T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA PROGRAMI

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Levent ÖZTÜRK

REM UYKU YOKSUNLUĞU İLE OLUŞAN HİPERALJEZİDE KANNABİNOİD RESEPTÖRLERİNİN ROLÜ

(Doktora Tezi)

Uzm. Dr. Makbule Elif YILMAZ

Referans no: 10107981

EDİRNE – 2016

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA PROGRAMI

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Levent ÖZTÜRK

REM UYKU YOKSUNLUĞU İLE OLUŞAN HİPERALJEZİDE KANNABİNOİD RESEPTÖRLERİNİN ROLÜ

(Doktora Tezi)

Uzm. Dr. Makbule Elif YILMAZ

Destekleyen Kurum: TÜBAP Proje No: 2013-137

Tez No:

EDİRNE – 2016

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğü

ONAY

Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı doktora programı çerçevesinde ve Prof. Dr. Levent ÖZTÜRK danışmanlığında doktora öğrencisi Makbule Elif YILMAZ tarafından tez başlığı "REM Uyku Yoksunluğu ile Oluşan Hiperaljezide Kannabinoid Reseptörlerinin Rolü" olarak teslim edilen bu tezin tez savunma sınavı 31./03/2016 tarihinde yapılarak aşağıdaki jüri üyeleri tarafından "Doktora Tezi" olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Nurettin AYDOĞDU
İmza
JÜRİ BAŞKANI

Prof. Dr. Beyhan KARAMANLIOĞLU
İmza
ÜYE

Prof. Dr. Levent ÖZTÜRK
İmza
ÜYE

Prof. Dr. Gökhan METİN
İmza
ÜYE

Prof. Dr. İbrahim GÜNER
İmza
ÜYE

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Doç. Dr. Tammam SİPAHİ
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresince danışmanım Prof. Dr. Levent ÖZTÜRK'e, eğitimim süresince benden ilgilerini ve desteklerini esirgemeyen anabilim dalında rahat bir çalışma ortamı oluşturan başta Fizyoloji Anabilim Dalı başkanımız Prof. Dr. Nurettin AYDOĞDU'ya, Prof.Dr.S.Arzu VARDAR'a, Yrd. Doç. Dr. Mevlüt YAPRAK'a, deney aşamasındaki katkılarıyla her zaman yanımda olan Öğr.Gör.Dr.Oktay KAYA'ya, Yrd.Doç.Dr.Özgür GÜNDÜZ'e teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ 1

GENEL BİLGİLER 3

- **UYKU ARAŞTIRMALARININ TARİHÇESİ** 3
- **UYKUNUN FİZYOLOJİSİ** 4
- **UYKU/UYANIKLIK NÖROBİYOLOJİSİ** 5
- **UYANIKLIKLA İLGİLİ NÖROTRANSMİTTERLER** 6
- **UYKU İLE İLGİLİ NÖROTRANSMİTTERLER** 7
- **AĞRI** 8
- **KANABİNOİDLER VE ENDOKANABİNOİD SİSTEMİ** 12

GEREÇ VE YÖNTEMLER 15

BULGULAR 20

TARTIŞMA 28

SONUÇLAR 34

ÖZET 35

SUMMARY 36

KAYNAKLAR 37

RESİMLEMELER LİSTESİ 43

ÖZGEÇMİŞ 45

EKLER

SİMGE VE KISALTMALAR

AM251 **:** Kanabinoid reseptör antagonistlerinin bir çeşidi

CB1 **:** Kanabinoid reseptörü tip 1

CB2 **:** Kanabinoid reseptörü tip 2

DMSO **:** Dimetilsulfoksid

eCB **:** Endokanabinoidler

EEG **:** Elektroensefalografi

GABA **:** Gamaamino butirik asid

HP **:** Hotplate

IASP **:** "International Association for Study of Pain"

LTD **:** Laterodorsal tegmentum

mGlu **:** Metabotropik glutamat reseptörü

NIH **:** Birleşik Devletler Ulusal Sağlık Enstitüleri

NMDA **:** N-metil-D-aspartik asit

NREM **:** Uykunun REM dönemi dışında kalan diğer bölümleri

PPT **:** Pedinkülopontin tegmentum

RAS **:** Retiküler aktive edici sistem

REM **:** "Rapid eye movement"

SCN **:** Suprakiyazmatik çekirdek

SR144528 **:** Kanabinoid reseptör antagonistlerinin bir çeşidi

TF **:** "Tail flick"

THC **:** Tetrahidrokanabinol

TRPV1 **:** Transient reseptör potansiyel vaniloid tip 1

VLPO **:** Ventrolateral preoptik alan

WIN55-212 **:** Bir çeşit kanabinoid reseptör agonisti

GİRİŞ VE AMAÇ

Uyku ve ağrı, birbirini etkileyen dinamik fizyolojik süreçlerdir. Ağrılı durumların çoğunlukla uyku kalitesini bozduğu, uykuya dalmayı zorlaştırdığı ve uykusuzluğa neden olduğu bilinmektedir. Diğer yandan yeterince iyi uyku uyunamaması da ağrı algısını etkilemekte ve hiperaljezi olarak tanımlanan, ağrılı uyaranların daha şiddetli ağrıya yol açması şeklinde bir durum oluşturmaktadır. Uyku ve ağrı ikilisinin oluşturduğu kısır döngü klinikte birçok hastanın iyileşme sürecini olumsuz yönde etkilemektedir. Uyku ve ağrı, geçtiğimiz 50 yıl içinde yoğun biçimde araştırılmasına rağmen, ayrı ayrı çalışılmış ve birlikte ele alınmamıştır. Ağrı modülasyonu ve uyku/uyanıklık döngüsünün düzenlenmesi, ortak nörobiyolojik sistemleri kullanıyor olabilir. Uykusuzluğun ağrı algısı üzerine etkisini hayvanlarda ilk defa Hicks ve ark. (1) araştırmış ve hızlı göz hareketleri ile karakterize REM (rapid eye movement) uykusuzluğunun ağrı eşiğini düşürdüğünü göstermişlerdir. Ukponmwan ve ark. (2) REM uykusu ve opioiderjik aktivite arasındaki ilişkiyi incelemiş ve 96 saat REM uykusuzluğu ile morfin ve soğuk suyun ağrı kesici etkilerinin ortadan kaybolduğunu göstermişlerdir. Bu ilk çalışmalardan sonra Asakura ve ark. (3) çeşitli davranışsal ve nörokimyasal testler kullanarak 48 saat REM uykusuzluğunun etkilerini farelerde incelediler. Ağrı algısı, bu çalışmanın ana hedeflerinden olmamakla birlikte hotplate testi yapmışlar ve önceki çalışmaların aksine herhangi bir etki saptayamamışlardır. İkibin yılında yapılan bir çalışmada, Önen ve ark. (4) 3 gün süreyle REM uykusuzluğu oluşturarak mekanik ağrılı uyaran vokalizasyon yanıtını sıçanlarda araştırmışlar ve ikinci günden itibaren ağrı eşiğinin düştüğünü ve bu etkinin uykusuzluk sonlandırıldıktan sonra 48 saat daha devam ettiğini göstermişlerdir. Aynı grup, takip eden ikinci çalışmalarında mekanik, termal,

elektriksel uyaranla oluşturulan ağrı yanıtlarının REM uykusuzluğu sonucu arttığını göstermişler (5). Bu çalışma, REM uykusuzluğunun çeşitli uyaranlara karşı ağrı algısını arttırdığını detaylı biçimde göstermiştir. Ancak, ağrı ve uykusuzluk arasındaki ilişkinin mekanizmasına yönelik çalışmalar kısıtlı kalmış ve kanabinoid sistemi bu alanda hiç incelenmemiştir. Kanabinoidlerin rolüne yönelik ilk çalışma anabilim dalımızda yükseklisans tezi olarak gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada REM uyku yoksunluğuna bağlı gelişen hiperaljezide kanabinoid WIN55'in ağrı kesici etkileri değerlendirilmiştir (6). Şimdiki çalışma, bir önceki çalışmanın devamı niteliğindedir ve kanabinoid WIN55 ile birlikte iki adet kanabinoid reseptör antagonistinin de kullanılması mekanizmaya yönelik planlanan ilk çalışmalardan biridir. Böylece uyku-ağrı ilişkisinde beyindeki kanabinoid sisteminin rolü, çok daha detaylı biçimde ortaya konulmaya çalışılmıştır. 1980'li yıllarda yapılan ve yukarıda sözünü ettiğimiz opioid sistemine yönelik birkaç çalışma haricinde bu alanda yapılmış ender çalışmalardan biri olduğunu düşünmekteyiz.

GENEL BİLGİLER

UYKU ARAŞTIRMALARININ TARİHÇESİ

Uyku, tarih boyunca her zaman ilgi çeken bir araştırma konusu olmuştur. Uyku ile ilgili ilk bilgiler, Yunan mitolojisine dayanmaktadır. Uyku tanrısı Hypnos (Şekil 1) ve ölüm tanrısı Thanatos gece tanrıçası Nyx'in çocuklarıdır (7). Muhtemelen dış görünüşteki benzerlik nedeniyle kardeş oldukları düşünülmüştür. Uyku ve ölüm arasındaki fark, uykunun geçici, ölümünse kalıcı olmasıdır (8). İsa'dan önce altıncı yüzyılda yaşayan Kroton'lu Alcmaeon uyku ile ilgili fizyolojik bir açıklama yapmıştır. O'na göre, uyku, kanın derideki damarlardan vücudun iç bölgelerine doğru çekilmesi ile oluşmaktadır; perifere geri dönmesi ile de tekrar uyanıklık oluşur. Kanın tamamen çekilmesi ise ölüm anlamına gelir. Tüm bu ve benzeri Pre-Sokratik dönem teorilerinde uyku, ölüm ile yaşam arasında bir ara durum olarak görülmektedir. İkisine de yol açan fizyolojik mekanizmalar aynıdır. Sadece durumun şiddeti farklıdır. Hipokrat sayfalarında da yine Alcmaeon'un tanımlaması yer almaktadır: Uyanıkken insanın dışı sıcak içi soğuk, uykuda iken dışı soğuk içi sıcaktır (9).



Şekil 1. Uyku Tanrısı Hypnos (2)

Ondokuzuncu yüzyılda uyku alanında davranışsal teorilerin önplana çıktığı görülür. Bu dönemde en popüler açıklamalardan biri Dr. Edouard Claparéde (1873-1940) tarafından yapılmıştır. Dr. Claparéde, "uyku organizmayı yorgunluğun etkilerinden korumak için dizayn edilmiştir" demiştir (10). Bu hipotez başlangıçta ilginç bulundu. Fakat, bu aç kalmayı engellemek için yemek yeriz demek gibi birşeydi. Oysa ki yemenin amacı bildiğimiz gibi vücuda besin sağlamak ve böylece yaşamın devamını sağlamaktır. Yirminci yüzyılda davranışsal teorilerin, yerini kimyasal ve humoral teorilere bıraktığı görülmektedir. Bu dönemde en önemli ilerleme Rene Legendre ve Henri Piéron tarafından gerçekleştirildi. Bu iki doktor, uykusuz bıraktıkları köpeklerin beyin omurilik sıvları topladı ve bunu uykularını almış köpeklere verdiklerinde bu köpeklerin uykuya daldığını gözlemlediler (11). Bu çalışma uyanıklık süresince beyinde veya kanda miktarı artan ve sonra uyku süresince temizlenen bir maddenin yani bir uyku faktörünün arayışını başlattı. Uyku faktörü veya uyku maddesi arayışı 1980'li yıllara kadar devam etti. 1967 yılında John Pappenheimer uykusuz bırakılan keçilerde Faktör S adını verdiği bir maddeyi izole etti (12) ve 1981'de bu maddenin muramyl peptit olduğu anlaşıldı (13). Yukarıda sözü edilen çalışmalar, çeşitli türlerde hayvanların uykusuz bırakılarak vücutlarında ne gibi değişikliklerin meydana geldiği öncü çalışmalar olarak tarihe geçti. Başlangıçta uykunun mekanizmalarını çözmek için yapılan uykusuzluk çalışmaları, daha sonraları uykunun işlevini anlama amacına yöneldi ve niçin uyuruz sorusuna yanıt aradı (8).

UYKUNUN FİZYOLOJİSİ

Uykunun Tanımı

Uyku stereotipik postür, minimal hareket, seçici yanıtsızlık ve hızlı geri dönüşle karakterize bir davranışsal durumdur. Uyku sırasında bilincin ortadan kalktığı düşünülse de bunun aksini gösteren çalışmalar da vardır. Uyurken sıradan bir gürültüye yanıt vermeyen bir anne, yan odada uyumakta olan bebeğinin ağlama sesini duyar ve uyanarak ona yanıt verir. Bu örnekte de gösterildiği gibi uykunun tam bir yanıtsızlık durumu olduğunu söyleyemeyiz. İnsanlar genellikle sırtüstü pozisyonda, gözleri kapalı olarak uyur. Fakat sığırlar gibi gözleri açık uyuyan ya da atlar ve filler gibi ayakta uyuyan ya da bazı kuşlar gibi ayaklarından asılı şekilde uyuyan türler vardır. Hareketsizlik, görecelidir. Bazı balıklar uykuda yüzer; memeliler periodik olarak hareket edebilirler. Patolojik durumlarda da uykuda yürüme, konuşma vs görülebilir. Endojen ve eksojen uyaranlara karşı yanıtlarda azalma vardır; fakat tamamen

kaybolma yoktur. Geri dönüşümlü olması ve yanıtlılık uykuyu koma ve ölümden ayıran özelliklerdir. Uykunun tanımlanmasında elektrofizyolojik kayıt yöntemleri kullanılır. Eş zamanlı olarak gerçekleştirilen elektroensefalografi, elektromiyografi, elektrookülografi ile uyanıklıktan uykuya geçiş ve uykunun farklı evreleri birbirinden ayırt edilebilir. Bu çalışmaya polisomnografi adı verilir.

Uykunun Evreleri

Uyku, hızlı göz hareketlerinin varlığına göre REM (rapid eye movement) uyku ve NREM uyku olmak üzere iki evreden meydana gelir (14).

1-NREM: Uyanıklıktan uykuya bu evre ile geçilir. Önce yavaş göz hareketleri görülür ve sonra elektroensefalografi (EEG)'de teta aktivitesi hakimiyet kazanır. Bu evre yüzeyel ve derin uyku olmak üzere ikiye ayrılır.

2-REM: Hızlı göz hareketlerinin saptandığı evredir. REM uykusu hızlı göz hareketleri, kas atonisi, korteks de dahil olmak üzere çeşitli beyin alanlarının aktivasyonu, termoregülasyon kaybı, penil ereksiyon ve klitoral genişleme ile tanımlanır. Kardiyo-respiratuvar düzensizlik görülür. Rüya görülen dönem, uykunun REM dönemidir. Uyku sırasında rüyaların kayıt edilmesi veya monitorizasyonu mümkün olmamakla birlikte REM döneminde uyandırılan kişilerin rüyalarını çoğunlukla hatırlaması nedeniyle rüyalarla ilişkilendirilmiştir.

Uyku Süresi

Normal bir gece uykusu gözlemlendiğinde, en kolay gözlenen bireysel farklılık uyku süresidir. Erişkin bireylerin yaklaşık %60'ı gecede 7-8 saat uyurken %8'i 5 saatten az ve %2'si 10 saatten fazla uyurlar (15). NREM uyku kaybı, REM uyku kaybına göre çok daha fazla gündüz uykululuk durumuna neden olmaktadır. Uyku süresinin yeterli olduğunu anlamak için birkaç parametreye bakılabilir. Birey sabah kalktığı zaman dinlenmiş kalkıyorsa ve gündüz uykusu gelmiyorsa o uyku süresinin o birey için yeterli olduğu düşünülebilir (16).

UYKU/UYANIKLIK NÖROBİYOLOJİSİ

Moruzzi ve Magoun tarafından 1949 yılında tanımlanan retiküler aktive edici sistem (RAS), rostral pons ve kaudal mezensefalon birleşiminden diensefalona doğru uzanan ve uyanıklıktan sorumlu anatomik yapıdır (17). RAS iki ana yol halinde, diensefalonda bulunan talamus ve hipotalamusa uzanır. RAS'ın talamusa uzanan ve rostral pons ve kaudal mezensefalondan kaynaklanan kolinerjik parçasına pedunkulopontin ve laterodorsal tegmental

(PPT-LDT) çekirdekler adı verilmiştir (18). Bu kolinerjik nöron grubu, talamusun intralaminar çekirdeklerine, röle çekirdeklerine ve retiküler çekirdeğine bağlantı yapar. Retiküler çekirdek talamik aktivitenin düzenlenmesinde ve talamokortikal aktivasyonda anahtar rol oynamaktadır. PPT-LDT nöronlarının ve dolayısıyla talamokortikal sistemin hem REM uykusu döneminde hem de uyanıklıkta aktif olduğu görülmektedir. Bu durumda aradaki fark nedir? Birinci önemli ayrım RAS'ın hipotalamusa uzanan bölümünün aktivitesidir. RAS'ın bu bölümünde noradrenerjik locus coeruleus, serotonerjik dorsal ve median rafe çekirdekleri bulunur. Bunların aksonları lateral hipotalamusa giderek tuberomamiller çekirdekten yine lateral hipotalamusa gelen histaminerjik nöronlara katılır. Bu monoaminerjik nöron grupları içinde locus coeruleus, dorsal rafe ve tuberomamiller çekirdek nöronları uyanıklıkta en yüksek ateşleme hızına erişir. NREM süresince yavaşlar. REM uykusunda ise neredeyse tamamen durur. Kolinerjik PPT-LDT nöronları REM uykusuna özgü kas atonisinin oluşumun da da rol oynar (17-18).

