

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**PSİKOLOJİK STRES İLE KORTİKAL YAYILAN DEPRESYON
UYARILMA EŞİĞİ İLİŞKİSİ VE İLGİLİ MEKANİZMALARI**

DR. Hale YAPICI ESER

**TEMEL NÖROLOJİK BİLİMLER PROGRAMI
DOKTORA TEZİ**

ANKARA

2013

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**PSİKOLOJİK STRES İLE KORTİKAL YAYILAN DEPRESYON
UYARILMA EŞİĞİ İLİŞKİSİ VE İLGİLİ MEKANİZMALARI**

Dr. Hale YAPICI ESER

**Temel Nörolojik Bilimler Programı
DOKTORA TEZİ**

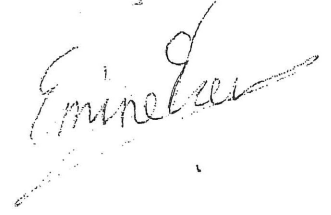
**TEZ DANIŞMANI
Yrd. Doç. Dr. Emine Eren Koçak**

**ANKARA
2013**

Anabilim Dalı: Nörolojik ve Psikiyatrik Temel Bilimler Anabilim Dalı
Program: Temel Nörolojik Bilimler Doktora Programı
Tez Başlığı: Psikolojik Stres ile Kortikal Yayılan Depresyon Eşiği İlişkisi
ve İlgili Mekanizmaları
Öğrenci Adı Soyadı: Hale Yapıcı Eser
Savunma Sınavı Tarihi: 20.09.2013

Bu çalışma jürimiz tarafından Temel Nörolojik Bilimler Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

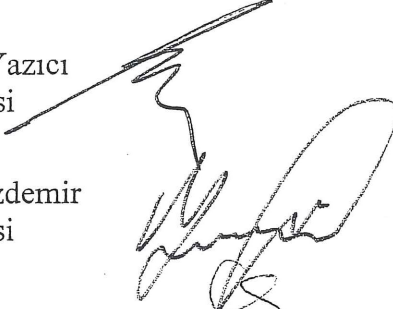
Jüri Başkanı ve Danışman: Yrd. Doç. Dr. Emine Eren Koçak
Hacettepe Üniversitesi



Üye: Prof. Dr. Turgay Dalkara
Hacettepe Üniversitesi



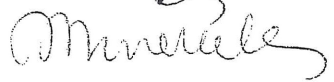
Üye: Prof. Dr. M. Kazım Yazıcı
Hacettepe Üniversitesi



Üye: Prof. Dr. Yasemin Özdemir
Hacettepe Üniversitesi



Üye: Doç. Dr. Münire Kılınç
Başkent Üniversitesi



ONAY:

Bu tez, Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim- Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu kararı ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ersin Fadilloğlu
Enstitü Müdürü



TEŞEKKÜR

Doktora tezim süresince akılcı önerileri ile bana yol gösteren, her zaman desteğini yakından hissettiren, zorlandığım anlarda sabırla bana yardımcı olan ve beni motive eden, kendisinden çok şey öğrendiğim ve öğrenmeye devam etmeyi umduğum tez danışmanım Yrd. Doç. Dr. Emine Eren Koçak’a, Tıp-Bilim Doktorluğu Bütünleşik Programı sayesinde tıp eğitimim dışında bir bilimsel ortamla tanışmamı ve hayatıma bambaşka bir yön vermemi sağlayan, kendisi ile karşılaşmış ve çalışmış olmaktan ötürü her zaman şanslı hissettiğim Prof. Dr. Turgay Dalkara’ya en içten teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca gerek tıp eğitimimim gerekse de doktora eğitimim boyunca hem iyi bir hekim hem de iyi bir bilim insanı olmam adına eğitimime katkıda bulunan, örnek aldığım kişiler olan Prof. Dr. Yasemin Özdemir’e, Prof. Dr. Kazım Yazıcı’ya, Prof. Dr. Bülent Elibol’a, Prof. Dr. Esen Saka Topçuoğlu’na, Doç. Dr. Müge Yemişçi Özkan’a ve Yrd. Doç. Dr. Hülya Karataş’a teşekkürü borç bilirim.

Tıp fakültesi 2. sınıftan beri bana yol arkadaşı olan ve yokluğunu hissedeceğim Dr. Kıvılcım Kılıç’a, becerikli elleri ile deneylerime katkıda bulunan ve laboratuvarı daha da eğlenceli hale getiren Dr. Buket Demir’e, gece gündüz demeden laboratuvarı benimle paylaşan ve severek yardımcı olan Dr. Şefik Evren Erdener’e, ayrıca laboratuvarı yardımlarını esirgemeyen Uz. Sevdâ Lüle ve teknisyenimiz Mesut Fırat’a teşekkür ederim.

Son olarak ve en önemlisi, hem uzmanlık hem de doktora eğitimim nedeni ile zaman zaman istemeden ihmal ettiğim, hayatımın her anına değer katan, sevgisini hissettiren ve bu zorlu eğitimleri almamı destekleyen çok sevgili eşim Eren Eser’e teşekkür ederim. O olmasa bunların bir anlamı olmazdı. Ayrıca doğduğum ilk günden beri beni en iyi şekilde yetiştirme gayreti gösteren, maddi manevi her türlü imkanını benim için seferber eden, varlıkları ile beni her zaman güvende hissettiren annem Aysel Yapıcı ve babam Murat Yapıcı’ya, tanıdığım ilk bilim insanı olan ve bana bilimi sevdiren ağabeyim Tolga Yapıcı’ya varlıkları ve destekleri için sonsuz teşekkür ederim.

Bu tez çalışmasını gerçekleştirebilmem için destek olan Tübitak Bideb 2211 programı koordinatörlüğüne teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Yapıcı Eser H. Psikolojik Stres ile Kortikal Yayılan Depresyon Uyarılma Eşiği İlişkisi ve İlgili Mekanizmaları. Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Temel Nörolojik Bilimler (Neuroscience) Programı Doktora Tezi, Ankara, 2013. Migren aurasının kortikal yayılan depresyon (KYD) ile ilişkili olduğu bilinmektedir, bu nedenle KYD deney hayvanlarında migreni modellemek için kullanılmaktadır. Migren, hem kronik stresle ilişkili olan depresyon ve anksiyete bozuklukları gibi hastalıklarla sıklıkla eş tanı almakta hem de stres ile tetiklenebilmektedir. Stresin bu etkilerine glukokortikoidler veya noradrenalin aracılık edebilir. Bu çalışmada psikolojik stresin KYD uyarılma eşiği üzerine etkisinin ve bu etkinin mekanizmalarının araştırılması amaçlanmıştır. Kortikal yayılan depresyon eşiği, 0.05 M ile 0.15 M aralığındaki derişimlerde potasyum klorür emdirilmiş pamukların 5 dakika ara ile frontal bölgede açılan kranial pencere üzerine konulması ile saptanmıştır. Parietal bölgeye yerleştiren iki elektrot ile DC potansiyel kaydı alınmıştır. Sıçana maruz bırakma, kısıtlayıcı stres ve kuyruktan asma streslerinin 28 gün süre ile dönüşümlü olarak uygulandığı kronik stres modelinde farelerin vücut ağırlığı kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmış, adrenal bez ağırlığı ise artmıştır. Bu etkilere paralel olarak, kronik stres grubunda KYD eşiği de düşmüştür. Kısıtlayıcı stres ile sıçana maruz bırakmanın birleştirilerek uygulandığı akut stres modelinde de KYD eşiği azalmıştır ve bu etki en az 24 saat sürmektedir. Akut stres öncesinde uygulanan $\alpha 2$ adrenerjik reseptör antagonisti yohimbin KYD eşiğindeki düşmeyi engellerken, $\alpha 2$ adrenerjik reseptör agonisti klonidin KYD eşiğini daha da düşürmüştür. β adrenerjik reseptör blokörü propranolol ve glukokortikoid reseptör antagonisti olan mifepriston ise akut stresin KYD üzerine olan etkisini değiştirmemiştir. Bu bulgular akut stresin KYD eşiğini düşürücü etkisine $\alpha 2$ adrenerjik reseptörlerin aracılık ettiğini göstermektedir. Gelecek çalışmalarda adrenerjik sistemin etkisinin daha detaylı incelenmesi ve kronik stresin KYD eşiği üzerine olan etkisinin mekanizmalarının araştırılması stres-migren ilişkisinin anlaşılmasına önemli katkı sağlayacaktır.

Anahtar kelimeler: migren, stres, kortikal yayılan depresyon, noradrenalin, kortikosteroid.

ABSTRACT

Yapıcı Eser H. The relationship of psychological stress and cortical spreading depression induction threshold and its relevant mechanisms. Hacettepe University, Institute of Health Sciences PHD Thesis in Basic Neurological Sciences (Neuroscience), Ankara, 2013. Migraine is suggested to be linked to cortical spreading depression (CSD), thus CSD is used to model migraine in experimental animals. Migraine is frequently comorbid with depression and anxiety, two disorders that are associated with chronic stress; moreover migraine headache can be triggered by stress. Glucocorticoids or noradrenaline can mediate the effect of stress. In this study, we aimed to define the effects of psychological stress on CSD induction threshold, and its relevant mechanisms. CSD induction threshold was detected by placing a cotton ball soaked with increasing KCl concentrations between 0.05 to 0.15 M on the dura with 5 minutes intervals. Two electrodes were placed on the parietal bone in order to record DC potential. The body weight of the mice that were exposed to the chronic stress model, a model consisting of alternating stress paradigms of exposure to a rat, restraint stress and tail suspension for 28 days, was significantly lower than the control group and their adrenal tissue weight was significantly higher than controls. In parallel with the physical effects of stress, CSD induction threshold was also significantly lower in the chronic stress group. Acute stress, which was produced by combining restraint stress with exposure to a rat for 1 hour, also significantly decreased CSD induction threshold and this effect lasted at least for 24 hours. Injection of an α_2 adrenergic receptor antagonist, yohimbine 30 minutes before the acute stress prevented the decrease in the CSD threshold, whereas an α_2 adrenergic receptor agonist, clonidine decreased the CSD threshold further. Propranolol, a β adrenergic receptor blocker and mifepristone, a glucocorticoid receptor antagonist, did not change the effect of acute stress on CSD threshold. These findings suggest that the effect of acute stress on CSD threshold is mediated by α_2 adrenergic receptors. The role of adrenergic system in mediating the effects of acute stress on CSD threshold and the mechanism of action of the effects of chronic stress on CSD threshold should be addressed by further studies.

Keywords: migraine, stress, cortical spreading depression, noradrenaline, corticosteroid.

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Migren ve Epidemiyolojisi	3
2.2. Migren ve Stres	5
2.3. Migrenin Fizyopatolojisi	9
2.3.1. Migren ve Trigeminoasküler Sistem	9
2.3.2. Migren ve Kortikal Yayılan Depresyon	12
2.3.3. Kortikal Yayılan Depresyonun Moleküler Mekanizmaları	14
2.4. Psikolojik Stres ve Stresin Nörobiyolojisi	23
2.4.1. Stres ve Hipotalamus-Pitüiter-Adrenal Bezi Eksenii	24
2.4.2. Stres ve Sempatik-Adrenokortikal Sistem	31
3. GEREÇ ve YÖNTEM	36
3.1. Deney Hayvanları ve Barınma Koşulları	36
3.2. Stres Etkisini Test Etmek Amacı ile Oluşturulan Deney Grupları	36
3.2.1. Kontrol grubu	36
3.2.2. Kronik stres-1 grubu	36
3.2.3. Kronik stres-2 grubu	39
3.2.4. Akut stres grubu	39
3.2.5. Akut stres-24. saat grubu	39
3.3. Kronik Stres Paradigmalarının Geçerliliğinin Test Edilmesi	40
3.3.1. Ağırlık Değişimi Takibi	40
3.3.2. Adrenal Bez Ağırlığının Tayini	40
3.4. Elektrofizyolojik Kayıtlar ve KYD	41

3.4.1. Anestezi ve Vital Bulguların Takibi	41
3.4.2. Cerrahi İşlemler ve KYD Uyarılma Eşiğinin Tespiti	41
3.4.3. Diğer KYD Parametrelerinin Ölçümü	43
3.4.4. Serebral Kan Akımının Tespiti	44
3.5. Psikolojik Stresin KYD İndüksiyon Eşiği Üzerine olan Etkisinin Olası Mekanizmalarının İncelenmesi	47
3.6. İstatistiksel yöntemler	48
4. BULGULAR	49
4.1. Etkin Bir Kronik Stres Modelinin Oluşturulması ve Kronik Stresin Kortikal Yayılan Depresyon Eşiği Üzerine Etkisinin Gösterilmesi	49
4.2. Stres Paradigmalarının Kortikal Yayılan Depresyon Parametreleri Üzerine Etkisinin Gösterilmesi	53
4.3. Stresle Kortikal Yayılan Depresyon Eşiği İlişkisinin Olası Mekanizmalarının İncelenmesi	56
5. TARTIŞMA	58
5.1. Kronik Stres Modelinin Geçerliliği ve KYD Uyarılma Eşiği Üzerine Olan Etkisi	58
5.2. Stres Paradigmalarının Kortikal Yayılan Depresyon Parametreleri Üzerine Etkisi	61
5.2.1. Stres ve KYD Uyarılma Eşiği	62
5.2.2. Stres ve Kortikal Yayılan Depresyonun Diğer Parametreleri	66
5.2.3. Akut ve Kronik Stresin KYD Uyarılma Eşiği Üzerine Olan Etkisini Değiştirebilen İlaçlar ve Bunların Etki Mekanizmaları	67
5.2.4. Çalışma Sırasında Karşılaşılan Sorunlar ve Çözümleri	70
6. SONUÇ	72
KAYNAKLAR	73

SİMGELER ve KISALTMALAR

5-HIAA	5-hidroksi indol asetik asit
5-HT	5-hidroksitriptamin
AHM	Ailesel hemiplejik migren
ACTH	Adrenokortikotropin salıverici hormon
AMPA	α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolepropionik asit
AS	Akut stres
CCD	Charge coupled device
CNQX	6-siyano-7-nitrokuinoksalin-2,3-dion
CRH	Kortikotropin salıverici hormon
DA	Dopamin
DSP-4	N-(2-kloroetil)-N-etil-2-bromobenzilamin
EFK	Elektrofizyolojik kayıt
GA	Güven aralığı
GABA	Gama aminobütirik asit
Gs	Stimüle edici G proteini
Gq	Düzenleyici G proteini
HPA	Hipotalamus- pituiter- adrenal bezi
IOS	İntrinsik optik sinyal
İSV	İntraserebroventriküler
KA	Kuyruktan asma
KCl	Potasyum klorür
KGİP	Kalsitonin gen ilişkili peptit
Klon	Klonidin
KS	Kronik stres
Kıs.S.	Kısıtlayıcı stres
KYD	Kortikal yayılan depresyon
LABKA	Lazer beneklenme kontrast analizi
LBKG	Lazer beneklenme kontrast görüntüleme
Mifep	Mifepriston
MMP	Matriks metalloproteinaz
NADH	Nikotinamid adenin dinükleotit

NE	Norepinefrin
NMDA	N-metil-D-aspartat
nNOS	Nöronal nitrik oksit sentaz
OR	Odds ratio (Göreceli olasılıklar oranı)
PET	Pozitron emisyon tomografi
PNMT	Feniketanolamin-N-metil transferaz
Prop	Propranolol
PVÇ	Paraventriküler çekirdek
Sn	Saniye
SM	Sıçana maruz bırakma
TSSB	Travma sonrası stres bozukluğu
TSST	Trier sosyal stres testi
VBKK	Voltaj bağımlı kalsiyum kanalı
VBNK	Voltaj bağımlı sodyum kanalı
Yohim	Yohimbin

