

**BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DENEYSEL MİGREN MODELİ OLUŞTURULAN SIÇANLARDA
TİMOKİNON’UN ANALJEZİK ETKİSİ VE NÖROGLİAL AKTİVİTE VE
ÖĞRENME-BELLEK İLE İLİŞKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tuğba BÜYÜKDEMİRTAŞ

Sinir Bilimi Anabilim Dalı

Sinir Bilimleri Tezli Yüksek Lisans Programı

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. İsmail MERAL
İkinci Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Savaş ÜSTÜNOVA**

HAZİRAN 2022

**BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DENEYSEL MİGREN MODELİ OLUŞTURULAN SIÇANLARDA
TİMOKİNON’UN ANALJEZİK ETKİSİ VE NÖROGLİAL AKTİVİTE VE
ÖĞRENME-BELLEK İLE İLİŞKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Tuğba BÜYÜKDEMİRTAŞ
(195317002)**

Sinir Bilimi Anabilim Dalı

Sinir Bilimleri Tezli Yüksek Lisans Programı

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. İsmail MERAL
İkinci Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Savaş ÜSTÜNOVA**

HAZİRAN 2022

Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün 195317002 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi Tuğba BÜYÜKDEMİRTAŞ, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “DENEYSEL MİGREN MODELİ OLUŞTURULAN SIÇANLARDA TİMOKİNON’UN ANALJEZİK ETKİSİ VE NÖROGLİAL AKTİVİTE VE ÖĞRENME-BELLEK İLE İLİŞKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ” başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı : **Prof. Dr. İsmail MERAL**
Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Doç Dr. Birsen ELİBOL**
Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Huri BULUT
İstinye Üniversitesi

Teslim Tarihi : 30 Ağustos 2022
Savunma Tarihi : 30 Haziran 2022



Annem ve babama,

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim süresince ve tezimin her aşamasında değerli bilgi ve deneyimleri ile bana yol gösteren, hiçbir konuda yardımını esirgemeyen ve desteğini hep yanımda hissettiğim saygıdeğer hocam ve tez danışmanım Sayın Prof. Dr. İsmail MERAL'e tüm içtenliğimle sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmanın tüm aşamalarında bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, desteğini ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen ve tezimin tüm aşamalarında büyük emeği olan değerli hocam ve eş danışmanım Sayın Dr. Öğr. Üyesi Savaş ÜSTÜNOVA'ya tüm içtenliğimle sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmanın başlamasından bitimine kadar tüm süreçlerinde çok büyük emeği olan, her ihtiyacım olduğunda yardımını, ilgisini ve güler yüzünü eksik etmeyen, bilgilerini ve tecrübelerini hiçbir konuda esirgemeyen kıymetli hocam Öğr. Gör. Aysu KILIÇ'a tüm samimiyetimle sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmanın immunohistokimyasal analizlerinin yürütülmesinde büyük emeği olan Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Öğr. Üyesi Doç. Dr. Birsan ELİBOL'a, biyokimyasal analizlerin yürütülmesindeki büyük emeğinden dolayı ise İstinye Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Dr. Öğr. Üyesi Huri BULUT'a katkılarından dolayı sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans ders dönemi boyunca, bilgileri ve öğrettikleriyle eğitimime katkılarından dolayı tüm bölüm hocalarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmanın deney sürecindeki katkılarından dolayı, Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nın araştırma görevlilerine de teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, çalışmanın deney kısmında gösterdikleri alaka için Bezmialem Vakıf Üniversitesi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi çalışanlarına teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim süresince salgının zorlu şartlarına rağmen desteğini esirgemeyen, Kocaeli Dilovası Devlet Hastanesi Başhekimisi Sayın Op. Dr. Ömer Naci YILMAZ'a tüm içtenliğimle sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Deney sürecinde yerime vekâlet eden sevgili arkadaşım Gülşah Büşra ÖRS'e de yardımları için çok teşekkür ederim.

Hayatım boyunca her daim yanımda olan, benden ilgi, sevgi ve desteklerini hiçbir zaman eksik etmeyen, üzerimdeki emeklerini asla ödeyemeyeceğim kıymetli annem Fevziye BÜYÜKDEMİRTAŞ ve babam Mustafa BÜYÜKDEMİRTAŞ'a sonsuz şükran, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Varlıklarıyla bana güç veren, sevgilerini ve desteklerini hep üzerimde hissettiğim değerli ablalarım Çiğdem ALTUNDAŞ ve Fatma ÖNCÜ ile sevgili kardeşim Büşra GÜNEY'e, son olarak beni her daim mutlu eden sevgili yeğenlerime de sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Destekleriniz için minnettarım.

Saygılarımla...

Bu tez, Bezmialem Vakıf Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından 20200811 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Haziran 2022

Tuğba Büyükdemirtaş
(Hemşire)



BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Tuğba Büyükdemirtaş

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ	iv
BEYAN	vii
İÇİNDEKİLER	viii
KISALTMALAR	ix
SEMBOLLER	xi
TABLO LİSTESİ	xii
ŞEKİL LİSTESİ	xiii
ÖZET	xv
SUMMARY	xvii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Ağrı	3
2.1.1 Ağrı epidemiyolojisi	4
2.1.2 Ağrının sınıflandırılması	5
2.1.2.1 Akut ağrı	7
2.1.2.2 Kronik ağrı	8
2.1.2.3 Nosiseptif ağrı	8
2.1.2.4 Nöropatik (nonnosiseptif) ağrı	8
2.1.3 Ağrılı uyarının iletimi	9
2.1.4 Ağrı anatomofizyolojisi	9
2.1.5 Baş ağrısı	12
2.1.6 Baş ağrısının sınıflandırılması	12
2.1.6.1 Migrenin tanımı ve genel bilgiler	13
2.1.6.2 Migren patofizyolojisi	14
2.1.6.3 Deneysel migren modelleri	17
2.1.6.4 Analjezi testleri	19
2.2 Nöroglial Hücreler	20
2.2.1 Astrositler	20
2.2.2 Migren ve astrositler	21
2.3 Öğrenme-Bellek	22
2.3.1 Bellek türleri	22
2.3.1.1 Kısa süreli bellek	23
2.3.1.2 Orta süreli bellek	23
2.3.1.3 Uzun süreli bellek	23
2.3.2 Öğrenme ve bellek mekanizmaları	24
2.3.2.1 LTP, LTD, NMDA reseptörleri ve öğrenme-bellek ile ilişkileri	25
2.3.2.2 BDNF'nin öğrenme-bellek mekanizmasındaki işlevi	27
2.3.2.3 CREB'in öğrenme-bellek mekanizmasındaki işlevi	27
2.3.3 Hipokampus ve öğrenme-bellek	27

2.3.4 Migren ve öğrenme-bellek	28
2.3.5 Morris su labirenti testi	28
2.4 Migren ve Oksidatif Stres	29
2.5 Timokinon	29
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	32
3.1 Deney Hayvanları ve Etik Onaylar	32
3.2 Deneysel Uygulamalar	33
3.3 Kuyruk Hareketi Testi (Tail Flick Test).....	36
3.4 Morris Su Labirenti Testi	37
3.5 Biyokimyasal Analizler.....	39
3.5.1 Numunelerin eldesi	39
3.5.2 Gereçler	39
3.5.3 Kullanılan kitler	39
3.5.4 CREB1 test protokolü	40
3.5.5 BDNF test protokolü	40
3.5.6 Katalaz aktivitesi test protokolü.....	41
3.5.7 Total SOD aktivitesi test protokolü.....	42
3.6 İmmunohistokimyasal Boyamalar	43
3.7 İstatistiksel Analiz	45
4. BULGULAR	46
4.1 Tail Flick Testi Bulguları	46
4.2 Morris Su Labirenti Testi Bulguları	46
4.2.1 Deney hayvanlarının öğrenme periyodunda platformu bulma süreleri.....	46
4.2.2 Deney hayvanlarının öğrenme periyodunda katettikleri mesafe.....	47
4.2.3 Deney hayvanlarının öğrenme periyodundaki yüzme hızları	48
4.2.4 Deney hayvanlarının test periyodundaki platform bölgesinde geçirdikleri süre	49
4.3 Biyokimyasal Bulgular	50
4.3.1 Hipokampus dokusunda BDNF düzeyi.....	50
4.3.2 Hipokampus dokusunda CREB1 düzeyi.....	51
4.3.3 Hipokampus dokusunda SOD düzeyi	52
4.3.4 Hipokampus dokusunda CAT düzeyi	53
4.4 İmmunohistokimyasal Bulgular	54
5. TARTIŞMA	57
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	62
KAYNAKLAR	63
EKLER	76
ÖZGEÇMİŞ.....	78

KISALTMALAR

AMPA	: α -Amino-3-Hidroksi-5-Metilisoksazol-4-Propionik Asit
ATP	: Adenozin Trifosfat
BDNF	: Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör
CA	: Cornu Ammonis
Ca²⁺	: Kalsiyum
CaMKII	: Ca ²⁺ /Kalmodulin Bağımlı Protein Kinaz II
cAMP	: Siklik Adenozin Monofosfat
CAT	: Katalaz
cGMP	: Siklik Guanozin Monofosfat
CGRP	: Kalsitonin Genine Bağlı Peptid
CREB	: cAMP Yanıt Elemanı Bağlayıcı Protein
DRG	: Dorsal Kök Ganglionu
EPSP	: Eksitator Postsinaptik Potansiyel
FHM	: Familial Hemiplejik Migren
GABA	: Gamma Aminobütirik Asit
GFAP	: Glial Fibriller Asidik Protein
GluA	: α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazol propionik asit
GluD	: δ Reseptörü
GluK	: Kainat
GluN	: N-Metil-D-Aspartat
GPx	: Glutasyon Peroksidaz
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
IASP	: Uluslararası Ağrı Araştırmaları Derneği
IHS	: Uluslararası Baş Ağrısı Derneği
i.p.	: İntraperitoneal
i.v.	: İntravenöz
K⁺	: Potasyum
KCl	: Potasyum Klorür
KYD	: Kortikal Yayılan Depresyon

LTD	: Uzun Süreli Baskılanma
LTP	: Uzun Süreli Potansiyalizasyon
Mg⁺⁺	: Magnezyum
Mn-SOD	: Manganez Süperoksit Dismutaz
MWM	: Morris Su Labirenti
Na⁺	: Sodyum
NMDA	: N-metil-D-aspartat
NO	: Nitrik Oksit
NOS	: Nitrik Oksit Sentaz
NS	: Nosiseptif Spesifik
NTG	: Nitrogliserin
PACAP	: Pituitier Adenilat Siklaz Aktive Edici Peptid
PAG	: Periaquaduktal Madde
PFA	: Paraformaldehid
PKA	: Protein Kinaz A
PKC	: Protein Kinaz C
PSS	: Periferik Sinir Sistemi
s.c.	: Subkutan
SF	: Serum Fizyolojik
SOD	: Süperoksit Dismutaz
SSS	: Santral Sinir Sistemi
TNC	: Trigeminal Nukleus Caudalis
TQ	: Timokinon
VIP	: Vazoaktif İntestinal Polipeptid
VPM	: Ventral Posteromedial
WDR	: Wide Dynamic Range
5-HT_{1B/1D}	: Serotonin 1B ve 1D Reseptörleri

SEMBOLER

°C : Derece Santigrat



TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 2.1 : IASP-Ağrı taksonomisi.....	5
Tablo 2.2 : Ağrının eksen sınıflaması.	5
Tablo 2.3 : Başlama süresi, mekanizması ve kaynaklandığı bölgeye göre ağrı sınıflaması.	7
Tablo 2.4 : Sinirlerin fonksiyonlarına göre yapılan ağrı sınıflaması.....	7
Tablo 2.5 : Nörofizyolojik mekanizması, süresi, etiyolojisi ve bölgesine göre ağrı sınıflaması	7
Tablo 2.6 : Baş ağrısı sınıflaması.	13

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1	: Yaralanmanın serbest sinir uçlarındaki etkisinin gösterimi, Yağcı ve Saygın (2019)'dan uyarlanmıştır.....	11
Şekil 2.2	: Migren patofizyolojisi.....	17
Şekil 2.3	: LTD ve LTP oluşumunda rol oynayan başlıca iyonotropik glutamat reseptörleri, Lüscher ve Malenka (2012)'den uyarlanmıştır.....	26
Şekil 2.4	: Nigella sativa ve tohumları, Amin ve Hosseinzadeh (2016)'dan uyarlanmıştır... ..	30
Şekil 2.5	: Timokinonun kimyasal yapısı ve bazı biyolojik aktiviteleri, El-Far vd., (2018)'den uyarlanmıştır.....	31
Şekil 3.1	: Çalışmada kullanılan deney hayvanları....	32
Şekil 3.2	: Deney hayvanlarının standart koşullarda barındırıldığı birim.....	33
Şekil 3.3	: İntraperitoneal enjeksiyon uygulaması.....	35
Şekil 3.4	: Deney protokolü.....	35
Şekil 3.5	: Tail flick test cihazı.....	36
Şekil 3.6	: Tail flick test cihazında ağrı eşiği ölçümü.....	37
Şekil 3.7	: Morris su labirenti, sanal olarak oluşturulan kadranlar ve platformun konumu.....	38
Şekil 3.8	: Kriyostat cihazı.....	44
Şekil 3.9	: Kriyostat cihazında kesit alma işlemi.....	44
Şekil 3.10	: Lam üzerine alınan kesitler.....	45
Şekil 4.1	: Deney gruplarının (K; Kontrol, NTG; Nitrogliserin, TQ; Timokinon, NTG+TQ; Nitrogliserin+Timokinon) Morris su labirenti testinin öğrenme periyodundaki platformu bulma süreleri (*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001, istatistiksel anlamlılık). Tail flick test cihazında ağrı eşiği ölçümü.....	47
Şekil 4.2	: Deney gruplarının (K; Kontrol, NTG; Nitrogliserin, TQ; Timokinon, NTG+TQ; Nitrogliserin+Timokinon) Morris su labirenti testinin öğrenme periyodundaki katettikleri mesafe	48
Şekil 4.3	: Deney gruplarının (K; Kontrol, NTG; Nitrogliserin, TQ; Timokinon,	

	NTG+TQ; Nitrogliserin+Timokinon) Morris su labirenti testinin öğrenme periyodundaki yüzme hızları.....	49
Şekil 4.4	: Deney gruplarının (K; Kontrol, NTG; Nitrogliserin, TQ; Timokinon, NTG+TQ; Nitrogliserin+Timokinon) Morris su labirenti testinin test periyodunda platform bölgesinde geçirdikleri sürenin tankta toplam geçirdikleri süreye yüzdesi (*p<0.05, ***p<0.001, istatistiksel anlamlılık, Kontrol grubuna göre).....	50
Şekil 4.5	: Deney gruplarının (K; Kontrol, NTG; Nitrogliserin, TQ; Timokinon, NTG+TQ; Nitrogliserin+Timokinon) hipokampus BDNF düzeyleri (**p<0,01, istatistiksel anlamlılık).....	51
Şekil 4.6	: Deney gruplarının (K; Kontrol, NTG; Nitrogliserin, TQ; Timokinon, NTG+TQ; Nitrogliserin+Timokinon) hipokampus CREB1 düzeyleri (*p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001, istatistiksel anlamlılık).....	52
Şekil 4.7	: Deney gruplarının (K; Kontrol, NTG; Nitrogliserin, TQ; Timokinon, NTG+TQ; Nitrogliserin+Timokinon) hipokampus SOD düzeyleri (***p<0,001, istatistiksel anlamlılık).....	53
Şekil 4.8	: Deney gruplarının (K; Kontrol, NTG; Nitrogliserin, TQ; Timokinon, NTG+TQ; Nitrogliserin+Timokinon) hipokampus CAT düzeyleri (*p<0,05, ***p<0,001, istatistiksel anlamlılık).....	54
Şekil 4.9	: Hipokampal bölgeden alınan kesitlerde Kontrol, TQ, NTG ve NTG+TQ gruplarında GFAP pozitif astroglial hücreler.....	55
Şekil 4.10	: Deney gruplarının (K; Kontrol, NTG; Nitrogliserin, TQ; Timokinon, NTG+TQ; Nitrogliserin+Timokinon) hipokampal bölgesinden alınan kesitlerde GFAP pozitif hücre sayıları (*p<0,05, **p<0.01, ***p<0,001, istatistiksel anlamlılık).....	56

DENEYSEL MİGREN MODELİ OLUŞTURULAN SIÇANLARDA TİMOKİNON’UN ANALJEZİK ETKİSİ VE NÖROGLİAL AKTİVİTE VE ÖĞRENME-BELLEK İLE İLİŞKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

ÖZET

Migren, tekrarlayıcı ataklarla seyreden, tek taraflı ve zonklayıcı özellikteki baş ağrısı ile karakterize nörovasküler bir bozukluktur. Baş ağrısına, birçok semptomla birlikte dikkat eksikliği gibi kognitif bozukluklar da eşlik edebilmektedir. Timokinon, çörek otunun ana biyoaktif maddesidir ve yüzyıllardır bitkisel bir ilaç olarak kullanılmaktadır. Günümüzde yapılan çalışmalar ise timokinonun, antikanser, antimikrobiyal, antiinflamatuar, antihistaminik, antidiyabetik, gastroprotektif, hepatoprotektif, kardiyoprotektif ve nefroprotektif etkileri olan bir bileşik olduğunu ortaya koymuştur. Tüm bu etkileri yanında antinosiseptif, nöroprotektif ve antioksidan aktiviteleri olduğu da bildirilmektedir. Çalışmamızda, migren modeli oluşturulan sıçanlarda timokinonun ağrı, öğrenme-bellek ve nöroglial aktivasyon üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlandı.

Çalışmada, 3 aylık, ağırlıkları 250-350 gram arasında değişen 27 adet yetişkin erkek *Wistar albino* türü sıçan kullanıldı. Migren modeli nitrogliserin (NTG) kullanılarak oluşturuldu. NTG, %0.9 izotonik serum fizyolojik (SF) ile dilüe edilerek her bir hayvan için 10 mg/kg/1 ml olacak şekilde hazırlandı. Kontrol (K) grubu (n=6), nitrogliserin (NTG) grubu (n=7), timokinon (TQ) grubu (n=7) ve nitrogliserin ile timokinon (NTG+TQ) uygulanan grup (n=7) olmak üzere 4 grup oluşturuldu. K grubu ve NTG grubuna 15 gün boyunca 1 ml mısır yağı gastrik gavaj ile uygulandı. TQ ve NTG+TQ gruplarına ise 15 gün boyunca, mısır yağında çözödürölen TQ 10 mg/kg/1 ml olacak şekilde gastrik gavaj ile uygulandı. NTG ve NTG+TQ gruplarına 1, 5, 10 ve 15. günlerde 10 mg/kg NTG intraperitoneal (i.p.) olarak uygulandı. K ve TQ gruplarına ise aynı günlerde 0.3 ml SF i.p. olarak uygulandı. Hayvanların ağrı eşliğini belirlemek için, gastrik gavajdan hemen önce ve i.p. enjeksiyon uygulamasından 2 saat sonra tail flick test gerçekleştirildi. Deneyin 16. gününde, öğrenme-bellek fonksiyonlarını değerlendirmek için Morris su labirenti testi uygulandı. Deneyin 22. gününde hayvanlar 10 mg/kg ksilazin i.p. ve 100 mg/kg ketamin i.p. ile oluşturulan genel anestezi altında dekapite edildi ve beyinleri çıkarıldı. Beyinlerin bir yarıküresinin hipokampal bölgesi öğrenme-bellek ve oksidatif stres belirteçlerinin değerlendirilmesi amacıyla biyokimyasal analizlerde kullanıldı. Beyinlerin diğer yarıküresinin hipokampal bölgesi ise nöroglial aktivasyonun değerlendirilmesi amacıyla immunohistokimyasal çalışmalarda kullanıldı. Veriler tek yönlü varyans analizi uygulanarak Benforroni’nin çoklu karşılaştırma testi ile değerlendirildi ve değerler $\pm$ standart sapma olarak verildi. $P<0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Timokinon, Morris su labirenti testinde hayvanların platformu bulma sürelerini, TQ (***) $p<0.001$) ve NTG+TQ (* $p<0.05$) gruplarında anlamlı olarak azalttı. NTG grubunun platformu bulma süresinde ise anlamlı bir artış (** $p<0.01$) olduğu

belirlendi. Hipokampus dokusunda BDNF düzeyleri K grubu ile kıyaslandığında, NTG grubunda azaldığı belirlendi. BDNF seviyeleri NTG grubuna göre kıyaslandığında ise TQ ve NTG+TQ gruplarının ikisinde de arttığı, ancak bu artışın sadece TQ grubunda anlamlı (** $p<0.01$) olduğu belirlendi. CREB1 seviyelerinin K grubuna göre NTG ve NTG+TQ gruplarında azaldığı, ancak bu azalmanın sadece NTG grubunda istatistiksel olarak anlamlı (* $p<0.05$) olduğu tespit edildi. Gruplar NTG grubuna göre kıyaslandığında ise, hem TQ (** $p<0.001$) hem de NTG+TQ (** $p<0.01$) gruplarında anlamlı bir artış olduğu görüldü. Hipokampus dokusunda SOD düzeyleri değerlendirildiğinde, TQ grubunda diğer tüm gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış (** $p<0.001$) olduğu belirlendi. CAT düzeylerinin de benzer şekilde, TQ grubunda diğer tüm gruplara göre anlamlı olarak arttığı (* $p<0.05$, *** $p<0.001$) görüldü. İmmunohistokimyasal boyamalar değerlendirildiğinde ise, GFAP pozitif hücre sayısının K grubuna kıyasla NTG, TQ ve NTG+TQ gruplarının üçünde de istatistiksel olarak anlamlı biçimde arttığı görüldü (sırayla *** $p<0.001$, ** $p<0.01$, * $p<0.05$). Tail flick testinde ise grup içinde ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi.

Çalışmamızın sonuçları değerlendirildiğinde, deneysel migren modelinde timokinon uygulamasının; migren ağrısı üzerinde analjezik etkisinin olmadığı, mekânsal öğrenme ve bellek mekanizmasına BDNF ve CREB1 seviyelerini artırarak katkı sağladığı, migrenle ilişkili oksidatif stres üzerine SOD ve CAT seviyelerini artırarak olumlu etki gösterdiği, migren ve oksidatif stres ile ilişkili öğrenme-bellek defisitine astrosit aktivasyonu ile olumlu etki edebileceği, migrenle ilişkili astroglial aktivasyon üzerinde protektif etki gösterebileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Migren, Hipokampus, Timokinon, Ağrı, Öğrenme, Bellek, Oksidatif Stres, Nöroglial Aktivite, Astrosit

ANALGESIC EFFECT OF THYMOQUINONE IN RATS WITH EXPERIMENTAL MIGRAINE MODEL AND ITS RELATIONSHIP WITH NEUROGLIAL ACTIVITY AND LEARNING-MEMORY

SUMMARY

Migraine is a neurovascular disorder characterized by unilateral and throbbing headache with recurrent attacks. Headache can be accompanied by cognitive impairments such as attention deficit along with many symptoms. Thymoquinone is the main bioactive ingredient of black cumin and has been used as an herbal remedy for centuries. Recent studies have shown that thymoquinone is a compound with anticancer, antimicrobial, anti-inflammatory, antihistamine, antidiabetic, gastroprotective, hepatoprotective, cardioprotective, and nephroprotective effects. In addition to all these effects, it is also reported to have antinociceptive, neuroprotective and antioxidant activities. In our study, we aimed to investigate the effects of thymoquinone on pain, learning-memory and neuroglial activation in rat model of migraine.

In the study, 27 adults male *Wistar albino* type rats aged 3 months, weighing between 250-350 gram, were used. The migraine model was induced using nitroglycerin (NTG). NTG was prepared by diluting with isotonic saline to be 10 mg/kg/1 ml for each animal. There were 4 groups as; control (K) group (n=6), nitroglycerin (NTG) group (n=7), thymoquinone (TQ) group (n=7) and nitroglycerin and thymoquinone (NTG+TQ) applied group (n=7). The K group and the NTG group were administered 1 ml of corn oil with gastric gavage for 15 days. TQ and NTG+TQ groups were treated with gastric gavage of 10 mg/kg/1 ml of TQ dissolved in corn oil for 15 days. NTG and NTG+TQ groups were administered 10 mg/kg NTG intraperitoneal (i.p.) on days 1, 5, 10 and 15th. K and TQ groups were administered with 0.3 ml saline i.p. on the same days. To determine the pain threshold of the animals, tail flick test was performed just before gastric gavage and 2 hours after i.p. injection administration. On the 16th day of the experiment, the Morris water maze test was administered to assess learning-memory functions. On the 22nd day of the experiment, the animals were decapitated under general anesthesia with 10 mg/kg xylazine i.p. and 100 mg/kg ketamine i.p. and their brains were removed. The hippocampal region of a hemisphere of the brain was used in biochemical analyses to evaluate markers of learning-memory and oxidative stress. The hippocampal region of the other hemisphere of the brain was used in immunohistochemical studies to evaluate neuroglial activation. The data were evaluated by Benforroni's multiple comparison test by applying one-way analysis of variance and the values were given as standard deviation $\pm$. $P < 0.05$ value was considered statistically significant.

In the Morris water maze test, thymoquinone significantly reduced the animals' latency to find the hidden platform in the TQ ($***p < 0.001$) and NTG+TQ ($*p < 0.05$) groups. There was a significant increase ($**p < 0.01$) in the latency of the NTG group to find the platform. When BDNF levels in hippocampus tissue were compared to the

K group, it was determined that it was lower in the NTG group. When BDNF levels were compared according to the NTG group, it was found that both TQ and NTG+TQ groups increased, but this increment was only significant in the TQ group (** $p<0.01$). CREB1 levels were found decreased in the NTG and NTG+TQ groups compared to the K group. But it was statistically significant (* $p<0.05$) only in the NTG group. When the groups were compared to the NTG group, there was a significant increase in both the TQ (*** $p<0.001$) and NTG+TQ (** $p<0.01$) groups. SOD levels were evaluated in hippocampus tissue, and it was determined that there was a statistically significant increase (*** $p<0.001$) in the TQ group compared to all other groups. CAT levels similarly increased significantly in the TQ group compared to all other groups (* $p<0.05$, *** $p<0.001$). When immunohistochemical staining was evaluated, it was seen that the number of GFAP positive cells increased statistically significantly in all three of the NTG, TQ and NTG+TQ groups compared to the K group (*** $p<0.001$, ** $p<0.01$, * $p<0.05$, respectively). In the tail flick test, it was found that there was no statistically significant difference within the group and between the groups.

When the results of our study were evaluated, it was seen that the application of thymoquinone in the experimental migraine model; It has been concluded that it does not have an analgesic effect on migraine pain, contributes to the spatial learning and memory mechanism by increasing BDNF and CREB1 levels, has a positive effect on migraine-related oxidative stress by increasing SOD and CAT levels, may have a positive effect on migraine and oxidative stress associated with learning-memory deficit with astrocyte activation, and may have a protective effect on migraine-related astroglial activation.

Keywords: Migraine, Hippocampus, Thymoquinone, Pain, Learning, Memory, Oxidative Stress, Neuroglial Activity, Astrocyte

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Baş ağrısı toplumda sık görülen sağlık sorunlarından biri olup, hayat boyu en az bir kez baş ağrısı yaşayan kişi oranı kadınlarda %99, erkeklerde %93, genel popülasyonda ise %90'ın üzerindedir [1]. Baş ağrıları, birincil baş ağrıları ve ikincil baş ağrıları olmak üzere iki ana başlık altında incelenmektedir [2]. Migren ise birincil baş ağrıları sınıflamasında yer almakta olup, genel popülasyonun %10'undan fazlasını etkilediği bildirilmektedir [3]. Migren, tekrarlayıcı ataklarla seyreden, tek taraflı ve zonklayıcı özellikteki baş ağrısı ile karakterize nörovasküler bir bozukluktur [4]. Migren baş ağrısına otonomik, affektif, duyuşal birçok semptomla birlikte dikkat eksikliği, kelimeleri bulmakta zorlanma, geçici amnezi gibi kognitif semptomlar da eşlik etmektedir [5-7] Genizi vd., (2013) migren ve gerilim tipi baş ağrısı yaşayan, 6-18 yaş aralığındaki çocuk ve adolesanlarla yaptıkları bir araştırmada, baş ağrısı nedeniyle pediatrik nöroloji kliniğine başvuran çocukların %24.7'sinin öğrenme problemleri yaşadığı gösterilmiştir [8]. D'Andrea (1989) ve Waldie (2002) ise, migreni olan çocuklarda hafızanın bozulduğunu rapor etmiştir [9,10].

Nöroglialar, genellikle nöronlardan daha küçük, onların 5-10 katı daha fazla sayıda olan ve uyarılamayan hücrelerdir [11]. Nöroglia hücreleri, santral sinir sisteminin (SSS) nöroglial hücreleri ve periferik sinir sisteminin (PSS) nöroglial hücreleri olarak iki sınıfa ayrılmaktadır [12]. Astrositler, SSS'deki en büyük nöroglial hücrelerdir ve nöronlara destek olmanın yanında birçok önemli işlevleri vardır [13]. Astrositler, yaralanmayı takiben veya hastalık koşulları altında aktive olabilirler ve nörolojik bozuklukların patogenezeine katılabilirler [14]. Chen vd., (2018) yaptıkları deneysel nöropatik ağrı modelinde, astrosit aktivasyonunu ve glial fibriller asidik protein (GFAP) ekspresyonundaki artışı göstermişlerdir [15].

Timokinon (TQ), çörek otunun ana biyoaktif maddesidir. Çörek otu Ortadoğu, Hindistan ve Kuzey Afrika'da yüksek ateş, öksürük ve baş ağrısı gibi çeşitli rahatsızlıklar için geleneksel yöntemlerle on yıllardır kullanılmaktadır. Günümüzde yapılan çalışmalar ise çörek otu ve onun ana etken maddesi olan TQ'nun, birçok

etkisinin yanında antinosiseptif ve nöroprotektif etkilere sahip olduğunu da bildirmektedir [16,17]. Parvardeh vd., (2018) yaptıkları deneysel bir çalışmada, TQ'nun doza bağlı olarak antinosiseptif etkini göstermişlerdir [18]. Meral vd., (2016) yaptıkları bir çalışmada ise, epilepsi gibi nörolojik bozuklukların patolojisinde TQ'nun nöroprotektif etkili bir bileşik olduğunu ortaya koymuşlardır [19]. Yapılan çalışmalar, kronik toluene maruz kalan ratlarda TQ ve Nigella sativa verilmesinin hipokampusdaki nörodejenerasyonlarda morfolojik düzelme sağladığını ve tedavi için kullanımlarının faydalı olabileceğini bildirmektedir [20].

Bu bilgilerden yola çıkarak bu tez çalışmasında, deneysel migren modeli oluşturulmuş sıçanlarda, TQ'nun analjezik etkisi, nöroglial hücre aktivasyonu ve öğrenme-bellek üzerindeki etkisini değerlendirmek amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Ağrı

Ağrı, kişiyi var olan veya olası bir doku hasarına karşı uyaran, kompleks fizyolojik süreçlerden oluşan ve aynı zamanda psikososyal boyutları da bulunan çoğu kez koruyucu özellik gösteren bir mekanizmadır. Uluslararası Ağrı Araştırmaları Derneği [International Association for the Study of Pain (IASP)] ağrıyı “Gerçek veya potansiyel bir doku hasarına eşlik eden veya bu hasar ile tanımlanabilen, sensoryal, emosyonel ve hoş olmayan bir duygu deneyimi” olarak tanımlanmaktadır. Ağrı, her zaman kişisel bir deneyimdir ve biyolojik, psikolojik ve sosyal faktörlerden farklı derecelerde etkilenmektedir [21].

