

**REBOKSETİN'İN STREPTOZOTOSİN İLE
DİYABET OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDAKİ
ANTİHİPERALJEZİK VE ANTİALLODİNİK
ETKİLERİ VE ALTTA YATAN
MEKANİZMALARIN FARMAKOLOJİK VE
MORFOMETRİK YÖNTEMLER KULLANILARAK
ARAŞTIRILMASI
Doktora Tezi**

**Nazlı TURAN YÜCEL
Eskişehir 2019**

**REBOKSETİN'İN STREPTOZOTOSİN İLE DİYABET OLUŞTURULMUŞ
SIÇANLARDAKİ ANTİHİPERALJEZİK VE ANTİALLODİNİK ETKİLERİ VE
ALTTA YATAN MEKANİZMALARIN FARMAKOLOJİK VE
MORFOMETRİK YÖNTEMLER KULLANILARAK ARAŞTIRILMASI**

Nazlı TURAN YÜCEL

DOKTORA TEZİ

Farmakoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Özgür Devrim CAN

(İkinci Danışman: Doç. Dr. Ümide DEMİR ÖZKAY)

Eskişehir

Anadolu Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Ocak 2019

Bu tez çalışması Anadolu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir (Proje No: 1606S549).

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Nazlı TURAN YÜCEL'in "Reboksetin'in streptozotosin ile diyabet oluşturulmuş sıçanlardaki antihiperaljezik ve antiallodinik etkilerinin altında yatan mekanizmaların farmakolojik ve morfolometrik yöntemler kullanılarak araştırılması" başlıklı tezi 15.01.2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği"nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmakoloji Anabilim dalında Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

	<u>Unvanı-Adı Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Üye (Tez Danışmanı) :	Doç. Dr. Özgür Devrim CAN	
Üye :	Prof. Dr. Yusuf ÖZTÜRK	
Üye :	Prof. Dr. Feyza ARICIOĞLU	
Üye :	Prof. Dr. Emel ULUPINAR	
Üye :	Doç. Dr. Bülent ERĞÜN	

Prof. Dr. Nalan GÜNDOĞDU KARABURUN

Enstitü Müdürü



ÖZET

REBOKSETİN'İN STREPTOZOTOSİN İLE DİYABET OLUŞTURULMUŞ
SIÇANLARDAKİ ANTİHİPERALJEZİK VE ANTİALLODİNİK ETKİLERİ VE
ALTTA YATAN MEKANİZMALARIN FARMAKOLOJİK VE MORFOMETRİK
YÖNTEMLER KULLANILARAK ARAŞTIRILMASI

Nazlı TURAN YÜCEL

Farmakoloji Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ocak 2019

Danışman: Doç. Dr. Özgür Devrim CAN

(İkinci Danışman: Doç. Dr. Ümide DEMİR ÖZKAY)

Bu tez çalışmasında güçlü ve seçici bir noradrenalin gerilim inhibitörü olan reboksetin'in deneysel diyabet oluşturulmuş sıçanların plazma glukoz seviyeleri ve bu hayvanlarda gelişen hiperaljezi ve allodini yanıtları üzerine etkinliği araştırılmıştır.

Reboksetin'in (8 ve 16 mg.kg⁻¹) 7 ve 14 günlük uygulamaları diyabetik sıçanların plazma glukoz seviyelerinde anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır. Nöropatik ağrıyı değerlendirmek üzere yapılan Randall-Selitto (mekanik hiperaljezi), dinamik plantar (mekanik allodini), Hargreaves (termal hiperaljezi) ve ılık plaka (termal allodini) testlerinin sonuçları, reboksetin tedavisinin diyabet kaynaklı hiperaljezi ve allodini yanıtlarını referans ilaç pregabalin ile kıyaslanabilir ölçüde düzelttiğini ortaya koymuştur. Mekanizma aydınlatmaya yönelik olarak yapılan fentolamin, metoprolol, SR 5923A ve atropin uygulamaları reboksetin'in söz konusu etkilerini değiştirmezken; α -metil-paratirozin metil ester, propranolol, ICI 118,551, SCH 23390, sülpirid ve naltrindol uygulamaları bu etkileri önemli ölçüde ortadan kaldırmıştır. Bu bulgular, reboksetin'in antihiperaljezik ve antiallodinik etkilerinin katekolaminerjik sistem, β_2 -adrenoseptörler, D₁, D₂/D₃-dopaminerjik reseptörler ve δ -opioid reseptörler aracılığı ile gerçekleştiğine işaret etmiştir. Diğer yandan, reboksetin uygulamaları, diyabetik sıçanlarda dorsal kök gangliyonu nöronlarının morfolojilerinde anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır.

Bu çalışmada elde edilen prelinik bulgular, reboksetin'in diyabete bağlı nöropatik ağrının tedavisinde önemli bir potansiyele sahip olduğuna işaret etmektedir.

Anahtar Sözcükler: Allodini, Dorsal kök gangliyonu, Hiperaljezi, Reboksetin

ABSTRACT

THE ANTIHYPERALGESIC AND ANTIALLODYNIC EFFECTS OF REBOXETINE IN STREPTOZOTOCIN INDUCED DIABETIC RATS AND INVESTIGATING THE UNDERLYING MECHANISMS USING PHARMACOLOGICAL AND MORPHOMETRIC METHODS

Nazlı TURAN YÜCEL

Department of Pharmacology

Anadolu University, Graduate School of Health Sciences, January 2019

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Özgür Devrim CAN

(Second Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Ümide DEMİR ÖZKAY)

In this study, the effects of reboxetine, a potent and selective noradrenaline reuptake inhibitor, were investigated on the plasma glucose levels and hyperalgesia and allodynia responses of diabetic rats with experimental diabetes.

Reboxetine administrations for 7 and 14 days (8 and 16 mg.kg⁻¹) did not cause any significant change in the plasma glucose levels of diabetic rats. The results of Randall-Selitto (mechanical hyperalgesia), dynamic plantar (mechanical allodynia), Hargreaves (thermal hyperalgesia) and warm plate (thermal allodynia) tests, performed to evaluate neuropathic pain, showed that reboxetine treatment improves diabetes-induced hyperalgesia and allodynia responses, which was comparable to reference drug pregabalin. Treatments of animals with phentolamine, metoprolol, SR 5923A and atropine for clarifying the underlying mechanisms did not alter; while α -methyl-para-tyrosine methyl ester, propranolol, ICI 118,551, SCH 23390, sulpiride and naltrindol pretreatments significantly reversed the presented effects of reboxetine. These findings pointed out that the antihyperalgesic and antiallodynic effects of reboxetine were mediated by the participation of catecholaminergic system, β_2 -adrenoceptors, D₁, D₂/D₃-dopaminergic receptors and δ -opioid receptors. On the other hand, reboxetine administration did not cause a significant difference in the morphology of dorsal root ganglion neurons in diabetic rats.

These preclinical findings of this study indicate that this drug has a great potential in the treatment of diabetes-induced neuropathic pain.

Keywords: Allodynia, Dorsal root ganglion, Hyperalgesia, Reboxetine

TEŞEKKÜR

Doktora yıllarım süresince her yönden örnek aldığım, birikimleri ile akademik anlamda beni desteklemesinin yanı sıra hayatımın her alanında yanımda olup güç veren, birleştirici gücüyle bizi aile haline getiren, çok sevdiğim ve saygı duyduğum danışman hocam Doç. Dr. Özgür Devrim CAN'a,

Karşılaştığım her problemde hiç çekinmeden her zaman kapısını çalabildiğim, bana her daim yol gösteren, araştırmalarım sırasında hiç yalnız bırakmayan, çok sevdiğim ve saygı duyduğum hocam Doç. Dr. Ümide DEMİR ÖZKAY'a,

Doktora tez çalışmam kapsamında gerçekleştirilen morfometrik analizler için gerekli laboratuvar olanaklarını sunan, engin bilgisi ve cana yakınlığıyla bana destek veren sayın hocam Prof. Dr. Emel ULUPINAR'a,

Laboratuvar çalışmalarım sırasında yaptığım tüm planların başından sonuna kadar içinde olan ve beni yalnız bırakmayan değerli arkadaşım Umut İrfan ÜÇEL'e,

Yardımları ile tezime katkılarından dolayı Dilan EKER, Lütfiye ÇİFTÇİ, Birce ERÇELEN ve Elif POLAT ÇORUMLU'ya,

Başta sayın hocam Prof. Dr. Yusuf ÖZTÜRK olmak üzere Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı'nın değerli öğretim üyelerine,

Tez çalışmamda yapmış olduğu finansal destekten dolayı Anadolu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu'na,

Doktora eğitimim süresince 2211/A Yurt İçi Doktora Burs Programı kapsamında beni maddi olarak destekleyen Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK)'na,

Manevi desteklerini ve sevgilerini her zaman yanımda hissettiğim ve hissedeceğim değerli aileme,

Tez çalışmam süresince beni motive eden, her türlü sabrı ve fedakârlığı gösteren sevgili eşim Esen YÜCEL'e,

En içten teşekkürlerimi sunarım.

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Anadolu Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı”yla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

Ecz. Nazlı TURAN YÜCEL

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
BAŞLIK SAYFASI	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
TABLolar DİZİNİ	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xix
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Ağrı	4
2.1.1. Ağrının tanımı	4
2.1.2. Ağrı çeşitleri	4
2.1.3. Ağrının iletimi ve algılanması	5
2.1.3.1. Dorsal kök ganglion hücreleri	6
2.1.3.2. Spinal dorsal boynuz	8
2.1.3.3. Nosiseptif çıkıcı sistemler	9
Neospinotalamik yolak	9
Paleospinotalamik yolak	10
2.1.3.4. Antinosiseptif inisi sistemler	11

	<u>Sayfa</u>
2.2. Nöropatik Ağrı	13
2.2.1. Nöropatik ağrının tanımı	13
2.2.2. Nöropatik ağrının epidemiyolojisi	13
2.2.3. Nöropatik ağrının patogenezi	13
2.2.4. Nöropatik ağrının semptomları	14
2.2.5. Nöropatik ağrının tanısı	14
2.2.6. Sık rastlanan nöropatik ağrı çeşitleri	15
2.2.6.1. Diyabetik nöropati kaynaklı ağrı	15
2.2.7. Nöropatik ağrının tedavisi	20
2.2.7.1. Diyabetik nöropati kaynaklı ağrının tedavisi	22
<i>Glisemik kontrol</i>	22
<i>Patogenetik mekanizmalara yönelik tedavi yaklaşımları</i>	22
<i>Yaşam tarzı değişiklikleri</i>	23
<i>Semptomatik tedavi</i>	23
2.3. Deneysel diyabetik nöropati modelleri	27
2.4. Reboksetin	27
2.4.1. Reboksetin'in etki mekanizması	28
2.4.2. Reboksetin'in olası endikasyonları	28
2.4.3. Reboksetin'in farmakokinetik özellikleri	29
2.4.4. Reboksetin'in farmadynamik özellikleri	30
2.4.5. Reboksetin'in yan etkileri	30
2.4.6. Reboksetin'in gıda ve ilaç etkileşimleri	31
2.4.7. Reboksetin'in uygulama yolu ve dozajı	31

	<u>Sayfa</u>
3. GEREÇLER	33
3.1. Deney Hayvanları	33
3.2. Kullanılan İlaç ve Kimyasal Maddeler	33
3.3. Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler	34
4. YÖNTEMLER	36
4.1. Streptozotosin ile Deneysel Diyabet Modeli Oluşturulması	36
4.2. Diyabetik Sıçanlarda İlaç Tedavisi	36
4.3. Deney Hayvanlarının Plazma Glukoz Düzeylerinin Ölçümü	37
4.4. Nöropatik Ağrının Değerlendirilmesi	37
4.4.1. Mekanik hiperaljezinin değerlendirilmesi	37
4.4.2. Mekanik allodininin değerlendirilmesi	38
4.4.3. Termal hiperaljezinin değerlendirilmesi	39
4.4.4. Termal allodininin değerlendirilmesi	39
4.5. Lokomotor Aktivitenin Değerlendirilmesi	40
4.6. Mekanizma Aydınlatmaya İlişkin Çalışmalar	41
4.7. Morfolojik Çalışmalar	42
4.7.1. Deney hayvanlarının intrakardiyak perfüzyonu	42
4.7.2. Histolojik doku takibi	42
4.7.3. Morfometrik analiz	44
4.8. İstatistiksel Değerlendirme	45
5. BULGULAR ve TARTIŞMA	46
5.1. Plazma Glukoz Ölçümlerine İlişkin Bulgular	46
5.2. Nöropatik Ağrı Testlerine İlişkin Bulgular	47

	<u>Sayfa</u>
5.2.1. Randall-Selitto testine ilişkin bulgular	47
5.2.2. Dinamik plantar testine ilişkin bulgular	49
5.2.3. Hargreaves testine (Plantar test) ilişkin bulgular	51
5.2.4. Ilık plaka testine ilişkin bulgular	53
5.3. Lokomotor Aktivite Testlerine İlişkin Bulgular	56
5.4. Mekanizma Çalışmalarına İlişkin Bulgular	58
5.4.1. AMPT uygulamalarına ilişkin bulgular	58
5.4.2. Fentolamin uygulamalarına ilişkin bulgular	63
5.4.3. Propranolol uygulamalarına ilişkin bulgular	66
5.4.4. Metoprolol uygulamalarına ilişkin bulgular	70
5.4.5. ICI 118,551 uygulamalarına ilişkin bulgular	74
5.4.6. SR 59230A uygulamalarına ilişkin bulgular	77
5.4.7. SCH 23390 uygulamalarına ilişkin bulgular	83
5.4.8. Sülpriid uygulamalarına ilişkin bulgular	87
5.4.9. Atropin uygulamalarına ilişkin bulgular	92
5.4.10. Naltrindol uygulamalarına ilişkin bulgular	95
5.5. Morfometrik Analizlere İlişkin Bulgular	100
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	106
KAYNAKÇA	112
EKLER	
ÖZGEÇMİŞ	

TABLÖLAR DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 2.1. Nöropatik ağrıda gözlenen bazı semptomlar ve tanımları	14
Tablo 2.2. Nöropatik ağrı çeşitleri	15
Tablo 2.3. Nöropatik ağrıda ilaç tedavisi basamakları	21
Tablo 2.4. Diyabetik nöropatik ağrıda semptomatik tedavi seçenekleri	24
Tablo 2.5. Diyabetik nöropati tedavisinde yeni hedef yaklaşımlar	26

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Dorsal kök gangliyonu	6
Şekil 2.2. Psödounipolar nöron	7
Şekil 2.3. Dorsal kök gangliyonu şematik gösterimi	7
Şekil 2.4. Omuriliğin dorsal boynuzundaki çeşitli duyuşal sonlanmaların şematik gösterimi	9
Şekil 2.5. Nosiseptif yolaklar	10
Şekil 2.6. (S,S)-reboksetin ve (R,R)-reboksetin	27
Şekil 4.1. Randall-Selitto test cihazı	37
Şekil 4.2. Dinamik plantar test düzeneği	38
Şekil 4.3. Hargreaves test düzeneği	39
Şekil 4.4. Ilık plaka test cihazı	40
Şekil 4.5. Aktivite kafesi test cihazı	40
Şekil 4.6. Deney hayvanlarının intrakardiyak perfüzyonu	42
Şekil 4.7. Araldit bloklara gömülmüş dorsal kök gangliyonu numuneleri ...	43
Şekil 4.8. DRG nöronlarının soma alanlarının ImageJ görüntü analiz programı ile hesaplanması	44
Şekil 5.1. 8 mg.kg ⁻¹ reboksetin (REB 8+DM), 16 mg.kg ⁻¹ reboksetin (REB 16+DM) ve 1000 mg.kg ⁻¹ metformin (MET+DM) uygulamalarının diyabetik (DM) sıçanların plazma glukoz değeri üzerine etkileri	46
Şekil 5.2. 8 mg.kg ⁻¹ reboksetin (REB 8+DM), 16 mg.kg ⁻¹ reboksetin (REB 16+DM) ve 10 mg.kg ⁻¹ pregabalin (PRG+DM) uygulamalarının diyabetik sıçanların Randall-Selitto testinde ölçülen pençe çekme eşik değeri üzerine etkileri	48

Şekil 5.3.	8 mg.kg ⁻¹ reboksetin (REB 8+DM), 16 mg.kg ⁻¹ reboksetin (REB 16+DM) ve 10 mg.kg ⁻¹ pregabalin (PRG+DM) uygulamalarının diyabetik sıçanların dinamik plantar testinde ölçülen pençe çekme eşik değerleri üzerine etkileri	50
Şekil 5.4.	8 mg.kg ⁻¹ reboksetin (REB 8+DM), 16 mg.kg ⁻¹ reboksetin (REB 16+DM) ve 10 mg.kg ⁻¹ pregabalin (PRG+DM) uygulamalarının diyabetik sıçanların plantar testte ölçülen pençe çekme süreleri üzerine etkileri	52
Şekil 5.5.	8 mg.kg ⁻¹ reboksetin (REB 8+DM), 16 mg.kg ⁻¹ reboksetin (REB 16+DM) ve 10 mg.kg ⁻¹ pregabalin (PRG+DM) uygulamalarının diyabetik sıçanların ılık plaka testinde ölçülen reaksiyon süreleri üzerine etkileri	54
Şekil 5.6.	8 mg.kg ⁻¹ reboksetin (REB 8+DM) ve 16 mg.kg ⁻¹ reboksetin (REB 16+DM) uygulamalarının diyabetik sıçanların aktivite kafesi testinde ölçülen yatay hareket sayıları üzerine etkileri	56
Şekil 5.7.	8 mg.kg ⁻¹ reboksetin (REB 8+DM) ve 16 mg.kg ⁻¹ reboksetin (REB 16+DM) uygulamalarının diyabetik sıçanların aktivite kafesi testinde ölçülen dikey hareket sayıları üzerine etkileri	57
Şekil 5.8.	AMPT (200 mg.kg ⁻¹ <i>i.p.</i> , 2 kez) uygulamasının Randall-Selitto testinde 8 mg.kg ⁻¹ reboksetin ile indüklenen antihiperaljezik yanıtlar üzerine etkisi	59
Şekil 5.9.	AMPT (200 mg.kg ⁻¹ <i>i.p.</i> , 2 kez) uygulamasının dinamik plantar testte 8 mg.kg ⁻¹ reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine etkisi	60
Şekil 5.10.	AMPT (200 mg.kg ⁻¹ <i>i.p.</i> , 2 kez) uygulamasının plantar testte 8 mg.kg ⁻¹ reboksetin ile indüklenen antihiperaljezik yanıtlar üzerine etkisi	61

Şekil 5.11. AMPT (200 mg.kg ⁻¹ <i>i.p.</i> , 2 kez) uygulamasının ılık plaka testinde 8 mg.kg ⁻¹ reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine etkisi	62
Şekil 5.12. Fentolamin (5 mg.kg ⁻¹ <i>i.p.</i>) uygulamasının Randall-Selitto testinde 8 mg.kg ⁻¹ reboksetin ile indüklenen antihiperalezik yanıtlar üzerine etkisi	63
Şekil 5.13. Fentolamin (5 mg.kg ⁻¹ <i>i.p.</i>) uygulamasının dinamik plantar testinde 8 mg.kg ⁻¹ reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine etkisi	64
Şekil 5.14. Fentolamin (5 mg.kg ⁻¹ <i>i.p.</i>) uygulamasının plantar testte 8 mg.kg ⁻¹ reboksetin ile indüklenen antihiperalezik yanıtlar üzerine etkisi	65
Şekil 5.15. Fentolamin (5 mg.kg ⁻¹ <i>i.p.</i>) uygulamasının ılık plaka testinde 8 mg.kg ⁻¹ reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine etkisi	66
Şekil 5.16. Propranolol (5 mg.kg ⁻¹ <i>i.p.</i>) uygulamasının Randall-Selitto testinde 8 mg.kg ⁻¹ reboksetin ile indüklenen antihiperalezik yanıtlar üzerine etkisi	67
Şekil 5.17. Propranolol (5 mg.kg ⁻¹ <i>i.p.</i>) uygulamasının dinamik plantar testinde 8 mg.kg ⁻¹ reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine etkisi	68
Şekil 5.18. Propranolol (5 mg.kg ⁻¹ <i>i.p.</i>) uygulamasının plantar testte 8 mg.kg ⁻¹ reboksetin ile indüklenen antihiperalezik yanıtlar üzerine etkisi	69
Şekil 5.19. Propranolol (5 mg.kg ⁻¹ <i>i.p.</i>) uygulamasının ılık plaka testinde 8 mg.kg ⁻¹ reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine etkisi	70

Şekil 5.20. Metoprolol ($15 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ i.p.}$) uygulamasının Randall-Selitto testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antihiperaljezik yanıtlar üzerine etkisi	71
Şekil 5.21. Metoprolol ($15 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ i.p.}$) uygulamasının dinamik plantar testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine etkisi	72
Şekil 5.22. Metoprolol ($15 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ i.p.}$) uygulamasının plantar testte 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antihiperaljezik yanıtlar üzerine etkisi	72
Şekil 5.23. Metoprolol ($15 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ i.p.}$) uygulamasının ılık plaka testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine etkisi	73
Şekil 5.24. ICI 118,551 ($1 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ i.p.}$) uygulamasının Randall-Selitto testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antihiperaljezik yanıtlar üzerine etkisi	74
Şekil 5.25. ICI 118,551 ($1 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ i.p.}$) uygulamasının dinamik plantar testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine etkisi	75
Şekil 5.26. ICI 118,551 ($1 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ i.p.}$) uygulamasının plantar testte 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antihiperaljezik yanıtlar üzerine etkisi	76
Şekil 5.27. ICI 118,551 ($1 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ i.p.}$) uygulamasının ılık plaka testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine etkisi	77

Şekil 5.28.	SR 59230A (7,5 mg.kg ⁻¹ <i>i.p.</i>) uygulamasının Randall-Selitto testinde 8 mg.kg ⁻¹ reboksetin ile indüklenen antihiperaljezik yanıtlar üzerine etkisi	78
Şekil 5.29.	SR 59230A (7,5 mg.kg ⁻¹ <i>i.p.</i>) uygulamasının dinamik plantar testinde 8 mg.kg ⁻¹ reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine etkisi	79
Şekil 5.30.	SR 59230A (7,5 mg.kg ⁻¹ <i>i.p.</i>) uygulamasının plantar testte 8 mg.kg ⁻¹ reboksetin ile indüklenen antihiperaljezik yanıtlar üzerine etkisi	79
Şekil 5.31.	SR 59230A (7,5 mg.kg ⁻¹ <i>i.p.</i>) uygulamasının ılık plaka testinde 8 mg.kg ⁻¹ reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine etkisi	80
Şekil 5.32.	SCH 23390 (0,5 mg.kg ⁻¹ <i>i.p.</i>) uygulamasının Randall-Selitto testinde 8 mg.kg ⁻¹ reboksetin ile indüklenen antihiperaljezik yanıtlar üzerine etkisi	84
Şekil 5.33.	SCH 23390 (0,5 mg.kg ⁻¹ <i>i.p.</i>) uygulamasının dinamik plantar testinde 8 mg.kg ⁻¹ reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine etkisi	85
Şekil 5.34.	SCH 23390 (0,5 mg.kg ⁻¹ <i>i.p.</i>) uygulamasının plantar testte 8 mg.kg ⁻¹ reboksetin ile indüklenen antihiperaljezik yanıtlar üzerine etkisi	86
Şekil 5.35.	SCH 23390 (0,5 mg.kg ⁻¹ <i>i.p.</i>) uygulamasının ılık plaka testinde 8 mg.kg ⁻¹ reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine etkisi	86

Şekil 5.36.	Sülprid (30 mg.kg ⁻¹ <i>i.p.</i>) uygulamasının Randall-Selitto testinde 8 mg.kg ⁻¹ reboksetin ile indüklenen antihiperaljezik yanıtlar üzerine etkisi	87
Şekil 5.37.	Sülprid (30 mg.kg ⁻¹ <i>i.p.</i>) uygulamasının dinamik plantar testinde 8 mg.kg ⁻¹ reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine etkisi	88
Şekil 5.38.	Sülprid (30 mg.kg ⁻¹ <i>i.p.</i>) uygulamasının plantar testte 8 mg.kg ⁻¹ reboksetin ile indüklenen antihiperaljezik yanıtlar üzerine etkisi	89
Şekil 5.39.	Sülprid (30 mg.kg ⁻¹ <i>i.p.</i>) uygulamasının ılık plaka testinde 8 mg.kg ⁻¹ reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine etkisi	90
Şekil 5.40.	Atropin (5 mg.kg ⁻¹ <i>i.p.</i>) uygulamasının Randall-Selitto testinde 8 mg.kg ⁻¹ reboksetin ile indüklenen antihiperaljezik yanıtlar üzerine etkisi	93
Şekil 5.41.	Atropin (5 mg.kg ⁻¹ <i>i.p.</i>) uygulamasının dinamik plantar testinde 8 mg.kg ⁻¹ reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine etkisi	93
Şekil 5.42.	Atropin (5 mg.kg ⁻¹ <i>i.p.</i>) uygulamasının plantar testte 8 mg.kg ⁻¹ reboksetin ile indüklenen antihiperaljezik yanıtlar üzerine etkisi	94
Şekil 5.43.	Atropin (5 mg.kg ⁻¹ <i>i.p.</i>) uygulamasının ılık plaka testinde 8 mg.kg ⁻¹ reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine etkisi	95
Şekil 5.44.	Naltrindol (3 mg.kg ⁻¹ <i>i.p.</i>) uygulamasının Randall-Selitto testinde 8 mg.kg ⁻¹ reboksetin ile indüklenen antihiperaljezik yanıtlar üzerine etkisi	96

Şekil 5.45. Naltrindol ($3 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ i.p.}$) uygulamasının dinamik plantar testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine etkisi	97
Şekil 5.46. Naltrindol ($3 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ i.p.}$) uygulamasının plantar testte 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antihiperalezik yanıtlar üzerine etkisi	98
Şekil 5.47. Naltrindol ($3 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ i.p.}$) uygulamasının ılık plaka testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine etkisi	99
Şekil 5.48. SF uygulanan sağlıklı sıçanların (Kontrol) (A) ve SF uygulanan diyabetik sıçanların (DM) (B) , 8 mg.kg^{-1} reboksetin uygulanan diyabetik sıçanların (REB 8+DM) (C) L3-L5 seviyelerine denk gelen DRG'lerinin toluidin mavisi ile boyanmış transvers kesitlerine ait temsili görüntüleri	102
Şekil 5.49. SF uygulanan sağlıklı sıçanların (Kontrol) ve SF uygulanan diyabetik sıçanların (DM), 8 mg.kg^{-1} reboksetin uygulanan diyabetik sıçanların (REB 8+DM) DRG nöronlarının soma alanlarına ait histogram	103

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ANOVA	: Analysis of Variance (Varyans Analizi)
DRG	: Dorsal kök gangliyonu
DM	: <i>Diabetes mellitus</i>
EFNS	: Avrupa Nöroloji Dernekleri Federasyonu (The European Federation of Neurological Societies)
FDA	: Gıda ve İlaç İdaresi (Food and Drug Administration)
<i>i.p.</i>	: İntraperitoneal
<i>i.v.</i>	: İntravenöz
MAO	: Monoamin oksidaz
NF- κ B	: Nükleer faktör kappa b
NMDA	: N-metil-D-aspartat
PAG	: Periaquaduktal gri bölge
PBS	: Fosfat tamponlu salin solüsyonu (Phosphate-buffered saline)
<i>p.o.</i>	: Per oral
PSS	: Periferik sinir sistemi
ROS	: Reaktif oksijen türevleri (Reactive oxygen species)
SF	: Serum fizyolojik
SNRI	: Serotonin noradrenalin geri alım inhibitörü
sNRI	: Selektif noradrenalin geri alım inhibitörü

SSRI	: Selektif serotonin geri alım inhibitörü
SSS	: Santral sinir sistemi
STZ	: Streptozotosin
TNF- α	: Tümör nekroz faktör- α
TSA	: Trisiklik antidepresan

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Diyabetik nöropati, yalnızca diyabet zemininde gelişen, sinir sisteminin duyuşal, somatik ve otonom komponentlerini etkileyen patofizyolojisi oldukça karmaşık bir sendromdur (Bansal vd., 2006; Freeman, 2013; Vinik ve Casellini, 2013; Singh vd., 2014). *Diabetes mellitus* (DM)'un en sık rastlanan kronik komplikasyonları arasında olan diyabetik nöropati, diyabetik popölasyonda morbidite ve mortalite artışının başlıca nedenlerinden biridir (Barrett vd., 2007).

Sinir sisteminin tüm komponentlerini etkileyen bir komplikasyon olan diyabetik nöropatinin en önemli sonuçlarından biri nöropatik ağrıdır. Diyabete bağılı olarak A δ - ve C-tipi ince liflerde oluşan hasarlar hiperaljezi, allodini, dizestezi, hiperestezi ve his kaybı gibi semptomlara neden olabilirken; A α ve A β kalın liflerinde meydana gelen hasarlar da vibrasyon, lokasyon duyularında ve tendon reflekslerinde azalmaya; ataksi ve kas güçsüzlüğü gibi bulgulara yol açabilmektedir (Tan, 2009). Hastalığın başlangıcında görülen hiperaljezi ve allodini gibi duyuşal bozukluklar, ilerleyen evrelerde, özellikle glisemik kontrolü zayıf hastalarda nöronal dejenerasyona, demiyelinizasyona ve aksonopatiye bağılı olarak ağrı sensitizasyonunda azalmaya neden olabilmektedir (Singh vd., 2014). Diyabetik hastalarda ortaya çıkan kronik ağrının neden olduğu uyku bozukluklarının ve depresyonun hastaların yaşam kalitelerini önemli ölçüde düşürdüğü bilinmektedir (Anderson vd., 2001; Vileikyte vd., 2005).

Diyabete bağılı nöropatik değışikliklerin önlenmesi için yaşam tarzı değışiklikleri ve uygun ilaç tedavileri ile glisemik kontrolün sağlanması en geçerli yaklaşımdır (Pop-Busui vd., 2013; Ang vd., 2014). Diğeryandan, hastalar için son derece zorlayıcı olabilen kronik ağrının azaltılması/ortadan kaldırılması da tedavinin öncelikli hedeflerinden biridir. Klinikte ağrının semptomatik tedavisi için ilk seçim ilaçlar arasında pregabalin, gabapentin gibi antikonvülzanlar; amitriptilin, nortriptilin gibi trisiklik antidepresanlar (TSA); duloksetin ve venlafaksin gibi serotonin noradrenalin geri alım inhibitörü (SNRI) ilaçlardan yararlanılmaktadır. Diğeryandan opioidler (tramadol) ve topikal kapsaisin preparatları da zaman zaman tercih edilebilen seçenekler arasındadır (Cegielska-Perun vd., 2013). Söz konusu ilaçların hastaların ağrı kontrolünde yetersiz kalabilmesi, tolere edilmesi güç yan etkilere neden olabilmeleri ya da bazılarının etkilerine karşı tolerans gelişiyor olması ise klinikte nöropatik ağrı tedavisi için reçete edilen ilaçların kullanımını sınırlandıran bazı sorunlardır (Schreiber vd., 2015). Bu durum nöropatik ağrının

farmakoterapisi için yeni ilaçların keşfini ya da mevcut ilaçların söz konusu endikasyon için repozisyonunu gerekli kılmaktadır.

Reboksetin sinaptik aralıkta noradrenalin geri alımını güçlü ve selektif olarak inhibe eden bir ilaçtır (Preskorn, 2004; RxMediaPharma®, 2018). Majör depresyonun akut tedavisi ve başlangıç tedavisine yanıt vermiş hastalarda klinik iyileşmenin devamlılığının sağlanması için kullanılan reboksetin (RxMediaPharma®, 2018), ilk olarak 1997’de Birleşik Krallık’ta onay almıştır. 1997’den bu yana Avusturya, Danimarka, Finlandiya, Almanya, İrlanda, İtalya ve İsveç gibi birçok Avrupa ülkesinde kullanılmaktadır (Page, 2003; Preskorn, 2004). Reboksetin (Edronax®, Pfizer), ülkemizde ilk olarak 2005 yılında ruhsatlandırılmıştır (RxMediaPharma®, 2018). Diğer yandan, Amerika Birleşik Devletleri depresyon tedavisindeki efikasitesine dair yeterli kanıt olmaması gerekçesiyle reboksetin kullanımına onay vermemiştir (Page, 2003; Preskorn, 2004; Braithwaite, 2015).

Reboksetin’in bilinen tek endikasyonu majör depresyon olmak birlikte, literatürde bu ilacın akut ve kronik ağrı üzerine olumlu etkileri olabileceğine işaret eden çeşitli çalışmalara rastlamak mümkündür. Örneğin, sıcak plaka testinin uygulandığı farelerle gerçekleştirilen akut ağrı deneylerinde reboksetin’in nalokson, norbinaltorfimin ve naltrindol gibi opioid reseptör antagonistleri ile ortadan kalkan doza bağlı bir antinosiseptif etkinlik gösterdiği bildirilmiştir (Schreiber vd., 2009). Benzer şekilde, tibial sinir hasarı uygulanmış sıçanlarda, reboksetin’in günlük 20 µg dozda 2 hafta süre ile intratekal yolla uygulamasının, bu hayvanlarda gelişen spontan ağrı ve allodini yanıtlarını baskıladığı bildirilmiştir (Hughes vd., 2015). Bu prelinik bulguları destekleyen klinik çalışmalara da rastlamak mümkündür. Örneğin, reboksetin’in 2 x 2 mg dozda 5 gün uygulanmasının kapsaisin irritasyonuna bağlı ağrıyı tedavi etmekte etkili olduğu gösterilmiştir (Schüler vd., 2002). Benzer şekilde, reboksetin’in fibromiyaljinin ve kronik bel ağrılarının hafifletilmesinde de etkili olduğu ileri sürülmüştür (Krell vd., 2005). Diğer yandan, reboksetin’in monoamin geri alımını inhibe eden diğer ilaçlar ile birlikte kullanımının, bu ilaçların nöropatik ağrı üzerine terapötik etkinliklerini potansiyelize ettiğini ileri süren çalışmalar da mevcuttur (Pedersen vd., 2005; Leventhal vd., 2007).

Reboksetin’in analjezik etki potansiyeline işaret eden bu çalışmalara ek olarak, bu ilacın selektif bir noradrenalin geraiım inhibitörü olması nedeniyle, nöropatik ağrı üzerine TSA’lara ve SNRI’lara benzer bir etkinliğe sahip olabileceği de açıktır. Bu bilgilerden

hareketle, bu tez çalışmasında reboksetin'in diyabet ile indüklenen nöropatik ağrı üzerine etki potansiyelinin araştırılması hedeflenmiştir. Bu ilacın diyabetik sıçanlardaki antihiperalezik ve antiallodinik etkilerinin belirlenmesinin ardından, söz konusu etkilerin altında yatan mekanizmaları aydınlatmak üzere çeşitli farmakolojik ve morfometrik yaklaşımlardan yararlanılmıştır. Diyabetik denekler ile yapılan farmakolojik çalışmalarda, glisemi düzeylerindeki değişimin de ayrı bir önem arz etmesi nedeniyle, bu çalışmada reboksetin'in diyabetik hayvanların plazma glukoz düzeyleri üzerine olası etkileri de araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Ağrı

2.1.1. Ağrının tanımı

Uluslararası Ağrı Çalışmaları Birliği ağrıyı, “vücudun herhangi bir yerinden başlayan, organik bir nedene bağlı olan veya olmayan, kişinin geçmişteki deneyimleri ile ilgili, sensöriyel, emosyonel, hoş olmayan bir deneyim olarak tanımlamaktadır (Treede, 2018).

2.1.2. Ağrı çeşitleri

Ağrı süresine göre sınıflandırıldığında akut ve kronik ağrı olarak iki gruba ayrılır. Akut ağrı, doku hasarı gibi spesifik bir nedenden kaynaklanan, ani başlayan ve kısa süren, keskin ve şiddetli ağrı türüdür. Ağrı ile ağrıya sebep olan lezyon arasında yer, zaman ve şiddet açısından yakın ilişki bulunur. Yanık, kesik, kemik kırığı, cerrahi ve enfeksiyon gibi durumlarda hissedilen ağrı bu tip ağrıdır ve genellikle altta yatan neden tedavi edildiğinde ortadan kalkar. 3-6 aydan uzun süren; zaman ve şiddet bakımından devamlılık gösteren ağrı olarak tanımlanan kronik ağrının başlıca nedenleri ise inflamasyon, travma, AIDS, diyabet ve kanser gibi patolojik süreçlerdir. Ağrılı uyarının iletim yollarında bulunan multisinaptik bağlantılar nedeniyle kronik ağrının kaynağını lokalize etmek güçtür (Kelle, 2006). Kronik ağrı olgularında, ağrıya psikososyal ve davranışsal birtakım bozuklukların da eşlik edebildiği bilinmektedir (Aydın, 2002; Hall, 2013).

Ağrı nöroanatomik ve nörofizyolojik olarak ise; nosiseptif ağrı, nöropatik ağrı, deafferentasyon ağrısı, reaktif ağrı ve psikosomatik ağrı olarak sınıflandırılmaktadır. Nosiseptif ağrı, dokularda travma ya da inflamasyon gibi bir hasar nedeniyle ortaya çıkan, bu hasarlı bölgelerden salıverilen P maddesi, prostaglandinler gibi endojen maddelerin periferik nosiseptörleri aktive etmesiyle gelişen, somatik veya visseral kaynaklı olabilen, organizmayı korumaya yönelik fizyolojik bir yanıttır (Ay ve Evcik, 2007; Bebek ve Ertaş, 2007; Uyar ve Köken, 2017). Nöropatik ağrı ise sürekli nosiseptif uyaran yerine; sinir sisteminde inflamatuvar süreçler, iskemik durumlar, diyabet gibi periferik (periferik sinir sistemi (PSS)’nin etkilendiği periferik nöropatik ağrı) ya da santral (omurilik ve beyin gibi merkezi yapıların etkilendiği santral nöropatik ağrı) nedenlerden köken alabilen bir fonksiyon bozukluğu ve algının anormal işlenmesi söz konusudur (Yücel ve Çimen, 2005; Bebek ve Ertaş, 2007; Uyar ve Köken, 2017).

Diğer ağrı çeşitlerinden deafferantasyon ağrısı; sinir sisteminin santral ve periferik komponentlerindeki oluşan hasarlar sonucu, santral sinir sistemi (SSS)'ne giden somatosensöriyel uyarı iletiminin kesilmesiyle meydana gelen ağrıdır. Reaktif ağrı, birtakım olaylara karşı vücudun bir reaksiyonu olarak nosiseptörlerin, motor veya sempatik afferentlerin refleks aktivasyonları yoluyla uyarılması sonucu gerçekleşen ağrı çeşididir. Psikosomatik ağrı ise organik bir neden olmaksızın gelişen; çoğunlukla bel, sırt, omuz bölgelerinde hissedilen ve özellikle anksiyete ve depresyon gibi duygudurum bozukluklarına bağlı olarak ortaya çıkan ağrıdır (Aydın, 2002).

2.1.3. Ağrının iletimi ve algılanması

Nosisepsiyon, doku hasarı oluşumu ile ağrının hissedilmesi arasında gerçekleşen elektrokimyasal olaylar bütünüdür (Uyar ve Köken, 2017). Periferdeki ağrılı uyarım noktasından, ağrı oluşum farkındalığının meydana geldiği serebral korteks de dâhil olmak üzere, SSS'deki üst merkezlere kadar uzanan yol boyunca, ağrı sinyalinin kodlanması ve iletilmesi sürecini içerir (Renn ve Dorsey, 2005).

Ağrılı impulsalar, üst merkezlere taşınırken dört aşamalı bir yol izler. Ağrı prosesi duyuşal sinir hücrelerinin periferik uçlarındaki nosiseptörlerin mekanik (dokunma veya basınç), termal (sıcak veya soğuk) veya kimyasal (endojen veya eksojen) noksiyöz uyarılar tarafından aktive edilmesi ile başlar (Renn ve Dorsey, 2005; Kalynovska, 2012). Mekanik, termal veya kimyasal stimulusların sinirlerin sensöriyel uçlarında elektriksel aktiviteye dönüştürülmesi işlemi olarak tanımlanan **transdüksiyon** ağrı iletiminin ilk adımıdır. Periferik sinir uçları uyarıldığında, birtakım nöroaktif maddeler salıverilir. Söz konusu nöroaktif maddeler arasında nosiseptörleri aktive eden bradikinin ve histamin; sensitizasyona yol açan P maddesi, prostaglandin ve lökotrienler ve hem aktivasyon hem de sensitizasyonda rol oynayan tümör nekroz faktör- α (TNF- α) ve interlökinler gibi maddeler bulunmaktadır (Aydın, 2002; Çağlar Toprak, 2006; Koç, 2008).

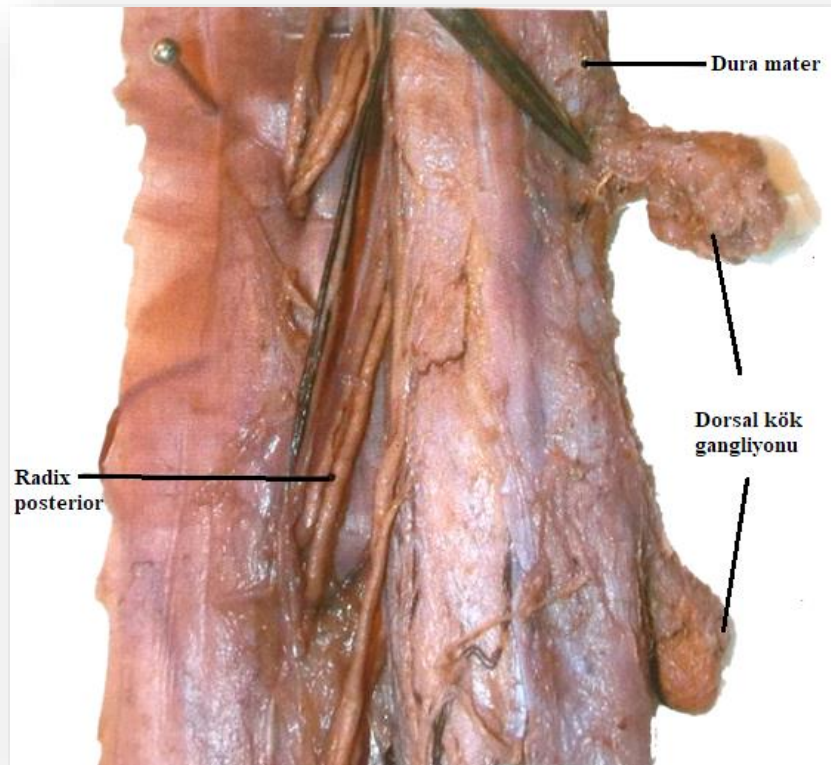
İmpulsaların sensöriyel sinir sistemi boyunca yayılımına ise **transmisyon** adı verilir. Transmisyon, primer sensöriyel afferent nöronların elektriksel aktiviteyi omuriliğe iletmeleri; uyarının omurilikte çıkıcı ileti sistemi ile beyin sapı ve talamusa iletilmesi ve talamokortikal projeksiyon aşamalarını kapsar. Transmisyondan sorumlu sinir lifleri arasında; akut/keskin ağrıdan sorumlu olan ve termal ve mekanik stimuluslarla uyarılan A δ [2-6 μ m çapında, miyelinli ve orta hızda (12-30 m.sn⁻¹ hızında)]; polimodal özellik

gösteren ve zonklayıcı ağrıya neden olan C [0,4-1,2 μm çapında, miyelinsiz ve yavaş ileten (0,5-2,0 m.sn^{-1})] ve taktil A β [çapı 10 μm 'den büyük, miyelinli ve hızlı (30-100 m.sn^{-1})] lifleri bulunur (Millan, 1999; Erdine, 2002; Basbaum vd., 2009).

Nosiseptif transmisyonun nöral etkenlerle modifiye olmasına **modülasyon** adı verilir. Ağrı uyarısının algılandığı son aşama olan **persepsiyon** ise supraspinal düzeye ulaşmış nosiseptif impulsların serebral kortekste yorumlanması ve ağrı duyusunun algılanması olayıdır (Aydın, 2002; Kumar vd., 2014).

2.1.3.1. Dorsal kök ganglion hücreleri

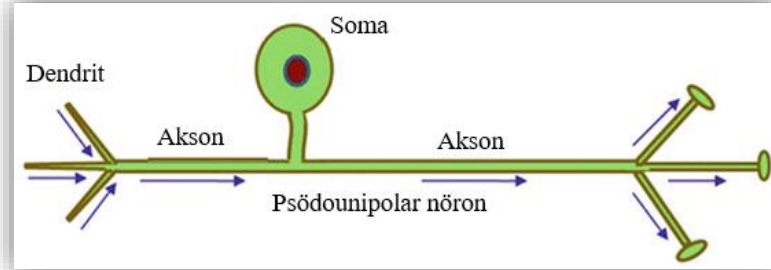
Periferden SSS'ye duyuşal bilgiyi taşıyan nöronların hücre gövdeleri, dorsal kök gangliyon (DRG)'larında yer almaktadır (**Şekil 2.1.**) (Kalynovska, 2012; Sapunar vd., 2012).



Şekil 2.1. Dorsal kök gangliyonu (Erzurumlu vd., 2019)

DRG, glial hücreler ve duyuşal hücre aksonları ile çevrili nöronal hücre gövdesi topluluğundan meydana gelir. Bir kolu omuriliğe, bir kolu periferiye uzanan distal ve proksimal iki dallanma meydana getiren tek bir aksona sahip olduğundan DRG nöronları

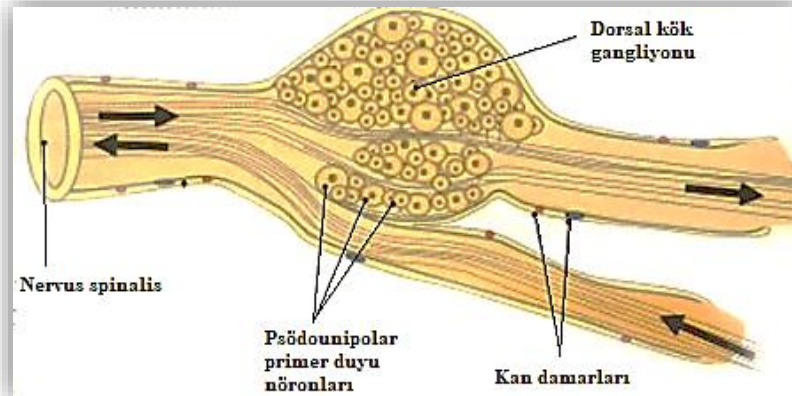
psödounipolar nöronlar (Şekil 2.2.) olarak sınıflandırılırlar (Krames, 2014). Periferik dallar uyarıları vücuttan spinal gangliyon hücrelerine, merkezi dallar spinal gangliyon hücrelerinden omuriliğe taşır (Erzurumlu vd., 2019).



Şekil 2.2. Psödounipolar nöron (Popescu ve Opris, 2017)

DRG’de yer alan nöronlar, sinir yaralanması veya inflamasyonu sonrası ortaya çıkabilen nöronal eksitabilite artışı ve ektopik deşarj oluşumları aracılığıyla, nosiseptif sinyallemede önemli rol oynamaktadırlar (Sapunar vd., 2012).

Hücre gövdesi DRG’de yer alan bir primer duyuşal nöron; stimulus tarafından uyarılan periferik reseptif alandan başlangıç alır; omuriliğin dorsal boynuzuna ve ardından talamus ve beyin ilişkili bölgelerine ulaşacak şekilde uzanır. Bu nöronların aksonal uzantıları gövdeden beraber çıkar; daha sonra "T" harfi şeklindeki yapısal bir kavşaktan zıt yönlere doğru ayrılırlar (Şekil 2.3.). Bu T bölgesi, periferden gelen elektriksel sinyalin dorsal boynuza ulaşması sırasında bu sinyalin yayılımına yardımcı olabildiği gibi; aksiyon potansiyeli iletimi için bir bariyer ya da şiddetini azaltıcı bir filtre görevi yapabilir (Gemes vd., 2013; Krames, 2014).



Şekil 2.3. Dorsal kök gangliyonu şematik gösterimi (Erzurumlu vd., 2019)

2.1.3.2. Spinal dorsal boynuz

Nosiseptif sinyal iletimi ve düzenlenmesinde ve ağrı modülasyonunda rol oynayan başlıca bölge olan omurilik dorsal boynuzunda, birinci sıra duyusal nöronlar ile ikinci sıra nöronlar sinaps yapmaktadır (Renn ve Dorsey, 2005; Çağlar Toprak, 2006).

Omuriliğin enine kesiti incelendiğinde, ortada kelebek şeklinde gri cevher yer alır. Bu kısım, miyenlinsiz sinir lifleri ve nöronların hücre gövdelerini içerirken; çevresini saran beyaz cevher miyelinli sinir liflerinden meydana gelir. Spinal gri cevherde iki dorsal, iki ventral boynuz yer alır. Dorsal boynuzlar temel olarak duyusal veriyi almak ve iletmekle; ventral boynuzlar ise motor verileri periferik yöne göndermekle sorumludur (Renn ve Dorsey, 2005).

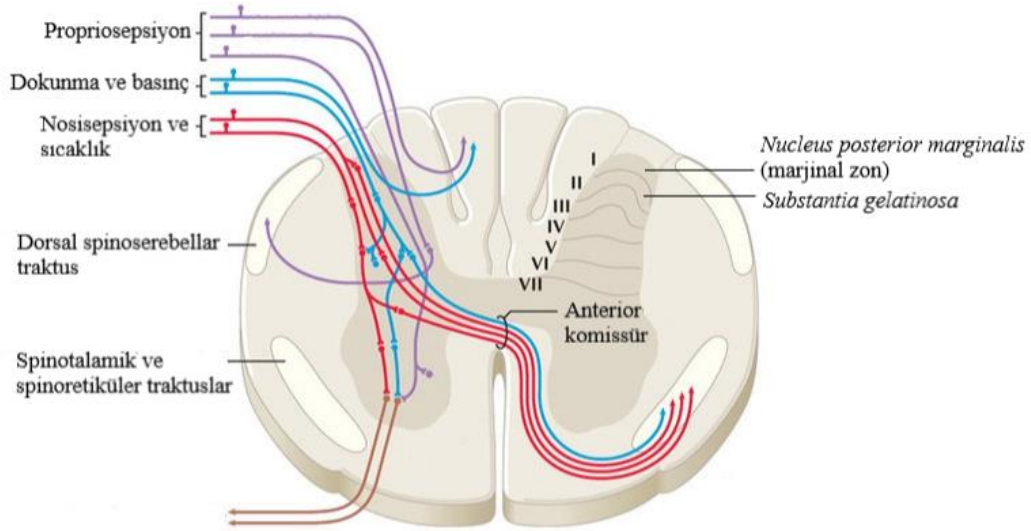
Omurilik gri cevheri, lamina X omurilik merkezi kanalını çevrelemek üzere, dorsaldan ventrale doğru I'den IX'a kadar numaralandırılmış laminalardan oluşmaktadır (**Şekil 2.4.**). Rexed tarafından tanımlanmış olan laminalardan; Lamina I-VI dorsal boynuzu, Lamina VII-IX ise ventral boynuzu meydana getirmektedir. Ağrı prosesi ağırlıklı olarak I, II ve V. laminalarda meydana gelir.

Hücrelerinin büyük çoğunluğu ağırlı ve termal uyarılara yanıt veren en dıştaki tabaka olan Lamina I (*nucleus posteromarginalis*), marjinal zon olarak isimlendirilir, miyelinli liflerin yer almaması nedeniyle transparan görünen Lamina II ise *substantia gelatinosa* olarak adlandırılmaktadır. Lamina I ve II birlikte dorsal boynuzun yüzeyel kısmını oluştururlar; burası Aδ ve C primer afferent liflerinin sonlanma yeridir (Erzurumlu vd., 2019).

Lamina III ve IV'e birlikte *nucleus proprius* adı verilir. Ciltten Aβ ve Aδ lifleri ile gelen uyarıları alan Lamina III'te bulunan nöronlar hafif ve şiddetli dokunma duyusu uyarılarına yanıt verirler. Lamina I-III'e göre daha kalın olan Lamina IV'teki nöronlar ise hafif mekanik uyarılara yanıt verir. Bu laminada yer alan nöronlar, ağrı oluşturmeyen uyarıları taşıyan, lokalize cilt alanlarından gelen, kalın afferent liflerin impulslarını almaktadır (Çağlar Toprak, 2006; Koç, 2008; Erzurumlu vd., 2019).

Lamina V birçok kaynaktan (hem nosiseptör, hem mekanoseptörlerden) gelen uyarıyı, Lamina VI ise genellikle propioseptif uyarıları almaktadır. Lamina VII ve IX nöronları, çıkan yollara katılarak ağrı iletimine katkıda bulunurken; omurilik gri cevherinde *canalis centralis*'in etrafında bulunan Lamina X ise hücrelerinin yüksek şiddetteki uyarılara cevap vermesi bakımından Lamina I ve II ile benzerlik göstermektedir (Çağlar Toprak, 2006; Koç, 2008; Erzurumlu vd., 2019).

Aδ ve C lifleri ile iletilen uyarı, omurilikteki dorsal kökten dorsolateral gri bölgeye girince ikiye ayrılarak birkaç segment hareket ederek Lissauer Tractus’unda ilerler. Dorsal boynuz içine giren akson terminalleri, direkt veya indirekt (internöronlar aracılığı ile) olarak Lamina I ve II’deki ikinci sıra nöronlar ile sinaps yaparlar. Böylece nosiseptif mesajı eksitator aminoasit glutamat ya da P maddesi gibi çeşitli nöromediyatörlerin aracılığı ile ikinci sıra nörona iletirler. Bazı Aδ lif uzantıları ise Lamina V’e ulaşır.



Şekil 2.4. Omuriliğin dorsal boynuzundaki çeşitli duyuşal sonlanmaların şematik gösterimi (Biswas, 2015)

Dorsal boynuzda sinyalin alınmasının ardından, projeksiyon nöronları ile bu bilgi SSS’deki üst merkezlere taşınır (Aydın, 2002; Renn ve Dorsey, 2005). Eksitator aminoasitler ve nöropeptidler (glutamat, aspartat ve P maddesi vb.) çıkıcı projeksiyon nöronlarındaki ağrı sinyallerini kolaylaştırır ve çoğaltabilirken; inisi yolaklarda yer alan endojen inhibitör nöromediyatörler (endojen opioidler, serotonin, noradrenalin, GABA vs.), nosiseptif cevabı azaltarak ağrının modülasyonunda rol oynarlar (Kumar vd., 2014).

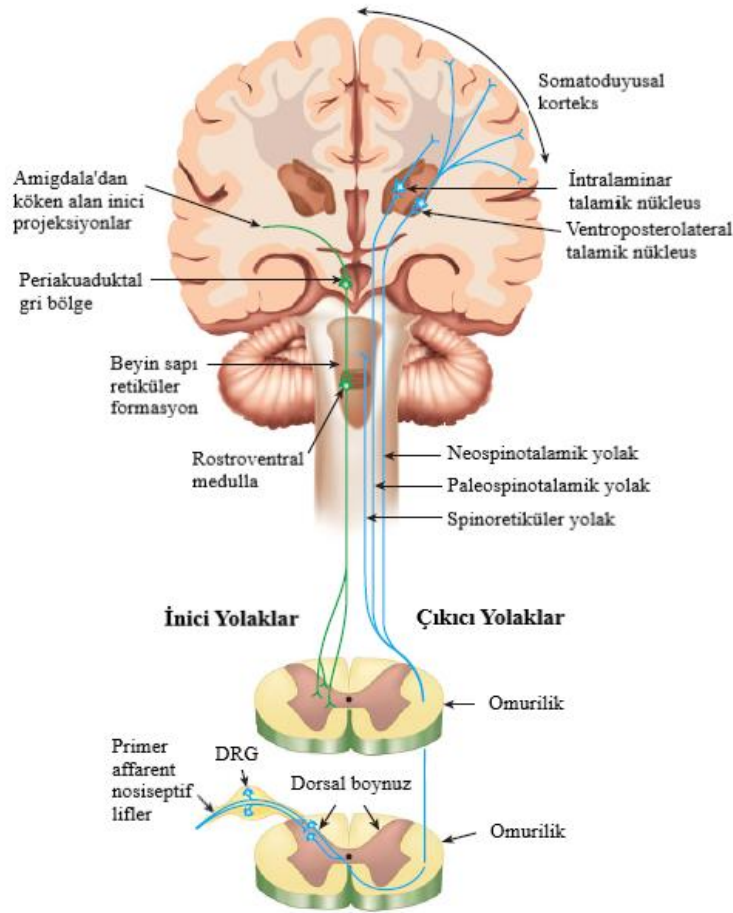
2.1.3.3. Nosiseptif çıkıcı sistemler

Ağrı sinyalleri, omuriliğe girişte iki ana çıkıcı yolak ile iletilirler (Şekil 2.5.):

Neospinoşalamik yolak

Neospinoşalamik yolak, ağrının iletimindeki en önemli yollardan biri olarak kabul edilmektedir. Ağrının yer, zaman ve şiddet gibi ayırt ettirici (diskriminatif) boyutları ile algılanmasını sağlar (Aydın, 2002; Hall, 2013; Kendroud ve Bhimji, 2018).

Bu çıkıcı yolağın başlangıç noktası, Rexed Lamina 1'de yerleşmiş nosiseptif nöronlardır. Başlıca akut termal ağrı ve mekanik ağrıyı ileten hızlı tip Aδ lifleri, temel olarak omurilik dorsal boynuzundaki Lamina I'de sonlanarak, neospinotalamik yolun ikinci nöronlarını uyarır. Bu nöronlar, anterior komissürden omuriliğin karşı tarafına çapraz yapan uzun lifler verir ve anterolateral çıkıcı sistem içerisinde beyne doğru ilerlerler. Bu yolağa ait liflerin bir kısmı, beyin sapının retiküler bölgelerinde sonlanırken; çoğu lif talamusa kadar kesintisiz ilerler ve dorsal kolon lemniskal yol ile birlikte ventrobazal komplekste sonlanır. Bir kısım lif ise talamus posteriyor nukleus gruplarında sonlanır. Bu talamik bölgelerden çıkan impulslar, somatik duyuşal kortekse ve beyin diğer bazal bölgelerine iletilir (Hall, 2013).



Şekil 2.5. Nosiseptif yollar (Nestler vd., 2009)

Paleospinotalamik yolak

Bu yolakta, ağrı çoğunlukla periferik yavaş-kronik tip C lifleri (bazı durumlarda Aδ lifleri) ile iletilir. Periferik liflerin neredeyse tümü dorsal boynuzdaki Lamina II ve III'te

sonlanmaktadır. Sinyaller, daha sonra Lamina V'e girmeden önce ilave bir ya da çok sayıda kısa lifli nöronlardan geçerler. Dizinin son nöronu, anteryor komissür ile önceden omuriliğin karşı tarafına geçerek çapraz yapan ve anterolateral yol içinde beyne giden hızlı yolun lifleri ile birleşecek uzun aksonlar verir (Ocak, 2014).

Paleospinotalamik yolakta, liflerin bir kısmı talamusa giderken; diğerleri üç farklı bölgede sonlanma gerçekleştirir:

1. Medulla oblongata, pons ve mezensefalonun retiküler çekirdekleri
2. Mezensefalonun inferiyor ve superiyor kolliküllerinin derininde bulunan tektal alanlar
3. Sylvius kanalının çevresinde, periakvaduktal gri bölge (PAG).

Beyin sapında yer alan ağrı bölgelerinden kaynaklanan kısa lifli nöronlar tarafından ağrı impulsları, talamusun ventrolateral ve intralaminar çekirdeklerine, bazı hipotalamus bölgelerine ve diğer bazal beyin bölgelerine taşınır (Aydın, 2002; Hall, 2013).

Bu yolak, ağrının duygudurumda yaptığı değişikliğin anatomik temelini oluşturur; ağrı reaksiyonunun afektif ve otonomik komponentleri eşliğinde oluşmasında rol oynar (Çağlar Toprak, 2006; Eşkazan ve Kayaalp, 2012; Kendroud ve Bhimji, 2018).

Özetle, çıkıcı sistemler aracılığıyla ağırlı uyaran beyin sapı ve talamusa iletildiğinde; somatoduyusal korteks, retiküler formasyon ve limbik sistem gibi çeşitli beyin bölgeleri aktive olmakta ve böylece “yanıt” ortaya çıkmaktadır. Bu bölgelerden retiküler sistem, ağrıya verilen otonomik ve motor yanıtlardan; somatoduyusal korteks persepsiyon ve duyuların yorumlanmasından, limbik sistem ise duygusal ve davranışsal yanıtlardan sorumludur (Kumar vd., 2014).

