



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

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ABSANS EPİLEPSİDE DUYUSAL
NÖRONLARDA KALSİYUM HOMEOSTAZİSİ
VE SİNYALLEŞMESİNİN GENETİK
EPİLEPTİK WAG/RİJ SIÇANLARDAN İZOLE
EDİLEN TRİGEMİNAL GANGLİYON
HÜCRELERİNDE İNCELENMESİ**

Büşra Perihan YÜCEL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Prof. Dr. Ahmet AYAR

TRABZON – 2019



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ABSANS EPİLEPSİDE DUYUSAL
NÖRONLARDA KALSİYUM HOMEOSTAZİSİ
VE SİNYALLEŞMESİNİN GENETİK
EPİLEPTİK WAG/RİJ SIÇANLARDAN İZOLE
EDİLEN TRİGEMİNAL GANGLİYON
HÜCRELERİNDE İNCELENMESİ**

Büşra Perihan YÜCEL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Prof. Dr. Ahmet AYAR

TRABZON – 2019

ONAY

Bu tez Yüksek Lisans Tezi Standartlarına Uygun Bulunmuştur.

Prof. Dr. Ahmet AYAR

Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı

.....

Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Büşra Perihan YÜCEL'in hazırladığı **“Absans Epilepside Duyusal Nöronlarda Kalsiyum Homeostazisi ve Sinyalleşmesinin Genetik Epileptik Wag/Rij Sıçanlardan İzole Edilen Trigeminal Gangliyon Hücrelerinde İncelenmesi”** başlıklı tez KTÜ Lisansüstü Eğitim - Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman Prof. Dr. Ahmet AYAR

Yüksek Lisans Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Ahmet AYAR

Prof. Dr. A. Kasım BALTACI

Prof. Dr. Sibel VELİOĞLU

Doç Dr. Mukadder OKUYAN

Dr. Öğr. Üyesi Zafer ŞAHİN

Tarih:..../..../201..

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

.....

Prof. Dr. Ersan KALAY

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

BEYAN

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

.....

18.01.2019

Büşra Perihan YÜCEL

İthaf

Yüksek lisans tezimi, benim bugünlere gelmem için hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan ve her zaman yanımda olan babam Nevzat YÜCEL'e ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilimsel ve akademik yönden tez çalışmamın gerçekleşmesinde bilgi ve tecrübeleriyle her zaman yardımcı olan danışman hocam sayın Prof. Dr. Ahmet AYAR'a,

Yüksek lisans eğitim hayatım boyunca gelişimimde büyük katkı ve emekleri olan hocalarım Prof. Dr. Mete ÖZCAN ve Dr. Öğr. Üyesi Ömer Faruk KALKAN, desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen hocalarım sayın Prof. Dr. Engin ŞAHNA, Doç. Dr. Mukadder OKUYAN, Dr. Öğr. Üyesi Zafer ŞAHİN, yardımlarından dolayı Arş. Gör. Dr. Osman AKTAŞ, Arş. Gör. Ertuğrul YİĞİT ve Y.L. öğrencisi Vildan KELEŞ GÜLER'e,

Bugünlere gelmemde hiçbir zaman maddi ve manevi desteğini esirgemeyen babam Nevzat YÜCEL, annem Şengül YÜCEL, kardeşlerim Elif Şura YÜCEL ve Hazan YÜCEL'e sonsuz teşekkür ederim.

Büşra Perihan YÜCEL

Bu yüksek lisans tezi çalışması 1001- TÜBİTAK-Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Projelerini Destekleme Programınca 214S/206 numaralı ve "Epilepside Ağrı Duyarlılığının Genetik Absans Epilepsili Sıçanlar Kullanılarak *in Vivo* ve *in Vitro* incelenmesi" başlıklı proje ile TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İç kapak Sayfası	
ONAY	
BEYAN	
İthaf	
TEŞEKKÜR	
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ	xii
1. ÖZET	1
2. SUMMARY	3
3. GİRİŞ ve AMAÇ	5
4. GENEL BİLGİLER	7
4.1. Epilepsi	7
4.1.1. Tanım	7
4.1.2. Epidemiyoloji	7
4.1.3. Etiyoloji	8
4.1.4. Sınıflandırma	8
4.2. Absans Epilepsi	9
4.2.1. Absans Epilepsi Deneysel Modelleri	10
4.3. Orofasial Duyular	12
4.4. Trigeminal Sistem	14
4.4.1. Memelilerde Trigeminal Sistemin Fonksiyonel Anatomisi	14
4.4.2. Nervus Trigemini'nin Dalları	16
4.4.3. Trigeminal Sinirin Merkezi Anatomisi	20
4.4.4. Trigeminal Somatosensasyon	25
4.4.5. Termosensasyon	26
4.4.6. Nazal Trigeminal Kemosensasyon	27
4.4.7. TRP Kanalları	28
4.4.8. Purinerjik Reseptörler	30

4.5. Ağrı ve Nosisepsiyon	31
4.5.1. Orofasiyal Ağrı	32
4.5.2. Migren	33
4.6. Epilepsi ve Ağrı	35
4.7. TG Nöronlarında Kalsiyum Sinyalleşmesi ve Homeostazisi	35
5. GEREÇ ve YÖNTEM	37
5.1. Kültür Solüsyonları ve Kullanılan Ajanlar	37
5.2. Kültür Vasatı	37
5.3. Hücre Kültürü için Genel Prensipler	37
5.4. Lamel Yüzeyi Kaplama	37
5.5. Primer Nöron Hücre Kültürü Hazırlanması	38
5.6. Görüntüleme için Kullanılan Ajanlar	40
5.7. Hücre içi Kalsiyum Görüntüleme ve Görüntü Analizleri	40
5.8. İstatistiksel Analiz	41
6. BULGULAR	42
6.1. WAG/Rij ve Wistar TG Hücrelerinde Depolarizasyonla İndüklenen $[Ca^{+2}]_i$ Cevapları	43
6.2. WAG/Rij ve Wistar TG Hücrelerinde Purinerjik Agonist ile İndüklenen $[Ca^{+2}]_i$ Cevapları	44
6.3. WAG/Rij ve Wistar TG Hücrelerinde Kapsaisin ile İndüklenen $[Ca^{+2}]_i$ Cevapları	46
6.4. WAG/Rij ve Wistar TG Hücrelerinde Akut Diltiazem Uygulaması sonrası Depolarizasyonla İndüklenen $[Ca^{+2}]_i$ Cevapları	47
6.5. WAG/Rij ve Wistar TG Hücrelerinde Akut Diltiazem Uygulaması sonrası Purinerjik Agonist ile İndüklenen $[Ca^{+2}]_i$ Cevapları	49
6.6. WAG/Rij ve Wistar TG Hücrelerinde Akut Diltiazem Uygulaması sonrası Kapsaisin ile İndüklenen $[Ca^{+2}]_i$ Cevapları	50
6.7. WAG/Rij ve Wistar TG Hücrelerinde Purinerjik Agonist ile İndüklenen $[Ca^{+2}]_i$ AUC Değerleri	52
6.8. WAG/Rij ve Wistar TG Hücrelerinde Kapsaisin ile İndüklenen $[Ca^{+2}]_i$ AUC Değerleri	53
7. TARTIŞMA ve SONUÇ	54

8. KAYNAKLAR	57
9. ETİK KURUL ONAYI	75
10. ÖZGEÇMİŞ	76



TABLULAR DİZİNİ

Tablo	Sayfa
Tablo 1. Epilepsi nöbet tiplerinin genişletilmiş sınıflandırılması	9
Tablo 2. Kranial sinirler	14
Tablo 3. Orofasiyal ağrının farklı tanılara göre sınıflandırılması	32



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1. WAG/Rij sıçanların frontal EEG ile kaydedilen epileptik aktiviteleri	12
Şekil 2. İnsanda trigeminal sinirin üç ana dalı ve önemli yandalları	15
Şekil 3. Oftalmik, maksiller ve mandibular sinirin yandalları	17
Şekil 4. Gasserian gangliyonu ve dalları	21
Şekil 5. Primer afferent trigeminal nöronlarının yolakları	26
Şekil 6. TRP kanallarının yapısı	29
Şekil 7. TG nöronu	35
Şekil 8. TG'lerin beyin uzaklaştırıldıktan sonra doku içinde ve diseke edildikten sonraki görünümü	38
Şekil 9. Diseke edilmiş ve mekanik olarak kısmen bölünmüş gangliyonlar	38
Şekil 10. TG hücre nöronlarının ışık mikroskopik görüntüsü	39
Şekil 11. Kalsiyum görüntüleme sistemi	41
Şekil 12. WAG/Rij TG nöronlarına KCl (60 mM) uygulamasının $[Ca^{+2}]_i$ düzeylerine etkisi	43
Şekil 13. Wistar TG nöronlarına KCl (60 mM) uygulamasının $[Ca^{+2}]_i$ düzeylerine etkisi	43
Şekil 14. WAG/Rij ve Wistar TG kültür ortamında KCl (60 mM) uygulamasının $[Ca^{+2}]_i$ düzeyine etkisinin karşılaştırılması	44
Şekil 15. WAG/Rij TG nöronlarına ATP (100 mM) uygulamasının $[Ca^{+2}]_i$ düzeylerine etkisi	45
Şekil 16. Wistar TG nöronlarına ATP (100 mM) uygulamasının $[Ca^{+2}]_i$ düzeylerine etkisi	45
Şekil 17. WAG/Rij ve Wistar TG kültür ortamında ATP (100 mM) uygulamasının $[Ca^{+2}]_i$ düzeyine etkisinin karşılaştırılması	45
Şekil 18. WAG/Rij TG nöronlarına kapsaisin (1 μ M) uygulamasının $[Ca^{+2}]_i$ düzeylerine etkisi	46
Şekil 19. Wistar TG nöronlarına kapsaisin (1 μ M) uygulamasının $[Ca^{+2}]_i$ düzeylerine etkisi	46
Şekil 20. WAG/Rij ve Wistar TG kültür ortamında kapsaisin (1 μ M) uygulamasının $[Ca^{+2}]_i$ düzeyine etkisinin karşılaştırılması	47

- Şekil 21.** WAG/Rij sıçan TG nöronlarında KCl (60 mM) uygulanan ve 50 s diltiazem (10 μ M) ön-muamelesinden sonra KCl uygulanan iki grubun $[Ca^{+2}]_i$ cevaplarının karşılaştırılması 48
- Şekil 22.** Wistar sıçan TG nöronlarında KCl (60 mM) uygulanan ve 50 s diltiazem (10 μ M) ön-muamelesinden sonra KCl uygulanan iki grubun $[Ca^{+2}]_i$ cevaplarının karşılaştırılması 48
- Şekil 23.** WAG/Rij sıçan TG nöronlarında ATP (100 mM) uygulanan ve 50 s diltiazem (10 μ M) ön-muamelesinden sonra ATP uygulanan iki grubun $[Ca^{+2}]_i$ cevaplarının karşılaştırılması 49
- Şekil 24.** Wistar sıçan TG nöronlarında ATP (100 mM) uygulanan ve 50 s diltiazem (10 μ M) ön-muamelesinden sonra ATP uygulanan iki grubun $[Ca^{+2}]_i$ cevaplarının karşılaştırılması 50
- Şekil 25.** WAG/Rij sıçan TG nöronlarında kapsaisin (1 μ M) uygulanan ve 50 s diltiazem (10 μ M) ön-muamelesinden sonra ATP uygulanan iki grubun $[Ca^{+2}]_i$ cevaplarının karşılaştırılması 51
- Şekil 26.** Wistar sıçan TG nöronlarında kapsaisin (1 μ M) uygulanan ve 50 s diltiazem (10 μ M) ön-muamelesinden sonra kapsaisin uygulanan iki grubun $[Ca^{+2}]_i$ cevaplarının karşılaştırılması 51
- Şekil 27.** WAG/Rij ve Wistar TG nöronlarında $[Ca^{+2}]_i$ cevapları 52
- Şekil 28.** WAG/Rij ve Wistar TG nöronlarında $[Ca^{+2}]_i$ cevapları 53

KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ

Kısaltmalar

ATP	Adenozin trifosfat
CGRP	Kalsitonin gen ilişkili peptid
DDD	Diken-dalga deşarjı
DKG	Dorsal kök gangliyonu
EEG	Elektroensefalogram
GAERS	Strazburg laboratuvarı kökenli genetik absans epileptik sıçan
IHS	Uluslararası Baş Ağrısı Derneği
ILAE	Uluslararası Epilepsiyle Savaş Ligi
KA	Karotid arter
KYD	Kortikal yayılan depresyon
MSS	Merkezi sinir sistemi
NBA	Nörobazal-A medyumumu
NCX	Na ⁺ - Ca ⁺² antiporterı
NGF	Nöron büyüme faktörü
PBS	Fosfat tamponlu fizyolojik tuzlu su
SOF	Superior orbital fissür
TG	Trigeminal gangliyon
TME	Temporomandibular eklem
TRP	Geçici reseptör potansiyeli
TVS	Trigeminovasküler sistem
UV	Ultraviyole
VPM	Ventralis posterio medialis
WAG/Rij	Wistar Albino Glaxo/Rijswijk

Simgeler

[Ca⁺²]_i	Hücre içi serbest kalsiyum
°C	Derece santigrat
dk	dakika
Hz	Hertz
L	Litre

M	Molar
n	Nano
Osm	Ozmolarite
s	Saniye
α	Alfa
β	Beta
δ	Delta
μ	Mikro

Formüller

CaCl₂	Kalsiyum klorür
KCl	Potasyum klorür
MgCl₂	Magnezyum klorür
NaCl	Sodyum klorür
NO	Nitrik oksit
PIP₂	Fosfatidilinozitol-4,5-bisfosfat

1. ÖZET

Absans Epilepside Duyusal Nöronlarda Kalsiyum Homeostazisi ve Sinyalleşmesinin Genetik Epileptik WAG/Rij Sıçanlardan İzole Edilen Trigeminal Gangliyon Hücrelerinde İncelenmesi

Epilepsi sendromlarında migren gibi baş ağrısı görülme sıklığının fazla olması, epileptogenezin ağrı duyarlılaşmasına neden olabileceğini düşündürmektedir. Trigeminal gangliyon (TG) nöronları tipik nosiseptörlere örnek olup; ağrı/nosisepsiyonla alakalı reseptör ve iyon kanallarının çoğunun ifade edildiği bu yapılar baş ve yüz bölgesi ile alakalı sinyallerin başlamasının ilk kademesini teşkil eder. Bu süreçte, hücre içi serbest kalsiyum ($[Ca^{+2}]_i$) seviyesindeki artış ağrı oluşum ve iletiminde kritik öneme sahiptir. Epileptiklerde yüksek seyreden migren/baş ağrısının TG ile temsil edilen nosiseptörlerin aktivasyon mekanizmasından mı yoksa bu ağrının santral işlenmesinden mi kaynaklandığı bilinmemektedir. Bu amaçla TG nöronlarda kalsiyum homeostazisi ve algojenik ajanlara $[Ca^{+2}]_i$ artışı cevapları WAG/Rij epileptik ve sağlıklı Wistarlar arasında karşılaştırıldı.

Yetişkin WAG/Rij (absans epileptik nöbet geçiren) ve Wistar sıçanlardan izole edilen TG'ler enzimatik ve mekanik işlemlerle TG nöronlarına ayrıştırılarak kültüre edildi. Daha sonra kalsiyuma duyarlı floresan boya olarak fura-2 AM ile yüklenen TG nöronları; kapsaisin (1 μ M, acı biberin etken maddesi, algojenik ajan olarak), yüksek hücre dışı KCl (60 mM, non-spesifik membran depolarizasyonu) ve ATP (100 mM, purinerjik agonist olan algojenik ajan) ile uyarıldı. Bu uyarılarla indüklenen $[Ca^{+2}]_i$ (Eksitasyon: 340 nm/380 nm, emisyon @ 510 nm) cevapları, dijital mikroskopik görüntü analiz sistemiyle kayıt edildi ve kalsiyum kanal blokeri diltiazemin $[Ca^{+2}]_i$ cevapları üzerine etkisi, ajanlar uygulanmadan önce 50 saniye (s) ön-muamale yapılarak incelendi. Hücrelerin 340 nm/380 nm floresan oranında artış $[Ca^{+2}]_i$ belirteci olarak kullanıldı. Bulguların istatistiksel değerlendirilmesinde Student t-testi kullanıldı.

WAG/Rij sıçan TG hücreleri ATP uygulamasına $[Ca^{+2}]_i$ düzeyinde artışla cevap verdi. Normal koşullarda WAG/Rij sıçanlardan izole edilen TG hücrelerinde pik ATP cevabı 340 nm/380 nm oranı $[1.40 \pm 0.17$ (n=19)] düzeyinde iken; diltiazem ile ön-muamele sonrası bu cevap $[1.28 \pm 0.12$ (n=10)] düzeyinde baskılanmış olarak gerçekleşti ($p < 0.05$). Wistar sıçanlardan izole edilen TG nöronlarında bazal şartlardaki pik ATP

cevabı $[1.66 \pm 0.21 (n=14)]$ oranındayken diltiazem ön-muamelesi sonrası bu değer $[1.27 \pm 0.16 (n=14)]$, yani anlamlı düzeyde düşüktü ($p < 0.005$). TG nöronlarının nosiseptif uyararı kapsaisine cevabı WAG/Rij grubunda $[2.78 \pm 0.52 (n=9)]$ Wistar grubunda ise $[2.42 \pm 0.79 (n=20)]$ olarak tespit edildi ($p < 0.05$). Hem Wistar hem WAG/Rij sıçan duyuşsal nöronları nosiseptif uyarılara $[Ca^{+2}]_i$ artışı ile cevap verdi.

Bu tez çalışmasının bulguları epileptik WAG/Rij sıçanların TG nöron nosiseptif kalsiyum sinyallerinin sağlıklı Wistarlarinkine benzer olduğunu göstermektedir. Epilepside daha yüksek olan baş ağrısının oluşmasına TG nöronlarında kalsiyum sinyalleşmesinin anlamlı derecede aracılık etmediğı düşünölmektedir.

Anahtar Kelimeler: Ağrı, epilepsi, migren, trigeminal gangliyon

2. SUMMARY

Investigation of Calcium Homeostasis and Signalling in Absence Epilepsy Using Trigeminal Ganglion Cells Isolated from Genetic Epileptic WAG/Rij Rats

The high incidence of comorbidities of migraine headache and epilepsy syndromes suggest that epileptogenesis may cause pain sensitization. Trigeminal ganglion (TG) neurons, are typical nociceptors, express most of the ion channels and receptors involved in nociception/pain, and their activation represents the first stage in pain signals from the orofacial region. In this process, the increase in intracellular free calcium ($[Ca^{+2}]_i$) level has a critical role in the generation and transmission of pain signals. It is not clear whether the increased incidence of migraine/ headache in epileptics arises from altered activation of peripheral nociceptors, represented by TG neurons, or from central mechanisms of this signaling pathway. For this purpose, it was aimed to determine whether there is a dissimilarity in calcium homeostasis and $[Ca^{+2}]_i$ responses to algogenic agents in TG neurons from epileptic WAG/Rij and healthy Wistar rats.

TGs were obtained from adult WAG/Rij and Wistar rats by enzymatic and mechanical procedures and isolated TG neurons were cultured. Then, the cells were loaded with the calcium-sensitive fluorescence dye, fura-2 AM and effects of capsaicin (1 μ M, algogenic agent, the ingredient of hot pepper), high extracellular KCl (60 mM, non-specific membrane depolarizing agent), ATP (100 μ M, the purinergic agonist, algogenic agent) on $[Ca^{+2}]_i$ in TG cells from epileptic and normal rats were investigated. Response ratios to excitation (excitation: 340 nm/380 nm, emission@ 510 nm) were recorded and quantified by using digital microscopic image analysis system. Effects of calcium channel blocker diltiazem (10 μ M) to $[Ca^{+2}]_i$ level responses were investigated by applying about 50 seconds (s) via pre-treatment before adding agents. The 340 nm/380 nm fluorescence ratios are regarded as an indicator of $[Ca^{+2}]_i$ levels. Student t-test was used for statistical analysis of data.

The TG neurons from WAG/Rij rats responded to the ATP application by increase in $[Ca^{+2}]_i$. Under normal recording conditions, the peak of $[Ca^{+2}]_i$ response was $[1.40 \pm 0.17$ (n=19)] which was significantly attenuated by after diltiazem pre-treatment to $[1.28 \pm 0.12$ (n=10)] ($p < 0.05$). The TG neurons from Wistar group, the peak response to ATP was $[1.66 \pm 0.21$ (n=14)] and highly significantly attenuated to $[1.27 \pm 0.16$ (n=14)]

after diltiazem pretreatment ($p < 0.005$). The $[Ca^{+2}]_i$ responses of TG neurons to capsaicin was $[2.78 \pm 0.52 (n=9)]$ and attenuated to $[2.42 \pm 0.79 (n=20)]$ after diltiazem pretreatment ($p < 0.05$).

TG neurons from both epileptic WAG/Rij and healthy Wistars responded to nociceptive stimuli by the increase in $[Ca^{+2}]_i$. The data from this thesis study indicates that the calcium signaling responses of TG neurons from WAG/Rij and Wistars were very similar in general terms. Calcium signaling in TG neurons may not play a significant role in the high incidence of headache in epilepsy.

Keywords: Epilepsy, migraine, pain, trigeminal ganglion



3. GİRİŞ VE AMAÇ

Epilepsi hastalarında migren ve fibromiyalji gibi ağrı sendromları sık görülen komorbid durumlardır (1, 2). Migren prevalansının epilepsi hastalarında %160 daha yüksek olabileceği öne sürülmüştür (2). Epilepsi ve migren ile ilişkili artan sayıda ortak genetik mutasyon ve polimorfizm tanımlanmıştır (3, 4). Epilepsi ve migren bu kadar iç içe olmasına rağmen bu komorbiditenin mekanizması henüz bilinmemektedir (5). Epilepsi, tek bir odak kaynağı olmaktan ziyade bir nöronal ağın (epileptik ağ) disfonksiyonu olarak düşünülür. Epilepsinin karakteristik spontan nöbetleri, belirgin herhangi bir sebep olmaksızın nöronal ağın uyarılabilirlik eşiğinin düşmesinden kaynaklanmaktadır (6, 7).

Yüz ve baş bölgesindeki duyu ve ağrı hissini taşıyan trigeminal sinirin oftalmik dalı migren gibi primer baş ağrılarında önemli rol oynamaktadır. Trigeminal vasküler sistem (TVS), hücre gövdeleri ipsilateral TG içinde yer alan primer nöronlardan oluşur. Çevresel olarak bu nöronlar dura materi ve serebral ve meningeal vasküler sistemi innerve etmektedir (7, 8). Santral lifler, periferik bilgilerin talamus ve serebral kortekse taşınması nedeniyle ağrı algılaması sağlayan kaudal beyin gövdesinde trigeminal çekirdeğin içinde sinapslar oluşturur (9, 10). TG nöronlarının aksonları yaygın olarak TRPV1 reseptörleri, purinerjik ve peptiderjik nörotransmitterlerle uyarılabilen reseptörler ve ayrıca voltaj kapılı kalsiyum kanalları gibi birçok iyon kanalı bulunduran C polimodal nosiseptörleri içerirler (11). Bu duyuşal nöronlar nosiseptif bir uyarı ile (yüksek hücre dışı KCl, ATP, kapsaisin, vb.) uyarıldıklarında aksiyon potansiyelleri ateşleyerek mesajı beyine iletir ve ağrı algılanmasını sağlarlar. Purinerjik reseptörler, adenosin trifosfatın (ATP) hücre dışına bağlanmasına yanıt olarak plazma potasyum, sodyum ve kalsiyum gibi katyonlara geçirgen, membran iyon kanallarıdır. ATP'nin P2X ve P2Y tipi reseptörler aracılığı ile hem beyinde hem de sempatik ganglionlarda sinaptik iletimde rol aldığı bilinmektedir (12, 13).

Vaniloid reseptör TRPV1 1997'de tanımlanmış ve karakterize edilmiştir (14) ve transient reseptör potansiyeli (TRP) kanallarının geniş ailesinin bir üyesidir (15). TRPV1, doğrudan kapsaisin ve benzer kimyasal maddeler (vaniloidler), düşük pH ve zararlı sıcaklık düzeyindeki uyarılar (43°C'nin üzerinde) tarafından aktive edilir (16).

Esas olarak TG nosiseptörlerinde ve dorsal kök gangliyonunda (DKG) eksprese edilmektedir (17, 18).

Bu tez çalışmasının amacı; WAG/Rij ve Wistar sıçan TG nöronlarında ATP ve kapsaisin ile indüklenmiş hücre içi kalsiyum sinyallerini incelemek, bu sinyallerin epileptik ve non-epileptik sıçanlarda farklı olup olmadığını belirlemek ve bu yolla epilepside yaygın olan baş ağrısında primer duyuşal nöronlar olarak TG nöronlarında nosiseptif kalsiyum sinyalleşmesi arasında bir fark olup olmadığına yani TG nöronları ile temsil edilen birinci sıra nosiseptörlerde sinyal oluşumu bakımından fark olup olmadığına yönelik deneysel veri ortaya koymaktır.



4. GENEL BİLGİLER

4.1. Epilepsi

4.1.1. Tanım

Epilepsi santral sinir sisteminde, kortikal veya subkortikal bölgelerde yer alan nöron gruplarının ani, anormal ve hipersenkronize deşarjları sonucu ortaya çıkan, genellikle tekrarlayıcı nitelikte nöbetlerle karakterize klinik bir tablodur. Epilepsi belirli bir hastalık ya da sendromdan ziyade, beyinde çeşitli patolojik süreçlerden kaynaklanan semptomlar bütünüdür (19). Epilepsi nöbeti; motor, duyuşsal, duygusal, bilişsel, otonom ve sıklıkla pozitif (fokal ve/veya jeneralize kasılmalar ve halüsinasyonlar gibi) bazen de negatif (çevreyle olan ilişkinin kesilmesi) belirtilerle ortaya çıkar (20).

Epilepsi; nörobiyolojik, kognitif, psikolojik ve sosyal sonuçlarla birlikte, epileptik nöbet oluşturmaya kalıcı bir yatkınlık ile karakterize olan bir beyin hastalığıdır. Epilepsi tanısı konulabilmesi için en az bir epileptik nöbetin ortaya çıkması gerekmektedir (19).

Epileptogenezis, beyinde meydana gelen moleküler ve hücreşel değişiklikler kaskadının tetiklenmesiyle spontan nöbetlerin oluşmasına neden olan beyin hasarı sürecini ifade etmektedir (21).