Vücutta önemli bir alarm işlevi gören ve ağrı tanımlaması yapılırken açıklanması gereken diğer bir kavram ise “nositipsiyon”dur. Nositipsiyon, termal, mekanik ya da kimyasal nedenlerle meydana gelen doku hasarının nosiseptörler (doku harabiyetine neden olan herhangi bir stimulusa yanıt veren spesifik reseptörler) tarafından alınmasını, alınan bilginin nörofizyolojik mekanizmalarla SSS’ye götürülerek ağrı olarak algılanmasını ve algılanan tehdite karşı koruyucu tepkilerin harekete geçirilmesini sağlayan sürece verilen isimdir. Böylece ağrı, dokunun hasar gördüğü her durumda ortaya çıkmakta ve doku hasarıyla oluşan tüm ağrılar nositipsiyon mekanizmasıyla gerçekleşmektedir. Ancak ağrı doku hasarı olmadan yani nonnositipsif nedenlerle de gelişebilmektedir. Diğer bir ifadeyle; tüm nositipsiyon kaynaklı uyarılar ağrı oluşturmakta, fakat tüm ağrılar nositipsiyon nedeniyle oluşmamaktadır [22,23]. Bu nedenle nositipsiyon ağrının en kısıtlı tanımını yapmakta kullanılmaktadır [24]. Koruyucu özellik gösteren ve nositipsiyon ile gerçekleşen bu ağrı dışında gelişen ağrılar ise patolojiktir. Koruyucu özelliğini kaybeden bu ağrılarda periferik ve santral sensitizasyon meydana gelir ve ağrı haraplanmamış bölgelere de yayılır [25].

2.1.1 Ağrı epidemiyolojisi

Ağrı, günümüzde önemli ve küresel bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir. Küresel Hastalık Yüğü Çalışması 2016, ağrının yüksek önemini ve ağrıya bağlı hastalıkların küresel engellilik ve hastalık yükünün önde gelen nedenlerinden biri olduğunu bir kez daha onaylamıştır. Aynı çalışmada dünya çapında en yaygın kronik semptomatik durumun, tekrarlayan gerilim tipi baş ağrısı olduğu ve 1.9 milyar kişiyi etkilediği bulunmuştur [26].

Kronik ağrı, sağlık sistemi içinde önemini korumaya devam etmekte ve hastane yatışlarının iki kat, acil servis kullanımının ise beş kat artışıyla ilişkilendirilmektedir [27,28]. Farklı ülkelerde yapılmış 13 araştırmanın değerlendirildiği bir çalışmada, kronik ağrının prevalansı %10.1 ile %55.2 aralığında bulunmuştur [29]. Araştırmalar, ABD'deki yetişkinlerin %40'ından fazlasının kronik ağrı yaşadığını göstermektedir [30]. Yetişkin Avrupa nüfusunun yaklaşık % 20'sinin de kronik ağrı problemi yaşadığı bildirilmektedir [31]. Türkiye'deki erişkinlerin ağrı prevalansı ise, 2001 yılında yayınlanan bir prevalans çalışmasında %63.7 olarak bulunmuştur. Aynı çalışmada, mevcut ağrıların %76.6'sını kronik ağrıların oluşturduğu gösterilmiş olup, çalışmaya katılanların ilk tanımladıkları ağrı yerleri ise %34.4 oranla baş bölgesi olarak bildirilmiştir [32]. 2011 yılında yapılan diğer bir çalışmada ise, araştırmaya katılanların %78.6'sının son bir yıl içerisinde ağrı yaşadığı, %38.8'inin ise kronik ağrı yakınmasının olduğu gösterilmiştir [33].

Baş ağrıları ise, dünya çapında yaygın olarak görülen ve kişilerin yaşam kalitelerini ciddi ölçüde düşüren önemli bir sağlık problemi olmaya devam etmektedir [34,35]. Baş ağrılarının önemli bir bölümünü oluşturan migren ise [36], dünya çapında en yaygın görülen üçüncü hastalık olup, engelliliğe sebep olan en yüksek altıncı spesifik etkendir [37]. ABD'de baş ağrısı prevalansının %13 olduğu tahmin edilmektedir [38]. Avrupa ülkelerinde yapılmış araştırmaların değerlendirildiği bir çalışmada ise, baş ağrısı bozukluklarının Avrupalıların yaklaşık %50'sini etkilediği gösterilmiştir [39]. Migrenin ise, genel popülasyonun %15'inden fazlasını etkilediği düşünülmektedir [40]. Ülkemizde yapılan baş ağrısı epidemiyolojisi çalışmasında ise, migren prevalansı 15-55 yaş aralığında %16.4 olarak bulunmuştur [36].

Ağrı, fiziksel ve duygusal yüküne ek olarak topluma büyük bir maliyete de sebep olmaktadır. Avrupa'da kronik ağrının bir yıldaki maliyetinin 200 milyar avrodan

fazla olduğu [41], ABD’de ise, kronik ağrı nedeniyle oluşan yıllık ekonomik yükün 635 milyar dolara vardığı ve kronik ağrısı olan yetişkin sayısının da 100 milyon olduğu tahmin edilmektedir [42]. Migren nedeniyle oluşan yıllık maliyet ise İngiltere’de 2.25 milyar pound iken, ABD’de bu ekonomik yükün 23 milyar dolar olduğu belirlenmiştir [1]. Ülkemizde migrene bağlı iş gücü kaybı nedeniyle oluşan ve 2002 yılı rakamlarına göre hesaplanmış yıllık tahmini ekonomik yük ise yaklaşık 270 trilyon TL’dir. Ağrı nedeniyle oluşan ekonomik yük, tetkik, tedavi, bakım gibi primer sağlık harcamalarının yanında, ağrıya bağlı verim düşüklüğü ve işe gidememe gibi nedenlerle oluşan sekonder giderler olarak karşımıza çıkmakta ve ülkeler için önemini korumaya devam etmektedir [36].

2.1.2 Ağrının sınıflandırılması

Ağrı taksonomisi için çeşitli sınıflama sistemleri geliştirilmiştir. Geliştirilen ilk multiaksiyal sistem ise IASP’nin taksonomi alt komitesi tarafından oluşturulmuştur. Kronik ağrılı gövde bölümlerini, etkilenen sistemleri, ağrının özelliklerini ve tipini, süresini, şiddetini ve etiyolojisini de kapsayan bu beş eksenli sistem Tablo 2.1’de yer almaktadır [24].

Tablo 2.1 : IASP-Ağrı taksonomisi.

Ağrı Taksonomisi
I. Eksen: Bölge
II. Eksen: Sistem
III. Eksen: Ağrının geçici özellikleri ve oluşum şekli
IV. Eksen: Hastanın şiddet değerlendirmesi ve ağrı başlangıcından beri geçen zaman
V. Eksen: Etiyoloji

Tablo 2.2 : Ağrının eksen sınıflaması [43].

Ağrının Eksen Sınıflaması
I. Eksen: Bölgeler
• Baş, yüz ve ağız
• Servikal bölge
• Omuz ve üst ekstremiteler
• Toraks bölgesi
• Abdominal bölge
• Sırt, bel bölgesi, sakrum ve koksiks
• Alt ekstremiteler
• Pelvik bölge
• Anal, perianal ve genital bölge
• Üç büyük bölgeden fazlası

Tablo 2.2 (devam) : Ağrının eksen sınıflaması.

Ağrının Eksen Sınıflaması
II. Eksen: Sistemler • Sinir sistemi (merkezi, periferik ve otonom) ve özel duylar, fiziksel rahatlık veya disfonksiyon • Sinir sistemi (psikolojik ve sosyal) • Solunum sistemi ve kardiyovasküler sistem • Kas-iskelet sistemi ve bağ dokusu • Kutan, subkutan dokular ve ilgili bezler (meme, apokrin bezler gibi) • Gastrointestinal sistem • Genitoüriner sistem • Diğer organlar veya visserler (tiroid, lenfatik, hemopoetik) • Bir sistemden fazlası
III. Eksen: Ağrının Geçici Özellikleri Kayıtlı değil veya bilinmiyor • Tek atak, sınırlı süre (Ör. Anevrizma yırtılması, bilek burkulması) • Sürekli veya neredeyse sürekli (Ör. Sırt ağrısı) • Değişik şiddette ama sürekli (Ör. İntervertebral disk herniasyonu) • Tekrarlayıcı, düzensiz (Ör. Baş ağrısı, mikst tip) • Tekrarlayıcı, düzenli (Ör. Dismenore) • Paroksizmal (Ör. Trig. nevralsi) • Paroksizmal ancak inatçı • Diğer kombinasyonlar • Yukardakilerden hiçbirisi
IV. Eksen: Ağrı Şiddetinin Derecesi ve Ağrı Başlangıcından Beri Geçen Zaman Kayıtlı değil veya bilinmiyor Hafif: • 1 ay veya daha kısa • 1 ay-6 ay arası • 6 aydan uzun Orta: • 1 ay veya daha kısa • 1 ay-6 ay arası • 6 aydan uzun Şiddetli: • 1 ay veya daha kısa • 1 ay-6 ay arası • 6 aydan uzun
V. Eksen: Etiyoloji • Genetik veya konjenital hastalık (Ör. Konjenital dislokasyon) • Travma, operasyon, yanık • İnfeksiyon, parazit • İnflamatuvar (bilinen infeksiyon yok) immün reaksiyon • Neoplazmlar • Toksik, metabolik (Ör. Alkolizm nöropatisi, anoksi vasküler, nutrisyonel, endokrin), radyasyon • Dejenaratif, mekanik • Disfonksiyonel (psikofizyolojik nedenler dahil) • Bilinmeyen veya diğer • Psikolojik orijin (Herhangi bir fiziksel neden veya patofizyolojik mekanizma olmamalıdır.)(Ör. Konversiyon, histeri, depresif halüsinasyon)

Ağrı sınıflamasında kullanılan diğer bir sistemde ise ağrı, başlama süresi, mekanizması ve kaynaklandığı bölgeye göre incelenmekte olup Tablo 2.3’de gösterilmiştir [44,45].

Tablo 2.3 : Başlama süresi, mekanizması ve kaynaklandığı bölgeye göre ağrı sınıflaması.

Başlama Süresi	Mekanizması	Kaynaklandığı Bölge
Akut ağrı	Nosiseptif ağrı	Psikojenik ağrı
Kronik ağrı	Nöropatik ağrı	Somatik ağrı
	Deafferantasyon ağrısı	Nöropatik ağrı
	Reaktif ağrı	Nosiseptif ağrı
	Psikosomatik ağrı	Visseral ağrı
		Yüzeyel ağrı
		Derin ağrı

Ağrının sinirlerin fonksiyonellikleri dikkate alınarak yapılan sınıflandırması ise, bir patoloji sonrası fonksiyonları değişen sinirlerle normal fonksiyon gösteren sinirler arasındaki farka dayanmaktadır. Bu sınıflama da Tablo 2.4’de gösterilmiştir [46,47].

Tablo 2.4 : Sinirlerin fonksiyonlarına göre yapılan ağrı sınıflaması.

Ağrı Sınıflaması
Derin ağrı
Yüzeyel ağrı
Yansıyan ağrı
Tetik noktaları (Trigger alanlar, miyaljezik noktalar)

Ağrı sınıflamasında en sık kullanılan sistem ise, ağrıyı nörofizyolojik mekanizması, süresi, etiyolojisi ve bölgesine göre dört başlık altında incelemekte olup Tablo 2.5’de gösterilmiştir [24].

Tablo 2.5 : Nörofizyolojik mekanizması, süresi, etiyolojisi ve bölgesine göre ağrı sınıflaması.

Nörofizyolojik Mekanizma	Süreye Bağlı	Etiyolojik	Bölgesel
a) Nosiseptif	a) Akut	a) Kanser ağrısı	a) Baş ağrısı
b) Somatik	b) Kronik	b) Postherpetik nevralkji	b) Yüz ağrısı
c) Visseral		c) Orak hücre anemisine bağlı ağrı	c) Bel ağrısı
d) Nöropatik (Nonnosiseptif)		d) Artrit ağrısı	d) Pelvik ağrı
• Nöropatik			
• Merkezi			
• Periferik			
e) Psikojenik			

2.1.2.1 Akut ağrı

Omuriliğe ileti hızları 6-30 m/sn olan miyelinli A-δ sinir lifleriyle hızlı olarak iletilirler ve ağrı sinyalleri termal ve mekanik uyarılarla başlatılır [23, 48]. A-δ lifleriyle iletilen akut ağrı, hızlı ve keskin nitelikte olup her zaman nosiseptif özellik gösterir ve bireyin hasar yaratan etkeni hızla farketmesini sağlar [23,49]. Keskin, delici, elektrik ağrı gibi değişik adlarla da anılan akut ağrı, noxious stimulus

alındıktan 0.1 saniye sonra hissedilen ağrıdır [23]. Akut ağrıya sebep olan etkenlerden bazıları ise travma, enfeksiyon ve doku hipoksisidir [49].

2.1.2.2 Kronik ağrı

A-δ liflerinden daha küçük olan miyelinsiz C tipi liflerle 0.5-2 m/sn hızla yavaş olarak iletilirler [23,50]. A-δ lifleri gibi C lifleri de termal ve mekanik uyarılara cevap verirler ancak, onlardan farklı olarak ağrı çoğu kez kimyasal uyarılarla başlatılır [23,48]. Yavaş ağrı, yakıcı ağrı gibi adlarla da anılan kronik ağrı, noksius stimulus alındıktan 1 saniye ya da daha uzun bir süre sonra başlar ve saniyeler içinde yavaş yavaş artar [23]. Kronik ağrı genellikle periferik doku hasarının ve enflamasyonun ya da santral ve periferik sinir sistemindeki patolojik adaptasyonların (nöropatik ağrı) sonucu olarak ortaya çıkmaktadır [51].

2.1.2.3 Nosisseptif ağrı

Nosisseptif ağrı, SSS dışında tüm doku ve organlarda bulunan nosisseptörler tarafından alınan uyarıların, ağrı ileten lifler ile önce omuriliğe, oradan talamusa son olarak da serebral kortekse iletilerek burada ağrı olarak algılanmasıyla oluşmaktadır. Nosisseptif sınıflama, somatik ve visseral ağrı olarak iki alt gruba ayrılmakta ve ikisi arasındaki en temel farklılığı somatik ağrının somatik afferent liflerle, visseral ağrının ise sempatik afferent liflerle taşınması oluşturmaktadır. Somatik ağrı iç organlar dışında deri, kas ve eklemleri de içeren bütün vücut bölgelerinde oluşan ağrıdır ve daha yoğun ve acı vericidir. Visseral ağrı ise yaygın ve zor lokalize edilen bir ağrı olarak tanımlanmaktadır ve organlardan kaynaklanır [24,52].

2.1.2.4 Nöropatik (nonnosisseptif) ağrı

Nöropatik ağrı, nörolojik bir yapı veya işlevin değişmesi ile ortaya çıkmakta ve nosisseptif ağrıdan farklı olarak, devamlı nosisseptif bir uyarının olmamasına rağmen ağrı tanımlanmaya devam etmektedir [24]. Multipl sklerozis, inme ve spinal kord yaralanmaları santral nöropatik ağrının en yaygın nedenleri arasında bulunmaktadır [53]. Periferik nöropatik ağrı ise mekanik travma, metabolik hastalıklar, tümör, nörotoksik kimyasallar ve enfeksiyon gibi nedenlerle meydana gelen lezyonlar sebebiyle oluşmaktadır [54,55].

2.1.3 Ağrılı uyarının iletimi

Nosiseptörlerin uyarılmasıyla başlayan, noksius stimulusun üst merkezlere iletilme süreci 4 aşamada tamamlanır [25,49].

Transdüksiyon: Nosiseptörler tarafından alınan ağrı bilgisinin elektriksel sinyallere dönüştürülmesi.

Transmisyon: Noksius stimulusun, sensoryal sinir sistemi boyunca periferden yüksek merkezlere doğru iletilmesi.

Modülasyon: Ağrılı uyarının spinal kord düzeyinde endojen baskılama mekanizmaları ile değiştirilmesi.

Persepsiyon: Nosiseptif bilginin yüksek merkezlere iletilip burada ağrı olarak algılanması.

2.1.4 Ağrı anatomofizyolojisi

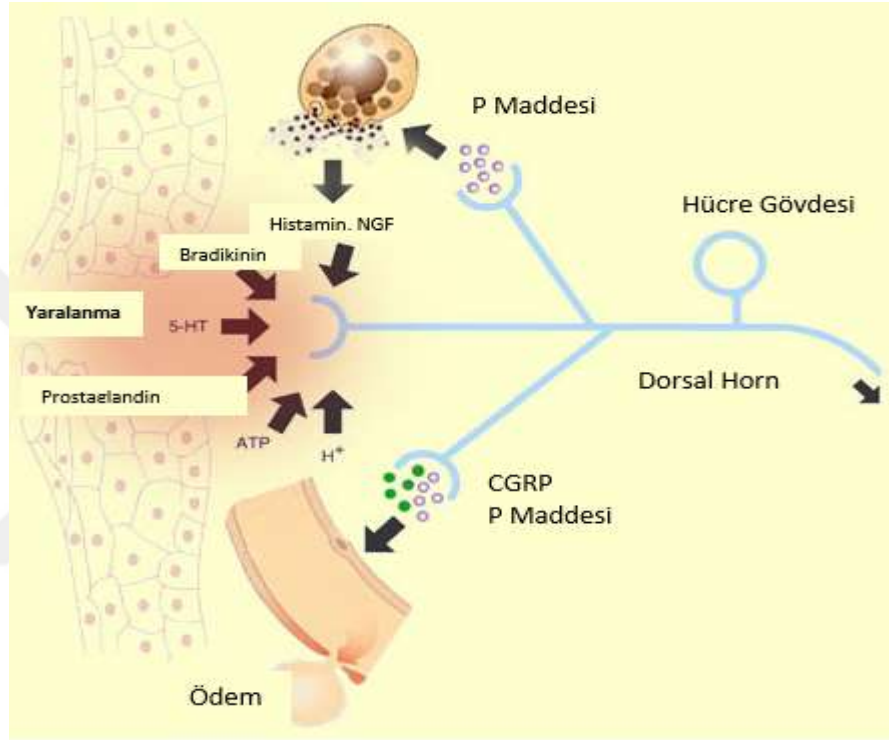
Nosisepsiyon, termal, mekanik ve kimyasal uyarıların nosiseptörler tarafından alınmasıyla başlayan fizyolojik sürece verilen isimdir. Nosiseptörler, periferik terminalleri noksius stimulusa duyarlı primer afferent liflerin deri, subkutan doku, periost, eklem kapsülü, çizgili ve düz kas, adventisya, plevra, periton, kafatasının falksı ve tentoryumunda lokalize, küçük kan damarları ve mast hücreleri kenarlarını çevrelemiş çıplak ve serbest sinir sonlanmalarıdır ve hücre gövdeleri, dorsal kök ganglionlarında (DRG) ve trigeminal ganglionda bulunur [23,49,52,56]. İki temel nosiseptör tipi vardır ve bunlar hızlı ağrının iletildiği miyelinli Aδ lifleri ile yavaş ağrının iletildiği miyelinsiz C liflerinin distal uçlarıdır [49,56]. Aδ liflerinin uçları da iki ana sınıfa ayrılır ve termal ile mekanik uyarıları alır. C lifleri de termal ve mekanik stimulusa yanıt vermekle birlikte kimyasal stimuluslara karşı olan duyarlılıkları daha fazladır [56,57].

Nosiseptör tarafından alınan uyarı, reseptörde ilk olarak jeneratör potansiyelini oluşturur ve oluşan bu jeneratör potansiyelinin eşik değere ulaşmasıyla ilk aksiyon potansiyeli meydana gelerek primer afferent sinir hücresi ile spinal kord dorsal boynuzuna iletilir [58]. Noksius stimulusun periferden üst merkezlere iletimi esas olarak 3 ana sensoryal nöron grubu ile gerçekleşir ki primer afferent sinir hücreleri bu yolun ilk nöronudur [52]. Pseudo-unipolar tipte olan primer afferent liflerin santral terminalleri spinal kordun dorsal boynuzundaki laminalarda sonlanır [56,59].

A δ ve C liflerinin sinaptik hedefi, lamina marginalis olarak isimlendirilen laminada I ve substansiya jelatinoza olarak isimlendirilen lamina II ve III'de bulunan nosiseptif spesifik (NS) hücreler ile lamina V'de bulunan Wide Dynamic Range (WDR) nöronlarıdır. Spinal kord dorsal boynuzundaki bu NS ve WDR nöronları ise spinal nöronlar (projeksiyon nöronları) adını alır ve ikinci sıra nöron grubunu oluşturarak, primer afferent liflerden aldıkları ağrı bilgisini üst merkezlere iletirler [58]. Spinal projeksiyon nöronları beyne spinotalamik, spinoretiküler ve spinomezensefalik yollarla projekte olurlar ve nosiseptif impulsu esas olarak bu üç çıkan sistem ile üst merkezlere iletirler [52,59]. Spinotalamik yol nöronları iki ana demet oluşturur ve lateralde ilerleyen neospinotalamik yol ile medialde ilerleyen paleospinotalamik yol olarak talamusa kadar yükselir. Talamusun lateral ve medial çekirdeklerinde sonlanan nöronlar talamusta, ağırlı stimulusun birbirine sinapslarla iletildiği üç aşamalı yolun 3. sıra nöronları olan ve ağrı bilgisini somatosensoryal kortekse taşıyan talamo-kortikal projeksiyon nöron grubu ile sinaps yaparlar [52]. Spinotalamik yolun lateral kısmı, talamusun lateral çekirdeği ve somatosensoryal korteks ağrının yer, şiddet ve nitelik gibi diskriminatif özellikleri ile birlikte algılanmasını sağlar, spinotalamik yolun medial kısmı, talamusun medial çekirdeği ve limbik sistemle ilgili beyin bölgeleri ise ağrının affektif özelliklerinin oluşumunda pay sahibidir [49,58]. Spinoretiküler yol korteks, limbik sistem ve diensefalonu genel bir uyanıklık içinde tutmak ve zararlı uyarana karşı genel bir alarm hali yaratmakla [49], spinomezensefalik yol ise aşırı sıcak ve soğuk ile mekanik stimulusların sebep olduğu nosiseptif bilgiyi taşımakla görevlidir [52]. Spinomezensefalik yol ayrıca, periakvaduktal gri cevherle bağlantı yaparak, inen inhibe edici sistemin aktivasyonunda rol oynaması açısından da önemlidir [60].

Doku hasarı aynı zamanda, nosiseptörlerin duyarlılığını etkileyen çeşitli kimyasal maddelerin salgılanmasına da sebep olmaktadır. Bradikinin, histamin, serotonin, potasyum, araşidonik asit zincirinin elemanları, lökotrienler ve prostoglandinler olan bu kimyasallar ile, serbest sinir uçlarından salınan kalsitonin genine bağlı peptid (CGRP), nörokinin A ve P maddesi gibi nöropeptidler ağrının ortaya çıkmasını kolaylaştırıcı etki oluşturmaktadır [59,61]. Nosiseptörlerin uyarılmasıyla ortama salınan bu nöropeptidler vazodilatasyon ve plazma ekstrasvazasyonuna sebep olarak ödem oluştururken, doku hasarı ile açığa çıkan bradikinin ve serotonin ise prostoglandin ile lökotrienlerin serbest hale gelmesine sebep olur. Ayrıca, kan

hücrelerinden ve P maddesinin etkisi ile mast hücrelerinden salınan histaminin de etkisiyle sensitize edilen nosiseptörler, noksius stimulusa karşı daha duyarlı hale gelirler [49]. En yalın haliyle, bradikinin, serotonin, histamin, potasyum iyonları ve asetilkolin gibi kimyasal maddeler afferentleri direkt olarak uyarıp ağrıya sebep olurken, P maddesi ve prostaglandinler ise reseptör duyarlılığını artırarak ağrı iletimini kolaylaştırıcı etki gösterirler [23,61]. Doku hasarının serbest sinir uçlarındaki etkisi Şekil 2.1’de sunulmuştur [58].



Şekil 2.1 : Yaralanmanın serbest sinir uçlarındaki etkisinin gösterimi, Yağcı ve Saygın (2019)’dan uyarlanmıştır.

Noksus bilginin SSS’deki ilk durağı olan spinal kord dorsal boynuzunda, primer afferent liflerin santral terminallerinden CGRP, P maddesi ve nörokinin A gibi nöropeptidlerin yanında çeşitli nörotransmitterler de salınır [56,59]. Glutamat, bu santral terminallerden salınan eksitator bir amino asittir ve eksitator amino asit reseptör alt türleri olan α -amino-3-hidroksi-5-metilisoksazol-4-propionik asit (AMPA) ve N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörlerinin aracılığıyla, hızlı sinaptik etki göstererek spinal kord dorsal boynuzunda bulunan ikinci nöron gruplarını uyarır [56,57,59]. Aspartat da, tıpkı glutamat gibi eksitator bir amino asittir ve spinal kord dorsal boynuzunda ağrılı uyarının iletiminde rol alır. Spinal kord dorsal boynuzuna ulaşan afferent uyarılar aynı zamanda çeşitli inhibitör mekanizmaları da aktive

ederler. Bu mekanizmalar ile ağırlı uyarının etkisi, spinal düzeyde azaltılmaya çalışılarak modülasyona uğrar [25]. İn en kontrol sistemleri adı verilen bu ağırlı kontrol mekanizmasının içinde, periakuaduktal gri madde, lokus seruleus, nukleus retikülaris gigantoseelülaris ve nukleus retikülaris paragigantoseelülaris gibi yapılar bulunmaktadır ve endojen opioid peptitler, serotonin, noradrenalin ve gamma aminobutirik asit (GABA) gibi birçok nörotransmitter kullanılmaktadır [52].

Ağırlı bilgisi beyinde birçok alanın aktive olmasına neden olmakta ve ağırlı, birçok beyin alanının katılımıyla ortaya çıkmakta ve algılanmaktadır. Bu bölgeler, serebellum, putamen, talamus, hipotalamus, primer ve sekonder somatosensör korteksler, anterior insular korteks, anterior singulate korteks, prefrontal korteksler, periaquaduktal gri cevher, amigdala ve hipokampustur [49,58].

2.1.5 Baş ağırlısı

Baş ağırlısı, baş ve çevresindeki ağırlıya duyarlı yapıların uyarılmasıyla ortaya çıkan hoş olmayan bir algılamadır ve kendisi bir hastalık olabileceği gibi diğer sistemik hastalıkların seyrinde görülebilen bir semptomda olabilir [62]. Beyin dokusunun kendisi hemen hemen tamamen ağırlıya karşı duyarsızken, intrakraniyal ve ekstrakraniyal birçok yapının çeşitli nedenlerle etkilenmesi baş ağırlısı olarak algılanan şiddetli ağırlıya sebep olabilir [23]. Ağırlıya duyarlı intrakraniyal yapılar; duramaterdeki venöz sinüsler ve büyük venler, kafatabanını örten duramater, falks serebri ve tentorium serebelli, intrakraniyal büyük arterler ve menenjiyal arterler, 5, 9, 10. kraniyal sinirler, 1, 2, 3. servikal sinirlerin intrakraniyal ve ekstrakraniyal parçalarıdır. Ekstrakraniyal ağırlıya duyarlı yapılar ise; yüz ve baştaki arter ve arteriyoller, baş, yüz ve boyun çizgili kasları, kulak, burun, boğaz yapıları, dişler, buradaki mukoza ve periostal yapılar, orbita ve gözlerdir [62]. Bu yapılardan kaynaklanan ağırlıları servikal spinal sinirler, 5, 7, 9 ve 10. kraniyal sinirler taşımaktadır. Baş ağırlısına neden olan etkenler arasında ise inflamasyon, travma, traksiyon, kompresyon, malign infiltrasyon ve kafa içi basınç artışı sayılabilir [63].

2.1.6 Baş ağırlısının sınıflandırılması

Baş ağırlılarını genel olarak 2 ana sınıfa ayırmak mümkündür. Bunlar, primer baş ağırlıları ve sekonder baş ağırlılarıdır. Primer baş ağırlıları başlı başına bir hastalık olup, SSS veya diğer sistem hastalıklarıyla ilişkilendirilemeyen baş ağırlılarıdır. Sekonder baş ağırlıları ise, SSS veya diğer sistem hastalıklarıyla ortaya çıkan bir semptomdur

[1,63]. Uluslararası Baş Ağrısı Derneği (International Headache Society, IHS) tarafından ilk kez 1988’de yayımlanan baş ağrısı sınıflama çalışması, 2004 ve 2013 yıllarında 2 kez revize edilmiş olup, 2018 yılında yenilenerek tekrar yayımlanmıştır [1]. Burada yapılan sınıflamanın ana başlıkları Tablo 2.6’da sunulmuştur [64].

Tablo 2.6 : Baş ağrısı sınıflaması.

Baş Ağrısı Sınıflaması
Primer Baş Ağrıları
1. Migren
2. Gerilim tipi baş ağrısı
3. Trigemino-otonomik sefaljiler
4. Diğer primer baş ağrıları
Sekonder Baş Ağrıları
1. Baş ve/veya boyun travmasına bağlı baş ağrısı
2. Kranial veya servikal vasküler bozukluklara bağlı baş ağrısı
3. Non-vasküler intrakranial hastalıklara bağlı baş ağrısı
4. Madde kullanımı veya bırakılmasına bağlı baş ağrısı
5. Enfeksiyonlara bağlı baş ağrısı
6. Homeostazis bozukluklarına bağlı baş ağrısı
7. Kranium, boyun, göz, kulak, burun, diş, sinüs, ağız veya diğer yüz ve servikal yapılara bağlı baş veya yüz ağrıları
8. Psikiyatrik bozukluklara bağlı baş ağrısı
Ağrılı kranial nöropatiler, diğer yüz ağrıları ve baş ağrıları
1. Ağrılı kranial nöropatiler ve diğer yüz ağrıları
2. Diğer baş ağrısı bozuklukları

2.1.6.1 Migrenin tanımı ve genel bilgiler

Tüm baş ağrılarının %90’lık kısmını primer baş ağrıları oluşturmaktadır [63]. Yapılan araştırmalar toplumda en sık görülen primer baş ağrısının ise gerilim tipi baş ağrısı olduğunu göstermektedir. Fakat bunların çoğu migren baş ağrısı ile kombinidir ve saf olarak en çok görülen primer baş ağrısı migrendir [1]. Migren; baş ağrısının ön planda olduğu, oksipital, supraorbital veya frontotemporal başlangıçlı, çeşitli semptomların eşlik ettiği, genetik yatkınlığı olan kişilerde çeşitli faktörlerle tetiklenebilen, tekrarlayıcı, multifaktöriyel, nörovasküler, kronik bir primer baş ağrısı tipidir [62,65]. Migren ağrısı genellikle tek taraflı, zonklayıcı karakterde, fiziksel aktiviteyle artış gösteren, ağrıya sıklıkla bulantı, kusma ve fotofobi (ışığa duyarlılık), fonofobinin (sese duyarlılık) eşlik ettiği, orta veya şiddetli özellik gösteren ağrılardır ve migren baş ağrısı öncesi aura görülebilir. Ana alt tipleri auralı ve aurasız migrendir [63].