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	Strese maladaptif uyum ve migren ilişkisi	9
Şekil 2.	Migren ağrısının fizyopatolojisi ile ilişkili olan trigeminovasküler sistemin şematik gösterimi	11
Şekil 3.	Migren fizyopatolojisinde rol alan yapılar ve mekanizmalar	20
Şekil 4.	Astrosit- nöron laktat mekiği	21
Şekil 5.	Hipotalamus-pituiter-adrenal ekseninin şematik gösterimi	28
Şekil 6.	Kronik stres modelinde kullanılan stres paradigmalarının şematik gösterimi	37
Şekil 7.	Elektrofizyolojik kayıt sırasında elektrotların, uyarılma oluşturmak için kullanılan pamuğun ve serebral kan akımının tespiti için lazer beneklenme kontrast görüntüleme için odaklanılan alanın fare kafası üzerinde yerleşimi	43
Şekil 8.	Uyarılma eşiği dışındaki KYD parametrelerinin şematik gösterimi	44
Şekil 9.	KYD sırasında lazer beneklenme kontrast analizi ile elde edilen serebral kan akımı değişikliklerinin şematik gösterimi	46
Şekil 10.	LABKA ile elde edilen görüntülerin ImageJ ile analizinden elde edilen serebral kan akımının zaman içinde değişimi	46
Şekil 11.	Kontrol grubu ve kronik stres gruplarının 28 gün süresince ağırlık değişimleri	50
Şekil 12.	Kontrol grubu ve kronik stres gruplarının adrenal bez (a) ve görel adrenal bez ağırlığı (b) ortalamaları	51
Şekil 13.	Kontrol grubu ve kronik stres gruplarının KYD uyarılma eşik değerlerinin dağılımı	52
Şekil 14.	Grupların KYD uyarılma eşik değeri dağılımı	54
Şekil 15.	Grupların KYD yayılma hızı ortalamaları	54
Şekil 16.	Grupların KYD yarı maksimal amplitüdde geçen süre ortalamaları	55
Şekil 17.	Grupların KYD frekansı ortalamaları	55
Şekil 18.	Akut stresten 30 dakika önce farmakolojik ajanlar uygulanan grupların KYD uyarılma eşik değeri dağılımları	57

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1. Bir metaanaliz çalışmasına göre 12 çalışmada migreni olmayan hastalara göre migreni olan hastalarda depresyon yaygınlığı ve göreceli olasılıklar (OR) oranları	5
Tablo 2. Psikolojik stres ile kortikal yayılan depresyon ilişkisini incelemek amacı ile oluşturulan grupların izlem çizelgesi	40
Tablo 3. Deney gruplarının vücut ağırlığı, adrenal bez ağırlığı ve göreceli adrenal bez ağırlık ortalamaları	53
Tablo 4. Grupların serebral kan akımında azalma (oligemi) yüzdeleri ve hiperemi süresi ortalamaları	56

1. GİRİŞ

Migren, bir yıllık yaygınlığı kadınlarda % 8-20, erkeklerde % 3-8 aralığında olan, tüm toplumlarda yaygın görülen ve hastaların yaşam kalitesini azaltması ve iş gücü kaybına neden olması ile önemli bir halk sağlığı sorunu teşkil eden bir baş ağrısı türüdür (1-10).

Migren ağrısı epizodik ya da kronik olabilir (11-12). Migren ağrısının kronikleşmesi, hastaların üçüncü basamak tedavi merkezlerine başvurmalarının ana sebeplerinden biridir ve önemli bir araştırma konusudur (11). Günümüzde yapılmış klinik çalışmalar, migren ağrısını başlatan ve kronikleşmesine neden olan etmenler arasında psikolojik stresin en önde geldiğine işaret etmektedir (13-19). Migren hastaları, sıklıkla ağrı başlangıcı ile algılanan stres düzeylerinin yüksekliğini ve migren ağrısı öncesinde sık stresli yaşam olaylarının olmasını ilişkilendirmektedir. Hastaların % 30-70'i akut stres ile migren ağrısının başladığını belirtmektedir. Ayrıca migren ile en sık eş tanı alan hastalıklardan biri depresyondur (20-23). Depresyon ile migren arasında çift yönlü bir ilişki olduğu düşünülmektedir. Klinik araştırmalar, ortak genetik mekanizmaların yanısıra çevresel bir etmen olan psikolojik stresin her iki hastalık için önemli bir belirleyici olduğunu ve bu hastalıkların sık eş tanı almalarının stres etmenine bağlı olduğunu önermektedir (24-32). Psikolojik stresin migrenin seyrini değiştirebilmesi ve migren ağrısını başlatabilmesi nedeni ile psikolojik stres ile migren ilişkisinin aydınlatılması, her iki hastalığın ortak nörobiyolojik yönlerinin bulunmasını ve yeni tedavi hedeflerinin oluşturulmasını sağlayabilir.

Psikolojik stres daha çok hipotalamus-pitüiter-adrenal (HPA) eksenini ve sempatikoadrenal sistem ile ilişkilendirilmektedir. Bu yolların uyarılması ile salınan glukokortikoidler ve katekolaminler, dokuların stres yanıtı geliştirmesine aracılık eder. Kronik stres gibi uzayan stres durumlarında, artan glukokortikoid ve katekolaminlere uygunsuz ve bozuk uyum göstermenin psikiyatrik hastalıklara zemin hazırladığı düşünülmektedir (33-34).

Migren ağrısının algılanması, meningeal damarların duyusunu alan trigeminovasküler sistemle ilişkilidir ve meningeal damarların genişlemesi ve inflamasyonundan kaynaklanmaktadır. Hem klinik çalışmalar hem de temel bilim çalışmaları, kortikal yayılan depresyon (KYD) adı verilen, beynin oksipital lobundan

başlayarak öne doğru yayılan bir depolarizasyon dalgasının trigeminovasküler sistemi aktifleştirerek migren ağrısının algılanmasını sağlayabildiğini ve bu dalganın özellikle migrenin aura fazında görülen elektriksel aktivite değişiklikleri ile ilişkili olduğunu göstermiştir (35-44).

Bu tez çalışmasında, kronik ve akut stresin migren ağrısını başlatıcı etkisinin kortikal yayılan depresyon uyarılma eşiğindeki düşme ile ilişkili olduğu hipotezi, kronik stres ve akut stres paradigmaları uygulanmış olan deney gruplarında farklı derişimlerde potasyum klorür emdirilmiş pamukların uygulanması ile uyarılan kortikal yayılan depresyon modeli kullanılarak araştırılmış ve bu etkinin olası mekanizmalarının incelenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Migren ve Epidemiyolojisi

Migren, çocukluk çağında, ergen veya erken erişkin yaşlarda başlayan, periyodik aralıklarla gelen bir primer baş ağrısı türüdür. Sıklıkla tek taraflı olmakla birlikte erişkinlerin % 40'ında, çocukların ise % 60'ında iki taraflı seyreder. Zonklayıcı karakterdedir ve çeşitli etmenlerin etkisi ile kronik ve ilerleyici olabilir (1-3).

Migren yaygınlığı farklı ülkeler arasında homojen bir dağılım gösterir (4). Çin'de 5519 katılımcının olduğu kesitsel bir çalışmada, erkeklerin % 6.8'i, kadınların % 13.8'inde (Tüm katılımcıların % 10.53'ünde) migren tespit edilmiştir (5). Latin Amerika'daki 6 ülkede gerçekleştirilen bir çalışmada ise son 1 yıllık migren yaygınlığı kadınlarda % 6.1- 17.4, erkeklerde % 2.9- 7.8 aralığında saptanmıştır (6). Amerika Birleşik Devletleri Philadelphia eyaletinde yapılan bir çalışmada da 1 yıllık migren yaygınlığı kadınlarda % 17.2, erkeklerde % 6 olarak saptanmış (7), Denizli'de 11-18 yaş arasındaki öğrencileri inceleyen bir diğer çalışmada da migren yaygınlığının % 8.8 olduğu (8) bulunmuştur. Kümülatif hayat boyu yaygınlığının ise kadınlarda % 43, erkeklerde % 18'e ulaştığı bildirilmektedir (9). Bu yönü ile migrenin, tüm dünyada sık görülen bir sağlık sorunu olduğu dikkat çeker. Ayrıca migren, hastaların büyük kısmında iş gücü kaybına neden olur, hastaların yaşam kalitesini düşürür ve devletler için yüksek sağlık giderlerine neden olabilir (10, 14).

Migren ağrıları sıklıkla auralı migren ve aurasız migren olarak sınıflandırılır. Auralı migren, klasik migren olarak da anılmaktadır. Nöral fonksiyonlarda geçici fokal bozulma ve 20-40 dakika sonrasında başlayan hemikranial baş ağrısı ile karakterizedir. Görmede bozulma, en sık görülen fokal nörolojik bulgulardan biridir ve beyaz veya gümüş renkteki ışık çakmaları, çok renkli ışıklar, göz kamaştırıcı zig zag çizgi oluşumu, bulanık veya puslu görme şeklinde olabilir. Aura sonrasında baş ağrısı takip eder. Baş ağrısına bulantı, kusma, duygudurum değişiklikleri, konuşma bozuklukları eşlik edebilir (1,2). Aurasız migren ise bulantı, kusmanın eşlik etmediği ve az olmakla birlikte jeneralize de seyredebilen karakterdedir. Basit migren olarak

da anılır. Aurasız migren, auralı migrene göre daha siktır, ancak auralı migrenin ailesel özelliği daha belirgindir (1,5).

Migren ağrıları, epizodik (ayda 15 günden az) ya da kronik (ayda 15 gün ya da daha fazla) olabilir. Üçüncü basamak sağlık hizmeti veren kurumlara migren hastalarının en büyük başvuru sebeplerin biri de ağrı sıklığında artma ve hastalığın kronikleşmesidir (11). Kronik migrenin yaygınlığı % 2-4 arasındadır (11). Hastaların % 62' si son 1 yıl içinde 8 veya daha az sayıda, % 24'ü 8-14 arasında, % 14'ü de 14'den fazla migren atağı geçirdiğini bildirmektedir (4). Migren ağrısı kronik özellikte başlayabileceği gibi, zaman içinde kronik hal de alabilir (15-17).

Episodik özelliği nedeni ile migren ataklarının frekansını artıran ve migren ağrısını başlatan etmenler günümüzde önemli bir araştırma konusudur. Etkili bir migren tedavisinin planlanabilmesi ve migren fizyopatolojisinin anlaşılabilmesi için ağrıyı başlatan etmenlerin tespit edilmesi ve ilişkili oldukları mekanizmaların açığa çıkarılması önemlidir.

Yapılmış çalışmalar bir çok iç ve dış etmenin migren ağrısını başlatabildiğini göstermektedir (3,4,17-19). Migren için en önemli değiştirilemez risk etmenlerinden biri cinsiyettir. Hem auralı migrende hem de aurasız migrende kadın cinsiyet baskınlığı vardır (3). Kadınlar ergenliğin sonuna eriştiklerinde erkeklere göre migren görölme riski 2 kat artar (19). Diğer değiştirilemez risk etmenleri; kafa travması öyküsü, göçmen olmak ve düşük sosyoekonomik düzeydir (17). Çikolata, peynir, yağlı besinler, domates ve soğan gibi yiyecekler, alkol tüketimi, parlak ışık, başın ani sarsılması, barometrik basınç değişiklikleri, aşırı kafein alımı ya da yoksunluğu (1), obezite, horlama, uyku apnesi, açlık, uyku yoksunluğu (11), fazla sayıda ağrı kesici kullanımı (17-18) ise değiştirilebilir migren tetikleyicileri arasındadır. Ayrıca stresli yaşam olayları gibi bazı etmenler, hastalığın ilerlemesine, ağrı sıklığının artmasına ve migrenin kronik özellik kazanmasına neden olabilir (3).

Migren hastalarında mevcut bulunan kardiyovasküler, nörolojik ya da psikiyatrik eş tanılar da migrenin kronikleşme sürecine katkıda bulunabilir. Hem kadın hem de erkek migren hastaları iskemik inme için migreni olmayan kişilere göre yaklaşık iki kat risk altındadır. Hastaların % 50' sinde patent foramen ovale mevcuttur. Ayrıca mitral kapak prolapsusu, atrial septal anevrizma, epilepsi, multipl skleroz gibi hastalıklar migrenin risk etmenlerindendir. Ancak migren ile en sık eş

tanı alan hastalıklara bakıldığında depresyon ve anksiyete bozukluklarının başta olduğu dikkat çekmektedir (14, 25-26). Aşağıda migren ve stresin ilişkisi bu çerçevede ele alınacaktır.

2.2. Migren ve Stres

Epidemiyolojik çalışmalar, migreni olan hastalarda migreni olmayan hastalara göre duygudurum bozukluklarının üç kat daha sık olduğunu göstermiştir (11). Migren hastalarının % 14-48' inde depresyon tanısı vardır (27). Molgat ve arkadaşları tarafından yapılan populasyon çalışmasında migreni olan hastalarda major depresyon yaygınlığının genel populasyona göre daha sık olduğu ve bu sıklığın diğer kronik hastalıklarda gözlenmediği bildirilmiştir (28). Migren ve depresyon ilişkisini inceleyen 12 çalışmanın derlendiği bir meta-analiz çalışmasına göre de, migreni olan hastalarda depresyon tanısı alma riski 2.2 kat artmıştır (Tablo 1) (11).

Tablo 1. Bir metaanaliz çalışmasına göre 12 çalışmada migreni olmayan hastalara göre migreni olan hastalarda depresyon yaygınlığı ve göreceli olasılıklar (OR) oranları (Kaynak 11'den düzenlenerek alıntılanmıştır.)

Çalışma	Yaş Aralığı	Migreni Olmayan Grupta Depresyon		Migreni Olan Grupta Depresyon		OR (GA)
		Yok	Var (%)	Yok	Var (%)	
Ratcliffe ve ark.	18-65	3.762	305 (7.5)	455	79 (14,8)	2,1 (2,1 - 1,7)
Hung ve ark.		62	20 (24.4)	38	35 (47,9)	2,8 (2,9 - 1,5)
Jette ve ark.	15-65 üzeri	31.772	1,122 (3.4)	3.641	343 (8,6)	1,8 (1,8 - 1,6)
Camarda ve ark.		1.043	242 (18.8)	80	71 (47,0)	3,8 (3,8 - 2,7)
Merikangas ve ark.	27-28	367	29 (7.3)	52	9 (14,7)	2,2 (1,0 - 4,8)
Breslau ve ark.	25-55	453	86 (16.0)	287	209 (42,1)	3,8 (2,9 - 5,1)
Samaan ve ark.	19-85	808	1,070 (57.0)	43	189 (81,5)	3,3 (2,4 - 4,6)
Lipton ve ark.	18-65	315	64 (16.9)	206	183 (47)	4,4 (3,2 - 6,0)
Lanteri-Minet ve ark.		6.651	1,264 (15.7)	1.465	442 (23,2)	1,6 (1,4 - 1,8)
Breslau ve ark.	25-55	492	94 (16.0)	318	218 (40,7)	3,6 (2,7 - 4,7)
Kececi ve ark.	18 üzeri	682	102 (13.0)	110	53 (32,5)	3,2 (2,2 - 4,7)
McWilliams ve ark.	25-74	1.319	185 (18.5)	243	97 (28,5)	2,8 (2,2 - 3,7)
						2,2 (2,0 - 2,3)

Depresyon sıklığı ve intihar riski, auralı migreni olan hastalarda aurasız migreni olan hastalara göre daha yüksektir (24,29). Samaan ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada 1259 major depresyon hastası ile 851 psikiyatrik olarak sağlıklı kişinin bulunduğu kontrol grubu arasında baş ağrısı bildirimi karşılaştırılmış,

depresyon hastalarında her türlü baş ağrısının kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu ve en güçlü ilişkinin depresyon ile auralı migren arasında olduğu gözlenmiştir (OR: 5.6). Tekrarlayan baş ağrıları olan grup incelendiğinde ise özgül olarak auralı migrenin depresyon gelişimi ile güçlü bir ilişkisi olduğu gözlenmiştir (30). Yani depresyon ile migren ağrısı arasında, hem diğer kronik hastalıklara hem de diğer baş ağrısı türlerine göre artmış bir ilişki mevcuttur ve bu ilişki auralı migren ile çok daha güçlüdür.

Depresyon migrene eşlik ettiği zaman, ayırıcı tanıyı zorlaştırmakta, tedavi uyumunu etkilemekte, ilaç aşırı kullanımı riskini artırmakta ve migrenin kronik hale dönüşmesini kolaylaştırmaktadır (18,24,45).

Migren ve depresyon arasında iki yönlü bir ilişki olduğu düşünülmektedir (24). Duygudurum bozuklukları tedavisinde kullanılan amitriptilin, venlafaksin, sodyum valproat (46), serotonin geri alım inhibitörleri (47) gibi ilaçların migren tedavisinde etkili olması da bunu desteklemektedir.

