



**T.C
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ANATOMİ ANABİLİM DALI**

**DİYABETİK SIÇANLARDA AGOMELATİN
UYGULAMASININ NÖROPATİK AĞRI VE NOSİSEPTİF
NÖRONLAR ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

**TEZ TİPİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

MERAL GEDİMAN

**DANIŞMAN
PROF.DR. EMEL ULUPINAR**

Şubat-2016



**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ANATOMİ ANABİLİM DALI**

**DİYABETİK SIÇANLARDA AGOMELATİN
UYGULAMASININ NÖROPATİK AĞRI VE NOSİSEPTİF
NÖRONLAR ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

**TEZ TİPİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

MERAL GEDİMAN

DANIŞMAN

PROF.DR. EMEL ULUPINAR

Şubat-2016

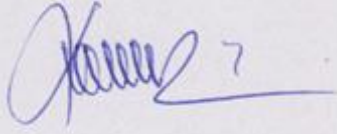
KABUL VE ONAY SAYFASI

Meral Gediman'ın Yüksek Lisans Tezi olarak hazırladığı "Diyabetik Sıçanlarda Agomelatin Uygulamasının Nöropatik Ağrı ve Nosiseptif Nöronlar Üzerindeki Etkilerinin Karşılaştırılması" başlıklı bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddesi uyarınca değerlendirilerek "**KABUL**" edilmiştir.

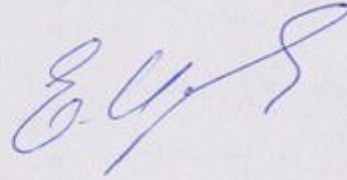
Tarih

22/02/2016

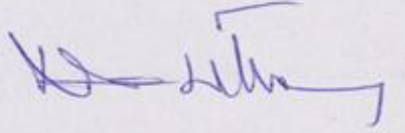
Üye: Prof.Dr. Ferruh YÜCEL



Üye: Prof.Dr. Emel ULUPINAR



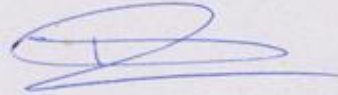
Üye: Prof.Dr. Nedim ÜNAL



Üye: Prof.Dr. Fatma Sultan KILIÇ



Üye: Doç.Dr. Devrim Özgür Can



Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 26.02.2016 tarih ve 1081/5083 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof.Dr. Hasan Veysi Güneş
Enstitü Müdürü

ÖZET

Diabetes mellitus (DM), kan şekeri değerlerinde yükselme ile seyreden metabolik bir bozukluktur. Hipergliseminin uygun tedavi ile kontrol altına alınamadığı durumlarda; mikrovasküler, makrovasküler ve nöropatik komplikasyonlar görülmektedir. Diyabetik nöropati, somatik veya otonom sinirlerin hasarına bağlı olarak nöropatik ağrıya neden olmaktadır.

Nöropatik ağrının progresyonunu yavaşlatan en iyi yöntem glisemik kontrol olmakla birlikte, semptomatik tedavide antidepressanlar, antikonvülzanlar veya opioidler gibi ilaçlar da sıklıkla kullanılmaktadır. Agomelatin, hem melatoninerjik hem de serotonerjik sistem üzerinden etkili, tedavi uyumu yüksek, yan etkileri düşük ve nöroplastisiteyi düzenleyici yeni bir antidepressandır. Bu tez çalışmasında, agomelatin'in diyabetik sıçanlardaki nöropatik ağrı düzeyleri üzerindeki davranışsal etkinliğinin ve duyu nöronları üzerindeki etkilerinin morfometrik yöntemlerle araştırılması amaçlanmıştır.

Deneylerde kullanılan erkek Spraque-Dawley ırkı erişkin sıçanlar; Kontrol, DM, DM+Agomelatin (40 mg/kg) ve DM+Agomelatin (80 mg/kg) olmak üzere 4 gruba ayrılmıştır. İlaç tedavisi, STZ enjeksiyonu ile diyabet oluşturulduktan sonra periferik nöropati gelişimi için 4 hafta daha beklendikten sonra başlatılmış ve 14 gün süreyle oral gavaj yoluyla devam ettirilmiştir. Sıçanların (n=8/her grup) aktivite kafesindeki yatay ve dikey hareket sayıları ile mekanik ve termal ağırlı uyaranlara karşı verdikleri yanıt süreleri 4., 5. ve 6. haftalarda tekrarlanan davranış testleri ile değerlendirilmiştir. Daha sonra kardiyak perfüzyon ile sakrifiye edilen sıçanların 4. ve 5. lumbal seviyelerdeki arka kök ganglionları diseke edilmiştir. Bu dokular araldit bloklara gömüldükten sonra alınan ince kesitler toluidin mavisiyle boyanmıştır. Kesitlerden elde edilen mikroskopik görüntüler üzerinden, ganglion spinale'deki nöronların ortalama soma çapları ve lif çapları morfometrik yöntemler kullanılarak ölçülmüştür.

STZ ile indüklenen diyabetik sıçanların lokomotor aktivitelerinde, kuyruk çekme ve kuyruk sıkıştırma testlerindeki ağırlı uyaranlara verdikleri yanıt sürelerinde kontrol gruplarındakilere oranla anlamlı düzeylerde azalma olduğu tespit edilmiştir. Morfometrik analizlerde de diyabetli sıçanların ortalama soma çapı ve lif uzunluğu değerlerinin kontrol gruplarındakilere göre anlamlı düzeyde düşük olduğu bulunmuştur. Agomelatin ile tedavi edilen gruplarda, ilacın özellikle düşük dozdaki uygulamaları, davranış bozukluklarının ve yapısal değişikliklerin geri döndürülmesinde daha etkili olmuştur.

Bu sonuçlar, diyabetik nöropatinin tedavisinde düşük doz agomelatin uygulamasının ganglion spinale'deki duyu nöronlarında yapısal değişiklikler oluşturarak hiperaljezik yanıtın önlenmesinde etkili olduğunu göstermektedir.

Anahtar sözcükler: Diyabetik nöropati, Agomelatin, Morfometri, Ganglion spinale, Kuyruk çekme, Kuyruk sıkıştırma, Aktivitemetre.

SUMMARY

Diabetes mellitus (DM) is a metabolic disorder characterized by elevated blood sugar levels. In cases of hyperglycemia cannot be controlled with proper treatment; microvascular, macrovascular and neurological complications are seen. Diabetic neuropathy causes neuropathic pain by damaging somatic or autonomic nerves.

Although the best method of slowing the progression of neuropathic pain is the glycemic control; medications such as antidepressants, anticonvulsants or opioids are often used in the symptomatic treatment. Agomelatine is a new antidepressant modifying neuroplasticity by displaying its effects on both melatonergic and serotonergic systems, and having high treatment compliance and low side effects. In this thesis study, it was aimed to investigate the effects of agomelatine on the behavioral effectiveness of neuropathic pain levels and its effects on sensory neurons by using morphometric methods.

Male Sprague-Dawley rats used in the experiments were divided into 4 groups: Control, DM, DM + Agomelatine (40 mg / kg) and DM + Agomelatine (80 mg / kg). Drug treatment was started 4 weeks after STZ injection, in order to wait for the development of peripheral neuropathy, and was continued by oral gavage for 14 days. The number of horizontal and vertical movements of rats (n = 8 / each group) in the activity cage and their responses to mechanical and thermal noxious stimuli were assessed by behavioral tests repeated at 4th, 5th and 6th weeks. Then, animals were sacrificed by cardiac perfusion and the dorsal root ganglia of the 4th and 5th lumbar levels were dissected. After burial of these tissues into araldite blocks thin sections were taken and stained with toluidine blue. By using the microscopic cross section images obtained from these sections, the mean soma and fiber diameters of neurons in the spinal ganglia were measured by using morphometric methods.

Locomotor activity and latency to painful stimuli in the tail clip and tail flick tests were significantly less in STZ-induced diabetic rats in comparison to control group. Morphometric analysis of the mean soma and fiber diameters of diabetic rats was significantly lower than those of controls. In groups treated with agomelatine, application of the drug at lower doses was more effective in reversing the behavioral disorders and structural changes.

These results show that low-dose agomelatine application is effective in preventing hyperalgesic response in the treatment of diabetic neuropathy by causing structural changes in the sensory neurons of the spinal ganglia.

Key words: Diabetic neuropathy, Agomelatine, Morphometry, Spinal ganglion, Tail clip, Tail flick, Activity meter.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
SUMMARY	ii
İÇİNDEKİLER	iii
TABLO DİZİNİ	iv
ŞEKİL DİZİNİ	v
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ	vi
1 GİRİŞ VE AMAÇ	1
2 GENEL BİLGİLER	3
2.1. Diabetes Mellitus	3
2.1.1. Diabetes Mellitus'un Tanımı	3
2.1.2. Diabetes Mellitus'un Epidemiyolojisi	3
2.1.3. Diabetes Mellitus'un Semptomları	3
2.1.4. Diabetes Mellitus'un Tanı Kriterleri	4
2.1.5. Diabetes Mellitus'un Sınıflaması	4
2.1.6. Diabetes Mellitus'un Komplikasyonları	6
2.1.7. Diabetes Mellitus'un Tedavisi	7
2.2. Diabetik Nöropati	8
2.2.1. Nöropatik Ağrı Mekanizması	8
2.2.2. Diabetik Nöropati Tanısı ve Sınıflandırılması	10
2.2.3. Diabetik Nöropati Tedavisi	11
2.2.3.1. Diabetik Nöropatide Antidepresanların Kullanımı	11
2.2.3.2. Diabetik Nöropatide Antikonvülzanların Kullanımı	12
2.2.3.3. Diabetik Nöropatide Diğer Ajanların Kullanımı	13
2.2.4. Diabetik Nöropatide Kullanılan Araştırma Modelleri	14
2.3. Ağrının İletim Mekanizması	15
2.3.1. Reseptörlerin Sınıflandırılması	16
2.3.2. Duyu Ganglionlarındaki Reseptörlerin Sınıflaması	17
2.3.3. Sinir Lifi Tiplerinin Sınıflandırılması	19
2.3.4. Omirilikteki Laminar Organizasyon	20
2.3.5. Ağrının Kortikal Merkezlere Taşınması	22
3 GEREÇ VE YÖNTEMLER	24
3.1. Deney Hayvanları	24
3.2. Deney ve Kontrol Gruplarının Oluşturulması	24
3.3. Aktivitemetre Testi	26
3.4. Kuyruk Çekme Testi	26
3.5. Kuyruk Sıkıştırma Testi	27
3.6. Deney Hayvanlarının Perfüzyonu ve Dokuların Diseksiyonu	29
3.7. Histolojik Yöntemler	30
3.8. Morfometrik Analizler	31
3.9. İstatistiksel Değerlendirme	32
3.9. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve İlaçlar	33
3.10. Kullanılan Cihazlar	33

BULGULAR	34
4.1. Aktivitemetre Testi Sonuçları	34
4.2. Kuyruk Çekme Testi Sonuçları	38
4.3. Kuyruk Sıkıştırma Testi Sonuçları	40
4.4. Morfometrik Analizler	42
5. TARTIŞMA	49
6 SONUÇ VE ÖNERİLER	56
7.KAYNAKLAR DİZİNİ	58

TABLO DİZİNİ

- Tablo 2.1.** Diyabetin akut ve kronik komplikasyonları
Tablo 2.2. Nöropatinin sınıflandırılması
Tablo 2.3. Nöropatik ağrıda kullanılan ilaçlar
Tablo 2.4. Antikonvülzanların olası etki mekanizmaları
Tablo 2.5. Diyabette ağrı araştırma modelleri
Tablo 2.6. Reseptörlerin anatomik tipleri
Tablo 3.1. Deney hayvanlarının vücut ağırlıkları
Tablo 4.1. Aktivitemetre testi sonuçlarının karşılaştırılması
Tablo 4.2. Kuyruk çekme (tail flick) testi sonuçlarının karşılaştırılması
Tablo 4.3. Kuyruk sıkıştırma (tail clip) testi sonuçlarının karşılaştırılması
Tablo 4.4. Deney hayvanlarının ortalama soma çapı değerler
Tablo 4.5. Deney hayvanlarının ortalama lif uzunluğu değerleri

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 2.1. Ağrıyı taşıyan yollar

Şekil 2.2. Sinir lifi tipleri

Şekil 2.3. Laminer organizasyon

Şekil 2.4. Nöropatik ağrı mekanizması

Şekil 3.1. Kardiyak perfüzyon işlemi

Şekil 3.2. Kuyruk sıkıştırma testi

Şekil 3.3. Kuyruk çekme testi

Şekil 3.4. Laminektomi (spinal ganglion L4-L5)

Şekil 3.5. Arka kök ganglionlarından hazırlanan araldit bloklar

Şekil 3.6. Işık mikroskobu

Şekil 4.1. Yatay ve dikey hareket sayılarında tedavi süresine göre oluşan farklılıklarının karşılaştırılması

Şekil 4.2. Aktivitemetre testindeki yatay ve dikey hareket sayılarının gruplar arasındaki farklılıklarının karşılaştırılması

Şekil 4.3. Kuyruk çekme (tail flick) testindeki yanıt sürelerinin karşılaştırılması

Şekil 4.4. Kuyruk sıkıştırma (tail clip) testindeki yanıt sürelerinin karşılaştırılması

Şekil4.5: Farklı gruptaki deney hayvanlarının arka kök ganglionlarından alınan kesitlerin fotomikrografları

Şekil 4.6. Ortalama soma çapı değerlerinin karşılaştırılması

Şekil 4.8. Soma çapı değerlerinin histogramları

Şekil 4.9. Ortalama sinir lifi uzunluklarının karşılaştırılması

KISALTMALAR DİZİNİ

ADA: Amerikan Diyabet Birliği

CGRP: Kalsitonin Gen İlişkili Peptid

DM: DiabetesMellitus

DN: Diyabetik Nöropati

DCCT: Diabetes Control and Complications Trial

DKA: Diyabetik Ketoasidozis

DKA: Diyabetik Ketoasidozis

DPN: Diyabetik Periferik Nöropati

DPNP: Diabetik Periferik Nöropatik Ağrı

FDA: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi

GABA: Gamma-Aminobütirik Asit

HBA1c: Hemoglobin A1c

IGT: Bozulmuş Glukoz Toleransı

IVTA: Ventral Tegmental Alan

MSS: Merkezi Sinir Sistemi

NGF: Sinir Büyüme
Faktörü

NKHD: Non-Ketotik Hiperozmolar Durum

NMDA: N-methyl-D-aspartate

NKHD: Non-ketotik Hiperozmolar Durum

NK1: Neurokinin-1Reseptörü

OGTT: Oral Glikoz Tolerans Testi

PSS: Periferal Sinir Sistem

PDN: Periferik Diyabetik Nöropati

SCN:Nucleus Suprachiasmatic

STZ: Streptozotosin

SNRI: Serotonin-Noradrenalin Geri Alım İnhibitörü

SSS: Sempatik Sinir Sistemi

SSRI: Selektif Serotonin Geri Alım İnhibitörü

SP: Substance-P

TCAS: Trisiklik Antidepresan

WHO: Dünya Sağlık Örgütü

1-GİRİŞ VE AMAÇ

Diabetes mellitus (DM), genellikle kalıtsal ve çevresel etmenlerin birleşimi ile oluşan metabolik bir bozukluktur (Tierney, McPhee& Papadakis, 2002). Bu bozukluğa bağlı olarak ya insülin salgılanmasında ya da insülinin etkisindeki yetersizlik sonucunda, kan şekerinde yükselmeye (hiperglisemi) bağlı olarak farklı tipte hasarlar meydana gelir (Rother, 2007).

Diyabet hastalarında plazmadaki şeker düzeylerinin uygun tedavi ile kontrol altına alınamadığı durumlarda yaşamı tehdit edebilecek ölçüde önemli olabilen akut ve/veya uzun süren metabolik düzensizlikler nedeniyle çeşitli sistem, organ ve dokularda hasara neden olan kronik komplikasyonlar ortaya çıkabilmektedir (Tripathi & Shrivastava, 2006; Wolfsdorf, Glaser & Sperling, 2006). Bu komplikasyonlar, mikrovasküler, makrovasküler ve nöropatik bozuklukları içerir (Güner, 2005). Mikrovasküler hasarlar sıklıkla diyabetik retinopati ve nefropati gibi hastalıklara neden olur. Makrovasküler hasarların başında ise inme ve miyokard infarktüs insidansındaki artışa yol açan ateroskleroz gelmektedir. Diyabet sonucunda oluşan nöropatik hasar (diyabetik nöropati) sıklıkla otonomik ve periferik sinirlerde gözlenir. Ekstremitelerdeki nöropati ile birlikte seyreden aterosklerotik dolaşım yetmezliği sonucunda, özellikle ayaklarda, kronik ülserasyon ve gangrenler gelişebilir (Ganong, 1999).

Diyabetik nöropati (DN), nöropatiye neden olabilecek diğer faktörler olmaksızın sadece DM zemininde gelişen, sinir sisteminin farklı komponentlerini etkileyen ve sinir lifi tiplerinin hepsini tutabilen bir sendromdur (Mahmood, Akhtar, Vohora & Khanam, 2010). Periferik diyabetik nöropati (PDN), somatik veya otonom sinirlerin diyabete bağlı hasarı sonucunda tedavisi güç nöropatik ağrılara neden olabilmektedir (Boulton, 2007). Ağrının şiddeti arttıkça, hastanın günlük işlevleri azalmakta ve yaşam kalitesi düşmektedir (Shi, Zhang, Hu, Jiang & Xu, 2012).

Ağrı araştırmalarında ve nöropatik ağrının tedavi etkinliğinin değerlendirilmesinde DN modelleri sıklıkla kullanılmaktadır (Courteix, Bardin, Chantelauze, Lavarenne & Eschaliere, 1994; Fox, Eastwood, Gentry, Manning & Urban, 1999). Spesifik olarak, hiperglisemiye bağlı ağrılı nöropati mekanizmalarının araştırılmasında ve davranışsal cevaplarının ortaya çıkarılmasında kemirgen modelleri sık olarak kullanılmaktadır (Calcutt, 2002; Palecek, Paleckova, Dougherty, Carlton & Willis, 1992). Çünkü insanlarda farklı duyuşsal uyaranlara verilen davranışsal tepkiler etik sorunlardan dolayı değerlendirilememektedir. Oysa deney hayvanlarına uygulanan elektriksel ve nörokimyasal testler sonucunda ortaya çıkan anatomik ve fizyolojik değişikliklerin ölçülmesi mümkün olabilmektedir.

Bu tez çalışmasında sıçanlarda streptozotosin (STZ) ile indüklenen diyabet modeli kullanılarak, nöropatik ağrının deney hayvanlarının ağrı

yanıtlarına olan etkilerinin ve ganglion spinale'deki nöronlar üzerindeki morfolojik etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Nöropatik ağrının progresyonunu yavaşlatan en iyi yöntemin glisemik kontrol olduğu bilinmektedir. Ancak, nöropatik ağrının semptomatik tedavisinde antidepresan (duloksetin, amitriptilin, imipramin vb.), antikonvülzan (pregabalin, gabapentin vb.) veya opioid (tramadol ve oksikodone) gibi ilaçlar da sıklıkla kullanılmaktadır (Yamazaki vd., 2008). Periferik nöropatik ağrının hafifletilmesinde kullanılan antidepresanların farklı etkinliklere sahip oldukları gösterilmiştir. Örneğin trisiklik antidepresanların (TCAs) her 2-3 hastadan birinde, serotonin-noradrenalin geri alım inhibitörlerinin (SNRI) her 4-5 hastadan birinde, selektif serotonin geri alım inhibitörü (SSRI) grubu antidepresanların ise her 7 hastadan birinde ağrının dindirilmesinde etkin oldukları bildirilmiştir (Sindrup, Otto & Finnerup, 2005). Ancak, kardiovasküler hastalıklar veya epilepsi gibi TCAs kullanımının kontrendike olduğu durumlarda, tolerans düzeyindeki düşüklük ve yan etkilerindeki yükseklik nedeniyle, analjezik etkilerinin daha düşük olmasına rağmen SNRIs grubu antidepresanlar, TCAs grubu ilaçlara tercih edilebilmektedir. Öte yandan, diyabetik hastalarda nöropatik ağrının tedavisinde kullanılan bazı antidepresanların, kan glukoz seviyesinde değişikliğe neden olmak suretiyle glisemik kontrolü bozduğu gösterilmiştir (Isotani & Kameoka, 1999; Lustman vd., 1997). Bu nedenle diyabetik nöropatinin antidepresanlarla tedavisinde, analjezik etkinlik açısından üstün olan ilaçların hangileri olduğu konusu halen araştırmalara açıktır.

Agomelatin, melatoninerjik MT_1 ve MT_2 reseptör agonisti ve serotonin $5-HT_{2C}$ reseptör antagonisti etkilere sahip, diğer antidepresanlara oranla tedavi uyumu daha yüksek ve yan etkileri daha düşük olan, anksiyete ve uyku-uyanıklık döngüsü üzerinde de olumlu etkilere sahip olan ve nöroplastisiteyi düzenleyen yeni bir antidepresandır (Paizanis vd., 2010; Hickie & Rogers, 2011; Akdeniz, 2012). Diğer antidepresanlardan farklı olarak tümüyle yenilikçi bir reseptör profiline sahip olan bu ilacın nosiseptif etkinliği üzerine yapılmış bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle çalışmamızda agomelatinin diyabetin en önemli komplikasyonlarından biri olan diyabetik nöropati ve nosiseptif nöronların yapısal özellikleri üzerindeki etkinliği doza bağlı olarak araştırılmıştır.

2-GENEL BİLGİLER

2.1.Diabetes Mellitus

2.1.1. Diabetes Mellitus'un Tanımı

Diabetes Mellitus insülin hormon sekresyonunun ve/veya insülin etkisinin mutlak veya göreceli azlığı sonucu karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmasında bozukluklara yol açan kronik bir metabolizma hastalığıdır. Hastalığın en önemli bulgusu hiperglisemidir. Yüksek düzeylerdeki glukoz organizmada proteinlerle birleşerek glikolizasyon ürünlerine dönüşür ve bu dönüşüm kan glukoz düzeyi ile doğru orantılı olarak artar. Glukozun kan damarlarının duvarlarında veya interstisyel dokularda kollajenle ve diğer uzun ömürlü proteinlerle oluşturduğu glikolizasyon, kimyasal tepkimeler sonucunda geri dönüşümü olmayan glikolizasyon son ürünlerine dönüşür. Hiperglisemi sürdükçe bu birikim artar. Glikolizasyon son ürünleri diyabette oluşan mikroanjyopati, retinopati, nefropati, kardiyovasküler hastalıklar ve nöropati gibi ciddi komplikasyonların oluşmasında önemli rol oynamaktadır (Partenen vd., 1995).

2.1.2. Diabetes Mellitus'un Epidemiyolojisi

Diyabet prevalansı ülkeler arasında ve farklı etnik gruplarda belirgin düzeyde değişiklik göstermektedir. Farklı toplumlarda görülen diyabet prevalansındaki bu çeşitlilik büyük olasılıkla genetik ve çevresel faktörlerden kaynaklanmaktadır (Laakso, Goldstein & Wieland, 2003). Avrupa'da insanların %8.5'inde, İngiltere'de %8.3'ünde diyabet hastalığı görülmektedir. Çeşitli toplumlarda yapılan taramalarda insüline bağımlı olmayan diyabet hastalığı prevalansı %1.7-25.5 iken insidansı %1.6-2.5 arasındadır. Ülkemizde insidans %1.6-2, prevalans ise %3.5-5 arasındadır. İnsanda yaşam süresinin giderek uzaması, fiziksel aktivitenin azalması ve obezitenin artması, DM insidans ve prevalansında bir artmaya neden olmuştur (Eschwege, Simon & Balkau, 1997). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) diyabetin prevalansının gelecek 22 yıl içinde iki katına çıkacağını bildirmiştir (Boyle vd., 2001). Dünya genelinde 2025 yılında diyabet prevalansının erişkin popülasyonun %5.4'ünü oluşturacağı ve bu olguların %75'inin gelişmekte olan ülkelerde bulunacağı tahmin edilmektedir (Boyle vd., 2001; King, Aubert& Herman, 1998).

2.1.3. Diabetes Mellitus'un Semptomları

DM, metabolik anormalliklerin şiddetine bağlı olarak asemptomatik olabileceği gibi aşırı susama (polidipsi), sık idrar (poliüri), aşırı yeme (polifaji), görme bulanıklığı ve kilo kaybı gibi karakteristik belirtiler de gösterebilmektedir (Kuzuya vd.,2002). Daha ciddi olgularda ketoasidozis veya nonketotik hiperozmolar durum gelişerek baygınlık ve koma ortaya

çıkabilmekte ve bu durumlarda etkin bir tedavi uygulanmadığında ölümlerle sonuçlanabilmektedir (ADA, 2006).

2.1.4. Diabetes Mellitus'un Tanı Kriterleri

Amerikan Diyabet Birliği kriterlerine göre DM tanısı, venöz plazmada açlık kan şekerinin en az iki ardışık ölçümde 126 mg/dl veya daha yüksek olması ile konulmaktadır. 2011 yılında yayınlanan son rapora göre, HbA1c düzeyinin %5.7-6.4 arasında olması durumu, diyabet ve kardiyovasküler hastalık risk artışını gösteren önemli bir parametre olarak değerlendirilmektedir (ADA, 2010).

Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) çalışmasının sonuçları ve deneysel çalışmalar, iyi bir glukoz kontrolünün diyabetin komplikasyonlarını azaltıcı etkisinin olduğunu göstermiştir. Hemoglobin A1c(HbA1c) ortalama 3 aylık glukoz kontrolünü yansıtır. DCCT çalışmasına göre HbA1c'nin nondiyabetik üst sınırı %6.1'dir (ortalama %5.9 ± 2). Yine DCCT çalışmasına göre standardize edilmiş ölçümlerde HbA1c'deki her %1'lik artış, ortalama kan glukoz düzeyinde yaklaşık 35 mg/dl'lik artış yansıtır (Nathan vd., 2008). Uzun süreli olarak HbA1C düzeylerinin < % 7.1 oranında tutulması mikrovasküler komplikasyonları (retinopati, nöropati ve nefropati) %50-70 oranında azaltır. Bu düzey makrovasküler komplikasyonların önlenmesi açısından önem taşımaktadır(DCCT, 1993).

2.1.5. Diabetes Mellitus'un Sınıflandırması

Diyabetik hastaların %10-20'sini oluşturan Tip 1 DM, pankreas beta hücresinin selektif ve ilerleyici harabiyetine bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Tip 1 DM'un etyolojisinde genetik eğilim ve çevresel faktörler bulunmaktadır. Hastalık genellikle çocukluk ve adolesan yaşta başlamaktadır. Vakaların çoğunluğu tanı anında 30 yaşın altında bulunmaktadır (Eisebbarth, 1986).

Tip 1 diyabetin gelişiminde en önemli etiyopatogenetik neden otoimmün destrüksiyondur. Organizmanın savunma sisteminin kendi pankreas beta hücrelerine karşı başlattığı immün saldırı, sağlam beta hücresi %20'lere ininceye kadar semptomsuz seyrederek. İşlev gören beta hücre sayısı bu oranın altına indiğinde kompensatuar mekanizmalar yetersiz kalır ve Tip1 diyabet semptomları ortaya çıkar.

Sağlıklı insanlarda immün sistem efektor hücreleri kendi hücrelerini tanıır. Fakat hücresel bütünlüğü bozan birçok faktör immün toleransın bozulmasına ve otoimmünitenin aktivasyonuna neden olur. Bu etkenlerin başında virüsler, toksinler ve bazı gıda maddeleri gelir (Busehard, Danisbo& Ropke, 1986). Hastalığın başlangıcı ve sekonder enfeksiyonlar yaşı küçük olanlarda ve puberte dönemindeki kız çocuklarında daha hızlıdır (Harrison, Campell, Alison & Miller, 1989; Bradshaw vd., 1994). Sağlam beta hücre oranının %20 civarına inmesi ve mutlak insülin yetersizliğinin gelişmesi klinik dönem Tip 1 diyabetin başlamasına neden olur. Birinci yılın sonunda C-peptid düzeyleri sıfıra yakın noktaya geriler ve eksojen insüline

ihtiyaç duyulur.HbA1c ve fruktozamin ölçümleri dışında idrarda glikoz ölçümü, açlık lipid profili, proteinüri mevcutsa serum kreatinin ve üre düzeyleri, tiroid fonksiyon testleri, erişkin diabetlilerde EKG, plazma insülin, proinsülin, C-peptid, spesifik 13 proinsülin antikorunun bakılması önemlidir (Busehard, Danisbo & Ropke, 1986; Harrison, Campell, Alison& Miller, 1989).

Tip 1 DM, genellikle hızlı gelişir. Bazı hastalarda ise yıllar süren yavaş bir gelişim meydana gelmektedir. Böyle hastalarda ise belirtiler Tip 2 DM'a benzer şekilde seyrederek. Yıllar içinde insülin eksikliği yavaş yavaş artarak oral antidiyabetiklere cevap vermez bir hale gelir. Böyle vakalar yavaş seyirli bir otoimmünite gösterebilir (Orhan, 2001). Tip I DM; idiyopatik ya da otoimmün kaynaklı olabilmektedir (Daneman, 2006).

Tip 2 Diabetes Mellitus, en sık karşılaşılan endokrin metabolik bozukluklardan biridir ve çoğu gelişmiş ülke popülasyonlarında %5-10 oranında görülür. Tüm diyabet hastalarının %80-90 gibi büyük bir kısmını oluşturur. Tip 2 DM İnsülin rezistansının ön planda olduğu durumdan, insülin sekresyonunun ön planda olduğu duruma kadar değişiklik gösteren bir tablo oluşturur. Tip 1 DM'da ise Beta hücre harabiyeti ile birlikte genelde mutlak insülin eksikliği vardır.