2.1.3.4. Antinosisseptif inisi sistemler

Supraspinal merkezlerden omuriliğin dorsal boynuzuna inen ve orada *substantia gelatinosa*'da birinci sıra nöronların akson ucu ile ikinci sıra nöronların arasındaki sinapslardaki aşırımı presinaptik ve postsinaptik etkileriyle baskılayan inisi yolakların aktivasyonuna bağlı olarak analjezi meydana gelir. Bu inisi yolaklar, *substantia gelatinosa*'daki sinaptik etkilerini doğrudan (salıverdikleri serotonin ve noradrenalin gibi nöromediyatörlerle) ya da dolaylı (kısa aksonlu enkefalinerjik ara nöronları aktive ederek) şekilde gerçekleştirebilir (Eşkazan ve Kayaalp, 2012).

Bu inisi yolaklar şu şekilde özetlenebilir:

1. PAG'daki nöronlardan başlayan ve *medulla oblongata* retiküler formasyonundaki *nucleus raphe magnus*'ta sinaps yapan yolak
2. Pons ve *medulla oblongata*'da retiküler formasyonun mediyal kısmındaki *nucleus reticularis gigantocellularis* ve *nucleus reticularis paragigantocellularis*'ten başlayan ikinci yolak
3. İnici bir noradrenerjik yolak ile *locus coeruleus*'un modülasyonu (Eşkazan ve Kayaalp, 2012).

Mezensefalon ve üst ponsta, Sylvius kanalını çevreleyen PAG ve periventriküler bölgelerden çıkan nöronlar, sinyallerini *raphe magnus* çekirdeği ve *nucleus reticularis paragigantocellularis*'e göndermektedir. Sekonder nöronları oluşturan bu çekirdeklerden çıkan sinyaller omuriliğin dorsolateral kolonu doğrultusunda inerek, dorsal boynuzda bulunan bir ağrı baskılama kompleksine ulaşır. Ağrılı impuls bu seviyede beyne iletilmeden baskılanabilir. Diğer yandan hipotalamusta bulunan üçüncü ventriküle yakın periventriküler çekirdek ve medyal önbeyin gibi üst beyin bölgelerinin PAG'ı uyarması ile de ağrı baskılanabilmektedir (Hall, 2013).

Antinosiseptif etkinin gerçekleşmesi sırasında enkefalin ve serotonin gibi bazı endojen maddeler rol oynamaktadır. Periventriküler çekirdekler ve PAG'dan köken alan ve *raphe magnus* çekirdeğinde sonlanan liflerin çoğundan enkefalin salıverilir. *Raphe magnus* çekirdeğinden çıkarak omuriliğin dorsal boynuzlarında sonlanan liflerden salıverilen serotonin, lokal omurilik nöronlarının enkefalin salıvermesine sebep olur. Enkefalinin ise omuriliğin dorsal boynuzunda Aδ ve C-tipi sinir liflerinin sinaps yaptıkları yerde presinaptik ya da postsinaptik inhibisyona yol açtığı düşünülmektedir (Hall, 2013).

Locus coeruleus, ponsta dördüncü serebral ventrikülün sınırında yerleşmiş; noradrenerjik nöronlardan oluşan bilateral bir yapıdır. *Locus coeruleus* ve yakınlarındaki A7 hücre grubundan yapılan bilateral projeksiyonlar, antinosiseptif etkiyi ortaya koyacakları kontralateral spinal dorsal boynuz laminaları I, II ve V'e inmektedir. Pontin noradrenerjik hücre gruplarının intrinsik antinosiseptif etkilerine ek olarak; bu hücreler, *rostral ventromedial medulla* ve PAG'dan nöronal projeksiyonlar alır ve bu bölgeler ile spinal dorsal boynuz arasındaki modülatör etkide rol oynar (Renn ve Dorsey, 2005).

2.2. Nöropatik Ağrı

2.2.1. Nöropatik ağrının tanımı

Nöropatik ağrı SSS veya PSS’de ya da her ikisinde birden, bir lezyon veya disfonksiyon sonucu ortaya çıkan; çeşitli duyusal belirti ve bulgulara yol açan, kompleks ve şiddetli bir ağrı sendromudur (Max, 2002; Berker, 2005; Bebek ve Ertaş, 2007). Uluslararası Ağrı Çalışmaları Birliği nöropatik ağrıyı “somatosensör sinir sisteminin bir lezyonu veya hastalığı ile meydana gelen ağrı” şeklinde tanımlanmıştır (Merskey ve Bogduk, 1994). Nöropatik ağrıya neden olan başlıca durumlar arasında cerrahi operasyonlar, SSS’nin multipl skleroz ve inme gibi hastalıkları ya da bu sistemde çeşitli travmalara bağlı olarak oluşan lezyonlar; vitamin eksiklikleri (tiyamin, niasin vb.); çeşitli ilaç (kemoterapötikler vb.) ve toksik maddelere (alkol, kurşun, talyum, arsenik vb.) maruziyet; bazı idiyopatik durumlar (tuzak nöropatiler, fibromiyalji), maligniteler (karsinoma, lenfoma), enfeksiyonlar (HIV enfeksiyonu, postherpetik nevralji vb.), metabolik bozukluklar (DM, hipotiroidizm, amiloidoz, üremi vb.) ve inflamatuvar hastalıklar (Guillain-Barré) sayılabilir (Zarifoglu, 2003; Yücel ve Çimen, 2005).

2.2.2. Nöropatik ağrının epidemiyolojisi

Kapsamlı epidemiyolojik çalışmaların eksikliği nedeniyle nöropatik ağrının prevalansı hala tam olarak bilinemese de, nöropatik ağrının genel popülasyonun % 7-8’ini etkilediği öne sürülmektedir. İleri yaşın ve yatkınlık oluşturan multiple skleroz, diyabet ve inme gibi hastalıkların varlığının bu sıklığın artışına neden olduğu bildirilmiştir (Colombo vd., 2006; Vadalouca vd., 2007; Cruccu ve Truini, 2017).

2.2.3. Nöropatik ağrının patogenezi

Nöropatik ağrının oluşumunda bazı santral ve periferik mekanizmalar rol oynamaktadır. Söz konusu santral mekanizmalar arasında santral sensitizasyon, spinal reorganizasyon, kortikal reorganizasyon ve disinhibisyon; periferik mekanizmalar arasında ise ektopik ve spontan deşarjlar, efaptik kondüksiyon, iyon kanalı ekspresyonlarında değişiklikler, primer afferent nöronların kollateral tomurcuklanması, sempatik nöronların DRG içerisine dallanması ve nosiseptör sensitizasyonu sayılabilir (Bridges vd., 2001; Gilron vd., 2006; Szczudlik vd., 2014).

2.2.4. Nöropatik ağrının semptomları

Nöropatik ağrı, hastalarda keskin, yanıcı, batıcı, vurucu ve zonklayıcı olabileceği ya da elektrik şokuna benzer semptomlarla ortaya çıkabileceği gibi; dokunma, vibrasyon ve sıcaklık algılamalarında kayıplar, uyuşma ve karıncalanma olarak da kendini gösterebilir (Bebek ve Ertaş, 2007). Spontan oluşabilir ya da sürekli hale gelebilir. Nöropatik ağrıda anormal duyum, anormal yayılım, yansıma, allodini ve hiperaljezi gibi klinik bulgular gözlenir ve sendromun çeşidine göre hissedilen ağrı derin, yüzeysel, kramp şeklinde ya da iğne batması tarzında olabilir (Berker, 2005). Nöropatik ağrıda gözlenen semptomların bazıları **Tablo 2.1.**'de tanımlanmıştır:

Tablo 2.1. Nöropatik ağrıda gözlenen bazı semptomlar ve tanımları (Merskey ve Bogduk, 1994)

Semptom	Tanımı
Hiperaljezi	: Ağrılı bir uyarana verilen artmış ağrı yanıtı.
Hipoaljezi	: Ağrılı bir uyarana verilen azalmış ağrı yanıtı.
Allodini	: Normalde ağrı oluşturmayacak bir uyarana verilen ağrı yanıtı.
Hipoestezi	: Özel duyumlar dışında bir uyarana karşısında gösterilen normale göre azalmış duyarlılık.
Hiperestezi	: Özel duyumlar dışında bir uyarana karşısında gösterilen normale göre artmış duyarlılık.
Parestezi	: Spontan ya da uyarılmış olarak ortaya çıkan anormal, ağrısız his.
Dizestezi	: Spontan ya da uyarılmış olarak ortaya çıkan anormal, hoş olmayan his.
Hiperpati	: Ağrılı uyarana karşı duyuşal eşik artışının söz konusu olduğu, özellikle tekrarlayıcı tarzda bir stimulusa verilen anormal, ağrılı bir reaksiyonla karakterize sendrom.

2.2.5. Nöropatik ağrının tanısı

Nöropatik ağrı sendromlarının tanısında öncelikli ve en önemli koşul, uyarana karşı oluşan yanıtlarda sinir sistemi hasarı ya da disfonksiyonuna bağlı olarak meydana gelen azalma ya da artma durumuna göre negatif ya da pozitif olarak tanımlanan semptomların saptanmasıdır (Zarifoğlu, 2003). Pozitif fenomenler organizmanın uyarana verdiği cevaptaki artış sonucu ve negatif fenomenler ise organizmanın uyarana verdiği cevaptaki azalma sonucu oluşan bulgulardır (Zarifoğlu, 2003).

Nöropatik ağrıya tanı koyarken ilk adım; ağrının lokasyonunu, niteliğini, şiddet ve süresini, yol açtığı fiziksel ve psikolojik etkileri belirlemektir (Yücel ve Çimen, 2005). Nöropatik ağrı teşhisinin konulabilmesi için hastanın ayrıntılı medikal öyküsünün alınmasının ardından, fiziksel (cilde hafif basınç, iğne batırma, sıcak ya da soğuk maddelerle temas gibi hasta başında uygulanan testler) ve nörolojik değerlendirmeleri; ayrıca kan tahlilleri ve serolojik testleri içeren laboratuvar tetkikleri gerçekleştirilmelidir. Manyetik rezonans görüntüleme ve elektrofizyolojik çalışmalar da tanı için

uygulanabilecek yöntemler arasındadır. Bazı durumlarda, sinir liflerini direkt olarak görüntülemek amacıyla sinir ya da cilt biyopsisi de gerekli olabilmektedir. Tedaviden elde edilecek fayda, öncelikli olarak uygun tanının konulmasına bağlıdır. Tanı koyarken hastanın anksiyete, depresyon, uyku problemleri gibi ağrıyı algılamasına etki eden durumlarının olup olmadığı da değerlendirilmelidir (Çelebi vd., 2007; Vadalouca vd., 2007).

2.2.6. Sık rastlanan nöropatik ağrı çeşitleri

Sık rastlanan nöropatik ağrı çeşitleri **Tablo 2.2**'de sıralanmıştır:

Tablo 2.2. Nöropatik ağrı çeşitleri (Dworkin vd., 2003)

Periferik nöropatik ağrı	Santral nöropatik ağrı
İnflamatuvar demiyelinizan poliradikülönöropati	Posttravmatik omurilik hasarı ağrısı
Torakal, servikal, lumbosakral radikülopatiler	DRG lezyonları
İyatrojenik nöraljiler	Spinal stenoz ile ilişkili kompresyon miyelopatisi
Alkole bağlı polinöropati	Postiskemik miyelopati
Ağrılı diyabetik nöropati	Siringomiyeli
Kemoterapi ile indüklenen polinöropati	Multipl skleroz ile ilişkili ağrı
Kompleks bölgesel ağrı sendromu	Parkinson hastalığı ile ilişkili ağrı
Tuzak nöropatiler	Postradyasyon miyelopatisi
Fantom ekstremitte ağrısı	Poststrok ağrısı
Tümörle meydana gelen sinir basısı	HIV miyelopatisi
Beslenme eksikliği ile ilişkili nöropatiler	
Toksik madde maruziyeti ile ilişkili nöropatiler	
İdiyopatik duyuşal nöropati	
HIV duyuşal nöropatisi	
Tik dolore (trigeminal nevralji)	
Postherpetik nevralji	
Postradyasyon pleksopatisi	

2.2.6.1 Diyabetik nöropati kaynaklı ağrı

Diyabetik nöropati, yalnızca diyabet zemininde gelişen, sinir sisteminin duyuşal, somatik ve otonom komponentlerini etkileyen patofizyolojisi oldukça karmaşık bir sendromdur. DM'nin en sık rastlanan kronik komplikasyonlarından biri olan nöropati,

klirik belirti vermeden önce uzun süre subklirik düzeyde kalabilmektedir (Terzi vd., 2004; Bansal vd., 2006; Freeman, 2013; Vinik ve Casellini, 2013; Singh vd., 2014). Diyabetin SSS’de neden olduğu yapısai ve işlevsel değişiklikler “diyabetik ensefalopati” olarak tanımlanır. PSS’nin diyabet kaynaklı hasarı ise “periferik nöropati” olarak bilinmektedir (Biessels vd., 2008). Duyusal, motor ve otonom sinirleri çok çeşitli şekillerde etkileyen diyabetik nöropati, diyabetik poplasyonda morbidite ve mortalite artışının başlıca nedenlerinden biridir (Barrett vd., 2007). Diyabetik nöropatinin yedi farklı tipi; distal simetrik polinöropati, otonomik nöropati, sinir kompresyon sendromları, proksimal asimetrik mononöropati (diyabetik amyotrofi), trunkal radikulopati, kraniyal mononöropati ve kronik inflamatuvar demiyelinizan poliradikulopati olarak sıralanabilir (Wheeler vd., 2007).

Uluslararası Diyabet Federasyonu, DM’nin günümüzde 425 milyondan fazla insanı etkilemekte olduğunu; bu sayının 2045’te 628 milyona ulaşabileceğini bildirmiştir (Iqbal vd., 2018). DM’ye bağlı en önemli komplikasyonlardan biri olan nöropatinin prevalansının da bu hastalıkla birlikte giderek artması beklenmektedir. DM’li hastaların ortalama olarak %50’sinde diyabetik periferik nöropati geliştiği bilinmektedir (Argoff vd., 2006). Diyabetik nöropatiye Tip 1 diyabet hastalarının %66’sında, Tip 2 diyabet hastalarının ise %49’unda rastlanmaktadır (Sadosky vd., 2008). Diyabetik nöropatinin prevalansı, gerçekleştirilen hastane taramalarında %30, toplum taramalarında ortalama %10-20 olarak bulunurken; sendromun yıllık insidansının ise %2 dolaylarında olduğu rapor edilmiştir (Tan, 2009). 2009 yılında yapılan bir araştırmada, ülkemizdeki erişkin diyabetik hastaların yaklaşık %16’sının nöropatik ağrıdan muzdarip olduğu bildirilmiştir (Tan, 2009). Yine lkemizde diyabet hastaları ile yapılan bir başka çalışmada diyabetik nöropati prevalansı % 40,4 olarak tespit edilmiş ve araştırmaya sinir ileti mi çalışmalarının dâhil edilmesi ile bu oranın % 62’ye çıktığı bildirilmiştir (Erbaş vd., 2011).

Diyabete uzun süreli maruziyet ve hastada yeterli glisemik kontrolün sağlanamaması diyabetik nöropati gelişiminde rol oynayan majör risk faktörleri olarak kabul edilmektedir. Diğer yandan nöropatinin şiddetinin hastada sigara kullanımı, obezite, hiperlipidemi, kardiyovasküler hastalık ve albüminüri gibi durumların varlığında arttığı bildirilmiştir (Tesfaye vd., 2005).

Diyabetik nöropatinin patofizyolojisinde metabolik, vasküler, nörotrofik, genetik ve immün faktörlerin rol oynadığı bilinmektedir (Cameron vd., 2001a; Değirmenci vd., 2011). Protein kinaz C aktivasyonu, ileri glikolizasyon ürünlerinde artış, nörotrofik

faktörlerde azalma, oksidatif stresin artması, santral ve periferik ağrı yollarındaki aşırı uyarılma sonucu aktive olan sodyum (Na^+) ve kalsiyum (Ca^{+2}) kanallarının fonksiyon ve ekspresyonlarındaki değişiklikleri içeren iyon kanalı modifikasyonları gibi çeşitli mekanizmaların diyabetik nöropatinin oluşum sürecinde rol oynadığı bilinmektedir (Edwards vd., 2008; Yagihashi vd., 2011; Albers, 2014; Charnogursky, 2014). Etiyopatogeneizde rol oynayan başlıca mekanizmalar aşağıda özetlenmiştir:

Poliol yolağı mekanizması

Kronik hiperglisemi sonucunda polioliol yolağının aktive olmasıyla hücre içerisinde aşırı sorbitol birikimi ortaya çıkar; miyoinozitol seviyesi düşer ve sonucunda Na^+/K^+ ATPaz aktivitesi azalır (Oyama vd., 2006; Albers, 2014; Singh vd., 2014). Artmış polioliol yolağı aktivasyonu sonucu meydana gelen NADPH deplesyonu; nitrik oksit ve glutatyon üretiminde azalmaya ve buna bağlı olarak vazodilatasyonda azalma, oksidatif strese artış ve endotelial hücre fonksiyonlarında bozulmalara yol açmaktadır (Yagihashi vd., 2001; Singh vd., 2014).

Protein kinaz C mekanizması

Hiperglisemi, protein kinaz C'nin aktive olmasına; bu durum da MAPK aktivasyonuna yol açarak gen ekspresyonunun değişmesine, stres genlerinin tetiklenerek ısı şok proteinleri vb. proteinlerin artmasına ve apoptozise yol açmaktadır. Protein kinaz C aktivasyonu ayrıca kan akımında değişiklik de meydana getirmektedir. Vasküler permeabiliteyi artırmakta ve anormal anjiyogeneze neden olmaktadır. Ayrıca endotel hücrelerinde, hiperglisemi nedeniyle nükleer faktör-kappa B (NF- $\text{K}\beta$) aktivasyonu artmakta ve bu da reaktif oksijen türevleri (ROS) oluşumunu artırmaktadır (Evcimen ve King, 2007; Srivastava, 2007).

Heksozamin yolağı mekanizması

N-asetil-D-glukozamin, bir fruktoz-6-fosfat substratıdır; transkripsiyon faktörüne bağlanma meydana getirerek gen ekspresyonlarında anormal modifikasyonlara yol açar. Oksidatif stresi artırarak pankreas β -hücrelerinin fonksiyonlarını bozar. Bu molekül, ayrıca plazminojen aktivatörü inhibitörü-1 (PAI-1)'in aşırı eksprese olmasına sebebiyet verir ve damar düz kas hücreleri mitozu uğrayarak ateroskleroz ortaya çıkarır (Brownlee, 2001).

İleri glikolizasyon ürünleri yolağı mekanizması

DM’de artan glikoliz olaylarına paralel olarak birtakım ileri glikolizasyon ürünleri ve oksidatif stres meydana gelmektedir (Vinik vd., 2013). İleri glikolizasyon ürünleri prekürsörleri; endotel hücreleri, makrofaj ve mikrogliyalarda kendine özgü reseptörlerine bağlanarak plazma proteinlerinde modifikasyona yol açar, ROS üretimini başlatır. Pro-inflamatuvar gen ekspresyonu sonucu interlökin, TNF- α , insülin benzeri büyüme faktörü-1 gibi sitokin ve büyüme faktörleri eksprese edilir. Endotel hücreleri tarafından prokoagülan ve pro-inflamatuvar maddeler ekspresyonu gerçekleştirilir. NF-K β aktive olur ve apoptoz tetiklenir (Toth vd., 2008).

Reaktif oksijen türevleri oluşum mekanizması

Tip 1 ve Tip 2 DM’de ROS artış göstermektedir. İleri glikolizasyon ürünleri, poliöl, protein kinaz C ve heksozamin yolakları; diyabetik nöropatide ROS üretimine sebebiyet vererek hücrelerin redoks kapasitelerine direkt olarak etki etmektedir. Glukozun otooksidasyonu sonucu ortaya çıkan oksidatif stres sonucu nöronal hasar ve mikrovasküler komplikasyonlar meydana gelmektedir (Johansen vd., 2005; Leininger vd., 2006). Diyabete bağlı distal polinöropatilerde, ince miyelinli ve miyelinsiz liflerde kayıp ve aksonal rejenerasyonda artış görülmekte; bu durum da anormal impulsların ve nöropatik ağrının oluşmasına neden olmaktadır. Ağrının eşlik etmediğı distal polinöropatilerde ise öncelikli olarak kalın lifler etkilenmekte, miyelinli lif kayıplarına akut aksonal dejenerasyon ve vaskülopati eşlik etmektedir (Terzi vd., 2004).

Diyabetik nöropatinin başlangıcında metabolik faktörler ön planda iken, diyabetin süresi uzadıkça vasküler-iskemik bozukluğun da devreye girdiğı rapor edilmiştir (Güner, 2005). Vasküler kalınlaşma, hiyalinizasyon ve oksijenasyonda azalma sonucu oluşan iskemik nöronal hasar ve buna ek olarak inflamasyon, nöropatinin ağırlaşmasına neden olan faktörlerdir (Charnogursky, 2014). İnsülin ve/veya insülinin katlanmasında rolü olan 31 aminoasitten oluşan bir protein olan C peptit eksikliğinin (Singh vd., 2014); kronik hiperglisemi kaynaklı nöronal dejenerasyonun ve aksonal disfonksiyonun ve ayrıca nitrik oksit yetersizliğine bağlı mikroanjiyopati ve mikrovasküler reaktivitenin nöropati tablosunu kötüleştirdiğı bilinmektedir (Smith ve Singleton, 2012).

Diyabet kaynaklı nöropatik ağrıda rol oynayan temel mekanizmalardan bazılarının nöropatiye bağlı olarak gama-aminobütirik asit (GABA), glisin gibi inhibitör nörotransmitterlerin düzeyinde azalma; eksitator glutamat seviyelerinde artış ve

serotonin, noradrenalin ve endojen opiyatların aracılık ettiği inisi antinosiseptif yollarının işlevlerindeki zayıflama olduğu rapor edilmiştir (Barbano vd., 2003).

Diyabet kaynaklı nöropatik ağrı yanma, karıncalanma, iğne batması, elektrik çarpması hisleri ile karakterizedir (Bansal vd., 2006). Diyabetik nöropatide; A  ve A  kalın liflerinde meydana gelen hasarlarda vibrasyon ve lokasyon duyularında, tendon reflekslerinde azalma; ataksi, kas güçsüzlüğü gibi semptomlar g  zenirken; A  ve C-tipi ince liflerde oluşan nöropatilerde hiperaljezi, allodini, dizestezi, hiperestezi, his kaybı semptomları ortaya çıkabilir. Kalın lif kaynaklı ağrı, ince liflere g  re daha şiddetli olabilmekle birlikte; aynı hastada farklı vücut bölgelerinde farklı derecelerde hissedilebilir (Tan, 2009). Diyabetik nöropatinin başlangıcında, duyuusal ve motor sinir ileti hızında azalma, hiperaljezi ve allodini gibi fonksiyonel bozukluklar g  r lmekte; ileri aşamalarda nöronal dejenerasyon, demiyelinizasyon, aksonopati ve ağrı sensitizasyonunda azalma meydana gelmektedir (Singh vd., 2014).

Diyabetik nöropatide orta derecede ya da şiddetli seyredebilen ağrı, genellikle geceleri k  t leşir ve uyku bozukluklarına neden olur. Hastalık negatif semptomlarla birliktelik g  sterebildiğinden ve aynı hastada hem ağrı hem de his kayıplarına neden olabildiğinden diyabetik nöropatide ağrılı semptomların prevalansını tahmin etmek g   t r (Boulton vd., 2004; Lee-Kubli vd., 2014). Diyabetik nöropatide hissedilen ağrı daimi olabilir ve ağrıya kutanöz allodini eşlik edebilir; bu da hastaların yaşam kalitesini önemli ölçüde etkileyerek g  nl k aktiviteleri gerçekleştirme yeteneklerini ve duyu-gudurumlarını olumsuz yönde etkiler (Quattrini ve Tesfaye, 2003; Gore vd., 2005). Uzun dönem hiperglisemi ve ağrı, hastalarda depresyona neden olabilir (Anderson vd., 2001; Vileikyte vd., 2005).

Diyabetik nöropatide öncelikli olarak hastanın ayrıntılı öyküsünün alınmasının ardından; ağrı, dokunma, vibrasyon gibi duyuların değerlendirildiği basit klinik testlerin uygulandığı g  rsel analog ölççekler aracılığıyla derecelendirilmektedir. Nöropatik ağrının değerlendirilmesi amacıyla oluşturulmuş Leeds Nöropatik Semptomları Değerlendirme Ağrı  l  eği (Leeds Assessment of Neuropathic Symptoms (LANSS) Pain Scale) (Bennett, 2001) ve Nöropatik Ağrı  l  eği (Galer ve Jensen, 1997) gibi  l  eklerin, diyabetik hastalarda ağrının teşhisi için klinikte kullanımları bulunmaktadır (Chong ve Hester, 2007).

Diyabetik nöropatide subklinik nöropatiye tanı koymak ve hastalık progresyonunu takip etmek amacıyla kullanılan, “motor ve duyuusal sinir ileti hızları  l    ” ve

“kantitatif duyuşal testler” gibi daha hassas testler de bulunmaktadır (Dyck vd., 2010; Lee-Kubli vd., 2014). Ayrıca cilt biyopsisi veya korneal konfokal mikroskopisi, ince sinir lifi hasarlarının görüntülenmesinde kullanılan oldukça duyarlı yöntemler arasındadır (Tavakoli vd., 2010).

Diyabet kaynaklı nöropatik ağrısı olduğu düşünölen hastalarda, nöropatik ağrı semptomlarını taklit edebilen ilaç ya da ağır metal kaynaklı nörotoksisite, osteoartrit, alkol ile ilişkili nöropati, post-herpetik nevralji, tiroid ve elektrolit dengesi bozuklukları, inflamatuvar ya da konjenital nedenler gibi durumların ayırıcı tanısının yapılması da ayrıca önem taşımaktadır (Votrubic ve Thong, 2013).

2.2.7. Nöropatik ağrının tedavisi

Kompleks ve multifaktöriyel bir sendrom olan nöropati kaynaklı ağrının tedavisi oldukça güçtür ve mevcut tedaviler ile ağrıda ancak %30-50 oranında bir iyileşme sağlanabilmektedir (Bebek ve Ertaş, 2007).

Nöropatik ağrısı olduğu düşünölen hasta ayrıntılı bir değerlendirmeden geçirildikten sonra, altta yatan sinir sistemi disfonksiyonunun düzeltilmesi ve ortaya çıkan semptomların kontrol altına alınması için birtakım tedavi stratejileri geliştirilir (Çelebi vd., 2007). Nöropatik ağrı kontrolünde tedavi seçenekleri farmakoterapi, girişimsel tedaviler, fizik tedavi ve rehabilitasyon uygulamaları ve kognitif ve davranışsal terapi olarak sınıflandırılabilir (Ay ve Evcik, 2007).

Nöropatik ağrının değerlendirilmesi ve tedavisi için; Uluslararası Ağrı Araştırmaları Derneği’nin Nöropatik Ağrı Uzman Komitesi (Neuropathic Pain Special Interest Group, NeuPSIG) (Dworkin vd., 2013), Avrupa Nöroloji Dernekleri Federasyonu (The European Federation of Neurological Societies, EFNS) (Attal vd., 2010), Birleşik Krallık’taki Ulusal Sağlık ve Klinik Mükemmellik Enstitüsü (the National Institute for Health and Care Excellence, NICE) (National Institute for Health and Care Excellence, 2013) ve Kanada Ağrı Derneği (the Canadian Pain Society, CPS) (Moulin vd., 2014)’nin de dâhil olduğu bir dizi profesyonel kuruluş tarafından klinik uygulama kılavuzları yayınlanmıştır. Bu kılavuzların tümünde birinci basamak tedavi için öne çıkan üç ilaç grubu vardır. Bunlar, amitriptilin başta olmak üzere TSA’lar; duloksetin, venlafaksin gibi SNRI’lar ve gabapentin ve pregabalin gibi antikonvülzanlardır. Nöropatik ağrının tedavisi için önerilen diğer ilaçlar arasında tramadol, güçlü opioidler, topikal kapsaisin ve topikal lidokain sayılabilir (Cruccu ve Truini, 2017). Söz konusu

kılavuzların nöropatik ağrı tedavisinde ilaç seçimine ilişkin önerileri **Tablo 2.3**'te sunulmuştur.

Medikal tedaviyi tolere edemeyen hastalar için, sinir hasar bölgesine steroid enjeksiyonu, nöromodülasyon, omurilik stimülasyonu, radyofrekans ve sempatik sinir blokajı gibi birtakım invazif teknikler de uygulanan yöntemler arasındadır (Tan, 2009).

Tablo 2.3. Nöropatik ağrıda ilaç tedavisi basamakları (EFNS: The European Federation of Neurological Societies, NICE: the National Institute for Health and Care Excellence, CPS: the Canadian Pain Society, NeuPSIG: Neuropathic Pain Special Interest Group) (Cruccu ve Truini, 2017)

	EFNS			NICE	CPS	NeuPSIG
	Diyabetik nöropati	Post-herpetik nevralji	Santral nöropatik ağrı	Tüm çeşitleri	Tüm çeşitleri	Tüm çeşitleri
Birinci sıra tedavi	Duloksetin Gabapentin Pregabalin TSA Venlafaksin	Gabapentin Pregabalin TSA Lidokain flasterleri	Gabapentin Pregabalin TSA	Amitriptilin Duloksetin Gabapentin Pregabalin Kapsaisin kremi	Gabapentin Pregabalin Duloksetin Venlafaksin TSA	Gapabentin Gabapentin ER/enakarbil Pregabalin Duloksetin Venlafaksin TSA
İkinci sıra tedavi	Tramadol	Güçlü opioidler Kapsaisin kremi	Tramadol Güçlü opioidler	Birinci sıra tedavide yer alan diğer üç oral tedaviden biri	Tramadol Güçlü opioidler Lidokain krem (post-herpetik nevraljide) Lidokain patch'leri (post-herpetik nevraljide)	Kapsaisin patch'leri Lidokain patch'leri Tramadol
Üçüncü sıra tedavi	Güçlü opioidler		Güçlü opioidler	Birinci sıra tedavide yer alan diğer üç oral tedaviden biri	Kannabinoidler	Botulinum toksini tip A Güçlü opioidler
Dördüncü sıra tedavi			Lamotrijin (santral post-strok ağrıda) Kannabinoitler (multipl sklerozda)		Diğer opioidler Lakozamid Lamotrijin Botulinum toksini Lidokain krem Lidokain patch'leri	

2.2.7.1. Diyabetik nöropati kaynaklı ağrının tedavisi

Diyabete bağlı nöropatik ağrıda tedavi; glisemik kontrol, patogenetik mekanizmalara yönelik tedavi yaklaşımları, yaşam tarzı değişiklikleri ve semptomatik tedavi şeklinde sıralabilir. Bunların yanında bilişsel ve davranışsal tedavi (İrdesel, 2005) ve omurilik stimülasyonu, transkütanöz elektriksel sinir stimülasyonu, sempatik sinir blokları gibi diğer nöropatik ağrı türlerinde de kullanılmakta olan birtakım girişimsel yöntemlerden de yararlanılmaktadır (Brooks ve Kessler, 2017). Söz konusu tedavi yaklaşımları aşağıda özetlenmiştir.

Glisemik kontrol

Uygun diyet, egzersiz, insülin ve/veya oral antidiyabetik tedavisi (tek başına ya da kombine halde sülfonilüreler, metformin, α -glukozidaz inhibitörleri ve dipeptidilpeptidaz-IV inhibitörleri vb.) ile gerçekleştirilen sıkı glisemik kontrolün diyabet kaynaklı nöropatik ağrının önlenmesinde etkili olduğu bilinmektedir (Pop-Busui vd., 2013; Ang vd., 2014).

Patogenetik mekanizmalara yönelik tedavi yaklaşımları

Diyabetik nöropatinin oluşumunda rol oynayan patofizyolojik mekanizmaları hedef alan farmakolojik uygulamalar, hastalığın tedavisinde kullanılan önemli yaklaşımlar arasında yer alır. Örneğin, aldoz redüktaz inhibitörü ilaçlar olan sorbinil, tolrestat, ponalrestat, fidarestat, epalrestat, zenarestat, ranirestat poliol yolağı üzerinden etki göstererek; sorbitol birikimini önlemekte, sinir ileti hızını artırmakta ve nöropati ilerleyişini yavaşlatmaktadır (Hotta vd., 2006; Tahrani vd., 2010; Singh, vd., 2014).

Yapılan çalışmalarda protein kinaz C enzimi inhibisyonunun, oksidatif stresi azaltabileceği ve sinir lifi fonksiyonlarını düzenleyebileceği bilgisinden hareketle diyabetik nöropatili hastalarda denenmiş bir protein kinaz C inhibitörü olan ruboksistaurin'in, nöropatik ağrı semptomlarını iyileştirdiği bildirilmiştir (Casellini vd., 2007; Tahrani vd., 2010). Ayrıca diyabetik sıçanlara uygulanmış aminoguanidin ve N-fenilaçiltiyazoliyum'un nöronal ileti hızında ve ileri glikolizasyon ürünlerinin damarlarda birikimi üzerinde olumlu etki gösterdiği (Cooper vd., 2000; Coppey vd., 2002); benfotiyamin'in ise heksozamin yolağı üzerinde etkili olarak diyabet kaynaklı nöropatik ağrı tedavisinde kullanılabileceği (Haupt, vd., 2005; Wu ve Renn, 2006) ileri sürülmüştür.

Diyabete bağlı nöropatik ağrı tedavisinde α -lipoik asit, nikotinamit, resveratrol, rutin, taurin ve tigonellin gibi ajanların da ROS oluşumu üzerine etki ederek faydalı olabileceği bildirilmiştir (Singh vd., 2014). Hücre sinyali yolağı ve mitokondriyal enerji metabolizması üzerinde önemli fonksiyonlara sahip bir antioksidan ve kofaktör olan α -lipoik asit'in nöropatik ağrı semptomlarını düzeltmede etkili olduğu bilinmektedir. Ayrıca, resveratrol NF- κ B inhibisyonu ile (Sharma vd., 2009); rutin protein glikozilasyonunu engelleyerek (Muthenna vd., 2012); taurin Schwann hücrelerinde nitrozatif ve oksidatif stresi azaltarak (Askwith vd., 2012); nikotinamit ise oksidatif stres-poli(ADP)riboz polimeraz (PARP) aktivasyonu döngüsünü inhibe ederek (Negi vd., 2010) diyabetik nöropatinin kontrol altına alınmasına katkıda bulunmaktadır.

Yaşam tarzı değişiklikleri

Diyabet kaynaklı nöropatinin önlenmesi ve kontrolünde hastada kan basıncı yüksekliği, hiperlipidemi gibi kardiyovasküler risk faktörlerini azaltmaya yönelik yaşam tarzı değişikliklerinin yapılması gereklidir. Alkol tüketimi ve sigara kullanımından uzak durulmalı, vücut ağırlığına dikkat edilmelidir. Egzersiz yapılması ve diyetin düzenlenmesinin vücuttaki metabolik olaylar üzerine olumlu etkileri nedeniyle diyabet kaynaklı nöropatik ağrının tedavisine büyük katkıları olduğu bilinmektedir (Boulton, 2004; Ko ve Cha, 2012).

Semptomatik tedavi

Diyabete bağlı nöropatik ağrının tedavisinde, glisemik kontrolü hedefleyen tedaviler dışındaki farmakolojik tedaviler çoğunlukla semptomatik niteliklidir. Diyabetik nöropati kaynaklı ağrının semptomatik tedavisi, nöropatik ağrı tedavisindeki genel yaklaşım ile örtüşmektedir.

EFNS tarafından yayınlanan kılavuzda, diyabet kaynaklı nöropatik ağrı tedavisi için ilk seçim olarak duloksetin, venlafaksin ve TSA'lar gibi antidepresanlar ve pregabalin gibi antikonvülzanlar; ikinci ya da üçüncü seçim ilaçlar olarak da opioidler önerilmektedir (Cegielska-Perun vd., 2013). Semptomatik tedavide tek başına veya kombinasyon halinde kullanılan çeşitli birçok ilacın, nöropatik ağrıyı önemli ölçüde azalttığı gösterilmesine rağmen; çoğu hastada ağrı kontrolünün yetersiz kaldığı bildirilmektedir. Söz konusu ilaçların yan etki profilleri ve/veya etkilerine karşı tolerans gelişimi bu ilaçların kullanımlarını sınırlandırabilmektedir (Schreiber vd., 2015). **Tablo**

2.4'te diyabetik nöropati tedavisinde kullanılabilecek bazı ilaçların uygun dozları ve yan etki profilleri yer almaktadır:

Tablo 2.4. *Diyabetik nöropatik ağrıda semptomatik tedavi seçenekleri (Chin ve Rubin, 2010)*

İlaçlar	Dozaj	Yan etkiler
<i>Antidepresanlar</i>		
1.TSA'lar		
Amitriptilin	25-150 mg	Ağız kuruluğu, üriner retansiyon, sedasyon, somnolans, postural hipotansiyon
Nortriptilin	25-150 mg	
2. SNRI'lar		
Duloksetin	60-120 mg	Bulantı, sersemlik
Venlafaksin	150-225 mg	
3. SSRI'lar		
Sitalopram	40 mg	Bulantı, kusma
Paroksetin	40 mg	
<i>Antikonvülzanlar</i>		
Gabapentin	300-3600 mg (3-4 doz şeklinde)	Renal metabolizasyon; doz ayarlaması gerekli
Pregabalin	300-600 mg (2-3 doz şeklinde)	Sersemlik, somnolans, periferik ödem
Karbamazepin	200-600 mg	Sersemlik, bulantı
Okskarbazepin	1200-1800 mg	
Topiramet	25-400 mg arasında titre edilir; tipik doz ~100 mg	Diyare, kilo kaybı, somnolans
Lamotrijin	200-400 mg	Kaşıntı, baş ağrısı; yavaş titre edilmeli
<i>Opioidler</i>		
Tramadol (zayıf)	≤ 400 mg	Bulantı-kusma, ağız kuruluğu, konstipasyon, sersemlik
Oksikodon	10-100 mg (ortalama 40 mg/gün)	Konstipasyon, bilişsel bozukluk
<i>Diğer ilaçlar</i>		
Meksiletin	75-225 mg	Gastrointestinal distres
<i>Topikal tedavi</i>		
Kapsaisin krem	Kapsaisin 0.075%	Yanma, batma, kızarıklık, kaşıntı

Antidepresanlar

Antidepresanlar, diyabet kaynaklı nöropatik ağrı tedavisinde ilk sıra ilaçlar arasında bulunmaktadır. Bu ilaçlardan duloksetin, SNRI bir ilaç olup Amerika Birleşik Devletleri'nde diyabet kaynaklı nöropatik ağrı endikasyonu için onay almıştır (Pergolizzi vd., 2013). Yan etkileri hafif ve geçici olan duloksetin, Türkiye'de 1 Ağustos 2007 tarihinde Sağlık Bakanlığı tarafından onaylanmıştır (RxMediaPharma®, 2018). Yine SNRI grubu bir antidepresan olan venlafaksin, düşük dozlarda serotonin geri alımını,

daha yüksek dozlarda noradrenalin geri alımını engellemektedir (Schreiber vd., 2015) ve bu ilacın da diyabetik nöropatili hastalarda ağrı şiddetini azaltmakta etkili olduğu gösterilmiştir. Başlıca yan etkiler mide bulantısı ve uyuklamadır (Rowbotham vd., 2004).

Nöropatik ağrı tedavisinde ilk sıra ilaçlardan olan TSA'lar, diyabet kaynaklı nöropatik ağrı tedavisinde selektif serotonin geri alım inhibitörü (SSRI) ilaçlara göre daha yüksek etkinlik göstermekte; ancak bunun yanında kötü bir yan etki profili ortaya koymaktadırlar (Feyzioğlu, 2008). TSA'ların diyabet kaynaklı nöropatik ağrı üzerindeki etki mekanizmalarının, noradrenalin ve/veya serotonin geri alımı inhibisyonu ve hiperaljezi ve allodiniye aracılık eden N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptör antagonizması olduğu düşünülmektedir (Peng ve Bellingham, 2010; Tahrani vd., 2010). Bu kategorinin en sık kullanılan ajanları amitriptilin, imipramin ve klomipramindir (Sindrup vd., 1990; Max vd., 1992; Sindrup vd., 2003; Schreiber vd., 2015). Bu ilaçların kullanımları ilgili en yaygın yan etkiler; ağız kuruluğu, postural hipotansiyon, aritmi, kognitif bozukluk, konstipasyon ve idrar retansiyonudur (Chin ve Rubin, 2010).

Antikonvülzanlar

Pregabalin, diyabet kaynaklı nöropatik ağrı ve postherpetik nevralji tedavisi için Gıda ve İlaç İdaresi (Food and Drug Administration, FDA)'nden onay alan ilk antikonvülzan ilaçtır (Blommel ve Blommel, 2007; Verma vd., 2014). Presinaptik nöronun $\alpha 2\delta$ alt-ünitesine bağlanarak Ca^{+2} geçişini ve nöronal eksitator nörotransmitter salıverilmesini azaltma yoluyla etkinlik gösterir (Teskaye ve Selvarajah, 2009). $\alpha 2\delta$ bölgesine affinitesi gabapentin'in 6 katıdır (Vinik ve Casellini, 2013). Pregabalin analjezik etkilerine ek olarak anksiyolitik aktiviteye ve ayrıca uyku ve yaşam kalitesini iyileştirici etkilere de sahiptir. Yan etkileri arasında baş dönmesi, baş ağrısı, uyuşukluk, periferik ödem ve kilo alımı yer alır (Zilliox ve Russell, 2011).

Gabapentin ve pregabalin benzer etki mekanizmasına sahip ilaçlardır ve yapılan bazı çalışmalar bu ilaçların TSA'lardan ve opioidlerden daha yüksek analjezik etkinliğe sahip olduklarına işaret etmiştir (Gilron ve Flatters, 2006). Farmakolojik etkisini, L-tipi Ca^{+2} kanallarının $\alpha 2\delta$ bölgesine bağlanarak gerçekleştiren gabapentin; yan etkileri açısından da pregabalinle benzerlik gösterir (Serpell ve Neuropathic Pain Study Group, 2002).

Glutamat'ın α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-isoksazol propiyonik asit (AMPA) / kainat reseptörlerine bağlanan ve voltaja duyarlı Na^{+} ve L-tipi Ca^{+2} kanallarını bloke eden

bir ilaç olan topiramate nöron rejenerasyonunun sağlanabilmesine de katkıda bulunur. Bu ilacın Tip 2 DM’li obez hastaların kilo vermesine ve kan lipid profillerinin düzelmesine de yardımcı olduğu bildirilmiştir (Bayram ve Elçioğlu, 2016). Lakozamit de voltaja duyarlı Na⁺ kanal blokajı yapan ve DM’li hastalarda iyi tolere edilen bir ilaçtır. Sık görülen yan etkileri arasında mide bulantısı, baş ağrısı, baş dönmesi ve yorgunluk yer alır (Errington vd., 2008).

Parsiyel ve tonik-klonik nöbetlerin yanı sıra bipolar hastalık gibi birtakım psikiyatrik hastalıkların tedavisinde kullanılan bir ilaç olan karbamazepin’in de diyabetik nöropati tedavisinde kullanılabileceği bildirilmiştir (Amerikan Diyabet Birliği, 2010; RxMediaPharma®, 2018).

Opioidler

Tramadol, şiddetli ağrının azaltılması amacıyla diyabet kaynaklı nöropatik ağrı tedavisinde kullanılan, uzun süren uygulamada bağımlılık ve tolerans gelişimine pek neden olmayan opioid bir analjeziktir (Bayram ve Elçioğlu, 2016). Morfin de diyabetik nöropati ve post-herpetik nöralji tedavisinde kullanımı olan opioid bir ilaçtır (Gilron vd., 2005). Bu ilaçların yanı sıra, μ -opioid reseptör agonisti ve aynı zamanda bir noradrenalin geri alım inhibitörü olan tapentadol da FDA tarafından ağrılı diyabetik periferik nöropati tedavisi için onay almıştır (Singh vd., 2014; Bayram ve Elçioğlu, 2016).

Klinikte kullanılan söz konusu yaklaşımların yanı sıra, diyabetik nöropati tedavisinde tedavi alternatifi olabilme potansiyeline sahip diğer bazı ajanlar ve etki mekanizmaları da **Tablo 2.5.**’te sunulmuştur.

Tablo 2.5. *Diyabetik nöropati tedavisinde yeni hedef yaklaşımlar (Singh vd., 2014; Bayram ve Elçioğlu, 2016)*

İlaç Adı	Etki Mekanizması
1. Alogliptin	Dipeptidil peptidaz-IV inhibitörü
2. PKF 275-055	Dipeptidil peptidaz-IV inhibitörü
3. KU-32	Nöronal hücre ölümünde koruyucu Hsp90 inhibitörü
4. MK801	NMDA reseptör blokörü
5. Nabilon	Kannabinoid CB1 reseptör agonisti
6. Rimonabant	Kannabinoid CB1 reseptör agonisti
7. Tapentadol ER	μ -opioid reseptör agonisti-noradrenalin reuptake inhibitörü

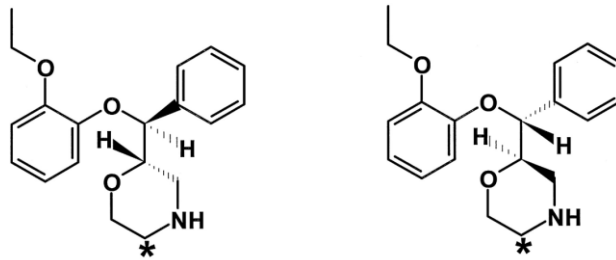
İlaç Adı	Etki Mekanizması
8. NGX-4010 (kapsaisin dermal patch)	Nosiseptörlerde P maddesi deplesyonu
9. AVE7688 (Ilepatril)	Vazopeptidaz inhibisyonu
10. ABT-594	$\alpha 4 \beta 2$ nöronal nikotinik reseptör agonisti
11. ABT-894	$\alpha 4 \beta 2$ nöronal nikotinik reseptör agonisti
12. Sildenafil	Fosfodiesteraz-5 inhibisyonu
13. BAY 11-7082	I κ B fosforilasyon inhibisyonu
14. Timozin $\beta 4$	P13K/Akt sinyal yolağı üzerinden endotel hücrelerini koruma, siyatik sinirlerdeki periferik sinir fonksiyonlarını iyileştirme

2.3. Deneysel diyabetik nöropati modelleri

Diyabet kaynaklı nöropatik ağrı patogenezi ile ilgili çoğu bilgi, diyabetik kemirgenler ile yapılan çalışmalardan elde edilmiştir. Sıklıkla kullanılan deneysel modeller arasında streptozotosin (STZ) uygulanmış sıçan ve fareler, yüksek yağlı diyetle beslenen kemirgenler, gıda ve kimyasal kombinasyonu ile indüklenmiş modeller; Zucker diyabetik obez fareler, Tip 1 insülinopenik BB/Wor ve Tip 2 hiperinsülinemik diyabetik BBZDR/Wor sıçanlar, obez olmayan diyabetik fareler, Akita fareler ve leptin ve leptin-reseptör eksikliği olan farelerin de bulunduğu spontan veya genetik olarak oluşturulmuş modeller yer almaktadır (Gao ve Zheng, 2014).

2.4. Reboksetin

Reboksetin, seçici ve potent bir noradrenalin geri alım inhibitörü olup (RS)-2-[(RS)- α -(2-etoksifenoksi)benzil] morfolin metansulfonat kimyasal formülüne sahip bir ilaçtır (Şekil 2.6.) (Preskorn, 2004).



Şekil 2.6. (S,S)-reboksetin ve (R,R)-reboksetin (Wienkers vd., 1999)

Majör depresyonun akut tedavisi ve başlangıç tedavisine yanıt vermiş hastalarda klinik iyileşmenin devamlılığının sağlanması için kullanılan reboksetin (RxMediaPharma®, 2018), ilk olarak 1997’de Birleşik Krallık’ta onay almıştır. 1997’den bu yana Avusturya, Danimarka, Finlandiya, Almanya, İrlanda, İtalya ve İsveç gibi birçok Avrupa ülkesinde kullanılmaktadır (Page, 2003; Preskorn, 2004). Reboksetin (Edronax®, Pfizer), ülkemizde ilk olarak 2005 yılında ruhsatlandırılmıştır (RxMediaPharma®, 2018). Diğer yandan, Amerika Birleşik Devletleri depresyon tedavisindeki efikasitesine dair yeterli kanıt olmaması gerekçesiyle reboksetin kullanımına onay vermemiştir (Page, 2003; Preskorn, 2004; Braithwaite, 2015).

2.4.1. Reboksetin’in etki mekanizması

Reboksetin, morfolinin bir α -ariloksibenzil türevidir (Sepede vd., 2012). (S,S) ve (R,R) izomerlerinin rasemik bir karışımı olan reboksetin, yüksek bir seçicilikle noradrenalin taşıyıcısına bağlanır ve presinaptik aralıkta noradrenalin geri alımını selektif olarak inhibe ederek antidepresan etkinliğini gösterir. Muskarinik, histaminik ve α -adrenerjik reseptörlere minimum affiniteye sahiptir; monoamin oksidaz (MAO) enzimi ve serotonin ve dopamin geri alımı üzerinde inhibe edici özelliği bulunmaz (Hajós vd., 2004; Sepede vd., 2012).

Reboksetin ile sinaptik aralıkta artan noradrenalin konsantrasyonu sonucu β -adrenerjik reseptörlerde desensitizasyon görülebilmektedir. Yapılan bazı *in vivo* çalışmalarda; reboksetin’in presinaptik α -adrenerjik reseptörler üzerinde antagonist özellik gösterdiği de gözlenmiştir (RxMediaPharma®, 2018).

2.4.2. Reboksetin’in olası endikasyonları

Literatürde reboksetin’in majör depresyon dışında SSS ile ilişkili diğer bazı hastalıklarda da etkili olabileceğine dair çeşitli raporlara rastlanmaktadır. Bu ilacın panik bozukluk (Dannon vd., 2002; Versiani vd., 2002), post-travmatik stres bozukluğu (Spivak vd., 2006), SSRI’lara dirençli obsesif-kompulsif hastalık (Fontenelle vd., 2005), dikkat eksikliği ve hiperaktivite bozukluğu (Ratner vd., 2005; Toren vd., 2007; Tehrani-Doost vd., 2008; Quintero vd., 2010; Riahi vd., 2010), şizofreninin negatif belirtileri (Raedler vd., 2004; Shoja Shafti vd., 2015; Matthews vd., 2018), kokain replasmanı (Szerman vd., 2005), öğrenme ve bellek bozuklukları (Ferguson vd., 2003; Borgkvist vd., 2011; Warner ve Drugan, 2012), inmeye bağlı motor yetmezlikler (Zittel vd., 2007), kronik bel ağrısı

ve fibromiyalji (Krell vd., 2005), bulimia nervosa (El-Giamal vd., 2000; Fassino vd., 2004), tedaviye dirençli pediatrik noktürnal enürezis (Nevés, 2006) ve narkolepsi (Larrosa vd., 2001) tedavilerinde yararlı olabileceği bildirilmiş ve reboksetin'in antipsikotik ilaçlarla kombinasyonunun bu ilaçlarla indüklenen kilo artışını önleyebileceği ileri sürülmüştür (Poyurovsky vd., 2003; Kishi vd., 2013). Ayrıca literatürde, reboksetin'in nöropatik ağrı üzerine de olumlu etki gösterebileceğine işaret eden çalışmalar da mevcuttur (Pedersen vd., 2005; Leventhal vd., 2007; Hughes vd., 2015).

2.4.3. Reboksetin'in farmakokinetik özellikleri

Reboksetin, oral olarak uygulanmasının ardından hızlı bir şekilde absorbe olmakta ve iki saatte plazma doruk konsantrasyonuna ulaşmaktadır. Elde edilen veriler, mutlak biyoyararlanımının %94'ten yüksek olduğunu ortaya koymaktadır (Hajós vd., 2004). Yağ oranı yüksek beslenme, ilacın absorpsiyon hızını azaltabilmektedir; ancak absorbe olan miktarını değiştirmemektedir (Hajós vd., 2004; RxMediaPharma®, 2018).

Reboksetin'in vücut dağılım hacmi çok yüksektir; neredeyse tüm vücut sıvılarına dağıldığı ileri sürülmektedir. (R,R)-(-) enantiyomerinin de plazmadaki konsantrasyonunun, (S,S)-(+) enantiyomerinkinden yaklaşık iki kat daha fazla olduğu bildirilmiştir. Etkin konsantrasyona pek etkisi olmaksızın; ilaç plazma proteinlerine, özellikle de α_1 -asit glikoproteinlere yüksek oranda (%97) bağlanmaktadır (Hajós vd., 2004; RxMediaPharma®, 2018).

Reboksetin dealkilasyon, hidroksilasyon ve oksidasyon reaksiyonlarını takip eden glukuronidasyon ve sülfat konjugasyonu gibi yollar aracılığı ile metabolize olmaktadır. Reboksetin'in hepatik metabolizmasında sitokrom P450 enzimlerinden CYP3A4 önemli rol oynamaktadır (Sepede vd., 2012). O-desetilreboksetin ise inaktif primer metabolitidir. Terapötik dozlarda klinik olarak bir anlamı olmasa da *in vitro* zayıf CYP3A4 ve CYP2D6 enzim inhibisyonu etkinlik gösterdiği bildirilmiştir. CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19 veya CYP2E1 enzimleri üzerine ise etkisi bulunmamaktadır (RxMediaPharma®, 2018).

Reboksetin'in yarılanma ömrü 12-16 saattir. Eliminasyonu başlıca renal yolla (%78) olmaktadır ve alınan ilacın %10'u değişmeden atılmaktadır. Feçesle eliminasyon ise sınırlıdır (Sepede vd., 2012; RxMediaPharma®, 2018).

Şiddetli hepatik ve renal yetmezlikte ilacın klirensinde ve oluşan metabolitlerinde meydana gelen azalma ve 75 yaş üzeri popülasyonda ilaç kullanımını takiben konsantrasyon zaman eğrisi altında kalan alanda (EAA) oluşan artış nedeniyle, toksik doz gözlenmemesi açısından bu hastalarda tedaviye daha düşük doz ile başlanması gerekmektedir (Sepede vd., 2012; RxMediaPharma®, 2018).

2.4.4. Reboksetin'in farmadinamik özellikleri

Reboksetin, majör depresif bozukluk için ilk basamak tedavisi olarak özel olarak geliştirilen ve piyasaya çıkarılan ilk noradrenalin geri alım inhibitörü ilaçtır (Hajós vd., 2004). Sinaptik aralıkta noradrenalin seviyesini artırma ve noradrenerjik nörotransmisyonun modifikasyonu sonucu etkisini göstermektedir (RxMediaPharma®, 2018). Adrenerjik, kolinerjik, histaminerjik, dopaminerjik, serotonerjik reseptörlere affinitesi düşüktür. Etki mekanizması TSA'lara benzerdir; ancak dopamin veya serotonin geri alımını etkilemez (Hajós vd., 2004).

Gerçekleştirilen *in vitro* çalışmalarda, reboksetin'in muskarinik ve adrenerjik (α_1 , α_2 , β) reseptörler için belirgin bir affiniteye sahip olmadığı gösterilmiştir. Bu reseptörlerde meydana gelen bağlanmaların, TSA benzeri diğer antidepresan ilaçların antikolinerjik, kardiyovasküler ve sedatif yan etkileriyle ilişkili olduğu bilinmektedir. Reboksetin, α_1 veya α_2 adreseptörleri için *in vitro* bağlanma affinitesinden yoksun olmakla birlikte; *in vivo* yüksek dozlarda ilacın bu reseptörler ile fonksiyonel bir etkileşimi olduğu göz önünde bulundurulmalıdır (RxMediaPharma®, 2018).

Reboksetin'in, yapılan *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarda noradrenalin taşıyıcısına, serotonin ve dopamin taşıyıcılarına oranla çok daha yüksek seçicilikle bağlandığı ve daha aktif olan (S,S) enantiomerinin diğer izomerine kıyasla 12,770 kat fazla affinite sergilediği bildirilmiştir (Hajós vd., 2004).

2.4.5. Reboksetin'in yan etkileri

Reboksetin kullanımı sırasında plasebo ile kıyaslandığında en sık karşılaşılan yan etkiler; uykusuzluk, hiperhidroz, idrar retansiyonu ve ağız kuruluğu, bulantı, kusma, konstipasyon gibi gastrointestinal bozukluklardır (Preskorn, 2004).

Ajitasyon, anksiyete, sersemlik, parestezi, vertigo, tremor, baş ağrısı, akatizi, iştah azlığı, tat alma duyusunda bozukluk, akomodasyon bozukluğu, taşikardi, palpasyon,

vazodilatasyon, hiper/hipotansiyon, döküntü, uygunsuz antidiüretik hormon salgılanması sendromu, dizüri, libido azalması ve impotans da kullanım sırasında ortaya çıkabilen yan etkiler arasındadır (RxMediaPharma®, 2018).

2.4.6. Reboksetin'in gıda ve ilaç etkileşimleri

Reboksetin'in gıdalarla birlikte alınmasının kan ilaç düzeyinde anlamlı bir değişikliğe yol açmadığı; ayrıca sağlıklı bireylerde alkol ile eşzamanlı kullanımında alkolün kognitif fonksiyonlar üzerindeki olumsuz etkisini artırmadığı bildirilmiştir. TSA, SSRI, MAO inhibitörleri gibi diğer antidepresanlarla beraber kullanımına dair klinik veriler ise henüz bulunmamaktadır.

Reboksetin'in, metabolizmasında önemli rolü olan sitokrom P450 izozimlerinden CYP3A4 üzerinde inhibisyon yapan eritromisin, ketokonazol, nefazodon ve fluvoksamin gibi ilaçlarla birlikte kullanımı, reboksetin'in plazma konsantrasyonunu artırmakta, eliminasyonunu azaltmaktadır. Fenitoin, fenobarbital, karbamazepin, rifampisin, St. John's Wort gibi CYP3A4 indüksiyonu yapan ilaçlarla birlikte kullanımı durumunda ise reboksetin serum düzeylerinde düşüşler görülebilmektedir.

Aralarında anlamlı düzeyde herhangi bir farmakokinetik etkileşme görülmemesine rağmen; reboksetin'in lorazepam ile kombine uygulanması durumunda sağlıklı gönüllülerin kalp atım hızında kısa süreli artış ve hafif-orta uyku hali gözlemlenmiştir. Reboksetin'in ergot türevleri ile birlikte kullanımı durumunda ise kan basıncında yükselmeler görülebilmektedir. Hipokalemi ihtimaline karşı potasyum (K⁺) kaybına yol açan diüretiklerle eşzamanlı kullanımında dikkatli olunmalıdır.

Tiramin benzeri etkiden dolayı, MAO inhibitörleri (linezolid, metilen mavisi gibi) ile reboksetin'in birarada kullanımından kaçınılmalıdır (RxMediaPharma®, 2018).

2.4.7. Reboksetin'in uygulama yolu ve dozajı

Reboksetin, piyasada tablet formunda preparatları bulunan oral yolla uygulanan bir ilaçtır. Aç ya da tok kullanılabilir (RxMediaPharma®, 2018).

Yetişkinler için önerilen oral terapötik reboksetin dozu günde 2 kez 4 mg'dir (8 mg/gün). 3 hafta sonra klinik yanıt yetersiz bulunursa, doz 10 mg/gün'e çıkartılabilir. Tavsiye edilen maksimal dozu ise 10 mg/gün'dür (Hajós vd., 2004; RxMediaPharma®, 2018). Yakın zamanlı iki faz III çalışmasından elde edilen verilere göre; bir hafta süresince günde iki defa 2 mg ilaç uygulamasını takiben, dozun günde iki kez 4 mg olacak

şekilde yükseltilerek ilacın kullanımına devam edilmesinin, reboksetin'in kısa dönem tolerabilitesini arttırdığı ortaya koyulmuştur (Hajós vd., 2004). 65 yaş üzeri populasyon için ise reboksetin'in önerilen oral terapötik dozu ikiye bölünmüş halde günde 4-6 mg'dir; 3 hafta sonra, yetersiz klinik yanıt durumunda doz 10 mg/gün'e artırılabilir (RxMediaPharma®, 2018).

Renal yetmezliği (50 mililitre/dakika altında kreatinin klirensi) veya orta-şiddetli karaciğer yetmezliği olan hastalarda, hastanın toleransına bağlı olarak başlangıç dozu 2 mg/gün olan reboksetin'in dozu günlük 6 mg'a kadar çıkarılabilir.