Migren atağı prodrom dönemi, aura dönemi, baş ağrısı dönemi ve postdrom dönemi olmak üzere 4 evreden oluşmaktadır. Bunlar aşağıdaki şekilde özetlenebilir [62,66]:

Prodrom dönemi: Baş ağrısının başlamasından saatler veya günler öncesinden gelişir ve konsantrasyon güçlüğü, düşüncede yavaşlama, uyku isteği, yorgunluk, öfori, depresif belirtiler, irritabilite, hiperaktivite, esneme, iştah değişiklikleri gibi psikolojik, otonomik ve gastrointestinal semptomlar görülebilir. Prodrom belirtileri beyin sapında dopaminerjik çekirdekler, serotonerjik çekirdekler, hipotalamus ve limbik korteks gibi farklı beyin yapılarının işlev değişikliklerini göstermektedir.

Aura dönemi: Aura, ağrıdan dakikalar önce görülen ve 5-60 dakika süren geçici fokal nörolojik belirtilerdir. Bu semptomlar görsel, duysal, motor, lisan ve beyin sapı bozukluklarını içermektedir. Bulanık görme, parlak ışıklar, mikropsi, makropsi gibi görsel semptomlar, uyuşma, hissizlik gibi duysal semptomlar, konuşma bozukluğu gibi motor semptomlar ortaya çıkabilmektedir. Aura evresi baş ağrısından önce başlayıp ağrı ile devam edebilmektedir.

Baş ağrısı dönemi: Baş ağrısı; meningeal perivasküler trigeminal afferentlerin sensitizasyonuna bağlı, tedavi edilmediğinde 3 güne (4-72 saat) kadar sürebilen, genellikle başın tek tarafında hissedilen, lokalize ve zonklayıcı özelliktedir. Ağrıya bulantı, kusma ve fotofobi, fonofobi eşlik etmektedir.

Uyku değişikliği, açlık, stres, menstrasyon, alkol, koku (parfüm gibi keskin kokulu maddeler), bazı gıdalar (peynir, nitratlı yiyecekler gibi), yüksek ses ve parlak ışık gibi uyaranlar migren ağrısını tetikleyebilmektedir.

Postdrom dönemi: Ağrının azaldığı ve yorgunluk, bitkinlik gibi belirtilerin ortaya çıktığı, bazen de rahatlamanın yaşandığı dönemdir.

2.1.6.2 Migren patofizyolojisi

Migren, multifaktöriyel nedenlerle ortaya çıkan bir hastalık olarak tanımlanmakta olup kesin nedeni günümüzde de tam olarak bilinmemekte ve patofizyolojisi birden fazla teori ile açıklanabilmektedir. Migren baş ağrısı patofizyolojisinin temelinde ise kraniyal kan damarları, trigeminal afferentler ile onların santral projeksiyonlarından oluşan trigeminovasküler sistem aktivasyonunun olduğu düşünülmektedir [67]. Meninksler ve damar yapıları yoğun biçimde trigeminal duyu lifleri ile inerve edilmektedir ve A δ ve C lifleri ile meninkslerden alınan ağrı bilgisi bu sistem vasıtasıyla beyne iletilmektedir. Hücre gövdeleri trigeminal ganglionda bulunan psödonipolar nöronların periferik aksonları büyük serebral arterleri, piamater, duramater ile meninks damarlarını inerve ederken, santral aksonları ise trigeminal

nukleus caudalisin (TNC) nosiseptif nöronların yer aldığı laminalarına uzanır [68-70]. Trigeminal sinirin periferik aksonlarının uyarılmasıyla alınan ağrı bilgisi, santral aksonlar ile ikincil nöronların bulunduğu TNC'ye iletilmektedir. Buradan çıkan ağrı bilgisi, beyin sapında trigeminal lemniskusta çaprazlaşarak önce talamusun ventral posteromedial (VPM) nukleusuna, buradan da üçüncül nöronlarla primer somatosensoryel kortekse, insular kortekse, limbik yapılara ve hipotalamusa ulaşmaktadır [65,67,71]. Nosiseptif sinir liflerinin akson terminalleri CGRP, P maddesi, pituiter adenilat siklaz aktive edici peptid (PACAP) ve nörokinin A gibi nöropeptidleri içermektedir ve trigeminal sinirin uyarılması aynı zamanda akson terminallerinden bu nöropeptidlerin meningeal perivasküler alana salınmasına ve bunun sonucunda nörojenik inflamasyona sebep olmaktadır [69,71-74]. Baş ağrısı evresinde, oluşumunda nöropeptidler ile nitrik oksit (NO) rol oynadığı, duramaterde plazma protein ekstrasvazasyonu, artmış kan akımı, vazodilatasyon ve mast hücre degranülasyonu ile gelişen bu nörojenik inflamasyon önemli rol oynamaktadır. Bu durum ise perivasküler trigeminal sinir liflerinin daha fazla uyarılmasına ve ağrıya sebep olan kısır döngüye yol açmaktadır [66,75].

Migren fizyopatolojisinin anlaşılmasındaki diğer bir gelişme ise serotonin reseptörlerinin alt tiplerinin ve dağılımlarının keşfidir. 5-HT_{1B/1D} reseptörleri trigeminal aksonların periferik ve santral uçlarında yoğun olarak bulunmakta ve trigeminal aktivasyonu, nöropeptid salınımını ve nörojenik inflamasyonu inhibe etmektedir. 5-HT_{1B/1D} reseptör agonisti olan triptanlar ise etkin migren ilaçları olarak kullanılmaktadır [76-79].

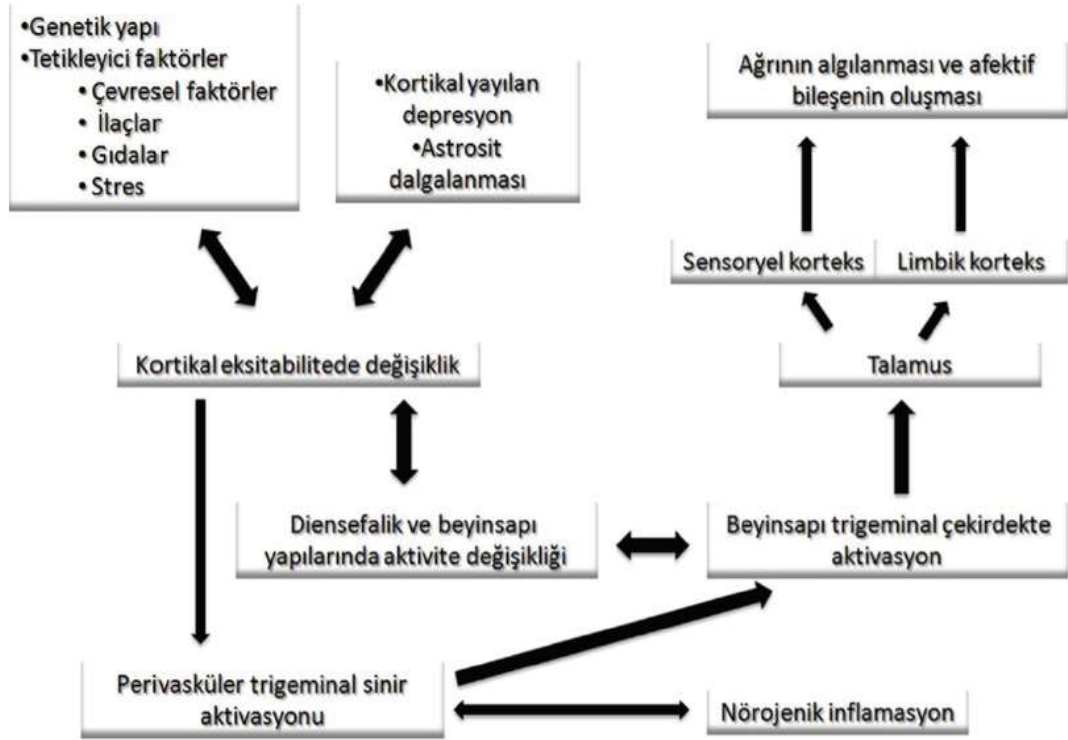
Aura, baş ağrısından 20-40 dakika önce görülen geçici nörolojik defisittir. En sık görsel aura görülmekle birlikte, duysal veya motor auralar da görülebilmektedir [80]. Görsel semptomlara bir oksipital lobdan kaynaklanan, yayılan nöronal ve glial eksitasyon neden olmaktadır ve son yıllarda görüntüleme yöntemleriyle yapılan çalışmalar, görsel auraya sebep olan fizyopatolojik sürecin kortikal yayılan depresyon (KYD) dalgaları olduğunu göstermektedir [66]. KYD, gri maddedeki nöranlar ve glia hücrelerinden yavaş yayılan depolarizasyon ve iyon değişikliği durumundaki eksitabilitesi ile ardından gelen hiperpolarizasyonla ilgilidir ve yavaş yayılan bu depresyon dalgaları serebral korteks boyunca ilerlemektedir [81-83]. Aura ve migren baş ağrısı arasındaki ilişki ise, KYD'nin meningeal trigeminal sinir uçlarını aktive edebildiği gösterildikten sonra açıklığa kavuşturulabilmiştir [84].

Hipereksitabl nöronal yapıların oluşturduğu KYD ile oluşan trigeminovasküler sistem aktivasyonu, nosiseptif nöronlarda ağrı uyarıcı olan CGRP, P maddesi ve vazoaaktif intestinal polipeptid (VIP) gibi nöropeptidlerin salınmasına sebep olur ve vazodilatasyon gelişir [85]. KYD sırasında oluşan depolarizasyon ile de, ekstrasellüler ortama NO, potasyum, hidrojen, araşidonik asit, prostaglandinler ve glutamat gibi vazoaaktif ve nosiseptif iyonlar salınır [86-88]. Bu maddeler meningeal membranlara ulaşarak trigeminal sinir terminallerini stimüle ve/veya sensitize etmektedir ve KYD dalgası yayıldıkça depolarize olan periferik aksonlar artmaktadır. Bu aktivasyon ile TNC'deki ikincil nöronlar uyarılmakta ve bir süre sonra ikincil nöronlar daha düşük sinaptik uyarılar ile aktive edilebilir hale gelmekte ve santral sensitizasyon gelişmektedir. TNC'deki santral trigeminovasküler nöronların sensitizasyonu ise, baş bölgesinde normalde ağrılı olmayan uyaranların ağrı oluşturmaya yani allodiniye sebep olmaktadır. Ağrı ise, bilginin TNC'den yüksek merkezlere iletilmesiyle algılanmaktadır [65,89].

Yapılan çalışmalar migren atakları sırasında beyinsapı yapılarının özellikle dorsolateral ponsun aktive olduğunu göstermekte, bu da ilgili yapıların migren baş ağrısında jeneratör olarak görev yaptığı görüşünü desteklemektedir [90-94]. Aktivasyon dorsal raphe nukleus, periakvaduktal madde (PAG) ve locus seruleusta olmakta ve bu yapılar nosisepsiyon modülasyonunda rol oynamakta aynı zamanda kortikal nöronal uyarılabilirliği etkileyebilmektedir [94,95].

Migren gelişiminde etkili olan diğer bir faktör ise genetik yatkınlıktır. Migrenli kişilerin aile bireylerinde migren gelişme riski diğerlerine göre 2-3 kat fazladır ve familial hemiplejik migren (FHM) tipinde belirlenen gen mutasyonları, genetik predispozisyonu göstermesi açısından önemlidir [85,96]. FHM'de tanımlanan bu genler nörotransmitter salınımını, glia hücrelerinin sinapslardan glutamat geri alımını ve aksiyon potansiyeli oluşumunu düzenlemektedir [97]. Migrende artmış glutamaterjik sistem aktivitesi ise NMDA reseptörlerinde aşırı bağlanmaya yol açmakta ve ağrı iletimini, allodini ve santral sensitizasyon gelişimini güçlendirmektedir [98].

Migren patofizyolojisini özetleyen şematik gösterim Şekil 2.2'de sunulmuştur [99].



Şekil 2.2 : Migren patofizyolojisi.

2.1.6.3 Deneysel migren modelleri

Geliştirilmiş ve geçerliliği kabul edilmiş hayvan modelleri, hem hastalıkların etyopatogenezini çözebilmek hem de tedavi protokollerini geliştirebilmek açısından önemlidir. Migren patofizyolojisi hakkındaki mevcut bilgilerimiz ise, çoğunlukla trigeminovasküler sistemin nosiseptif yollarını incelemek için geliştirilen hayvan modellerine dayanmaktadır [67,71,93]. Klinik öncesi araştırmalarda çeşitli kimyasal tetikleyiciler kullanılarak migren modelleri oluşturulmaktadır. Bunlardan biri prostaglandin, histamin, serotonin ve bradikinin gibi inflamatuvar mediyatörlerin birlikte trigeminal nosiseptörleri uyarmak için kullanılmasıdır [100]. Bu teknikle trigeminovasküler sistem aktivasyonu sağlanarak nörojenik inflamasyon oluşturulmaktadır. Aura ve KYD migrenlilerin yaklaşık %30'unda görülen geçici nörolojik defisittir [101]. Kemirgen modellerinde, serebral kortekse KCl enjeksiyonu yapılarak ya da korteksin elektriksel veya mekanik olarak uyarılmasıyla KYD dalgaları oluşturulmakta ve trigeminal ağrı yolları üzerinde çalışmalar yapılmaktadır. Kemirgenlerde migren oluşturmak için kullanılan diğer bir yöntem ise genetik modeldir. Fareler üzerinde yapılan genetik migren çalışmaları,

FHM’de nörotransmisyonunda rol alan genlerde tanımlanan mutasyonların modellenmesiyle yapılmaktadır [102].

Nitrogliserin modeli

Klinikte uzun bir geçmişe sahip olan nitrogliserin (NTG), anstabil angina pectoris, miyokard enfarktüsü ve kalp yetmezliğinin tedavisinde kullanılan bir organik nitrattır [103]. Deneysel migren modeli oluşturmak için yaygın olarak kullanılan modellerden biri olan NTG, bugüne kadar geliştirilmiş hayvan modelleri arasında hiperaljezi ve inflamasyon geliştirilen modeller arasında en çok kullanılanlardan biri olmuştur [102,104]. NTG’nin kemirgenlerde kullanımı, oluşturduğu semptomlar nedeniyle migreni etkili bir şekilde modelleyebilmektedir [105]. Bir NO donörü olan NTG, kemirgenlere intravenöz (i.v.), subkutan (s.c.) ve intraperitoneal (i.p.) yolla uygulanmakta ve hiperaljezi oluşturularak migren ile ilgili aşırı duyarlılık çalışmaları yapılmaktadır. Farelerde NTG infüzyonu termal ve mekanik allodiniye neden olmakta [106-109], ayrıca ışığa karşı isteksizliğe ve meningeal arterlerin dilatasyonuna bağlı olarak kan akımında artışa da sebebiyet vermektedir [109,110]. Sıçanlarda da NTG uygulaması yine benzer şekilde fotofobi ve anksiyete benzeri davranışlara sebep olmaktadır [111]. Kemirgenlere NTG uygulaması TNC, periakvaduktal gri madde, amigdalanın santral çekirdeği ve hipotalamik çekirdeklerde c-fos protein ekspresyonunu artırmakta ve NTG’nin kemirgenlerde nöronal aktivasyona neden olduğu saptanabilmektedir [111-113]. NTG dakikalar içinde dural ve pial vazodilatasyona sebep olmakta [114-116], ayrıca durada inflamatuvar değişiklikleri ve mast hücre degranülasyonunu tetiklemektedir [117-119]. Ratlara i.p. olarak uygulanan NTG’nin beyinsapı ve trigeminal ganglionda CGRP düzeyini de artırdığı gösterilmiştir [120]. NO, trigeminal nöronlardan CGRP’nin sentezi ve salınmasında rol oynayan önemli bir sinyal molekülüdür ve migren semptomlarını tedavi etmek için CGRP’yi bloke etmek üzere tasarlanmış ilaçların birçoğu, bir NO donörü olan NTG ile oluşturulmuş deneysel migren modellerinde etkili olmuştur [121,122]. Wang vd., (2016) [123] yaptıkları bir çalışmada, yeni bir gastrodin türevinin antimigren etkisini NTG ile oluşturdukları deneysel migren modelinde çalışmışlar ve çalışmanın sonucunda gastrodin türevinin migren tedavisinde kullanılabilecek bir ilaç adayı olabileceğini göstermişlerdir.

NTG'nin migren atağını kesin tetikleme mekanizması henüz belli değildir fakat yapılan çalışmalar, NTG'nin oluşturduğu NO'nun nöromodülatör etkileri ve NO-cGMP yoluyla kan damarlarının doğrudan gevşetilmesi yollarıyla migren atağının başlayabileceğini göstermektedir [111]. Trigeminovasküler sistemin aktivasyonu migren atağının temelindeki anahtar faktördür [67] ve dural afferent terminallerden CGRP, P maddesi ve nörokinin A dahil olmak üzere vazodilatasyon ile inflamasyona neden olan çoklu uyarıcı nörotransmitterlerin salınmasını tetikler [124]. Nörojenik vazodilatasyon esas olarak CGRP ile gerçekleşir ve migren patofizyolojisinde önemli bir role sahiptir. Kişilerde CGRP migren atağı sırasında juguler vende artmaktadır [125]. Benzer şekilde NTG ile indüklenen insan çalışmalarında plazma CGRP konsantrasyonunun arttığı [126], plazma CGRP düzeyindeki bu artışın aynı zamanda, NTG verilen sıçanlarda da gerçekleştiği bildirilmektedir [127]. NTG ile indüklenen trigeminovasküler sistem aktivasyonundaki önemli diğer bir mediyatörde PACAP'tır. Spesifik olarak PACAP-27 ve PACAP-38'in immunreaktivitelerinin, NTG uygulaması sonrasında sıçanların TNC'sinde yükseldiği bildirilmektedir [128]. Migren patofizyolojisinde önemli yeri olan faktörlerden biri de glutamat reseptörleri (özellikle NMDA) ve glutamat seviyelerinin artmasıdır [111]. Plazma glutamat seviyelerindeki bu artış, NTG enjeksiyonundan sonra sıçanlarda da gösterilmiştir [129].

2.1.6.4 Analjezi testleri

Hayvanlarda ağrı eşiğinin ve analjezinin değerlendirilmesi zor olmakla birlikte nosisepsiyon ve analjeziyi ölçmek amacıyla çeşitli testler geliştirilmiştir. Bu testler termal, mekanik ya da kimyasal uyarının kullanılmasıyla gerçekleştirilmektedir [130].

Kuyruk hareketi (tail flick) testi

Deneyisel migren modeli oluşturmak amacıyla en yaygın kullanılan yöntemlerden biri de NTG ile migren oluşturma yöntemidir. Preklinik çalışmalarda trigeminovasküler duyarlılığı artırmak amacıyla kullanılan NTG, ağrı ile ilişkili davranışların incelenbilmesine de olanak sağlamaktadır. Sıçanlara 10 mg/kg olarak i.p. yolla uygulanan NTG, 4 saat içerisinde hiperaljezik davranışları tetiklemektedir ve kemirgenlerde 4 saate kadar sürebilen allodini oluşturmaktadır. NTG ile oluşturulan

termal sensitivite ise, kızılötesi ışın veya sıcak su banyosu kullanılarak kuyruk hareketi testi ile gösterilebilmektedir [105,108,131-133].

Termal uyarının kullanıldığı testlerden biri olan kuyruk hareketi testi ilk kez 1941’de tanımlanmasına rağmen hala en çok kullanılan testlerden biridir [134]. Kuyruk hareketi testinde hayvanın kuyruğunun konulduğu alanın altında bir fotosensör vardır ve ısı kuyruğun belirli bir noktasına uygulanır. Hayvan ağrıyı hissettiği an kuyruğunu çeker ve fotosensör aracılığıyla devre kapanır. Uygulamanın başladığı andan kuyruğun çekilmesine kadar geçen süre, o hayvanın ağrı eşiğini belirler. Doku hasarına sebep olmamak için sonlandırma süresi belirlenmelidir. Testin en büyük avantajı basit olması ve reaksiyon süresinin çok fazla bireysel değişkenlik göstermemesidir [130].

2.2 Nöroglial Hücreler

Nöroglia hücreleri farklı yapı ve fonksiyona sahip, sinir sisteminin homeostatik ve savunma hücreleri olarak tanımlanabilir. Bu hücreler aynı zamanda sinir sistemini işlevsel durumda tutan destekleyici hücrelerdir ve bu destek sinir sisteminin tüm organizasyon düzeylerinde ortaya çıkmaktadır [12]. SSS’nin nöroglial hücreleri astrositler, oligodendrositler, mikrogliya ve ependimal hücreler olmak üzere 4 gruba ayrılır ve beyin ve medulla spinalisin total hacminin yaklaşık yarısını oluştururlar [11]. PSS’nin nöroglial hücreleri ise Schwann hücreleri ve uydu (satellite) hücreleridir [13].

2.2.1 Astrositler

SSS’deki nöroglial hücrelerin en büyükleri olan astrositler isimlerini yıldıza benzer şekillerinden almaktadır. Soluk ve düzensiz biçimli çekirdekleri, soluk sitoplazmaları, kısa ve izole granüler endoplazmik retikulumları, sitoplazmalarındaki ara filament demetleri (GFAP) elektron mikroskopik özellikleridir [13]. Astrositlerin küçük bir hücre gövdesi ile hücre gövdesinden çıkan ve her yöne uzanan dallı uzantıları bulunmaktadır. Astrosit uzantılarının çoğu kan damarlarının üzerinde genişleyerek sonlanır ve kapillerlerin dış yüzeyleri üzerinde hemen hemen tam bir örtü oluştururlar [11]. Astrositlerin fibröz ve protoplazmik olmak üzere iki majör tipi bulunmaktadır [135]. Uzun ve ince uzantılara sahip fibröz astrositler fazla dallanmaz ve genelde beyaz cevherde bulunurlar. Protoplazmik astrositler ise fibröz astrositlere

göre daha kısa, kalın ve daha fazla sayıda dallı uzantılara sahiptir ve yoğunlukla gri cevherde bulunur [13].

Dallanan uzantıları ile astrositler, sinir hücreleri ve sinir fibrilleri için destekleyici bir ağ oluştururlar. Nöronlar arasındaki sinaptik bağlantı yerlerini çevreler ve akson sonlanmalarını ilgisiz nöronların etkilerinden koruyarak elektriksel yalıtıcı olarak görev alırlar [11]. Çok sayıda K^+ kanalına sahip olan astrositler, nöral uyarıların iletimi sırasında ekstrasellüler sıvıda artan K^+ iyonlarının fazlasını çekerek ekstrasellüler sıvının iyonik dengesinin korunmasında da rol alırlar [13]. Sinapslarda salgılanan glutamat ve GABA gibi nörotransmitterlerin dengesinin sağlanmasında da görev alan astrositlerin, bu nörotransmitterleri absorbe ederek etkilerini sınırladıkları gösterilmiştir [11,13]. Sitoplazmalarında glikojen depo eden astrositler, gerektiğinde bunu glikoza parçalayarak nöronların kullanması için salgırlar. Hastalık nedeniyle nöronların ölümünü takiben çoğalırlar ve önceden nöronlar tarafından işgal edilen alanları doldururlar. Astrositler, komşu nöronlar üzerinde trofik etkisi olan maddeler de üretebilirler. Ayrıca, kan-beyin bariyerinin yapısında da önemli rol oynarlar ve gelişim sırasında aksonlara yol gösterme de astrositlerin işlevleri arasındadır [11,13].

2.2.2 Migren ve astrositler

Yapılan çalışmalar astrositlerin inme, nöbet gibi akut ve kronik nöronal hastalıklarda aktif rol oynadığını göstermektedir [136]. Kronik ağrının fizyopatolojisinde nöronal mekanizmalara paralel olarak nöronal olmayan hücrelerin özellikle glial hücrelerin de önemi artmıştır. Son yıllarda glial hücreler ve ağrı arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda buna paralel olarak artmaktadır. Araştırmalar astrositlerin soma, dendrit ve sinapslarla bağlantı kurabildiğini göstermektedir ve nöron ve sinapslarla olan bu yakın bağlantılar, astrositlerin nöronları destekleme görevi yanında sinaptik iletiyi düzenleme fonksiyonlarının olduğunu da düşündürmektedir [137]. Nitekim astrositler, trombospondin gibi sinaps oluşumunu düzenleyen faktörleri [138] ve glutamat, ATP, D-serin gibi sinaptik iletimi düzenleyen transmitterleri de salgılamaktadır [138,139]. Ayrıca astrositler, nöronal aktiviteyi birçok nörotransmitter reseptör eksprese ederek de etkilemektedir [140]. Astrositlerin sinapslarla olan bu yakın ilişkisi ise astrositik, presinaptik ve postsinaptik bölümleri kapsayan ‘üçlü sinaps’ tanımını ortaya çıkarmıştır [141]. Astrositler ayrıca,

ekstrasellüler sıvıdan K^+ alımı ile de nöral modülasyonda önemli rol oynamaktadır [137].

Ağrıya duyarlı intrakraniyal yapılar trigeminal sinirin oftalmik dalı ile innerve edilmektedir ve ağrıya duyarlı bu yapıları innerve eden afferentlerin aktivasyonunun migren baş ağrısına neden olan etkenlerden biri olduğu kabul edilmektedir [142,143]. Migren atağı trigeminovasküler sistemle birlikte, KYD ve kortikal eksitabilitenin de rol oynadığı nöronal ve vasküler değişikliklerle oluşmaktadır [99]. Nöronal, vasküler ve glial hücrelerin katıldığı KYD'nin temeli ise, ekstrasellüler ve intrasellüler alanlar arasındaki elektrolit değişimine dayanmaktadır ve astrositler de bu iyon değişiminde rol alırlar [144]. Astrositler gap junctionları vasıtasıyla KYD dalgasını K^+ kanallarının açılması, Ca^{2+} veya NMDA reseptör aktivasyonu yoluyla yayabilir [82].

Astrositler ayrıca, yaralanma ve diğer patolojik durumlara tepki olarak reaktif hale gelmektedir [135]. Nitekim spinal kordda bulunan astrositler, periferik dokularda veya sinirlerde oluşan hasarın ardından aktive olmakta ve ağrı yollarında aşırı uyarılmayı indükleyen faktörleri salgılayarak ağrı algısının oluşmasına katkıda bulunmaktadır. Bu aktivasyon GFAP ekspresyonunda artışa da neden olmaktadır [145]. Astrosit ara filamentlerinin temel bileşeni olan GFAP'ın upregülasyonu ise, primatlarda ve kemirgenlerde reaktif astrositlerin ayırt edici özelliği olarak kabul edilmektedir [135].

2.3 Öğrenme-Bellek

En genel anlamda öğrenme yeni bilgiler edinme, bellek ise bu bilgilerin saklanması olarak tanımlanabilir [146]. Öğrenme, edinilen tecrübelerle davranış ya da davranış potansiyelinde değişikliğe sebep olan süreç olarak adlandırılırken [147], nörofizyolojik anlamda ise yeni bilginin sinir sistemindeki sinaptik devreleri etkinleştirerek nöronlar arasındaki bağlantıların nitelik ve niceliklerini değiştirmesi olarak tanımlanmaktadır [148]. Bellek ise, bir olayın ya da bir deneyimin kaydedildiği, depolandığı, saklandığı ve hatırlandığı sistemler kompleksini kapsamaktadır [149]. Bilgilerin beyinde kaydedilmesi, tutulması ve hatırlanması yetisi olan bellek, birbirini takip eden birkaç aşamadan meydana gelmektedir. Bu süreç kazanım olarak adlandırılan ilk edinme aşamasıyla başlar ve elde edilen bilgi, sinapslardaki kimyasal bağlantılar vasıtasıyla kodlanır. Bilginin uzun süreli

depolanması için yineleme ve ilişkilendirme gibi yöntemleri gerektiren konsolidasyon işleminden geçmesi gerekmektedir. Son aşamada ise, depolanmış bilgi kullanılmak üzere hatırlanarak tekrar geri çağrılır [150,151].

2.3.1 Bellek türleri

Bellek genellikle üç grupta incelenmektedir ve bunlar aşağıdaki şekilde özetlenebilir [148,151,152];

2.3.1.1 Kısa süreli bellek

Saniyeler en fazla dakikalar ile ölçülen bellek türüdür. Sinapslarda, nöronlardan salınan nörotransmitterlerin birkaç dakikaya kadar etkili olan kolaylaştırma veya inhibisyona neden olmasıyla oluşur.

Anlık bellek (kayıt belleği)

Yeni bilgilerin anında hatırlanmasıdır ve uyanıklık ile konsantrasyona bağlıdır.

Çalışma belleği (işler bellek, working memory)

Hem bilginin kısa süreli depolanmasına hem de depolanmış bilginin çalıştırılıp kullanılmasına izin veren alan olup, bilginin bilinçli olarak işlenmesini sağlar. Zihinsel sorgulama sürecinde kullanılan bellek tipi olup, kişi bilgiye dayanan bir girişim planlarken bu bilgiyi genellikle çok kısa süre için hazır tutan kısa süreli bellek niteliğindedir.

2.3.1.2 Orta süreli bellek

Günler ile haftalar arasında değişen bir süre boyunca depolanır fakat daha uzun süre depolanmak için etkinleştirilmedikçe giderek söner ve yok olur. Etkinleştirilen bilgiler ise uzun süreli belleğe dönüştürülür.

2.3.1.3 Uzun süreli bellek

Yıllarca veya hayat boyu canlı kalabilen bellek türüdür. Kişiye bilgi temeli sağlayan bellek alanıdır ve zaman içinde oldukça sabit kalır. Bozulmaya belirgin şekilde dirençli olan uzun dönem belleği, birkaç dakika öncesinden onlarca yıl öncesine kadarki kişisel hatıralar veya pratikle öğrenilen becerileri içerir. Sinapslardaki kimyasal değişikliklerin yanı sıra gerçek yapısal değişikliklerin sinyal iletimini

baskılaması veya güçlendirmesi sonucu oluştuğu düşünülmektedir. Uzun süreli bellek de kendi içinde **deklaratif bellek** ve **deklaratif olmayan bellek** olarak iki kısma ayrılır.

Deklaratif bellek (açık bellek, explicit bellek)

Açıklanabilir bellek olup, deneyimlerin, gerçeklerin ve bilgilerin hatırlandığı ve bilinç düzeyine getirilebildiği bellektir. Kişinin kendisi için önem derecesine göre izleri kalan anıları içerir. Bilinç ya da en azından farkındalık ile birliktedir ve hatırlaması hipokampus, temporal loblar, neokorteks ve prefrontal korteksin sağlamlığına bağlıdır. Bu bellek türü de genellikle, gerçeklere ait **semantik bellek** ve olaylara ait **epizodik bellek** olarak ikiye ayrılır.

Deklaratif olmayan bellek (örtük bellek, implicit bellek)

Bilinç düzeyine getirilemeyen bellek türü olup, huy, yetenek ve klasik şartlanmaları içine alan bellek türüdür. Refleksif motor veya algısal becerilerin eğitimi açısından önemlidir. Deklaratif olmayan bellek uyanıklığı içermez ve korunmasında genellikle hipokampustaki süreçler rol almaz. Refleks yollarda olduğu gibi amigdala, serebellum, striatum ve neokorteksin sağlamlığını da gerektirir.