Tip 2 DM yıllar süren yavaş bir gelişim gösterir. Yeni tanı koyulmuş Tip 2 diyabetlilerde %20-30 oranında diyabetik retinopati, %10-20 mikroalbuminüri (%40'ında hiperfiltrasyon), %30-40'ında hipertansiyon, %50-80'ninde dislipidemi ve %80-100'e yakın oranlarda vasküler disfonksiyon görülmektedir. Bu nedenle erken tanı tedavide önemli yer tutmaktadır (Orhan, 2001).

Tip 1 diyabetin bazı tiplerinde insülin düzeyleri düşüktür ve/veya insülin direnci yoktur (Gökçek, 2008). Bu diyabet formu daha çok kalıtımsaldır. Hastalar epizodik ketoasidoz atakları ve ataklar arasında çeşitli derecelerde insülin eksikliği gösterirler (Banerji &Lebovitz, 1989). Hastaların bazıları kalıcı insülinopeni ve ketoasidoza eğilimlidir ancak bu hastalarda otoimmün bir bulguya rastlanmamaktadır(Amerikan Diyabet Birliği, 2010).

Tip 1 DM'nin otoimmün tipinde, pankreas beta hücrelerinin çeşitli komponentlerine karşı otoantikorlar bulunmaktadır. Bunlar hastaların büyük bir kısmında tanı anında tespit edilirler ve pankreasın harabiyetiyle birlikte ortadan kaybolurlar. Otoimmün diabetes mellitus'da genetik yatkınlığın yanı sıra, viral enfeksiyonların, kimyasal ve toksik çevresel faktörlerin tetiklemesi ile pankreasın adacık beta hücreleri antijenik özellik kazanmaktadır. Antijenik özellik taşıyan beta hücrelerine karşı oluşan T hücrelerinin aracılık ettiği otoimmün yanıt, insülitis'e neden olmakta ve insülin salınımı azalmaktadır (Daneman, 2006). İmmün kaynaklı Tip 1 DM hastaları ilk belirti olarak ketoasidozla kliniğe başvururlar. Bazı hastalar ise enfeksiyon veya diğer stres durumlarında ciddi hiperglisemi ve/veya ketoasidoza dönüşebilen orta derecede açlık hiperglisemi belirtileri ile başvurmaktadır (Zimmet vd., 1994).

2.1.6. Diabetes Mellitus'un Komplikasyonları

DM'nin akut komplikasyonları, diyabetik ketoasidozis (DKA) ve non-ketotik hiperozmolar durum (NKHD) olarak kabul edilmektedir. İnsülinin mutlak ya da bağıl eksikliği ile ilişkili olan komplikasyonlarından, DKA özellikle Tip 1 DM hastalarında, NKHD ise özellikle tip II DM hastalarında yaygın olarak görülmektedir (Venkatraman & Singhi, 2006; Wolfsdorf, Glaser & Sperling, 2006). Genellikle mide bulantısı, kusmanın da eşlik ettiği DKA tablosu ciddileşerek, letarji, Merkezi Sinir Sistem (MSS) depresyonu ve koma gelişimine neden olabilmektedir (Wolfsdorf, Glaser & Sperling, 2006). DKA'nın ciddi komplikasyonlarından biri özellikle çocuklarda görülen serebral ödemdir (Shastry & Bhatia, 2006; İlicin, Biberöglü, Süleymanlar & Ünal, 2003).

Diyabetin süresi uzadıkça, özellikle de genetik yatkınlığı olan bireylerde kapiller bazal membran kalınlaşması, kapiller permeabilite artışı, kan akımı ve viskozitesinde artış ve trombosit fonksiyonlarında bozulma gözlenir. Bu değişimlerin sonucu olarak kapiller protein sızıntısı (mikroalbuminüri), mikrotrombüs oluşumu ve dokularda iskemik hasar gelişebilir. Kronik hiperglisemi ve yüksek HbA1c düzeyleri bu tip komplikasyonların oluşmasında önemli rol oynar (Bağrıaçık, 1997; Deckert vd., 1992).

DM'nin kronik komplikasyonları, damarlar ile ilgili olan vasküler komplikasyonlar ve bunun dışında kalan vasküler olmayan (non-vasküler) komplikasyonlar olmak üzere iki temel gruba ayrılmaktadır. Vasküler komplikasyonlar da kendi aralarında, mikrovasküler (retinopati, nöropati ve nefropati) ve makrovasküler (koroner arter hastalığı, periferik vasküler hastalıklar ve serebrovasküler hastalıklar) olmak üzere ikiye ayrılmaktadırlar (Tablo 2.1). Gastroparezis, seksüel disfonksiyon, deride değişiklikler gibi komplikasyonlar ise DM'nin vasküler olmayan komplikasyonlarıdır (Tripathi & Srivastava, 2006; İmamoğlu, 2005; Braunwald vd., 2004).

Diyabetin makrovasküler komplikasyonları ilerlemiş ateroskleroza sekonder olarak gelişir. Diyabet ateroskleroz için bir risk faktörüdür. Kardiyovasküler değişiklikler diyabetik hastalarda daha erken yaşlarda ortaya çıkar daha süratli ve agresif ilerler. Tip 2 DM'de makrovasküler komplikasyonlar ölümlerin %80 nedenidir ve bunların da %60'ı koroner kalp hastalığından kaynaklanmaktadır. Özellikle insülin rezistansının bulunduğu Tip 2 diyabetde hiperinsülinemi, muhtemelen düz kas hücresi proliferasyonunu stimüle ederek, makrovasküler hastalık oluşumunda etkili olmaktadır. Hipertansiyon prevalansı Tip 2 diyabetiklerde en az 2 kat daha fazladır. Çünkü bu hastalarda obezite ve insülin rezistansı sıklıkla diyabete eşlik eder. Bu hastalarda hipertansiyon iyi bir şekilde tedavi edildiği takdirde makrovasküler komplikasyonlara ait morbitide ve mortalitenin önemli derecede azaldığı gösterilmiştir (İlicin, Biberöglü, Süleymanlar & Ünal, 2003).

Diyabetik komplikasyonların oluşmasında rol oynayan faktörler her ne kadar anlaşılmamışsa da etkili olduğu bilinen bazı mekanizmalar şunlardır:

- a) Proteinlerin nonenzimatik glukolizasyonu
- b) Poliyol-miyoinositol yolunun yoğun çalışması
- c) Hiperfiltrasyon ve hipertansiyon gibi hemodinamik değişiklikler
- d) Endotel, endotelin destekçisi dokular ve ekstraselluler matriksin primer bozuklukları
- e) Koagulasyon sistemi ve büyüme faktörlerine ait anormallikler

Diyabetik Periferik Nöropati (DPN) Tip 1 diyabetli hastaların %10-54'ünü oluşturmaktadır. Diyabetli hastaların %26.5'inde retinopati ve %32'sinde de diyabetik nöropati gözlenmektedir. Benzer oranlar Tip 2 diyabet hastalığı için de geçerlidir (Fong vd., 2004). Duyusal polinöropati tanısı Tip 2 diyabetli hastalarda daha erken dönemde konulmaktadır.

Tablo 2.1. Diyabetin akut ve kronik komplikasyonları

Akut Komplikasyonlar	Kronik Komplikasyonlar
<ul style="list-style-type: none"> • Hiperozmolar non-ketotik koma • Diyabetik ketoasidoz • Laktik asidoz • Hipoglisemi 	<ul style="list-style-type: none"> A. Makrovasküler komplikasyonlar <ul style="list-style-type: none"> • Hipertansiyon • Koroner arter hastalığı • Serebrovasküler hastalık B. Mikrovasküler komplikasyonlar <ul style="list-style-type: none"> • Diyabetik nefropati • Diyabetik retinopati • Diyabetik nöropati (DN) C. Diğer kronik komplikasyonlar <ul style="list-style-type: none"> • Gastrointestinal (gastroparezi, diyare) • Genitoüriner (üropati, seksüel disfonksiyon) • Dermatolojik • Kemik ve mineral metabolizma bozuklukları • Diyabetik ayak • Psikolojik problemler ve psikiyatrik bozukluklar

2.1.7. Diabetes Mellitus'un Tedavisi

Diyabet tanısı konulduktan hemen sonra seçilecek tedavi diyabetin tipine göre ayarlanmalıdır. Diyabet tedavisinde diyet, egzersiz ve yaşam stiline modifikasyonu oldukça önemlidir (İlicin, Biberoğlu, Süleymanlar & Ünal, 2003).

Tip 1 DM hastaları, yaşamları boyunca dışarıdan verilecek insüline gereksinim duydukları için, bu hastalarda metabolik kontrolü sağlamak üzere kısa, orta ve uzun etkileri olan çeşitli insülin preparatları kullanılmaktadır (Hirsch, 1999).

Tip 2 diyabet hastalarının tedavisinde hastaların eğitimi, diyet tedavisi ve egzersiz büyük önem taşımaktadır. Farmakolojik tedavi açısından bakıldığında da, Tip 2 DM tedavisinde, sülfonilüreler (klorpropamid, gliburid, glipizid, glimepid), glinidler (metformin), glitazonlar (pioglitazon, rosiglitazon), glukozidaz inhibitörleri (akarboz, miglitol) ve aldoz-redüktaz inhibitörleri (tolrestat, sorbinil) gibi insülin salımını ve/veya dokuların insüline olan duyarlılığını arttıran oral antidiyabetik ilaçlar kullanılmaktadır. Tip 2 DM tedavisinde, hastalığın neden olduğu komplikasyonlara yönelik tedavi yapmak da büyük önem taşımaktadır (Kayaalp, 2002).

2.2.Diyabetik Nöropati

Nöral yapıların harabiyetine bağlı olarak MSS kaynaklı gelişen ağrıya "nöropatik ağrı" denir. Bu ağrı, bazen periferik sinirlerin harabiyetinden kaynaklanan periferik nöropatik ağrıyı, bazen de MSS yapılarının harabiyetinden sonra oluşan merkezi nöropatik ağrıyı kapsamaktadır (Berne, Levy, Kooppen& Stanton, 2008).

Nöropatik ağrı klinikte, spontan devam eden, genellikle yakıcı yada sızlayıcı, allodini ve hiperaljezi gibi, termal yada mekanik uyarı ile uyarılabilen, özellikle ağrılı bölgede duyu kaybı ile karakterize bir durumdur (Chapman, Suzuki & Dickenson, 1998).DN periferik nöropatiye neden olabilecek diğer faktörler olmaksızın sadece DM zemininde gelişen nöropatiler için kullanılan bir terimdir ve etiyopatijenezinde hiperglisemi, diyabet süresi, ileri yaş, hipertansiyon, hipoinsülinemi ve hiperinsülinemi gibi faktörler rol oynamaktadır.Periferik ve otonomik nöropatiler diyabetin en yaygın komplikasyonlarından (Dyck vd., 1993). Nöropatik ağrı tüm diyabetik hastaların % 60'ında görülmekte ve hastaların yaşam kalitesini büyük ölçüde etkilemektedir (Gardell, 2003).

2.2.1. Nöropatik Ağrının Mekanizmaları

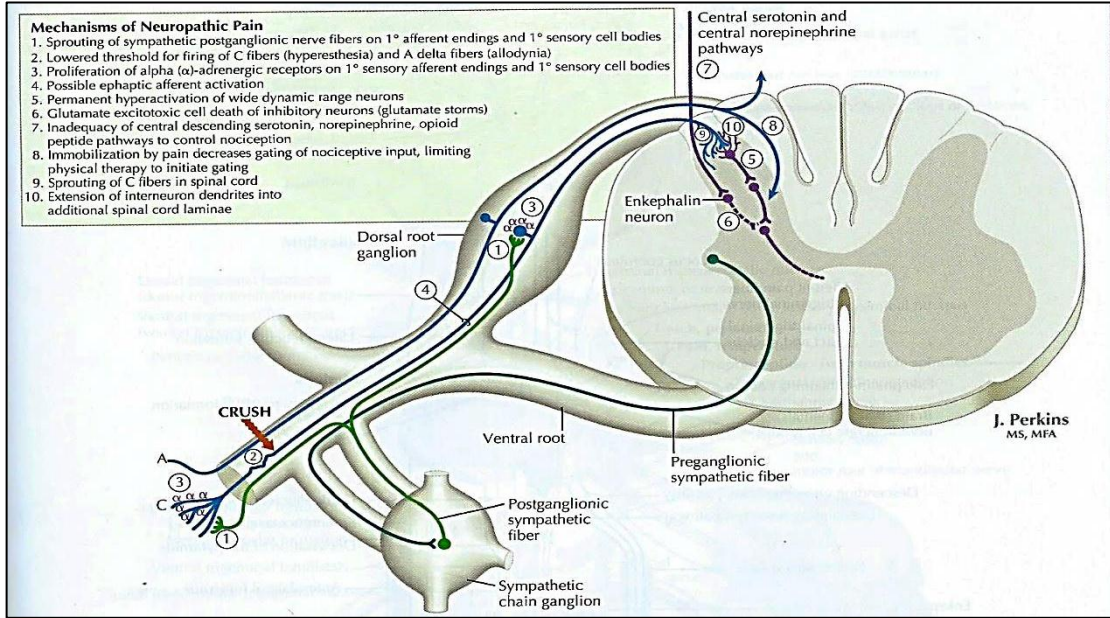
Heterojen ve multifaktöriyel bir süreç olan DN patojenezinden sorumlu mekanizmaları metabolik, vasküler, nörotropik, genetik ve immün olmak üzere başlıca beş başlıkta özetlemek mümkündür (Dacosta, Cappelerleri & Joshi, 2011). Sinir disfonksiyonunun başlıca sorumlusu olarak gösterilen kronik hiperglisemi ve metabolik faktörlere bağlı olarak aksonal disfonksiyon oluştuğu, Na/K ATPaz aktivitesinde artış olduğu ve anaerobik glikolizin azaldığı gösterilmiştir. Takiben periferik sinirlerde poliyol birikimi olması ve mikroanjyopatiye bağlı sinir iskemisi oluşması, diyabetik nöropatideki periferik sinir hasarını ortaya çıkarmaktadır (Gries, Cameron& Low, 2002; Dacosta, Cappelerleri& Joshi, 2011).

Hiperglisemi sonucu sorbitol yolu daha fazla işleyip hücre içinde sorbitol birikmektedir. Bu durum, sorbitol gibi polyol olan myoinositolün sinir hücresi dışına çıkmasına neden olur. Membran Na-K ATPase aktivitesi azalır, sinir iletimi yavaşlar. Bunun yanında akson içindeki enzim, nörotransmitter gibi maddelerin de transportu yavaşlar. Nöropatinin

başlangıcında metabolik faktörler ön planda iken, diyabet süresi uzadıkça vasküler ve iskemik bozukluklar da devreye girer. Aksonal proteinler ve vaso nervorum çeperlerinde non-enzimatik glikozilasyon da nöropatiye neden olur.

Nöropatik ağrıda sempatik sinir blokajı ile ağrı hafifletilse bile sempatik nöronal etkinlik sürdürülüyor gibi görünür. Bunun nedeni sempatik postganglionik aksonların tomurcuklanması yada afferent nöronlardaki adreno reseptörlerin ağrıyı arttırıcı özelliğidir (Şekil 2.1). Travmatik amputasyondan sonra bile hayalet organ ağrısı ortaya çıkabilmektedir (Fantom ağrısı). Bu aşırı hassasiyete histamin ve prostaglandin gibi lokal doku ürünlerinin sebep olduğu düşünülmektedir. Hasar iyileştikten sonra bu alana giden sinirler kesilse bile ağrı şiddetlenebilir. Ağrının nedeni arka boynuzdaki birinci ve ikinci sıra nöronları arası kavşak bağlantılarındaki iletimin hızlanmasıdır. Bu hızlanmanın sebepleri, presinaptik N-methyl-D-aspartate (NMDA) reseptörlerinin etkinliğindeki artış ile birlikte P maddesinin salınmasıdır. Bir başka neden mekanoreseptörlerden çıkan A-β lif alt grubunun P maddesi üretmesidir (Ganong, 1999; Guyton & Hall, 1996).

Nöropatik ağrının indüklediği travmatik sinir hasarı, omurilik spinal ganglion nöronlarında ince C liflerinin hasarı sonucu aşırı duyarlılığa sebep olmaktadır (Burchiel vd., 1985). Diyabetik nöropatik ağrıdaki kompleks mekanizma, hem periferik hemde merkezi duyu sistemi ile ilgilidir. Omurilikte diyabetik periferik nöropati sonrası periferik afferent sinirlerde hasarlanma meydana gelmektedir.



Şekil 2.1. Nöropatik ağrı mekanizmaları (Kaynak: Mark, Barry & Michael, 2016).

2.2.2. Diyabetik Nöropati Tanısı ve Sınıflandırması

Diyabetik nöropatide hasarlı alanda hafif bir ağrı yapması beklenen dürtüler abartılı bir yanıtı neden olmaktadır (hiperaljezi). Dokunma gibi normalde zararsız olan dürtüler ağrı olarak algılanmaktadır (allodinia). Tip 2 diyabette en sık görülen nöropati özellikle alt ekstremiteleri etkileyen, periferik, simetrik, sensöryel polinöropatidir. En sık görülen semptomlar, karıncalanma, uyuşma, özellikle geceleri artan yanmalardır. Çoğu zaman aşıl refleksi baştan itibaren alınmaz, vibrasyon duyusu da erkenden kaybolabilir. DPN'de klinik semptomların varlığına, klinik uygulamalara, sinir disfonksiyonu varlığına ve çevresel faktörlerin etkisine göre mutabık kalınan bir tanımlama yapılmıştır. Tanı, diyabet sonucu ortaya çıkan nöropatinin yol açtığı periferik disfonksiyon sonucuna göre konulur. Sınıflandırmalar genellikle elektrofizyolojik, duysal ve otonomik fonksiyon testleri ile yapılmaktadır (Tablo 2.2). Yapılan çalışmalarda, diyabetik hastalardaki polinöropati oranı, tanı koyulmasını takiben ilk yılda %7 olarak bulunurken, 25 yıllık bir izleme sonucu klinik değerlendirme ile bu oran %50'lere kadar ulaşmaktadır. Klinik değerlendirmeye yardımcı olan elektromiyografi gibi tanı metodları eklendiğinde polinöropati oranı %60'lara ulaşmaktadır (Snell, 1992).

İyi tedavi edilmeyen nöropatik ağrı duygudurum ve uyku bozukluklarına yol açmaktadır. Hastaların iş ve sosyal hayatlarında engellere neden olmakta ve hayat kalitelerini düşürmektedir. Bu nedenle toplum sağlığı açısından önemi giderek artmaktadır (Galer, Ganas & Jensen, 2000).

Tablo 2.2. Nöropatinin sınıflandırılması

Akut Duyusal Nöropati: Akut başlangıçlı, şiddetli duysal belirtiler ile karakterize, bacaklarda gece alevlenmesi gibi çeşitli nörolojik bulgular ve ani değişikliklerle seyreder.
Kronik Duyusal DPN: Diyabetten kaynaklanan nöropatinin %50'sini oluşturur. En sık görülen belirtiler yanma, ağrı, elektriklenme, parestezi, hiperestezi, özellikle geceleri alt ekstremitelerde ve nadiren ellerde açığa çıkan ağrı ile karakterizedir. Genellikle alt ekstremitelerde titreme, ağrı ve sıcak/soğuk algılama duyu kaybı gözlenir. Semptomatik olmasada birden fazla test kombinasyonları, klinik muayenede ayak ülseri riski ile %87 DPN tanımlanabilir.
Fokal yada Multifokal Nöropati: Mononöropatiler içerisinde tüm diyabetik nöropatilerin %5.8'ini oluşturur. Median, ulnar (%21), radial (%0,6), kranial nöropatileri (%0.05) içerir. Diyabetik hastalarda ulnar, median, peroneal ve plantar nöropati ortaktır. Elektrofizyolojik çalışmalara göre altta yatan akson dejenerasyonu yada demiyelinizasyondan dolayı sinir iletiminde azalma olmaktadır.
Otonomik Nöropati: Diyabetik hastalarda önemli bir morbidite ve mortalite sebebidir. Otonom disfonksiyon belirtileri (taşikardi, ortostatik hipotansiyon, kabızlık, gastroparezi, motor bozukluklar vs.) ile seyreder.

2.2.3. Diyabetik Nöropatinin Tedavisi

Nöropatik ağrı tanı ve tedavisi son yıllarda klinisyen ve araştırmacıların ilgi odağı olmuştur. Sinir sisteminde oluşan zedelenmeler sonrasında ortaya çıkan ağrı sendromlarının farkına varılması ve nöropatik ağrılı hastaların tedavisinde halen yeterli başarı oranlarına ulaşamamış olması bu ilginin nedenlerindedir (Yücel, 2002).

Diyabetik nöropatinin tedavisi öncelikle diyabetten korumaya yönelik ve semptomatik tedavi olmalıdır. Bu nedenle önce iyi bir glisemik kontrol sağlanmalıdır. Temel yaklaşım diyabetten korunma ve DN'nin ilerlemesinin engellenmesidir. Yapılan çalışmalar, geleneksel tedavi yöntemlerinin DPN'yi ve mikrovasküler hastalık insidansını azalttığını ortaya koymuştur. DPN en sık görülen diyabetik nöropati şeklidir.

Ağrılı DN'de ağrıyı rahatlatmak için aspirin veya kodeinle tedaviye başlanır. Fayda görülmezse antiepileptikler, antidepresanlar, noradrenalin-norepinefrin geri alım inhibitörleri, analjezikler ve opioidler kullanılmaktadır (Lindsay, Rodgers, Savath & Hettinger, 2010; Blackburn-Munro & Blackburn-Munro 2001). Kramplar için diazepam ve kas güçsüzlüğü için fizyoterapi tercih edilebilir (Cecil, 2000; Çorakçı, 1997). Pregabalin, duloxetine, tapentadol Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından nöropatik ağrıdaki kullanımı onaylanan ilaçlardır (Afilalo & Morlion, 2013). Diyabetik nöropati tedavisinde kullanılan ilaçlar Tablo 2.3'de özetlenmiştir.

Tablo 2.3. Nöropatik ağrı tedavisinde kullanılan ilaçlar

Antidepresanlar	Duloxetine, Venlafaxine, Amitriptyline, Nortriptyline, Imipramine, Milnacipran
Antiepileptikler	Pregabalin, Gabapentin, Carbamazepine, Oxcarbamazepine, Sodium valproate veya Valproic asid, Lamotrigine, Lacosamide
Opioidler ve diğer ajanlar	Tapentadol, Oxycodone, Morphine sulfate, Tramadol, Lipoic acid, Capsaicin krem, Lidocaine krem veya yama

2.2.3.1. Nöropatik Ağrıda Antidepresanların Kullanımı

Tarihsel olarak TCAs nöropatik ağrı tedavisinde en çok çalışılan ve en çok kullanılan ilaç grubudur. Nöropatik ağrıda etkili serotonin, noradrenalin gibi biyogenik aminlerin presinaptik olarak geri alımını önlemeleri nedeniyle DPN tedavisinde öncelikli olarak kullanılan ilaçlardır (Max vd., 1992). Ancak tolerasyonu hakkında belirsizlikler devam etmektedir. TCAs sodyum kanallarını bloke etmekte, norepinefrin ve serotonin alımını inhibe ederek bozulmuş sinirlerin uyarılarını engellemek yoluyla ağrı eşiğini yükseltmektedir. TCAs içerisinde amitriptilin ve imipraminin STZ ile indüklenen diyabetik sıçanlarda antiallodinik etkiyi en fazla açığa çıkaran ilaç olduğu gösterilmiştir (Ulugol vd., 2002). TCAs'ın diyabetik nöropati ve

postherpetik nevraljide, ayrıca bıçak saplanır tarzda ağrılarda ve allodinide de etkin olduğu yapılan çalışmalarda ortaya konulmuştur. Ancak yan etki profilinden dolayı tam istenilen düzeyde analjezi sağlanamamıştır. TCAs'ın kısmen sodyum kanal bloke edici etkileri de vardır ve başka nörotransmitter ve reseptörleri (histaminerjik, kolinerjik, adrenerjik) de etkilemektedir. Ancak bu gruptaki antidepresanların aşırı sedasyon yapması, ortostatik hipotansiyon, idrar retansiyonu, ağız kuruluğu, kabızlık ve kardiyak iletim bozukluklarına sebep olması nedeniyle kullanımı sınırlıdır (Sindrup vd., 2005; Cayley, 2006; Ziegler, 2011).

Yeni kuşak antidepresanlardan özellikle SNRI olan venlafaksin ise TCAs'lara göre yan etki profilinin daha az olması ve daha kolay tolere edilebilmesi nedeniyle gerek kanser, gerekse ağrılı diyabetik nöropati tedavisinde kullanılmaktadır(Ray, Meredith, Tahapa, Hall & Murray, 2004).İlacın antinosiseptif etki dozuna antidepresan etki dozundan daha düşük dozda ulaşılmaktadır(Briley, 2004). SSRI'leri arasında yer alan fluoksetin, paroksetin ve sitalopram ile yapılan çalışmalarda SSRI grubu ilaçların TCAs'ye göre etkilerinin çok daha zayıf olduğu gösterilmiştir. Bir diğer SNRI antidepresan olan duloksetine de ağrılı diyabetik nöropatide FDA(Food and Drug Administration) onayı almıştır. Monoaminerjik nörotransmitterler, beyin sapından köken alan ve medulla spinalis arka boynuza inen "inhibitör ağrı yollarında" rol almaktadırlar. Bunların geri alımlarının bloke edilmesi ağrı iletimindeki inhibisyonu arttırmaktadır. Ayrıca voltaja bağlı sodyum kanalları ve alfa-adrenerjik reseptörleri de bloke etme yoluyla ağrı tedavisinde etkili olurlar (Sindrup vd., 2005; Cayley, 2006).Duloksetin de selektif SNRI bir antidepresandır (Wernicke vd., 2006). Depresyon tedavisinin yanısıra inatçı kronik ağrı tedavisinde ve Diyabetik Periferik Nöropatik Ağrı (DPNP) tedavisinde etkilidir (Ahmad & Goucke, 2002).

Antidepresanların analjezik etkinliğinde nuclei raphe ve inen monoaminerjik ağrı kontrol sistemindeki blokaj etkileri önemli rol oynamaktadır (Milan, 2006; Mico, Ardrid, Berrocoso & Eschalier, 2006).Son zamanlarda tedavideanaljezi potansiyeli olan ikili antidepresan kombinasyonları da kullanılmaktadır (Briley, 2004).

2.2.3.2. Nöropatik Ağrıda Antikonvülzanların Kullanımı

Antikonvülzan ilaçların ağrı tedavisindeki etkinliğinin de uzun bir geçmişi vardır (Blom, 1962). Bu gruptaki ilaçlar, nöropatik ağrı başta olmak üzere çeşitli ağrı durumlarında kullanılmaktadır. Antikonvülzan ajanlar karbamezapin ve fenitoin, trigeminal nevralji tedavisinde ilk kez kullanılan ilaçlardır.Primer etkileri; kalsiyum kanal blokajı, glutamat antagonizmi, NMDA reseptörlerinde artış sağlaması (Chen, Samoriski & Pan 2009; Zhou, Chen & Pan, 2011) ve γ aminobütirik asit (GABA) aktivitesini yoğunlaştırması olarak sıralanabilir (LaRoche&Helmers, 2004). Bu ilaçların bir kısmının hasarlı sinir sonlanmalarından ve spinal ganglionlardan çıkan ektopik deşarjları sodyum kanal blokajı yoluyla azalttığı gösterilmiştir.Plasebo kontrollü yapılan çalışmalarda antiepileptik ilaçların ağrıyı gidermedeki etkinliği gösterilmesine rağmen etkinliği

konusunda soru işaretleri devam etmektedir (Eisenberg, Lurie, Braker, Daoud & Ishay, 2001).Nöropatik ağrıda antikönvülzan kullanımına dair yapılan çalışmalarda karbamazepin ve okskarbazepinin sodyum kanallarında yenilenme hızını düşürerek zayıf L tipi kalsiyum kanal antagonist etki ortaya çıkardığı ve NMDA yanıtlarını inhibe eden bir mekanizma ortaya çıkardığı düşünülmektedir (Mc Quay, Carrol, Jajad, Wiffen & Moore,1995).

Bir GABA analogu olan pregabalin ise kimyasal olarak gabapentine benzeyen,fakat tolerabilitesi ve etkinliği daha yüksek olan analjezik ve anksiyolitik etkili bir ilaçtır. Pregabalinin dorsal boynuzda nörotransmitterlerin salınımını inhibe ettiği bilinmektedir (Sills, 2006).Gabapentin ile karşılaştırıldığında verildiği dozda kana geçişi açısından ve daha uzun yarı ömürlü olması açısından avantajlıdır (Blommel&Blommel, 2007).

2.2.3.3.Nöropatik Ağrıda Opioidlerin ve Diğer Ajanların Kullanımı

Opioidler tedaviye dirençli nöropatik ağrılarda alternatif ilaç grubu olarak kullanılmaktadır. Geleneksel olarak opioidler akut, nosiseptif ve enflamatuar ağrılarda etkin olup, nöropatik ağrılarda uzun dönemde bağımlılık açısından risk oluşturabilme ihtimalinden dolayı yaygın olarak kullanılmamaktadır. Zayıf bir opioid olan tramadol opioid reseptörlerine zayıf bağlanarak, serotonin ile norepinefrin geri alım inhibisyonu yapar, iyi tolere edilir, yan etki profili ve bağımlılık yapma olasılığı düşüktür. Bu nedenle nöropatik ağrıda en çok tercih edilen zayıf opioid olarak bilinir. Kansere bağlı nöropatik ağrılarda, medulla spinalis hasarlarında, multipl skleroza bağlı nöropatik ağrılarda, postherpetik nevraljide ve kompleks bölgesel ağrı sendromunda etkili oldukları düşünülmektedir. Türkiye'de bulunmayan bir ilaç, metadon ise uzun etkili bir opioid olması yanında NMDA reseptör blokajı yapması ve serotonin ile norepinefrin geri alım inhibisyonu yapabilme özellikleri nedeniyle dirençli nöropatik ağrılarda kullanılabilir (Colombo& Annovazzi, 2006; Eisenberg, McNicol & Carr, 2005).