3. GEREÇLER

3.1. Deney Hayvanları

Deneyler; aynı yaşta Sprague-Dawley erkek sıçanlar (300-350 gram) ile gerçekleştirilmiştir. Deney hayvanları pellet şeklindeki standart yemlerle beslenerek, su ve yem kısıtlaması olmadan barındırılmış; bulundukları odaların koşullarının $24 \pm 1^{\circ}\text{C}$ sıcaklığa, 12 saat aydınlık/ 12 saat karanlık döngüsüne (ışıkların 8:00-20:00 arasında açık olduğu) ve iyi bir ventilasyona sahip olacak şekilde sabit tutulması sağlanmıştır. Bu çalışmanın deneysel protokolü Anadolu Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu ve Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır.

3.2. Kullanılan İlaç ve Kimyasal Maddeler

Reboksetin (Edronax [®])	(Pfizer, NY, ABD)
Pregabalin	(Sigma, St. Louis, MO, ABD)
Metformin hidroklorür	(Sigma, St. Louis, MO, ABD)
α -metil-para-tirozin metil ester (AMPT)	(Sigma, St. Louis, MO, ABD)
Fentolamin	(Sigma, St. Louis, MO, ABD)
Propranolol	(Sigma, St. Louis, MO, ABD)
Metoprolol (Beloc [®])	(Astrazeneca, Cambridge, Birleşik Krallık)
ICI 118,551	(Tocris Bioscience Co., Bristol, Birleşik Krallık)
SR 5923A	(Tocris Bioscience Co., Bristol, Birleşik Krallık)
SCH 23390	(Sigma, St. Louis, MO, ABD)
Sülpirid	(Sigma, St. Louis, MO, ABD)
Atropin	(Sigma, St. Louis, MO, ABD)
Naltrindol	(Tocris Bioscience Co., Bristol, Birleşik Krallık)
Streptozotosin	(Sigma, St. Louis, MO, ABD)

Sitrik asit	(Merck, Darmstadt, Almanya)
Trisodyum sitrat	(Merck, Darmstadt, Almanya)
Halotan	(Sigma, St. Louis, MO, ABD)
Paraformaldehit	(Sigma, St. Louis, MO, ABD)
Etanol	(Sigma, St. Louis, MO, ABD)
Serum fizyolojik	(Adeka, Samsun, Türkiye)
Parafin	(Sigma, St. Louis, MO, ABD)
Sodyum hidrojen fosfat (Na_2HPO_4)	(Merck, Darmstadt, Almanya)
Monopotasyum fosfat (KH_2PO_4)	(Merck, Darmstadt, Almanya)
Etil alkol	(Sigma, St. Louis, MO, ABD)
Sodyum hidroksit	(Merck, Darmstadt, Almanya)
Glutaraldehit	(EMS, Hatfield, PA, ABD)
Osmiyum tetraoksit	(EMS, Hatfield, PA, ABD)
Uranil asetat	(EMS, Hatfield, PA, ABD)
Propilen oksit	(Merck, Darmstadt, Almanya)
Araldit CY212	(Agar Scientific, Stansted, Birleşik Krallık)
Sodyum sitrat	(Merck, Darmstadt, Almanya)
Kurşun nitrat	(Merck, Darmstadt, Almanya)
Toluidin mavisi	(Sigma, St. Louis, MO, ABD)
Susuz boraks ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$)	(Sigma, St. Louis, MO, ABD)

3.3. Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler

Aktivite kafesi cihazı	(Ugo-basile, 7420, Verase, İtalya)
Hargreaves test cihazı	(Ugo-basile, 37370, Verase, İtalya)
Dinamik plantar cihazı	(Ugo-basile, 37450, Verase, İtalya)

Randall-Selitto analjezimetre	(Ugo-basile, 37215, prob tip ¼ 1 mm Verase, İtalya)
Soğuk/Sıcak plaka test cihazı	(Ugo-basile, 35100, Verase, İtalya)
Accu-Chek Performa Nano® glukoz ölçüm cihazı	(Roche, Basel, İsviçre)
Perfüzyon cihazı	(Cole-Parmer Instrument Co., Vera Manostat® pump, IL, ABD)
ImageJ görüntü analiz programı	(National Institutes of Health, Bethesda, MD, ABD)
Işık mikroskobu	(Olympus CX31RTSF, Olympus GmbH, Hamburg, Almanya)
LCmicro görüntüleme programı	(Olympus GmbH, Hamburg, Almanya)
Rotator	(Pelco R2 Rotary Mixer, ABD)
Ultramikrotom	(Leica EM UC7, Almanya)
Trim cihazı	(Leica EM TRIM-2, Almanya)
Knifemaker	(Leica EM KMR2, Almanya)
Manyetik karıştırıcı	(Heidolph, ABD)
Etüv	(Binder, Almanya)
Hassas terazi	(Ohaus, E 12140, Greifensee, İsviçre)
Çeşitli cam laboratuvar malzemeleri	
Çeşitli cerrahi malzemeler	

4. YÖNTEMLER

4.1. Streptozotosin ile Deneysel Diyabet Modeli Oluşturulması

Deneysel diyabet modeli oluşturulacak deney hayvanları bir gece önceden aç bırakılmıştır. Model oluşturulacak sıçanlara kuyruk venlerinden 0,1 M sitrat tamponu (pH=4,5) içerisinde hazırlanmış olan 50 mg.kg⁻¹ dozda STZ enjekte edilirken; kontrol grubunda bulunan sıçanlara intravenöz (*i.v.*) olarak eşit hacimde sitrat tamponu uygulanmıştır (Skalska vd., 2008; Shafik, 2012; Gao ve Zheng, 2014). STZ enjeksiyonunu takiben deney hayvanlarının bulundurulduğu kafeslere, hipoglisemik şok riskini önlemek amacıyla 5 mmol.l⁻¹ glukoz solüsyonu bulunan suluklar yerleştirilmiştir (Skalska vd., 2008). 72 saat sonra, hayvanlardan kan örnekleri alınmış ve Accu-Chek® Performa Nano (Roche, Basel, İsviçre) cihazı ile kan glukozu ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Kan glukozu 300 mg.dl⁻¹ üzerinde olan sıçanlar diyabetik kabul edilmiştir (Üçel vd., 2015; Wu vd., 2015).

Deneysel diyabet modeli oluşturulan sıçanlarda nöropatik ağrı gelişimi için 4 hafta beklenmiştir (Dang vd., 2014).

4.2. Diyabetik Sıçanlarda İlaç Tedavisi

Deney grupları aşağıdaki şekilde oluşturulmuştur:

Kontrol grubu	:	Sitrat tamponu (<i>i.v.</i>) enjeksiyonundan 4 hafta sonra 14 gün süre boyunca serum fizyolojik (SF) uygulanan grup
DM grubu	:	STZ (<i>i.v.</i>) enjeksiyonundan 4 hafta sonra 14 gün süre boyunca SF uygulanan grup
REB 8+DM grubu	:	STZ (<i>i.v.</i>) enjeksiyonundan 4 hafta sonra 14 gün süre boyunca 8 mg.kg ⁻¹ (<i>per oral</i> , (<i>p.o.</i>)) reboksetin uygulanan grup
REB 16+DM grubu	:	STZ (<i>i.v.</i>) enjeksiyonundan 4 hafta sonra 14 gün süre boyunca 16 mg.kg ⁻¹ (<i>p.o.</i>) reboksetin uygulanan grup
MET+DM grubu	:	STZ (<i>i.v.</i>) enjeksiyonundan 4 hafta sonra 14 gün süre boyunca 1000 mg.kg ⁻¹ metformin uygulanan grup
PRG+DM grubu	:	STZ (<i>i.v.</i>) enjeksiyonundan 4 hafta sonra 14 gün süre boyunca 10 mg.kg ⁻¹ pregabalin (<i>p.o.</i>) uygulanan grup

Her deney grubunda 8 adet sıçan yer almaktadır.

Reboksetin diyabetik sıçanlara 8 mg.kg^{-1} ve 16 mg.kg^{-1} dozlarında (*p.o.*) iki hafta boyunca uygulanmıştır (Pedersen vd., 2005; Cegielski-Perun vd., 2014). Sağlıklı ve diyabetik kontrol grubunda bulunan sıçanlara ise reboksetin'i çözmek için yararlanılan SF (% 0,9'luk sodyum klorür) uygulanmıştır. Plazma glukoz ölçümleri için referans ilaç olarak 1000 mg.kg^{-1} dozda metformin (Ong vd., 2011) ve nöropatik ağrı çalışmaları içinse referans ilaç olarak 10 mg.kg^{-1} dozda pregabalin deney hayvanlarına oral yolla uygulanmıştır (Thiagarajan vd., 2014).

4.3. Deney Hayvanlarının Plazma Glukoz Düzeylerinin Ölçümü

Metformin ve reboksetin uygulamalarının bitiminde deney hayvanların plazma glukoz düzeyleri, kuyruk veninden alınan kandan Accu-Chek® Performa Nano (Roche, Basel, İsviçre) cihazı yardımıyla ölçülmüştür.

4.4. Nöropatik Ağrının Değerlendirilmesi

4.4.1. Mekanik hiperaljezinin değerlendirilmesi



Şekil 4.1. Randall-Selitto test cihazı

Mekanik hiperaljezinin değerlendirilmesi için Randall-Selitto cihazı (Ugo-basile, 37215, Verase, İtalya) (Şekil 4.1.) kullanılmıştır. Bu testte, sıçanların arka pençelerinin dorsal kısımlarına linear artış gösteren basınç uygulanmış ve sıçanların pençelerini çektiği

gelmemesi açısından uygulanan maksimum kuvvet 50 gram olarak belirlenmiştir (Dai vd., 2018).

4.4.3. Termal hiperaljezinin değerlendirilmesi



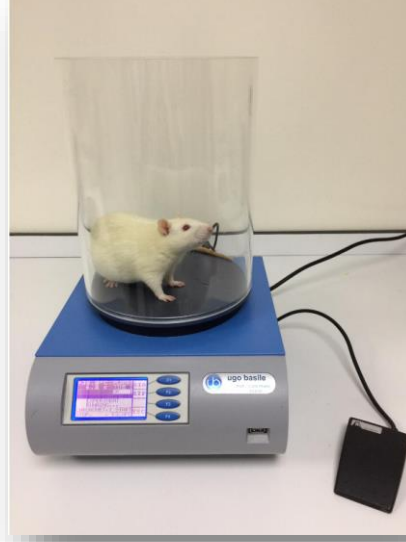
Şekil 4.3. Hargreaves test düzeneği

Termal hiperaljezinin değerlendirilmesi için plantar test cihazı (Ugo-basile, 37370, Verase, İtalya) (Şekil 4.3.) kullanılmıştır. Cihaz yükseltilmiş cam bir yüzey üzerine yerleştirilen 17x69x14 cm boyutunda 6 adet pleksiglas bölmeden ve bu zeminin altında bulunan hareketli bir radyan ısı kaynağından oluşmaktadır. Deney hayvanları, deney başlamadan önce bu kutulara yerleştirilmiş ve ortama adaptasyonları için 30 dakika süre ile beklenmiştir. Ölçüm sırasında, hareketli radyan ısı kaynağı, sıçanların arka pençelerinin plantar yüzeylerine denk gelecek şekilde konumlandırılarak cihaz çalıştırılmıştır. Sıçanların pençe çekme süreleri cihaz tarafından 0,1 saniye hassasiyetle kaydedilmiştir (Yi vd., 2011; Cheppudira vd., 2016). Pençe hasarından kaçınmak amacıyla deney hayvanlarına 20 saniyeden uzun süre termal uyaran uygulanmamıştır. Ölçümler hep aynı pençe üzerinde gerçekleştirilmiştir ve her bir hayvanın pençe çekme süresi 5 dakika aralıklarla yapılan üç ölçümün ortalaması alınarak hesaplanmıştır (Li vd., 2013; Aydın vd., 2016).

4.4.4. Termal allodininin değerlendirilmesi

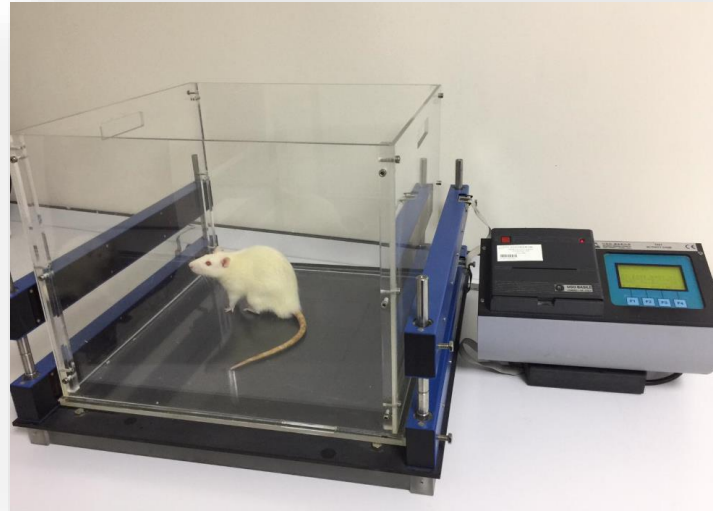
Termal allodininin değerlendirilmesinde “sıcak/soğuk plaka test cihazı” kullanılmıştır (Ugo-basile, 35100, Verase, İtalya) (Şekil 4.4.). Ilık plaka deneyi için,

sıçanlar üstü açık pleksiglas bir silindirle çevrili olan ve 38°C sıcaklığa ayarlanmış alüminyum bir plaka üzerine yerleştirilmiş ve ilk reaksiyonlarına kadar geçen süre kaydedilmiştir. Bu testte cut off süresi 30 saniye olarak belirlenmiştir (Beyreuther vd., 2007).



Şekil 4.4. İlk plaka test cihazı

4.5. Lokomotor Aktivitenin Değerlendirilmesi



Şekil 4.5. Aktivite kafesi test cihazı

Spontan lokomotor aktivitenin değerlendirilmesinde, şeffaf pleksiglas duvarları olan ve 40x40x31 cm ebatlarındaki aktivite kafesi cihazı (**Şekil 4.5.**) (Ugo-basile, 7420, Verase, İtalya) kullanılmıştır. Bu testte, deney hayvanlarının yatay ve dikey yönlerdeki hareketleri, cihazın karşılıklı kenarlarında yer alan parçalar aracılığıyla üretilen infrared ışın demetlerini kesintiye uğratmakta ve bu kesintiler cihaz tarafından otomatik olarak kaydedilmektedir. Bu çalışmada sıçanların yatay ve dikey yönlerdeki hareketleri 10 dakika boyunca kaydedilmiştir (Palenicek vd., 2005; Pitsikas vd., 2008).

4.6. Mekanizma Aydınlatmaya İlişkin Çalışmalar

Bu çalışmada, reboksetin'in 16 mg.kg⁻¹'lık dozu 8 mg.kg⁻¹'lık dozundan daha yüksek bir antihiperalezik ya da antiallodinik etkinlik göstermediğinden, mekanizma aydınlatmaya ilişkin çalışmalar için reboksetin'in 8 mg.kg⁻¹'lık dozu kullanılmıştır.

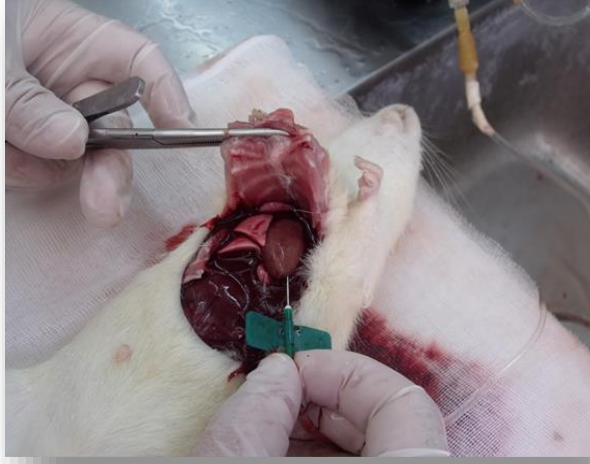
Reboksetin'in antihiperalezik ve antiallodinik etkilerine katekolaminerjik sistemin katılımının araştırılması amacıyla katekolamin sentez inhibitörü AMPT (200 mg.kg⁻¹; intraperitoneal, (*i.p.*)) ile mekanizma çalışmaları yapılmıştır (Fulford ve Marsden, 2007). AMPT çalışmalarında son SF ve reboksetin uygulamalarından 24 saat ve 1 saat önce AMPT (200 mg.kg⁻¹, *i.p.*) uygulanmıştır.

Daha sonra reboksetin'in antihiperalezik ve antiallodinik etkilerine adrenerjik reseptörlerin olası katılımını araştırmak üzere non-selektif α -adrenerjik reseptör blokörü fentolamin (5 mg.kg⁻¹, *i.p.*), non-selektif β -adrenerjik reseptör blokörü propranolol (5 mg.kg⁻¹, *i.p.*) (Barbaros vd., 2018), β_1 -adrenoseptör blokörü metoprolol (15 mg.kg⁻¹, *i.p.*) (Béique vd., 2000), β_2 -adrenoseptör blokörü ICI 118,551 (1 mg.kg⁻¹, *i.p.*) (Njung'e vd., 1993) ve β_3 -adrenoseptör blokörü SR 5923A (7,5 mg.kg⁻¹, *i.p.*) (Zhu vd., 2015) kullanılmıştır. Ayrıca, söz konusu etkilere dopaminerjik, kolinerjik ve δ -opioiderjik reseptörlerin olası katılımları dopamin D₁ reseptör blokörü SCH 23390 (0,5 mg.kg⁻¹, *i.p.*), dopamin D₂/D₃ reseptör blokörü sülpirid (30 mg.kg⁻¹, *i.p.*) (Forman, 1999), non-selektif muskarinik reseptör blokörü atropin (5 mg.kg⁻¹, *i.p.*) (Di Cesare Mannelli vd., 2009) ve δ -opioid reseptör blokörü naltrindol (3 mg.kg⁻¹, *i.p.*) (Juárez-Rojop vd., 2015) kullanılarak araştırılmıştır. Mekanizma çalışmaları için, antagonist enjeksiyonundan (*i.p.*) 30 dakika sonra reboksetin (kontrol grupları için SF)'in son dozu verilmiş ve sıçanlar 60 dakika sonra deneylere alınmıştır.

4.7. Morfolojik Çalışmalar

4.7.1. Deney hayvanlarının intrakardiyak perfüzyonu

Davranış testleri tamamlandıktan sonra, halotan ile anesteziye alınmış olan sıçanlar transkardiyal yolla perfüze edilmiştir (**Şekil 4.6**). Bu amaçla anestezi altındaki sıçanların kalplerinin sağ atriyumlarına yapılan kesi ile kan ve sıvı tahliyesi gerçekleştirilmiş ve ardından sol ventriküle yerleştirilmiş bir kateter yardımıyla peristaltik perfüzyon pompasına bağlantı sağlanmıştır. Sıçanlar bu pompa aracılığıyla önce 0,1 M fosfat tamponlu salin (PBS, pH 7,4) ile ardından da fosfat tamponu içindeki % 4'lük paraformaldehit ile perfüze edilerek doku tespitleri gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4.6. Deney hayvanlarının intrakardiyak perfüzyonu

4.7.2. Histolojik doku takibi

Fiksasyon solüsyonunda bir süre bekletilmiş olan disekte omuriliklerin L3-L5 seviyesindeki DRG'leri, Osmangazi Üniversitesi Anatomi Anabilim Dalı Laboratuvarları'ndaki olanaklar kullanılarak stereomikroskop yardımıyla disekte edilmiştir. Gangliyonlar, diseksiyonları tamamlandıktan sonra hemen %3'lük glutaraldehitli PBS solüsyonuna alınmıştır. Glutaraldehit solüsyonunda 4°C'de 24 saat bekletildikten sonra, dokular PBS solüsyonu ile 3 kez 15 dakika yıkanmıştır. Ardından dokular PBS ile hazırlanmış %1'lik osmiyum tetraoksit solüsyonu içerisine alınmış; rotatorda 2 saat oda sıcaklığında karıştırılarak fiksasyonları sağlanmıştır. Daha sonra PBS solüsyonu ile 3 kez 15 dakika yıkama işlemi tekrarlanmıştır.

Dokularda bulunan fazla suyun uzaklaştırılması amacıyla artan derecelerdeki alkol serilerinden geçirilerek dehidrasyon işlemi tamamlanmıştır. İşlemin basamaklar şöyledir:

- +4°C’de sırasıyla %30, %50, %70, %90, %95’lik alkol derecelerinin her birinde 15 dakika (2 defa)
- +4°C’de %100’lük alkolde 30 dakika (1 defa)
- Oda sıcaklığında %100’lük alkolde 30 dakika (1 defa)

Daha sonra, şeffaflaştırma aşaması için preparatlar 30 dakika süreyle 2 defa propilen oksitte bekletilmiştir. Ardından preparatlar eşit hacimde propilen oksit ve resin CY212 solüsyonu içerisinde rotatorda 2 saat karıştırılmış ve daha sonra örnekler saf resin CY212 solüsyonuna alınmış; 1 gece boyunca rotatorda karışmaya bırakılmıştır. Takip eden gün, araldit içeren kuyucuklara gömme işlemi gerçekleştirilerek örnekler 48 saat 60°C’de polimerizasyona bırakılmıştır.



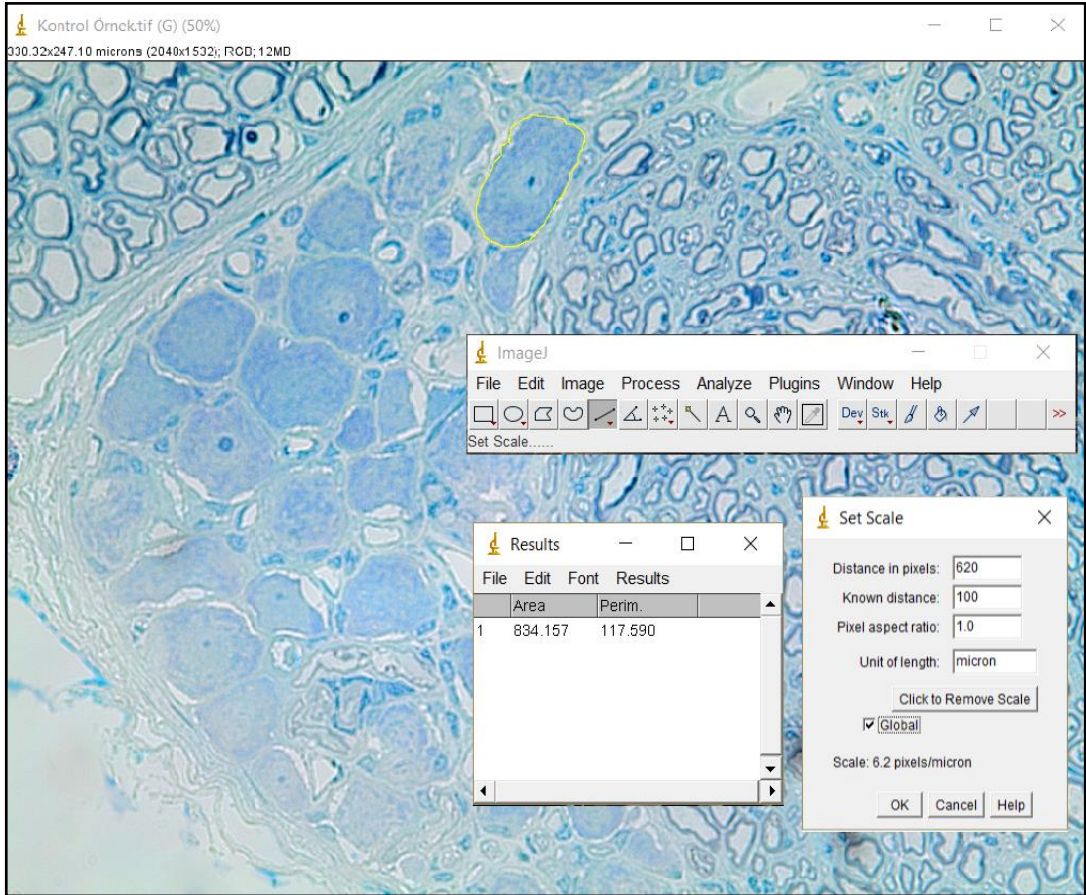
Şekil 4.7. Araldit bloklara gömülmüş dorsal kök gangliyonu numuneleri

Histolojik incelemeler için, Leica EM UC7 model ultramikrotom (Leica Camera AG., Wetzlar, Almanya) ile **Şekil 4.7.**'de görülen blokların 3 farklı bölgesinden 700 nm kalınlıkta kesitler alınmış ve bu yarı ince kesitler ışık mikroskopunda incelenmek üzere toluidin mavisi (%1) ile boyanmıştır (Motoka vd., 2002; Özatik vd., 2016).

Örneklerin fiksasyonları ve takipleri Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Elektron Mikroskop Görüntü ve Analiz Merkezi (ESOGÜSTEM)'nde gerçekleştirilmiştir.

4.7.3. Morfometrik analiz

Morfometrik incelemeler, 4X objektif lensli entegre kameralı Olympus CX31RTSF model (Olympus GmbH, Hamburg, Almanya) ışık mikroskobu ve LCmicro (Olympus GmbH, Hamburg, Almanya) bilgisayar destekli görüntüleme sistemi aracılığıyla gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan tüm kesitlerden 40X objektif altında dijital fotomikrogramlar alınmış ve ardından bu fotomikrogramlar ImageJ 1.50i (U.S. NIH, Bethesda, MD, ABD) görüntü analiz programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Toluidin mavisıyla boyanan DRG kesitlerinde görüntülenen nöronların somalarına ait alanların hesaplanmasında mikroskobik kalibrasyon skalası aracılığıyla büyütme faktörüne göre hesaplanan gerçek uzunluk birimleri kullanılmıştır.



Şekil 4.8. DRG nöronlarının soma alanlarının ImageJ görüntü analiz programı ile hesaplanması

Alan hesaplamaları sırasında, soma alanında kesit alma yüzeyinden meydana gelebilecek hataları ortadan kaldırmak amacıyla, nukleolusları görünür haldeki nukleuslu hücreler değerlendirmeye alınmıştır (Motoka vd., 2002; Kamiya vd., 2006). Bu şarta uygun olan nöronlardan deney hayvanı başına rastgele seçilen 100 adet hücre morfometrik değerlendirme için kullanılmıştır.

DRG nöronlarının soma alanlarının ImageJ görüntü analiz programı ile hesaplanmasına ilişkin görsel **Şekil 4.8.**'de sunulmuştur.

Morfolojik çalışmalar sağlıklı, diyabetik ve 8 mg.kg⁻¹ reboksetin uygulanmış diyabetik deney gruplarına ait hayvanların DRG preparatları üzerinde gerçekleştirilmiştir.

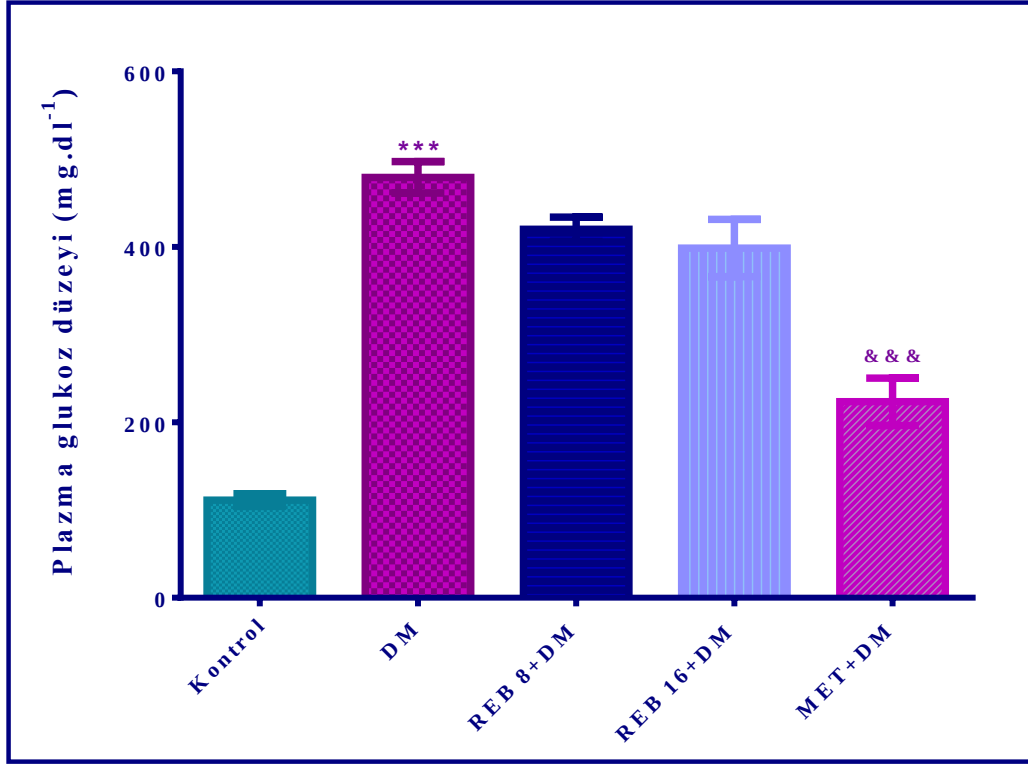
4.8. İstatistiksel Değerlendirme

Verilerin istatistiksel analizi, Graphpad Prism (ver. 6.01) paket programı ile gerçekleştirilmiştir. Gruplar arasında çoklu karşılaştırma yapmayı gerektiren veriler tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve ardından Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi uygulanarak analiz edilmiştir. Randall-Selitto, dinamik plantar, plantar, ılık plaka ve aktivite kafesi testlerinden elde edilen veriler ise çift yönlü ANOVA-tekrarlı ölçüm testi ve ardından Bonferroni çoklu karşılaştırma testi uygulanarak değerlendirilmiştir. Mekanizma çalışmalarından elde edilen veriler çift-yönlü ANOVA ve ardından Bonferroni çoklu karşılaştırma testleri ile değerlendirilmiştir. Sonuçlar ortalama $\pm$ ortalamanın standart hatası olarak verilmiştir. $p < 0,05$ değeri anlamlı kabul edilmiştir.

5. BULGULAR ve TARTIŞMA

5.1. Plazma Glukoz Ölçümlerine İlişkin Bulgular

Metformin (1000 mg.kg^{-1}) ve reboksetin (8 ve 16 mg.kg^{-1}) uygulamalarının diyabetik sıçanların plazma glukoz değerleri üzerine etkileri **Şekil 5.1.**'de gösterilmiştir [$F(4,35)=49,88$; $p<0,001$].



Şekil 5.1. 8 mg.kg^{-1} reboksetin (REB 8+DM), 16 mg.kg^{-1} reboksetin (REB 16+DM) ve 1000 mg.kg^{-1} metformin (MET+DM) uygulamalarının diyabetik (DM) sıçanların plazma glukoz değerleri üzerine etkileri, kontrole göre anlamlı farklılık *** $p<0,001$; DM grubuna göre anlamlı farklılık &&& $p<0,001$. Tek yönlü ANOVA, takiben Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi, $n=8$.

Bu tez çalışmasında, deneysel diyabet modeli oluşturmak üzere STZ adlı toksin kullanılmıştır. STZ (2-deoksi-2-[3-(metil-3-nitrozoureido)-D-glukopiranoz]) *Streptomyces achromogenes* tarafından sentezlenen bir antibiyotiktir. Pankreas'ın β hücrelerine toksik bir glukoz analogu olan bu bileşik hidrofilik özelliklidir ve hücre membranlarını glukozun GLUT2 taşıyıcıları aracılığı ile geçmektedir (Szkudelski, 2001; Lenzen, 2008). Deney hayvanlarında STZ uygulamasını takiben diyabet gelişimine en az üç farklı mekanizmanın aracılık ettiği bildirilmiştir (Lenzen, 2008). Bu mekanizmaların içinde en önemlisi DNA alkilasyonudur. İkinci olası mekanizma STZ'nin kimyasal yapısı ile ilişkilendirilmiştir. Araştırmalar bileşiğin taşıdığı nitrozo grubu nedeniyle nitrik oksit

açığa çıkarabilme potansiyeline dikkat çekmiş olmakla birlikte, hücre içi nitrik oksit salınımındaki artışın daha çok STZ'nin diyabetojenik etkisine aracılık edebilecek alternatif veya ek bir mekanizma olabileceği varsayılmaktadır. STZ'nin ROS üretimine neden olma kapasitesi ise üçüncü patolojik mekanizma olarak önerilmiştir ancak bunun deneysel diyabet modellerinde çok da kritik bir rol oynamadığı kabul edilmektedir. Tüm bu patolojik mekanizmaların nihai sonucunun DNA yıkımı olduğu açıktır (Radenković vd., 2016).

Plazma glukoz ölçümlerinden elde edilen verilerin Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi ile analizi, diyabetik sıçanların plazma glukoz değerlerinin kontrol grubuna göre kayda değer ölçüde yüksek olduğunu ortaya koymuştur ($p<0,001$). Dolayısıyla, bu çalışmada hedeflenen diyabet modelinin başarı ile oluşturulduğu söylenebilir.

Diyabetik sıçanlara referans ilaç metformin'in (1000 mg.kg^{-1}) uygulanması, diyabete bağlı olarak yükselmiş olan plazma glukoz seviyelerini düşürmüştür ($p<0,001$). Diğer yandan, reboksetin'in subakut uygulamaları (8 mg.kg^{-1} ve 16 mg.kg^{-1}) söz konusu hiperglisemi düzeyleri üzerine anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır. Literatürde reboksetin'in sağlıklı ya da diyabetik deneklerde plazma glukoz seviyelerini ne şekilde etkilediğine ilişkin bir tek araştırmaya rastlanmıştır. Söz konusu çalışmada reboksetin'in diyabetik sıçanlara $2,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ (*i.p.*) dozda 21 gün süre ile düzenli olarak uygulanmasının, bu hayvanların plazma glukoz ya da insülin düzeylerini değiştirmedeği rapor edilmiştir (Khanam ve Pillai, 2005). Reboksetin'in plazma glukoz düzeyini etkilemediğine ilişkin bu sonuçlar, bu tez çalışmasında elde edilen bulgular ile paralellik göstermektedir.

Hastaların diyabete bağlı komorbiditeler için kullandıkları ilaçların glisemik kontrolü etkilememesinin farmakoterapi açısından yararlı olacağı göz önünde bulundurulduğunda, bu açıdan nötr bir ilaç olan reboksetin'in diyabetik popülasyon için güvenli bir alternatif olabileceği düşünülebilir.

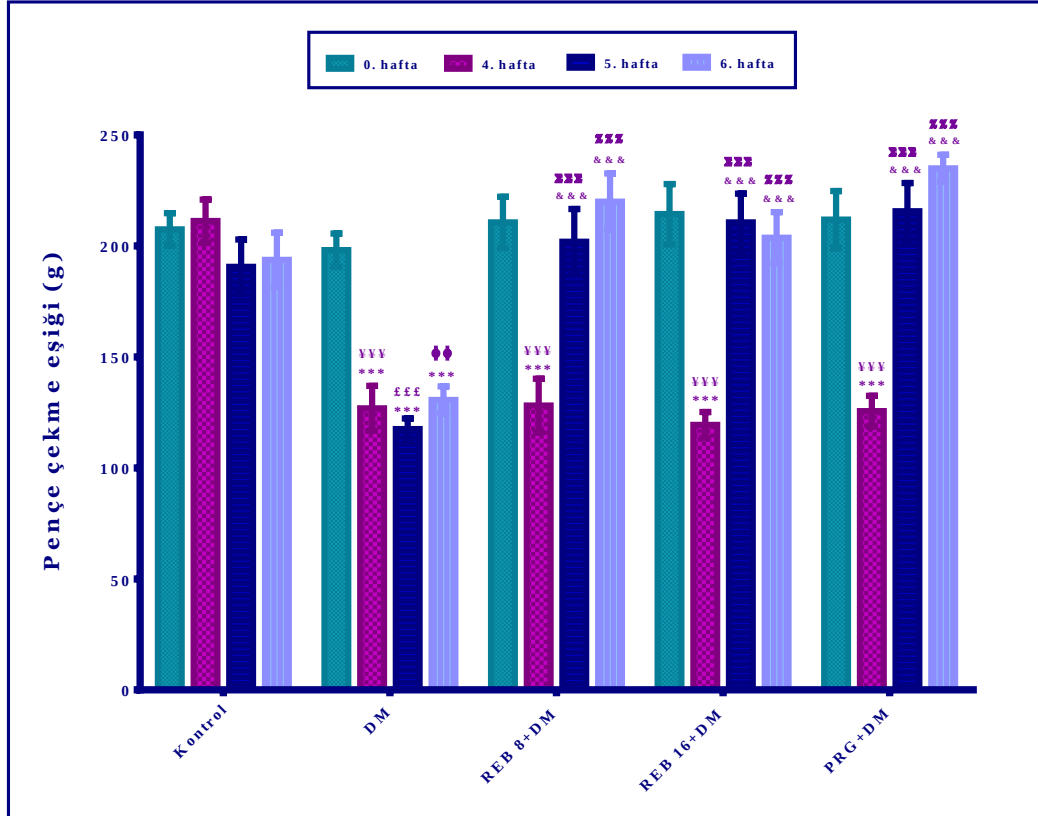
5.2. Nöropatik Ağrı Testlerine İlişkin Bulgular

5.2.1. Randall-Selitto testine ilişkin bulgular

Şekil 5.2.'de, pregabalin (10 mg.kg^{-1}) ve reboksetin (8 ve 16 mg.kg^{-1}) uygulamalarının diyabetik sıçanların pençe çekme eşikleri üzerine etkileri gösterilmiştir. Çift yönlü tekrarlı ANOVA sonuçları sıçanların Randall-Selitto testinde ölçülen pençe çekme eşikleri üzerinde hem tedavi faktörünün [$F(4,35)=15,21; p<0,001$] hem de zaman

faktörünün [F (3,105)=40,60; $p<0,001$] etkili olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca, tedavi ile zaman arasında anlamlı bir etkileşim bulunmaktadır [F (12,105)=8,41; $p<0,001$].

Bonferroni testi sonucunda, diyabetik sıçanların STZ uygulamalarından 4 hafta sonra ölçülen pençe çekme eşik değerlerinin diyabet öncesi değerlere göre istatistiksel olarak anlamlı biçimde azaldığı belirlenmiştir. Bu veriler, diyabet oluşturulan sıçanlarda mekanik ağırlı uyarana karşı hiperaljezi geliştiğini ortaya koymaktadır.



Şekil 5.2. 8 mg.kg⁻¹ reboksetin (REB 8+DM), 16 mg.kg⁻¹ reboksetin (REB 16+DM) ve 10 mg.kg⁻¹ pregabalin (PRG+DM) uygulamalarının diyabetik sıçanların Randall-Selitto testinde ölçülen pençe çekme değerleri üzerine etkileri. 0. haftaya göre anlamlı farklılık *** $p<0,001$; 4. haftaya göre anlamlı farklılık &&& $p<0,001$; 4. hafta kontrol grubuna göre anlamlı farklılık $\forall\forall\forall p<0,001$; 5. hafta kontrol grubuna göre anlamlı farklılık $\text{fff} p<0,001$; 6. hafta kontrol grubuna göre anlamlı farklılık $\phi\phi p<0,01$; 5. hafta DM grubuna göre anlamlı farklılık $\Sigma\Sigma\Sigma p<0,001$; 6. hafta DM grubuna göre anlamlı farklılık $\text{zzz} p<0,001$. Çift yönlü tekrarlı ANOVA, takiben Bonferroni çoklu karşılaştırma testi, $n=8$.

Hiperaljezi, nosiseptörlerde veya periferik sinirlerde hasar sonucu ağrıya karşı duyarlılık artışı olarak tanımlanabilir. Çalışmalar, STZ ile indüklenen diyabet modelinde mekanik uyarılara karşı hipersensitivitenin indüksiyonu izleyen ilk haftada bile başlayabildiğine işaret etmekle birlikte bu diyabet modelinde, mekanik hiperaljezinin tam

olarak gelişmesi için gerekli süre 2-8 hafta olarak kabul edilmektedir (Courteix vd., 1993; Malcangio ve Tomlinson, 1998; Chen ve Pan, 2002; Üçel vd., 2015; Aydın vd., 2016; Barbaros vd., 2018).

Deneysel diyabet modeli oluşturulmuş hayvanlarda mekanik hiperaljezi gelişimi, mekanoseptör sensitivitesindeki artış (Suzuki vd., 2002a; 2002b), DRG nöronlarında Ca^{+2} sinyalleşmesinde ve nitrik oksit üretiminde artış (Voitenko vd., 2000), primer sensöriyel nöronların uyarı eşiklerindeki azalma ve artmış ektopik deşarjlar (Chen ve Levine, 2001), P maddesi ve kolesistokinin salgısındaki artışlar (Kamei ve Zushida, 2001), spinal eksitator glutamat reseptörlerinin upregülasyonu ve glutamat salıverilmesindeki artış (Chen vd., 2009), PAG’da nitrik oksit sentezinde görülen artış (Jang vd., 2003), spinotalamik yolak nöronlarındaki sensitivite artışı (Chen ve Pan, 2002) ve omurilikte ağrılı uyaranların iletimini kontrol altında tutan inhibitör mekanizmalarda zayıflama (Malcangio ve Tomlinson, 1998) ile ilişkilendirmiştir.

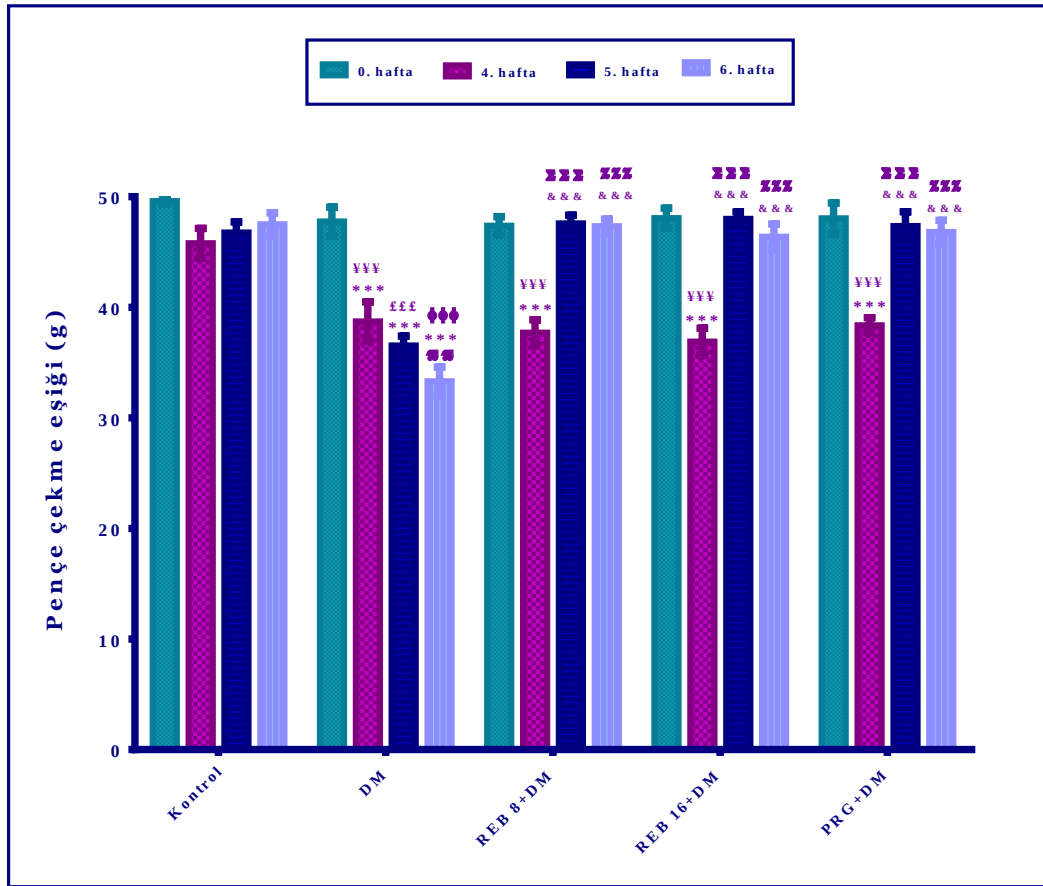
Diğer yandan, diyabetik hayvanlarda galanın reseptörü 1’in dorsal boynuzdaki ve galanın reseptörü 2’nin hem DRG hem de dorsal boynuzdaki ekspresyonlarında görülen azalmaların da mekanik hiperaljezi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Xu vd., 2012). Ayrıca, hiperglisemik koşullarda yüksek konsantrasyonlara ulaşan glikolitik bir metabolit olan metilglükoksal’ın duyuşal nöronları depolarize ettiği ve nosiseptif nöronların elektriksel uyarılabilirliğini artıran ve ateşlemeyi kolaylaştıran nosiseptör-spesifik Na^{+} kanalı olan Nav 1.8’in post-translasyonel modifikasyonuna neden olarak mekanik hiperaljezide rol oynadığı bildirilmiştir (Bierhaus vd., 2012).

Bu çalışmada, gerek referans ilaç pregabalin’in (10 mg.kg⁻¹) gerekse reboksetin’in subakut uygulamaları (8 ve 16 mg.kg⁻¹), diyabetik sıçanların pençe çekme eşik değerlerindeki söz konusu azalmayı istatistiksel olarak anlamlı biçimde artmıştır. Randall-Selitto testinde reboksetin’in her iki dozu da pençe çekme eşik değerlerini, sağlıklı sıçanların seviyesine geri çevirmekte referans ilaç pregabalin kadar etkili bulunmuştur (**Şekil 5.2.**). Elde edilen bu sonuçlar reboksetin’in mekanik uyaran aracılıklı hiperaljeziye karşı potent bir antihiperaljezik etkinliğe sahip olduğuna işaret etmiştir.

5.2.2. Dinamik plantar testine ilişkin bulgular

Pregabalin (10 mg.kg⁻¹) ve reboksetin (8 ve 16 mg.kg⁻¹) uygulamalarının diyabetik sıçanların pençe çekme eşikleri üzerine etkileri **Şekil 5.3.**’de gösterilmiştir. Çift yönlü tekrarlı ANOVA sonuçları sıçanların bu testte ölçülen pençe çekme eşikleri üzerinde

tedavi faktörünün [$F(4,35)=24,17$; $p<0,001$] ve zaman faktörünün [$F(3,105)=62,67$; $p<0,001$] etkili olduğunu ve tedavi ile zaman arasında anlamlı bir etkileşim bulunduğunu [$F(12,105)=11,86$; $p<0,001$] ortaya koymuştur. Bonferroni testi sonuçları, STZ uygulamalarından 4 hafta sonra diyabetik sıçanların pençe çekme eşik değerlerinin 0. haftada ölçülen pençe çekme eşik değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı biçimde azaldığını göstermiştir. Bu veriler, diyabet oluşturulan sıçanlarda mekanik uyarana karşı allodini geliştiğini ortaya koymaktadır.



Şekil 5.3. 8 mg.kg⁻¹ reboksetin (REB 8+DM), 16 mg.kg⁻¹ reboksetin (REB 16+DM) ve 10 mg.kg⁻¹ pregabalın (PRG+DM) uygulamalarının diyabetik sıçanların dinamik plantar testinde ölçülen pençe çekme eşik değerleri üzerine etkileri. 0. haftaya göre anlamlı farklılık *** $p<0,001$; 4. haftaya göre anlamlı farklılık &&& $p<0,001$; 4. hafta kontrol grubuna göre anlamlı farklılık $\forall\forall\forall p<0,001$; 5. hafta kontrol grubuna göre anlamlı farklılık $\ell\ell\ell p<0,001$; 6. hafta kontrol grubuna göre anlamlı farklılık $\phi\phi\phi p<0,001$; 5. hafta DM grubuna göre anlamlı farklılık $\Sigma\Sigma\Sigma p<0,001$; 6. hafta DM grubuna göre anlamlı farklılık $\chi\chi\chi p<0,001$. Çift yönlü tekrarlı ANOVA, takiben Bonferroni çoklu karşılaştırma testi, $n=8$.

Bu bulgular, diyabetik hayvanlarda mekanik allodini geliştiğini bildiren önceki çalışmaların bulguları ile uyumludur (Üçel vd., 2015; Aydın vd., 2016). Allodini,

normalde ağırlı olmayan bir uyarana karşı gelişen ağrı yanıtı olarak tanımlanabilir. Bu duruma DM'li hastaların yaklaşık % 30-50'sinde rastlanmaktadır (Bastyr vd., 2005; Gao ve Zheng, 2014). Diyabete bağlı olarak gelişen mekanik allodini ile ilişkilendirilen başlıca mekanizmalar; DRG nöronlarının uyarılabilirliğinin ve Nav1.7 ve p-EPK1/2 ekspresyonlarının artışı, PARP aktivasyonu ve artmış nitrozoatif stres olarak sıralanabilir (Illytska vd., 2006; Drel vd., 2007; Obrosova vd., 2007; Zhang vd., 2013). Literatürde, diyabetik koşullarda mekanik allodini gelişimini kannabinoid reseptörleri ile ilişkilendiren ve bu reseptörleri aktive eden ajanların nöropatik ağrıyı azalttığını ileri süren çalışmalar da bulunmaktadır (Ulugol vd., 2004; Vera vd., 2012).

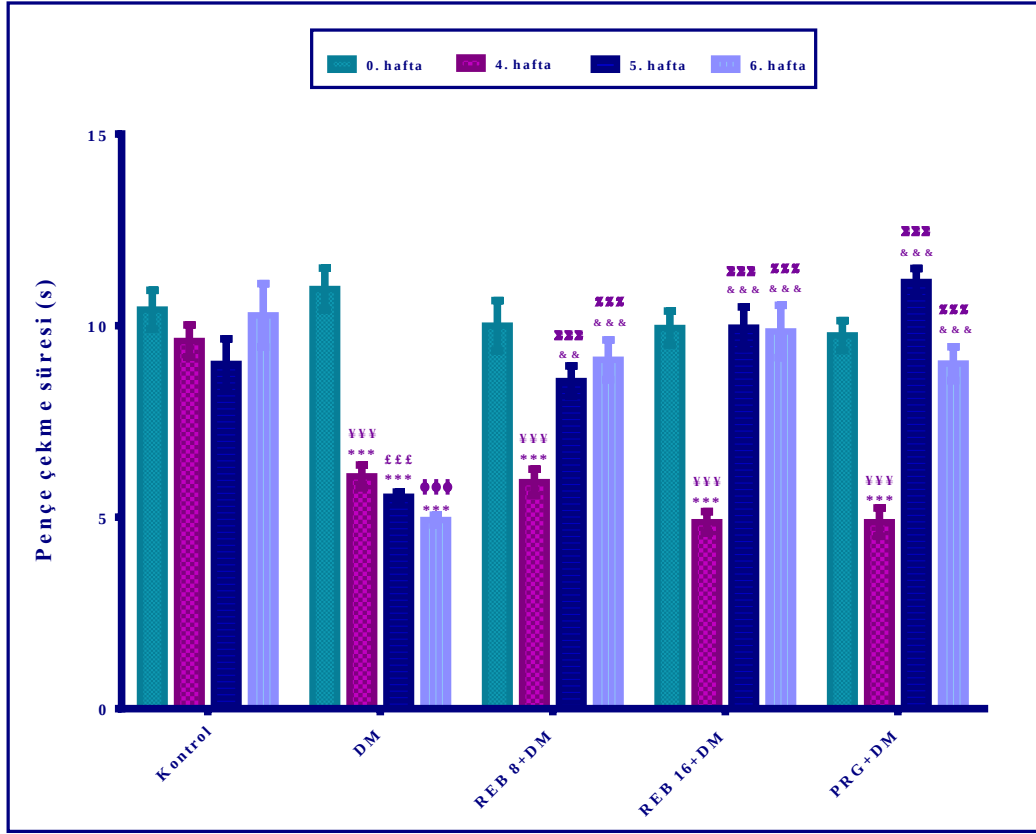
Bu çalışmada, referans ilaç pregabalin (10 mg.kg⁻¹) ve reboksetin (8 ve 16 mg.kg⁻¹) uygulamaları diyabetik sıçanların azalan pençe çekme eşik değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı biçimde artmasına neden olmuştur. Dinamik plantar testinde reboksetin'in her iki dozu da pençe çekme eşik değerlerini, sağlıklı sıçanların seviyesine geri çevirmekte referans ilaç pregabalin kadar etkili bulunmuştur (**Şekil 5.3.**). Elde edilen bu sonuçlar reboksetin'in mekanik uyarın aracılıklı allodiniye karşı potent bir antiallodinik etkinliğe sahip olduğuna işaret etmiştir.

5.2.3. Hargreaves testine (Plantar test) ilişkin bulgular

Şekil 5.4.'de, pregabalin (10 mg.kg⁻¹) ve reboksetin (8 ve 16 mg.kg⁻¹) uygulamalarının diyabetik sıçanların pençe çekme süreleri üzerine etkileri gösterilmiştir. Çift yönlü tekrarlı ANOVA sonuçları sıçanların bu testte ölçülen pençe çekme süreleri üzerinde hem tedavi faktörünün [F (4,35)=23,56; $p<0,001$] hem de zaman faktörünün [F (3,105)=55,71; $p<0,001$] etkili olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca, tedavi ile zaman arasında anlamlı bir etkileşim bulunmaktadır [F (12,105)=11,77; $p<0,001$].

Bonferroni testi sonucunda, diyabetik sıçanların STZ uygulamalarından 4 hafta sonra ölçülen pençe çekme sürelerinin diyabet öncesi değerlere göre istatistiksel olarak anlamlı biçimde azaldığı belirlenmiştir. Bu veriler, diyabet oluşturulan sıçanlarda termal ağrılı uyarana karşı hiperaljezi geliştiğini ortaya koymaktadır.

Termal hiperaljezi, STZ ile diyabet oluşturulan modellerde diyabetin indüklenmesini takip eden 2-8 hafta aralığında ortaya çıkan bir nöropati belirtisidir (Cameron vd., 2001b, 2001c; Calcutt vd., 2004; Li vd., 2005; Üçel vd., 2015; Aydın vd., 2016; Barbaros vd., 2018).



Şekil 5.4. 8 mg.kg⁻¹ reboksetin (REB 8+DM), 16 mg.kg⁻¹ reboksetin (REB 16+DM) ve 10 mg.kg⁻¹ pregabalin (PRG+DM) uygulamalarının diyabetik sıçanların plantar teste ölçülen pençe çekme süreleri üzerine etkileri. 0. haftaya göre anlamlı farklılık ***p<0,001; 4. haftaya göre anlamlı farklılık &&p<0,01; &&&p<0,001; 4. hafta kontrol grubuna göre anlamlı farklılık yyy p<0,001; 5. hafta kontrol grubuna göre anlamlı farklılık fff p<0,001; 6. hafta kontrol grubuna göre anlamlı farklılık φφφ p<0,001; 5. hafta DM grubuna göre anlamlı farklılık ΣΣΣ p<0,001; 6. hafta DM grubuna göre anlamlı farklılık zzz p<0,001. Çift yönlü tekrarlı ANOVA, takiben Bonferroni çoklu karşılaştırma testi, n=8.

Diyabetik hayvanlarda termal hiperaljezi oluşumunun omurilikte Aδ-liflerinden ziyade C-liflerinin hiperaktivitesine bağlı olduğu ileri sürülmüştür (Ohsawa ve Kamei, 1999a; 1999b). Termal hiperaljezinin moleküler düzeyde aldoz redüktaz (AR), protein kinaz C (PKC), poli (ADP-riboz) polimeraz (PARP) ve anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) aktivitelerindeki artış, oksidatif stres artışı, omurilikte toll-like reseptör 4'lerin upregülasyonu ve spinal RhoA/ROCK yolağının aktivasyonu gibi mekanizmalar ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir (Meller vd., 1992; Cotter vd., 2002; Obrosova vd., 2008; Ohsawa vd., 2011; Yan vd., 2012). Diğer yandan, omuriliğin lomber bölgesinde solubl guanilat siklaz aktivasyonunun da termal hiperaljeziye aracılık edebileceği gösterilmiştir.

Termal hiperaljezide DRG nöronlarında Ca^{+2} sinyalizasyonunda ve nöron uyarılabilirliğinde ve ayrıca Nav1.7 ve p-EPK1/2 ekspresyonlarında artış görüldüğü belirlenmiştir (Hall vd., 1996; Voitenko vd., 2000; Zhang vd., 2013). Ayrıca, metilglükoksal'ın, mekanik hiperaljeziye neden olduğu aynı mekanizma ile yani, nosiseptöre özgü Na^{+} kanalı Nav 1.8'in post-translasyonel modifikasyonunu indükleyerek, termal hiperaljezi oluşumuna da katkıda bulunduğu bildirilmiştir. Bu metabolitin kalsitonin geni ile ilişkili peptidin nörosalınımını kolaylaştırdığı ve siklooksijenaz-2 (COX-2) ekspresyonunu artırdığı da gösterilmiştir (Bierhaus vd., 2012).

Termal nosiseptif uyaran algısındaki bozukluk ilerlemiş diyabetik nöropati hastalarında “termal hipoaljezi” şeklinde ortaya çıkmaktadır. Nosiseptif uyaranların ağrı yollarında kesintiye uğramasına veya zayıflamasına bağlı olarak ortaya çıkan bu durum, deney hayvanlarında uzun dönem diyabet modelleri ile simüle edilebilmektedir (Calcutt vd., 2004; Cameron vd., 2005).

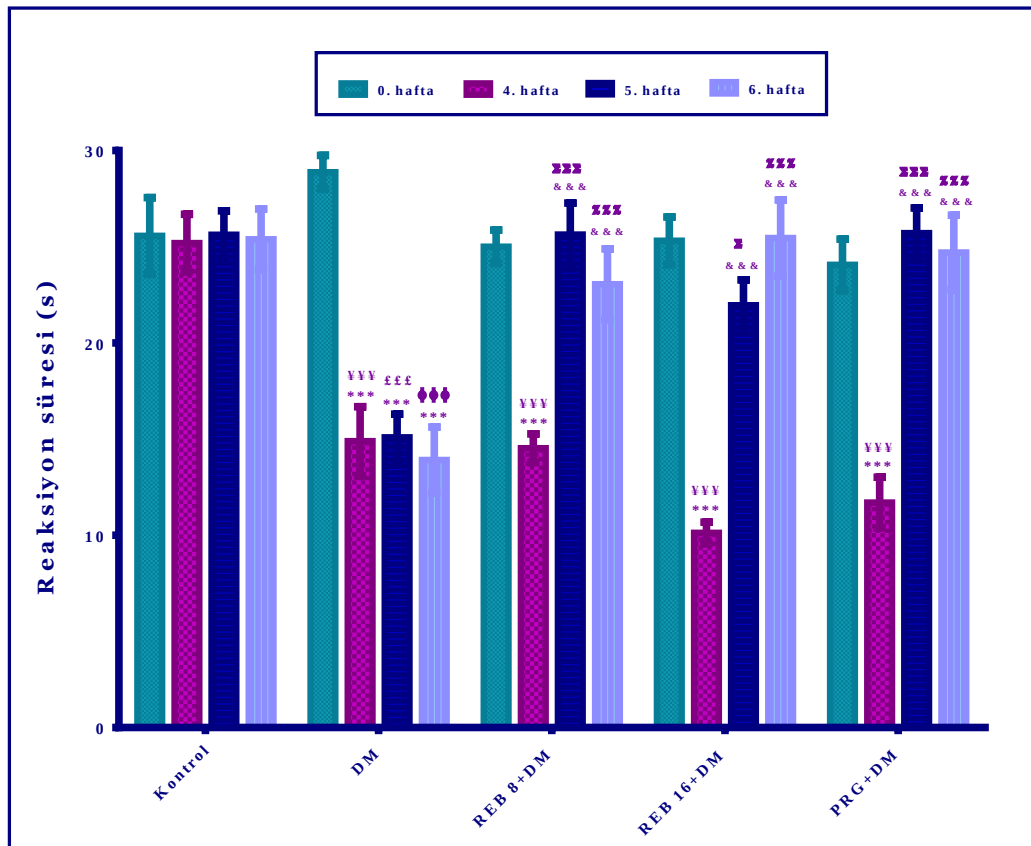
Bu tez çalışmasında, referans ilaç pregabalin (10 mg.kg^{-1}) ve reboksetin (8 ve 16 mg.kg^{-1}) uygulamaları diyabetik sıçanların azalan pençe çekme sürelerinin istatistiksel olarak anlamlı biçimde artmasına neden olmuştur. Plantar testte reboksetin'in her iki dozu da pençe çekme sürelerini, sağlıklı sıçanların seviyesine geri çevirmekte referans ilaç pregabalin kadar etkili bulunmuştur (**Şekil 5.4.**). Elde edilen bu sonuçlar reboksetin'in termal uyaran aracılığıyla hiperaljeziye karşı potent bir antihiperaljezik etkinliğe sahip olduğuna işaret etmiştir.