4.1.2. Epidemiyoloji

Yakın zamanda yapılan çalışmalara göre, dünya çapında 70 milyon insan epilepsi hastası bulunmakta ve bunların % 90'a yakını gelişmekte olan ülkelerde yaşamaktadır. Gelişmekte olan ülkelerde yapılan çalışmalarda kırsal bölgelerde epilepsi prevalansı ortalama % 1.54 iken, kentsel bölgelerde ise % 1.03 civarına düştüğü görülmektedir (22).

Küresel olarak, her yıl tahmini 2.4 milyon insana epilepsi tanısı konmaktadır. Yüksek gelirli ülkelerde, yıllık yeni vaka sayısı, her 100 000 insanda 30 ila 50 arasında değişmektedir. Düşük ve orta gelirli ülkelerde bu rakam yaklaşık olarak iki katına çıkmaktadır. Bu, muhtemelen; sıtma ve nörosistiserkoz gibi endemik durumlar, karayolu trafik yaralanmaları ve doğum sırasındaki yaralanmalar, tıbbi altyapıdaki varyasyonlar, koruyucu sağlık programları ve bunların erişilebilirliği riskin artmasına neden olur (23). Gelişmiş ülkelerde epilepsi prevalansı, 1 000 kişi başına 4 ila 6 vaka arasında değişirken gelişmekte olan ülkelerde bu sayı 1 000 kişi başına 14 ila 57 vaka arasında değişmektedir (24-26). Dünyanın bazı bölgelerinde nörosistiserkoz gibi spesifik enfeksiyon hastalıkları

sıklıkla epilepsiye neden olur (27). Epilepsi insidansı gelişmiş ülkelerde, çocuklarda ve yaşlılarda en yüksek oranlara çıkmaktayken gelişmekte olan ülkelerde ise erken yetişkinlik döneminde pik yapmaktadır (28).

4.1.3. Etiyoloji

Epilepsi için, doğumda ya da herhangi bir yaşta meydana gelen kafa yaralanmaları, kromozomal/genetik sendromlar, doğuştan gelişen metabolizma sendromları, merkezi sinir sistemi (MSS) tümörleri ya da enfeksiyonları gibi bilinen ve ayrıca nedeni bilinmeyen birçok risk faktörü vardır. Enfeksiyondan kaynaklanan epilepsi, düşük gelirli ülkelerde majör morbidite ve mortalite nedenidir. Herpes simplex virüsü en yaygın ve en şiddetli viral ensefalittir (29).

4.1.4. Sınıflandırma

Uluslararası Epilepsiyle Savaş Ligi (ILAE) sınıflandırma komisyonu “Epilepsiler ve Epileptik Sendromların Sınıflama” ile epilepsi sendromlarını özetlemiştir. Bu sınıflama epileptik nöbetlerdeki farklılıkları, etiyolojik faktörleri, yaş faktörünü, nöbet tipini ve elektroensefalogram (EEG) bulgularını göz önüne alarak epileptik sendromları sınıflandırmıştır (Tablo 1) (30).

Epilepsi nöbetleri değişik tiplerde olabilir;

Fokal nöbetler; serebral hemisferin sınırlı bir bölgesindeki nöronların aktivasyonu sonucunda oluşur ve yüz, kol veya bacakta kasılmalar ile karakterizedir. Parsiyel nöbetlere (basit parsiyel) bilinç kaybı eklendiğinde kompleks parsiyel nöbetler olarak adlandırılır.

Duyu ile ilgili nöbetler; korteksin duyu ile ilgili bölgelerinden kaynaklanan nöbetlerdir ve kaynaklandığı korteks bölgesine göre beden yarısında uyuşukluk, iğnelenme, karıncalanma ya da bunun yanında işitsel, görsel ve tad duyusu ile ilgili halüsinasyonlar hissedilebilir.

Otonom nöbetler; kızarma, terleme, kusma, renk solması, pupillalarda dilatasyon gibi otonomik belirtilerle karakterize nöbetlerdir. Jeneralize nöbetler (konvulsif ve non-konvulsif) her iki hemisferden kaynaklanır. Nöbetler sırasında bilinç bozulabilir ve çift taraflı motor belirtiler olabilir. Farklı anatomik yapılar tarafından oluşturulan klonik yada tonik tutulumlar ile nöbetlerin klinik tablosu belirlenmektedir (20, 31).

Tablo 1. Epilepsi nöbet tiplerinin genişletilmiş sınıflandırılması (ILAE'den, 30)

Fokal Nöbetler	Jeneralize Nöbetler	Diğer Nöbetler
Bilinçli/Bilinçsiz	Motor	Motor
Motor	Tonik-Klonik	Tonik-Klonik
Otomatizm	Miyoklonik	Epileptik Spazmlar
Atonik	Miyoklonik-Tonik-Klonik	Non-Motor
Klonik	Miyoklonik-Atonik	Davranışsal
Epileptik Spazmlar	Atonik	
Sınıflandırılmayanlar		
Hiperkinetik	Epileptik Spazmlar	
Miyoklonik	Absans	
Tonik	Tipik	
Non-Motor	Atipik	
Otonomik	Miyoklonik	
Davranışsal	Gözkapağı Miyoklonisi	
Bilinçli		
Duygusal		
Duyusal		
Fokalden bilaterale tonik klonik nöbetler		

4.2. Absans Epilepsi

Absans Epilepsi, beraberinde geçici bir bilinç kaybı ve motor aktiviteyi kısa süreli durdurmayı getiren generalize non-konvulsif ataklarla karakterize özel bir epileptik sendromdur. Absans nöbetlere genellikle, hafif otomatizm veya uzuvları, göz kapaklarını ve göz küresini etkileyen orta şiddette tonik veya klonik kasılmalar eşlik eder (32).

Tipik absans nöbetleri EEG'ye bilateral, senkronize ve düzenli 3-Hz diken-dalga deşarjları (DDD) ile yansır, postiktal depresyon olmaksızın aniden başlayıp sona erer. Bu nöbetler ilk önce 5-7 yaş civarında başlar ve daha sonra sessiz uyanıklık, dikkatsizlik ve uyku ile uyanış arasındaki geçişlerde düzenli olarak ortaya çıkar. Genellikle 10-20 s'den daha az sürer, ancak bazı hastalarda sık olarak ortaya çıkabilir. Absans nöbetlerin farmakolojik duyarlılığı oldukça eşsizdir: epilepsinin diğer birçok formunda etkisiz olan

etosüksimid ve aynı zamanda bazı geniş spektrumlu antiepileptik ilaçlar (örn. valproat ve daha az etkinlik için lamotrijin) tarafından bastırılırlar.

Absans epilepside hücrenel mekanizmada temel neden; T tipi kalsiyum kanallarında düşük şiddetli akımlar olmasıdır ve etosüksimid bu kanalları bloklayarak anti-absans etki sağlar (33-35). Aksine, jeneralize konvulsif ve parsiyel nöbetlere karşı oldukça etkili olan karbamazepin ve fenitoin ile şiddetlenirler (32). Absans nöbetlerin yanında bilişsel ve duyuşsal komorbiditeler de tanımlanmıştır ancak başka nörolojik bozukluklarla ilişkili değildir (36).

Absans nöbetler ilk kez 1705 yılında Poupart tarafından tanımlanmış ve Tissot tarafından “*petits acces's*” (hafif nöbet) olarak isimlendirilmiştir. 1824 yılında ise isim Calmeil tarafından absans nöbetler olarak değiştirilmiştir (37). Tipik absans nöbetleri genellikle çocukluk çağında görülmekle birlikte, erişkin yaşlarda da devam edebilir ve çok nadir de olsa erişkinlikte ilk kez ortaya çıkabilir (38). Başlangıç yaşı genellikle 3-15 yaş arası olup prevelansı kızlarda biraz daha sıktır (39).

4.2.1. Absans Epilepsi Deneysel Modelleri

Deney hayvanları ve deney hayvanlarından elde edilen doku veya hücreler kullanılarak oluşturulan deneysel modeller, insanda meydana gelen patofizyolojik süreçler ve hastalık tablolarını çalışmak için en uygun platformlardır. Epilepsi konusunda yapılacak bir çalışmada hastaların çoğu ağrı yanıtını etkileyebilecek antiepileptik ilaç alıyor olacağından epilepsi hastalarıyla homojen bir çalışma grubu oluşturmak oldukça zordur. Bu amaçla kullanılan hayvan modelleri yararlı bir alternatiftir (40).

İdeal bir epilepsi modelinde, spontan olarak tekrarlayan nöbetler olmalı ve bu nöbetler insanda varolan nöbetlere benzemeli; EEG'nin biçimi, ilgili epilepsi çeşidinin örneklerine benzemeli; nöbetlerin frekansı, ilaçların etkisini test etmeye yetecek ölçüde olmalı; antiepileptik ilaçların farmakokinetiği insandakine benzer olmalı; antiepileptiklerin etkili oldukları plazma ve beyin seviyeleri, insanda ilgili nöbeti önleyen seviye kadar olmalıdır (41).

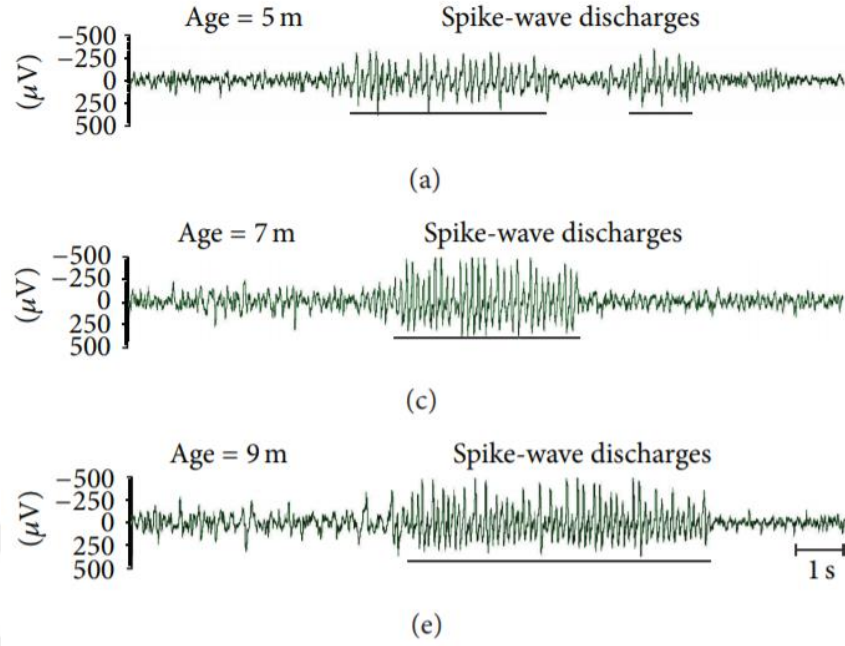
Absans epilepside patogenezi ve farmakolojik profili aydınlatmak için gerek genetik gerek kimyasal ajanlarla oluşturulan birçok model kullanılmaktadır. Absans tip, konvulsif olmayan nöbet kriterlerini taşıyan ve en çok kullanılan deneysel modeller arasındadır ve spontan spike-wave dalga deşarjlı genetik hayvan modelleri olan WAG/Rij

(Wistar albino Glaxo/Rijswijk) ve GAERS (Strazburg laboratuvarı kökenli genetik absans epileptik sıçan) suşu sıçanlar bu modeller arasında yer almaktadır. Wistar sıçanların kardeş-kardeş çiftleştirilmesiyle üretilmiştir ve EEG kayıtlarında bilateral, düzenli diken-dalga deşarjları bulunmaktadır. GAERS ve WAG/Rij suşu genetik modelleri, nörofizyolojik, farmakolojik ve davranışsal olarak insan absans epilepsisinin özelliklerini göstermektedir (42, 43).

4.2.1.1. Genetik Absans Epilepsili WAG/Rij Sıçanlar

Absans epilepsi modeli için Wistar Albino Glaxo türü, Rijswijk, Hollanda'da 1986 yılında yetiştirilmiştir (44, 45). Suşun adı genellikle WAG/Rij olarak kısaltılır. WAG/Rij suşu, 100 kuşak kardeş-kardeş çiftleştirilmesiyle elde edilen homozigot bir sıçan soyudur (43, 46). Bu nedenle bu suşun fareleri, absans epilepsi genetik altyapısını ve kalıtımını incelemek için belirgin bir olanak sunmaktadır (40). İnbred olarak üretilen tüm yetişkin WAG/Rij suşu sıçanların EEG'lerinde eşlik eden klinik belirtilerle DDD'ler olduğu saptanmıştır (Şekil 1). 6 aylık tüm dişi ve erkek sıçanların kortikal EEG'lerinde ortalama 5 s süren (1-30 s), 7-10 Hz frekansında deşarjlar görülmektedir (47).

DDD'ler 2-3 aylık WAG/Rij sıçanların kortikal EEG'lerinde görülmeye başlarken, daha erken yaşlarda oluşmamaktadırlar. Her saatte yaklaşık 16-18 deşarj olmakla beraber bir gün içerisinde 300-400 deşarj görülmektedir (48).



Şekil 1. WAG/Rij sıçanların frontal EEG ile kaydedilen epileptik aktiviteleri (Sitnikova'dan, 49)

DDD'ler bilateral olarak simetrik ve tüm cortex'e jeneralizedir (50-52). WAG/Rij sıçanlardaki bu nöbetlere yüzde miyoklonik jerkler, bıyıkların seyirmesi, solunumda hızlanma, kafa sallama hareketi ve sıklıkla göz seyirmeleri eşlik etmektedir (42).

4.3. Orofasiyal Duyular

İnsan ve diğer omurgalılarda, orofasiyal bölgeden elde edilen duyular, diğer somatik dokulardaki uyarıların ötesinde bir öneme sahiptir. Trigeminal afferent sistemi, ağız ve burun delikleri, burun mukozası, dil ve dişler, çiğneme kasları, ekstra-oküler kaslar, ağız ve burun deliğini çevreleyen mukokutanöz birleşme dokuları, kornea, yüzdeki deri ve altta yatan destekleyici dokuları içeren bu kompleks alanda hem genel hem de tek somatik duyuusal fonksiyonları innerve edecek şekilde düzenlenmiştir (53).

Başın kranial sinirleri, vücudun omurilik sinirlerinin işlevsel olarak homologlarıdır. Tıpkı omurilik sinirlerinin, bedensel ve visseral duyusallığı sağlamasının yanı sıra, vücudun motor innervasyonunu da sağladığı gibi, kranial sinirler de aynı işlevi yüz ve kafa bölgesinde yapar (54).

Kranial sinirler (kafa çiftleri), beyin veya beyin sapından çıkan ve baş ve boyun bölgesi ile ilgili fonksiyonları innerve eden sinirlerdir. İnsanda, 12 çift kranial sinir

bulunmaktadır. Bu sinirler tanımlayıcı özel isimler alır ve MSS'den çıkış sırasına göre rostro-kaudal sırada Romen rakamlarıyla numaralandırılırlar. Trigeminal sinir, tüm kranial sinirlerin en büyüğüdür ve baş ve yüzün duyuşal bilgi aktarımını ve çiğneme kaslarının motor innervasyonunu sağlar. Bu karışık sinir, ponsun kenarından küçük bir motor ve geniş bir duyuşal kökle ortaya çıkar (55).

Ağzın, yüz ve kafa derisinin duyuşal innervasyonu beşinci kranial (trigeminal) sinire bağlıdır. Bu nedenle bu sinirleri etkileyen hastalıklar, duyuşal kayıplar ve orofasiyal ağrı gibi ciddi etkilere neden olabilmektedir. Ayrıca trigeminal sinir, çiğneme kaslarının motor kontrolünü de sağlar. Yedinci kranial sinir yüz mimik kaslarını kontrol eder, bu nedenle sinir (alt motor nöron lezyonları) veya merkezi bağlantı (üst motor nöron lezyonları) lezyonları yüz zayıflığına yol açabilir. Tablo 2'de gösterildiği üzere, yüz siniri impulslarını; gözyaşı bezlerine, tükürük bezlerine, orta kulaktaki üzengi kemiğinin (stapes) stapedius kasına taşır ve ayrıca tad duyuşunu anterior dilden iletir, bu nedenle bu siniri tutan lezyonlar tat, işitme, gözyaşı ve tükürüğü etkiler (53).

Tablo 2. Kraniyal sinirler (Felix'den, 56)

	Sinir	Yapısı	Fonksiyonları
I	Olfactory	Duyusal	Koku alma
II	Optic	Duyusal	Görme
III	Oculomotor	Duyu ve motor	Gözdeki kasları inerve eder.
IV	Trochlear	Duyu ve motor	Superior oblique göz kasını inerve eder.
V	Trigeminal	Duyu ve motor	Yüz ve ağız duyuları; Çiğneme kaslarının çalışması
VI	Abducens	Duyu ve motor	Lateral lectus göz kasını inerve eder.
VII	Facial	Duyu ve motor	Lacrimal glandlar ve salivary glandular gibi yüz ifadesi kaslarını inerve eder.
VIII	Vestibulo-cochlear	Duyusal	Denge ve duyma
IX	Glossopharyngeal	Duyu ve motor	Farinkse yutma eylemi için yardım eder,
X	Vagal	Duyu ve motor	Visseral organların duyusu ve parasempatik motor regülasyonu
XI	Accessory	Duyu ve motor	Kafa, boyun ve omuzları hareket ettiren kasları inerve eder.
XII	Hypoglossal	Duyu ve motor	Dil kaslarını inerve eder.

4.4. Trigeminal Sistem

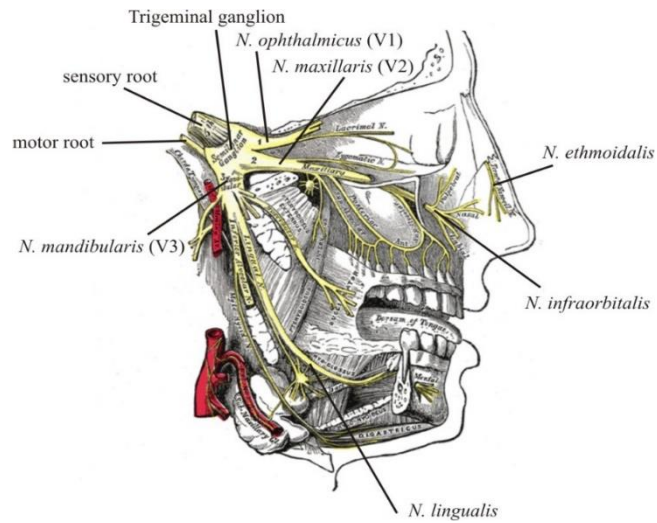
4.4.1. Memelilerde Trigeminal Sistemin Fonksiyonel Anatomisi

Kraniyal sinirlerin beşincisi ve en kalını olan trigeminal sinir, karma (duyu ve motor) bir sinirdir ve baş bölgesinin önemli bir kısmını, ağız mukozasını, nazal kaviteyi, paranasal sinüsleri, dura materin çoğunu, cerebral arterleri duyu olarak inerve eder ve başta çiğneme kasları olmak üzere birçok kasın motor innervasyonunu sağlar (57).

Latince üçlü, üçüz anlamına gelen “tria” ve çoklu anlamına gelen “geminus” terimlerinin birleşiminden türetilmiştir. Gözle görülebilen üç büyük dala ayrıldığı için ilk olarak 18. yüzyılda Winslow 1732’de bu siniri Fransızca “nerf trijumeau” olarak isimlendirmiş ve daha sonra Latince’ye “nervus trigeminus” olarak çevrilmiştir (58, 59). Trigeminal sinir, beyine ponsun ventral lateral yüzeyinden çıkar ve birkaç milimetreden sonra TG’ye girer (60).

Başlangıçta ponstan, kalın bir duysal kök (portio major) ve ince bir motor kök (portio minor) olmak üzere iki köke ayrılarak yukarı çıkar. Duyusal kök, hücre gövdeleri TG’de bulunan duysal nöronların birleşmesiyle oluşurken, motor kök lifleri ise pons içinde bulunan hücre gövdelerinden kaynaklanır. Ponsun gövdesini lateralden terk ettikten sonra, duysal ve motor kökler, tenjiyum serebelli altından anteriordan geçerek, orta kranial fossa tabanında Meckel Mağarası olarak adlandırılan temporal kemiğe gömülü bulunan büyük bir gangliyon olan TG’ye ulaşır (61). Burada, duysal gangliyonik nöronların periferik uçları; oftalmik sinir, maksiller sinir ve mandibular sinirin duysal kısmı olmak üzere üç ana dala ayrılır (Şekil 2). Bu dallar baş ve yüze dağılarak, ağrı-ısı, basınç-dokunma ve vibrasyon duyularını merkezi sinir sistemine taşır; mandibular sinir’in içinde innerve ettiği kaslara giden motor aksonlar da bulunmaktadır ve buradaki proprioseptif lifler mezensefalik nükleustan elde edilir (57, 62).

Oftalmik sinir, göz, burun, ön alın ve kafatasının tepe noktasının gerisine kadar olan kısmı innerve eder (63).



Şekil 2. İnsanda trigeminal sinirin üç ana dalı ve önemli yandalları (Gray’dan, 64)

Maksiller Sinir, yanak ile ağız boşluğunun üst kısmını kapsayan bölgenin duyuşal innervasyonunu sağlar (65). Mandibular Sinir, alt çeneden kulak altı bölgeye kadar olan yüz bölgesini, ağız boşluğunu, dili duyuşal olarak innerve eder ve trigeminal sinirin motor dalı ile birlikte foramen ovalden kafatasını terk eder (66).

Trigeminal sinirin her üç dalı da dura materi innerve eder. Trigeminal sinirin duyuşal dalı genişleyerek TG'yi oluşturur ve bu gangliyonda ağrı, ısı, basınç ve temas duyuşlarını ve proprioseptif bilgiyi alan nöronların hücre gövdeleri yer almaktadır (67).

4.4.2. Nervus Trigemini'sun Dalları

4.4.2.1. Oftalmik Sinir (Nervus Ophthalmicus)

Oftalmik sinir, tamamen duyuşaldır ve diğer iki bölümden daha küçüktür. Tentorium serebelli, dura mater ve falx cerebri'ye; frontal, sfenoid ve etmoidal sinüsler ve nazal kavitenin mukozal membran kısımlarına; lakrimal bez, konjonktiva, iris, kornea ve siliyer cisime; burun dorsumu, alın, üst göz kapaklarının derisine genel bir his verir (68).

Oftalmik sinir, TG'nin (gasserian ganglion) anteromedial yönünden ortaya çıkar (69). Kavernoöz sinüsün inferiorundan, troklear sinirin aşığısındaki lateral duvara gömülü olduğu yerde aşığı doğru girer (70). Kavernoöz sinüs içinde, oftalmik sinir, okülomotor, trochlear ve abduşens sinirlerine ince dallar vererek, bu yapılar tarafından innerve edilen kaslara duyu verir (71, 72). Bu seviyede, aynı zamanda, çaprazlayan, trochlear sinire yapışan ve tentorium serebelli'ye ve beynin arka kutbundaki dura'ya dağıtılan tekrarlayan dallar verir. Superior orbital fissüre (SOF) girmeden önce oftalmik sinir, tentorial sinir adı verilen küçük tekrarlı intrakraniyal bir dal verir (oftalmik sinirin meningeal dalı). Bu sinir, tentorium cerebelli ve falx cerebriye kaynak sağlar (54). Sinir daha sonra SOF'un içinden geçen ve esas amacı yüzün üst kısımlarını innerve etmek olan üç dala ayrılır. Bu dallar frontal, nasociliary ve lakrimal sinirlerdir. Küçük olmasına rağmen, SOF, orta kranial fossa ile yörüngeyi birbirine bağlayan önemli bir dönüm noktasıdır. Daha büyük ve daha küçük kanatlarla sfenoid kemiğin gövdesi arasında laterali en dar, mediali en geniş üçgen şekilli bir boşluktur (73). SOF, okülomotor, trochlear ve abduşens sinirleri, internal karotid sempatik sinirler ve superior ve inferior oftalmik damarlar dahil olmak üzere bir dizi başka nörovasküler yapı içerir.

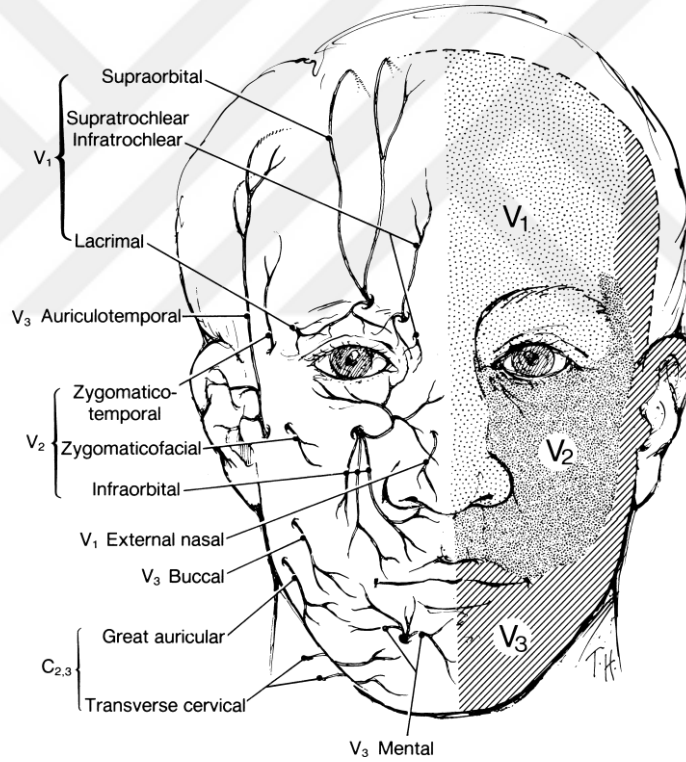
Oftalmik sinirin spesifik dalları aşağıdaki gibidir (Şekil 3):

1. Frontal sinir: Frontalis ve frontal kemik, frontal sinüsler ve üst göz kapağı bölgesi üzerinde kafa derisinin cildini innerve eden supraorbital ve supratrochlear sinirler olarak sonlanır (74).

2. Lacrimal sinir: Lakrimal bez, konjonktiva ve üst göz kapağında duyuusal innervasyon sağlar.

3. Nasociliary sinir: Nazal mukoza zarını, paranasal sinüsleri besler ve aynı zamanda korneal göz kırpma refleksinin aferent döngüsünde yer alır (75).

4. Meningeal dal (tentorial sinir): Oftalmik sinirin intrakranial kısmından çıkar. Bu dal falx serebri (supratentorial bölüm) ve tentoryum serebelliye ulaşır (57).



