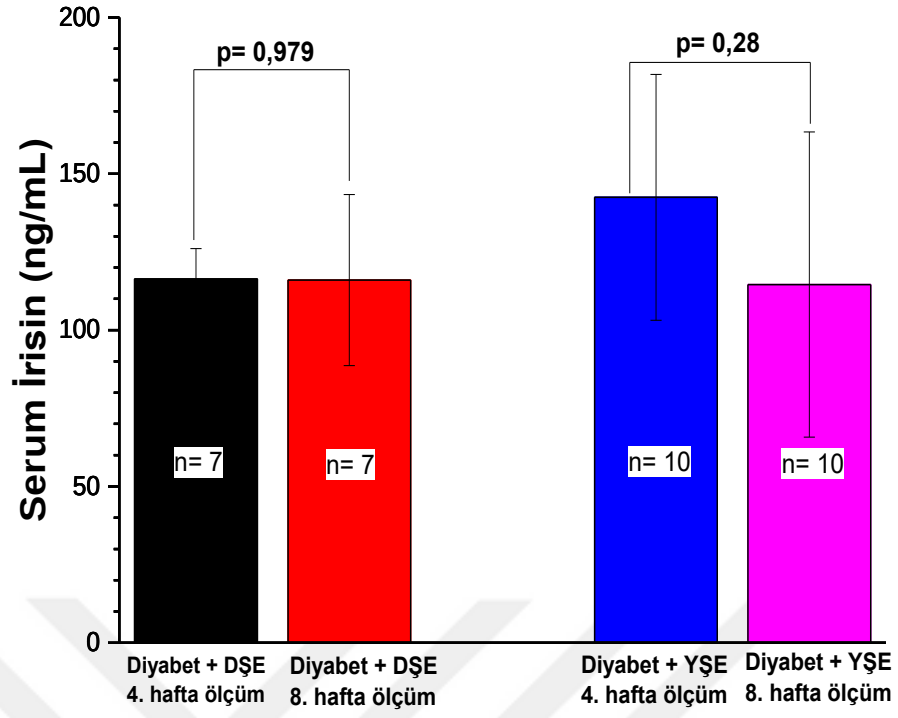
YŞE: Yüksek şiddet egzersiz



Şekil 17. Diyabetli ve egzersiz yapan diyabetli grupların 8. hafta irisin değerleri
DŞE: Düşük şiddet egzersiz
YŞE: Yüksek şiddet egzersiz



Şekil 18. Egzersiz yapan diyabetli grupların 4. ve 8. hafta irisin değerleri
DŞE: Düşük şiddet egzersiz
YŞE: Yüksek şiddet egzersiz



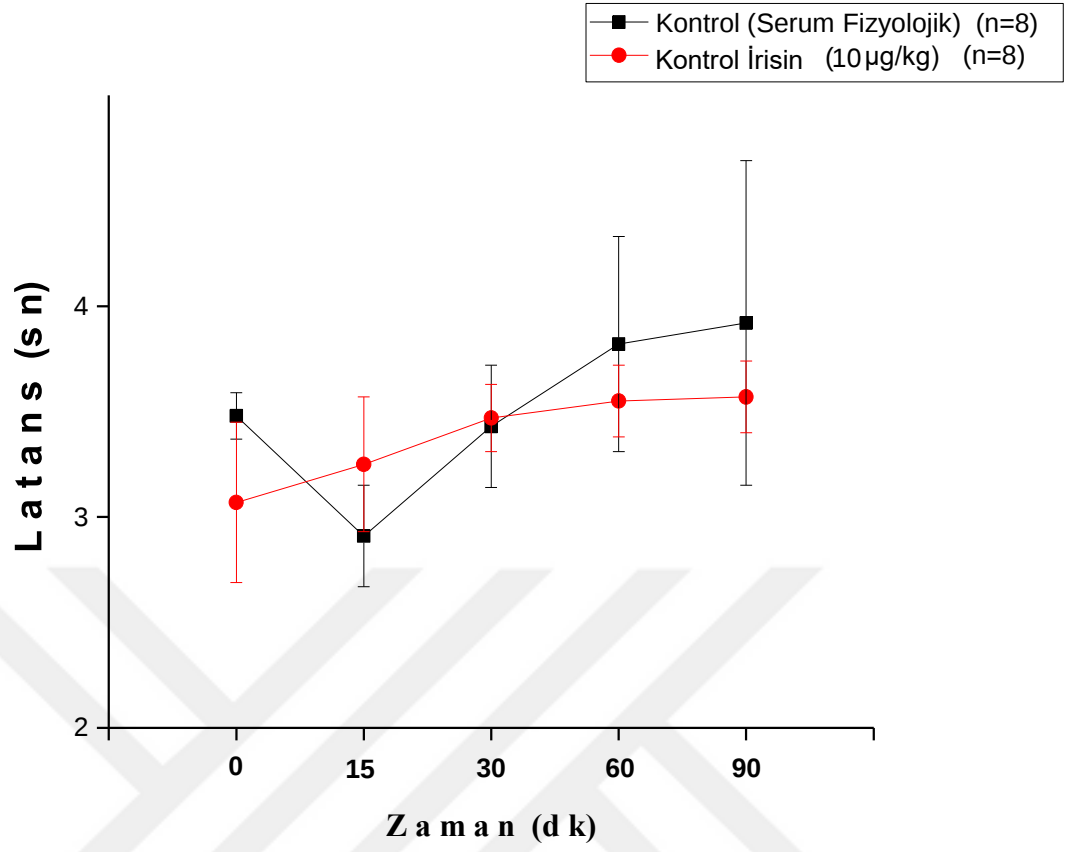
Şekil 19. Egzersiz yapan diyabetli grupların 4. ve 8. hafta irisin değerlerinin kendi içinde kıyaslanması