Bu bellek türünün de birkaç alt tipi vardır. Bunlar; neokortekse bağımlı olan **hazırlama ve algısal bellek**, striatumda işlenen ve beceriler ile alışkanlıkları içeren **prosedürel bellek**, refleks yolların aracılık ettiği **asosiyatif olmayan öğrenme** ile elde edilen bilgiler, iki uyaran arasındaki ilişkinin öğrenildiği ve klasik koşullanma ile ilişkili olan **asosiyatif öğrenme** ile elde edilen bilgilerdir. **Asosiyatif öğrenme** ile oluşan bu tip bellek ise duygusal cevaplar için amigdalaya, motor cevaplar için serebelluma bağımlıdır.

Bilgilerin duysal sistemlerimizdeki anlık kaydını tanımlayan **duysal bellek** ve kişinin kendini uzayda yönlendirebilmesi yetisi olarak tanımlanan **topografik bellek** gibi bilinen başka bellek türleri de bulunmaktadır [151].

2.3.2 Öğrenme ve bellek mekanizmaları

Belirli sinaptik bağlantıların gücünde değişiklik olması bellek mekanizmasındaki en önemli unsurdur [152]. Yeni bir şey öğrenildiğinde beyinde nörokimyasal, fiziksel bir iz oluşur ve kolaylaştırılmış bu yollara bellek izleri denir [148,151]. Beyin,

önemli bir bilgiyi bellek izi olarak güçlendirir ve depolarken, önemli olmayan bilgilerle ilgili sinaptik yolları ise engelleyerek ihmal etmektedir [148].

Geçmiş deneyime bağlı olarak sinaptik işlevde kısa ve uzun süreli değişiklikler oluşabilir ve presinaptik veya postsinaptik oluşabilen bu değişiklikler, öğrenme ve bellek çeşitlerinin ortaya çıkmasını etkilemeleri açısından oldukça önemlidir. **Alışma (habitüasyon)**, nöral bir uyarının defalarca tekrarlanması ile oluşturulan basit bir öğrenme şeklidir. İlk kez uygulandığında reaksiyon uyandıran bir uyarın, defalarca tekrarlandığında giderek daha az elektriksel sinyal oluşturmaya başlar ve giderek uyarana alışılır ve uyarın önemsenmez. Kalsiyum kanallarının giderek artan oranda kapanması sürecine bağlı olan habitüasyon olayı, azalmış hücre içi Ca^{2+} nedeniyle presinaptik uçtan nörotransmitter salınımının azalması ile oluşmaktadır [148,152].

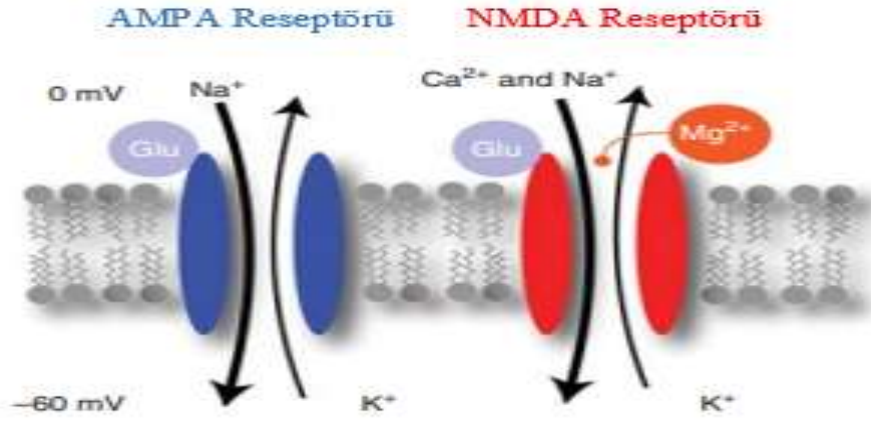
Duyarlılaşıma, habitüasyonun tersine uzun süre güçlü postsinaptik yanıtların oluşumudur. Duyarlılaşıma geçici bir yanıt olarak oluşabilir veya uyarının güçlendirilmesiyle kısa süreli veya uzun süreli bellek özelliklerini de gösterebilir. Duyarlılaşımanın kısa süreli uzaması, cAMP'nin daha fazla üretilmesine yol açan adenil siklazdaki Ca^{2+} 'un aracılık ettiği değişikliğe bağlıdır. **Uzun süreli güçlenme (uzun süreli potansiyalizasyon, long-term potentiation, LTP)** ise protein sentezini, presinaptik ve postsinaptik sinirlerin ve bağlantılarının gelişmesini içerir [152].

2.3.2.1 LTP, LTD, NMDA reseptörleri ve öğrenme-bellek ile ilişkileri

LTP, presinaptik uyarıya postsinaptik potansiyel yanıtın hızla gelişen kalıcı güçlenmesidir. **Uzun süreli baskılanma (long-term depression, LTD)** ise, LTP'nin tersidir ve sinaptik gücteki azalmayla karakterizedir. Presinaptik sinirlerin yavaş uyarılmasıyla oluşur ve LTP'den daha az miktarda hücre içi Ca^{2+} artışıyla birliktedir [152].

Beynin öğrenme ve hatırlama fonksiyonlarında işlev gören ve beyindeki nöronlar ile oluşturdukları sinapsların iç ve dış uyarılara gösterdikleri yapısal ve fonksiyonel değişiklikleri kapsayan nöroplastisite olgusunun formları olan LTP ve LTD, öğrenme ve bellek oluşumundaki önemli mekanizmalardır [152,153]. LTP ise, öğrenme ve bellek oluşumundaki nöral mekanizmaların temelini oluşturmaktadır [154,155]. LTP en detaylı şekilde, beyin nöroplastisite özelliği en yüksek yapılarından biri olan hipokampusta [153], CA3 ve CA1 bölgelerindeki piramidal hücrelerin schaffer kollateralleri aracılığıyla yaptıkları bağlantıda incelenmiştir [152].

İyonotropik glutamat reseptörleri ligand kapalı iyon kanallarıdır ve GluA (AMPA, α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazol propionik asit), GluK (Kainat), GluN (NMDA, N-Metil-D-Aspartat) ve GluD (δ) reseptörleri olmak üzere birkaç alt gruba ayrılırlar. NMDA reseptörleri ise sinaptik ileti ve nöroplastisite için oldukça önemlidir [156] ve LTP'nin oluşmasına aracılık ederler [157]. Glutamat, SSS'de glutamaterjik sinapsların presinaptik terminallerinden salınan ve NMDA reseptör aktivasyonuna neden olan majör eksitator nörotransmitterdir [156]. İstirahat membran potansiyelinde bir presinaptik sinir hücresinden salınan glutamat postsinaptik sinir hücresindeki hem NMDA hem de AMPA reseptörlerine bağlanır. AMPA reseptörlerinin aktivasyonu Na^+ un hücre içine girerek eksitator postsinaptik potansiyelin (EPSP) oluşumuna neden olur. İstirahat halinde Mg^{++} ile bloke edilmiş olan NMDA reseptörlerinin aktivasyonu için glutamatın bağlanması yeterli olmayıp, AMPA reseptörleri aracılığıyla oluşan EPSP birikimi ve presinaptik sinirin tetanik uyarısına cevaben oluşan membran depolarizasyonunun yeterli seviyeye ulaşması gerekmektedir. Depolarizasyon, NMDA reseptöründen Mg^{++} 'u atmaya yeterli olduğunda postsinaptik sinir hücresine Ca^{2+} girişi olur (Şekil 2.3) [152]. Ca^{2+} da nöroplastisitede anahtar rol oynayan önemli bir hücre içi sinyal molekülüdür [156] ve LTP'yi indükleyen sinapslarda postsinaptik Ca^{2+} artışı NMDA reseptörlerinin aktivasyonu ile gerçekleşmektedir [158]. Postsinaptik hücrede ki Ca^{2+} artışı, LTP oluşumuna neden olan Ca^{2+} /kalmomodulin bağımlı protein kinaz II (CaMKII) ve protein kinaz C (PKC) aktivasyonuna yol açmaktadır. Aktifleşen CaMKII ise, nitrik oksit sentazı (NOS) aktifleştirerek NO üretimini sağlamakta [152,159], retrograd olarak presinaptik sinire geçen NO ise, glutamatın sinaptik aralığa salınımında uzun süreli artışa neden olmaktadır [160]. Öte yandan hücre içi Ca^{2+} artışı, adenil siklaz aktivasyonuna yol açarak cAMP artışına sebep olmakta ve artan cAMP de nörotransmitter salınımını hızlandırmaktadır. Ayrıca cAMP, genetik transkripsiyonun gerçekleşmesinde de rol oynayarak nöroplastisitenin gerçekleşmesine önemli katkı sağlamaktadır [161,162]. Sonuç ise; glutamat salınımı, hücre içi Ca^{2+} değişiklikleri, PKC gibi çeşitli protein kinazların aktivasyonu, nörotrofin ekspresyonu, protein sentezi ve morfolojik değişiklikler gibi birçok hücresel olayın gerçekleşerek sinaptik iletimin kolaylaşması ve LTP'nin oluşmasıdır [146].



Şekil 2.3 : LTD ve LTP oluşumunda rol oynayan başlıca iyonotropik glutamat reseptörleri, Lüscher ve Malenka (2012)’den uyarlanmıştır.

2.3.2.2 BDNF’nin öğrenme-bellek mekanizmasındaki işlevi

Nörotrofinler, santral ve periferik sinir sisteminin gelişmesinde ve korunmasında önemli rol oynayan hücre içi faktörlerdir [164]. Beyin kaynaklı nörotrofik faktör (Brain Derived Neurotrophic Factor, BDNF) ise, nöronların gelişimine yardımcı olan, sinaptik fonksiyonları düzenleyen, santral ve periferik sinir sisteminin nöroplastisitesinde önemli rol oynayan bir nörotrofindir [165,166]. BDNF, LTP gibi sinaptik değişiklikleri modüle etmekte ve öğrenme, bellek stimülasyonu gibi nöronal aktivitelerden etkilenecek hipokampustaki ekspresyonu hızlıca artmaktadır [166,167]. Nöronların kök hücrelerden farklılaşmasını da destekleyen BDNF’nin programlı hücre ölümlerinin engellenmesinde de rol aldığı bilinmektedir [165].

2.3.2.3 CREB’in öğrenme-bellek mekanizmasındaki işlevi

cAMP protein kinaz A (PKA) aktivasyonuna yol açarak hücre içinde gen ekspresyonunun gerçekleşmesinde önemli rol oynamaktadır. cAMP yanıt elemanı bağlayıcı protein (cAMP response element binding protein, CREB) ise cAMP’nin işlevini düzenleyen bir proteindir [168] ve bellek oluşumunda önemli bir transkripsiyon faktörü olarak kabul edilmektedir [146]. LTP süreci için sinapslardaki değişimleri etkileyen proteinlerin kodlanmasına aracılık eden CREB [169] ayrıca, BDNF ekspresyonunu düzenleyerek de öğrenme ve bellek mekanizmasına katkıda bulunmaktadır [170,171].

2.3.3 Hipokampus ve öğrenme-bellek

Limbik sistemde yer alan ve temporal lobun medial yüzeyinin içine doğru kıvrılan hipokampus, öğrenme, bellek, duygulanım, konumlama ve yön bulmada önemli rol oynayan bir gri cevher tabakasıdır. Hipokampus subiculum, Cornu Ammonis ve gyrus dentatus olarak isimlendirilen üç kısımdan oluşmaktadır. Cornu Ammonis kısmı da Cornu Ammonis 1 (CA1), Cornu Ammonis 2 (CA2), Cornu Ammonis 3 (CA3) ve Cornu Ammonis 4 (CA4) olarak adlandırılan dört alandan oluşur. Hipokampusun en önemli görevlerinden biri de öğrenmenin belirli çeşitlerine aracılık etmesi ile kısa süreli belleği düzenlemesidir. Hipokampusun CA3 alanının öğrenme ve belleğin kalıcı hale getirilmesinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir [172]. Deklaratif belleğin edinilmesinde çok önemli bir işleve sahip olan hipokampusun [146] başta CA3 bölgesi olmak üzere hipokampal bölgedeki nöral devrelerin epizodik bellek oluşumunda önemli bir rol üstlendiği bilinmektedir [172-174]. Öğrenilmiş bilgiler hipokampusta kısa süreli depolanmasına karşın, hipokampusun bu bilgilerin uzun süreli belleğe aktarılırken pekiştirilmesinde üstlendiği önemli işlev, bu alanın hasarlanmasından sonra **anterograd amnezi** adı verilen yeni bellek oluşumunda bozukluklara neden olmaktadır. Hasardan öncesine ait bellek kusurları daha az görülürken, yeni motor becerileri öğrenme de ise zorluk çekilmemektedir [172].

2.3.4 Migren ve öğrenme-bellek

Migren ataklarla seyreden bir hastalık olup, bilişsel performansın önceki veya yaklaşan migren ataklarından geçici olarak olumsuz etkilenebileceği, aynı zamanda atak sonrası dönemde de bilişsel bozulmalar yaşanabileceği düşünülmektedir [175]. Migren hastalarının nöropsikolojik değerlendirmelerinin incelendiği 23 araştırmanın dahil edildiği bir çalışmada; araştırmaların çoğunda migren hastalarının kontrollere göre daha düşük bilişsel performansa sahip olduklarının bulunduğu değerlendirilmiştir. Aynı çalışmada, bildirilen en sık bilişsel değişikliklerin ise bozulmuş görsel ve işitsel hafıza, azalmış bilgi işleme hızı, yürütücü işlev bozuklukları ve dikkat eksikliği olduğu belirtilmiştir [176]. Ayrıca ağrı yolakları da göz önünde bulundurulduğunda, amigdala ve hipokampusun ağrıya verilen affektif ve kognitif cevabın oluşmasında önemli yapılar olabileceği ve trigeminal çekirdekten amigdala yoluyla hipokampusa olan indirekt projeksiyonların değişmiş kognisyona katkıda bulunabileceği düşünülmektedir [68]. Ancak literatürde, migrenli hastaların

sağlıklı kontrol grubuna göre daha iyi bilişsel performansa sahip olduğunu gösteren çalışmaların varlığı [177] konunun henüz netlik kazanmadığını düşündürmektedir.

2.3.5 Morris su labirenti testi

Prof. Dr. Richard Morris ve arkadaşları tarafından tasarlanan Morris su labirenti (Morris water maze, MWM) testi, sıçan ve fare gibi küçük kemirgenlerde hipokampusu bağlı mekansal öğrenme ve bellek araştırmaları için kullanılmaktadır [178]. NMDA reseptör işlevleri ve hipokampal sinaptik plastisite ile ilişkili güvenilir bir test olduğu kanıtlanmış olan MWM testi [179], deney hayvanının çevresel ipuçlarının yardımıyla, opaklaştırılmış su dolu dairesel bir tankta gizlenmiş platformu, en kısa sürede ve en kısa yolu kullanarak bulması esasına dayanmaktadır [180,181]. Modelde, hayvanların havuzdaki performansı, video kamera yardımıyla bilgisayar programı kullanılarak takip edilerek kaydedilmektedir [179]. Bu sistemle hayvanların platforma ulaşma süreleri, yüzerken kat ettikleri mesafe ve platform kadranında geçirilen zaman gibi birçok ölçüm yapılabilmektedir [182].

2.4 Migren ve Oksidatif Stres

Serbest radikaller, özellikle hücrede enerji üretimi için gerçekleşen reaksiyonlar sonucu oluşan, kısa ömürlü ve güçlü oksidan özelliğe sahip oksijen metabolitleridir. Serbest radikallerin hücrede birikmesi ya da çeşitli nedenlerle antioksidan seviyesinin azalması, bu radikallerin hücre membranına, hücre içi lipid ve proteinlere ayrıca nükleik asitlere hasar vermesine sebep olur. Hücrede serbest radikallerin yol açtığı yıkımı engellemek için kullanılan savunma mekanizmasını ise antioksidanlar oluşturmaktadır. Antioksidanlar, vitaminler gibi vücuda eksojen yolla alınabilirken, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) enzimleri gibi hücresel olarak da üretilirler [183,184].

Organizmada normal biyolojik şartlarda serbest radikaller ile antioksidanlar arasında bir denge vardır ve bu dengenin serbest radikaller lehine bozulması oksidatif stres olarak adlandırılmaktadır. Oksidatif stresin birçok hastalığın patofizyolojisinde rol oynadığı bilinmekte olup bunlardan bazıları ise kanser, nörolojik, kardiyovasküler ve inflamatuvar hastalıklardır [183,184]. Günümüzde migren patofizyolojisinde birçok faktörün rol oynadığı kabul edilmektedir ve oksidatif stres ile migren tetikleyicilerinin bağlantılı olabileceğine inanılmaktadır [185]. Beyin metabolik

faaliyetleri nedeniyle oksijen tüketimi fazla bir organdır ve aynı zamanda iyi bir serbest radikal üreticisidir [186]. Bu yüksek oksijen gereksinimi ve kullanımı sonucunda oluşabilecek oksidatif dengesizlik, migren patofizyolojisinde ki potansiyel bir etken olarak düşünülse de [187] daha fazla sayıda çalışmaya ihtiyaç duyulması nedeniyle henüz netlik kazanmamıştır [188].

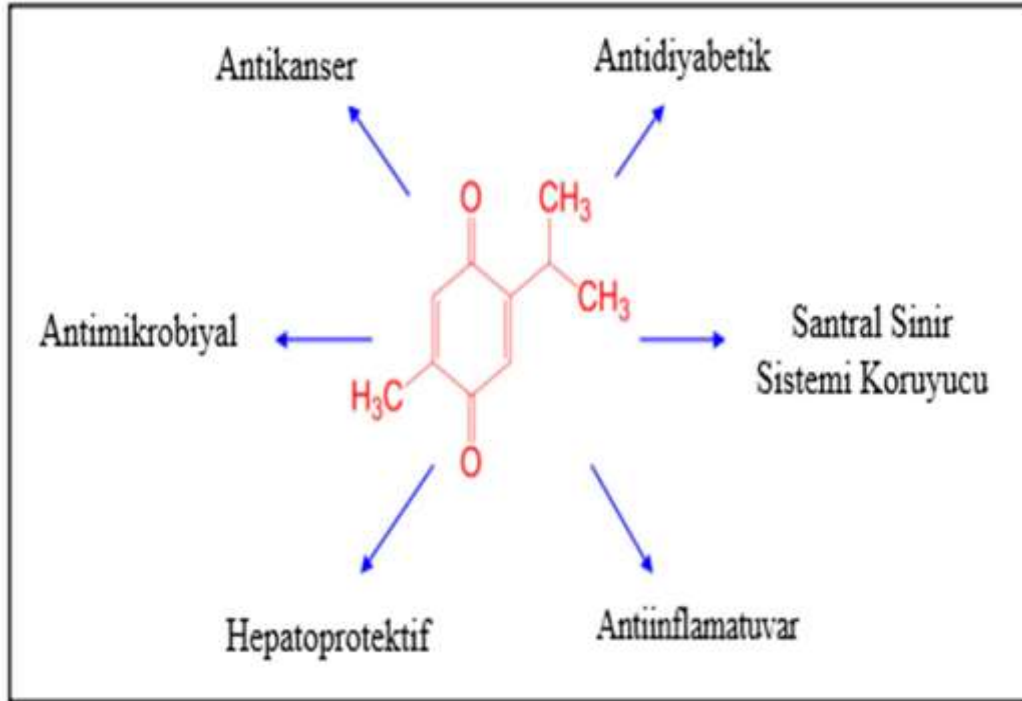
2.5 Timokinon

Tohumları çörekotu olarak bilinen *Nigella sativa*, 2000 yılı aşkın süredir bitkisel bir ilaç olarak kullanılmaktadır (Şekil 2.4). Daha çok Batı Asya, Orta Doğu, Doğu Avrupa ve Akdeniz ülkelerinde yetiştirilen *nigella sativa*, Ranunculaceae ailesine ait otsu bir bitkidir ve tohumları Orta Doğu, Hindistan ve Kuzey Afrika'da öksürük, astım, influenza, bronşit, ateş ve baş ağrısı tedavisinde geleneksel olarak kullanılmaktadır. Timokinon (TQ) ise *nigella sativa* tohumlarının uçucu yağında % 18.4-24 oranında bulunan ana biyoaktif bileşendir. Tanımlanmış birçok yararı bulunan TQ, 2-izopropil-5-metil-1,4-benzokinon kimyasal yapısına sahip, 164,204 g/mol molekül ağırlığında bir bileşiktir [16,189,190].

Klinik öncesi yapılan çalışmalarda TQ'nun antikanser, antimikrobiyal, antiinflamatuvar, antihistaminik ve immünomodülatör özellikleri gösterilmiştir [191,192]. Ayrıca antitussif, antidiyabetik, gastroprotektif, hepatoprotektif, kardiyoprotektif ve nefroprotektif etkilere sahip olduğu da bildirilmektedir [16,193]. Tüm bu özellikleri yanında antioksidan aktiviteye de sahip olan TQ'nun, süperoksit ve hidroksil radikallerini içeren reaktif oksijen türlerine karşı süpürücüsü etki gösterdiği de bildirilmektedir [194]. TQ'nun sinir sistemi üzerinde de koruyucu etkisi olduğu yapılmış çalışmalarda bildirilmiştir ve nöroprotektif özelliği araştırılan bir çalışmada serebral iskemi gibi nöral rahatsızlıklarda kullanılabilecek etkili bir bileşik olduğu gösterilmiştir (Şekil 2.5) [195]. *Nigella sativa* ve TQ'nun antinosiseptif özellikleri de araştırılmakta olup, nöropatik ağrı gibi çeşitli ağrı tiplerinde etkili oldukları bildirilmektedir [196].



Şekil 2.4 : Nigella sativa ve tohumları, Amin ve Hosseinzadeh (2016)'dan uyarlanmıştır.



Şekil 2.5 : Timokinonun kimyasal yapısı ve bazı biyolojik aktiviteleri, El-Far vd., (2018)'den uyarlanmıştır.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1 Deney Hayvanları ve Etik Onaylar

Çalışmada deney hayvanı olarak Bezmialem Vakıf Üniversitesi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilen 3 aylık, ağırlıkları 250-350 gram arasında değişen yetişkin erkek Wistar albino türü sıçan kullanıldı (Şekil 3.1). Deney hayvanı sayısı power analizi sonucunda; daha önceki çalışmalar referans alınarak ortalamalar arasındaki fark 17.00 birim ve standart sapma 9.00 alındığında, %95 güven düzeyi ve $\alpha = 0.05$ anlamlılık seviyesinde, %80 güç için $n1 = n2 = n3 = n4 = 6$ olarak belirlendi. Deney hayvanı sayısı Bezmialem Vakıf Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 18.06.2020 tarihli ve 2020/58 sayılı toplantısında tekrar değerlendirildi ve ölüm riski nedeniyle deney gruplarındaki sıçan sayısı birer artırılarak $n1 = 6$, $n2 = n3 = n4 = 7$ olacak şekilde değiştirildi ve onandı. Bu nedenle çalışmaya 27 adet hayvanla başlandı. Deney hayvanları çalışma öncesinde ve deney süresince 12 saat aydınlık/12 saat karanlık siklusuna uyarak, 22 ± 2 °C oda sıcaklığına sahip ortamda, standart kafeslerde ve sayıları en fazla 4 olacak şekilde Bezmialem Vakıf Üniversitesi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde barındırıldı. Beslenmeleri kısıtlama uygulanmaksızın standart sıçan yemi ve musluk suyu kullanılarak sağlandı (Şekil 3.2). Çalışma için Bezmialem Vakıf Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan etik onay alındı (Tarih: 18.06.2020, Sayı: 2020/58).



Şekil 3.1 : Çalışmada kullanılan deney hayvanları.



Şekil 3.2 : Deney hayvanlarının standart koşullarda barındırıldığı birim.

3.2 Deneyisel Uygulamalar

Deneye başlamadan bir gün önce tüm hayvanların ağırlıkları ölçüldü. Hayvanlar, ağırlıkları doğru orantılı olacak şekilde kontrol grubunda 6, deney gruplarının her birinde ise 7 sıçan olacak şekilde dört gruba ayrıldı. Tüm grupların isimlendirilmesi yapılarak, her bir gruptaki hayvan kuyruklarına işaretleme yapılmak suretiyle numaralandırıldı. Gruplar; kontrol (K) grubu, sadece nitrogliserin (NTG) uygulanan grup, sadece timokinon (TQ) uygulanan grup ve NTG ile birlikte TQ (NTG+TQ) uygulanan grup olacak şekilde oluşturuldu.

NTG ve NTG+TQ gruplarında migren modeli nitrogliserin (USP Reference Standards Diluted Nitroglycerin 5*200 mg) kullanılarak oluşturuldu. NTG, %0.9 izotonik sodyum klorür solüsyonu (SF) ile dilüe edilerek her bir hayvan için 10 mg/kg/1 ml olacak şekilde hazırlandı. TQ (Aldrich Chemistry Thymoquinone 99%) ise, mısır yağı içerisinde çözündürülerek her bir hayvan için 10 mg/kg/1 ml olacak şekilde hazırlandı. K ve NTG gruplarına 15 gün boyunca 1 ml mısır yağı gastrik gavaj ile uygulandı. TQ ve NTG+TQ gruplarına ise 15 gün boyunca 1 ml mısır yağı içerisinde 10 mg/kg TQ gastrik gavaj ile uygulandı.

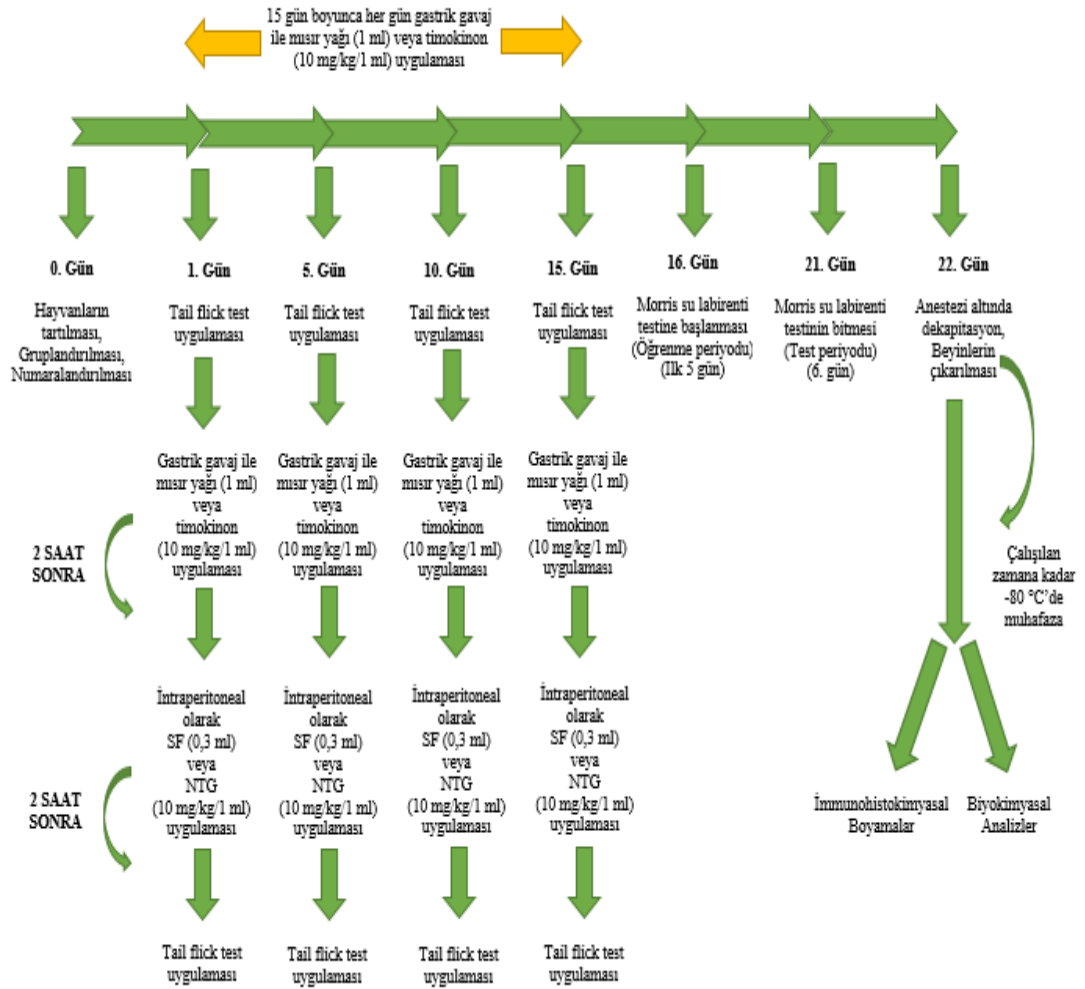
Tüm hayvanlara 1, 5, 10 ve 15. günlerde önce kuyruk hareketi testi (tail flick test) uygulandı. Ardından K ve NTG gruplarına mısır yağı (1 ml, gastrik gavaj), TQ ve NTG+TQ gruplarına TQ (10 mg/kg/1 ml, gastrik gavaj) uygulaması yapıldı. Bu işlemden 2 saat sonra, K ve TQ gruplarına SF (0.3 ml, intraperitoneal, i.p.) uygulaması, NTG ve NTG+TQ gruplarına ise NTG (10 mg/kg/1 ml, i.p.) uygulaması yapıldı (Şekil 3.3). Bu işlemlerden yine 2 saat sonra, tüm hayvanlara tail flick test uygulanarak tüm test sonuçları kayıt altına alındı. 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 11, 12, 13 ve 14. günlerde hayvanlara sadece gastrik gavaj ile TQ veya mısır yağı uygulaması yapıldı. Deneyin 16. gününde hayvanların mekansal öğrenme ve belleğini ölçmek için Morris su labirenti testine başlandı ve ilk 5 gün öğrenme periyodu, 6. gün test periyodu olacak şekilde gerçekleştirildi. Deneyin 22. gününde hayvanlar 10 mg/kg ksilazin (i.p.) ve 100 mg/kg ketamin (i.p.) ile oluşturulan genel anestezi altında dekapite edildi ve beyinleri çıkarıldı. Beyinlerin bir yarıküresi immunohistokimyasal boyamalar için, diğer yarıküresinin hipokampus bölgesi ise biyokimyasal analizler için kuru tüplere konularak çalışılan zamana kadar -80 °C’de saklandı (Şekil 3.4).

Gruplar ve gruplara yapılan uygulamalar özetle aşağıda belirtilmiştir.

1. **Kontrol (K) Grubu (n=6):** 15 gün boyunca 1 ml mısır yağı gastrik gavaj ile uygulanarak; 1, 5, 10 ve 15. günlerde SF (0.3 ml, i.p.) uygulaması yapılan grup.
2. **Nitrogliserin (NTG) Grubu (n=7):** 15 gün boyunca 1 ml mısır yağı gastrik gavaj ile uygulanarak; 1, 5, 10 ve 15. günlerde NTG (10 mg/kg/1 ml, i.p.) uygulaması yapılan grup.
3. **Timokinon (TQ) Grubu (n=7):** 15 gün boyunca 1 ml mısır yağı içerisinde 10 mg/kg timokinon gastrik gavaj ile uygulanarak; 1, 5, 10 ve 15. günlerde SF (0.3 ml, i.p.) uygulaması yapılan grup.
4. **Nitrogliserin+Timokinon (NTG+TQ) Grubu (n=7):** 15 gün boyunca 1 ml mısır yağı içerisinde 10 mg/kg timokinon gastrik gavaj ile uygulanarak; 1, 5, 10 ve 15. günlerde NTG (10 mg/kg/1 ml, i.p.) uygulaması yapılan grup.