5.2.4. Ilık plaka testine ilişkin bulgular

Pregabalin (10 mg.kg^{-1}) ve reboksetin (8 ve 16 mg.kg^{-1}) uygulamalarının ılık plaka testinde diyabetik sıçanların reaksiyon süreleri üzerine etkileri **Şekil 5.5.**'de gösterilmiştir. Çift yönlü tekrarlı ANOVA sonuçları sıçanların bu testte ölçülen reaksiyon süreleri üzerinde tedavi faktörünün [$F(4,35)=9,44; p<0,001$] ve zaman faktörünün [$F(3,105)=53,17, p<0,001$] etkili olduğunu ve tedavi ile zaman arasında anlamlı bir etkileşim bulunduğunu [$F(12,105)=9,96; p<0,001$] ortaya koymuştur.

Bonferroni testi, STZ uygulamalarından 4 hafta sonra diyabetik sıçanların reaksiyon sürelerinin 0. haftada ölçülen reaksiyon sürelerine göre istatistiksel olarak anlamlı biçimde azaldığını göstermiştir. Diyabet oluşturulan sıçanlarda termal uyarana karşı allodini geliştiğini ortaya koyan bu bulgular, diyabete bağlı olarak termal allodini gelişimini rapor eden önceki çalışmaların sonuçlarını destekler niteliktedir (Beyreuther

vd., 2007; Bordet vd., 2008; Ohsawa ve Kamei, 1999a; 1999b; Üçel vd., 2015; Aydın vd., 2016).



Şekil 5.5. 8 mg.kg⁻¹ reboksetin (REB 8+DM), 16 mg.kg⁻¹ reboksetin (REB 16+DM) ve 10 mg.kg⁻¹ pregabalin (PRG+DM) uygulamalarının diyabetik sıçanların ılık plaka testinde ölçülen reaksiyon süreleri üzerine etkileri. 0. haftaya göre anlamlı farklılık ***p<0,001; 4. haftaya göre anlamlı farklılık &&&p<0,001; 4. hafta kontrol grubuna göre anlamlı farklılık &&&p<0,001; 5. hafta kontrol grubuna göre anlamlı farklılık &&&p<0,001; 6. hafta kontrol grubuna göre anlamlı farklılık &&&p<0,001; 5. hafta DM grubuna göre anlamlı farklılık Σp<0,05, ΣΣΣp<0,001; 6. hafta DM grubuna göre anlamlı farklılık &&&p<0,001. Çift yönlü tekrarlı ANOVA, takiben Bonferroni çoklu karşılaştırma testi, n=8.

Diyabetik hayvanlarda, termal hiperaljeziye benzer şekilde, termal allodini oluşumunun da omurilikte C-liflerinin hiperaktivitesi ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir (Ohsawa ve Kamei, 1999a; 1999b). Yine aynı çalışma grubu, diyabetik hayvanlarda riyanodin reseptörlerinin işlev bozukluğunun C liflerinin terminallerinde hiperaktiviteye, spinal dorsal boynuz nosiseptif nöronlarında sensitizasyona ve sonuç olarak da termal allodiniye neden olabileceğini ileri sürmüştür (Ohsawa ve Kamei, 1999b). Diyabetik hayvanlarda termal allodini gelişimi ile ilişkilendirilen diğer bir reseptör tipi ise baskın

olarak duyuşal nöronlar tarafından, özellikle de miyelinsiz C-lifler tarafından eksprese edilen ligand-kapılı, non-selektif katyon kanalları olan vanilloid reseptörleridir. Omuriliğın primer duyuşal nöronlarında vanilloid VR1 reseptörlerinin sensitizasyonu da termal allodininin altında yatan olası bir mekanizma olarak önerilmiştir (Kamei vd., 2001).

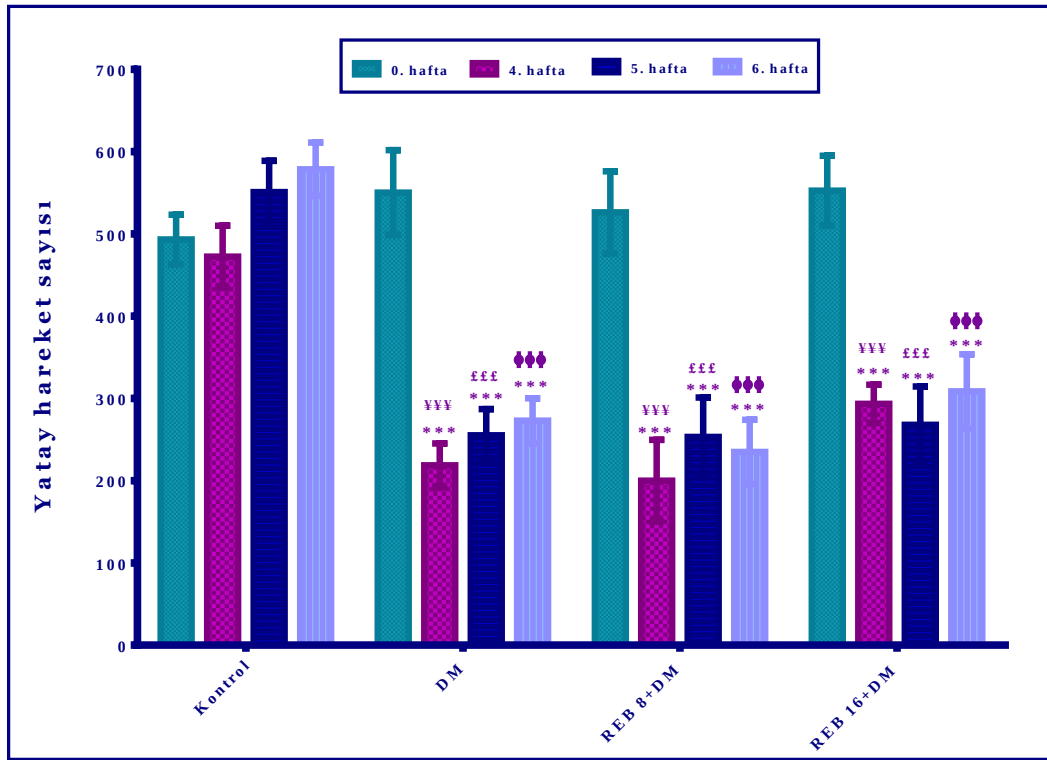
Bu çalışmada referans ilaç pregabalin (10 mg.kg⁻¹) ve reboksetin (8 ve 16 mg.kg⁻¹) uygulamaları diyabetik sıçanların azalan reaksiyon sürelerinin istatistiksel olarak anlamlı biçimde artmasına neden olmuştur. Ilık plaka testinde reboksetin'in her iki dozu da pençe çekme sürelerini, sağlıklı sıçanların seviyesine geri çevirmekte referans ilaç pregabalin kadar etkili bulunmuştur (**Şekil 5.5.**). Elde edilen bu sonuçlar reboksetin'in termal uyaran aracılıklı allodiniye karşı potent bir antiallodinik etkinliğe sahip olduğuna işaret etmiştir.

Nöropati testlerine ilişkin veriler birlikte değerlendirildiğinde, reboksetin'in diyabetik sıçanlarda mekanik ve termal uyaranlar ile indüklenen hiperaljezi ve allodini yanıtlarını önemli ölçüde zayıflattığı belirlenmiştir. Diğer yandan, reboksetin'in nöropatik ağrı üzerine etkilerini 8 mg.kg⁻¹ dozda gösterdiği, 16 mg.kg⁻¹'lık dozun ise söz konusu etkilerde ek bir artışa neden olmadığı görülmüştür. Bu bulgular, 8 mg.kg⁻¹'lık dozun tavan dozu olabileceğine ve reboksetin'in anthihiperaljezik ve antiallodinik etkilerinin bifazik özellikte olduğuna işaret etmektedir.

Reboksetin'in farelerde sıcak plaka testinde akut antinosiseptif etkinlik gösterdiğine (Schreiber vd., 2009), siyatik sinir hasarı ile nöropatik ağrının indüklendiği sıçanlarda mekanik uyaran ile oluşan allodiniyi zayıflattığına (Yalcin vd., 2009b), kronik konstrüksiyon hasarı uygulanan sıçanlarda termal hiperaljeziyi azalttığına (Pedersen vd., 2005), tibial sinir transeksiyonunun neden olduğu ağrıyı ve allodiniyi zayıflattığına (Hughes vd., 2013; Hughes vd, 2015) ve reboksetin'in monoamin geri alımını inhibe eden diğer ilaçlar ile birlikte kullanımının bu ilaçların nöropatik ağrı üzerine terapötik etkinliklerini potansiyelize ettiğine ilişkin önceki raporlar (Pedersen vd., 2005; Leventhal vd., 2007) bu çalışmada elde edilen bulguları destekler niteliktedir. Ayrıca, bu çalışmada sunulan bulgulara paralel olarak, reboksetin'in kapsaisin irritasyonuna bağlı ağrıyı tedavi etmekte etkili olduğuna (Schüler vd., 2002) ve hastalarda fibromiyaljiyi ve kronik bel ağrılarını hafiflettiğine (Krell vd., 2005) ilişkin klinik çalışmalara da rastlamak mümkündür. Diğer yandan, reboksetin'e etki mekanizması açısından son derece benzer bir sNRI olan atomoksetin'in de diyabetik nöropati kaynaklı hiperaljeziye karşı güçlü etkinlik gösterdiği rapor edilmiştir (Barbaros vd., 2018).

5.3. Lokomotor Aktivite Testlerine İlişkin Bulgular

Şekil 5.6.'da, reboksetin (8 ve 16 mg.kg⁻¹) uygulamalarının aktivite kafesi testinde diyabetik sıçanların yatay yöndeki spontan lokomotor aktivite sayıları üzerine etkileri gösterilmiştir. Çift yönlü tekrarlı ANOVA sonuçları sıçanların bu testte ölçülen yatay yöndeki spontan lokomotor aktivite sayıları üzerinde hem tedavi faktörünün [F (3,28)=20,23; $p<0,001$] hem de zaman faktörünün [F (3,84)=30,40; $p<0,001$] etkili olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca, tedavi ile zaman arasında anlamlı bir etkileşim bulunmaktadır [F (9,84)=5,01; $p<0,001$].



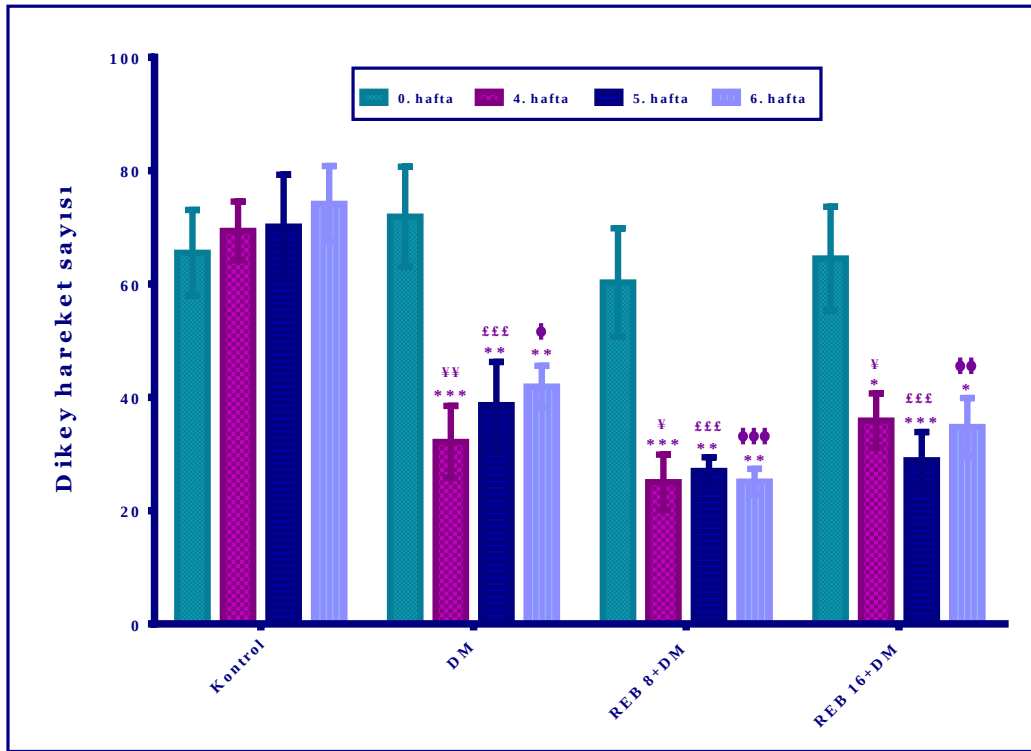
Şekil 5.6. 8 mg.kg⁻¹ reboksetin (REB 8+DM) ve 16 mg.kg⁻¹ reboksetin (REB 16+DM) uygulamalarının diyabetik sıçanların aktivite kafesi testinde ölçülen yatay hareket sayıları üzerine etkileri. 0. haftaya göre anlamlı farklılık *** $p<0,001$; 4. hafta kontrol grubuna göre anlamlı farklılık VVV $p<0,001$; 5. hafta kontrol grubuna göre anlamlı farklılık EEE $p<0,001$; 6. hafta kontrol grubuna göre anlamlı farklılık FFF $p<0,001$. Çift yönlü tekrarlı ANOVA, takiben Bonferroni çoklu karşılaştırma testi, $n=8$.

Bonferroni testi sonuçları, diyabetik sıçanların STZ uygulamalarından 4, 5 ve 6 hafta sonra ölçülen yatay aktivite sayılarının diyabet öncesi değerlere göre istatistiksel olarak anlamlı biçimde azaldığına işaret etmiştir (Şekil 5.6.).

Reboksetin (8 ve 16 mg.kg⁻¹) uygulamalarının aktivite kafesi testinde diyabetik sıçanların dikey yöndeki spontan lokomotor aktivite sayıları üzerine etkileri ise Şekil

5.7’de gösterilmiştir. Çift yönlü tekrarlı ANOVA sonuçları sıçanların bu testte ölçülen dikey yöndeki spontan lokomotor aktivite sayıları üzerinde tedavi faktörünün [F (3,28)=13,16; $p<0,001$] ve zaman faktörünün [F (3,84)=17,08; $p<0,001$] etkili olduğunu ve tedavi ile zaman arasında anlamlı bir etkileşim bulunduğunu [F (9,84)=3,12; $p<0,01$] ortaya koymuştur.

Bonferroni analizi sonuçları ise STZ uygulamalarından 4, 5 ve 6 hafta sonra diyabetik sıçanların dikey yöndeki spontan lokomotor aktivite sayılarının 0. hafta değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı biçimde azaldığını göstermiştir (Şekil 5.7.).



Şekil 5.7. 8 mg.kg⁻¹ reboksetin (REB 8+DM) ve 16 mg.kg⁻¹ reboksetin (REB 16+DM) uygulamalarının diyabetik sıçanların aktivite kafesi testinde ölçülen dikey hareket sayıları üzerine etkileri. 0. haftaya göre anlamlı farklılık * $p<0,05$; ** $p<0,01$; *** $p<0,001$; 4. hafta kontrol grubuna göre anlamlı farklılık $\text{¥}p<0,05$; $\text{¥¥}p<0,01$; 5. hafta kontrol grubuna göre anlamlı farklılık $\text{£££}p<0,001$; 6. hafta kontrol grubuna göre anlamlı farklılık $\text{£}p<0,05$; $\text{££}p<0,01$; $\text{£££}p<0,001$. Çift yönlü tekrarlı ANOVA, takiben Bonferroni çoklu karşılaştırma testi, $n=8$.

Bu çalışmada elde edilen bulgular deneysel diyabet modeli oluşturulan rodentlerde motor aktivitenin ve motor koordinasyon yeteneğinin bozulduğuna ilişkin önceki çalışmaların sonuçları ile örtüşmektedir (Shimizu vd., 1990; Wisniewski vd., 2003; van Lunteren vd., 2004; Nagayach vd., 2014; Bădescu vd., 2016; Niknia vd., 2018; Rasoulilian vd., 2018). Ancak, reboksetin uygulamaları diyabetik sıçanların ne yatay (Şekil 5.6.) ne

de dikey (**Şekil 5.7.**) aktivite sayıları üzerinde anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır. Bu bulgular, bu çalışmada reboksetin uygulamaları ile indüklenen antihiperaljezik ve antiallodinik etkilerin, sıçanların motor aktivitelerindeki herhangi bir değişiklik ile ilişkili olmadığını ortaya koyması açısından önemlidir.

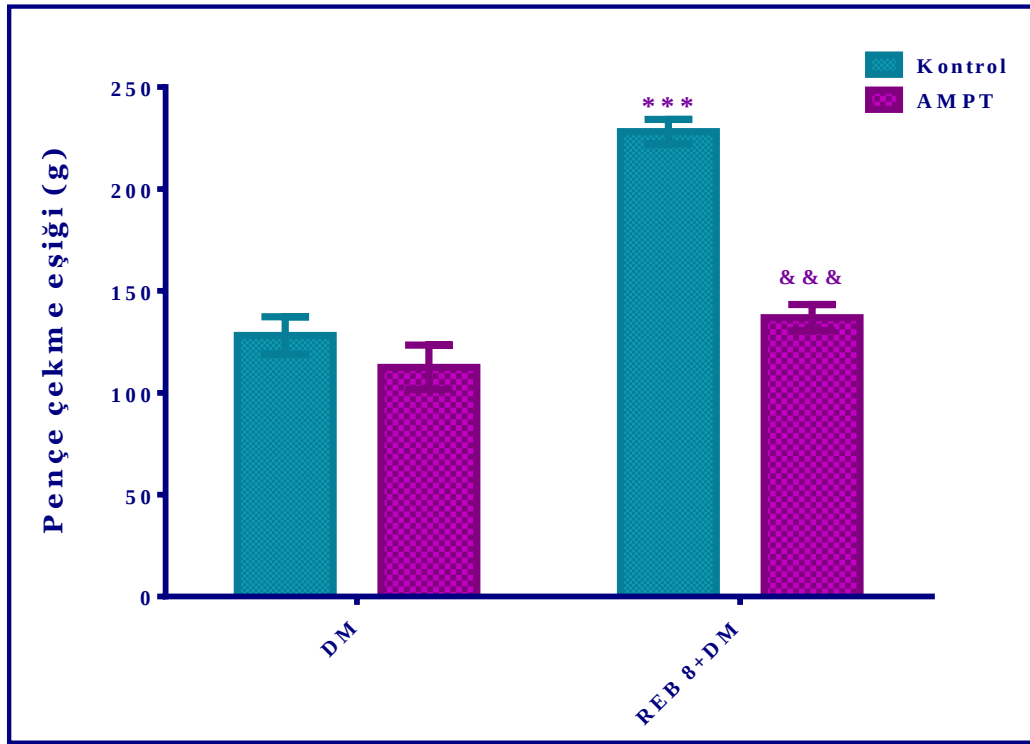
Bu tez çalışması kapsamında reboksetin'in diyabetik sıçanlarda mekanik ve termal uyarılar ile indüklenen allodini ve hiperaljezi yanıtları üzerine referans ilaç pregabalin ile kıyaslanabilir ölçüde potent ve özgün bir etkinliğe sahip olduğunun ortaya konulmasından sonra, söz konusu farmakolojik etkinin altında yatan olası mekanizmalar da aydınlatılmaya çalışılmıştır.

5.4. Mekanizma Çalışmalarına İlişkin Bulgular

5.4.1. AMPT uygulamalarına ilişkin bulgular

Antidepresanların analjezik etkilerini, esas olarak, ağrıyı baskılayan supraspinal inisi yolaklarda monoaminlerin geri alımlarını inhibe ederek gösterdikleri düşünülmektedir (Thor vd., 2007; Bannister vd., 2009; Yarnitsky, 2015; Zhang vd., 2016). Reboksetin'in antidepresan etki mekanizmasının noradrenalin geri alımının selektif inhibisyonu olduğu göz önünde bulundurulduğunda, bu ilacın anhihiperaljezik ve antiallodinik etkilerinin, noradrenerjik nörotransmisyonu potansiyelize etme kapasitesi ile ilişkili olabileceği açıktır. Bu nedenle, reboksetin'in antihiperaljezik ve antiallodinik etkilerinin altında yatan mekanizmaların aydınlatılmasına ilişkin çalışmalara, katekolamin sentezinin hız sınırlayıcı enzimi olan tirozin hidroksilaz'ı seçici olarak inhibe ederek noradrenalin ve dopamin sentezini azaltan bir ajan olan (Widerlov ve Lewveer, 1978; Onal vd., 2007) AMPT kullanılarak başlanmıştır.

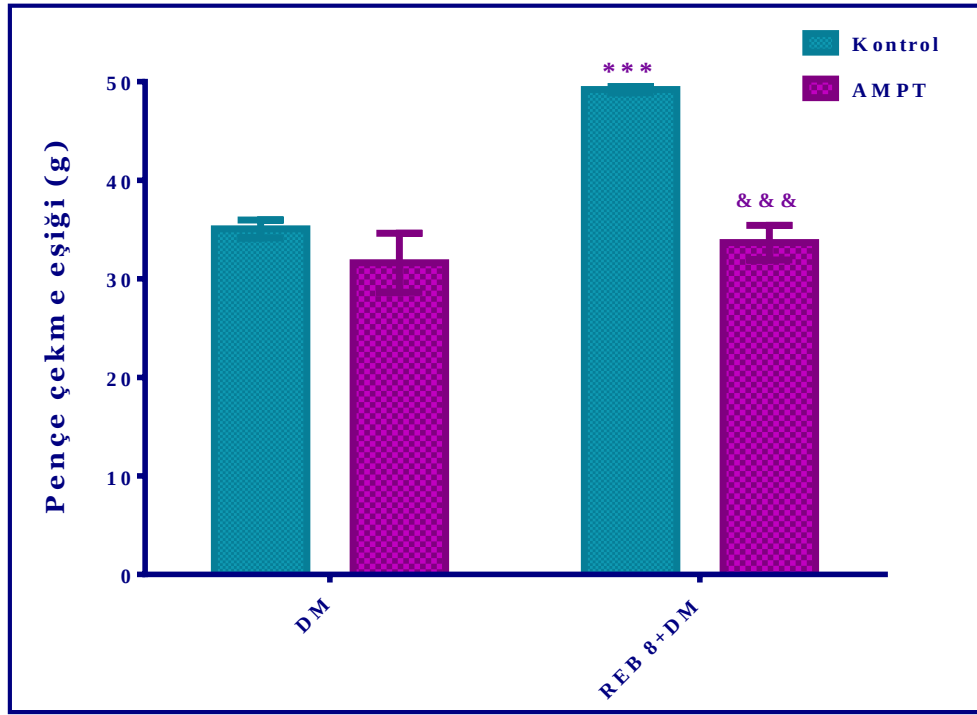
Randall-Selitto testinde 8 mg.kg⁻¹ reboksetin ile indüklenen antihiperaljezik yanıtlar üzerine AMPT uygulamasının etkileri **Şekil 5.8.**'de gösterilmiştir. Çift yönlü ANOVA sonuçları sıçanların bu testte ölçülen pençe çekme eşik değerleri üzerinde hem tedavi faktörünün [$F(1,28)=55,17; p<0,001$] hem de antagonist faktörünün [$F(1,28)=40,74; p<0,001$] etkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca, tedavi ile antagonist faktörleri arasında anlamlı bir etkileşim bulunmaktadır [$F(1,28)=20,40; p<0,001$]. Bonferroni çoklu karşılaştırma testi sonuçları ise AMPT uygulamasının reboksetin'in Randall-Selitto testindeki antihiperaljezik etkinliğini ortadan kaldırdığına işaret etmiştir ($p<0,001$) (**Şekil 5.8.**).



Şekil 5.8. AMPT (200 mg.kg^{-1} i.p., 2 kez) uygulamasının Randall-Selitto testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antihiperalezik yanıtlar üzerine etkisi. SF uygulanan diyabetik kontrol grubuna göre anlamlı farklılık *** $p<0,001$; 8 mg.kg^{-1} reboksetin uygulanan diyabetik gruba göre anlamlı farklılık &&& $p<0,001$. Çift yönlü ANOVA, takiben Bonferroni çoklu karşılaştırma testi, $n=8$.

Şekil 5.9., dinamik plantar testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine AMPT uygulamasının etkilerini göstermektedir. Çift yönlü ANOVA sonuçları sıçanların bu testte ölçülen pençe çekme eşik değerleri üzerinde hem tedavi faktörünün [$F(1,28)=20,29$; $p<0,001$] hem de antagonist faktörünün [$F(1,28)=27,82$; $p<0,001$] etkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca, tedavi ile antagonist faktörleri arasında anlamlı bir etkileşim bulunmaktadır [$F(1,28)=11,33$; $p<0,01$]. Çoklu karşılaştırma için yapılan Bonferroni analizi sonuçları ise AMPT uygulamasının reboksetin'in dinamik plantar testindeki antiallodinik etkinliğini ortadan kaldırdığına işaret etmiştir ($p<0,001$) (**Şekil 5.9**).

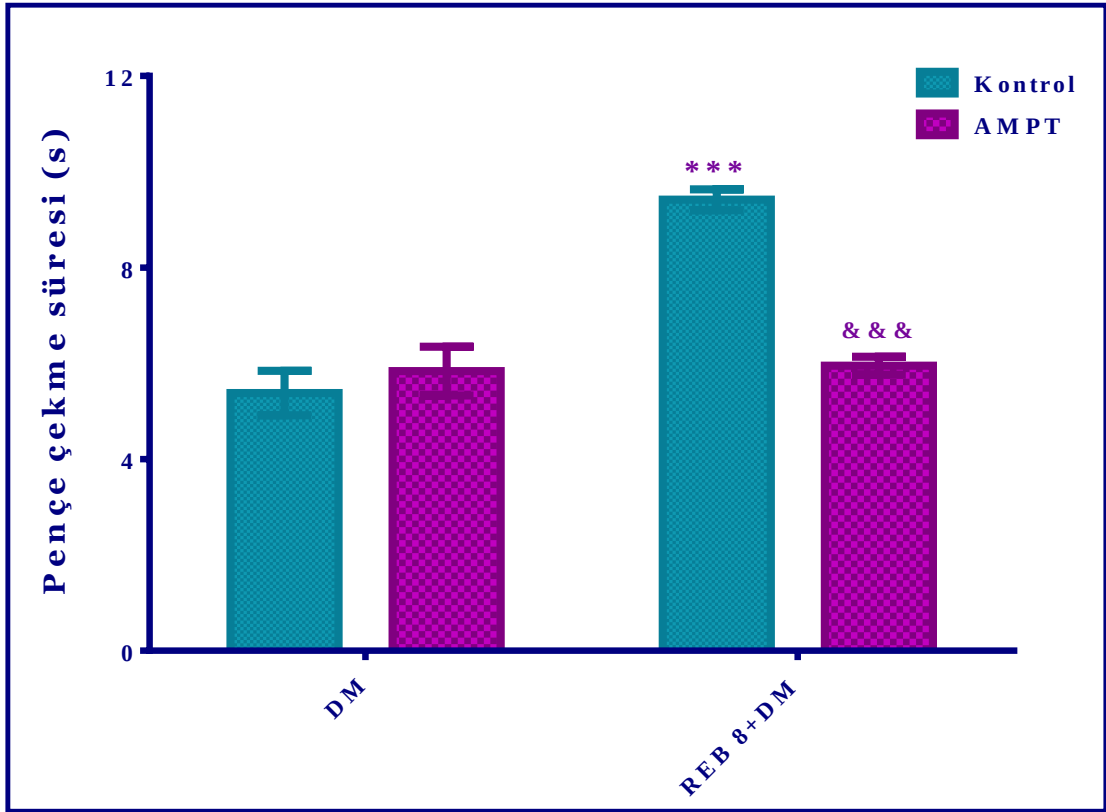
Plantar testte 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antihiperalezik yanıtlar üzerine AMPT uygulamasının etkileri **Şekil 5.10**'da gösterilmiştir.



Şekil 5.9. AMPT (200 mg.kg⁻¹ i.p., 2 kez) uygulamasının dinamik plantar testte 8 mg.kg⁻¹ reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine etkisi. SF uygulanan diyabetik kontrol grubuna göre anlamlı farklılık *** $p<0,001$; 8 mg.kg⁻¹ reboksetin uygulanan diyabetik gruba göre anlamlı farklılık &&& $p<0,001$. Çift yönlü ANOVA, takiben Bonferroni çoklu karşılaştırma testi, $n=8$.

Çift yönlü ANOVA sonuçları sıçanların bu testte ölçülen pençe çekme süreleri üzerinde hem tedavi faktörünün [$F(1,28)=30,87$; $p<0,001$] hem de antagonist faktörünün [$F(1,28)=16,30$; $p<0,001$] etkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca, tedavi ile antagonist faktörleri arasında anlamlı bir etkileşim bulunmaktadır [$F(1,28)=27,61$; $p<0,001$]. Bonferroni çoklu karşılaştırma testi sonuçları ise AMPT uygulamasının reboksetin'in plantar testteki antihiperalezik etkinliğini ortadan kaldırdığına işaret etmiştir ($p<0,001$) (Şekil 5.10).

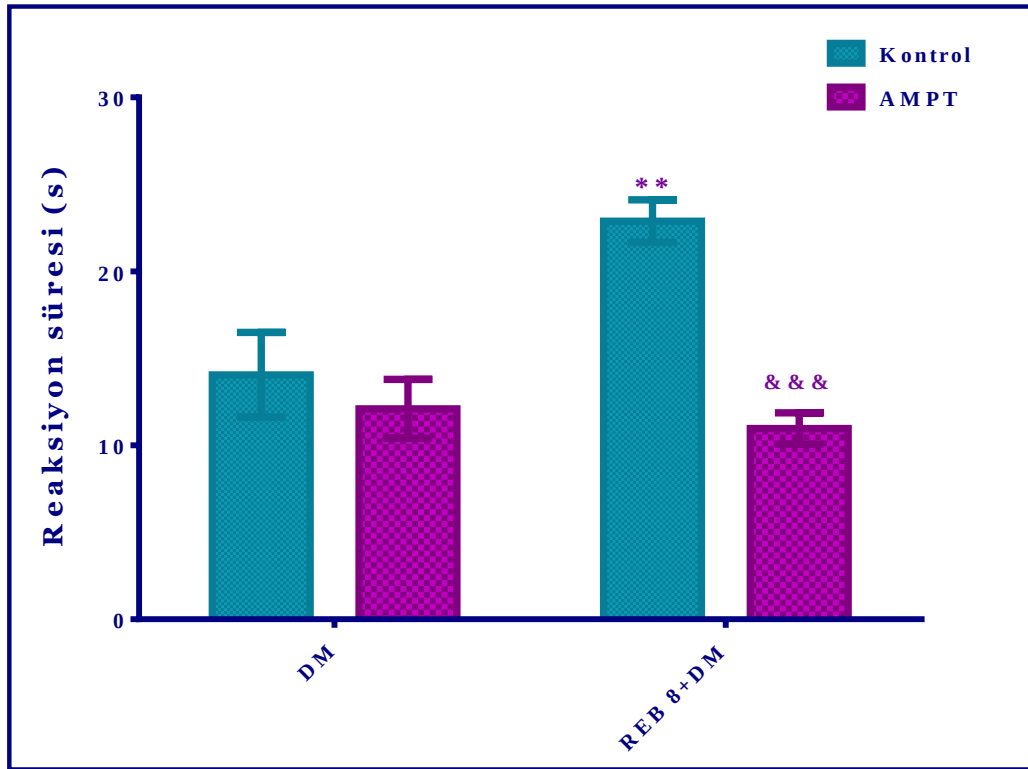
Şekil 5.11., ılık plaka testinde 8 mg.kg⁻¹ reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine AMPT uygulamasının etkilerini göstermektedir. Çift yönlü ANOVA sonuçları sıçanların bu testte ölçülen reaksiyon süreleri üzerinde hem tedavi faktörünün [$F(1,28)=5,33$; $p<0,05$] hem de antagonist faktörünün [$F(1,28)=17,32$; $p<0,001$] etkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca, tedavi ile antagonist faktörleri arasında anlamlı bir etkileşim bulunmaktadır [$F(1,28)=8,95$; $p<0,01$]. Çoklu karşılaştırma için yapılan Bonferroni analizi sonuçları ise AMPT uygulamasının reboksetin'in ılık plaka testindeki antiallodinik etkinliğini ortadan kaldırdığına işaret etmiştir ($p<0,001$) (Şekil 5.11).



Şekil 5.10. AMPT (200 mg.kg⁻¹ i.p., 2 kez) uygulamasının plantar testte 8 mg.kg⁻¹ reboksetin ile indüklenen antihiperalezik yanıtlar üzerine etkisi. SF uygulanan diyabetik kontrol grubuna göre anlamlı farklılık *** $p<0,001$; 8 mg.kg⁻¹ reboksetin uygulanan diyabetik gruba göre anlamlı farklılık &&& $p<0,001$. Çift yönlü ANOVA, takiben Bonferroni çoklu karşılaştırma testi, $n=8$.

Elde edilen veriler birlikte değerlendirildiğinde, AMPT uygulamalarının diyabetik sıçanlarda reboksetin ile indüklenen antihiperalezik ve antiallodinik etkileri tamamen ortadan kaldırdığı belirlenmiştir.

AMPT'nin, bu çalışmada olduğu biçimde, 200 mg.kg⁻¹ dozda 23 saat ara ile iki kez uygulanmasının, SSS'de noradrenalin seviyelerinde % 50-60'lık bir azalmaya neden olduğu bilinmektedir (Corrodi ve Hanson, 1966; Onal vd., 2007). Bu bilgiden hareketle, reboksetin'in nöropatik ağrı üzerine etkilerinin, santral katekolamin seviyelerindeki azalmaya duyarlı olduğu söylenebilir. Diğer bir ifade ile katekolaminerjik sistem reboksetin'in antihiperalezik ve antiallodinik etkilerinin ortaya çıkmasına, en azından kısmen, katkıda bulunmaktadır.



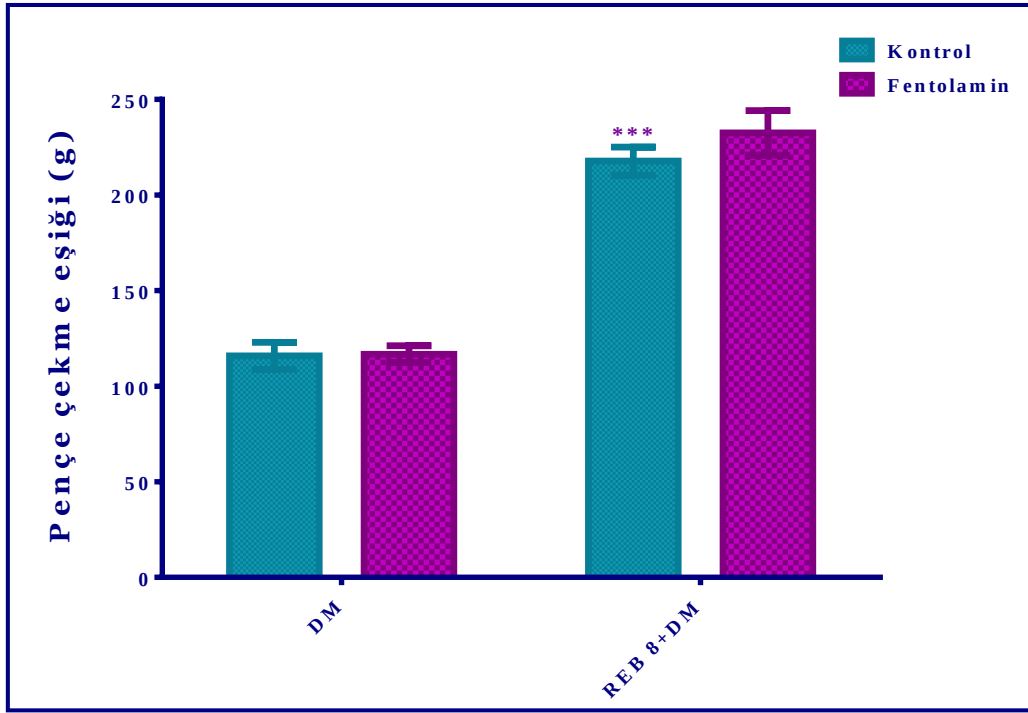
Şekil 5.11. AMPT (200 mg.kg⁻¹ i.p., 2 kez) uygulamasının ılık plaka testinde 8 mg.kg⁻¹ reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine etkisi. SF uygulanan diyabetik kontrol grubuna göre anlamlı farklılık ** $p<0,01$; 8 mg.kg⁻¹ reboksetin uygulanan diyabetik gruba göre anlamlı farklılık &&& $p<0,001$. Çift yönlü ANOVA, takiben Bonferroni çoklu karşılaştırma testi, $n=8$.

Bu bulgulardan ve reboksetin'in noradrenalin geri alım inhibitörü etkinliğinden hareketle, bu ilacın nöropatik ağrı üzerindeki farmakolojik etkisini, primer afferent nöronlardan spinal dorsal boynuza nosiseptif sinyal iletimini baskılayan supraspinal inisi noradrenerjik yolaktaki nörotransmisyonu artırarak göstermiş olması olası görünmektedir. Ancak, bu varsayımın ek çalışmalar ile doğrulanması gerekir. Diyabetin, noradrenerjik sistem de dâhil olmak üzere, SSS'de ağrıyı baskılayan inhibitör yollarındaki nörotransmitter sistemlerde ciddi işlevsel bozukluklara neden olduğu göz önünde bulundurulursa (Malcangio ve Tomlinson, 1998), reboksetin'in katekolaminerjik nörotransmisyonu güçlendirici etkinliğinin, diyabete bağlı nöropatik ağrının tedavisi açısından potansiyeli daha iyi anlaşılabilir (Barbaros vd., 2018).

Bu tez kapsamında, AMPT ile yapılan mekanizma çalışmalarından sonra, reboksetin'in diyabetik sıçanlardaki antihiperalezik ve antiallodinik etkilerine katekolaminerjik reseptörlerin olası katılımı araştırılmıştır.

5.4.2. Fentolamin uygulamalarına ilişkin bulgular

SSS’de noradrenalinin etkilerine aracılık eden reseptörlerden olan α -adrenerjik reseptörlerin nosisepsiyon ve ağrı ile ilişkili süreçlerde rol oynadıkları bilinmektedir (Taylor, 2009; Pertovaara, 2013; Zhu vd., 2013). Bu nedenle, α -adrenerjik reseptörlerin reboksetin’in diyabetik sıçanlardaki antihiperaljezik ve antiallodinik etkilerine olası katılımlarını araştırmak üzere non-selektif α -adrenerjik reseptör blokörü bir ajan olan fentolamin kullanılmıştır.

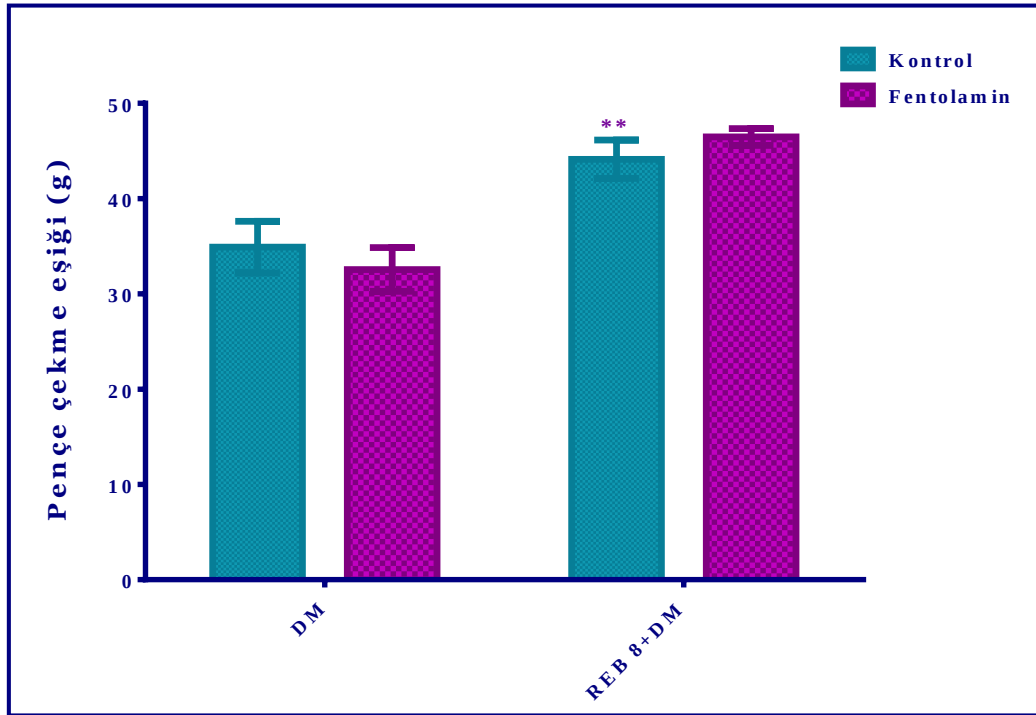


Şekil 5.12. Fentolamin (5 mg.kg^{-1} i.p.) uygulamasının Randall-Selitto testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antihiperaljezik yanıtlar üzerine etkisi. SF uygulanan diyabetik kontrol grubuna göre anlamlı farklılık *** $p<0,001$. Çift yönlü ANOVA, takiben Bonferroni çoklu karşılaştırma testi, $n=8$.

Randall-Selitto testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antihiperaljezik yanıtlar üzerine fentolamin uygulamasının etkileri **Şekil 5.12**'de gösterilmiştir. Çift yönlü ANOVA sonuçları sıçanların bu testte ölçülen pençe çekme eşik değerleri üzerinde tedavi faktörünün [$F(1,28)=183,0$; $p<0,001$] etkili olduğunu ancak antagonist faktörünün [$F(1,28)=0,94$; $p>0,05$] etkili olmadığını göstermiştir. Ayrıca, tedavi ile antagonist faktörleri arasında anlamlı bir etkileşim de bulunmamaktadır [$F(1,28)=0,74$; $p>0,05$]. Bonferroni çoklu karşılaştırma testi sonuçları ise fentolamin uygulamasının reboksetin'in

Randall-Selitto testindeki antihiperalezik etkinliğini ortadan kaldırmadığına işaret etmiştir ($p>0,05$) (Şekil 5.12).

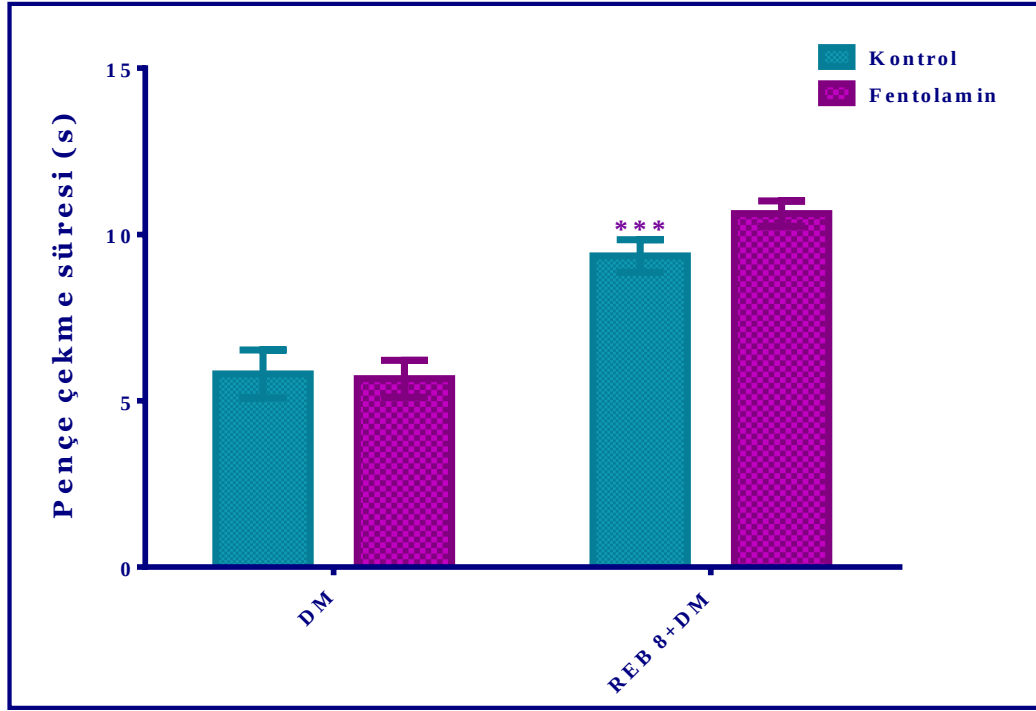
Şekil 5.13., dinamik plantar testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine fentolamin uygulamasının etkilerini göstermektedir. Çift yönlü ANOVA sonuçları sıçanların bu testte ölçülen pençe çekme eşik değerleri üzerinde tedavi faktörünün [$F(1,28)=30,61; p<0,001$] etkili olduğunu ancak antagonist faktörünün [$F(1,28)<0,01; p>0,05$] etkili olmadığını göstermiştir. Ayrıca, tedavi ile antagonist faktörleri arasında anlamlı bir etkileşim de bulunmamaktadır [$F(1,28)=1,26; p>0,05$]. Çoklu karşılaştırma için yapılan Bonferroni analizi sonuçları ise fentolamin uygulamasının reboksetin'in dinamik plantar testindeki antiallodinik etkinliğini ortadan kaldırmadığına işaret etmiştir ($p>0,05$) (Şekil 5.13).



Şekil 5.13. Fentolamin (5 mg.kg^{-1} i.p.) uygulamasının dinamik plantar testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine etkisi. SF uygulanan diyabetik kontrol grubuna göre anlamlı farklılık $**p<0,01$. Çift yönlü ANOVA, takiben Bonferroni çoklu karşılaştırma testi, $n=8$.

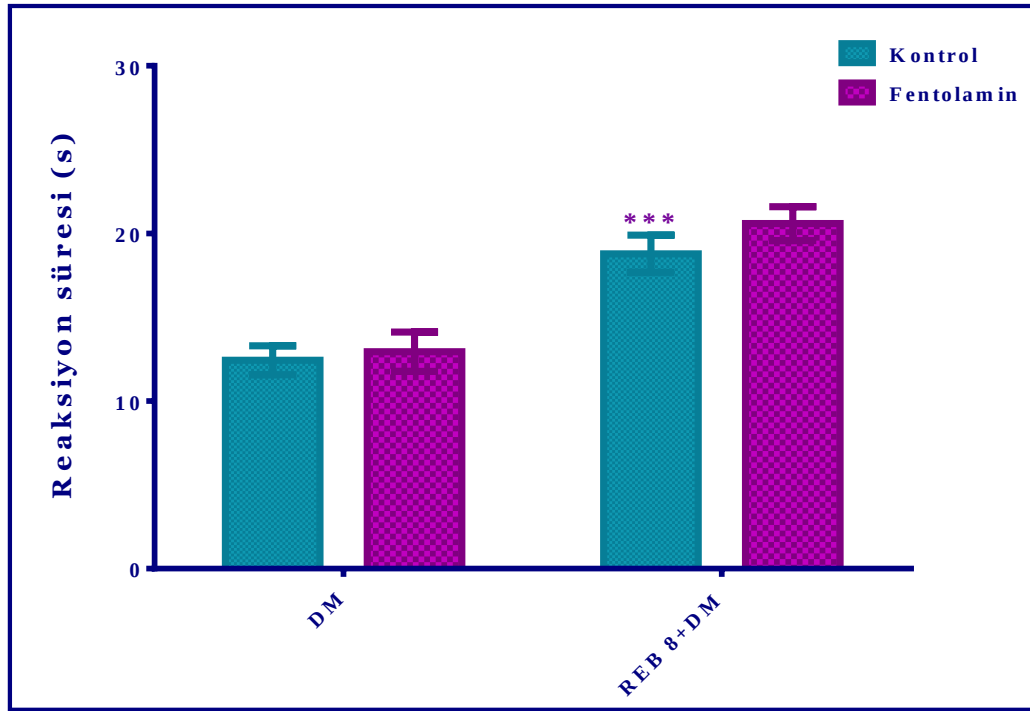
Plantar testte 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antihiperalezik yanıtlar üzerine fentolamin uygulamasının etkileri Şekil 5.14'de gösterilmiştir. Çift yönlü ANOVA sonuçları sıçanların bu testte ölçülen pençe çekme süreleri üzerinde tedavi faktörünün [$F(1,28)=59,70; p<0,001$] etkili olduğunu ancak antagonist faktörünün [$F(1,28)=1,05;$

$p>0,05$] etkili olmadığını göstermiştir. Ayrıca, tedavi ile antagonist faktörleri arasında anlamlı bir etkileşim de bulunmamaktadır [$F(1,28)=1,66$; $p>0,05$]. Çoklu karşılaştırma için yapılan Bonferroni analizi sonuçları ise fentolamin uygulamasının reboksetin'in plantar testteki antihiperalezik etkinliğini ortadan kaldırmadığına işaret etmiştir ($p>0,05$) (Şekil 5.14).



Şekil 5.14. Fentolamin (5 mg.kg^{-1} i.p.) uygulamasının plantar testte 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antihiperalezik yanıtlar üzerine etkisi. SF uygulanan diyabetik kontrol grubuna göre anlamlı farklılık *** $p<0,001$. Çift yönlü ANOVA, takiben Bonferroni çoklu karşılaştırma testi, $n=8$.

Şekil 5.15., ılık plaka testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine fentolamin uygulamasının etkilerini göstermektedir. Çift yönlü ANOVA sonuçları sıçanların bu testte ölçülen reaksiyon süreleri üzerinde tedavi faktörünün [$F(1,28)=44,69$; $p<0,001$] etkili olduğunu ancak antagonist faktörünün [$F(1,28)=1,22$; $p>0,05$] etkili olmadığını göstermiştir. Ayrıca, tedavi ile antagonist faktörleri arasında anlamlı bir etkileşim de bulunmamaktadır [$F(1,28)=0,38$; $p>0,05$]. Çoklu karşılaştırma için yapılan Bonferroni analizi sonuçları ise fentolamin uygulamasının reboksetin'in ılık plaka testindeki antiallodinik etkinliğini ortadan kaldırmadığına işaret etmiştir ($p>0,05$) (Şekil 5.15).



Şekil 5.15. Fentolamin ($5 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ i.p.}$) uygulamasının ılık plaka testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine etkisi. SF uygulanan diyabetik kontrol grubuna göre anlamlı farklılık *** $p < 0,001$. Çift yönlü ANOVA, takiben Bonferroni çoklu karşılaştırma testi, $n=8$.

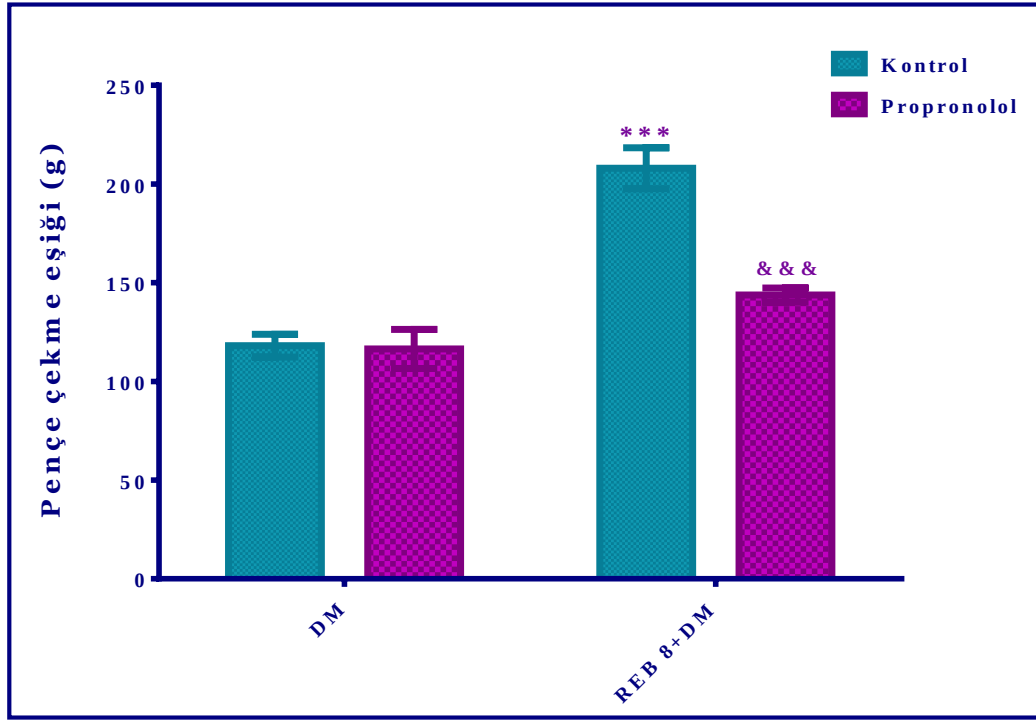
Fentolamin çalışmaları sonucunda, bu blokörün 5 mg.kg^{-1} dozda (*i.p.*) uygulanmasının reboksetin ile oluşan antihiperaljezik ve antiallodinik etkileri ortadan kaldırmadığı belirlenmiştir. Bu bulgular, reboksetin'in söz konusu farmakolojik etkilerinin α -adrenerjik reseptörlerden bağımsız olarak gerçekleştiğini düşündürmektedir.

5.4.3. Propranolol uygulamalarına ilişkin bulgular

SSS'de noradrenalin'in etkilerine aracılık eden diğer adrenerjik reseptörler olan β adrenoseptörlerin de nosisepsiyon ve analjezi ile yakından ilişkili olduğu bilinmektedir (Hartung vd., 2014; Zhang vd., 2018). Bu nedenle, β -adrenerjik reseptörlerin reboksetin'in diyabetik sıçanlardaki antihiperaljezik ve antiallodinik etkilerine olası katılımlarını araştırmak üzere non-selektif β -adrenerjik reseptör blokörü bir ajan olan propranolol ile mekanizma çalışmaları yapılmıştır.

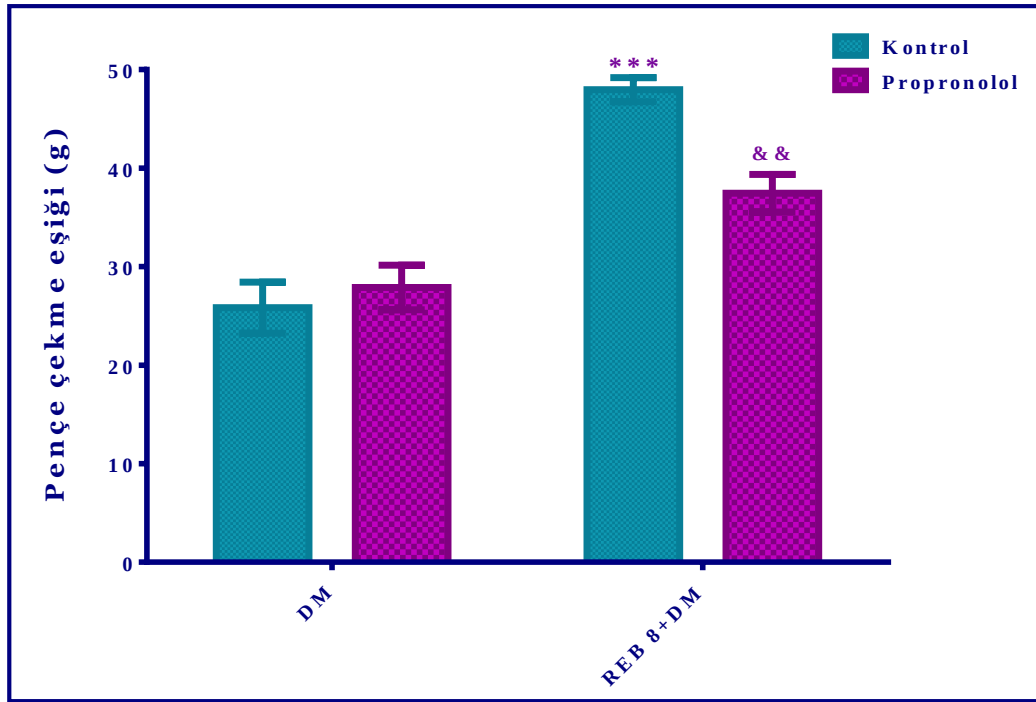
Randall-Selitto testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antihiperaljezik yanıtlar üzerine propranolol uygulamasının etkileri **Şekil 5.16**'da gösterilmiştir. Çift yönlü ANOVA sonuçları sıçanların bu testte ölçülen pençe çekme eşik değerleri üzerinde hem tedavi faktörünün [$F(1,28)=54,56$; $p < 0,001$] hem de antagonist faktörünün [F

(1,28)=17,26; $p<0,001$] etkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca, tedavi ile antagonist faktörleri arasında anlamlı bir etkileşim bulunmaktadır [F (1,28)=15,60; $p<0,001$]. Bonferroni çoklu karşılaştırma testi sonuçları ise propranolol uygulamasının reboksetin'in Randall-Selitto testindeki antihiperaljezik etkinliğini ortadan kaldırdığına işaret etmiştir ($p<0,001$) (Şekil 5.16).



Şekil 5.16. Propranolol (5 mg.kg^{-1} i.p.) uygulamasının Randall-Selitto testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antihiperaljezik yanıtlar üzerine etkisi. SF uygulanan diyabetik kontrol grubuna göre anlamlı farklılık *** $p<0,001$, 8 mg.kg^{-1} reboksetin uygulanan diyabetik gruba göre anlamlı farklılık &&& $p<0,001$. Çift yönlü ANOVA, takiben Bonferroni çoklu karşılaştırma testi, $n=8$.

Şekil 5.17., dinamik plantar testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine propranolol uygulamasının etkilerini göstermektedir. Çift yönlü ANOVA sonuçları sıçanların bu testte ölçülen pençe çekme eşik değerleri üzerinde hem tedavi faktörünün [F (1,28)=58,99; $p<0,001$] hem de antagonist faktörünün [F (1,28)=4,20; $p<0,05$] etkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca, tedavi ile antagonist faktörleri arasında anlamlı bir etkileşim bulunmaktadır [F (1,28)=9,23; $p<0,01$]. Çoklu karşılaştırma için yapılan Bonferroni analizi sonuçları ise propranolol uygulamasının reboksetin'in dinamik plantar testindeki antiallodinik etkinliğini ortadan kaldırdığına işaret etmiştir ($p<0,01$) (Şekil 5.17).

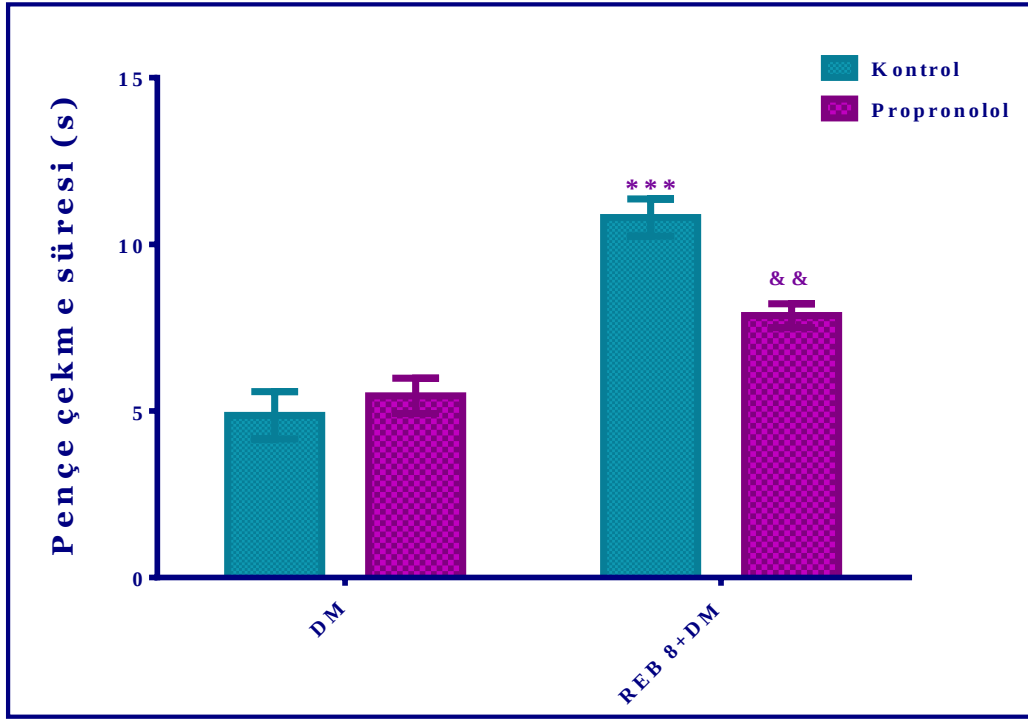


Şekil 5.17. Propranolol (5 mg.kg^{-1} i.p.) uygulamasının dinamik plantar testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine etkisi. SF uygulanan diyabetik kontrol grubuna göre anlamlı farklılık *** $p<0,001$; 8 mg.kg^{-1} reboksetin uygulanan diyabetik gruba göre anlamlı farklılık && $p<0,01$. Çift yönlü ANOVA, takiben Bonferroni çoklu karşılaştırma testi, $n=8$.