DŞE: Düşük şiddet egzersiz grubu

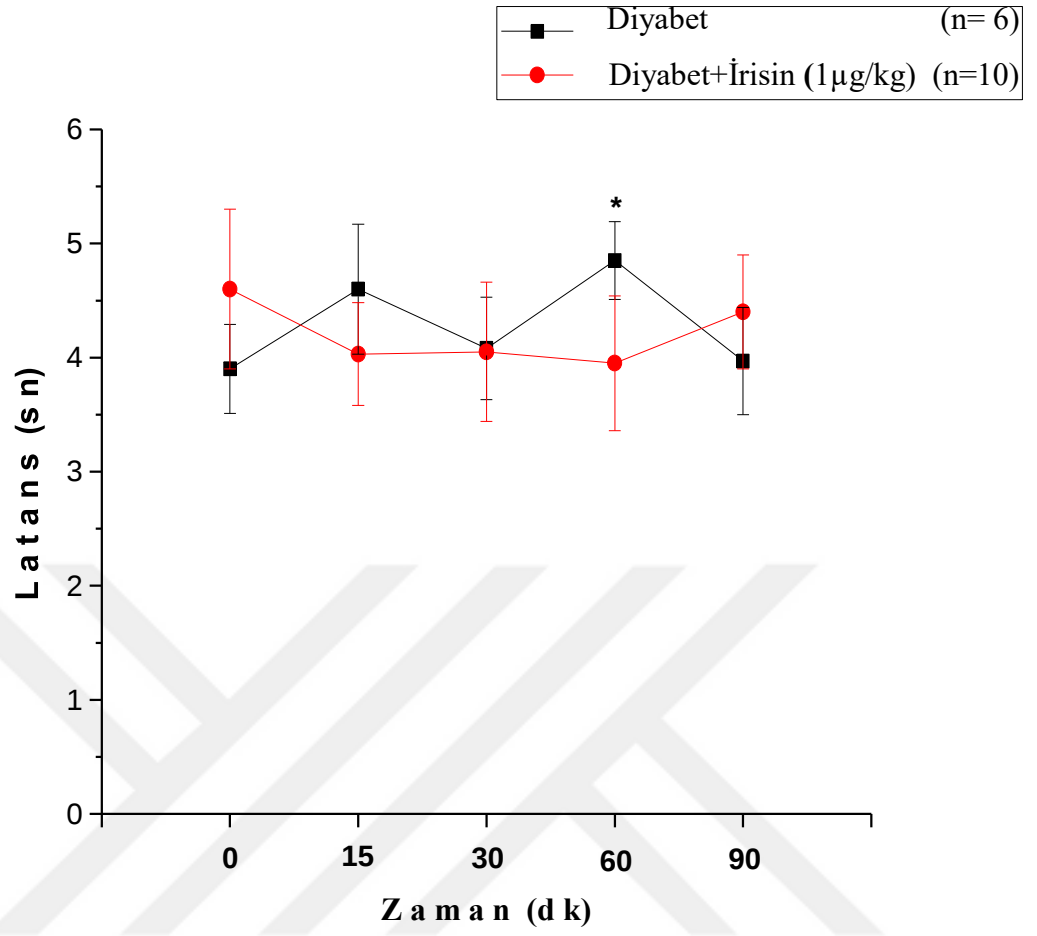
YŞE: Yüksek şiddet egzersiz grubu

6.4. Eksojen İrisin Uygulamasının Ağrı Üzerine Etkileri

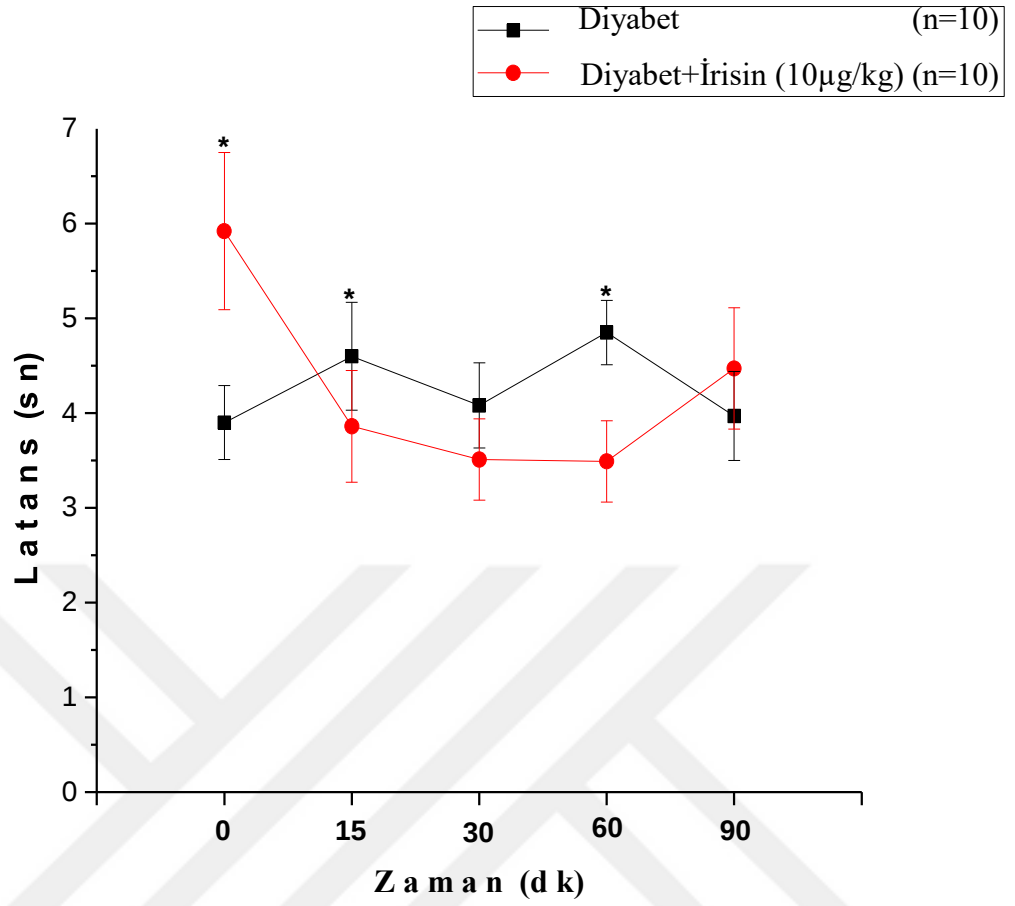
Eksojen irisin i.p yolla 1, 10 ve 20 µg/kg olmak üzere üç farklı dozda gerçekleştirildi. Kontrol grubuna uygulanan 10 µg/kg irisin, serum fizyolojik uygulanan grupla kıyaslandığında 0, 15, 30, 60 ve 90. dakikadaki termal ağrı eşikleri arasında anlamlı bir fark görülmedi. 1 µg/kg eksojen irisin uygulanan diyabet grubu, serum fizyolojik uygulanan diyabet grubu ile karşılaştırıldığında 0. 15. ve 30. dakika ağrı eşiklerinin istatistiksel olarak farklı olmadığı, 60. dakikada 1 µg/kg irisin uygulanan diyabet grubunun, serum fizyolojik uygulanan diyabet grubuna göre ağrı eşiğinin düştüğü, 90. dk'da farkın ortadan kalktığı görüldü. 10 µg/kg eksojen irisin uygulanan diyabet grubu, serum fizyolojik uygulanan diyabet grubu ile karşılaştırıldığında 0. ve 15.dk'da ağrı eşiklerinin farklı olduğu, 30. dakikada bu farkın kalktığı 60. dakikada 10 µg/kg irisin uygulanan diyabetli grubun, serum fizyolojik uygulanan diyabetli grupla kıyaslandığında ağrı eşiğinin düştüğü, bu farkın 90. dakikada ortadan kalktığı görüldü. 20 µg/kg eksojen irisin uygulanan diyabet grubu, serum fizyolojik uygulanan diyabet grubu ile karşılaştırıldığında 0. dakikada ağrı eşiklerinin farklı olduğu 15. ve 30. dakikada bu farkın ortadan kalktığı, 60. dakikada 20 µg/kg eksojen irisin uygulanan diyabet grubunun ağrı eşiğinin serum fizyolojik uygulanan diyabet grubuna göre düşük olduğu ve bu farkın 90. dakikada ortadan kalktığı görüldü (Şekil 20-23).



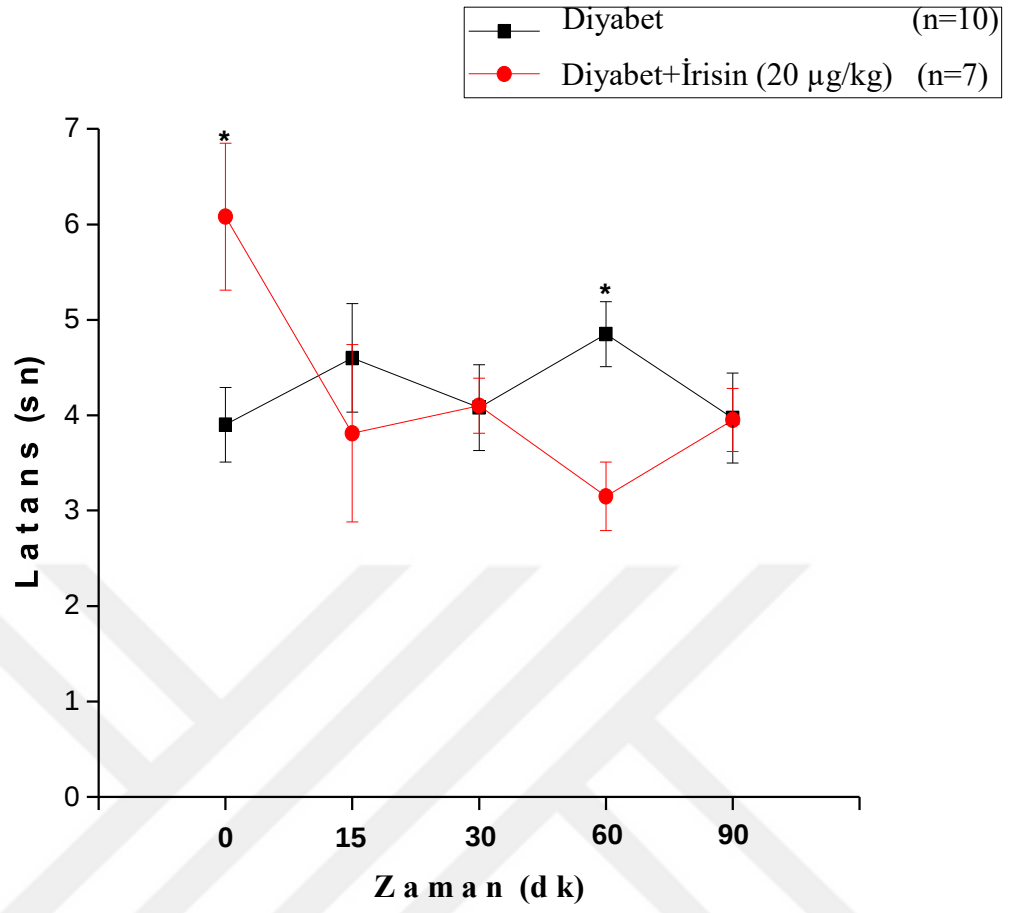
Şekil 20. Kontrol ve serum fizyolojik uygulanan sıçanlarda eksojen irisin uygulamasının termal ağrı eşikleri üzerine zaman bağlı etkileri (Tüm ölçüm zamanları için $p > 0.05$)