STZ ile indüklenen diyabet modelinde morfinin ısıya bağlı allodiniyi azalttığı, μ opioid reseptör alt tipine zayıf şekilde bağlanarak ağrıyı ileten uyarıların beyine iletilimini bloke ettiği bilinmektedir. Morfinin DN'de glial modülasyon üzerindeki etkisinin analjeziye yol açtığı gösterilmiştir (Williams, Haller, Stevens & Welch, 2008).

Lidokain,DPN tedavisinde FDA tarafından onaylanmış bir ilaçtır.Lidokainin hasarlı sinir sonlanmalarından ve ganglionlardan çıkan ektopik deşarjları sodyum kanal blokajı yoluyla azalttığı gösterilmiştir.Yapılan kontrollü çalışmalarda lidokainin iyi tolere edilebildiği ve nöropatik ağrıda pregabalin kadar etkili olduğu ortaya çıkmıştır(Baron vd., 2009).

Antioksidan alfa lipoik asitler nöropatik ağrı gibi duyuşal bozuklukları engellemektedir.Alfa-lipoik asitin endonöral kan akımını zenginleştirdiği ve

sinir hücrelerindeki serbest oksijen radikallerini azalttığı gösterilmiştir(Michelle, Kaku, Aaron, David & Simpson, 2015).

Topik ajanlardan Fenitoin etkisini sodyum kanallarını bloke ederek gösterir. Yapılan bir çalışmada fenitoinin nöropatik ağrı ataklarını azalttığı ve ağrı liflerinin nöronal uyarılabilirliğini sağladığı düşünülmektedir (Mc Quay, Carrol, Jajad, Wiffen & Moore, 1995). Ancak günümüzde kronik nöropatik ağrılar için fenitoin kullanımı yan etkilerinden(sedasyon ve motor bozukluk vb.) ve kompleks farmakokinetik profilinden dolayı sınırlıdır.

Agomelatin, 2000'li yılların ortalarında Fransa'da Servier Araştırma Enstitüsü'nde sentezlenmiştir. Pineal bezde sentezlenip salıverilen melatonin hormonunun analogudur (Tinant vd., 1994).Agomelatin diğer antidepressan ilaçlardan farklı olarak tümüyle yenilikçi bir reseptör profiline sahiptir. Melatonin, merkezi sinir sistemi (MSS)'nde etkilerini G proteinine bağlı membran reseptörleri olan MT1 ve MT2 reseptörleri üzerinden oluşturmaktadır(Maldonado, Reiter & Perez, 2009).Agomelatin aynı zamanda 5-HT2c üzerine de antagonistik etki yapmakta ve böylece bu reseptörün frontokortikal noradrenerjik ve dopaminerjik salınımı üzerindeki inhibisyonunu ortadan kaldırarak nörotransmitterlerin salınımına yol açmaktadır (Millan vd., 2003). Bu yüzden agomelatin noradrenalin-dopamin disinhibitörü olarak adlandırılmıştır(Stahl, 2007).

2.2.4. Deneysel Diyabetik Nöropati Modelleri

Deneysel çalışmalarda kullanılan ilk ağırlı nöropati modeli, nervus ischiadicus ve saphenus'un tam seksiyonu ile oluşturulmuştur. Hayvan modelleri periferik veya santral sinir sistemi hasarını takiben gelişen nörolojik disfonksiyon mekanizmalarının kavranmasında yardımcıdır. Söz konusu araştırmalar sinir hasarına bağlı gelişen nöropatik ağrı modellerinin yanısıra, pro-inflamatuar sitokinlerin enjeksiyonu ile oluşturulan ağrı modellerinin nöropatik ağrı ile ilişkilerinin irdelenmesi gibi mekanizmaya yönelik bilgileri de içerir. Hayvan araştırmalarında sürdürülen nöropatik ağrı modelleri total ve parsiyel denervasyon, merkezi sinir sistemi ve sistemik ilaç uygulamaları ile geliştirilen modeller olarak sınıflandırılabilir. Total ve parsiyel denervasyon ile oluşturulan nöropatik ağrı modellerinde sıklıkla sıçan veya fareler kullanılır. Bu modellerde etkilenen arka pençeyi sallama ve sık yalama gibi spontan ağrıyı işaret eden davranışlar, beraberinde cinsel istekte azalma ve kilo kaybı gibi belirtiler görülür. Isıya ve mekanik uyarılara karşı hiperaljezi ortaya çıkar. Spinal sinir ligasyonu modelinde ise genellikle sıçanlarda lumbar spinal sinirlerin bir veya iki tanesi, dorsal spinal kökten çıktığı bölümün distalinde sıkıca bağlanır. Otonomi haricinde nöropatik ağrının diğer davranışsal belirtileri bu modelde de görülür. Hayvan modellerinde genellikle sıçanlar kullanılmasına karşın, özellikle genetiği değiştirilmiş fare modelleri de deneylerde tercih edilebilmektedir. Maliyetleri ve üretim koşullarının kolaylığı da denek olarak seçilmesinde önemli bir etkidir (Sommer& Schafers, 1998; Petrenko, Yamakura, Baba & Sakimura, 2003).

Santral sinir sistemine veya sistemik dolaşıma ilaç uygulanarak geliştirilen nöropatik ağrı modelleri de sıklıkla tercih edilmektedir. Stereotaksi yöntemiyle santral sinir sisteminin motor alanlarına çok az hacimde penisilin, tetanoz toksini, kobalt, alüminyum oksit, striknin gibi maddelerin enjeksiyonu ile çeşitli nöropati modelleri geliştirilmiştir. Ayrıca sıçanlarda tek doz subkutan STZenjeksiyonu, pankreas beta hücrelerini geri dönüşümsüz olarak zedeleyerek, allodini ve hiperaljezi ile seyreden diyabetik nöropati bulgularına yol açmaktadır (Chen, Samoriski & Pan, 2009). Farelerde lumbur bölgedeki cornu dorsalis'te glutamerjik eksitotoksisite oluşturan allodini metodu da kullanılabilir (Kartal & Özyalçın, 2004).

Yapılan birçok çalışmada, tek doz STZ uygulaması, erken dönemde allodini ve hiperaljezi oluşturmaya nedeniyle en çok kullanılan yöntemdir. Diğer hayvan modellerinde nöropatik ağrı oluşumu yetersiz kalabilmektedir (Yamamoto vd., 2009). Bu nedenle diyabetik nöropatik ağrıda antidepresanların etkinliğinin araştırıldığı çalışmalarda, STZ ile indüklenen Tip 1 diyabet modeli sıklıkla kullanılan ve etkinliği kanıtlanmış bir modeldir.

2.3. Ağrının İletim Mekanizmaları

Ağrı duyusuna ait duyu organları vücudun hemen tüm noktalarında yer alan çıplak sinir uçlarıdır ve bunlara "nosiseptör" denir. Nosiseptörün yanıt özelliklerine bağlı olarak, omuriliğe doğru bir yayılım oluşur. Medulla spinalis'te oluşan değişiklikler, üst merkezlere iletilerek orada değerlendirilir ve ağrı olarak algılanır (Ganong, 1999).

Koku dışındaki bütün uyarıların kuvvetli olanları ağrı oluşturabilir. Bu uyarılar, mekanik, kimyasal ya da termal olabilirler. Birçok ağrı tipi primer afferent nöronların özellikle C lifli polimodal nosiseptörlerin uyarılması ile başlar. Ancak nosiseptör aktivasyonu sürecinde başka etkenler de işin içine girer. Örneğin cildin çizilmesi bu bölgede enflamatuvar süreçleri de başlatır ve buna bağlı çeşitli maddeler salgılanır. Normal koşullarda mekanik, termal ve kimyasal uyarılar yüksek eşik değerdeki nosiseptörleri harekete geçirirler. Klinikte ise ağırlı uyarı, travma ve doku harabiyetine bağlıdır. Doku harabiyeti enflamasyona ve dolayısı ile nosiseptörlerin daha fazla uyarılmasına yol açar.

Ağırlı uyarı üst merkezlere doğru dört aşamalı bir yol izler. Bu aşamalar aşağıdaki gibi sıralanabilir:

- a.) **Transdüksiyon:** Bir enerjinin başka bir enerjiye dönüşmesidir. Örneğin sıcak bir uyarının ağırlı bir hale geçebilmesi için belirli bir derecenin üzerine çıkması gerekir. Nosiseptörler normal bir ısıya karşı duyarsız kalırken, ısının artışı ile duyarlı hale geçerler.

b.) Transmisyon:Nosiseptörler tarafından algılanan ağrı bilgisinin daha üst merkezlere doğru iletilmesidir. Bu iletimde miyelinli A-delta lifleri ve miyelinsiz C lifleri etkin rol üstlenirler. Miyelinli A-delta lifleri hızlı ileten, senstilizasyona açık, termal ve mekanik uyarılarla uyarılan liflerdir. Miyelinsiz C lifleri ise polimodal özellikte, her türlü uyarana karşı duyarlılık gösteren, yavaş ileten liflerdir. Diğer sinir lifleri de çeşitli biçimlerde ağrılı uyarının iletimine katılırlar.

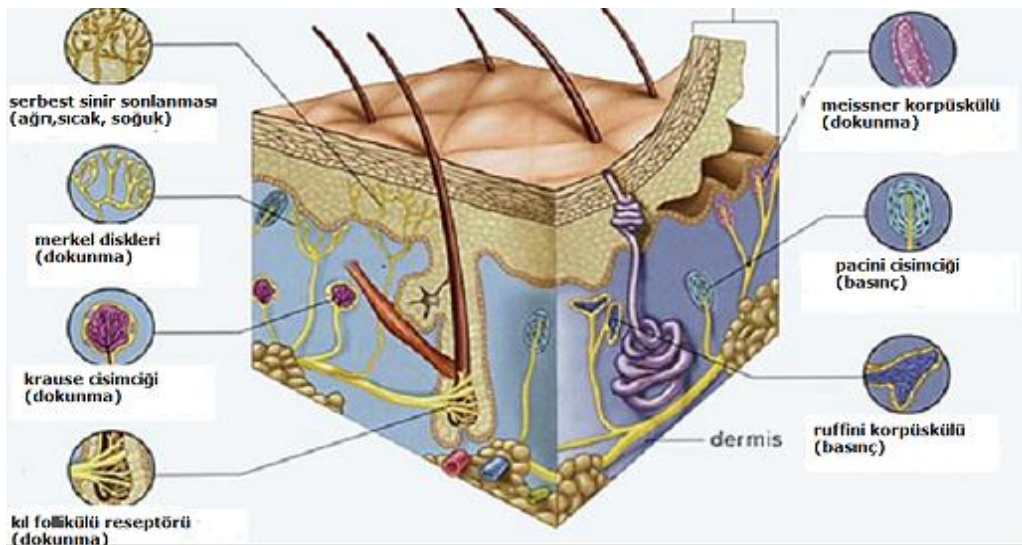
c.) Modülasyon:Başlıca omurilik seviyesinde oluşan bir olaydır.Geçmişte medulla spinalis sadece ara bir durak olarak kabul edilirdi. Ancak 1965 yılında Melzack ve Wall tarafından ileri sürülen kapı-kontrol teorisi ile ağrılı uyarının omurilikte ciddi engel ile karşılaştığı ortaya çıkmaktadır. Ağrılı uyarın, spinal kord düzeyinde bir değişime uğramakta ve bu değişimsonucunda daha üst merkezlere iletilmektedir (Melzack&Wall, 1965).

d.)Persepsiyon:Omurilikten geçen uyarın çeşitli yollar aracılığı ile üst merkezlere doğru iletilir ve ağrının algılanması, persepsiyon, gelişir.

2.3.1. Reseptörlerin Sınıflandırılması

Reseptörlerin fonksiyonu stimulus enerjisini elektriksel enerjiye çevirmek ve stimulus hakkındaki bilgiyi Santral Sinir Sistemi'ne (SSS) iletmektir.Kapsülle sarılı olmayan serbest sinir sonlanmaları vücutta yaygın olarak bulunmaktadır.Bu sonlanmaların büyük bir kısmı ağrı duyusu ile ilgilidir. Diğerleri ise hafif dokunma, basınç, gıdıklanma duyusu ve muhtemelen soğuk ve sıcak duyuları ile ilgilidir.

Serbest sinir sonlanmalarından gelen afferent sinir lifleri miyelinli veya miyelinsiz olabilmektedir. Terminal uçlarında miyelin kılıfı bulunmayan aksonlarda Schwann hücreleri mevcut değildir.



Şekil 2.2. Duyu reseptörleri tipleri(Kaynak: www.biyolojisesitesi.net).

Duyusal reseptörler fonksiyonel olarak 5 grupta incelenmektedir:

- 1.) Mekanoreseptörler:** Bir cismin deriye değmesi veya bastırılması gibi mekanik uyarılara yanıt verirler. Sağlı deride yer alan kıl folikülleri ve saçsız derideki Meissner cisimcikleri veya derialtı dokusunda yer alan Pacini cisimciklerini içermektedir. Dokunma bilgisi hem leminiscal, hem de anterolateral yollardan iletildiğinden ancak yaygın hasarlanmalar dokunma duyusunu tamamı ile ortadan kaldırabilir.
- 2.) Termoreseptörler:** Derideki sıcağa ve soğuğa duyarlı yavaş uyum gösteren reseptörlerdir. Soğuk A-δ lifleri tarafından, sıcak C lifleri tarafından algılanır. Bu afferentler bilgiyi tr. spinothalamicus lateralis aracılığıyla gyrus postcentralis'teki primer duyu merkezine iletirler.
- 3.) Nosiseptörler:** Organizmayı tehdit veya tahrip eden uyarılara yanıt verirler. A-δ mekanik nosiseptörler ve C-polimodal nosiseptörler olmak üzere iki gruba ayrılır. A-tipi mekanik nosiseptörler, ince miyelinli afferent liflerle taşınan iğne batması gibi güçlü mekanik uyarılara yanıt verirler. C-polimodal nosiseptörler ise miyelinsiz liflerle noksiyoz, kimyasal, termal ve mekanik uyarıları taşırlar.
- 4.) Kemoreseptörler:** Kimyasal değişikliklere karşı hassas reseptörlerdir. Tat ve koku duyuları ile kandaki oksijen, karbondioksit, su ve glikoz konsantrasyonu değişikliklerini alırlar.

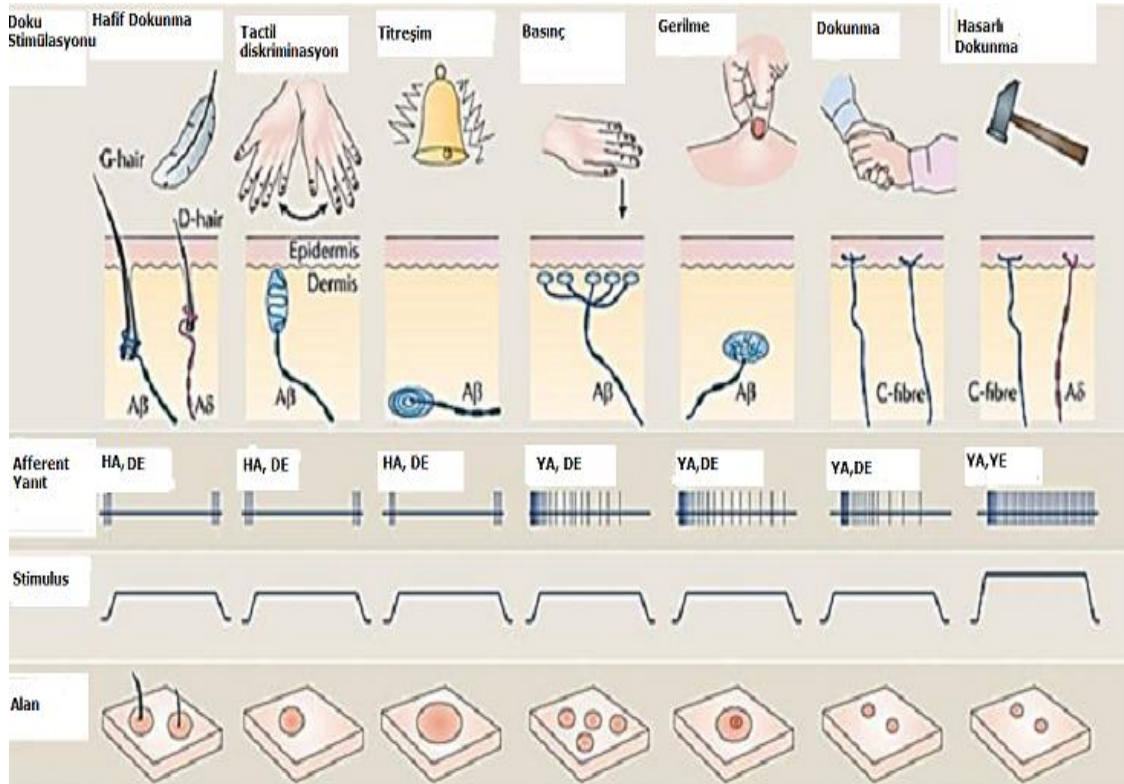
Duyusal sinir sonlanmaları anatomik olarak, bir kapsül ile sarılı olmayan ve bir kapsül ile sarılı olan reseptörler olmak üzere 2 grupta incelenmektedir (Şekil 2.3). Reseptörlerin tipleri Tablo 2.4'de sınıflandırılmış ve duyu modaliteleri bakımından farklılıkları karşılaştırılmıştır (Arıncı & Elhan, 2009; Berne, Levy, Kooppen & Stanton, 2008; Snell, 1992).

2.3.2. Duyu Ganglionlarındaki Nöronların Sınıflandırılması

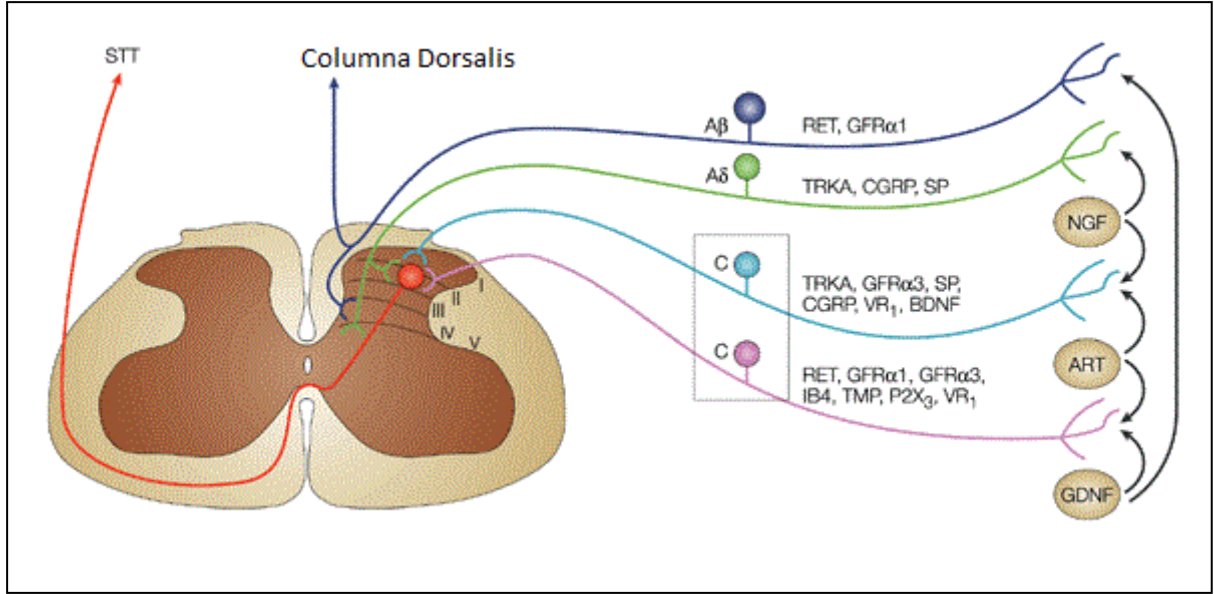
Medulla spinalis'den çıktıktan sonra columna vertebralis'deki foramen intervertebrale'lerden geçen otuzbir çift spinal sinir vardır. Her bir spinal sinir medulla spinalis'e radix anterior ve radix posterior kökleri vasıtasıyla bağlıdır. Radix anterior, sinir impulslarını MSS'nden uzaklaştıran efferent lifleri içerirken; radix posterior, sinir impulslarını MSS'ne taşıyan afferent liflerden oluşmaktadır (Snell, 1992). Bu liflerin hücre gövdesi arka kök üzerinde yer alan ganglion spinale'de bulunmaktadır (Şekil 2.4). Arka kök ganglionlarında yerleşim gösteren nöronlar, gelişimsel evreleri esnasında hayatta kalmak için bağımlı oldukları nörotrofik faktörlerden, eksprese ettikleri nöropeptidlere, taşıdıkları duyu modalitelerden, projekte oldukları omurilik laminalarına varıncaya kadar pek çok farklı kategoride farklılıklar göstermekte ve tüm bu özelliklerine göre gruplanabilmektedirler (Scott, 1992).

Tablo 2.4. Duyu reseptörlerinin sınıflandırılması(Snell, 2010).

Reseptörlerin anatomik tipleri	Lokalizasyon	Duyusal Modalite	Sinir Lifleri
KAPSÜL İLE SARILI OLMAYAN RESEPTÖRLER			
Serbest Sinir Sonlanmaları	Epidermis, cornea,bağrsak,dermis,ligamentler, kemik,dişeti	Ağrı(hızlı), Ağrı(yavaş), Dokunma(kaba), Basınç,Sıcak,Soğuk	A- δ ve C
Merkel Diskleri	Kılız deri	Dokunma	A- β
Kıl Folikülü Reseptörleri	Kıllı deri	Dokunma	A- β
KAPSÜL İLE SARILI OLAN RESEPTÖRLER			
Meissner Cisimciği	Avuç içi derisi ve ayak tabanı derisinin dermal papillaları	Dokunma	A- β
Pacini Cisimciği	Dermis,ligamentler, eklemkapsülleri, periton, dış genital organlar	Hızlı	A- β
Ruffini Cisimciği	Kıllı derinin dermisi	Gerilme	A- β
Nöromuskuler İçcikler	İskelet kası	Gerilme	A- β , A- α
Nörotendinöz İçcikler	Tendonlar	Basınç-kas gerginliği	A- α



Şekil 2.3. Duyu nöronlarının fonksiyonel olarak gruplandırılması. HA=Hızlı adapte olan, YA=Yavaş adapte olan, YE=Yüksek eşik değerli, DE=Düşük eşik değerli nöronlar(www.humanneurophysiology.com/receptors.htm)



Şekil 2.4. Ganglion spinaledeki nöronların alt grupları (Dinah, W.Y. Sah., Michael, H. Ossipo& Frank, Porreca, 2003).

2.3.3. Sinir Lifi Tiplerinin Sınıflandırılması

Sinir liflerinin çapları 0.2 ile 20 μ arasında, iletili hızları da 0.5 ile 120 m/sn arasında değişmektedir (Şekil 2.5). Hızlı ağrı, periferik sinirlerden geniş çaplı A- δ aksonları ile 6-30 m/sn hızla iletilir. Yavaş ağrı sadece dar çaplı C lifleriyle 0.5-2 m/sn hızla iletilir.

	Aα GRUP I	Aβ II	Aδ III	C IV
ÇAP	13-20	6-12	1-5	0.2-1.5
HIZ	80-120	35-75	5-30	0.5-2
DUYUSAL RESEPTÖRLER	PROPRİOSEPTİFLER İSKELET KASI/	MEKANO RESEPTÖRLER	AĞRI ISI	AĞRI ISI DOKUNMA

Şekil 2.5. Sinir lifi tiplerinin sınıflandırılması (Mark, Barry&Michael, 2016).

Her iki lif grubu da cornu posterior'da sonlanmaktadır. A- δ lifleri birincil olarak lamina I ve V'deki nöronlar üzerinde sonlanırken, C lifleri lamina I ve II'deki internöronlarda sonlanmaktadır. Bu iki laminaya "substansia gelatinosa" denir (Guyton & Hall, 1996; Snell, 1992). Bu laminalardaki nöronların aksonları, ağrı duyusu ile ilgili impulslar spinothalamicus lateralis ve tr. spinoreticularis aracılığı ile üst merkezlere iletilirler.

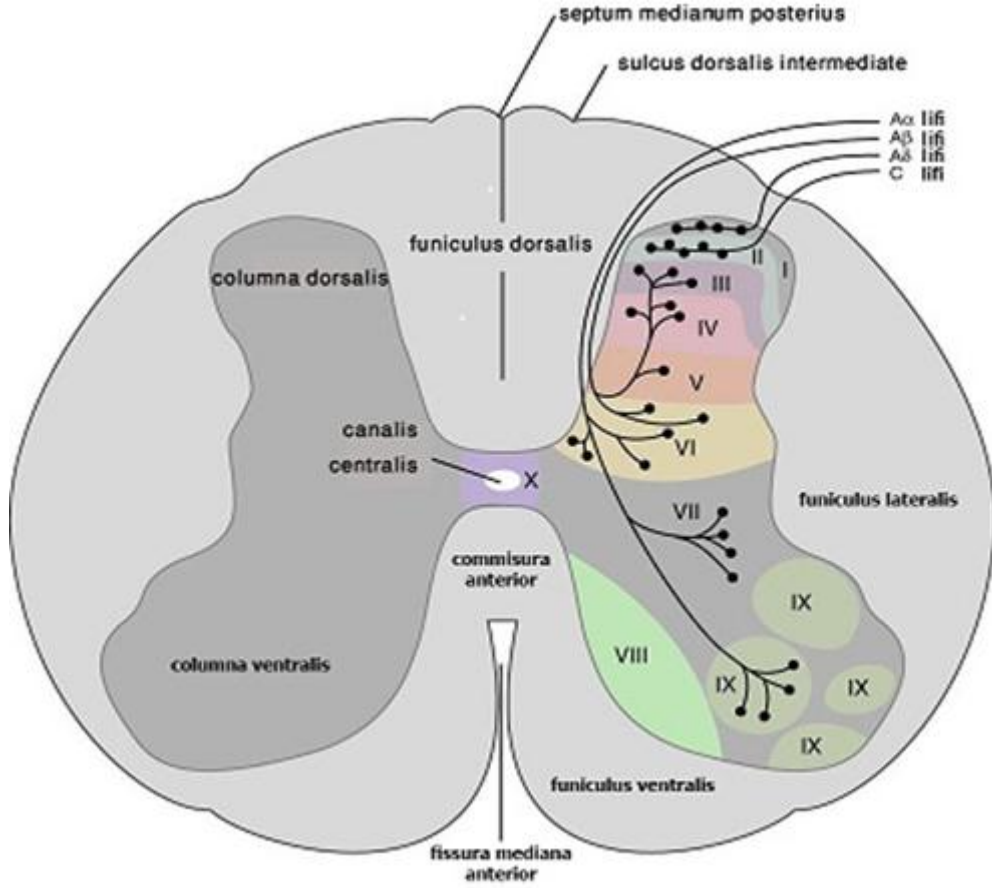
Erlanger ve Gasser, memeli sinir liflerini A,B ve C gruplarına ayırarak sınıflandırmışlardır. A grubunu da daha sonra alfa(α), beta(β), gama(γ) ve teta(δ) lifleri olarak isimlendirmişlerdir. (Erlanger&Gasser, 1968). Dikkatle yapılmış arka kök kesileri ve transgenik hayvanlarda gözlenen nöronal kayıpların ve nörolojik kusurların histolojik değişikliklerle karşılaştırılması sonucunda, nöronların ve aksonlarının her grubun ait morfolojik ve işlevsel karakteristikler belirlenmiştir (Ganong, 1999). Buna göre sinir lifinin çapı arttıkça iletim hızı da artmaktadır. A tipi lifler spinal sinirlerin tipik miyelinli lifleridir.C tipi lifler ise ince, miyelinsiz liflerdir ve impulsları düşük hızda iletilirler. Bu lifler periferik sinirlerin çoğunda duyusal liflerin yarısından fazlasını oluşturduğu gibi, otonomik postganglioner liflerin de tamamını oluşturmaktadırlar. A-delta lifleri ile ileti gerçekleştiğinde ağrı ani ve erken olarak algılanır.

Ağrılı uyarılara bağlı olarak etkilenen bölgedeki dokularda hücre bütünlüğü ve permeabilitesi bozulur ve hücre yıkımı oluşur. Bradikinin oluşumunu sağlayan öncül maddeler hücre dışına çıktığında nosiseptörler doğrudan aktive olur. Bradikinin aynı zamanda vazodilatasyon yapar ve prostaglandin oluşumuna katkı sağlar. Prostaglandinler, hem nosiseptör duyarlılığını artırır, hem de vazodilatasyon yaparlar. Trombosit kaynaklı serotonin salgılanır, nosiseptörleri doğrudan aktive ettiği gibi, prostaglandin salınmasınakatkıda bulunur. Hücre içi potasyum iyonları dışarı çıkar, nosiseptörleri aktive eder. Substance P (SP), nörokinin-A gibi taşıkininler, kalsitonin-jeni ile ilişkili peptid (CGRP), ödem ve enflamasyonu tetikler, vazodilatör etki yaparlar. SP'nin mast hücrelerini etkilemesiyle histamin desalgılanır (Ertekin, 1993).

2.3.4. Omurilikteki Laminaların Organizasyonu

Medulla spinalis'in substantia grisea'sında yerleşen nöronlar Nissl veya alternatif tekniklerle boyandıklarında, genellikle gruplar halinde bir arada toplandıkları görülmüştür. Bu nöron grupları romen rakamları ile belirtilen 10 adet laminadan oluşturmaktadır. Bunlara "Rexed Laminaları" adı verilmektedir (Coggeshall, Reynolds&Woolf,1991).Golgi tekniği ile boyanan nöronların detaylı mikroskobik yapıları ve projeksiyonları incelendiğinde omurilikte bulunan on adet farklı lamina olduğu gösterilmiştir. Bu laminaların lokalizasyonları Şekil 2.6'da gösterilmiştir.