Migren ve depresyon arasındaki bu güçlü çift yönlü ilişkinin her iki hastalığın ortak nörobiyolojik özelliklerinden ya da her iki hastalığın stres gibi ortak çevresel risk etmenlerinden kaynaklı olabileceği öne sürülmüştür ancak bu konuda kısıtlı bir kaç klinik ve temel bilim çalışması mevcuttur. Önermeler daha çok her iki hastalıkta da ayrı ayrı yapılmış olan çalışmaların ortak bulgularına dayanmaktadır.

Depresyon ve migren eş tanısının ne kadarının genetik etmenlerce belirlendiğini araştıran bir çalışmada, özellikle auralı migren tanısı alan hasta grubunda kontrol grubuna göre depresyon riskinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanmıştır (OR: 1.7). Kalıtılabilirlik tahmin analizlerinde depresyon tanısı açısından kontrol edildiğinde migrenin kalıtılabilirlik değerinde azalma olduğu ve bu durumun iki hastalığın ortak genetik özellikleri ile ilişkili olabileceği şeklinde yorumlanmıştır (31). İki hastalık arasındaki genetik benzerliğin saptanması amacı ile Schur ve arkadaşları tarafından yapılan bir diğer çalışmada, 758 monozigotik ve 306 dizigotik kadın ikizin, %23' ü depresyon, %20' si migren ağrısı olduğunu bildirmiş, kalıtmıllık depresyon için % 58, migren için % 44 olarak bulunmuştur. İki değişkenli yapısal analiz ile depresyon ve migren baş ağrılarının değişkenliğinin %20' sinden ortak genetik yolların sorumlu olduğu, % 4' ünden ise ortak çevresel etmenlerin sorumlu olduğu bulunmuştur (32). Bunun gibi ortak yolların

saptanabilmesi, hem hastalıklarının patogenezinin daha iyi anlaşılmasını hem de ortak tedavi yollarının bulunabilmesini sağlayacaktır.

Çevresel etmenler de migren ve depresyon eş tanısını belirleyebilir. Stresin her iki hastalık için ortak bir çevresel etmen olabileceği öne sürülmüştür (48,49). Modgill ve Swanson tarafından yayınlanan iki çalışma bunu destekler. Modgill'in 15.254 kişiyi geriye dönük olarak 12 yıl boyunca izlediği popülasyon çalışmasında yaş, cinsiyet ve kronik hastalık koşulları açısından kontrol edildikten sonra migreni olan kişilerin migreni olmayan kişilere göre % 60 daha fazla depresyon tanısı aldığı, depresyon tanısı alan hastaların da depresyon tanısı almayan hastalara göre migren geliştirme olasılığının % 80 daha fazla olduğu gösterilmiştir. Ancak yaş ve cinsiyet düzeltmelerine stres ya da çocukluk çağı travması düzeltmeleri eklendiğinde bu risk ortadan kalkmıştır (48). Bu çalışmayı takiben Swanson ve arkadaşları tarafından yürütülen bir diğer geniş örneklemli çalışmada depresyon, çocukluk çağı travması, medeni durumdaki değişiklik, işsizlik, çalışma yerindeki stres, kronik stres, sosyal destekte azalma gibi farklı etmenlerin migren gelişimi üzerine olan etkisi ölçekler vasıtası ile değerlendirilmiştir. 8 yıllık izlem ve 2 yılda bir yapılan değerlendirmelerin sonucunda depresyon tanısının migren gelişimini öngörebildiği, migren tanısının da depresyon gelişimini öngörebildiği gösterilmiştir. Bu bulgu iki hastalığın ortak temelleri olduğunu destekleyicidir. Ancak hem akut hem de kronik stres etmenlerinin dikkate alınması ile aradaki ilişki kuvvetinin azaldığı ve stresin migren-depresyon eş tanısını açıklayan önemli bir etmen olduğu bulunmuştur. Kronik stres, aradaki ilişkiyi en fazla azaltan etmen olmuştur (49).

Çocukluk çağı istismarı ya da ihmal gibi önemli bir stres faktörü de baş ağrısının kişilerde daha erken yaşta başlaması ve migrenin episodikten kroniğe dönüşümü ile ilişkili bulunmuştur (50). Sonuç olarak, sık görülen depresyon ve migren eş tanısının altında, stres gibi bir çevresel faktörün her iki hastalık için de risk etmeni oluşturması yer alabilir.

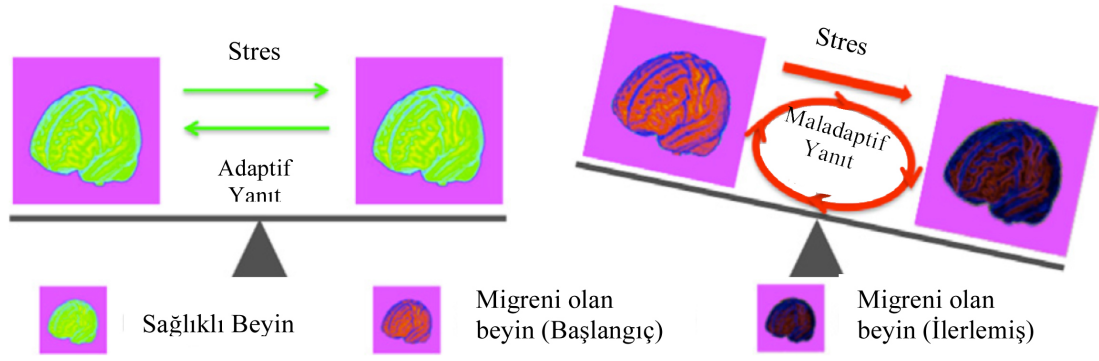
Stresle ilişkili bir diğer hastalık grubu olan anksiyete bozuklukları da migren hastalarında sık görülmektedir. Anksiyete bozuklukları, sıklıkla migren atağının öncesinde başlar. Migreni olmayan hastalara göre migren hastalarında yaygın anksiyete bozuklukları için 4-5 kat, obsesif kompulsif bozukluk için 5 kat ve panik bozukluk için 3-10 kat artmış risk söz konusudur (29) ve bu risk diğer baş ağrısı

türlerindeki anksiyete bozukluğu eş tanısı alma riskinden daha yüksektir (25). Peterlin ve arkadaşlarının yaptığı çok merkezli, 767 katılımcının olduğu bir çalışmada, tüm migren hastalarında travma sonrası stres bozukluğunun (TSSB) göreceli frekansı % 25 olarak bulunmuştur. Araştırmacılar, TSSB ile migren arasındaki bu ilişkinin, her ikisinin de otonomik sistem disfonksiyonu, HPA eksen ve serotonerjik düzenlemedeki işlevsel bozukluklar ile ilişkili olabileceği belirtilmiştir (51).

Migren ile stresin ilişkisi sadece kronik stresle ilişkili olan depresyon ve anksiyete bozuklukları ile sınırlı değildir. Hiç bir psikiyatrik hastalığı olmayan kişilerde de akut bir stres etmeni migren atağını tetikleyebilmektedir (20-23). Ancak akut stres etmenlerinin tespiti ve migren ağrısı ile zamansal ilişkisinin kurulması kolay değildir.

Holm ve arkadaşları 20 kadın üzerinde yaptıkları çalışmada, katılımcıların % 70' inin günlük algılanan stres düzeyi ile migren ağrısı arasında bir ilişki belirttiğini göstermiştir. Hastaların % 40' ında günlük stresli yaşam olayları sayısı ile algılanan ağrı yoğunluğu bağlantılı bulunmuştur (20). De Benedittis ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya göre son 1 yıl içinde sıklığı artan stresli yaşam olaylarının olması ve bu olayların kişi tarafından olumsuz olarak yorumlanması, ağrı başlangıcı ile ilişkilidir (21). Danimarka'da yapılmış olan iki geniş örneklemli çalışmada da migren hastalarının % 37-70 oranında akut stres sonrasında rahatlama, % 32- 59 ile yoğun duygusal etkiler yaşama ve % 32- 58 akut stres anında migren ağrılarının tetiklendiği bildirilmiştir (22-23).

Tüm çalışmalar bir arada değerlendirildiğinde görülmektedir ki migren, sıklıkla psikiyatrik hastalıklarla birliktelik göstermektedir. Her iki hastalık için de önemli bir belirleyici psikolojik strestir. Psikolojik stres, migren ağrısını tetikleyebilir ya da ağrı sıklığını artırarak kronikleştirebilir. Strese maladaptif uyum ve migren ilişkisi Şekil 1'de şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 1. Strese maladaptif uyum ve migren ilişkisi
(Kaynak 52'den değiştirilerek alıntılanmıştır.)

Strese olan uygunsuz ve bozuk uyum gösteren (maladaptif) yanıtlar, olası bazı biyolojik değişikliklere yol açarak migrenöz bir beyin yapısı oluşumuna sebep olabilir (52,53). Aşağıda, migren ve psikolojik stresin fizyopatolojileri tartışılacaktır.

2.3. Migrenin Fizyopatolojisi

Her ne kadar migren hastalarının ataklar arasındaki dönemde tamamen normal oldukları kabul edilse de (2) migren, beynin anormal bir durumudur. Bugüne kadar yapılan çalışmalar migrende hissedilen baş ağrısının trigeminovasküler sistemin aktivasyonu ile, migren aurasının ise KYD ile ilişkili oluştuğunu bildirmiştir (35-44, 54). Karataş ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışma ile de KYD'nin trigeminovasküler sistemi etkileyerek migren ağrısını başlatabildiği gösterilmiş ve bu iki önemli mekanizma arasında bağ kurulmuştur (55). Bu bölümde önce trigeminovasküler sistemden kısaca bahsedilecek, daha sonra bu çalışmanın yönteminde migreni modellemek için kullanılan KYD ve moleküler mekanizmaları özetlenecektir.

2.3.1. Migren ve Trigeminovasküler Sistem

Beyin parankimi ağrıya duyarlı değildir. Ekstrakranial olan bir çok doku ağrıya duyarlıyken, intrakranial olarak büyük venöz sinüsler, duranın dış kısımları, dural arterler, 3, 4, 5, 7, 9 ve 10. kranial sinirler ve serebral arterler ağrıya duyarlıdır (1,2, 54). Trigeminal sinir, vagus siniri ve glossofaringeal sinir ile ilk üç servikal

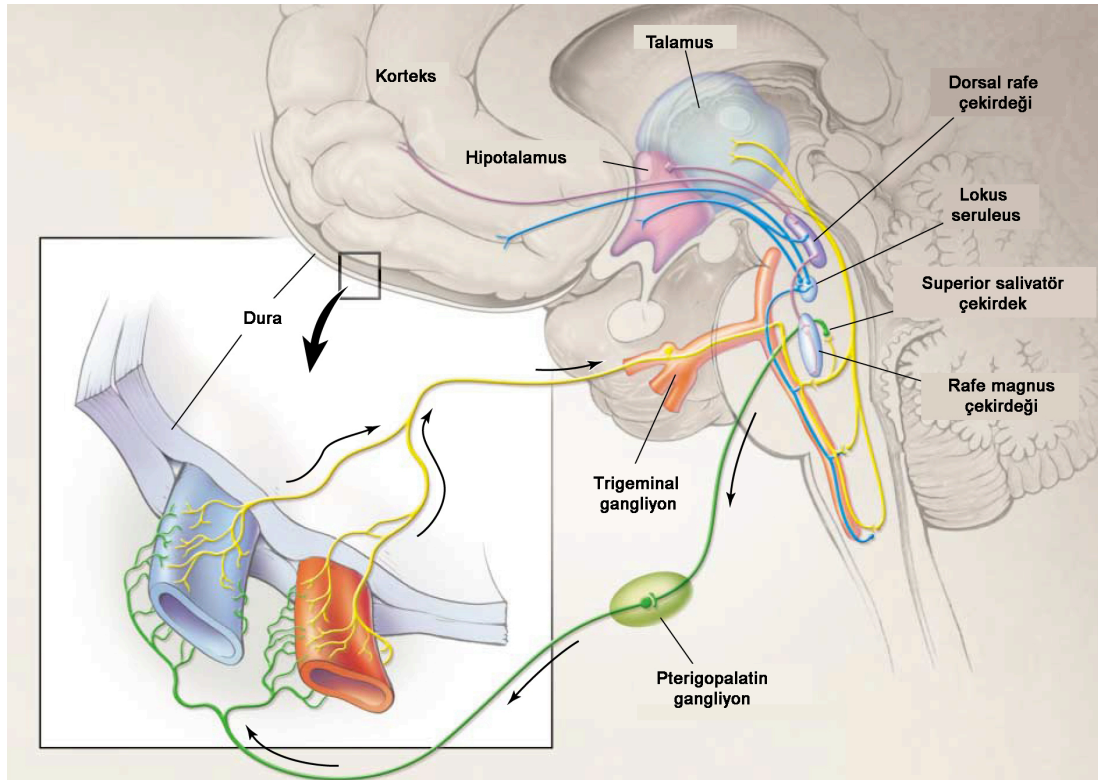
sinir, ağrıya duyarlı alanlardan gelen sinyallerin taşınmasından sorumludur (56). Migren ağrısı ise baştaki ağrı yollarından özellikle meningeal damarlar ve trigeminovasküler uyarım ile ilişkilidir (54-55).

Migrenin fizyopatolojisi ile ilgili ilk önermeler 1938 yılında Graham ve Wolff tarafından öne sürülmüştür. Bu araştırmacılar, skotom fazından sonra migren ağrısı başladığında ergotamin tartarat ile ağrının sonlanmasının, kranial damar duvarlarındaki düz kasların kasılması ile gerçekleştiğini ve ağrının meningeal damarların genişleyerek trigeminal sinir uçlarını uyarması ile ilişkili olduğunu ileri sürmüşlerdir (57). Bu hipotez daha sonra *migrenin vasküler hipotezi* olarak anılmıştır. Daha sonraki dönemde elde edilen bulgular da bu hipoteze destek sağlamıştır (58-61). Bir çalışma da orta meningeal arter çapının migren atağı sırasında anlamlı olarak arttığını ve sumatriptan tedavisi ile migren atağı sonlandırıldıktan sonra bazal seviyenin de altına indiğini göstermiştir. Bunun aksine orta serebral arter çapının migren atağı ile birlikte anlamlı olarak artsa da sumatriptan tedavisi ile farklılık göstermediği bildirilmiştir. Bu bulgu hem intraserebral hem de ekstraserebral damarların migren ağrısı ile ilişkili olduğunu göstermektedir (60,61).

Moskowitz, migren ağrısı ve trigeminovasküler sistem ilişkisini açıklamaya çalışan vasküler hipotezden ayrı olarak meningeal inflamasyonun migren ile ilişkili olabileceğini önermiştir (61,62). Bu teoriye göre trigeminal gangliyonun uyarılması, kalsitonin gen ilişkili peptit (KGİP) gibi moleküller aracılığı ile damarlardan protein sızmasına, ödem oluşmasına ve mast hücre degranülasyonuna neden olarak steril bir inflamasyon ile meningeal irritasyon oluşmasına neden olmaktadır (63-67).

Meningeal damarlar, trigeminal gangliyonun gelen miyelinsiz C- lifleri ve az miktarda miyelinli A sinir lifleri ile sarılmıştır. Meningeal irritasyon ya da vasküler dilatasyon gibi değişiklikler bu sinir lifleri ile algılanır. Uyarılan trigeminal sinir, trigeminal gangliyonun geçerek trigeminoservikal kompleksteki spinal trigeminal gangliyonda ikinci seviye nöronlarda sinaps yapar. Bu nöronlar beyin sapında çaprazlaştıktan sonra trigeminotalamik yolak ile talamus, beyin sapı ile anterior ve lateral hipotalamusa projekte olur. Trigeminovasküler kompleksten talamusa ulaşan uyarılar, talamusun posterior, lateral posterior-dorsal ve ventral posteromedial talamik çekirdeklerini uyarır. Talamus da bu uyarıları, somatosensör kortekse ve diğer limbik yapılara iletir. Böylece meningeal damarların genişlemesi ya da

inflamasyonu ile oluşan ağrı algılanır. Ayrıca trigeminoservikal kompleksten pontaki parasempatik superior salivator çekirdeğe uyarı gönderilerek, bu çekirdeğin pterigopalatin çekirdeği uyarması sağlanır. Pterigopalatin çekirdek de meningeal damarları inerve ederek bir geri besleme sistemi oluşturur. Dorsal rafe çekirdeği, lokus seruleus ve rafe magnus, beyin sapındaki ağrı yollarını modüle ederek ağrı algısını değiştirici etkiye bulunabilir (1,59,68). Migren ağrısı ile ilişkili ağrı yolları Şekil 2’de şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 2. Migren ağrısının fizyopatolojisi ile ilişkili olan trigeminovasküler sistemin şematik gösterimi (Kaynak 68’den düzenlenerek alıntılanmıştır.)