Şekil 21. Diyabet ve eksojen irisin (1 µg/kg) uygulanan diyabetli sıçanlarda eksojen irisin uygulamasının termal ağrı eşikleri üzerine zaman bağlı etkileri (*: diyabet+İrisin (1 µg/kg), $p < 0.001$)



Şekil 22. Diyabet ve eksojen irisin (10 µg/kg) uygulanan diyabetli sıçanlarda eksojen irisin uygulamasının termal ağrı eşikleri üzerine zaman bağlı etkileri (*: diyabet+İrisin (10 µg/kg), $p < 0.001$)

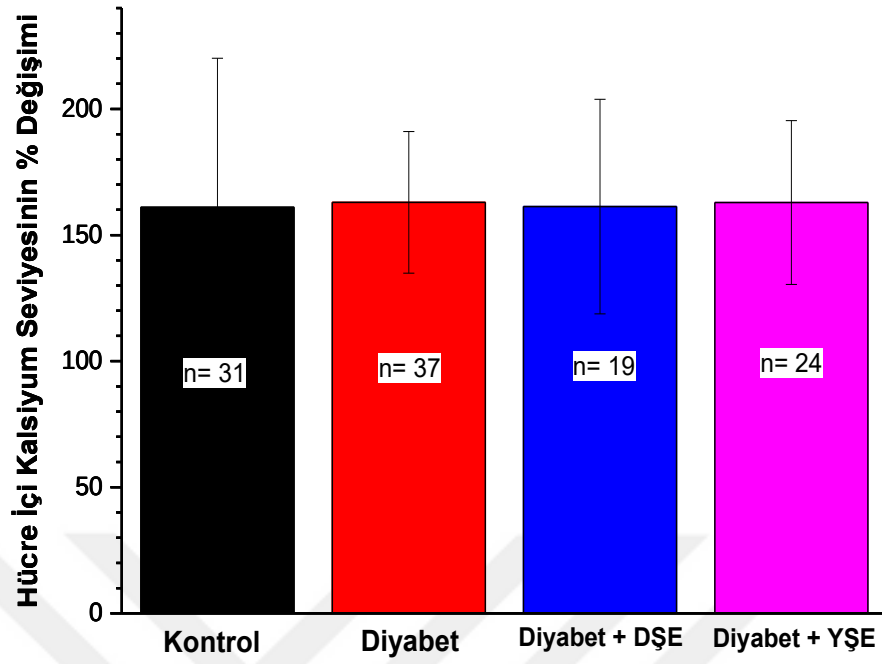


Şekil 23. Diyabet ve eksojen irisin (20 µg/kg) uygulanan diyabetli sıçanlarda eksojen irisin uygulamasının termal ağrı eşikleri üzerine zaman bağlı etkileri (*: diyabet+İrisin (20 µg/kg), p < 0.001)

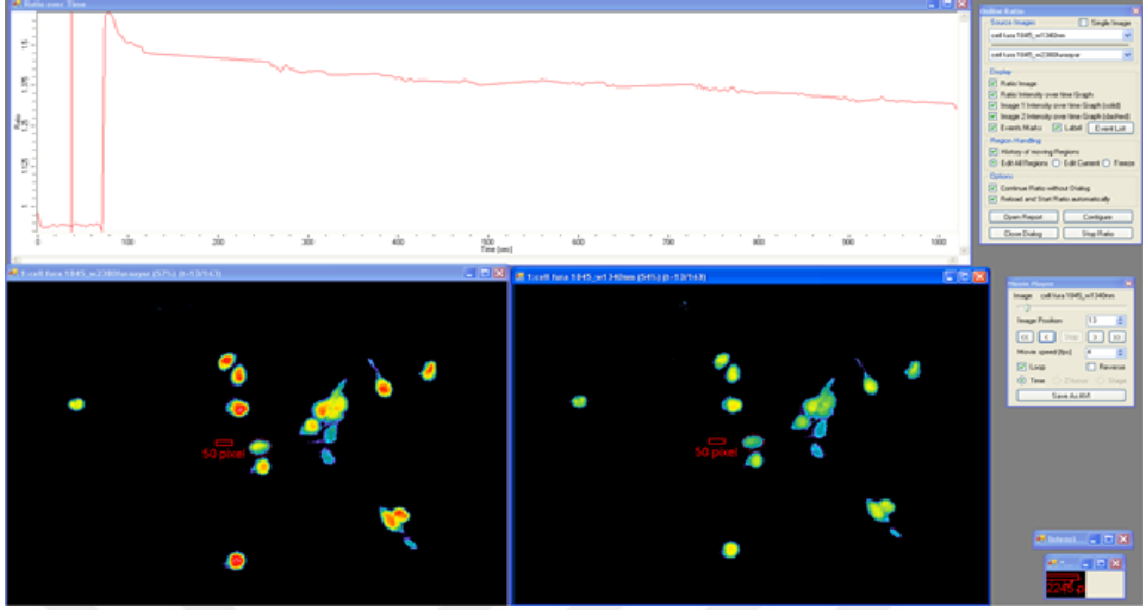
6.5. Hücre İçi Kalsiyum Verileri

Tüm gruplardan izole edilen dorsal kök gangliyonları kültüre edilerek primer nöron kültürü yapıldı. Hücreler kültüre edildikten sonra floresan boyama yapılarak 10 μ M kapsaisin ile uyarılarak hücre içi kalsiyum seviyelerindeki değişim gözlemlendi. Bu değişimler yüzde olarak hesaplandı. Tüm gruplar kıyaslandığında, kapsaisin uygulamasına cevaben hücre içi kalsiyum seviyesindeki artış düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi (Şekil 24).





Şekil 24. Tüm gruplarda kapsaisine cevaben hücre içi kalsiyum seviyelerindeki yüzde artış (Tüm gruplar için $p > 0.05$)
DŞE: Düşük şiddet egzersiz.
YŞE: Yüksek şiddet egzersiz.



Şekil 25. Kapsaisine (10 μ M) verilen hücre içi kalsiyum seviyesi artış cevabı (Kontrol grubu)

7. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu tez çalışmasında irisinin, sıçanlarda diyabetle indüklenmiş nöropatik ağrı gelişimi ve akut ağrı üzerine olası etkileri incelendi. Egzersiz yoluyla endojen irisin salıverilmesinin tetiklenmesi hedeflendi (egzersiz yapan gruplarda kan irisin düzeyi ölçümü ile desteklendi), eksojen irisinin ağrı üzerine akut etkisi için irisin enjeksiyonu yapıldı. Pankreas harabiyeti yoluyla diyabet indüklenen erkek sıçanlarda gerçekleştirilen farklı şiddetteki kronik egzersizin, nöropati gelişimi ve ağrı üzerine etkisi termal ve mekanik ağrı testleri ile irdelendi. Pankreas harabiyeti sonucu Nöropati gelişimi, ağrı latansında değişim ile takip edildi.

Bu deneysel araştırmanın bulguları, egzersizin (egzersiz yoluyla salınımı tetiklenen endojen irisinin) nöropati gelişimini önleyemediğini ortaya koymaktadır. Ancak, egzersiz süresi uzadıkça (8. haftada) gelişen bu nöropatinin ve ona bağlı uzamış ağrı latansının normale doğru döndüğü tespit edildi. Diyabetik grupta irisin düzeyinin düştüğü, egzersiz ile ise yükseldiği kan irisin ölçümlerinden tespit edildi. Eksojen irisin uygulaması, test edilen dozlarda normoglisemik kontrol sıçanlarda termal ağrı eşiğine anlamlı bir etki etmezken, diyabetik hayvanlarda ağrı duyarlılığında zaman bağımlı etki ile (sadece 60. dakikada istatistiksel olarak anlamlı) ağrı latansını kontrol düzeylerine doğru yönlendirdi. Egzersiz/irisinin ağrı üzerine etkisinin periferik mekanizmalar üzerinden mi olduğuna yönelik irdelemeyi amaçlayan ilave protokollerde her gruptan temsili hayvanlardan DKG nöronları kültüre edildi ve kapsaisinle hücre içi kalsiyum sinyalleri uyarıldı. Bu deneylerde grupların kapsaisin cevapları arasında bir farklılık bulunmaması durumu, in vivo davranışsal deneylerde ağrı duyarlılığında meydana geldiği tespit edilen değişimin periferik mekanizmalardan kaynaklanmadığı şeklinde yorumlandı.

Termal ağrı eşiği ölçümlerinde kontrol grubundaki hayvanlarda 8 haftalık süre boyunca ağrı eşiklerinde herhangi bir değişim tespit edilmedi. Diyabet grubunda ise 4. haftadan itibaren ağrı eşiklerinde artma yani hipoaljezi durumu görüldü. Bu artış 6. ve 8. haftada da korundu. Egzersiz yaptırılan diyabetli hayvanlarda da diyabet grubuna hem düşük hem de yüksek şiddet egzersiz grubuna benzer hipoaljezik durum 4. ve 6. haftada görülmesine karşın, 8. haftanın sonunda elde edilen ağrı eşiği verileri diyabetli grupla kıyaslandığında ağrı eşiklerinin bazal değerlerine doğru kaymakta olduğunu ortaya koydu.