Şekil 3.3 : İntraperitoneal enjeksiyon uygulaması.



Şekil 3.4 : Deney protokolü.

3.3 Kuyruk Hareketi Testi (Tail Flick Test)

Tail flick test cihazı, fare ve sıçan gibi kemirgenlerde ağrı eşiğini belirlemek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Cihazda, hayvanın kuğuğuna radyant ısı uygulamak için tasarlanmış bir alan bulunmaktadır. Kuyruğun bu alana yerleştirilmesiyle manuel olarak başlatılan ısı uygulaması, hayvanın kuğuğunu çekmesiyle cihaz tarafından otomatik olarak sonlandırılmaktadır. Isı uygulamasının başlatıldığı andan hayvanın kuyruğunu çekmesiyle sonlanan bu süreçte geçen zaman da cihaz tarafından otomatik olarak hesaplanmaktadır. Biz de çalışmamızda ağrı eşiğini tespit etmek için tail flick test cihazı (UGO BASILE Tail Flick 37360) kullandık (Şekil 3.5). Öncelikle doku hasarını önlemek için sonlandırma süresi (cut off time) 15 sn olarak ayarlandı. Ardından ölçüm yapılacak hayvan ölçümün hemen öncesinde sabitleyici içine alındı ve kuyruğunun 1/3'lük distal kısmı radyant ısı uygulanan alana yerleştirildi. En doğru sonuca ulaşmak adına cihaz yüzeyinin ve hayvanın kuyruğunun kuru olmasına özen gösterildi. Hayvanın sakinleşmesi için bir süre beklendikten sonra ısı uygulaması başlatıldı. Her bir hayvan için 3'er ölçüm gerçekleştirildi. Stimülasyona başlanması ile kuyruğun çekilmesi arasındaki süre her bir ölçüm için kaydedildi ve ölçümlerin ortalaması ağrı eşiği olarak kabul edildi (Şekil 3.6). Tail flick test, her bir hayvan için deneyin 1, 5, 10 ve 15. günlerinde gastrik gavaj ile mısır yağı veya TQ uygulamasından hemen önce ve i.p. olarak uygulanan SF veya NTG uygulamasından 2 saat sonra gerçekleştirildi.



Şekil 3.5 : Tail flick test cihazı.



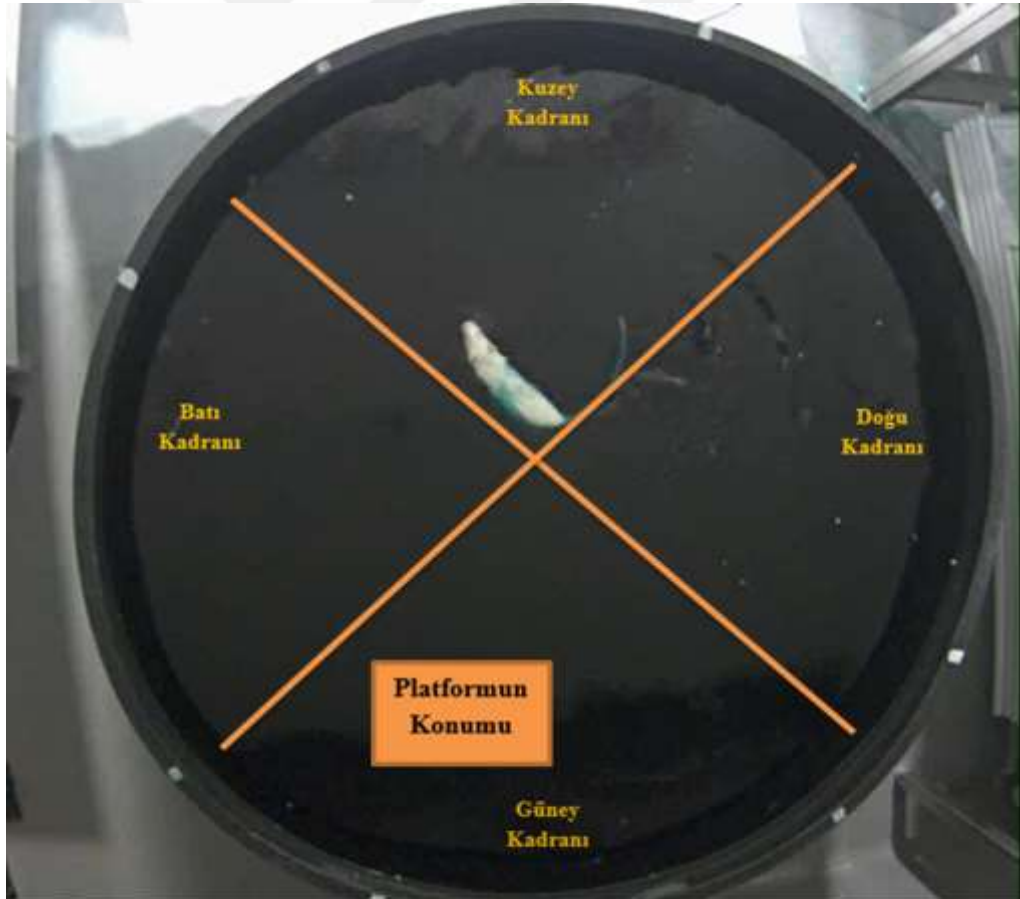
Şekil 3.6 : Tail flick test cihazında ağrı eşiği ölçümü.

3.4 Morris Su Labirenti Testi

Morris su labirenti testi, küçük kemirgenlerde hipokampusa bağlı mekansal öğrenme ve bellek araştırmaları için kullanılmaktadır. Morris su labirenti, kesişen iki dikey çizgi ile sanal olarak kuzey, güney, doğu ve batı olmak üzere dört eşit kadrana bölünmüş dairesel siyah bir havuzdur (210 cm çapında, 51 cm yüksekliğinde). Testi uygulamak için havuz 45 cm derinliğe kadar su (23 ± 1 ° C) ile dolduruldu ve su, hayvanın platformu görmemesi için toksik olmayan yeşil ve mavi renkli gıda boyaları kullanılarak opaklaştırıldı. Bir kaçış platformu (pleksiglastan yapılmış, 11 cm x 11 cm boyutlarında) güney kadrana, su yüzeyinin 2 cm altına gelecek şekilde yerleştirildi ve tüm deney süresince aynı konumda durması sağlandı (Şekil 3.7). Labirentin etrafına deney süresince sabit kalacak şekilde, hayvanların gezinmesine ve platformun yerini öğrenmelerine yardımcı olmak amacıyla görsel ipuçları yerleştirildi (Üçgen gibi geometrik şekiller). Hayvanların çevreden etkilenmemesi için deney alanı bir perde yardımıyla deney süresince sınırlandırıldı.

Test, ilk 5 gün öğrenme periyodu ve son gün test periyodu olmak üzere toplam 6 gün sürecek şekilde uygulandı. Öğrenme periyodunda, her bir sıçan için 5 gün boyunca 4'er deneme gerçekleştirildi. Her denemede sıçan rastgele dört konumdan (kuzey, güney, doğu, batı) birinden serbest bırakıldı. Hayvanın platformu bulana kadar 60

saniye boyunca yüzmesine izin verildi. İlk gün platformu bulamayan hayvanlara, platforma doğru yüzdürmek ve çevredeki görsel ipuçlarını göstermek suretiyle platform yeri tanıtıldı. Hayvanlar platform üzerine çıktığında da 10 saniye boyunca platformda beklemelerine ve çevredeki görsel ipuçlarını izlemelerine müsaade edildi. Deney süresince, hayvanları takip etmek ve verileri kaydetmek için bilgisayarlı bir video izleme sistemi (EthovisionXT11 Sistemi, Noldus Bilgi Teknolojisi, Wageningen, Hollanda) kullanıldı. Platforma ulaşmak için geçen süre, yüzme yolunun uzunluğu ve yüzme hızı havuzun tamamını gören bu bilgisayarlı video izleme sistemi tarafından deney süresince kaydedildi. Test periyodunda (altıncı gün) platform kaldırıldı ve hayvanlar sırayla platform kadrânının karşısından suya bırakıldı. Her bir hayvanın havuzda 60 saniye boyunca yüzmesine izin verildi. Platform kadrânında harcanan zaman, gruplar arasında karşılaştırılmak üzere aynı video sistemi tarafından kaydedildi.



Şekil 3.7 : Morris su labirenti, sanal olarak oluşturulan kadrânlar ve platformun konumu.

3.5 Biyokimyasal Analizler

3.5.1 Numunelerin eldesi

Çalışma için 27 adet sıçandan beyin doku örnekleri alındı ve kuru tüplere konularak çalışılacak zamana kadar -80 °C’de saklandı. Deneylerin yapılacağı gün, eşit ağırlıktaki örneklerin üzerlerine 1’er mL fosfat tamponu (PBS, pH 7.4) eklendi. Doku örnekleri homojenizasyon cihazında 30 m/s ile 5 dakika boyunca homojenize edildi (FastPrep-24 homogenizer, MP Biomedicals, Yeni Zellanda). Örnekler daha sonra 10 dakika 10.000 x rpm’de santrifüj edildi. Üst süpernatantları alınan örneklerde Bradford yöntemi ile total protein miktar tayinleri 595 nm dalga boyunda plak okuyucuda (Thermo Scientific Multiskan FC, 2011-06, ABD) ölçüldü. Doku homojenatlarında cyclic AMP response element binding protein 1 (CREB1), brain derived neutrophic factor (BDNF), catalase ve süperoksid dismutase (SOD) seviyeleri ticari olarak elde edilen kitler ile ölçüldü.

3.5.2 Gereçler

- Santrifüj (Nüve NF1200, Nüve NF1200R)
- Distile Su Cihazı (Nüve Water Distiller-ND112)
- Vorteks (BioCote Voortex Mixer SA8, bibby scientific, UK)
- Orbital Karıştırıcı (Biosan, OS-20, EU)
- Etüv (Nüve Cooled Incubator, ES120)
- Manyetik Karıştırıcı (Stuart heat stir, CB162, bibby scientific, UK)
- -80°C Derin Dondurucu (New Brunswick Scientific. C54285 model)
- ELISA Okuyucusu (Thermo Scientific Multiskan FC, 2011-06, USA)
- ELISA Yıkayıcısı (Thermo Scientific WellWash microplate washer, 2011-08,USA)
- Pipet (1000, 500, 200,100,10 uL’lik; Gilson)
- 8’li Multipipet
- Pipet Uçları (1000, 200,100,10 uL’lik)

3.5.3 Kullanılan kitler

- Rat cyclic AMP response element binding protein 1 (CREB1), ELISA kiti (Elabscience Co. ABD, Cat Num: E-EL-R0289)

- Rat brain derived neutrophic factor (BDNF), ELISA kiti (Elabscience Co. ABD, Cat Num: E-EL-R1235)
- Catalase (CAT) activity assay kit (Elabscience Co. ABD, Cat Num: E-BC-K031-S)
- Total superoxide dismutase (T-SOD) Activity kit (Elabscience Co. ABD, Cat Num: E-BC-K020-M)

3.5.4 CREB1 test protokolü

- Çalışmaya başlamadan önce örnekler ve kit oda ısısına getirildi.
- 7 adet standart; kitin içerisinde bulunan 20 pmol/mL'lik stok standardın seri dilüsyonu ile elde edildi. Ardından 100 µl olacak şekilde her bir standart pipetlendi.
- Antikor ile kaplı mikrolaktaki örnek kuyucuklarına 100'er µl örnek pipetlendikten sonra mikrolak 90 dk 37 °C'de inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyonun ardından tüm kuyucuklara 100 µl '**Biotinylated Detection Ab working solution**' konuldu.
- Mikrolak, 37 °C'de 1 saat inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyonun ardından kit içerisinde bulunan 30X lik yıkama solüsyonu dsu ile hazırlandıktan sonra, mikrolak 3 kez (350 µl) yıkandı.
- Tüm kuyucuklara 100 µl '**HRP conjugate working solution**' pipetlendi. Ardından mikrolak 37 C°'de 15 dakika ışık almayacak şekilde inkübe edildi.
- Tüm kuyucuklara 50 µl '**Stop Solution**' pipetlendi.
- Mikrolak bekletilmeden 450 nm absorbansda plak okuyucuda (Thermo Scientific Multiskan FC, 2011-06, USA) okundu. Absorbansların konsantrasyon değerleri; lineer olarak elde edilen standart grafiği ile hesaplandı.

3.5.5 BDNF test protokolü

- Çalışmaya başlamadan önce örnekler ve kit oda ısısına getirildi.
- 7 adet standart; kitin içerisinde bulunan 2000 pg/mL'lik stok standardın seri dilüsyonu ile elde edildi. Ardından 100 µl olacak şekilde her bir standart pipetlendi.
- Antikor ile kaplı mikrolaktaki örnek kuyucuklarına 100'er µl örnek pipetlendikten sonra mikrolak 90 dk 37 °C'de inkübasyona bırakıldı.

- İnkübasyonun ardından tüm kuyucuklara 100 µl '**Biotinylated Detection Ab working solution**' konuldu.
- Mikroplak, 37 °C'de 1 saat inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyonun ardından kit içerisinde bulunan 30X lik yıkama solüsyonu dsu ile hazırlandıktan sonra, mikroplak 3 kez (350 µl) yıkandı.
- Tüm kuyucuklara 100 µl '**HRP conjugate working solution**' pipetlendi. Ardından mikroplak 37 C°'de 15 dakika ışık almayacak şekilde inkübe edildi.
- Tüm kuyucuklara 50 µl '**Stop Solution**' pipetlendi.
- Mikroplak bekletilmeden 450 nm absorbansda plak okuyucuda (Thermo Scientific Multiskan FC, 2011-06, USA) okundu. Absorbansların konsantrasyon değerleri; lineer olarak elde edilen standart grafiği ile hesaplandı.

3.5.6 Katalaz aktivitesi test protokolü

Katalaz (CAT), organizmada hidrojen peroksiti verimli ve spesifik olarak parçalayabilen bir enzimdir ve yardımcı grup olarak demir porfirin ile bağlayıcı bir enzimdir. CAT vücuttaki hidrojen peroksiti temizler ve hücreleri H₂O₂'nin toksisitesinden korur. Ayrıca formaldehit, formik asit, fenol ve etanol gibi belirli sitotoksik maddeleri oksitleyebilir. Katalitik merkez yapısının farklılığına göre, CAT iki tipe ayrılabilir: bunlardan biri demir porfirin yapısı, ayrıca demir porfirin enzimi olarak bilinir; diğeri manganez katalaz olarak da bilinen manganez iyonu içerir. CAT solunum yapan organizmalarda yaygındır. Esas olarak hayvanların kloroplast, mitokondri, endoplazmik retikulum, karaciğer ve kırmızı kan hücrelerinde bulunur.

Katalazın H₂O₂'yi parçaladığı reaksiyon, amonyum molibdat tarafından hızla durduruldu. CAT aktivitesi, 405 nm'de sarımsı kompleksin üretilmesiyle hesaplandı. Çalışma öncesinde reaktif 1 ve reaktif 2 37°C'de 10 dakika inkübe edildi. Reaktif 3 uygulama solüsyonu 60 mL distile suda çözüldü.

Deney sonunda alınan Katalaz ifadesi: 37°C'de dakikada 1 µmol H₂O₂'i ayrıştıran, 1 mg doku proteinindeki CAT miktarı 1 unite olarak tanımlanır.

- Deney öncesinde örnekler ve kit oda ısısına getirildi. Kontrol için 100 µL reaktif 1 kuyucuğa pipetlendi.
- Doku homojenatları 5'er µL kuyucuklara pipetlendikten sonra 200 µL reaktif 1 üzerlerine eklendi.
- Plak 37 °C'de 5 dakika inkübe edildi.

- Her kuyucuğa 100 µL reaktif 2 eklendi ve 1 dakika boyunca 37°C'de inkübasyona bırakıldı.
- Ardından 50 µL reaktif 3 ve 50 µL reaktif 4 kuyucuklara pipetlendikten sonra plak karıştırılarak 10 dakika inkübasyona bırakıldı.

Hesaplama: Katalaz aktivitesi (U/mL): $\frac{\Delta A \times 32.5}{1 \times V} / C_{pr}$

$$1 \times V$$

32.5: Eğimin karşılığı

C_{pr}: numunedeki total protein konsantrasyonu

3.5.7 Total SOD aktivitesi test protokolü

Süperoksit dismutaz, hücreleri aşırı süperoksitten korumak için oksijen metabolize eden hücrelerde bulunur. SOD'un etkisi altında, iki süperoksit anyonu oksijen ve hidrojen peroksit'e dönüştürülür. Memelilerde üç farklı SOD formu vardır: CuZn-SOD, Mn-SOD ve EC-SOD (SOD'un hücre dışı bir formu). Cu-Zn SOD, hücrelerin sitoplazmik ve mitokondriyal membran boşluklarında bulunurken, Mn-SOD mitokondriyal matriste bulunur.

- Deney öncesi örnekler ve kit oda ısısına getirildi. Kontrol kuyusu: 20 µL distile su ve 20 µL enzim eklendi. Blank kontrol kuyusu: 20 µL distile su ve 20 µL enzim seyreltici pipetlendi.
- Diğer kuyucuklara 20'şer µL numune ve 20 µL enzim çalışma solüsyonu pipetlendi.
- Her kuyucuğa çok kanallı bir pipet ile 200 µL substrat uygulama solüsyonu eklendi ve karıştırıldı.
- Plak, 37°C'de 20 dakika inkübe edildi ardından mikropłaka okuyucu ile 450 nm'de ölçüm alındı.

Hesaplama: $i = \frac{(A_{kontrol} - A_{blank kontrol}) - (A_{örnek} - A_{blank kontrol})}{(A_{kontrol} - A_{blank kontrol})} \times \%100$

$$(A_{kontrol} - A_{blank kontrol})$$

T-SOD aktivitesi (U/mgprot): $i / \%50 \times \frac{V1}{V2} \times C_{pr}$

$$V2$$

i: SOD inhibisyon oranı (%).

V1: Toplam reaksiyon hacmi, 240 µL.

V2: Reaksiyona eklenen numunenin hacmi, 20 µL.

Cpr: Numunenin protein konsantrasyonu, mgprot/mL.

3.6 İmmunohistokimyasal Boyamalar

Astrosit aktivasyonunun immunofloresan ile belirlenmesi için aşağıda belirtilen işlemler gerçekleştirilmiştir.

Astrositlerde bulunan ara filamanlardan olan GFAP nöronal hasarda astrogliozis veya astrosit hasarının belirteci olarak kullanılmaktadır. Migren modelinde ve TQ'nun tedavi etkinliğinin astrogliozis üzerindeki etkisini ölçmek için GFAP immunohistokimyası yapıldı. İlk olarak elde edilen beyin dokularından hipokampal bölgeye denk gelen koordinatlarda kryostat yardımı ile 20 mikrometre kalınlığında kesitler alındı (Şekil 3.8, Şekil 3.9). Kesitler lam üzerine iyice yapıştıktan sonra boyamalar yapılncaya kadar -80°C 'ye kaldırıldı (Şekil 3.10).

Boyama yapılacağı gün -80°C 'ye kaldırılan kesitler çıkarıldı ve 37°C 'de 30 dakika boyunca inkübe edilerek kurutuldu. Daha sonra kesitler 20 dakika boyunca %4'lük paraformaldehid (PFA) solüsyonunda bekletilerek fikse edildi. PFA'dan alınan kesitler 3 kere 5'er dakika olacak şekilde fosfat-saline tamponu ile karıştırıcı üzerinde bekletilerek yıkandı. Antijenlerin serbestleşmesi için kesitler 15 dakika boyunca sitrat tamponunda kaynatıldı ve bunu takiben 15 dakika boyunca sitrat tampon içerisinde soğutuldu. Antijen serbestleştirilmesi yapılan kesitler yine 3 kere 5'er dakika olacak şekilde fosfat-saline tamponu ile yıkandı. %0.3'lük Triton içeren fosfat-saline tamponu içerisinde %10'luk normal keçi serumu ile hazırlanmış bloklama solüsyonu ile kesitler oda ısısında 1 saat boyunca inkübe edildi. Bloklamadan çıkan kesitler %2'lik normal keçi serumu içeren fosfat-saline tampon içerisinde hazırlanmış GFAP antikoru (1:100, GFAP conjugated Alexa 555, #3656, Cell signaling) eklenerek gece boyu 4°C 'de inkübasyona bırakıldı. Ertesi gün kesitler 4 kere 5'er dakika olacak şekilde fosfat-saline tamponu ile karıştırıcı üzerinde bekletilerek yıkandı. Çekirdek boyaması için kesitler üzerine içerisinde DAPI bulunan kapatma medyumunu ile kapatılarak kurumaya bırakıldı. Kuruyan kesitlerden floresan mikroskopu (Zeiss mikroskop) altında GFAP pozitif hücreler görüntülendi ve hipokampal bölgedeki pozitif hücreler sayıldı.



Şekil 3.8 : Kriyostat cihazı.



Şekil 3.9 : Kriyostat cihazında kesit alma işlemi.



Şekil 3.10 : Lam üzerine alınan kesitler.

3.7 İstatistiksel Analiz

Elde edilen tüm veriler Instat İstatistiksel Paket Programı (Instat Graphad Software, San Diago, CA, USA) aracılığı ile analiz edildi. Veriler tek yönlü varyans analizi uygulanarak Benforroni'nin çoklu karşılaştırma testi ile değerlendirildi ve değerler $\pm$ standart sapma olarak verildi. $P < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

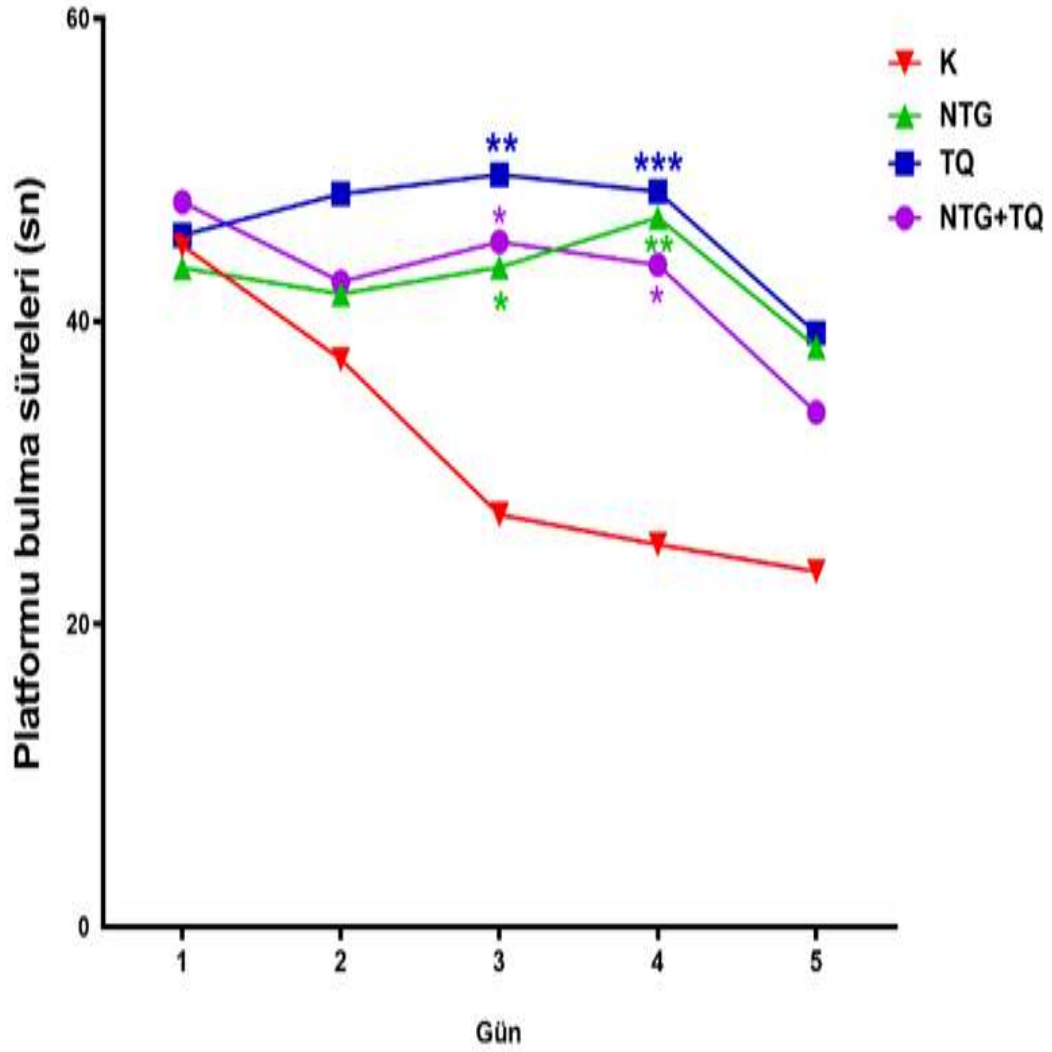
4.1 Tail Flick Testi Bulguları

Tüm deney hayvanlarına 1, 5, 10 ve 15. günlerde, gavaj ile mısır yağı ve TQ uygulamasından hemen önce ve i.p. yolla NTG ve SF uygulamasından 2 saat sonra tail flick test uygulandı. Ancak ölçüm sonuçlarının grup içinde ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edildi ($P>0.05$).

4.2 Morris Su Labirenti Testi Bulguları

4.2.1 Deney hayvanlarının öğrenme periyodunda platformu bulma süreleri

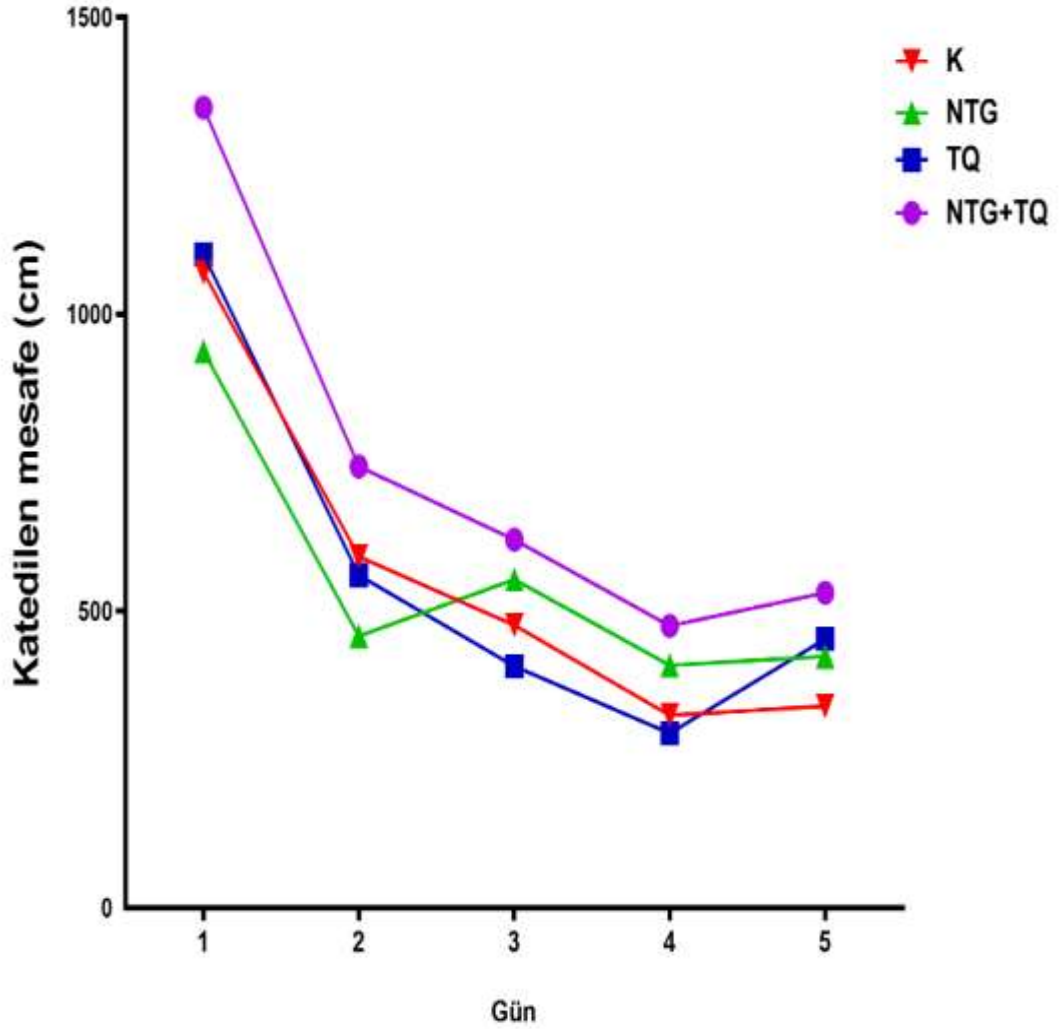
Morris su labirenti testinin öğrenme periyodunda sıçanların 5 gün boyunca, tankın içindeki gizli platformu bulma süreleri kaydedildi. TQ grubunda 1. güne kıyasla platformu bulma süresinin 3. (** $p<0.01$) ve 4. (** $p<0.001$) günlerde anlamlı olarak azaldığı belirlendi. NTG+TQ grubu da 1. güne kıyasla 3 ve 4. günlerde anlamlı (* $p<0.05$) olarak azaldı. NTG grubunun platformu bulma süresinin ise, 2. güne kıyasla 3. (* $p<0.05$) ve 4. (** $p<0.01$) günlerde anlamlı olarak arttığı tespit edildi (Şekil 4.1).



Şekil 4.1 : Deney gruplarının (K; Kontrol, NTG; Nitrogliserin, TQ; Timokinon, NTG+TQ; Nitrogliserin+Timokinon) Morris su labirenti testinin öğrenme periyodundaki platformu bulma süreleri (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, istatistiksel anlamlılık).