Talamusun migren ile ilişkili olan posterior ve lateral posterior bölgeleri ayrıca hipotalamusun dopaminerjik hücre grubundan ve ventromediyal ve tuberomamiller çekirdeklerinden de projeksiyonlar alır. Bu projeksiyonlar, mevcut migren ilişkili ağrı yollarının stres, açlık gibi tetikleyiciler ile ilişkisini de destekler (69).

Trigeminal uyarı ayrıca, çoğunlukla glutamat gibi uyarıcı aminoasitler ile birlikte bulunan KGİP, P maddesi, nörokinin gibi vasodilator moleküllerin (70,71) salınımını sağlar ve kendisi üzerinde bir pozitif geri besleme sistemi oluşturur. Norepinefrin ise serebral damarlarda daralmaya neden olabilir (71).

Migren ağrısının algılanması, trigeminovasküler sistemle ilişkilidir ancak migren ağrısı sadece meningeal damarların genişlemesi ve inflamasyonundan kaynaklanmamaktadır. Hem vasküler hipotez hem de meningeal inflamasyon teorisi, migren ağrısının algılanma yollarını aydınlatabilse de, migren aurası gibi fizyopatolojik olayları açıklamaktan uzaktır. Migren ağrısı, sadece periferik yolların uyarılması ile değil kortikal yapıların etkisi ile de uyarılabilir. Migren, kortikal yapılar, beyin damarları ve trigeminovasküler sistem arasındaki kompleks ilişki aşağıda KYD üzerinden daha detaylı olarak açıklanacaktır.

2.3.2. Migren ve Kortikal Yayılan Depresyon

Migren ağrısının kortikal uyarıcı mekanizmaları, bazı araştırmacıların önemli gözlemleri sayesinde saptanmıştır. 1941 yılında kendisi de bir migren hastası olan Leashley, migren atağı öncesinde yaşadığı skotomların şekillerini zaman bağımlı olarak not etmiş ve bu notlardan yola çıkarak görme korteksinde başlayan ve çevre dokulara yayılan bir kortikal aktivite değişikliğinin bu skotomlarla ilişkili olduğunu önermiştir (35). Onu takiben 1944'de Leao tavşan beyinlerinde elektroensefalografi kullanarak yaptığı ölçümlerde beyin bir bölgesinin elektriksel uyarımı sonrasında, uyarılan bölgeye yakın alanlardaki elektrotlarda beyin aktivitesinin baskılandığını göstermiştir. Kortikal aktivitedeki bu baskılanma, çevre dokulara da yayılmış ve 5-10 dakikalık bir dinlenme döneminden sonra aktivite normale dönmüştür. Yayılan kortikal aktivite baskılanmasına, pial damarlarda belirgin genişleme eşlik etmiştir (36).

Karotit artere Xenon-133 uygulanarak beyin kan akımının incelendiği 6 hasta ile yürütülen bir çalışmada, migren ağrısının her aşamasının yayılan vasküler değişiklikler ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Migren hastalarının aura döneminde oksipitoparietal beyin kan akımı azalmış ve posteriorda görülen oligemi, 15-45 dakika içinde anteriora doğru yayılmıştır. Ağrı sırasında ise tersine anormal bir hiperemi gelişmiş ve ön loblara doğru yayılmıştır (37). Hipoksi ve iskemi gibi

durumlarda da benzer bir depolarizasyon dalgası, dalgaya eşlik eden hızlı bir kan akımı artışı ve takiben daha uzun süren % 20 - 25' lik bir kan akımı azalması görülmektedir (38, 39). Bu bulgular yakın zamanda yapılan fonksiyonel manyetik rezonans görüntüleme ve pozitron emisyon tomografi (PET) çalışmaları ile de desteklenmiştir (40, 41).

Migren ağrısı öncesinde gerçekleşen aura fazında oksipital kortekste bir depolarizasyon dalgası oluşur. Bu dalga, dakikalar içinde korteks boyunca öne doğru yayılır ve çevre dokuların da depolarize olmasını sağlar. İlerleyen depolarizasyon dalgasına sıklıkla vasküler değişiklikler de eşlik eder. İskemi, hipoksi gibi durumlarda da gözlenen, bu patolojik kortikal aktivitedeki yayılan dalgaya 'Kortikal yayılan depresyon (KYD)' dalgası denir. Günümüzde migren fizyopatolojisi KYD ile açıklanmaktadır (Ayrıntılı derlemeler için kaynak 38, 39 ve 54'den faydalanılabilir).

Oksipital kortekste başlayan ve yayılan bu elektriksel aktivite trigeminovasküler sistemi de uyurabilir. KYD sonrasında trigeminovasküler sistem aktivitesi artar (43, 44, 72). Sıçanlarda KYD uyarıldıktan 14 dakika sonra trigeminal nosiseptörlerin ateşleme hızında yaklaşık iki kat artış olduğu ve artmış aktivitenin yaklaşık 1 saat sürdüğü bildirilmiştir (43). Lambert ve arkadaşlarının deneyinde KCl ile KYD uyarıldıktan 20 dakika sonra trigeminal nöronların ateşleme hızında anlamlı bir artış olmuştur (44). Migrenin genetik modellerinde KYD'nin çok hızlı indüklenebilmesi ve ilerlemesi de KYD-migren ağrısı ilişkisini destekleyici niteliktedir (73,74).

KYD'nin trigeminovasküler sistemin aktivasyonunu nasıl sağladığı ise önemli bir araştırma konusu olmuş ve ancak yakın zamanda aydınlatılabilmektedir. Önceki araştırmalarda, KYD'nin, beyinde nöroinflamasyon teorisinde öne sürülene benzer bir etki gösterdiği, KYD oluşumu ile ekstraselüler mesafeye hücre dışı kalsiyum mevcudiyetine bağımlı olarak KGİP salınımının trigeminovasküler uyarımı sağladığı önerilmiştir (75, 76, 77). Bunun yanı sıra KYD oluşumundan bir saat sonra kortekste bir matriks metalloproteinazı (MMP) olan MMP-9 seviyelerinin hızla arttığı ve MMP-9' un meningeal inflamasyon teorisine benzer şekilde damar etrafındaki jelatinolitik etkisi ile geçirgenliği artırarak meningeal irritasyon ile ağrı oluşturabileceği önerilmiştir (78). KYD dalgasının yayılması sırasında salınan

potasyum iyonları, hidrojen iyonları ve glutamat moleküllerinin de meningeal nosiseptörlerin uyarılmasından sorumlu olabileceği önerilen bir diğer mekanizmadır (77). Yakın zamanda Karataş ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışma ile KYD-trigeminovasküler system ilişkisini açıklayan yeni bir mekanizma önerilmiştir. KYD ile artan potasyum iyonları ya da nitrik oksit gibi moleküllerin saatlerce süren baş ağrısını sürdürmeye yeterli olmayabileceğinden yola çıkan araştırmacılar, KYD ile panneksin1 kanallarının açıldığını, bunun hücre içi bir alarm tepkisini başlattığını göstermişlerdir. Bunun sonucunda HMGB-1'in nörondan salındığını, astrositlerde sitoplazmik NF-KB'nin çekirdeğe translokasyonuna yol açtığını ve bunun sonucunda ifadesi artan inflamatuvar aracı moleküllerin astrosit son ayaklarından salınarak trigeminovasküler yanıtı yol açtığını bulmuşlardır (55).

Sonuç olarak, insan çalışmalarında migrenin aura fazı ile ilişkili olduğu gösterilen KYD dalgasının, intrinsik mekanizmalar üzerinden trigeminovasküler sistemi uyarak migren ağrısını tetikleyebildiği kanıtlanmıştır.

2.3.3. Kortikal Yayılan Depresyonun Moleküler Mekanizmaları

Migrende damarsal değişikliklerle ilişkili olduğu gösterilmiş olan KYD, bir çok farklı mekanizma ile tetiklenen bir depolarizasyon dalgasıdır. KYD, elektriksel uyarım, mekanik travma, KCl uygulaması, hipoksi ya da glutamat ile uyarılabilir (76,77). Normal koşullarda sıçanlarda iğne batırma (pinprick) ile mekanik travma uygulandığında oluşan KYD dalgası, korteks boyunca 4.6 ± 1.4 mm/dakika hızında yayılır ve 1 saat süresinde 4-10 dakika aralıklarla ortalama 4-10 KYD dalgası kayıt edilir (79).

KYD, hücre dışı iyon seviyeleri, nörotransmitterler, metabolik hız ve serebral kan akımında önemli değişiklikler ile ilişkilidir (42, 80). KYD dalgasının başlamasını takiben bir vasodilatasyon ve hiperemi fazı olur. Bu fazı, daha uzun bir vazokonstriksiyon ve oligemi fazı takip eder (81, 82). Hipoksi, hipoglisemi ya da voltaj bağımlı Na^+ kanalının (VBNK) antagonize edilmesinin kan akımı değişikliklerini önlediği bulunmuştur (83).

Aşağıda mevcut yazın ışığında KYD ile ilişkili mekanizmalar tartışılacaktır. Ayrıca KYD fizyopatolojisinin daha iyi anlaşılabilmesi için KYD' nin subkortikal yapılarla ilişkisinden de bahsedilecektir.

2.3.3.1. KYD Sırasında Görülen İyon ve Kanal Aktivitesi Değişiklikleri

KYD dalgası sırasında geçici bir negatif DC potansiyel kayması görülür. Bu kaymayı, hücre dışı K^+ derişimindeki artış (60-70 mmol/L) ve Na^+ , Ca^{+2} ve Cl^- iyonlarının hücre içine girerek nöronlarda ve glia hücrelerinde geçici şişmeye neden olması izler. Bu etki geri dönüşümlüdür ve en geç 120 saniye içerisinde kalıcı bir hücre ölümü gerçekleşmeden iyon dengesi tekrar sağlanır (42, 58, 84).

Günümüzde KYD dalgası incelenirken K^+ dışında Na^+ , Cl^- ve Ca^{+2} iyonları da göz önünde tutulmaktadır ve KYD'nin ya hep ya hiç şeklinde gerçekleşen bir dalga olduğu, artan K^+ derişimlerinin ya da glutamat akışının KYD dalgasını uyarabildiği ve KYD'nin apikal dendritlerdeki net içe akan membran iyon akımları ile ilişkili olduğu kabul edilmektedir (84-96).

KYD dalgasının oluşumu ile ilgili ilk önermelerde aksiyon potansiyeli oluşumu ile hücre dışına salınan K^+ iyonlarının interstisiyel alanda belirli bir derişimin üzerine çıkması ve yayılması ile depolarizasyonun gerçekleştiği savunulmuştur. K^+ hücre dışı alanda kritik bir seviyenin üzerine ulaştığında aksiyon potansiyeline neden olur. Voltaj bağımlı Na^+-K^+ ATPaz pompası aktivitesi ile Na^+ hücre içine girer. Ayrıca artan voltaj değişikliği voltaj bağımlı Ca^{+2} kanallarını da (VBKK) aktive eder. VBKK daha fazla K^+ 'un hücre dışına atılmasını sağlar (77,87,88). Ancak tetradotoksin gibi VBNK'yı bloke edebilen moleküllerle aksiyon potansiyelinin oluşumunun engellendiği durumlarda bile depolarizasyon dalgasının oluşabildiği görülmüş ve aksiyon potansiyeli olmadan da K^+ un salınabildiği gösterilmiştir (85, 88). KYD uyarılması sırasında gelişen iyon değişiklikleri modellendiğinde KYD'nin başlangıç aşamasında özellikle K^+ iyonlarının önemli bir rolü olduğu, KYD'nin izleyen aşamalarında ve sonlandırılmasında da özellikle Na^+-K^+ ATPaz pompasının gerektiği öne sürülmüştür (89). Ailesel hemiplejik migren (AHM) 2 hastalığının bir Na^+-K^+ ATPaz geni olan ATP1A2 ile ilişkili olması, bu kanalların migren patogenezindeki önemine dikkat çeker. ATP1A2 geni, özellikle aksiyon potansiyeli oluşmasında ve hücrelerin depolarize olmasında önemli bir rolü olan Na^+-K^+ ATPaz pompasının $\alpha 2$ alt üniterisini kodlamaktadır (90).

Fizyolojik koşullarda potasyumun Na^+-K^+ ATPaz pompası ile hücre içine girişi ve K^+ pompaları ile hücre dışına çıkarılması arasındaki istirahat hali dengesinde, hücre dışındaki derişimi, yaklaşık 3 mM'dır (88).

2.3.3.1.1. KYD ve Voltaj Bağımlı Na⁺ Kanalları

Birçok temel bilim çalışması KYD'nin iyon kanalları ile ilişkisini desteklemiştir. Bir ailesel hemiplejik migren türü olan AHM3 de VBNK kodlayan SCNA1A genindeki bir mutasyon ile ilişkilidir. Bu bulgu, migren ve KYD fizyopatolojisinde VBNK'nın önemli bir rolü olduğunu gösterir. Bunun yanısıra bir VBNK antagonisti olan tetradoksin, N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörü antagonistlerine göre KYD alanını çok daha etkili bir şekilde azaltabilmektedir (75). Ancak her VBNK blokörü benzer etkiyi gösterememiştir. Diğer VBNK blokörlerinden olan karbamazepin etkisiz bulunurken lamotrijin insan çalışmalarındakine benzer şekilde KYD'yi baskılayıcı etki gösterebilmiştir (75). Bir diğer VBNK antagonisti olan okskarmazepinin hem insanlarda migren tedavisinde faydasız olduğu hem de tek intravenöz doz ya da 5 hafta ağızdan uygulandığı deneysel modellerde KYD duyarlılığını baskılayamadığı gösterilmiştir (17,91).

2.3.3.1.2. KYD ve Voltaj Bağımlı Ca⁺² Kanalları

Migren fizyopatolojisini anlamak adına önemli bir yol gösteren ailesel hemiplejik migren 1 hastalığının, beyne özgül bir voltaj bağımlı kalsiyum kanalı olan P/Q tip Cav21 kanalı $\alpha 1$ alt ünitesini kodlayan gen ile ilişkili olduğu bulunmuştur (92). $\alpha 1$ alt ünitesi özellikle beyine özgüdür ve voltaj bağımlı özelliği ile uyarıldığında hızlı bir şekilde Ca⁺² iyonlarının hücre içine girmesini ve nörotransmitterlerin salınmasını sağlar (93). Beyinde 3 önemli VBKK işlev görmektedir (94). L tipi Ca⁺² kanalları hücre gövdesinde bulunur ve uyarılabilirlik ile ilişkilidir. P ve N tipi Ca⁺² kanalları ise sinaps yapan akson terminallerinde bulunur ve nörotransmitter salınımı ve aksiyon potansiyeli oluşumundan sorumludur. VBKK blokörlerinin KYD üzerine olan etkisi inceleyen çalışmalar, yönteme bağlı olarak farklı sonuçlar vermiştir. Mekanik uyarı (pinprick) ile KYD uyarıldığında hiç bir VBKK antagonisti KYD uyarılma eşiği üzerine etkili bulunmamış, kimyasal uyarım ile uyarıldığında ise eşiği artırıcı etki göstermiştir (83). Richter ve arkadaşlarının yürüttüğü bir çalışmaya göre bu 3 kanalın blokajı da iğne batırma yöntemi ile uyarılan KYD dalgasını önleyememektedir. Ancak KCl uygulaması ile tekrarlayan KYD dalgaları oluşturulduğunda, N ve P tipi Ca⁺² kanal blokörleri ile KYD frekansı azalmış ve L tipi Ca⁺² kanal blokörü olan konnotoksin KYD süresini kısaltmıştır

(95). Tottene ve arkadaşlarının yaptığı takip eden bir çalışmada da, daha yüksek dozda P-Q tipi VBKK antagonisti verildiğinde, KYD'nin başlamasının da NMDA antagonistlerine benzer şekilde engellendiği ve diğer Ca^{+2} kanalları üzerine etkili olan ajanların ise sadece KYD yayılma hızı üzerine etkili olduğu gösterilmiştir (96).