Omurilik laminaları ve buralarda bulunan nöronların fonksiyonel özellikleri şu şekildedir:



Şekil 2.6. Omuriliğin laminar organizasyonu (Netter, 2016)

Lamina spinalis I: İnce görünümünden dolayı beyaz cevher ile karıştırılabilir. Alternatif isimlendirilmesi lamina marjinalis'tir. Buraya hem ikinci laminadan hemde arka kökten lifler tr. dorsolateralisten geçerek gelir. Karşı taraf tr.spinothalamicus liflerinin bir kısmı buradan çıkarak ısı duyusunu taşır.

Lamina II (substantia gelatinosa):Bu laminada tr. reticulospinalis'in lifleri ile arka kökün basınç, temas, ağrı ve ısı duyusu taşıyan lifleri sonlanır. Bu laminadaki hücrelerden çıkan aksonlar tr. dorsolateralis ve funiculus lateralis içinde inen ve çıkan dallarına ayrılarak verdiği kollaterallerle dört medulla spinalis segmentinin I., II., III., IV. laminalarında sonlanır. Buradan çıkıp yukarıya doğru uzanan lifler tr. spinothalamicus içinde seyreder.

Lamina III: Burada II. laminaya göre daha fazla arka kök lifleri sonlanır. Buradaki hücrelerin dendritleri I. ve II. laminaya; aksonları III. ve IV. laminada pleksuslar oluşturur. Buradaki hücreler ara nöron görevi görmektedir.

Lamina IV:Buradaki hücrelerin dendritleri yukarı doğru II. laminaya uzanır. III. ve IV. laminalardaki hücreler, nuc. proprius'a uymaktadır. Proprioseptif duyuların bir kısmı burada sonlanır. Buradan çıkan liflerin bir kısmında orta hattı çaprazlayarak tr. spinothalamicus içinde thalamus'a uzanır.

LaminaV:Liflerin bazılarıII. laminaya uzanır. Özellikle tr. corticospinalis'in liflerinin çoğu V., VI., VII. laminalarda sonlanır. Burada bulunan birçok hücrenin aksonu orta hattı geçip karşı taraf tr. spinothalamicus'un liflerini oluştururlar.

LaminaVI:Sadece intumescentia cervicalis ve lumbosacralis'te arka boynuzun taban kısmında yer alır. Buradaki hücre grubu nüc. centrobasalis'den çıkan lifler çapraz yapmadan cerebellum'a gider.

LaminaVII:VII. lamina ara nöron görevi gören hücrelerden oluşur. Bu bölüme substantia (grisea) intermedia veya zona intermedia da denir.

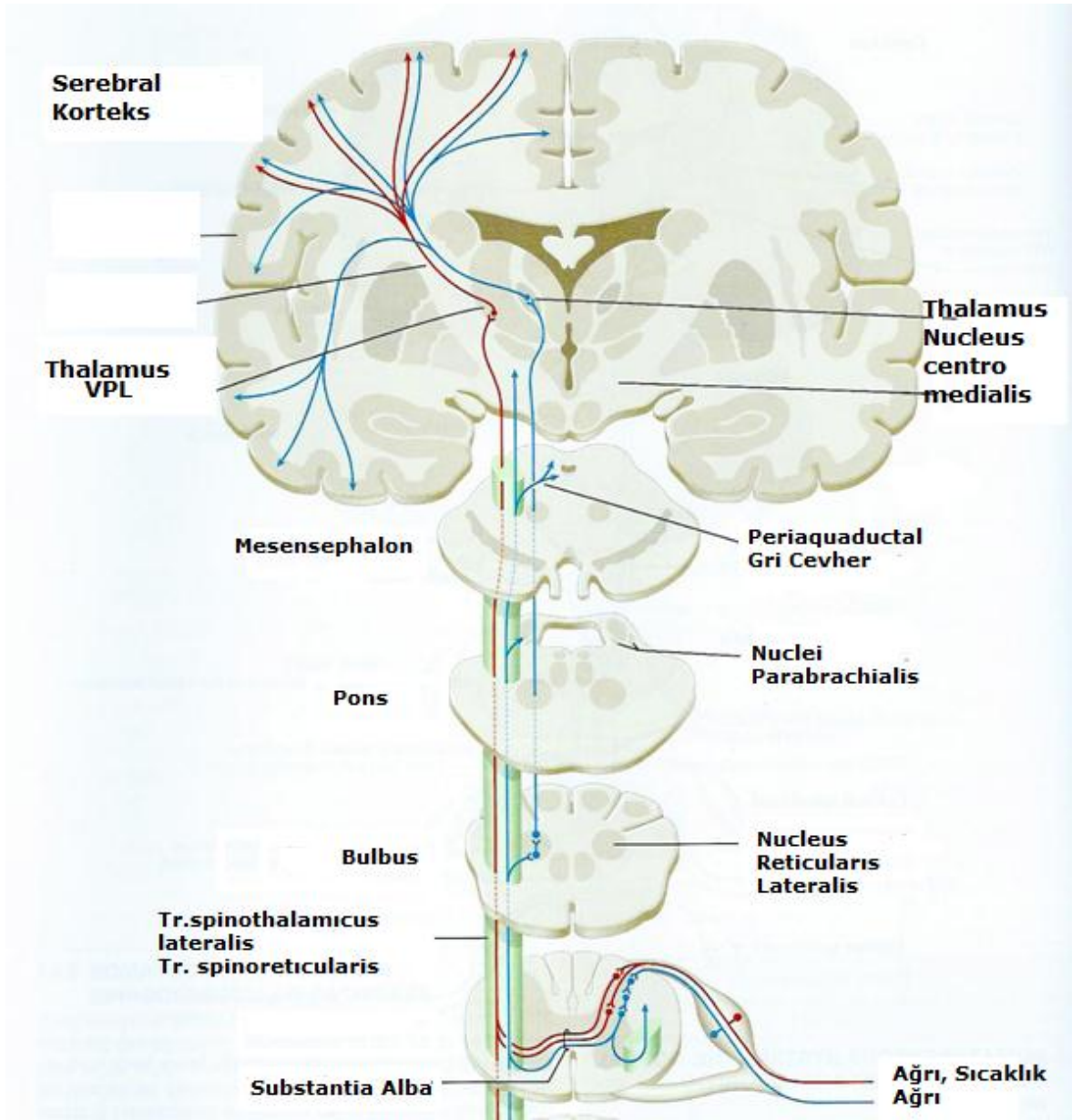
LaminaVIII:Ön boynuzun tabanında yer alır ve tr. reticulospinalis ve tr. vestibulospinalis'in liflerinin büyük bir kısmı burada bulunur.

LaminaIX: VII. ve VIII. lamina içinde piramidal yolların 2. nöronları bulunur.

LaminaX: Canalis centralis'in etrafında bulunur. Commissura grisea anterior, posterior ve substantia gelatinosa'dan oluşur.

2.3.5. Ağrının Kortikal Merkezlere Taşınması

Traktus spinotalamicus anterior hafif dokunma ve basınç duyularını, tractus spinotalamicus lateralis ise ağrı ve ısı duyusunu iletmektedir. Tr. spinothalamicus lateralis, ağrı duyularını taşıması nedeniyle klinik açıdan daha önemli bir yoldur. Deri ve diğer dokulardan aldığı ağrı ve ısı duyusunu 3 nöron vasıtasıyla beyine iletir. Birinci nöronun hücre gövdesi ganglion spinale'de bulunur. Arka kökle medulla spinalis'e giren 1. nöronun santral uzantısı, tr. dorsolateralis (Lissauer)'de inen ve çıkan dallarına ayrılarak 1-2 segment uzanır. Daha sonra gri cevhere arka boynuzdan girerek substantia gelatinosa (Rolando)'da (II. lamina) sonlanır (I., IV. ve V. laminalarda). Commissura alba ve grisea anterior'dan karşı tarafa geçer. Ağrı iletiminde rol alan lifler, omurganın funiculus anterior bölümünde, traktus spinocerebellaris'in iç tarafında lokalizedir. Ancak omurgadaki segmentler ve laminalar arasında ipsilateral küçük projeksiyonlar olabilir. Çapraz yapan spinothalamic aksonlar, funiculus lateralis'te tr. spinothalamicus lateralis yoluyla thalamus'a projekte olur. Spinotalamik aksonlar alt beyin sapına ulaştığında, lemniscus medialis'teki aksonlar anterior yoldan, lemniscus spinalis'teki aksonlar ise lateral yoldan devam eder. Spinotalamik yoldaki liflerde somatotopik bir organizasyon vardır. Çapraz yapan lifler hem traktusda, hem de segmental laminalarda daima derindedir. Daha alt segmentlerde lifler daha uzun ve yüzeysel yerleşimlidir. Sarmal şekilli, küçük olarak tanımlanan lifler ise daha arkada ve yüzeyledir. Benzer şekilde ısı duyusu ile ilgili lifler, genellikle ağrı duyusu ile ilgili liflere göre daha arkadadır. Ağrı ile ilgili liflerin çoğu thalamus'un nucleus ventralis posterolateralis'inde sonlanır. Buradan başlayan 3. nöron aksonu, capsula interna'nın crus posterius'u ve corona radiata'dan geçerek (tr. thalamocorticalis) gyrus postcentralis'e ulaşır. Ağrı ve ısı duyusu lemniscus spinalis yoluyla mesencephalon'a da taşınmaktadır. Yanık ağrısı ise formatio reticularis aracılığı ile tüm sinir sistemine iletilir (Arıncı& Elhan, 2009).



Şekil 2.7. Ağrı yollarının şematik görünümü (Netter, 2016)

3-GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmamızda Spraque-Dawley ırkından erişkin, erkek sıçanlar kullanıldı. Deney hayvanları Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıbbi ve Cerrahi Araştırma Merkezi (TİCAM)'nden temin edildi. Deneylerde kullanılan hayvanlar 12 saat karanlık 12 saat aydınlık döngüsünde, 24 ± 1 °C sıcaklıktaki iyi havalandırılan odalarda tutuldu. Deneyler süresince hayvanlara su ya da yem kısıtlaması uygulanmadı.

Deneyler Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı'nda yapıldı. Hayvanlara yapılacak uygulamalar için ESOĞÜ-Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (HADYEK)'nden 25.07.2013 tarihinde 352 dosya numarası ile etik kurul onayı alındı.

3.2. Deney ve Kontrol Gruplarının Oluşturulması

Deneylerde kullanılan hayvanlar vücut ağırlıkları tartılarak (Tablo 3.1.) her grupta 8 adet olmak üzere aşağıdaki gibi 4 gruba ayrıldı:

- 1.) Kontrol (normoglisemik) grubu: İntraperitoneal olarak sitrat tamponu enjekte edilen ve enjeksiyondan 4 hafta sonra 14 gün süre ile oral gavaj ile serum fizyolojik uygulanan grup,
- 2.) DM (hiperglisemik) grubu: İntraperitoneal olarak STZ enjekte edilen ve enjeksiyondan 4 hafta sonra 14 gün süre ile oral gavaj ile serum fizyolojik uygulanan grup,
- 3.) DM+Ago. 40 grubu: İntraperitoneal olarak STZ enjekte edilen ve enjeksiyondan 4 hafta sonra 14 gün süre ile oral gavaj ile 40 mg/kg agomelatin uygulanan grup,
- 4.) DM+ Ago. 80 grubu: İntraperitoneal olarak STZ enjekte edilen ve enjeksiyondan 4 hafta sonra 14 gün süre ile oral gavaj ile 80 mg/kg agomelatin uygulanan grup.

Sıçanlarda diyabet oluşturmak amacıyla 20mmol/L sodyum sitrat tamponu (pH: 4.5) içerisinde taze olarak hazırlanan ve buzlu ortamda saklanan streptozosin=STZ çözeltisi kullanıldı. Deney grubundaki sıçanlara bu solusyondan tek doz (65 mg/kg) STZ intraperitoneal yolla enjekte edildi (Tamer vd.,1997; Benwahhoud ve Jouad, 2001). STZ enjeksiyonundan sonra hiperinsülinemi ve hipoglisemik şoku azaltmak ve/veya önlemek amacıyla, sıçanların bulunduğu kafeslere 5 mmol/L glukoz solüsyonu içeren suluklar yerleştirildi. Enjeksiyon yapıldıktan 72 saat sonra alınan kan örneklerinde Glukotrend ile kan şekeri ölçümleri yapılarak kan glukoz düzeyi 300mg/dl üzerinde olan hayvanlar diyabetikolarak kabul edildi. STZ sitrat tamponda çözünerek hazırlandığı için; kontrol gruplarında intraperitoneal yolla aynı hacimde sitrat tamponu enjekte edildi.

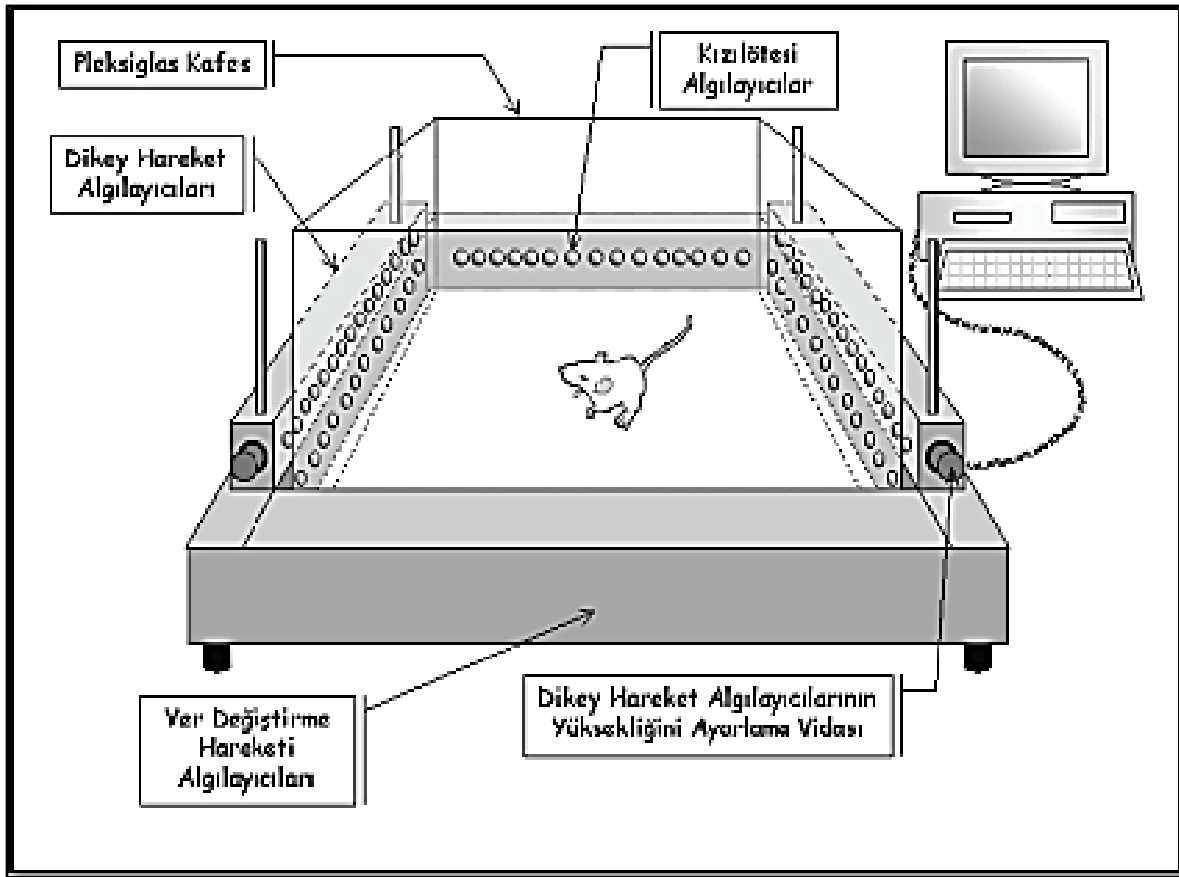
Diyabet oluşturulan deney hayvanlarında periferik nöropati gelişimi için 4 hafta süre ile beklendi. Subakut agomelatin uygulamasının diyabetik sıçanlar üzerindeki antinosiseptif etkinliğini değerlendirmek amacıyla ilaç; diyabet oluştuktan 4 hafta sonra, gavaj yoluyla oral olarak 40 mg/kg ve 80 mg/kg dozlarında, 14 gün süre ile uygulandı. İlacın etkileri ağrı testleriyle değerlendirildi.

Tablo 3.1.Deneyhayvanlarının vücut ağırlıkları

HAYVANLARIN VÜCUT AĞIRLIKLARI (gr)	KONTROL	DM	DM+Ago. (40mg/kg)	DM+Ago. (80mg/kg)
1. HAYVAN	329	218	272	196
2. HAYVAN	336	188	257	197
3. HAYVAN	340	254	226	180
4. HAYVAN	344	226	226	212
5. HAYVAN	300	184	174	213
6. HAYVAN	341	200	240	219
7. HAYVAN	336	233	227	213
8. HAYVAN	309	204	215	216

3.3. Aktivitemetre Testi

Aktivite kafesi deneyinde, sıçanların lokomotor aktiviteleri 10 dk süreyle kaydedildi (Şekil 3.1). Deney hayvanının bu kafes içerisindeyken yapmış olduğu yatay ve dikey yönlerdeki hareketleri fotoseller üzerine ulaşan IR ışık demetlerini kesintiye uğratmak suretiyle bir bilgisayar programı aracılığıyla otomatik olarak kaydedildi (Pathan, 2006; Pirondi, 2005; Sonkusare, 2005). Yatay ve dikey hareket sayımları STZ enjeksiyonundan önce ve diyabetik nöropatinin oluşmasından sonraki 4., 5. ve 6. haftalarda olmak üzere toplam dört kez yapıldı.

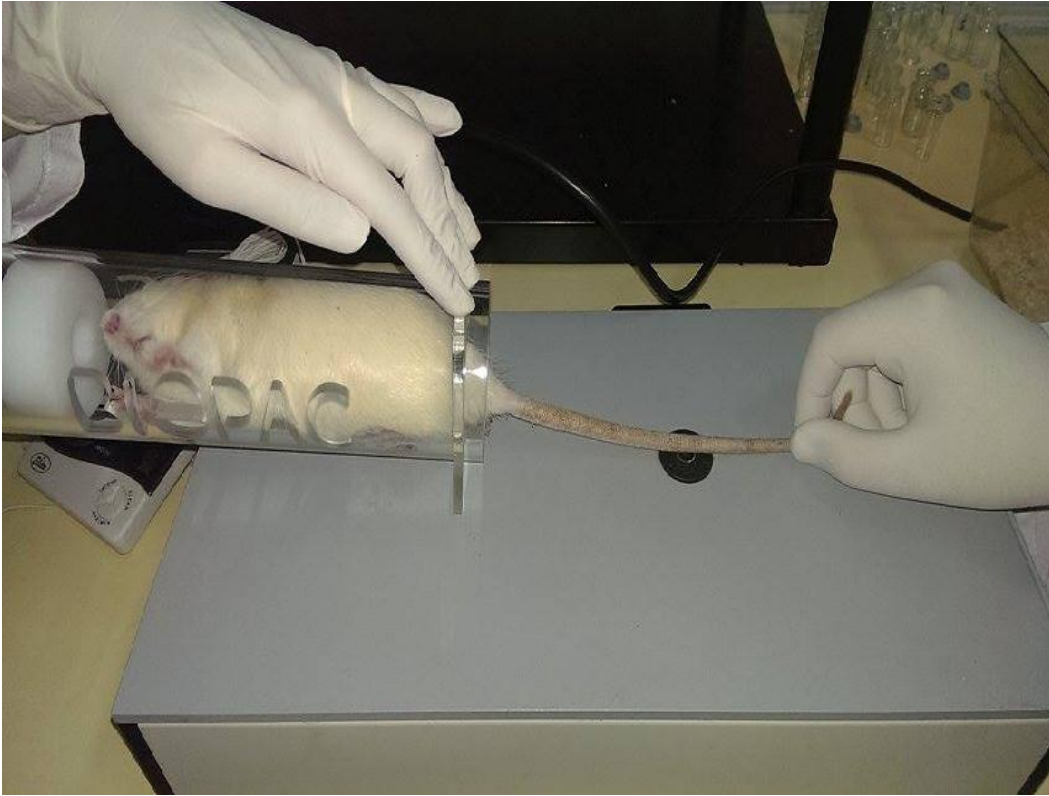


Şekil 3.1. Locomotor aktivite ölçüm cihazının çalışma sisteminin şematik çizimi (Uzbay, 2012)

3.4.Kuyruk Çekme (Tail Flick) Testi

Kuyruk çekme testi hayvanların termal bir uyarana karşı ağrı eşiğinin değerlendirilmesi amaçlı kullanılmaktadır. Bu amaçla deney hayvanları radyant ısı uygulanması için pleksiglas bir kutuya alınıp, kuyruk kısmı açıkta bırakıldı (Şekil 3.2). Testte radyant ısı kuyruğun dorsal yüzeyinde tutulup ısı verme süresi kontrol hayvanlarında 8-10 sn olarak kalibre edildi. Uyarının doku hasarına yol açmaması için ısı uygulama süresi en fazla 25 sn olarak belirlendi (Yashpal, 1983).

Termal ağrı yanıtı ölçümleri STZ enjeksiyonundan önce (0. hafta) ve enjeksiyondan sonra 4.,5., ve 6. haftalarda olmak üzere toplam 4 kez yapıldı. Serum fizyolojik enjekte edilen kontrol gruplarının termal ağrı algıları da eş zamanlı olarak ölçüldü ve yanıt süreleri her bir hayvan için ayrı ayrı kaydedildi.



Şekil 3.2. Kuyruk çekme (tail flick) testinin yapılışı

3.5. Kuyruk Sıkıştırma (Tail Clip) Testi

Deney hayvanının kuyruğunun 6 cm gerisine klemp ile mekanik bir basınç uygulanarak yapılan bu testde, uygulanan basınç yaklaşık 500 gr olacak şekilde belirlendi. Sıçanın dönüp kuyruğunu ısirmaya çalışarak verdiği tepki süresi kronometre aracılığıyla kaydedildi (Şekil 3.3). Doku hasarını önlemek için klempleme süresi 15 sn olarak belirlendi (Iwai vd., 2012).

Mekanikağrı yanıtı ölçümleri STZ enjeksiyonundan önce (0. hafta) ve enjeksiyondan sonra 4.,5., ve 6. haftalarda olmak üzere toplam 4 kez yapıldı. Serum fizyolojik enjekte edilen kontrol gruplarının mekanikağrı algıları da eş zamanlı olarak ölçüldü ve yanıt süreleri her bir hayvan için ayrı ayrı kaydedildi.



Şekil 3.3. Kuyruk sıkıştırma (tail clip) testinin yapılışı

3.6. Deneysel Hayvanların Perfüzyonu ve Dokuların Diseksiyonu

Deneysel hayvanların perfüzyonunda kullanılacak tampon solüsyonları diseksiyondan bir gün önce taze olarak hazırlandı. Bu amaçla pH 7.4 olan, 0.1M fosfat tampon solüsyonu hazırlanarak, solüsyona %0.9'luk NaCl eklenerek fosfat tamponlu salin solüsyonu elde edildi. %4'lük paraformaldehit solüsyonu 40 g paraformaldehit tozunun 1 lt fosfat tampon içerisinde çözünmesiyle hazırlandı. Solüsyonlar perfüzyon işleminde kullanılmaya dek buzdolabında bekletildi.

Kardiyak perfüzyon işlemi için her gruptan randomize olarak seçilen 4 adet sıçan vakumlu cam kavanozda 2-Bromo-2-Chloro-1,1,1-Trifluoroethane ile inhalasyon anestezisine maruz bırakıldı. Bilateral olarak midaksiller hatlar boyunca yapılan kesiler aracılığıyla göğüs kafesi kaldırılarak, kalp açığa çıkarıldı. Sağ atriuma yapılan küçük bir kesi yardımıyla sistemik dolaşımdaki kan ve sıvıların tahliyesi sağlandı. Peristaltik perfüzyon pompasına bağlı olan kateder isesol ventriküle yerleştirilmek suretiyle, perfüzyon işlemine dokular tamamen tespit edilene kadar devam edildi (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Kardiyak perfüzyon işleminin yapılışı

3.7. Histolojik Yöntemler

Fiksasyon sonrası L4-L5seviyelerindeki arka kök ganglionlarının diseksiyonları için stereomikroskop kullanılarak, mikrocerrahi aletleri yardımıyla laminektomi yapıldı(Şekil 3.5).



Şekil 3.5. Arka kök ganglionlarının mikrodiseksiyonu

Diseke edilen ganglionlar zaman kaybetmeden 0.1 M fosfat tampon içeren % 2.5'lük glutaraldehit solüsyonuna alındı. Bu aşamadan sonra örneklerin fiksasyon, takip ve inceleme işlemleri Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Elektron Mikroskop Görüntü ve Analiz Merkezi' (ESOGÜSTEM)'nde gerçekleştirildi. Fiksatif solüsyonunda 24 saat 4°C'de bekletilen dokular, fosfat tamponuyla 3 kez 15'er dakika yıkandı. Daha sonra 0.1 M fosfat tampon içeren %1'lik osmiyum tetroksit içinde, oda sıcaklığında ve rotatorda 2 saat sekonder fiksasyona tabi tutuldu ve devamında dokular fosfat tampon solüsyonu ile tekrar 3 kez yıkandı. Dokudaki fazla suyun alınması (dehidratasyon) için ganglionlar giderek artan derecelerdeki (%30, %50, %70, %90, %96, %100) etil alkol serilerinden geçirildi. Daha sonra oda ısısında 30 dk boyunca, iki kez propilen oksit solüsyonunda bekletilerek şeffaflaştırılan dokular, 1:1 oranında propilen oksit-araldit karışımında 2 saat boyunca rotatorda bekletildikten sonra, saf araldite alındı ve bir gece boyunca rotatorda tutuldu. Ertesi gün araldite gömülen dokular, 60°C'de 48 saat polimerize edildi(Motoka vd., 2002).

Elde edilen bloklardan ultramikrotomda (Leica Ultracut R) 700 µm kalınlığında alınan kesitler, toluidin mavisiyle 60°C de 30 saniye süreyle boyandı ve lamalar entellan ile kaplandı.



Şekil3.6.Araldit bloklara gömülenarka kök ganglionları

3.8. Morfometrik Analizler

Toluidin mavisiyle boyanan kesitlerdeki ganglion hücrelerinin gövdeleri ve sinir liflerinin transvers kesitlerinin görüntüleri çizim tüpü ataşmanlı ışık mikroskobu aracılığıyla, immersiyon yağı kullanılarak, 100X objektif altında çizildi (Şekil 3.6). Büyütmenin saptanması için kalibrasyon skalası kullanıldı. Elde edilen görüntüler bilgisayar ortamına aktarıldı ve bir resim analiz yazılımı olan Image-J (Universal Imaging, West Chester, PA) programı kullanılarak ganglion spinele'deki nöronların soma çapları ve bu hücrelerin aksonal uzantılarının lif çapları ölçüldü. Kalibrasyon skalasına göre piksel değerleri uzunluk birimlerine çevrilerek, tüm ölçüm değerlerinin gerçek boyutları hesaplandı. Ganglion spinele'de bulunan nöronların soma çaplarının hesaplanmasında çekirdekçiklerin (nucleolus) çekirdek içinde merkezi olarak yerleştiği göz önüne alınarak, sadece çekirdekçik içeren hücreler ölçümlere dâhil edildi. Bu kriterlere uygun hücrelerden her hayvan için ortalama 40-50 adet soma profilinin çizimleri yapıldı. Nöronun en uzun eksenin uzunluğu major (**a**) çap ve bu eksen

tam orta noktasından dik olarak kesen eksenin uzunluğu da minor **(b)** ap olarak ölçüldü.

Bu lümler:
 $d = \sqrt{a \cdot b}$

formülünde yerine konarak ortalama çap **(d)**değerleri hesaplandı(Ulupinar, Erol,Ay&Yucel,2015).Lif çaplarının ölçümlerinde ise her hayvandan ortalama 100 adet sinir lifinin evre uzunluğu ölçülerek elde edilen değerlerin aritmetik ortalamaları hesaplandı.



Şekil 3.7.Morfometrik analizlerde kullanılan çizim tüpü ataşmanlı ışık mikroskobu

3.9.İstatistiksel değerlendirme

İstatistiksel hesaplamalar için Graphpad Prism (Ver. 4.03) paket programı kullanıldı. Değerkenlerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi aracılığıyla belirlendi.Tanımlayıcı analizler normal dağılan değerkenler için ortalama ve standart sapma/hata kullanılarak verildi.