UYANIKLIKLA İLGİLİ NÖROTRANSMİTTERLER

Asetilkolin

Merkez sinir sisteminde uyku/uyanıklıkla ilgili olarak iki önemli bölgede kolinerjik nöronlar bulunur: PPT-LDT alanı ve bazal ön beyin. PPT-LDT kolinerjik nöronlar uyanıklık ve REM uykusu süresince aktif durumda bulunarak talamik röle çekirdekleri üzerinden talamokortikal aktivasyonu sağlar. Kortekste asetilkolin salgılanması uyanıklık ve REM uykusu süresince artmıştır. Pons düzeyinde asetilkolin enjeksiyonu kedilerde kas atonisi ile birlikte REM uykusu benzeri bir duruma neden olmuştur (19). Bazal ön beyinde bulunan kolinerjik nöron larda yine uyanıklık ve REM uykusunda kortikal aktivasyon için önemlidir.

Noradrenalin

Beyinsapında noradrenalin salgılayan nöron grupları esas olarak locus coeruleus ve lateral tegmental bölgede bulunur. Lateral tegmental nöron grubu salgıladığı noradrenalin ile hipotalamusu ve motor davranışı kontrol ederken, locus coeruleus duysal girdi ve kortikal aktivasyonu düzenler (20). Noradrenalin uyanıklıkta salgılanır; locus coerulues aktivitesini arttıran müdahaleler uyanıklık düzeyini arttırır. Uyku yoksunluğunda katekolamin düzeylerinin de azaltılması sonucu ciddi kognitif bozulmanın ortaya çıkması da uyanıklık ve performansın sürdürülebilmesi için katekolamin gereksinimini göstermektedir (21).

Histamin

Beyindeki histaminin tek kaynağı posterior hipotalamusta bulunan tuberomamiller çekirdek nöronlarıdır. Hücre dışı histamin düzeyleri uyanıklıkta yüksektir. İlk dönem antihistaminiklerin sedasyon yapıcı etkisi iyi bilinmektedir. Histamin düzeylerini yükselten ilaçların uygulanması ya da histaminin serebral ventriküllere doğrudan verilmesi kortikal aktivasyona neden olarak uyanıklık düzeyini arttırmaktadır (22).

UYKU İLE İLGİLİ NÖROTRANSMİTTERLER

Serotonin

İlk çalışmalar serotonerjik etkinin uyku oluşturduğu yönünde sonuçlar bildirmesine rağmen reseptör düzeyinde yapılan yeni çalışmalar serotoninin uyanıklığı arttırdığını bildirmiştir. Serotoninin suprakiyazmatik çekirdek (SCN)'de vazoaktif intestinal polipeptid sentezini kontrol ettiği gösterilmiştir. Vazoaktif intestinal polipeptid içeren nöronların lateral preoptik alanda da bulunması ve hipnojenik özelliklerinin gösterilmesi de serotonin ve uyku arasındaki ilişkiyi yeniden kuvvetlendirmiştir (21).

Gamaaminobütirikasit

Gamaaminobutirik asit (GABA); beyindeki en önemli inhibitör nörotransmitterdir. Uykuda aktif olan GABAerjik nöronlar VLPO ve yakınındaki bazal önbeyinde bulunur. Bu nöronlar, histaminerjik ve diğer uyanıklık oluşturan hücre gruplarını inhibe ederek uykunun başlatılmasında ve sürdürülmesinde çok önemli rol oynamaktadır (21). REM uykusu süresince dorsal rafe ve locus coeruleus'ta GABA düzeyinin artması, bu çekirdeklerin GABAerjik inhibisyonunun REM uykunun başlatılması ve sürdürülmesinde aktif olarak rol aldığını düşündürmektedir (23).

Adenozin

Bu nükleozidin yavaş dalga uykusunda rol oynadığı uzun süredir düşünülmektedir. Çünkü, uyarıcı etkisi olan kafein diğer bir deyişle metilksantinler- adenozin reseptörlerini bloke etmektedir. Beyindeki adenozin düzeyleri uyanıklık sürdükçe yükselmekte ve uykuyu takiben düşmektedir. Uykunun bir kimyasal ajanla kontrol edilmesi iki mekanizma ile olabilir: (1) Uyanıklık süresince bir maddenin beyinde artması ve uyku süresince azalarak yeniden eski düzeyine gelmesi, ve (2) Uyanıklık süresince beyinde bir maddenin kullanılarak azalması

ve uykuda yeniden yapılarak eski düzeyine getirilmesi. Adenozin, bugüne kadar birinci modele tam anlamıyla uyan tek nörotransmitter özelliğini korumaktadır. Bu bakımdan uykunun humoral düzenlenmesinde aranan "uyku faktörü " olma olasılığı da çok yüksektir(21).

AĞRI

Ağrının Tanımı ve Tarihçesi

Ağrı Türkçe bir sözcüktür. Kaşgarlı Mahmud'un Divan ü Lügat-it Türk adlı eserinde yani ilk sözlüğümüzde "agrıdı, agrır, agrımaq ve agrıg" kelimeleri bu anlamda bulunmaktadır (24). Latince ceza, işkence anlamındaki "poena" sözcüğünden köken alan ağrı (pain), tarif etmesi oldukça güç bir kavramdır. Aslında subjektif bir algılama olan ağrının çok farklı tarifleri söz konusudur (25-26). Uluslararası Ağrı Araştırmaları Teşkilatı (IASP) tarafından yapılmış olan tanımlamaya göre "ağrı vücudumuzun belli bir bölgesinden kaynaklanan, güçlü bir doku hasarına bağlı olan ya da olmayan, insanın geçmişinde edindiği, öznel, primitif korumacı refleksleri, deneyimleri ile ilgili, duysal, hoş olmayan bir emosyonel duyum - davranış şeklidir (27). Ağrı her zaman kişiye özneldir. Bu sebeple, kişiden kişiye farklılıklar gösterir. İnsan doğduğu andan başlayarak, pek çok uyaranla karşılaşır. Dini, dili, cinsiyeti, ırkı, kültürü kişinin emosyonel yapısını şekillendirir. Objektif (nesnel) uyaranların yanısıra öznel özellikleri, kişinin ağrı eşiği adı verilen, ağrıya karşı yanıtında oldukça önemlidir. Bu sebeple, ağrılı uyarana karşı yanıt, kişiden kişiye farklılıklar gösterir.

Ağrı Sınıflaması

Sınıflandırma ağrıya yaklaşımda önemli olmakla birlikte genel geçer kabul edilmiş bir ağrı sınıflandırması bulunmamaktadır. Ağrının süresi, sınıflandırmada önemlidir. Akut ve kronik ağrı arasındaki ayrımda 3 ya da 6 ay sınırı kullanılır, ancak bu sınırlar da keyfi seçilmiştir. Etkilenen bölgeye göre kraniofasyal, servikal ya da torasik ağrıda söz edilebilir, organ sistemlerine göre kutanöz-subkutanöz, kas-iskelet, viseral veya sinirsel olarak adlandırılabilir. Bazen sınıflandırma etyolojik açıdan yapılır ve travmatik, infeksiyöz, inflamatuvar, dejeneratif, genetik-konjenital ve psikolojik ağrılardan söz edilir. Bir yaralanma veya hasarı takiben birkaç hafta içinde yatışan ağrı ile normal doku iyileşme süresinin üzerinde devam eden ağrıyı birbirinden ayırmak ve klinik açıdan sonuncusuna kronik ağrı demek daha uygundur (28). Son yıllarda ağrı sınıflandırmasında sorumlu mekanizmaya dayalı

bir adlandırma ağırlık kazanmıştır ve buna göre somatik, viseral, nosiseptif, nöropatik ağrılardan söz edilmektedir (29,30).

Süreye göre akut ya da kronik ağrılar: Ani bir doku hasarı ile başlayan, neden olduğu lezyon ile arasında zaman, yer ve şiddet açısından yakın ilişkisi olan, yara iyileşmesi süresinde giderek azalan ve kaybolan bir ağrı şeklidir (31). Akut ağrı, bir hastalık değil, aslında bir bulgudur. Akut ağrı da kendi içinde ikiye ayrılabilir: Beklenen ve beklenmeyen. Beklenen ağrı, daha önce tahmin edilebilen ve koruyucu önlemlerin alınabildiği bir ağrıdır. Diş çekimi, doğum ve ameliyat ağrıları buna örnek olabilir. Kırık, yanık ve travmalarda ortaya çıkabilen, beklenmeyen türdeki ağrılardaysa, ağrı eşiği çok daha yüksek olabilir. Bu ağrılarda ilginç olan, hastanın her zaman çok fazla ağrı çekmeyebileceğidir. Örneğin, savaşta yaralanan askerler başlangıçta hiçbir şekilde ağrı duymayabilir. Postoperatif ağrı, onca tıbbi gelişime rağmen halen, hem tıbbi, hem de toplumsal bir sorun olmaya devam etmektedir. Eldeki ağrı kontrol yöntemleri düşünülecek olursa, aslında hiçbir hastanın ameliyat sonrasında ağrı çekmemesi gerekir. Postoperatif ağrılar cerrahi travma ile başlar, giderek azalır ve sonra doku iyileşmesi ile sona eren bir akut ağrı tipidir.

Kronik ağrılar ise bir yaralanma ya da hasarın iyileşme süresinden çok daha uzun süre devam eder. Kronik ağrılara bağlı olarak halsizlik ve bitkinliğe bağlı uyku bozuklukları, libido ve seksüel aktivite azalması, iştahsızlık ve kilo kaybı, kabızlık, psikomotor bozukluklar, irritabilite artışı, hareketliliğin azalmasına bağlı eklem bozuklukları gibi pek çok belirti ortaya çıkar. Ağrılı hastaya yaklaşımda bir ekip bilinci ile değerlendirme yapmak, hem hastanın ağrısının çok daha kısa sürede dindirilmesine hem de zaman ve maddi açıdan daha az kayıba yol açar (30).

Fizyolojik- klinik ağrılar: Fizyolojik ağrı, aslında koruyucu bir yanıttır. Ateşten veya vücuda zarar verecek, hasara yol açabilecek kimi uyaranlardan kaçmak için nosiseptörlerin uyarılmasıyla beraber bir kaçma kurtulma reaksiyonu meydana gelir. İşte fizyolojik ağrı vücut için hem koruma hem de uyarı sistemidir (33). Klinik ağrıda ise olaya pek çok fizyopatolojik süreç dahil olur. Deri ve başka dokulardaki ağrı reseptörlerinin tümü aslında serbest sinir uçlarıdır. Uyarılar bu reseptörler aracılığıyla medulla spinalis'e taşınır. Oradan da spinotalamik yan yollarla beyne iletilir.

Kaynaklandığı bölgelere göre ağrılar: Somatik, viseral, sempatik ağrı şeklinde değerlendirilir. Somatik ağrı çoğunlukla somatik sinir lifleriyle taşınan ağrı tipidir. Ani başlar, keskindir, iyi lokalize edilir. Batma, sızlama, zonklama tarzında olabilir. Sinirin yayılım bölgesinde algılanır. Genelde travma, kırık, çıkık gibi durumlarda görülen ağrılar bu tip

somatik ağrılara örnek teşkil eder. Viseral ağrı, iç organlardan kaynaklanır. Bütün iç organlar, elbetteki ağrıya karşı her zaman duyarlı değildir. Örneğin bağırsaklarda meydana gelen gerilme, çeperinde bulunan bazı sinir liflerini uyararak ağrı duyusuna neden olabilir. İç organlardan kaynaklanan ağrılar genelde künt karakterdedir. Yavaş yavaş artar, diğeri gibi kolayca lokalize edilemez ve başka bölgelere doğru yayılım söz konusudur. (Örneğin: Pankreas ağrısının sağ omuza yayılması, apandisit ağrısının göbeğe yayılması, miyokarddan kaynaklanan ağrıların sol kola, çeneye yayılması gibi) Birtakım yansıma bölgeleri vardır. Aynı biçimde her organa özgü deri bölgelerinde de aşırı hassasiyet gözlenebilir. Sempatik ağrı, sempatik sinir sisteminin tutulduğu ağrılardır. Sempatik kökenli ağrılar, diğer ağrı tiplerine göre daha farklı özelliklere sahiptir. Primer hastalık geçtikten belki çok daha sonra, haftalar hatta aylar sonra bile başlayabilir, şiddetini gittikçe arttırır. Deri hassas ve soğuktur. Soğuk ortamda bu hassasiyet, daha da artar. Bu tip ağrının en önemli özelliklerinden biri de yanma tarzında olmasıdır. Hastaya sorulduğunda karda uzun süre çıplak kalındığı zaman hissedilen bir yanma ile üşüme arasında garip bir his tanımlar. Ağrı özellikle geceleri artar. Damarlardan kaynaklanan ağrılar 'kozalji' dediğimiz yanma tarzındaki ağrılar, sempatik ağrılara örnek olarak verilebilir (32).

Mekanizmalarına göre ağrılar: Bu sınıflama tipi ağrı tedavisine yeni bir boyut kazandırmıştır. Ağrının belirli mekanizmalarla ortaya çıkmasına benzer şekilde analjezikler (ağrı kesiciler) de belirli mekanizmalarla etkili olurlar. Bu sebeple, hem ağrının mekanizmasının hem de ağrı kesicilerin etki mekanizmasının bilinmesi ağrının çok daha çabuk tanısı ve daha etkin bir biçimde tedavi edilmesine olanak sağlar. Mekanizmalarına göre ise ağrılar şöyle sınıflandırılabilir: Nosiseptif ağrı, nöropatik ağrı, deaferantasyon ağrısı, reaktif ağrı, psikosomatik ağrı (31-33).

1-Nosiseptif ağrı: Nosiseptif ağrı fizyopatolojik bazı olayların nosiseptör denen ağrı algılayıcılarını uyarmasıyla ortaya çıkar. Nosiseptörlerin çeşitli somatik kökenli ağrılarda viseral ağrılarda olduğu gibi uyarılmasıyla genellikle ağrı olarak bildiğimiz ve tanımladığımız ağrı ortaya çıkar. Nosiseptif ağrının tedavisinde çeşitli periferik etkili analjezikler ya da opioidler gibi merkezi etkili analjezikler kullanılabilir.

2-Nöropatik ağrı: Nöropatik ağrı, periferik sinirlerde, incinme ya da metabolik bir hastalık sonucu nosiseptörlerin direkt etkilenmesiyle ortaya çıkar. Disk hernilerinde (bel fıtıkları) olduğu gibi, mekanik bir incinme-hasarlanmada doğrudan nöropatik ağrı ortaya çıkabilir. Diyabetik nöropatilerde olduğu gibi salınan bazı metabolitler, sinir dokusu üzerine etki ederek nöropatik ağrıya neden olabilir. Nöropatik ağrı, duysal bozukluğun saptandığı

yerlerde algılanır. Aralıklı, kısa süreli, batıcı, saplanıcı tarzda bir ağrıdır. Normalde ağrılı olmayan uyaranlar da sinir dokusunun hassaslaşmasına bağlı olarak ağrıya yol açar. (tıpkı uykusuzlukta olduğu gibi!) Tekrarlayan uyaranlar ağrının daha da çok artmasına neden olur. Ağrı aslında o anda doku hasarına sebebiyet veren patoloji devam etmiyor olduğu halde mevcuttur. Hoş olmayan bir uyuşukluk hissi, yanma, elektrik çarpması, karıncalanma, keçeleşme gibi hisler mevcuttur. Ağrı, tahribata neden olan olay olur-olmaz değil, daha sonra da gelişebilir. Tedavisinde bildiğimiz ağrı kesiciler çoğu kez yeterli olmaz. Böyle durumlarda santral etkili antidepresanlar ya da sedatifler gibi ikincil analjezik adını vermiş olduğumuz, diğer ilaç gruplarının desteğine ihtiyaç vardır.

3-Deafferentasyon Ağrısı: İlginç ağrı tiplerinden birisidir. Periferik veya merkez sinir sistemindeki lezyonlara bağlı gelişen, somatoduysal uyarıların, MSS'deki iletiminin kesilmesine bağlı meydana gelir. Deafferentasyon ağrılarına örnek olarak brakial pleksus avülsiyonu, postherpetik nevralji, travmatik paraplejiler, fantom ağrısı (olmayan-kaybedilen bir uzvun ağrısı) verilebilir. Bir anlamda denebilir ki sinirin elektriksel deşarjında, kısa devreler meydana gelmekte ve bu kısa devreler başlı başına bir odak olup, ağrıya neden olmaktadır. Yanıcı özelliktedir ve genellikle duysal kaybın olduğu bölgededir. İlk bir kaç ay içinde tedavi edilmediği takdirde, oldukça uzun sürebilen ve geçmeyen inatçı ağrılar meydana gelebilir.