Plantar testte 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antihiperaljezik yanıtlar üzerine propranolol uygulamasının etkileri **Şekil 5.18**'de gösterilmiştir. Çift yönlü ANOVA sonuçları sıçanların bu testte ölçülen pençe çekme süreleri üzerinde hem tedavi faktörünün [$F(1,28)=56,66$; $p<0,001$] hem de antagonist faktörünün [$F(1,28)=4,52$; $p<0,05$] etkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca, tedavi ile antagonist faktörleri arasında anlamlı bir etkileşim bulunmaktadır [$F(1,28)=10,12$; $p<0,01$]. Bonferroni çoklu karşılaştırma testi sonuçları ise propranolol uygulamasının reboksetin'in plantar testteki antihiperaljezik etkinliğini ortadan kaldırdığına işaret etmiştir ($p<0,01$) (**Şekil 5.18**).

Şekil 5.19., ılık plaka testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine propranolol uygulamasının etkilerini göstermektedir. Çift yönlü ANOVA sonuçları sıçanların bu testte ölçülen reaksiyon süreleri üzerinde hem tedavi faktörünün [$F(1,28)=18,65$; $p<0,001$] hem de antagonist faktörünün [$F(1,28)=18,95$; $p<0,001$] etkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca, tedavi ile antagonist faktörleri arasında anlamlı bir etkileşim bulunmaktadır [$F(1,28)=22,73$; $p<0,001$]. Çoklu karşılaştırma için yapılan Bonferroni analizi sonuçları ise propranolol uygulamasının reboksetin'in ılık plaka

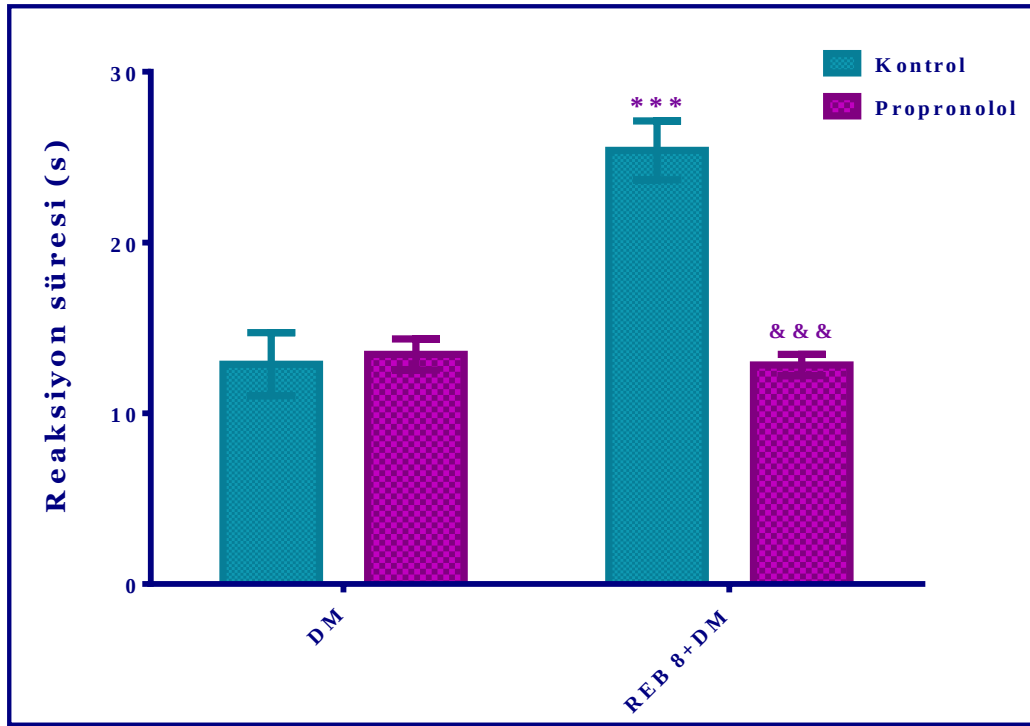
testindeki antiallodinik etkinliğini ortadan kaldırdığına işaret etmiştir ($p<0,001$) (Şekil 5.19).



Şekil 5.18. Propranolol ($5 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ i.p.}$) uygulamasının plantar testte 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antihiperalezik yanıtlar üzerine etkisi. SF uygulanan diyabetik kontrol grubuna göre anlamlı farklılık *** $p<0,001$; 8 mg.kg^{-1} Reboksetin uygulanan diyabetik gruba göre anlamlı farklılık && $p<0,01$. Çift yönlü ANOVA, takiben Bonferroni çoklu karşılaştırma testi, $n=8$.

Propranolol çalışmaları sonucunda, bu blokörün 5 mg.kg^{-1} dozda (*i.p.*) uygulanmasının reboksetin ile oluşan antihiperalezik ve antiallodinik etkileri güçlü biçimde antagonize ettiği belirlenmiştir. Bu bulgulardan hareketle, β -adrenerjik reseptörlerin reboksetin'in söz konusu farmakolojik etkilerine, en azından kısmen, aracılık ettiği ileri sürülebilir.

Reboksetin'in nöropatik ağrı üzerine yararlı etkilerinin β -adrenerjik reseptörler ile ilişkili olduğunun ortaya koyulmasının ardından, bu etkiye hangi β -adrenerjik reseptör alt-tipinin aracılık ettiği de aydınlatılmaya çalışılmıştır.



Şekil 5.19. Propranolol (5 mg.kg^{-1} i.p.) uygulamasının ılık plaka testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine etkisi. SF uygulanan diyabetik kontrol grubuna göre anlamlı farklılık *** $p<0,001$; 8 mg.kg^{-1} Reboksetin uygulanan diyabetik gruba göre anlamlı farklılık &&& $p<0,001$. Çift yönlü ANOVA, takiben Bonferroni çoklu karşılaştırma testi, $n=8$.

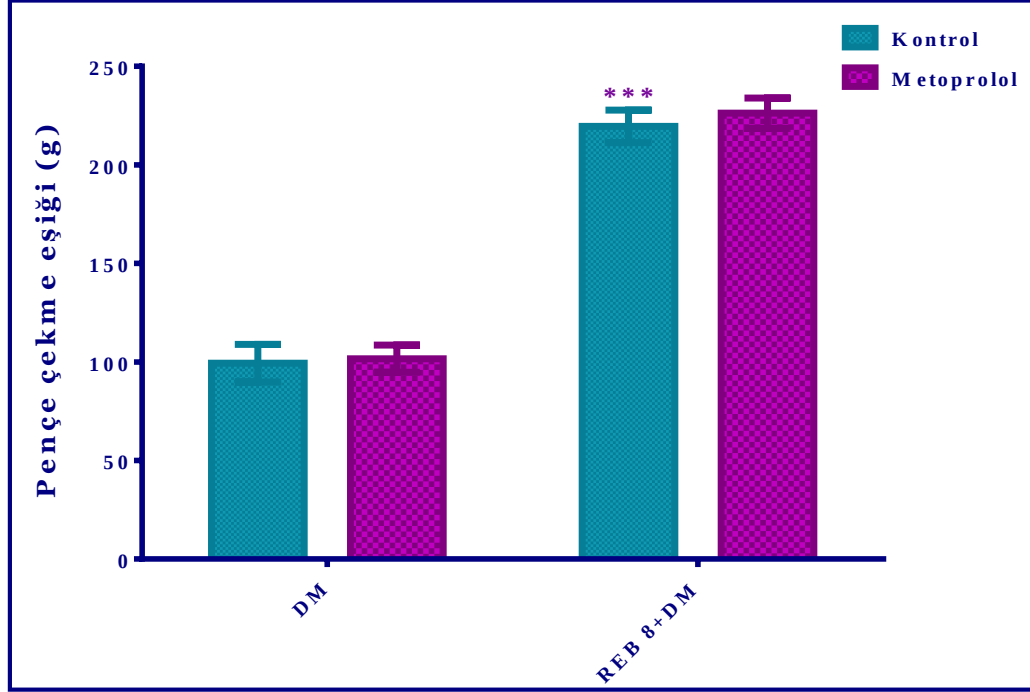
5.4.4. Metoprolol uygulamalarına ilişkin bulgular

Reboksetin'in diyabetik sıçanlardaki antihiperaljezik ve antiallodinik etkilerine β_1 -adrenerjik reseptörlerin katılıp katılmadığını araştırmak üzere, β_1 -adrenerjik reseptörlerin selektif blokörü bir ilaç olan metoprolol kullanılmıştır.

Randall-Selitto testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antihiperaljezik yanıtlar üzerine metoprolol uygulamasının etkileri **Şekil 5.20'**de gösterilmiştir. Çift yönlü ANOVA sonuçları sıçanların bu testte ölçülen pençe çekme eşik değerleri üzerinde tedavi faktörünün [$F(1,28)=224,9$; $p<0,001$] etkili olduğunu ancak antagonist faktörünün [$F(1,28)=0,30$; $p>0,05$] etkili olmadığını göstermiştir. Ayrıca, tedavi ile antagonist faktörleri arasında anlamlı bir etkileşim de bulunmamaktadır [$F(1,28)=0,08$; $p>0,05$]. Bonferroni çoklu karşılaştırma testi sonuçları ise metoprolol uygulamasının reboksetin'in Randall-Selitto testindeki antihiperaljezik etkinliğini ortadan kaldırmadığına işaret etmiştir ($p>0,05$) (**Şekil 5.20**).

Şekil 5.21. ise, dinamik plantar testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine metoprolol uygulamasının etkilerini göstermektedir. Çift

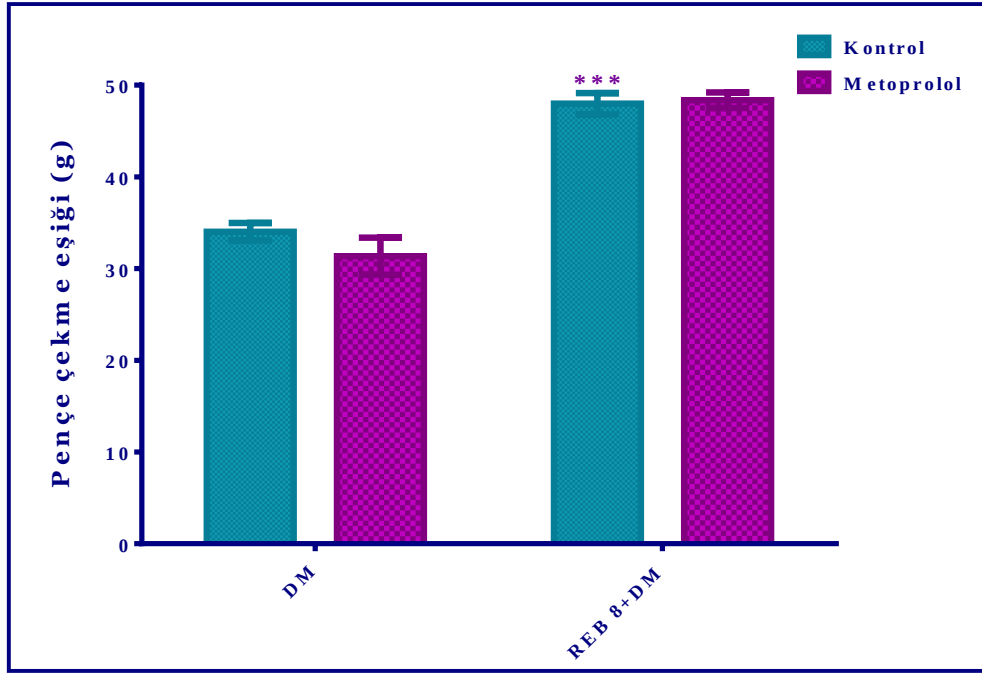
yönlü ANOVA sonuçları sıçanların bu testte ölçülen pençe çekme eşik değerleri üzerinde tedavi faktörünün [$F(1,28)=135,5; p<0,001$] etkili olduğunu ancak antagonist faktörünün [$F(1,28)=0,74; p>0,05$] etkili olmadığını göstermiştir.



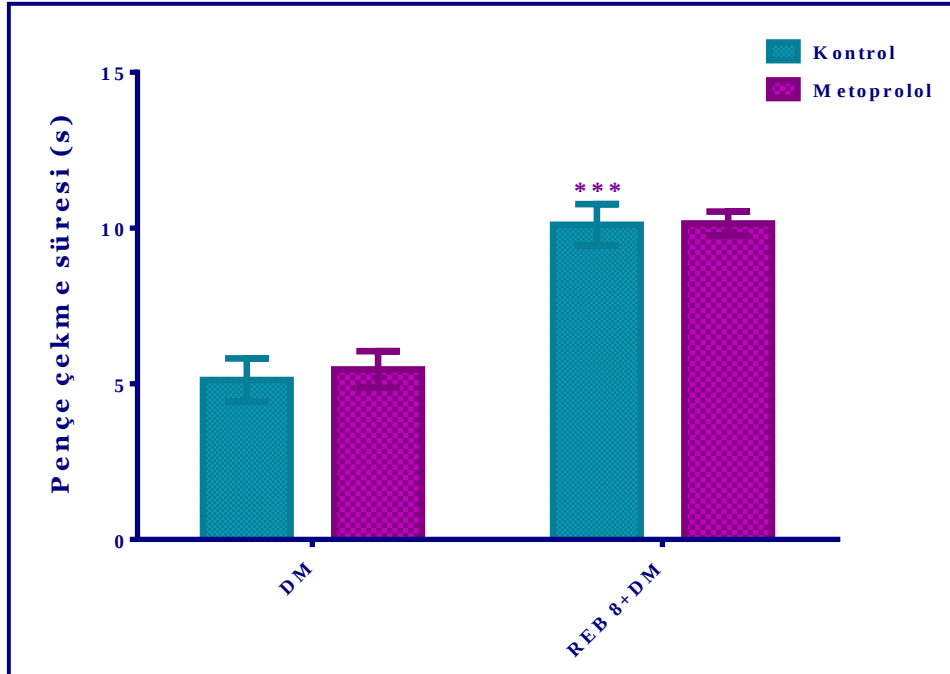
Şekil 5.20. Metoprolol ($15 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ i.p.}$) uygulamasının Randall-Selitto testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antihiperalezik yanıtlar üzerine etkisi. SF uygulanan diyabetik kontrol grubuna göre anlamlı farklılık *** $p<0,001$. Çift yönlü ANOVA, takiben Bonferroni çoklu karşılaştırma testi, $n=8$.

Ayrıca, tedavi ile antagonist faktörleri arasında anlamlı bir etkileşim de bulunmamaktadır [$F(1,28)=1,32; p>0,05$]. Çoklu karşılaştırma için yapılan Bonferroni analizi sonuçları ise metoprolol uygulamasının reboksetin'in dinamik plantar testindeki antiallodinik etkinliğini ortadan kaldırmadığına işaret etmiştir ($p>0,05$) (Şekil 5.21).

Plantar testte 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antihiperalezik yanıtlar üzerine metoprolol uygulamasının etkileri Şekil 5.22'da gösterilmiştir. Çift yönlü ANOVA sonuçları sıçanların bu testte ölçülen pençe çekme süreleri üzerinde tedavi faktörünün [$F(1,28)=65,87; p<0,001$] etkili olduğunu ancak antagonist faktörünün [$F(1,28)=0,11; p>0,05$] etkili olmadığını göstermiştir. Ayrıca, tedavi ile antagonist faktörleri arasında anlamlı bir etkileşim de bulunmamaktadır [$F(1,28)=0,06; p>0,05$]. Çoklu karşılaştırma için yapılan Bonferroni analizi sonuçları ise metoprolol uygulamasının reboksetin'in plantar testteki antihiperalezik etkinliğini ortadan kaldırmadığına işaret etmiştir ($p>0,05$) (Şekil 5.22).

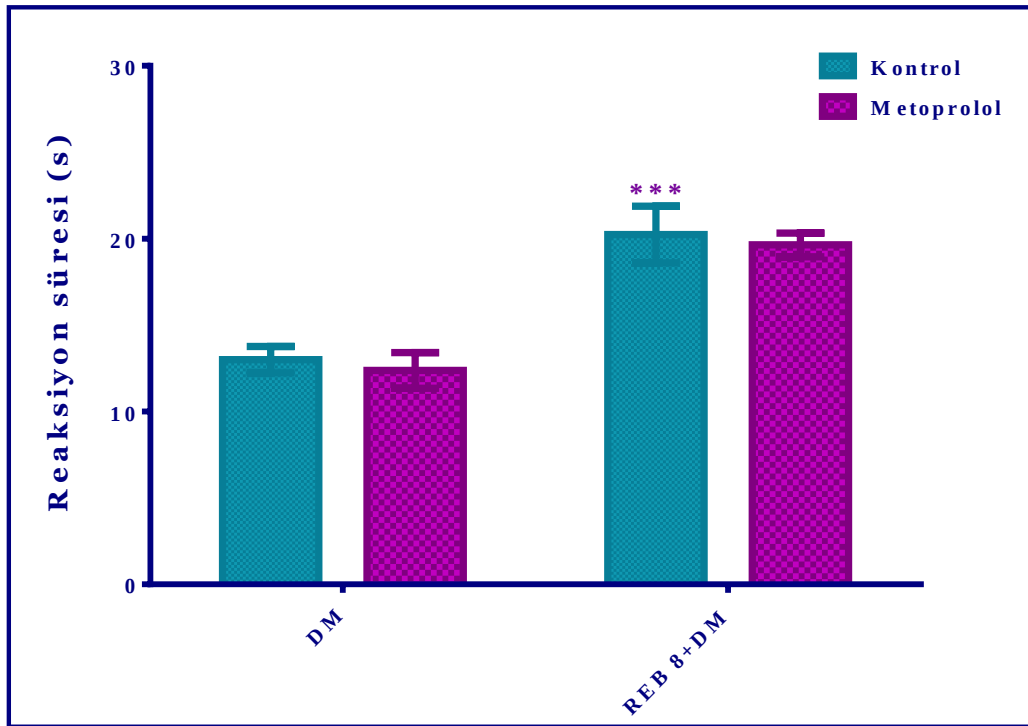


Şekil 5.21. Metoprolol ($15 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ i.p.}$) uygulamasının dinamik plantar testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine etkisi. SF uygulanan diyabetik kontrol grubuna göre anlamlı farklılık *** $p<0,001$. Çift yönlü ANOVA, takiben Bonferroni çoklu karşılaştırma testi, $n=8$.



Şekil 5.22. Metoprolol ($15 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ i.p.}$) uygulamasının plantar testte 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antihiperalezik yanıtlar üzerine etkisi. SF uygulanan diyabetik kontrol grubuna göre anlamlı farklılık *** $p<0,001$. Çift yönlü ANOVA, takiben Bonferroni çoklu karşılaştırma testi, $n=8$.

Şekil 5.23., ılık plaka testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine metoprolol uygulamasının etkilerini göstermektedir. Çift yönlü ANOVA sonuçları sıçanların bu testte ölçülen reaksiyon süreleri üzerinde tedavi faktörünün [$F(1,28)=43,88$; $p<0,001$] etkili olduğunu ancak antagonist faktörünün [$F(1,28)<0,01$; $p>0,05$] etkili olmadığını göstermiştir. Ayrıca, tedavi ile antagonist faktörleri arasında anlamlı bir etkileşim de bulunmamaktadır [$F(1,28)=0,31$; $p>0,05$]. Çoklu karşılaştırma için yapılan Bonferroni analizi sonuçları ise metoprolol uygulamasının reboksetin'in ılık plaka testindeki antiallodinik etkinliğini ortadan kaldırmadığına işaret etmiştir ($p>0,05$) (Şekil 5.23).



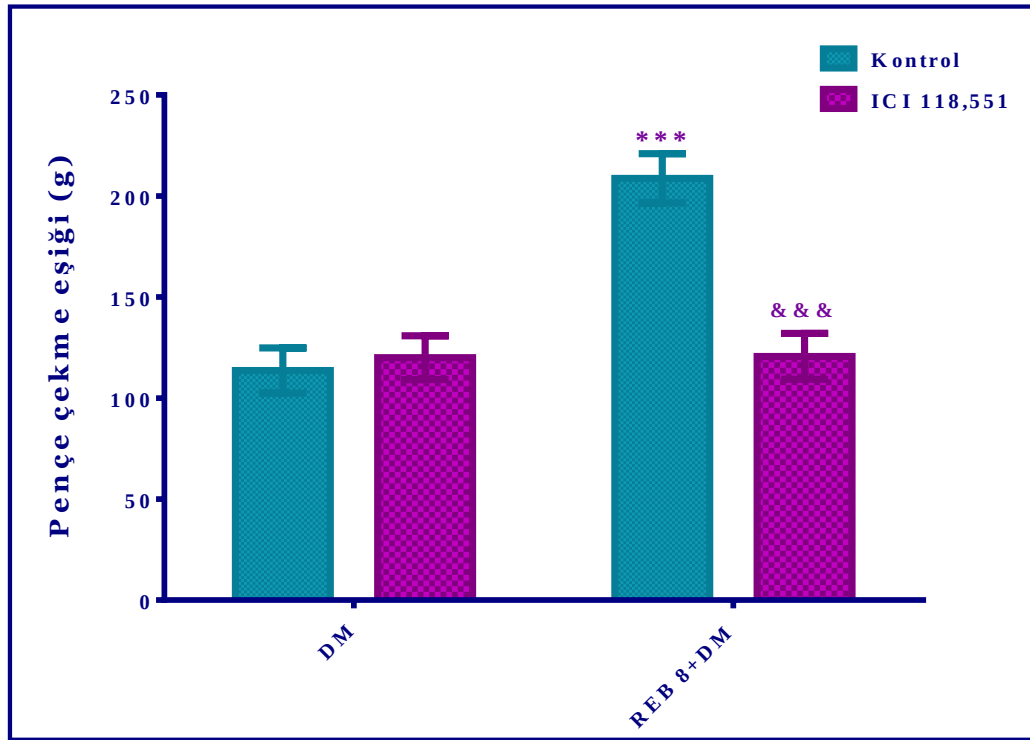
Şekil 5.23. Metoprolol (15 mg.kg^{-1} i.p.) uygulamasının ılık plaka testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine etkisi. SF uygulanan diyabetik kontrol grubuna göre anlamlı farklılık *** $p<0,001$. Çift yönlü ANOVA, takiben Bonferroni çoklu karşılaştırma testi, $n=8$.

Metoprolol çalışmaları sonucunda, bu blokörün 5 mg.kg^{-1} dozda (i.p.) uygulanmasının diyabetik sıçanlarda reboksetin ile indüklenen antihiperalezik ve antiallodinik etkileri geri çeviremediği görülmüştür. Bu bulgular, reboksetin'in söz konusu farmakolojik etkilerinin β_1 -adrenerjik reseptörlerden bağımsız olarak gerçekleştiğine işaret etmektedir.

5.4.5. ICI 118,551 uygulamalarına ilişkin bulgular

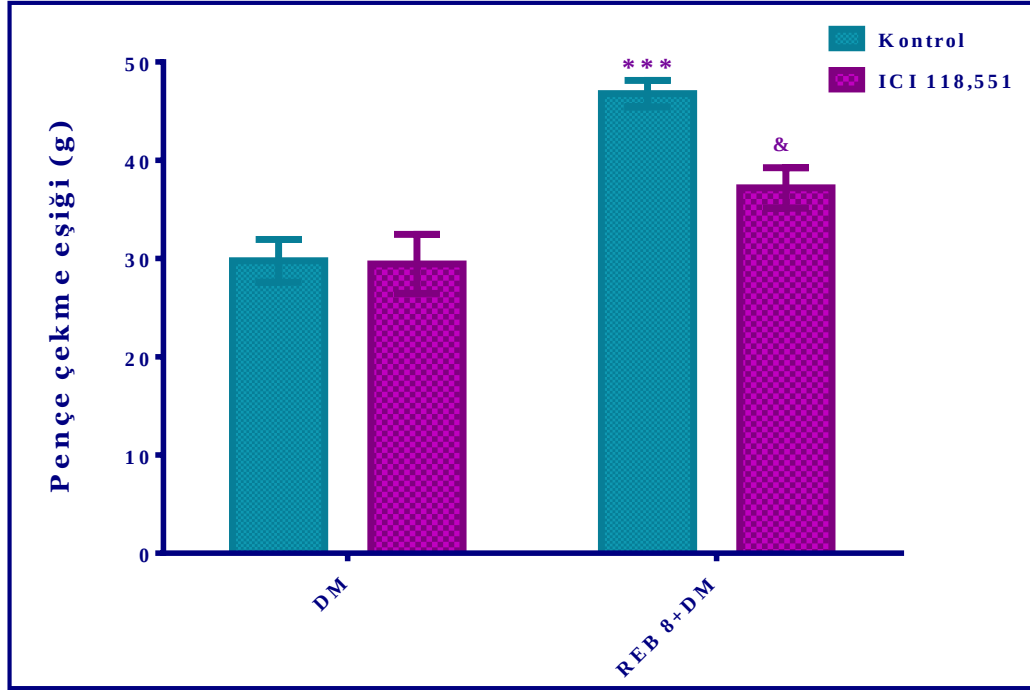
Reboksetin'in diyabetik sıçanlardaki antihiperaljezik ve antiallodinik etkilerine β_2 -adrenerjik reseptörlerin katılıp katılmadığını araştırmak üzere, β_2 -adrenerjik reseptörlerin selektif blokörü bir ajan olan ICI 118,551 kullanılmıştır.

Randall-Selitto testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antihiperaljezik yanıtlar üzerine ICI 118,551 uygulamasının etkileri **Şekil 5.24**'de gösterilmiştir. Çift yönlü ANOVA sonuçları sıçanların bu testte ölçülen pençe çekme eşik değerleri üzerinde hem tedavi faktörünün [$F(1,28)=17,58$; $p<0,001$] hem de antagonist faktörünün [$F(1,28)=12,82$; $p<0,01$] etkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca, tedavi ile antagonist faktörleri arasında anlamlı bir etkileşim bulunmaktadır [$F(1,28)=17,13$; $p<0,001$]. Bonferroni çoklu karşılaştırma testi sonuçları ise ICI 118,551 uygulamasının reboksetin'in Randall-Selitto testindeki antihiperaljezik etkinliğini ortadan kaldırdığına işaret etmiştir ($p<0,001$) (**Şekil 5.24.**).



Şekil 5.24. ICI 118,551 (1 mg.kg^{-1} i.p.) uygulamasının Randall-Selitto testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antihiperaljezik yanıtlar üzerine etkisi. SF uygulanan diyabetik kontrol grubuna göre anlamlı farklılık *** $p<0,001$; 8 mg.kg^{-1} reboksetin uygulanan diyabetik gruba göre anlamlı farklılık &&& $p<0,001$. Çift yönlü ANOVA, takiben Bonferroni çoklu karşılaştırma testi, $n=8$.

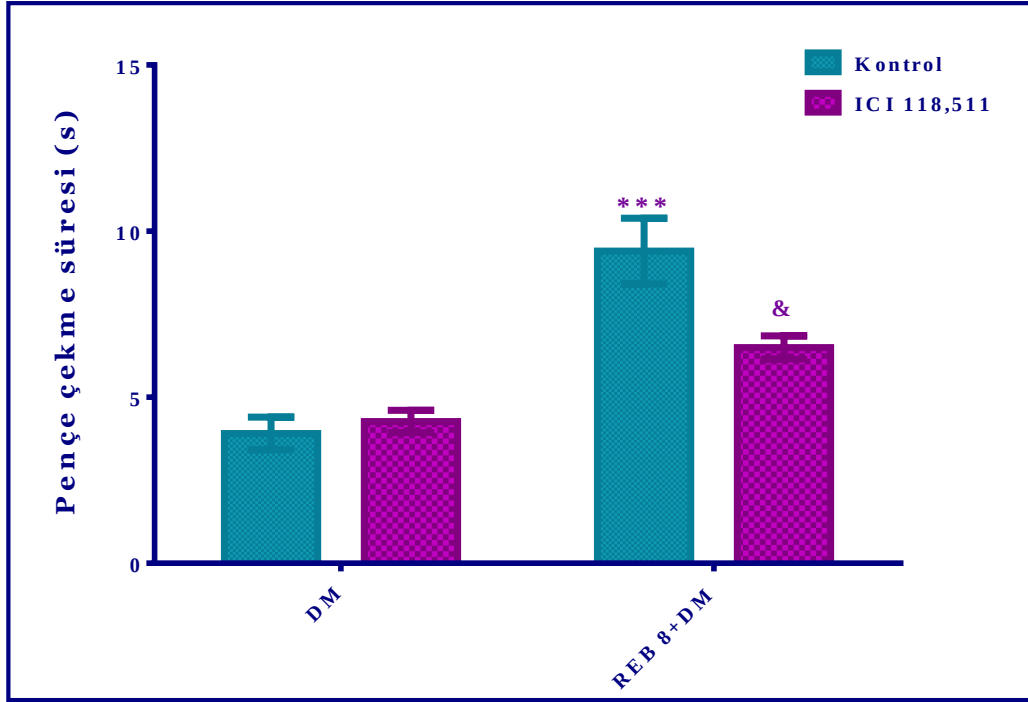
Şekil 5.25., dinamik plantar testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine ICI 118,551 uygulamasının etkilerini göstermektedir. Çift yönlü ANOVA sonuçları sıçanların bu testte ölçülen pençe çekme eşik değerleri üzerinde hem tedavi faktörünün [$F (1,28)=30,86; p<0,001$] hem de antagonist faktörünün [$F (1,28)=4,94; p<0,05$] etkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca, tedavi ile antagonist faktörleri arasında anlamlı bir etkileşim bulunmaktadır [$F (1,28)=4,33; p<0,05$]. Çoklu karşılaştırma için yapılan Bonferroni analizi sonuçları ise ICI 118,551 uygulamasının reboksetin'in dinamik plantar testindeki antiallodinik etkinliğini ortadan kaldırdığına işaret etmiştir ($p<0,05$) (**Şekil 5.25**).



Şekil 5.25. ICI 118,551 (1 mg.kg^{-1} i.p.) uygulamasının dinamik plantar testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine etkisi. SF uygulanan diyabetik kontrol grubuna göre anlamlı farklılık *** $p<0,001$; 8 mg.kg^{-1} reboksetin uygulanan diyabetik gruba göre anlamlı farklılık & $p<0,05$. Çift yönlü ANOVA, takiben Bonferroni çoklu karşılaştırma testi, $n=8$.

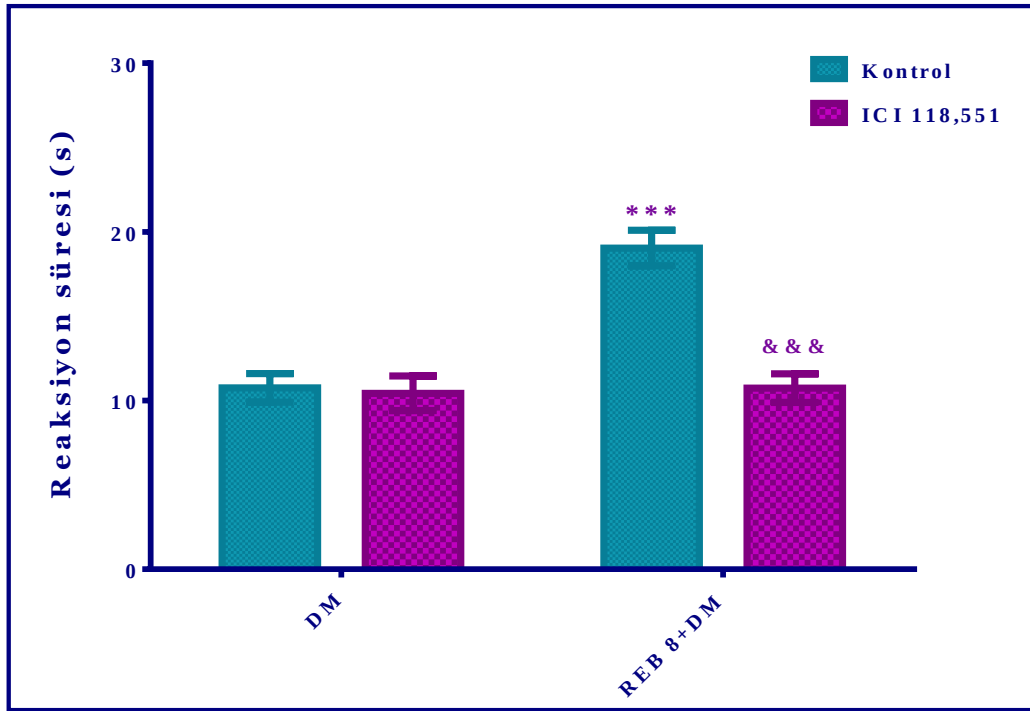
Plantar testte 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antihiperalejik yanıtlar üzerine ICI 118,551 uygulamasının etkileri **Şekil 5.26**'da gösterilmiştir. Çift yönlü ANOVA sonuçları sıçanların bu testte ölçülen pençe çekme süreleri üzerinde hem tedavi faktörünün [$F (1,28)=40,90; p<0,001$] hem de antagonist faktörünün [$F (1,28)=4,45; p<0,05$] etkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca, tedavi ile antagonist faktörleri arasında

anlamlı bir etkileşim bulunmaktadır [F (1,28)=7,32; $p<0,05$]. Bonferroni çoklu karşılaştırma testi sonuçları ise ICI 118,551 uygulamasının reboksetin'in plantar testteki antihiperaljezik etkinliğini ortadan kaldırdığına işaret etmiştir ($p<0,05$) (Şekil 5.26).



Şekil 5.26. ICI 118,551 (1 mg.kg⁻¹ i.p.) uygulamasının plantar testte 8 mg.kg⁻¹ reboksetin ile indüklenen antihiperaljezik yanıtlar üzerine etkisi. SF uygulanan diyabetik kontrol grubuna göre anlamlı farklılık *** $p<0,001$; 8 mg.kg⁻¹ reboksetin uygulanan diyabetik gruba göre anlamlı farklılık & $p<0,05$. Çift yönlü ANOVA, takiben Bonferroni çoklu karşılaştırma testi, $n=8$.

Şekil 5.27., ılık plaka testinde 8 mg.kg⁻¹ reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine ICI 118,551 uygulamasının etkilerini göstermektedir. Çift yönlü ANOVA sonuçları sıçanların bu testte ölçülen reaksiyon süreleri üzerinde hem tedavi faktörünün [F (1,28)=20,60; $p<0,001$] hem de antagonist faktörünün [F (1,28)=20,69; $p<0,001$] etkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca, tedavi ile antagonist faktörleri arasında anlamlı bir etkileşim bulunmaktadır [F (1,28)=17,75; $p<0,001$]. Çoklu karşılaştırma için yapılan Bonferroni analizi sonuçları ise ICI 118,551 uygulamasının reboksetin'in ılık plaka testindeki antiallodinik etkinliğini ortadan kaldırdığına işaret etmiştir ($p<0,001$) (Şekil 5.27).



Şekil 5.27. ICI 118,551 (1 mg.kg⁻¹ i.p.) uygulamasının ılık plaka testinde 8 mg.kg⁻¹ reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine etkisi. SF uygulanan diyabetik kontrol grubuna göre anlamlı farklılık *** $p<0,001$; 8 mg.kg⁻¹ reboksetin uygulanan diyabetik gruba göre anlamlı farklılık &&& $p<0,001$. Çift yönlü ANOVA, takiben Bonferroni çoklu karşılaştırma testi, $n=8$.

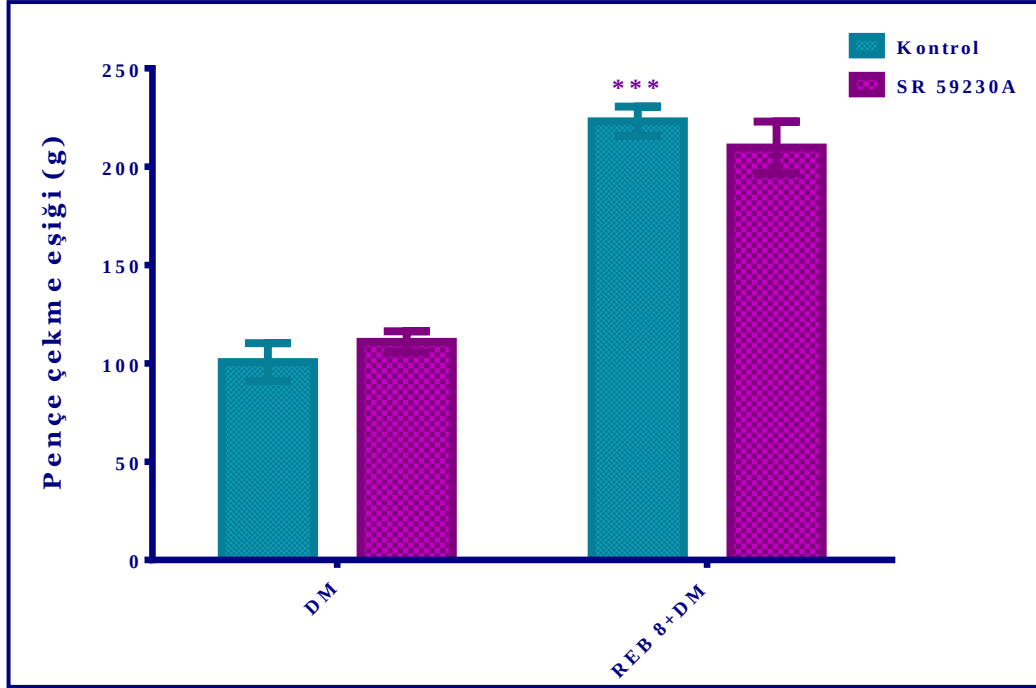
ICI 118,551 çalışmaları sonucunda, bu blokörün 1 mg.kg⁻¹ dozda (i.p.) uygulanmasının reboksetin ile oluşan antihiperalezik ve antiallodinik etkileri güçlü biçimde antagonize ettiği belirlenmiştir. Bu bulgulardan hareketle, reboksetin'in söz konusu farmakolojik etkileri ortaya koymasında β_2 -adrenerjik reseptörlerin rol oynadığı söylenebilir.

5.4.6. SR 59230A uygulamalarına ilişkin bulgular

Reboksetin'in diyabetik sıçanlardaki antihiperalezik ve antiallodinik etkilerine β_3 -adrenerjik reseptörlerin katılıp katılmadığını araştırmak üzere, β_3 -adrenerjik reseptörlerin selektif blokörü bir ajan olan SR 59230A ile antagonizma çalışmaları yapılmıştır.

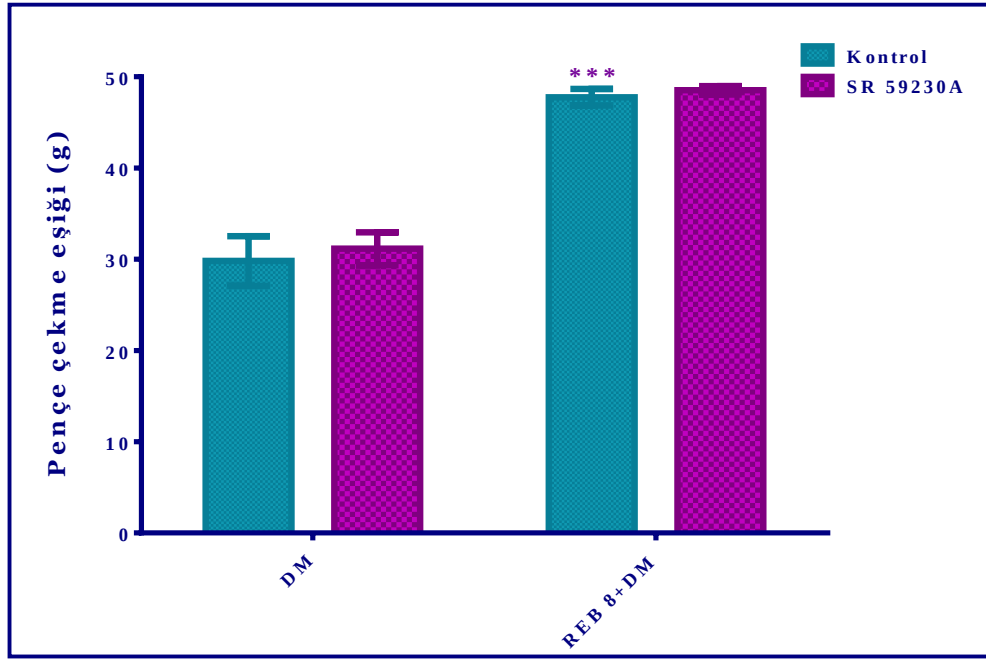
Randall-Selitto testinde 8 mg.kg⁻¹ reboksetin ile indüklenen antihiperalezik yanıtlar üzerine SR 59230A uygulamasının etkileri **Şekil 5.28'**de gösterilmiştir. Çift yönlü ANOVA sonuçları sıçanların bu testte ölçülen pençe çekme eşik değerleri üzerinde tedavi faktörünün [$F(1,28)=139,5$; $p<0,001$] etkili olduğunu ancak antagonist faktörünün [$F(1,28)=0,03$; $p>0,05$] etkili olmadığını göstermiştir. Ayrıca, tedavi ile antagonist

faktörleri arasında anlamlı bir etkileşim de bulunmamaktadır [$F(1,28)=1,61$; $p>0,05$]. Bonferroni çoklu karşılaştırma testi sonuçları ise SR 59230A uygulamasının reboksetin'in Randall-Selitto testindeki antihiperalezik etkinliğini ortadan kaldırmadığına işaret etmiştir ($p>0,05$) (Şekil 5.28).

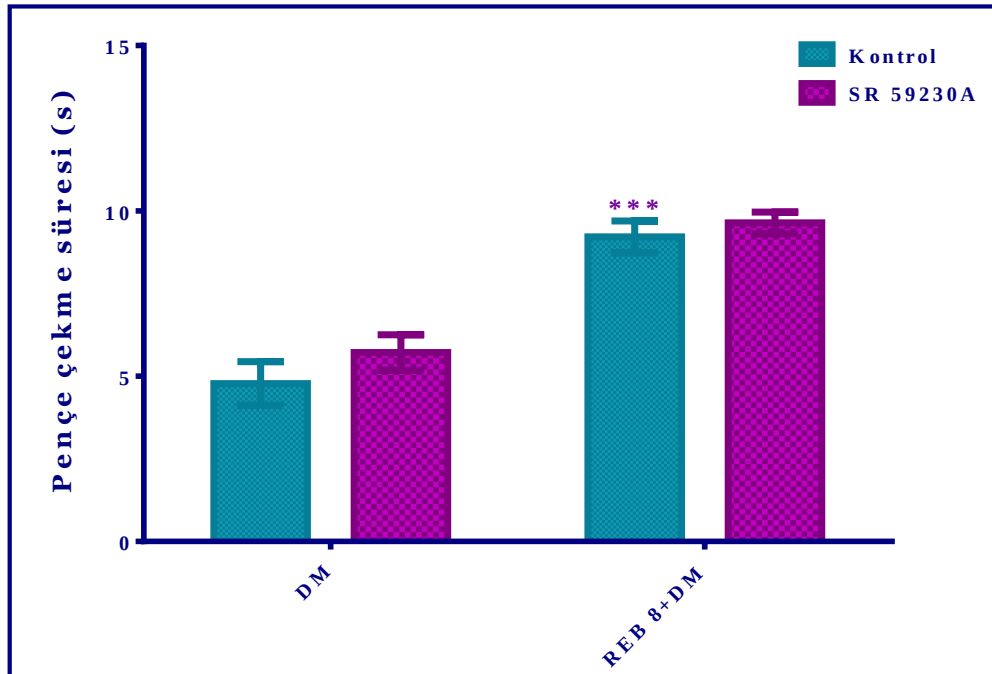


Şekil 5.28. SR 59230A ($7,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ i.p.) uygulamasının Randall-Selitto testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antihiperalezik yanıtlar üzerine etkisi. SF uygulanan diyabetik kontrol grubuna göre anlamlı farklılık *** $p<0,001$. Çift yönlü ANOVA, takiben Bonferroni çoklu karşılaştırma testi, $n=8$.

Şekil 5.29., dinamik plantar testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine SR 59230A uygulamasının etkilerini göstermektedir. Çift yönlü ANOVA sonuçları sıçanların bu testte ölçülen pençe çekme eşik değerleri üzerinde tedavi faktörünün [$F(1,28)=106,9$; $p<0,001$] etkili olduğunu ancak antagonist faktörünün [$F(1,28)=0,38$; $p>0,05$] etkili olmadığını göstermiştir. Ayrıca, tedavi ile antagonist faktörleri arasında anlamlı bir etkileşim de bulunmamaktadır [$F(1,28)=0,03$; $p>0,05$]. Çoklu karşılaştırma için yapılan Bonferroni analizi sonuçları ise SR 59230A uygulamasının reboksetin'in dinamik plantar testindeki antiallodinik etkinliğini ortadan kaldırmadığına işaret etmiştir ($p>0,05$) (Şekil 5.29).

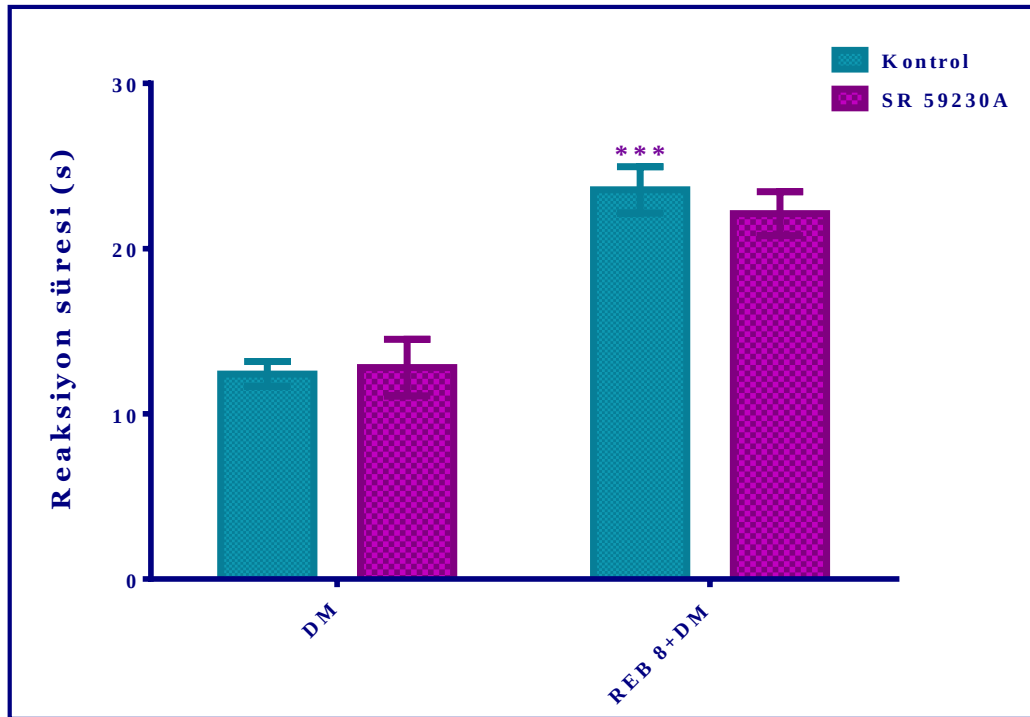


Şekil 5.29. SR 59230A ($7,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ i.p.) uygulamasının dinamik plantar testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine etkisi. SF uygulanan diyabetik kontrol grubuna göre anlamlı farklılık *** $p < 0,001$. Çift yönlü ANOVA, takiben Bonferroni çoklu karşılaştırma testi, $n=8$.



Şekil 5.30. SR 59230A ($7,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ i.p.) uygulamasının plantar testte 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antihiperalezik yanıtlar üzerine etkisi. SF uygulanan diyabetik kontrol grubuna göre anlamlı farklılık *** $p < 0,001$. Çift yönlü ANOVA, takiben Bonferroni çoklu karşılaştırma testi, $n=8$.

Plantar testte 8 mg.kg⁻¹ reboksetin ile indüklenen antihiperaljezik yanıtlar üzerine SR 59230A uygulamasının etkileri **Şekil 5.30**'da gösterilmiştir. Çift yönlü ANOVA sonuçları sıçanların bu testte ölçülen pençe çekme süreleri üzerinde tedavi faktörünün [F (1,28)=65,54; $p<0,001$] etkili olduğunu ancak antagonist faktörünün [F (1,28)=1,72; $p>0,05$] etkili olmadığını göstermiştir. Ayrıca, tedavi ile antagonist faktörleri arasında anlamlı bir etkileşim de bulunmamaktadır [F (1,28)=0,25; $p>0,05$]. Çoklu karşılaştırma için yapılan Bonferroni analizi sonuçları ise SR 59230A uygulamasının reboksetin'in plantar testteki antihiperaljezik etkinliğini ortadan kaldırmadığına işaret etmiştir ($p>0,05$) (**Şekil 5.30**).



Şekil 5.31. SR 59230A (7,5 mg.kg⁻¹ i.p.) uygulamasının ılık plaka testinde 8 mg.kg⁻¹ reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine etkisi. SF uygulanan diyabetik kontrol grubuna göre anlamlı farklılık *** $p<0,001$. Çift yönlü ANOVA, takiben Bonferroni çoklu karşılaştırma testi, $n=8$.

Şekil 5.31., ılık plaka testinde 8 mg.kg⁻¹ reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine SR 59230A uygulamasının etkilerini göstermektedir. Çift yönlü ANOVA sonuçları sıçanların bu testte ölçülen reaksiyon sürelerinin üzerinde tedavi faktörünün [F (1,28)=57,80; $p<0,001$] etkili olduğunu ancak antagonist faktörünün [F (1,28)=0,15; $p>0,05$] etkili olmadığını göstermiştir. Ayrıca, tedavi ile antagonist faktörleri arasında anlamlı bir etkileşim de bulunmamaktadır [F (1,28)=0,47; $p>0,05$]. Çoklu karşılaştırma

için yapılan Bonferroni analizi sonuçları ise SR 59230A uygulamasının reboksetin'in ılık plaka testindeki antiallodinik etkinliğini ortadan kaldırmadığına işaret etmiştir ($p>0,05$) (Şekil 5.31).

SR 59230A çalışmaları sonucunda, bu blokörün $7,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ dozda (*i.p.*) uygulanmasının diyabetik sıçanlarda reboksetin ile indüklenen antihiperaljezik ve antiallodinik etkileri geri çeviremediği görülmüştür. Bu bulgular, reboksetin'in söz konusu farmakolojik etkilerinin β_1 -adrenerjik reseptörlere benzer biçimde β_3 -adrenerjik reseptörlerden de bağımsız olarak gerçekleştiğine işaret etmektedir.

Nitekim nöropatik ağrının siyatik sinir hasarı ile indüklendiği bir çalışmada, bir TSA olan nortriptilin'in antiallodinik etkisinin α_2 -adrenoseptör blokörü yohimbin, β_1 -adrenerjik reseptör antagonistleri atenolol veya metoprolol veya β_3 -adrenerjik reseptör blokörü SR 59230A uygulamalarından etkilenmediği gösterilmiştir. Diğer yandan, non-selektif β -adrenerjik reseptör antagonistleri propranolol ve sotalol; β_1/β_2 -adrenerjik reseptör antagonistleri alprenolol ve pindolol; ve ayrıca spesifik β_2 -adrenerjik reseptör blokörü ICI 118,551 nortriptilin'in antiallodinik etkisini başarıyla bloke etmiştir. Dahası, nortriptilin'in β -adrenerjik reseptör knockout farelerde indüklenen nöropatik ağrı üzerine tamamen etkisiz olduğu belirlenmiştir (Yalcin vd., 2009a). Yine bu bulgulara paralel olarak, β_2 -adrenoseptör blokörü ICI 118551'in, diyabetik polinöropatili ob/ob farelerde nortriptilin ile indüklenen antiallodinik etkiyi antagonize ettiği gösterilmiştir (Choucair-Jaafar vd., 2014). Bu bilgilerden hareketle, β_2 -adrenoseptörlerin hem sinir hasarı hem de diyabetik polinöropati ile indüklenen allodininin tedavisi için kritik öneme sahip olabileceği ileri sürülmüştür (Choucair-Jaafar vd., 2014).

Siyatik sinir hasarı ile nöropatik ağrı modeli oluşturulan ve allodini yanıtlarının von Frey filamentleri ile değerlendirildiği bir başka çalışmada ise, desipramin ve venlafaksin adlı antidepresan ilaçların antiallodinik etkinlik gösterdikleri ve söz konusu antiallodinik etkilerinin β_2 -adrenerjik reseptör blokajı ile ortadan kalktığı gösterilmiştir. Daha da ilginç olarak, söz konusu antidepresan ilaçların aynı deneysel modelde β_2 -adrenoseptör knockout farelerde herhangi bir antiallodinik etkinliğe neden olmadıkları bildirilmiştir (Yalcin vd., 2009a; 2009b). Yine aynı çalışmada 4 hafta süre ile günlük $0,8 \text{ mg.kg}^{-1}$ dozda reboksetin (Edronax®) uygulamasının mekanik allodiniyi azalttığı; söz konusu etkinin β_2 -adrenerjik reseptör blokörü ICI 118,551 tarafından geri çevrildiği halde, α_2 -adrenerjik reseptör blokörü yohimbin uygulamasından etkilenmediği bildirilmiştir (Yalcin vd., 2009b).

Desipramin ve venlafaksin'in antiallodinik etkilerine aracılık eden β_2 -adrenerjik reseptörlerin SSS'de nöropatik ağrı ile ilişkili lokasyonlarının araştırılması amacıyla, β_2 -adrenerjik reseptör blokörü bir ajan olan ICI 118,551 hayvanlara intratekal ve intraserebroventriküler olmak üzere iki farklı yolla enjekte edilmiştir. ICI 118,551'in intratekal yolla uygulanması, desipramin ve venlafaksin'in antiallodinik etkilerini engellerken, intraserebroventriküler uygulamada aynı sonuç görülmemiştir. Bu bulgulardan hareketle, supraspinal β_2 -adrenerjik reseptörlerin antidepresan ilaçların anti-allodinik etkileri için kritik olmayabileceği ileri sürülmüştür. β_2 -adrenerjik reseptörlerin nosiseptif bilgi ile ilişkili ilk integratif merkez olan omuriliğin dorsal boynuzu içinde eksprese ediliyor olmasından hareketle (Nicholson vd., 2005), bu lokasyonun, nöropatik allodiniyi tedavi eden antidepresan ilaçlar ve onların etkilediği inisi noradrenerjik inhibitör yollar için potansiyel nöroanatomik bir substrat olabileceği ileri sürülmüştür (Yalcin vd., 2009b).

Antidepresan ilaçların antiallodinik etkilerini sergilemeleri için β_2 -adrenerjik reseptörlerin uyarılmasının gerekli olduğunu ileri süren prelinik araştırmalara paralel şekilde; terbutalin, salbutamol, fenoterol, salmeterol, ritodrin, izoproterenol, metaproterenol, prokaterol, formoterol, klenbuterol veya bambuterol gibi β_2 -mimetiklerin kronik uygulamalarının nöropati kaynaklı allodiniyi tedavi etmekte başarılı oldukları ortaya koyulmuştur (Barrot vd., 2009; Yalcin vd., 2010; Choucair-Jaafar vd., 2014). Metaproterenol, prokaterol, formoterol ve klenbuterol ile yapılan çalışmada, bu agonistlerin siyatik sinir hasarına bağlı nöropati oluşturulmuş hayvanlardaki antiallodinik etkilerin β_2 -adrenerjik reseptör blokörü ICI 118,551 uygulaması ile geri döndüğü gösterilmiştir. Dahası, söz konusu antiallodinik etki β_2 -adrenerjik reseptör knockout farelerde hiç görülmemiştir. Diğer yandan, β_1 -adrenerjik reseptör agonisti ksamoterol ya da β_3 -adrenerjik reseptör agonisti BRL 37344 nöropatik allodini üzerinde herhangi bir tedavi edici etkinliğe neden olmamıştır (Yalcin vd., 2010). Bu sonuçlardan hareketle, β_2 -adrenerjik reseptörlerin uyarılmasının nöropatik ağrı tedavisi için sadece gerekli değil yeterli olduğu ve dolayısıyla β_2 -adrenoseptörleri uyaran tüm moleküllerin nöropatik ağrıya karşı önemli bir potansiyele sahip olabilecekleri ileri sürülmüştür (Barrot vd., 2009).

Sağ siyatik sinirin hasarlanması ile nöropati oluşturulan diğer bir çalışmada ise, bir TSA olan nortriptilin'in, bir SNRI olan venlafaksin'in ve bir β_2 -adrenerjik reseptör agonisti olan terbutalin'in mekanik allodini üzerine etkileri araştırılmıştır. Çalışmada,

uygulanan tedavilerin DRG’lerde noradrenalin düzeylerini artırarak non-nöronal satelit hücreler tarafından eksprese edilen β_2 -adrenerjik reseptörleri aktive ettiği gösterilmiştir. β_2 -adrenerjik reseptörlerin uyarılmasındaki bu artışın membrana bağlı $\text{TNF}\alpha$ ’nın nöropati kaynaklı üretimini azalttığı ve böylece nöropatik allodininin rahatladığı ileri sürülmüştür. Bu çalışma da β_2 -adrenoseptörlerin nöropatik ağrı ile ilişkisini desteklemesi ve bu reseptörlerin allodini ve hiperaleji tedavilerindeki rolünü yansıtmaları açısından önem taşımaktadır (Bohren vd., 2013).

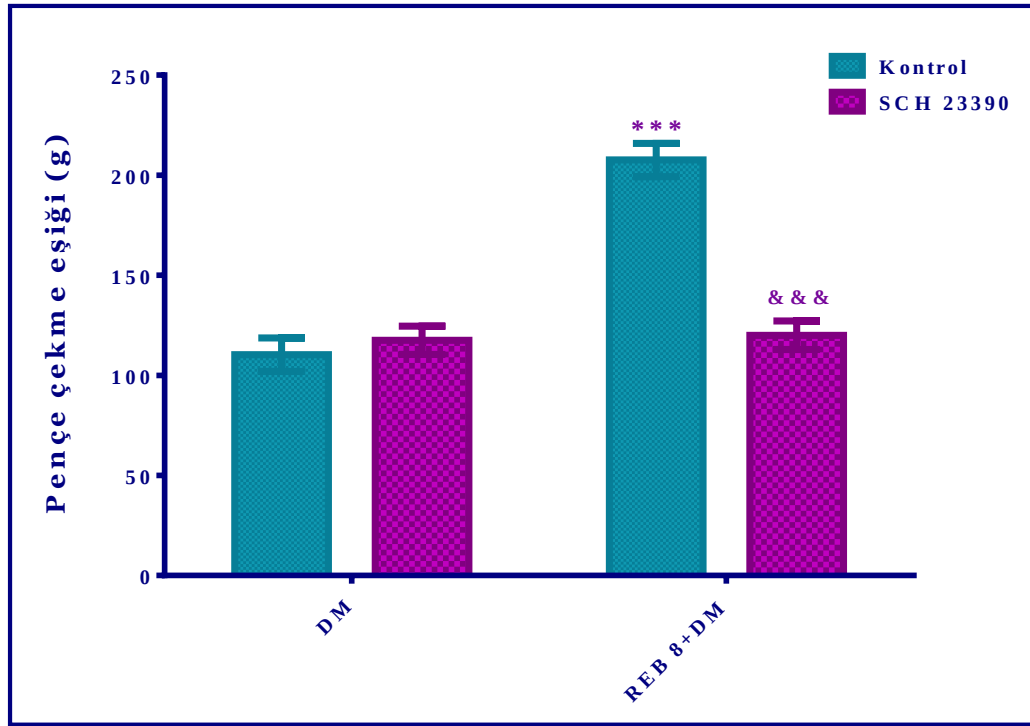
Sözü edilen çalışmaların büyük kısmı siyatik sinir hasarına bağlı nöropati modellerinde gerçekleştirilmiş ve özellikle mekanik allodini üzerindeki etkinliğe odaklanılmıştır. Yine de önceki raporlarda sunulan bu bilgiler, bu tez çalışmasının reboksetin’in diyabete bağlı nöropatik ağrı tedavisindeki antihiperalejik ve antiallodinik etkilerine adrenoseptörler arasından yalnızca β_2 ’lerin aracılık ettiğine ilişkin bulgularını destekler özelliktedir.