Deney hayvanları üzerinde yürütülen çalışmalarda migren profilaksisinde kullanılan, hem Ca^{+2} hem de K^{+} kanalları üzerine etki edebilen valproik asitin de 10 hafta kronik kullanımı ile KYD uyarılma eşiğini yükselttiği gösterilmiştir (97). Araştırmacılar bu bulgular, ışığında KYD patogenezinde VBKK'nın rolü olsa da VBKK'larının etkisinin daha önemli olduğunu savunmaktadır.

2.3.3.2. KYD ve Glutamat

KYD sırasında oluşan voltaj değişiklikleri ile glutamat ekstrasinaptik aralığa salınır ve bu alanda yayılarak diğer hücrelerin de uyarılmasına ve KYD dalgasının diğer beyin bölgelerine yayılmasına katkıda bulunur (59,79). NMDA reseptör antagonistleri ile yürütülen çalışmalarda bu ajanların elektriksel uyarımlarla gerçekleşen KYD dalgalarının oluşumunu engelleyebildiği (98,99), uyarılma eşiğini yükseltebildiği gösterilmiştir (100).

Tozzi ve arkadaşları yaptıkları çalışma ile hem glutamatın NMDA reseptörlerinin hem de voltaj bağımlı Na^{+} kanalının KYD gelişiminde rolü olduğu gösterilmişlerdir. Bu çalışmada, kesitler üzerinde yüksek doz KCl uygulanarak KYD oluşturulduğunda, KCl uygulaması öncesinde NMDA reseptör antagonisti olan L-2-amino-5-fosfonovalerik asit (L-APV)'nin uygulanmasının KYD alanını azalttığı ve doku içindeki fizyolojik fonksiyonel değişikliklerin bir göstergesi olan intrinsik optik sinyallerin (IOS) intensitesini anlamlı olarak azalttığı ancak α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolepropionik asit (AMPA) reseptör antagonisti olan 6-siyano-7-nitrokuinoksalin-2,3-dion (CNQX) uygulamasının bu parametreler üzerinde bir etkisinin olmadığı görülmüştür (77). Lenti ve arkadaşları da hiperemi fazından özellikle NMDA reseptörlerinin sorumlu olduğunu, diğer glutamat reseptörlerinin benzer bir etki oluşturmadığını göstermiştir (101).

Glutamat ayrıca beyin enerji depoları ile nöron aktivitesi arasındaki bağı oluşturan moleküllerden biridir. Astrositler hücre dışı ortamda bulunan nöronlar tarafından salınmış olan glutamati alarak glutamine çevirir ve glutamini hücre dışı

ortama verir. Nöronlar hücre dışı ortamdaki glutamini alarak tekrar glutamat sentezler ve nörotransmitter olarak kullanır (102). Gavaj yolu ile farelere glutamin verilmesi, KYD süresini değiştirmemiş ancak KYD yayılma hızını artırmıştır (103).

2.3.3.3. KYD ve Noradrenalin

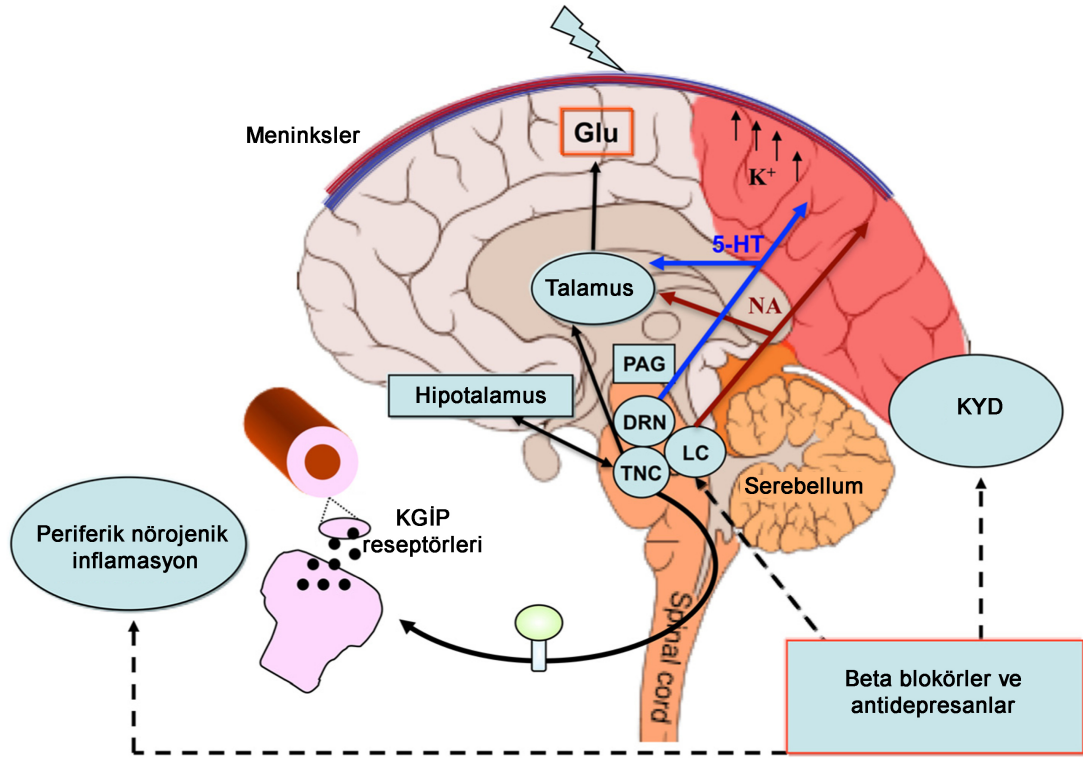
KYD uyarılması ve yayılmasında glutamat nörotransmitteri önemli bir rol olsa da noradrenerjik sistem ve ilişkili reseptör sistemleri de KYD parametrelerini modüle edebilir. Bir beta blokör olan propranololün insanlarda migren tedavisinde etkin olabilmesi bunu desteklemektedir (46). Sıçanlarda noradrenerjik sistemin KYD üzerine etkilerini inceleyen bir araştırmada, 10^3 mol/L norepinefrinin rat korteksi üzerine topikal olarak uygulanması, KYD'nin uyarılmasını ve iki elektrot arasında yayılmasını engellemiştir. Bir α_2 adrenerjik reseptör antagonisti olan yohimbinin uygulanması sonrasında 11 sıçanın 3'ünde hiçbir değişiklik görülmezken 7' sinde geri dönüşümlü olarak 15-45 dakika sonrasında, birinde de geri dönüşümlü olarak 60 dakika sonrasında KYD uyarılması inhibe olmuştur (79). α_2 adrenerjik reseptör agonisti olan klonidin de yohimbine benzer etki göstermiş, uygulandığı 7 sıçanın üçünde KYD'nin uyarılmasını, üçünde de KYD'nin yayılmasını engellemiştir. Bunların yanısıra beta adrenerjik reseptör antagonisti olan propranololün de doz bağımlı olarak KYD' nin yayılmasını yavaşlattığı veya inhibe ettiği gösterilmiştir. Adrenerjik reseptörlere karşı olan bu farmakolojik ajanlar, etkilerini sistemik kan basıncı ve beyin kan akımını değiştirmeden göstermektedir (79).

2.3.3.4. KYD ve Serotonin

KYD ile ilişkisi incelenen bir diğer nörotransmitter de serotoninidir. Bir serotonin antagonisti olan metiserjid, migren tedavisinde kullanılan ilk ilaçlardan biridir (104,105). Trombositlerdeki serotonin metabolizması incelenerek yürütülen bir çalışmada migren hastalarının ataklar arasındaki dönemde kontrol grubuna göre daha düşük plazma serotonin seviyeleri ve daha yüksek 5-hidroksi indol asetik asit (5-HIAA) seviyeleri olduğu, atak döneminde ise tam tersi şekilde ataksız döneme göre serotonin seviyelerinin yükseldiği ve 5-HIAA seviyelerinin düştüğü gösterilmiştir (106). Kronik günlük baş ağrısı olan kadın hastalarda da benzer şekilde tam kan serotonin seviyelerinde azalma mevcuttur (107). PET ve α -[(11)C]metil-l-triptofan kullanılarak serotonin sentez hızı migren atağı, interiktal dönem ve sumatriptan tedavisi sonrasında incelendiğinde de benzer şekilde migren hastalarında interiktal dönemde serotonin sentez hızının kontrol grubundan % 14 daha düşük olduğu ve beyin serotonin sentez hızının en yüksek olduğu dönemin migren atağı dönemi olduğu, sumatriptan tedavisi ile sentez hızının azaldığı gösterilmiştir (108). İntraperitonyal paraklorofenilalanin enjekte edilerek serotonin seviyeleri azaltılmış olan sıçanlarda KCl ile KYD uyarıldığında trigeminal nükleus kaudalinde de bir hızlı erken sentezlenen gen olan FOS pozitif hücre sayısı artmaktadır (109), kontrol grubuna göre KYD frekansında anlamlı bir artış görülmektedir. Diğer KYD parametreleri ise değişmemektedir (109, 110). Bu grupta ayrıca nöronal nitrik oksit sentaz (nNOS) ifadesi de anlamlı olarak artmaktadır. nNOS ifadesinde artışının önlendiği durumlarda KYD frekansı normal seviyelere inmektedir (110). Dışardan verilen ajanlarla serotonin tüketilen sıçanlarda ayrıca KYD ilişkili serebral hiperemide de artış gözlenmektedir, bu durumdan da serotonin ilişkili nitrik oksit salınımı sorumlu tutulmaktadır (111).

Kısaca özetlemek gerekirse, KYD başlangıcı ile hücre dışında artan K^+ iyonu seviyesi, voltaj bağımlı Na^+-K^+ ATPaz pompasını ve voltaj bağımlı Ca^{+2} kanallarını aktive eder. Aktifleşen bu kanallar daha fazla K^+ 'un ve glutamatın hücre dışında salınmasını sağlar. Bu moleküllerin hücre dışında artan derişimleri, hücre dışı ortamda yayılmalarını ve diğer hücrelerde de benzer bir aktivasyonun gelişmesine yol açar. Hücreler arasında bulunan yarıklı bağlantılar da iyonların iletimini kolaylaştırarak bu depolarizasyonun daha hızlı yayılmasına katkıda bulunabilir.

Noradrenerjik ve serotonerjik sistemler de KYD üzerine düzenleyici etkiye bulunabilir. Yayılan depolarizasyon dalgası, nöroinflamatuvar sistemleri uyarak meningeal aktivasyonu sağlar ve trigeminovasküler sistem aktifleştirilerek ağrı hissedilir (80-111). Bu mekanizma, Şekil 3’te de sunulmuştur.

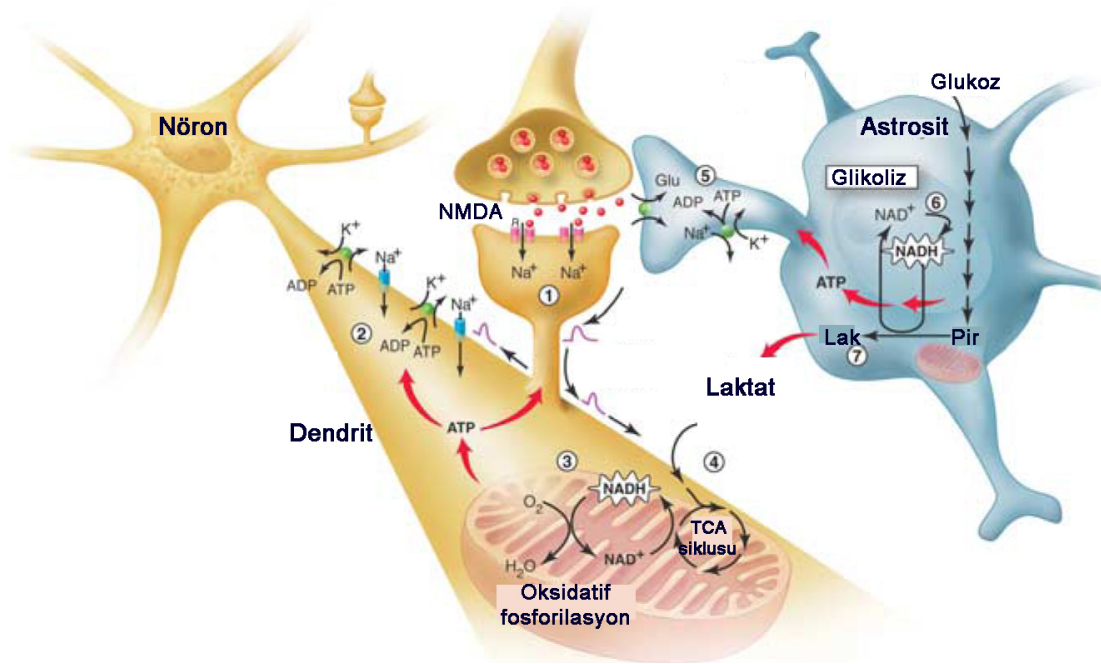


Şekil 3. Migren fizyopatolojisinde rol alan yapılar ve mekanizmalar
(Kaynak 58’den düzenlenerek alıntılanmıştır.)

2.3.3.5. KYD ve Beyin Enerji Mekanizmaları

KYD sırasında gerçekleşen moleküler olaylara katkıda bulunan bir diğer sistemde beyin enerji mekanizmalarıdır. Nöronlar ihtiyaçları olan enerjiyi direkt olarak vasküler sistemden alamazlar. Astrositler, nöronların ihtiyacı olan enerji desteğini almalarına aracılık eder. Glutamaterjik sinapslarda nöronlar tarafından hücre dışına salınan glutamat, Na⁺ iyonları ile birlikte astrositler tarafından alınarak hücre dışı ortamdan uzaklaştırılır. Astrosit içinde artan Na⁺ iyonlarını dengeleyebilmek amacı ile Na⁺-K⁺ ATPaz pompası çalıştırılır ve Na⁺ hücre dışına atılır. Ancak bu pompanın çalışması, yüksek miktarda ATP’nin yıkılmasını

gerektirir. Astrositler, ATP'yi sağlayabilmek için kandan aldıkları glukozu laktata çevirir. Laktat da astrositlerden nöronlara verilir ve nöronlar laktatı piruvata çevirip Krebs (TCA) siklusuna sokarak enerji elde eder (112, 113). Şekil 4'te astrosit ve nöron arasındaki laktat mekiği şematize edilmiştir. KYD gibi yüksek iyon değişikliklerinin olduğu ve hücre aktivitesinin arttığı bir durumda astrosit-nöron arasındaki bu enerji aktarımının çok daha aktif olması gerekeceği tahmin edilebilir.



Şekil 4. Astrosit- nöron laktat mekiği

(Pir: piruvat, Lak: laktat, Kaynak 102'den düzenlenerek alıntılanmıştır.)

Streptozosin kullanılarak diyabetik ve hiperglisemik hale getirilmiş olan sıçanlarda orta serebral arter tıkanması ile oluşan iskemi sayesinde KYD oluşturulan bir çalışmada normoglisemik olan sıçanlarda beklenen DC potansiyel değişikliği gözlenirken hiperglisemik olan sıçanlarda DC potansiyelde anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir (114). İnsulin kullanılarak glukoz derişiminin 3mM'ın altına indirildiği hipoglisemi oluşturulan sıçanlarda ise KYD sırasında hem DC potansiyelin hem de Ca^{+2} akımının süresi uzamaktadır (115). Ayata ve ekibi farklı glukoz seviyeleri ile KYD parametreleri arasındaki ilişkiyi daha ayrıntılı olarak incelemiştir ve hipoglisemik, normoglisemik ve hiperglisemik olan 3 fare grubunu

karşılaştırmıştır. Elektriksel uyarı ile KYD uyarılma eşiği araştırıldığında hipoglisemik olan grupta KYD uyarılma eşiğinin anlamlı olarak azaldığı, hiperglisemik grupta ise KYD uyarılma eşiğinin anlamlı olarak arttığı saptanmıştır. Diğer KYD parametrelerine bakıldığında ise KYD yayılma hızı ve amplitüdü açısından gruplar arasında anlamlı fark saptanmamış ancak ilk KYD'nin süresinin hiperglisemik grupta hipoglisemik gruba göre anlamlı olarak azaldığı, ortalama KYD süresinin ise hipoglisemik grupta anlamlı olarak arttığı bulunmuştur (116).