4-Reaktif ağrı: Vücudun çeşitli olaylara karşı reaksiyon vererek, motor ve sempatik afferentlerin refleks aktivasyonuyla , nosiseptörler uyarılır ve ağrı ortaya çıkar. Halk arasında, kulunç olarak tabir edilen- miyofasyal ağrı sendromları ve refleks sempatik distrofiler, reaktif ağrılara örnek olarak verilebilir. Miyofasyal ağrı; süreklidir, künt, derin, sızlayıcı nitelikte olur. Vücut kaslarının değişik bölgelerinde tetik noktası denen noktalar vardır. Bu noktaların uyarılmasıyla yansıyan ağrılar meydana gelir. Hastada bu noktalara basıldığında, sıçrama meydana gelir.

5-Psikosomatik Ağrı: Kronik ağrılı hastalarda ağrıya bağlı bazı psikolojik belirtilerin ortaya çıkması doğaldır. Çünkü kronik ağrılı hasta işinden gücünden alıkonur ve toplumun ister istemez dışına çıkmak zorunda bırakılır. Bu sebeple, kronik ağrılı hastalarda doğal olarak bir takım tedirginlikleri olabilir. Ancak, psikosomatik ağrı çok daha farklı bir kavramdır. Hastanın psişik ya da psikososyal sorunlarını ağrı şeklinde gösterme yoludur. Örnek olarak, somatizasyon dediğimiz klinik durum alınabilir. Hasta bir anlamda ağrıyı kullanır, çeşitli kişisel, ekonomik ve toplumsal sorunlarını ağrıyla ifade ederek, ilgi toplamaya ve toplumun kendisi üzerinde dikkatini arttırmaya çalışmaktadır.

Ağrılı durumların sonuçları

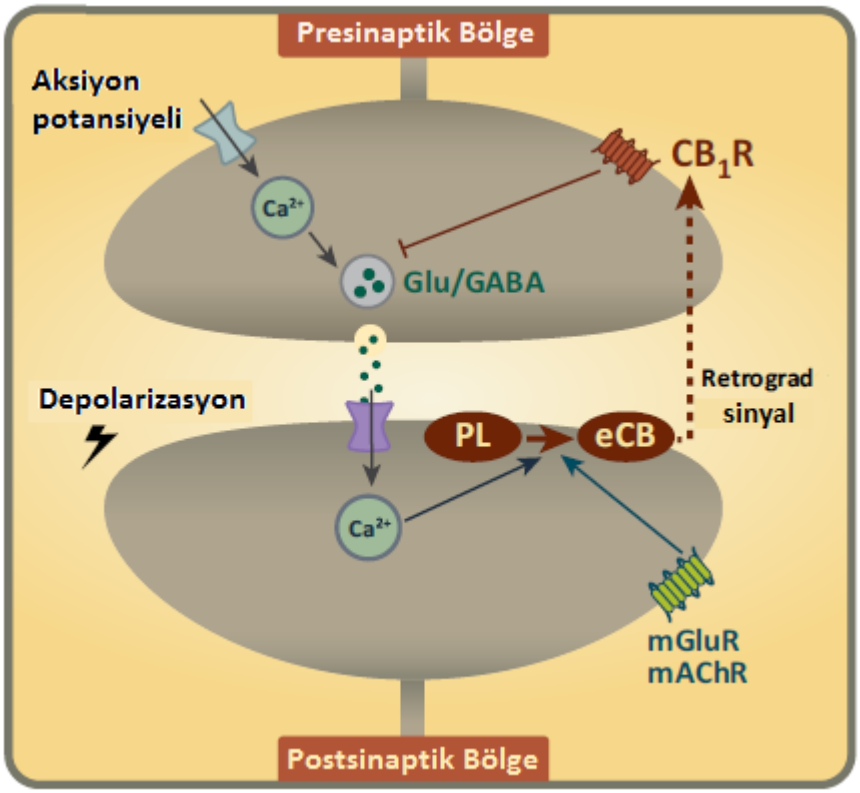
Akut ağrıların koruyucu ve öğretici değeri vardır. Bir doku hasarı görüldüğü zaman ya da görüleceği zaman bizi uyarır, benzer durumlara karşı önlem almamızı sağlar. Kronik ağrıda ise koruyucu ve öğretici değerler ortadan kalkar. Kronik ağrının biyolojik bir rolü olup olmadığı açık değildir. Hasta, hasta yakınları ve doktor üzerine duygusal, fiziksel ve sosyal stres yükü bindirir. Hastanın günlük aktivitelerini yapmasına kısmen ya da tamamen engel olur. Ağrının bireysel ve sosyal maliyetine ek olarak, ekonomik bir bedeli de vardır. Birleşik Devletler'de yapılan bir çalışmada sadece ağrı tedavisine yılda 60 milyar dolar harcandığı bulunmuştur (33). Ağrılı durumlarla ilişkili iş ve üretim kaybının maliyeti çok daha fazladır ve yıllık maliyetin 125 milyar dolara yaklaştığı bildirilmektedir (34). Ülkemizde yapılan bir çalışmada, baş ağrısından yakınan ve üniversite hastanesine başvuran 937 kişide ortanca toplam doğrudan maliyetin 88 USD olduğu, toplam maliyetin ise 160 USD olduğu hesaplanmıştır (35). Son dönemde yapılan bir başka çalışmada 5916 çalışanın verileri toplanmış ve bir ayda 15 günden fazla baş ağrısı bildiren çalışanların %21 üretim kaybına yol açtıkları hesaplanmıştır (36).

KANABİNOİDLER VE ENDOKANABİNOİD SİSTEMİ

Kanabinoidler *Cannabis* (kenevir) türü bitkilerde doğal olarak bulunan 60'ın üzerinde madde ve bunların sentetik analoglarının oluşturduğu bir farmakolojik madde sınıfını temsil etmektedir. Bu maddeler aynı reseptör bağlanma bölgelerine bağlanarak farklı şiddetlerde benzer etkiler ortaya çıkarırlar. Türkçe'de afyon ya da haşhaş olarak adlandırılan bu maddelerin eski kabilelerde törenlerde sigara gibi içilerek kullanıldığı bilinmektedir. Birleşik Devletler Ulusal Sağlık Enstitüleri (NIH) ve British Medical Association tarafından 1997 yılında yayınlanan raporlarda kanabinoidlerin potansiyel terapötik kullanımı konu edilince bu konudaki araştırmalar da büyük oranda artmıştır (37). Kanabinoid türü maddelerin vücudumuzda da üretildiği bulunmuş ve bu maddelere endokanabinoidler adı verilmiştir.

Endojen kanabinoid sistemi, CB1 ve CB2 olarak adlandırılan iki reseptör, bu reseptörlere bağlanarak aktive eden ligandlar (endokanabinoidler) ve bu ligandları sentezleyen ya da parçalayan enzimlerden meydana gelen bir nöroaktif lipid sinyal sistemidir (38). Özellikleri en iyi belirlenmiş iki endokanabinoid N-araşidonoilgliserol (anandamid) ve 2-araşidonoilgliserol (2-AG)'dir. CB1 reseptörü insan beyninde yaygın şekilde ifade edilir. Yerleşimi esas olarak presinaptiktir ve ihtiyaç duyulduğunda postsinaptik nöronda sentezlenen endokanabinoidlere yanıt verir. Postsinaptik membrandan kaynaklanan endokanabinoidler

presinaptik membrandaki CB1 reseptörüne bağlandıktan sonra (retrograd sinyal) presinaptik uçtan nörotransmitter salınımını baskılar (39,40). CB1 reseptörleri üzerinden gerçekleşen bu retrograd düzenlenme aşağıdaki şekilde gösterilmiştir (Şekil 2). Bunun dışında postsinaptik membranda yer alan CB1 reseptörleri ve transient reseptör potansiyel vaniloid tip 1 (TRPV1) kanalları üzerinden non-retrograd sinaptik düzenlenme de mevcuttur (41). CB1 reseptörleri beyin yanısıra testis, sempatik sinir uçlarının presinaptik bölgeleri, adrenal bez, kalp, akciğer, prostat, timus ve bademciklerde gösterilmiştir (37).



Şekil 2. Kanabinoid reseptörünün (CB1) presinaptik lokalizasyonu ve retrograd sinyalizasyon ile presinaptik uçtan nörotransmitter salgılanmasının inhibisyonu. Kısaltmalar: eCB, endokanabinoidler; PL, fosfolipidler; Glu, glutamat; GABA, gamaaminobutirikasid. (Mazier 2015'ten değiştirilerek alınmıştır) (42).

CB2 reseptörü immün sistem doku ve hücrelerinde ifade edilir. Glial hücrelerde ve nöronlarda bulunması merkez sinir sisteminde işlev gördüğünü göstermektedir (43,44). CB2 reseptörlerinin aktivasyonu, taktil ve termal allodini, mekanik ve termal hiperaljezi, ve kıvranma (writhing) gibi çeşitli preklinik modellerde nosisepsiyonu azaltmıştır (45). CB1 ve CB2 reseptörleri aktive olduğunda G-proteinleri aracılığı ile adenil siklaz enzimi inhibe edilir ve çeşitli iyon kanalları inhibe olur. Kanabinoid reseptörlerinin aktivasyonu ya da inhibisyonu

ile ilişkili fizyolojik süreçler arasında antinosisepsiyon, kognisyon ve bellek, lokomotor aktivite, endokrin işlevler, sıcaklık kontrolü ve kalp hızı, bulantı kusma, göziçi basıncı, inflamasyon, immün tanıma ve antitümör etkiler sayılabilir (37).

Endojen Kanabinoidler ve Nosisepsiyon

Kanabinoid reseptörlerine bağlandığı saptanan, tanımlanmış ilk endojen ligand, bir araşidonik asit türevi olan anandamid'tir. Anandamid kelimesi Sanskritçe "mutluluk, keyif, neşe" anlamlarına gelmektedir. Anandamidin fizyolojik etkileri aktif biçimde araştırılmakla beraber CB1 reseptörleri üzerine etkileri arasında antinosisepsiyon, hipomotilite ve azalmış bellek sayılabilir (46). Kanabinoidlerin antinosiseptif etkilerinin diğer davranışsal etkilerinden farklı mekanizmalarla ortaya çıktığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Örneğin, tetrahidrokanabinol (THC)'ün, kappa opioid reseptör agonistleri ile aditif analjezik etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (47). Endojen ve eksojen kanabinoidlerin opioid, 5HT3, ve NMDA reseptörleri üzerinde bazı etkilere sahip olduğu ve bu etkileşimin homeostatik ağrı modülasyonunda (antinosisepsiyon) önemli olduğu ileri sürülmüştür (48). Son dönemde yapılan bir çalışmada kanabinoid agonistleri anadamid'in CB1 ve N-palmitoil-etanolamin (PEA)'in CB2 reseptörleri üzerinden periferik antinosisepsiyon sağladığı yönünde kanıtlar elde edilmiştir (49).

İnsanlarda medulla spinalis arka kök ganglionlarında CB2 reseptörlerinin gösterilmesi bu reseptörlerin antinosisepsiyondaki rollerine dikkati çekmiştir (50,51). Hayvanlarda carrageenan ile indüklenen inflamatuvar ağrı modellerinde CB2 selektif agonistlerle CB2 reseptörlerinin aktive edilmesi dorsal kökte nöronal aktiviteyi baskılamıştır (52,53). CB2 reseptörlerinin ağrı modülasyonunda etkili olduğuna yönelik diğer kanıtlar da inflamasyonlu periferik dokularda CB2 reseptör proteinleri ve mRNA düzeyinin arttığını gösteren çalışmalarla gelmiştir (54,55).

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışma, Trakya Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'ndan onay alındıktan sonra Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji ve Farmakoloji Anabilim Dallarında gerçekleştirildi. Çalışmanın tüm aşamalarında hayvanların refahını sağlamak için 3R kuralına (56) uyulmuş ayrıca Uluslararası Ağrı Çalışmaları Birliği (International Association of the Study of Pain)'nin Araştırma ve Etik Komitesi önerilerine bağlı kalınmıştır (57).

DENEY HAYVANLARI VE ÇALIŞMA GRUPLARI

Çalışmamızda, ağırlıkları 20-30 g olan, 60 adet erkek Balb/c fare kullanılmıştır. Deney hayvanları her grupta 10 adet olmak üzere 6 gruba ayrılmıştır. Uykusuzluk çalışmalarına başlamadan önce Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Birimi'nde 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık siklusunda ad libitum yem ve su erişiminde tutulan hayvanlar, uykusuzluk kafeslerinde her bir kafeste 5 hayvan olacak şekilde alınmıştır. Tüm gruplar modifiye saksı (modified flower pot) modelinde 72 saat REM uykusuzluğa alınmış, ağrı eşiği ölçümleri sıcak zemin (hotplate) ve kuyruk çekme (tail-flick) yöntemleri ile uykusuzluğun başlangıcında (0.saat), uykusuzluğun sonunda (72.saat) ve ilaç uygulamasından 1 saat sonra (73-75 saatler arasında) yapılmıştır. Çalışma gruplarının özellikleri aşağıdaki şekilde tanımlanmıştır:

Grup 1 (Kontrol grubu) kontrol grubu olarak işlev görümüştür. Bu gruptaki farelere 72 saatlik uykusuzluk sonunda intraperitoneal ilaçların çözücüsü (%78 fizyolojik serum + %1

Etanol + %1 Tween 80 + %20 DMSO) kullanılarak injeksiyon yapılmış, injeksiyondan 1 saat sonra ağrı eşiği ölçümleri tekrarlanmıştır.

Grup 2 (Kanabinoid agonist grubu)'deki farelere 72 saatlik uykusuzluk sonrası intraperitoneal yolla kanabinoid agonisti (WIN 55,212,2) injeksiyonu yapılmıştır. İnjeksiyondan 1 saat sonra ağrı eşiği ölçümleri tekrarlanmıştır.

Grup 3 (Kanabinoid CB1 reseptör antagonisti + agonist grubu)'teki farelere 72 saatlik uykusuzluk sonrası intraperitoneal kanabinoid CB1 reseptör antagonisti (AM251) yapılmış, 20 dk sonrasında kanabinoid agonisti olan (WIN 55,212,2) injeksiyonu yapılmış, ve injeksiyondan 1 saat sonra ağrı eşiği ölçümleri tekrarlanmıştır.

Grup 4 (Kanabinoid CB2 reseptör antagonisti + agonist grubu)'teki farelere 72 saatlik uykusuzluk sonrası intraperitoneal yolla kanabinoid CB2 reseptör antagonisti (SR144528) yapılmıştır. 20 dk sonrasında kanabinoid agonisti olan (WIN 55,212,2) injeksiyonu yapılmış ve injeksiyondan 1 saat sonra ağrı eşiği ölçümleri tekrarlanmıştır.

Grup 5 (Kanabinoid CB1 reseptör antagonisti grubu)'teki farelere 72 saatlik uykusuzluk sonrası intraperitoneal kanabinoid CB1 reseptör antagonisti (AM251) yapılmış ve injeksiyondan 1 saat sonra ağrı eşiği ölçümleri tekrarlanmıştır.

Grup 6 (Kanabinoid CB2 reseptör antagonisti grubu)'daki farelere 72 saatlik uykusuzluk sonrası intraperitoneal kanabinoid CB2 reseptör antagonisti (SR144528) yapılmış, injeksiyondan 1 saat sonra ağrı eşiği ölçümleri tekrarlanmıştır.

İLAÇ DOZLARI

Grup 1: İlaçların çözücüsü olarak kullanılan (%1 ethanol + %1 tween 80 + %20 DMSO + %78 SF) i.p. (0,05 ml 10 gr vücut ağırlığına)

Grup 2: WIN 55,212,2 (5 mg/kg) i.p.

Grup 3: WIN 55,212,2 (5 mg/kg) i.p. + AM 251 (1 mg/kg) i.p.

Grup 4: WIN 55,212,2 (5 mg/kg) i.p. + SR 144528 (1 mg/kg) i.p

Grup 5: AM 251 (1mg/kg) i.p.

Grup 6: SR 144528 (1mg/kg) i.p.