Davranış deneyleri (yatay ve dikey hareket sayıları,kuyruk çekme ve kuyruk sıkıştırma testlerindeki yanıt süreleri) sonuçlarının0., 4., 5. ve 6. haftalardaki tekrarlayan ölçümlerinin gruplara göre farklılıklarının

karşılaştırılmasında tekrarlı varyans analizi ve Bonferroni çoklu karşılaştırma testi kullanıldı. Soma ve sinir lif çevre uzunluklarının gruplar arasındaki farklılıklarının karşılaştırılmasında ise tek yönlü varyans analizi ve Bonferroni çoklu karşılaştırma testi kullanıldı. $p < 0.05$, istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

3.10. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve İlaçlar

- Agomelatin (Valdoxane, Servier)
- Streptozotosin (Sigma, St. Louis, MO, ABD)
- Sitrik asit (Merck, Darmstadt, Almanya)
- Serum Fizyolojik (Adeka, Samsun, Türkiye)
- Etanol (Merck, Darmstadt, Almanya)
- Trisodyum sitrat (Merck, Darmstadt, Almanya)
- Paraformaldehit (Merck, Darmstadt, Almanya)
- Potasyum Fosfat (Taufkirchen, Almanya)

3.11. Kullanılan Cihazlar

- Tail-Flick Cihazı (Ugo-basile, 37360, Verase, İtalya)
- Liyofilizatör (Leybold-Heraeus Lyovac GT-2)
- Rotary Evaporator (Bibby Sterilin, RE 100, İngiltere)
- Geri çeviren soğutucu (İldam, Ankara, Türkiye)
- Magnetik tabanlı ısıtıcı karıştırıcı (Heildoph, Almanya)
- Hassas Terazî (Ohaus E 12140, İsviçre)
- Kronometre, Klamp
- Perfüzyon Pompası (KD Scientific Amerika)
- Çeşitli cerrahi malzemeler
- Çeşitli cam malzemeler
- Stereomikroskop (Olympus, SZX9)
- Çizim tüpü ataşmanlı ışık mikroskobu (Nikon, Japonya)
- Hassas terazî (Precisa 310M)
- Ultramikrotom (Leica Ultracut R)

4-BULGULAR

4.1. Aktivitemetre Testi Sonuçları

Lokomotor aktivitenin değerlendirilmesini sağlayan düzenek aracılığıyla, deney hayvanlarının 10 dakikalık test süresi boyunca kafes içerisinde yapmış olduğu dikeme hareketleri dikey (vertikal) hareket, bunun haricinde kafes içerisinde yapmış olduğu her türlü yer değiştirme hareketleri ise yatay (horizontal) hareket olarak kaydedilmiştir.

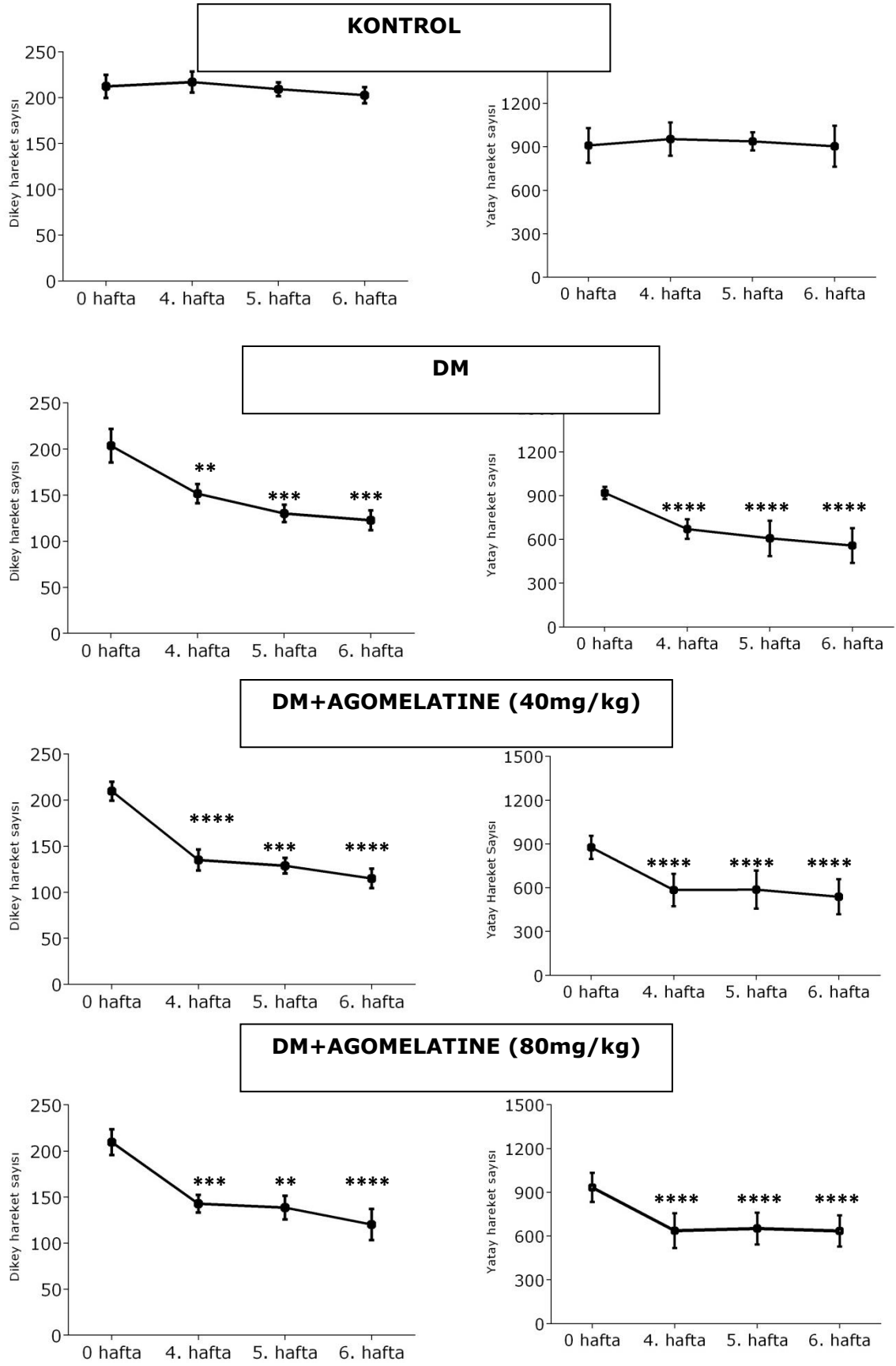
Kontrol grubundaki hayvanlarda, araştırma davranışı olarak kabul edilen dikey aktivite sayıları ve dikeme hareketi dışındaki gezinme hareketlerinin göstergesi olan yatay hareket sayıları, deneylere başladıktan sonraki 4., 5. ve 6. haftalarda ardışık olarak uygulanan aktivitemetre ölçümleri esnasında anlamlı bir farklılık göstermemiştir (Şekil 4.1 ve Tablo 4.1).

STZ enjeksiyonu ile diyabet oluşturulan grupta ise kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hem dikey ($p<0.01$), hem de yatay ($p<0.0001$), hareket sayılarında 4. haftadan itibaren anlamlı düzeyde bir düşüş gözlenmiştir (Tablo 4.1). Diyabetli sıçanlara uygulanan agomelatine tedavisinden sonra birer hafta arayla yapılan ardışık ölçümlerde de; hem yatay, hem de dikey hareket sayılarında azalma olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.1).

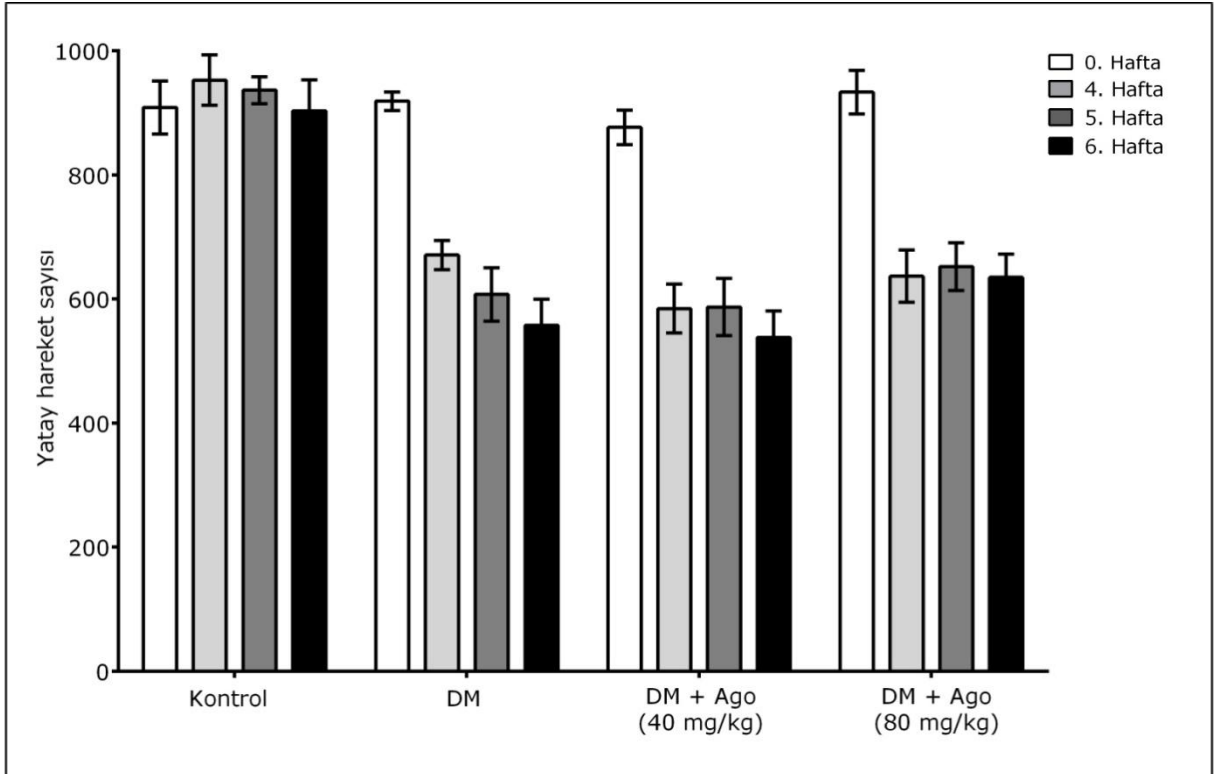
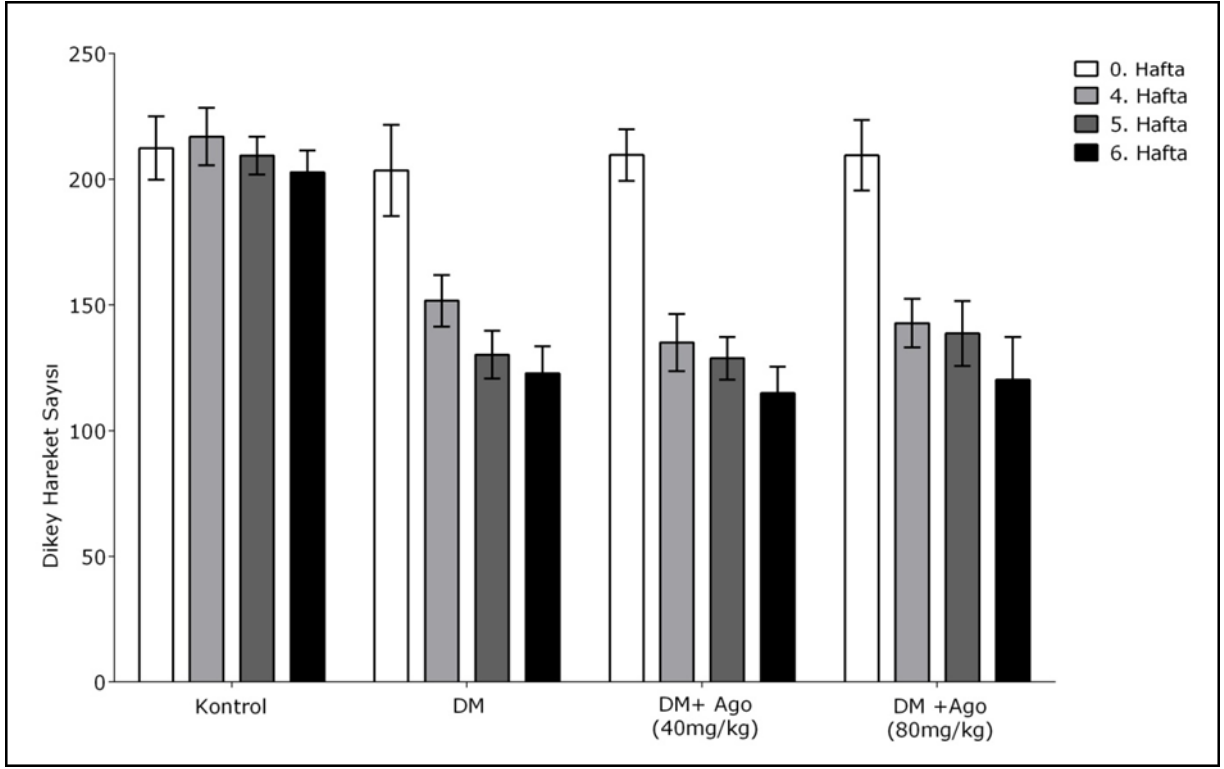
Aktivitemetre testi esnasında kaydedilen yatay ve dikey hareket sayılarının gruplara göre karşılaştırılması Şekil 4.2'de, çift yönlü varyans analizi ile yapılan istatistiksel test sonuçları ise Tablo 4.1'de gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre diyabet oluşturulan deney hayvanlarında kontrol grubundakilere oranla hem dikey ($F=28.42$, $p<0.0001$), hem de yatay ($F=32.68$, $p<0.0001$) hareket sayılarında zaman içerisinde yüksek derecede anlamlılık gösteren bir düşüş olduğu bulunmuştur (Tablo 4.1).

Diyabetli sıçanlara uygulanan agomelatine tedavisinin farklı dozlarının (40 ve 80 mg/kg) deney hayvanlarının aktivite düzeyleri üzerindeki etkileri incelendiğinde 4. , 5. ve 6. haftalardaki aktivite sayıları arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (Tablo 4.1). Bu nedenle, gruplar arasında yatay ($F=56.99$, $p<0.0001$) ve dikey ($F=20.78$, $p<0.0001$) hareket sayılarında görülen anlamlı farklılıklar tedaviden ziyade, diyabete bağlı değişikliklerden kaynaklanmaktadır.

Tedavi süresi ve tedavi dozu değişkenlerinin deney hayvanlarının aktivite düzeyleri üzerindeki ortak etkilerini (zaman X grup etkileşimi) görmek için yapılan tekrarlı varyans analiz sonuçları, gruplar arasında anlamlı düzeyde etkileşim olduğunu göstermiştir ($F_{9,84}=2.81$, $p=.0061$).



Şekil 4.1. Yatay ve dikey hareket sayılarında tedavi süresine göre oluşan farklılıklarının karşılaştırılması. ** $p < .01$, *** $p < .001$, **** $p < .0001$



Şekil 4.2. Aktivitemetre testindeki yatay ve dikey hareket sayılarının gruplar arasındaki farklılıklarının karşılaştırılması

Tablo 4.1. Aktivitemetre testi sonuçlarının karşılaştırılması

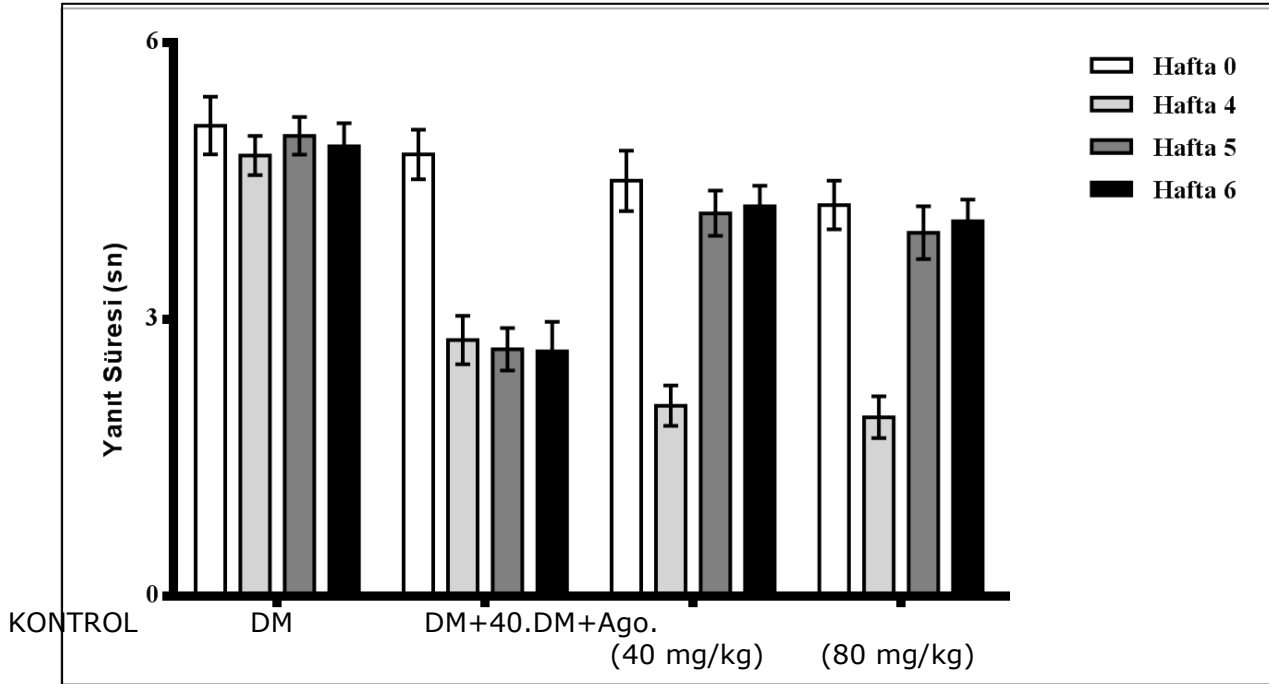
Zaman	GRUPLAR (n=8/her grup)	Dikey hareket (Ort.±SEM)	FARK	Yatay hareket (Ort.±SEM)	FARK
STZ öncesi 0. hafta	Kontrol	212.4 ± 12.6	n.s.	908.5 ± 42.6	n.s.
	DM	203.5 ± 18.1		918.6 ± 15.0	
	DM+ Ago. (40mg/kg)	209.6 ± 10.2		876.3 ± 28.0	
	DM+ Ago. (80mg/kg)	209.5 ± 13.9		933.2 ± 35.0	
STZ sonrası 4. hafta	Kontrol	217.0 ± 11.4	Kont.-DM ** Kont.- Ago.40 **** Kont.- Ago.80 ***	952.6 ± 40.5	Kont.-DM **** Kont.- Ago.40 **** Kont.- Ago.80 ****
	DM	151.6 ± 10.2		670.7 ± 23.5	
	DM+ Ago. (40mg/kg)	135.0 ± 11.3		584.5 ± 39.1	
	DM+ Ago. (80mg/kg)	142.8 ± 9.6		636.6 ± 42.2	
STZ sonrası 5. hafta	Kontrol	209.4 ± 7.4	Kont.-DM *** Kont.- Ago.40 *** Kont.- Ago.80 **	936.2 ± 21.9	Kont.-DM **** Kont.- Ago.40 **** Kont.- Ago.80 ****
	DM	130.1 ± 9.4		607.2 ± 42.8	
	DM+ Ago. (40mg/kg)	128.8 ± 8.4		586.7 ± 46.0	
	DM+ Ago. (80mg/kg)	138.6 ± 12.9		651.7 ± 38.5	
STZ sonrası 6. hafta	Kontrol	202.8 ± 8.7	Kont.-DM *** Kont.- Ago.40 **** Kont.- Ago.80 ****	903.1 ± 49.7	Kont.-DM **** Kont.- Ago.40 **** Kont.- Ago.80 ****
	DM	122.8 ± 10.7		557.3 ± 42.0	
	DM+ Ago. (40mg/kg)	114.9 ± 10.5		538.0 ± 42.4	
	DM+ Ago. (80mg/kg)	120.3 ± 16.9		634.7 ± 37.5	
TEST iki yönlü varyans analizi		Zaman: F_{3,84}=28.42	p<0.0001	Zaman: F_{3,84}=32.68	p<0.0001
		Grup: F_{3,28}=20.78	p<0.0001	Grup: F_{3,28}=56.99	p<0.0001
		Zaman X Grup etkileşimi: F_{9,84}=2.81	p=0.0061	Zaman X Grup etkileşimi: F_{9,84}=4.48	p<0.0001

4.2. Kuyruk çekme (tail flick) testi sonuçları

Sıçanların termal ağrılı uyarana karşı verdikleri kuyruk çekme yanıtının ortalama süreleri standart sapma değerleriyle birlikte Tablo 4.2’de gösterilmiştir. Deneylere başladıktan sonraki 4., 5. ve 6. haftalarda ardışık olarak uygulanan testler esnasında, kontrol grubundaki hayvanların kuyruk çekme yanıtı gösterene kadar geçen süreleri arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (Şekil 4.3).

STZ enjeksiyonu ile diyabet oluşturulan grupta yanıt süresi kontrol grubuna göre anlamlı ($p<0.0001$) düzeyde düşüş göstermiştir. Bu düşüş 4. haftadan itibaren görülmeye başlamış olup, takip eden haftalarda yapılan ölçümlerde anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (Tablo 4.2).

Diyabetli sıçanlara iki farklı dozda uygulanan agomelatine tedavisinden sonra birer hafta arayla yapılan ardışık ölçümlerde, 5. haftadan itibaren hiperaljzik yanıtın düzeldiği gözlenmiştir. İlacın daha düşük dozlardaki (40 mg/kg) uygulamasının yüksek dozdaki (80 mg/kg) uygulamaya kıyasla, hem 5. haftada ($p<0.01$ vs $p<0.05$) hem de 6. haftada ($p<0.001$ vs $p<0.01$) daha etkili olduğu bulunmuştur (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Kuyruk çekme (tail flick) testindeki yanıt sürelerinin karşılaştırılması

İki yönlü varyans analizinde “zaman” değişkeni tek faktör olarak ele alındığında STZ sonrası yapılan ölçümlerdeki yanıt süresinin enjeksiyon öncesine göre anlamlı düzeyde kısaldığı görülmüştür ($F_{3,84}=60.34$, $p<0.0001$). Benzer şekilde, diyabetli ve tedavi grupları ile kontrol grubu arasında da anlamlı farklılıklar bulunmuştur ($F_{3,28}=13.84$, $p<0.0001$). Bu nedenle tedavi süresi ve gruplarının hiperaljzik yanıt düzeyi üzerindeki ortak etkilerini (zaman X grup interaction) görmek için yapılan tekrarlı varyans analiz sonuçları, gruplar arasında anlamlı düzeyde etkileşim olduğunu göstermiştir ($F_{9,84}=13.37$, $p<0.0001$).

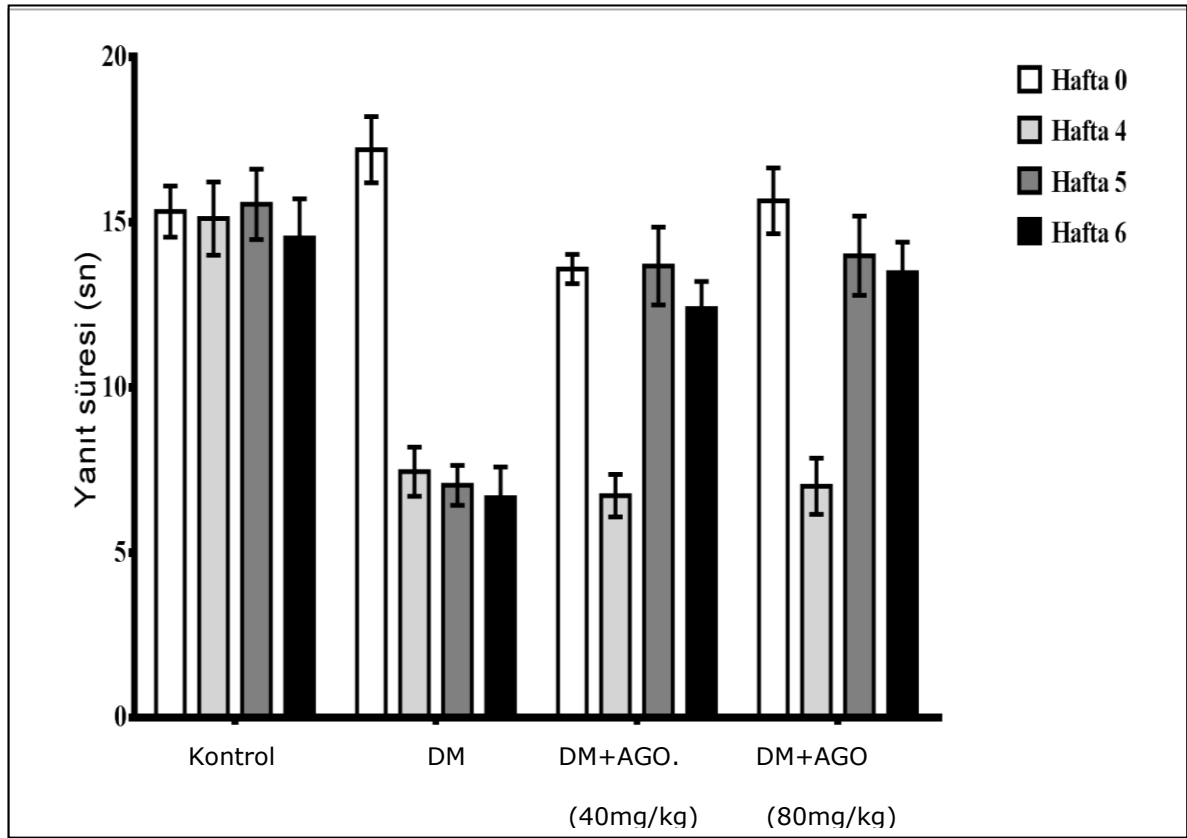
Tablo 4.2. Kuyruk çekme (tail flick) testi sonuçlarının karşılaştırılması

KUYRUK ÇEKME SÜRESİ (Ort±SEM)	KONTROL	DM	DM+Ago. (40mg/kg)	DM+Ago. (80mg/kg)	FARK
STZ öncesi 0. hafta	5.10 ± 0.3	4.78 ± 0.2	4.50 ± 0.2	4.23 ± 0.2	n.s.
STZ sonrası 4. hafta	4.77 ± 0.2	2.77± 0.2	2.06± 0.3	1.93 ± 0.2	Kont.-DM: **** Kont.- Ago.40: **** Kont.- Ago.80: ****
STZ sonrası 5. hafta	4.98 ± 0.2	2.67 ± 0.2	4.15 ± 0.2	3.93 ± 0.2	Kont.-DM: **** Kont.- Ago.40: ** Kont.- Ago.80: *
STZ sonrası 6. hafta	4.87 ± 0.2	2.65 ± 0.3	4.22 ± 0.2	4.06 ± 0.2	Kont.-DM: **** Kont.- Ago.40: *** Kont.- Ago.80: **
TEST Tekrarlı varyans analizi	n.s.	0.h-4.h.: **** 0.h-5.h.: **** 0.h-6.h.: ****	0.h-4.h.: **** 4.h-5.h.: **** 4.h-6.h.: ****	0.h-4.h.: **** 4.h-5.h.: **** 4.h-6.h.: ****	Zaman: F_{3,84}=60.34, p<0.0001 Grup: F_{3,28}=13.84, p<0.0001 Zaman X Grup etkileşimi: F_{9,84}=13.37, p<0.0001

4.3. Kuyruk sıkıştırma (tail clip) testi sonuçları

Sıçanların kuyruk sıkıştırma testinde mekanik ağırlı uyarana karşı verdikleri yanıtın ortalama süreleri standart sapma değerleriyle birlikte Tablo 4.3'de gösterilmiştir. Kontrol grubundaki sıçanların yanıt sürelerinde deneyler süresince anlamlı bir farklılık saptanmaz iken; diyabet oluşturulan gruptaki hayvanların yanıt süreleri kontrol grubundakilere oranla anlamlı düzeyde ($p<0.0001$) düşük bulunmuştur (Şekil 4.4). STZ enjeksiyonu ile diyabet oluşturulan grupta yanıt süreleri termal uyarılara benzer şekilde anlamlı ($p<0.0001$) düzeyde azalma göstermiştir. Yanıt sürelerinde gözlenen azalma 4. haftadan itibaren başlayarak, takip eden haftalarda yapılan ölçümlerde de benzer düzeyde seyretmiştir (Şekil 4.4).

Diyabetli sıçanlara uygulanan agomelatin tedavisi sonrasında, 4. haftada gözlenen hiperaljezik yanıtın 5. haftadan itibaren düzeldiği gözlenmiştir. Agomelatin'in 40 ve 80 mg/kg dozlarında, 5 ve 6 hafta süreyle kullanılması sonrasında yapılan ölçümlerde mekanik uyarılara karşı verilen yanıt süreleri ile kontrol grubundaki hayvanların yanıt süreleri arasında anlamlı bir fark kalmamıştır (Tablo 4.3).



Şekil 4.4. Kuyruk sıkıştırma (tail clip) testindeki yanıt sürelerinin karşılaştırılması.