Yeni doğan farelerin çok beslenen, normal beslenen ve az beslenen gruplar halinde 60 gün boyunca izlendiği bir çalışmada kilo artışı az olan fare grubunun yüksek doz KCl ile indüklenen KYD dalgasının yayılma hızına bakıldığında, KYD'nin en hızlı olarak az beslenen fare grubunda, en yavaş olarak da çok beslenen fare grubunda yayılma hızı gösterdiği bulunmuştur (117, 118). Glikojen depolarının yıkılarak azaltıldığı dokularda, yüksek doz KCl kullanılarak KYD oluşturulduğunda, KYD çok daha hızlı uyarılabilir (119). Yayılma hızını artıran faktörleri araştıran bir kaç araştırmada hipogliseminin yayılma hızını artırdığı, glukozun ise azalttığı da gösterilmiştir (120-122). Hipoglisemi ayrıca KYD yanıt olarak gelişen hiperemiyi azaltıp ve oligemi süresini uzatabilir (123).

Tipik KYD DC potansiyel dalgasını nikotinamid adenin dinükleotit (NADH) miktarındaki değişimlerin takip etmesi de enerji mekanizmalarının etkisini gösterir bir bulgudur. Takano ve arkadaşları KYD dalgasının yayıldığı alan ve etrafındaki 10-30 µm çapındaki alanda NADH floresansında belirgin bir azalma olduğunu, normal fizyolojik aktivite oligemiden bağımsız olarak NADH miktarında % 2-4 civarında bir azalmaya neden olurken KYD sırasında yaklaşık % 19-26 azalma gerçekleştiğini göstermiştir (124).

2.3.3.6. KYD ve Subkortikal Yapılar

KYD ile ilgili önemli bir özellik de oluşan KYD dalgasının sadece kortekse sınırlı olmaması, korteksin yanı sıra amigdala gibi beyin bölgelerini de etkilemesi ve beyindeki birçok nörotransmitter ve reseptör sisteminde dalganın yaklaşık 30 dakika sonrasında bile önemli değişikliklere yol açabilmesidir. Bir çalışmaya göre, KYD sonrasında dentat girus, hipokampus, striatum gibi beyin bölgelerinde AMPA reseptör bağlanması % 30-50 arasında, NMDA reseptör bağlanması % 15-30

arasında, kainat reseptörleri de % 18-34 arasında artış göstermektedir. Gama aminobütirik asit (GABA) reseptörlerinden GABA-B'de ise herhangi bir değişiklik yokken GABA-A reseptörlerinde %11-35 arasında bir değişiklik olmaktadır. Muskarinik reseptörler incelendiğinde ise sadece hipokampusun bazı alt bölgelerinde m1 ve m2 reseptörlerinde artış gözlenmektedir ve bu artış % 30-40 arasındadır. Adrenerjik reseptörlerden hem $\alpha 1$ hem de $\alpha 2$ reseptörlerinin hem temporal korteks hem striatum hem de hipokampusta yaklaşık % 30 artış gösterdiği bulunmuştur. Serotonin 2 reseptörlerindeki artış adrenerjik reseptörlere benzerken serotonin 1 sadece hipokampusta artmaktadır (125). KYD sonrasında fonksiyonel değişiklikler de gözlenmektedir. KYD' den 1 saat sonra somatosensör korteks ile motor korteks arasındaki fonksiyonel bağlantıların hem ipsilateral hem de kontralateral korteks arasında azaldığı gösterilmiştir (126).

Migrenin en önemli tetikleyicilerinden ve kronikleşme sebeplerinden olan stres de migren fizyopatolojisi ile ilişkili mekanizmaları tetikleyebilir, ancak günümüzde bu ilişkiyi aydınlatan bir çalışma mevcut değildir. Ayrıca günümüzde psikolojik stresin etki mekanizmaları hakkında üzerinde durulan ana sistemlerin, KYD patogenezinde incelen sistemler ile doğrudan bağı henüz kurulamamıştır. Aşağıda psikolojik stres ve etki mekanizmaları gözden geçirilerek migren-stres ilişkisine temel oluşturması muhtemel mekanizmalara dikkat çekmeye çalışılacaktır.

2.4. Psikolojik Stres ve Stresin Nörobiyolojisi

Psikolojik stres, insanda bir yakının kaybı, performans kaygısı, doktora sınavı gibi bir çok çevresel etmen ile uyarılabilir ve biliş, hafıza, kardiyovasküler sistem ve bağışıklık gibi bir çok sistemi etkileyebilir (127, 128).

İnsanın günlük yaşamında karşılaştığı psikolojik stres etmenlerinin modellenmesi ve sorgulanması hayli zordur. Kontrol edilemeyen, beklenmedik ve sosyal olarak zorlayıcı stres nedenleri daha yoğun stres yanıtına neden olur (129,130). Ayrıca yaş, cinsiyet, gebelik, alkol ve madde kullanımı, çeşitli ilaçlar, genetik etmenler, önceki yaşam deneyimleri, kişilik özellikleri, algılanan sosyal destek, yaşanan stresin ne olduğu ve birey tarafından nasıl algılandığı insanlar arasında strese çok farklı biyolojik yanıtların gelişmesini sağlar. Bu durum stres yanıtının ölçülmesini zorlaştırır (131, 132). Bu nedenlerle akut ve kronik stresin etki

mekanizmaları hakkındaki bilgilerin büyük çoğunluğu deney hayvanları üzerinde yapılan çalışmalardan elde edilmiştir. İnsandaki olası mekanizmalar hakkında ise majör depresyon ve anksiyete bozuklukları tanıları almış hastalarla yapılan çalışmalardan ya da laboratuvar koşullarında gönüllü insanlar üzerinde uygulanan stres modellerinden bilgi alınmaktadır. Elde edilen bilgiler ile, insanda psikolojik stresin başlıca iki mekanizma üzerinden etki ettiği gösterilmiştir: hipotalamus-pituiter- adrenal bezi eksen (HPA) ve sempatikoadrenal sistem. Aşağıda HPA eksen ve sempatikoadrenal sistem mekanizmaları ile insan ve hayvan çalışmalarında bu yollarda stresle ilişkili gözlenen değişikliklerden bahsedilecektir.

2.4.1. Stres ve Hipotalamus-Pituiter-Adrenal Bezi Eksen

Psikolojik stresin algılanması ile birlikte gerçekleşen ilk basamak hipotalamusun paraventriküler çekirdeğine (PVÇ) uzanan projeksiyonlar aracılığı ile bu bölgeden kortikotropin salıverici hormon (CRH) salgılanmasıdır (33,34). PVÇ, birçok beyin bölgesinden projeksiyonlar alır. Bunlardan en önemlisi iç organların duyusunu alarak içsel stresler sonrasında (çarpıntı, enfeksiyon vb) aktive olabilen beyin sapı katekolaminerjik sisteminden gelen projeksiyonlardır. $\alpha 1$ adrenerjik reseptörleri uyaran noradrenerjik/adrenerjik nükleus traktus solitarius projeksiyonları ve lokus seruleustan kaynaklanan $\alpha 1$ adrenerjik reseptörleri uyaran projeksiyonlar (132) bu bölgeden CRH salınımını sağlayan ana eksitator mekanizmalardır.

Nükleus traktus solitarius, prefrontal korteks, hipokampus, talamus ve amigdala gibi limbik beyin bölgelerinden de projeksiyonlar alır ve dış dünyadan algılanan psikolojik stresin dolaylı olarak PVÇ' yi uyarmasını sağlar (133). Mediyal amigdala, mediyal prefrontal korteks ve ventral subikulum gibi beyin bölgeleri ayrıca stria terminalisin yatak çekirdeğine aferentler gönderir ve bu yolla hipotalamusla bağlantı sağlar (134). Bu limbik bölgeler, strese karşı olan kortikal yanıttan sorumludur ve hipotalamusu uyarak HPA eksenini başlatır.

Salgılanan CRH pituiter bezinin ön lobundan adrenokortikotropin salıverici hormonun (ACTH) sistemik dolaşıma verilmesini sağlar. ACTH, adrenal beze ulaşarak adrenal bezden glukokortikoidlerin (insanlarla kortizol, sıçan ve farelerde kortikosteron) salınımına aracılık eder. Glukokortikoidler, stresin etkisinden sorumlu olan son moleküldür ve pituiter ve hipotalamus üzerine geri beslemede bulunarak

CRH ve ACTH salınımının kontrolünü yapar (135-138). Bu yolla, özellikle hipotalamusta CRH pozitif hücrelerin sayısında belirgin bir azalma oluşmasına yol açar (139). Glukokortikoidlerin vücut üzerindeki son etkisi ise karaciğerde glikojenoliz, proteoliz, lipoliz, bağışıklığın baskılanması, kas ve kemik büyümesinin engellenmesi, sempatik sinir sisteminin uyarılması ile vazokonstriksiyon, üremenin baskılanması ve davranış değişiklikleridir (133, 140, 141). Normal koşullarda kortikoidler, sirkadien bir salınım gösterir ve hipokampusta glukokortikoid reseptörlerine bağlanarak öğrenmeyi kolaylaştırma gibi fizyolojik işlevlerde rol alır (142). Glukokortikoidler ayrıca adrenal medullayı uyararak epinefrin ve norepinefrin salınımını uyarır. Bu mekanizmadan aşağıda daha detaylı olarak bahsedilecektir.

2.4.1.1. Beyin ve Glukokortikoidler

Glukokortikoidler, beyin üzerindeki etkilerini, hücre içine girerek hücre içi mineralokortikoid reseptörleri ve glukokortikoid reseptörleri üzerinden gerçekleştirir. Bu reseptörler normal koşullarda sitozolde serbest olarak bulunur. Glukokortikoidler, reseptörlerine bağlandıklarında, oluşan glukokortikoid-reseptör kompleksi çekirdeğe geçerek gen ifadesini değiştirir ve yeni protein sentezini sağlar. Bu sayede hücreler ve organizmalar için uzun vadeli değişiklikler sağlanır. Son yıllarda bunun yanı sıra, glukokortikoidlerin hücre dışı etkilerle ve gen ifadesini değiştirme dışındaki yollarla hızlı etkiler oluşturarak da davranışı değiştirebildiği gösterilmiştir (143, 144).

Mineralokortikoid reseptörleri özellikle hipokampus gibi limbik beyin bölgelerinde mevcuttur ve kortikosterona yüksek afinite gösterir. Glukokortikoid reseptörleri ise frontal korteks, paraventriküler hipotalamus gibi bölgeler başta olmak üzere beyinde yaygın olarak bulunur ve kortikosterona afinitesi daha düşüktür (133, 144). Yani glukokortikoid reseptörlerinin aktivasyonu, stres gibi glukokortikoid seviyelerinin yüksek seviyelere ulaştığı durumlarda fizyolojik olarak daha çok önem kazanır (144).

Glukokortikoidler protein sentezini artırma dışında beyinde birçok mekanizmada daha rol alır. Örneğin; karaciğerde glikojenolize neden olmaları gibi, beyinde de enerji dengesini değiştirebilirler. Hipokampal astrosit kültürlerine belirli bir süre uygulanan (4 saat) glukokortikoidler, tip 2 glukokortikoid reseptörleri aracılığı ile astrositlere glukoz girişini önleyebilmiştir. Bu bulgu, hipokampusa

özgüldür (145, 146). Hipoksi ya da hipoglisemi gibi fizyolojik olmayan koşullarda glukokortikoidlerin hipokampus üzerine olan bu etkisi oluşan hasarı daha da artırmıştır (147). Bir çalışmada ekzojen kortizol ile plazma kortizol seviyelerinin baskılanması ve adrenal bez ağırlığının azaltılması, hipoksi sonrasında farelerin daha az nöbet geçirmesini sağlamış ve frontal bölgedeki hasarı azaltmıştır (148). Bu bulgular, glukokortikoidlerin beyin enerji dengesini düzenleyerek patolojik koşullar için önemli bir rol üstlenebileceğini düşündürmektedir.

Glukokortikoidler ayrıca beyinde tip 2 glukokortikoid reseptörleri sayesinde beynin uyarılabilirliğini düzenleyebilecek birçok mekanizmayı da etkileyebilir. Voltaj bağımlı Ca^{+2} kanallarının aktivitesinin glukokortikoidlerce artırılabilirdiği (149) ve adrenaletomize olan yani glukokortikoid seviyeleri azaltılmış sıçanlarda voltaj bağımlı Na^{+} kanal akımlarının daha hiperpolarize seviyelerde olma eğilimi gösterdiği bulunmuştur (150).

Glukokortikoidlerin beyin üzerindeki etkisi sadece hücre içi reseptörlerle de sınırlı değildir. Hipokampusta hücre dışı ortamda bulunan, stres seviyesindeki kortikosteronun hücre içi reseptörlere ve glukokortikoid reseptörüne bağlanmadan NMDA reseptörleri üzerinde birkaç dakika içinde inhibitör etki yapabildiği gösterilmiştir (143, 151).

2.4.1.2. Beyin ve CRH

HPA ekseninde glukokortikoidler dışında, kortikal uyarımlarla salgılanan CRH pituitier bezini uyarmak dışında beyin stresle ilişkili diğer bölgelerinin aktivitesini değiştirebilir. CRH'nın CRH-1 ve CRH-2 olmak üzere iki reseptörü vardır ve her ikisi de stimüle edici G proteini (Gs) bağlantılı olarak çalışır. CRH-1, daha çok mediyal septum, pituitier, korteks, serebellum ve olfaktor bulbusta bulunurken, CRH-2 lateral septum, ventromediyal hipotalamus ve koroid pleksusta bulunur (152).

CRH, beyinde norepinefrinin ana kaynağı olan lokus seruleus üzerinde eksitator bir rol oynar (153, 154). CRH'nın lokus seruleus deşarjlarını % 88 artırabildiği gösterilmiştir (155, 156). CRH ile uyarılan lokus serelus da projeksiyonları yolu ile de prefrontal korteks (157), parietal korteks (158) ve hipokampustaki (156, 159) norepinefrin seviyesini 1-2 saat içinde artırır ve bir

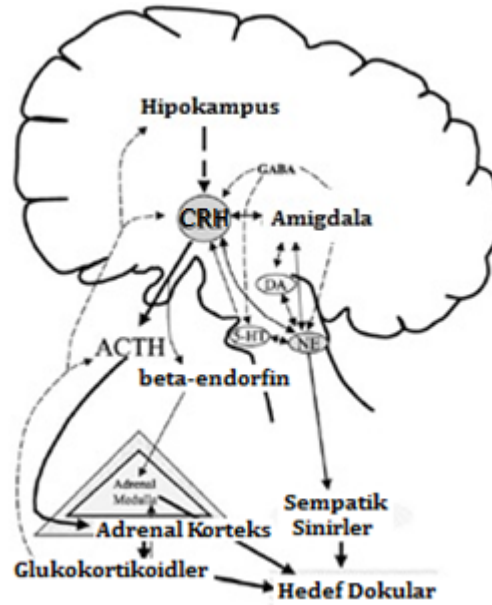
çalışmaya göre bu yükseklik 3 saate kadar sürebilir (160). Lokus seruleus ayrıca hipotalamusta bulunan $\alpha 1$ reseptörleri sayesinde CRH salınımının daha da artmasına neden olur ve bir pozitif geri besleme sistemi oluşturur. CRH, lokus serelus ile hipotalamus arasındaki bu ilişkinin depresyon ve anksiyete bozuklukları gibi hastalıkların patogeneğinde rol aldığı düşünülmektedir (152).

Lokus seruleusun hipokampusu uyarıcı etkisi propranolol gibi bir β adrenerjik reseptör blokörünün 5 mg/kg dozunda subkutan kullanılması ile ortadan kalkmıştır (161). Propranolol ayrıca bu dozda, sıçanlarda CRH ile indüklenebilen savunucu geri çekilme davranışını da normale çevirebilmiştir (162). 0.3 mg/kg klonidin ise benzer bir etki göstermekle birlikte etki büyüklüğü çok daha düşüktür (163).