4.2.2 Deney hayvanlarının öğrenme periyodunda katettikleri mesafe

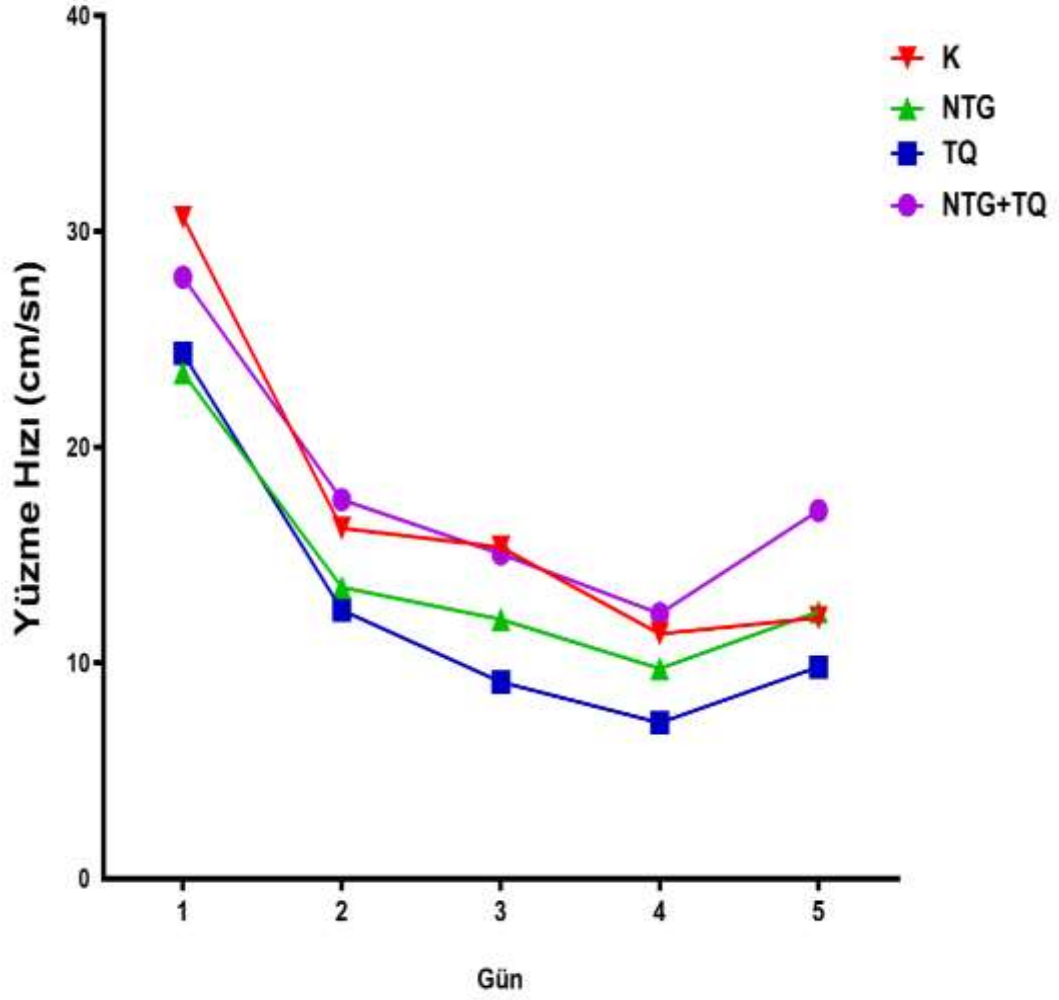
Öğrenme periyodunda deney hayvanlarının su tankında katettikleri mesafe kaydedildi. Ancak katedilen mesafelerin, grup içi karşılaştırmalarda deneyin ilk gününe göre anlamlı bir fark oluşturmadığı tespit edildi (Şekil 4.2).



Şekil 4.2 : Deney gruplarının (K; Kontrol, NTG; Nitrogliserin, TQ; Timokinon, NTG+TQ; Nitrogliserin+Timokinon) Morris su labirenti testinin öğrenme periyodundaki katettikleri mesafe.

4.2.3 Deney hayvanlarının öğrenme periyodundaki yüzme hızları

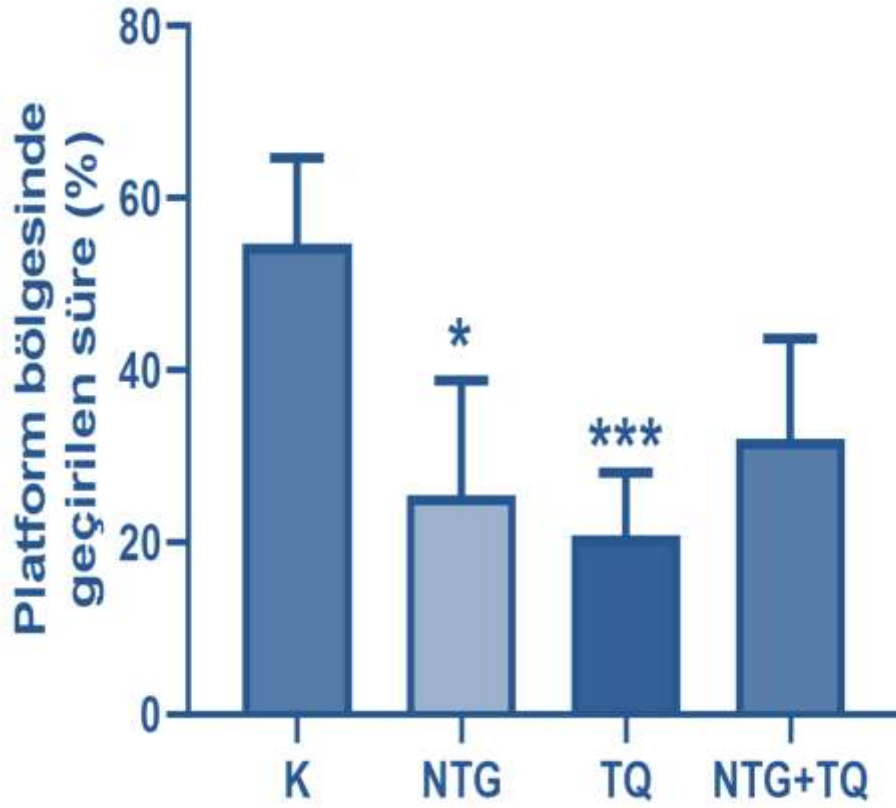
Morris su tankı testinin öğrenme periyodunda deney hayvanlarının yüzme hızları kaydedildi. Ancak yüzme hızlarının, grup içi karşılaştırmalarda deneyin ilk gününe göre anlamlı bir fark oluşturmadığı tespit edildi (Şekil 4.3).



Şekil 4.3 : Deney gruplarının (K; Kontrol, NTG; Nitrogliserin, TQ; Timokinon, NTG+TQ; Nitrogliserin+Timokinon) Morris su labirenti testinin öğrenme periyodundaki yüzme hızları.

4.2.4 Deney hayvanlarının test periyodunda platform bölgesinde geçirdikleri süre

Moris su labirenti testinin 6. gününde (test periyodu) tankta bulunan gizli platform kaldırıldı ve deney hayvanlarının platform bölgesinde geçirdiği süre ölçülerek tankta geçirdiği toplam süreye olan yüzdesi hesaplandı. Platform bölgesinde geçirilen sürenin kontrol grubuna göre kıyaslandığında NTG ($p<0.05$) ve TQ ($p<0.001$) gruplarında anlamlı olarak azaldığı tespit edildi (Şekil 4.4).

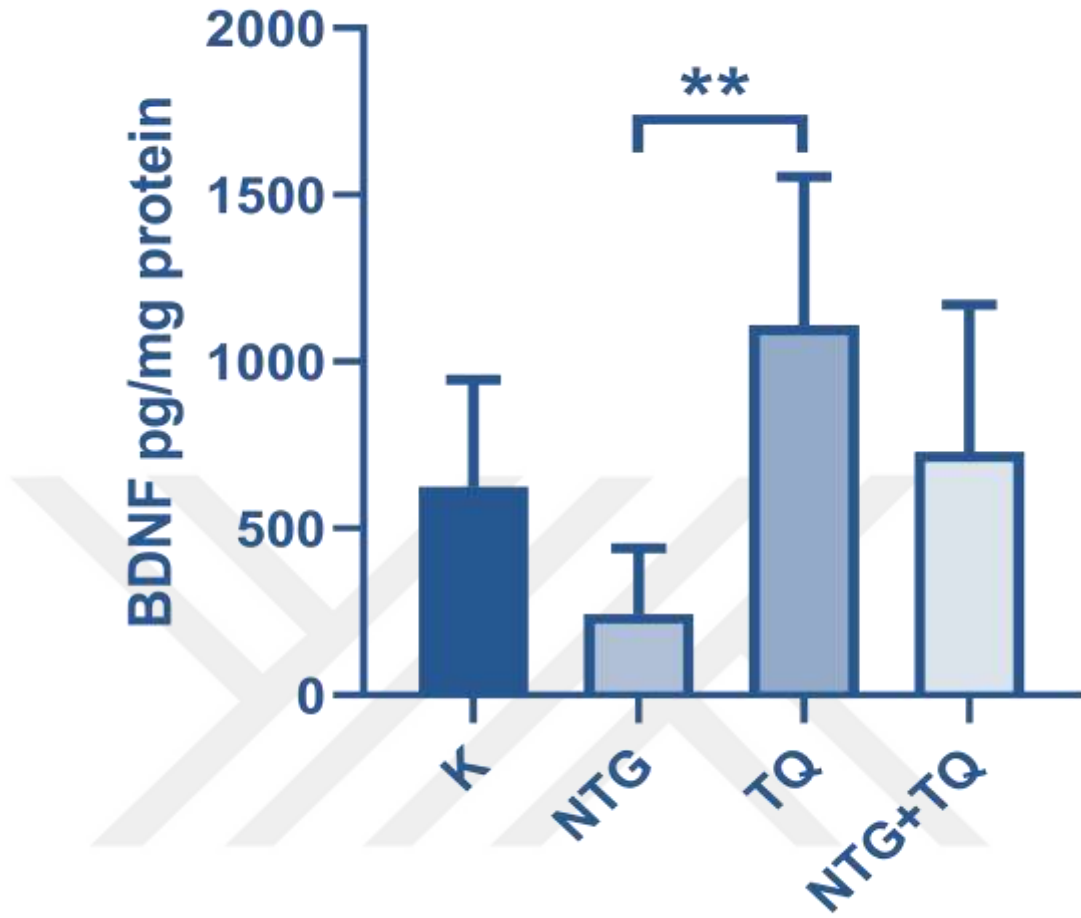


Şekil 4.4 : Deney gruplarının (K; Kontrol, NTG; Nitrogliserin, TQ; Timokinon, NTG+TQ; Nitrogliserin+Timokinon) Morris su labirenti testinin test periyodunda platform bölgesinde geçirdikleri sürenin tankta toplam geçirdikleri süreye yüzdesi (* $p<0.05$, *** $p<0.001$, istatistiksel anlamlılık, Kontrol grubuna göre).

4.3 Biyokimyasal Bulgular

4.3.1 Hipokampus dokusunda BDNF düzeyi

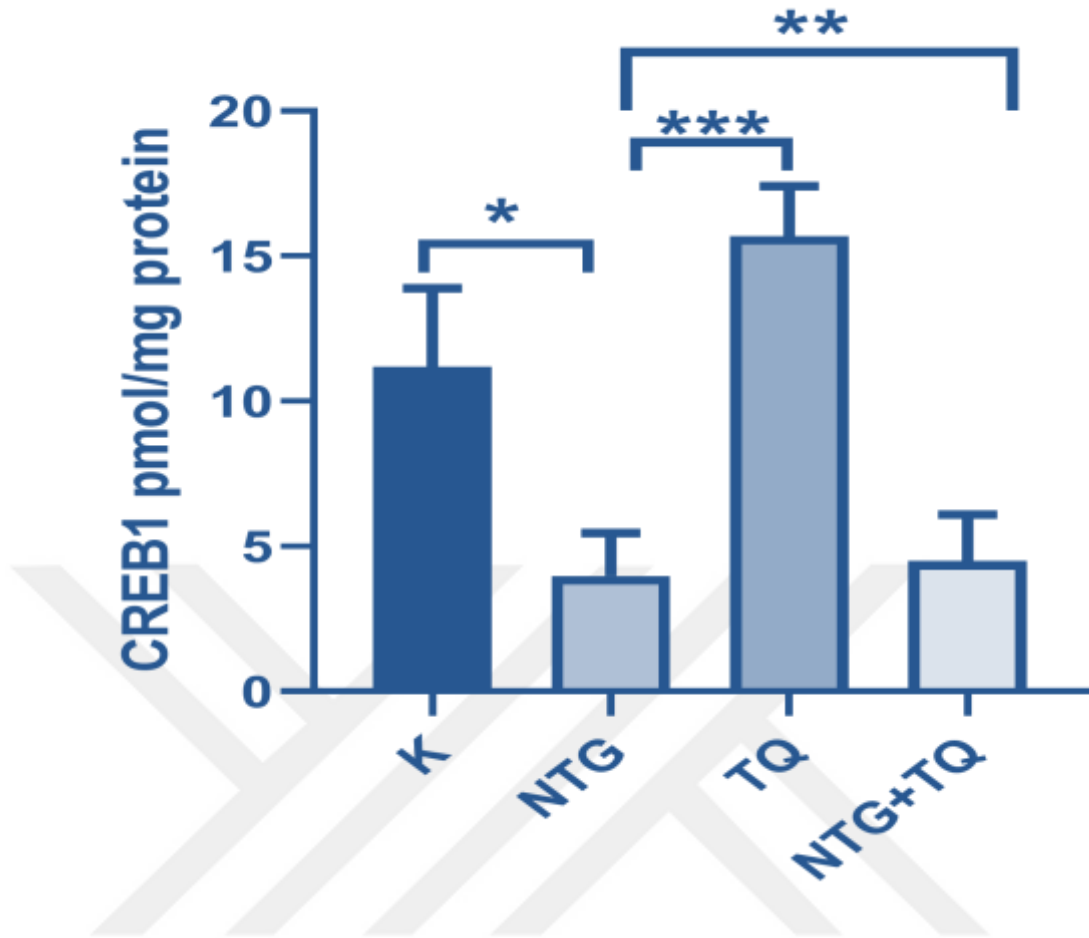
Hipokampus doku örneklerinde, öğrenme-bellek mekanizmasını değerlendirmek için BDNF seviyesi ölçüldü. BDNF seviyesi kontrol grubuna göre kıyaslandığında, NTG grubunda azalma olduğu fakat istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edildi. TQ ve NTG+TQ grupları yine kontrol grubuna göre kıyaslandığında bir miktar artış olduğu, fakat istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulundu. BDNF seviyeleri NTG grubuna göre kıyaslandığında ise hem TQ hem de NTG+TQ gruplarında artış olduğu fakat bu artışın sadece TQ grubunda istatistiksel olarak anlamlı (** $p<0.01$) olduğu tespit edildi (Şekil 4.5).



Şekil 4.5 : Deney gruplarının (K; Kontrol, NTG; Nitrogliserin, TQ; Timokinin, NTG+TQ; Nitrogliserin+Timokinin) hipokampus BDNF düzeyleri (** $p < 0.01$, istatistiksel anlamlılık).

4.3.2 Hipokampus dokusunda CREB1 düzeyi

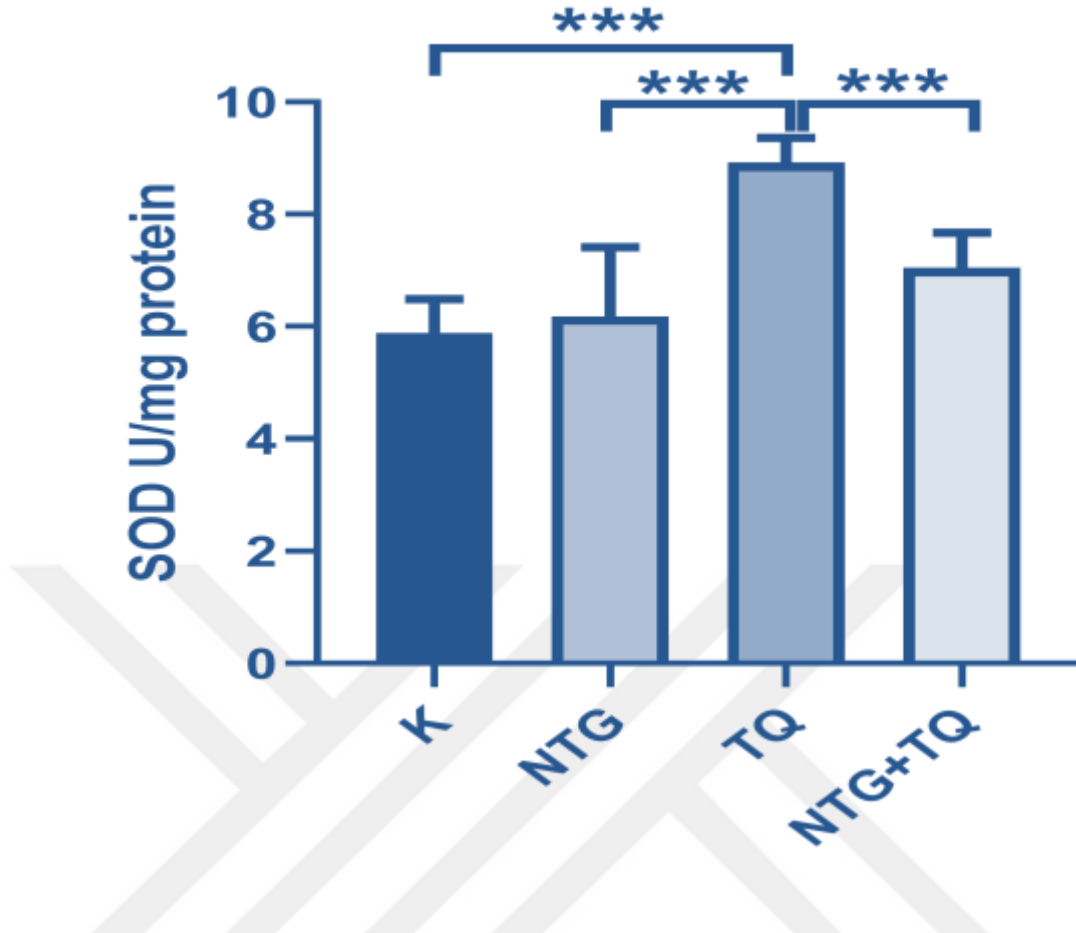
Hipokampus doku örneklerinde, öğrenme-bellek mekanizmasını değerlendirmek için CREB1 seviyesi ölçüldü. CREB1 seviyesi kontrol grubuna göre kıyaslandığında, NTG ve NTG+TQ gruplarında azalma olduğu, ancak bu azalmanın sadece NTG grubunda istatistiksel olarak anlamlı ($*p < 0.05$) olduğu belirlendi. Gruplar NTG grubuna göre kıyaslandığında ise hem TQ ($***p < 0.001$) hem de NTG+TQ ($**p < 0.01$) gruplarında anlamlı bir artış olduğu tespit edildi (Şekil 4.6).



Şekil 4.6 : Deney gruplarının (K; Kontrol, NTG; Nitrogliserin, TQ; Timokinon, NTG+TQ; Nitrogliserin+Timokinon) hipokampus CREB1 düzeyleri (* $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$, istatistiksel anlamlılık).

4.3.3 Hipokampus dokusunda SOD düzeyi

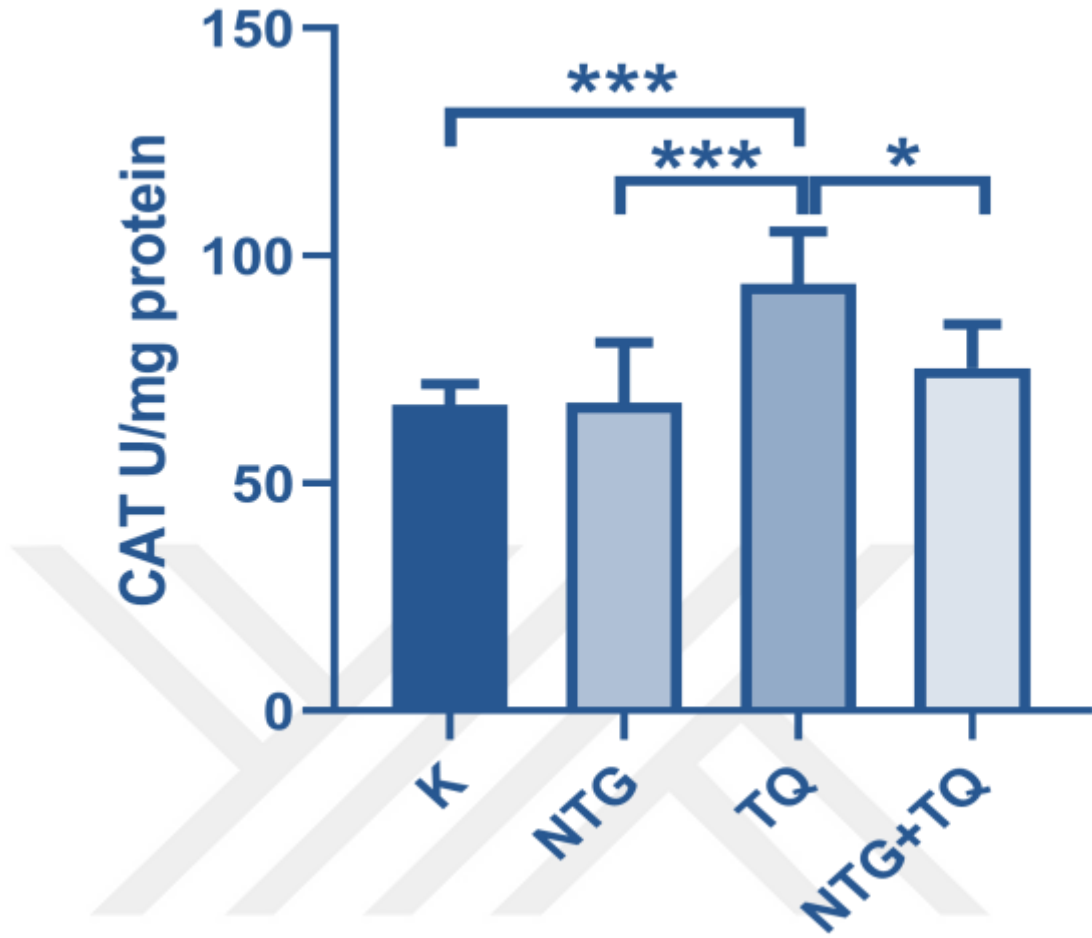
Hipokampus doku örneklerinde, hücresel endojen antioksidan düzeylerini tespit etmek için süperoksit dismutaz (SOD) düzeyleri ölçüldü. SOD düzeyleri kontrol grubuna göre kıyaslandığında, sadece TQ grubunda istatistiksel olarak anlamlı (** $p<0.001$) bir artış olduğu görüldü. Gruplar NTG grubu ile kıyaslandığında ise, yine TQ grubunda istatistiksel olarak anlamlı (** $p<0.001$) bir artışın olduğu belirlendi. TQ grubundaki SOD düzeyi artışının NTG+TQ grubuyla kıyaslandığında da istatistiksel olarak anlamlı (** $p<0.001$) olduğu tespit edildi (Şekil 4.7).



Şekil 4.7 : Deney gruplarının (K; Kontrol, NTG; Nitrogliserin, TQ; Timokinon, NTG+TQ; Nitrogliserin+Timokinon) hipokampus SOD düzeyleri (** $p < 0.001$, istatistiksel anlamlılık).

4.3.4 Hipokampus dokusunda CAT düzeyi

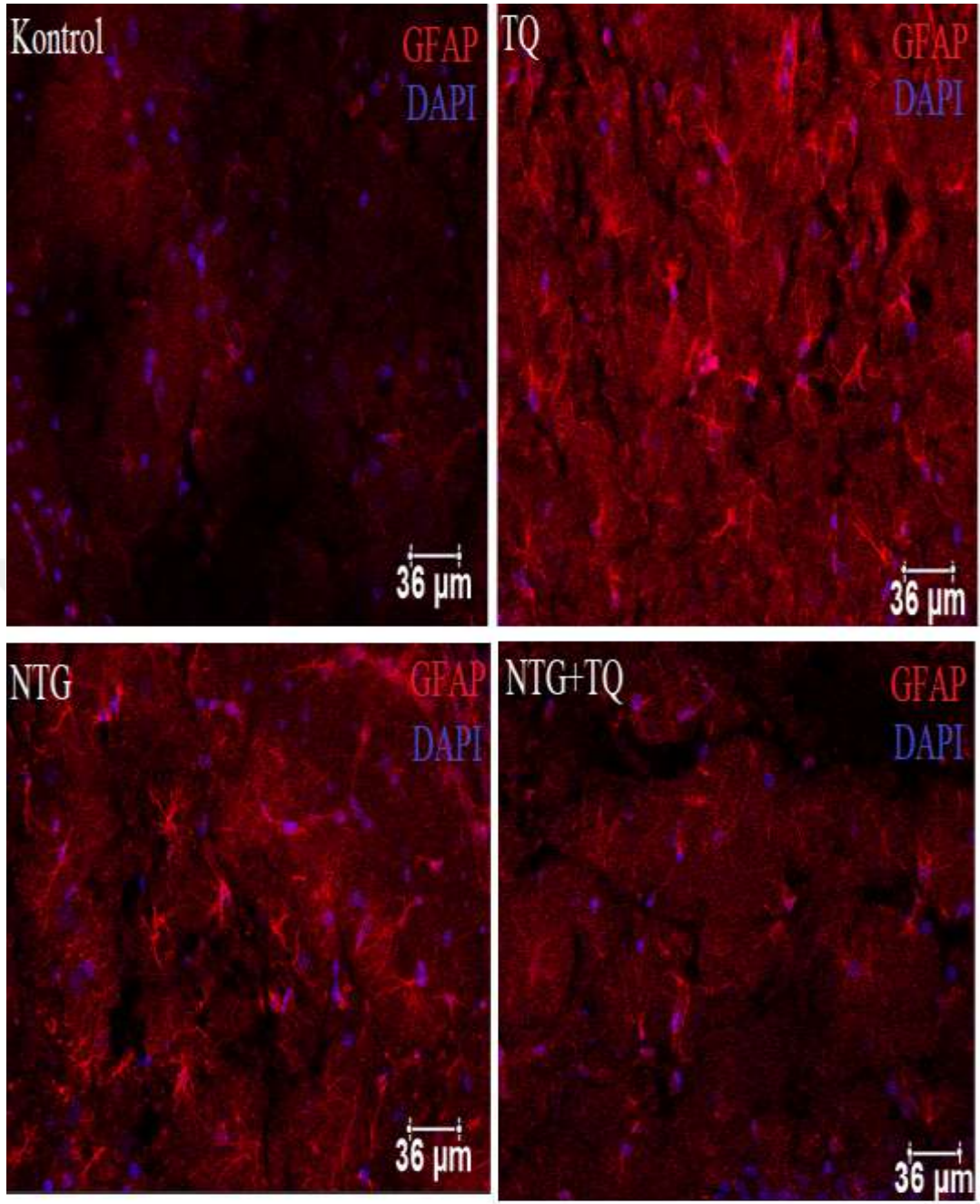
Hipokampus doku örneklerinde, hücresel endojen antioksidan düzeylerini tespit etmek için katalaz (CAT) düzeyleri de ölçüldü. CAT düzeyleri kontrol grubuna göre kıyaslandığında, sadece TQ grubunda istatistiksel olarak anlamlı (** $p < 0.001$) bir artış olduğu belirlendi. Gruplar NTG grubu ile kıyaslandığında ise, yine TQ grubunda istatistiksel olarak anlamlı (** $p < 0.001$) bir artışın olduğu görüldü. TQ grubundaki CAT düzeyi artışının NTG+TQ grubuyla kıyaslandığında da istatistiksel olarak anlamlı (* $p < 0.05$) olduğu tespit edildi (Şekil 4.8).



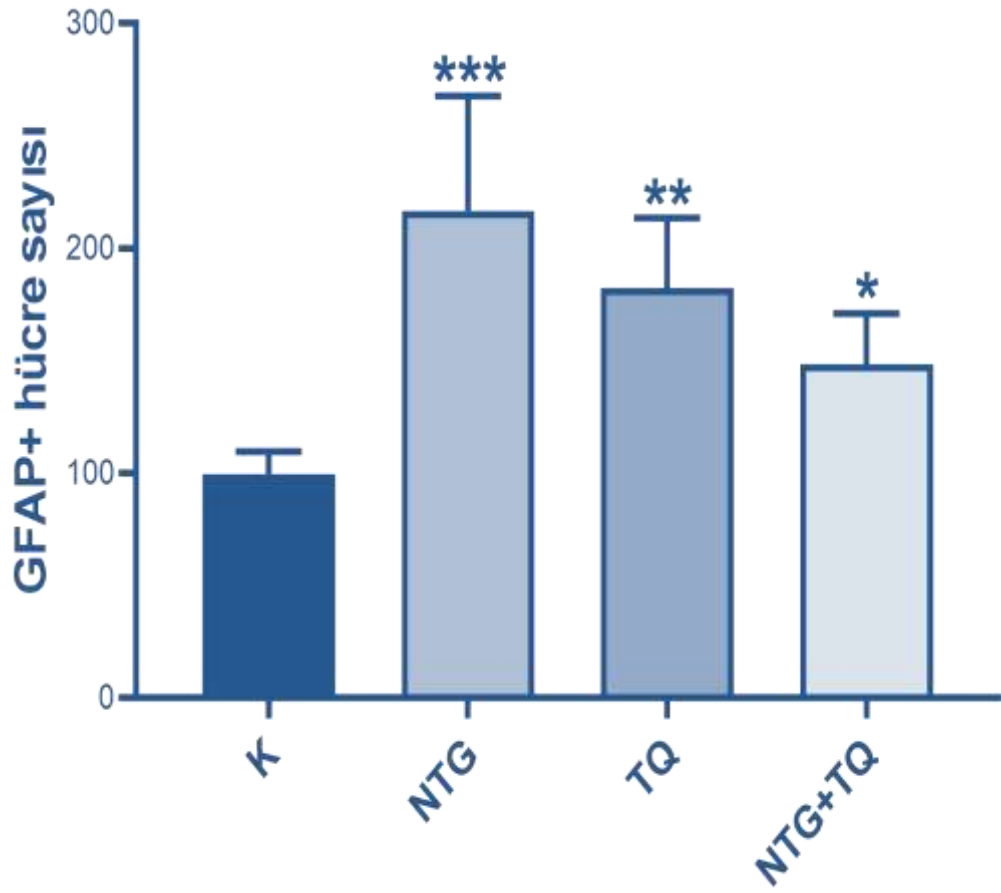
Şekil 4.8 : Deney gruplarının (K; Kontrol, NTG; Nitrogliserin, TQ; Timokinin, NTG+TQ; Nitrogliserin+Timokinin) hipokampus CAT düzeyleri (* $p<0.05$, *** $p<0.001$, istatistiksel anlamlılık).

4.4 İmmunohistokimyasal Bulgular

Beyinlerin bir yarıküresinin hipokampal bölgesinden alınan kesitlerde immunohistokimyasal analizler yapıldı. Yapılan immunofloresan boyama sonucunda elde edilen GFAP pozitif hücreler mikroskop altında görüntülenerek sayıldı (Şekil 4.9). Gruplar kontrol grubuna göre değerlendirildiğinde, GFAP pozitif hücre sayısının NTG, TQ ve NTG+TQ gruplarının üçünde de istatistiksel olarak anlamlı biçimde arttığı görüldü (sırayla *** $p<0.001$, ** $p<0.01$, * $p<0.05$) (Şekil 4.10).



Şekil 4.9 : Hipokampal bölgeden alınan kesitlerde Kontrol, TQ, NTG ve NTG+TQ gruplarında GFAP pozitif astroglial hücreler.



Şekil 4.10 : Deney gruplarının (K; Kontrol, NTG; Nitrogliserin, TQ; Timokinon, NTG+TQ; Nitrogliserin+Timokinon) hipokampal bölgesinden alınan kesitlerde GFAP pozitif hücre sayıları (* $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$, istatistiksel anlamlılık).

5. TARTIŞMA

Migren, genetik yatkınlığı olan kişilerde multifaktöriyel olarak ortaya çıkan nörovasküler bir hastalık olarak kabul edilmektedir [198]. Patofizyolojisi birden fazla teori ile açıklanabilen migren hastalığında, trigeminovasküler sistem aktivasyonu ve nörojenik enflamasyon önemli bir yer tutmaktadır. Trigeminovasküler aktivasyonun neticesinde gelişen sensitizasyonun klinik yansıması ise baş ağrısı ve allodini olarak ortaya çıkmaktadır [199].