Bu nedenle, tekrarlı varyans analizinde "zaman" değişkeni tek faktör olarak ele alındığında STZ sonrası yapılan ölçümlerdeki yanıt süresinin enjeksiyon öncesine göre anlamlı düzeyde kısaldığı görülmüştür ($F_{3,84}=63.60$, $p<0.0001$). Benzer şekilde, diyabetli ve tedavi grupları ile kontrol grubu arasında da anlamlı farklılıklar bulunmuştur ($F_{3,28}=9.757$,

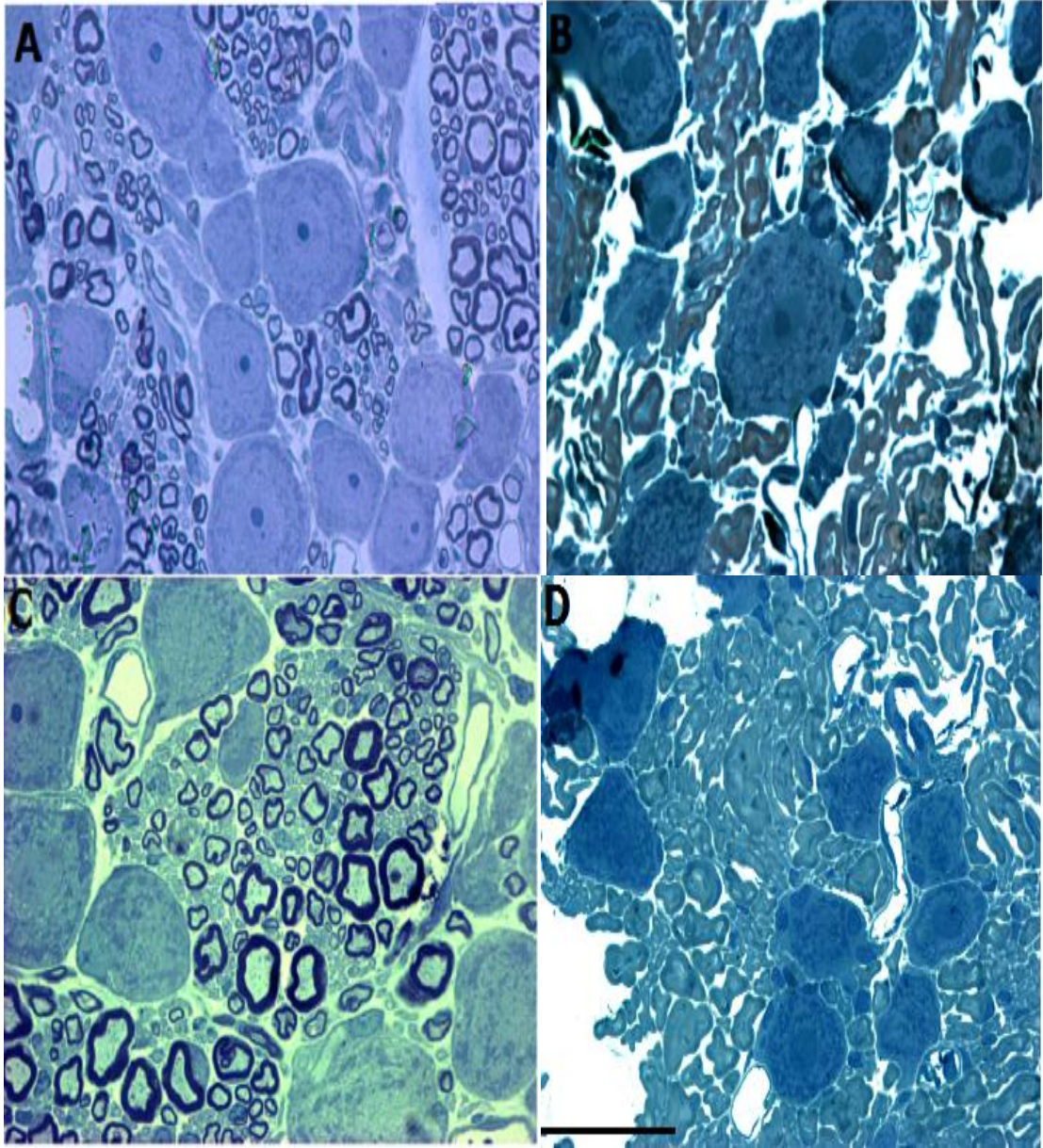
p<0.0001). Bu nedenle tedavi süresi ve gruplarının hiperaljezik yanıt düzeyi üzerindeki ortak etkilerini (zaman X grup etkileşimi) görmek için yapılan iki yönlü varyans analiz sonuçları, gruplar arasında anlamlı düzeyde etkileşim olduğunu göstermiştir ($F_{9,84}=18.44$, $p<0.0001$).

Tablo 4.3. Kuyruk sıkıştırma (tail clip) testi sonuçlarının karşılaştırılması.

KUYRUK SIKIŞTIRMA (Ort±SEM)	KONTROL	DM	DM+Ago. (40mg/kg)	DM+Ago. (80mg/kg)	FARK
STZ öncesi 0. hafta	15.33 ± 0.7	17.20 ± 1.0	13.58 ± 0.4	15.65 ± 0.9	n.s.
STZ sonrası 4. hafta	15.11± 1.1	7.45 ± 0.7	6.72 ± 0.6	7.01 ± 0.8	Kont.-DM: **** Kont.- Ago.40: **** Kont.- Ago.80: ****
STZ sonrası 5. hafta	15.54 ± 1.1	7.03 ± 0.6	13.67 ± 1.1	13.99 ± 1.2	Kont.-DM: **** Kont.- Ago.40: **** Kont.- Ago.80: ***
STZ sonrası 6. hafta	14.52 ± 1.1	6.60 ± 0.9	12.38 ± 0.8	13.47 ± 0.9	Kont.-DM: **** Kont.- Ago.40: *** Kont.- Ago.80: ****
TEST Tekrarlı varyans analizi	n.s.	0.h-4.h.: **** 0.h-5.h.: **** 0.h-6.h.: ****	0.h-4.h.: **** 4.h-5.h.: **** 4.h-6.h.: ****	0.h-4.h.: **** 4.h-5.h.: **** 4.h-6.h.: ****	Zaman: $F_{3,84}=63.60$, $p<0.0001$ Grup: $F_{3,28}=9.757$, $p<0.0001$ Zaman X Grup etkileşimi: $F_{9,84}=18.44$, $p<0.0001$

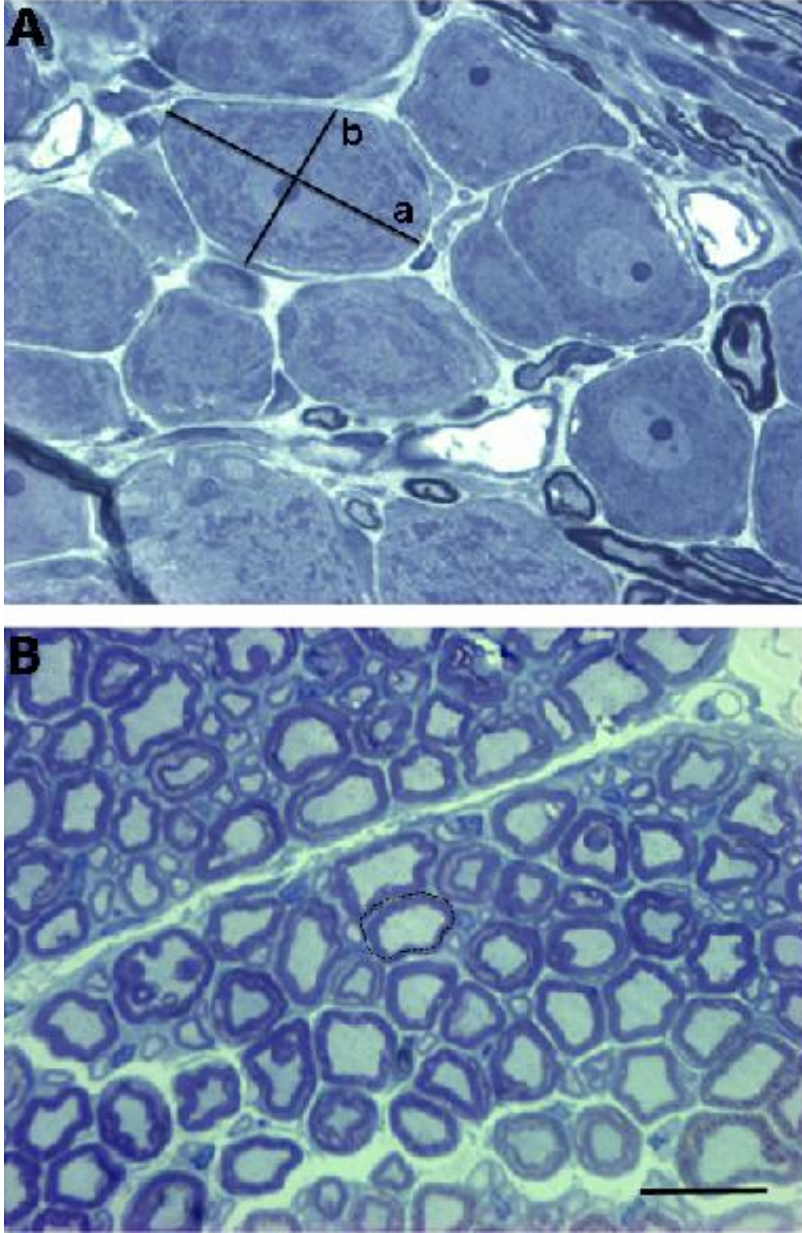
4.4. Morfometrik analizler

Deney hayvanlarının 4. ve 5. lumbal vertebra seviyelerine karşılık gelen arka kök ganglionlarından alınan yarı ince kesitlerde yapılan mikroskopik incelemelerde, STZ ile diyabet oluşturulan gruplardaki duyu nöronlarının gövdelerinin kontrol gruplarına kıyasla daha küçük olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.5). Diyabetik hayvanların duysal nöronlarında hafif atrofi, koyu boyanma, küçük çaplı nöron yoğunluğu artışı ile birlikte, büyük nöronlarda büzüşme, atrofi, vakuoler dejenerasyon gözlenmektedir (Şekil 4.5.B). 40 mg/kg agomelatin uygulanan gruba duyu nöronları daha az hasarlı gözlenmektedir (Şekil 4.5.C).



Şekil.4.5.Farklı gruplardaki deney hayvanlarının arka kök ganglionlarından alınan kesitlerin fotomikrografları. Kontrol Grubu:(A) Diyabetik Grup:(B); 40 mg/kg agomelatin uygulanan grup:(C); DM+ Ago. 80 agomelatin uygulanan grup:(D)Skala=50 µm.

Deney hayvanlarının 4. ve 5. lumbal vertebra seviyelerine karşılık gelen arka kök ganglionlarından alınan yarı ince kesitlerde yapılan mikroskopik incelemelerde, STZ ile diyabet oluşturulan gruplardaki duyu nöronlarının gövdelerinin kontrol gruplarına kıyasla daha küçük olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.6). Bu nedenle nöronların soma çaplarını karşılaştırmak amacıyla, kesitlerde çekirdekçiği görülen nöronların major ve minör çapları ölçülerek, ortalama çap değerleri hesaplanmıştır (Şekil 4.5).

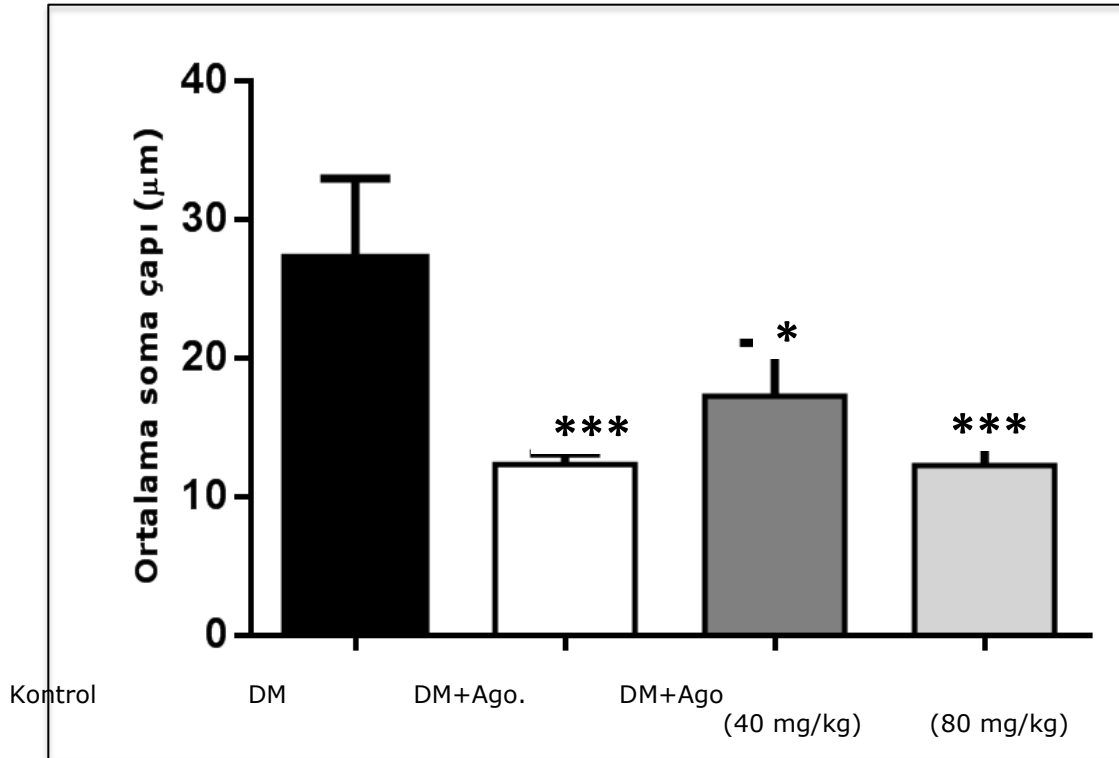


Şekil 4.6: Soma çapı ve sinir lifi uzunluklarının ölçülmesi. Nöron gövdelerinin ortalama çap ölçümlerinde, sadece çekirdekçiği içeren soma kesitleri kullanılmıştır (**A**). Sinir liflerinin uzunluklarının ölçümlerinde ise siyah noktalı çizgilerle belirtilen uzunluk kullanılmıştır (**B**). **a**=Major çap, **b**=Minör çap. Skala=20 μ m

Bu değerler karşılaştırıldığında, diyabet oluşturulan sıçanların ortalama soma çapı değerleri ($12.04 \pm 2.79 \mu\text{m}$) kontrol grubundaki sıçanların değerlerine ($28.37 \pm 8.03 \mu\text{m}$) göre anlamlı düzeyde ($p < 0.001$) düşük bulunmuştur.

Diyabetli hayvanlara uygulanan 40 mg/kg dozundaki agomeletin tedavisi sonrasında, ortalama soma çapı değerlerinde belirgin bir artış gözlenmiştir (şekil 4.7). Diyabetli hayvanlara uygulanan 80mg/kg dozundaki agomeletine tedavisinin ise ortalama soma çapı değerlerinde ($12.26 \pm 2.86 \mu\text{m}$) anlamlı bir değişikliğe yol açmadığı gözlenmiştir (Tablo 4.4).

İlaç tedavisinin farklı dozlarda uygulandığı gruplardaki nöronların soma çapı değerleri arasındaki farklılıklar anlamlılık düzeyine ulaşmamakla birlikte; tek yönlü varyans analizi sonuçları, ortalama soma çaplarının gruplar arasında anlamlı farklılıklar içerdiğini ortaya çıkartmıştır [$F(3,12)=15.69, p=0.0002$].



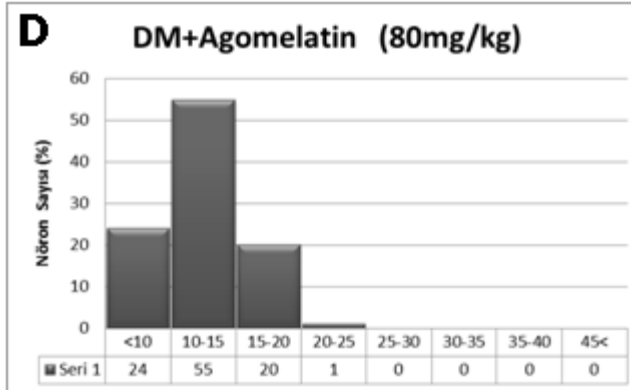
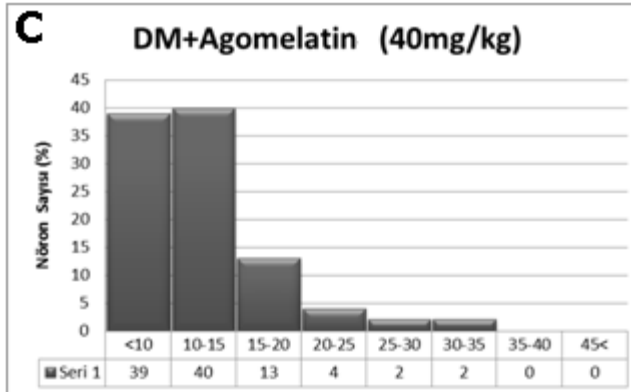
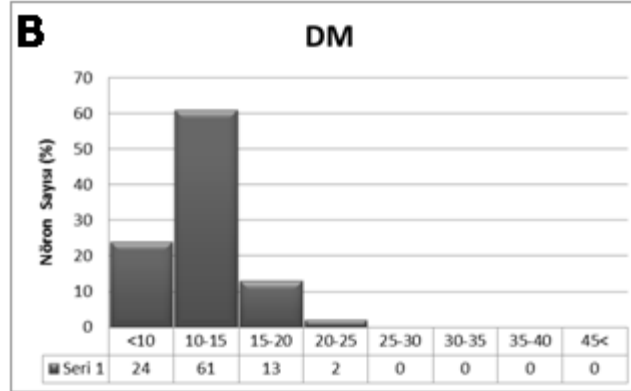
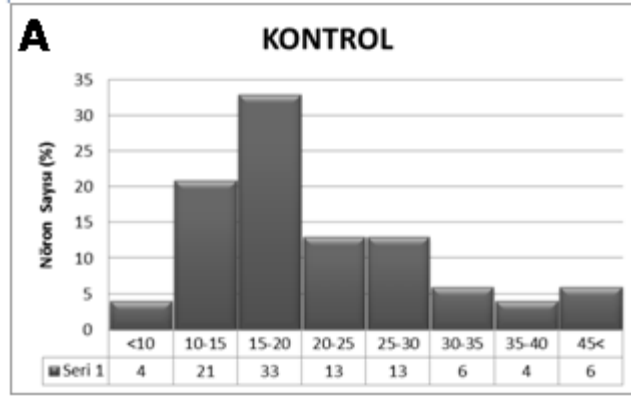
şekil 4.7. Ortalama soma çapı değerlerinin karşılaştırılması. Kontrol ile deney grupları arasındaki anlamlı farklılıklar "*" ile belirtilmiştir ($p < .05$, *** $p < .0001$)

Tablo 4.4. Deney hayvanlarının ortalama soma çapı değerleri(μm)

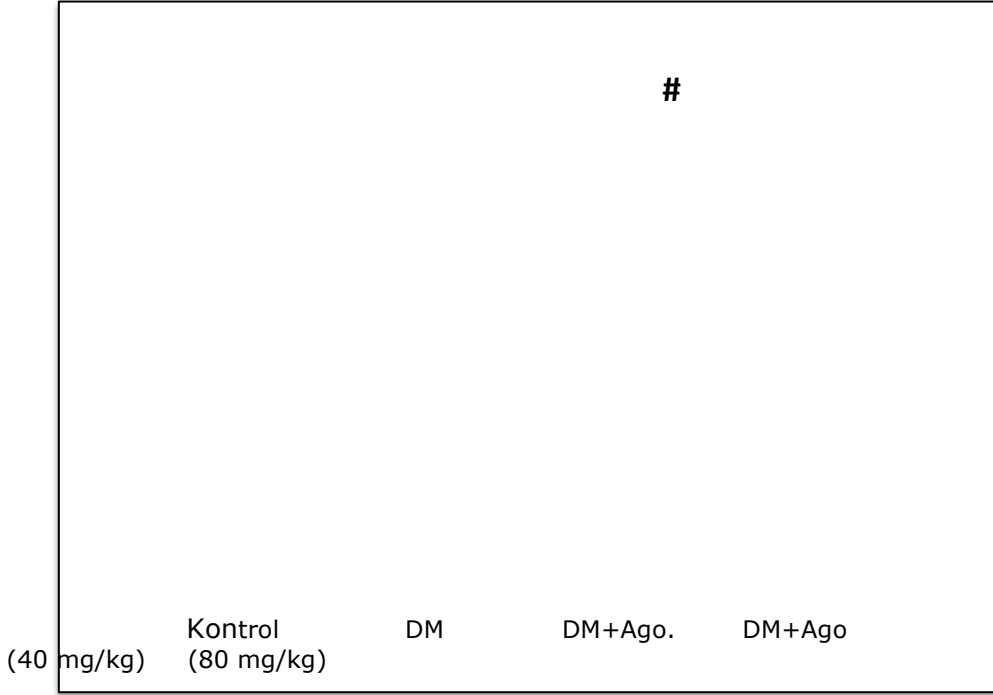
Grup	1.hayvan	2. hayvan	3. hayvan	4.hayvan	ORTALAMA SOMA ÇAPI (Ort \pm SD)	FARK Tek yönlü varyans analizi
Kontrol	28.37 \pm 8.03	29.11 \pm 9.34	32.38 \pm 11.18	18.97 \pm 3.69	27.21 \pm 8.06	Kontrol-DM: *** Kontrol-Ago.40: * Kont.-Ago.80: *** F(3,12)= 15.69, p=0.0002
DM	13.16 \pm 2.99	12.79 \pm 2.76	11.81 \pm 2.83	11.52 \pm 2.59	12.04 \pm 2.79	
DM+ Ago (40mg /kg)	21.11 \pm 5.94	14.10 \pm 4.01	19.99 \pm 4.53	13.78 \pm 2.99	17.24 \pm 4.36	
DM+ Ago (40mg /kg)	14.17 \pm 2.58	11.44 \pm 2.67	11.00 \pm 2.35	12.45 \pm 3.86	12.26 \pm 2.86	

Özellikle kontrol grubundaki sıçanların soma çapı ölçümlerinden elde edilen verilerin minimum ve maksimum değerleri arasındaki farklılıklardan dolayı standart sapma değerlerinin yüksek olduğu dikkat çekmiştir. Diyabet gruplarının standart sapma değerlerinin ise daha küçük olduğu gözlenmiştir. Bu farklı dağılımları karşılaştırmalı olarak incelemek amacıyla oluşturulan histogramlarda, kontrol gruplarında normal bir dağılım görülmekteyken, diyabetli sıçanlarda sağa kayma olduğu dikkati çekmektedir (Şekil 4.8). Kontrol gruplarında 20 μm ve üzerinde soma çapına sahip olan nöronların oranı %42 iken, bu oranın diyabetli hayvanlarda %2 olduğu görülmektedir. Öte yandan 40 mg/kg dozundaki agomelatine tedavisinden sonra 20 μm ve üzerinde soma çapına sahip olan nöronların oranında bir miktar (%8) artış gözlenmekle birlikte, 80 mg/kg dozundaki agomelatine tedavisinden sonra bu oranın diyabetli sıçanlara göre belirgin bir farklılık göstermediği bulunmuştur. Düşük dozdaki ilaç uygulaması sonrasında en fazla oranda artış gösteren nöronların 10 μm ve daha altında çapa sahip olan nöronlar olduğu gözlenmektedir.

Yapılan histogram analizlerde, kontrol gruplarının lumbal spinal ganglion'larındaki duyu nöronlarının ortalama gövde çaplarının 15-20 μm aralığında seyrederken, diyabetli gruplardaki duyu nöronlarının ortalama gövde çaplarının 10-15 μm aralığında yığılma gösterdiği görülmektedir (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. Soma çapı değerlerinin histogramları



Şekil 4.9. Ortalama sinir lif çevre uzunluklarının karşılaştırılması. Diyabetli grup ile 40mg/kg dozunda agomelatin ile tedavi edilmiş grup arasındaki fark “#” ile belirtilmiştir. (#p<.05)

Bu ganglionlarda bulunan nöronların aksonlarından alınan transvers kesitlerdeki sinir lif çevrelerinin ölçüm değerleri karşılaştırıldığında da benzer bir dağılım görülmektedir. Bu ölçümlerde de yine diyabetli sıçanların ortalama lif çevre uzunluk değerlerinin kontrol gruplarındaki değerlere göre daha düşük olduğu görülmektedir (Şekil 4.9). Tek yönlü varyans analizi sonuçları gruplar arasında, soma çapı düzeylerindeki kadar olmamakla birlikte, anlamlı farklılıklar olduğunu ortaya çıkartmıştır [F(3,12)=5.112, p=0.0166].Çoklu karşılaştırma testleri, bu farklılıkların diyabetli hayvanlarda düşük doz agomelatin tedavisi sonrasında ortaya çıkan anlamlı düzeydeki (p<0.05) artıştan kaynaklandığına işaret etmektedir (Tablo 4.5).

Tablo 4.5. Deney hayvanlarının ortalama lif çevresiuzunluk değerleri(μm)

Gruplar	1.hayvan	2. hayvan	3. hayvan	4.hayvan	ORTALAMA LİF ÇAPI (Ort \pm SD)	FARK Tek yönlü varyans analizi
Kontrol	16.70 \pm 0.76	15.94 \pm 0.73	11.99 \pm 1.82	16.32 \pm 0.66	15.24\pm 0.53	DM-Ago.40:* F(3,12)= 5.112 p=0.0166
DM	11.38 \pm 1.19	11.03 \pm 1.13	11.72 \pm 2.71	15.51 \pm 3.08	12.41\pm 1.16	
DM+ Ago (40mg/kg)	15.49 \pm 0.94	17.67 \pm 1.43	15.97 \pm 1.17	18.05 \pm 1.51	16.79 \pm 0.65	
DM+ Ago (80mg/kg)	12.57 \pm 1.56	12.75 \pm 1.83	14.81 \pm 0.81	13.71 \pm 11.83	13.45 \pm 0.58	

5-TARTIŞMA

Hiperglisemiye bağlı ağrılı n6ropati mekanizmalarının araştırılmasında ve davranışsal cevaplarının ortaya çıkarılmasında kemirgen modelleri sık olarak kullanılmaktadır(Courteix, Bardin, Chantelauze, Lavarenne&Eschalier, 1994; Fox vd., 1999).Bu tez çalışmasında, sıçanlarda STZ ile ind6klenen diyabet modelinde, yeni bir antidepresan ilaç olan agomelatininnosiseptif etkinliği davranış testlerive morfometrik analizler aracılığıyla değerlendirilmiştir.STZuygulanan deney hayvanlarında yapılan davranış testlerinde, enjeksiyondan sonraki 4.haftadan itibaren,sıanlarınlokomotor aktivitelerinde ve ağrılı uyaranlara karşı verdikleri yanıt s6relerinde anlamlı d6zeylerde kısıalma olduğu g6zlenmiştir.

N6ropatik ağrı, sinirlerde hasar ya da işlev kaybı ile karakterize bir tablodur.Ağrılı uyarana karşı oluşan artmış ağrı yanıtı olarak tanımlanan "hiperaljezi" ve ağrısız uyarana karşı oluşturulan ağrı yanıtı olarak tanımlanan "allodini" n6ropatik ağrının iki ana bulgusudur (Zhu vd., 2008).DeneySEL diyabet modeli oluşturulan sıçanların kuyruk sıkıştırmatestindemekanik uyarana verdikleri yanıtın anlamlı biçimde azalmış olması,mekanik hiperaljezigeliştiğini g6stergesidir.çalışmamızda elde ettiğimiz bu sonuçlar literat6r ile uyumlu olup, diyabete bağlı olarak gelişenhiperaljeziyanıtlardaha 6nce pek çok araştırma grubu tarafından yapılan çalışmalarda da rapor edilmiştir (Doğrul,G6l,Yıldız,Bilgin, & G6zeldemir, 2004; Romanovsky,Cruz,Dienel & Dobretsov, 2004; Li, Drel,Szabo,Stevens.& Obrosova 2005;Romanovsky vd., 2006; Beyreuther vd., 2007; Bordet vd., 2008; Cegielska-Perun, Bujalska-Zadrozyn.& Makulska-Novak 2012; Chauhan, Talyan & Sharma 2012).Bu araştırmalarda, diyabetik hayvanlarda mekanik hiperaljezi oluşumuna katkıda bulunan başlıca s6reler; derideki mekanosept6rlerin duyarlılığında artış (Suziki, Sato,Kwanishi & Mizumra, 2002a; Suziki vd., 2002b), primer duysal A-6 ve A-β liflerinin uyarı eşiklerinde azalma, ektopik deşarjlar(Khan, Chen &Pan, 2002), duysal C liflerinde mekanik uyarana karşı duyarlılıkta ve ileti hızında artış (Chen& Levine, 2001),arka k6k ganglionun6ronlarında spontanelektrofizyolojik aktivitede artış (Hall, Sima & Wiley, 1995; Hall, Sima & Wiley, 1996; Pertovaara, Wei,Kalmari & Ruotsalainen, 2001),spinotalamik yolağın n6ronlarında duyarlılık artışı ve resept6r alanlarında genişleme (Chen & Pan, 2002) olarak bildirilmiştir.

DeneySEL diyabet modeli oluşturulan sıçanların kuyruk çekme testinde ağrılı ısı uyarana verdikleri yanıtın anlamlı biçimde azalmış olmasıise termal allodiniyanıtının g6stergesidir.Farklı diyabet modellerinde

deney hayvanlarda mekanik hiperaljezi (Beyreuther vd., 2007; Courteix, Bardin, Chantelauze, Lavarenne & Eschali r, 1994) ve termal allodini (Beyreuther vd., 2007 ; Bordet vd., 2008) geliştiği rapor edilmiştir. Diyabetin termal allodiniye neden olduğunu ileri süren çalışmalara da rastlamak mümkündür (Apfel, Arezzo, Brownlee, Federoff & Kessler, 1994).