Mekanik ağrı tetiklenen elektronik von Frey testinden elde edilen verilerde, kontrol grubu hayvanlarının ağrı eşikleri 8 hafta boyunca anlamlı bir değişiklik göstermedi. Diyabetli gruptaki hayvanlarda ise ağrı eşiğinin 6. haftadan sonra artmaya başladığı ve 8. haftada da bu durumun devam ettiği görüldü. Egzersiz yaptırılan diyabetli hayvanlarda ise hem düşük hem de yüksek şiddetli egzersiz grubundaki hayvanlara kıyasla ağrı eşiğinin 6. haftada arttığı görülürken, bu etkinin diyabet grubuna kıyasla 6. haftadan sonra değişmeye başladığı, 8. haftada bazal değerlerine dönmeye başladığı görüldü. Elde edilen bu veriler daha önce yapılan araştırmalarla paralellik göstermektedir. Bu çalışmalarda hem yüzme egzersizinin hemde treadmill egzersizinin ağrı eşiklerini normal seyrinde tuttuğu yani nöropatik ağrı gelişimini yavaşlattığı görülmüştür (141, 142).

Ancak bu çalışmadaki verilerde termal ağrı eşiği verilerinin von Frey verilerine göre farklılık gösterdiği görülmüştür. Termal ağrı eşiği verilerinde 6. haftada düşük ve yüksek şiddetli egzersiz yaptırılan hayvanlarda ağrı eşikleri diyabetli grupla paralel giderken, Von Frey testinde 6. haftada diyabetli hayvanlara oranla daha yavaş artan bir ağrı eşiği görülmüştür. Bu veriler ışığında Von Frey testinde mekanik ağrı iletiminde temel sorumlu olan kalın çaplı ve kısmen miyelinli A delta liflerinin daha az etkilendiği ve kısmen gözlemlenen toparlanmanın miyelinsiz ve küçük çaplı C liflerine oranla daha fazla olduğu yorumu yapılabilmektedir. Diyabetik nöropati patogenezi baktığımız zaman bu süreçte ilk olarak mikrovasküleritenin bozulduğu ve buna bağlı olarak periferik sinirlerin yeteri kadar beslenip desteklenememesi sonucu miyelin kaybı ve nöron hasarı olduğunu görmekteyiz (143). Bu çalışmanın verilerinde de görülebileceği gibi kısmen miyelinli ağrı liflerinde daha az hasar olduğu söylenebilmektedir. Çalışmadaki diğer amaçlardan biri ise serum irisin seviyesinin diyabetli ve egzersiz yapan diyabetli gruplarda nasıl değiştiğini tespit etmektir. Elde edilen verilerde serum irisin seviyesinin 8. hafta sonunda diyabetli grupta kontrol grubuna göre azaldığı ancak düşük ve yüksek şiddet egzersiz yapan hayvanlarda arttığı görülmüştür. Diyabetli grupta azalan irisin seviyesi literatüre uygun bir veri olarak karşımıza çıkmaktadır (130). Egzersiz yapan diyabetli grupta görülen bu yavaş seyirli nöropatik ağrı gelişimi ve artmış irisin ilişkisi irisinin direkt olarak bir iyon kanalı ya da ağrı gelişiminde rol alan mediatörlerin suprese edilmesi üzerinden olabileceği gibi, irisin bu etkisini vasküler epitelyum dokuyu koruyarak da ortaya çıkarmış olabileceği yorumu yapılabilir. Literatürden elde ettiğimiz bulgularda irisinin anjiogenezi tetiklediği ve endotel hücre koruyucu etki gösterdiği

bilinmektedir (144). Literatürde sunulan ve artan fiziksel aktiviteye cevaben salınımı daha fazla artan irisin düzeyi bu çalışmada tespit edildi. Düşük ve yüksek şiddetli egzersiz yaptırılan hayvanlarda serum irisin seviyesi arasında istatistiksel bir farklılık görülmedi. Her iki grupta da benzer düzeyde irisin olduğu görüldü. Bu etki ya da irisinin egzersiz şiddetine bağlı olarak artmaması, uygulanan egzersiz protokolünün bu hayvan gruplarına uygun olmadığı ya da yetersiz şiddette olduğu söylenebilir. Egzersizin şiddetine bağlı olarak açığa çıkan stres faktörlerinin irisinin metabolize olmasını hızlandırdığı da söylenebilir. Ayrıca düzenli egzersiz yapılmasının aynı şiddette egzersize verilen irisin salınım cevabını arttırıp arttırmayacağı da irdelenmiş, bu amaçla 4. ve 8. haftada egzersiz yapan hayvanlardan serum örnekleri alınmıştır. Elde edilen verilerde iki hafta arasındaki serum irisin seviyelerinde anlamlı bir farklılığın olmadığı görülmüştür. Sonuç olarak hem düşük hem de yüksek şiddet egzersiz yaptırılan hayvanlarda nöropatik ağrı gelişiminin yavaş seyir ettiği, buna bağlı olarak serum irisin seviyesinin arttığı ancak değişen egzersiz şiddetinin irisin seviyesini arttırmadığı görülmüştür. Endojen irisindeki bu artış nöropatik ağrı gelişimini direkt ya da indirekt olarak etkileyebilir. Elde edilen verilerde her ne kadar azalan nöropatik ağrı gelişimine bağlı olarak artan serum irisin seviyesi görülse de bu etki şuan ki verilerle direkt olarak irisine bağlanamamaktadır. Dolayısıyla periferde endotel koruyucu etkisi vurgulanabilmektedir.

Bu çalışmada endojen irisinin olası etkisinin irdelenmesinin yanı sıra, santral irisin uygulamasının etkinliği de test edildi. Bu amaçla diyabet indüklenmiş ancak herhangi bir egzersize tabi tutulmayan hayvanlara 8 haftanın sonunda farklı dozlarda irisin uygulanarak ağrı eşiklerindeki değişim görüldü. Daha önce in vivo irisin uygulanan herhangi bir çalışma olmadığı için literatürde verilen serum irisin seviyeleri göz önünde bulundurularak bir doz belirlenmeye çalışıldı. Bu amaçla 1, 10 ve 20 mikrogram/kilogram olmak üzere üç farklı dozda ip olarak irisin enjekte edilen grupların termal ağrı eşikleri 15, 30, 60 ve 90. dakikada tespit edildi. Bu verilere göre 15. dakikada ve 30. dakikada her üç dozda da anlamlı bir fark görülmemiş ancak 60. dakikada bu üç dozda diyabetli grupla kıyaslandığında ağrı eşiğini düşürmüştür. 90. dakikada ise bu etki ortadan kalkmıştır. Kontrol grubunda uygulanan 10 µg/kg irisin ağrı eşiğinde herhangi bir değişime neden olmamıştır. Sonuç olarak eksojen irisin uygulaması sadece diyabetik nöropati görülen hayvanlarda ağrı eşiğini bazale doğru çekerken, normal hayvanlarda herhangi bir etkisi görülmemiştir. İrisinin bu etkiyi akut olarak nasıl ortaya çıkardığı hangi mekanizma ya da mekanizmalar üzerinden bunu gerçekleştirdiği ileri

araştırmalarla aydınlığa kavuşturulması gereken sorular arasındadır. Ancak literatürde var olan kısıtlı veriler ışığında irisinin inflamatuvar sitokin salınımını azalttığı bilinmektedir (145, 146).

Yapılan kalsiyum görüntüleme deneylerinde, ağrılı uyarana verilen hücre içi kalsiyum değişimindeki artışlar gözlemlenmiştir. Tüm gruplarda hücre içi kalsiyum oranındaki yüzde artışa bakıldığında gruplar arasında anlamlı bir fark görülmemiştir. Diyabetli bireylerin kalsiyum homeostazisinin bozulduğu ve kalsiyumu etkin bir şekilde yönetemediği bilinmektedir. Bu çalışmada yüksek dozda verilen kapsaisin nedeni ile kalsiyumun toparlanma süresi tespit edilememiştir ancak ileri dönemde yapılacak çalışmalarla daha düşük dozda uyaran kullanılarak bu deneyin tekrarlanması planlanmaktadır. Her ne kadar kalsiyum cevabındaki yüzdelik değişimde anlamlı bir fark çıkmamış olsa da kalsiyum toparlanma süresi ve oranına bakılarak daha sağlıklı veriler ortaya konulabilecektir.