Şekil 3. Oftalmik, maksiller ve mandibular sinirin yandalları (Standring'den, 76)

4.4.2.2. Maksiller Sinir (Nervus Maxillaris)

TG'nin ön-orta kısmından, oftalmik ve mandibular sinir arasından çıkan trigeminal sinirin orta kalınlıktaki dalıdır. Yalnız duyuusal lifler taşıyan bu dal yüzün orta bölümü; alt göz kapakları, burnun yan tarafları, üst dudak derisi ile nazofarinks, maksiler sinüs, tonsiller, yumuşak ve sert damak, üst çene diş ve diş etlerinin duyuusal innervasyonunu

sağlar (77). Maksiller sinirin intrakraniyal dallarından en önemlisi, orta kranial fossanın dura materini besleyen orta meningeal sinirdir. Maksiller sinir, TG'den çıktıktan sonra, foramen rotundumdan geçmeden önce maksilladaki posterior yüzeye geçer ve inferior orbital çatlaktan yörüngeye girerek, pterygopalatin fossaya girer, infraorbital foramende kafatasının anteriorunda sonlanır (74, 77).

Maksiller sinir de kavernoöz sinüs içinden geçer. Genel olarak, alt gözkapağından itibaren alt ağızın süperior derisinin yanı sıra nazal kavite ve paranazal sinüslerin alt kısmını innerve eder.

Maksiller sinirin spesifik dalları aşağıdaki gibidir:

1. Orta meningeal dal: Dura'ya uzanır.
2. Alveoler sinirler (ön, orta ve arka superior alveoler sinirler): Maksillada ve diş etindeki tüm üst dişlerin duysal innervasyonunu sağlar.
3. Zigomatik sinir: Alın derisini (zygomaticotemporal sinir yoluyla) ve yanak çıkıntısı üzerindeki alanı (maksilla), arteriordan, (zigomatikofasiyal sinir yoluyla) innerve eder. Bu sinir ayrıca lakrimal bezi innerve etmek için fasiyal sinirin parasempatik post gangliyonik lifleri ile birlikte ilerler.
4. Palatine sinirler (daha büyük ve daha küçük palatin sinirler, aynı zamanda nazopalatin sinir): Gingivayı, ağız çatısının mukoz membranı (büyük palatine sinir ile), yumuşak damağı (uvulayı içeren), tonsilleri (küçük palatine sinir ile), superior anterior altı dişin etrafındaki damağa ait yapıları (naso-palatine sinir ile) innerve eder.
5. Faringeal sinir: Mukoza için nazofarenks sağlayan işitme tüpünün arkasına geçen küçük bir dal.
6. Infraorbital sinir: Alt göz kapağı ve üst dudak arasını innerve etmek için maksilladaki infraorbital foramenlerden çıkar.
7. Alt palpebral sinir: Alt göz kapağının yanı sıra konjonktivanın cildini innerve eder.
8. Üstün labial sinir: Superior dudak ve ağız mukozasının derisini innerve eder.
9. Dış burun dalları (74, 77).

4.4.2.3. Mandibular Sinir (Nervus Mandibularis)

Mandibular Sinir, duyuşal ve motor dallar taşıyan karma bir sinirdir. Aynı zamanda trigeminal sinirin üç dalının en büyüğüdür. Duyusal kök, gangliyonun lateralinden ortaya çıkar, motor bölümü daha derine uzanır. Genel olarak, mandibular sinir, bağıli dişler, temporomandibular eklem (TME), ağız mukozası ve dilin anteriorunun üçte ikisi (posterior) (üçte biri glossopharyngeal sinir tarafından) dâhil olmak üzere, mandibula üzerinden alt yüzü duyuşal olarak innerve eder (74, 77). Aynı zamanda, temporalis ve masseter, medial ve lateral pterygoidler olan çiğneme kaslarını ve tensör veli timpani, tensör veli palatini, mylohyoid ve digastrik anterior göbek gibi daha küçük kasları da innerve eder (78).

Mandibular sinir, infratemporal fossaya girer, sfenoid kemikte foramen ovale'den geçer ve bu noktada daha küçük bir anterior ve daha büyük bir posterior gövdeye bölünür. Ana gövde bu noktada iki dal verir. Birincisi meningeal bir daldır ve orta kranial fossanın menenjinde innervasyon almak için foramen spinosumdan geçer. İkincisi, tensör veli palatini ve tensor timpaniyi beslemek için medial pterygoidi ve ayrıca otik gangliyona bir dal veren küçük bir kas dalıdır. Mandibular sinirin ana gövdesinden, bu iki küçük dal verildikten sonra iki ana bölüm ortaya çıkar: anterior ve posterior bölüm (79, 80).

Anterior Bölüm:

1. Masseter sinir: Temporalis tendonuna posteriordan girerek, bu dal masseteric kasına derinden uzanır.
2. Derin temporal sinirler: Genelde bundan iki dal ortaya çıkar-bir ön ve arka bölüm. Bazen, üçüncü (orta) bir dal bulunabilir.
3. Lateral pterygoid sinir: Bu dal kasın derin yüzeyine girer.
4. Bukkal dallar: Mandibular sinirin anterior bölümünden gelen bu bukkal dal, lateral pterygoid başların arasından geçerek, o bölgeden duyuşal bilgiyi almak için yanak zarına geçen temporalis tendonu altından geçmekte, ikinci ve üçüncü azı dişlerinin yanı sıra yanak üzerine uzanmaktadır (60).

Posterior Bölüm:

1. Auriculotemporal sinir: Bu dalın iki kökü vardır ve orta meningeal arter ile yakından ilişkilidir. TME'nin arkasında postero-superiordan geçer. Yüzeysel temporal

damarlarla yakından ilişkilidir ve temporal bölgeye ulaşmadan önce parotis bezine sekretomotor lifler verir ve buradan duyumsal bilgiyi alır, ayrıca pinna ve dış kulakçıkların üst yarısını alır (81).

2. Lingual sinir: Bu sinir, iki tür bilgiyi taşır-dilden gelen duyu için trigeminal sinir ile ilişkili (genel somatik afferent) fakat aynı zamanda onunla birlikte yüz siniri dalından bir kol da taşır-özel duyu için korda timpani siniri dilin ön üçte ikisinden elde edilen tat lifleri, aynı zamanda submandibular gangliyonuna karşı pre-gangliyonik parasempatik lifler. Lingual sinir önce lateral pterygoid kasın altından geçer, korda timpani siniri alır ve daha sonra medial pteridid arasında geçer ve daha sonra dile doğru geçer (82).

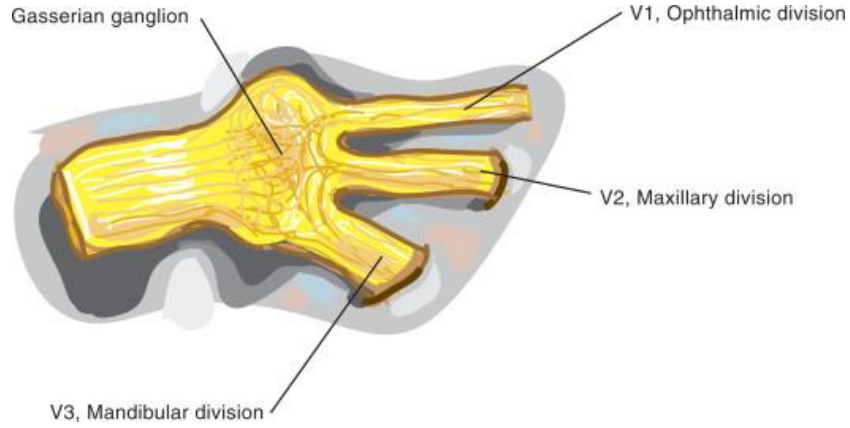
3. İnférieur alveolar sinir: Bu bir çift motor ve duyu siniri. Lateral pterygoidin medial yüzüne geçer ve mandibular foramene girmeden hemen önce, motor branşlara kıkırdak kaslarının mylohyoid ve anterior göbeğine yol açar. Mandibular foramene girdikten sonra tüm alt dişleri ve alveolar sırtları besler. Anterior olarak geçtikten sonra zihinsel foramen yoluyla mandilden çıkar ve zihinsel sinir haline gelir. Bu sinir, cilde çene hissi verir. Bu sinir diş pratiğinde çok önemlidir, çünkü alt dişlerde veya ilgili yapılarda prosedürler uygulanacaksa tam sinir bloğu sağlamak için mandibular foramene girerken anestezi edilen sinirdir (83).

4.4.3. Trigeminal Sinirin Merkezi Anatomisi

Trigeminal sinirin merkezi anatomisi, bu sinire ait gangliyonlar, kökler, çekirdekler, yolaklar, bağlantılar ve projeksiyonların karmaşık fakat önemli bir kesişimidir.

4.4.3.1. Trigeminal (Gasserian, Semilunar) Gangliyon ve Meckel Mağarası

Oftalmik, maksiller ve mandibulardan gelen periferik duyu aksonları, orta kranial fossaya doğru dorsal olarak giderek, sıklıkla semendon gangliyon veya gasserian gangliyon olarak adlandırılarak TG'de birleşirler (Şekil 4).



Şekil 4. Gasserian gangliyonu ve dalları (Waldman'dan, 84)

Avusturyalı tıp öğrencisi Anton Hirsch, 1765'de mentorü ve profesörü olan Johann Lorenz Gasser'in şerefine bu yapıyı "Gasserian Gangliyon" olarak adlandırmıştır (85). TG, MSS dışındaki en büyük hücre gövdesi topluluğudur ve beyin sapından proksimal duysal kökün (portio major) genişlemesidir. Meckel Mağarası olarak adlandırılan dural bir kat içinde, temporal kemiğin petroz apeksindeki bir girintide yer alır ve tüm trigeminal duyu nöronlarının kök hücre gövdelerini içerir (86).

Trigeminal sinirin motor kökü (portio minor), gangliyonun yakınında olmasına rağmen içeri girmez. Daha ziyade, ponslardan ortaya çıkarak medial ve inferiordan gizlice geçer. Motor kökü kafatasından çıkmak için foramen ovale'in yakınındaki mandibular sinirin çevresel duysal lifleriyle birleşir.

TG mediolateral çapta 1-2 cm uzunluğunda düz bir yapıdır. Somatotopik olarak organize edilen yaklaşık 124 000 sinir lifinden oluşur (87). Temporal kemikte karotis kanalı ile ortaya çıktıktan sonra sadece Meckel mağarasından medial ve inferiorda yer alan internal karotid arterin (KA) yatay segmenti tarafından vasküler olarak beslenir (86, 88). Gangliyondaki unipolar hücreler merkezi ve periferik süreçlere sahiptir. Merkezi işlemler, gangliyonun konkavitesinden dorsal olarak çıkan ve duysal kök olarak lateral, ventral pons'a girmek için temporal kemiğin süperior petrosal sinüsünden geçen liflerdir. Periferik yollar, gangliyonun ventral dışbükeyliğini terkeden ve üçlü trigeminal dallanmalarından birine bölünen liflerdir. Söz konusu Meckel mağarası, hilal şeklindeki TG'nin, duysal ve motor köklerinin ve arka kranial fossadan araknoid membranın genişlemesini içeren bir dural çıkıntıdır (86, 88, 89).

Kavernöz sinüs Meckel mağarasının üstün, anterior ve medial yönlerini sınırlar ve mağara neredeyse orta kranial fossanın tabanına ulaşır (88). Araknoid membran TG'nin anterior kısmına sıkı sıkıya yapışmış olsa da, trigeminal kökün beyin sapından çıktıktan sonra yerleştiği subaraknoid boşluk (trigeminal sarnıcı) bulunmaktadır (90). Meckel mağarasının tam meningeal limiti tartışmalı olsa da, çoğu, posterior kranial fossanın durağan meningeal tabakasının, orta kranial fossanın posteromedial kısmına, trigeminal izlenim ile ayrışmasından oluşan oval bir girinti olduğu konusunda hemfikirdir ve beyin omurilik sıvısı içerir (89, 91).

4.4.3.2. Trigeminal Sinir'in Nükleusları ve Bağlantı Yolakları

Trigeminal sinirin nükleusu üç ayrı birim olarak düşünülebilir: motor nükleus (özel viseral efferent); duyuşal mezensefalik nükleus (genel somatik afferent); ve asıl duyuşal nükleusun ve omurilik nükleusunun (genel somatik afferent) iki ayrı çekirdeğinden oluşan duyuşal nükleer kompleks (92).

4.4.3.3. Motor Nükleus

Motor nükleus, ventrikül tabanından, okülomotor, troklear ve abduşans sinirlerin çekirdeğinden biraz daha uzağa yerleşmiştir. Ana duyuşal çekirdeğe medial uzanır. Mesensefalik kökünden elde edilen lifler, motor çekirdekdeki liflerle yakından ilişkilidir ve hem motor hem de mezensefalik lifler, sinirin mandibular bölümünde ileriye doğru ilerler.

4.4.3.4. Mesensefalik Nükleus

Çoğu olmasa da, trigeminal mezensefalik kompleksin çoğunda nöronlar tek kutuplu, duyuşal gangliyon hücrelerine benzer birincil afferent hücrelerdir (53). Bununla birlikte, duyuşal gangliyon hücrelerinden farklı olarak, bu nöronların hücre gövdeleri, MSS içinde kalmıştır. Bunlar nöral krestten kaynaklanan MSS'deki tek birincil duyu nöron hücresi gövdeleridir (93). Posterior komissürden rostilde trigeminal motor çekirdeğinin seviyesine kaudal olarak uzanan merkezi gri cevher kenarında bir kolon oluştururlar. Bu nöronların çoğu fonksiyonda proprioseptiftir ve reseptör terminalleri çiğneme kaslarında germeye cevap verirler. Diğer mezensefalik nöronlar diş destekli dokuları innerve eder (94-96).

4.4.3.5. Trigeminal Duyu Nükleer Kompleksi Ana Duyusal Nükleus

Ana duyu çekirdeği, trigeminal nükleer kompleksin en rostral kısmını oluşturur (ayrı mezensefalik çekirdek hariç) ve motor çekirdeğin lateralinde yer alır (97). Bu nükleus içindeki nöronların çoğu, talamusun kontralateral nükleusu ventralis posteromedialis'e (VPM) uzanır. Bu lifler ana duyusal nükleusun ventromedial kenarından ortaya çıkar ve trigeminal lemniscusta yükselmek için karşı beyinkökünü geçer (98).

Nükleusun dorsomedial kısmında daha küçük nöron popülasyonu, oral yapılardan bir girişle, ipsilateral VPM'ye kadar uzanır. Fonksiyonel ve anatomik olarak ana duyu çekirdeği ve kontralateral yükselen çıkıntılar medulladaki cuneate ve gracile nükleusları ve talamik bağlantıları ile benzerdir. Cuneate ve gracile çekirdekleri, dorsal boynuz duyu nöronlarından dokunma bilgisi alır ve daha sonra, medial lemniscusun talamusa ulaşması için inen ve çıkan lifleri gönderir (93).

4.4.3.6. Spinal Nükleus

Omuriliğin çekirdeği, omuriliğin ikinci servikal köke kadar uzandığı ve substantia gelatinosa ile birleştiği uzun bir nükleusdur (97). Memelilerde, bu çekirdek üç ayrı bölüm halinde bölünebilir: nükleus oralis, nükleus polaris ve nükleus kaudalis (92).

Bu çekirdeklerin her biri, inen spinal trigeminal yolla tüm trigeminal köklerden girdi alır. Sinirin üç bölümünün her birinden gelen lifler, en ventral olarak yerleşmiş olan oftalmik bölümden ve en dorsal olarak yer alan mandibulardan gelenler ile bu alanda somatotopik olarak düzenlenmiştir. İnsanlarda oftalmik bölünme en uzak kaudal uzanır.

Spinal trigeminal sistemin çekirdeği, öncelikle bilinçli olarak ağrı ve sıcaklık olarak algılanan dürtülerin iletimi ile ilgilidir. Nükleus kaudalis hala trigeminal nosiseptif liflerin temel sonlandırması olarak kabul edilmesine rağmen, daha fazla rostral subnükleusun orofasiyal yapılardan nosiseptif bilgi aldığına dair kanıtlar vardır (99).

4.4.3.7. Trigeminal Nükleus ve Diğer Beyin Sapı Alanları Arasındaki Yollar

Tegmentumdaki kısa nöronlardan oluşan bu yollar, çeşitli trigeminal duyu çekirdeklerini, oküler motor çekirdeği, trigeminal sinirin motor çekirdeği, yüz, glossopharyngeal, vagal, hipoglossal çekirdek ve vestibüler çekirdeği dâhil, beyin sapının motor çekirdekleriyle birleştirir. Bu diffüz sistemin yükselen bileşenleri, hipotalamusun

dorsal kısmından, talamusun ventromedyal nükleusuna doğru multisinaptik yollar ile yavaşça yukarı çıkar, bu sayede serebral korteksin birçok bölgesine dağılırlar. Trigeminal nükleus içindeki hücreler, superior koliculus, serebellar korteks ve derin nükleuslara kollateral aksonlar gönderir (100, 101).

4.4.3.8. Trigeminal Nükleus'tan Talamus'a Giden Yollar

Ana duyu çekirdeğinden ve trigeminal sinirin spinal kanal çekirdeğinden çıkan yollar, önemli bir ikincil sistem olan trigeminal sinirin ventral sekonderinden çıkan yolu oluşturur (trigeminotalamik yol veya ventral trigeminal yol). Bu traktusun fasikülleri, ağrı ve sıcaklık impulslarını ileterek ve trigeminal çekirdeklerin her seviyesinden ortaya çıkarak, orta hattan, ortaya çıktığı nöronların hücre gövdelerinin önündeki önemli bir mesafede çapraz ilerlemek için döner. Geçişten sonra, bu demetler yavaş yavaş beyin sapının yanal kısmında birikirler, böylece ponsa ulaştıklarında, üzerinden geçerler ve medial lemniscusun diğer bileşenleri ile dorsal olarak birbirine karışırlar. Medial lemniscus orta beyin seviyesinde dorsal olarak kaydığında, trigeminal sinirin ventral sekonder yükselen yolu mediale uzanır. Sistem talamusun VPM çekirdeğinde sona ermektedir (102).

Daha yüksek merkezlere kadar tamamen ayrı bir projeksiyon sistemi, trigeminal sinirin ana duyusal çekirdeğinden geçer. Bu, trigeminal sinirin (trigeminal lemniscus veya dorsal trigeminal yol) dorsal sekonder yükselme yolu olup, ana duyusal çekirdeğin kökeninden sonra, ponsun orta-dorsal tegmental bölgesine salınır. Çoğu lifler çapraz şekildedir, ancak dorsomedial aksonlar ipsilateral kalır. Trigeminal sinirin dorsal sekonder yükselen yolu, kırmızı nükleusa dorsal uzanır ve medial lemniscusun orta üst beyin seviyelerinde medial uzanır. Kısmi eksilmesi, trigeminal periferik köklere zarar gelmedikçe veya trigeminal çekirdekte (ponsta) hasar görmedikçe yüzün bir tarafında daha hassas dokunma duyarlılığını kaybetmeyi imkânsız kılar. Bir kanalın bölümü yüzün her iki tarafındaki dokunma duyarlılığını ortadan kaldırmazken, iki taraflı bölüm yüzün her iki tarafındaki ayrımcı dokunma duyarlılığının kaybolmasına neden olur (103).

Yüzden gelen ağrı uyarılarını, trigeminal sinirin ventral sekonder yükselen yolu aracılığıyla talamusa iletilir. Bu yolun çekirdeği kısmı ve çekirdeği en azından ikinci servikal segmentin seviyesine kadar uzanır. Boyundan gelen ağrı uyarıları, spinalkordda

C1 ve C2'ye girer. Trigeminal sinirin spinal çekirdeği ile aynı bölgede yer alan ikinci dereceden nöronlar, yanal spintalamik yolla talamusa ağrı dürtülerini aktarırlar.

Klinik olarak, yüzdeki ağrı hissi, boyundaki ağrı ile ilişkili olabilir. Servikal hastalık, yüz ağrısı üretebilir ve yüzdeki trigeminal sinirin uyarılması oksipital ağrıya neden olabilir. Taren ve Kahn, medüller traktotomili hastaların yaptıkları çalışmalardan, yüze (veya servikal bölgeye) yönelik ağrı uyaranlarının talamusa iki olası anatomik yola sahip olduklarını; lateral spinotalamik yolun ve trigeminal sinirin ventral sekonder yükselen yolunun herbirinin sonucudur. posterior ventral talamusun belirli kısımlarında sonlanma. Ayrıca, yüz ya da servikal bölgeden gelen ağrı uyaranlarının, yükselen bir servikotalamik yolağa karışabileceğini öne sürmüşlerdir (103, 104).

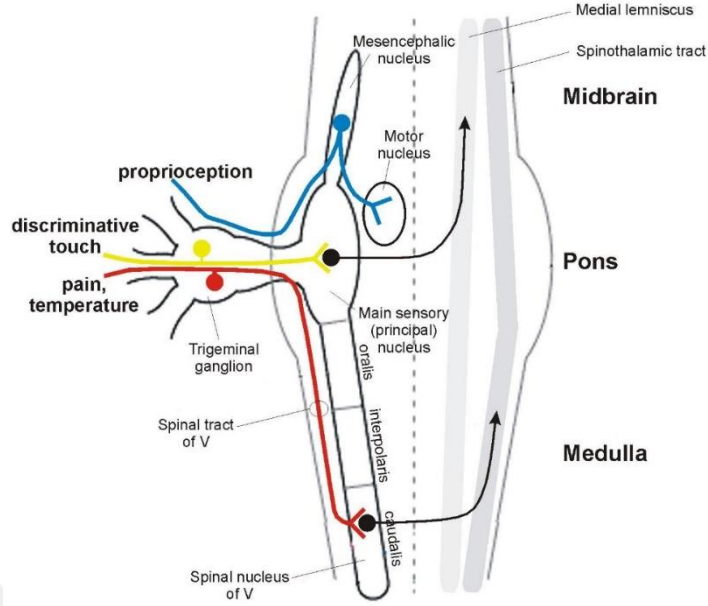
4.4.3.9. Kortikofil Liflerden Trigeminal Nükleus'a Uzanan Yollar

Kortikofugal lifler trigeminal sinirin ana duyu çekirdeğine ve trigeminal sinirin spinal kanalının çekirdeğinin alt bölümlerine doğru uzanır. Bu lifler, frontal, temporal, paryetal ve oksipital bölgeler de dâhil olmak üzere serebral korteksin geniş alanlarından kaynaklanır. Lifler hem ipsilateral hem de kontralateraldir, çapraz demetleri baskındır. Bunlar muhtemelen fonksiyonel olarak birincil çekirdeğe yansıtılan duyu impulslarının inhibisyonu ile ilgilidir.

Trigeminal sinirin motor çekirdeği çekirdeğe ulaşan liflerin çoğunluğunun geçmesine rağmen, her iki taraftaki kortikülbar yollarından lif alır (105).

4.4.4. Trigeminal Somatosensasyon

Somatik duyunun beş farklı alt tipi vardır: sıcaklık duyusu (sıcaklık ve soğuk), propriyosepsiyon (statik pozisyon ve uzuvların hareketi ve vücut), ayırt edici dokunma (nesnelerin şeklini ve yapısını tanımak için gereklidir ve cilt üzerindeki hareketleri) nosisepsiyon (tipik olarak ağrı veya kaşıntı olarak algılanan doku hasarı veya kimyasal tahriş) ve kemosensasyon (106).



Şekil 5. Primer afferent trigeminal nöronlarının yolakları (Molavi'den, 107)

Trigeminal nöronların uyarılması, periferel innervasyon alanında (örneğin burun ve ağız boşluğu veya cildin stratum granulosum ve stratum spinosumunda meydana gelir, burada terminaller serbest (çıplak) sinir uçları olarak sona erer veya nöronal olmayan yapılar tarafından kapsülendir (108).

Kapsüllü terminaller tipik olarak dokunma ve propriyosepsiyon gibi somatik duyuları algılamak için, serbest sinir uçlarına (nosiseptörler) sahip nöronlar ağırlı ve termal duyuları algılamak için (Şekil 5). Ayrıca, miyelinli ve büyük çaplı aksonlar ($A\alpha$) mekanoreseptörlerin ve propriyoseptörlerin terminal kapsüllerini innerve ederken, sıcaklık ve nosisepsiyona aracılık eden nöronlar, küçük çaplı ve myelinsiz ya da ince miyelinli aksonlara sahiptir (63, 109, 110).

4.4.5. Termosensasyon

İnsan vücudu, soğuktan sığağa geniş bir aralıktaki birçok sıcaklığı algılar. Bu sıcaklıklardan ise sadece 43°C ve 15°C 'nin üzerindeki değerler termal duyuları uyandırmakla kalmaz, aynı zamanda baskın bir ağrı hissine de neden olur (111, 112).

Sıcaklığa duyarlı nöronların terminalleri genellikle dış çevreye (deri, nazal mukoza ve kornea) maruz kalan dokularda bulunur. Bununla birlikte, sıcaklık tespitinin moleküler mekanizması uzun süre gizem konusu olmuştur.

Genel olarak, tüm kanallar ve enzimler doğal olarak sıcaklığa duyarlıdır, fakat TRP süper ailesinin bazı kanalları gerçek sıcaklık algılama uzmanları olarak ortaya çıkmıştır: TRPV1, TRPV2, TRPV3, TRPV4, TRPM8 ve TRPA1 (113-116).

4.4.6. Nazal Trigeminal Kemosensasyon

Omurgalı kemosensasyonu temel olarak koku alma ve tad alma sistemi ve aynı zamanda genel kimyasal duyuları algılamayı (trigeminal duyu) içerir. Bu sistemler fonksiyonel ve anatomik yönlerden farklıdır ancak hepsinde ortak olan bir özellik, çevrede bulunan kimyasal ipuçlarının saptanmasıdır. Koku sistemi uçucu maddelerin ana detektörü iken, genel kimyasal duyu ek olarak, genel olarak koku ve koku alma hissine katkıda bulunur, çünkü çoğu koku verici de trigeminal tepkileri ortaya çıkarır (117). Trigeminal kökenli koku tespiti ve ayırt etme yeteneği, olfaktör sinir fonksiyonundan yoksun olan anormik hastalar üzerinde psikofizik çalışmalarda ve sayısız hayvan çalışması ile kanıtlanmıştır (118, 119).