5.4.7. SCH 23390 uygulamalarına ilişkin bulgular

Dopaminerjik reseptörlerin de nosisepsiyon, nöropatik ağrı ve analjezi ile yakından ilişkili olduğu bilinmektedir (Taylor vd., 2016; Chen vd., 2017; Obata, 2017; Carballo-Villalobos vd., 2018). Bu nedenle reboksetin’in diyabetik sıçanlardaki antihiperalejik ve antiallodinik etkilerine D_1 -dopaminerjik reseptörlerin katılıp katılmadığını araştırmak üzere, D_1 -dopaminerjik reseptörlerin selektif blokörü bir ajan olan SCH 23390 kullanılmıştır.

Randall-Selitto testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antihiperalejik yanıtlar üzerine SCH 23390 uygulamasının etkileri **Şekil 5.32**’de gösterilmiştir. Çift yönlü ANOVA sonuçları sıçanların bu testte ölçülen pençe çekme eşik değerleri üzerinde hem tedavi faktörünün [$F(1,28)=41,38; p<0,001$] hem de antagonist faktörünün [$F(1,28)=26,95; p<0,001$] etkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca, tedavi ile antagonist faktörleri arasında anlamlı bir etkileşim bulunmaktadır [$F(1,28)=37,33; p<0,001$]. Bonferroni çoklu karşılaştırma testi sonuçları ise SCH 23390 uygulamasının reboksetin’in Randall-Selitto testindeki antihiperalejik etkinliğini ortadan kaldırdığına işaret etmiştir ($p<0,001$) (**Şekil 5.32**).

Şekil 5.33., dinamik plantar testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine SCH 23390 uygulamasının etkilerini göstermektedir.

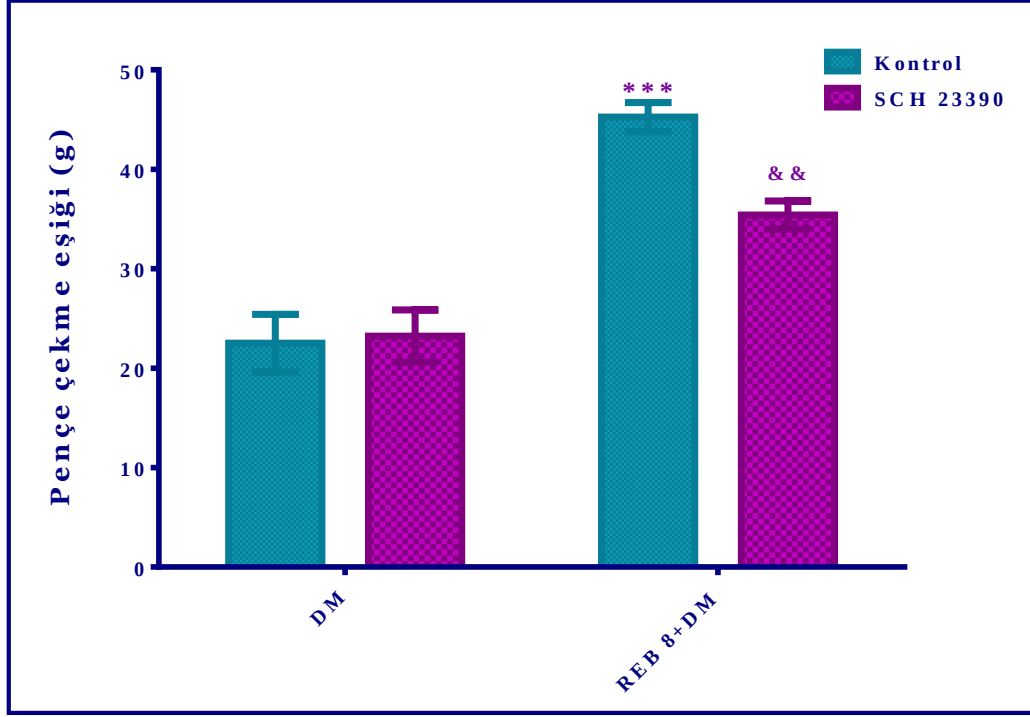


Şekil 5.32. SCH 23390 (0,5 mg.kg⁻¹ i.p.) uygulamasının Randall-Selitto testinde 8 mg.kg⁻¹ reboksetin ile indüklenen antihiperalezik yanıtlar üzerine etkisi. SF uygulanan diyabetik kontrol grubuna göre anlamlı farklılık *** $p<0,001$; 8 mg.kg⁻¹ reboksetin uygulanan diyabetik gruba göre anlamlı farklılık &&& $p<0,001$. Çift yönlü ANOVA, takiben Bonferroni çoklu karşılaştırma testi, $n=8$.

Çift yönlü ANOVA sonuçları sıçanların bu testte ölçülen pençe çekme eşik değerleri üzerinde hem tedavi faktörünün [$F(1,28)=62,76$; $p<0,001$] hem de antagonist faktörünün [$F(1,28)=4,30$; $p<0,05$] etkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca, tedavi ile antagonist faktörleri arasında anlamlı bir etkileşim bulunmaktadır [$F(1,28)=5,75$; $p<0,05$]. Çoklu karşılaştırma için yapılan Bonferroni analizi sonuçları ise SCH 23390 uygulamasının reboksetin'in dinamik plantar testindeki antiallodinik etkinliğini ortadan kaldırdığına işaret etmiştir ($p<0,01$) (**Şekil 5.33.**).

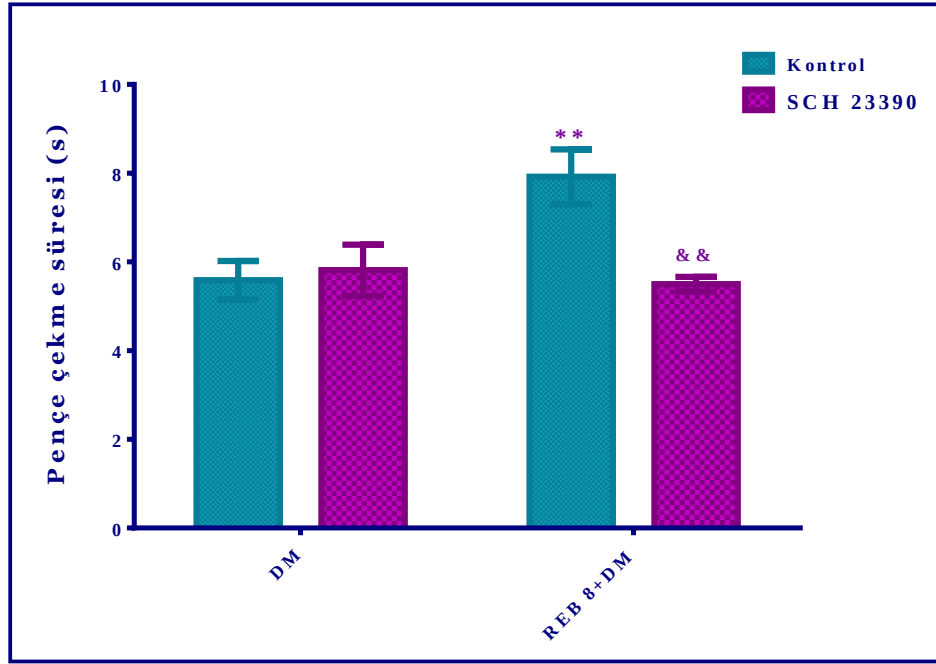
Plantar testte 8 mg.kg⁻¹ reboksetin ile indüklenen antihiperalezik yanıtlar üzerine SCH 23390 uygulamasının etkileri **Şekil 5.34**'de gösterilmiştir. Çift yönlü ANOVA sonuçları sıçanların bu testte ölçülen pençe çekme süreleri üzerinde hem tedavi faktörünün [$F(1,28)=4,35$; $p<0,05$] hem de antagonist faktörünün [$F(1,28)=5,20$; $p<0,05$] etkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca, tedavi ile antagonist faktörleri arasında anlamlı bir etkileşim bulunmaktadır [$F(1,28)=7,52$; $p<0,05$]. Bonferroni çoklu

karşılaştırma testi sonuçları ise SCH 23390 uygulamasının reboksetin'in plantar testteki antihiperalezik etkinliğini ortadan kaldırdığına işaret etmiştir ($p<0,01$) (Şekil 5.34).

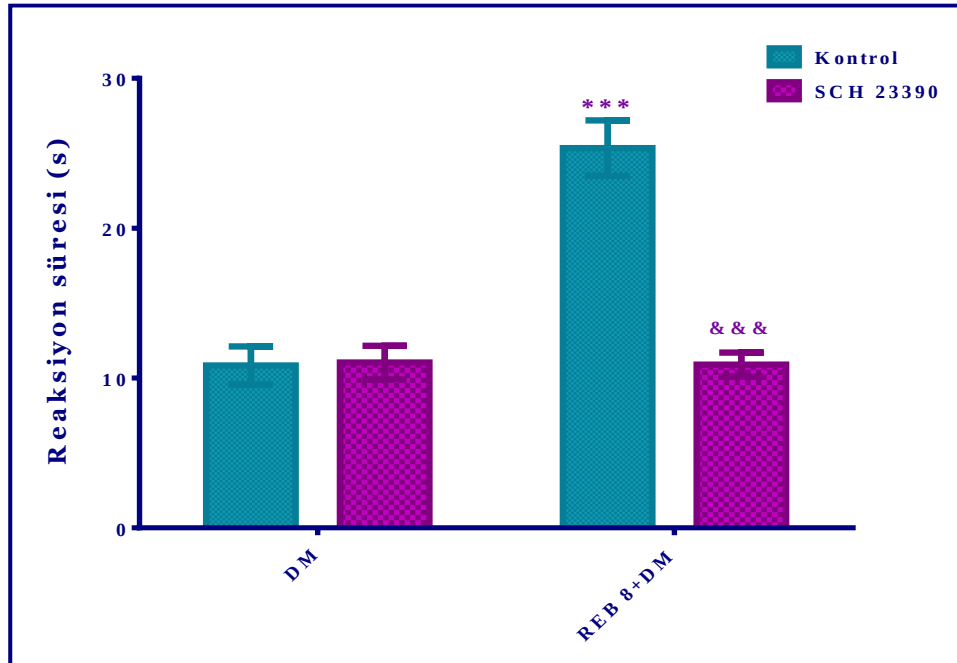


Şekil 5.33. SCH 23390 ($0,5 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ i.p.}$) uygulamasının dinamik plantar testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine etkisi. SF uygulanan diyabetik kontrol grubuna göre anlamlı farklılık *** $p<0,001$; 8 mg.kg^{-1} reboksetin uygulanan diyabetik gruba göre anlamlı farklılık && $p<0,01$. Çift yönlü ANOVA, takiben Bonferroni çoklu karşılaştırma testi, $n=8$.

Şekil 5.35., ılık plaka testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine SCH 23390 uygulamasının etkilerini göstermektedir. Çift yönlü ANOVA sonuçları sıçanların bu testte ölçülen reaksiyon süreleri üzerinde hem tedavi faktörünün [$F(1,28)=29,77$; $p<0,001$] hem de antagonist faktörünün [$F(1,28)=29,25$; $p<0,001$] etkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca, tedavi ile antagonist faktörleri arasında anlamlı bir etkileşim bulunmaktadır [$F(1,28)=30,90$; $p<0,001$]. Çoklu karşılaştırma için yapılan Bonferroni analizi sonuçları ise SCH 23390 uygulamasının reboksetin'in ılık plaka testindeki antiallodinik etkinliğini ortadan kaldırdığına işaret etmiştir ($p<0,001$) (Şekil 5.35).



Şekil 5.34. SCH 23390 ($0,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ i.p.) uygulamasının plantar testte 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antihiperalezik yanıtı üzerine etkisi. SF uygulanan diyabetik kontrol grubuna göre anlamlı farklılık $**p<0,01$; 8 mg.kg^{-1} reboksetin uygulanan diyabetik gruba göre anlamlı farklılık $\&\&p<0,01$. Çift yönlü ANOVA, takiben Bonferroni çoklu karşılaştırma testi, $n=8$.

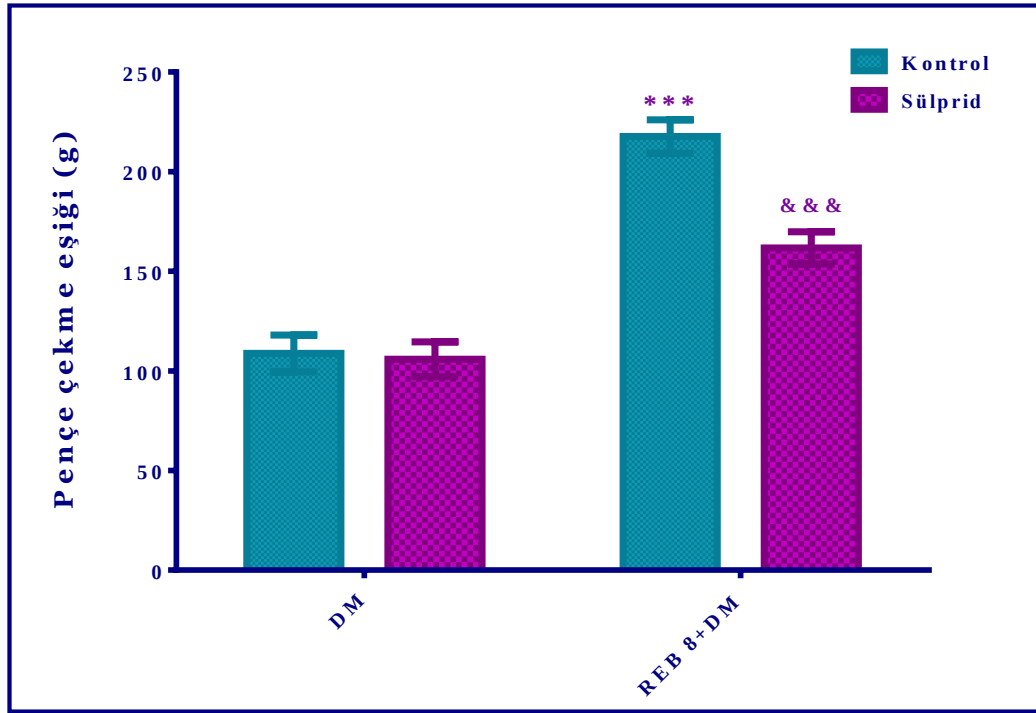


Şekil 5.35. SCH 23390 ($0,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ i.p.) uygulamasının ılık plaka testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtı üzerine etkisi. SF uygulanan diyabetik kontrol grubuna göre anlamlı farklılık $***p<0,001$; 8 mg.kg^{-1} reboksetin uygulanan diyabetik gruba göre anlamlı farklılık $\&\&\&p<0,001$. Çift yönlü ANOVA, takiben Bonferroni çoklu karşılaştırma testi, $n=8$.

SCH 23390 çalışmaları sonucunda, bu blokörün 5 mg.kg⁻¹ dozda (i.p.) uygulanmasının reboksetin ile oluşan antihiperalezik ve antiallodinik etkileri güçlü biçimde antagonize ettiği belirlenmiştir. Bu bulgulardan hareketle, reboksetin'in söz konusu farmakolojik etkileri ortaya koymasında D₁-dopaminerjik reseptörlerin rol oynadığı söylenebilir.

5.4.8. Sülpriid uygulamalarına ilişkin bulgular

D₁-dopaminerjik reseptörlerin yanı sıra, D₂- ve D₃-dopaminerjik reseptörlerin de reboksetin'in diyabetik sıçanlardaki antihiperalezik ve antiallodinik etkilerine katılmış olması mümkündür. Bu olasılığı araştırmak üzere non-selektif D₂/D₃-dopaminerjik reseptör blokörü bir ajan olan sülpriid ile antagonizma çalışmaları yapılmıştır.

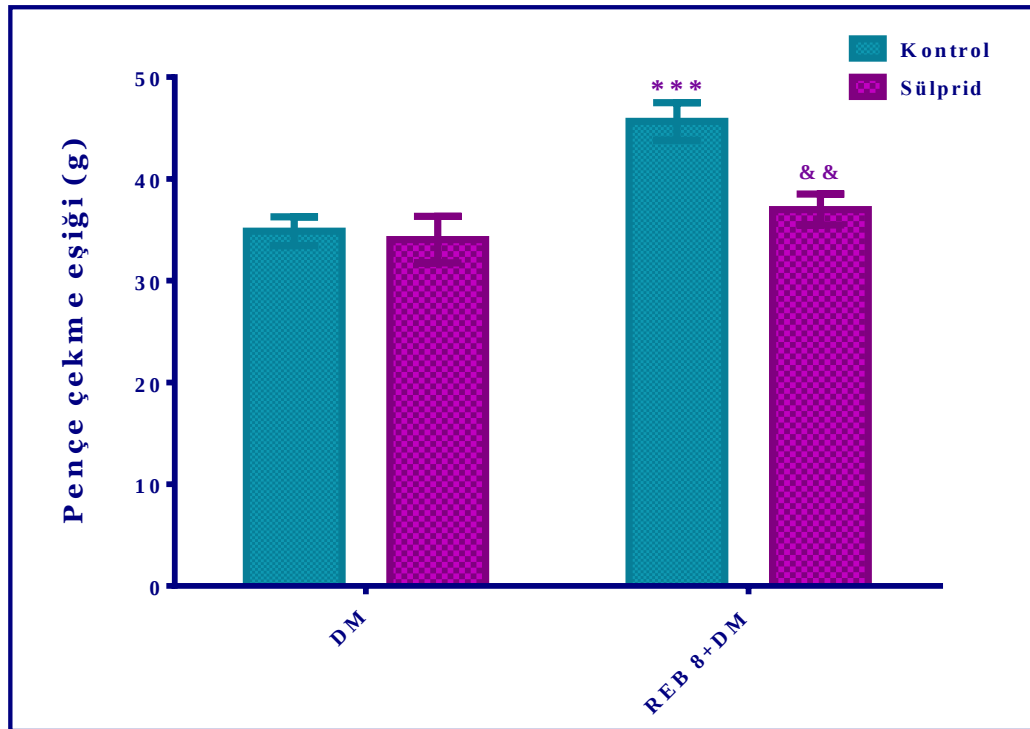


Şekil 5.36. Sülpriid (30 mg.kg⁻¹ i.p.) uygulamasının Randall-Selitto testinde 8 mg.kg⁻¹ reboksetin ile indüklenen antihiperalezik yanıtlar üzerine etkisi. SF uygulanan diyabetik kontrol grubuna göre anlamlı farklılık ***p<0,001, 8 mg.kg⁻¹ reboksetin uygulanan diyabetik gruba göre anlamlı farklılık &&&p<0,001. Çift yönlü ANOVA, takiben Bonferroni çoklu karşılaştırma testi, n=8.

Randall-Selitto testinde 8 mg.kg⁻¹ reboksetin ile indüklenen antihiperalezik yanıtlar üzerine sülpriid uygulamasının etkileri **Şekil 5.36**'da gösterilmiştir. Çift yönlü ANOVA sonuçları sıçanların bu testte ölçülen pençe çekme eşik değerleri üzerinde hem tedavi faktörünün [F (1,28)=90,99; p<0,001] hem de antagonist faktörünün [F

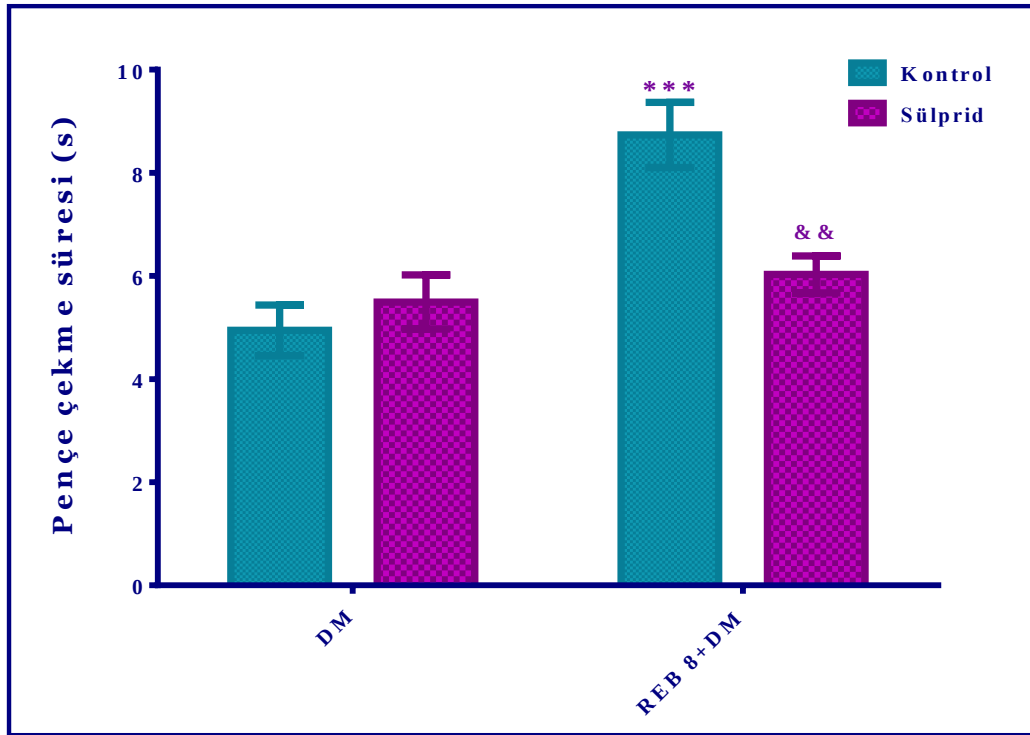
(1,28)=11,57; $p<0,01$] etkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca, tedavi ile antagonist faktörleri arasında anlamlı bir etkileşim bulunmaktadır [F (1,28)=9,42; $p<0,01$]. Bonferroni çoklu karşılaştırma testi sonuçları ise sülprid uygulamasının reboksetin'in Randall-Selitto testindeki antihiperalezik etkinliğini ortadan kaldırdığına işaret etmiştir ($p<0,001$) (Şekil 5.36).

Şekil 5.37., dinamik plantar testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine sülprid uygulamasının etkilerini göstermektedir. Çift yönlü ANOVA sonuçları sıçanların bu testte ölçülen pençe çekme eşik değerleri üzerinde hem tedavi faktörünün [F (1,28)=14,55; $p<0,001$] hem de antagonist faktörünün [F (1,28)=6,95; $p<0,05$] etkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca, tedavi ile antagonist faktörleri arasında anlamlı bir etkileşim bulunmaktadır [F (1,28)=4,73; $p<0,05$]. Çoklu karşılaştırma için yapılan Bonferroni analizi sonuçları ise sülprid uygulamasının reboksetin'in dinamik plantar testindeki antiallodinik etkinliğini ortadan kaldırdığına işaret etmiştir ($p<0,01$) (Şekil 5.37).



Şekil 5.37. Sülprid (30 mg.kg^{-1} i.p.) uygulamasının dinamik plantar testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine etkisi. SF uygulanan diyabetik kontrol grubuna göre anlamlı farklılık *** $p<0,001$, 8 mg.kg^{-1} reboksetin uygulanan diyabetik gruba göre anlamlı farklılık && $p<0,01$. Çift yönlü ANOVA, takiben Bonferroni çoklu karşılaştırma testi, $n=8$.

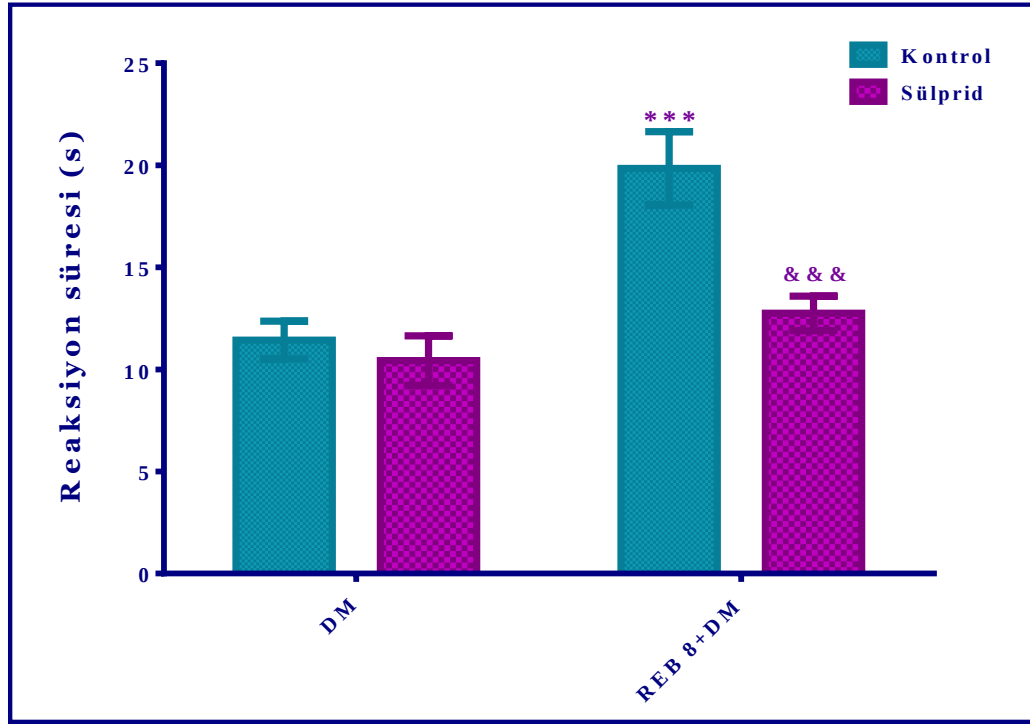
Plantar testte 8 mg.kg⁻¹ reboksetin ile indüklenen antihiperaljetik yanıtlar üzerine sülpriid uygulamasının etkileri **Şekil 5.38**'de gösterilmiştir. Çift yönlü ANOVA sonuçları sıçanların bu testte ölçülen pençe çekme süreleri üzerinde hem tedavi faktörünün [F (1,28)=18,00; $p<0,001$] hem de antagonist faktörünün [F (1,28)=4,49; $p<0,05$] etkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca, tedavi ile antagonist faktörleri arasında anlamlı bir etkileşim bulunmaktadır [F (1,28)=10,19; $p<0,01$]. Bonferroni çoklu karşılaştırma testi sonuçları ise sülpriid uygulamasının reboksetin'in plantar testteki antihiperaljetik etkinliğini ortadan kaldırdığına işaret etmiştir ($p<0,01$) (**Şekil 5.38**).



Şekil 5.38. Sülpriid (30 mg.kg⁻¹ i.p.) uygulamasının plantar testte 8 mg.kg⁻¹ reboksetin ile indüklenen antihiperaljetik yanıtlar üzerine etkisi. SF uygulanan diyabetik kontrol grubuna göre anlamlı farklılık *** $p<0,001$, 8 mg.kg⁻¹ reboksetin uygulanan diyabetik gruba göre anlamlı farklılık && $p<0,01$. Çift yönlü ANOVA, takiben Bonferroni çoklu karşılaştırma testi, $n=8$.

Şekil 5.39., ılık plaka testinde 8 mg.kg⁻¹ reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine sülpriid uygulamasının etkilerini göstermektedir. Çift yönlü ANOVA sonuçları sıçanların bu testte ölçülen reaksiyon süreleri üzerinde hem tedavi faktörünün [F (1,28)=18,36; $p<0,001$] hem de antagonist faktörünün [F (1,28)=10,48; $p<0,01$] etkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca, tedavi ile antagonist faktörleri arasında anlamlı bir etkileşim bulunmaktadır [F (1,28)=5,92; $p<0,05$]. Çoklu karşılaştırma için yapılan

Bonferroni analizi sonuçları ise sülprid uygulamasının reboksetin'in ılık plaka testindeki antiallodinik etkinliğini ortadan kaldırdığına işaret etmiştir ($p<0,001$) (Şekil 5.39.).



Şekil 5.39. Sülprid ($30 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ i.p.}$) uygulamasının ılık plaka testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine etkisi. SF uygulanan diyabetik kontrol grubuna göre anlamlı farklılık *** $p<0,001$; 8 mg.kg^{-1} reboksetin uygulanan diyabetik gruba göre anlamlı farklılık *** $p<0,001$. Çift Yönlü ANOVA, takiben Bonferroni çoklu karşılaştırma testi, $n=8$.

Sülprid çalışmaları sonucunda, bu blokörün $0,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ dozda (*i.p.*) uygulanmasının reboksetin ile oluşan antihiperalezik ve antiallodinik etkileri güçlü biçimde antagonize ettiği belirlenmiştir. Bu bulgulardan hareketle, D_2 - ve D_3 -dopaminerjik reseptörlerin de reboksetin'in söz konusu farmakolojik etkilerine, en azından kısmen, aracılık ettiği ileri sürülebilir.

Dopaminerjik sistemin, SSS'de nosiseptif transmisyonunda kritik bir rol oynadığı (Potvin vd., 2009); omurilikte, başta D_2 olmak üzere tüm dopaminerjik reseptör alt tiplerinin eksprese edildiği bilinmektedir (Zhu vd., 2007). Omuriliğin dorsal boynuzunu innerve eden dopaminerjik nöronlar, dorsal posterior hipotalamusta bulunan A11 bölgesinden projekte olurlar. Dorsal boynuzundaki nosiseptif transmisyonun dopamin tarafından inhibisyonuna D_2 -benzeri dopaminerjik reseptörlerin aracılık ettiği bilinmektedir (Fleetwood-Walker vd., 1988; Taniguchi vd., 2011).

Literatürde dopaminerjik reseptörlerin nöropatik ağrının tedavisindeki rolü ile ilgili çeşitli çalışmalara rastlamak mümkündür. Örneğin, Chen ve arkadaşları tarafından yapılan ve Sprague-Dawley cinsi sıçanlarda sağ L5 spinal sinir ligasyonu ile hiperaljezi modeli oluşturulan güncel bir çalışmada amitriptilin, duloksetin, milnasipran ve fluoksetin adlı ilaçların antihiperaljezik etkilerine dopaminerjik sistemin olası katılımı araştırılmıştır. Söz konusu çalışmada *i.p.* yolla 3-30 mg.kg⁻¹ doz aralığında uygulanan bu dört antidepresanın antihiperaljezik etkilerinin, intratekal sülpirid (30 µg) uygulaması ile ortadan kalktığı gösterilmiştir. Spinal dorsal boynuzda dopamin konsantrasyonlarındaki değişimi araştırmak üzere yapılan mikrodializ çalışmaları sonucunda, söz konusu antidepresanların her birinin 10 mg.kg⁻¹ (*i.p.*) dozda uygulanmasını takiben dopamin seviyelerininin anlamlı ölçüde arttığı bildirilmiştir. Tüm bu bulguların ışığında, antidepresanların nöropatik ağrıya karşı etkinliklerinin sadece noradrenerjik ya da serotonerjik sistem ile değil, aynı zamanda omurilikteki dopamin seviyelerinin modülasyonu ile de ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (Chen vd., 2017).

TSA'ların, SNRI'ların ya da SSRI'ların dopamin taşıyıcısı üzerinde doğrudan bir etkileri olmamasına rağmen, dopaminerjik sistemin, antidepresanların analjezik etkilerine dolaylı olarak dahil olabileceği ileri sürülmüştür (Sindrup vd., 2005). Örneğin, dopamin taşıyıcısının minimal düzeyde eksprese edildiği frontal kortekste dopamin geri alımı, çoğunlukla noradrenalin taşıyıcısı üzerinden gerçekleşmektedir (Morón vd., 2002). Benzer bir durumun omurilik için de geçerli olması mümkün olabilir (Chen vd., 2017). Ancak, bu varsayımı doğrulamak için antidepresan uygulamasından sonra omurilikte dopamin seviyelerindeki artışın kesin mekanizmasını ve olası dopaminerjik-noradrenerjik etkileşimleri aydınlatmak üzere yapılacak yeni çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.

Sözü edilen raporlar, bu çalışmada reboksetin'in nöropatik ağrı üzerine olumlu etkilerine dopaminerjik reseptörlerin katılımı ile ilgili bulguları destekler özelliktedir. Ayrıca, etki mekanizması açısından reboksetin'e oldukça benzer bir ilaç olan atomoksetin'in de diyabet kaynaklı hiperaljezi üzerine tedavi edici etkinlik gösterdiği daha önce araştırma grubumuz tarafından rapor edilmiştir (Barbaros vd., 2018). Atomoksetin'in antihiperaljezik etkinliğine, D₁ ve D₂/D₃ reseptörlerin aracılık ettiğinin gösterildiği söz konusu araştırmanın sonuçları da, bu tez çalışmasında elde edilen bulgular ile paralellik göstermektedir.

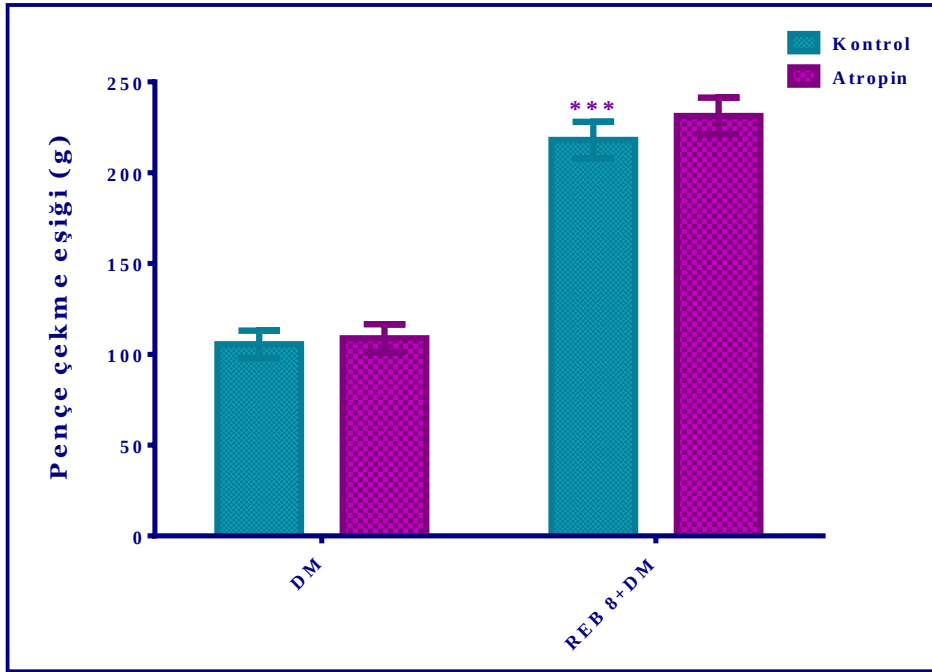
Diğer yandan, literatürde dopaminerjik nörotransmisyonun, ağrının duyuşal yönünden çok afektif yönü üzerine etkili olduğına ilişkin görüşlere de rastlamak mümkündür. Bu yaklaşımın esas nedeni, kronik ağrının motivasyon davranışını bozan hipodopaminerjik bir duruma yol açması ve kronik ağrılı hastalarda mezolimbik dopaminerjik sistemde güçlü uyaranlara karşı cevap duyarlılığının azalmasıdır (Taylor vd., 2016). Bu bağlamda, dopamin'in analjezideki rolünün nosiseptif sinyaller üzerindeki doğrudan etkilerinden ziyade, ağrı duygusu üzerindeki dolaylı etkileri ile ilişkili olabileceğı ileri sürülmüştür (Tiemann vd., 2014).

5.4.9. Atropin uygulamalarına ilişkin bulgular

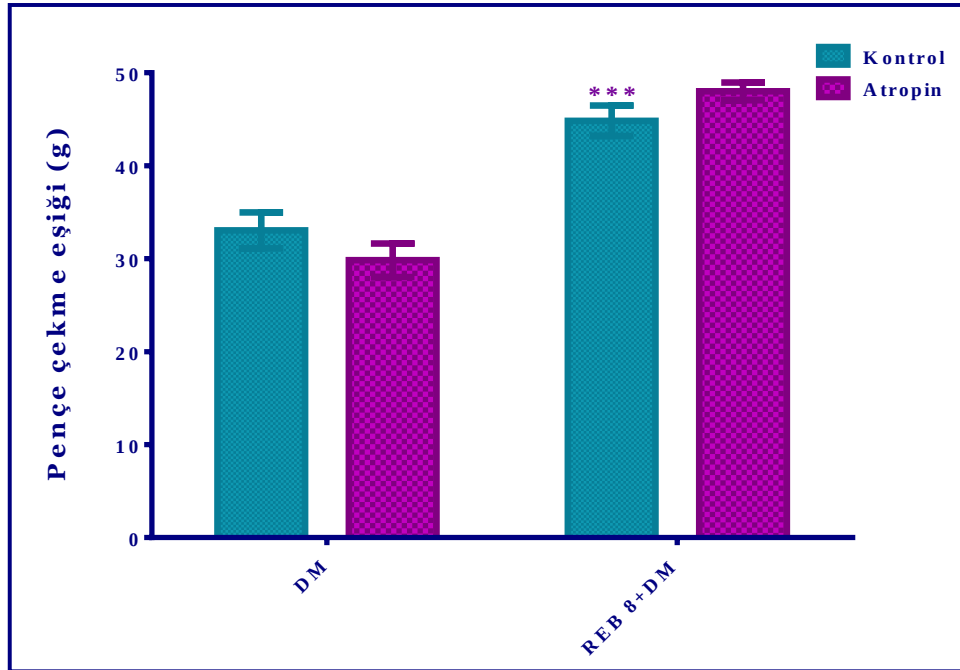
Kolinerjik sistemin ve özellikle muskarinik reseptörlerin akut ve kronik ağrının modülasyonu ve analjezi ile ilişkili olduğı bilinmektedir (Kimura vd., 2012; Lee vd., 2016; Pecikoza vd., 2018). Bu bilgiden reboksetin'in diyabetik sıçanlardaki antihiperaljezik ve antiallodinik etkilerine asetilkolin'in muskarinik reseptörlerinin katılımını araştırmak üzere non-selektif muskarinik reseptör blokörü bir ajan olan atropin ile mekanizma çalışmaları yapılmıştır.

Randall-Selitto testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antihiperaljezik yanıtlar üzerine atropin uygulamasının etkileri **Şekil 5.40**'da gösterilmiştir. Çift yönlü ANOVA sonuçları sıçanların bu testte ölçülen pençe çekme eşik değerleri üzerinde tedavi faktörünün $[F (1,28)=173,0; p<0,001]$ etkili olduğunu ancak antagonist faktörünün $[F (1,28)=0,85; p>0,05]$ etkili olmadığını göstermiştir. Ayrıca, tedavi ile antagonist faktörleri arasında anlamlı bir etkileşim de bulunmamaktadır $[F (1,28)=0,31; p>0,05]$. Bonferroni çoklu karşılaştırma testi sonuçları ise atropin uygulamasının reboksetin'in Randall-Selitto testindeki antihiperaljezik etkinliğini ortadan kaldırmadığına işaret etmiştir ($p>0,05$) (**Şekil 5.40**).

Şekil 5.41., dinamik plantar testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine atropin uygulamasının etkilerini göstermektedir. Çift yönlü ANOVA sonuçları sıçanların bu testte ölçülen pençe çekme eşik değerleri üzerinde tedavi faktörünün $[F (1,28)=85,24; p<0,001]$ etkili olduğunu ancak antagonist faktörünün $[F (1,28)<0,01; p>0,05]$ etkili olmadığını göstermiştir. Ayrıca, tedavi ile antagonist faktörleri arasında anlamlı bir etkileşim de bulunmamaktadır $[F (1,28)=3,87; p>0,05]$.



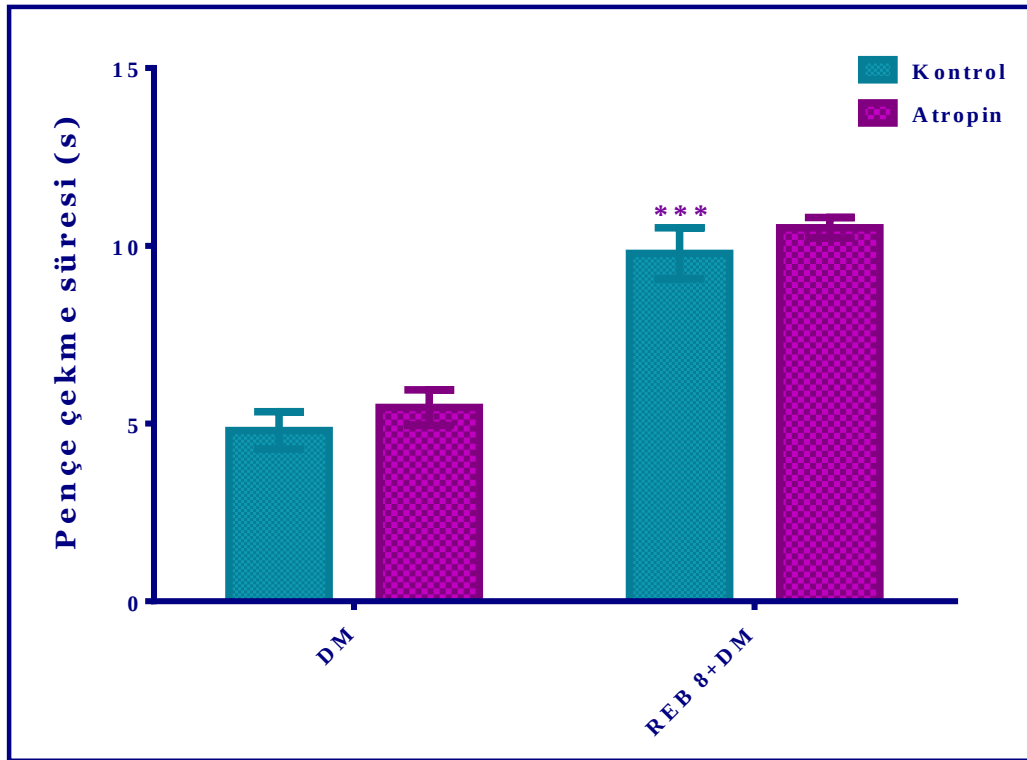
Şekil 5.40. Atropin ($5 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ i.p.}$) uygulamasının Randall-Selitto testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antihiperaljezik yanıtlar üzerine etkisi. SF uygulanan diyabetik kontrol grubuna göre anlamlı farklılık *** $p < 0,001$. Çift yönlü ANOVA, takiben Bonferroni çoklu karşılaştırma testi, $n=8$.



Şekil 5.41. Atropin ($5 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ i.p.}$) uygulamasının dinamik plantar testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine etkisi. SF uygulanan diyabetik kontrol grubuna göre anlamlı farklılık *** $p < 0,001$. Çift yönlü ANOVA, takiben Bonferroni çoklu karşılaştırma testi, $n=8$.

Çoklu karşılaştırma için yapılan Bonferroni analizi sonuçları ise atropin uygulamasının reboksetin'in dinamik plantar testindeki antiallodinik etkinliğini ortadan kaldırmadığına işaret etmiştir ($p>0,05$) (Şekil 5.41).

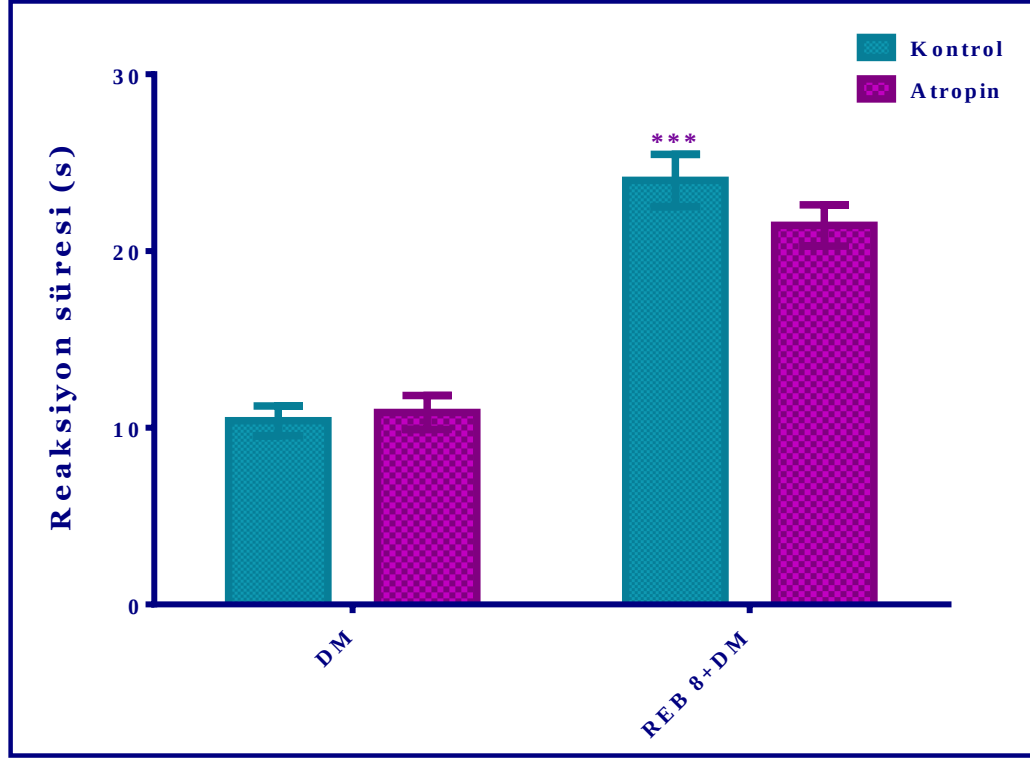
Plantar testte 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antihiperalezik yanıtlar üzerine atropin uygulamasının etkileri Şekil 5.42'de gösterilmiştir. Çift yönlü ANOVA sonuçları sıçanların bu testte ölçülen pençe çekme süreleri üzerinde tedavi faktörünün [$F(1,28)=89,66$; $p<0,001$] etkili olduğunu ancak antagonist faktörünün [$F(1,28)=1,66$; $p>0,05$] etkili olmadığını göstermiştir. Ayrıca, tedavi ile antagonist faktörleri arasında anlamlı bir etkileşim de bulunmamaktadır [$F(1,28)<0,01$; $p>0,05$]. Çoklu karşılaştırma için yapılan Bonferroni analizi sonuçları ise atropin uygulamasının reboksetin'in plantar testteki antihiperalezik etkinliğini ortadan kaldırmadığına işaret etmiştir ($p>0,05$) (Şekil 5.42).



Şekil 5.42. Atropin ($5 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ i.p.}$) uygulamasının plantar testte 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antihiperalezik yanıtlar üzerine etkisi. SF uygulanan diyabetik kontrol grubuna göre anlamlı farklılık *** $p<0,001$. Çift yönlü ANOVA, takiben Bonferroni çoklu karşılaştırma testi, $n=8$.

Şekil 5.43., ılık plaka testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine atropin uygulamasının etkilerini göstermektedir. Çift yönlü ANOVA sonuçları sıçanların bu testte ölçülen reaksiyon sürelerinin üzerinde tedavi faktörünün [F

(1,28)=113,3; $p<0,001$] etkili olduğunu ancak antagonist faktörünün [$F(1,28)=0,83$; $p>0,05$] etkili olmadığını göstermiştir. Ayrıca, tedavi ile antagonist faktörleri arasında anlamlı bir etkileşim de bulunmamaktadır [$F(1,28)=1,76$; $p>0,05$]. Çoklu karşılaştırma için yapılan Bonferroni analizi sonuçları ise atropin uygulamasının reboksetin'in ılık plaka testindeki antiallodinik etkinliğini ortadan kaldırmadığına işaret etmiştir ($p>0,05$) (Şekil 5.43.).



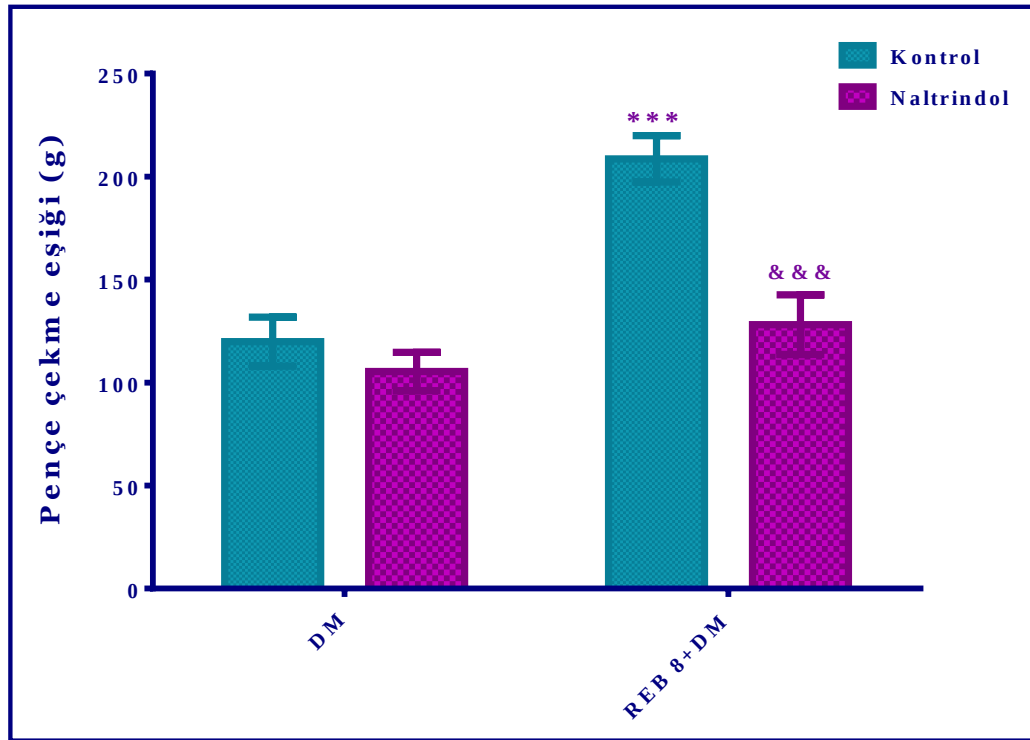
Şekil 5.43. Atropin ($5 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ i.p.}$) uygulamasının ılık plaka testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine etkisi. SF uygulanan diyabetik kontrol grubuna göre anlamlı farklılık *** $p<0,001$. Çift yönlü ANOVA, takiben Bonferroni çoklu karşılaştırma testi, $n=8$.

Atropin çalışmaları sonucunda, bu blokörün 5 mg.kg^{-1} dozda (*i.p.*) uygulanmasının diyabetik sıçanlarda reboksetin ile indüklenen antihiperalezik ve antiallodinik etkileri geri çeviremediği görülmüştür. Bu bulgular, reboksetin'in bu çalışmada ortaya konulan farmakolojik etkilerine muskarinik reseptörlerin aracılık etmediğine işaret etmektedir.

5.4.10. Naltrindol uygulamalarına ilişkin bulgular

Antidepresan ilaçların noradrenerjik sistem üzerindeki etkilerinin, endojen opioid sistemi harekete geçirdiği ve opioid sistemin de μ -, δ - ve κ -opioid reseptörleri aracılığıyla ağrının inhibitör kontrolünde önemli rol oynadıkları bilinmektedir (Mogil vd., 2000;

Gaveriaux-Ruff ve Kieffer, 2002; Dierich ve Kieffer, 2004). Diğer yandan, son dönemlerde yapılan çalışmalar, yoğun olarak δ -opioid reseptörlerin nöropatik ağrı ile ilişkisine odaklanmıştır (Castany vd., 2016; McDonnell vd., 2017; Saitoh ve Nagase, 2018). Bu nedenle, reboksetin'in diyabetik sıçanlardaki antihiperaljezik ve antiallodinik etkilerine δ -opioid reseptörlerin olası katılımlarını araştırmak üzere potensi ve seçiciliği yüksek bir delta opioid reseptör blokörü olan naltrindol ile antagonizma çalışmaları yapılmıştır.

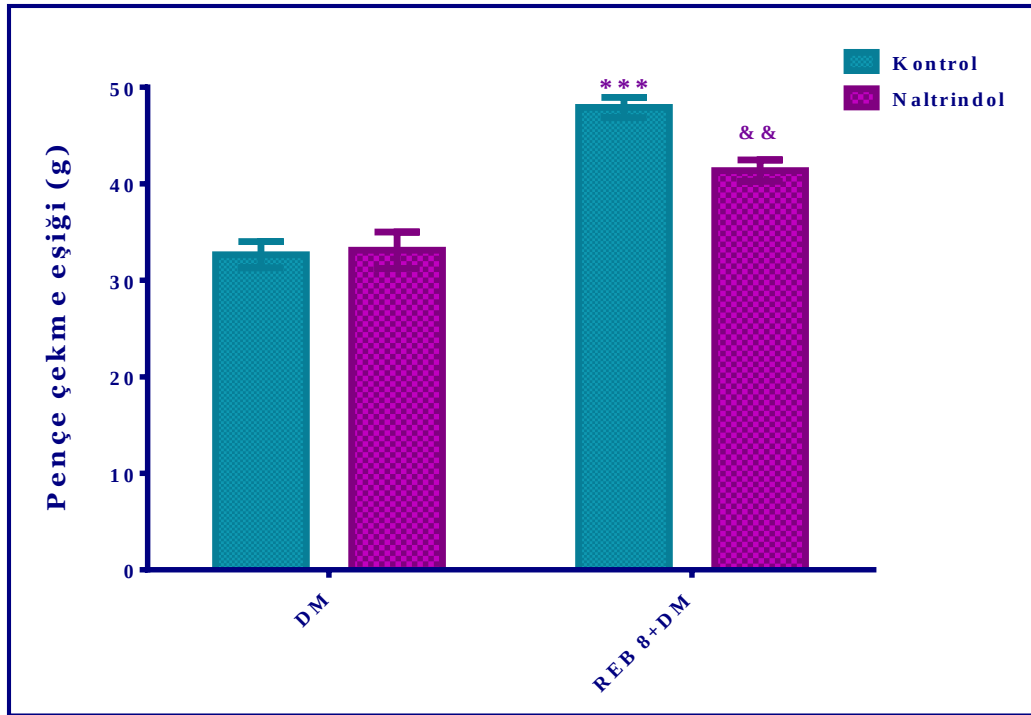


Şekil 5.44. Naltrindol (3 mg.kg^{-1} i.p.) uygulamasının Randall-Selitto testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antihiperaljezik yanıtlar üzerine etkisi. SF uygulanan diyabetik kontrol grubuna göre anlamlı farklılık *** $p < 0,001$; 8 mg.kg^{-1} reboksetin uygulanan diyabetik gruba göre anlamlı farklılık &&& $p < 0,001$. Çift yönlü ANOVA, takiben Bonferroni çoklu karşılaştırma testi, $n=8$.

Randall-Selitto testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antihiperaljezik yanıtlar üzerine naltrindol uygulamasının etkileri Şekil 5.44'de gösterilmiştir. Çift yönlü ANOVA sonuçları sıçanların bu testte ölçülen pençe çekme eşik değerleri üzerinde hem tedavi faktörünün [$F(1,28)=22,06$; $p < 0,001$] hem de antagonist faktörünün [$F(1,28)=16,01$; $p < 0,001$] etkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca, tedavi ile antagonist faktörleri arasında anlamlı bir etkileşim bulunmaktadır [$F(1,28)=7,73$; $p < 0,01$]. Bonferroni çoklu karşılaştırma testi sonuçları ise naltrindol uygulamasının reboksetin'in

Randall-Selitto testindeki antihiperalezik etkinliğini ortadan kaldırdığına işaret etmiştir ($p<0,001$) (Şekil 5.44).

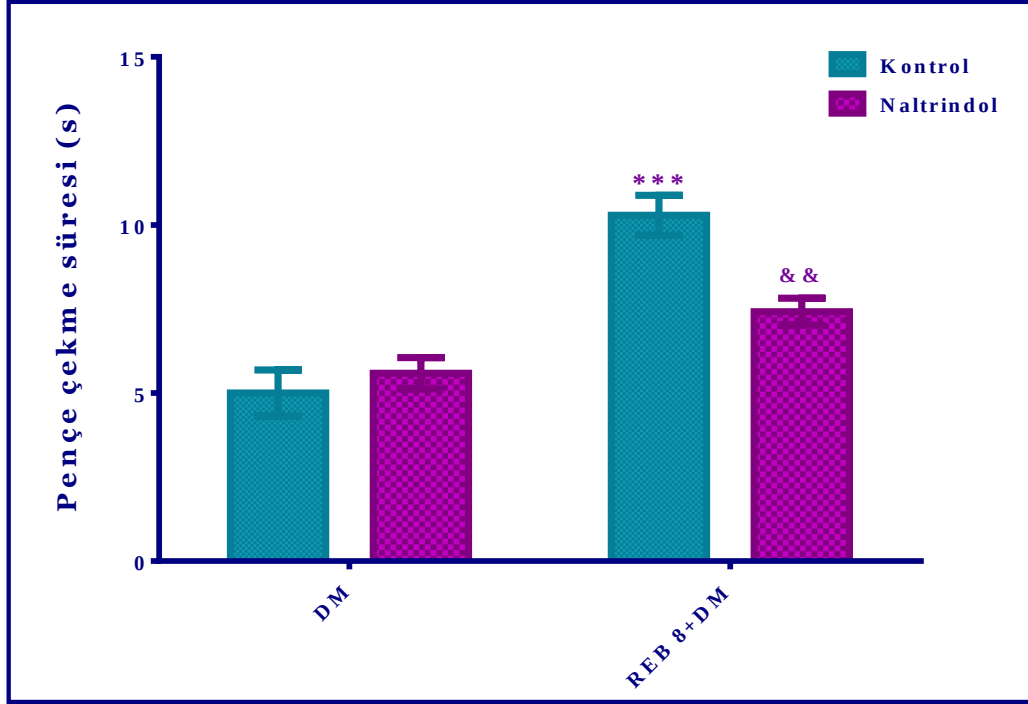
Şekil 5.45., dinamik plantar testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen anti-allodinik yanıtlar üzerine naltrindol uygulamasının etkilerini göstermektedir. Çift yönlü ANOVA sonuçları sıçanların bu testte ölçülen pençe çekme eşik değerleri üzerinde hem tedavi faktörünün [$F(1,28)=71,58$; $p<0,001$] hem de antagonist faktörünün [$F(1,28)=4,80$; $p<0,05$] etkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca, tedavi ile antagonist faktörleri arasında anlamlı bir etkileşim bulunmaktadır [$F(1,28)=6,38$; $p<0,05$]. Çoklu karşılaştırma için yapılan Bonferroni analizi sonuçları ise naltrindol uygulamasının reboksetin'in dinamik plantar testindeki antiallodinik etkinliğini ortadan kaldırdığına işaret etmiştir ($p<0,01$) (Şekil 5.45).



Şekil 5.45. Naltrindol (3 mg.kg^{-1} i.p.) uygulamasının dinamik plantar testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine etkisi. SF uygulanan diyabetik kontrol grubuna göre anlamlı farklılık *** $p<0,001$; 8 mg.kg^{-1} reboksetin uygulanan diyabetik gruba göre anlamlı farklılık && $p<0,01$. Çift yönlü ANOVA, takiben Bonferroni çoklu karşılaştırma testi, $n=8$.

Plantar testte 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antihiperalezik yanıtlar üzerine naltrindol uygulamasının etkileri Şekil 5.46'de gösterilmiştir. Çift yönlü ANOVA sonuçları sıçanların bu testte ölçülen pençe çekme süreleri üzerinde hem tedavi faktörünün [$F(1,28)=42,50$; $p<0,001$] hem de antagonist faktörünün [$F(1,28)=4,36$;

$p<0,05$] etkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca, tedavi ile antagonist faktörleri arasında anlamlı bir etkileşim bulunmaktadır [$F(1,28)=10,01$; $p<0,01$]. Bonferroni çoklu karşılaştırma testi sonuçları ise naltrindol uygulamasının reboksetin'in plantar testteki antihiperalezik etkinliğini ortadan kaldırdığına işaret etmiştir ($p<0,01$) (Şekil 5.46).