Ayrıca beyinde serotoninin ana kaynağı olan rafe çekirdeğinde de CRH reseptörleri vardır ve bu reseptörlerin uyarılması, inhibitör bir etki ile bu bölgeden salınan serotoninin azalmasına neden olur (164). Sıçanlara yüzme stresi gibi akut bir stres uygulandığında, rafe çekirdeğindeki serotonin seviyeleri stres ve takip eden 20 dakika boyunca hızlıca azalmış ve tekrar normal seviyelere dönmesi 2 saati bulmuştur. Stres öncesinde intraserebroventriküler (İSV) olarak CRH antagonisti verildiğinde ise bu etki gözlenmemiştir (165). Yani HPA eksenini, CRH ile norepinefrin ve serotonin transmitter sistemlerini de değiştirir ve stresin etkisini ortaya çıkarır.

Lokus seruleus ve rafe çekirdeği dışında amigdala da, HPA ekseninde önemli bir araçtır. 30 dakika süren akut kısıtlayıcı stresten sonra, amigdalada CRH seviyeleri normalin üzerine çıkar ve amigdalaya CRH antagonisti enjekte edilmesi, stresle oluşan davranış değişikliklerini geri çevirebilir (152). Amigdalanın özellikle santral ve medyal çekirdekleri, hipotalamus ve beyin sapına projekte olur ve amigdalanın uyarılması HPA ekseninin aktivitesini artırırken, amigdala lezyonları bu aktiviteyi azaltır (134). Ayrıca amigdala sahip olduğu glukokortikoid reseptörleri sayesinde stres için bir pozitif geri besleme sistemi oluşturur (166).

HPA ekseninin yukarıda belirtilen şekilde çalışması ve hem vücut hem de beyin üzerinde değişikliklere neden olması, insanlardaki bilişsel fonksiyonların daha iyi çalışması gibi fizyolojik işlevler için gereklidir (167). HPA ekseninin şematik olarak gösterimi Şekil 5'te sunulmuştur.



Şekil 5: Hipotalamus-pituiter-adrenal bez ekseninin şematik gösterimi
(Kaynak 33'ten düzenlenerek alıntılanmıştır. 5-HT: 5-hidroksitriptamin, DA: dopamin, NE: norepinefrin)

2.4.1.3. İnsan ve Deney Hayvanlarında Stresin HPA ile İlişkisi

İnsanlardaki akut stresin HPA eksenini ve sempatikoadrenal sistem üzerindeki etkisini modelleyen yöntemlerden en önemlisi 'Trier Sosyal Stres Testi (TSST)' dir. Bu test 1993 yılında Kirschbaum ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir ve 3 aşamadan oluşmaktadır (168). Birinci aşamada katılımcıdan üç kişinin önünde sunabileceği 5 dakikalık bir konuşma hazırlaması istenir, 2. aşamada katılımcının hazırladığı konuşma elinden alınarak belirlenmiş üç kişinin önünde konuşması başlatılır, konuşmanın beş dakika sürmemesi halinde üç kişilik izleyici ekibi tarafından zorlayıcı sorular sorulur ve son aşamada da bu sunumdan bağımsız olarak katılımcıdan 1022'den geriye doğru 13'er 13'er sayması istenir ve her hatada başa dönülür. Stres protokolü tamamlandıktan sonra araştırmacının amacına göre farklı sürelerde katılımcıdan örnek alınarak stresin etkisi incelenir (169). TSST ile akut stres oluşturulduğunda, bireylerin kanındaki norepinefrin seviyesinin (170, 171), kan basıncının ve nabız sayısının hızlı bir şekilde arttığı ve bu parametrelerin stresin sonlanmasından 30-60 dakika sonra normal seviyelerine döndüğü bildirilmiştir. Ayrıca tükürükte ölçülen kortizol seviyesinin stres testinden 20 dakika kadar (171)

sonra yaklaşık iki katına çıktığı ve kortizol seviyelerinin stresten 30 dakika sonra bile stres öncesi koşullara göre yüksekliğini anlamlı olarak koruduğu (172,173), kortizol seviyelerindeki bu yükselmenin iki saat kadar sürebildiği gösterilmiştir (171). Performans gerektiren görevler kullanılarak yapılan diğer çalışmalara göre de, insanda akut stres oluşturulduğunda kan basıncı ve nabız artar, tükrük kortizol düzeyleri ve a-amilaz seviyelerinde benzer bir artış bunu takip eder. Stres hormonlarındaki artış sayesinde anksiyete gelişebilir (174). Ayrıca insanlarda farklı yoğunluktaki stresler kortizol seviyeleri üzerinde de farklılık gösterebilir (175).

Normal koşullarda vücut stres anında homeostazını korumak amacı ile geri besleme mekanizmalarını devreye sokarak stresin etkisini azaltır. Örneğin bir çalışmada beş gün süresince TSST uygulandığında, stresin ikinci gününde birinci güne göre anlamlı olarak daha düşük kortizol seviyeleri gözlenmiş ve beşinci günde bu artış en düşük olmuştur. Yani aynı stresin tekrarlandığı durumlarda stres yanıtı azalabilmektedir (176).

Vücudun homeostazını korumak amacı ile oluşturduğu akut stres yanıtı, stres beklenenden uzun sürdüğünde, şiddetli olduğunda ya da beklenmedik bir şekilde tekrarlandığında patolojik olabilir (177). Kronik strese maruz kalmış olan kişilerde akut stres, norepinefrin ve kortizol seviyelerinde akut strese maruz kalmış hastalara göre çok daha yüksek bir artışa neden olabilmektedir (178). Kronik hafif strese maruz kalmadan sonra akut stres oluşturulduğunda ise kortizol seviyesinde benzer yükselmenin olmadığı (179) ve uzayan stres durumlarında HPA ekseninde geçici bir baskılanma olduğu, ACTH'ya kortizol yanıtının azaldığı gösterilmiştir (180).

Fareler kronik strese yanıt olarak kilo kaybeder ya da kontrol grubu kadar kilo alamazlar (181). Hayvanlar üzerinde yürütülen çalışmalar, kronik stres durumunda HPA eksenini üzerindeki negatif geri besleme sisteminin bozulduğunu, kortizol seviyelerinin sürekli yüksek kaldığını, CRH reseptör sayılarında azalma olduğunu ve önemli bir adaptasyon mekanizması olarak adrenal bezlerinin hipertrofiye uğradığını göstermektedir (182). Sıçanlara kronik stres uygulanan bir çalışmaya göre 120 dakika kısıtlayıcı stres uygulamasından hemen sonra adrenal kortikosteron seviyeleri 4-6 kat artabilir ve 7 gün boyunca 120 dakika kısıtlayıcı stres uygulanması ile bu etkide bir azalma görülmez. Kronik stresin sonlandırılmasından

24 saat bile kortikosteron seviyeleri yüksek seyretmeye devam eder ve hızlı bir şekilde kana salınır (183).

İnsanlarda ise kronik stresi modellemek, hayvanlardaki kadar kolay değildir. Kronik stres insanda majör depresyon ve anksiyete bozuklukları gibi hastalıklara yol açabilir. Yaşanan stresli olaylar, bazı olgularda güçlü ve anlamlı bir şekilde majör depresyon başlangıcı ile ilişkilidir (184). Bu nedenle insanda kronik stresin etkisini anlamak için depresyon ya da anksiyete bozukluğu tanısı almış hastalar üzerinde yapılan çalışmalardan yararlanılmaktadır.

Majör depresyon tanısı almış olan hastalarda hastalığın etiyopatogenezinde HPA ekseninin olduğunu destekleyen bir çok kanıt mevcuttur (182-189). Bu hastaların hipotalamustaki paraventricüler çekirdeğinde artmış CRH mRNA'sı ve artmış CRH nöron sayısı, beyin omurilik sıvılarında artmış CRH miktarı mevcuttur (185,186). Kanlarında artmış kortizol seviyeleri olması ve CRH reseptörlerinin duyarsızlaşması nedeni ile artmış CRH salınımına düşük ACTH yanıtı gözlenir. Ayrıca artmış kortizol seviyelerine de azalmış reseptör yanıtı mevcuttur. Adrenal ve pitüiter bezlerinde de anlamlı bir büyüme vardır (185,186). Bu hastaların yaklaşık % 50'sinde glukokortikoidlerin diurnal salınımı bozulmuştur ve yaklaşık 24 saat yüksek seyreden kan kortizol seviyeleri saptanır (182). Artmış glukokortikoid aktivitesi, beyin üzerinde toksik bir etki göstererek, özellikle hipokampusun CA3 bölgesinde dendritik dallanmayı azaltır, dolayısıyla hipokampus, anterior singulat, vb. beyin bölgelerinde bildirilen hacim kayıplarından sorumlu olabilir (187,188). Tedavi ile klinik iyileşmenin sağlanması, hastalardaki bu anormalliği düzeltebilir (188). Benzer bir şekilde adrenokortikal aktivitenin arttığı Cushing hastaları, atipik depresyona yatkındır, bu da hiperkortizoleminin depresyona neden olabileceğinin bir kanıtı olarak gösterilmektedir (189). Ayrıca ekzojen glukokortikoid tedavileri ile depresyon gelişebilmekte, kortizol üretimini engelleyen ya da glukokortikoid reseptörlerini antagonize eden mifepriston gibi ajanların kullanımı ile insanda depresyon tedavi edilebilmektedir (186).

Yazında bunun tersi bulgular da mevcuttur. Çocukluk çağı travmaları gibi geçmiş kronik stres yaşamları farklı bir etki göstermektedir. Çocukluk çağı travma ölçeğinden yüksek puan almış kişilerin, düşük puan almış kişilerle karşılaştırıldığı 101 kişinin katıldığı bir çalışmada TSST' ye yanıt olarak kortizol seviyelerinin

beklenen şekilde artmadığı ve kortizol yanıtının azaldığı gösterilmiştir (190). Daha önce hiç psikiyatrik tedavi görmemiş, ancak geçmişinde bir ya da daha çok kez depresyon öyküsü olan hastalarda stresli bir günden sonra, kontrol grubuna benzer şekilde kortizol yanıtı olmazken anksiyete bozukluğu tanısı almış hastalarda anlamlı olarak daha yüksek kortizol yanıtı görülmektedir (191).

2.4.2. Stres ve Sempatik-Adrenokortikal Sistem

İlk kez 1910'lu yıllarda Cannon ve arkadaşlarının stresin etkileri konusunda yaptıkları çalışmalarla sempatik-adrenokortikal sistemin stresle ilişkisi gösterilmiştir. Bu araştırmacılar, ilk kez korkutucu bir köpek ile karşılaşan kedilerde inferior vena kavadan alınan kanda ve intestinal sistemde adrenalin seviyelerinde belirgin bir artış olduğunu, adrenalektomi yapılan kedilerde ise bu etkinin gözlenmediğini bulmuştur. İnsanlar üzerinde yapılan takip eden çalışmalar da agresyon içeren veya endişe uyarıcı filmler izlendikten ya da fotoğraflara baktıktan sonra idrarda epinefrin ve norepinefrin atılım miktarının arttığını göstermiştir. Final sınavı gibi yoğun stres oluşturan olaylardan hemen sonra da idrarda özellikle epinefrin miktarı artmış ve bu artış algılanan stres düzeyi ile ilişkili çıkmıştır (192).

Psikolojik stres ile hipotalamusun uyarılması beyin sapı retiküler formasyonu üzerinden bir çok sempatik mekanizmayı adrenal bezin medulla kısmını uyarır (193,194). Ayrıca HPA ekseninin aktivasyonu ile salgılanan glukokortikoidler, adrenal medullada epinefrin salınımından sorumlu olan feniletanolamin-N-metil transferazı (PNMT) uyarır (105). Kedilerde gözlemlendiği şekilde adrenal medullanın uyarılması, % 80 kadarı epinefrin ve % 20 kadarı norepinefrin olan adrenal katekolaminlerin kana salınmasını sağlar. Bu iki katekolamin, vücut metabolizmasının yaklaşık iki kat artmasını, kan basıncının artmasını, glikolizin uyarılması ile kan glukoz seviyesinin artmasını, kas gücünün artmasını, mental aktivitenin artmasını ve dolayısı ile psikolojik bir stres ile karşıladığında gerçekleşen sempatik stres yanıtını oluşturur (194).

Katekolaminlerin periferik etkilerinden çoğunlukla epinefrin sorumludur ancak epinefrin kan beyin bariyerini geçerek beyin üzerinde de aynı etkiyi doğrudan gösteremez. Epinefrin, medulla oblongatada nükleus solitari'yi uyarır ve bu yolla amigdala gibi beyin bölgelerinde norepinefrin artışını sağlar. Epinefrinin bu

etkisine vagus siniri aracılık eder (196-198). Artan epinefrin seviyeleri, vagus sinirini uyarak vagusun beyne projekte olan hücrelerinden norepinefrin salınmasını ve böylece beyinde de stres ilişkili değişikliklerin görülmesini sağlar (197). Örneğin, vagus amigdalaya projekte olarak burada norepinefrin seviyelerini artırabilir ve fizyolojik koşullarda hafıza oluşumuna katkıda bulunabilir (197). Bunun dışında lokus seruleus da beyin için norepinefrinin kaynağı olarak görev yapar ve stres ve endişeye bilişsel ve duygusal yanıtı düzenler (199). Lokus seruleusun CRH tarafından kontrolü yukarıda detaylı olarak anlatılmıştır.

Katekolaminler lokus seruleus ya da adrenal medulladan salındıktan sonra özgül reseptörlerine bağlanarak hücre içi olayları etkiler. Adrenerjik reseptörler, α_1 , α_2 , β_1 , β_2 ve β_3 'dür. β reseptörleri Gs üzerinden adenilat siklazı aktive eder. α_1 düzenleyici G proteini (Gq) üzerinden fosfolipaz c'yi uyarır. α_2 inhibitör G proteini (Gi) üzerinden adenilat siklaz aktivitesini azaltır ve α_2 reseptörleri genellikle presinaptik bölgede bulunur ve bir otoresptör işlevi görerek norepinefrin salınımını azaltır (200).

Bir α_2 reseptör antagonisti olan yohimbin, beyinde norepinefrin seviyelerini belirgin olarak artırır (201). Kişilerde daha fazla endişe duyulmasına ve endişe ilişkili çarpıntı, titreme, kan basıncında artma gibi bedensel değişikliklerin daha da yoğun hissedilmesine neden olur (202). Ayrıca panik bozukluk hastalarına yohimbin intravenöz olarak verildiğinde hastaların yarısından çoğunda panik atak tetiklenir. α_2 reseptör agonisti olan klonidin ise norepinefrin yıkım ürünü olan 3-metoksi-4-hidrofenilglikol plazma seviyelerini düşürür ve endişe yanıtını azaltır (203).

Stres gibi yoğun hücre aktivitesi olan durumlarda katekolaminler hızlı bir şekilde hücre dışında salınır. Bu azalmayı yerine koyabilmek için hücreler hızlı bir şekilde katekolaminleri sentezlemeye çalışır (182,203). Katekolamin sentezinde özellikle tirozin hidroksilaz, dopamin β hidroksilaz ve PNMT enzimleri hız kısıtlayıcı olarak rol alır (200). Sıçanlarda 5 dakika süren tek bir kısıtlayıcı stres uygulanması bile, glukokortikoidler üzerinden PNMT enzim aktivitesini hızlı bir şekilde artırır (195,204). Sentez için hız kısıtlayıcı rol alan tirozin hidroksilaz gibi diğer enzimlerin sentezi de hızlı bir şekilde hem lokus seruleusta hem de adrenal medullada artar. 7 gün tekrarlayan stres durumlarında enzim aktiviteleri tek bir sefer uygulanan kısıtlayıcı strese göre 2-3 kat daha yükselir ve son stres uygulandıktan 7

gün sonra bile enzim aktivitelerindeki bu yükseklik devam eder (205,206). Maymunlarda da sosyal ayırma stresi uygulandığında akut uygulamada, kan norepinefrin seviyeleri 5-6 kat artar ve stres 2 hafta sürdüğünde bile norepinefrin seviyeleri kontrollere göre 1-2 kat daha yüksek seyrederek (207). Strese yanıt olarak lokus seruleus, amigdala, hipokampus ve hipotalamusta da norepinefrin devir hızı artmıştır (199). Fakat beyindeki noradrenerjik aksonlarda belirgin bir dejenerasyon gözlenir (208,209). Böylece kronik stres durumlarında kardiyolojik hastalıklara ya da psikiyatrik hastalıklara zemin hazırlanır (204).