REM UYKU YOKSUNLUĞU MODELİ

Hızlı göz küresi hareketleri (Rapid Eye Movement, REM) ile karakterize uyku döneminin ortadan kaldırılması için modifiye saksı modeli kullanıldı (58,59). Sıçanlarda uygulanan bu modelde su tankları (123 x 44 x 44 cm) içine 6,5 cm çapında platformlardan 6

ya da 7 adet yerleştirilmekte ve sonra platform yüzeyinden birkaç cm aşağıda kalacak şekilde tank içine su konulmaktadır. Platform üzerine konulan hayvan uyanık kaldığı sürece ve REM uykusu dışında yüzeyel uykuya daldığı sürece platform üzerinde kalabilmektedir. Ancak REM uykusuna daldığında bu uyku evresinin bir özelliği olarak kas atonisi oluştuğu için hayvan platform üzerinde kalamamakta ve suyun içine düşmektedir. Su derinliği, hayvanın su içinde yürümesine izin verdiği halde, hayvan ıslak kalmayı sevmediği için suyun içinde uyuyamamakta ve yeniden platform üzerine çıkmaktadır. Böylece hayvanın platform üzerinde bırakıldığı süre kadar REM uyku yoksunluğu oluşturulmaktadır. Kontrol grubu olarak da 14 cm çapındaki geniş platformlar kullanılmaktadır. Platform geniş olunca hayvan REM uykusuna girse bile platform üzerinde kalabilmektedir. Bu yöntemin bir diğer versiyonunda tank içine su konulmadan yapılmaktadır. Ancak, bu durumda zeminde bulunan suyun etkisi gözardı edilmiş olmaktadır.

Bu uykusuzluk modeli EEG kayıtları ile de doğrulanmıştır (58). Modelin avantajlı yönleri, aynı tank içine 5 adet hayvan konulduğu için bir veya iki platformun boş kalması ile immobilizasyon stresinin engellenmesidir. Ayrıca, hayvanlar uykusuzluk ortamına grup halinde alındığı için sosyal izolasyonun etkileri de ortadan kaldırılmış olmaktadır. Biz çalışmamızda bu modeli fareler için uyarladık. Farelerde uykusuzluk için kullanılan platformların çapı 3 cm idi. Bu büyüklükteki platformlarla farelerde daha önce REM uyku yoksunluğu başarı ile oluşturulmuştur (60,61). Silva ve ark.'nın çalışmasında tercih ettiği süre olan 72 saat, bizim çalışmamızda da kullanılmıştır. (60)

AĞRI YANITLARININ ÖLÇÜLMESİ

Çalışmamızda hayvanların ağrı eşiği iki farklı ağrı testi ile değerlendirildi. Santral ağrı yollarını değerlendirmek için sıcak zemin (hot-plate) ve kuyruk çekme (tail-flick) testleri kullanılmıştır. Testlerin sıralamasında önce sıcak zemin testleri yapıldı. Hayvanlar 10 dakika dinlendirildikten sonra tail flick testleri gerçekleştirildi. Her iki test de literatürde tanımlandığı şekilde uygulandı (62,63).

Sıcak Zemin (Hot plate) Testi

Bu test, metal bir zemin üzerine yerleştirilmiş açık uçlu silindir şeklinde bir boşluğa fare ya da sıçanın yerleştirilmesi ile yapılmaktadır. Metal zemin 50°C'ye kadar ısıtılır. Sabit sıcaklık sağlandıktan sonra boşluğa konulan farenin reaksiyon zamanı anlamında iki davranışı değerlendirilir. Bunlardan birincisi hayvanın ön ve arka ayak yüzeylerini yalaması, diğeri ise

sıçramasıdır. Yalama davranışı gözlenirken ön ayakların yalanması normal zamanda da olabileceği için özellikle arka ayakların yalanması değerlendirmeye alınır. Hayvan arka ayaklarını yaladığı anda test sonlandırılır ve geçen süre kayıt edilir. İkinci davranış, sıçrama davranışıdır. Hayvanın temas ettiği zeminden uzaklaşma eğilimi nedeniyle sıçradığı anda test sonlandırılır ve süre kayıt edilir. Çalışmamızda sıcak zemin testini uygularken her iki davranış da dikkate alarak ölçümler bu şekilde gerçekleştirildi. Test sonlandırılmasında üst sınır 15 saniyeye ayarlandı. Sıcak zemine konulan hayvanda 15 saniye içinde herhangi bir davranışsal yanıt ortaya çıkmadığı durumda test sonlandırıldı ve hayvan zeminden uzaklaştırıldı. Bunun nedeni, sıcak zemin teması ile meydana gelebilecek doku hasarının önlenmesiydi. Sıcak zeminde reaksiyon ölçümleri ikişer kez yapıldı ve ortalama değerler alınarak istatistik veriler elde edildi. Böylece sıcak zemin ölçümleri bazal koşullarda iki kez ve ilaç uygulamasından 60 dakika sonra iki kez olmak üzere yapılmış oldu. Bu test, öğrenmeye oldukça açıktır ve bundan etkilenebilir. İlk testlerde önce ayak tabanlarını yalayan ve sonrasında sıçrama davranışı gösteren hayvan, sonraki denemelerde ayaklarını yalamadan doğrudan sıçrama davranışı gösterebilir. Öğrenme sonucunda reaksiyonun süresi kısalır. Aslında bu durum, çalışmamız amacı doğrultusunda avantaj oluşturabilir. Çünkü melatoninin antinosiseptif etkileri var ise, bu durumda ilaç uygulaması ile sıcak zeminde kalma süresinin uzaması beklenmektedir. İlk ölçümlere göre öğrenme gerçekleştiğinde sürenin de kısalması bekleneceği için, ölçümlerde meydana gelen süre uzamasının gerçekten de ilaç uygulaması nedeniyle olduğu daha kuvvetle düşünülebilir.

Kuyruk Çekme (Tail-Flick) Testi

Plasebo kontrol grubundaki ve diğer gruplardaki deney hayvanları; deneyin başlangıcında, REM uykusuzluğu sonrasında ve ilaç uygulamasından 60 dk. sonra 3 aşama olmak üzere tail-flick test düzeneğine yerleştirilerek kuyrukları 50±1ºC termal uyarana maruz bırakıldı. Deneklerden normal süre olarak kabul edilen zaman dilimi (2-3 sn.) içerisinde kuyruklarını çekerek tepki göstermeleri beklendi. Belirttiğimiz zaman diliminden daha fazla sürede meydana gelen yanıt bize analjezik etkiyi gösterdi.

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Benzer tasarımda yapılmış çalışmalar örnek alınmıştır. Hayvan deneylerinde power analizi ile elde edilen sayılar yerine en düşük sayıda hayvanla grupların oluşturulması tercih edilmektedir. Bu bakımdan istatistik analiz için yeterli en düşük rakam 6-7 civarındadır.

Ancak, uygulanacak işlem nedeniyle deney tamamlanmadan hayvan kaybedilebileceği göz önüne alınarak gruplar her bir grupta 10 adet hayvan olacak şekilde planlanmıştır. Çalışmanın istatistiksel analizi Biyoistatistik Anabilim Dalı'ndan hizmet alımı şeklinde gerçekleştirilmiştir. Özetle, sayısal veriler ortalama ± standart sapma (SD) şeklinde ifade edilmiştir. Gruplar arası karşılaştırmalarda varyans analizi yapılmış ve post-hoc ikili karşılaştırmalarda Tukey testi tercih edilmiştir. Grup içinde önce-sonra karşılaştırmalarında tekrarlayan ölçümlerde varyans analizi kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p<0,05$ olarak ayarlanmıştır.

BULGULAR

Yetmişiki saat süreyle REM uykusuzluğu oluşturulması sırasında uykusuzluğa bağlı olarak hayvan kaybı görülmemiştir. Tüm hayvanlar uykusuzluk protokolünü tolere edebilmiştir. Ağırlık ölçümlerinde %15 üzerinde ağırlık kaybına rastlanmadığı için hiçbir hayvan çalışmadan çıkarılmamıştır. Çalışmada yer alan toplam 6 grubun sıcak zemin ve kuyruk çekme testleri ile ağrı eşiği ölçüm ham sonuçları tablolar halinde verilmiştir (Tablo 1-6). Uykusuzluk öncesi ve sonrası yapılan tüm ölçümler iki kez tekrarlanmış ve istatistik analizlerde bunların ortalaması kullanılmıştır. Diğer yandan, injeksiyon sonrası ölçümler hem sıcak zemin hem de kuyruk çekme testlerinde 1 kez yapılabilmiştir.

Tablo 1. Grup 1'de yer alan farelerin bazal koşullarda (uykusuzluk öncesi), 72 saat REM uykusuzluk dönemi sonunda (uykusuzluk sonrası) ve intraperitoneal injeksiyondan 30 dakika ve 60 dakika sonra yapılan ağrı eşiği ölçümleri* (işlenmemiş veriler)

	AĞRI EŞİĞİ ÖLÇÜMLERİ (SANİYE)											
	UYKUSUZLUK								**İNJEKSİYONDAN**			
	ÖNCESİ				**SONRASI**				**30 DAK SONRA**		**60 DAK SONRA**	
	TF1	**TF2**	**HP1**	**HP2**	**TF1**	**TF2**	**HP1**	**HP2**	**TF**	**HP**	**TF**	**HP**
1	1,4	2,3	6,1	4,8	2,8	6,5	6,3	7,7	2,2	4,4	2,3	4,8
2	1,7	2,4	6,5	6,3	5	4,3	9,4	7,8	3,7	9,6	3,5	13,6
3	2	1,6	5,9	4,5	3,3	3,5	14,7	9,3	2,3	4,2	2,4	4,6
4	0,9	1,6	5,9	4,4	3,7	7,5	13	14,2	6,3	9,5	4,4	10
5	2,9	2,3	4	3,5	1,8	2,1	11	10,4	4,1	3,7	4	4,7
6	2,1	1,5	5,9	4,2	3	3,7	6,2	5,5	2,9	5	2,3	3,1
7	2,5	1,4	4,8	4	3,3	5,5	3,5	9,4	2,7	3,3	2,5	4,1
8	2,3	2,2	5,5	4,8	4	6	11,9	8,6	3,4	8,1	3,7	7,8
9	2,8	1,6	2,8	3,2	2,4	2,4	4,3	4,3	3,3	11	3,1	4,4
10	1,7	2	5,8	6	2	4,4	6,8	6	3,4	3,2	2,8	7,2

Kısaltmalar: TF, tail flick; **HP,** hotplate; **İNJ,** injeksiyon; **ORT,** ortalama; **SD,** standart sapma.
*Tabloda yer alan tüm ölçüm sonuçları saniye cinsinden verilmiştir.

Tablo 2. Grup 2'de yer alan farelerin bazal koşullarda (uykusuzluk öncesi), 72 saat REM uykusuzluk dönemi sonunda (uykusuzluk sonrası) ve intraperitoneal injeksiyondan 30 dakika ve 60 dakika sonra yapılan ağrı eşiği ölçümleri* (işlenmemiş veriler)

	AĞRI EŞİĞİ ÖLÇÜMLERİ (SANİYE)											
	UYKUSUZLUK								İNJEKSİYONDAN			
	ÖNCESİ				SONRASI				30 DAK SONRA		60 DAK SONRA	
	TF1	TF2	HP1	HP2	TF1	TF2	HP1	HP2	TF	HP	TF	HP
1	1,9	2,7	5,4	4,9	2	1,8	5	4,8	1,9	25	2,9	5,5
2	2	1,4	4	4,9	1,6	1,9	6,9	7,9	2,3	19,2	3	6,4
3	2	1,1	5,9	6,7	2,3	9	7,2	8,6	4,2	14,3	4,6	11,7
4	1,3	1,9	6,4	4,7	2,2	5,2	6,9	7,1	2,5	25	3,1	10
5	1,5	1,3	6	4,3	2,2	3,1	8,8	6,9	3,4	7,6	3,1	6,1
6	1,9	1,6	5,8	5,5	2,9	3,2	6,2	8,5	4,1	25	3,2	25
7	2,2	2,1	3,7	6	1,4	1,8	6,6	6,4	3,5	12,1	3,2	10
8	1,5	2,2	5,5	7	2,7	2,2	5,9	3,7	2,3	17,7	2,9	8,1
9	2,3	2,1	4,7	5,3	3	2,3	4,3	4,8	2,9	19,9	1,9	7,4
10	1,8	1,9	6	5,7	3,5	1,4						

Kısaltmalar: TF, tail flick; **HP,** hotplate; **İNJ,** injeksiyon; **ORT,** ortalama; **SD,** standart sapma.
*Tabloda yer alan tüm ölçüm sonuçları saniye cinsinden verilmiştir.

Tablo 3. Grup 3'de yer alan farelerin bazal koşullarda (uykusuzluk öncesi), 72 saat REM uykusuzluk dönemi sonunda (uykusuzluk sonrası) ve intraperitoneal injeksiyondan 30 dakika ve 60 dakika sonra yapılan ağrı eşiği ölçümleri* (işlenmemiş veriler)

	AĞRI EŞİĞİ ÖLÇÜMLERİ (SANİYE)											
	UYKUSUZLUK								İNJEKSİYONDAN			
	ÖNCESİ				SONRASI				30 DAK SONRA		60 DAK SONRA	
	TF1	TF2	HP1	HP2	TF1	TF2	HP1	HP2	TF	HP	TF	HP
1	2,8	3,1	5,9	7	4,2	4,2	5,8	4,4	3,2	5,5	3,7	8,4
2	1	1,9	4,6	7,5	5,5	2,5	5,2	8,8	2,4	6,1	2,3	9
3	1,2	1,7	7,1	5,6	3,5	1,6	8,8	11,2	4,4	9,5	4,3	10,3
4	1,4	1,2	5,1	7,1	3,2	3,8	10,6	4,6	4,1	6,6	3,9	6,7
5	0,9	1	6,3	4,8	4	3,2	3,9	4,8	4,3	4,8	2,7	4,9
6	1,7	1,9	3,3	5,5	5	4,1	8,4	7,4	3,6	4,6	4,3	5,4
7	2,8	3	9,3	17,3	2,3	2,2	6,8	5,6	5	4,8	4,1	9,9
8	2,2	1,7	8,2	7,7	4,8	3,8	5,9	4	4,2	6,9	3,6	9,9
9	1,7	2,5	8,3	4,9	5,1	4,3	15	7,3	5,5	8,5	4,1	7,9
10	2,1	3,3	8	13,2	3,1	2,7	6,7	5	3,6	6	3,7	8,6

Kısaltmalar: TF, tail flick; **HP,** hotplate; **İNJ,** injeksiyon; **ORT,** ortalama; **SD,** standart sapma.
*Tabloda yer alan tüm ölçüm sonuçları saniye cinsinden verilmiştir.

Tablo 4. Grup 4'de yer alan farelerin bazal koşullarda (uykusuzluk öncesi), 72 saat REM uykusuzluk dönemi sonunda (uykusuzluk sonrası) ve intraperitoneal injeksiyondan 30 dakika ve 60 dakika sonra yapılan ağrı eşiği ölçümleri* (işlenmemiş veriler)

	AĞRI EŞİĞİ ÖLÇÜMLERİ (SANİYE)											
	UYKUSUZLUK								İNJEKSİYONDAN			
	ÖNCESİ				SONRASI				30 DAK SONRA		60 DAK SONRA	
	TF1	TF2	HP1	HP2	TF1	TF2	HP1	HP2	TF	HP	TF	HP
1	3,2	2,2	7	8,9	1,8	3,2	5,3	5	4,3	25	3,6	10,8
2	3	2,1	8	9,6	3,3	2,5	5,3	7,4	4	21,8	4	23
3	2,1	2,4	8,6	9,7	4,6	5,7	3,3	4,8	3,7	25	6,5	25
4	2,1	1	6,4	5,1	4,1	4,8	7,3	12,4	3,9	25	3,2	9,8
5	2,3	1,1	6,9	8,2	3,2	4	6,3	3,8	4,7	15,3	3,9	8,3
6	2,5	1,6	6,9	6,7	1,8	3,3	6,9	7,2	3,1	14,5	4,1	8,2
7	2,7	2,4	8,9	9,6	2,6	3,5	5,7	4,4	4	22,3	4,1	13,2
8	1,5	1,6	6,2	6,1	2	3	8,6	5,7	5	25	3,6	19,5
9	3,2	2,6	11,8	9,1	2,4	2,7	4,3	4,3	3,7	23,8	3,2	19,9
10	2,6	2,6	8,8	10,9	3,2	3,5	6,4	6,3	4,3	25	4,1	9,3

Kısaltmalar: TF, tail flick; **HP,** hotplate; **İNJ,** injeksiyon; **ORT,** ortalama; **SD,** standart sapma.
*Tabloda yer alan tüm ölçüm sonuçları saniye cinsinden verilmiştir.