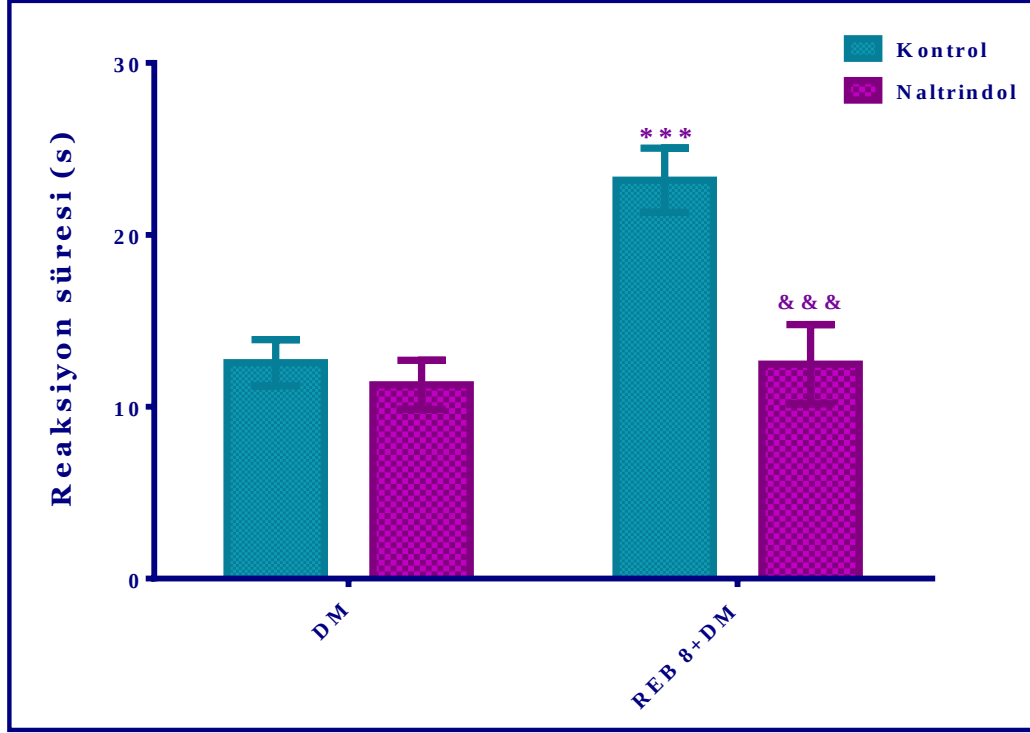


Şekil 5.46. Naltrindol ($3 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ i.p.}$) uygulamasının plantar testte 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antihiperalezik yanıtlar üzerine etkisi. SF uygulanan diyabetik kontrol grubuna göre anlamlı farklılık *** $p<0,001$; 8 mg.kg^{-1} reboksetin uygulanan diyabetik gruba göre anlamlı farklılık && $p<0,01$. Çift yönlü ANOVA, takiben Bonferroni çoklu karşılaştırma testi, $n=8$.

Şekil 5.47., ılık plaka testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine naltrindol uygulamasının etkilerini göstermektedir. Çift yönlü ANOVA sonuçları sıçanların bu testte ölçülen reaksiyon süreleri üzerinde hem tedavi faktörünün [$F(1,28)=11,06$; $p<0,01$] hem de antagonist faktörünün [$F(1,28)=11,38$; $p<0,01$] etkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca, tedavi ile antagonist faktörleri arasında anlamlı bir etkileşim bulunmaktadır [$F(1,28)=7,03$; $p<0,05$]. Çoklu karşılaştırma için yapılan Bonferroni analizi sonuçları ise naltrindol uygulamasının reboksetin'in ılık plaka testindeki antiallodinik etkinliğini ortadan kaldırdığına işaret etmiştir ($p<0,001$) (Şekil 5.47).

Naltrindol çalışmaları sonucunda, bu blokörün 3 mg.kg^{-1} dozda (*i.p.*) uygulanmasının reboksetin'in diyabetik sıçanlardaki antihiperalezik ve antiallodinik

etkilerini güçlü biçimde antagonize ettiği belirlenmiştir. Bu bulgulardan hareketle, reboksetin'in söz konusu farmakolojik etkilerine δ -opioid reseptörlerin katkıda bulunduğu söylenebilir.



Şekil 5.47. Naltrindol ($3 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ i.p.}$) uygulamasının ılık plaka testinde 8 mg.kg^{-1} reboksetin ile indüklenen antiallodinik yanıtlar üzerine etkisi. SF uygulanan diyabetik kontrol grubuna göre anlamlı farklılık *** $p < 0,001$; 8 mg.kg^{-1} Reboksetin uygulanan diyabetik gruba göre anlamlı farklılık &&& $p < 0,001$. Çift yönlü ANOVA, takiben Bonferroni çoklu karşılaştırma testi, $n=8$.

Bu çalışmada elde edilen bulgulara paralel biçimde, diyabetik polinöropatili ob/ob farelerde 2 haftalık nortriptilin tedavisi ile indüklenen antiallodinik etkinin naltrindol tarafından antagonize edildiği gösterilmiştir. Oysa μ -opioid reseptör blokörü bir ajan olan naloksonazin, söz konusu antiallodinik etkinlik üzerinde naltrindol'e benzer bir etkiye neden olmamıştır. Bu bulgulardan hareketle, diyabetik polinöropatili hayvanlarda nortriptilin ile indüklenen antiallodinik etki için μ -opioid reseptörlerin değil, δ -opioid reseptörlerin kritik bir öneme sahip olduğu ileri sürülmüştür (Choucair-Jaafar vd., 2014).

Benzer sonuçlara siyatik sinir hasarı ile indüklenen nöropatik ağrı çalışmalarında da rastlanmıştır (Benbouzid vd., 2008a; 2008b; Bohren vd., 2010; Yalcin vd., 2010). Kronik nortriptilin tedavisi siyatik sinir hasarı ile nöropatik ağrı oluşturulmuş hayvanlarda da δ -opioid reseptör blokörü naltrindol ve κ -opioid reseptör blokörü

norbinaltorfimin ile geri döndürülen bir antiallodinik etkinliğe neden olmuştur (Benbouzid vd., 2008a; 2008b).

Diğer yandan, kronik amitriptilin ve nortriptilin uygulamalarının δ -opioid reseptör geni silinmiş farelerde siyatik sinir hasarı ile indüklenen mekanik allodiniye karşı herhangi bir antiallodinik etkinliğe neden olmadığı gösterilmiştir (Benbouzid vd., 2008b). Bu bulguların ışığında kronik antidepresan tedavisinin nöropatik ağrılı sıçanlardaki antiallodinik etkilerine, endojen opioid sistemin δ -opioid reseptörleri aracılığıyla katkıda bulunduğu ileri sürülmüştür (Benbouzid vd., 2008b).

Unilateral siyatik sinir hasarı ile oluşturulan bir mekanik allodini modelinde, 10 günlük nortriptilin tedavisinin, allodiniyi hem vahşi tipte hem de μ -opioid reseptör geni silinmiş farelerde baskıladığı gösterilmiştir. Bu bulgulardan hareketle μ -opioid reseptörlerin nortriptilin'in nöropatik ağrıya karşı etkinliğinde kritik bir rol oynamadığı sonucuna varılmıştır. Diğer yandan, naltrindol uygulaması hem vahşi tipte hem de μ -opioid reseptör geni silinmiş farelerde nöropatik allodininin nüksüne neden olmuştur. Bu bulgular nortriptilin'in nöropati üzerine etkinliğinde δ -opioid reseptörlerin kritik rol oynadığına ilişkin bulgular ile örtüşmektedir (Bohren vd., 2010).

δ -opioid reseptörlerin nöropatik ağrı ile ilişkisini ve tedavideki potansiyelini ortaya koyan tüm bu literatür bilgileri, bu çalışmanın reboksetin'in antihiperaljezik ve antiallodinik etkilerine δ -opioid reseptörlerin aracılık ettiğine ilişkin bulgularını destekler niteliktedir.

Bununla birlikte, naltrindol uygulamasının nortriptilin'in yanı sıra β_2 adrenoseptör agonistleri olan terbutalin'in (Choucair-Jaafar vd., 2014) ve klenbuterol'un (Yalcin vd., 2010) nöropatik ağrı üzerine yararlı etkilerini de ortadan kaldırdığı gösterilmiştir. β_2 adrenoseptör agonistlerinin nöropatik ağrıyı tedavi edici etkinliklerini δ -opioid reseptörler ile ilişkilendiren bu bilgiler, reboksetin'in antihiperaljezik ve antiallodinik etkilerine esas olarak β_2 -adrenerjik, δ -opioiderjik ve dopaminerjik reseptörlerin aracılık ettiğini ortaya koyan bu tez çalışmasının bulguları ile büyük ölçüde örtüşmesi açısından oldukça dikkat çekicidir.

5.5. Morfometrik Analizlere İlişkin Bulgular

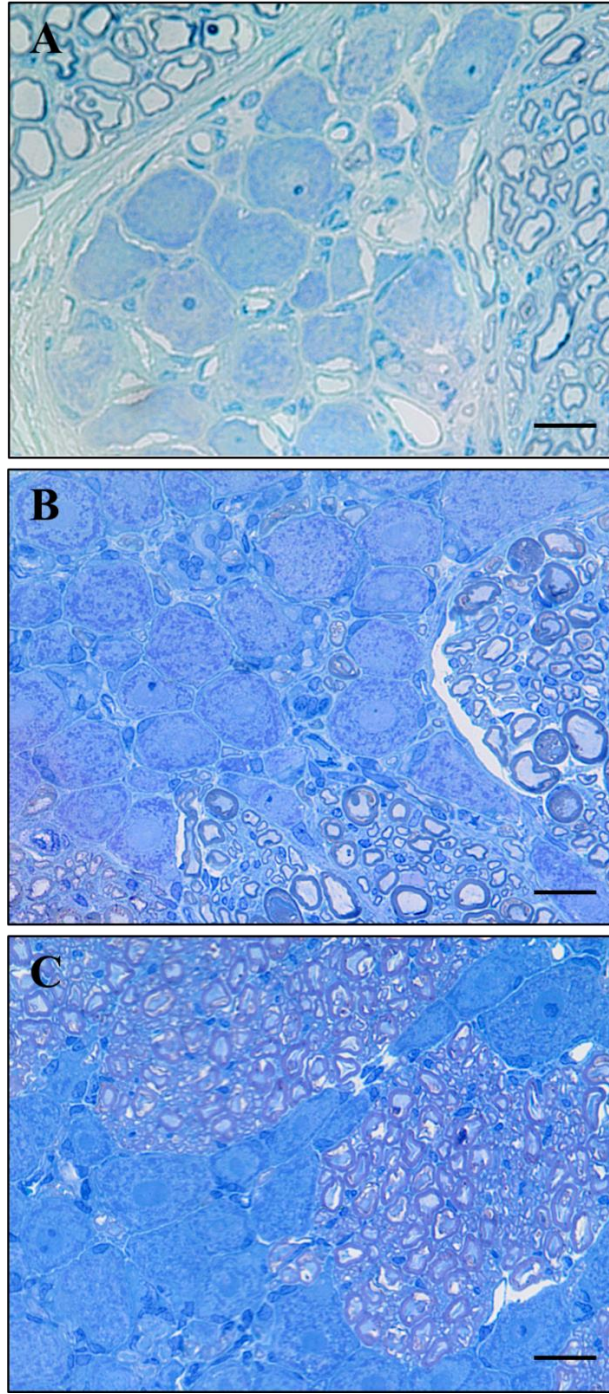
DRG, omuriliğin dorsal kökü üzerinde bulunan primer duyuşal nöronların hücre gövdelerinin yer aldığı nöron topluluğudur (Kalynovska, 2012; Sapunar vd., 2012). Diyabetin gerek SSS'de gerekse PSS'de olumsuz etkilere neden olduğu bilinmekle

birlikte, PSS’de ağrının işlenmesi ile ilgili kritik bir merkez olan DRG’nin diyabet kaynaklı kronik hiperglisemiye karşı özel bir duyarlılığa sahip olduğu ileri sürülmüştür. Bunun başlıca nedenlerinden birinin diyabetin DRG'deki lokal kan akımını azaltıcı etkisi nedeniyle (Zochodne ve Ho, 1994; Zochodne vd., 1994), DRG’deki yüksek metabolik gereksinimlerin karşılanamaması olabileceği ileri sürülmüştür (Greene vd., 1979; Kadekaro vd., 1985; Zochodne ve Ho, 1991). Diğer yandan, DRG'nin duyusal nöronlarının hiperglisemiye karşı duyarlılığının yüksek olmasının SSS’deki nöronlardan farklı olarak kan-beyin bariyerinin koruyucu etkisinden mahrum kalması ile ilişkili olması da mümkündür (Arvidson, 1979). Ayrıca, DRG’nin diyabete bağlı mikroanjyopati gelişimine özellikle duyarlı olduğu ileri sürülmüştür (Zochodne vd., 2001).

DRG’nin ağrı iletimindeki kritik rolüne ve diyabetin DRG üzerine olumsuz etkilerine işaret eden raporlara rağmen, literatürde diyabetik deneklerde DRG’deki duyusal nöronların sayı ve morfolojilerine ilişkin sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır (Zochodne vd., 2001; Kishi vd., 2002; Kamiya vd., 2005; 2006). Bu nedenle bu tez çalışmasında diyabetin DRG morfolojisinde neden olduğu değişimlerin ve reboksetin’in bu değişimler üzerine olası etkinliğinin araştırılması amacıyla morfometrik çalışmalar yapılmıştır.

14 gün boyunca düzenli olarak SF uygulanan sağlıklı sıçanların (Kontrol), SF uygulanan diyabetik sıçanların (DM) veya 8 mg.kg⁻¹ reboksetin uygulanan diyabetik sıçanların (REB 8+DM) L3-L5 seviyelerine denk gelen DRG’lerinden alınan ve toluidin mavisi ile boyanan yarı ince kesitlere ait fotomikrograflar **Şekil 5.48.**’de gösterilmiştir.

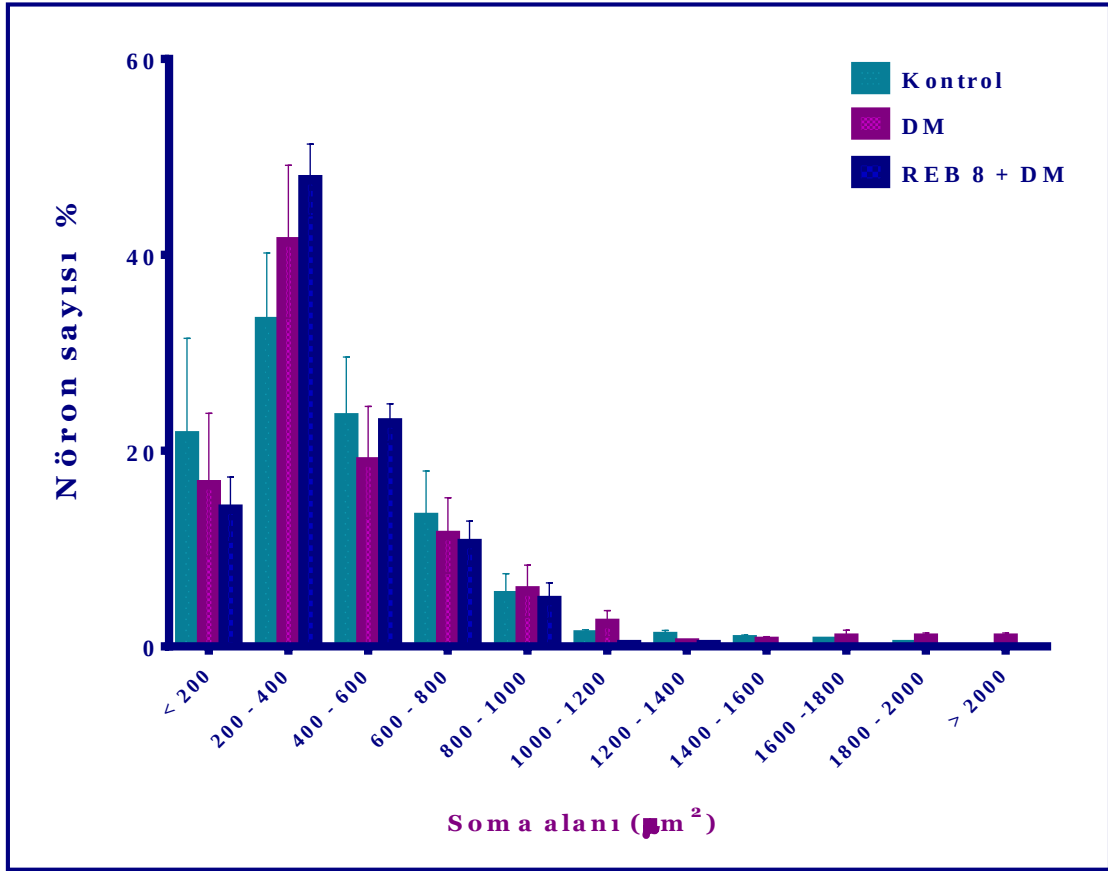
DRG kesitleri ışık mikroskobunda incelendiğinde, diyabetik sıçanların DRG’lerinde yer alan duyusal nöron gövdelerinin kontrol grubuna kıyasla daha küçük olduğu görülmüştür. Ayrıca, gangliyoner atrofiye bağlı olarak nöronların daha yoğun olarak paketlenmesi ve daha bazofilik görüldüğü de dikkati çekmektedir. Kayda değer diğer değişiklikler ise kontrol grubunda daha belirgin olan hücre sınırlarının diyabetik gruplarda kaybolmaya başlaması, nöron sitoplazmaları içinde Nissl cisimciklerinin belirgin hale gelmesi, aksonal dejenerasyonlar ve akson çapındaki küçülmelerdir (**Şekil 5.48 B ve C**). Diğer yandan, reboksetin tedavisi diyabetik sıçanların DRG’lerinde gözlenen söz konusu morfolojik değişiklikler üzerinde anlamlı bir farklılığa neden olmamıştır (**Şekil 5.48 B ve C**).



Şekil 5.48. SF uygulanan sağlıklı sıçanların (Kontrol) (A) ve SF uygulanan diyabetik sıçanların (DM) (B), 8 mg.kg⁻¹ reboksetin uygulanan diyabetik sıçanların (REB 8+DM) (C) L3-L5 seviyelerine denk gelen DRG'lerinin toluidin mavisi ile boyanmış transvers kesitlerine ait temsili görüntüleri (Ölçek: 20µm)

14 gün boyunca düzenli olarak SF uygulanan sağlıklı sıçanların (Kontrol), SF uygulanan diyabetik sıçanların (DM) veya 8 mg.kg⁻¹ reboksetin uygulanan diyabetik sıçanların (REB 8+DM) L3-L5 seviyelerine denk gelen DRG'lerinden, her bir sıçan için

alınan 100 adet nörona ait soma alanı ölçümleri sonucunda elde edilen veriler **Şekil 5.49.**'da gösterilmiştir.



Şekil 5.49. SF uygulanan sağlıklı sıçanların (Kontrol), SF uygulanan diyabetik sıçanların (DM) ve 8 mg.kg⁻¹ reboksetin uygulanan diyabetik sıçanların (REB 8+DM) DRG nöronlarının soma alanlarına ait histogram, n=6.

DRG nöronlarının soma alanı ölçümleri sonucunda elde edilen histogram değerlendirildiğinde, kontrol grubuna ait DRG nöronlarının normal dağılım sergilediği ancak diyabetik sıçanların DRG nöronlarının büyük çoğunluğunun küçük boyutlu nöronlara denk gelen 200-400 µm²'lik aralıkta kümелendiği görülmüştür. Bu bilgi ilk bakışta, diyabetin DRG'de öncelikle duyuşal nöronlara zarar verdiğine (Craner ve ark., 2002) ilişkin literatür bilgileri ile çelişkili gibi görünmekle birlikte, histogramda küçük nöronlarda görülen söz konusu kümelenmenin küçük nöronların sayısındaki herhangi bir artıştan değil, gangliyonlardaki atrofiden kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Nitekim, diyabetik hayvanların DRG'lerinde küçük nöron oranında görülen artışların gangliyoner atrofi ile ilişkili olduğu daha önce de bildirilmiştir (Zochodne vd., 2001; Kishi vd., 2002; Kamiya vd., 2005).

Histogramda, nöron dağılımı ile ilgili olarak sözü edilen kümelenme dışında, gruplar arasında anlamlı bir farklılık görülmemektedir. Bu bulgular Zochodne ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, 2 aylık diyabet süreci sonunda sıçanların L5 düzeylerinden alınan DRG'lerde ortalama nöron çaplarına ve soma alanlarına ait değerlerin kontrol grubuna göre farklı olmadığını bildirilen sonuçlar ile örtüşmektedir (Zochodne vd., 2001). Diğer yandan, konu ile ilgili önceki çalışmalar, nöronların soma çaplarında ve soma alanlarındaki değişimin diyabetin süresi ile yakından ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Örneğin, Zochodne ve arkadaşlarının çalışmasında diyabet süresinin 2 ay yerine 12 aya uzatılmasının DRG'de büyük nöronların sayısında azalmaya ve küçük nöronların sayısında kayda değer bir artışa neden olduğu gösterilmiştir (Zochodne vd., 2001). Yine bir başka çalışmada 4 aylık diyabet süresinin sonunda BB/WOR sıçanların L4-L5 seviyelerine denk gelen DRG'lerde yapılan analiz sonucu elde edilen histogramda küçük nöronlarda bir kümelenme olduğu; yani diyabetik sıçanların DRG'lerinde ortalama nöron boyutunun azaldığı belirlenmiştir. Ayrıca, DRG'deki nöron sayılarında kontrol grubuna göre anlamlı olamamakla birlikte yaklaşık %15 lik bir azalma olduğu belirlenmiştir (Kamiya vd., 2005). Aynı çalışma grubu tarafından yapılan diğer bir çalışmada ise diyabetin süresi 10 aya uzatıldığında, BB/WOR sıçanların L5 seviyelerine denk gelen DRG'lerde nöron sayısı % 25 oranında azalmış ve bu kez fark istatistiksel olarak anlamlı hale gelmiştir. Ayrıca, diyabetik sıçanların DRG'lerinde geriye kalan nöronların boyutlarında da %30'luk bir azalma olduğu gösterilmiştir (Kamiya vd., 2006). Yine benzer bir çalışmada tek doz STZ ile diyabet oluşturulmuş sıçanlarda 12 aylık diyabet modelinde, DRG'de büyük nöronlarda önemli ölçüde kayıp yaşandığı ve küçük nöronların büyük nöronlara oranının yaklaşık 78/22 olacak şekilde arttığı gösterilmiştir (Kishi vd., 2002). Tüm bu raporlar DRG nöronlarındaki morfolojik değişimlerin diyabetin süresi ile ilişkili olduğuna ve nöron morfolojisindeki değişimlerin diyabetin süresi uzadıkça belirginleştiğine işaret etmektedir. Nöropatiye bağlı ağrı sendromlarında, ağrı sinyallerinin ilk olarak lezyonun bulunduğu aksonal bölgede oluştuğu; ancak zaman içinde primer duyuşal DRG nöronlarının diğer kısımlarının ve spinal ve supraspinal düzeydeki yapıların da bu sürece dâhil olduğu bilinmektedir (Zimmermann, 2001). Bu bağlamda, diyabetin önce nosiseptif nöronların aksonlarına zarar verdiği ve DRG'nin diyabetten etkilenmesinin daha uzun zaman aldığı düşünülebilir.

Literatürdeki önceki çalışmalara ait sözü edilen sonuçlar, bu tez çalışmasının 6 haftalık diyabetik sıçanların DRG'lerinde küçük nöronlarda kümelenme olduğuna ilişkin bulgularını destekler niteliktedir. Diğer yandan reboksetin uygulamaları, diyabetik sıçanların DRG nöronlarının morfolojileri üzerinde anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır. Bunun sebebi, reboksetin'in ağrı üzerine etkisinin daha çok ağrı iletimindeki işlevsel değişiklikler ile ilişkili olması olabilir. Nitekim reboksetin'in diyabetik sıçanların hiperglisemi düzeylerini değiştirmemiş olması, bu ilacın nöropatik ağrıya karşı etkinliğinin diyabet ile ilişkili metabolik ya da morfolojik süreçleri etkilemekten ziyade, doğrudan ağrı iletimini baskılaması ile ilişkili olabileceği görüşünü desteklemektedir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Diyabetik polinöropatiye bağlı ağrı da dâhil olmak üzere nöropatik ağrı tedavisinde ilk seçim antidepresanlar olan TSA'ların ve SNRI'ların nöronlarda noradrenalin ve serotonin taşıyıcılarını inhibe ederek sinaptik aralıktaki monoamin konsantrasyonlarını artırdıkları bilinmektedir (Attal vd., 2010; Dworkin vd., 2010; Saarto ve Wiffen, 2010). Bu ilaçların nöropatik ağrı üzerine olumlu etkilerinin monoaminerjik nörotransmisyonu güçlendirme kapasiteleri ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Diğer yandan, SSRI'ların hem prelinik nöropati modellerinde (Benbouzid vd., 2008a), hem de nöropatik ağrı kliniğindeki zayıf etki profilleri, söz konusu terapötik etkinlikte kritik rolün serotonerjik sistemden çok noradrenerjik sisteme ait olabileceği düşüncesini gündeme getirmiştir (Max vd.,1992; Attal vd., 2010; Dworkin vd., 2010; Saarto ve Wiffen, 2010). Son dönemlerde yapılan çalışmaların sonuçları, nöropatik ağrı tedavisinde kritik rolün noradrenerjik sisteme ait olduğu ve serotonerjik ve dopaminerjik sistemin yalnızca modülatör etki gösterdiği noktasında yoğunlaşmıştır (Webster, 2015; Obata, 2017; Barbaros vd., 2018).

Bu nedenle bu tez çalışmasında selektif noradrenalin geri alım inhibitörü (sNRI) bir ilaç olan reboksetin'in diyabet ile indüklenen hiperaljezi ve allodini yanıtları üzerine etkinliği araştırılmıştır. STZ ile deneysel diyabet modeli oluşturulan sıçanlarda nöropatiye bağlı ağrının gelişimi için 4 hafta beklendikten sonra (Üçel vd., 2015; Aydın vd., 2016; Barbaros vd., 2018), iki hafta süre ile reboksetin (8 mg.kg⁻¹ ve 16 mg.kg⁻¹ dozlarında, *p.o.*) tedavisi uygulanmıştır. Reboksetin, uygulandığı her iki dozda da diyabetik sıçanlarda mekanik ve termal uyaranlar ile indüklenen hiperaljezi ve allodini yanıtlarını, referans ilaç olarak kullanılan pregabalin ile karşılaştırılabilir ölçüde azaltmıştır. Ayrıca, bu çalışmanın reboksetin'in diyabetik sıçanların yatay ve dikey yönlerdeki lokomotor aktivitelerini değiştirmedicine ilişkin bulguları da, reboksetin'in antihiperaljezik ve antiallodinik etkilerinin, motor aktivitedeki herhangi bir değişimden kaynaklanmadığına işaret etmiştir. Literatürde reboksetin'in sıçanlarda siyatik sinir hasarına (Yalcin vd., 2009b) ve tibial sinir transeksiyonuna (Hughes vd., 2013; 2015) bağlı ağrı ve allodiniyi zayıflatığına ve kronik konstrüksiyon hasarı uygulanan sıçanlarda termal hiperaljeziyi azalttığına (Pedersen vd., 2005) ilişkin bazı çalışmalar bulunmakla birlikte, bu ilacın diyabetik hayvanlarda mekanik ve termal uyaranlar ile indüklenen hiperaljeziyi ve allodiniyi hafifletici etkinliği daha önce hiç rapor edilmemiştir.

Bu çalışma kapsamında, reboksetin'in nöropatik ağrıya karşı etkinliği ortaya konulduktan sonra, bu etkiye aracılık eden olası mekanizmalar aydınlatılmaya çalışılmıştır. Bu amaçla önce katekolamin sentez inhibitörü bir ajan olan AMPT ile çalışılmıştır. Reboksetin'in antihiperaljezik ve antiallodinik etkilerinin AMPT uygulaması ile ortadan kalkmış olması, bu ilacın nöropatik ağrıyı zayıflatıcı etkinliğinin, en azından kısmen, katekolaminerjik sistem ile ilişkili olduğuna işaret etmiştir.

Reboksetin'in nöropatik ağrı üzerine etkinliğinin katekolaminerjik sistem ile ilişkisi ortaya koyulduktan sonra, söz konusu etkilere aracılık eden katekolaminerjik reseptörler araştırılmıştır. Bu amaçla önce non-selektif α -adrenerjik reseptör blokörü fentolamin ile daha sonra da non-selektif β -adrenerjik reseptör blokörü propranolol ile mekanistik çalışmalar yapılmıştır. Propranolol uygulamaları reboksetin'in antihiperaljezik ve antiallodinik etkilerini geri çevirmiş; ancak fentolamin uygulamaları ile böyle bir etki görülmemiştir. Elde edilen bu bulgular, reboksetin'in antihiperaljezik ve antiallodinik etkilerine α -adrenerjik reseptörlerin değil; β -adrenerjik reseptörlerin aracılık ettiğine işaret etmiştir.

Çalışmanın bir sonraki basamağında ise söz konusu etkilerin β -adrenerjik reseptörlerin hangi alt-tipi ya da tipleri ile ilişkili olduğunun belirlenmesine odaklanılmıştır. Farmakolojik etki ile ilişkili β -adrenerjik reseptör alt tipinin belirlenmesi amacıyla selektif β_1 -adrenerjik reseptör blokörü metoprolol, selektif β_2 -adrenerjik reseptör blokörü ICI 118,551 ve selektif β_3 -adrenerjik reseptör blokörü SR 59230A ile antagonizma çalışmaları yapılmıştır. Reboksetin'in antihiperaljezik ve antiallodinik etkileri ne metoprolol ne de SR 59230A uygulamaları ile geri dönmemiştir. Yalnızca ICI 118,551 uygulaması reboksetin'in söz konusu etkilerini tamamen ortadan kaldırılmıştır. Bu bulgular, reboksetin'in nöropatik ağrıyı zayıflatıcı etkinliğine β -adrenerjik reseptörler arasından sadece β_2 -adrenoseptörlerin aracılık ettiğine işaret etmiştir.

Reboksetin'in nöropatik ağrı üzerine etkinliğine dopaminerjik reseptörlerin katılımı ise D_1 -dopaminerjik reseptörlerin selektif blokörü SCH 23390 ve D_2/D_3 dopaminerjik reseptörlerin selektif blokörü sülpriid kullanılarak araştırılmıştır. Söz konusu blokörlerin her ikisi de reboksetin'in diyabetik sıçanlardaki antihiperaljezik ve antiallodinik etkilerini anlamlı ölçüde azaltmıştır. Bu veriler, reboksetin'in bu çalışmada sunulan söz konusu etkilerine D_1 - ve D_2/D_3 - dopaminerjik reseptörlerin aracılık ettiğine işaret etmektedir.

Son dönemlerde yapılan çalışmalar, kolinerjik sistemin muskarinik reseptörlerinin ve opioiderjik sistemin δ reseptörlerinin de nöropatik ağrı ile yakından ilişkili olduğunu

ortaya koymuştur (Castany vd., 2016; Lee vd., 2016; McDonnell vd., 2017; Pecikoza vd., 2018; Saitoh ve Nagase, 2018). Bu bilgilerden hareketle, reboksetin'in diyabet kaynaklı nöropatik ağrıya karşı etkinliğine muskarinik ve  -opioiderjik reseptörlerin olası katılımlarını araştırmak üzere sırasıyla non-selektif muskarinik reseptör blokörü bir ilaç olan atropin ve selektif  -opioid reseptör blokörü bir ajan olan naltrindol ile mekanizma çalışmaları yapılmıştır. Naltrindol reboksetin'in diyabetik sıçanlardaki antihiperalezik ve antiallodinik etkilerini ortadan kaldırdığı halde; atropin söz konusu etkiler üzerinde anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır. Bu bulgular, reboksetin'in nöropatik ağrıyı zayıflatıcı etkinliğine  -opioiderjik reseptörlerin de katkıda bulunduğuna işaret etmiştir. Bu çalışmada, nöropatik ağrı tedavisine ilişkin güncel literatür bilgisi ışığında muskarinik ve  -opioiderjik reseptörler seçilmiş olmakla birlikte, reboksetin'in antihiperalezik ve antiallodinik etkilerine kolinerjik nikotinik reseptörlerin ve diğer opioiderjik reseptör alt-tiplerinin de katılmış olmasının mümkün olduğunun da altını çizmek gerekir. Bu nedenle, bu çalışmanın daha sonraki basamaklarında söz konusu reseptörlere ilişkin mekanistik çalışmaların da yapılması planlanmaktadır.

Tüm bu çalışmalar sonucunda, bir sNRI olan reboksetin'in iki hafta süre ile 8 mg.kg⁻¹ ve 16 mg.kg⁻¹ dozlarında uygulanmasının, diyabetik nöropati modeli oluşturulmuş sıçanlarda güçlü antihiperalezik ve antiallodinik etkilere neden olduğu ilk kez gösterilmiş ve söz konusu etkilere katekolaminerjik sistemin,  ₂-adrenoseptörlerin, D₁- ve D₂/D₃- dopaminerjik reseptörlerin ve  -opioid reseptörlerinin aracılık ettiği ortaya konulmuştur. Diğer yandan, reboksetin'in antihiperalezik ve antiallodinik etkilerine aracılık etmesi mümkün olan ağrı ve analjezi ile ilişkili diğer endojen sistemlerin (GABAerjik sistem, glutamaterjik sistem, nitrerjik sistem, adenzinerjk sistem vs.) araştırılmasının da ilacın etki mekanizmasının detaylandırılması açısından yararlı olacağı açıktır.

Bu çalışmada reboksetin'in söz konusu etkilerine sayılan reseptörlerin katkısını ortaya koymak üzere farmakolojik yaklaşımlar kullanılmış olmakla birlikte, ilacın söz konusu reseptörler ile doğrudan ya da dolaylı ilişkilerini aydınlatmak üzere daha ayrıntılı çalışmalar yapılması da mümkündür. Örneğin, reboksetin'in antihiperalezik ve antiallodinik etkilerinin sözü geçen reseptörler ile ilişkisinin, spesifik reseptör geni silinmiş deney hayvanları kullanılarak araştırılmasının, bu çalışmada antagonist uygulamaları ile elde edilen sonuçları desteklemek açısından son derece yararlı olacağı açıktır. Diğer yandan, bu ilacın nöropatik ağrı üzerine etkinliğine aracılık eden moleküler

mekanizmaları aydınlatmak üzere etkiye aracılık ettiği düşünölen reseptörlerin immonohistokimyasal yöntemlerle boyanması, reseptör proteinlerinin ya da post-reseptör mekanizmalarda rol oynayan diğör proteinlerin ekspresyon düzeylerindeki değışikliklerin PCR ve Western-blot gibi yöntemlerle izlenmesi ya da radyoligand bağlanma çalışmalarının yapılması, bu çalışmada sunulan bulguların desteklenmesine önemli ölçüde katkı sağlayacaktır. Yine, reboksetin'in bu çalışmada ortaya konulan etkilerine nöropatik ağrı ile yakından ilişkili olduğı bilinen Na^+ (Kalso, 2005; Devor, 2006), Ca^{+2} (Antkiewicz-Michaluk vd., 1991) ve K^+ kanallarının (Galeotti vd., 2001) olası katılımlarının araştırılmasının da mekanizmanın daha ileri düzeyde aydınlatılmasına ilişkin yararlı yaklaşımlar olacağı düşünölmektedir.

Reboksetin'in antihiperaljzik ve antiallodinik etki mekanizmasının aydınlatılmasına ilişkin farmakolojik yaklaşımlardan sonra, bu ilaç ile yapılan 2 haftalık tedavinin diyabetik sıçanlarda DRG nöronlarının morfolojisinde herhangi bir değışikliğe yol açıp açmadığını incelemek üzere bazı morfometrik çalışmalar da yapılmıştır. DRG nöronlarının soma alanlarının ölçümleri sonucu elde edilen verilerin kullanılması ile çizilen histogramda (**Şekil 5.49.**), diyabetik hayvanların DRG'lerinde nöronların 200-400 μm^2 soma alanı aralığında kümelendiğı görölmüştür. Bu bulgu, diyabetik hayvanların DRG'lerinde gangliyoner atrofi nedeniyle soma alanlarının küçüldüğüne dair önceki çalışmaların bulguları ile örtüşmektedir (Zochodne vd., 2001; Kishi vd., 2002; Kamiya vd., 2005). Diğör yandan, diyabetik sıçanların DRG'lerinde 200-400 μm^2 lik küçük nöronlardaki kümelenme, doğrudan küçük boyutlu nosiseptif nöronların sayılarındaki değışimlerden de kaynaklanıyor olabilir. Dolayısıyla, DRG'nin duyuşal nöronları tarafından eksprese edilen ağrı ile ilgili endojen maddelerin/nöropeptitlerin (P maddesi, kalsitonin geni ile ilişkili peptid, galanin, hipofiz adenilat siklaz aktive edici polipeptit, vazoaktif intestinal polipeptit ya da kolesistokinin gibi) seviyelerinin ölçölmesinin de bu bölgedeki nosiseptif nöronlardaki olası değışimlerin izlenmesi açısından yararlı olacağı açıktır. Yine, aksonlardaki nörofilament seviyelerindeki değışikliklerin incelenerek miyelin kılıf kalınlığına ilişkin verilerin elde edilmesi de DRG'de bulunan büyük nöronlardaki değışimlerin takibi açısından faydalı olacaktır.

Bu çalışmada elde edilen bulgular, reboksetin ile tedavi edilen diyabetik hayvanların DRG'lerindeki nöronların morfolojilerinin, tedavi almayan diyabetik hayvanlarınkine kıyasla anlamlı bir farklılık göstermediğini ortaya koymuştur. Reboksetin'in diyabetik sıçanların DRG nöronlarında anlamlı bir değışime neden

olmamasının, bu ilacın, bu çalışmada uygulanan dozlarda, diyabetik hayvanlardaki hiperglisemiye ve dolayısıyla metabolik parametreleri değiştirmemiş olması ile ilişkili olması olasıdır. Diğer yandan, bu durumun oluşturulan diyabet modelinin şiddeti, süresi, uygulanan reboksetin'in dozu ya da uygulama süresi gibi çeşitli faktörlerden etkilenmiş olması da mümkündür. Reboksetin'in diyabet süresi/şiddeti yüksek olan hayvanlara daha uzun süre uygulanacağı çalışmalar, konuya açıklık getirecek yeni bilgiler sağlayabilir.

Diğer yandan, reboksetin'in nöropatik ağrıya karşı etkinliğinin DRG'deki nöronların yanı sıra, spinal ya da supraspinal düzeyde ağrı prosesinde rol oynayan diğer nöronlar ile ilişkili olması da mümkündür. Dolayısıyla, spinal dorsal boynuz ve inici inhibitör yollar düzeyinde yapılacak yeni morfolojik çalışmalar, bu ilacın antihiperalezik ve antiallodinik etkilerinin mekanizmalarının kesinleştirilmesine katkıda bulunacaktır.

Bu çalışmada nöropati testlerinden elde edilen veriler, plazma glukoz ölçümlerinden elde edilen bulgular ile birlikte değerlendirildiğinde, klinik açıdan ilginç olabilecek bir tablo ortaya çıkmaktadır. Literatürde, SNRI'lar ve TSA'lar gibi noradrenalin geri alımını inhibe eden ilaçların glisemik kontrol üzerine olumsuz etki gösterme olasılıklarının serotonin geri alımını inhibe eden SSRI ilaçlara göre daha yüksek olduğunu, dolayısıyla diyabete bağlı nöropatik ağrının tedavisinde SSRI'ların kullanımının daha uygun olabileceğini ileri süren raporlara rastlamak mümkündür (Deuschle, 2013; Whiskey ve Taylor, 2013). Diğer yandan, SSRI ilaçların nöropatik ağrı tedavisinde, TSA'lar ya da dual inhibitörler kadar etkili olmadığı da bilinmektedir (Attal vd., 2010; Finnerup vd., 2015; Kremer vd., 2016). Oysa bu tez çalışmasının sonuçları, reboksetin'in antihiperalezik ve antiallodinik etkilerini, plazma glukoz konsantrasyonu üzerine anlamlı bir değişikliğe neden olmaksızın gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu açıdan bakıldığında, reboksetin'in diyabete bağlı nöropatik ağrının farmakoterapisi için, glisemik kontrol açısından nötr ve oldukça potent bir ilaç olarak özel bir avantaj sağlaması olası görünmektedir.

Sonuç olarak, bu tez çalışmasında, sNRI bir ilaç olan reboksetin'in diyabetik nöropati kaynaklı hiperalezi ve allodini üzerine referans ilaç pregabalin ile kıyaslanabilir ölçüde güçlü bir terapötik potansiyele sahip olduğu ilk kez ortaya koyulmuş ve söz konusu farmakolojik etkilerin mekanizmalarına ilişkin orjinal bulgular elde edilmiştir. Reboksetin'in maksimum etkinlik gösterdiği dozda bile diyabetik hayvanların glisemi seviyelerini etkilemediği görülmüş ve bu durumun farmakoterapi açısından bir avantaj

olabileceği düşünölmüştür. Tüm bu preklinik bulgular, günümüzde antidepresan olarak klinik etkinliği sorgulanma noktasına gelen (Eyding vd., 2010; Sepede vd., 2012; Braithwaite, 2015) bir ilaç olan reboksetin'e yepyeni bir endikasyon alanı oluşturması açısından da ayrıca değeri taşımaktadır. Diğer yandan, reboksetin'in diyabetik hastalarda insidansı yüksek olan nöropatik ağrının tedavisinde yer bulabilmesi için, bu çalışmanın preklinik bulgularının iyi tasarlanmış klinik araştırmalar ile doğrulanması gerektiği açıktır.

KAYNAKÇA

- Albers, J.W. (2014). Diabetic neuropathy: mechanisms, emerging treatments and subtypes. *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.*, 14, 473.
- Amerikan Diyabet Birliği (2010). Standards of medical care in diabetes-2010. *Diabetes Care*, 33 (Suppl. 1), S11-S61.
- Anderson, R.J., Freedland, K.E., Clouse, R.E., Lustman, P.J. (2001). The prevalence of comorbid depression in adults with diabetes A meta-analysis. *Diabetes Care*, 24 (6), 1069-1078.
- Ang, L., Jaiswal, M., Martin, C., Pop-Busui, R. (2014). Glucose control and diabetic neuropathy: lessons from recent large clinical trials. *Curr. Diab. Rep.*, 14 (9), 528.
- Antkiewicz-Michaluk, L., Romańska I., Michaluk J., Vetulani J. (1991). Role of calcium channels in effects of antidepressant drugs on responsiveness to pain. *Psychopharmacology (Berl)*, 105, 269-274.
- Argoff, C.E., Cole, B.E., Fishbain, D.A., Irving, G.A. (2006). Diabetic peripheral neuropathic pain: clinical and quality-of-life issues. *Mayo Clin. Proc.*, 81 (4 Suppl), S3-11.
- Arvidson, B. (1979). Distribution of protein tracers in peripheral ganglia. A light and electron microscopic study in rodents after various modes of tracer administration. *Acta Univ. Upps.*, 344, 1-72.
- Askwith, T., Zeng, W., Eggo, M.C., Stevens, M.J. (2012). Taurine reduces nitrosative stress and nitric oxide synthase expression in high glucose-exposed human Schwann cells. *Exp. Neurol.*, 233, 154-162.
- Attal, N., Cruccu, G., Baron, R., Haanpää, M., Hansson, P., Jensen, T.S., Nurmikko, T., European Federation of Neurological Societies (2010). EFNS guidelines on the pharmacological treatment of neuropathic pain: 2010 revision. *Eur. J. Neurol.*, 17 (9), 1113-e88.
- Ay, S., Evcik, D. (2007). Nöropatik ağrı ve tedavisi. *Yeni Tıp Dergisi*, 24 (2), 70-74.

- Aydın, O.N. (2002). Ağrı ve ağrı mekanizmalarına güncel bakış. *ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, 3 (2), 37-48.
- Aydın, T.H., Can, Ö.D., Demir Özkay, Ü., Turan, N. (2016). Effect of subacute agomelatine treatment on painful diabetic neuropathy: involvement of catecholaminergic mechanisms. *Fundam. Clin. Pharmacol.*, 30 (6), 549-567.
- Bădescu, S.V., Tătaru, C.P., Kobylinska, L., Georgescu, E.L., Zahiu, D.M., Zăgrean, A.M., Zăgrean, L. (2016). Effects of caffeine on locomotor activity in streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Med. Life*, 9 (3), 275-279.
- Bannister, K., Bee, L.A., Dickenson, A.H. (2009). Preclinical and early clinical investigations related to monoaminergic pain modulation. *Neurotherapeutics*, 6, 703-712.
- Bansal, V., Kalita, J., Misra, U.K. (2006). Diabetic neuropathy. *Postgrad. Med. J.*, 82 (964), 95-100.
- Barbano, R., Hart-Gouleau, S., Pennella-Vaughan, J., Dworkin, R.H. (2003). Pharmacotherapy of painful diabetic neuropathy. *Curr. Pain Headache Rep.*, 7 (3), 169-177.
- Barbaros, M.B., Can, Ö.D., Üçel, U.İ., Turan Yücel, N., Demir Özkay, Ü. (2018). Antihyperalgesic activity of atomoxetine on diabetes-induced neuropathic pain: contribution of noradrenergic and dopaminergic systems. *Molecules*, 23 (8), pii: E2072.
- Barrett, A.M., Lucero, M.A., Le, T., Robinson, R.L., Dworkin, R.H., Chappell, A.S. (2007). Epidemiology, public health burden, and treatment of diabetic peripheral neuropathic pain: a review. *Pain Med.*, 8 (2), 50-62.
- Barrot, M., Yalcin, I., Choucair-Jaafar, N., Benbouzid, M., Freund-Mercier, M.J. (2009). From antidepressant drugs to beta-mimetics: preclinical insights on potential new treatments for neuropathic pain. *Recent. Pat. CNS Drug. Discov.*, 4 (3), 182-189.
- Basbaum, A.I., Bautista, D.M., Scherrer, G., Julius, D. (2009). Cellular and molecular mechanisms of pain. *Cell*, 139 (2), 267-284.

- Bastyr, E.J. 3rd, Price, K.L., Bril, V., the MBBQ Study Group (2005). Development and validity testing of the neuropathy total symptom score-6: questionnaire for the study of sensory symptoms of diabetic peripheral neuropathy. *Clin. Ther.*, 27, 1278-1294.
- Bayram, E.H., Elçioğlu, H.K. (2016). Diyabetik Nöropatiye Güncel Tedavi Yaklaşımları. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 20, 252-262.
- Bebek, N., Ertaş, M. (2007). Nöropatik ağrı. *Ağrı*, 19, 5-10.
- Béïque, J.C., Blier, P., de Montigny, C., Debonnel, G. (2000). Potentiation by (-)-Pindolol of the activation of postsynaptic 5-HT(1A) receptors induced by venlafaxine. *Neuropsychopharmacology*, 23 (3), 294-306.
- Benbouzid, M., Choucair-Jaafar, N., Yalcin, I., Waltisperger, E., Muller, A., Freund-Mercier, M.J., Barrot, M. (2008a). Chronic but not acute, tricyclic antidepressant treatment alleviates neuropathic allodynia after sciatic nerve cuffing in mice. *Eur. J. Pain.*, 12 (8), 1008-1017.
- Benbouzid, M., Gavériaux-Ruff, C., Yalcin, I., Waltisperger, E., Tessier, L.H., Muller, A., Kieffer, B.L., Freund-Mercier, M.J., Barrot, M. (2008b). Delta-opioid receptors are critical for tricyclic antidepressant treatment of neuropathic allodynia. *Biol. Psychiatry.*, 63 (6), 633-636.
- Bennett, M. (2001). The LANSS Pain Scale: the Leeds Assessment of Neuropathic Symptoms and Signs. *Pain*, 92 (1-2), 147-57.
- Berker, E. (2005). Nöropatik ağrı ve fizyopatolojik mekanizmalar. *Turk. J. Phys. Med. Rehab.*, 51 (Suppl A), A1-A5.
- Beyreuther, B.K., Callizot, N., Brot, M.D., Feldman, R., Bain, S.C., Stöhr, T. (2007). Antinociceptive efficacy of lacosamide in rat models for tumor- and chemotherapy-induced cancer pain. *Eur. J. Pharmacol.*, 565 (1-3), 98-104.
- Bierhaus, A., Fleming, T., Stoyanov, S., Leffler, A., Babes, A., Neacsu, C., Sauer, S.K., Eberhardt, M., Schnölzer, M., Lasitschka, F., Neuhuber, W.L., Kichko, T.I., Konrade, I., Elvert, R., Mier, W., Pirags, V., Lukic, I.K., Morcos, M., Dehmer, T., Rabbani, N., Thornalley, P.J., Edelstein, D., Nau, C., Forbes, J., Humpert, P.M., Schwaninger, M., Ziegler, D., Stern, D.M., Cooper, M.E., Haberkorn, U.,

- Brownlee, M., Reeh, P.W., Nawroth, P.P. (2012). Methylglyoxal modification of Nav1.8 facilitates nociceptive neuron firing and causes hyperalgesia in diabetic neuropathy. *Nat. Med.*, 8 (6), 926-933.
- Biessels, G.J., Deary, I.J., Ryan, C.M. (2008). Cognition and diabetes: a lifespan perspective. *Lancet Neurol.*, 7 (2), 184-190.
- Biswas, A. (2015). Recent advancements in pain sciences. 13th State IAP Conference, https://www.researchgate.net/publication/304387925_Biswas_A_2015_Recent_advancements_in_pain_sciences_13th_state_IAP_conference_Kolkata (Erişim tarihi: 15.04.2018).
- Blommel, M.L., Blommel, A.L. (2007). Pregabalin: an antiepileptic agent useful for neuropathic pain. *Am. J. Health Syst. Pharm.*, 64 (14), 1475-1482.
- Bohren, Y., Karavelic, D., Tessier, L.H., Yalcin, I., Gavériaux-Ruff, C., Kieffer, B.L., Freund-Mercier, M.J., Barrot, M. (2010). Mu-opioid receptors are not necessary for nortriptyline treatment of neuropathic allodynia. *Eur. J. Pain.*, 14 (7), 700-704.
- Bohren, Y., Tessier, L.H., Megat, S., Petitjean, H., Hugel, S., Daniel, D., Kremer, M., Fournel, S., Hein, L., Schlichter, R., Freund-Mercier, M.J., Yalcin, I., Barrot, M. (2013). Antidepressants suppress neuropathic pain by a peripheral β 2-adrenoceptor mediated anti-TNF α mechanism. *Neurobiol. Dis.*, 60, 39-50.
- Bordet, T., Buisson, B., Michaud, M., Abitbol, J.L., Marchand, F., Grist, J., Andriambeloson, E., Malcangio, M., Pruss, R.M. (2008). Specific antinociceptive activity of cholest-4-en-3-one, oxime (TRO19622) in experimental models of painful diabetic and chemotherapy-induced neuropathy. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 326 (2), 623-632.
- Borgkvist, A., Malmlöf, T., Feltmann, K., Lindskog, M., Schilström, B. (2011). Dopamine in the hippocampus is cleared by the norepinephrine transporter. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 14, 1-10.
- Boulton, A.J., Malik, R.A., Arezzo, J.C., Sosenko, J.M. (2004). Diabetic somatic neuropathies. *Diabetes Care*, 27 (6), 1458-1486.
- Braithwaite, R. (2015). Reboxetine has no antidepressant effect at all. *BMJ*, 3, 351, h5842.

- Bridges, D., Thompson, S.W.N., Rice, A.S.C. (2001). Mechanisms of neuropathic pain. *Br. J. Anaesth.*, 87 (1), 12-26.
- Brooks, K.G., Kessler, T.L. (2017). Treatments for neuropathic pain. *The Pharmaceutical Journal*, 9 (12). <https://www.pharmaceutical-journal.com/research/review-article/treatments-for-neuropathic-pain/20203641.article?firstPass=false>. (Erişim tarihi: 15.06.2018).
- Brownlee, M. (2001). Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*, 414, 813-820.
- Calcutt, N.A., Freshwater, J.D., Mizisin, A.P. (2004). Prevention of sensory disorders in diabetic Sprague-Dawley rats by aldose reductase inhibition or treatment with ciliary neurotrophic factor. *Diabetologia*, 47, 718-724.
- Cameron, N.E., Eaton, S.E., Cotter, M.A., Tesfaye, S. (2001a). Vascular factors and metabolic interactions in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Diabetologia*, 44 (11), 1973-1988.
- Cameron, N.E., Gibson, T.M., Nangle, M.R. Cotter, M.A. (2005). Inhibitors of advanced glycation end product formation and neurovascular dysfunction in experimental diabetes. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1043, 784-792.
- Cameron, N.E., Jack, A.M., Cotter, M.A. (2001b). Effect of alpha-lipoic acid on vascular responses and nociception in diabetic rats. *Free Radic. Biol. Med.*, 31, 125-135.
- Cameron, N.E., Tuck, Z., McCabe, L. Cotter, M.A. (2001c). Effect of the hydroxyl radical scavenger, dimethylthiourea, on peripheral nerve tissue perfusion, conduction velocity and nociception in experimental diabetes. *Diabetologia*, 44, 1161-1169.
- Carballo-Villalobos, A.I., González-Trujano, M.E., Pellicer, F., Alvarado-Vásquez, N., López-Muñoz, F.J. (2018). Central and peripheral anti- hyperalgesic effects of diosmin in a neuropathic pain model in rats. *Biomed. Pharmacother.*, 97, 310-320.
- Casellini, C.M., Barlow, P.M., Rice, A.L., Casey, M., Simmons, K., Pittenger, G., Bastyr, E.J. 3rd, Wolka, A.M., Vinik, A.I. (2007). A 6-month, randomized, double-masked, placebo-controlled study evaluating the effects of the protein kinase C-beta

- inhibitor ruboxistaurin on skin microvascular blood flow and other measures of diabetic peripheral neuropathy. *Diabet. Care*, 30, 896-902.
- Castany, S., Carcolé, M., Leánez, S., Pol, O. (2016). The antinociceptive effects of a δ -opioid receptor agonist in mice with painful diabetic neuropathy: Involvement of heme oxygenase 1. *Neurosci. Lett.*, 614, 49-54.
- Cegielska-Perun, K., Bujalska-Zadrożny, M., Tatarkiewicz, J., Gąsińska, E., Makulska-Nowak, H.E. (2013). Venlafaxine and neuropathic pain. *Pharmacology*, 91 (1-2), 69-76.
- Cegielski-Perun, K., Bujalska-Zadrożny, M., Gasińska, E., Makulska-Nowak, H.E. (2014). Enhancement of antinociceptive effect of morphine by antidepressants in diabetic neuropathic pain model. *Pharmacol. Rep.* 66 (2), 228-234.
- Charnogursky, G. (2014). Neurological Complications of diabetes. *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.*, 14, 457.
- Chen, M., Hoshino, H., Saito, S., Yang, Y., Obata, H. (2017). Spinal dopaminergic involvement in the antihyperalgesic effect of antidepressants in a rat model of neuropathic pain. *Neurosci. Lett.*, 649, 16-123.
- Chen, S.R., Pan, H.L. (2002). Hypersensitivity of spinothalamic tract neurons associated with diabetic neuropathic pain in rats. *J. Neurophysiol.*, 87 (6), 2726-2733.
- Chen, S.R., Samoriski, G., Pan, H.L. (2009). Antinociceptive effects of chronic administration of uncompetitive NMDA receptor antagonists in a rat model of diabetic neuropathic pain. *Neuropharmacology*, 57 (2), 121-126.
- Chen, X., Levine, J.D. (2001). Hyperresponsivity in a subset of C-fiber nociceptors in a model of painful diabetic neuropathy in the rat. *Neuroscience*, 102 (1), 185-192.
- Cheppudira, B.P., Trevino, A.V., Petz, L.N., Christy, R.J., Clifford, J.L. (2016). Anti-nerve growth factor antibody attenuates chronic morphine treatment-induced tolerance in the rat. *BMC Anesthesiol.*, 16, 73.
- Chin, R.L., Rubin, M. (2010). Diabetic neuropathy. L. Poretsky (Editörler), *Principles of diabetes mellitus* (2nd edition) içinde (s. 357-370). Cham: Springer.

- Chong, M.S., Hester, J. (2007). Diabetic painful neuropathy: current and future treatment options. *Drugs*, 67 (4), 569-585.
- Choucair-Jaafar, N., Salvat, E., Freund-Mercier, M.J., Barrot, M. (2014). The antiallodynic action of nortriptyline and terbutaline is mediated by $\beta(2)$ adrenoceptors and δ opioid receptors in the ob/ob model of diabetic polyneuropathy. *Brain Res.*, 1546, 18-26.
- Colombo, B., Annovazzi, P.O., Comi, G. (2006). Medications for neuropathic pain: current trends. *Neurol. Sci.*, 27 Suppl 2, S183-189.
- Cooper, M.E., Thallas, V., Forbes, J., Scalbert, E., Sastra, S., Darby, I., Soulis, T. (2000). The cross-link breaker, N-phenacylthiazolium bromide prevents vascular advanced glycation end-product accumulation. *Diabetologia*, 43, 660-664.
- Coppey, L.J., Gellett, J.S., Davidson, E.P., Dunlap, J.A., Yorek, M.A. (2002). Effect of treating streptozotocin-induced diabetic rats with sorbinil, myo-inositol or aminoguanidine on endoneurial blood flow, motor nerve conduction velocity and vascular function of epineurial arterioles of the sciatic nerve. *Int. J. Exp. Diabet. Res.*, 3, 21-36.
- Corrodi, H., Hanson, L.C. (1966). Central effects of an inhibitor of tyrosine hydroxylation. *Psychopharmacologia*, 10, 116-125.
- Cotter, M.A., Jack, A.M., Cameron, N.E. (2002). Effects of the protein kinase Cb inhibitor LY333531 on neural and vascular function in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Clin. Sci. (Lond.)*, 103, 311-321.
- Courteix, C., Eschalier, A., Lavarenne, J. (1993). Streptozocin-induced diabetic rats: behavioural evidence for a model of chronic pain. *Pain*, 53, 81-88.
- Craner, M.J., Klein, J.P., Black, J.A., Waxman, S.G. (2002). Preferential expression of IGF-I in small DRG neurons and down-regulation following injury. *Neuroreport*, 13 (13), 1649-1652.
- Cruccu, G., Truini, A. (2017). A review of neuropathic pain: from guidelines to clinical practice. *Pain Ther.*, 6 (Suppl 1), 35-42.

- Çağlar Toprak, G. (2006). *Deneyssel nöropatik ağrı modelinde sistemik uygulanan NGF ve anti-NGF'nin etkisi*, Tıpta Uzmanlık Tezi. Elazığ: Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı.
- Çelebi, N., Canbay, Ö., Şahin, A. (2007). Nöropatik ağrıda tanı ve tedavide güncel yaklaşımlar. *Turkiye Klinikleri J. Med. Sci.*, 27, 862-869.
- Dai, S., Qi, Y., Fu, J., Li, N., Zhang, X., Zhang, J., Zhang, W., Xu, H., Zhou, H., Ma, Z. (2018). Dexmedetomidine attenuates persistent postsurgical pain by upregulating K⁺-Cl⁻ cotransporter-2 in the spinal dorsal horn in rats. *J. Pain Res.*, 11, 993-1004.
- Dang, J.K., Wu, Y., Cao, H., Meng, B., Huang, C.C., Chen, G., Li, J., Song, X.J., Lian, Q.Q. (2014). Establishment of a rat model of type II diabetic neuropathic pain. *Pain Med.*, 15 (4), 637-646.
- Dannon, P.N., Iancu, I., Grunhaus, L. (2002). The efficacy of reboxetine in the treatment-refractory patients with panic disorder: an open label study. *Hum. Psychopharmacol.*, 17 (7), 329-333.
- Değirmenci, Y., Keçeci, H., Özışık Karaman, H.I. (2011). Diyabetik nöropatili hastaların nöropatik ağrı ve depresyon tedavisinde, antidepresan ve antiepileptik kullanımı: bir karşılaştırma çalışması. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 18 (3), 149-154.
- Deuschle. M. (2013). Effects of antidepressants on glucose metabolism and diabetes mellitus type 2 in adults. *Curr. Opin. Psychiatry.*, 26 (1), 60-65.
- Devor, M. (2006). Sodium channels and mechanisms of neuropathic pain. *J. Pain*, 7 (Suppl. S1), S3-S12.
- Di Cesare Mannelli, L., Ghelardini, C., Calvani, M., Nicolai, R., Mosconi, L., Toscano, A., Pacini, A., Bartolini, A. (2009). Neuroprotective effects of acetyl-L-carnitine on neuropathic pain and apoptosis: a role for the nicotinic receptor. *J. Neurosci. Res.*, 87 (1), 200-207.
- Dierich, A., Kieffer, B.L. (2004). Knockout mouse models in pain research. *Method. Mol. Med.*, 99, 269-299.