Çalışmamızda gözlenen mekanik hiperaljezi yanıtının enjeksiyonu takiben 4., 5. ve 6. haftalarda yapılan ardışık ölçümlerde de anlamlı derecede kısa olması ağrı yanıtının oluşmasında kalıcı bir takım değişikliklerin oluştuğuna işaret etmektedir. Nitekim yapılan morfometrik analizler de arka kök ganglionlarında bulunan duyu nöronlarında ve bu nöronların liflerinde önemli yapısal değişikliklerin oluştuğunu göstermiştir. Besson tarafından yazılan bir derlemede, sempatik sinir sisteminde artan aktivitenin sinir sonlanmalardan noradrenalin salınımına ve afferent nosiseptif nöronlarda aktivite artışına neden olmak suretiyle ağrı ve allodininin devam etmesine yol açtığı belirtilmiştir (Besson, 1999). Öte yandan, diyabetik kemirgenlerde termal ağrılı uyarana karşı oluşan yanıtın periyodik olarak izlendiği bazı çalışmalarda, STZ enjeksiyonunu izleyen ilk haftalarda termal hiperaljezi, daha ileri haftalarda ise termal hipoaljezi geliştiği rapor edilmiştir (Calcut, Freshwater & Mizisin, 2004). Sözü edilen raporlardaki bu farklı bulguların, oluşturulan diyabet modelinin şiddetinin ve süresinin farklılığı, uygulanan termal uyarının şiddetinin ve süresinin farklılığı, cinsiyet ve tür farklılıkları gibi nedenlerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

DeneySEL diyabet modellerinde oluşturulan nöropatik ağrıya bağlı olarak sinir sisteminde bazı moleküler değişiklikler meydana gelmektedir. Bunun ortaya çıkmasında; periferde sodyum kanalı birikimi, özellikle N-metil D-aspartat grubu glutamat reseptörlerinde artmış aktivite,  -aminobütirik asit (GABA-erjik) inhibisyonunda azalma, kalsiyumun hücreye geçişindeki değişiklikler önemli rol oynamaktadır (Jensen, 2002). Morfolojik olarak da C tipi duyu liflerinde kayıp, dorsal boynuzdaki geniş miyelinli liflerde tomurcuklanma ve nosiseptif liflerin en yoğun olarak bulunduğu laminalarda anatomik reorganizasyon gibi değişiklikler meydana gelmektedir (Kapur, 2003). Diyabette C liflerinin kaybı ile birlikte düşük eşik değerli A-β mekanoseptif liflerin dallanarak C lifleri ile patolojik sinaptik bağlantılar yaptığı ve oluşan bu yeni sinapslardan eksitator nörotransmitterlerin salındığı gösterilmiştir (Woolf & Doubell 1995). Bu bağlantılar nedeniyle, normal koşullarda dokunma duyusunu ileten ama ağrı ile ilişkili olmayan A-β liflerinin ağrı duyusu ile ilişkili hale geldiği; hafif bir dokunmanın bile ağrı stimulusu yarattığı ve

taktillalodininde bu mekanizma ile geliştiği ileri sürülmüştür(Kapur, 2003).Ek olarak, spontan ağrı ve allodiniye sebep olan sinir gövdesi inflamasyonları da primerafferentnosiseptörlerdektopik aktiviteyi ortaya çıkartmaktadır (Jensen, 2002).

Özetle, hiperaljezi ve allodini yanıtlarının oluşmasından, somatosensoriyel sistemde meydana gelen ve başlıca üç ana başlıkta toparlanabilen değişiklikler sorumlu tutulmaktadır: uyarılabilirlikartışı, inhibisyon azalışı ve yapısal reorganizasyon. Tüm bu süreçler ayrı ayrı veya ortak bir şekilde nöropatik ağrı bozukluklarınınpatogenezinde katkıda bulunabilmektedir.Bu nedenle de etiopatogeneizde rol oynayan mekanizmaların aydınlatılması, hasarlanan nöronlardaki rejenerasyon kapasitesinin arttırılması ve patolojik sinaptikplastisitenin azaltılması açısından önem taşımaktadır.Bu çalışmalardan elde edilecek sonuçlar, yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesine zemin hazırlayacaktır.

Diyabetik nöropatili hastalarda ağrının giderilmesi için analjezikler, non-steroid anti-inflamatuar ilaçlar ve opioidler yan etkilerinden dolayı tercih edilmediği için yeni tedavi stratejilerine ihtiyaç duyulmaktadır (Morello, 1999).Diyabetik nöropatinin tedavisinde öncelik glisemik kontrol olmakla birlikte, ağrının giderilmesi ve hastanın yaşam kalitesinin iyileştirilmesi bakımından, hastalığın tipine ve semptomlarına göre farklı tedavi seçenekleri kullanılmaktadır.Bunlar arasında en sık kullanılan ilaçların başında antikonvülzanlar, antidepresanlar ve opioidler gelmektedir.Tarihi gelişimi bakımından irdelendiğinde TCAs, nöropatik ağrı tedavisinde seratonin, noradrenalin gibi biyojenik aminlerin presinaptikolarak geri alımını sağlamaları nedeniyle öncelikli olarak kullanılan ilaçlardır(Max vd., 1992).Ancak tolerasyonu ve yan etkileri nedeniyle kullanımı sınırlıdır (Cayley, 2006; Ziegler, 2011).Buna karşılık fluoksetin, paroksetin ve sitalopramgibi SSRI grubu ilaçlar ile yapılan çalışmalarda, bu gruptaki ilaçların TCAs'ye göre çok daha düşük etkinliğe sahip oldukları gösterilmiştir. Öte yandan, yeni kuşak antidepresanlardan özellikle SNRI olan venlafaksin ise TCAs'lara göre yan etki profilinin daha az olması ve daha kolay tolere edilebilmesi nedeniyle gerek kanser, gerekse ağrılı diyabetik nöropatitedavisinde kullanılmaktadır(Ray, Meredith, Tahapa, Hall&Murray, 2004).Daha da önemlisi ilacın antinosiseptif etki dozuna antidepresan etki dozundan daha düşük dozda ulaşılmaktadır(Briley, 2004).

Bizim çalışmamızda kullanılan agomelatinadlı ilaç ise diğer antidepresan ilaçlardan farklı olarak tümüyle yenilikçi bir reseptör profiline sahiptir. Pineal bezde sentezlenip salıverilen melatonin hormonunun bir analogu olan agomelatin etkisini, hem G proteinine bağlı membran

reseptörleri olan MT1 ve MT2 reseptörleri üzerinden, hem de 5-HT_{2c} reseptörü üzerinden frontokortikal bölgelerdeki noradrenerjik ve dopaminerjik salınım üzerindeki inhibisyonu ortadan kaldırmak suretiyle göstermektedir (Millan vd., 2003). Bu sebeple noradrenalin-dopamin disinhibitörü olarak da adlandırılan agomelatin adlı ilacın antidepressan, anksiyolitik, bilişsel işlevler, öğrenme ve bellek etkinliği üzerinde farklı hayvan modelleri üzerinde yapılmış çok sayıda yeni çalışmalar bulunmaktadır (Norman vd., 2012; Paizanis vd., 2010). Ancak nosiseptif etkinliği üzerine yapılan çalışmalar sınırlı sayıdadır. Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada, agomelatinin nosiseptif sistem üzerindeki etkisini araştırmak amacıyla, 12.5 mg/kg ve 25 mg/kg dozlarında uygulanan ilacın yüksek doz grubunda antinosiseptif etkiye sahip olabileceği ortaya konulmuştur (Yüksel vd., 2014). Bizim çalışmamızda da agomelatinin diyabetik sıçanlardaki subakut antinosiseptif etkinliğini araştırmak amacıyla ilaç, iki farklı dozda olmak üzere, 14 gün süreyle uygulandıktan sonra deney hayvanlarının ağrı yanıtları üzerindeki etkinliği davranış testleri aracılığıyla değerlendirilmiştir.

STZ ile indüklenen diyabet modelinde, deney hayvanlarının lokomotor aktivitelerinde kontrol gruplarındakilere oranla anlamlı düzeylerde azalma olduğu tespit edilmiştir. Diyabetik sıçanlara 40 mg/kg ve 80 mg/kg dozlarında uygulanan agomelatin tedavisinin, sıçanların yatay ve dikey hareket sayıları üzerinde bir değişikliğe yol açmadığı gözlenmiştir. Deney hayvanlarının 'agorafobi' denilen açık alan korkusu kendi ortamından alınıp tek başına bilmediği bir ortama bırakılması nedeniyle, hayvanlarda anksiyete davranışını tetiklemektedir. Deney hayvanlarının anksiyete düzeyinin değerlendirilmesinde otonom fonksiyonların da göstergesi olan "stereotipik hareketler" ve defekasyon sayısı dolaylı olarak fikir vermektedir. Rodentlerde gözlenen kemirme, taranma, dikilme, sık sık başını havaya kaldırıp koklama, esneme, yalanma ve kaşınma gibibelli başlı stereotipik hareketlerinin sayısı, yatay hareket sayısı ile doğru orantılı olarak değerlendirilmektedir. Aktivite kafesindeki ambulatuvar hareketler ve çevreyi keşfetme davranışları ise dikey hareketlerin sayısı ile doğru orantılı olarak değerlendirilebilmektedir.

Sıçanların aktivite metre testi süresince yapmış oldukları farklı hareketlerin sayıları zaman içerisinde bireysel farklılıklar gösterebileceği için, yatay ve dikey hareket sayımları 3 ardışık hafta boyunca yapılarak değerlendirilmiştir. Ancak bu tekrarlayan ölçümlerde, tedavi süresinin ve tedavi dozunun hareket sayıları üzerinde anlamlı bir etkisi görülmemiştir.

Öte yandan agomelatin ile tedavi edilen diyabetik sıçanların mekanik ve termal uyaranlara karşı verdikleri yanıt sürelerinde anlamlı düzeyde uzama görülmesi ve benzersonuçların morfometrik analizler sonucunda da elde edilmesi, bu ilacın diyabetik nöropatidehiperaljezik yanıtın ve allodininin önlenmesinde önemli bir terapötik potansiyel taşıdığına işaret etmektedir.Diyabetik nöropatide sinir liflerinde ve duyuusal nöronlarda meydana gelen dejenerasyon ya da aşırı stimülasyon sonucundaserbest aminoasitler tarafından uyarılan ağrı yolları, nosiseptif nöronların spontan aktivitesini arttırabilir.MSS'nde nosiseptif nöronların işlevlerini yerine getirmesinde ve modülasyonunda serotonin, noradrenalin, GABA ve diğer endojenopioidler önemli rol oynamaktadır.

Agomelatin, melatonin MT1 ve MT2 reseptörler üzerine güçlü bir agonist aktiviteye sahip olmakla beraber, ağrı yanıtı üzerindeki etkinliğini tek başına bu özelliği ile açıklayabilmek güçtür.Melatonin MT1ve MT2reseptörleri, hipotalamus'un nucleus suprachiasmaticus (SCN)'u, hippocampus,nucleusaccumbens ve frontal korteks gibi depresyon ve anksiyete ile ilişkili limbik yapılarda bulunmaktadır. Öte yandan ilacın monoamin kaynaklıserotonin 5-HT2C reseptörleriniantagonize edici ve beyin nöroplastisitesini düzenleyici etkilerinin sinerjik birlikteliği (Paizanis vd., 2010; Hickie& Roberts 2011), hiperaljezik yanıtın önlenmesinde daha öncelikli bir rol oynayabilir. Zira 5-HT2C reseptörleri, SCN'ninyanı sıra ventraltegmental alan (VTA)' da, frontal korteks, locuscaeruleus, amigdala ve hippocampus gibi bölgelerde daha yaygın olarak bulunmaktadır. SCN'denmezokortikal ve mezolimbikdopaminerjik yolların çıkış noktası olan nucleusventrotegmentalis'e ulaşan bir yolak söz konusudur. Bu nöronal bağlantı SCN'de lokalize olan 5-HT2C reseptörlerin inisi dopaminerjik ileti üzerine dolaylı etkilerine aracılık etmektedir (Luo & Aston-Jones, 2009; Bodinat vd., 2010).Prefrontaladrenerjikyolların başlangıcı olan VTA ve locuscaeruleusta da yeterince 5-HT2C reseptörleri vardır ve bunlar noradrenerjik iletim ile ilişkilidir. Frontalkortekste yer alan eksitator 5- HT2C reseptörleri GABAerjik ara nöronlar üzerinde bulunduğundan, bunlarınblokajıfrontokortikaldopaminerjik ve adrenerjik iletinin disinhibisyonuna yol açmaktadır(Uzay, 2012).Bundan sonra yapılacak çalışmalarda, agomelatinin özellikle düşük dozlarda (40 mg/kg) daha belirgin bir şekilde gözlediğimiz antinosiseptif etkinliğinin altında yatan moleküler mekanizmaların araştırılması ve analjezik etkinliğe sahip nörotransmitter düzeylerinde meydana gelen değişikliklerin araştırılması planlanmaktadır.

Deneyisel diyabet modellerinde meydana gelen moleküler değişikliklere ek olarak,diyabetin oluşmasını izleyen haftalar içerisinde

miyelinsizC liflerinde kayıplar olduğu ve özellikle nosiseptif nöronlarda hasarlanma meydana geldiği bildirilmiştir. Detaylı morfometrik incelemelerde, duyu ganglionlarının proksimal ve distal kısımlarında şişme, akso-gliyal bozulmalar olduğu, bu hasarlanmalara paranodal ve segmental demiyelinizasyonun eşlik edebildiği gösterilmiştir (Medori vd., 1988). STZ ile indüklenen 8-12 haftalık diyabetik sıçanlarda, ince sinir lifi yüzdesinde azalma olduğu ortaya konulmuştur (Yagihashi, Kamijo & Watanebe, 1990). STZ ile indüklenen diyabetik sıçanlarda yapılan patolojik incelemelerde, osmotik büzüşmeden dolayı aksonlarda atrofi ve olgunlaşma bozukluğu olduğu, organellerin yeterince yoğunlaşamadığı gösterilmiştir (Sima & Yagihashi, 1986; Yagihashi, 1995).

STZ ile diyabet yapılan sıçanlarda enjeksiyondan 4 hafta sonra soma çaplarında ve sinir lifi uzunluklarında azalma olduğu, küçük çaplı liflerin büyük çaplı liflerle kıyaslandığında daha fazla etkilendiği; morfometrik analizlerde miyelinli liflerde demiyelinizasyon, akson yapısında anormallikler ortaya konulmuştur. Aynı çalışmada proksimaldeki liflerin korunduğu, ancak daha distaldeki miyelinli liflerin akson çaplarında azalma olduğu gözlenmiştir (Jacopsen 1976; Yagihashi, S. & Sima 1985). Bizim çalışmamızda da deney hayvanlarının 4. ve 5. lumbal vertebra seviyelerine karşılık gelen arka kök ganglionlarından alınan yarı ince kesitlerde yapılan mikroskopik incelemelerde, STZ ile diyabet oluşturulan gruplardaki duyu nöronlarının gövdelerinin kontrol gruplarına kıyasla daha küçük olduğu gözlenmiştir.

Birçok araştırmacı deneysel diyabet oluşturulan farelerde segmental demiyelinizasyon, axonal dejenerasyon, paranodal miyelin kılıfı anormalliklerini ortaya koymuştur (Powell vd., 1977; Yagihashi, Nishihira, M. & Baba, 1979). Diyabetik hayvanların duyu ganglionlarında hafif atrofi, koyu boyanma, diyabetik sıçanlarda küçük çaplı nöron yoğunluğu artması ile birlikte, büyük nöronlarda büzüşme, atrofi, vakuoler dejenerasyon dorsal kök ganglion hücrelerinde diyabete bağlı olarak meydana gelen değişikliklerdir (Sasaki, Schmelzer, Zollman & Low, 1997). Nitekim bizim diyabetik sıçanların arka kök ganglionlarından aldığımız yarı ince kesitler üzerinde yapılan morfometrik analizlerde de, lif çapı uzunluklarında ve soma çapı değerlerinde azalma görülmesi literatürdeki diğer çalışmalarını desteklemektedir. Ek olarak, diyabetik sıçanların soma çapı histogramlarında da belirgin bir sağa kayma gözlenmiştir. Diseksiyonlar esnasında da spinal ganglionların kontrol grubundakilere göre daha atrofik olduğu dikkati çekmiştir. Literatürde, diyabetik mikroangiopatik değişikliklere bağlı olarak endoneural kapillerlerde yapısal bozukluklar olduğu bildirilmiştir. Bu kapillerlerin bazal laminalarında belirgin bir

kalınlaşma olduğuna ve buna bağlı olarak meydana gelen iskemik değişikliklerin duyuşal sinirlerde morfolojik değişikliklere yol açtığına işaretedilmektedir (Johnson,Doll&Cromey, 1986). Bu bulgular, endonöral iskemik değişikliklerin sinirlerde meydana gelen atrofik değişikliklerden sorumlu olabileceğini düşündürmektedir.Yine aksonlarınözellikle distal uçlarındagözlenen dejeneratif değişiklikler,nöronların gövdelerine retrograd yolla taşınan nörotrofik faktör desteğini sekteye uğratmak suretiyle de nöronlarda atrofik değişikliklereneden olabilir (Said, 2007).Çalışmamızda, agomelatin ile tedavi edilen gruplarda ilacın özellikle düşük doz uygulaması, duyuşal nöronlarda görülen yapısal değişikliklerin geri döndürülmesinde etkili olmuştur.Bundan sonra yapılacak çalışmalarda agomelatin tedavisinin duyuşal nöronlarda meydana getirdiği yapısal değişikliklerin ileri tetkikler ve elektron mikroskopik analizlerle değerlendirilmesi gerekmektedir.

6-SONUÇ VE ÖNERİLER

DM, toplumda en sık rastlanan hastalıkların başındadır. Diyabetik hastaların %30'unda nöropatik ağrı görülmektedir. Diyabetik nöropati hastalarda, ağrıya iştah kaybı, anksiyete, depresyon, dikkatini odaklama sorunu, uyku problemleri ve enerji eksikliği gibi bozukluklar da sıklıkla eşlik etmektedir. Bu nedenle diyabetik nöropati, işgücü ve verimliliği önemli düzeyde azaltan önemli bir komplikasyondur. Diyabet görülme sıklığının bütün toplumlarda giderek artması, nöropatik ağrıya doğru tanı konmasının ve tedavisinin de önemini artırmaktadır.

Ağrılı diyabetik nöropatinin tedavisinde antidepresanlar, epilepsi tedavisinde kullanılan antikonvülzanlar ve uzun etkili opioidler tercih edilmektedir. Bu tez çalışmada sıçanlarda STZ ile indüklenen diyabetik nöropati modelinde, yeni bir antidepresan ilaç olan agomelatinin, antinosiseptif etkinliği araştırılmıştır.

Bu amacı test etmek için yapılan kuyruk çekme ve kuyruk sıkıştırma deneylerinde, agomelatinin 40 mg/kg ve 80 mg/kg dozlarında 14 gün süreyle kullanımının, mekanik hiperaljezi ve termal allodini yanıtlarında düzelme sağladığı bulunmuştur. Öte yandan diyabetik sıçanların lokomotoraktivitelerinde anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir.

Diyabetik sıçanların lumbal bölgeden alınan arka kök ganglionu kesitlerinde yapılan morfolojik analizlerde, duyu nöronlarının soma çaplarında azalma, sinir lifi kayıpları ve atrofik değişiklikler olduğu gözlenmiştir. Bu bozuklukların geri döndürülmesinde düşük dozda uygulanan agomelatin tedavisinin daha etkili olduğu bulunmuştur.

Bu nedenle diyabetik nöropati düzeyinin belirlenmesinde ve tedavide kullanılacak ilaçların etkinliğinin değerlendirilmesinde, davranış testleri ile belirlenen işlevsel bozukluklara ilaveten, deri biyopsilerinde yapılacak histopatolojik incelemelerde sinir liflerinde meydana gelen yapısal bozuklukların da birlikte değerlendirilmesi önerilmektedir.

Agomelatinin hem potent bir melatonin reseptör agonisti olması, hem de 5-HT_{2c} reseptör antagonisti etkisine sahip olması, klasik ve anksiyeteli depresyon modellerinde ve sirkadiyen ritim bozukluklarındaki etkililiğini açıklamaktadır. Ancak nosiseptif etkinliğinin mekanizmaları henüz bilinmemektedir.

Bu tez çalışmasından elde edilen sonuçlar, agomelatinin sadece depresyon tedavisinde değil, nöropatik ağrı tedavisinde de yeni bir tedavi yaklaşımı olarak kullanılabileceğini önermektedir. Agomelatinin diabetik hastalarda insidansı yüksek olan nöropatik ağrının tedavisinde uygun ilaç seçimine yönelik yeni yaklaşımlara prelinik bir temel sağlaması için bu elde edilen bulguların klinik çalışmalar ile doğrulanması gerekmektedir. Bundan sonra yapılacak çalışmalarda, agomelatinin hangi moleküller ve mekanizmalar üzerinden ağrı yanıtında düzelme sağladığının araştırılması amaçlanmaktadır.

7-KAYNAKLAR

Adell, A., Castro, E., Celada, P., Bortolozzi, A., Artigas, F. (2005). Strategies for producing faster acting antidepressant. Drug Discovery Today, 10: 578-585.

Afilalo, M., Morlion, B. (2013). Efficacy of tapentadol ER for managing moderate to severe chronic pain. Pain Phys, 16: 27-40.

Ahmad, M., Goucke, C. R. (2002). Management strategies for the treatment of neuropathic pain in the elderly. Drug AGING, 19: 929-945.

Akdeniz, F. (2012). Agomelatin: Yeni antidepressan ilaç ve yeni bulgular. Journal of Mood Disorders, 2 (Suppl. 1):s14-58 doi:10.5455/jmood.20120924064532

American Diabetes Association (A.D.A). (2006). Diagnosis and classification of diabetes mellitus, Diabetes Care, 29 (1): 43-48.

American Diabetes Association (A.D.A). (2010). Diagnosis and classification of diabetes mellitus, Diabetes Care, 29 (1): 43-48.

Applebaum, M. L., Vance, W. H., Clifton, G. L., Willis, W. D, Jr, Coggeshall, R. E. (1975). Unmyelinated preganglionic fibers in frog ventral roots. J Comp Neurol., 164(1):117-25.

Apfel, S. C., Arezzo, J. C., Brownlee, M., Federoff, H., Kessler, J. A. (1994). Nerve growth factor administration protects against experimental diabetic sensory neuropathy. Brain Res., 634(1):7-12.

Arıncı, K., Elhan, A. (1995) Anatomi 2.cilt (Baskı yılı 2009), Ankara: Güneş Kitapevi.

Bağrıaçık, N. (1997). *Tanı, komplikasyonlara yaklaşım, tedavi konsensus el kitabı*. Novo-nordisk, İstanbul: Diyabet Servisi Yayınları.

Banerji, M., Lebovitz, H. (1989). Insulin sensitive and insulin resistant variants in IDDM. Diab Med, 38: 784-92.

Baron, R., Mayoral, V., Leijon, G., et al. (2009). Efficacy and safety of combination therapy with 5 % lidocaine medicated plaster and pregabalin in post-herpetic neuralgia and diabetic polyneuropathy. Curr Med Res Opin., 25:1677-87.

Bennett, G. J., Xie, Y. K. A. (1988). Peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. Pain, 33:87-107.

Benwahhoud, M., Jouad, H., Eddouks, M., Lyoussi, B. (2001). Hypoglycemic effect of *Suaeda fruticosa* in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Rethnopharmacol*, 76: 35-8.

Berne, R. M., Levy, M. N., Kooppen, B. M., Stanton, B. A. (2008). *Fizyoloji* (5. Baskı) Ankara: Güneş Tıp Kitabevi.

Besson, J. M. (1999). The neurobiology of pain. *Lancet*, 353: 1610-1615.

Beyruther, B. K., Callizot, N., Brot, M. D., Feldman, R., Bain, S. C., Stöhr, T. (2007). Antinociceptive efficacy of lacosamide in rat models for tumor and chemotherapy-induced cancer pain. *Eur. J. Pharmacol.*, 565 (1-3): 98-104.

Blackburn-Munro, G., Blackburn-Munro, R. E., (2001). Chronic pain, chronic stress and depression: coincidence or consequence? *Neuroendocrinol*, 13 (12): 1009-1023.

Blom, S. (1962). Trigeminal neuralgia: its treatment with a new anticonvulsant drug (G-32883). *Lancet*, 1(7234): 839-840.

Blommel, M. L., Blommel, A. L., (2007). Pregabalin: an antiepileptic agent useful for neuropathic pain. *Am J Health Syst Pharm.*, 64: 1475-82.

Bradshaw, R. A., Murray-Rus, J., Ibanez, C. F., McDonald, N. Q., Lapatto, R., Blundell, T. L. (1994). Nerve growth factor: structure / function relationships. *Protein Sci*, 3: 1901-1913.

Braunwald, E., Fauci, A. S., Kasper, D. L., Hauser, S. L., Longo, D. L., Jameson, J. L. (2004). *Diabetes Mellitus. Harrison İç Hastalıkları Prensipleri*, (15. edisyon). Nobel Tıp Kitabevleri, 2: 2109-2138

Briley, M. (2004). Clinical experience with dual action antidepressants in different chronic pain syndromes. *Human Psychopharmacology*, 19 (Suppl. 1), S21-25.

Burchiel, K. J., Russel, L. C., Lee, R. P., and Sima, A. A. (1985). Spontaneous activity of primary afferent neurons in diabetic BB/Wistar rats. A possible mechanism of chronic diabetic neuropathic pain. *Diabetes*, 34:1210-1213.

Busehard, K., Danisbo, P., Ropke, C. (1986). Activated CD4 + and CD8+ T lymphocytes in newly diagnosed Diabetes mellitus. *N Eng J Med*, 315: 1360-68.

Bordet, T., Buisson, B., Michaud, M., Abitbol, J. L., Marchan, F., Grist, J., Andriambeloson, E., Malcangi, M., Pruss, R. M. (2008). Specific antinociceptive activity of cholest-4-en-3-one, oxime (TRO19622) in experimental models of painful diabetic and chemotherapy-induced neuropathy, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 326 (2): 623-632.

Bodinat, C.,Guardiola-Lemaitre, B.,Mocaër, E., Renard, P.,Muñoz, C.,Millan, M. J. (2010). Agomelatine, the first melatonergic antidepressant: discovery, characterization and development. *Nat Rev Drug Discov.*, 9(8):628-42.

Boulton, A. J. M., (2007). Diadiyabetik nöropati: sınıflanması,ölçümü, tedavisi, *Curr.Opin.Endocrinol. Diabetes Obes.*, 2 (3): 142-144.

Boyle, J. P., Honeycutt, A. A., Narayan, K. M., et al. (2001). Projection of diabetes burden through 2050: impact of changing demography and disease prevalence in the US. *Diabetes Care*, 24:1936-40.

Calcutt, N. A. (2002). Potential mechanisms of neuropathic pain in diabetes. *Int Rev Neurobiol*, 50: 205-28.

Calcutt, N.A.,Freshwater, J. D.,Mizisin, A. P.(2004). Prevention of sensory disorders in diabetic Sprague-Dawley rats by aldose reductase inhibition or treatment with ciliary neurotrophic factor.*Diabetologia*, 47(4):718-24.

Cayley, W.E. (2006). Antidepressants for the treatment of neuropathic pain.*Am Fam Physician*, 73: 1933-4.

Cecil (2000)Textbook of Medicine (21st edition) W.B. Saunders Company, ISBN:0-7216-7995-1, p:1263-1283.

Chapman, V., Suzuki, R., Dickenson, A. H. (1998).Elektrophysiology characterization of spinal neuronal response properties in anesthetized rats after ligation of spinal nerves L5-L6. *J.Physiol (Lond)*, 507: 881-894.

Chen, X., Levine, J. D.(2001). Hyper-responsivity in a subset of C-fiber nociceptors in a model of painful diabetic neuropathy in the rat.*Neuroscience*,102(1):185-92.

Chen, S. R, Pan, H. L., Khan, G.M.(2001). Antiallodynic effect of intrathecal neostigmine is mediated by spinal nitric oxide in a rat model of diabetic neuropathic pain. *Anesthesiology*, 95(4):1007-12.

Chen, S. R, Pan, H. L.(2002). Hypersensitivity of spinothalamic tract neurons associated with diabetic neuropathic pain in rats. *J Neurophysiol*. 87(6):2726-33.

Chen, S. R., Samoriski, G., Pan, H. L. (2009). Antinociceptive effects of chronic administration of uncompetitive NMDA receptor antagonists in a rat model of diabetic neuropathic pain. *Neuropharmacology*, 57(2): 121–126.

Colombo, B., Annovazzi, P. O. (2006). Comi G. Medications for neuropathic pain: Current trends. *Neurol Sci*, 27 (Suppl 2): 183-9

Coggeshall, R. E., Reynolds, M. L., Woolf, C. J. (1991). Distribution of the growth associated protein GAP-43 in the central processes of axotomized primary afferents in the adult rat spinal cord; presence of growth cone-like structures. *Neurosci Lett.*, 131(1):37-41.

Courteix, C., Bardin, M., Chantelauze, C., Lavarenne, J., Eschalier, A. (1994). Study of the sensitivity of the diabetes-induced pain model in rats to a range of analgesics. *Pain*, 57: 153–160.

Crawford, J. M., Cotran, R. S. (1994). The Pancreas. In: Cotran RS, Kumar V, Collins T. eds. *Pathologic Basis of Disease*. USA: W.B. Saunders Company, 913-20.

Çorakçı, A. (1997). Diyabetik Nöropati: Galenos Aylık Sağlık Meslek Dergisi, 1:51.

Cegielska-Perun, K., Bujalska-zadrozny, M., Makulska-Nowak, H. E. (2012). Modification of morphine analgesia by venlafaxine in diabetic neuropathic pain model, *Pharmacol. Rep.*, 64 (5): 1267-1275.

Chauhan, N., Taliyan, R., Sharma, P. L. (2012). Effect of dipyrone and thalidomide alone and in combination on STZ-induced diabetic neuropathic pain. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 385 (5): 527-538.

Dacosta Dibonaventura, M., Cappelleri, J. C., Joshi, A. V. A. (2011). Longitudinal assessment of painful diabetic peripheral neuropathy on health status, productivity, and health care utilization and cost. *Pain Med.*, 12(1): 118-26.

Daneman, D. (2006). Type 1 diabetes, *Lancet*, 367 (9513): 847–858.

Deckert, T., Kofeod-Enveoldsen, A., Norgorad, K. et al. (1992). Micro albuminuria: Implication for micro and macrovascular disease *Diabetologia*, 15: 1181-1191.

Detke, M. D., Goldstein, Y., Lu, S., Iyengar, & T. Lee. (2003). Efficacy of duloxetine in the treatment of pain associated with diabetic neuropathy. *Diabetologia*, 46 (suppl 2), A315.

Diabetes Control and Complications Trial Research Group. (1993). The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Eng J Med.*, 329: 977-86.

Dinah, W.Y. Sah., Michael, H. Ossipo., Frank, Porreca. (2003) Neurotrophic factors as novel therapeutics for neuropathic pain. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2: 460-472 doi:10.1038/nrd1107

Dyck, P. J., Kratz, K.M., Karnes, J.L., Litchy, W.J., Klein, R., Pach, J.M., Wilson, D.M., O'Brien P.C., Melton, L.J. (1993). The prevalence by staged severity of various types of diabetes neuropathy, retinopathy, and nephropathy in a population-based cohort. *Neurology*, 43: 817-824.