Tablo 5. Grup 5'de yer alan farelerin bazal koşullarda (uykusuzluk öncesi), 72 saat REM uykusuzluk dönemi sonunda (uykusuzluk sonrası) ve intraperitoneal injeksiyondan 30 dakika ve 60 dakika sonra yapılan ağrı eşiği ölçümleri* (işlenmemiş veriler)

	AĞRI EŞİĞİ ÖLÇÜMLERİ (SANİYE)											
	UYKUSUZLUK								İNJEKSİYONDAN			
	ÖNCESİ				SONRASI				30 DAK SONRA		60 DAK SONRA	
	TF1	TF2	HP1	HP2	TF1	TF2	HP1	HP2	TF	HP	TF	HP
1	2,2	1,1	7,4	7,2	2,5	2,8	3,2	2,7	2,8	5,2	3,4	4
2	1,9	1,7	5,6	6,1	1,2	1,6	4,3	3,3	2,1	4,8	2,7	5,3
3	1,4	1,2	5,9	10	1,3	1,4	3,5	4,2	1,1	4,4	1,4	2,7
4	1,2	2	5,5	8	1,2	1,1	4,9	7,2	2	4,5	1,9	4,4
5	1,7	1,7	6,4	3,7	1,8	1,9	4,2	7,9	1,1	5	1,6	4
6	2,4	2	6,4	7,6	2,2	2,2	5,2	5	2,9	3,4	3	4,9
7	3	2	6	3,1	2,8	3,2	5	4,3	2,9	3,4	3,5	4,5
8	2	1,5	5,7	5,1	2,2	2,7	3,1	4,8	2	5	3,6	4,7
9	4,1	1,9	7	4,9	2,2	1,4	3,7	4	1,9	5,7	3,2	4,3
10	2,1	1,2	7,3	7,2	1,7	2	3,3	4,8	1,8	4,6	2,6	10,9

Kısaltmalar: TF, tail flick; **HP,** hotplate; **İNJ,** injeksiyon; **ORT,** ortalama; **SD,** standart sapma.
*Tabloda yer alan tüm ölçüm sonuçları saniye cinsinden verilmiştir.

Uykusuzluk öncesi ve sonrasında 2 kez yapılan ağrı eşiği ölçümlerinin ortalama değerleri gruplara göre tablolarda verilmiştir (Tablo 7-12). Bu tablolarda kuyruk çekme (TF) ve sıcak zemin (HP) testlerinin ölçümleri ardışık olarak hazırlanmış ve ham tekrar ölçümlerin ortalama değerleri alınmıştır.

Tablo 6. Grup 6'da yer alan farelerin bazal koşullarda (uykusuzluk öncesi), 72 saat REM uykusuzluk dönemi sonunda (uykusuzluk sonrası) ve intraperitoneal injeksiyondan 30 dakika ve 60 dakika sonra yapılan ağrı eşiği ölçümleri* (işlenmemiş veriler)

	AĞRI EŞİĞİ ÖLÇÜMLERİ (SANİYE)											
	UYKUSUZLUK								İNJEKSİYONDAN			
	ÖNCESİ				SONRASI				30 DAK SONRA		60 DAK SONRA	
	TF1	TF2	HP1	HP2	TF1	TF2	HP1	HP2	TF	HP	TF	HP
1	2,4	2,1	5,3	4,2	3	5,6	7,1	7,6	4,1	6,9	4,2	13
2	2,1	2,1	6,6	9,7	2	2,3	4,8	5,1	2,6	5,4	4,4	8,9
3	2,1	1,1	10	8,7	1,9	3,3	9	6,2	3,1	4,8	3,7	12,7
4	2,2	2,1	13,2	8,8	3,3	4,6	9,9	6,9	3,6	5,6	3,9	9,9
5	1,6	2,2	7,2	9,5	5,6	6,8	10,7	10,9	6	5,7	5,9	13,7
6	2,3	2,5	7,2	11,5	3,3	2,8	5,7	5,4	3,6	6	3	7,8
7	2	2,2	8,8	5,4	3,1	4,1	5	6,9	3,5	8,3	3,4	7,7
8	1,7	1,8	6,9	5,9	3	3,7	6,2	7,4	3,3	7,6	3,8	7,2
9	2,4	2,4	5,6	8,2	4,1	3,8	5,9	6,5	3,4	8,9	3,4	6,9
10	2,2	3,4	6	3,4	2,8	2	6,4	4,3	3,7	6,4	3,1	8,1

TF, tail flick; **HP,** hotplate; **İNJ,** injeksiyon; **ORT,** ortalama; **SD,** standart sapma.
*Tabloda yer alan tüm ölçüm sonuçları saniye cinsinden verilmiştir.

Tablo 7. Grup 1'de yer alan farelerin bazal koşullarda (uykusuzluk öncesi), 72 saat REM uykusuzluk dönemi sonunda (uykusuzluk sonrası) ve intraperitoneal injeksiyondan 30 dakika ve 60 dakika sonra yapılan ağrı eşiği ölçümleri

Denek	Kuyruk çekme testi, saniye					Sıcak zemin testi, saniye			
No.	TF1	TF2	TF3	TF4		HP1	HP2	HP3	HP4
1	1,85	4,65	2,2	2,3		5,45	7	4,4	4,8
2	2,05	4,65	3,7	3,5		6,4	8,6	9,6	13,6
3	1,8	3,4	2,3	2,4		5,2	12	4,2	4,6
4	1,25	5,6	6,3	4,4		5,15	13,6	9,5	10
5	2,6	1,95	4,1	4		3,75	10,7	3,7	4,7
6	1,8	3,35	2,9	2,3		5,05	5,85	5	3,1
7	1,95	4,4	2,7	2,5		4,4	6,45	3,3	4,1
8	2,25	5	3,4	3,7		5,15	10,25	8,1	7,8
9	2,2	2,4	3,3	3,1		3	4,3	11	4,4
10	1,85	3,2	3,4	2,8		5,9	6,4	3,2	7,2
ORT	**1,96**	**3,86**	**3,43**	**3,10**		**4,94**	**8,51**	**6,20**	**6,43**
SD	**0,33**	**1,12**	**1,11**	**0,72**		**0,94**	**2,85**	**2,85**	**3,10**

TF, tail flick; **HP,** hotplate; **İNJ,** injeksiyon; ikinci satırda yer alan **1,** uykusuzluk öncesi; **2,** uykusuzluk sonrası; **3,** injeksiyon öncesi; **4,** injeksiyon sonrası.

Tablo 8. Grup 2'de yer alan farelerin bazal koşullarda (uykusuzluk öncesi), 72 saat REM uykusuzluk dönemi sonunda (uykusuzluk sonrası) ve intraperitoneal injeksiyondan 30 dakika ve 60 dakika sonra yapılan ağrı eşiği ölçümleri

Denek	**Kuyruk çekme testi, saniye**					**Sıcak zemin testi, saniye**			
No.	**TF1**	**TF2**	**TF3**	**TF4**		**HP1**	**HP2**	**HP3**	**HP4**
1	2,3	1,9	1,9	2,9		5,15	4,9	25	5,5
2	1,7	1,75	2,3	3		4,45	7,4	19,2	6,4
3	1,55	5,65	4,2	4,6		6,3	7,9	14,3	11,7
4	1,6	3,7	2,5	3,1		5,55	7	25	10
5	1,4	2,65	3,4	3,1		5,15	7,85	7,6	6,1
6	1,75	3,05	4,1	3,2		5,65	7,35	25	25
7	2,15	1,6	3,5	3,2		4,85	6,5	12,1	10
8	1,85	2,45	2,3	2,9		6,25	4,8	17,7	8,1
9	2,2	2,65	2,9	1,9		5	4,55	19,9	7,4
10	1,85	2,45				5,85			
ORT	**1,83**	**2,78**	**3,01**	**3,10**		**5,42**	**6,47**	**18,42**	**10,02**
SD	**0,28**	**1,12**	**0,78**	**0,64**		**0,57**	**1,28**	**5,84**	**5,64**

TF, tail flick; **HP,** hotplate; **İNJ,** injeksiyon; ikinci satırda yer alan **1,** uykusuzluk öncesi; **2,** uykusuzluk sonrası; **3,** injeksiyon öncesi; **4,** injeksiyon sonrası.

Tablo 9. Grup 3'de yer alan farelerin bazal koşullarda (uykusuzluk öncesi), 72 saat REM uykusuzluk dönemi sonunda (uykusuzluk sonrası) ve intraperitoneal injeksiyondan 30 dakika ve 60 dakika sonra yapılan ağrı eşiği ölçümleri

Denek	**Kuyruk çekme testi sonuçları**					**Sıcak zemin testi sonuçları**			
No.	**TF1**	**TF2**	**TF3**	**TF4**		**HP1**	**HP2**	**HP3**	**HP4**
1	2,95	4,2	3,2	3,7		6,45	5,1	5,5	8,4
2	1,45	4	2,4	2,3		6,05	7	6,1	9
3	1,45	2,55	4,4	4,3		6,35	10	9,5	10,3
4	1,3	3,5	4,1	3,9		6,1	7,6	6,6	6,7
5	0,95	3,6	4,3	2,7		5,55	4,35	4,8	4,9
6	1,8	4,55	3,6	4,3		4,4	7,9	4,6	5,4
7	2,9	2,25	5	4,1		13,3	6,2	4,8	9,9
8	1,95	4,3	4,2	3,6		7,95	4,95	6,9	9,9
9	2,1	4,7	5,5	4,1		6,6	11,15	8,5	7,9
10	2,7	2,9	3,6	3,7		10,6	5,85	6	8,6
ORT	**1,95**	**3,65**	**4,03**	**3,67**		**7,33**	**7,01**	**6,33**	**8,10**
SD	**0,66**	**0,80**	**0,84**	**0,63**		**2,52**	**2,10**	**1,53**	**1,78**

TF, tail flick; **HP,** hotplate; **İNJ,** injeksiyon; ikinci satırda yer alan **1,** uykusuzluk öncesi; **2,** uykusuzluk sonrası; **3,** injeksiyon öncesi; **4,** injeksiyon sonrası.

Tablo 10. Grup 4'de yer alan farelerin bazal koşullarda (uykusuzluk öncesi), 72 saat REM uykusuzluk dönemi sonunda (uykusuzluk sonrası) ve intraperitoneal injeksiyondan 30 dakika ve 60 dakika sonra yapılan ağrı eşiği ölçümleri

Denek	**Kuyruk çekme testi sonuçları**					**Sıcak zemin testi sonuçları**			
No.	**TF1**	**TF2**	**TF3**	**TF4**		**HP1**	**HP2**	**HP3**	**HP4**
1	2,7	2,5	4,3	3,6		7,95	5,15	25	10,8
2	2,55	2,9	4	4		8,8	6,35	21,8	23
3	2,25	5,15	3,7	6,5		9,15	4,05	25	25
4	1,55	4,45	3,9	3,2		5,75	9,85	25	9,8
5	1,7	3,6	4,7	3,9		7,55	5,05	15,3	8,3
6	2,05	2,55	3,1	4,1		6,8	7,05	14,5	8,2
7	2,55	3,05	4	4,1		9,25	5,05	22,3	13,2
8	1,55	2,5	5	3,6		6,15	7,15	25	19,5
9	2,9	2,55	3,7	3,2		10,45	4,3	23,8	19,9
10	2,6	3,35	4,3	4,1		9,85	6,35	25	9,3
ORT	**2,24**	**3,26**	**4,07**	**4,03**		**8,17**	**6,03**	**22,27**	**14,70**
SD	**0,47**	**0,86**	**0,51**	**0,88**		**1,50**	**1,63**	**3,85**	**6,15**

TF, tail flick; **HP,** hotplate; **İNJ,** injeksiyon; ikinci satırda yer alan **1,** uykusuzluk öncesi; **2,** uykusuzluk sonrası; **3,** injeksiyon öncesi; **4,** injeksiyon sonrası.

Tablo 11. Grup 5'de yer alan farelerin bazal koşullarda (uykusuzluk öncesi), 72 saat REM uykusuzluk dönemi sonunda (uykusuzluk sonrası) ve intraperitoneal injeksiyondan 30 dakika ve 60 dakika sonra yapılan ağrı eşiği ölçümleri

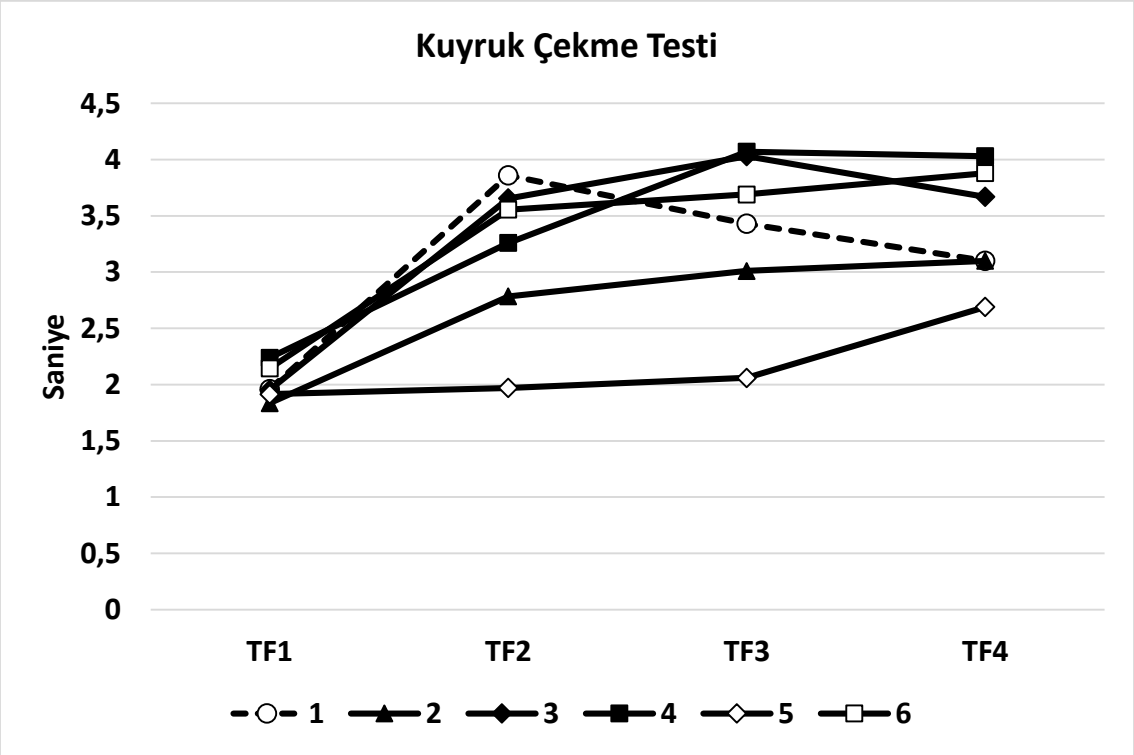
Denek	**Kuyruk çekme testi sonuçları**					**Sıcak zemin testi sonuçları**			
No.	**TF1**	**TF2**	**TF3**	**TF4**		**HP1**	**HP2**	**HP3**	**HP4**
1	1,65	2,65	2,8	3,4		7,3	2,95	5,2	4
2	1,8	1,4	2,1	2,7		5,85	3,8	4,8	5,3
3	1,3	1,35	1,1	1,4		7,95	3,85	4,4	2,7
4	1,6	1,15	2	1,9		6,75	6,05	4,5	4,4
5	1,7	1,85	1,1	1,6		5,05	6,05	5	4
6	2,2	2,2	2,9	3		7	5,1	3,4	4,9
7	2,5	3	2,9	3,5		4,55	4,65	3,4	4,5
8	1,75	2,45	2	3,6		5,4	3,95	5	4,7
9	3	1,8	1,9	3,2		5,95	3,85	5,7	4,3
10	1,65	1,85	1,8	2,6		7,25	4,05	4,6	10,9
ORT	**1,91**	**1,97**	**2,06**	**2,69**		**6,30**	**4,43**	**4,60**	**4,97**
SD	**0,48**	**0,56**	**0,62**	**0,76**		**1,05**	**0,96**	**0,69**	**2,08**

TF, tail flick; **HP,** hotplate; **İNJ,** injeksiyon; ikinci satırda yer alan **1,** uykusuzluk öncesi; **2,** uykusuzluk sonrası; **3,** injeksiyon öncesi; **4,** injeksiyon sonrası.