8. KAYNAKLAR

1. Vina J, Sanchis-Gomar F, Martinez-Bello V, Gomez-Cabrera MC (2012). Exercise acts as a drug; the pharmacological benefits of exercise. *Br J Pharmacol* 167: 1-12.
2. Cooney JK, Law RJ, Matschke V, Lemmey AB, Moore JP, Ahmad Y, Jones JG, Maddison P, Thom JM (2011). Benefits of exercise in rheumatoid arthritis. *J Aging Res* 2011: 681640
3. Panati K, Suneetha Y, Narala VR (2016). Irisin/FNDC5--An updated review. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 20: 689-697.
4. Millan MJ (1999). The induction of pain: an integrative review. *Prog Neurobiol* 57: 1-164.
5. Woolf CJ (2010). What is this thing called pain? *J Clin Invest* 120: 3742-3744.
6. Helfand M, Freeman M (2009). Assessment and management of acute pain in adult medical inpatients: a systematic review. *Pain Med* 10: 1183-1199.
7. Treede RD (1995). Peripheral acute pain mechanisms. *Ann Med* 27: 213-216.
8. Latremoliere A, Woolf CJ (2009). Central sensitization: a generator of pain hypersensitivity by central neural plasticity. *J Pain* 10: 895-926.
9. Abu-Saad Huijer H (2010). Chronic pain: a review. *J Med Liban* 58: 21-27.
10. Basbaum AI, Bautista DM, Scherrer G, Julius D (2009). Cellular and molecular mechanisms of pain. *Cell* 139: 267-284.
11. Sherrington C (1906). *The Integrative Action of the Nervous System*. Oxford: Oxford University Press.
12. Kandel ER (2000). Schwartz JH, Jessell TM. *Principles of Neural Science*, 4th ed. McGraw-Hill, New York p.431–433.
13. Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick DH, William C, LaMantia, Anthony-Samuel W, Leonard E (2012). *Neuroscience* (5th ed.). Sunderland, Mass. Print, 2008.
14. Amaya F, Izumi Y, Matsuda M, Sasaki M (2013). Tissue injury and related mediators of pain exacerbation. *Curr Neuropharmacol* 11: 592-597.

15. Renn CL, Dorsey SG (2005). The physiology and processing of pain: a review. AACN Clin Issues 16: 277-290; quiz 413-275.
16. Ossipov MH, Morimura K, Porreca F (2014). Descending pain modulation and chronification of pain. Curr Opin Support Palliat Care 8: 143-151.
17. Dubin AE, Patapoutian A (2010). Nociceptors: the sensors of the pain pathway. J Clin Invest 120: 3760-3772.
18. Schlereth T, Birklein F (2008). The sympathetic nervous system and pain. Neuromolecular Med 10: 141-147.
19. Mathie A (2010). Ion channels as novel therapeutic targets in the treatment of pain. J Pharm Pharmacol 62: 1089-1095.
20. Dib-Hajj SD, Cummins TR, Black JA, Waxman SG (2010). Sodium channels in normal and pathological pain. Annu Rev Neurosci 33: 325-347.
21. Tsantoulas C, McMahon SB (2014). Opening paths to novel analgesics: the role of potassium channels in chronic pain. Trends Neurosci 37: 146-158.
22. Price TJ, Cervero F, Gold MS, Hammond DL, Prescott SA (2009). Chloride regulation in the pain pathway. Brain Res Rev 60: 149-170.
23. Bourinet E, Altier C, Hildebrand ME, Trang T, Salter MW, Zamponi GW (2014). Calcium-permeable ion channels in pain signaling. Physiol Rev 94: 81-140.
24. Harrison S, Geppetti P (2001). Substance p. Int J Biochem Cell Biol 33: 555-576.
25. De Felipe C, Herrero JF, O'Brien JA, Palmer JA, Doyle CA, Smith AJ, Laird JM, Belmonte C, Cervero F, Hunt SP (1998). Altered nociception, analgesia and aggression in mice lacking the receptor for substance P. Nature 392: 394-397.
26. Henry JL (1993). Substance P and inflammatory pain: potential of substance P antagonists as analgesics. Agents Actions Suppl 41: 75-87.
27. Dray A, Perkins M (1993). Bradykinin and inflammatory pain. Trends Neurosci 16: 99-104.
28. Ricciotti E, FitzGerald GA (2011). Prostaglandins and inflammation. Arterioscler Thromb Vasc Biol 31: 986-1000.

29. Sommer C (2004). Serotonin in pain and analgesia: actions in the periphery. *Mol Neurobiol* 30: 117-125.
30. McKelvey L, Shorten GD, O'Keeffe GW (2013). Nerve growth factor-mediated regulation of pain signalling and proposed new intervention strategies in clinical pain management. *J Neurochem* 124: 276-289.
31. Rosenblum A, Marsch LA, Joseph H, Portenoy RK (2008). Opioids and the treatment of chronic pain: controversies, current status, and future directions. *Exp Clin Psychopharmacol* 16: 405-416.
32. Burnstock G (2009). Purinergic receptors and pain. *Curr Pharm Des* 15: 1717-1735.
33. Julius D (2013). TRP channels and pain. *Annu Rev Cell Dev Biol* 29: 355-384.
34. Ji RR, Xu ZZ, Gao YJ (2014). Emerging targets in neuroinflammation-driven chronic pain. *Nat Rev Drug Discov* 13: 533-548.
35. Gemes G, Rigaud M, Koopmeiners AS, Poroli MJ, Zoga V, Hogan QH (2010). Calcium signaling in intact dorsal root ganglia: new observations and the effect of injury. *Anesthesiology* 113: 134-146.
36. L M Tierney, S J McPhee, M A Papadakis (2002). *Current medical Diagnosis & Treatment. International edition.* New York: Lange Medical Books/McGraw-Hill. s. 1203–1215
37. Newgard CB, McGarry JD (1995). Metabolic coupling factors in pancreatic beta-cell signal transduction. *Annu Rev Biochem* 64: 689-719.
38. www.who.int/diabetes/publications/Definition%20and%20diagnosis%20of%20diabetes_new.pdf (Erişim tarihi:2017)
39. Aristides V, Rayaz AM (2007). *Diabetic Neuropathy: Clinical Management (Clinical Diabetes), Second Edition.* New York: Humana Press. pp. 188–198.
40. www.idf.org/diabetesatlas/ (Erişim tarihi:2017)
41. Tesfaye S, Boulton AJ, Dickenson AH (2013). Mechanisms and management of diabetic painful distal symmetrical polyneuropathy. *Diabetes Care* 36: 2456-2465.
42. Boulton AJ, Kirsner RS, Vileikyte L (2004). Clinical practice. Neuropathic diabetic foot ulcers. *N Engl J Med* 351: 48-55.

43. Low PA, Dotson RM (1998). Symptomatic treatment of painful neuropathy. *JAMA* 280: 1863-1864.
44. Bansal V, Kalita J, Misra UK (2006). Diabetic neuropathy. *Postgrad Med J* 82: 95-100.
45. Quattrini C, Tesfaye S (2003). Understanding the impact of painful diabetic neuropathy. *Diabetes Metab Res Rev* 19 Suppl 1: S2-8.
46. Gore M, Brandenburg NA, Dukes E, Hoffman DL, Tai KS, Stacey B (2005). Pain severity in diabetic peripheral neuropathy is associated with patient functioning, symptom levels of anxiety and depression, and sleep. *J Pain Symptom Manage* 30: 374-385.
47. Sheetz MJ, King GL (2002). Molecular understanding of hyperglycemia's adverse effects for diabetic complications. *JAMA* 288: 2579-2588.
48. Oates PJ (2002). Polyol pathway and diabetic peripheral neuropathy. *Int Rev Neurobiol* 50: 325-392.
49. Cade WT (2008). Diabetes-related microvascular and macrovascular diseases in the physical therapy setting. *Phys Ther* 88: 1322-1335.
50. Pavy-Le Traon A, Fontaine S, Tap G, Guidolin B, Senard JM, Hanaire H (2010). Cardiovascular autonomic neuropathy and other complications in type 1 diabetes. *Clin Auton Res* 20: 153-160.
51. Fuchs D, Birklein F, Reeh PW, Sauer SK (2010). Sensitized peripheral nociception in experimental diabetes of the rat. *Pain* 151: 496-505.
52. Jelacic Kadic A, Boric M, Vidak M, Ferhatovic L, Puljak L (2014). Changes in epidermal thickness and cutaneous innervation during maturation in long-term diabetes. *J Tissue Viability* 23: 7-12.
53. Said G, Baudoin D, Toyooka K (2008). Sensory loss, pains, motor deficit and axonal regeneration in length-dependent diabetic polyneuropathy. *J Neurol* 255: 1693-1702.
54. Quattrini C, Harris ND, Malik RA, Tesfaye S (2007). Impaired skin microvascular reactivity in painful diabetic neuropathy. *Diabetes Care* 30: 655-659.