Doğrul, A., Gül, H., Yıldız, O., Bilgin, F., Güzeldemir, M. E. (2004). Cannabinoids block tactile allodynia in diabetic mice without attenuation of its antinociceptive effect. *Neurosci. Lett*, 368 (1): 82-86.

Eisebbarth, G. S., (1986). Type 1 diabetes mellitus; a chronic autoimmune disease. *N Eng J Med*, 314: 1360-68.

Eisenberg, E., Lurie, Y., Braker, C., Daoud, D., Ishay, A. (2001). Lamotrigine reduces painful diabetic neuropathy: a randomized, controlled study. *Neurology*, 57: 505-9.

Eisenberg, E., McNicol, E. D., Carr, D. B. (2005). Efficacy and safety of opioid agonists in the treatment of neuropathic pain of nonmalignant origin: Systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *JAMA*, 293: 3043-52.

Erdine, S. (2000). Ağrı Mekanizmaları. 3. Baskı (Ed.), Ağrı içinde s.19-27. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri.

Erlanger, J., Gasser, H. S. (1968). Nobel prize for Joseph Erlanger and Herbert S. Gasser in 1944 for the discovery of high differentiation of the functions of various nerve fibres. *Wiad Lek.*, 21 (14):1273-4.

Erichsen, H. K., Munro, G. B. (2002). Pharmacological characterisation of spared nerve injury model of neuropathic pain. *Pain*, 98: 151-61.

Ertuş, M., Sağduyu, A., Araç, N., Uludağ, B., Ertekin, C. (1998). Use of levodopa to relieve pain from painful symmetrical diabetic polyneuropathy. *Pain*, 75: 257-9.

Ertekin, C. (1993). Ağrının nöroanatomi ve nörofizyolojisi. Yegül İ (Editör), İzmir: Ağrı ve Tedavisi, Deva Holding, s.1-2.

Eschwege, E., Simon, D., Balkau, B. (1997). The growing burden of diabetes in the world population. *International diabetes federation Bulletin*, 42: 149.

Felten, D.L. (1979). Spinal cord alterations in streptozotocin induced diabetes: *Anat Rec*, 193: 741.

Fong, D. S, Aiello, L., Gardner, T. W., King, G. L., Blankenship, G., Cavallerano, J. D., et al. (2004). Retinopathy in diabetes. *Diabetes Care*, 27(suppl 1): S 84-7.

Fox, A., Eastwood, C., Gentry, C., Manning, D., Urban, L. (1999). Critical evaluation of the streptozotocin model of painful diabetic neuropathy in therat. *Pain*, 81: 307–316.

Galer, B. S., Gianas, A., Jensen, M. P. (2000). Painful diabetic polyneuropathy: epidemiology, pain description, and quality of life. *Diabetes Res Clin Pract*, 47: 123-128.

Ganong,. W. F. (1999). *Tıbbi Fizyoloji* (19. Baskı) İstanbul: Barış Kitabevi.

Gardell, L. R. (2003). Multiple actions of systemic artemin in experimental neuropathy. *Nat. Med.*, 9: 1383–1389.

Gérard, S.(2006) Diabetic neuropathy: a review *Nature Clinical Practise Neuroloji*, 3: 331-340 doi:10.1038/ncpneuro0504

Gökçek, İ. (2008). Tip 2 diyabetli hastalarda efor testi ile mpv arasındaki ilişkinin diyabetin diğer parametreleri ile beraber değerlendirilmesi, *Uzmanlık Tezi*, Sağlık Bakanlığı Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul.

Gries, F. A., Cameron, N. E., Low, P. A. (2003). Diabetes Mellitus. In: Gries, F. A., (Ed.). *Textbook of Diabetic Neuropathy*, p. 1-16.

Guyton, A. C., Hall, J. E. (1996). *Textbook of Medical Physiology* (8th Ed.). İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri.

Güner, A. (2005). Diabetik hastaların Diabetik Ayak ile ilgili Bilgi ve tutumlarının irdelenmesi ve HbA1c'nin Diabetik Ayak ile ilişkisi, T.C. Sağlık Bakanlığı Taksim Eğitim ve araştırma Hastanesi Aile Hekimliği, Uzmanlık Tezi, İstanbul, Türkiye.

Hall, K. E., Sima, A. A. F., Wiley, J.W.(1995).Voltage-dependent calcium currents are enhanced in dorsal root ganglion neurons from the Bio Bred/Worcchester diabetic rat. *J.Physiol.*, 486 (2): 313-322.

Hall, K. E., Sima, A. A. F., Wiley, J.W.(1996).Opiate-mediated inhibition of calcium signaling is decreased in dorsal root ganglion neurons from the diabetic BB/W rat. *J.Clin. İNVEST.*, 97 (5): 1165-1172.

Harrison, L. C., Campell, I. C., Alison, J., Miller, J. E. (1989). MHC molecules and B cell destruction.İmmune and non immune mechanism. *Diabetes*, 38: 815-18.

Hickie, I. B., Rogers, N. L. (2011). Novel melatonin-based therapies: potential advenced in the treatment of major depression. *Lancet*, 378:621-631.

Hirsch, I. B. (1999). Type 1 diabetes mellitus and the use of flexible insulin regimens, *Am. Fam. Physician.*, 60 (8): 2343-2352.

İlicin, G., Biberöğlu, K., Süleymanlar, G., Unal, S. (2003).İç Hastalıkları, (2.Baskı). Ankara: Günes Kitapevi.

İmamoğlu, S. (2005).Diabetes Mellitus.(Ed. Dolar E), İç Hastalıkları, İstanbul: Nobel&Güneş Tıp Kitabevi.

Isotani, H., Kameoka, K. (1999). Hypoglisemia associated with maprotiline in a patient with type I diyabetes. Diabetes Care, 22(5): 862-863.

Iwai, S., Kiguchi, N., Kobayashi, Y., Fukazawa, Y., Saika, F., Ueno, K., Yamamoto, C., Kishioka, S.(2012). Department of Pharmacology, 6(1):31-37

Jacobsen,S.,Sonne-Holm.,Rovsing, H.,Monrad, H.,Gebuhr, P.(1976). Degenerative lumbar spondylolisthesis: an epidemiological perspective: The Copenhagen Osteoarthritis Study, 32(1):120-5.

Jensen, T. S. (2002). Anticonvulsants in neuropathic pain:rationale and clinical evidence. European Journal of pain, 6(Suppl A): 61-68.

Johnson, P. C.,Doll, S. C.,Cromey, D. W.(1986). Pathogenesis of diabeticneuropathy.Ann Neurol., 19(5):450-7.

Kamilya, H., Murakawa, Y., Zhang, W., Sima, A. A. F. (2005). Unmyelinated fiber sensory neuropathy differs in type I and type 2 diabetes. Diabetes Metab Res Rev, 21:448-458.

Kartal, F., Özyalçın, N. S. (2004).Hayvanlarda akut ve kronik ağrı modellerinin değeriendirilmesi. Önal A (Editör). Algoloji, Ankara: Medipres, s.299-315.

Kayaalp, O. S. (2002). Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd. Şti., Ankara, 829: 1177-1220.

Khazaie, H., Rahimi, M., Tatari, F., Rezaei, M., Najafi, F., Tahmasian, M., (2011). Treatment of depression in type 2 diabetes with fluoksetine or citalopram, Neurosciences (Riyadh), 16(1):42-45.

Khan, G. M.,Chen, S. R., Pan, H. L.(2002).Rol of primaryafferentnerves in allodyniacausedbydiabeticneuropathy in rats. Neuroscience, 114 (2):291-299.

Kapur, D.(2003). Neuropathic pain and diabetes.Diabetes Metab Res Rev., 19 Suppl 1:S9-15.

Kim, S. H., Chung, J. M. (1992). An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat. Pain, 50: 355-63.

King, H., Aubert, R. E., Herman, W. H. (1998). Global burden of diabetes, 2025: Prevalence, numerical estimates and projections. *Diabetes Care*, 21: 1414.

Kuzuya, T., Nakagawa, S., Satoh, J., Kanazawa, Y., Iwamoto, Y., Kobayashi, M., Nanjo, K., Sasaki, A., Seino, Y., Ito, C., Shima, K., Nonaka, K., Kadowaki, T. (2002). Report of the Committee on the classification and diagnostic criteria of diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract.*, 55(1):65-85.

Laakso, M., Goldstein, B.J., Wieland, D.M. (2003). Tip 2 diyabetin epidemiyolojisi ve tanısı. In: *Tip 2 Diyabet*, İstanbul, pp: 2-12.

LaRoche, S. M., Helmers, S. L. (2004). The new antiepileptic drugs: scientific review. *JAMA*, 291(5): 605-614.

Lee, D. H., Singh, J. P., Lodge, D. (2005). Experiments with nitric oxide synthase inhibitors in spinal nerve ligated rats provide no evidence of a role for nitric oxide in neuropathic mechanical allodynia. *Neuroscience*, 385: 179-83.

Li, F., Drel, V. R., Szabo, C., Stevens, M. J., Obrosova, I. G. (2005). Low dose polymerase (ADP ribose) inhibitor containing combination therapies reverse early peripheral diabetic neuropathy. *Diabetes*, 54 (5): 1514-1522.

Lindsay, T. J., Rodgers, B. C., Savath, V., Hettinger, K. (2010). Treating diabetic peripheral neuropathic pain. *Am Fam Physician*, 15; 82(2): 151-8.

Lustman, P. J., Griffith, L. S., Clouse, R. E., Freedland, K. E., Eisen, S. A., Rubin, E. H., Carney, R. M., McGill, J. B. (1997). Effects of nortriptyline on depression and glisemic control in diabetes: Result of a double-blind, placebo-control trial, *Psychosom. Med.*, 59 (3): 241-250.

Lustman, P. J., Freedland, K. E., Clouse, R. E. (2000). Fluoksetin for depression in diabetes: a randomized double-blind placebo-controlled trial. *Diabetes care*, 23 (5): 618-623.

Luo, A. H., Aston-Jones, G. (2009). Circuit projection from suprachiasmatic nucleus to ventral tegmental area: a novel circadian output pathway. *Eur J Neurosci.*, 29(4):748-60.

Maldonado, M. D., Reiter, R. J., Perez-San-Gregorio, M. A. (2009). Melatonin as a potential therapeutic agent in psychiatric illness. *Hum Psychopharmacol*, 24: 391-400.

Mahmood, D., Akhtar, M., Vohora, D., Khanam, R. (2010). Comparison of antinociceptive and antidiabetic effects of sertraline and amitriptyline on streptozocin-induced diabetic rats. *Hum. Exp. Toxiol.*, 29 (10): 881-886.

Mairesse, J., Vercoutter-Edouart, A. S., Marrocco, J., Zuena, A. R., Giovine, A., Nicoletti, F., Michalski, J. C., Maccari, S., Morley-Fletcher, S. (2012). Proteomic characterization in the hippocampus of prenatally stressed rats. *J Proteomics*, 75(6):1764-70.

Mark, F. Bear., Barry, W., Connors, Michael, A. Paradiso (2016). *"Neuroscience: Exploring the Brain"* (3rd Edition). United States of America: Lippincott Williams & Wilkins.

Max, M. B., Lynch, S. A., Muir, J., Shoaf, S. E., Smollerand, B., Dubner, R. (1992). Effects of desipramine, amitripyline, and fluoxetine on pain in diabetic neuropathy. *New Eng. J. Med.*, 326: 1250-1256.

Mc Quay, H., Carrol, D., Jajad, A. R., Wiffen, P., Moore, A. (1995). Anticonvulsant drugs for management of pain: a systematic review, *Br Med J*, 311: 1047-1052.

Medori, R., Hoffman, E. P., Fischbeck, K. H., Brown, R. H., Johnson, M., Loike, J. D., Harris, J. B., Waterston, R., Brooke, M., Specht, L, ve ark. (1988). Characterization of dystrophin in muscle-biopsy specimens from patients with Duchenne's or Becker's muscular dystrophy. *N Engl J Med.*, 318(21):1363-8.

Medori, R., Jenich, H., Autilio-Gambetti, L., Gambetti, P. (1988). Experimental diabetic neuropathy: similar changes of slow axonal transport and axonal size in different animal models. *J Neurosci*, 8(5):1814-21.

Melzack, R., Wall, P. D. (1965). Pain mechanisms: a new theory. *Science*, 150(3699):971-9.

Millan, M. J., Gobert, A., Lejeune, F ve ark. (2003) The novel melatonin agonist agomelatine (S20098) is an antagonist at 5-hydroxytryptamine_{2C} receptors, blockade of which enhances the activity of frontocortical dopaminergic and adrenergic pathways. *J Pharmacol Exp Ther*, 306: 954-964.

Milan, M. J. (2006). Multi-target strategies for the improved treatment of depressive states: conceptual foundations and non-rodent substrates, drug discovery and therapeutic application. *Pharmacology and Therapeutics*, 110: 135-370.

Mico, J.A., Ardrif, D., Berrocoso, E., Eschalier, A. (2006). Antidepressant and pain. *Trends in Pharmacological Sciences*, 27: 348-354.

Michelle, Kaku., Aaron. Vinik., David. M., Simpson. (2015). Pathways in the diagnosis and management: *Curr Diab Rep*, 35: 9-16.

Morello, C. M., Leckband, S. G., Stoner, C. P., Moorhouse, D. F., et al. (1999). Randomized double-blind study comparing the efficacy of

gabapentin with amitriptyline on diabetic peripheral neuropathy pain. *Arch Intern Med*, 159:1931 –7.

Motoka, K., James, T., James, D.S., Philip, A.L., (2002). Morphometry of dorsal root ganglion in chronic experimental diabetic neuropathy. *Diabetes*, 51: 819-824.

Murokawa, Y., Zhang, W., Pierson, C. R., Brismar, T., Ostenson, C. G., Efendic, S., Sima, A. A. F.(2002). Impaired glucose tolerance and insülinopenia in the GK-rat causes peripheral neuropathy. *Diabetes Metab Res Rev*, 18: 473-483.

Felten, D. L., O'Banion, M. K., Maida, M. S.(2016) *Netter's Atlas Of Neuroscience* (3 rd edition). Erişim: www.elsevier.com

Norman, T. R., Cranston, I., Irons, J. A., Gabriel, C., Dekeyne, A., Millan, M. J., Mocaër, E.(2012). Agomelatine suppresses locomotor hyperactivity in olfactory bulbectomised rats: a comparison to melatonin and to the 5-HT(2c) antagonist, S32006. *Eur J Pharmacol.*, 674(1):27-32.

Nathan, D. M., Kuenen j, Borg R, et al. (2008) Translating the A1C assay into estimated average glucose values. *Diabetes care*, 31: 1473-1485.

Nielsen, S., Dietze, P., Lee, N., Dunlop, A., Taylor, D.(2007). Concurrent buprenorphine and benzodiazepines use and self-reported opioid toxicity in opioid substitution treatment. *Turning Point Alcohol and Drug Centre*, 102(4):616-22.

Norman, T. R. (2012). The effect of agomelatine on 5HT2C receptors in humans: a clinically relevant mechanism? *psychopharmacology*, 221: 177-178.

Orhan, Y. (2001). Diabetes Mellitus. In: *Endokrinoloji, Metabolizma ve Beslenme Hastalıkları Sencer. E. (Ed), (s. 246-86). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi.*

Palecek, J., Paleckova, V., Dougherty, P. M., Carlton, S. M., Willis, W. D (1992) .Responses of spinotlamic tract cells to mechanical and thermal stimulation of skin in rats with experimental peripheral neuropathy. *J. Neurophysiol*, 67: 1562-1573.

Partanen, J., Niskanen, L., Lehtinen, J., Mervaala, E., Siitonen, O., Uusitupa, M. (1995). Natural history of peripheral neuropathy in patients with non-insülin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med*, 333: 89-94.

Pathan, A. R., Viswanad, B., Sonkusare, S.K., Ramarao, P. (2006) Chronic administration of pioglitazone attenuates intracerebroventricular streptozotocin induced-memory impairment in rats. *Life Sci*, 79: 2209–2216.

Paizanis, E., Renoir, T., Lelievre, V., Saurini, F., Melfort, M., Gabriel, C., Barden, N., Mocaër, E., Hamon, M., Lanfumey, L. (2010). Behavioural and neuroplastic effects of the new-generation antidepressant agomelatine compared to fluoxetine in glucocorticoid receptor-impaired mice. *Int J Neuropsychopharmacol.*, 13(6):759-74.

Petrenko, A. B., Yamakura, T., Baba, H., Sakimura, K. (2003). Unaltered pain-related behavior in mice lacking NMDA receptor Glur epsilon1 subunit. *Neurosci Res*, 46:199-204.

Pertovaara, A., Wei, H., Kalmari, J., Ruotsalainen, M. (2001). Pain behavior and response properties of spinal dorsal horn neurons following experimental diabetic neuropathy in the rat: modulation by nitecapone, a COMT inhibitor with antioxidant properties. *Exp Neurol.*, 167(2):425-34.

Pirondi, S., Kuteeva, E., Giardino, L., Ferraro, L., Antonelli, T., Bartfai, T., Ogren, S. O., et al. (2005). Behavioral and neurochemical studies on brain aging in galanin overexpressing mice. *Neuropeptides*, 39: 305-312.

Powell, H., Knox, D., Lee, S., Charters, A., Orloff, M., Garrett, R. & Lampert, P. (1977). Alloxan diabetic neuropathy: electron microscopic studies. *Neurology*, 27 : 60-6

Romanovsky, D., Cruz, N. F., Diemel, G. A., Dobretsov, M. (2004). Mechanical hyperalgesia correlates with insulin deficiency in normoglycemic streptozotocin-treated rats. *Neurobiol. Dis.*, 24 (2): 384-394.

Rambourg, A., Clermant, Y., Beaudet, A. (1983). Ultrastructural features of six types of neurons in rat dorsal root ganglia. *J Neurocytol*, 12: 47-66.

Ray, W. A. S., Meredith, P. B., Tahapa, K., Hall, K. Murray. (2004). Cyclic antidepressant and the risk of sudden cardiac death. *Clin. Pharmacol. Therap.*, 75: 234-241.

Romanovsky, D., Hastings, S. L., Stimers, J. R., Dobretsov, M. (2006). Relevance of hyperglycemia to early mechanical hyperalgesia in streptozotocin-induced diabetes. *J. Peripher. Nerv. Syst.*, 9 (2): 62-69.

Rother, K. I. (2007). "Diabetes Treatment-Bridging the Divide". *N Engl J Med*, 356 (15): 1499-1501.

Rowbotham, M. C., Goli, V., Kunz, N. R., Lei, D. (2004). Venlafaxine extended release in the treatment of painful diabetic polyneuropathy: a double-blind, placebo-controlled study. *Pain*, 110: 697-706.

Sasaki, H., Schmelzer, J. D., Zollman, P. J., Low, P. A. (1997) Neuropathology and blood flow of nerve, spinal roots and dorsal root

ganglia in longstanding diabetic rats. *Acta Neuropathol (Berl.)*, 93: 118-128.

Scott, S. A. (1992). *Sensory Neurons: Diversity, development and plasticity*. New York : Oxford University Press.

Seltzer, Z., Dubner, R., Shir, Y. A. (1990). Novel behavioral model of neuropathic pain disorders produced in rats by partial sciatic nerve injury. *Pain*, 43: 205-18.

Sharma, A. K., Thomas, P. K. (1987). Animal models: pathology and pathophysiology. In: Dyck, P.J., Ashbury, A. K., Winegrad, A. L., Porte d Jr(eds). *Diabetic Neuropathy*, Saunders, Philadelphia, pp 237-252.

Shastry, R.M., Bhatia, V., (2006). Cerebral edema in diabetic ketoacidosis, *Indian Pediatr.*, 43 (8): 701-708.

Shrivastava, R. K., Edwards, D., (1983) Hypoglycemia associated with imipramine, *Biol. Psychiatry*, 18 (12):1509-1510.

Shi, L., Zhang, H. H., Hu, J., Jiang, X. H., Xu, G. Y. (2012). Purinergic P2X receptors and diabetic neuropathic pain, *Sheng Li Xue Bao.*, 64 (5): 531-542.

Shimizu, T., Iwata, S., Morioka, H., Masuyama, T., Fukuda, T., Nomoto, M. (2004). Antinociceptive mechanism of L-DOPA. *Pain*; 110: 246-9.

Sidenius, P., Jacobsen, J. (1980). Reduced perikaryal volume of lower motor and primary sensory neurons in early experimental diabetes. *Diabetes*, 29:182-186.

Sills, G. J. (2006). The mechanisms of action of gabapentin and pregabalin. *Curr Opin Pharmacol*, 6: 108-13.

Sindrup, S. H. (2003). Antidepressants and chronic pain. In: *Clinical pain management. Chronic pain.* (Eds.: T. S Jensen, P. Wilson, A. S.) Rice. Arnold, London, UK., (pp: 239-249).

Sindrup, S. H., Otto, M., Finnerup, N. B., et al. (2005). Antidepressants in the treatment of neuropathic pain. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 96: 399-409.

Sima, A. A. F., Yagihashi, S. (1986). Central-peripheral distal axonopathy in the spontaneously diabetic BB-rat: Ultrastructural and morphometric finding. *Diabetes Res Clin Prac*, 1: 289-298.

Sima, A. A. F., Zhang, W., Sugimoto, K., Henry, D., Li, Z., Wahren, J., Grunberg, G. (2001). C peptide prevents and improves chronic type I diabetic neuropathy in the BB/Wor-rat. *Diabetologia*, 44: 889-887.

Snell, R. S., (1992). "*Clinical Nöroanatomy for Medical Student*"WL (7. Th Ed s:86-98) İstanbul: Barış Kitabevi.

Sommer, C., Schafers, M. (1998). Painful mononeuropathy in C57BL/Wld mice with delayed Wallerian degeneration: differential effects of cytokine production and nerve regeneration on thermal and mechanical hypersensitivity. *Brain Res*, 784: 154-62.

Sonkusare, S., Srinivasan, K., Kaul, C., Ramarao, P. (2005). Effect of donepezil and lercanidipine on memory impairment induced by intracerebroventricular streptozotocin in rats. *Life Sci*, 77: 1-14.

Stahl, S. M. (2007). Novel mechanism of antidepressant action: norepinephrine and dopamine disinhibition (NDDI) plus melatonergic agonism. *Int J Neuropsychopharmacol*, 10: 575-578.

Suzuki, Y., Kawanishi, M., Mizumura, K. (2002a) Lowered response threshold and increased responsiveness to mechanical stimulation of cutaneous nociceptive fibers in streptozotocin-diabetic rat skin in vitro correlates of mechanical allodynia and hyperalgesia observed in the early stage of diabetes, *Neurosci. Res.*, 43 (2): 171-178.

Suzuki, Y., Sato, J., Kawanishi, M., Mizumura, K. (2002b). Tissue glucose level modulates the mechanical responses of cutaneous nociceptors in streptozotocin-diabetic rats but not normal rats in vitro. *Pain*, 99 (3): 475-484.

Tamer, L., İspir, T., Doran, F. (1997). Deneysel diyabetik sıçan modelinde kalsiyum adenozin 5'-trifosfataz enzimi, serum malondialdehid ve alfa tokoferol düzeylerinin araştırılması. *Çukurova Üni Tıp Fak Dergi*, 22: 145-51.

Tedesco, L. S., Fusuler, J., Grisham, M., Wolf, R., Roerig, S. C. (2002). Therapeutic administration of nitric oxide synthase inhibitors reverses hyperalgesia but not inflammation in a rat model of polyarthritis. *Pain*, 95: 215-23.

Tierney, L. M., McPhee, S. J., Papadakis, M. A. (2002). *Current medical Diagnosis & Treatment. International edition*. New York, Lange Medical Books/McGraw-Hill, s:1203-1215.

Tinant, B., Declercq, J-P., Pupaert, J-H., ve ark. (1994). N-[2-(7-Methoxy-1-naphthyl)ethyl] acetamide, a potent melatonin analog. *Acta Cryst*, 50: 907-910.

Tripathi, B. K., Srivastava, A. K. (2006). Diabetes mellitus: Complications and therapeutics, *Med. Sci. Monit.*, 12 (7): 130-147.

Ulupinar, E., Erol, K., Ay, H., Yucel, F. (2015). Rearing conditions differently affect the motor performance and cerebellar morphology of prenatally stressed juvenile rats. *Behav Brain Res.*, 278:235-43.

Ulugol, A., Karadag, H. C., Tamer, M., Firat, Z., Aslantas, A., Dokmeci, I. (2002). Involvement of adenosine in the anti-allodynic effect of amitriptyline in streptozotocin-induced diabetic rats. *Neurosci Lett.*, 328(2):129-32.

Uzbay, T. (2012). Agomelatin: Genel Bilgiler, Farmakolojisi ve Kullanım Güvenliği. *Klinik Psikiyatri*, 15(Ek 1): 9-19.

Venkatraman, R., Singhi, S. C. (2006). Hyperglycemic hyperosmolar nonketotic syndrome, *Indian J. Pediatr.*, 73 (1): 55-60.

Wernicke, J. F, Pritchett Y. L, D'Souza D. N., Waninger, A., Tran, P., Iyengar, S., Raskin, J. (2006). A randomized controlled trial of duloxetine in diabetic peripheral neuropathic pain. *Neurology*, 67: 1411-1420.

Williams, J., Haller, V. L, Stevens, D. L, Welch, S. P. (2008). Decreased basal endogenous opioid levels in diabetic rodents: effects on morphine and delta-9-tetrahydrocannabinoid-induced antinociception. *Eur J Pharmacol*, 584: 78-86.

Wolsdorf, J., Glaser, N., Sperling, M. A. (2006). Diabetic ketoacidosis in infants, children, and adolescents: A consensus statement from the American Diabetes Association, *Diabetes Care*, 29 (5): 1150-1159.

Woolf, C. J., Doubell, T. P. (1994). The pathophysiology of chronic pain increased sensitivity to low threshold A beta-fibre inputs. *Curr Opin Neurobiol.*, 4(4):525-34.

Yashpal, K., Henry, J. L. (1983). Endorphins mediate overshoot of substance P-induced facilitation of a spinal nociceptive reflex. *Can J Physiol Pharmacol.*, 61(4):303-7.

Yagihashi, S., Nishihira, M., Baba, M. (1979) Morphometrical analysis of the peripheral nerve lesions in experimental diabetes rats. *Tohoku J. Exp. Med.*, 129: 139-49.

Yagihashi, S., Sima A. A. (1985). Diabetic autonomic neuropathy. The distribution of structural changes in sympathetic nerves of the BB rat. *Am. J. Pathol.*, 121(1): 138-47

Yagihashi, S., Kamijo, M., Watanabe, K. (1990). Reduced myelinated fiber size correlates with loss of axonal neurofilaments in peripheral nerve of chronically streptozotocin diabetic rats. *Department of Pathology*, 11(3):193-225.

Yagihashi, S. (1995). Pathology and pathogenetic mechanism of diabetic neuropathy. *Diab Metab Rev.*, 11: 193-225.

Yamamoto, H., Shimoshige, Y., Yamaji, T., Murai, N., Aoki, T., Matsuoka, N. (2009). Pharmacological characterization of standard

analgesics on mechanical allodynia in streptozotocin-induced diabetic rats. *Neuropharmacology*, 57: 403–408.

Yamazaki, S., Yamaji, T., Murai, N., Yamamoto, H., Price, R.D., Matsuoka, N., Mutoh, S., (2008). FK1706, a novel non-immunosuppressive immunophilin ligand, modifies the course of painful diabetic neuropathy, *Neuropharmacology*, 55 (7): 1226-1230.

Yücel, A. (2002). Nöropatik ağrıda periferik ve santral mekanizmalar. *Ağrı*, 14 (1): 17-2.

Yuksel, K., Basaran, K., Hayati, A., Yusuf, E., Mustafa, A., Elif, K, Ibrahim, Y. (2014). The effect of agomelatine on the nociceptive system, *24(3):220-5*.

Zhu, J., Wei, X., Feng, X., Song, J., Hu, Y., Xu, J. (2008). Repeated administration of mirtazapine inhibits development of hyperalgesia/allodynia and activation of NF-kappaB in rat model of neuropathic pain, *Neurosci. Lett.*, 433 (1): 33-37.

Zhou, H.Y., Chen, S. R., Pan, H. L. (2011). Targeting N-methyl-D-aspartate receptors for treatment of neuropathic pain. *Expert Rev Clin Pharmacol*, 4(3): 379–388.

Ziegler, D. (2011). Current concepts in the management of diabetic polyneuropathy. *Curr Diabetes Rev.*, 7 (3): 208–220.

Zimmet, P.Z., Tuomi, T., Mackay, R. et al. (1994). Latent autoimmune diabetes mellitus in adults (LADA): the role of antibodies to glutamic acid decarboxylase in diagnosis and prediction of insulin dependency. *Diab Med*, 11: 299-303.

Zogno, M. G., Tolfo, L., Draghi, E., (1994). Hypoglycemia caused by maprotiline in a patient taking oral antidiabetics, *Ann. Pharmacother*, 28 (3):406.

ÖZGEÇMİŞ

Bireysel Bilgiler:

Adı-Soyadı: Meral GEDİMAN

Doğum Tarihi ve Yeri: 03.02.1981

Uyruğu:TC

Medeni Durumu: Bekar

İletişim Adresi:ESOGÜ Tıp Fakóltesi- Anatomi ABD

Eğitim durumu:

1993-1995:Dr. Sadık Ahmet İlköğretim okulu

1995-1998: Çorum Atatürk Lisesi

2001-2005 :İstanbul Üniversitesi Bakırköy Sağlık Yüksekokulu

Kurslar ve Eğitim Proğramları

Osmangazi Üniversitesi Tıbbi-Cerrahi Deneysel Araştırma Merkezi (TİCAM), X. Deneysel Hayvan Çalışmaları Temel Eğitim Kursu, Temmuz 2013.