NTG, klinik öncesi çalışmalarda trigeminovasküler duyarlılığı artırarak migren modeli oluşturmak için kullanılan yöntemlerden biridir [200]. Kemirgenlerde NTG kullanımı fotofobi ve ağrı davranışına sebebiyet vermektedir [201]. Hayvanlarda ağrı deneyiminin değerlendirilmesi ise oldukça zordur. Ağrı kavramının subjektif olmasının yanında hayvan davranışlarıyla ilişkilendirmek de oldukça güçtür. Benzer durumlarda benzer motor davranışların sergilenmesi ve bu durumlara çoğu kez basit refleks, vokalizasyon veya kaçma ile yanıt verilmesi deney hayvanlarında ağrı değerlendirmesini güçleştirmektedir [130]. Deney hayvanlarının ağrısı doğrudan ölçülemediğinden indirekt ağrı ölçümlerinden yararlanılmaktadır ve potansiyel bir ağrı veya sıkıntının göstergeleri olarak ağlama, yüz ifadesi, davranış ve duruş, ses değişiklikleri gibi bulgular kullanılmaktadır [202]. Ayrıca NTG kullanılarak migren modeli oluşturulan bir çalışmada enjeksiyondan sonra hayvanlarda arka ekstremitelerin yere yapıştırılması, zor ve sarsak yürüme, rahat pozisyonu arama, kaşınma, kulaklardaki damarların belirginleşmesi, anormal uyku, tüylerin dikleşmesi, sese duyarlılığın artması gibi ağrı belirtilerinin oluştuğu gösterilmiştir [203]. Bizde bu çalışmaya paralel olarak, NTG ile migren modeli oluşturduğumuz sıçanlarda tüylerde dikleşme oluştuğunu gözledik.

Tail-flick testinin analjezik ilaçların farmakolojik etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda yararlı olduğu bildirilmektedir [204]. Çalışmamızda, sıçanlarda NTG uygulaması ile oluşturulan deneysel migren modelinde ağrı oluşup oluşmadığı ile birlikte sıçanlara uygulanan TQ'nun analjezik etkisinin olup olmadığını araştırdık. Bu amaçla ağrı

varlığının değerlendirildiği belirti bulguların yanında, analjezik etkinliği değerlendirmek içinse tail flick testi kullandık.

TQ nöroprotektif, antikonvülsan ve kas gevşetici gibi birçok farmakolojik etkisi olan benzersiz bir moleküldür ve bildirilen birçok etkisinin yanında nöropatik ağrı gibi çeşitli ağrı tiplerinde etkili olduğu bildirilmektedir [18,196]. Çelik vd., (2014) nöropatik ağrı modeli oluşturdukları bir çalışmada TQ'nun farklı dozlardaki antinosiseptif etkisini incelemişlerdir. Çalışmada, TQ'nun farklı dozları arasında anlamlı bir fark olmadığı ve çalışmada kullanılan en düşük dozun antinosiseptif etki göstermesi açısından yeterli olduğu gösterilmiştir [205]. Çalışmamızda ise tail flick test sonuçlarının, grup içi ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmadığı tespit edildi. Bu sonuç, TQ'nun NTG ile oluşturulan migren modelinde analjezik etkisinin olmadığını düşündürmektedir.

Migren sıklıkla mitokondriyal bozukluklarla ilişkilidir [206]. Mitokondriler, glikoz ve oksijen kullanan enerji üreticileridir ve bu faaliyetleri sonucunda reaktif oksijen türlerinin açığa çıkmasına sebep olurlar [207,208]. Reaktif oksijen türlerinin organizmada mitokondriyal bozukluklar nedeniyle aşırı üretimi ise oksidatif stres oluşumuna katkıda bulunmaktadır [208]. Oksidatif stresin migrenle ilişkili olduğu bildirilmektedir ve beynin yüksek enerji gereksinimi-mitokondri-oksidatif stres üçlüsünün migren patogenezinde potansiyel bir etken olduğu düşünülmektedir [185,187].

Oksidatif stres, serbest radikaller ile antioksidan savunma mekanizmaları arasındaki dengenin bozulmasıyla oluşmaktadır. Antioksidanlar oksidasyona karşı mücadele eden maddelerdir ve bu işlevi, serbest radikal üreten reaksiyon basamaklarına etki ederek, reaktif oksijen konsantrasyonunu azaltarak, serbest radikal üretimini başlatan ilk radikali etkisiz hale getirerek ya da geçiş metalleri ile şelat oluşturarak gerçekleştirirler. Tüm hayvansal ve bitkisel organizmalar serbest radikallerin etkilerini önlemek için endojen antioksidan sistemlere sahiptir [209]. SOD, CAT ve GPx enzimleri ise endojen antioksidanlardır ve deneysel çalışmalarda antioksidan belirteci olarak kullanılmaktadır. NTG ile migren oluşturulan bir çalışmada, Mn-SOD seviyeleri ölçülmüş ve NTG enjeksiyonundan sonra uygulanan dimetil fumarat tedavisinin Mn-SOD aktivitesini artırdığı gösterilmiştir. Bu sonuç, dimetil fumarat tedavisinin antioksidan enzim seviyesini yükselttiği ve migrene bağlı oksidatif stresin azaltılmasında önemli rol oynayabileceği ile ilişkilendirilmiştir [210].

TQ'nun farklı mekanizmalarla antioksidan aktivite gösterdiği yapılan çalışmalarda bildirilmektedir. Deneysel nefropati oluşturulan bir çalışmada TQ'nun demir bağımlı lipit peroksidasyonunu engellediği gösterilmiştir [211]. Diğer bir çalışmada, sıçan hipokampuslarında iskemi ile nöronal hasar oluşturulmuş ve iskemi öncesi kullanılan TQ'nun yüksek malondialdehit seviyesini düşürerek nöroprotektif etki gösterdiği bildirilmiştir [195]. Sıçanlarda nörodejenarasyon oluşturulan bir çalışmada ise, TQ tedavisinin deney gruplarında SOD aktivitelerini artırdığı gösterilmiştir ve bu sonuçların TQ'nun Parkinson hastalığı gibi oksidatif stresinde rol oynadığı nörodejenaratif hastalıklarda nöroprotektif etki göstermesi açısından anlamlı bulunmuştur [212]. Sisplatin ile indüklenen nörotoksisite modelinde ise TQ'nun benzer şekilde, SOD aktivitesini artırdığı ve lipit peroksidasyonunu inhibe ettiği bildirilmiştir ve bu etkilerle oksidatif strese karşı kullanılabilecek nöroprotektif etkili bir bileşik olduğu gösterilmiştir [213]. Biz de çalışmamızda enzim antioksidanlardan SOD ile birlikte CAT düzeylerini değerlendirdik. Çalışmamızda her ne kadar istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmasa da, SOD ve CAT düzeylerinin NTG+TO grubunda kontrol ve NTG grubuna göre arttığı belirlendi. TQ uygulanan grupta ise diğer tüm gruplara göre SOD ve CAT seviyelerinin her ikisinin de anlamlı olarak arttığı bulundu. Bu bulgular, TQ'nun oksidatif stres üzerindeki nöroprotektif etkisini gösteren literatürdeki diğer çalışmalarla uyumludur.

Çok sayıda çalışma migrenli kişilerin migreni olmayanlara göre daha kötü bilişsel performansa sahip olduklarını göstermektedir [214]. Yapılan bir çalışmada, tekrarlayan migren atakları olan hastalarda hipokampal hacimde azalma olduğu gösterilmiştir [215]. NTG ile indüklenen deneysel migren modelinde ise L-arginin/NO yolunun öğrenme ve belleği bozabileceği gösterilmiştir [216]. Hipokampusa bağlı mekansal öğrenme ve bellek araştırmaları için kullanılan MWM testi, mekansal öğrenmenin değerlendirildiği öğrenme periyodu ve belleğin değerlendirildiği test periyodu olmak üzere iki aşamadan oluşmaktadır. İnflamatuvar mediyatörler kullanılarak oluşturulan deneysel bir migren modelinde migrenin, MWM testinde öğrenme ve bellek defisitine sebep olduğu gösterilmiştir [217]. Çalışmamızda, migrenin öğrenme-bellek fonksiyonlarına olan etkisini değerlendirmek için hayvan deneylerinde sıklıkla kullanılan MWM testini uyguladık. Bizim çalışmamızın sonuçları değerlendirildiğinde, öğrenme periyodunda platformu bulma süresinin NTG grubunda deneyin 3 ve 4. günlerinde anlamlı olarak arttığı

bulundu. Ayrıca deneyin test periyodunda NTG grubunun platform kadranında geçirdiği sürenin kontrol grubuna kıyasla anlamlı düzeyde daha kısa olduğu belirlendi. Çalışmamızda ayrıca, hayvan deneylerinde öğrenme-bellek mekanizmasının değerlendirilmesi için kullanılan BDNF ve CREB1 düzeyleride ölçülmüştür. Çalışmamızın hipokampus CREB1 ve BDNF düzeyleri değerlendirildiğinde ise, CREB1 seviyesinin NTG grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığı, BDNF seviyesinin ise istatistiksel olarak anlamlı olmasa da azalma gösterdiği belirlendi. Tüm bu bulgular, migrenin öğrenme ve bellek üzerine olumsuz etkisini gösteren literatürdeki diğer verileri desteklemektedir.

Ortaya konmuş pek çok yararı olan TQ'nun, sinir sistemi üzerinde koruyucu etkisi olduğu yapılan çalışmalarda bildirilmektedir [190]. Öğrenme ve bellek bozukluğu oluşturulan sıçanlarda yapılan bir çalışmada, TQ'nun antioksidatif etki göstererek öğrenme defisitini iyileştirdiği gösterilmiştir [218]. Diğer bir çalışmada ise TQ'nun, CREB fosforilasyonunu uyararak yetişkin sıçanlarda CREB/BDNF yolağı ile bellek gelişiminde rol oynadığı bildirilmiştir [219]. Diğer bir hayvan modelinde ise TQ'nun, MWM testinin test periyodunda platform kadranında geçen süreyi artırarak bellek defisitini iyileştirdiği bulunmuştur [220]. Çalışmamızın sonuçları değerlendirildiğinde ise, hipokampal CREB1 düzeyinin TQ grubu ile NTG+TQ gruplarında NTG grubuna göre anlamlı olarak arttığı bulundu. Hipokampal BDNF seviyesinin de benzer şekilde TQ ve NTG+TQ gruplarında NTG grubuna göre arttığı belirlendi. Bu veriler, TQ'nun öğrenme ve bellek defisitine olumlu etkisini gösteren diğer çalışmalarla paralellik göstermektedir. Ayrıca çalışmamızda, MWM testinin öğrenme periyodundaki platformu bulma sürelerinin TQ ve NTG+TQ gruplarında azalma eğiliminde olması, TQ'nun mekânsal öğrenme üzerinde olumlu etkisi olduğunu düşündürmektedir. Literatürdeki verilerden farklı olarak çalışmamızın MWM testinin test periyodunda, platform kadranında geçirilen sürenin TQ grubunda kontrol grubuna göre kısaldığı bulunmuştur. Bu durumun ise, gruptaki hayvanların ilgisizliği veya motivasyon düşüklüğü gibi etkenler nedeniyle oluşabileceği düşünülmektedir.

Astrositler plastisitede önemli rol oynar ve öğrenme-bellek ile ilişkilidir. Yapılan bir çalışmada astrosit aktivasyonunun, sinaptik plastisite ve aynı zamanda hipokampusta NMDA bağımlı LTP'nin indüklenmesinde rol oynadığı gösterilmiştir [221]. Astrosit aktivasyonunun en önemli belirtisi ise GFAP protein ekspresyonunun aşırı artışıdır

[222]. Çalışmamızda; TQ grubunun GFAP pozitif astroglial hücre sayısının kontrol grubuna göre artması, NTG+TQ grubunda da aynı şekilde GFAP pozitif hücre sayısının kontrol grubuna göre artması, migrenin oksidatif stres ile birlikte öğrenme-bellek ile ilişkisi de değerlendirildiğinde, migren modelinde astrosit aktivasyonunun öğrenme-bellek ile de ilişkili olabileceği ve TQ'nun CREB1 ve BDNF seviyesindeki artış ile beraber astrosit aktivasyonu ile de öğrenme ve belleği destekleyebileceğini düşündürmektedir.

Bunun yanısıra, reaktif astrositler çeşitli bozukluklar ile de ilişkilendirilmektedir [223]. Kronik migren oluşturulan ve astrosit yanıtındaki değişikliklerin araştırıldığı bir çalışmada, deney gruplarındaki GFAP pozitif hücrelerin sham grubuna göre arttığı gösterilmiştir ve bu bulgu astrositlerin migren patogeneğinde rol oynayabileceği ile ilişkilendirilmiştir [224]. Çalışmamızda da benzer şekilde NTG ve NTG+TQ gruplarında kontrol grubuna göre GFAP pozitif hücre sayısının arttığı, bu artışın NTG grubunda NTG+TQ grubuna kıyasla daha fazla olduğu bulunmuştur. Bu sonuç, astrositlerin migren patofizyolojisinde etkisinin olabileceğini ve TQ'nun düzelme sağlayabileceğini düşündürmektedir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmamızın sonuçları değerlendirildiğinde deneysel migren modelinde TQ'nun;

1. Migren ağrısı üzerinde analjezik etkisinin olmadığı,
2. Mekânsal öğrenme üzerinde olumlu etkisinin olduğu,
3. Öğrenme-bellek mekanizmalarına BDNF ve CREB1 seviyelerini artırarak katkı sağladığı,
4. Migrenle ilişkili oksidatif stres üzerine, SOD ve CAT seviyelerini artırarak olumlu etki gösterdiği,
5. Migren ve oksidatif stres ile ilişkili öğrenme-bellek defisitine astrosit aktivasyonu ile olumlu etki edebileceği,
6. Migrenle ilişkili astroglial aktivasyon üzerinde protektif etki gösterebileceği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

- [1] Bıçakcı, Ş., Öztürk, M., Üçler, S., Karlı, N., & Siva, A. (2018). *Baş ağrılarında Son Kırk Yıl. Baş ağrısı Tanı ve Tedavi Güncel Yaklaşımlar* (9-22). Galenos Yayınevi, İstanbul.
- [2] Karataş Eray, İ. (2011). Klinik Ağrı Nedenleri; Hastalıklar ve Ağrı. *Türkiye Klinikleri J Fam Med-Special Topics*, 2(2), 21-6.
- [3] Rasmussen, B. K., Jensen, R., Schroll, M., & Olesen, J. (1991). Epidemiology of headache in a general population-a prevalence study. *J Clin Epidemiology*, 44, 1147-1157.
- [4] Ertaş, M. (2003). Migren. *T Klin J Neur*, 1, 116-123.
- [5] Silberstein, S. D. (1995). Migraine symptoms: results of a survey of self-reported migraineurs. *Headache*, 35, 387-396.
- [6] Lipton, R.B., Stewart, W. F., Diamond, S., Diamond, M. L., & Reed, M. (2001). Prevalence and burden of migraine in the United States: data from the American Migraine Study II. *Headache*, 41, 646-657.
- [7] Kelman, L., & Tanis, D. (2006). The relationship between migraine pain and other associated symptoms. *Cephalalgia*, 26, 548-553.
- [8] Genizi, J., Gordon, S., Kerem, N. C., Srugo, I., Shahar, E., & Ravid, S. (2013). Primary headaches, attention deficit disorder and learning disabilities in children and adolescents. *The Journal of Headache and Pain*, 14:54.
- [9] D'Andrea, G., Nertempi, P., Ferro Milone, F., Joseph, R., Cananzi, J. R. (1989). Personality and memory in childhood migraine. *Cephalalgia*, 9, 25-28.
- [10] Waldie, K. E., Hausmann, M., Milne, B.J., & Poulton, R. (2002). Migraine and cognitive function: a life-course study. *Neurology*, 59, 904-908.
- [11] Snell, R. S. (2017). *Klinik Nöroanatomi* (53-59). Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.
- [12] Verkhratsky, A., Ho, M. S., Zorec, R., & Parpura, V. (2019). The Concept of Neuroglia. *Adv Exp Med Biol.*, 1175, 1-13.
- [13] Erzurumlu, R., Şengül, G., & Ulupınar, E. (2019). *Nöroanatomi* (41-43). Güneş Tıp Kitabevleri, Ankara.
- [14] Rossi, D. J., Brady, J. D., & Mohr, C. (2007). Astrocyte metabolism and signaling during brain ischemia. *Nat Neurosci*, 10, 1377-1386.
- [15] Chen, H., Hu, Y., Xie, K., Chen, Y., Wang, H., Yingxue, B., Wang, Y., Dong, A., & Yu, Y. (2018). Effect of autophagy on allodynia, hyperalgesia and astrocyte activation in a rat model of neuropathic pain. *International Journal of Molecular Medicine*, 42, 2009-2019.

- [16] Jakaria., Cho, D., Haqua, E., Karthivashan, G., Kim, I., Ganesan, P., & Choi, D. (2018). Neuropharmacological Potential and Delivery Prospects of Thymoquinone for Neurological Disorders. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1209801, 1-17.
- [17] Poorgholam, P., Yaghmaei, P., & Hajebrahimi, Z. (2018). Thymoquinone recovers learning function in a rat model of Alzheimer's disease. *Avicenna J Phytomed*, 8(3), 188-197.
- [18] Parvardeh, S., Sabetkasaeki, M., Moghimi, M., Masoudi, A., Ghafghazi, S., & Mahboobifard, F. (2018). Role of L-Arginine/NO/cGMP/K_{ATP} channel signaling pathway in the central and peripheral antinociceptive effect of thymoquinone in rats. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 21, 625-633.
- [19] Meral, I., Esrefoglu, M., Dar, K. A., Ustunova, S., Aydin, M. S., Demirtas, M., & Arifoglu, Y. (2016). Effects of Nigella sativa on apoptosis and GABA_A receptor density in cerebral cortical and hippocampal neurons in pentylenetetrazol induced kindling in rats. *Biotech Histochem*, 91(8), 493-500.
- [20] Kanter, M. (2008). Nigella sativa and derived thymoquinone prevents hippocampal neurodegeneration after chronic toluene exposure in rats. *Neurochem Res*, 33, 579-588.
- [21] <<http://www.iasp-pain.org/Education/Content.aspx?ItemNumber=1698#Pain>>, (Eriřim Tarihi 02.07.2020).
- [22] Sneddon, U. L. (2018). Comparative Physiology of Nociception and Pain. *Physiology*, 33, 63-73.
- [23] Hall, J. E., & Guyton, A. C. (2017). *Tıbbi fizyoloji* (621-632). Güneş Tıp Kitabevleri, Ankara.
- [24] Erdine, S. (2007). *Ağrı Taksonomisi*. Ağrı (19-26). Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.
- [25] Erdine, S. (2007). *Ağrı Mekanizmaları ve Ağrıya Genel Yaklaşım*. Ağrı (37-49). Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.
- [26] Vos, T., Allen, C., Arora, M., & et al. (2017). Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 328 diseases and injuries for 195 countries, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet*, 390, 1211-59.
- [27] Blyth, F. M., March, L. M., Brnabic, A. J., & Cousins, M. J. (2004). Chronic pain and frequent use of health care. *Pain*, 111, 1-2.
- [28] Blyth, F. M. (2008). Chronic pain—is it a public health problem?. *LWW*, 137(3), 465-6.
- [29] Harstall, C., & Ospina, M. (2003). How prevalent is chronic pain. *Pain: clinical updates*, 11(2), 1-4.
- [30] Tsang, A., Von Korff, M., Lee, S., & et al. (2008). Common chronic pain conditions in developed and developing countries: Gender and age differences and comorbidity with depression-anxiety disorders. *J Pain*, 9, 883-891.
- [31] Breivik, H., Collett, B., Ventafridda, V., Cohen, R., & Gallacher, D. (2006). Survey of chronic pain in Europe: prevalence, impact on daily life, and treatment. *Eur J Pain*, 10, 287-333.

- [32] Erdine, S., Hamzaoglu, O., Özkan, Ö., Balta, E., & Domaç, M. (2001). Türkiye’de erişkinlerin ağrı prevalansı. *Ağrı*, 13(2), 22-30.
- [33] Koçoğlu, D., & Özdemir, L. (2011). Yetişkin nüfusta ağrı ve ağrı inançlarının sosyo-demografik-ekonomik özelliklerle ilişkisi. *Ağrı*, 23(2), 64-70.
- [34] Lantéri-Minet, M., Duru, G., Mudge, M., & Cottrell, S. (2011). Quality of life impairment, disability and economic burden associated with chronic daily headache, focusing on chronic migraine with or without medication overuse: a systematic review. *Cephalalgia*, 31(7), 837–850.
- [35] Raggi, A., Giovannetti, A. M., Quintas, R., D’Amico, D., Cieza, A., Sabariego, C., Bickenbach, J. E., & Leonardi, M. (2012). A systematic review of the psychosocial difficulties relevant to patients with migraine. *J Headache Pain*, 13(8), 595–606.
- [36] Erdine, S. (2007). *Baş Ağrısı Epidemiyolojisi*. *Ağrı* (235-239). Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.
- [37] Herricks, J. R., Hotez, P. J., Wanga, V., Coffeng, L. E., Haagsma, J. A., Basáñez, M. G., & et al. (2017). The global burden of disease study 2013: What does it mean for the NTDs?, *PLOS Negl Trop Dis*, 11(8), e0005424.
- [38] Wells, R. E., Bertisch, S. M., Buettner, C., & et al. (2011). Complementary and alternative medicine use among adults with migraines/severe headaches. *Headache*, 51, 1087–1097.
- [39] Stovner, J. L., & Andree, C. (2010). Prevalence of headache in Europe: a review for the Eurolight Project. *J Headache Pain*, 11, 289–299.
- [40] Goadsby, P. J., Lipton, R. B., & Ferrari, M. D. (2002). Migraine-current understanding and treatment. *N Engl J Med*, 346, 257-270.
- [41] Tracey, I., & Bushnell, M. (2009). How neuroimaging studies have challenged us to rethink: is chronic pain a disease?. *J Pain*, 10, 1113–20.
- [42] Institute of Medicine. B.o.H.S. Policy. *Relieving pain in America A Blueprint for Transforming Prevention, Care, Education, and Research*. The National Academies Press; Washington, D.C: 2011.
- [43] Merskey H. (1986). Classification of chronic pain. Descriptions of chronic pain syndromes and definitions of pain terms. *Pain Suppl*, 3.
- [44] Benjamin, W. J. (2000). *Pain Mechanisms: Anatomy, Physiology and Neurochemistry. Practical Management of Pain* (117-45). Missouri: Mosby Inc.
- [45] Aldemir, T. (2000). *Ağrı sendromları*. *Ağrı* (714-63). Alemdar Ofset, İstanbul.
- [46] Morgan, G. E., & Mikhail, M. G. (1996). *Pain Management*. In: *Clinical Anesthesiology* (274-316). New Jersey: Prentice-Hall International, Inc.
- [47] Kayhan, Z. (1997). *Klinik Anestezi* (759-87). Logos Yayıncılık, İstanbul.
- [48] Gold, M. (2006). *Ion channels: recent advances and clinical applications*. In: Flor H, Kaslo E, Dostrovsky JO, eds. *Proceedings of the 11th World Congress on Pain* (73-92). Seattle: IASP Press.
- [49] Aydın, O. N. (2002). Ağrı ve Ağrı Mekanizmalarına Güncel Bakış. *Adü Tıp Fakültesi Dergisi*, 3(2), 37 – 48.
- [50] Gold M, & Gebhart G. (2010). *Peripheral pain mechanisms and nociceptor sensitization*. In: Fishman S, Ballantyne JC, Rathmell JP, eds. *Bonica’s Pain Management* (25-34). Lippincott Williams & Wilkins (LWW).

- [51] Descalzi, G., Ikegami, D., Ushijima, T., Nestler, E., Zachariou, V., & Narita, M. (2015). Epigenetic Mechanisms of Chronic Pain, *Trends Neurosci.* 38(4), 237–246.
- [52] Kervancıoğlu, P. (2010). Ağrının Anatomisi. *Türkiye Klinikleri J Neurol-Special Topics*, 3(4), 1-7.
- [53] Ducreux, D., Attal, N., Parker, F., & Bouhassira, D. (2006). Mechanisms of central neuropathic pain: a combined psychophysical and fMRI study in syringomyelia. *Brain*, 129, 963–76.
- [54] Dworkin, R. H., Backonja, M., Rowbotham, M.C., Allen, R. R., Argoff, C. R., & et al. (2003). Advances in neuropathic pain: diagnosis, mechanisms, and treatment recommendations. *Arch. Neurol*, 60, 1524–34.
- [55] Woolf, C.J., Mannion, R. J. (1999). Neuropathic pain: aetiology, symptoms, mechanisms, and management. *Lancet*, 353, 1959–64.
- [56] Basbaum, A. I., Bautista, D. M., Scherrer, G., & Julius, D. (2009). Cellular and Molecular Mechanisms of Pain. *Cell*, 139(2), 267–284.
- [57] Voscopoulos, C., & Lema, M. (2010). When does acute pain become chronic?. *British Journal of Anaesthesia*, 105 (S1), i69–i85.
- [58] Yağcı, Ü., & Saygın, M. (2019). Ağrı Fizyopatolojisi. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, 26(2), 209-220.
- [59] Grubb, B. D. (1998). Peripheral and central mechanisms of pain. *British Journal of Anaesthesia*, 81, 8–11.
- [60] Velioglu, K. S. (2017). Ağrı Anatomisi: Ağrı Yolakları, Beyin Sapı ve Beyin. *Türkiye Klinikleri J Neurol-Special Topics*, 10(4), 329-34.
- [61] Bıçakcı, Ş., & Sarıca, Y. (2006). Ağrı ve İlgili Mekanizmalar. *Türkiye Klinikleri J Int Med Sci*, 2(5), 1-5.
- [62] Erkin, Y. (2007). Baş Ağrısı ve Kraniofasial Nevraljiler. *Türkiye Klinikleri J Surg Med Sci*, 3(45), 34-46.
- [63] Yıldız, B. G., & Gökçal, E. (2018). Güzel, V., Başağrısı, Nöroloji'nin 'ABC'si (37-49). İstanbul Tıp Kitabevleri, İstanbul.
- [64] Headache Classification Committee of the International Headache Society (IHS), The International Classification of Headache Disorders. (2018). 3rd edition, *Cephalalgia*, Vol. 38(1), 1–211.
- [65] Bolay, H., & Dalkara, T. (2003). Birincil Başağrıların Fizyopatolojisi. *T Klin J Neur*, 1, 98-102.
- [66] Erdine, S. (2007). Migren Baş Ağrısı Patofizyolojisi. Ağrı (261-264). Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.
- [67] Nosedá, R., & Burstein, R. (2013). Migraine pathophysiology: anatomy of the trigeminovascular pathway and associated neurological symptoms, CSD, sensitization and modulation of pain. *Pain*, 154, S44–S53.
- [68] Goadsby, P. J., Holland, P. R., Martins-Oliveira, M., Hoffmann, J., Schankin, C., & Akerman, S. (2017). Pathophysiology Of Migraine: A Disorder Of Sensory Processing. 97, 553–622.
- [69] Uddman, R., Edvinsson, L., Ekman, R., Kingman, T., & McCulloch, J. (1985). Innervation of the feline cerebral vasculature by nerve fibers containing calcitonin gene-related peptide: trigeminal origin and co-existence with substance P. *Neurosci Lett*, 62, 131–136.
- [70] Liu, Y., Broman, J., & Edvinsson, L. (2004). Central projections of sensory innervation of the rat superior sagittal sinus. *Neuroscience*, 129, 431–437.
- [71] Pietrobon, D., & Moskowitz, M. A. (2013). Pathophysiology of migraine. *Annu. Rev. Physiol.*, 75, 365–391.

- [72] Edvinsson, L., Brodin, E., Jansen, I., & Uddman, R. (1988). Neurokinin A in cerebral vessels: characterization, localization and effects in vitro. *Regul Pept*, 20, 181–197.
- [73] May, A., & Goadsby, P. J. (2001). Substance P receptor antagonists in the therapy of migraine. *Expert Opin Invest Drugs*, 10, 1–6.
- [74] Waschek, J. A., Baca, S. M., & Akerman, S. (2018). PACAP and migraine headache: immunomodulation of neural circuits in autonomic ganglia and brain parenchyma, *The Journal of Headache and Pain*, 19(1), 23.
- [75] Moskowitz, M. A. (1993). Neurogenic inflammation in the pathophysiology and treatment of migraine. *Neurology*, 43(Suppl 3), 16-20.
- [76] Graham, J. R. & Wolff, H. G. (1938). Mechanism of migraine headache and action of ergotamine tartate. *Arch Neurol Psychiat*, 39, 737-63.
- [77] Buzzi, M. G. & Moskowitz, M. A. (1990). The antimigraine drug, sumatriptan (GR43175), selectively blocks neurogenic plasma extravasation from blood vessels in dura mater. *Br J Pharmacol*, 99, 202-6.
- [78] Ferrari, M. D., & Saxena, P. R. (1993). Clinical and experimental effects of sumatriptan in humans. *Trends Pharmacol Sci*, 14, 129-33.
- [79] Cumberbatch, M. J., Williamson, D. J., Mason, G. S., Hill, R. G., & Hargreaves, R. J. (1999). Dural vasodilation causes a sensitization of rat caudal trigeminal neurones in vivo that is blocked by a 5-HT_{1B/1D} agonist. *Br J Pharmacol*, 126, 1478-86.
- [80] Cutrer, F. M., & Huerter, K. (2007). Migraine aura. *Neurologist*, 13, 118-125.
- [81] Leao, A. (1944). Spreading depression of activity in cerebral cortex. *J Neurophysiol*, 7, 359–390.
- [82] Smith, J. M., Bradley, D. P., James, M. F., & Huang, C. L. (2006). Physiological studies of cortical spreading depression. *Biol Rev*, 81, 457-481.
- [83] Sugaya, E., Takato, M., & Noda, Y. (1975). Neuronal and glial activity during spreading depression in cerebral cortex of cat. *J Neurophysiol*, 38, 822–841.
- [84] Buzzi, M. G., & Moskowitz, M. A. (2005). The pathophysiology of migraine: year 2005. *J Headache Pain*, 6, 105-11.
- [85] İdman, F. (2018). Migren Baş Ağrısı, Tipleri, Tanı ve Tedavi. *Türkiye Klinikleri J Neurol-Special Topics*, 11(1), 28-42.
- [86] Kraig, R. P., & Nicholson, C. (1978). Extracellular ionic variations during spreading depression. *Neuroscience*, 3, 1045-1059.
- [87] Obrenovitch, T. P., & Urenjak, J., Wang, M. (2002). Nitric oxide formation during cortical spreading depression is critical for rapid subsequent recovery of ionic homeostasis. *J Cereb Blood Flow Metab*, 22, 680-688.
- [88] Hansen, A.J., & Zeuthen, T. (1981). Extracellular ion concentrations during spreading depression and ischemia in the rat brain cortex. *Acta Physiol Scand*, 113, 437–445.
- [89] Bıçakcı, Ş., Öztürk, M., Üçler, S., Karlı, N., & Siva, A. (2018). *Fizyopatoloji Temelinde Migren Tedavisi. Baş ağrısı Tanı ve Tedavi Güncel Yaklaşımlar* (33-50). Galenos Yayınevi, İstanbul.
- [90] Bahra, A., Matharu, M. S., Buchel, C., Frackowiak, R. S., & Goadsby, P. J. (2001). Brainstem activation specific to migraine headache. *Lancet*, 357, 1016-1017.
- [91] Afridi, S. K., Matharu, M. S., Lee, L., Kaube, H., Friston, K. J., Frackowiak, R. S., & Goadsby, P. J. (2005). A PET study exploring the laterality of brainstem activation in migraine using glyceryl trinitrate. *Brain*, 128, 932-939.