55. Aurilio C, Pota V, Pace MC, Passavanti MB, Barbarisi M (2008). Ionic channels and neuropathic pain: physiopathology and applications. *J Cell Physiol* 215: 8-14.
56. He XH, Zang Y, Chen X, Pang RP, Xu JT, Zhou X, Wei XH, Li YY, Xin WJ, Qin ZH, Liu XG (2010). TNF- α contributes to up-regulation of Nav1.3 and Nav1.8 in DRG neurons following motor fiber injury. *Pain* 151: 266-279.
57. Galloway C, Chattopadhyay M (2013). Increases in inflammatory mediators in DRG implicate in the pathogenesis of painful neuropathy in Type 2 diabetes. *Cytokine* 63: 1-5.
58. Cheng KI, Wang HC, Chuang YT, Chou CW, Tu HP, Yu YC, Chang LL, Lai CS (2014). Persistent mechanical allodynia positively correlates with an increase in activated microglia and increased P-p38 mitogen-activated protein kinase activation in streptozotocin-induced diabetic rats. *Eur J Pain* 18: 162-173.
59. Craner MJ, Klein JP, Renganathan M, Black JA, Waxman SG (2002). Changes of sodium channel expression in experimental painful diabetic neuropathy. *Ann Neurol* 52: 786-792.
60. Sun W, Miao B, Wang XC, Duan JH, Wang WT, Kuang F, Xie RG, Xing JL, Xu H, Song XJ, Luo C, Hu SJ (2012). Reduced conduction failure of the main axon of polymodal nociceptive C-fibres contributes to painful diabetic neuropathy in rats. *Brain* 135: 359-375.
61. Misawa S, Sakurai K, Shibuya K, Iose S, Kanai K, Ogino J, Ishikawa K, Kuwabara S (2009). Neuropathic pain is associated with increased nodal persistent Na⁽⁺⁾ currents in human diabetic neuropathy. *J Peripher Nerv Syst* 14: 279-284.
62. Hall KE, Liu J, Sima AA, Wiley JW (2001). Impaired inhibitory G-protein function contributes to increased calcium currents in rats with diabetic neuropathy. *J Neurophysiol* 86: 760-770.
63. White DM, Zimmermann M (1988). The bradykinin-induced release of substance P from nerve fibre endings in the rat saphenous nerve neuroma is not related to electrophysiological excitation. *Neurosci Lett* 92: 108-113.

64. Vydyanathan A, Wu ZZ, Chen SR, Pan HL (2005). A-type voltage-gated K⁺ currents influence firing properties of isolectin B4-positive but not isolectin B4-negative primary sensory neurons. *J Neurophysiol* 93: 3401-3409.
65. Mika J, Zychowska M, Popiolek-Barczyk K, Rojewska E, Przewlocka B (2013). Importance of glial activation in neuropathic pain. *Eur J Pharmacol* 716: 106-119.
66. Kettenmann H, Verkhratsky A (2008). Neuroglia: the 150 years after. *Trends Neurosci* 31: 653-659.
67. Afsari ZH, Renno WM, Abd-El-Basset E (2008). Alteration of glial fibrillary acidic proteins immunoreactivity in astrocytes of the spinal cord diabetic rats. *Anat Rec (Hoboken)* 291: 390-399.
68. Li JQ, Chen SR, Chen H, Cai YQ, Pan HL (2010). Regulation of increased glutamatergic input to spinal dorsal horn neurons by mGluR5 in diabetic neuropathic pain. *J Neurochem* 112: 162-172.
69. Wang XL, Zhang HM, Chen SR, Pan HL (2007). Altered synaptic input and GABAB receptor function in spinal superficial dorsal horn neurons in rats with diabetic neuropathy. *J Physiol* 579: 849-861.
70. Boyle J, Eriksson ME, Gribble L, Gouni R, Johnsen S, Coppini DV, Kerr D (2012). Randomized, placebo-controlled comparison of amitriptyline, duloxetine, and pregabalin in patients with chronic diabetic peripheral neuropathic pain: impact on pain, polysomnographic sleep, daytime functioning, and quality of life. *Diabetes Care* 35: 2451-2458.
71. Singleton JR, Smith AG (2012). The diabetic neuropathies: practical and rational therapy. *Semin Neurol* 32: 196-203.
72. Hurley RW, Lesley MR, Adams MC, Brummett CM, Wu CL (2008). Pregabalin as a treatment for painful diabetic peripheral neuropathy: a meta-analysis. *Reg Anesth Pain Med* 33: 389-394.
73. Peltier A, Goutman SA, Callaghan BC (2014). Painful diabetic neuropathy. *BMJ* 348: g1799.

74. Pergolizzi JV, Jr., Raffa RB, Taylor R, Jr., Rodriguez G, Nalamachu S, Langley P (2013). A review of duloxetine 60 mg once-daily dosing for the management of diabetic peripheral neuropathic pain, fibromyalgia, and chronic musculoskeletal pain due to chronic osteoarthritis pain and low back pain. *Pain Pract* 13: 239-252.
75. Page N, Deluca J, Crowell K (2012). Clinical inquiry: what medications are best for diabetic neuropathic pain? *J Fam Pract* 61: 691-693.
76. Groninger H, Schisler RE (2012). Topical capsaicin for neuropathic pain #255. *J Palliat Med* 15: 946-947.
77. Casale R, Mattia C (2014). Building a diagnostic algorithm on localized neuropathic pain (LNP) and targeted topical treatment: focus on 5% lidocaine-medicated plaster. *Ther Clin Risk Manag* 10: 259-268.
78. Abbott FV, Guy ER (1995). Effects of morphine, pentobarbital and amphetamine on formalin-induced behaviours in infant rats: sedation versus specific suppression of pain. *Pain* 62: 303-312.
79. Rossi GC, Matulonis JE, Richelson E, Barbut D, Pasternak GW (2010). Systemically and topically active antinociceptive neurotensin compounds. *J Pharmacol Exp Ther* 334: 1075-1079.
80. Janss AJ, Jones SL, Gebhart GF (1987). Effect of spinal norepinephrine depletion on descending inhibition of the tail flick reflex from the locus coeruleus and lateral reticular nucleus in the rat. *Brain Res* 400: 40-52.
81. Fender C, Fujinaga M, Maze M (2000). Strain differences in the antinociceptive effect of nitrous oxide on the tail flick test in rats. *Anesth Analg* 90: 195-199.
82. Calcutt NA (2002). Potential mechanisms of neuropathic pain in diabetes. *Int Rev Neurobiol* 50: 205-228.
83. Courteix C, Eschalier A, Lavarenne J (1993). Streptozocin-induced diabetic rats: behavioural evidence for a model of chronic pain. *Pain* 53: 81-88.
84. Ahlgren SC, Levine JD (1993). Mechanical hyperalgesia in streptozotocin-diabetic rats. *Neuroscience* 52: 1049-1055.

85. Murakami T, Iwanaga T, Ogawa Y, Fujita Y, Sato E, Yoshitomi H, Sunada Y, Nakamura A (2013). Development of sensory neuropathy in streptozotocin-induced diabetic mice. *Brain Behav* 3: 35-41.
86. www.neurodegenerationresearch.eu/about/what/ (Erişim tarihi:2017)
87. Przedborski S, Vila M, Jackson-Lewis V (2003). Neurodegeneration: what is it and where are we? *J Clin Invest* 111: 3-10.
88. Shinya K, Shimada A, Ito T, Otsuki K, Morita T, Tanaka H, Takada A, Kida H, Umemura T (2000). Avian influenza virus intranasally inoculated infects the central nervous system of mice through the general visceral afferent nerve. *Arch Virol* 145: 187-195.
89. Jadidi-Niaragh F, Mirshafiey A (2010). Histamine and histamine receptors in pathogenesis and treatment of multiple sclerosis. *Neuropharmacology* 59: 180-189.
90. Chastain EM, Duncan DS, Rodgers JM, Miller SD (2011). The role of antigen presenting cells in multiple sclerosis. *Biochim Biophys Acta* 1812: 265-274.
91. Thompson LM (2008). Neurodegeneration: a question of balance. *Nature* 452: 707-708.
92. Reichling DB, Levine JD (2011). Pain and death: neurodegenerative disease mechanisms in the nociceptor. *Ann Neurol* 69: 13-21.
93. Kovacs GG, Botond G, Budka H (2010). Protein coding of neurodegenerative dementias: the neuropathological basis of biomarker diagnostics. *Acta Neuropathol* 119: 389-408.
94. do Carmo Costa M, Paulson HL (2013). New hope for therapy in neurodegenerative diseases. *Cell Res* 23: 1159-1160.
95. Kylasov A, Gavrov S (2011). Diversity Of Sport: non-destructive evaluation. Paris: UNESCO: Encyclopedia of Life Support Systems. pp. 462–491.
96. Hu FB, Manson JE, Stampfer MJ, Colditz G, Liu S, Solomon CG, Willett WC (2001). Diet, lifestyle, and the risk of type 2 diabetes mellitus in women. *N Engl J Med* 345: 790-797.
97. www.nhlbi.nih.gov/files/docs/public/heart/phy_active.pdf (Erişim tarihi:2017)