Evrimsel bakış açısından, koku alma ve trigeminal sistemler farklı amaçlar için evrimleşmiş gibi görünmektedir. Olfaksiyon sadece gıda mevcudiyeti ve kompozisyon hakkında bilgi vermekle kalmaz, aynı zamanda eş seçiminde ve yırtıcı hayvanların saptanmasında da önemli bir rol oynar. Tersine, intranazal trigeminal sistemin, yaşamı tehdit eden maddelerin potansiyel olarak solunmasını önlemek için inspirasyonu refleks olarak durdurabilen, solunum yollarının bir parçası olarak hareket ettiği düşünülmektedir (120). Bu nedenle, baskın bir intranazal trigeminal alginın, batma, yanma veya keskin duyuları kapsayan bir ağrı olması şaşırtıcı değildir.

Burun içi trigeminal lifler burun boşluğu boyunca dağılır ve A δ ve C liflerinden kaynaklanan intraepitelyal serbest sinir uçları olarak tanımlanır. Nazal kavitenin trigeminal innervasyonu anterior etmoidal sinir, nazopalatin sinir ve infraorbital sinirin iç burun dalları ile sağlanır (121). Bu liflerin büyük bir kısmının nosiseptif özelliğe sahip olduğu düşünülmektedir (122, 123).

Polimodal nosiseptörlerin uyarılması sadece duyu bilgiyi beyne iletmek için merkeze yollanan aksiyon potansiyelinin ateşlenmesine sebep olmaz ayrıca “akson refleksi” denilen uyarılan terminalin periferik uzantılarından substans P ve kalsitonin gene ilişkili faktör (CGRP) gibi çeşitli nöropeptitlerin salınımına da sebep olur (124, 125). Bu peptitler, vazodilatasyon, plazma ekstravazasyonu ve artan glandüler sekresyon dahil

olmak üzere innerve edilmiş bölgede lokal değişikliklere neden olur (124, 126, 127). Tüm bu faktörler, hem üst hem de alt solunum yollarındaki hava akımı paterninin aerodinamiğini etkiler (128). Bu tür tepkiler, ödem ve hemorajik akciğerler, dermal irritasyon, dispne, konsolidasyon, şişmiş alveoller ve alveoler septa rüptüre yol açan bazı trigeminal uyarıcılara uzun süreli maruziyet koruyucu niteliktedir (118).

Pek çok durumda, bitkilerin otçullardan korunmak için ustaca savunma stratejileri, kapsaisin, izotiyosiyanatlar ve tiosemfinatlar gibi kimyasal ajanların üretimine dayanır. Bunlar, trigeminal burun ve ağız boşluklarında ağrı yolunun primer afferent sinir lifleri üzerindeki eksitatuvar TRP kanallarını hedefleyerek davranışları etkiler. Yüksek konsantrasyonlarda bu maddeler tahriş ve iltihap oluştururlar (129-131).

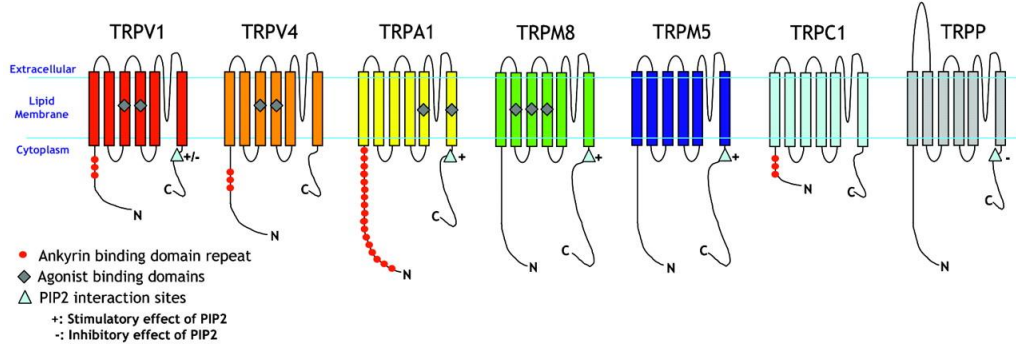
4.4.7. TRP Kanalları

Geçici reseptör potansiyeli (TRP) iyon kanal ailesi, mayadan insana eksprese edilen 50'den fazla katyon geçirgen kanal içerir. Amino asit homolojisine dayanan TRP süper ailesi yedi alt aileye ayrılabilir:

- TRPC ("Kanonik"),
- TRPV ("Vanilloid"),
- TRPM ("Melastatin"),
- TRPP ("Polikistik"),
- TRPML ("Mucolipin"),
- TRPA ("Ankyrin") ve
- TRPN ("NOMP") (132).

Hayvan genomları 10 ila 50 homolog taşır, ancak tüm alt aileler tüm hayvanlarda mevcut değildir. Memelilerde, TRPN dışındaki tüm alt aileler bulunabilir ve TRP kanal ailesinin üyeleri çeşitli hücre tipleri ve dokularında eksprese edilir.

TRP'ler, voltaj geçişli iyon kanallarına benzer bir moleküler yapıya sahiptir, her alt ünite genellikle altı transmembran proteini (6TM) ve TM5 ve TM6 arasında katyon geçirgen gözenekler oluşturmak için kısa, hidrofobik bir streç tarafından oluşturulan varsayılan gözenek bölgesi içerir (Şekil 6). TM4, birçok voltaj kapılı iyon kanalında voltaj sensörü için gerekli olan pozitif yüklü kalıntıların tamamından yoksundur (133).



Şekil 6. TRP kanallarının yapısı (Blackshaw'dan, 134)

TRP kanalları, nöronal ve nöronal olmayan hücrelerde birçok role sahip olsa da, görme, duyma, tat alma, koku alma, feromon duyumu, mekanosensiyon ve termosensiyon için gerekli olan (bir tür ya da bir diğerinde) duyuşal işleve bariz olarak katılmaktadırlar (116, 135). TRP kanalları, çok farklı uyarıların birçok türü tarafından aktive edilirler. Çok sayıda harici veya dâhili sinyal için entegratörlerdir ve bu nedenle çok işlevli hücre sensörleri olarak işlev görürler. Hüresel sensörler olarak rollerinden dolayı, birçok TRP, terapötik müdahale için iyi hedefleri temsil etmektedir. Bu nedenle, son zamanlardaki çalışmalar, sağlık ve hastalık konusundaki rollerini daha iyi doğrulamak ve ilaç keşfinde başlangıç noktaları sağlamak için bu kanalların işlevsel ve farmakolojik karakterizasyonuna odaklanmıştır.

Bazı TRP kanalları intraselüler akımlardaki değişikliklere tepki olarak aktive edilebilir. Beyin felci, epilepsi, baş ve spinal travma ve dejeneratif nörolojik koşullar nedeniyle oluşan beyin hasarında önemli rol oynayan oksidatif stres ve oksijen serbest radikalleri tarafından tetiklenebilir (136, 137). TRP'ler ayrıca, nöropatik ağrı, hiperestezi (dokunma duyarlılığı veya diğer doğal uyarınlara karşı artmış duyarlılık), hiperaljezi (ağrıya anormal duyarlılık), allodini (zararsız uyarınlara tepki olarak ağrı duyumları) ve kendiliğinden yanma gibi rahatsızlıklarda ağrı işlev bozukluğuna dâhil olurlar.

Vaniloid reseptör TRPV1 1997'de tanımlanmış ve transient reseptör potansiyeli (TRP) kanallarının geniş ailesinin bir üyesidir (14, 15). TRPV1, TRP kanal ailesinin diğer üyelerinin tipik bir ligand-kapılı, içeri doğru doğrultucu, nonspesifik katyon kanalıdır. Kapsaisin, ikinci ve üçüncü transmembran bölgelerine bitişik kanalın bir hücre içi bölgesine bağlanarak TRPV1'i aktive eder (129). TRPV1, doğrudan kapsaisin ve benzer kimyasal maddeler (vaniloidler), düşük pH ve zararlı sıcaklık düzeyindeki uyarılar

(43°C'nin üzerinde) tarafından aktive edilir (16). Esas olarak TG nosiseptörlerinde ve DKG primer somatosensör nöronların bir alt kümesi tarafından eksprese edilmektedir (17). TRP kanalları, ya doğrudan Ca^{+2} girişini artırarak (farklı kanallarda Ca^{+2} için seçicilikleri olsa bile) ya da dolaylı olarak voltaj bağımlı iyon kanallarının aktivasyonunu tetikleyen hücre depolarizasyonuna neden olarak, $[Ca^{+2}]_i$ değişiklikler meydana getiren bir hücre sınıfıdır.

Çok sayıda doku ve hücre tipinde eksprese edilebilir ve fosfatidilinositol fosfatlar, örneğin, fosfatidilinositol 4,5 bisfosfat (PIP2) tarafından aktive edilebilir ve Ca^{+2} ile modüle edilebilir (138). TRP kanallarının çoğunun ER ve Golgi membranlarında da lokalize olduğu ve TPC (iki-gözenekli kanallar) olarak da tanımlanan TRPML'lerin, endosomlardan NAADP ile aktive edilmiş hücre içi Ca^{+2} salınımına aracılık ettiği ileri sürülmelidir (139, 140).

4.4.8. Purinerjik Reseptörler

ATP ile açılan iyon kanalları iyonotropik P2X reseptörleri olarak adlandırılırken ATP ile aktive olan G proteini bağlı reseptörleri P2Y ailesine aittirler. P2X reseptör ailesi yedi alt üyeden oluşur ve TG'nin de içinde bulunduğu küçük nosiseptif duyu nöronlarından eksprese edilen yedi üyeden biri de P2X1 reseptörüdür (141).

Duyu nöronlarında homomerik P2X3 ve heteromerik P2X3/P2X2 reseptörleri hızlı ATP sinyal yolağının ana transdüserleridir. Ekstraselüler ATP'nin ana kaynağı muhtemelen nöronlar olduğu kadar non-nöronal hücrelerdir. P2X reseptörlerinin ağrı mekanizmasındaki rolü iyi bir şekilde açıklanmıştır ve belirli ATP reseptörleri, özellikle P2X3 tipi, baş ağrısında önemli bir rol oynayabilir (142). P2X3 reseptörleri, düşük ekstraselüler ATP konsantrasyonlarıyla bile desensitize olur. Bu desensitizasyon durumu, P2X3 reseptörünün ekstraselüler döngüsündeki olası bir ateşleme ile ekstraselülerdeki Ca^{+2} ve Mg^{+2} iyonları tarafından modüle edilir (143).

Desensitizasyon, kalıcı ağrı nedeniyle bu reseptörlerin uzun süreli aktivasyonunun rastgele oluşmasını önleyebilir. Knock-out farelerde yapılan araştırmalarda P2X3 reseptörünün sensitizasyonu takip eden hiperaljezi gibi bir ağrı mekanizmasına dahil olduğuna dair kanıtlar öne sürmektedir. P2X3 reseptör aktivasyonunun pronosiseptif etkisi aynı zamanda inflamatuvar medyatörlerle güçlendirilir. Örneğin, CGRP purinerjik sistemle etkileşime girmek için ortaya çıkar. CGRP, P2X reseptörlerinin ATP'ye cevabını

güçlendirirken P2Y reseptörlerinin aktivasyonu da indirekt olarak küçük çaplı DRG ve trigeminal nöronlarından CGRP salınımını tetikler. Trigeminal sinir terminalleri yüksek oranda P2X3 reseptörü içerir ve migren, diş ağrısı gibi kronik ağrı durumları trigeminal duyu nöronlarının sensitizasyonu ile ilişkili olabilir (144).

4.5. Ağrı ve Nosisepsiyon

Uluslararası Ağrı Araştırma Derneğinin tanımına göre ağrı; gerçek veya potansiyel doku hasarıyla ilişkili, hoş olmayan duysal ve emosyonel bir deneyim; olarak tanımlanmıştır. Bu tanıma göre, sensoriyel ve emosyonel bileşenler ağrıyı meydana getirmektedir. Bu bileşenler ile ağrı; şiddet, süre ve yerleşim olarak algılanır (145).

Birden fazla bileşenli ve kişinin deneyimleri ile ilgili subjektif bir olgu olan ağrının; başlaması, algılanması, iletimi ve ağrıya karşı verilen yanıtlar bir dizi karmaşık mekanizma sonucu gelişir. Ağrı, karmaşık bir olgu olmasına rağmen, sinirlerle kaplı vücut yüzeyinde yüzde ve iç organlarda, duysal sinirlerdeki elektriksel aktiviteye dayanan periferik bir kökene sahiptir.

Ağrı, jeneralize bir reseptörün zararlı uyarıcılar (zararlı ısı, yoğun basınç, kuvvetli tahriş edici kimyasallar) tarafından aktive edilmesi ile spesifik duysal nöronlar tarafından MSS'ye iletilir (106, 146). Nosiseptif nöronlar, çoğunlukla, miyelinsiz, yavaş iletimli C-lifleri ve zayıf miyelinli, daha hızlı, A δ lifleri gibi küçük veya orta çaplı hücrelerden oluşur. İlk ağrı olarak adlandırılan hızlı, akut ve keskin ağrı, ağırlıklı olarak A δ lifleri tarafından iletilirken, daha yayılan bir ağrı olan gecikmiş veya ikinci ağrı C lifleri tarafından iletilir (147).

Sinir sistemi, çevresel ve endojen kimyasal iritanların yanı sıra çok çeşitli termal ve mekanik uyarıları algılar ve yorumlar. Şiddetli olduğunda, bu uyarılar akut ağrıya neden olur ve kalıcı yaralanma durumunda, ağrı iletim yolunun hem periferik hem de MSS bileşenleri muazzam bir plastisite sergiler, ağrı sinyallerini artırır ve aşırı duyarlılık üretir. Plastisite koruyucu refleksi kolaylaştırdığı zaman faydalı olabilir, ancak değişiklikler devam ettiğinde, kronik bir ağrı durumu ortaya çıkabilir. Genetik, elektrofizyolojik ve farmakolojik çalışmalar ağrı üreten zehirli uyarıların tespiti, kodlanması ve modülasyonunun altında yatan moleküler mekanizmaları aydınlatmaktadır (148).

4.5.1. Orofasiyal Ağrı

Orofasiyal ağrı, fasiyal ağrının eşlik ettiği oral yapılardan kaynaklanan ağrıyı içerir. Yüz bölgesi orbitomeatal çizginin altında, boynun üstünde ve kulakların ön kısmında yer alan bölgeyi içerir. Bununla birlikte, kraniyofasiyal bölge yüksek yoğunluklu anatomik yapılara sahiptir ve ağrı genellikle bir alandan diğerine yayılır.

Orofasiyal ağrının prevalansı %17 ila %26 arasındadır, bunun %7 ila %11'i kroniktir (149). Trigeminal sistem, kraniyofasiyal duysal innervasyonun çoğunu sağlar ve spesifik fizyolojik özellikler ve ağrı durumları ile ilişkilidir (Tablo 3). Örneğin, trigeminal nevralji veya migren gibi ağrı sendromları, bölgeye özgüdür ve trigeminal sinir yaralanması yanıtları, spinal sinirlerdekinden farklıdır. Dahası, trigeminal sinir anatomik olarak ilişkili ancak menenjler, kraniyofasiyal vaskülatür, gözler, kulaklar, dişler, oral yumuşak dokular, kaslar ve TME gibi fonksiyonel olarak çeşitli organları innerve eder. Beyin sapında, trigeminal duyu çekirdeği üst servikal dermatomlarla üst üste gelir (150).

Tablo 3. Orofasiyal ağrının farklı tanılara göre sınıflandırılması (Okeson'dan, 151)

İntrakraniyal ağrı bozuklukları	Neoplazm, anevrizma, apse, hemoraji, hematom, ödem
Primer baş ağrısı bozuklukları	Migren, migren varyantları, küme baş ağrısı, paroksizmal hemikrania, kranial arterit, (nörovasküler bozukluklar)carotodynia, gerilim tipi baş ağrısı
Nörojenik ağrı bozuklukları	Paroksizmal nevraljiler (trigeminal, glossopharyngeal, nervus intermedius, superior laringeal) Sürekli ağrı bozuklukları (de-afferentation, nörit, postherpetik nevralji, post-travmatik ve cerrahi sonrası nevralji) Sempatik olarak devam eden ağrı
İntraoral ağrı bozuklukları	Diş küspesi, periodontium, mukogingival dokular, dil
Temporomandibular bozukluklar	Masticator kas, TME, ilişkili yapılar
İlişkili yapılar	Kulaklar, gözler, burun, paranazal sinüsler, boğaz, lenf düğümleri, tükürük bezleri, boyun

4.5.2. Migren

4.5.2.1. Tanımı

Migren, birkaç saatten güne kadar süren yoğun tek taraflı zonklayan baş ağrısının tekrarlayan atakları ile karakterize bir baş ağrısının alt tipidir (152, 153). Uluslararası Baş Ağrısı Derneği (IHS) tarafından baş ağrıları; birincil baş ağrıları ve ikincil baş ağrıları olarak sınıflandırılmaktadır (154).

Migren, birincil baş ağrılarında biridir ve migren tipi baş ağrısına; nörolojik, gastrointestinal ve otonomik değişikliklerin belirli kombinasyonları eşlik edebilir. Migren tanısı, baş ağrısının karakterine ve eşlik eden belirtilere göre konulur (155). Migren, ailesel özellik gösteren bir hastalıktır ve periyodik, sıklıkla tek taraflı, zonklayıcı baş ağrısı ile karakterize olup daha çok çocukluk çağında, ergenlikte veya erken erişkin yaşta başlayabilir ve ilerleyen yaşlarda ise azalan sıklıkta tekrarlar (156).

4.5.2.2. Migren Patofizyolojisi

Baş ağrısı alanında son 30 yıldır yapılan temel ve klinik araştırmalarla migren patofizyolojisi ve tedavi anlayışı büyük ölçüde gelişmesine rağmen migren tipi baş ağrısının kesin nedeni hala tam anlaşılamamıştır.

Yakın zamana kadar, baş ağrılarının vasküler ya da kas kökenli olduğu düşünülmüştür, ancak son on yılda yapılan araştırmalar, sık ya da kronik baş ağrısı olan birçok hastanın tamamen vasküler ve tamamen kas kökenli olmasının yanısıra ikisinin karışımına sahip olduğu ve baş ağrılarının sürekli bir şekilde bir yerlerde olduğunu göstermiştir. Migren, bazen de yüz ve çene ağrılarına neden olabilen vasküler baş ağrılarının en sık görülenidir. Fındık, çikolata ve kırmızı şarap gibi yiyeceklerle ve stres; uyku eksikliği; veya açlık ile tetiklenebilir. Migren kadınlarda daha yaygındır (157).

Bu teorilerden en eskisi Thomas Willis tarafından ortaya atılan vasküler teoridir ve baş ağrısının serebral ve meninks arterlerindeki vazodilatasyon sonucu oluştuğunu savunmuştur. 20. yüzyılda Graham ve Wolf bu teoriyi geliştirmişler ve migrenin başlangıçta oluşan vazokonstriksiyonu takiben rebound vazodilatasyon aracılı vasküler bir olay olduğu savunmuşlardır (158).

Dura mater, venöz sinüsler, meningeal ve pial arterler gibi ağırlı hassas intrakranial yapılar, trigeminoservikal sinirlerin afferent duyuşal dalları tarafından yoğun bir şekilde innerve edilir (159).

Kan damarları, trigeminal afferentler ve bunların santral projeksiyonlarından oluşan bu yapıya trigeminovasküler sistem (TVS) denir (160). Trigeminal afferentlerin hücre gövdeleri TG'de bulunur. Temel olarak A δ ve C tipi nosiseptif lifler, beyinlere ağrı sinyallerinin iletilmesinden sorumludur. Trigeminoservikal nöronların merkezi projeksiyonları, trigeminoservikal kompleks (TCC) içindeki ikinci derece nosiseptif nöronlar üzerinde son bulur (161). TCC, rostral ponslardan üst servikal spinal kord seviyesine uzanır. TCC'de bulunan nosiseptif nöronlar diğere tarafa geçmekte, rostradal olarak yükselmekte ve talamik çekirdekdeki üçüncü dereceden nöronlarda, özellikle ventralposteromedial (aynı zamanda posterior ve parafasiküler) çekirdeğin içinde sonlanmaktadır. Talamik nöronlar, baş ağrısının bilinçli bir şekilde algılanması ve ağrıya bağılı davranışları ve otonomik yanıtları modifiye etmeleri için birincil somatosensör korteks, insular korteks, limbik yapılar ve hipotalamus ile ilişkilidir (153).

Migren baş ağrısı sırasında, TVS duyarlı hale gelir ve uzun bir süre boyunca aşırı aktif kalır. Aktive edilen perivasküler nosiseptif aferentler, vasoaktif mediatörleri (esas olarak CGRP, P maddesi, nörokinin A ve hipofiz adenilat siklaz aktive edici polipeptit) serbest bırakır, mast hücre degranülasyonunu tetikler ve dura materda steril nörojenik inflamasyona neden olur (162). Ek olarak, TCC ile üstün tükürük nükleusu arasındaki mono-sinaptik refleks ark, dural kan damarları etrafında parasempatik sinir uçlarını aktive eder ve vazodilatasyona neden olur (152). Nörojenik inflamasyon muhtemelen nosiseptif aktiviteyi sürdürür ve afferentleri hassaslaştırır. TVS'nin migren baş ağrısına aracılık ettiği iyi belirlenmiş olmakla birlikte, bu aktivasyondan sorumlu tetikleyici uyarıların doğası şu anda belirsizdir. Migren üretici teorisi, migrenin TCC'nin epizodik aktivasyonunun neden olduğu birincil bir bozukluk olduğunu öne sürmektedir (163).

Bir başka teori, TCC aktivasyonunun, kortikal yayılan depolarizasyon (KYD), aura'nın auralı nedeni gibi zararlı intrakranial bir olguya ikincil olduğunu önermektedir (152).

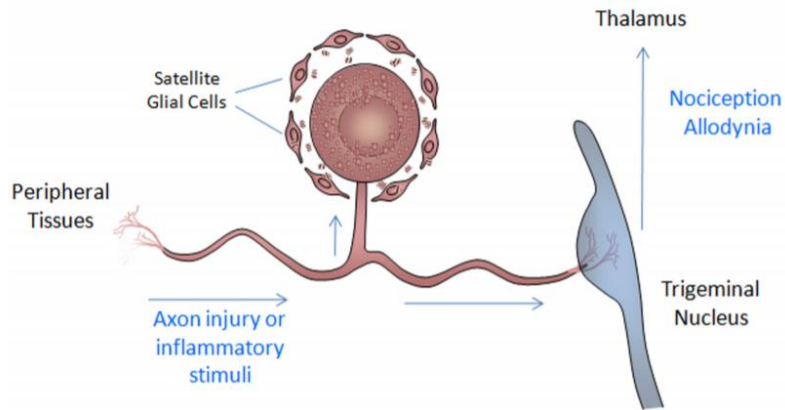
4.6. Epilepsi ve Ağrı

Baş ağrısı ve özellikle migren, çoğu zaman epilepsiye bağlıdır. Migren ve epilepsi, muhtemelen, genetik olarak belirlenmiş, eksitator ve inhibitör faktörler arasındaki dengesizliğin, beyin fonksiyonu ve otonomik semptomların değişmesine neden olduğu bozukluklardır. Epidemiyolojik, genetik ve patofizyolojik çalışmalardan migren ve epilepsi arasında bir ilişki olduğuna dair ikna edici kanıtlar vardır (164).

Epidemiyolojik çalışmalar, migren ve epilepsiye ortak ve komorbid olan bozukluklar olarak ortaya koymuştur, ancak çoğu zaman birbirlerinden farklıdırlar. Her ikisi de elektrik transmembran gradyentlerinin patofizyolojide ve klinik belirtilerde önemli bir rol oynadığı bozukluklardır. Bu nedenle, iyon kanalı ve nörotransmitter reseptör genlerindeki farklı mutasyonlar, örtüşen epilepsi ve migren sendromları üretebilir. Bu özellikle ailesel hemiplejik migrende belirgindir. Her iki bozukluğu tedavi eden ilaçlar da altta yatan ortaklıklar ve farklılıklara ışık tutmaya yardımcı olurlar (165).

4.7. TG Nöronlarında Kalsiyum Sinyalleşmesi ve Homeostazisi

TG nöronları omurgalı organizmaların yüz ve baş bölgesi nosiseptif innervasyonun büyük bir çoğunluğunu sağlar. Memelilerdeki tüm duyuşal afferent nöronlar gibi, TG nöronları yalancı-tek kutupludur.



Şekil 7. TG nöronu (Durham'dan, 166)

Bu dalların biri gangliyondan ayrılır ve duyuşal uyarıların elektriksel aktiviteye dönüştürüldüğü çeşitli periferik dokulardan birine girer (Şekil 7). Diğeri ise MSS'ye girer ve sinaptik bağlantılar yapar. Periferik duyuşal sinir terminallerinde başlatılan elektriksel aktivite, MSS'ye gitmeden önce iki kola ayrılma noktasını geçmelidir (166).

Ca^{+2} , nöronlarda gen ekspresyonu, aksiyon potansiyelinin ateşlenmesi nörotransmitter salıverilmesi gibi birçok olayda önemli rol oynar. Diğer hücreler gibi nöronlarda hem ekstrasellüler hem de intrasellüler kalsiyum kaynaklarını kullanırlar. Kalsiyum, MSS'de migrasyon, sinaptogenezis gibi olaylarda rol almanın yanı sıra apoptozis olayında da etkin rol oynar. Nöronal süreçte ikincil haberci olarak gören alan kalsiyum seviyesindeki artış, hücre dışından reseptör-aracılı veya voltaj-kapılı iyon kanallarından hücre içine kalsiyum girmesiyle ya da hücre içi depolardan kalsiyumun salınmasıyla gerçekleşir (167-169).

Duyusal afferent nöronların Ca^{+2} homeostazisi ile ilgili mekanizmalar hakkında bildiklerimizin çoğu, dorsal kök gangliyon ve nodoz gangliyon nöron hücre gövdelerinin çalışmalarından gelmektedir. Aksine, TG nöronlarında Ca^{+2} homeostazisi hakkında çok az şey bilinmektedir.

5. GEREÇ ve YÖNTEM

Hayvanlar üzerinde bir prosedür gerçekleştirilmeden, hayvanlar hızlı bir şekilde dekapite edildi. Ardından TG'ler sabit hava akımlı biyogüvenlik kabini içerisinde diseksiyon mikroskobu yardımıyla çıkarılarak, hücre kültürü hazırlanmak üzere enzimatik ve mekanik ayrıştırma gerçekleştirildi.