Tablo 12. Grup 6'da yer alan farelerin bazal koşullarda (uykusuzluk öncesi), 72 saat REM uykusuzluk dönemi sonunda (uykusuzluk sonrası) ve intraperitoneal injeksiyondan 30 dakika ve 60 dakika sonra yapılan ağrı eşiği ölçümleri

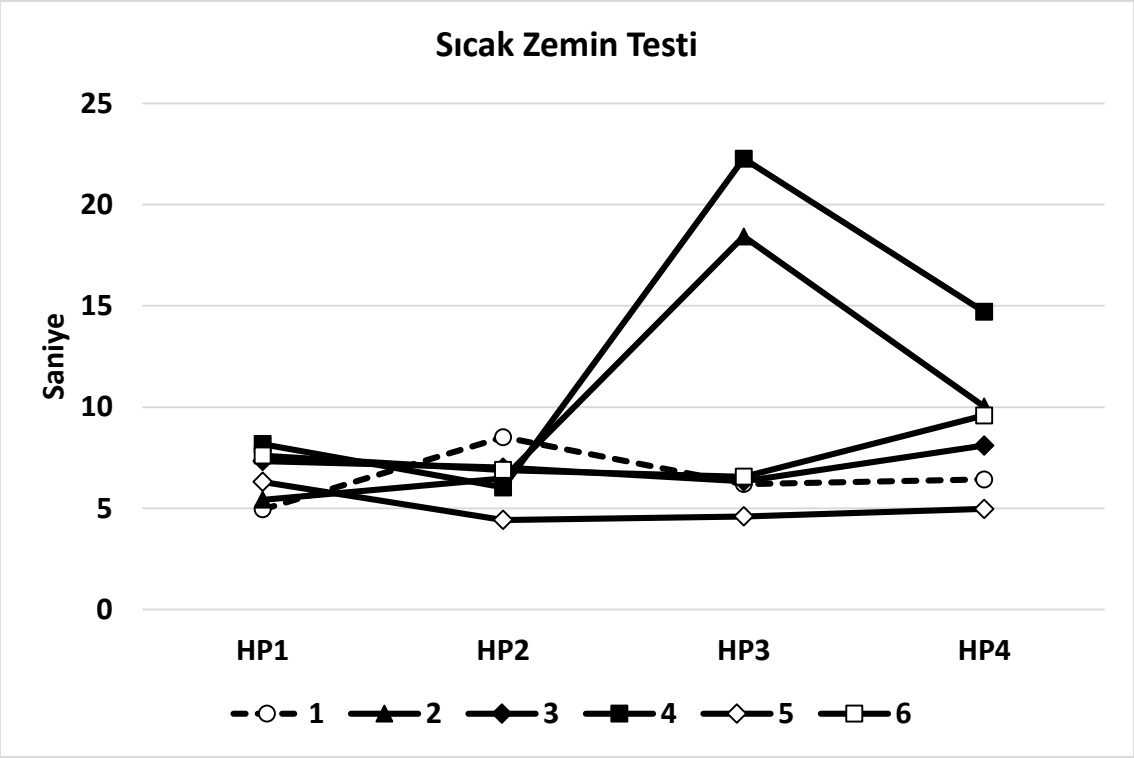
Denek	Kuyruk çekme testi sonuçları					Sıcak zemin testi sonuçları			
No.	TF1	TF2	TF3	TF4		HP1	HP2	HP3	HP4
1	2,25	4,3	4,1	4,2		4,75	7,35	6,9	13
2	2,1	2,15	2,6	4,4		8,15	4,95	5,4	8,9
3	1,6	2,6	3,1	3,7		9,35	7,6	4,8	12,7
4	2,15	3,95	3,6	3,9		11	8,4	5,6	9,9
5	1,9	6,2	6	5,9		8,35	10,8	5,7	13,7
6	2,4	3,05	3,6	3		9,35	5,55	6	7,8
7	2,1	3,6	3,5	3,4		7,1	5,95	8,3	7,7
8	1,75	3,35	3,3	3,8		6,4	6,8	7,6	7,2
9	2,4	3,95	3,4	3,4		6,9	6,2	8,9	6,9
10	2,8	2,4	3,7	3,1		4,7	5,35	6,4	8,1
ORT	**2,14**	**3,55**	**3,69**	**3,88**		**7,60**	**6,89**	**6,56**	**9,59**
SD	**0,32**	**1,11**	**0,85**	**0,79**		**1,93**	**1,66**	**1,27**	**2,46**

TF, tail flick; **HP,** hotplate; **İNJ,** injeksiyon; ikinci satırda yer alan **1,** uykusuzluk öncesi; **2,** uykusuzluk sonrası; **3,** injeksiyon öncesi; **4,** injeksiyon sonrası.



TF, tail flick.

Şekil 2. Çalışma gruplarında kuyruk çekme testi ile ağrı eşiği ölçümleri.



HP, hotplate.

Şekil 3. Çalışma gruplarında sıcak zemin testi ile ağrı eşiği ölçümleri.

TARTIŞMA

Bu çalışmada 72 saat süreli REM uyku yoksunluğuna bağlı hiperaljezide kanabinoid WIN55-212,2 uygulamasının etkisi araştırılmış, ayrıca reseptör düzeyinde inceleme için iki farklı kanabinoid reseptör antagonisti (AM251 ve SR144528) kullanılmıştır. Bu modelde kanabinoid reseptör antagonistleri ilk kez bu çalışmada kullanılarak WIN55-212,2'nin etkilerinde hangi reseptörün rolünün olduğu araştırılmıştır. Toplumun yaklaşık beşte biri kronik ağrıdan yakınmaktadır ve kronik ağrılı bireylerin de üçte ikisi uykularının kötü olduğunu bildirmektedir. Ağrı algısının beyinde bir uyanıklık reaksiyonu oluşturarak uykuya dalmayı zorlaştıracağı ya da daldıktan sonra uykunun sürdürülmesini zorlaştıracağı düşünülebilir. Ancak, bu basit bakış açısının dışında ağrı duyusunun işlenmesi ve algılanması ile uyku-uyanıklık döngüsünün düzenlenmesinde bazı ortak nöron devreleri ya da beyin anatomik bölgeleri yer alabilir. Bunun sonucu olarak da beyindeki ortak bir nörobiyolojik işlev bozukluğu, hem ağrı hem de uyku fizyolojisinin bozulmasına yol açabilir. Uyku ve ağrı etkileşiminin araştırılmasında önemli bir zorluk, hem uykunun hem de ağrının homojen ve tek tip süreçler olmamasından kaynaklanmaktadır. Uyku, kendi içinde birbirinden çok farklı elektrofizyolojik ve biyokimyasal özellikler gösteren alt evrelere ayrılmaktadır. Bu bakımdan ağrı ile ilişkileri incelerken REM uykusu ile non-REM uykusu ayrı ayrı değerlendirilmektedir. Diğer yandan ağrı da birbirinden farklı özellikler gösteren alt tiplere ayrılmaktadır. Hangi ağrı tipinin hangi uyku evresi ile etkileşimi olduğu ve bu etkileşimin nasıl gerçekleştiği konularında az sayıda çalışma yapılmıştır.

Bu çalışmada farelerde gerçekleştirilen 72 saat REM uykusuzluğunun oluşturduğu hiperaljezi üzerine WIN55 isimli kanabinoid maddenin etkilerini incelemeyi amaçladık. Ancak, deney gruplarımızda 72 saat REM uykusuzluğu hiperaljeziye yol açmadı. Aksine

ağrıya yanıtın ortaya çıkma süresinde artış görüldü. Daha önceki çalışmalarda farelerde 9-10 güne kadar uzayan uyku fragmantasyonu yapılmıştır (64,65). Bu çalışmalarda ağrı eşiği ölçülmemiş olmasına rağmen, farelerin bu kadar uzun süre uyku bozukluğuna dayanabildiği ve deneylerin gerçekleştirilebildiği görülmüştür. Bizim çalışmamızda tercih ettiğimiz süre bu çalışmaların yaklaşık dörtte biri kadardı. Bu bakımdan farelerin hareket etmede zorlanacak kadar yorulmaları beklenmedi. Diğer yandan farelerde uykusuzluğa bağlı hiperaljezi daha önce çalışılmadığı için bu sürenin hiperaljeziye neden olacak yeterlilikte olmadığı düşünülebilir. Ancak, daha önce yaptığımız sıçan çalışmalarından, 24 saatlik kısa süreli uykusuzluğun bile ağrı eşiğini düşürdüğünü biliyoruz.

WIN55 daha önce çeşitli ağrı modellerinde kullanılmasına rağmen REM uykusuzluğu hiperaljezi modelinde sıçanlarda ilk defa yine bizim tarafımızdan yapılan bir yükseklisans tezinde kullanılmıştır (6). O çalışmada WIN55,212,2'nin üç farklı dozu kullanılmış ve ağrı eşiğini yükselttiği gösterilmiştir. Şimdiki çalışmada ise CB1 ve CB2 reseptör antagonistleri de kullanarak meydana gelen etkiden hangi reseptörlerin sorumlu olduğu anlaşılmaya çalışılmıştır. Kullandığımız dozlar bir doz-yanıt eğrisi elde etmemizi sağlamadı. Ancak, bu çalışma sayesinde REM uykusuzluğu nedeniyle oluşan hiperaljezide etkin WIN55 dozlarının 10 mg/kg üzerinde olduğunu söyleyebilmek mümkündür.

Uyku yoksunluğunun ağrı süreçleri üzerine etkileri hayvan deneylerinde 1970'li yılların ikinci yarısından itibaren çalışılmaya başlanmıştır. REM uyku yoksunluğunun nosiseptif duyarlılık üzerine etkisini sıçanlarda çalışan ilk araştırmacı Hicks (1)'tir. Hicks ve ark. (1)'nın yaptığı ilk çalışmada elektriksel uyarıya karşı kuyruk çırpma yanıtı daha kısa sürede gerçekleşmiş, ağrı eşiği düşmüştür. Aynı grubun sonraki çalışmalarında da 4 gün süreyle yapılan REM uykusuzluğunun oluşturduğu hiperaljezinin uykusuzluk protokolü sonlanlandırılmasından sonra 96 saat kadar sürdüğü gösterilmiştir (Hicks 1979)(66). Bu ilk çalışmalardan sonra REM uykusu ile opioiderjik aktivite arasındaki ilişki araştırılmış ve sıçanlara fosforamidon (bir enkefalinaz inhibitörü), morfin ya da soğuk suda yüzme uygulanmış ve her üç uygulamanın da analjezi oluşturduğu gösterilmiştir (2). Çalışmanın devamında 96 saat süreyle REM uykusuzluğuna bağlı olarak fosforamidon, morfin ya da soğuk su uygulamasının oluşturduğu antinosiseptif etkinin ortadan kalktığı gösterilmiştir (67). Ukponmwan ve ark. (2,67)'nın yaptığı çalışmalar REM uyku yoksunluğunun opioiderjik ve monoaminerjik mekanizmaları etkileyerek ağrı-inhibe edici süreçleri etkilediğini düşündürmektedir.

Önen ve ark. (4), Wistar sıçanlarda mekanik ağrılı uyarana karşı vokalizasyon eşiğini ölçmüş ve REM uyku yoksunluğunun ikinci gününden itibaren eşiğin düştüğünü göstermişlerdir. Aynı grubun takip eden çalışmalarında REM uyku yoksunluğunun Wistar sıçanlarda mekanik, termal ve elektriksel uyaranlara karşı nosiseptif duyarlılığı arttırdığı ancak formalin ile yapılan kimyasal uyarıya karşı ise yanıtı değiştirmediği gösterilmiştir (5). Tüm bu deneysel hayvan çalışmaları REM uyku yoksunluğunun ağrı algılama düzeyini arttırdığını ve bir çeşit hiperaljezi oluşturduğunu göstermektedir. Ayrıca, endojen veya ekzojen opioidlerin oluşturduğu analjezik etkinin de REM uykusuzluğu ile engellendiği görülmektedir. Önceki çalışmamızda laboratuvarımızda yapılan (6), ilk defa kanabinoid sisteminin de REM uykusuzluğuna bağlı hiperaljezide bir rolü olduğu yönünde bulgular elde ettik.

REM uyku yoksunluğunun hangi mekanizmalarla ağrı eşiğini düşürdüğü, oldukça karmaşık görünmektedir. Ancak, çeşitli hipotezler ileri sürülebilir. REM uykusu uyumayan hayvanlarda endojen opioid reseptör aktivite düzeyi azalıyor olabilir. Gerçekten de REM uyku yoksunluğu, mü ve delta reseptör bağlanmasını azaltmakta ve enkefalinaz inhibisyonu ile sağlanan antinosiseptif etkiyi ortadan kaldırmaktadır (68). Hem REM uykusu hem de ağrı algısı kolinerjik sistem aracılığı ile gerçekleştiği için kolinerjik iletimde meydana gelen değişimler, diğer bir açıklamayı oluşturabilir. Sıçanlarda yapılan çalışmalarda kolinomimetik maddelerin intratekal uygulaması ile antinosiseptif etkilerin ortaya çıktığı gösterilmiştir. Kolinerjik agonistlerin doğrudan beyin sapına uygulanması, opioid-dışı analjezik etki oluşturmuştur (4). Diğer yandan kolinerjik sistem ve asetilkolin REM uykusunun kontrolünde de önemli rol oynamaktadır. REM uyku yoksunluğunun sıçanlarda kolinerjik aktiviteyi azalttığı gösterilmiştir (69). Medial pontin retiküler formasyona karbakol, betanekol veya neostigmin gibi maddelerin uygulanması da REM uykuyu tetiklemekte ve miktarını arttırmaktadır (70). Son olarak serotonin de hem REM uyku hem de ağrı kontrolünde önemli bir nörotransmitter maddedir. Dorsal rafe çekirdeği beyindeki en büyük serotonerjik nöron havuzunu oluşturmaktadır ve bu nöronlar en yüksek ateşleme düzeyini uyanıklıkta gösterirken, non-REM uykuda ateşleme düzeyi azalmakta, REM uyku süresince ise tamamen kaybolmaktadır. REM uyku yoksunluğu sıçan beyninde serotonin metabolizmasını arttırır (71). Serotonin doğrudan merkez sinir sistemine injekte edildiğinde analjezik etkiler göstermektedir (4). Bu bulgular da artmış serotonin metabolizması sonucu serotonin azalmasının REM uyku yoksunluğuna bağlı hiperaljezide kısmen rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Kanabinoidlerin ağrı iletimi üzerinde ne gibi etkilerde bulunduğu konusu son dönemde araştırıcılar için ilgi çekici bir alan olmuştur. Bu konu üzerine yapılan çalışmalarda kanabinoidlerin merkez sinir sisteminin nosiseptif eşiğinin yükselmesini sağlayan bölgelerinde etki gösterebileceği fikri öne sürülmüştür. Ayrıca, Richardson ve ark. (72) yaptıkları çalışmada, spinal CB1 reseptör aktivasyonunun, kapsaisine duyarlı primer afferent nosiseptif sinir liflerinin terminal uçlarından nöropeptit salınımını inhibe ettiğini ve böylece antihiperaljezik etkiye yol açtığını saptamıştır. Sentetik bir kanabinoid türevi olan WIN55'in analjezik, antihiperaljezik ve antiallodinik etkileri bilinmektedir (73). Yapılan çalışmalarla WIN55'in sinir hasarı ile oluşan termal ve mekanik hiperaljezide ağrı iletimini azalttığı bulunmuştur (74). Streptozotosine bağlı diyabet oluşturulmuş sıçanlarda WIN55'in yine antihiperaljezik etkisi saptanmıştır (75).

Kanabinoidlerin ağrı karşıtı etkilerini sağlayan kanabinoid reseptör aktivasyonu için bazı moleküler mekanizmalar ileri sürülmüştür: CB1 reseptör aktivasyonu adenil siklaz aktivitesini inhibe eder, kalsiyum kanallarının kapanmasını sağlar ve potasyum geçişini arttırır. Bu üç etki de nörotransmitter salınımını azaltır. Kanabinoidler hücre içinden hücre dışına potasyum geçişini indükler ve periferik sinir liflerinin terminal uçlarının uyarılabilirliğini azaltır. Bu iki mekanizmanın birlikte merkez sinir sisteminde ağrı duyusunun iletimi ve sinir kökenli inflamasyonu engellediği sonucuna varılmıştır (72). Yapılan çalışmalarda WIN55 injeksiyonundan sonra beyinde ve plazmada aktif madde ölçümleri yapılmış ve beyinde plazmaya göre %100-190 oranında daha yüksek olduğu saptanmıştır (76). Bu bulgu WIN55'in antihiperaljezik etkisinin daha çok spinal ve supraspinal bölgelerde etkin mekanizmalar üzerinden olduğunu gösterebilir.

WIN55'in tüm bu antinosiseptif etkilerini CB1 reseptörü aktivasyonuyla gerçekleştirdiği bilinmektedir. CB1 reseptörü G-proteini aracılıdır ve hücre içi aktivesini adenil siklaz enzimi üzerinden gerçekleştirir. CB1 reseptörünün dorsal boynuzda bulunan ikincil nöronlar ile primer nosiseptif yolaklar arasındaki glutamaterjik transmisyonu engellediği ortaya konulmuştur (77). Metabotropik glutamat ve N-metil-D-aspartik asit (NMDA) reseptörleri periakuaduktal gri madde seviyesinde kanabinoidlerin gösterdiği antinosiseptif etki için gereklidir. mGlu1 metabotropik glutamat reseptörleri WIN55'in etkilerini tamamen engeller, mGlu5 metabotropik reseptörleri de bu derece olmasa da yine WIN55'in etkilerini engellemede kısmen etki göstermektedir. mGlu5 ve mGlu1 reseptörleri, metabotropik glutamat reseptörleri sınıflandırmasında grup I'de yer alırlar. Bu reseptörler G-proteini aracılıdır ve Fosfolipaz-C ile pozitif çift zincir oluştururlar. mGlu2 ve mGlu3'ü içeren

grup II ve mGlu4, mGlu6, mGlu7 ve mGlu8 reseptörlerini içeren grup III metabotropik glutamat reseptörleri ise adenil siklazla negatif çift zincir yapar ve otoreseptörlerle ilişkili presinaptik aktif bölgede farklı şekilde yerleşmiştir. Bu metabotropik glutamat reseptörlerinin yanında iyonotropik glutamat reseptörleri için seçici bir antagonist de WIN55'in antinosiseptif etkilerini durdurur. Bizim önceki çalışmalardan elde ettiğimiz bilgiler bir metabotropik glutamat reseptör 5 antagonistinin ya da bir nitrik oksit sentaz inhibitörünün intratekal uygulanmasıyla uyku yoksunluğuna bağlı hiperaljezide doza bağlı bir azalma görüldüğünü göstermektedir. Literatür incelememizde REM uyku yoksunluğunun glutamat düzeyi üzerinde ne gibi bir etkiye yol açtığı ile ilgili bir bilgiye rastlamadık. REM uyku yoksunluğuna bağlı olarak oluşan hiperaljeziye WIN55'in etkisini incelediğimiz çalışmamızda (6) WIN55'in 1mg/kg ve 3mg/kg dozunda etki görmedik fakat 10mg/kg dozunda gerçekleştirilen ilaç uygulamasında ağrı eşiğinde gerçekleşen yükselmeyi gördük. Bu bulgu önceki bilgilerle birlikte değerlendirildiğinde, REM uyku yoksunluğunun serum glutamat düzeyini arttırmış olabileceğini ve bunun da WIN55'in CB1 reseptör aktivasyonunu engellemiş olabileceğini de düşündürmektedir. Bu çalışmada CB1 reseptör antagonistleri varlığında etkinin araştırılma nedeni budur.