98. www.ejcsda.com/media/3179/chapter-2-exercise.pdf (Erişim tarihi:2017)
99. Hofmann P,Tschakert G (2010). Special needs to prescribe exercise intensity for scientific studies. *Cardiol Res Pract* 2011: 209302.
100. Curzi D, Sartini S, Guescini M, Lattanzi D, Di Palma M, Ambrogini P, Savelli D, Stocchi V, Cuppini R,Falcieri E (2016). Effect of Different Exercise Intensities on the Myotendinous Junction Plasticity. *PLoS One* 11: e0158059.
101. Pego JM, Sousa JC, Almeida OF,Sousa N (2010). Stress and the neuroendocrinology of anxiety disorders. *Curr Top Behav Neurosci* 2: 97-117.
102. Cotman CW,Engesser-Cesar C (2002). Exercise enhances and protects brain function. *Exerc Sport Sci Rev* 30: 75-79.
103. Kronfeld-Schor N,Einat H (2012). Circadian rhythms and depression: human psychopathology and animal models. *Neuropharmacology* 62: 101-114.
104. Camiletti-Moiron D, Aparicio VA, Aranda P,Radak Z (2013). Does exercise reduce brain oxidative stress? A systematic review. *Scand J Med Sci Sports* 23: e202-212.
105. Barrientos RM, Frank MG, Crysdale NY, Chapman TR, Ahrendsen JT, Day HE, Campeau S, Watkins LR, Patterson SL,Maier SF (2011). Little exercise, big effects: reversing aging and infection-induced memory deficits, and underlying processes. *J Neurosci* 31: 11578-11586.
106. Hale MW,Lowry CA (2011). Functional topography of midbrain and pontine serotonergic systems: implications for synaptic regulation of serotonergic circuits. *Psychopharmacology (Berl)* 213: 243-264.
107. Wang QP,Nakai Y (1994). The dorsal raphe: an important nucleus in pain modulation. *Brain Res Bull* 34: 575-585.
108. Greenwood BN, Foley TE, Day HE, Campisi J, Hammack SH, Campeau S, Maier SF,Fleshner M (2003). Freewheel running prevents learned helplessness/behavioral depression: role of dorsal raphe serotonergic neurons. *J Neurosci* 23: 2889-2898.
109. Aston-Jones G, Rajkowski J,Cohen J (1999). Role of locus coeruleus in attention and behavioral flexibility. *Biol Psychiatry* 46: 1309-1320.

110. O'Neal HA, Van Hoomissen JD, Holmes PV, Dishman RK (2001). Prepro-galanin messenger RNA levels are increased in rat locus coeruleus after treadmill exercise training. *Neurosci Lett* 299: 69-72.
111. Soares J, Holmes PV, Renner KJ, Edwards GL, Bunnell BN, Dishman RK (1999). Brain noradrenergic responses to footshock after chronic activity-wheel running. *Behav Neurosci* 113: 558-566.
112. Leise TL, Harrington ME, Molyneux PC, Song I, Queenan H, Zimmerman E, Lall GS, Biello SM (2013). Voluntary exercise can strengthen the circadian system in aged mice. *Age (Dordr)* 35: 2137-2152.
113. Michelini LC, Stern JE (2009). Exercise-induced neuronal plasticity in central autonomic networks: role in cardiovascular control. *Exp Physiol* 94: 947-960.
114. Nelson AJ, Juraska JM, Ragan BG, Iwamoto GA (2010). Effects of exercise training on dendritic morphology in the cardiorespiratory and locomotor centers of the mature rat brain. *J Appl Physiol* (1985) 108: 1582-1590.
115. Ahlskog JE, Geda YE, Graff-Radford NR, Petersen RC (2011). Physical exercise as a preventive or disease-modifying treatment of dementia and brain aging. *Mayo Clin Proc* 86: 876-884.
116. Svensson M, Lexell J, Deierborg T (2015). Effects of Physical Exercise on Neuroinflammation, Neuroplasticity, Neurodegeneration, and Behavior: What We Can Learn From Animal Models in Clinical Settings. *Neurorehabil Neural Repair* 29: 577-589.
117. Neeper SA, Gomez-Pinilla F, Choi J, Cotman CW (1996). Physical activity increases mRNA for brain-derived neurotrophic factor and nerve growth factor in rat brain. *Brain Res* 726: 49-56.
118. Dobson JL, McMillan J, Li L (2014). Benefits of exercise intervention in reducing neuropathic pain. *Front Cell Neurosci* 8: 102.
119. Reusch JE, Bridenstine M, Regensteiner JG (2013). Type 2 diabetes mellitus and exercise impairment. *Rev Endocr Metab Disord* 14: 77-86.

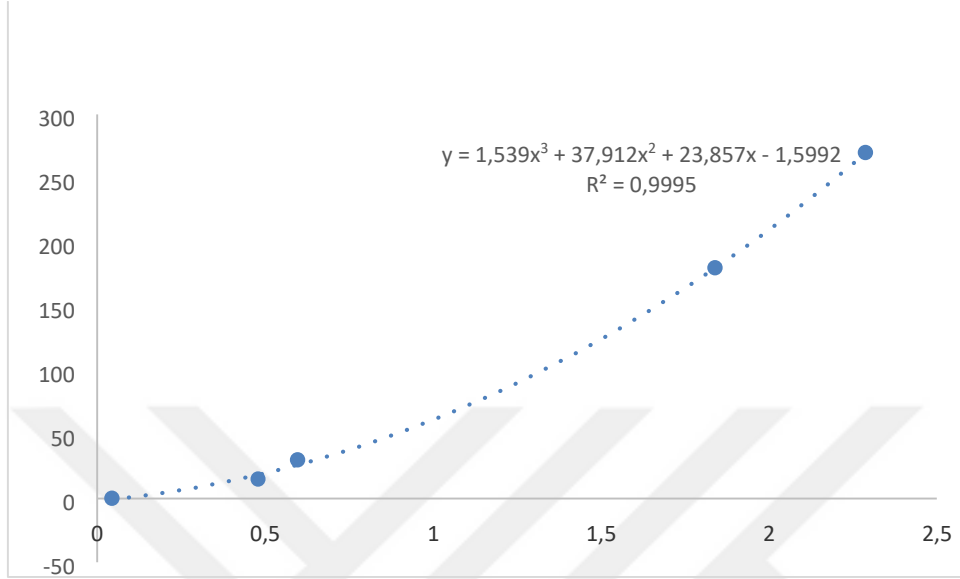
120. de Lemos ET, Oliveira J, Pinheiro JP, Reis F (2012). Regular physical exercise as a strategy to improve antioxidant and anti-inflammatory status: benefits in type 2 diabetes mellitus. *Oxid Med Cell Longev* 2012: 741545.
121. Nisoli E, Clementi E, Paolucci C, Cozzi V, Tonello C, Sciorati C, Bracale R, Valerio A, Francolini M, Moncada S, Carruba MO (2003). Mitochondrial biogenesis in mammals: the role of endogenous nitric oxide. *Science* 299: 896-899.
122. Shankarappa SA, Piedras-Renteria ES, Stubbs EB, Jr. (2011). Forced-exercise delays neuropathic pain in experimental diabetes: effects on voltage-activated calcium channels. *J Neurochem* 118: 224-236.
123. Ouchi N, Oshima Y, Ohashi K, Higuchi A, Ikegami C, Izumiya Y, Walsh K (2008). Follistatin-like 1, a secreted muscle protein, promotes endothelial cell function and revascularization in ischemic tissue through a nitric-oxide synthase-dependent mechanism. *J Biol Chem* 283: 32802-32811.
124. Bostrom P, Wu J, Jedrychowski MP, Korde A, Ye L, Lo JC, Rasbach KA, Bostrom EA, Choi JH, Long JZ, Kajimura S, Zingaretti MC, Vind BF, Tu H, Cinti S, Hojlund K, Gygi SP, Spiegelman BM (2012). A PGC1- α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature* 481: 463-468.
125. Erickson HP (2013). Irisin and FNDC5 in retrospect: An exercise hormone or a transmembrane receptor? *Adipocyte* 2: 289-293.
126. www.caymanchem.com/app/template/Article.vm/article/2192 (Erişim tarihi:2017)
127. Pedersen BK, Febbraio MA (2012). Muscles, exercise and obesity: skeletal muscle as a secretory organ. *Nat Rev Endocrinol* 8: 457-465.
128. Sanchis-Gomar F, Lippi G, Mayero S, Perez-Quilis C, Garcia-Gimenez JL (2012). Irisin: a new potential hormonal target for the treatment of obesity and type 2 diabetes. *J Diabetes* 4: 196.
129. Moreno-Navarrete JM, Ortega F, Serrano M, Guerra E, Pardo G, Tinahones F, Ricart W, Fernandez-Real JM (2013). Irisin is expressed and produced by human muscle and adipose tissue in association with obesity and insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 98: E769-778.