5.1. Kültür Solüsyonları ve Kullanılan Ajanlar

Hücre kültürü için kültür vasatı olarak 5.2'de belirtilen solüsyonlar ve enzim olarak kollegenaz, tripsin ve hücre besleme için sinir büyütme faktörü kullanıldı. Primer hücre kültürü hazırlanmasına uygun nitelikteki bütün bu ajanlar ticari olarak (Sigma firmasından) temin edildi.

5.2. Kültür Vasatı

Fosfat Tamponlu Fizyolojik Tuzlu Su (PBS), (Gibco)

Nörobazal-A Medyumu (NBA), (fenol kırmızısı içermeyen, Gibco)

5.3. Hücre Kültürü için Genel Prensipler

Sıçan TG hücrelerinin primer kültürlerinin hazırlanması ve bu kültüre edilmiş hücrelerin saklanması sırasında olası kontaminasyonlara karşı gerekli asepsi kurallarına uyularak, diseksiyon ve enzimatik ayrıştırma işlemleri sabit akımlı güvenlik kabini içerisinde gerçekleştirildi (ESCO, Laminar Flow Cabinet). Bunun dışında kullanılan bütün gereç ve solüsyonlar ya steril olarak sağlandı ya da uygun şekilde sterilize edildi.

5.4. Lamel Yüzeyi Kaplama

HCl içerisinde tutulan cam lameller kültür yapımından bir gün önce HCl'den çıkarılıp steril distile su ile yıkanıp yarım saat etanolde (Thermo Scientific, Almanya) bekletildikten sonra steril distile suda yıkanarak sabit akımlı güvenlik kabini içerisinde steril bir kurutma kağıdı üzerinde kurutuldu. Bu sırada 100 µL poli-D-lizin (Sigma; 25 mg/mL stok solüsyon) stoğu üzerine 5 mL distile su ilave edildi ve oluşan bu sıvı çapı 15 ml'lik falkon tüplere bölünerek, kullanılmak üzere -20°C'ye kaldırıldı. Kuruyan lameller büyük bir petriye alınarak, üzerlerine yaklaşık 300 µL hazırlanmış poli-D-lizin solüsyonundan eklendi ve 37°C'de %95 O₂ + %5 CO₂ ihtiva eden inkübatörde (Thermo Scientific, Forma STERI-CYCLE CO₂ Incubator, Almanya) 1 saat bekletildi. Daha sonra lameller inkübatörden alındı ve Laminar flow içerisinde steril su ile yıkanarak tekrar

kurutuldu. Her bir lamel üzerine 100 μ L laminin (Sigma) ilave edilmek suretiyle kültür tablası inkübatöre kaldırıldı. Aynı gün NBA kültür vasatı ve PBS 50 mL'lik steril birer plastik falkon tüp içinde inkübatöre yerleştirildi. Diseksiyon cerrahi seti ile birlikte diseksiyon mikroskobu dezenfekte edilerek sabit akımlı güvenlik kabinine alınarak yarım saat ultraviyole (UV) ışık altında bekletildi.

5.5. Primer Nöron Hücre Kültürü Hazırlanması

TÜBİTAK-1001-214S/206 numaralı projeden temin edilen WAG/Rij ve Wistar sıçanlar dekapite edilerek hayvanın kafası trigeminal gangliyonları çıkarılmak üzere büyük bir petri kabına yerleştirildi.



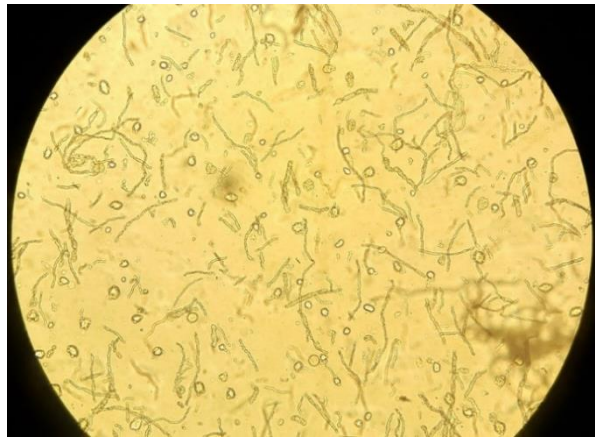
Şekil 8. TG'lerin beyin uzaklaştırıldıktan sonra doku içinde ve diseke edildikten sonraki görünümü



Şekil 9. Diseke edilmiş ve mekanik olarak kısmen bölünmüş gangliyonlar

Eğik uçlu forseps ile kafa ters çevirilerek beyin kafatasından ayrıldı ve kafatasının anterior bölgesinde paralel bir şekilde iki adet bulunan TG'ler ince uçlu forceps ve yaylı makas yardımıyla alt ve üst bağlantılarından koparılarak diseke edildi ve içerisinde PBS bulunan petri kabında toplandıktan sonra iki gangliyon da temizlenerek dörde bölündü (Şekil 8, Şekil 9). Yavaş, dairesel hareketlerle petri kabı sallanarak gangliyonların bir araya toplanması sağlandıktan sonra NBA bir pastör pipeti ile çekilerek 900 µL'lik (37°C'de inkübe edilmiş) kültür vasatı ile 100 µL kollagenaz (Sigma, %0.125) ilave edilerek 45 dakika süreyle inkübe edildi. Sürenin bitiminde hücre, solüsyon ve enzim karışımı inkübatörden alınarak PBS ile üç defa yıkandı. Bundan sonra 900 µL PBS ve 100 µL tripsin (Sigma, %0.25) eklenerek 15 dakika boyunca inkübe edildi. Ardından steril 15 mL'lik falkona aktarılarak NBA ile her seferinde tüp yavaşça alt üst edilerek üç defa yıkandı. Ardından ucu daraltılmış steril cam bir pastör pipeti yardımıyla pipetaj yapılarak gangliyonlar mekanik olarak tek hücrelere ayrıştırıldı. Hemen ardından hücre kültür vasatı süspansiyonuna kültür vasatı ilave edilip 5 mL'ye tamamlandı.

Bir gün önce poli-D-lizin ile hazırlanmış üzerlerinde laminin bulunan lamellerin inkübe edildiği petri kaplarından laminin pipet yardımıyla çekilerek yaklaşık her bir petriye 300 µL hücre süspansiyonu eklendi ve inkübe edildi. Her lamele 20 µL sinir büyütme faktörü (NGF, Sigma) ilave edildi ve bir akşam için inkübatöre kaldırıldı. TG hücreleri 24 saat sonra Ca²⁺ görüntüleme kayıtları için kullanılmaya başlandı. TG hücre kültürüne ait örnek bir ışık mikroskopik görüntüsü sunulmuştur (Şekil 10).



Şekil 10. TG hücre nöronlarının ışık mikroskobu altındaki görüntüsü

5.6. Görüntüleme için Kullanılan Ajanlar

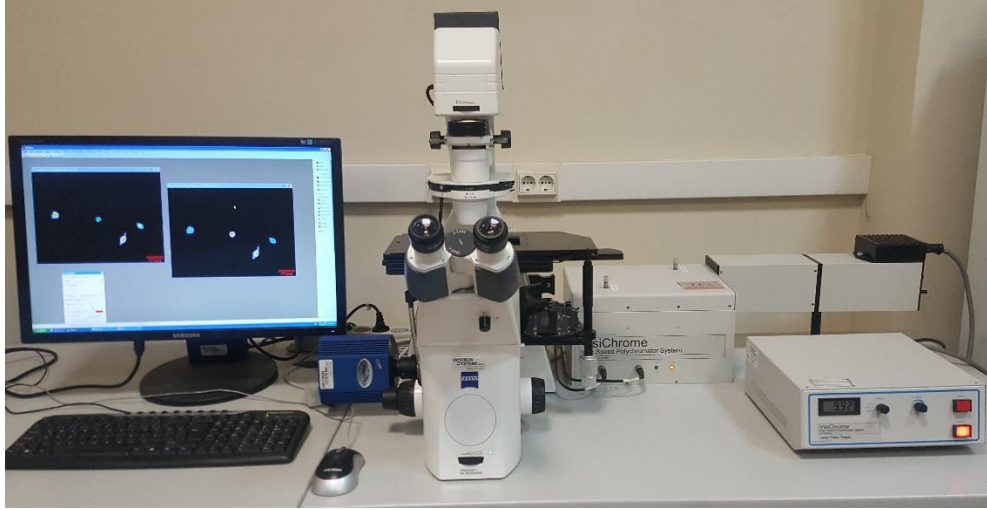
Kültüre hücreler kalsiyum duyarlı floresan boya ile boyandı. Bu işlem karanlık ortamda hücre dışı kayıt çözeltisi içerisinde gerçekleştirildi. Hücre dışı kayıt çözeltisi: 135 mM NaCl, 5.9 mM KCl, 1.5 mM CaCl₂, 1.2 mM MgCl₂, 11.5 mM Glukoz, 11.6 mM HEPES, 310-320 mOsm osmolarite sukroz içermek üzere hazırlandı.

Hücre kültürünü ihtiva eden lameller kayıt çemberine yerleştirildikten sonra 1mL hücre dışı kayıt çözeltisi içerisinde ya kısa süreli (30 s) yüksek hücre dışı KCl (60 mM), kapsaisin (1 µM) ve ATP (100 mM) ile uyarıldı ya da diltiazem 50 s ön muamele olarak uygulandıktan sonra bu test ajanları uygulandı.

5.7. Hücre içi Kalsiyum Görüntüleme ve Görüntü Analizleri

Kültüre edilen hücreler bir gün inkübe edildikten ve lamele iyice yapışması sağlandıktan sonra kalsiyum görüntüleme deneylerinde kullanıldı. Hücrelerin aksonal ve dentritik uzantılar geliştirmesi floresan kalsiyum görüntüleme hesaplamalarını etkileyebileceği için görüntüleme deneylerinde genellikle bir günlük hücreler kullanıldı.

Petriden dikkatlice ince uçlu forceps yardımıyla alınan lameller mikroinkübasyon kayıt çemberine aktarılarak NBA kültür vasatı ile yıkandı ve 1 mL'lik NBA'ya 1 µL fura-2-AM (5 µM, Molecular Probes, İngiltere) ile floresan boya yüklemesi karanlık ortamda yapıldı ve oda sıcaklığında 45 dk inkübe edildi. Yüklemeyi takiben hücreler 45 dakika sonunda NaCl esaslı ekstraselüler kayıt solüsyonu ile en az üç kez yıkanarak hücre dışındaki boya uzaklaştırıldı. Kalsiyum görüntüleme deneyleri 1 mL'lik hücre dışı kayıt solüsyonu kullanılarak gerçekleştirildi. Bütün deneyler oda sıcaklığında (22°C) gerçekleştirildi ve bütün deneysel işlemler hücrelerin floresan işaretleyici ile yüklenmesinden maksimum bir saat içerisinde tamamlandı.



Şekil 11. Kalsiyum görüntüleme sistemi

Kalsiyum görüntüleme sistemi aracılığıyla bir polikromatör ışık kaynağından gönderilen ışığın filtre seti 340 nm ve 380 nm filtrelerden (Chroma, ABD) geçerek mikroskop optikleri (Axiovert, Zeiss, 40X objektif, NA=1.4) aracılığı dual eksitasyon ve 510 nm’de emisyon gerçekleştirildi (Şekil 11). Floresan görüntüleri yüksek hızlı soğutmalı dijital bir kamera aracılığı ile veri kazanım-yazılım programına (Visiview) kayıt edildi.

Floresan oran analizleri offline olarak, cevap veren hücrelerde ilgi alanı seçimleri yapılarak Visiview yazılım programı aracılığıyla gerçekleştirildi ve $[Ca^{+2}]_i$ hesaplanmasında 510 nm’de emisyon gerçekleştirilerek 340 nm eksitasyonda elde edilen floresan yoğunluğunun 380 nm eksitasyon elde edilen floresan yoğunluğunu oranlanması (dual uyarı: 340 nm/380 nm, emisyon: 510 nm) esas alındı.

Çalışmada hücre kültürü üzerinden kayıt alınırken sırayla KCl (60 mM), kapsaisin(1 μ M) ve ATP(100 mM) uygulandı ve hücre cevapları kaydedildi. Ayrıca hücre kültürüne diltiazem(10 μ M) uygulandı ve sonrasında KCl, kapsaisin ve ATP hücre cevapları görüntülendi. KCl, kapsaisin uygulandıktan sonra 2 dk ve ATP uygulandıktan sonra hücrelerin $[Ca^{+2}]_i$ toparlanma süreleri yaklaşık 5 dk kayıt edildi.

5.8. İstatistiksel Analiz

Bütün veriler ortalama \pm SD olarak sunuldu. Verilerin karşılaştırılması SPSS programında yapıldı ve Student t-testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi; $p<0.05$ anlamlı, $p<0.005$ yüksek derece anlamlı olarak kabul edildi.

6. BULGULAR

Bu tez çalışmasının gerçekleştirildiği deneysel koşullarda, kalsiyuma duyarlı boya olan fura-2 ile yüklenmiş TG nöronlarından dakikalarca (45-60 dk) stabil floresan sinyalleri kayıt edilebilmektedir. Hücreler, floresan kalsiyum görüntüleme sistemi kullanılarak hücre içi serbest kalsiyum düzeyi değişiklikleri takip edildi.

TG hücrelerinin non-spesifik depolarizasyon olarak yüksek KCl (60 mM), purinerjik agonist ATP (100 mM) ve acı biberin etken maddesi olan kapsaisin (1 μ M) ile uyarılarak $[Ca^{+2}]_i$ seviyeleri yaklaşık 5 dk kayıt edildi.

Bir diğer protokolda ise kalsiyum kanal blokörü diltiazemin (10 μ M) 50 s akut uygulanmasını takiben hücrelere ya KCl ya ATP ya da kapsaisin uygulandı ve $[Ca^{+2}]_i$ cevapları kayıt edildi.

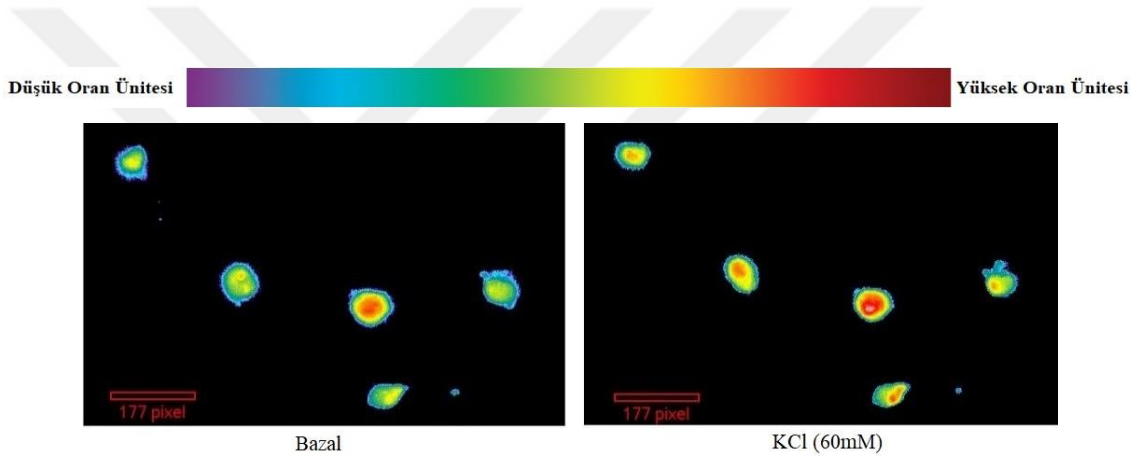
WAG/Rij sıçan TG hücreleri KCl uygulamasını takiben $[Ca^{+2}]_i$ düzeyi Wistar oranla anlamlı bir düşüş gösterdi; WAG/Rij $[1.27\pm 0.06$ (n=7)], Wistar $[1.45\pm 0.22$ (n=11)]. Diltiazemle 50 s akut uygulama sonrasında WAG/Rij sıçanlarda $[Ca^{+2}]_i$ cevabı tamamen inhibe olmazken Wistar sıçanlarda neredeyse tamamen inhibe oldu.

Normal koşullarda WAG/Rij sıçanlardan izole edilen TG hücrelerinde pik ATP cevabı 340 nm/380 nm oranı $[1.40\pm 0.17$ (n=19)] düzeyinde iken; diltiazem ile ön-muamele sonrası bu cevap $[1.28\pm 0.12$ (n=10)] düzeyinde baskılanmış olarak gerçekleşti ($p<0.05$). Wistar sıçanlardan izole edilen TG nöronlarında bazal şartlardaki pik cevabı $[1.66\pm 0.21$ (n=14)] oranındayken, diltiazem ön muamelesi sonrası bu değer $[1.27\pm 0.16$ (n=14)], yani yüksek anlamlılık derecesinde düşüktü ($p<0.005$).

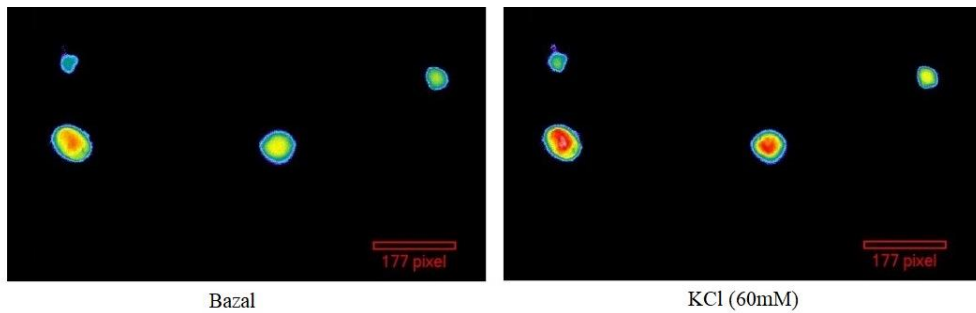
TG nöronlarının nosiseptif uyaran kapsaisin cevabı WAG/Rij grubunda $[2.78\pm 0.52$ (n=9)]; Wistar grubunda ise $[2.42\pm 0.79$ (n=20)] olarak tespit edildi. Diltiazemle ön-muamele sonrası WAG/Rij pik cevabı $[1.77\pm 0.35$ (n=11)] iken Wistarda $[1.97\pm 0.52$ (n=12)] bulundu.

6.1. WAG/Rij ve Wistar TG Hücrelerinde Depolarizasyonla İndüklenen $[Ca^{+2}]_i$ Cevapları

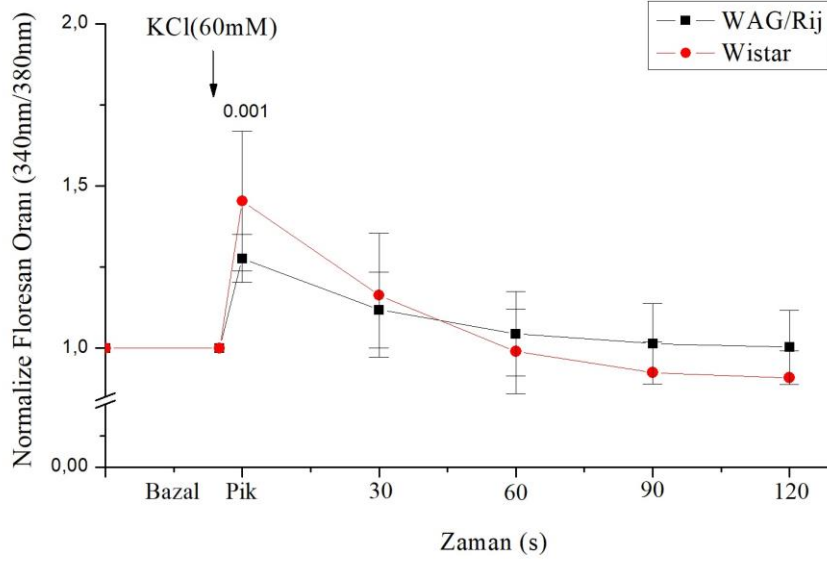
WAG/Rij ve Wistar floresan boya fura-2 AM ile yüklenmiş TG nöron hücrelerinde, yüksek KCl (60 mM) ile uyarılan $[Ca^{+2}]_i$ cevapları incelendi. İki grupta da floresan oranı değişikliğini gösteren örnek bir deney uygulamasına ait orijinal kayıtlar aşağıda sunulmuştur (Şekil 12, Şekil 13). WAG/Rij ve Wistar TG hücre kültürü ortamında KCl (60 mM) uygulamasının $[Ca^{+2}]_i$ düzeyine etkisi normalize floresan oranı (340 nm/360 nm) değerleri; bazal, pik ve $[Ca^{+2}]_i$ toparlanma değerleri olarak karşılaştırıldı (Şekil 14). WAG/Rij grubunda pik seviyesinde $[Ca^{+2}]_i$ cevabında Wistar'a oranla anlamlı bir düşüş görüldü ($p < 0.05$). Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.



Şekil 12. WAG/Rij TG nöronlarına KCl (60 mM) uygulamasının $[Ca^{+2}]_i$ düzeylerine etkisi



Şekil 13. Wistar TG nöronlarına KCl (60 mM) uygulamasının $[Ca^{+2}]_i$ düzeylerine etkisi

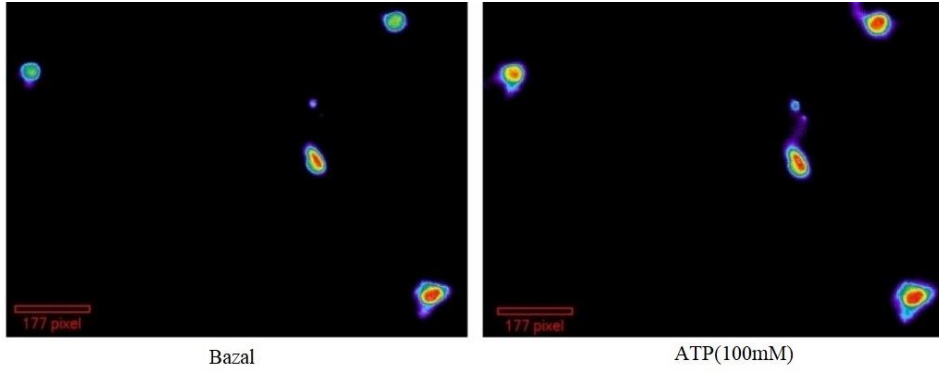


Şekil 14. WAG/Rij ve Wistar TG kültür ortamında KCl (60 mM) uygulamasının $[Ca^{+2}]_i$ düzeyine etkisinin karşılaştırılması

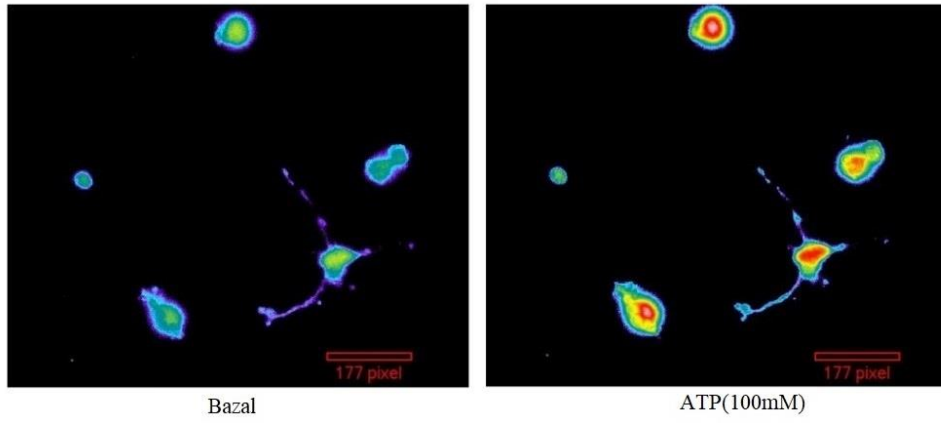
6.2. WAG/Rij ve Wistar TG Hücrelerinde Purinerjik Agonist ile İndüklenen $[Ca^{+2}]_i$ Cevapları

WAG/Rij ve Wistar floresan boya fura-2 AM ile yüklenmiş TG nöron hücrelerinde, purinerjik agonist ATP (100 mM) ile uyarılan $[Ca^{+2}]_i$ cevapları incelendi. İki grupta da floresan oranı değişikliğini gösteren örnek bir deney uygulamasına ait orijinal kayıtlar aşağıda sunulmuştur (Şekil 15, Şekil 16). Wistar ve WAG/Rij TG hücre kültürü ortamında ATP (100 mM) uygulamasının $[Ca^{+2}]_i$ düzeyine etkisi normalize floresan oranı (340 nm/360 nm) değerleri; bazal, pik ve $[Ca^{+2}]_i$ toparlanma değerleri olarak karşılaştırıldı (Şekil 17). WAG/Rij grubunda pik seviyesinde ve toparlanma seviyesinde $[Ca^{+2}]_i$ cevabının Wistar'a oranla yüksek derece anlamlı olarak düştüğü görüldü ($p < 0.005$). Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.