Ulugöl ve ark.(78)'nın yaptığı çalışmada WIN55 injeksiyonundan 30 dakika sonra analjezik etkinin en yüksek düzeyine ulaştığı ve 60. Dakikaya kadar hemen hemen aynı düzeylerde sürdüğü gösterilmiştir. Bu bakımdan çalışmamızda WIN55 uygulamasından 30 ve 60 dakika sonra ağrı ölçümlerimizi gerçekleştirdik. Böylece analjezik etkinin doygunluğa ulaştığını düşündüğümüz sırada ağrı testleri gerçekleştirilmiş oldu. Ulugöl ve ark.(78)'nın yaptığı çalışmada diyabete bağlı nöropatik ağrı modeli kullanılmıştır. REM uyku yoksunluğu modeli ile hiperaljezide mekanizma farklı olabileceği için aynı dozun antihiperaljezik etkisinin farklı olabileceği düşünülebilir.

Yaşam koşullarının getirdiği zorunluluklar nedeniyle uyku yoksunluğu oldukça yaygın olarak görülmektedir. Vardiyalı çalışma, gece nöbetleri, yarım kalan bir işin yetiştirilmesi ve 24 saat kesintisiz sürmek zorunda olan sağlık hizmeti veya güvenlik gibi çalışmalar, insanların fizyolojik uyku gereksinimi karşısında önemli bir engel olarak durmaktadır. Gereksinim duyulandan daha kısa süreli uyku uyunması durumunda da özellikle REM uykusu etkilenmekte ve REM uyku yoksunluğu daha belirgin görülmektedir. Çünkü, herhangi bir saatte başlayan uykunun ilk yarısında ağırlıklı olarak derin uyku uyunurken, ikinci yarısında özellikle REM uyku ihtiyacı karşılanmaktadır. Bu nedenle REM uykusunun eksik uyunması veya yoksunluğunun fizyolojik işlevler üzerindeki etkilerini anlamak son derece önem

taşımaktadır. REM uyku yoksunluğu, yukarıda da sözü edildiği gibi bazı nörotransmitter sistemlerinde değişiklikler oluşturmaktadır. Serotonerjik ve noradrenerjik sistemler gibi nörotransmitter sistemlerinin hem ağrı hem de uyku fizyolojinde ortak rolleri olduğu düşünülmektedir. Ancak, ağrı duyarlılığında uykuya bağlı olarak gözlenen değişimlerin temel mekanizmaları henüz aydınlatılamamıştır. Bu çalışmada, ilk defa bir kanabinoid reseptör agonisti olan WIN55'in analjezik etkileri REM uykusuzluk modelinde çalışılarak, kanabinoid sisteminin bu ortak fizyopatolojik mekanizmadaki rolü sorgulanmıştır. Kanabinoid sisteminin de uyku ve ağrı fizyolojisi arasındaki etkileşimlerin araştırılmasında hedef sistemlerden biri olma potansiyeli taşıdığı, bu çalışma ile ortaya konulmuştur.

SONUÇLAR

Bu çalışmada farelerde 72 saat REM uykusuzluk modelinde hiperaljezi oluşturulmaya çalışılmış ve bunun üzerine bir kanabinoid olan WIN55,212,2 uygulamasının etkileri araştırılmıştır. Ayrıca CB1 ve CB2 adlı kanabinoid reseptörlerinin antagonistleri varlığında etkinin nasıl modüle olduğu da incelenmiştir. Elde ettiğimiz bulgular ışığında aşağıdaki sonuçlara ulaşılmıştır:

1) 72 saat süreli REM uyku yoksunluğuna alınan farelerde ağrılı uyarana karşı gösterilen yanıtın ortaya çıkış süresinde uzama görülmüştür. Deneklerin halsiz ve yorgun oldukları dikkati çekmiştir. İleri çalışmalarda uykusuzluk süresinin kısaltılmasının yararlı olacağı düşünülmüştür.
2) Elde edilen ağrı davranışı üzerine WIN55,212,2 uygulamasının bir etkisi olmamıştır.
3) Tek başına veya WIN55,212,2 ile birlikte uygulanan CB1 veya CB2 reseptör antagonistleri, REM uykusuzluğu koşullarında ağrı davranışında anlamlı değişiklik meydana getirmemiştir.

ÖZET

Uyku ve ağrı birbirini etkileyen süreçlerdir. Uykusuz kalan bireylerde ağrı algısında artış ve ağrı eşiğinde düşme görülürken, ağrılı durumlarda da uyku kalitesi bozulmakta ve uyku etkinliği azalmaktadır. Klinikte önemli bir kısır döngü oluşturan ve hasta tedavilerini de olumsuz etkileyen uyku-ağrı etkileşiminin mekanizması çözülebilmiş değildir. Bu çalışmada REM uykusuzluk modelinde kanabinoid WIN55 ile kanabinoid reseptör antagonistleri AM251 ve SR144528 kullanılarak uyku/ağrı ilişkisinde kanabinoid sisteminin rolünün ortaya konulması amaçlanmıştır. Her grupta 10 adet olmak üzere 6 grupta toplam 60 adet balb/c türü fare modifiye saksı modelinde 72 saat süreyle uykusuz bırakılmış ve uykusuzluğun başlangıcında (0.saat), sonunda (72.saat) ve ilaç uygulamasından 30 ve 60 dakika sonra sıcak zemin (hotplate) ve kuyruk çekme (tail-flick) yöntemleri ile ağrı eşiği ölçümleri yapılmıştır. Grupların ilaç uygulaması aşağıdaki şekildedir: Grup 1 kontrol grubuna intraperitoneal ilaçların çözücüsü (%78 fizyolojik serum + %1 Etanol + %1 Tween 80+%20 DMSO) injeksiyonu yapılmıştır. Grup 2 (Kanabinoid agonist grubu)'ye intraperitoneal kanabinoid agonisti (WIN 55,212,2) injeksiyonu yapılmıştır. Grup 3 (Kanabinoid CB1 reseptör antagonisti + agonist grubu)'teki farelere i.p. kanabinoid CB1 reseptör antagonisti (AM251) yapılmıştır. 20 dk sonrasında kanabinoid agonisti olan (WIN 55,212,2) injeksiyonu yapılmıştır. Grup 4 (Kanabinoid CB2 reseptör antagonisti + agonist grubu)'teki farelere i.p. kanabinoid CB2 reseptör antagonisti (SR144528) yapılmıştır. 20 dk sonrasında kanabinoid agonisti olan (WIN 55,212,2) injeksiyonu yapılmıştır. Grup 5 (Kanabinoid CB1 reseptör antagonisti grubu)'teki farelere i.p. kanabinoid CB1 reseptör antagonisti (AM251) yapılmıştır. Grup 6 (Kanabinoid CB2 reseptör antagonisti grubu)'daki farelere i.p. kanabinoid CB2 reseptör antagonisti (SR144528) yapılmıştır.

Anahtar kelimeler: Uyku yoksunluğu, ağrı, kanabinoid, reseptör antagonisti.

THE ROLE OF CANNABINOID RECEPTORS ON HYPERALGESIA INDUCED BY REM SLEEP DEPRIVATION

SUMMARY

Sleep and pain are interrelated phenomena. While patients with sleep loss experience increased pain perception and lower pain threshold, painful conditions impair sleep quality and reduce sleep efficiency. The mechanism of sleep-pain interaction which pose an important vicious cycle in clinics and negatively affect patient treatments, has not yet been elucidated. In this study, we aimed to investigate the role of cannabinoid system in sleep/pain relationship by using cannabinoid WIN55 and cannabinoid receptor antagonists AM251 and SR144528 in REM deprivation model. Sixty balb/c mice were subjected to 72 hours REM sleep deprivation by modified flower-pot technique and were evaluated in 6 groups. Pain assessments were performed by hotplate and tailflick methods at the 0 (baseline), 72 (after sleep deprivation) and 73. (after drug administration) hours. Group 1 (control group) received i.p. vehicle (78% saline+1% Ethanol+1% Tween 80+20% DMSO). Group 2 (Cannabinoid agonist group) received i.p. cannabinoid agonist (WIN 55,212,2). Group 3 (Cannabinoid CB1 receptor antagonist + agonist group) received i.p. cannabinoid CB1 receptor antagonist (AM251) followed by WIN55 after 20 min. Group 4 (Cannabinoid CB2 receptor antagonist + agonist group) received i.p. cannabinoid CB2 receptor antagonist (SR144528) followed by WIN 55,212,2 after 20 min. Group 5 (Cannabinoid CB1 receptor antagonist group) received i.p. cannabinoid CB1 receptor antagonist (AM251). Group 6 (Cannabinoid CB2 receptor antagonist group) received i.p. cannabinoid CB2 receptor antagonist (SR144528).

Key words: Sleep deprivation, pain, cannabinoid, receptor antagonist

KAYNAKLAR

1. Hicks RA, Moore JD, Findley P, Hirshfield C, Humphrey V. REM sleep deprivation and pain thresholds in rats. Percept Mot Skills 1978;47:848-50.

2. Ukponmwan OE, Rupreht J, Dzoljic MR. REM deprivation decreases the antinociceptive property of enkephalinase inhibition, morphine and cold-water swim. Gen Pharmacol 1984;15:255-8.

3. Asakura W, Matsumoto K, Ohta H, Watanabe H. REM sleep deprivation decreases apomorphine-induced stimulation of locomotor activity but not stereotyped behavior in mice. Gen Pharmacol 1992;23:337-41

4. Önen H, Alloui A, Eschalier A, Dubray C. Vocalization thresholds related to noxious paw pressure are decreased by paradoxical sleep deprivation and increased after sleep recovery in rat. Neurosci Lett 2000;29125-8

5. Önen SH, Alloui A, Jordan D, Eschalier A, Dubray C. Effects of rapid eye movement (REM) sleep deprivation on pain sensitivity in the rat. Brain Res 2001;900:261-7

6. Sönmezocak OH. REM uyku yoksunluğuna bağlı hiperlajezide kanabinoidlerin rolü (tez). Edirne: Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2011.

7. Cömert MA. REM İlşikili Uyku Solunum Bozukluğunun Klinik ve Polisomnografik Özelliklerinin Belirlenmesi ve İzlemde Saptanacak Değişikliklerin Saptanması (tez). İstanbul: Süreyya Paşa Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi; 2009

8. Öztürk L. Yanıtını arayan eski bir soru: Niçin uyuruz? İst Tıp Fak Derg 2007;70:114-21.

9. Wittern R. Sleep theories in the antiquity and in the Renaissance. In: Horne J (ed) Sleep'88 Gustav Fischer Verlag, New York: Mc Graw Hill Co;1989. pp: 11-22.

10. Claparéde E. Esquisse d'une théorie biologique du sommeil. Archives de Psychologie 1905;4:245–69.

11. Legendre R, Pieron H. Le probleme des facteurs du sommeil: resultats d'injections vasculaires et intracerebrales de liquides insomniques. C R Soc Biol 1910;68:1077-9.

12. Pappenheimer JR, Miller TB, Goodrich CA. Sleep promoting effects of cerebrospinal fluid from sleep deprived goats. Proceedings of the National academy of Sciences USA 1967;58:513-7.

13. Garcia-Arraras JE. Effects of sleep-promoting factor from human urine on sleep cycle of cats. Am J Physiol 1981;241:269-74.

14. Aserinsky E, Kleitman N. Regularly occuring periods of eye motility and concomitant phenomena during sleep. Science 1953;118:273-4.

15. Shneerson JM. Sleep medicine: a guide to sleep and its disorders. 2nd ed. New York: Blackwell Publishing Ltd; 2005. pp. 1-21.

16. Horne J. Is there a sleep debt? Sleep 2004; 27: 1047–9.

17. Moruzzi G, Magoun HW. Brainstem reticular formation and activation of the EEG. Electroencephalogr Clin Neurophysiol 1949;1:455-73.

18. Saper CB, Chou TC, Scammell TE. The sleep switch: hypothalamic control of sleep and wakefulness. Trends Neurosci 2001;24:726- 31

19. George R, Haslett WL, Jenden DJ. A cholinergic mechanism in the brain stem reticular formation: induction of paradoxical sleep. Int J Neuropharmacol 1964;3:541-52.

20. Miller DB, O'Callaghan JP. The pharmacology of wakefulness. Metabolism Clinical and Experimental 2006;55(2):13- 9.

21. Stenberg D. Neuroanatomy and neurochemistry of sleep. Cell Mol Life Sci 2007;64:1187- 204.

22. Lin JS, Sakai K, Jouvet M. Evidence for histaminergic arousal mechanisms in the hypothalamus of cat. Neuropharmacology 1988;27: 111-22.

23. Nitz D, Siegel J. GABA release in the dorsal raphe nucleus: role in the control of REM sleep. Am J Physiol 1997;273:451- 5.

24. Mahmud El-Kâşgarî. Dîvânü Lugâti't Türk. Kabalcı Yayınevi: İstanbul; 2007. s.136.

25. Erdine S. Ağrının Tarihçesi. İstanbul: Alemdar Ofset; 2000; s.3-11.

26. Erdine S. Ağrı Sendromları ve Tedavisi. 2. Baskı. İstanbul: Alemdar Ofset; 2003: 1-6

27. International Association for The Study of Pain. Pain Control: The New 'Whys' and 'Hows. www.Iasp-pain.org Erişim Tarihi: 15. 02. 2008.

28. Sessle BJ. What is pain, and why and how do we experience pain? In: Lavigne G, Sessle BJ, Choiniere M, Soja P (Eds), Sleep and pain. Seattle: IASP Press; 2007, pp. 23-43.

29. Woolf CJ, Bennett GJ, Doherty M, Dubner R, Kidd B, Koltzenburg M et al. Towards a mechanism-based classification of pain? Pain 1999;77:227-9.

30. Woda A, Tubert-Jeannim S, Bouhassira D, Attal N, Fleiter B, Goulet JP et al. Towards a taxonomy of idiopathic orofacial pain. Pain 2005;116:396-406.

31. Varlı K, Çeliker R, Özer S, Orer H. Ağrıya multidisipliner yaklaşım. Hacettepe Tıp Dergisi 2005;36:111-28.

32. Yeğül İ. Postoperatif ağrı tedavisi. Ağrı ve Tedavisi. İzmir: Yapım Matbaacılık; 1993, s. 249-54.

33. Bonica JJ. Pain research and therapy: achievements of the past and challenges of the future. In: Bonica JJ, Lindblom U, Iggo A (Eds). Advances in pain research and therapy. Vol 5. New York: Raven Press; 1983, pp. 1-36.

34. Stewart WF, Ricci JA, Chee E, Morganstein D, Lipton R. Lost productive time and cost due to common pain conditions in the US workforce. JAMA 2003;290:2443-54.

35. Karlı N, Zarifoğlu M, Ertaş M, Saip S, Öztürk V, Bıçakçı Ş et al. Economic impact of primary headaches in Turkey: a university hospital based study: part II. J Headache Pain 2006;7:75-82.

36. Selekler HM, Gökmen G, Alvur TM, Steiner TJ. Productivity losses attributable to headache, and their attempted recovery, in a heavy-manufacturing workforce in Turkey: implications for employers and politicians. J Headache Pain 2015;16:96.

37. Fine PG, Rosenfeld MJ. The endocannabinoid system, cannabinoids, and pain. Rambam Maimonides Med J 2013;4(4):e0022. doi:10.5041/RMMJ.10129

38. Finn DP. Endocannabinoid-mediated modulation of stress responses: physiological and pathophysiological significance. Immunobiology 2009; doi:10.1016/j.imbio. 2009.05.011.

39. Lovinger DM. Presynaptic modulation by endocannabinoids. Handbook of Experimental Pharmacology 2008;184:435–77.

40. 40-Wilson RI, Nicoll RA. Endocannabinoid signaling in the brain. Science 2002;296:678–82.