- Drel, V.R., Pacher, P., Vareniuk, I., Pavlov, I., Ilnytska, O., Lyzogubov, V.V., Tibrewala, J., Groves, J.T., Obrosova, I.G. (2007). A peroxynitrite decomposition catalyst counteracts sensory neuropathy in streptozotocin-diabetic mice. *Eur. J. Pharmacol.*, 569 (1-2), 48-58.
- Dworkin, R.H., Backonja, M., Rowbotham, M.C., Allen, R.R., Argoff, C.R., Bennett, G.J., Bushnell, M.C., Farrar, J.T., Galer, B.S., Haythornthwaite, J.A., Hewitt, D.J., Loeser, J.D., Max, M.B., Saltarelli, M., Schmader, K.E., Stein, C., Thompson, D., Turk, D.C., Wallace, M.S., Watkins, L.R., Weinstein, S.M. (2003). Advances in neuropathic pain: diagnosis, mechanisms, and treatment recommendations. *Arch. Neurol.*, 60 (11), 1524-1534.
- Dworkin, R.H., O'Connor, A.B., Audette, J., Baron, R., Gourlay, G.K., Haanpää, M.L., Kent, J.L., Krane, E.J., Lebel, A.A., Levy, R.M., Mackey, S.C., Mayer, J., Miaskowski, C., Raja, S.N., Rice, A.S., Schmader, K.E., Stacey, B., Stanos, S., Treede, R.D., Turk, D.C., Walco, G.A., Wells, C.D. (2010). Recommendations for the pharmacological management of neuropathic pain: an overview and literature update. *Mayo. Clin. Proc.*, 85 (3 Suppl), 3-14.
- Dworkin, R.H., O'Connor, A.B., Kent, J., Mackey, S.C., Raja, S.N., Stacey, B.R., Levy, R.M., Backonja, M., Baron, R., Harke, H., Loeser, J.D., Treede, R.D., Turk, D.C., Wells, C.D., International Association for the Study of Pain Neuropathic Pain Special Interest Group (2013). Interventional management of neuropathic pain: NeuPSIG recommendations. *Pain*, 154 (11), 2249-2261.
- Dyck, P.J., Overland, C.J., Low, P.A., Litchy, W.J., Davies, J.L., Dyck, P.J., O'Brien, P.C., CI vs NPhys Trial Investigators, Albers, J.W., Anderson, H., Bolton, C.F., England, J.D., Klein, C.J., Llewelyn, J.G., Mauermann, M.L., Russell, J.W., Singer, W., Smith, A.G., Tesfaye, S., Vella, A. (2010). Signs and symptoms versus nerve conduction studies to diagnose diabetic sensorimotor polyneuropathy: CI vs. NPhys trial. *Muscle Nerve*, 42 (2), 157-164.
- Edwards, J.L., Vincent, A.M., Cheng, H.T., Feldman, E.L. (2008). Diabetic neuropathy: mechanisms to management. *Pharmacol. Ther.* 120 (1), 1-34.

- El-Giamal, N., de Zwaan, M., Bailer, U., Lennkh, C., Schüssler, P., Strnad, A., Kasper, S. (2000). Reboxetine in the treatment of bulimia nervosa: a report of seven cases. *Int. Clin. Psychopharmacol.*, 15 (6), 351-356.
- Erbas, T., Ertas, M., Yucel, A., Keskinaslan, A., Senocak, M.; TURNEP Study Group (2011). Prevalence of peripheral neuropathy and painful peripheral neuropathy in Turkish diabetic patients. *J. Clin. Neurophysiol.*, 28 (1), 1-5.
- Erdine, S. (2002). Ağrı Mekanizmaları. S. Erdine (Editör), *Ağrı içinde* (2. Baskı) (s. 20-29). İstanbul: Nobel Matbaacılık.
- Errington, A.C., Stohr, T., Heers, C., Lees, G. (2008). The investigational anticonvulsant lacosamide selectively enhances slow inactivation of voltage-gated sodium channels. *Mol. Pharmacol.*, 73, 157-169.
- Erzurumlu, R., Şengül, G., Ulupınar, E. (2019). Nöroanatomi. Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri.
- Eşkazan, E., Kayaalp, S.O. (2012). Opiod Analjezikler. S. O. Kayaalp (Editör), *Akılclı Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji* (13. Baskı) içinde (826-845). Ankara: Pelikan Yayıncılık.
- Evcimen, N.D., King, G.L. (2007). The role of protein kinase C activation and the vascular complications of diabetes. *Pharmacol. Res.*, 55, 498-510.
- Eyding, D., Lelgemann, M., Grouven, U., Härter, M., Kromp, M., Kaiser, T., Kerekes, M.F., Gerken, M., Wieseler, B. (2010). Reboxetine for acute treatment of major depression: systematic review and meta-analysis of published and unpublished placebo and selective serotonin reuptake inhibitor controlled trials. *BMJ*, 341, c4737.
- Fassino, S., Daga, G.A., Boggio, S., Garzaro, L., Pierò, A. (2004). Use of reboxetine in bulimia nervosa: a pilot study. *J. Psychopharmacol.*, 18 (3), 423-428.
- Ferguson, J.M., Wesnes, K.A., Schwartz, G.E. (2003). Reboxetine versus paroxetine versus placebo: effects on cognitive functioning in depressed patients. *Int. Clin. Psychopharmacol.*, 18 (1), 9-14.

- Feyzioğlu, P. (2008). *Dirençli Diyabetik Nöropatik Ağrıda Puls Elektromanyetik Alan Tedavisinin Etkinliği*, Tıpta Uzmanlık Tezi. Edirne: Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı.
- Finnerup, N.B., Attal, N., Haroutounian, S., McNicol, E., Baron, R., Dworkin, R.H., Gilron, I., Haanpää, M., Hansson, P., Jensen, T.S., Kamerman, P.R., Lund, K., Moore, A., Raja, S.N., Rice, A.S., Rowbotham, M., Sena, E., Siddall, P., Smith, B.H., Wallace, M. (2015). Pharmacotherapy for neuropathic pain in adults: a systematic review and meta-analysis. *Lancet. Neurol.*, 14 (2), 162-173.
- Fleetwood-Walker, S.M., Hope, P.J., Mitchell, R. (1988). Antinociceptive actions of descending dopaminergic tracts on cat and rat dorsal horn somatosensory neurones. *J. Physiol.*, 399, 335-348.
- Fontenelle, L.F., Mendlowicz, M.V., Miguel, E.C. (2005). Citalopram plus reboxetine in treatment-resistant obsessive-compulsive disorder. *World J. Biol. Psychiatr.*, 6, 57-59.
- Forman, L.J. (1999). NMDA receptor antagonism produces antinociception which is partially mediated by brain opioids and dopamine. *Life Sci.*, 64 (21), 1877-1887.
- Freeman, R. (2013). New and developing drugs for the treatment of neuropathic pain in diabetes. *Curr. Diab. Rep.*, 13, 500-508.
- Fulford, A.J., Marsden, C.A. (2007). An intact dopaminergic system is required for context-conditioned release of 5-HT in the nucleus accumbens of postweaning isolation-reared rats. *Neuroscience*, 149 (2), 392-400.
- Galeotti, N., Ghelardini, C., Bartolini, A. (2001). Involvement of potassium channels in amitriptyline and clomipramine analgesia. *Neuropharmacology*, 40, 75-84.
- Galer, B.S., Jensen, M.P. (1997). Development and preliminary validation of a pain measure specific to neuropathic pain: the Neuropathic Pain Scale. *Neurology*, 48 (2), 332-338.
- Gao, F., Zheng, Z.M. (2014). Animal models of diabetic neuropathic pain. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes*, 122 (2), 100-106.

- Gaveriaux-Ruff, C., Kieffer, B.L. (2002). Opioid receptor genes inactivated in mice: the highlights. *Neuropeptides*, 36, 62-71.
- Gear, R.W., Bogen, O., Ferrari, L.F., Green, P.G., Levine, J.D. (2014). NOP receptor mediates anti-analgesia induced by agonist-antagonist opioids. *Neuroscience*, 257, 139-148.
- Gemes, G., Koopmeiners, A., Rigaud, M., Lirk, P., Sapunar, D., Bangaru, M.L., Vilceanu, D., Garrison, S.R., Ljubkovic, M., Mueller, S.J., Stucky, C.L., Hogan, Q.H. (2013). Failure of action potential propagation in sensory neurons: mechanisms and loss of afferent filtering in C-type units after painful nerve injury. *J. Physiol.*, 591 (4), 1111-1131.
- Gilron, I., Flatters S.J.L. (2006). Gabapentin and pregabalin for the treatment of neuropathic pain: A review of laboratory and clinical evidence. *Pain Res. Manage*, 11, Suppl A, S16A-29A.
- Gilron, I., Bailey, J.M., Tu, D., Holden, R.R., Weaver, D.F., Houlden, R.L. (2005). Morphine, gabapentin, or their combination for neuropathic pain. *N. Engl. J. Med.*, 352, 1324-1334.
- Gilron, I., Watson, C.P., Cahill, C.M., Moulin, D.E. (2006). Neuropathic pain: a practical guide for the clinician. *CMAJ*, 175 (3), 265-275.
- Gore, M., Brandenburg, N.A., Dukes, E., Hoffman, D.L., Tai, K.S., Stacey, B. (2005). Pain severity in diabetic peripheral neuropathy is associated with patient functioning, symptom levels of anxiety and depression, and sleep. *J. Pain Symptom Manage*, 30, 374-385.
- Greene, D.A., Winegrad, A.I., Carpentier, J.L., Brown, M.J., Fukuma, M., Orci, L. (1979). Rabbit sciatic nerve fascicle and 'endoneurial' preparations for in vitro studies of peripheral nerve glucose metabolism. *J. Neurochem.*, 33, 1007-1018.
- Güner, A. (2005). *Diabetik hastaların diabetik ayak ile ilgili bilgi ve tutumlarının irdelenmesi ve HbA_{1c}'nin diabetik ayak ile ilişkisi*, Tıpta Uzmanlık Tezi. İstanbul: T.C. Sağlık Bakanlığı Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi Aile Hekimliği.

- Hajós, M., Fleishaker, J.C., Filipiak-Reisner, J.K., Brown, M.T., Wong, E.H. (2004). The selective norepinephrine reuptake inhibitor antidepressant reboxetine: pharmacological and clinical profile. *CNS Drug Rev.*, 10 (1), 23-44.
- Hall, J.E. (2013). Guyton ve Hall Tıbbi Fizyoloji (12. basım). (Çev: Ö. Yılmaz). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.
- Hall, K.E., Sima, A.A., Wiley, J.W. (1996). Opiate-mediated inhibition of calcium signaling is decreased in dorsal root ganglion neurons from the diabetic BB/W rat. *J. Clin. Invest.*, 97 (5), 1165-72.
- Hartung, J.E., Ciszek, B.P., Nackley, A.G. (2014). β 2-and β 3-adrenergic receptors drive COMT-dependent pain by increasing production of nitric oxide and cytokines. *Pain*, 155, 1346-1355.
- Haupt, E., Ledermann, H., Kopcke, W. (2005). Benfotiamine in the treatment of diabetic polyneuropathy—a three-week randomized, controlled pilot study (BEDIP study). *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.*, 43, 71-77.
- Hotta, N., Akanuma, Y., Kawamori, R., Matsuoka, K., Oka, Y., Shichiri, M., Toyota, T., Nakashima, M., Yoshimura, I., Sakamoto, N., Shigeta, Y. (2006). Long-term clinical effects of epalrestat, an aldose reductase inhibitor, on diabetic peripheral neuropathy: the 3-year, multicenter, comparative Aldose Reductase Inhibitor-Diabetes Complications Trial. *Diabetes Care*, 29 (7), 1538-1544.
- Hughes, S., Hickey, L., Donaldson, L.F., Lumb, B.M., Pickering, A.E. (2015). Intrathecal reboxetine suppresses evoked and ongoing neuropathic pain behaviours by restoring spinal noradrenergic inhibitory tone. *Pain*, 156 (2), 328-334.
- Hughes, S.W., Hickey, L., Hulse, R.P., Lumb, B.M., Pickering, A.E. (2013). Endogenous analgesic action of the pontospinal noradrenergic system spatially restricts and temporally delays the progression of neuropathic pain following tibial nerve injury. *Pain*, 154 (9), 1680-1690.
- Huntjens, D.R.H., Spalding, D.J.M., Danhof, M., Pasqua, O.E.D. (2009). Differences in the sensitivity of behavioural measures of pain to the selectivity of cyclo-oxygenase inhibitors. *Eur. J. Pain*, 13, 448-457.

- Iqbal, Z., Azmi, S., Yadav, R., Ferdousi, M., Kumar, M., Cuthbertson, D.J., Lim, J., Malik, R.A., Alam, U. (2018). Diabetic peripheral neuropathy: epidemiology, diagnosis, and pharmacotherapy. *Clin. Ther.*, 40 (6), 828-849.
- Ilnytska, O., Lyzogubov, V.V., Stevens, M.J., Drel, V.R., Mashtalir, N., Pacher, P., Yorek, M.A., Obrosova, I.G. (2006). Poly(ADP-ribose) polymerase inhibition alleviates experimental diabetic sensory neuropathy. *Diabetes*, 55, 1686-1694.
- İrdesel, J. (2005). Nöropatik ağrı tedavisi. *Türkiye Klinikleri J. Int. Med. Sci.*, 1 (10), 41-52.
- Jang, M.H., Shin, M.C., Koo, G.S., Lee, C.Y., Kim, E.H., Kim, C.J. (2003). Acupuncture decreases nitric oxide synthase expression in periaqueductal gray area of rats with streptozotocin-induced diabetes. *Neurosci. Lett.*, 337 (3), 155-158.
- Johansen, J.S., Harris, A.K., Rychly, D.J., Ergul, A. (2005). Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: linking basic science to clinical practice. *Cardiovasc. Diabetol.*, 4 (5).
- Juárez-Rojop, I.E., Morales-Hernández, P.E., Tovilla-Zárate, C.A., Bermúdez-Ocaña, D.Y., Torres-Lopez, J.E., Ble-Castillo, J.L., Díaz-Zagoya, J.C., Granados-Soto, V. (2015). Celecoxib reduces hyperalgesia and tactile allodynia in diabetic rats, *Pharmacol. Rep.*, 67 (3), 545-552.
- Kadekaro, M., Crane, A.M., Sokoloff, L. (1985). Differential effects of electrical stimulation of sciatic nerve on metabolic activity in spinal cord and dorsal root ganglion in the rat. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 82, 6010-6013.
- Kalso, E. (2005). Sodium channel blockers in neuropathic pain. *Curr. Pharm. Des.*, 11, 3005-3011.
- Kalynovska, N. (2012). *The role of angiotensin receptors in neuropathic pain*, Diploma Tezi, Prague: Charles University Faculty of Natural Sciences, Department of Physiology.
- Kamei J., Zushida, K., Morita, K., Sasaki, M., Tanaka, S. (2001). Role of vanilloid VR1 receptor in thermal allodynia and hyperalgesia in diabetic mice. *Eur. J. Pharmacol.*, 422 (1-3), 83-86.

- Kamei, J., Zushida, K. (2001). The role of spinal cholecystokinin B receptors in thermal allodynia and hyperalgesia in diabetic mice. *Brain Res.*, 892 (2), 370-375.
- Kamiya, H., Zhang, W., Sima, A.A. (2005). Apoptotic stress is counterbalanced by survival elements preventing programmed cell death of dorsal root ganglions in subacute type 1 diabetic BB/Wor rats. *Diabetes*, 54 (11), 3288-3295.
- Kamiya, H., Zhang, W., Sima, A.A. (2006). Degeneration of the Golgi and neuronal loss in dorsal root ganglia in diabetic BioBreeding/Worcester rats. *Diabetologia*, 49 (11), 2763-2774.
- Kelle, İ. (2006). Ağrı tedavisinde alternatif ilaçlar. *Dicle Tıp Dergisi*, 33 (3), 192-200.
- Kendroud, S., Bhimji, S.S. (2018). Physiology, Nociceptive Pathways. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing LLC [Internet].
- Khanam, R., Pillai, K.K. (2005). Lack of hypo/hyperglycemic effects of reboxetine in diabetic and non-diabetic rats. *Fundam. Clin. Pharmacol.*, 19 (6), 657-9.
- Kimura, M., Saito, S., Obata, H. (2012). Dexmedetomidine decreases hyperalgesia in neuropathic pain by increasing acetylcholine in the spinal cord. *Neurosci. Lett.*, 31, 529 (1), 70-74.
- Kishi, M., Tanabe, J., Schmelzer, J.D., Low, P.A. (2002). Morphometry of dorsal root ganglion in chronic experimental diabetic neuropathy. *Diabetes*, 51 (3), 819-824.
- Kishi, T., Mukai, T., Matsuda, Y., Moriwaki, M., Iwata, N. (2013). Efficacy and safety of noradrenalin reuptake inhibitor augmentation therapy for schizophrenia: a meta-analysis of double-blind randomized placebo-controlled trials. *J. Psychiatr. Res.*, 47 (11), 1557-1563.
- Ko, S.H., Cha, B.Y. (2012). Diabetic peripheral neuropathy in type 2 diabetes mellitus in Korea. *Diabetes Metab. J.*, 36 (1), 6-12.
- Koç, E.R. (2008). “S- LANSS (Self-Leeds Assessment of Neuropathic Symptoms and Sign)” ağrı skalasının Türkçe versiyonunun geçerlilik ve güvenilirlik çalışması, Tıpta Uzmanlık Tezi. Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroloji Anabilim Dalı.
- Krames, E.S. (2014). The role of the dorsal root ganglion in the development of neuropathic pain. *Pain Med.*, 15 (10), 1669-1685.

- Krell, H.V., Leuchter, A.F., Cook, I.A., Abrams, M.. (2005). Evaluation of reboxetine, a noradrenergic antidepressant, for the treatment of fibromyalgia and chronic low back pain. *Psychosomatics*, 46 (5), 379-384.
- Kremer, M., Salvat, E., Muller, A., Yalcin, I., Barrot, M. (2016). Antidepressants and gabapentinoids in neuropathic pain: Mechanistic insights. *Neuroscience*, 338, 183-206.
- Kumar, S., Gupta, R., Kaleem, A.M., Pandey, A.K. (2014). Mitigation of pain and anaesthetic drugs. *OA Anaesthetics*, 2 (1), 2.
- Larrosa, O., de la Llave, Y., Barrio, S., Granizo, J.J., Garcia-Borreguero, D. (2001). Stimulant and antiepileptic effects of reboxetine in patients with narcolepsy: a pilot study. *Sleep*, 24 (3), 282-285.
- Lee, J.H., Go, D., Kim, W., Lee, G., Bae, H., Quan, F.S., Kim, S.K. (2016). Involvement of spinal muscarinic and serotonergic receptors in the anti-allodynic effect of electroacupuncture in rats with oxaliplatin-induced neuropathic pain. *Korean J. Physiol. Pharmacol.*, 20 (4), 407-414.
- Lee-Kubli, C.A., Mixcoatl-Zecuatl, T., Jolival, C.G., Calcutt, N.A. (2014). Animal models of diabetes-induced neuropathic pain. B.K. Taylor ve D.P. Finn (Editörler), *Behavioral Neurobiology of Chronic Pain* içinde (s. 147-170). Berlin: Springer-Verlag.
- Leininger, G.M., Edwards, J.L., Lipshaw, M.J., Feldman, E.L. (2006). Mechanisms of disease: mitochondria as new therapeutic targets in diabetic neuropathy. *Nat. Clin. Pract.*, 2, 620-628.
- Lenzen, S. (2008). The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*, 51 (2), 216-226.
- Leventhal, L., Smith, V., Hornby, G., Andree, T.H., Brandt, M.R., Rogers, K.E. (2007). Differential and synergistic effects of selective norepinephrine and serotonin reuptake inhibitors in rodent models of pain. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 320 (3), 1178-1185.

- Li, B., Yang, C.J., Yue, N., Liu, Y., Yu, J., Wang, Y.Q., Liu, Q., Wu, G.C. (2013). Clomipramine reverses hypoalgesia/hypoesthesia and improved depressive-like behaviors induced by inescapable shock in rats. *Neurosci. Lett.*, 541, 227-232.
- Li, F., Drel, V.R., Szabó, C., Stevens, M.J., Obrosova, I.G. (2005). Low-dose poly(ADP-ribose) polymerase inhibitor-containing combination therapies reverse early peripheral diabetic neuropathy. *Diabetes*, 54, 1514-1522.
- Liang, Y., Du, J.Y., Fang, J.F., Fang, R.Y., Zhou, J., Shao, X.M., Jiang, Y.L., Chen, Y.T., Fang, J.Q. (2018). Alleviating mechanical allodynia and modulating cellular immunity contribute to electroacupuncture's dual effect on bone cancer pain. *Integr. Cancer Ther.*, 17 (2), 401-410.
- Malcangio, M., Tomlinson, D.R. (1998). A pharmacologic analysis of mechanical hyperalgesia in streptozotocin/diabetic rats. *Pain*, 76 (1-2), 151-157.
- Matthews, P.R.L., Horder, J., Pearce, M. (2018). Selective noradrenaline reuptake inhibitors for schizophrenia. *Cochrane Database Syst. Rev.*, 1, CD010219.
- Max, M.B. (2002). Clarifying the definition of neuropathic pain. *Pain*, 96, 406-407.
- Max, M.B., Lynch, S.A., Muir, J., Shoaf, S.E., Smoller, B., Dubner, R. (1992). Effects of desipramine, amitriptyline, and fluoxetine on pain in diabetic neuropathy. *N. Engl. J. Med.*, 326 (19), 1250-1256.
- McDonnell, C., Leánez, S., Pol, O. (2017). The induction of the transcription factor Nrf2 enhances the antinociceptive effects of delta-opioid receptors in diabetic mice. *PLoS One.*, 12 (7), e0180998.
- Meller, S.T., Pechman, P.S., Gebhart, G.F., Maves, T.J. (1992). Nitric oxide mediates the thermal hyperalgesia produced in a model of neuropathic pain in the rat. *Neuroscience*, 50, 7-10.
- Merskey, H., Bogduk, N. (1994). *Classification of Chronic Pain* (2nd Edition). Seattle: IASP Press.
- Millan, M.J.. (1999). The induction of pain: an integrative review. *Prog. Neurobiol.*, 57 (1), 1-164.

- Mogil, J.S., Yu, L., Basbaum, A.I. (2000). Pain genes?: natural variation and transgenic mutants. *Annu. Rev. Neurosci.*, 23, 777-811.
- Morón, J.A., Brockington, A., Wise, R.A., Rocha, B.A. Hope, B.T. (2002). Dopamine uptake through the norepinephrine transporter in brain regions with low levels of the dopamine transporter: evidence from knock-out mouse lines. *J. Neurosci.*, 22 (2), 389-395.
- Motoka, K., James, T., James, D.S., Philip, A.L. (2002). Morphometry of dorsal root ganglion in chronic experimental diabetic neuropathy. *Diabetes*, 51, 819-824.
- Moulin, D., Boulanger, A., Clark, A.J., Clarke, H., Dao, T., Finley, G.A., Furlan, A., Gilron, I., Gordon, A., Morley-Forster, P.K., Sessle, B.J., Squire, P., Stinson, J., Taenzer, P., Velly, A., Ware, M.A., Weinberg, E.L., Williamson, O.D., Canadian Pain Society (2014). Pharmacological management of chronic neuropathic pain: revised consensus statement from the Canadian Pain Society. *Pain Res. Manag.*, 19 (6), 328-335.
- Muthenna, P., Akileshwari, C., Saraswat, M., Bhanuprakash Reddy, G. (2012). Inhibition of advanced glycation end-product formation on eye lens protein by rutin. *Br. J. Nutr.*, 107, 941-949.
- Nagayach, A., Patro, N., Patro, I. (2014). Experimentally induced diabetes causes glial activation, glutamate toxicity and cellular damage leading to changes in motor function. *Front. Cell Neurosci.*, 8, 355.
- National Institute for Health and Care Excellence (NICE) (2013). Neuropathic pain in adults: pharmacological management in non-specialist settings. <http://www.nice.org.uk/guidance/cg173> (Erişim tarihi: 22.07.2018).
- Negi, G., Kumar, A., Kaundal, R.K., Gulati, A., Sharma, S.S. (2010). Functional and biochemical evidence indicating beneficial effect of melatonin and nicotinamide alone and in combination in experimental diabetic neuropathy. *Neuropharmacology*, 58, 585-592.
- Nestler, E.J., Hyman, S.E., Malenka, R.C. (2009). *Molecular Neuropharmacology-A Foundation for Clinical Neuroscience* (2nd Edition). McGraw-Hill Companies.

- Nevéus, T. (2006). Reboxetine in therapy-resistant enuresis: results and pathogenetic implications. *Scand. J. Urol. Nephrol.*, 40 (1), 31–34.
- Nicholson, R., Dixon, A., Spanswick, D., Lee, K. (2005). Noradrenergic receptor mRNA expression in adult rat superficial dorsal horn and dorsal root ganglion neurons. *Neurosci. Lett.*, 380, 316-321.
- Niknia, S., Kaeidi, A., Hajizadeh, M.R., Mirzaei, M.R., Khoshdel, A., Hajializadeh, Z., Fahmidehkar, M.A., Mahmoodi, M. (2018). Neuroprotective and antihyperalgesic effects of orexin-A in rats with painful diabetic neuropathy. *Neuropeptides*. pii: S0143-4179 (18)30111-2.
- Nirogi, R., Goura, V., Shanmuganathan, D., Jayarajan, P., Abraham, R. (2012). Comparison of manual and automated filaments for evaluation of neuropathic pain behavior in rats. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*, 66 (1), 8-13.
- Njung'e, K., Critchley, M.A., Handley, S.L. (1993). Effects of beta-adrenoceptor ligands in the elevated X-maze 'anxiety' model and antagonism of the 'anxiogenic' response to 8-OH-DPAT. *J. Psychopharmacol.*, 7 (2), 173-180.
- Obata, H. (2017). Analgesic mechanisms of antidepressants for neuropathic pain. *Int. J. Mol. Sci.*, 21, 18 (11), pii: E2483.
- Obrosova, I.G., Drel, V.R., Oltman, C.L., Mashtalir, N., Tibrewala, J., Groves, J.T., Yorek, M.A. (2007). Role of nitrosative stress in early neuropathy and vascular dysfunction in streptozotocin-diabetic rats. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 293 (6), E1645-1655.
- Obrosova, I.G., Xu, W., Lyzogubov, V.V., Ilnytska, O., Mashtalir, N., Vareniuk, I., Pavlov, I.A., Zhang, J., Slusher, B., Drel, V.R. (2008). PARP inhibition or gene deficiency counteracts intraepidermal nerve fiber loss and neuropathic pain in advanced diabetic neuropathy. *Free Radic. Biol. Med.*, 44 (6), 972-981.
- Ocak, U.M. (2014). *Deneyssel ağrı modellerinde atorvastatinin antinosiseptif etkisi*, Yüksek Lisans Tezi. Edirne: Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fizyoloji Anabilim Dalı.

- Ohsawa, M., Aasato, M., Hayashi, S.S., Kamei, J. (2011). RhoA/Rho kinase pathway contributes to the pathogenesis of thermal hyperalgesia in diabetic mice. *Pain*, 152 (1), 114-122.
- Ohsawa, M., Kamei, J. (1999a). Possible involvement of spinal protein kinase C in thermal allodynia and hyperalgesia in diabetic mice. *Eur. J. Pharmacol.*, 372 (3), 221-228.
- Ohsawa, M., Kamei, J. (1999b). Role of intracellular calcium in thermal allodynia and hyperalgesia in diabetic mice. *Brain Res.*, 833 (2), 278-281.
- Onal, A., Parlar, A., Ulker, S. (2007). Milnacipran attenuates hyperalgesia and potentiates antihyperalgesic effect of tramadol in rats with mononeuropathic pain. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 88, 171-178.
- Ong, K.W., Hsu, A., Song, L., Huang, D., Tan, B.K. (2011). Polyphenols-rich *Vernonia amygdalina* shows anti-diabetic effects in streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Ethnopharmacol.*, 133 (2), 598-607.
- Oyama, T., Miyasita, Y., Watanabe, H., Shirai, K. (2006). The role of polyol pathway in high glucose-induced endothelial cell damages. *Diabet. Res. Clin. Pract.*, 73, 227-234.
- Özatic O., Koçman A.E., Dağ I., Köse A.A., Musmul A., Şengel T. (2016). The effect of decompression on the treatment of chronic constriction injury in peripheral nerve. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.* 22 (4), 597-604.
- Page, M.E. (2003). The promises and pitfalls of reboxetine. *CNS Drug Rev.*, 9 (4), 327-42.
- Palenicek, T., Votava, M., Bubenikova, V., Horacek, J. (2005). Increased sensitivity to the acute effects of MDMA ("ecstasy") in female rats. *Physiol. Behav.*, 86 (4), 546-553.
- Pecikoza, U., Micov, A., Tomić, M., Stepanović-Petrović, R. (2018). Eslicarbazepine acetate reduces trigeminal nociception: Possible role of adrenergic, cholinergic and opioid receptors. *Life Sci.*, 214, 167-175.

- Pedersen, L.H., Nielsen, A.N., Blackburn-Munro, G. (2005). Anti-nociception is selectively enhanced by parallel inhibition of multiple subtypes of monoamine transporters in rat models of persistent and neuropathic pain. *Psychopharmacology (Berl)*, 182 (4), 551-561.
- Peng, P.W.H., Bellingham, G.A. (2010). Antidepressants and anticonvulsants. S.L. Tsui, P.P. Chen ve K.F.J. Ng (Editörler), *Pain Medicine: A Multidisciplinary Approach* içinde (s. 379-392). Hong Kong: Hong Kong University Press.
- Pereira de Ávila, M.A., Giusti-Paiva, A., Giovani de Oliveira Nascimento, C. (2014). The peripheral antinociceptive effect induced by the heme oxygenase/carbon monoxide pathway is associated with ATP-sensitive K⁺ channels. *Eur. J. Pharmacol.*, 726, 41-48.
- Pergolizzi, J.V. Jr, Raffa, R.B., Taylor, R. Jr, Rodriguez, G., Nalamachu, S., Langley, P. (2013). A review of duloxetine 60 mg once-daily dosing for the management of diabetic peripheral neuropathic pain, fibromyalgia, and chronic musculoskeletal pain due to chronic osteoarthritis pain and low back pain. *Pain Pract.* 13 (3), 239-252.
- Pertovaara, A. (2013). The noradrenergic pain regulation system: A potential target for pain therapy. *Eur. J. Pharmacol.*, 716, 2-7.
- Pitsikas, N., Boultsadakis, A., Georgiadou, G., Tarantilis, P.A., Sakellaris, N. (2008). Effects of the active constituents of *Crocus sativus* L., crocins, in an animal model of anxiety. *Phytomedicine*, 15 (12), 1135-1139.
- Pop-Busui, R., Lu, J., Brooks, M.M., Albert, S., Althouse, A.D., Escobedo, J., Green, J., Palumbo, P., Perkins, B.A., Whitehouse, F., Jones, T.L., BARI 2D Study Group (2013). Impact of glycemic control strategies on the progression of diabetic peripheral neuropathy in the Bypass Angioplasty Revascularization Investigation 2 Diabetes (BARI 2D) Cohort. *Diabetes Care*. 36 (10), 3208-3215.
- Popescu, A.I., Opris, I. (2017). Introduction: From Neurons to the Mind. I. Opris ve M. Casanova (Editörler), *The Physics of the Mind and Brain Disorders* içinde (s.23-51). Cham: Springer International Publishing AG.

- Potvin, S., Grignon, S., Marchand, S. (2009). Human evidence of a supra-spinal modulating role of dopamine on pain perception. *Synapse*, 63 (5), 390-402.
- Poyurovsky, M., Isaacs, I., Fuchs, C., Schneidman, M., Faragian, S., Weizman, R., Weizman, A. (2003). Attenuation of olanzapine- induced weight gain with reboxetine in patients with schizophrenia: a double-blind, placebo-controlled study. *Am. J. Psychiatry*, 160 (2), 297–302.
- Preskorn, S.H. (2004). Reboxetine: a norepinephrine selective reuptake pump inhibitor. *J. Psychiatr. Pract.*, 10 (1), 57-63.
- Quattrini, C., Tesfaye, S. (2003). Understanding the impact of painful diabetic neuropathy. *Diabetes Metab. Res. Rev.*, 19 Suppl. 1, S2-8.
- Quintero, J., López-Muñoz, F., Alamo, C., Loro, M., García-Campos, N. (2010). Reboxetine for ADHD in children non-responders or with poor tolerance to methylphenidate: a prospective long-term open-label study. *Atten. Defic. Hyperact. Disord.*, 2 (3), 107–113.
- Radenković, M., Stojanović, M., Prostran, M. (2016). Experimental diabetes induced by alloxan and streptozotocin: The current state of the art. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*, 78, 13-31.
- Raedler, T.J., Jahn, H., Arlt, J., Kiefer, F., Schick, M., Naber, D., Wiedemann, K. (2004). Adjunctive use of reboxetine in schizophrenia. *Eur. Psychiatry*, 19 (6), 366-369.
- Rasouljan, B., Hajializadeh, Z., Esmaeili-Mahani, S., Rashidipour, M., Fatemi, I., Kaeidi, A. (2018). Neuroprotective and antinociceptive effects of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract in rats with painful diabetic neuropathy. *J. Physiol. Sci.* (Baskıda).
- Ratner, S., Laor, N., Bronstein, Y., Weizman, A., Toren, P. (2005). Six-week open-label reboxetine treatment in children and adolescents with attention-deficit/hyperactivity disorder. *JAACAP*, 44 (5), 428-433.
- Renn, C.L., Dorsey, S.G. (2005). The physiology and processing of pain a review. *AACN Clinical Issues*, 16 (3), 277-290.

- Riahi, F., Tehrani-Doost, M., Shahrivar, Z., Alaghband-Rad, J. (2010). Efficacy of reboxetine in adults with attention-deficit/hyperactivity disorder: a randomized, placebo-controlled clinical trial. *Hum. Psychopharmacol.*, 25 (7-8), 570-576.
- Rowbotham, M.C., Goli, V., Kunz, N.R., Lei, D. (2004). Venlafaxine extended release in the treatment of painful diabetic neuropathy: a double-blind, placebo-controlled study. *Pain*, 110 (3), 697-706.
- RxMedia Pharma®, İnteraktif İlaç Bilgi Kaynağı, 2018.
- Saarto, T., Wiffen, P.J. (2010). Antidepressants for neuropathic pain: a Cochrane review. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.*, 81 (12), 1372-1373.
- Sadosky, A., McDermott, A.M., Brandenburg, N.A., Strauss, M. (2008). A review of the epidemiology of painful diabetic peripheral neuropathy, postherpetic neuralgia, and less commonly studied neuropathic pain conditions. *Pain Pract.* 8 (1), 45-56.
- Saitoh, A., Nagase, H. (2018). Delta opioid receptor (dor) ligands and pharmacology: development of indolo- and quinolinomorphinan derivatives based on the message-address concept. *Handb. Exp. Pharmacol.*, 247, 3-19.
- Santos-Nogueira, E., Redondo Castro, E., Mancuso, R., Navarro, X. (2012). Randall-Selitto test: a new approach for the detection of neuropathic pain after spinal cord injury. *J. Neurotrauma*, 29 (5), 898-904.
- Sapunar, D., Kostic, S., Banozic, A., Puljak, L. (2012). Dorsal root ganglion – a potential new therapeutic target for neuropathic pain. *J. Pain Res.*, 5, 31-38.
- Schreiber, S., Frishtick, R., Volis, I., Rubovitch, V., Pick, C.G., Weizman, R. (2009). The antinociceptive properties of reboxetine in acute pain. *Eur. Neuropsychopharmacol.*, 19 (10), 735-739.
- Schreiber, A.K., Nones, C.F.M., Reis, R.C., Chichorro, J.G., Cunha, J.M. (2015). Diabetic neuropathic pain: Physiopathology and treatment. *World J. Diabetes*, 6 (3), 432-444.
- Schüler, P., Seibel, K., Chevts, V., Schaffler, K. (2002). [Analgesic effect of the selective noradrenaline reuptake inhibitor reboxetine]. *Nervenarzt*, 73 (2), 149-154.

- Sepede, G., Corbo, M., Fiori, F., Martinotti, G. (2012). Reboxetine in clinical practice: a review. *Clin. Ter.*, 163 (4), e255-262.
- Serpell, M.G., Neuropathic Pain Study Group (2002). Gabapentin in neuropathic pain syndromes: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Pain*, 99, 557-566.
- Shafik, A.N. (2012). Effects of topiramate on diabetes mellitus induced by streptozotocin in rats. *Eur. J. Pharmacol.*, 684 (1-3), 161-167.
- Sharma, S.S., Kumar, A., Arora, M., Kaundal, R.K. (2009). Neuroprotective potential of combination of resveratrol and 4-amino-1,8 naphthalimide in experimental diabetic neuropathy: focus on functional, sensorimotor and biochemical changes. *Free Radic. Res.*, 43, 400-408.
- Shimizu, H., Shimomura, Y., Takahashi, M., Kobayashi, I., Kobayashi, S. (1990). Dopamine receptor in the streptozotocin-induced diabetic rats. *Exp. Clin. Endocrinol.*, 95 (2), 263-266.
- Shoja Shafti, S., Jafarabad, M.S., Azizi, R. (2015). Amelioration of deficit syndrome of schizophrenia by norepinephrine reuptake inhibitor. *Ther. Adv. Psychopharmacol.*, 5 (5), 263-270.
- Sindrup, S.H., Bach, F.W., Madsen, C., Gram, L.F., Jensen, T.S. (2003). Venlafaxine versus imipramine in painful polyneuropathy: a randomized, controlled trial. *Neurology*, 60 (8), 1284-1289.
- Sindrup, S.H., Gram, L.F., Skjold, T., Grodum, E., Brosen, K., Beck-Nielsen, H. (1990). Clomipramine vs desipramine vs placebo in the treatment of diabetic neuropathy symptoms. A double-blind cross-over study. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 30, 683-691.
- Sindrup, S.H., Otto, M., Finnerup, N.B., Jensen, T.S. (2005). Antidepressants in the treatment of neuropathic pain. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.*, 96 (6), 399-409.
- Singh, R., Kishore, L., Kaur, N. (2014). Diabetic peripheral neuropathy: current perspective and future directions. *Pharmacolog. Res.*, 80, 21-35.

- Skalska, S., Kyselova, Z., Gajdosikova, A., Karasu, C., Stefek, M., Stolc, S. (2008). Protective effect of stobadine on NCV in streptozotocin-diabetic rats: augmentation by vitamin E. *Gen. Physiol. Biophys.*, 27 (2), 106-114.
- Smith, A.G., Singleton, J.R. (2012). Diabetic neuropathy. *Continuum Lifelong Learning Neurol.*, 18, 60-84.
- Spivak, B., Strous, R.D., Shaked, G. (2006). Reboxetine versus fluvoxamine in the treatment of motor vehicle accident related posttraumatic stress disorder: a double-blind, fixeddosage, controlled trial. *J. Clin. Psychopharmacol.*, 26, 152-156.
- Srivastava, A.K. (2002). High glucose-induced activation of protein kinase signaling pathways in vascular smooth muscle cells: a potential role in the pathogenesis of vascular dysfunction in diabetes. *Int. J. Mol. Med.*, 9, 85-89.
- Suzuki, Y., Sato, J., Kawanishi, M., Mizumura, K. (2002a). Lowered response threshold and increased responsiveness to mechanical stimulation of cutaneous nociceptive fibers in streptozotocin-diabetic rat skin in vitro correlates of mechanical allodynia and hyperalgesia observed in the early stage of diabetes. *Neurosci. Res.*, 43 (2), 171-178.
- Suzuki, Y., Sato, J., Kawanishi, M., Mizumura, K. (2002b). Tissue glucose level modulates the mechanical responses of cutaneous nociceptors in streptozotocin-diabetic rats but not normal rats in vitro. *Pain*, 99 (3), 475-484.
- Szczudlik, A., Dobrogowski, J., Wordliczek, J., Stępień, A., Krajnik, M., Leppert, W., Woron, J., Przeklasa-Muszyńska, A., Kocot-Kępska, M., Zajączkowska, R., Janecki, M., Adamczyk, A., Malec-Milewska, M. (2014). Diagnosis and management of neuropathic pain: review of literature and recommendations of the Polish Association for the study of pain and the Polish Neurological Society - part one. *Neurol. Neurochir. Pol.*, 48 (4), 262-271.
- Szerman, N., Peris, L., Mesías, B. (2005). Reboxetine for the treatment of patients with cocaine dependence disorder. *Hum. Psychopharmacol.* 20, 189-192.
- Szkudelski, T. (2001). The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiol. Res.*, 50 (6), 537-546.

- Tahrani, A.A., Aswith, T., Stevens, M.J. (2010). Emerging drugs for diabetic neuropathy. *Expert Opin Emerg Drugs*, 15, 661-683.
- Tan, E. (2009). Diyabetik Nöropatik Ağrı. E. Tan (Editör), *Nöropatik Ağrı Tanı ve Tedavi Kılavuzu* içinde (s. 22-26). İstanbul: Cortex İletişim Hizmetleri.
- Taniguchi, W., Nakatsuka, T., Miyazaki, N., Yamada, H., Takeda, D., Fujita, T., Kumamoto, E., Yoshida, M. (2011). In vivo patch-clamp analysis of dopaminergic antinociceptive actions on substantia gelatinosa neurons in the spinal cord. *Pain*, 152 (1), 95-105.
- Tavakoli, M., Quattrini, C., Abbott, C., Kallinikos, P., Marshall, A., Finnigan, J., Morgan, P., Efron, N., Boulton, A.J., Malik, R.A. (2010). Corneal confocal microscopy: a novel noninvasive test to diagnose and stratify the severity of human diabetic neuropathy. *Diabetes Care*, 33 (8), 1792-1797.
- Taylor, A.M., Becker, S., Schweinhardt, P., Cahill, C. (2016). Mesolimbic dopamine signaling in acute and chronic pain: implications for motivation, analgesia, and addiction. *Pain*, 157 (6), 1194-1198.
- Taylor, B.K. (2009). Spinal inhibitory neurotransmission in neuropathic pain. *Curr. Pain Headache Rep.*, 13, 208-214.
- Tehrani-Doost, M., Moallemi, S., Shahrivar, Z. (2008). An open-label trial of reboxetine in children and adolescents with attention-deficit/hyperactivity disorder. *J. Child Adolesc. Psychopharmacol.*, 18 (2), 179–184.
- Terzi, M., Cengiz, N., Onar, M.K. (2004). Diyabetik nöropati. *O.M.Ü. Tıp Dergisi*, 21 (1), 39-49.
- Tesfaye, S., Selvarajah, D. (2009). Recent advances in the pharmacological management of painful diabetic neuropathy. *Br. J. Diabetes Vasc. Dis.*, 9 (6), 283-287.
- Tesfaye, S., Eaton, S.E., Ward, J.D., Manes, C., Ionescu-Tirgoviste, C., Witte, D.R., Fuller, J.H., EURODIAB Prospective Complications Study Group (2005). Vascular risk factors and diabetic neuropathy. *N. Engl. J. Med.*, 352 (4), 341–350.

- Thiagarajan, V.R., Shanmugam, P., Krishnan, U.M., Muthuraman, A. (2014). Ameliorative effect of *Vernonia cinerea* in vincristine-induced painful neuropathy in rats. *Toxicol. Ind. Health*, 30 (9), 794-805.
- Thor, K.B., Kirby, M., Viktrup, L. (2007). Serotonin and noradrenaline involvement in urinary incontinence, depression and pain: scientific basis for overlapping clinical efficacy from a single drug, duloxetine. *Int. J. Clin. Pract.*, 61, 1349-1355.
- Tiemann, L., Heitmann, H., Schulz, E., Baumkötter, J., Ploner, M. (2014). Dopamine precursor depletion influences pain affect rather than pain sensation. *PLoS One.*, 9 (4), e96167.
- Toren, P., Ratner, S., Weizman, A., Lask, M., Ben-Amitay, G., Laor, N. (2007). Reboxetine maintenance treatment in children with attention-deficit/hyperactivity disorder: a long-term follow-up study. *J. Child Adolesc. Psychopharmacol.*, 17 (6), 803-812.
- Toth, C., Rong, L.L., Yang, C., Martinez, J., Song, F., Ramji, N., Brussee, V., Liu, W., Durand, J., Nguyen, M.D., Schmidt, A.M., Zochodne, D.W. (2008). Receptor for advanced glycation end products (RA GEs) and experimental diabetic neuropathy. *Diabetes*, 57, 1002-1017.
- Treede, R.D. (2018). The International Association for the Study of Pain definition of pain: as valid in 2018 as in 1979, but in need of regularly updated footnotes. *Pain Rep.*, 3 (2), e643.
- Ulugol, A., Karadag, H.C., Ipci, Y., Tamer, M., Dokmeci, I. (2004). The effect of WIN 55,212-2, a cannabinoid agonist, on tactile allodynia in diabetic rats. *Neurosci. Lett.*, 371 (2-3), 167-170.
- Uyar, M., Köken, İ. (2017). Kronik ağrı nörofizyolojisi. *TOTBİD Dergisi*, 16, 70-76.
- Üçel, U.İ., Can, Ö.D., Demir Özkay, Ü., Öztürk, Y. (2015). Antihyperalgesic and antiallodynic effects of mianserin on diabetic neuropathic pain: a study on mechanism of action. *Eur. J. Pharmacol.*, 756, 92-106.

- Vadalouca, A., Siafaka, I., Argyra, E., Vrachnou, E., Moka, E. (2007). Therapeutic management of chronic neuropathic pain: an examination of pharmacologic treatment. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1088, 164-186.
- Van Lunteren, E., Moyer M., Pollarine, J. (2004). Reduced amount and disrupted temporal pattern of spontaneous exercise in diabetic rats. *Med. Sci. Sports Exerc.*, 36 (11), 1856-1862.
- Vera, G., López-Miranda, V., Herradón, E., Martín, M.I., Abalo, R. (2012). Characterization of cannabinoid-induced relief of neuropathic pain in rat models of type 1 and type 2 diabetes. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 102 (2), 335-343.
- Verma, V., Singh, N., Singh Jaggi, A. (2014). Pregabalin in neuropathic pain: evidences and possible mechanisms. *Curr. Neuropharmacol.* 12 (1), 44-56.
- Versiani, M., Cassano, G., Perugi, G., Benedetti, A., Mastalli, L., Nardi, A., Savino, M. (2002). Reboxetine, a selective norepinephrine reuptake inhibitor, is an effective and well-tolerated treatment for panic disorder. *J. Clin. Psychiatry*, 63 (1), 31–37.
- Vileikyte, L., Leventhal, H., Gonzalez, J.S., Peyrot, M., Rubin, R.R., Ulbrecht, J.S., Garrow, A., Waterman, C., Cavanagh, P.R., Boulton, A.J. (2005). Diabetic peripheral neuropathy and depressive symptoms: the association revisited. *Diabetes Care*, 28 (10), 2378-2783.
- Vinik, A.I., Casellini, C.M. (2013). Guidelines in the management of diabetic nerve pain: clinical utility of pregabalin. *Diabetes Metab. Syndr. Obes.*, 6, 57–78.
- Vinik, A.I., Erbas, T., Casellini, C.M. (2013). Diabetic cardiac autonomic neuropathy, inflammation and cardiovascular disease. *J. Diabet.*, 4, 4-18.
- Voitenko, N.V., Kruglikov, I.A., Kostyuk, E.P., Kostyuk, P.G., (2000). Effect of streptozotocin-induced diabetes on the activity of calcium channels in rat dorsal horn neurons. *Neuroscience*, 95 (2), 519-524.
- Votrubec, M., Thong, I. (2013). Neuropathic pain--a management update. *Aust. Fam. Physician.*, 42 (3), 92-97.

- Warner, T.A., Drugan, R.C. (2012). Morris water maze performance deficit produced by intermittent swim stress is partially mediated by norepinephrine. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 101, 24–34.
- Webster, M. (2015). Pharmacologic basis for the use of selective norepinephrine reuptake inhibitors for the treatment of neuropathic pain conditions. *Mental Health Clinician*, 5 (6), 284-288.
- Wheeler, S., Singh, N., Boyko, E.J. (2007). The Epidemiology of Diabetic Neuropathy. A. Veves ve R. Malik (Editörler), *Diabetic Neuropathy: Clinical Management* (2nd Edition) içinde (s. 7-30). New Jersey: Humana Press Inc.
- Whiskey, E., Taylor, D. (2013). A review of the adverse effects and safety of noradrenergic antidepressants. *J. Psychopharmacol.*, 27 (8), 732-739.
- Widerlov, E., Lewander, T. (1978). Inhibition of the in vivo biosynthesis and changes of catecholamine levels in rat brain after α -methyl-tyrosine; time-and dose–response relationships. *NaunynSchmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 304, 111-123.
- Wienkers, L.C., Allievi, C., Hauer, M.J., Wynalda, M.A. (1999). Cytochrome P-450-mediated metabolism of the individual enantiomers of the antidepressant agent reboxetine in human liver microsomes. *Drug Metab. Dispos.*, 27 (11), 1334-1340.
- Wisniewski, K., Fedosiewicz-Wasiluk, M., Holy, Z.Z., Car, H., Grzeda, E. (2003). Influence of NMDA, a potent agonist of glutamate receptors, on behavioral activity in 4-week streptozotocin-induced diabetic rats. *Pol. J. Pharmacol.*, 55 (3), 345-351.
- Wu, S., Ren, J. (2006). Benfotiamine alleviates diabetes-induced cerebral oxidative damage independent of advanced glycation end-product, tissue factor and TNF- α . *Neurosci. Lett.*, 394, 158-162.
- Wu, W., Zhang, M., Liu, Q., Xue, L., Li, Y., Ou, S. (2015). Piwil 2 gene transfection changes the autophagy status in a rat model of diabetic nephropathy. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 8 (9), 10734-10742.
- Xu, X., Liu, Z., Liu, H., Yang, X., Li, Z. (2012). The effects of galanin on neuropathic pain in streptozotocin-induced diabetic rats. *Eur. J. Pharmacol.*, 680 (1-3), 28-33.

- Yagihashi, S., Mizukami, H., Sugimoto, K. (2011). Mechanism of diabetic neuropathy: Where are we now and where to go? *J. Diabetes Investig.*, 2 (1), 18–32.
- Yagihashi, S., Yamagishi, S.I., Wada, R.I., Baba, M., Hohman, T.C., Yabe-Nishimura, C., Kokai, Y. (2001). Neuropathy in diabetic mice overexpressing human aldose reductase and effects of aldose reductase inhibitor. *Brain*, 124 (12), 2448-2458.
- Yalcin, I., Choucair-Jaafar, N., Benbouzid, M., Tessier, L.H., Muller, A., Hein, L., Freund-Mercier, M.J., Barrot, M. (2009a). Beta(2)-adrenoceptors are critical for antidepressant treatment of neuropathic pain. *Ann. Neurol.*, 65 (2), 218-225.
- Yalcin, I., Tessier, L.H., Petit-Demoulière, N., Doridot, S., Hein, L., Freund-Mercier, M.J., Barrot, M. (2009b). Beta2-adrenoceptors are essential for desipramine, venlafaxine or reboxetine action in neuropathic pain. *Neurobiol. Dis.*, 33 (3), 386-394.
- Yalcin, I., Tessier, L.H., Petit-Demoulière, N., Waltisperger, E., Hein, L., Freund-Mercier, M.J., Barrot, M. (2010). Chronic treatment with agonists of beta(2)-adrenergic receptors in neuropathic pain. *Exp. Neurol.*, 221 (1), 115-121.
- Yan, J.E., Yuan, W., Lou, X., Zhu, T. (2012). Streptozotocin-induced diabetic hyperalgesia in rats is associated with upregulation of Toll-like receptor 4 expression. *Neurosci. Lett.*, 526, 54-58.
- Yarnitsky, D. (2015). Role of endogenous pain modulation in chronic pain mechanisms and treatment. *Pain*, 156, 24-31.
- Yi, H., Kim, M.A., Back, S.K., Eun, J.S., Na, H.S. (2011). A novel rat forelimb model of neuropathic pain produced by partial injury of the median and ulnar nerves. *Eur. J. Pain*, 15 (5), 459-466.
- Yücel, A., Çimen, A. (2005). Nöropatik ağrı: mekanizmalar, tanı ve tedavi. *Ağrı*, 17, 5-13.
- Zarifoğlu, M. (2003). Nöropatik ağrı. *Birinci basamak için psikiyatri*, 2, 1-5.
- Zhang, J.L., Yang, J.P., Zhang, J.R., Li, R.Q., Wang, J., Jan, J.J., Zhuang, Q. (2013). Gabapentin reduces allodynia and hyperalgesia in painful diabetic neuropathy rats

- by decreasing expression level of Nav1.7 and p-ERK1/2 in DRG neurons. *Brain Res.*, 1493, 13-18.
- Zhang, T.T., Xue, R., Zhu, L., Li, J., Fan, Q.Y., Zhong, B.H., Li, Y.F., Ye, C.Y., Zhang, Y.Z. (2016). Evaluation of the analgesic effects of amoxetine, a novel potent serotonin and norepinephrine reuptake inhibitor. *Acta. Pharmacol. Sin.*, 37 (9), 1154-1165.
- Zhang, X., Hartung, J.E., Bortsov, A.V., Kim, S., O'Buckley, S.C., Kozlowski, J., Nackley, A.G. (2018). Sustained stimulation of β 2- and β 3-adrenergic receptors leads to persistent functional pain and neuroinflammation. *Brain Behav. Immun.*, 73, 520-532.
- Zhu, H., Clemens, S., Sawchuk, M., Hochman, S. (2007). Expression and distribution of all dopamine receptor subtypes (D(1)-D(5)) in the mouse lumbar spinal cord: a real-time polymerase chain reaction and non-autoradiographic in situ hybridization study. *Neuroscience*, 149 (4), 885-897.
- Zhu, J.X., Xu, F.Y., Xu, W.J., Zhao, Y., Qu, C.L., Tang, J.S., Barry, D.M., Du, J.Q., Huo, F.Q. (2013). The role of adrenoceptor in mediating noradrenaline action in the ventrolateral orbital cortex on allodynia following spared nerve injury. *Exp. Neurol.*, 248, 381-386.
- Zhu, L., Zhao, L., Qu, R., Zhu, H.Y., Wang, Y., Jiang, X., Xu, G.Y. (2015). Adrenergic stimulation sensitizes TRPV1 through upregulation of cystathionine β -synthetase in a rat model of visceral hypersensitivity. *Sci. Rep.*, 5, 16109.
- Zilliox, L., Russell, J.W. (2011). Treatment of diabetic sensory polyneuropathy. *Curr. Treat. Options Neurol.*, 13, 143-159.
- Zimmermann, M. (2001). Pathobiology of neuropathic pain. *Eur. J. Pharmacol.*, 429 (1-3), 23-37.
- Zittel, S., Weiller, C., Liepert, J. (2007). Reboxetine improves motor function in chronic stroke. *J. Neurol.*, 254, 197-201.
- Zochodne, D.W., Verge, V.M.K., Cheng, C., Sun, H., Johnston, J. (2001). Does diabetes target ganglion neurones?: Progressive sensory neurone involvement in long-term experimental diabetes. *Brain*, 124 (11), 2319-2334.

- Zochodne, D.W., Ho, L.T. (1991). Unique microvascular characteristics of the dorsal root ganglion in the rat. *Brain Res.*, 559, 89-93.
- Zochodne, D.W., Ho, L.T. (1994). The influence of sulindac on experimental streptozotocin-induced diabetic neuropathy. *Can. J. Neurol. Sci.*, 21, 194-202.
- Zochodne, D.W., Ho, L.T., Allison, J.A. (1994). Dorsal root ganglia microenvironment of female BB Wistar diabetic rats with mild neuropathy. *J. Neurol. Sci.*, 127, 36-42.

EK-1. ETİK KURUL ONAYLARI



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



HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARI

TOPLANTI TARİHİ	: 12. 05. 2016
TOPLANTI SAYISI	: 96
DOSYA KAYIT NUMARASI	: 521-1
KARAR NUMARASI	: 521-1
ARAŞTIRMA YÜRÜTÜCÜSÜ	: Doç. Dr. Özgür Devrim CAN
YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR	: Prof. Dr. Emel ULUPINAR Doç. Dr. Ümide DEMİR ÖZKAY Arş. Gör. Nazlı TURAN
HAYVAN TÜRÜ ve SAYISI	: Sprague-Dawley (248 adet erkek)

Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Öğretim üyesi Doç. Dr. Özgür Devrim CAN'ın araştırma yürütücüsü olduğu 521-1/2016 kayıt numaralı ve "Reboksetin'in streptozotosin ile diyabet oluşturulmuş sıçanlardaki antihiperalezik ve antiallodinik etkilerinin altında yatan mekanizmaların farmakolojik ve morfolometrik yöntemler kullanılarak araştırılması" konulu çalışma; Deney Hayvanları Etik Kurulu Yönergesi'ne göre değerlendirilmiş ve gerekçede belirtildiği şekilde yapılması uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Keleş EROL (Başkan)

Prof. Dr. Kubilay UZUNER (Üye)

Prof. Dr. Hasan VİDÜNEŞ (Üye)

Prof. Dr. Emel ULUPINAR (Üye)

Doc. Dr. Engin SİLİMLİ (Üye)

Yrd. Doç. Dr. Ünal ÖZELMAS (Üye)

Yrd. Doç. Dr. Nurdan KIRIMLIOĞLU (Üye)

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

Vet. Hek. Refik ARTAN (Üye)

Avukat Şükrü KIRDEMİR (Üye)

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



T.C.
ANADOLU ÜNİVERSİTESİ

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARAR FORMU

Toplantı No: 4 Dosya Kayıt No: 18-32 BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN ADI	Reboksetin'in streptozotosin ile diyabet oluşturulmuş sıçanlardaki antihiperaljezik ve antiallodinik etkilerinin altında yatan mekanizmaların araştırılması
	SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI / ADI KURUMU	Doç.Dr.Özgür Devrim CAN Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
	YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR	Doç. Dr. Ümide DEMİR ÖZKAY, Araş. Gör. Nazlı TURAN YÜCEL
	Hayvan Türü ve Sayısı	Sprague Dawley /(Erkek) 224

DEĞERLENDİRİLEN BELGE	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ ve EKLERİ	Var
------------------------------	--------------------------------------	-----

KARAR BİLGİLERİ	Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Öğretim Üyesi Doç.Dr.Özgür Devrim CAN 'ın araştırma yürütücüsü olduğu 18-32 dosya kayıt numaralı ve "Reboksetin'in streptozotosin ile diyabet oluşturulmuş sıçanlardaki antihiperaljezik ve antiallodinik etkilerinin altında yatan mekanizmaların araştırılması" başlıklı başvuru; Deney Hayvanları Etik Kurulu Yönergesine uygun bulunarak onaylanmasına karar verilmiştir.	
	KARAR NO: 2018-32	KARAR TARİHİ:08.06.2018

ETİK KURUL ÜYELERİ			
ÜNVANI / ADI SOYADI ETİK KURUL GÖREVİ	BİRİMİ	TOPLANTIYA KATILMA	KARARA KATILMA İMZA
Doç. Dr. Bülent ERGÜN BAŞKAN	Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı	☒ Katıldı ☐ Katılmadı	
Doç. Dr. Özgür Devrim CAN ÜYE	Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı	☐ Katıldı ☒ Katılmadı	
Doç.Dr. Sinem İLGİN ÜYE	Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı	☐ Katıldı ☒ Katılmadı	
Doç. Dr. Harun BÖCÜK ÜYE	Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü	☐ Katıldı ☒ Katılmadı	
Doç. Dr. Gökhan KUŞ ÜYE	Açıköğretim Fakültesi Sağlık Programları Bölümü	☒ Katıldı ☐ Katılmadı	
Doç. Dr. Gülşen AKALIN ÇİFTÇİ ÜYE	Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı	☒ Katıldı ☐ Katılmadı	
Dr. Öğr. Üyesi Vet. Hek. Mustafa ESER ÜYE	Deney Hayvanları Arş. Ve Uyg. Birimi	☒ Katıldı ☐ Katılmadı	
Dr. Kürşat KARTAL ÜYE	Laboratuvar Hayvanları Bilimi Derneği Üyesi	☒ Katıldı ☐ Katılmadı	
Vet. Hek. Mustafa SAYIN ÜYE	Serbest	☒ Katıldı ☐ Katılmadı	

Anadolu Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu Sekreterliği, Yunus Emre Kampüsü, 26470 ESKİŞEHİR
Tel+90 222 335 05 80-3798 Faks+90 222 335 36 16, E-Posta hadyekanadolu@gmail.com, Web http://www.anadolu.edu.tr

EK-2. DENEY HAYVANI KULLANIM SERTİFİKASI

 ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ	ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU DENEY HAYVANLARI KULLANIM SERTİFİKASI
Belge No: 18-14	<i>Sayın Nazlı TURAN</i> 24 Mart – 04 Nisan 2014 tarihleri arasında düzenlenen “Deney Hayvanları Kullanımı İle İlgili B sınıfı Eğitim Programı” 80 saatlik teorik ve uygulamalarına katılarak tamamlamış ve yapılan sertifika sınavını başarıyla geçmiştir.
 Prof. Dr. Kerem EROL Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanı	 Prof. Dr. Hasan GÖNEN Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Rektörü
	 ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