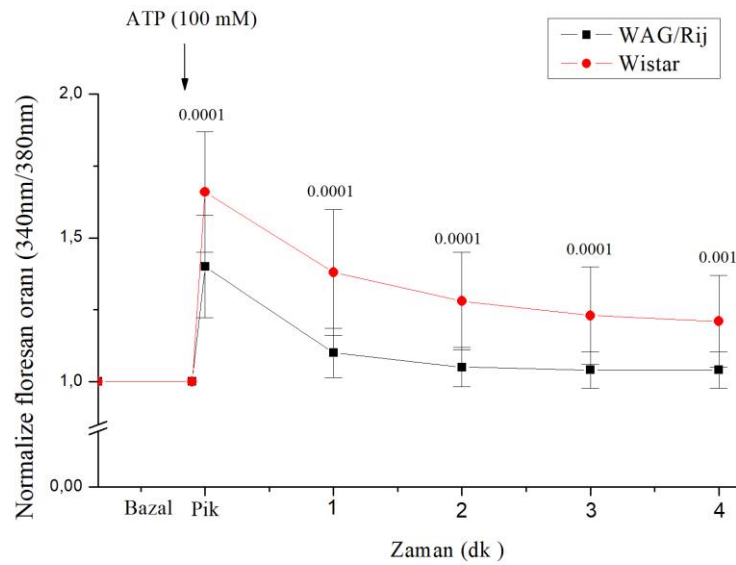
Düşük Oran Ünitesi  Yüksek Oran Ünitesi



Şekil 15. WAG/Rij TG nöronlarına ATP (100 mM) uygulamasının $[Ca^{2+}]_i$ düzeylerine etkisi



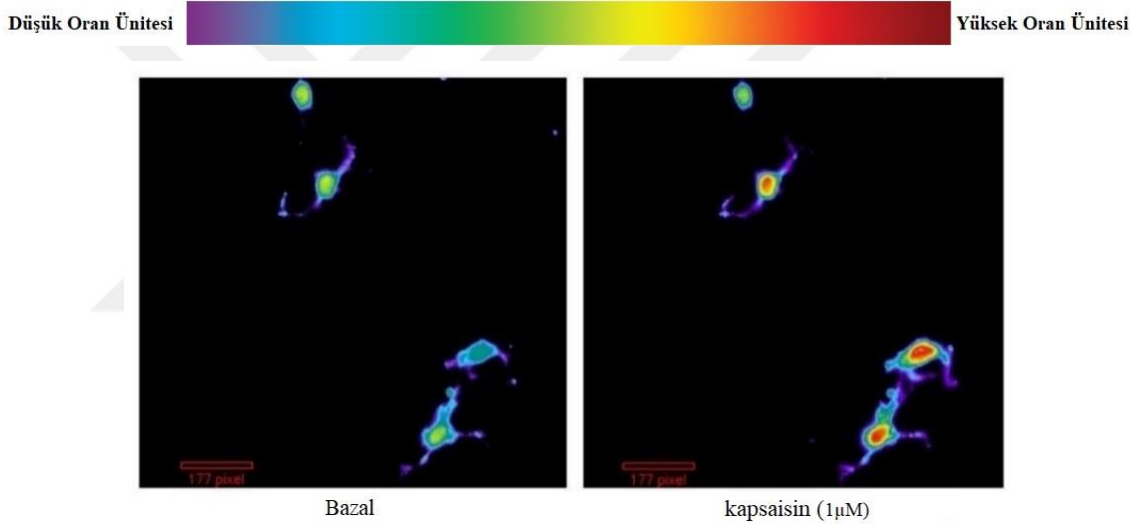
Şekil 16. Wistar TG nöronlarına ATP (100 mM) uygulamasının $[Ca^{2+}]_i$ düzeylerine etkisi



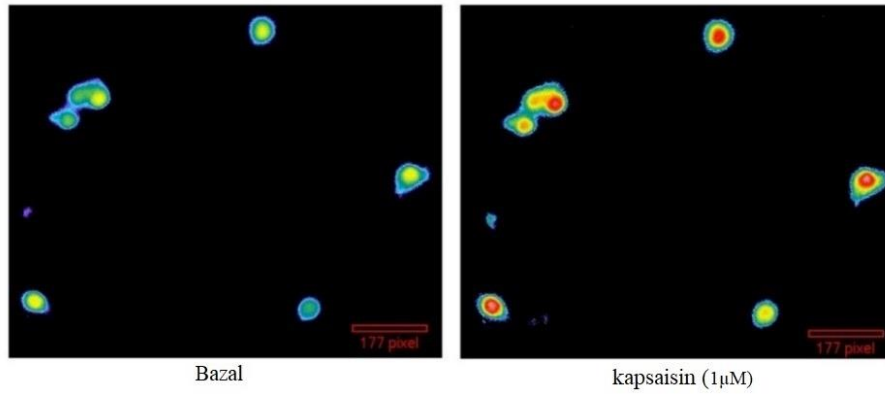
Şekil 17. WAG/Rij ve Wistar TG kültür ortamında ATP (100 mM) uygulamasının $[Ca^{2+}]_i$ düzeyine etkisinin karşılaştırılması

6.3. WAG/Rij ve Wistar TG Hücrelerinde Kapsaisin ile İndüklenen $[Ca^{+2}]_i$ Cevapları

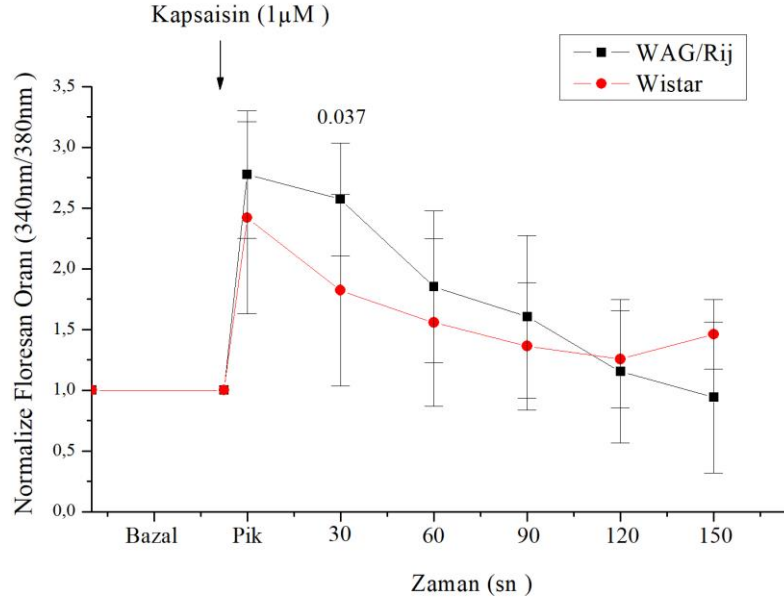
WAG/Rij ve Wistar floresan boya fura-2 AM ile yüklenmiş TG nöron hücrelerinde, kapsaisin (1 μ M) ile uyarılan $[Ca^{+2}]_i$ cevapları incelendi. İki grupta da floresan oranı değişikliğini gösteren örnek bir deney uygulamasına ait orijinal kayıtlar aşağıda sunulmuştur (Şekil 18, Şekil 19). Wistar ve WAG/Rij TG hücre kültürü ortamında kapsaisin (1 μ M) uygulamasının $[Ca^{+2}]_i$ düzeyine etkisi normalize floresan oranı (340 nm/360 nm) değerleri; bazal, pik ve $[Ca^{+2}]_i$ toparlanma değerleri olarak karşılaştırıldı (Şekil 20). WAG/Rij grubunda $[Ca^{+2}]_i$ toparlanma seviyesinde Wistar'a oranla anlamlı bir artış görüldü ($p < 0.05$). Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.



Şekil 18. WAG/Rij TG nöronlarına kapsaisin (1 μ M) uygulamasının $[Ca^{+2}]_i$ düzeylerine etkisi



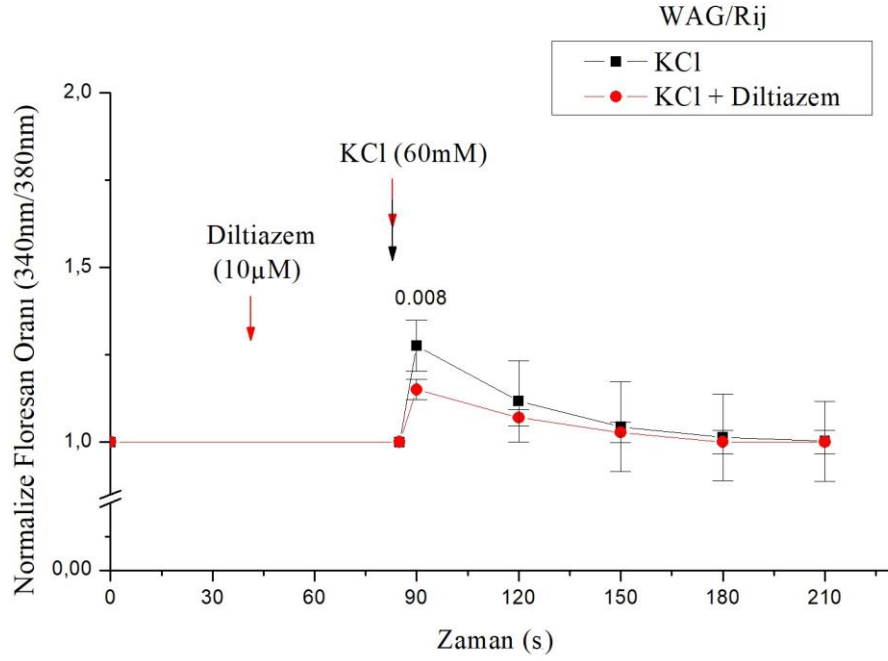
Şekil 19. Wistar TG nöronlarına kapsaisin (1 μ M) uygulamasının $[Ca^{+2}]_i$ düzeylerine etkisi



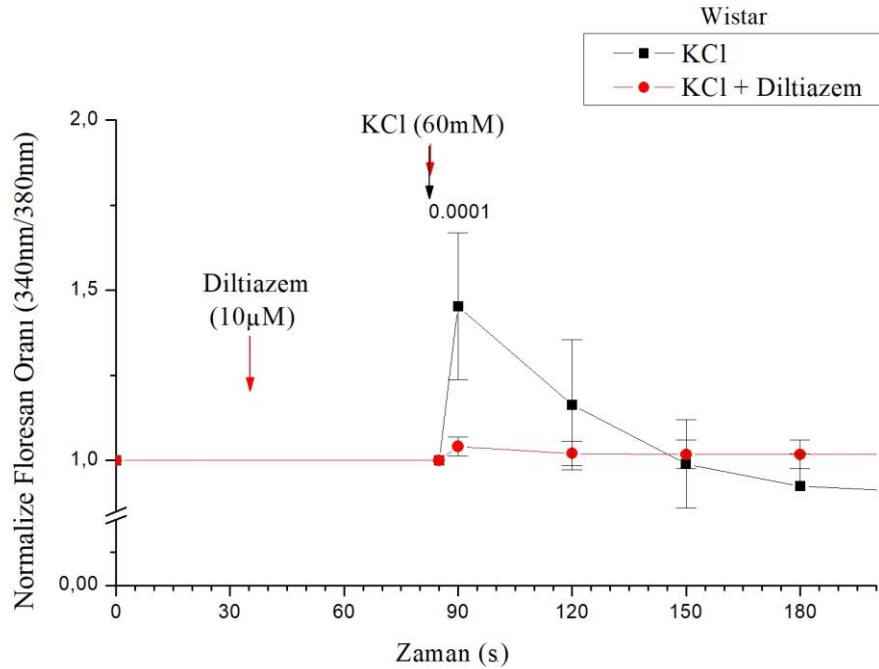
Şekil 20. WAG/Rij ve Wistar TG kültür ortamında kapsaisin (1 μ M) uygulamasının $[Ca^{+2}]_i$ düzeyine etkisinin karşılaştırılması

6.4. WAG/Rij ve Wistar TG Hücrelerinde Akut Diltiazem Uygulaması sonrası Depolarizasyonla İndüklenen $[Ca^{+2}]_i$ Cevapları

WAG/Rij ve Wistar floresan boya fura-2 AM ile yüklenmiş TG nöron hücrelerinde, membran depolarizasyonu ile indüklenen $[Ca^{+2}]_i$ cevapları incelendi. WAG/Rij ve Wistar TG hücre kültürü ortamında KCl (60 mM) uygulamasının $[Ca^{+2}]_i$ düzeyine etkisi ile 50 s diltiazem akut uygulamasının $[Ca^{+2}]_i$ düzeyine etkisi normalize floresan oranı (340 nm/360 nm) değerleri; bazal, pik ve $[Ca^{+2}]_i$ toparlanma değerleri olarak karşılaştırıldı (Şekil 21, Şekil 22). Hücreler KCl uygulamasıyla artmış $[Ca^{+2}]_i$ cevabı verirken, diltiazemin akut uygulaması sonrası bu cevap WAG/Rij grubunda anlamlı derecede düştü ($p < 0.05$). Wistar grubunda akut diltiazem uygulaması sonrası $[Ca^{+2}]_i$ cevapları yüksek anlamlılık derecesinde düştü ($p < 0.005$). Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.



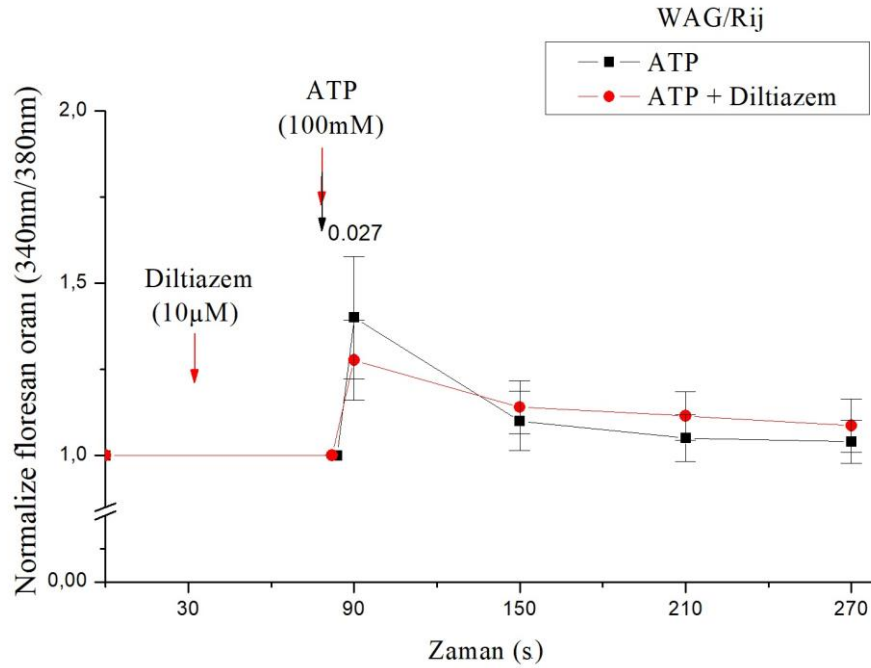
Şekil 21. WAG/Rij sıçan TG nöronlarında KCl (60 mM) uygulanan ve 50 s diltiazem (10 μ M) ön-muamelesinden sonra KCl uygulanan iki grubun $[Ca^{+2}]_i$ cevaplarının karşılaştırılması



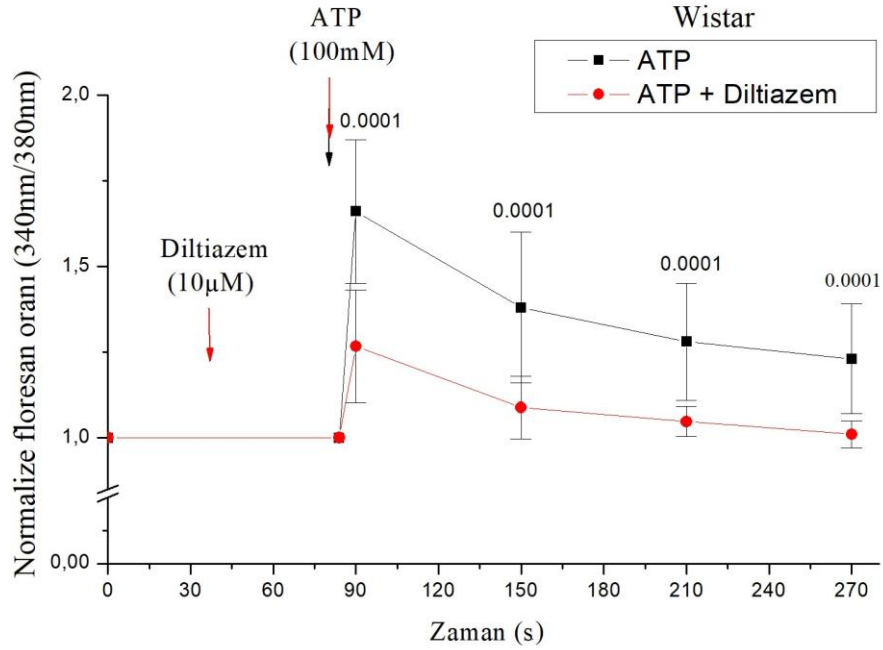
Şekil 22. Wistar sıçan TG nöronlarında KCl (60 mM) uygulanan ve 50 s diltiazem (10 μ M) ön-muamelesinden sonra KCl uygulanan iki grubun $[Ca^{+2}]_i$ cevaplarının karşılaştırılması

6.5. WAG/Rij ve Wistar TG Hücrelerinde Akut Diltiazem Uygulaması sonrası Purinerjik Agonist ile İndüklenen $[Ca^{2+}]_i$ Cevapları

WAG/Rij ve Wistar fura-2 AM ile yüklenmiş TG nöron hücrelerinde, purinerjik agonist ATP (100 mM) ile indüklenen $[Ca^{2+}]_i$ cevapları incelendi. WAG/Rij ve Wistar TG hücre kültürü ortamında ATP (100 mM) uygulamasının $[Ca^{2+}]_i$ düzeyine etkisi ile 50 s diltiazem akut uygulamasının $[Ca^{2+}]_i$ düzeyine etkisi normalize floresan oranı (340 nm/360 nm) değerleri; bazal, pik ve $[Ca^{2+}]_i$ toparlanma değerleri olarak karşılaştırıldı (Şekil 23, Şekil 24). WAG/Rij grubunda akut diltiazem uygulaması sonrası ATP ile indüklenen $[Ca^{2+}]_i$ cevapları, 90. s'de (pik) anlamlı derecede düştü ($p < 0.05$). Wistar grubunda diltiazemin akut uygulaması ile ATP uygulaması sonrası $[Ca^{2+}]_i$ cevabı, pik ve toparlanma seviyesinde yüksek derecede anlamlılıkla düştü ($p < 0.005$). Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.



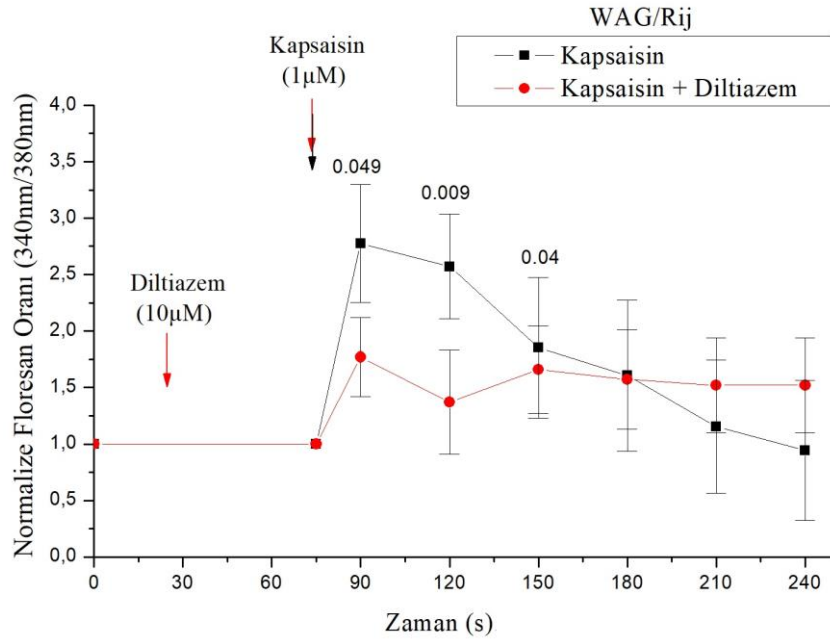
Şekil 23. WAG/Rij sıçan TG nöronlarında ATP (100 mM) uygulanan ve 50 s diltiazem (10 µM) ön-muamelesinden sonra ATP uygulanan iki grubun $[Ca^{2+}]_i$ cevaplarının karşılaştırılması



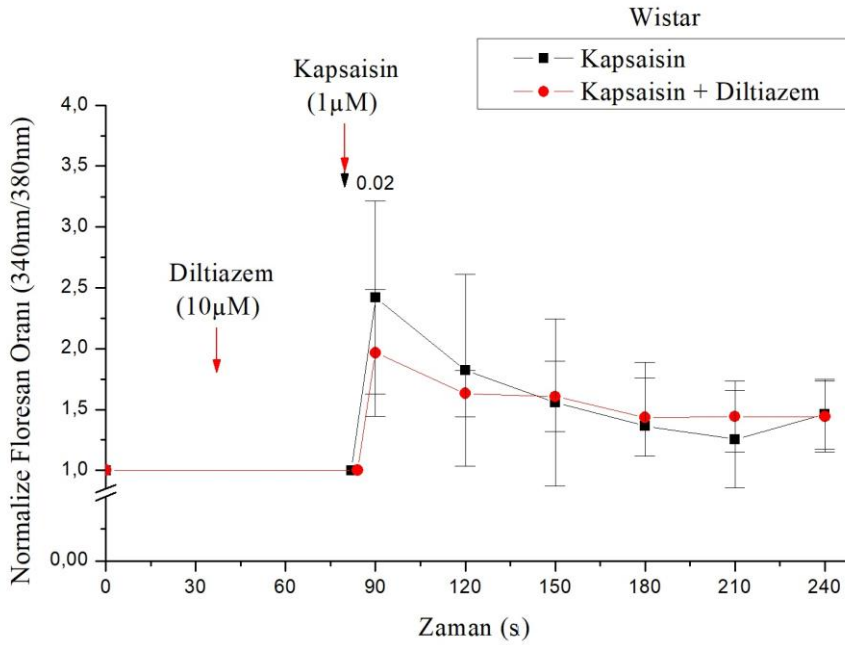
Şekil 24. Wistar sıçan TG nöronlarında ATP (100 mM) uygulanan ve 50 s diltiazem (10 µM) ön-muamelesinden sonra ATP uygulanan iki grubun $[Ca^{+2}]_i$ cevaplarının karşılaştırılması

6.6. WAG/Rij ve Wistar TG Hücrelerinde Akut Diltiazem Uygulaması sonrası Kapsaisin ile İndüklenen $[Ca^{+2}]_i$ Cevapları

WAG/Rij ve Wistar fura-2 AM ile yüklenmiş TG nöron hücrelerinde, kapsaisin (1 µM) ile indüklenen $[Ca^{+2}]_i$ cevapları incelendi. WAG/Rij ve Wistar TG hücre kültürü ortamında kapsaisin (1 µM) uygulamasının $[Ca^{+2}]_i$ düzeyine etkisi ile 50 s diltiazem akut uygulamasının $[Ca^{+2}]_i$ düzeyine etkisi normalize floresan oranı (340 nm/360 nm) değerleri; bazal, pik ve $[Ca^{+2}]_i$ toparlanma değerleri olarak karşılaştırıldı (Şekil 25, Şekil 26). WAG/Rij grubunda akut diltiazem uygulaması sonrası kapsaisine verdikleri $[Ca^{+2}]_i$ cevabı 90.s,120.s ve 150.s’de anlamlı düzeyde baskılandı ($p < 0.05$). Wistar grubunda akut diltiazem uygulaması sonrası kapsaisinin meydana getirdiği $[Ca^{+2}]_i$ cevabı 90. s’de (pik) anlamlı derecede düştü ($p < 0.05$). Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.



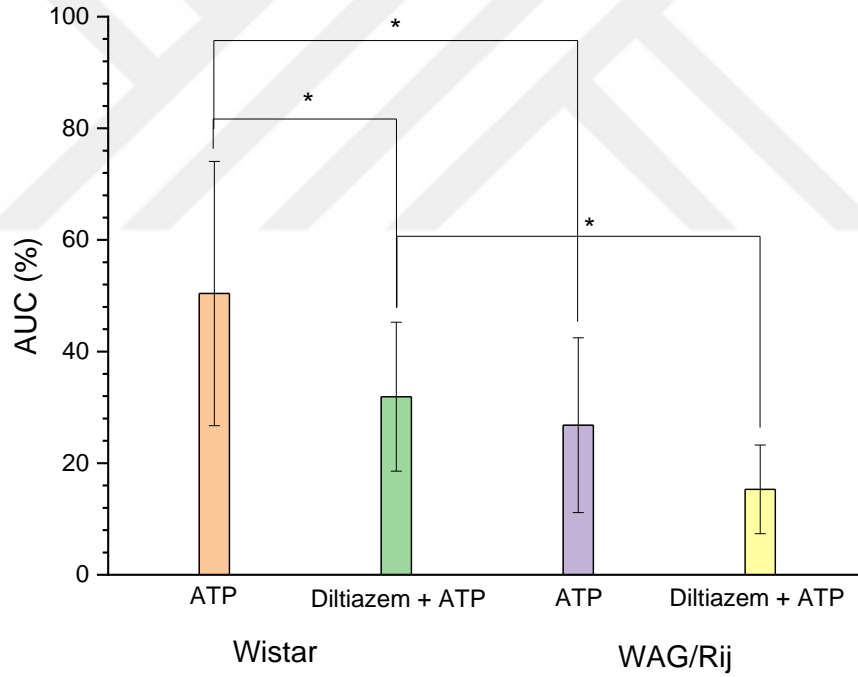
Şekil 25. WAG/Rij sıçan TG nöronlarında kapsaisin (1 µM) uygulanan ve 50 s diltiazem (10 µM) ön-muamelesinden sonra ATP uygulanan iki grubun $[Ca^{+2}]_i$ cevaplarının karşılaştırılması



Şekil 26. Wistar sıçan TG nöronlarında kapsaisin (1 µM) uygulanan ve 50 s diltiazem (10 µM) ön-muamelesinden sonra kapsaisin uygulanan iki grubun $[Ca^{+2}]_i$ cevaplarının karşılaştırılması

6.7. WAG/Rij ve Wistar TG Hücrelerinde Akut Diltiazem Uygulaması sonrası Purinerjik Agonistle İndüklenen $[Ca^{+2}]_i$ Cevapları

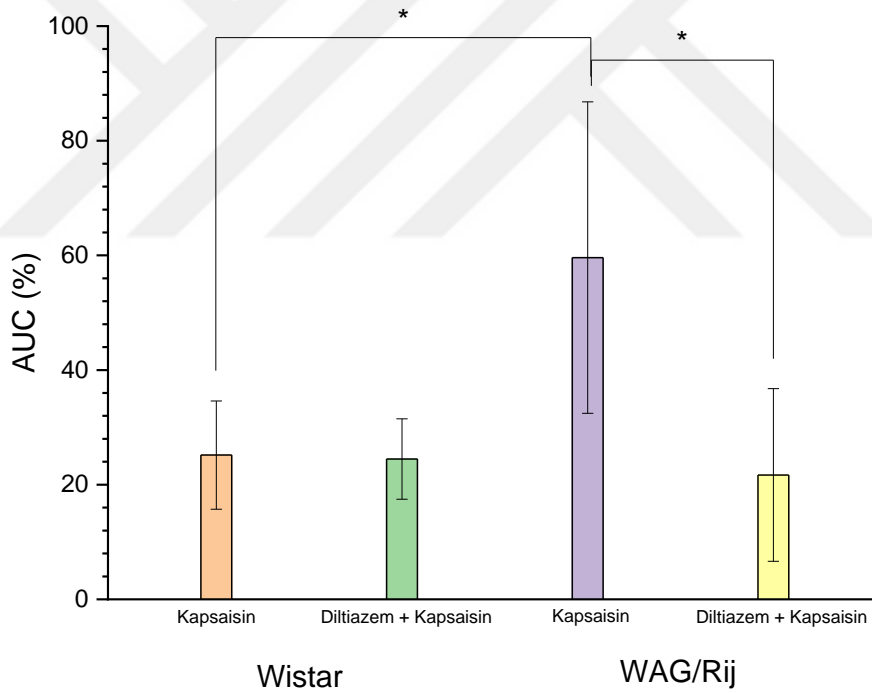
Kalsiyum görüntüleme floresan oranlarında (340 nm/380 nm) meydana gelen $[Ca^{+2}]_i$ değişiklikleri grafik altında kalan alan (AUC) değerleri olarak belirlendi. Şekilde fura-2 AM ile yüklenmiş TG sinir hücrelerinde 100 mM ATP uygulamasının meydana getirdiği floresan oranı değişikliğini gösteren tipik bir deney uygulamasına ait ortalama verilerden geliştirilmiş grafik sunuldu (Şekil 27). Diltiazemin (10 μ M) 50 s süreyle uygulanmasının ardından ATP uygulaması sonrası sitoplazmik serbest kalsiyum konsantrasyonu her iki grupta da anlamlı derecede etkilendi. Diltiazemin akut uygulaması ATP'nin meydana getirdiği hücre içi kalsiyum artışını anlamlı düzeyde baskıladı ($p < 0.05$). Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.