41. Castillo PE, Younts TJ, Chavez AE, Hashimotodani Y. Endocannabinoid signaling and synaptic function. Neuron 2012;76:70-81.

42. Mazier W, Saucisse N, Gatta-Cherifi B, Cota D. The endocannabinoid system: pivotal orchestrator of obesity and metabolic disease. Trends Endocrinol Metab 2015;26:524-37.

43. Gong JP, Onaivi ES, Ishiguro H, Liu QR, Tagliaferro PA, Brusco A et al. Cannabinoid CB2 receptors: immunohistochemical localization in rat brain. Brain Res 2006;1071:10–23.

44. Onaivi ES, Ishiguro H, Gong JP, Patel S, Meozzi PA, Myers L. Brain neuronal CB2 cannabinoid receptors in drug abuse and depression: from mice to human subjects. PLoSONE 2008;3:1640.

45. Beltramo M. Cannabinoid type 2 receptor as a target for chronic pain. Mini Rev Med Chem 2009;9:11–25.

46. Vogel Z, Barg J, Levy R, Saya D, Heldman E, Mechoulam R. Anandamide, a brain endogenous compound, interacts specifically with cannabinoid receptors and inhibits adenylate cyclase. J Neurochem 1993;61:352–5.

47. Welch SP. Blockade of cannabinoid-induced antinociception by norbinaltorphimine, but not N-N-,diallyltyrosine-Aib-phenylalanine-leucine, ICL 174,864 or naloxone in mice. J Pharmacol Exp Ther 1993;265:633–40.

48. Pertwee RG, Howlett AC, Abood ME, et al. International Union of Basic and Clinical Pharma-cology. LXXIX. Cannabinoid receptors and their ligands: beyond CB1 and CB2. Pharmacol Rev 2010; 62:588–631.

49. Thiago RL, Romero L, Resende LC, Guzzo LS, Duarte IDG. CB1 and CB2 cannabinoid receptor agonists induce peripheral antinociception by activation of the endogenous noradrenergic system. Anesth Analg 2013;116:463–72

50. Beltramo M, Bernardini N, Bertorelli R, Campanella M, Nicolussi E, Freduzzi S. CB2 receptor-mediated anti-hyperalgesia: possible direct involvement of neural mechanisms. Eur J Neurosci. 2006; 23:1530-8.

51. Van Sickle MD, Duncan M, Kingsley PJ. Identification and functional characterization of brainstem cannabinoid CB2 receptors. Science 2005;310:329–32.

52. Nackley AG, Zvonok AM, Makriyannis A, Hohmann AG. Activation of cannabinoid CB2 receptors suppresses C-fiber responses and windup in spinal wide dynamic range neurons in the absence and presence of inflammation. J Neurophysiol 2004;92: 3562–74.

53. Quartilho A, Mata HP, Ibrahim MM, et al. Inhibition of inflammatory hyperalgesia by activation of periph-eral CB2 cannabinoid receptors. Anesthesiology 2003;99:955–60.

54. Richardson D, Pearson RG, Kurian N. Charac-terisation of the cannabinoid receptor system in synovial tissue and fluid in patients with osteo-arthritis and rheumatoid arthritis. Arthritis Res Ther 2008;10:43.

55. Wotherspoon G, Fox A, McIntyre P, Colley S, Bevan S, Winter J. Peripheral nerve injury induces canna-binoid receptor 2 protein expression in rat sensory neurons. Neuroscience 2005;135:235–45.

56. Festing S, Wilkinson R. The ethics of animal research. EMBO Reports 2007;8:526-30.

57. Zimmermann M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. Pain 1983;16:109-110.

58. Machado RB, Hipolide DC, Benedito-Silva AA, Tufik S. Sleep deprivation induced by the modified multiple platform technique: quantification of sleep loss and recovery. Brain Research 2004;1004:45-51.

59. Suchecki D, Palma BD, Tufik S. Sleep rebound in animals deprived of paradoxical sleep by the modified multiple platform method. Brain Research 2000;875:14-22.

60. Silva RH, Abilio VC, Takatsu AL, Kameda SR, Grassl C, Chehin AB. Role of hippocampal oxidative stress in memory deficits induced by sleep deprivation in mice. Neuropharmacology 2004;46:895-903.

61. Silva RH, Chehin AB, Kameda SR, Takatsu-Coleman AL, Abilio VC, Tufik S. Effects of pre- or post-training paradoxical sleep deprivation on two animal models of learning and memory in mice. Neurobiology of Learning and Memory 2004;82:90-8.

62. Le Bars D, Gozariu M, Cadden SW. Animal models of nociception. Pharmacol Rev 2001;53:597-652.

63. Sandkühler J. Models and mehcanisms of hyperalgesia and allodynia. Physiol Rev 2009;89:707-58.

64. Ringgold KM, Barf RP, George A, Sutton BC, Opp MR. Prolonged sleep fragmentation of mice exacerbates febrile responses to lipopolysaccharide. J Neurosci Methods 2013;219:104-12.

65. He J, Kastin AJ, Wang Y, Pan W. Sleep fragmentation has differential effects on obese and lean mice. J Mol Neurosci 2015;55:644-52.

66. Hicks RA, Coleman DD, Ferrante F, Sahatjian M, Hawkins J. Pain thresholds in rats during recovery from REM sleep deprivation. Percept Mot Skills 1979;48:687-90.

67. Ukponmwan OE, Rupreht J, Dzoljic MR. An analgesic effect of enkephalinase inhibition is modulated by monoamine oxidase-B and REM sleep deprivation. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol 1986;33:376-9.

68. Fadda P, Tortorella A, Fratta W. Sleep deprivation decreases mu and delta opioid receptor binding in the rat limbic system. Neurosci Lett 1991;129:315-7.

69. Thakkar M, Mallick BN. Effect of REM sleep deprivation on rat brain acetylcholineesterase. Pharmacol Biochem Behav 1991;39:211-4.

70. Kshatri AM, Baghdoyan HA, Lydic R. Cholinomimetics, but not morphine, increase antinociceptive behavior from pontine reticular regions regulating rapid-eye-movement sleep. Sleep 1998;21:677-85.

71. Youngblood BD, Zhou J, Smagin GN, Ryan DH, Harris RB. Sleep deprivation by the 'flower pot' tecnique and spatial reference memory. Physiol Behav 1997;61:249-56.

72. Richardson JD, Aanonsen L, Hargreaves KM. Antihyperalgesic effects of spinal cannabinoids. Eur J Pharmacol 1998;345:145-53.

73. Beltramo M, Bernardini N, Bertorelli R, et al. CB2 receptor-mediated antihyperalgesia: possible direct involvement of neural mechanisms. Eur J Neurosci 2006;23:1530-8.

74. Herzberg U, Eliav E, Bennett GJ, Kopin IJ. The analgesic effects of R(+)-WIN 55,212-2 mesylate, a high affinity cannabinoid agonist, in a rat model of neuropathic pain. Neurosci Lett 1997;221:157-60.

75. Farani AM, Sahebgharani M, Sepehrizadeh Z, Jaberi E, Ghazi-Khansari M. Diabetic thermal hyperalgesia: Role of TRPV1 and CB1 receptors of periaqueductal gray. Brain Res 2010;1328:49-56.

76. Karst M, Salim K, Burstein S, Conrad I, Hoy L, Schneider U. Analgesic effect of the synthetic cannabinoid CT-3 on chronic neuropathic pain: a randomized controlled trial. J Am Med Assoc 2003;290:1757-62

77. Zeilhofer HU. Synaptic modulation in pain pathways. Rev Physiol Biochem Pharmacol 2005;154:73–100.

78. Ulugöl A, Karadağ HC, İpçi Y, Tamer M, Dökmeci İ. The effect of WIN55,212-2, a cannabinoid agonist, on tactile allodynia in diabetic rats. Neurosci Lett 2004;371:167-70.

RESİMLEMELER LİSTESİ

TABLOLAR

Tablo 1. Grup 1'de yer alan farelerin bazal koşullarda (uykusuzluk öncesi), 72 saat REM uykusuzluk dönemi sonunda (uykusuzluk sonrası) ve intraperitoneal injeksiyondan 30 dakika ve 60 dakika sonra yapılan ağrı eşiği ölçümleri (işlenmemiş veriler) 20
Tablo 2. Grup 2'de yer alan farelerin bazal koşullarda (uykusuzluk öncesi), 72 saat REM uykusuzluk dönemi sonunda (uykusuzluk sonrası) ve intraperitoneal injeksiyondan 30 dakika ve 60 dakika sonra yapılan ağrı eşiği ölçümleri (işlenmemiş veriler) 21
Tablo 3. Grup 3'de yer alan farelerin bazal koşullarda (uykusuzluk öncesi), 72 saat REM uykusuzluk dönemi sonunda (uykusuzluk sonrası) ve intraperitoneal injeksiyondan 30 dakika ve 60 dakika sonra yapılan ağrı eşiği ölçümleri (işlenmemiş veriler) 21
Tablo 4. Grup 4'de yer alan farelerin bazal koşullarda (uykusuzluk öncesi), 72 saat REM uykusuzluk dönemi sonunda (uykusuzluk sonrası) ve intraperitoneal injeksiyondan 30 dakika ve 60 dakika sonra yapılan ağrı eşiği ölçümleri (işlenmemiş veriler) 22
Tablo 5. Grup 5'de yer alan farelerin bazal koşullarda (uykusuzluk öncesi), 72 saat REM uykusuzluk dönemi sonunda (uykusuzluk sonrası) ve intraperitoneal injeksiyondan 30 dakika ve 60 dakika sonra yapılan ağrı eşiği ölçümleri (işlenmemiş veriler) 22
Tablo 6. Grup 6'da yer alan farelerin bazal koşullarda (uykusuzluk öncesi), 72 saat REM uykusuzluk dönemi sonunda (uykusuzluk sonrası) ve intraperitoneal injeksiyondan 30 dakika ve 60 dakika sonra yapılan ağrı eşiği ölçümleri (işlenmemiş veriler) 23

Tablo 7. Grup 1'de yer alan farelerin bazal koşullarda (uykusuzluk öncesi), 72 saat REM uykusuzluk dönemi sonunda (uykusuzluk sonrası) ve intraperitoneal injeksiyondan 30 dakika ve 60 dakika sonra yapılan ağrı eşiği ölçümleri 23
Tablo 8. Grup 2'de yer alan farelerin bazal koşullarda (uykusuzluk öncesi), 72 saat REM uykusuzluk dönemi sonunda (uykusuzluk sonrası) ve intraperitoneal injeksiyondan 30 dakika ve 60 dakika sonra yapılan ağrı eşiği ölçümleri 24
Tablo 9. Grup 3'de yer alan farelerin bazal koşullarda (uykusuzluk öncesi), 72 saat REM uykusuzluk dönemi sonunda (uykusuzluk sonrası) ve intraperitoneal injeksiyondan 30 dakika ve 60 dakika sonra yapılan ağrı eşiği ölçümleri 24
Tablo 10. Grup 4'de yer alan farelerin bazal koşullarda (uykusuzluk öncesi), 72 saat REM uykusuzluk dönemi sonunda (uykusuzluk sonrası) ve intraperitoneal injeksiyondan 30 dakika ve 60 dakika sonra yapılan ağrı eşiği ölçümleri 25
Tablo 11. Grup 5'de yer alan farelerin bazal koşullarda (uykusuzluk öncesi), 72 saat REM uykusuzluk dönemi sonunda (uykusuzluk sonrası) ve intraperitoneal injeksiyondan 30 dakika ve 60 dakika sonra yapılan ağrı eşiği ölçümleri 25
Tablo 12. Grup 6'da yer alan farelerin bazal koşullarda (uykusuzluk öncesi), 72 saat REM uykusuzluk dönemi sonunda (uykusuzluk sonrası) ve intraperitoneal injeksiyondan 30 dakika ve 60 dakika sonra yapılan ağrı eşiği ölçümleri 26

ŞEKİLLER

Şekil 1. Uyku Tanrısı Hypnos (2) 3
Şekil 2. Çalışma gruplarında kuyruk çekme testi ile ağrı eşiği ölçümleri..... 26
Şekil 3. Çalışma gruplarında sıcak zemin testi ile ağrı eşiği ölçümleri 27

ÖZGEÇMİŞ

Çanakkale doğumluyum. İlk ve orta öğrenimimi Çanakkale 18 Mart İlkokulu ve Çanakkale Anadolu Lisesi'nde tamamladım. 1998 yılında Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi'ne başladım. 2005 yılında TÜTF Fizyoloji Anabilim Dalı'nda doktora öğrenimime başladım. Tezimin 2. 6 aylık savunmasını verecekken 2009 yılında TÜTF Anestezi ve Reanimasyon Anabilim Dalı'nda ihtisas kazanarak, Fizyoloji öğrenimime ara vermek durumunda kaldım. 5 Eylül 2014'te Anestezi ve Reanimasyon uzmanı oldum ve Kasım 2014'te Edirne Devlet Hastanesi'nde çalışmaya başladım. 2011 yılında çıkan af ile Fizyoloji'de yarım kalan tezimi tamamlama imkanı buldum ve öğrenimine geri döndüm. Bu süre zarfında hem ihtisas sürecimi tamamlamak hem de tezim üzerinde çalışmak durumunda kaldım. Evli ve bir çocuk annesiyim. Halen Edirne Sultan 1. Murat Devlet Hastanesi'nde Yoğun Bakım sorumlu hekimi olarak çalışmaktayım.

EKLER

Ek-1

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARLARI

EDİRNE

Oturum Sayısı: 04 **Karar Tarihi: 05.06.2013**

KARAR NO: 2013.04.08

Yürütücülüğünü Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi öğretim üyesi Prof. Dr. Levent ÖZTÜRK'ün yaptığı TÜHDYEK-2012/47 protokol nolu "REM uyku yoksunluğu ile oluşan hiperaljezide kannabinoid reseptörlerinin rolü *(The role of cannabinoid receptors on hyperalgesia induced by REM sleep deprivation)*." başlıklı çalışma hakkında görüşüldü; araştırmanın amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmesi sonucunda: Hayvan Hakları Evrensel Bildirgesi ve etik kurallara uygun olarak hazırlandığına ve çalışmanın yapılabileceğine mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.

Ünvanı/Adı/Soyadı	Araştırma ile İlişki	Toplantı Katılımı	İmza
Doç.Dr. Burhan AKSU Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	
Yrd.Doç. Dr. Hayati ARDA Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	
Vet.Hek. Ziya ÇUKUR Veteriner Hekim	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	
Hüseyin KOÇ Sivil Toplum Örgütü Üyesi Sivil Üye	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	
Yrd.Doç.Dr. Beytullah ÖZKAN Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ var ☒ yok	☒ evet ☐ hayır	
Doç.Dr. Y. Atakan SEZER Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ var ☒ yok	☒ evet ☐ hayır	
Doç. Dr. Enis ULUÇAM Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ var ☒ yok	☒ evet ☐ hayır	
Yrd.Doç.Dr.Hakan GÜRKAN Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ var ☒ yok	☒ evet ☐ hayır	
Osman GÜLTEKİN Sivil Üye	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	

Ek-2

T.C.
TRAKYA ÜNİVERİSTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS/DOKTORA TEZ ÇALIŞMASI
ORİJİNALLİK RAPORU

Öğrencinin Adı Soyadı: Makbule Elif YILMAZ

Numarası: 10583202

Anabilim Dalı: Fizyoloji

Programı: ◯ **Yüksek Lisans** ✓ **Doktora**

Tez başlığı/Konusu: REM uyku yoksunluğu ile oluşan hiperaljezide kanabinoid reseptörlerinin rolü

Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne

Yukarıda açık adı bulunan tezimin "Kapak Sayfası, Giriş ve Amaç, Genel Bilgiler, Bulgular, Tartışma, Sonuçlar, Özet ve Summary" bölümlerinden oluşan toplam 32 sayfalık kısmına ilişkin 07/Nisan/2016 tarihinde tez danışmanım tarafından ***turnitin*** adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanmış olan orijinallik raporuna göre tezimin benzerlik oranı %11 olarak belirlenmiştir.

Uygulanan filtrelemeler;

1-Kabul ve Onay Sayfası hariç
2-Teşekkür hariç
3-İçindekiler hariç
4-Simge ve Kısaltmalar hariç
5-Gereç ve Yöntemler Hariç
6-Kaynaklar hariç
7-Şekiller Listesi hariç
8-Özgeçmiş hariç
9-Ekler hariç

Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez çalışması Orijinallik Raporu Uygulama Esaslarını inceledim ve bu uygulama esaslarında belirtilen maksimum benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini, aksinin ispat edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğruluğunu beyan ederim. ...07/04/2016

Öğrencinin Adı Soyadı, İmza
M. Elif Yılmaz

Ek:Orijinallik Raporu (……Sayfa)

UYGUNDUR
07/04/2016
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
Fizyoloji A.B.D.
Prof. Dr. Levent ÖZTÜRK
Dip. Tes. No: 21699 / 25167

Danışman Adı Soyadı, İmza