- [92] Denuelle, M., Fabre, N., Payoux, P., Chollet, F., & Geraud, G. (2007). Hypothalamic activation in spontaneous migraine attacks. *Headache*, 47, 1418-1426.
- [93] Akerman, S., Holland, P. R., & Goadsby, P. J. (2011). Diencephalic and brainstem mechanisms in migraine. *Nat Rev Neurosci*, 12(10), 570-84.
- [94] Weiller, C., Mayis, A., Limmroth, V., Juptner, M., Kaube, H., Schayck, R.V., & Coenen, H. H. (1995). Diener HC. Brain stem activation in spontaneous human migraine attacks. *Nat Med*, 1, 658-660.
- [95] Jones, S. L. (1991). Descending noradrenergic influences on pain. *Progress Brain Res*, 88, 381-94.
- [96] Yücesan, C. (2008). Migren ve Tedavisi. *Turkiye Klinikleri J Neurol-Special Topics*, 1, 10-21.
- [97] Ferrari, M. D., Klever, R. R., Terwindt, G. M., Ayata, C., & van den Maagdenberg, A. M. (2015) Migraine pathophysiology: lessons from mouse models and human genetics. *Lancet Neurol*, 14, 65– 80.
- [98] Burstein, R., Yarnitsky, D., Goor-Aryeh, I., Ransil, B. J., & Bajwa, Z. H. (2000) An association between migraine and cutaneous allodynia. *Ann Neurol*, 47, 614–624.
- [99] Boran, H. E., & Bolay, H. (2013). Migren Patofizyolojisi. *Nöropsikiyatri Arşivi*. 50 Özel Sayı, 1, 1-7.
- [100] Munro, G., Jansen-Olesen, I., & Olesen, J. (2017). Animal models of pain and migraine in drug discovery. *Drug Discov. Today*, 22, 1103–1111.
- [101] Rasmussen, B. K., & Olesen, J. (1992). Migraine with aura and migraine without aura: An epidemiological study. *Cephalalgia Int. J. Headache*, 12, 221–228, discussion 186.
- [102] Tardiolo, G., Bramanti, P., & Mazzon, E. (2019). Migraine: Experimental Models and Novel Therapeutic Approaches. *Int. J. Mol. Sci.*, 20(12), 2932.
- [103] Marsh, N., & Marsh, A. (2000). A short history of nitroglycerine and nitric oxide in pharmacology and physiology. *Clin Exp Pharmacol Physiol.*, 27(4), 313-9.
- [104] Chou, T. M., Chen, S. P. (2018). Animal Models of Chronic Migraine, *Current Pain and Headache Reports*, 19, 22 (6), 44.
- [105] Pradhan, A. A., Monique, S., McGuire, B., Tarash, I., Evans, C. J., & Charles, A. (2014). Characterization of a Novel Model of Chronic Migraine, *Pain*, 155(2), 269–274.
- [106] Erdener, S.E., & Dalkara, T. (2014). Modelling headache and migraine and its pharmacological manipulation, *Br. J. Pharmacol.*, 171, 4575–4594.
- [107] Andreou, A. P., Summ, O., Charbit, A. R., Romero-Reyes, M., & Goadsby, P. J. (2010). Animal models of headache: From bedside to bench and back to bedside. *Expert Rev. Neurother*, 10, 389–411.
- [108] Bates, E. A., Nikai, T., Brennan, K. C., Fu, Y. H., Charles, A. C., Basbaum, A., Ptáček, L. J., & Ahn, A. H. (2010). Sumatriptan alleviates nitroglycerin-induced mechanical and thermal allodynia in mice. *Cephalalgia*, 30(2), 170–178.
- [109] Markovics, A., Kormos, V., Gaszner, B., Lashgarara, A., Szoke, E., Sandor, K., Szabadfi, K., Tuka, B., Tajti, J., Szolcsanyi, J., & et al. (2012). Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide plays a key role in nitroglycerol-induced trigeminovascular activation in mice. *Neurobiol. Dis*, 45, 633–644.

- [110] Greco, R., Meazza, C., Mangione, A. S., Allena, M., Bolla, M., Amantea, D., Mizoguchi, H., Sandrini, G., Nappi, G., Tassorelli, C. (2011). Temporal profile of vascular changes induced by systemic nitroglycerin in the meningeal and cortical districts. *Cephalalgia Int. J. Headache*, 31, 190–198.
- [111] Demartini, C., Rosaria, G., Zanaboni, A. M., Sances, G., Icco, R., Borsook, D., & Tassorelli, C. (2019). Nitroglycerin as a comparative experimental model of migraine pain: From animal to human and back. *Progress in Neurobiology*, 177, 15–32.
- [112] Tassorelli, C., & Joseph, S. A. (1995). Systemic nitroglycerin induces Fos immunoreactivity in brainstem and forebrain structures of the rat. *Brain Res*, 682, 167–181.
- [113] Greco, R., Tassorelli, C., Cappelletti, D., Sandrini, G., & Nappi, G. (2005). Activation of the transcription factor NF-kappaB in the nucleus trigeminalis caudalis in an animal model of migraine. *Neurotoxicology*, 26, 795–800.
- [114] Akerman, S., Williamson, D. J., Kaube, H., & Goadsby, P. J. (2002). The effect of anti-migraine compounds on nitric oxide-induced dilation of dural meningeal vessels. *Eur J Pharmacol*, 452, 223–228.
- [115] Strecker, T., Dux, M., & Messlinger, K. (2002). Nitric oxide releases calcitonin-gene-related peptide from rat dura mater encephali promoting increases in meningeal blood flow. *J Vasc Res*, 39, 489–496.
- [116] Gozalov, A., Jansen-Olesen, I., Klaerke, D., & Olesen, J. (2007). Role of BK(Ca) channels in cephalic vasodilation induced by CGRP, NO and transcranial electrical stimulation in the rat. *Cephalalgia*, 27, 1120–1127.
- [117] Reuter, U., Bolay, H., Jansen-Olesen, I., Chiarugi, A., Sanchez del Rio, M., Letourneau, R., & et al. (2001). Delayed inflammation in rat meninges: implications for migraine pathophysiology. *Brain*, 124 (Pt 12), 2490–2502.
- [118] Kim, G. M., Jin, K. S., & Chung, C. S. (2008). Differential effects of corticosteroids on the expression of cyclooxygenase-2, tumour necrosis factor-alpha and matrix metalloproteinase-9 in an animal model of migraine. *Cephalalgia*, 28, 1179–1187.
- [119] Galeotti, N., & Ghelardini, C. (2013). Inhibition of the PKCgamma-epsilon pathway relieves from meningeal nociception in an animal model: an innovative perspective for migraine therapy?. *Neurother*, 10, 329–339.
- [120] Capuano, A., Greco, M. C., Navarra, P., & Tringali, G. (2014) Correlation between algogenic effects of calcitonin-gene-related peptide (CGRP) and activation of trigeminal vascular system, in an in vivo experimental model of nitroglycerin-induced sensitization. *Eur J Pharmacol*, 740, 97–102.
- [121] Bowen, E. J., Schmidt, T. W., Firm, C. S., Russo, A. F., & Durham, P. L., (2006). Tumor necrosis factor-alpha stimulation of calcitonin gene-related peptide expression and secretion from rat trigeminal ganglion neurons. *J Neurochem*, 96, 65–77.
- [122] Wattiez, A. S. (2019). CGRP in Animal Models of Migraine, *Handb Exp Pharmacol.*, 255, 85–107.
- [123] Wang, P. H., Zhao, L. X., Wan, J. Y., Zhang, L., Mao, X. N., Long, F. Y., Zhang, S., Chen, C., & Du, J. R. (2016). Pharmacological characterization of a novel gastrodin derivative as a potential anti-migraine agent. *Fitoterapia*, 109, 52–57.
- [124] Goadsby, P. J., Charbit, A. R., Andreou, A. P., Akerman, S., & Holland, P. R. (2009). Neurobiology of migraine. *Neuroscience*, 161, 327–341.

- [125] Goadsby, P. J., Edvinsson, L., & Ekman, R. (1990). Vasoactive peptide release in the extracerebral circulation of humans during migraine headache. *Ann. Neurol.* 28, 183-187.
- [126] Juhasz, G., Zsombok, T., Modos, E. A., Olajos, S., Jakab, B., Nemeth, J., Janos Szolcsanyi, J., Vitrai, J., & Bagdy, G. (2003). NO-induced migraine attack: strong increase in plasma calcitonin gene-related peptide (CGRP) concentration and negative correlation with platelet serotonin release. *Pain*, 106(3), 461-470.
- [127] Zhu, X., Han, Y., Xiong, W., Liu, W., Lu, S., Li, J., Wang, H., & Fan, Z., (2011). Effects of heating coagulation of middle meningeal artery on plasma CGRP level and c-fos expression in migraine rat triggered by nitroglycerin. *Neurol. Sci.*, 32(4), 589-94.
- [128] Tuka, B., Helyes, Z., Markovics, A., Bagoly, T., Németh, J., Márk, L., Brubel, R., Reglődi, D., Párdutz, A., Szolcsányi, J., Vécsei, L., & Tajti, J., (2012). Peripheral and central alterations of pituitary adenylate cyclase activating polypeptide-like immunoreactivity in the rat in response to activation of the trigeminovascular system. *Peptides*, 33(2), 307-16.
- [129] Gao, Z., Liu, X., Yu, S., Zhang, Q., Chen, Q., Wu, Q., Liu, J., Sun, B., Fang, L., Lin, J., Zhu, B. M., Yan, X., & Liang, F. (2014). Electroacupuncture at Acupoints Reverses Plasma Glutamate, Lipid, and LDL/VLDL in an Acute Migraine Rat Model: A (1) H NMR-Based Metabolomic Study. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.*, 2014, 659268.
- [130] Arıcıoğlu, F. (2007). Ağrı Araştırmalarında Kullanılan Hayvan Modelleri. *Klinik Gelişim*, 28-36.
- [131] Greco, R., Tassorelli, C., Armentero, M. T., Sandrini, G., Nappi, G., Blandini, F. (2008). Role of central dopaminergic circuitry in pain processing and nitroglycerin-induced hyperalgesia. *Brain Res*, 1238, 215–223.
- [132] De Logu, F., & et al. (2019). Migraine-provoking substances evoke periorbital allodynia in mice. *J Headache Pain*, 20(1), 18.
- [133] Ben Aissa, M., & et al. (2018). Soluble guanylyl cyclase is a critical regulator of migraine associated pain. *Cephalalgia*, 38(8), 1471–1484.
- [134] D'Amour, F. E., & Smith, D. L. (1941). A method for determining loss of pain sensation. *J Pharmacol Exp Ther*, 72, 74-79.
- [135] Zhou, B., Zuo, Y. X., Jiang, R. T., (2019). Astrocyte morphology: Diversity, plasticity, and role in neurological diseases. *CNS Neurosci Ther.*, 25, 665–673.
- [136] Kimelberg, H. K., & Nedergaard, M. (2010). Functions of astrocytes and their potential as therapeutic targets. *Neurotherapeutics*, 7(4), 338–53.
- [137] Ji, R. R., Berta, T., & Nedergaard, M. (2013). Glia and pain: Is chronic pain a gliopathy?. *Pain*, 154 Suppl 1(01), S10–S28.
- [138] Allen, N. J. (2014). Astrocyte regulation of synaptic behavior. *Annu Rev Cell Dev Biol.*, 30, 439–463.
- [139] Haydon, P. G., Carmignoto, G. (2006). Astrocyte control of synaptic transmission and neurovascular coupling. *Physiol Rev.*, 86(3), 1009-1031.
- [140] Fellin, T., Sul, J. Y., D'Ascenzo, M., Takano, H., Pascual, O., Haydon, P. G. (2006). Bidirectional astrocyte–neuron communication: the many roles of glutamate and ATP. *Novartis Found Symp.*, 276, 208-217.
- [141] Araque, A., Parpura, V., Sanzgiri, R. P., & Haydon, P. G. (1999). Tripartite synapses: glia, the unacknowledged partner. *Trends Neurosci.*, 22(5), 208–215.

- [142] Olesen, J., Burstein, R., & Ashina, M. (2009). Tfelt-Hansen, P. Origin of pain in migraine: Evidence for peripheral sensitisation. *Lancet Neurol.*, 8(7), 679–690.
- [143] Bogduk, N. (1995). Anatomy and physiology of headache. *Biomed Pharmacother.*, 49(10), 435–445.
- [144] Lian, X. Y., & Stringer, J. L. (2004). Astrocytes contribute to regulation of extracellular calcium and potassium in the rat cerebral cortex during spreading depression. *Brain Res.*, 25, 1012(1-2), 177-84.
- [145] McMahon, S. B., & Malcangio, M. (2009). Current Challenges in Glia-Pain Biology. *Neuron*, 64(1), 46-54.
- [146] Lynch, M. A. (2004). Long-Term Potentiation and Memory. *Physiol Rev*, 84, 87–136.
- [147] Gerrig, R. J., & Zimbardo, P. G. (2012). Psikoloji ve Yaşam Psikolojiye Giriş (164-194). Sart, G., (çev.), Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.
- [148] Hall, J. E., & Guyton, A. C. (2017). Tıbbi fizyoloji (737-750). Yeğen, Ç. B., (ed.), Alican, İ., (ed. yrd.), Solakoğlu, Z., (ed. yrd.). Güneş Tıp Kitabevleri, Ankara.
- [149] Kumral, E. (2018). Bellek. *Klinik Nöropsikoloji ve Nöropsikiyatrik Hastalıklar* (175-260). Güneş Tıp Kitabevleri, Ankara.
- [150] Erdoğan, S. (2010). İleriye Dönük Bellek Bozukluğu. *Psikiyatride Güncel Yaklaşımlar*, 2(2), 174-189.
- [151] Kırpınar, İ. (2018). *Genç Psikiyatristin El Kitabı* (96-109). Psikonet Yayınları, İstanbul.
- [152] Barrett, K. E., Barman, S. M., Boitano, S., Brooks, H. L. (2019). *Ganong'un Tıbbi Fizyolojisi* (283-290). İsoğlu-Alkaç, Ü., (ed.), Ermutlu, N., (ed. yrd.), Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.
- [153] Gürpınar, D., Erol, A., & Mete, L. (2007). Depresyon ve Nöroplastisite. *Klinik Psikofarmakoloji Bülteni*, 17, 100-110.
- [154] Scoville, W. B., Milner, B. (1957). Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 20, 11-21.
- [155] Sandkuehler, J. (2000). Learning and memory in pain pathways. *Pain*, 88, 113-8.
- [156] Vyklícký, V., Korinek, M., Smejkalová, T., Balík, A., Krausová, B., Kaniakova, M., Lichnerova, K., Cerný, J., Krusek, J., Dittert, I., Horak, M., & Vyklícký, L. (2014). Structure, Function, and Pharmacology of NMDA Receptor Channels. *Physiol. Res.*, 63 (Suppl. 1), 191-203.
- [157] Bliss, T. V. P., & Collingridge, G. L. (2013). Expression of NMDA receptor-dependent LTP in the hippocampus: bridging the divide. *Molecular Brain*, 6, 5, 1-14.
- [158] Malenka, R. C., Kauer, J. A., Zucker, R. S., & Nicoll, R. A. (1988). Postsynaptic calcium is sufficient for potentiation of hippocampal synaptic transmission. *Science*, 242(4875), 81-4.
- [159] Prendergast, M. A., Buccafusco, J. J., & Terry, A. V. (1997). Nitric oxide synthase inhibition impairs spatial navigation learning and induces conditioned taste aversion. *Pharmacol Biochem Behav.*, 57, 347-52.
- [160] Hanbauer, I., Wink, D., Osawa, Y., Edelman, G. M., & Gally, J. A. (1992). Role of nitric oxide in NMDA-evoked release of [3H]-dopamine from striatal slices. *Neuroreport*, 3, 409-12.
- [161] Kaneko, M., Takahashi, T. (2004). Presynaptic mechanism underlying sAMP dependent synaptic potentiation. *J Neurosci*, 24, 5202-5208.

- [162] **Manji, H. K., & Chen, G.** (2002). Post-receptor signaling pathways in the pathophysiology and treatment of mood disorders. *Curr Psychiatry Rep*, 2, 479-489.
- [163] **Lüscher, C., & Malenka, R. C.** (2012). NMDA Receptor-Dependent Long-Term Potentiation and Long-Term Depression (LTP/LTD). *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 4, a005710.
- [164] **Bothwell M.** (2016). Recent advances in understanding neurotrophin signaling. *F1000Research*, 5 (F1000 Faculty Rev).
- [165] **Marosi, K., & Mattson, M. P.** (2014). BDNF Mediates Adaptive Brain And Body Responses To Energetic Challenges. *Trends Endocrinol Metab.*, 25(2), 89-98.
- [166] **Kazak, F., & Yarım, G. F.** (2015). Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör, *Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg.*, 10(2), 120-129.
- [167] **Berktaş, F., Kiroğlu, O., & Aksu, F.** (2017). Antidepresan İlaçların Öğrenme ve Bellek Mekanizmasına Etkileri. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 26(2), 178-206.
- [168] **Vallejo M.** (1994). Transcriptional control of gene expression by sAMP response element binding proteins. *J Neuroendocrinol*, 6, 587-596.
- [169] **Silva, A. J., Kogan, J. H., Frankland, P. W., & Kida, S.** (1998). CREB and Memory. *Annu. Rev. Neurosci.*, 21, 127-48.
- [170] **Kida, S., Serita, T.** (2014). Functional roles of CREB as a positive regulator in the formation and enhancement of memory. *Brain research bulletin*, 105, 17-24.
- [171] **Suzuki, A., Fukushima, H., Mukawa, T., Toyoda, H., Wu, L. J., Zhao, M. G., & et al.** (2011). Upregulation of CREB-mediated transcription enhances both short- and long-term memory. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 31(24), 8786-802.
- [172] **Erzurumlu, R., Şengül, G., & Ulupınar, E.** (2019). Nöroanatomi (103-125). Güneş Tıp Kitabevleri, Ankara.
- [173] **O'Keefe, J., Conway, D. H.** (1978). Hippocampal place units in the freely moving rat: why they fire when they fire. *Exp Brain Res.*, 31, 573-90.
- [174] **Wixted, J. T., Squire, L. R., Jang, Y., Papesh, M. H., Goldinger, S.D., Kuhn, J. R., & et al.** (2014). Sparse and distributed coding of episodic memory in neurons of the human hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 111, 9621-6.
- [175] **Mulder, E. J., Linssen, W. H., Passchier, J., Orlebeke, J. F., & de Geus, E. J.** (1999). Interictal and postictal cognitive changes in migraine. *Cephalalgia*, 19, 557-565.
- [176] **de Araújo, M. C., Barbosa, I. G., Lemos, S. M. A., Domingues, R. B., & Teixeira, A. L.** (2012). Cognitive impairment in migraine. *Dement Neuropsychol*, 6(2), 74-79.
- [177] **Özcan, R. K., & Özmen, S. G.** (2020). Cognitive flexibility among female migraine patients: case-control study. *Cukurova Med J*, 45(1), 278-289.
- [178] **Morris, R.** (1984). Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *J Neurosci Methods*, 11, 47-60.
- [179] **Vorhees, C. V., & Williams, M. T.** (2006). Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. *Nat Protoc.*, 1(2), 848-858.

- [180] D'Hooge, R., & De Deyn, P. P. (2001). Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. *Brain Research Brain Research Reviews*, 36(1), 60-90.
- [181] Schimanski, L. A., & Nguyen, P. V. (2004). Multidisciplinary approaches for investigating the mechanisms of hippocampus-dependent memory: a focus on inbred mouse strains. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 28(5), 463-83.
- [182] Vuralli, D., Wattiez, A. S., Russo, A. F., & Bolay, H. (2019). Behavioral and cognitive animal models in headache research. *The Journal of Headache and Pain*, 20, (11), 2-15.
- [183] Özcan, O., Erdal, H., Çakırca, G., & Yönden, Z. (2015). Oksidatif stres ve hücre içi lipit, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 6 (3), 331-336.
- [184] Aslankoç, R., Demirci, D., İnan, Ü., Yıldız, M., Öztürk, A., Çetin, M., Savran, E., Ş., & Yılmaz, B. (2019). Oksidatif Stres Durumunda Antioksidan Enzimlerin Rolü - Süperoksit Dismutaz (SOD), Katalaz (CAT) ve Glutasyon Peroksidaz (GPx). *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 26(3), 362-369.
- [185] Borkum, J. M. (2015). Migraine triggers and oxidative stress: A narrative review and synthesis. *Headache*, 56(1), 12–35.
- [186] Halliwell, B. (1992). Reactive oxygen species and the central nervous system. *J. Neurochem.*, 59, 1609–1623.
- [187] Borkum, J. M. (2021). Brain Energy Deficit as a Source of Oxidative Stress in Migraine: A Molecular Basis for Migraine Susceptibility. *Neurochem. Res.*, 46, 1913–1932.
- [188] Vasques, M. A. A., Fonseca, E. d. B. M. (2020). A review on migraine and oxidative stress. *Revista de Medicina e Saúde de Brasília*, 9(2), 287-294.
- [189] Gomathinayagam, R., Hee Ha, J., Jayaraman, M., Song, Y. S., Isidoro, C., & Dhanasekaran, D. N. (2020). Chemopreventive and Anticancer Effects of Thymoquinone: Cellular and Molecular Targets. *J Cancer Prev*, 25(3), 136-151.
- [190] Pari, L., & Sankaranarayanan, C. (2009). Beneficial effects of thymoquinone on hepatic key enzymes in streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rats. *Life Sciences*, 85, 830-834.
- [191] Banerjee, S., Padhye, S., Azmi, A., Wang, Z. W., Philip, P. A., Kucuk, O., Sarkar, F. H., & Mohammad, R. M. (2010). Review on molecular and therapeutic potential of thymoquinone in cancer. *Nutr. Cancer*, 62, 938–946.
- [192] Darakhshan, S., Pour, A. B., Colagar, A. H., & Sisakhtnezhad, S. (2015). Thymoquinone and its therapeutic potentials. *Pharmacol. Res.*, 95–96, 138–58.
- [193] El-Far, A. H., Al Jaouni, S. K., Li, W., & Mousa, S. A. (2018). Protective Roles of Thymoquinone Nanoformulations: Potential Nanonutraceuticals in Human Diseases. *Nutrients*, 10, 1369, doi:10.3390/nu10101369.
- [194] Badary, O. A., Taha, R. A., Gamal El-Din, A. M., & Abdel-Wahab, M. H. (2003). Thymoquinone is a potent superoxide anion scavenger. *Drug Chem Toxicol*, 26(2), 87-98.
- [195] Al-Majed, A. A., Al-Omar, F. A., & Nagi, M. N. (2006). Neuroprotective effects of thymoquinone against transient forebrain ischemia in the rat hippocampus. *European Journal of Pharmacology*, 543, 40-47.
- [196] Beheshti, F., Khazaei, M., & Hosseini, M. (2016). Neuropharmacological effects of Nigella sativa. *Avicenna J Phytomed*, 6 (1), 124-141.

- [197] **Amin, B., & Hosseinzadeh, H.** (2016). Black Cumin (*Nigella sativa*) and Its Active Constituent, Thymoquinone: An Overview on the Analgesic and Anti-inflammatory Effects. *Planta Med*, 82, 8–16.
- [198] **Cutrer, F. M., & Charles, A.** (2008). The neurogenic basis of migraine. *Headache*, 48(9), 1411-4.
- [199] **Üçler, S.** (2018). Migren ve Gerilim Tipi Baş Ağrılarında Patofizyoloji. *Türkiye Klinikleri J Neurol-Special Topics*, 11(1), 21-7.
- [200] **Akerman, S. & et al** (2019). Nitroglycerine triggers triptan-responsive cranial allodynia and trigeminal neuronal hypersensitivity. *Brain*, 142(1), 103–119.
- [201] **Rea, B. J. & et al** (2018). Peripherally administered calcitonin gene-related peptide induces spontaneous pain in mice: implications for migraine. *Pain*, 159(11), 2306–2317.
- [202] **Eroğlu, F., & Eroğlu, H. E.** Ratlarda Analjezi ve Anestezi. *Journal of Clinical and Analytical Medicine*, 52-59.
- [203] **Hiçyılmaz, A. C.** (2016). *Nitrogliserin İle Migren Oluşturulan Sıçanlarda Migren Patofizyolojisi Üzerine Atorvastatinin Etkileri* (Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi).
- [204] **Le Bars, D., Gozariu, M., & Cadden, S. W.** (2001). Animal Models of Nociception. *Pharmacol Rev*, 53, 597-652.
- [205] **Çelik, F., Göçmez, C., Karaman, H., Kamaşak, K., Kaplan, İ., Akıl, E., Tufek, A., Guzel, A., & Uzar, E.** (2014). Therapeutic Effects of Thymoquinone in a Model of Neuropathic Pain. *Current Therapeutic Research*, 11–16.
- [206] **Vollono, C., Primiano, G., Della Marca, G., Losurdo, A., & Servidei, S.** (2018). Migraine in mitochondrial disorders: Prevalence and characteristics. *Cephalalgia Int. J. Headache*, 38, 1093–1106.
- [207] **Belenguer, P., Duarte, J. M. N., Schuck, P. F., & Ferreira, G. C.** (2019). Mitochondria and the Brain: Bioenergetics and Beyond. *Neurotox Res*, 36, 219–238.
- [208] **Fila, M., Chojnacki, C., Chojnacki, J., & Blasiak, J.** (2021). Nutrients to Improve Mitochondrial Function to Reduce Brain Energy Deficit and Oxidative Stress in Migraine. *Nutrients*, 13, 4433.
- [209] **Çaylak, E.** (2011). Hayvan ve bitkilerde oksidatif stres ile antioksidanlar. *Tıp Araştırmaları Dergisi*, 9 (1), 73-83.
- [210] **Casili, G., Lanza, M., Filippone, A., Campolo, M., Paterniti, I., Cuzzocrea, S., & Esposito, E.** (2020). Dimethyl fumarate alleviates the nitroglycerin (NTG)-induced migraine in mice. *Journal of Neuroinflammation*, 17, 59.
- [211] **Badary, O. A., bdel-Naim, A. B., bdel-Wahab, M. H., & Hamada, F. M.** (2000). The influence of thymoquinone on doxorubicin-induced hyperlipidemic nephropathy in rats. *Toxicology*, 143, 219–226.
- [212] **Dong, J., Zhang, X., Wang, S., Xu, C., Gao, M., Liu, S., Li, X., Cheng, N., Han, Y., Wang, X., & Han, Y.** (2021). Thymoquinone Prevents Dopaminergic Neurodegeneration by Attenuating Oxidative Stress Via the Nrf2/ARE Pathway. *Frontiers in Pharmacology*, 11.
- [213] **Kandeil, M. A., Gomaa, S. B., Mahmoud, M. O.** (2020). The effect of some natural antioxidants against cisplatin-induced neurotoxicity in rats: behavioral testing. *Heliyon* 6, e04708.
- [214] **Vuralli, D., Ayata, C., & Bolay, H.** (2018). Cognitive dysfunction and migraine. *J. Headache Pain*, 19 (1), 109.

- [215] Maleki, N., Becerra, L., Brawn, J., McEwen, B., Burstein, R., & Borsook, D. (2013). Common hippocampal structural and functional changes in migraine. *Brain Struct. Funct.*, 218(4), 903–912.
- [216] Taheri, P., Mohammadi, F., Nazeri, M., Zarei, M. R., Chamani, G., Esfahlani, M. A., Taheri, F., & Shabani, M. (2020). Nitric oxide role in anxiety-like behavior, memory and cognitive impairments in animal model of chronic migraine. *Heliyon* 6, e05654.
- [217] Zhang, M., Liu, Y., Hu, G., Kang, L., Ran, Y., Su, M., & Yu, S. (2020). Cognitive impairment in a classical rat model of chronic migraine may be due to alterations in hippocampal synaptic plasticity and N-methyl-D-aspartate receptor subunits. *Molecular Pain*, 16, 1–11.
- [218] Oskouei, Z., Mehri, S., Kalalinia, F., & Hosseinzadeh, H. (2021). Evaluation of the effect of thymoquinone in D-galactoseinduced memory impairments in rats: Role of MAPK, oxidative stress, and neuroinflammation pathways and telomere length. *Phytotherapy Research*, 35, 2252–2266.
- [219] Mamun, A. A., Matsuzaki, K., Islam, R., Hossain, S., Hossain, E., Katakura, M., Arai, H., Shido, O., & Hashimoto, M. (2022). Chronic Administration of Thymoquinone Enhances Adult Hippocampal Neurogenesis and Improves Memory in Rats Via Regulating the BDNF Signaling Pathway. *Neurochem Res.*, 47(4), 933-951.
- [220] Hajipour, S., Farbood, Y., Dianat, M., Rashno, M., Khorsandi, L. S., & Sarkaki, A. (2021). Thymoquinone improves cognitive and hippocampal long-term potentiation deficits due to hepatic encephalopathy in rats. *Iran J Basic Med Sci*, 24, 881-891.
- [221] Adamsky, A., Kol, A., Kreisel, T., Groysman, M., London, M., & Goshen, I. (2018). Astrocytic Activation Generates De Novo Neuronal Potentiation and Memory. *Enhancement Cell*, 174, 59–71.
- [222] Sofroniew M. (2009). Molecular dissection of reactive astrogliosis and glial scar formation. *Trends Neurosci.*, 32(12), 638–647.
- [223] Sofroniew, M. V. (2020). Astrocyte reactivity: Subtypes, states and functions in CNS innate immunity. *Trends Immunol.*, 41(9), 758–770.
- [224] Zhou, X., Liang, J., Wang, J., Fei, Z., Qin, G., Zhang, D., Zhou, J., & Chen, L. (2020). Up-regulation of astrocyte excitatory amino acid transporter 2 alleviates central sensitization in a rat model of chronic migraine. *Journal of Neurochemistry*, 155, 370–389.

EKLER

EK A: Etik kurul onayı

EK A



ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : Tuğba BÜYÜKDEMİRTAŞ

Doğum Tarihi ve Yeri :

E-posta :

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2012, Kocaeli Üniversitesi, Kocaeli Sağlık Yüksekokulu, Hemşirelik

MESLEKİ DENEYİM VE ÖDÜLLER:

- 2013-Halen Sağlık Bakanlığı Bağlı Kuruluşları

YÜKSEK LİSANS TEZİNDEN TÜRETİLEN YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER:

Büyükdemirtaş, T., Üstünova, S. (2022). Deneyisel Migren Modelinde Timokinonun Ağrı, Öğrenme-Bellek ve Hipokampal Oksidatif Stres Üzerine Etkileri. 8. Uluslararası Mardin Artuklu Bilimsel Araştırmalar Kongresi, 4-6 Haziran, Mardin, Türkiye.