Şekil 27. WAG/Rij ve Wistar TG nöronlarında $[Ca^{+2}]_i$ cevapları

6.8. WAG/Rij ve Wistar TG Hücrelerinde Akut Diltiazem Uygulaması sonrası Kapsaisin ile İndüklenen $[Ca^{+2}]_i$ Cevapları

Kalsiyum görüntüleme floresan oranlarında (340 nm/380 nm) meydana gelen $[Ca^{+2}]_i$ değişikliklerin grafik altında kalan alan (AUC) değerleri olarak belirlendi. Şekilde fura-2 AM ile yüklenmiş TG sinir hücrelerinde 1 μ M kapsaisin uygulamasının meydana getirdiği floresan oranı değişikliğini gösteren tipik bir deney uygulamasına ait ortalama verilerden geliştirilmiş grafik sunuldu (Şekil 28). Diltiazemin (10 μ M) 50 s süreyle uygulanmasının ardından kapsaisin uygulaması sonrası sitoplazmik serbest kalsiyum konsantrasyonu WAG/Rij grubunda anlamlı düzeyde düştü. Diltiazemin akut uygulaması WAG/Rij grubunda kapsaisinin meydana getirdiği hücre içi kalsiyum artışı anlamlı düzeyde baskıladı ($p < 0.05$). Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.



Şekil 28. WAG/Rij ve Wistar TG nöronlarında $[Ca^{+2}]_i$ cevapları

7. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu tez çalışmasında baş/yüz bölgesi duyularını taşıyan nöronların (170), hücre gövdelerinin primer kültürü yapılarak; bu nöronlarda nosiseptif kalsiyum sinyalleşmesi, epileptik WAG/Rij ve sağlıklı Wistarlarda karşılaştırmalı olarak incelendi. Elde edilen bulguların epilepside migren ve baş ağrısı görülme durumunda santral mekanizmaların mı, TG özelinde periferal mekanizmaların mı rol oynadığına yönelik hücresel düzeyde kanıt olma potansiyeli vardır. Araştırmanın bulguları epileptiklerden izole edilen duyusal nöronların ATP ve KCl ile indüklenen $[Ca^{+2}]_i$ cevaplarının pik değeri bakımından Wistar sıçanlarındakinden anlamlı derece düşük olduğu; kapsaisin cevaplarının ise WAG/Rij epileptiklerde daha yüksek olduğunu ortaya koymaktadır. Bununla birlikte agoniste $[Ca^{+2}]_i$ cevabının ortaya çıkması ve sinyalin süresi bakımından gruplar arasında anlamlı bir fark yoktu.

Birçok sinyal iletim yolağının düzenlenmesinde $[Ca^{+2}]_i$ birincil faktördür ve seviyesi temel olarak Ca^{+2} salınım mekanizması tarafından belirlenir. Bu sistem yoluyla plazma membranına aktif Ca^{+2} akışı ya yüksek afiniteli düşük kapasiteli Ca^{+2} -ATPaz (PMCA) ya da düşük afiniteli yüksek kapasiteli Na^+ - Ca^{+2} antiporterı (NCX) yoluyla olur (171). Na^+ - Ca^{+2} antiporterı, substrat iyonların elektrokimyasal gradyentine bağlı olarak, bir Ca^{+2} için üç Na^+ 'ın elektrojenik değişimini katalize eden çift yönlü bir taşıyıcıdır (171-174). Bu değiştiriciler, hem uyarılabilir hem de uyarılamayan hücrelerde $[Ca^{+2}]_i$ konsantrasyonunun düzenlenmesinde önemli bir rol oynar ve hücre zarındaki Na^+ konsantrasyon gradyenti vasıtasıyla Ca^{+2} 'yi hücre dışına pompalar (172,179). NCX1, NCX2 ve NCX3'ü içeren memeli NCX'leri, üç ayrı gen tarafından kodlanan multigen süper ailesi SLC8'i oluşturur (171,173,180).

Aralarında DKG ve kraniyal sinirlerin de yer aldığı periferal sinir sisteminin somatoduyusal nöronları periferal organlardan MSS'ye bilgi (ağrı sinyali dâhil) iletirler. Orofasial bölgenin zararlı ve zararsız uyaranlarına ait bilgiler genelde TG nöronları ile taşınır. Hem DKG hem de TG nöronlarının mekanosensitif ve nosiseptif alt tipleri vardır (181). A β -nöronları ve A δ -nöronları ile miyelinsiz C lifleri ağrı iletiminden sorumlu olup; C liflerinin yaklaşık %90'ı, A δ liflerinin ise %80'i nosiseptif sinyalleri taşıırken A β liflerinin yaklaşık %80'i nosiseptif olmayan bilgileri taşır (182).

Zararlı uyarılar ve sinir hasarı nöronlarda çeşitli iyon kanalları ve reseptörleri aracılığı ile $[Ca^{+2}]_i$ artışına yol açar. Nöronlarda $[Ca^{+2}]_i$ artışı uyarılma için gereklidir (183) ancak aşırı artışı hücre ölümüne yol açar. Sonuçta $[Ca^{+2}]_i$ aralarında nosisepsiyon ve ağrının da olduğu (184) pek çok sinyal transdüksiyonu için gereklidir ve bu tez çalışmasında hücre içi kalsiyum artışı ağrı/nosiseptif sinyal belirteci olarak kullanıldı.

Acı biberin etken maddesi kapsaisin uygulamasının TG nöronlarında kalsiyum artışına yol açtığı; tavuk (185), fare (186) ve sıçan (187) TG nöronlarında gösterilmiştir. Primer duyuşal nöron olan dorsal kök gangliyonlarında da kapsaisinin nosiseptif hücre içi kalsiyum sinyallerine yol açtığı bildirilmiştir (188). Bu tez çalışmasının bulguları bahsedilen literatür bulguları ile uyumludur. Genetik epileptik sıçan modeli olan WAG/Rij sıçanlardan TG nöron kültürü ve kapsaisine $[Ca^{+2}]_i$ cevabı literatürde yer almamaktadır. Bu durum bulguları kıyaslamaya imkân vermese de, tez araştırmasının özgün yönlerinden birini ortaya koymaktadır.

Bu tez çalışmasında kapsaisinin etki mekanizması ele alınmadı ancak kapsaisinin nosiseptif sinyal tetikleme mekanizması bilinmektedir. Solanaceae familyasından olan bitkisel bir doğal vaniloid olan kapsaisin (trans-8-metil-N-vanilil-6-nonenamid- $C_{18}H_{27}NO_3$) kimyasal olarak protoalkaloid grubundadır. TRPV1 kanallarını aktive ederek hücrede depolarizasyon ve kalsiyum artışı yaptığına inanılmaktadır (189, 190). Kapsaisin ağrı tedavisinde kullanılmaktadır; ancak etki mekanizması farklıdır (191, 192). Kapsaisin seçici olarak TRPV1 kanalını aktive eder (193). Nosiseptörlerin ucunda bolca bulunan bu iyon kanalı kalsiyuma karşı geçirendir. Bu yolla kalsiyum girişi ilk aşamada ağrıya yol açar, bu evreyi uzun süre etkili bir analjezik evre takip eder. Bu uygulama taktik duyuşalarda değişime yol açmaz. Kapsaisin uygulamasına kısa ve uzun süreli cevaplar nosiseptif terminallerde hem fonksiyonel hem de yapısal değişiklikler sonucu gelişir. Topikal uygulanan kapsaisinin ağrı dindirici mekanizmasının temeli primer duyuşal nöron uçlarında P maddesi tükenmesine yol açması olarak kabul edilmektedir. P maddesi ağrı sinyallerinin beyine iletilmesini sağlar ve eklemlerde inflamatuvar sitokinleri aktive eder. Kapsaisinin aynı zamanda ilgili bölgelerde duyuşal nöron yoğunluğunu azalttığı da ileri sürülmüştür (194). Kapsaisinin bu klinik etkisi de dikkate alınmalı ancak hem klinik araştırmalarda hem de duyuşal nöronlarda ağrı sinyallerini başlatmak için model olarak kullanımı yaygındır (195) ve bu araştırmada nosiseptif uyarı amacıyla kullanıldı.

Aralarında ATP'nin de yer aldığı hücre dışı nükleotitler ağrı sinyalleşmesinde kritik rol oynar. TG nöronlarının ATP dâhil endojen nosiseptif uyarıcılarla hiperaktivasyonu migrene yol açar (196, 197). Bir hücre dışı nörostimülatör olarak ATP metabotropik P2Y ve iyonotropik P2X reseptörlerini aktive eder (198). Duyusal nöronlardaki P2X reseptörleri (P2XR) ağrı iletiminde rol oynar (199). P2X reseptörleri (P2X₁₋₇), özellikle ağrı ileten küçük çaplı TG nöronlarında bolca bulunur ancak orta ve büyük çaplı TG nöron alt tiplerinde de mevcuttur (200,201).

Bu tez çalışmasında hem normal sağlıklı hem epileptik hayvanlardan izole edilen TG nöronları ATP ile uyarıya artmış hücre içi serbest kalsiyum düzeyi ile yanıt verdi. Bu etki fare (202) ve sıçan TG nöronlarında (203) ATP yanıtları ile uyumludur. WAG/Rij epileptik sıçan TG primer nöron kültüründe ATP yanıtı denenmemiştir ve bu kısım tezin özgün bulguları olarak literatüre kazandırma potansiyeli olan kısımdır. Hem pik amplitüt hem de AUC değerleri bakımından epileptik WAG/Rij hayvanlardan izole edilen TG nöronlarının ATP cevabı Wistarların kalsiyum artışı cevabından düşüktü.

Bu bulgular, epileptik ve sağlıklı sıçanların TG nöron nosiseptif kalsiyum sinyallerinin benzer olduğunu yani epilepside ortaya çıkan artmış baş ağrısı ve migrende TG nöronlarının duyarlılık farkının anlamlı bir katkısının olmayabileceğini düşündürmektedir.

8. KAYNAKLAR

1. Bianchin MM, Londero RG, Lima JE, Bigal ME (2010). Migraine and epilepsy: a focus on overlapping clinical, pathophysiological, molecular, and therapeutic aspects. *Curr Pain Headache Rep* 14(4): 276-83.
2. Ottman R, Lipton RB, Ettinger AB, Cramer JA, Reed ML, Morrison A, Wan GJ (2011). Comorbidities of epilepsy: results from the Epilepsy Comorbidities and Health (EPIC) survey. *Epilepsia* 52(2): 308-15.
3. Badawy RA, Jackson GD (2012). Cortical excitability in migraine and epilepsy: a common feature? *J Clin Neurophysiol* 29(3): 244-9.
4. Papetti L, Nicita F, Parisi P, Spalice A, Villa MP, Kasteleijn-Nolst Trenite DG (2013). "Headache and epilepsy"-how are they connected? *Epilepsy Behav* 26(3): 386-93.
5. Lipton RB, Ottman R, Ehrenberg BL, Hauser WA (1994). Comorbidity of migraine: the connection between migraine and epilepsy. *Neurology* 44(10): 28-32.
6. Timofeeva O, Swanson T (2000). Epileptic seizures: pathophysiology and clinical semiology. *Neurophysiology of epileptic seizures. Experimental neurophysiology.* (Ed: Luders HO, Noachtar S). New York: Churchill Livingstone 3: 23-31.
7. Siesjo BK, Ingvar M, Wieloch T (1986). Cellular and molecular events underlying epileptic brain damage. *Ann N Y Acad Sci* 462: 207-23.
8. Mayberg M, Langer RS, Zervas NT, Moskowitz MA (1981). Perivascular meningeal projections from cat trigeminal ganglia: possible pathway for vascular headaches in man. *Science* 213(4504): 228-30.
9. Buzzi M, Bonamini M, Moskowitz MA (1995). Neurogenic model of migraine. *Cephalalgia* 15(4): 277-80.
10. May A, Goadsby PJ, Metabolism (1999). The trigeminovascular system in humans: pathophysiologic implications for primary headache syndromes of the neural influences on the cerebral circulation. *J Cereb Blood Flow Metab* 19(2): 115-27.
11. Bove GM, Moskowitz MA (1997). Primary afferent neurons innervating guinea pig dura. *J Neurophysiol* 77(1): 299-308.

12. North RA (2002). Molecular physiology of P2X receptors. *Physiol Rev* 82(4): 1013-67.
13. Strecker T, Messlinger K (2003). Neuropeptide release in the dura mater encephali in response to nitric oxide-relevance for the development of vascular headaches? *Schmerz* 17(3): 179-84.
14. Caterina MJ, Schumacher MA, Tominaga M, Rosen TA, Levine JD, Julius D (1997). The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature* 389(6653): 816.
15. Szallasi A, Cortright DN, Blum CA, Eid SR (2007). The vanilloid receptor TRPV1: 10 years from channel cloning to antagonist proof-of-concept. *Nat Rev Drug Discov* 6(5): 357.
16. Caterina MJ, Julius D (2001). The vanilloid receptor: a molecular gateway to the pain pathway. *Annu Rev Neurosci* 24(1): 487-517.
17. Bae YC, Oh JM, Hwang SJ, Shigenaga Y, Valtschanoff JG (2004). Expression of vanilloid receptor TRPV1 in the rat trigeminal sensory nuclei. *J Comp Neurol* 478(1): 62-71.
18. Guo A, Vulchanova L, Wang J, Li X, Elde R (1999). Immunocytochemical localization of the vanilloid receptor 1 (VR1): relationship to neuropeptides, the P2X3 purinoceptor and IB4 binding sites. *Eur J Neurosci* 11(3): 946-58.
19. Fisher RS, van Emde Boas W, Blume W, Elger C, Genton P, Lee P, Engel J, Jr. (2005). Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). *Epilepsia* 46(4): 470-2.
20. Engel J (2013). *Seizures and epilepsy*. 2nd ed. Oxford University Press, USA; 27-32.
21. Pitkanen A, Lukasiuk K (2009). Molecular and cellular basis of epileptogenesis in symptomatic epilepsy. *Epilepsy Behav* 14(1): 16-25.
22. Ngugi AK, Bottomley C, Kleinschmidt I, Sander JW, Newton CR (2010). Estimation of the burden of active and life-time epilepsy: a meta-analytic approach. *Epilepsia* 51(5): 883-90.

23. Newton CR, Garcia HH (2012). Epilepsy in poor regions of the world. *Lancet* 380(9848): 1193-1201.
24. Bell GS, Sander JW (2001). The epidemiology of epilepsy: the size of the problem. *Seizure* 10(4): 306-14.
25. Burneo JG, Tellez-Zenteno J, Wiebe S (2005). Understanding the burden of epilepsy in Latin America: a systematic review of its prevalence and incidence. *Epilepsy Res* 66(1-3): 63-74.
26. Carpio A, Hauser WA (2009). Epilepsy in the developing world. *Curr Neurol Neurosci Rep* 9(4): 319-26.
27. Ndimubanzi PC, Carabin H, Budke CM, Nguyen H, Qian YJ, Rainwater E, Dickey M, Reynolds S, Stoner JA (2010). A systematic review of the frequency of neurocytotoxicosis with a focus on people with epilepsy. *PLoS Negl Trop Dis* 4(11): 870.
28. Hauser WA (1992). Seizure disorders: the changes with age. *Epilepsia* 33(4): 6-14.
29. Annegers JF, Rocca WA, Hauser WA (1996). Causes of epilepsy: contributions of the Rochester epidemiology project. *Mayo Clin Proc* 71(6): 570-5.
30. Fisher RS, Cross JH, French JA, Higurashi N, Hirsch E, Jansen FE, Lagae L, Moshé SL, Peltola J, Roulet Perez E (2017). Operational classification of seizure types by the International League Against Epilepsy: Position Paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia* 58(4): 522-30.
31. Gale K (1988). Progression and generalization of seizure discharge: anatomical and neurochemical substrates. *Epilepsia* 29(2): 15-34.
32. Crunelli V, Leresche N (2002). Childhood absence epilepsy: Genes, channels, neurons and networks. *Nat Rev Neurosci* 3: 371.
33. Cnaan A, Shinnar S, Arya R, Adamson PC, Clark PO, Dlugos D, Hirtz DG, Masur D, Glauser TA (2017). Second monotherapy in childhood absence epilepsy. *J Neurology* 88(2): 182-90.

34. Glauser T, Ben-Menachem E, Bourgeois B, Cnaan A, Guerreiro C, Kälviäinen R, Mattson R, French JA, Perucca E, Tomson T (2013). Updated ILAE evidence review of antiepileptic drug efficacy and effectiveness as initial monotherapy for epileptic seizures and syndromes. *Epilepsia* 54(3): 551-63.
35. Tenney JR, Jain SV (2014). Absence Epilepsy: Older vs Newer AEDs. *Curr Treat Options Neurol* 16(5): 290.
36. Caplan R, Siddarth P, Stahl L, Lanphier E, Vona P, Gurbani S, Koh S, Sankar R, Shields WD (2008). Childhood absence epilepsy: Behavioral, cognitive, and linguistic comorbidities. *Epilepsia* 49(11): 1838-46.
37. Temkin O, Temkin CL (1968). Subjective experiences in temporal lobe epilepsy: an anonymous report of 1825. *Bull Hist Med* 42(6): 566-8.
38. Thomas P, Beaumanoir A, Genton P, Dolisi C, Chatel M (1992). 'De novo' absence status of late onset: report of 11 cases. *Neurology* 42(1): 104-10.
39. Hauser WA, Annegers JF, Kurland LT (1993). Incidence of epilepsy and unprovoked seizures in Rochester. *Epilepsia* 34(3): 453-68.
40. Inoue M, Peeters B, Van Luijckelaar E, Vossen J, Coenen A (1990). Spontaneous occurrence of spike-wave discharges in five inbred strains of rats. *Physiol Behav* 48(1): 199-201.
41. Löscher W, Schmidt D (1994). Strategies in antiepileptic drug development: is rational drug design superior to random screening and structural variation? *Epilepsy Res* 17(2): 95-134.
42. Coenen A, Van Luijckelaar E (2003). Genetic animal models for absence epilepsy: a review of the WAG/Rij strain of rats. *Behav Genet* 33(6): 635-55.
43. Marescaux C, Vergnes M, Depaulis A (1992). Genetic absence epilepsy in rats from Strasbourg-a review. *Generalized Non-Convulsive Epilepsy: Focus on GABA-B Receptors*. (Ed: Bernasconi R). Vienna: Springer 37-69.
44. Lothman EW, Collins (1990) Seizures and epilepsy. *Neurobiology of disease* (Ed: Pearlman AL, Collins RC). New York: Oxford University Press, 276-298.

45. Van Luijtelaaar E, Coenen A (1986). Two types of electrocortical paroxysms in an inbred strain of rats. *Neurosci Lett* 70(3): 393-7.
46. Marescaux C, Micheletti G, Vergnes M, Depaulis A, Rumbach L, Warter J (1984). A model of chronic spontaneous petit mal-like seizures in the rat: comparison with pentylenetetrazol-induced seizures. *Epilepsia* 25(3): 326-31.
47. Drinkenburg W, Van Luijtelaaar E, Van Schaijk W, Coenen A (1993). Aberrant transients in the EEG of epileptic rats: a spectral analytical approach. *Physiol Behav* 54(4): 779-83.
48. Coenen A, Van Luijtelaaar E (1987). The WAG/Rij rat model for absence epilepsy: age and sex factors. *Epilepsy Res* 1(5): 297-301.
49. Sitnikova E, Hramov AE, Grubov V, Koronovsky AA (2014). Age-dependent increase of absence seizures and intrinsic frequency dynamics of sleep spindles in rats. *Neurosci J* 2014:6.
50. Coenen A, Van Luijtelaaar E (1989). Effects of diazepam and two beta-carbolines on epileptic activity and on EEG and behavior in rats with absence seizures. *Pharmacol Biochem Behav* 32(1): 27-35.
51. Meeren HK, Pijn JPM, Van Luijtelaaar EL, Coenen AM, da Silva FHL (2002). Cortical focus drives widespread corticothalamic networks during spontaneous absence seizures in rats. *J Neurosci* 22(4): 1480-95.
52. Midzianovskaia I, Kuznetsova G, Coenen A, Spiridonov A, Van Luijtelaaar E (2001). Electrophysiological and pharmacological characteristics of two types of spike-wave discharges in WAG/Rij rats. *Brain Res* 911(1): 62-70.
53. Darian-Smith I (1973). *The Trigeminal System*. (Ed: Iggo A). *Somatosensory System*. Berlin: Springer, 271-14.
54. Gray H, Standring S (2008). *Gray's anatomy: the anatomical basis of clinical practice*. 40th ed. Churchill Livingstone, London; 227-373.
55. Downs DM, Damiano TR, Rubinstein D (1996). Gasserian ganglion: appearance on contrast-enhanced MR. *AJNR Am J Neuroradiol* 17(2): 237-41.

56. Felix DH, Luker J, Scully C (2013). Oral medicine: 8. orofacial sensation and movement. *Dent Update* 40(5): 420-7.
57. Rea P (2015). *Essential clinical anatomy of the nervous system*. 1st ed. Academic Press, Cambridge; 177-92 .
58. Gonella MC, Fischbein NJ, SO YT (2009) Disorders of the trigeminal system. *Semin Neurol* 29(1): 36-44.
59. Šimon F, Marečková-Štolcová E, Páč L (2011). On the terminology of cranial nerves. *Ann Anat* 193(5): 447-52.
60. Piagkou M, Demesticha T, Skandalakis P, Johnson EO (2011). Functional anatomy of the mandibular nerve: consequences of nerve injury and entrapment. *Clin Anat* 24(2): 143-50.
61. Fillmore EP, Seifert MF (2015). *Anatomy of the Trigeminal Nerve. Nerves and Nerve Injuries*. 1st ed. Spinner Academic Press, 319-50.
62. Standring S, Ellis H, Healy J, Johnson D, Williams A, Collins P, Wigley C (2005). *Gray's anatomy: the anatomical basis of clinical practice*. *AJNR Am J Neuroradiol* 26(10): 2703.
63. Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM (2000). *Principles of neural science*. (Ed: Jessell TM). 4th ed. New York, 4: 1227-46.
64. Gray H, Lewis W (1918). *Anatomy of the human body*. 20th ed. *Am J Phys Med Rehabil* 53(6): 293.
65. Williams PL, Bannister L, Berry M, Collins P, Dyson M, Dussek J, Ferguson M (1995). *Gray's anatomy: the anatomical basis of medicine and surgery*. 38th ed. Churchill Livingstone, London; 1560: 72.
66. Fillmore EP (2015). *Grit and beliefs about intelligence: the relationship and role these factors play in the self-regulatory processes involved in medical students learning gross anatomy*. PhD Thesis, Indiana University Department of Anatomy Cell Biology, USA.
67. Gudmundsson K, Rhoton AL, Rushton JG (1971). Detailed anatomy of the intracranial portion of the trigeminal nerve. *J Neurosurg* 35(5): 592-600.

68. Shankland WE (2001). Nociceptive trigeminal inhibition-tension suppression system: a method of preventing migraine and tension headaches. *Compend Contin Educ Dent* 22(12): 1075-80.
69. Hardy DG, Rhoton AL (1978). Microsurgical relationships of the superior cerebellar artery and the trigeminal nerve. *J Neurosurg* 49(5): 669-78.
70. Cryer MH (1916). *The internal anatomy of the face*. 2nd ed. Lea Febiger, Philadelphia; 36-45.
71. Williams P, Warwick R, Dyson M, Bannister L (1989). *Anatomy of the human body*. 37th ed. Churchill Livingstone, Edinburgh; 702-4.
72. Yuzuriha S, Matsuo K, Hirasawa C, Moriizumi T (2009). Refined distribution of myelinated trigeminal proprioceptive nerve fibres in Mueller's muscle as the mechanoreceptors to induce involuntary reflexive contraction of the levator and frontalis muscles. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 62(11): 1403-10.
73. Mori K, Yamamoto T, Nakao Y, Esaki T (2010). Surgical simulation of extradural anterior clinoidectomy through the trans-superior orbital fissure approach using a dissectable three-dimensional skull base model with artificial cavernous sinus. *Skull Base* 20(4): 229.
74. Renton T, Egbuniwe O (2015). Pain Part 2a: trigeminal anatomy related to pain. *Dent Update* 42(3): 238-44.
75. Shankland WE (2001). The trigeminal nerve. Part II: the ophthalmic division. *Cranio* 19(1): 8-12.
76. May A (2018). The exceptional role of the first division of the trigeminal nerve. *Pain* 159: 81-4.
77. Shankland WE (2001). The trigeminal nerve. Part III: The maxillary division. *Cranio* 19(2): 78-83.
78. Rhoton Jr AL (2002). The anterior and middle cranial base. *Neurosurgery* 51(4): 273-302.
79. Shankland WE (2001). The trigeminal nerve. Part IV: the mandibular division. *Cranio* 19(3): 153-61.