130. Du XL, Jiang WX, Lv ZT (2016). Lower Circulating Irisin Level in Patients with Diabetes Mellitus: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Horm Metab Res* 48: 644-652.
131. Roca-Rivada A, Castela C, Senin LL, Landrove MO, Baltar J, Belen Crujeiras A, Seoane LM, Casanueva FF, Pardo M (2013). FNDC5/irisin is not only a myokine but also an adipokine. *PLoS One* 8: e60563.
132. Novelle MG, Contreras C, Romero-Pico A, Lopez M, Dieguez C (2013). Irisin, two years later. *Int J Endocrinol* 2013: 746281.
133. Ferrante C, Orlando G, Recinella L, Leone S, Chiavaroli A, Di Nisio C, Shohreh R, Manippa F, Ricciuti A, Vacca M, Brunetti L (2016). Central inhibitory effects on feeding induced by the adipo-myokine irisin. *Eur J Pharmacol* 791: 389-394.
134. Lu Y, Li H, Shen SW, Shen ZH, Xu M, Yang CJ, Li F, Feng YB, Yun JT, Wang L, Qi HJ (2016). Swimming exercise increases serum irisin level and reduces body fat mass in high-fat-diet fed Wistar rats. *Lipids Health Dis* 15: 93.
135. Zhang W, Chang L, Zhang C, Zhang R, Li Z, Chai B, Li J, Chen E, Mulholland M (2015). Irisin: A myokine with locomotor activity. *Neurosci Lett* 595: 7-11.
136. Jodeiri Farshbaf M, Ghaedi K, Megraw TL, Curtiss J, Shirani Faradonbeh M, Vaziri P, Nasr-Esfahani MH (2016). Does PGC1alpha/FNDC5/BDNF Elicit the Beneficial Effects of Exercise on Neurodegenerative Disorders? *Neuromolecular Med* 18: 1-15.
137. Zhang J, Zhang W (2016). Can irisin be a linker between physical activity and brain function? *Biomol Concepts*. 4:253-8.
138. Brum PC, Da Silva GJ, Moreira ED, Ida F, Negrao CE, Krieger EM (2000). Exercise training increases baroreceptor gain sensitivity in normal and hypertensive rats. *Hypertension* 36: 1018-1022.
139. King AJF (2012). The use of animal models in diabetes research. *British Journal of Pharmacology* 166: 877-894.

140. Qinna NA,Badwan AA (2015). Impact of streptozotocin on altering normal glucose homeostasis during insulin testing in diabetic rats compared to normoglycemic rats. *Drug Design Development and Therapy* 9: 2515-2525.
141. Knauf MT, Koltyn KF (2015) Exercise-induced modulation of pain in adults with and without painful diabetic neuropathy. *J Pain* 15(6): 656–663.
142. Chen YW, Hsieh PL, Chen YC, Hung CH,Cheng JT (2013). Physical exercise induces excess hsp72 expression and delays the development of hyperalgesia and allodynia in painful diabetic neuropathy rats. *Anesth Analg* 116: 482-490.
143. Yagihashi S, Mizukami H,Sugimoto K (2011). Mechanism of diabetic neuropathy: Where are we now and where to go? *J Diabetes Investig* 2: 18-32.
144. Wu F, Song H, Zhang Y, Zhang Y, Mu Q, Jiang M, Wang F, Zhang W, Li L, Li H, Wang Y, Zhang M, Li S, Yang L, Meng Y,Tang D (2015). Irisin Induces Angiogenesis in Human Umbilical Vein Endothelial Cells In Vitro and in Zebrafish Embryos In Vivo via Activation of the ERK Signaling Pathway. *PLoS One* 10: e0134662.
145. Gmiat A, Mieszkowski J, Prusik K, Prusik K, Kortas J, Kochanowicz A, Radulska A, Lipinski M, Tomczyk M, Jaworska J, Antosiewicz J,Ziemann E (2017). Changes in pro-inflammatory markers and leucine concentrations in response to Nordic Walking training combined with vitamin D supplementation in elderly women. *Biogerontology*.
146. Li DJ, Li YH, Yuan HB, Qu LF,Wang P (2017). The novel exercise-induced hormone irisin protects against neuronal injury via activation of the Akt and ERK1/2 signaling pathways and contributes to the neuroprotection of physical exercise in cerebral ischemia. *Metabolism* 68: 31-42.

9. EKLER

Ek 1. İrisin Standart Grafiği



10. ETİK KURUL ONAY SAYFASI

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



KARADENİZ
TECHNICAL UNIVERSITY
ANIMAL CARE AND ETHICS
COMMITTEE

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL BAŞKANLIĞI
HAYVAN DENEYLERİ ETİK KURUL ONAY BELGESİ

Çalışmasının Adı : “Diyabetik Nöropati ve Egzersiz: Diyabetik Nöropatik Ağrıya İrisinin Etkileri Üzerine Deneysel İnceleme” Çalışmacılar : Prof.Dr.Ahmet AYAR, Arş.Gör.Ömer Faruk KALKAN Anabilim Dalı : Fizyoloji			
Etik Kurul Dosya No 2015/ 20	Etik Kurul Toplantı Tarihi 16/06/2015	Etik Kurul Toplantı No 2015/09	Etik Kurul Karar No 2
Karadeniz Teknik Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu, Tıp Fakültesi Dekanlığı Toplantı Salonu’nda Prof.Dr.Etem ALHAN’ın başkanlığında toplanıp; “Diyabetik Nöropati ve Egzersiz: Diyabetik Nöropatik Ağrıya İrisinin Etkileri Üzerine Deneysel İnceleme” başlığını taşıyan tez çalışmanın, Karadeniz Teknik Üniversitesi’nde yürütülmesinin mümkün olduğuna; çalışmacıların bu çalışmayı yürütülebilecek kalifikasyonda olduklarına; araştırmanın dosyada belirtilen haliyle tıbbi etik açıdan uygun olduğuna; Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Üyelerinin oy birliği ile karar verilmiştir. (16.06.2015) Prof. Dr. Etem ALHAN Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanı 			

11. ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Soyadı, Adı : KALKAN, Ömer Faruk
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri : Çaykara, 15.06.1986
E-posta : omerfarukkalkan61@hotmail.com

EĞİTİM BİLGİLERİ

Derece	Mezun Olduğu Kurum	Mezuniyet Yılı
Doktora	K.T.Ü, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı	2011-2017
Yüksek Lisans	K.T.Ü, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı	2009-2011
Lisans	Fırat Üniversitesi	2005-2009

AKADEMİK/MESLEKİ DENEYİM

Görevi	Kurum	Süre
Araştırma Görevlisi	K.T.Ü Sağlık Bilimleri Enstitüsü	2012-2017

UZMANLIK ALANI

Nörofizyoloji

YAYINLAR

Uluslararası hakemli dergilerde yayınlanan makaleler (SCI & SSCI & Arts and Humanities)

1. Er K, Ayar A, **Kalkan OF**, Canpolat S, Tasdemir T, Ozan U (2017). Neurotoxicity evaluation of three root canal sealers on cultured rat trigeminal ganglion neurons. J Clin Exp Dent 9: e34-e39.
2. Canpolat S, Ozcan M, Saral S, **Kalkan OF**, Ayar A (2016). Effects of apelin-13 in mice model of experimental pain and peripheral nociceptive signaling in rat sensory neurons. J Recept Signal Transduct Res 36: 243-247.
3. Ayar A, Ozcan M, Kuzgun KT, **Kalkan OF** (2015). Spinorphin inhibits membrane depolarization- and capsaicin-induced intracellular calcium signals in rat primary nociceptive dorsal root ganglion neurons in culture. J Recept Signal Transduct Res 35: 550-558.
4. Gunduz A, Eraydin I, Turkmen S, **Kalkan OF**, Turedi S, Eryigit U, Ayar A (2014). Analgesic effects of mad honey (grayanotoxin) in mice models of acute pain and painful diabetic neuropathy. Hum Exp Toxicol 33: 130-135.