80. Woolfall P, Coulthard A (2001). Trigeminal nerve: anatomy and pathology. *Br J Radiol* 74(881): 458-67.
81. Janis JE, Hattef DA, Ducic I, Ahmad J, Wong C, Hoxworth RE, Osborn T (2010). Anatomy of the auriculotemporal nerve: Variations in its relationship to the superficial temporal artery and implications for the treatment of migraine headaches. *Plast Reconstr Surg* 125(5): 1422-8.
82. Zur KB, Mu L, Sanders I (2004). Distribution pattern of the human lingual nerve. *Clin Anat* 17(2): 88-92.
83. Kim S, Hu K, Chung I, Lee E, Kim H (2004). Topographic anatomy of the lingual nerve and variations in communication pattern of the mandibular nerve branches. *Surg Radiol Anat* 26(2): 128-35.
84. Waldman SD (2007). Gasserian ganglion block. *Pain Management*. 2nd ed. Elsevier, 1145-51.
85. Sonig A, Thakur J, Grass M, Khan IS, Gandhi V, Nanda A (2013). Antonius Balthazar Raymundus Hirsch and the peregrination of “gasserian ganglion” Historical vignette. *J Neurosurg* 119(3): 778-84.
86. Shankland WE (2000). The trigeminal nerve. Part I: An overview. *Cranio* 18(4): 238-48.
87. Kruger L, Young R (1981). Specialized features of the trigeminal nerve and its central connections. *The cranial nerves*. 1st ed. Springer, Los Angeles; 273-301.
88. Chapman PR, Bag AK, Tubbs RS, Gohlke P (2013). Practical anatomy of the central skull base region. *Semin Ultrasound CT MR* 34(5): 381-92.
89. Arslan M, Deda H, Avcı E, Elhan A, Tekdemir I, Tubbs RS, Silav G, Yilmaz E, Baskaya MK (2012). Anatomy of Meckels cave and the trigeminal ganglion: anatomical landmarks for a safer approach to them. *Turk Neurosurg* 22(3): 317-23.
90. Liu M, Wu CY, Liu YG, Wang HW, Meng FG (2005). Three-dimensional computed tomography-guided radiofrequency trigeminal rhizotomy for treatment of idiopathic trigeminal neuralgia. *Chin Med Sci J* 20(3): 206-9.

91. Tubbs RS, Griessenauer CJ, Hogan E, Loukas M, Cohen-Gadol AA (2014). Neural interconnections between portio minor and portio major at the porus trigeminus: application to failed surgical treatment of trigeminal neuralgia. *Clin Anat* 27(1): 94-6.
92. Olszewski J (1950). On the anatomical and functional organization of the spinal trigeminal nucleus. *J Comp Neurol* 92(3): 401-13.
93. Schultz, S. K. (2001). Principles of neural science. *Am J Psychiatry* 158(4): 662-662.
94. Corbin KB, Harrison FJ (1940). Function of mesencephalic root of fifth cranial nerve. *J Neurophysiol* 3(5): 423-35.
95. Jerge CR (1963). Organization and function of the trigeminal mesencephalic nucleus. *J Neurophysiol* 26(3): 379-92.
96. Tarkhan A, Gabrawi A (1967). A histological study of the mesencephalic nucleus of the fifth cranial nerve. *Acta Anat* 67(3): 361-8.
97. Afshar F, Dykes E, Watkins E (1983). Three-dimensional stereotactic anatomy of the human trigeminal nerve nuclear complex. *Appl Neurophysiol* 46(1-4): 147-53.
98. Smith RL (1975). Axonal projections and connections of the principal sensory trigeminal nucleus in the monkey. *J Comp Neurol* 163(3): 347-75.
99. Dallel R, Raboisson P, Auroy P, Woda A (1988). The rostral part of the trigeminal sensory complex is involved in orofacial nociception. *Brain Res* 448(1): 7-19.
100. Silverman JD, Kruger L (1985). Projections of the rat trigeminal sensory nuclear complex demonstrated by multiple fluorescent dye retrograde transport. *Brain Res* 361(1-2): 383-8.
101. Steindler DA (1985). Trigemino-cerebellar, trigeminotectal, and trigeminothalamic projections: a double retrograde axonal tracing study in the mouse. *J Comp Neurol* 237(2): 155-75.
102. Ventura RE, Balcer LJ, Galetta SL (2014). The neuro-ophthalmology of head trauma. *Lancet Neurol* 13(10): 1006-16.

103. Taren JA, Kahn EA (1962). Anatomic pathways related to pain in face and neck. *J Neurosurg* 19(2): 116-21.
104. Henssen DJ, Kurt E, Kozicz T, van Dongen R, Bartels RH, van Cappellen van Walsum AM (2016). New insights in trigeminal anatomy: a double orofacial tract for nociceptive input. *Front Neuroanat* 10: 53.
105. Miller N (2005). The trigeminal nerve and its central connections. *Walsh and Hoyt's Clinical Neuro-Ophthalmology*. (Ed: Liu GT). 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams Wilkins, 1233-41.
106. Julius D, Basbaum AI (2001). Molecular mechanisms of nociception. *Nature* 413(6852): 203.
107. Liu L, Simon SA (1997). Capsazepine, a vanilloid receptor antagonist, inhibits nicotinic acetylcholine receptors in rat trigeminal ganglia. *Neurosci Lett* 228(1): 29-32.
108. Zylka MJ, Rice FL, Anderson DJ (2005). Topographically distinct epidermal nociceptive circuits revealed by axonal tracers targeted to Mrgprd. *Neuron* 45(1): 17-25.
109. Hensel H (1973). Cutaneous thermoreceptors. *Somatosensory system*. 1st ed. Springer, Marburg; 79-110.
110. Heppelmann B, Gallar J, Trost B, Schmidt RF, Belmonte C (2001). Three-dimensional reconstruction of scleral cold thermoreceptors of the cat eye. *J Comp Neurol* 441(2): 148-54.
111. LaMotte RH, Campbell JN (1978). Comparison of responses of warm and nociceptive C-fiber afferents in monkey with human judgments of thermal pain. *J Neurophysiol* 41(2): 509-28.
112. Tillman DB, Treede RD, Meyer RA, Campbell JN (1995). Response of C fibre nociceptors in the anaesthetized monkey to heat stimuli: correlation with pain threshold in humans. *J Physiol* 485(3): 767-74.
113. Patapoutian A, Peier AM, Story GM, Viswanath V (2003). ThermoTRP channels and beyond: mechanisms of temperature sensation. *Nat Rev Neurosci* 4(7): 529.

114. Patapoutian A (2005). TRP channels and thermosensation. *Chem Senses* 30(1): 193-4.
115. Tominaga M, Caterina MJ (2004). Thermosensation and pain. *J Neurobiol* 61(1): 3-12.
116. Voets T, Talavera K, Owsianik G, Nilius B (2005). Sensing with TRP channels. *Nat Chem Biol* 1(2): 85.
117. Silver WL, Moulton DG (1982). Chemosensitivity of rat nasal trigeminal receptors. *Physiol Behav* 28(5): 927-31.
118. Doty RL, Brugger WE, Jurs PC, Orndorff MA, Snyder PJ, Lowry LD (1978). Intranasal trigeminal stimulation from odorous volatiles: psychometric responses from anosmic and normal humans. *Physiol Behav* 20(2): 175-85.
119. Mason JR, Silver WL (1983). Trigeminally mediated odor aversions in starlings. *Brain Res* 269(1): 196-9.
120. Silver WL, Finger TE (1991). Smell and taste in health and disease. The trigeminal system. 1st ed. Raven Press, New York; 97-108.
121. Bojsen-Møller F (1975). Demonstration of terminalis, olfactory, trigeminal and perivascular nerves in the rat nasal septum. *J Comp Neurol* 159(2): 245-56.
122. Anton F, Herdegen T, Peppel P, Leah J (1991). c-FOS-like immunoreactivity in rat brainstem neurons following noxious chemical stimulation of the nasal mucosa. *Arch Histol Cytol* 41(2-3): 629-41.
123. Sekizawa SI, Tsubone H (1994). Nasal receptors responding to noxious chemical irritants. *Respir Physiol* 96(1): 37-48.
124. Finger TE, Böttger B (1993). Peripheral peptidergic fibers of the trigeminal nerve in the olfactory bulb of the rat. *J Comp Neurol* 334(1): 117-24.
125. Lundberg JM, Lundblad L, Martling CR, Saria A, Stjarne P, Anggard A (1987). Coexistence of multiple peptides and classic transmitters in airway neurons: functional and pathophysiologic aspects. *Am Rev Respir Dis* 136(6): 16-22.
126. Rinder J, Lundberg J (1996). Nasal vasoconstriction and decongestant effects of nitric oxide synthase inhibition in the pig. *Acta Physiol Scand* 157(2): 233-44.

127. Stjärne P, Lacroix J, Änggård A, Lundberg J (1991). Release of calcitonin gene-related peptide in the pig nasal mucosa by antidromic nerve stimulation and capsaicin. *Regul Pept* 33(3): 251-62.
128. Ulrich CE, Haddock MP, Alarie Y (1972). Airborne chemical irritants: Role of the trigeminal nerve. *Arch Environ Health* 24(1): 37-42.
129. Jordt SE, Julius D (2002). Molecular basis for species-specific sensitivity to “hot” chili peppers. *Cell* 108(3): 421-30.
130. Tewksbury JJ, Nabhan GP (2001). Seed dispersal: directed deterrence by capsaicin in chillies. *Nature* 412(6845): 403.
131. Wang H, Woolf C (2005). Pain TRPs. *Neuron* 46(1): 9-12.
132. Nilius B, Voets T (2005). TRP channels: a TRP through a world of multifunctional cation channels. *Pflugers Arch* 451(1): 1-10.
133. Clapham DE, Runnels LW, Strübing C (2001). The TRP ion channel family. *Nat Rev Neurosci* 2(6): 387.
134. Blackshaw L, Brierley S, Hughes P (2010). TRP channels: new targets for visceral pain. *Gut* 59(1): 126-35.
135. Montell C (2005). The TRP superfamily of cation channels. *Science* 2005(272): 3-3.
136. Prawitt D, Monteilh-Zoller MK, Brixel L, Spangenberg C, Zabel B, Fleig A, Penner R (2003). TRPM5 is a transient Ca^{2+} -activated cation channel responding to rapid changes in $[\text{Ca}^{2+}]_i$. *Proc Natl Acad Sci USA* 100(25): 15166-71.
137. Wehage E, Eisfeld J, Heiner I, Jüngling E, Zitt C, Lückhoff A (2002). Activation of the cation channel long transient receptor potential channel 2 (LTRPC2) by hydrogen peroxide A splice variant reveals a mode of activation independent of ADP-ribose. *J Biol Chem* 277(26): 23150-6.
138. Rohacs T (2007). Regulation of TRP channels by PIP₂. *Pflugers Arch* 453(6): 753-62.
139. Galione A, Evans AM, Ma J, Parrington J, Arredouani A, Cheng X, Zhu MX (2009). The acid test: the discovery of two-pore channels (TPCs) as NAADP-gated endolysosomal Ca^{2+} release channels. *Pflugers Arch* 458(5): 869-76.

140. Wang X, Zhang X, Dong X-p, Samie M, Li X, Cheng X, Goschka A, Shen D, Zhou Y, Harlow J (2012). TPC proteins are phosphoinositide-activated sodium-selective ion channels in endosomes and lysosomes. *Cell* 151(2): 372-83.
141. Burnstock G (2000). P2X receptors in sensory neurones. *Br J Anaesth* 84(4): 476-88.
142. Chizh BA, Illes P (2001). P2X receptors and nociception. *J Pharmacol Exp Ther* 53(4): 553-68.
143. Bele T, Fabbretti E (2015). P2X receptors, sensory neurons and pain. *Curr Med Chem* 22(7): 845-50.
144. Hu B, Chiang CY, Hu JW, Dostrovsky JO, Sessle B (2002). P2X receptors in trigeminal subnucleus caudalis modulate central sensitization in trigeminal subnucleus oralis. *J Neurophysiol* 88(4): 1614-24.
145. Loeser JD, Melzack R (1999). Pain: an overview. *Lancet* 353(9164): 1607-9.
146. Burgess PR, Perl E (1967). Myelinated afferent fibres responding specifically to noxious stimulation of the skin. *J Physiol* 190(3): 541-62.
147. Brennan F, Carr DB, Cousins M (2007). Pain management: a fundamental human right. *Anesth Analg* 105(1): 205-21.
148. Basbaum AI, Bautista DM, Scherrer G, Julius DJC (2009). Cellular and molecular mechanisms of pain. *Cell* 139(2): 267-84.
149. Macfarlane TV, Blinkhorn AS, Davies RM, Kinsey J, Worthington HV (2002). Orofacial pain in the community: prevalence and associated impact. *Community Dent Oral Epidemiol* 30(1): 52-60.
150. Sharav Y, Benoliel R (2008). Neurovascular orofacial pain. *Cephalalgia* 28(2): 199-200.
151. Okeson JP, Baragona PM, Bertrand PM, Black DF, Carlson CR, Cohen JR (1996). *The American Academy of orofacial pain: orofacial pain guidelines for assessment, diagnosis, and management*. 4th ed. Chicago: Quintessence Publishing Co, 113-84.
152. Launer LJ, Terwindt GM, Ferrari MD (1999). The prevalence and characteristics of migraine in a population-based cohort The GEM Study. *Neurology* 53(3): 537.

153. Pietrobon D, Moskowitz MA (2013). Pathophysiology of migraine. *Annu Rev Physiol* 75: 365-91.
154. Headache Classification Committee of the International Headache Society (IHS). (2013). The international classification of headache disorders, (beta version). *Cephalalgia* 33(9): 629-808.
155. Evans RW, Seifert T, Mathew NT (2005). Are triptans effective and safe when taken during the aura phase of migraine? *Headache* 45(5): 601-3.
156. Victor M, Ropper AH (2001). *Adams and Victor's principles of neurology*. 10th ed. McGraw-Hill Medical Pub, New York; 47-66.
157. Blasberg B, Greenberg MS (2003). *Orofacial pain*. 10th ed. BC Decker Inc, New York; 307-40.
158. Rapoport A, Edmeads J (2000). Migraine: the evolution of our knowledge. *Arch Neurol* 57(8): 1221-3.
159. Mayberg MR, Zervas NT, Moskowitz MA (1984). Trigeminal projections to supratentorial pial and dural blood vessels in cats demonstrated by horseradish peroxidase histochemistry. *J Comp Neurol* 223: 46-56.
160. Nosedá R, Burstein R (2013). Migraine pathophysiology: anatomy of the trigeminovascular pathway and associated neurological symptoms, cortical spreading depression, sensitization, and modulation of pain. *Pain* 154(1): 44-53.
161. Andreou AP, Goadsby PJ (2011). Topiramate in the treatment of migraine: a kainate (glutamate) receptor antagonist within the trigeminothalamic pathway. *Cephalalgia* 31: 1343-58.
162. Levy D, Burstein R, Kainz V, Jakubowski M, Strassman AM (2007). Mast cell degranulation activates a pain pathway underlying migraine headache. *Pain* 130: 166-76.
163. Akerman S, Holland PR, Goadsby PJ (2011). Diencephalic and brainstem mechanisms in migraine. *Nat Rev Neurosci* 12: 570-84.
164. Bauer P, Carpay J, Terwindt G, Sander J, Thijs R, Haan J, Visser G (2013). Headache and epilepsy. *Curr Pain Headache Rep* 17(8): 351.

165. Nye BL, Thadani VM (2015). Migraine and epilepsy: review of the literature. *Headache* 55(3): 359-80.
166. Durham P, Garrett F (2010). Emerging importance of neuron-satellite glia interactions within trigeminal ganglia in craniofacial pain. *Open Pain J* 3: 3-13.
167. Fields RD, Eshete F, Stevens B, Itoh K (1997). Action potential-dependent regulation of gene expression: temporal specificity in Ca^{2+} , cAMP-responsive element binding proteins, and mitogen-activated protein kinase signaling. *J Neurosci* 17(19): 7252-66.
168. Harding LM, Beadle DJ, Bermudez I (1999). Voltage-dependent calcium channel subtypes controlling somatic substance P release in the peripheral nervous system. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 23(6): 1103-12.
169. Zhang C, Zhou Z (2002). Ca^{2+} -independent but voltage-dependent secretion in mammalian dorsal root ganglion neurons. *Nat Neurosci* 5(5): 425.
170. Dixon AD (1963). The ultrastructure of nerve fibers in the trigeminal ganglion of the rat. *J Ultrastruct Res* 8: 107-21.
171. Brini M, Carafoli E (2011). The plasma membrane Ca^{2+} ATPase and the plasma membrane sodium calcium exchanger cooperate in the regulation of cell calcium. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 3(2): a004168.
172. Blaustein MP, Lederer WJ (1999). Sodium/calcium exchange: its physiological implications. *Physiol Rev* 79: 763-854.
173. Kimura J, Ono T, Sakamoto K, Ito E, Watanabe S, Maeda S, Shikama Y, Yatabe MS, Matsuoka I (2009). Na^{+} - Ca^{2+} exchanger expression and its modulation. *Biol Pharm Bull* 32: 325-31.
174. Kita S, Iwamoto T (2006). Hypertension, Na^{+}/Ca^{2+} exchanger, and Na^{+} , K^{+} -ATPase. *Kidney Int* 128: 269-71.
175. Tsumura M, Sobhan U, Muramatsu T, Sato M, Ichikawa H, Sahara Y, Tazaki M, Shibukawa Y (2012). TRPV1-mediated calcium signal couples with cannabinoid receptors and sodium-calcium exchangers in rat odontoblasts. *Cell Calcium* 52: 124-36.

176. Tsumura M, Okumura R, Tatsuyama S, Ichikawa H, Muramatsu T, Matsuda T, Baba A, Suzuki K, Kajiya H, Sahara Y, Tokuda M, Momose Y, Tazaki M, Shimono M, Shibukawa Y (2010). Ca^{2+} extrusion via Na^{+} - Ca^{2+} exchangers in rat odontoblasts. *J Endod* 36: 668-74.
177. Shibukawa Y, Kang KJ, Kinjo TG, Szerencsei RT, Altimimi HF, Pratikhya P, Winkfein RJ, Schnetkamp PPM (2007). Structure-function relationships of the NCKX2 $\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{2+}$ - K^{+} exchanger. *Ann N Y Acad Sci* 1099: 16-28.
178. Sato M, Sobhan U, Tumura M, Kuroda H, Soya M, Masamura A, Nishiyama A, Katakura A, Ichinohe T, Tazaki M, Shibukawa Y (2013). Hypotonic-induced stretching of plasma membrane activates TRPV channels and sodium-calcium exchangers in mouse odontoblasts. *J Endod* 39(6): 779-87.
179. Okumura R, Shibukawa Y, Muramatsu T, Hashimoto S, Nakagawa K-I, Tazaki M, Shimono M (2010). Sodium-calcium exchangers in rat ameloblasts. *J Pharmacol Sci* 112: 223-30.
180. Quednau BD, Nicoll DA, Philipson KD (2004). The sodium/calcium exchanger family-SLC8. *Pflugers Arch* 447: 543-8.
181. Scott SA (1992). *Sensory neurons: diversity, development, and plasticity*. Oxford University Press, USA; 87-92.
182. Ruscheweyh R, Forsthuber L, Schoffnegger D, Sandkühler J (2007). Modification of classical neurochemical markers in identified primary afferent neurons with A-beta-, A-delta-, and C-fibers after chronic constriction injury in mice. *J Comp Neurol* 502(2): 325-36.
183. Gover TD, Moreira TH, Weinreich D (2009). Role of calcium in regulating primary sensory neuronal excitability. In: *Sensory Nerves*. Heidelberg: Springer, 563-87.
184. Hagenston AM, Simonetti M (2014). Neuronal calcium signaling in chronic pain. *Cell Tissue Res* 357(2): 407-26.

185. Kirifides ML, Kurnellas MP, Clark L, Bryant BP. Calcium responses of chicken trigeminal ganglion neurons to methyl anthranilate and capsaicin. *J Exp Biol* 207(5): 715-22.
186. Schöbel N, Radtke D, Lübbert M, Gisselmann G, Lehmann R, Cichy A, Hatt H (2012). Trigeminal ganglion neurons of mice show intracellular chloride accumulation and chloride-dependent amplification of capsaicin-induced responses. *PLoS One* 7(11): e48005.
187. Szoke É, Balla Z, Csernoch L, Czéh G, Szolcsányi J (2000). Interacting effects of capsaicin and anandamide on intracellular calcium in sensory neurones. *Neuroreport* 11(9): 1949-52.
188. Ayar A, Ozcan M, Kuzgun KT, Kalkan OF (2015). Spinorphin inhibits membrane depolarization-and capsaicin-induced intracellular calcium signals in rat primary nociceptive dorsal root ganglion neurons in culture. *J Recept Signal Transduct Res* 35(6): 550-8.
189. Caterina MJ, Schumacher MA, Tominaga M, Rosen TA, Levine JD, Julius D (1997). The capsaicin receptor: A heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature* 389: 816-24.
190. Frias B, Merigh A (2016). Capsaicin, Nociception and Pain. *Molecules* 21(6): 797.
191. Chung MK, Campbell JN (2016). Use of Capsaicin to Treat Pain: Mechanistic and Therapeutic Considerations. *Pharmaceuticals (Basel)* 9(4): 66.
192. Szolcsányi J (2004). Forty years in capsaicin research for sensory pharmacology and physiology. *Neuropeptides* 38(6): 377-84.
193. Hayman M, Kam P (2008). Capsaicin: a review of its pharmacology and clinical applications. *Curr Anaesth Crit Care* 19: 338-43.
194. Yasunori Takayama, Daisuke Uta, Hidemasa Furue, Makoto Tominaga (2015). Pain-enhancing mechanism through interaction between TRPV1 and anoctamin 1 in sensory neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 112(16): 5213-8.

195. O'Neill J, Brock C, Olesen AE, Andresen T, Nilsson M, Dickenson AH (2012). Unravelling the mystery of capsaicin: a tool to understand and treat pain. *Pharmacol Rev* 64(4): 939-71.
196. Goto T, Iwai H, Kuramoto E, Yamanaka A (2017). Neuropeptides and ATP signaling in the trigeminal ganglion. *Jpn Dent Sci Rev* 53(4): 117-24.
197. Ceruti S, Fumagalli M, Villa G, Verderio C, Abbracchio MP (2008). Purinoceptor-mediated calcium signaling in primary neuron-glia trigeminal cultures. *Cell Calcium* 43(6): 576-90.
198. Illes P, Nörenberg W (1993). Neuronal ATP receptors and their mechanism of action. *Trends Pharmacol Sci* 14(2): 50-4.
199. Ding Y, Cesare P, Drew L, Nikitaki D, Wood JN (2000). ATP, P2X receptors and pain pathways. *J Auton Nerv Syst* 81(1-3): 289-94.
200. Staikopoulos V, Sessle BJ, Furness JB, Jennings EA (2007). Localization of P2X2 and P2X3 receptors in rat trigeminal ganglion neurons. *Neuroscience* 144(1): 208-16.
201. Katagiri A, Shinoda M, Honda K, Toyofuku A, Sessle BJ, Iwata K (2012). SGC P2Y12 receptor in the trigeminal ganglion is involved in lingual neuropathic pain mechanisms in rats. *Mol Pain* 8: 23.
202. Weick M, Cherkas PS, Härtig W, Pannicke T, Uckermann O, Bringmann A, Tal M, Reichenbach A, Hanani M (2003). P2 receptors in satellite glial cells in trigeminal ganglia of mice. *Neuroscience* 120(4): 969-77.
203. Kuroda H, Sobhan U, Sato M, Tsumura M, Ichinohe T, Tazaki M, & Shibukawa Y (2013). Sodium-calcium exchangers in rat trigeminal ganglion neurons. *Mol Pain* 9(1): 22.

9. ETİK KURUL ONAYI

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



KARADENİZ
TECHNICAL UNIVERSITY
ANIMAL CARE AND ETHICS
COMMITTEE

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

Çalışmanın Adı : "Epilepside Ağrı Duyarlılığının Genetik Absans Epilepsili Sıçanlar Kullanılarak *in Vivo* ve *in Vitro* İncelenmesi"
Çalışmacılar : Prof.Dr.Ahmet AYAR, Prof.Dr.Sibel VELİOĞLU
Anabilim Dalı : Fiziyojji ABD./Nöroloji ABD.

Etik Kurul Dosya No 2013/ 37	Etik Kurul Toplantı Tarihi 11.06.2013	Etik Kurul Toplantı No 2013/10	Etik Kurul Karar No 5
------------------------------------	---	--------------------------------------	-----------------------------

Karadeniz Teknik Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu, Tıp Fakültesi Dekanlığı Toplantı Salonu'nda Prof.Dr.Yavuz ÖZORAN'ın başkanlığında; "Epilepside Ağrı Duyarlılığının Genetik Absans Epilepsili Sıçanlar Kullanılarak *in Vivo* ve *in Vitro* İncelenmesi" başlığını taşıyan tez çalışmasının, Karadeniz Teknik Üniversitesi'nde yürütülmesinin mümkün olduğuna; çalışmacıların bu çalışmayı yürütülebilecek kalifikasyonda olduklarına; araştırmanın dosyada belirtilen haliyle tıbbi etik açıdan uygun olduğuna; Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Üyelerinin oy birliği ile karar verilmiştir. (11.06.2013)

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

10. ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı	Büşra Perihan YÜCEL
Uyruğu	T.C.
Doğum tarihi ve yeri	02.10.1992, Elazığ
E-Posta	busperi@gmail.com

EĞİTİM BİLGİLERİ

Derece	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	KTÜ SABE Fizyoloji AbD	2019
Lisans	Fırat Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Biyomühendislik Bölümü	2015
Lise	Ahmet Kabaklı Anadolu Öğretmen Lisesi	2010

YAYINLAR/BİLDİRİLER

1. Ayar A, Kalkan OF, **Yucel BP**. Investigation of sensitivity of opioid analgesia in absence epileptic WAG/Rij rats. PO-040, IUPS, 1-5 Eylül 2017, Rio de Janeiro.
2. Kalkan OF, Surmeneli YE, Aktas O, **Yucel BP**, Ayar A (2017). Eight-weeks of treadmill exercise ameliorates neuropathic pain in diabetic rats. Acta Physiologica 221: 194-196.
3. Surmeneli YE, Kurt A, Kalkan OF, **Yucel BP**, Keles V, Ayar A (2017). Exercise restores diabetes-mediated contractile dysfunction of isolated rat seminal vesicle. Acta Physiologica 221; 62-62.
4. Malkoc A, Kalkan OF, **Yucel BP**, Saral EN, Sahin Z, Ayar A. Epilepsy and neuropathic pain: investigation of pain sensitivity in sciatic nerve chronic constriction injury-induced neuropathic pain model in absence epileptic WAG/Rij rats. PCB-309, Europhysiology, 14-16 Eylül 2018, London.