Major depresyon ya da anksiyete bozukluğu tanısı almış olan hastalarda ise norepinefrin sistemi deney hayvanları üzerinde yapılan çalışmalar ile farklı sonuçlar göstermektedir. Goddard ve arkadaşlarının yazdığı bir derlemeye göre depresyon tanısı almış ya da intihar nedeni ile hayatını kaybetmiş kişilerin ölüm sonrası incelemelerinde lokus seruleusta norepinefrin taşıyıcı bağlanması azalmıştır. α_2 reseptörler dansiteleri özellikle prefrontal kortekste artmıştır ancak reseptör duyarlılıkları azalmıştır (199). İntihar eden hastaların hipotalamusunda norepinefrin seviyeleri ve hipotalamus ve prefrontal kortekste β_2 reseptör duyarlılığı artmıştır (185). Goddard'a göre norepinefrin sistemindeki değişiklikler şöyle bir sıra izlemektedir: Kronik stres, norepinefrin ve lokus seruleus aktivitesini artırır, beta ve α_2 reseptörleri azaltır. Ancak stres daha da uzayıp patolojiye neden olduğunda norepinefrin ve lokus seruleus aktivitesi azalmıştır, α_2 reseptörleri artmıştır ve dengenin tekrar sağlanması için norepinefrin geri alım önleyicilerinin kullanılması gerekir (Detaylı bir derleme için kaynak 199'dan yararlanılabilir).

Tanı major depresyon ya da anksiyete bozukluğu bile olsa aynı tanı grubuna giren ancak farklı belirti kümeleri olan hastalarda farklı sonuçlar elde edilebilmektedir. Görülen moleküler değişiklik ne olursa olsun anksiyete bozuklukları ya da major depresyonun norepinefrin sistemi ile ilişkisi hakkında bilgi veren önemli bir kaynak da bu hastalıkların tedavisinde norepinefrin geri alımını engelleme etkisi de olan trisiklik antidepressanlar gibi ilaçların sık kullanılması ve klinikte fayda sağlamasıdır. Norepinefrin geri alımını önleyen ilaçlar bu hastalarda hücre dışı norepinefrin seviyelerinde anlamlı bir yükselme ve bu sayede afektif ve bilişsel bir iyileşme sağlar (210).

Sonuç olarak mevcut yazın bilgileri incelendiğinde şunlar söylenebilir:

1. Migren, toplumda sık görülen ve hastaların yaşam kalitesini azaltan bir hastalıktır.
2. Migren sıklıkla major depresyon ve anksiyete bozuklukları gibi kronik stresle ilişkili hastalıklarla eş tanı alabilmektedir. Ayrıca akut stres, migren ağrısını başlatabilen, ağrı sıklığını artırabilen ve ağrının kronikleşmesini sağlayan bir etmendir.
3. Migren aurası, insanda kortikal yayılan depresyon dalgası ile ilişkilidir.
4. Psikolojik stres insanda HPA eksenini ve sempatikoadrenal sistem ile ilişkilidir.

Migren ve psikolojik stres, beyinde benzer mekanizmalarla ilişkili olabilir. Bu bilgiler ışığında, migren ile psikolojik stresin ilişkisi ve olası mekanizmalarının aydınlatılması amacı ile bu çalışma planlanmıştır. Kronik ve akut stresin, migren ağrısını başlatıcı ve kronikleştirici etkisinin kortikal yayılan depresyon uyarılma eşiğini düşürerek gerçekleştirdiği hipotezinden yola çıkılan bu tez çalışmasında psikolojik stres ile kortikal yayılan depresyon ilişkisi üç aşamada incelenmiştir:

- Birinci aşamada etkin bir kronik stres modelinin oluşturulması ve kronik stresin kortikal yayılan depresyon eşiği üzerine etkisinin gösterilmesi hedeflenmiştir. Geçerli bir kronik stres modeli oluşturabilmek amacı ile kronik stres-1 grubu oluşturulmuştur. Bu grubun etkinliği, ağırlık değişimi, adrenal bez ağırlığı ve KYD uyarılma eşiği tespit edilerek incelenmiştir. Kronik stres-1 grubunun beklenen stres etkisini oluşturmaması üzerine kronik stres-2 grubu geliştirilmiştir. Kronik stresin oluşturduğu stres yanıtı ve KYD uyarılma eşiği etkisi tespit edildikten sonra ikinci aşamaya geçilmiştir.

- İkinci aşamada hem akut hem kronik stres paradigmalarının kortikal yayılan depresyon parametreleri üzerine etkisinin gösterilmesi amaçlanmıştır. Akut stres paradigması geliştirilmiş, akut stresin KYD üzerine etkileri, akut stresten hemen sonra ve akut stresten 24 saat sonra incelenmiştir. Ayrıca etkin olduğu gösterilen kronik stres-2 grubu ve akut stres gruplarının eşik dışındaki KYD parametreleri de kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır.

- Üçüncü aşamada ise stresle kortikal yayılan depresyon eşiği ilişkisinin olası mekanizmalarının incelenmesi amaçlanmıştır. Oluşturulan akut stres modeli

üzerinden, psikolojik stresin KYD üzerine olan etkisinin olası mekanizmaları, bazı farmakolojik ajanlar kullanılarak araştırılmıştır.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları ve Barınma Koşulları

Bu araştırma, Hacettepe Üniversitesi Nörolojik Bilimler ve Psikiyatri Enstitüsü Beyin Araştırmaları Laboratuvarı'nda yapılmıştır. Çalışmada, ağırlığı 28-32 gram arasında olan Swiss Albino erkek fareler kullanılmıştır. Fareler, Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Serum Üretim Çiftliği'nden temin edilmiştir.

Fareler laboratuvara ulaştıktan sonra, beşli gruplar halinde kafeslenmiş ve bir hafta süre ile bekletilerek yeni barınma koşullarına alışmaları sağlanmıştır. Farelerin bulunduğu dolapta cerrahi uygulanmış fare ve sıçan gibi stres oluşturabilecek başka hayvanların bulunmamasına dikkat edilmiştir. Saldırgan olan farelerin tespit edilmesi halinde bu fareler deney grubundan ayrılarak ayrı bir kafese alınmış ve çalışma dışı bırakılmıştır. Farelerin iyilik hali, haftada en az iki kez tüylerinin durumu ve aktivite seviyeleri incelenerek değerlendirilmiştir.

Barınak koşullarında, 12 saat aydınlık – 12 saat karanlık döngüsü (Aydınlık-karanlık döngüsü 08:00' de değişmektedir.), 22 ± 1^0 C sıcaklık, % 30-55 nem oranı ve su ile yiyeceğe sınırsız ulaşım sağlanmıştır. Haftada bir kez talaş değişimi yapılmış ve kafesler temizlenmiştir.

Fareler üzerinde uygulanan tüm deney paradigmaları Hacettepe Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu tarafından 22.10.2009 tarih ve 2009/44 dosya numarası ile onaylanmıştır.

3.2. Stres Etkisini Test Etmek Amacı ile Oluşturulan Deney Grupları

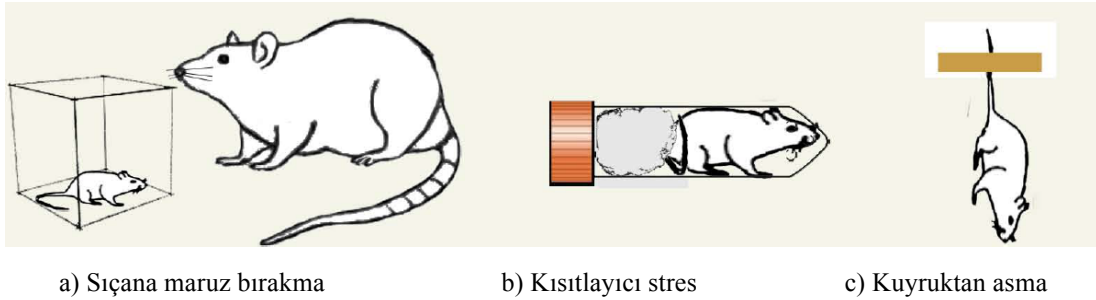
3.2.1. Kontrol grubu

Kontrol grubu hiç bir strese maruz bırakılmamıştır. Haftada bir talaşları değiştirilmiş ve haftada bir tartılarak ağırlık değişimleri izlenmiştir.

3.2.2. Kronik stres-1 grubu

Bu tez çalışmasının birinci aşamasında etkin bir kronik stres modeli oluşturulması amaçlanmış ve stresin etkisi yöntem 3.3 ve 3.4'te belirtildiği şekilde test edilmiştir. Kronik stres modeli olarak, bu çalışmanın yürütüldüğü sırada, KYD

uyarılma eşiğini düşürdüğü bildirmiş olan bir kronik stres paradigması temel alınmıştır (211). Bu kronik stres modeli, sıçana maruz bırakma, kısıtlayıcı stres ve kuyruktan asma stresörlerinin dönüşümlü olarak uygulanmasını içermektedir. Şekil 6'da kullanılan stres paradigmaları şematik olarak gösterilmiştir (Şekil 6).



Şekil 6. Kronik stres modelinde kullanılan stres paradigmalarının şematik gösterimi

KYD uyarılma eşiğinin kronik stresle azaldığını gösteren Balkaya ve arkadaşlarının çalışmasında kronik stres, 1-7. günler ve 15-21. günler arasında sıçana maruz bırakma, 8-10. günler ve 22-25. günler arasında kısıtlayıcı stres ve 11-14. günler ile 26-28. günlerde kuyruktan asma stresörleri kullanarak uygulanmıştır (211). Strekalova ve arkadaşları tarafından kullanılan benzer bir stres modelinde de (212-213) 1-7. günler ve 11-17. günler arasında sıçana maruz bırakma, 8-10. günler ve 23-25. günler arasında kısıtlayıcı stres ve 18-22. günler ile 26-28. günlerde kuyruktan asma uygulanmıştır. Sıçana maruz bırakma için fareler 15 saat boyunca üzerinde delikler olan küçük bir kafes içinde sıçan kafesine yerleştirilmiştir. Kısıtlayıcı stres için fareler 2 saat süresince iç çapı 26 mm olan plastik tüplere konulmuş, kuyruktan asma için farelere 6 dakika kuyruktan asma uygulanmıştır.

Beyin Araştırmaları Laboratuvarında kullanılan fare kafeslerinin sıçan kafesinin içine sığmaması, tüm deney gruplarının deneylerinin aynı zamanda yapılabilmesi için yeterli alanın olmaması gibi kısıtlılıklar nedeni ile sıçana maruz bırakma ve kısıtlayıcı stres süreleri mevcut yazın ışığında değiştirilerek Balkaya (211) ve Strekalova (212, 213) tarafından kullanılan modeller laboratuvar koşullarına adapte edilmiştir. Aşağıda kronik stres modelinde dönüşümlü olarak kullanılan 3 stresör açıklanmıştır.

3.2.2.1. Sıçana maruz bırakma

Bu stres paradigmasının etkinliğini belirleyen iki önemli unsur, maruz bırakma süresi ve maruz bırakma sırasında sıçan ile farenin birbirine temas düzeyidir.

Kortikosteron ve serotonin düzeyleri üzerine olan etkileri ve hayvan davranışlarını stres etkisi ile değiştirebilen en kısa süre olması nedeni ile bu tez çalışmasında sıçana maruz bırakma süresi olarak 30 dakika seçilmiştir (214-221). 1-7. günler ve 15-21. günler arasında kronik stres-1 grubuna 30 dakika süre ile 15x10x10 cm boyutlara sahip pleksiglas kafes içinde sıçana maruz bırakma uygulanmıştır.

3.2.2.2. Kısıtlayıcı Stres

Kısıtlayıcı stresin oluşturacağı stres tepkisinin en önemli belirleyicilerinden biri de yine kısıtlama süresidir (222-228). Kısıtlayıcı stresin 2 saat ve üzerinde kronik uygulanmasının, hayvan modellerinde kronik stresin önemli bir belirteci olan hipokampusun CA3 bölgesinde dendritik atrofiyi sağlayabilmesi göz önüne alınarak kısıtlayıcı stresin 50 ml'lik falkon tüp içinde 2 saat uygulanmasına karar verilmiştir.

3.2.2.3. Kuyruktan Asma

Bu stres paradigması yazındaki stres deneylerinde 6 dakika süre ile uygulandığından süresi değiştirilmemiştir (229). Sonuç olarak kronik stres 1 grubuna:

- 1-7. günler ve 15-21. günler arasında 30 dakika süre ile 15x10x10 cm boyutlarındaki kafes içinde sıçana maruz bırakma,
- 8-10. günler ve 22-25. günler arasında 2 saat süre ile 50 ml. lik falkon tüpü içinde kısıtlayıcı stres,
- 11-14. günler ve 26-28. günler arasında 6 dakika süre ile kuyruktan asma uygulanmıştır.

3.2.3. Kronik stres-2 grubu

Yapılan analizlerde kronik stres-1 grubunda beklenen stres etkilerinin görülmemesi üzerine tezin birinci aşamasında kronik stres-2 grubunda sıçana maruz bırakma süresi, 1 saate uzatılmıştır. Ayrıca fare ile sıçanın daha yakın temas kurabilmesini sağlayan kronik stres-1 grubunda kullanılan 15x10x10 cm boyutlarındaki kafes yerine 7.5x8.5x7 cm boyutlarındaki kafes içinde fare sıçana maruz bırakılmıştır. Sonuç olarak kronik stres-2 grubuna,

1-7. günler ve 15-21. günler arasında 60 dakika süre ile 7.5x8.5x7 cm boyutlarındaki kafes içinde sıçana maruz bırakma,

8-10. günler ve 22-25. günler arasında 2 saat süre ile 50 ml. lik falkon tüpü içinde kısıtlayıcı stres,

11-14. günler ve 26-28. günler arasında 6 dakika süre ile kuyruktan asma uygulanmıştır.

3.2.4. Akut stres grubu

Akut stres, farelerin 60 dakika süre ile 50 ml'lik falkon tüpü içine konarak kısıtlanması ve aynı anda falkon tüpünün sıçan kafesine konması şeklinde uygulanmıştır. Tek başına 60 dakika süren kısıtlayıcı stres bile, norepinefrin ve kortikosteron seviyelerini anlamlı olarak yükseltebilmektedir (222, 230). Bu model, uygulanan kronik stres modeline en yakın akut stres modelini oluşturabilmek için seçilmiştir.

3.2.5. Akut stres-24. saat grubu

Giriş bölümünde de belirtildiği üzere akut stres sırasında vücutta salınan bazı hormon ve nörotransmitterlerin etkileri stres sonlandıktan sonra da devam etmektedir ya da bazıları sadece akut stres sırasında hızlıca artıp 30 dakika içinde normal seviyelerine dönebilmektedir. Bu mekanizmaların anlaşılabilmesi için akut stres sonrası 24. saat grubu oluşturulmuştur. Akut stres, farelerin 60 dakika süre ile 50 ml'lik falkon tüpü içine konarak kısıtlanması ve aynı anda falkon tüpünün sıçan kafesine konması şeklinde uygulanmıştır. Elektrofizyolojik kayıtlar 24 saat sonra alınmıştır.

İkinci aşamada karşılaştırılan grupların deney süresince şematik bir gösterimi Tablo 2' de sunulmuştur.

Tablo 2. Psikolojik stres ile kortikal yayılan depresyon ilişkisini incelemek amacı ile oluşturulan grupların izlem çizelgesi

Deney Grubu / Gün	1	7	10	14	21	25	28	29
Kontrol								EFK
Kronik Stres	SM	Kıs.S.	KA	SM	Kıs.S.	KA		EFK
Akut Stres								AS +EFK
Akut stres- 24. saat							AS	EFK

SM: Sıçana maruz bırakma, Kıs.S.: Kısıtlayıcı stres, KA: Kuyruktan Asma, AS: Akut stres, EFK: Elektrofizyolojik kayıt

3.3. Kronik Stres Paradigmalarının Geçerliliğinin Test Edilmesi

Birinci aşamada, kronik stres-1 ve kronik stres-2 paradigmalarının geçerliliği, ağırlık değişimi, adrenal bez ağırlığı ve KYD uyarılma eşiği (bkz. Yöntem 3.4) ölçülerek kontrol grubuyla karşılaştırılmıştır.

3.3.1. Ağırlık Değişimi Takibi

Ağırlık değişimi kronik stresin etkisinin izlenmesi için sık kullanılan bir yoldur (231-233). Ağırlık değişimi takibi için fareler 0, 7, 14, 21 ve 28. günlerde tartılmıştır.

3.3.2. Adrenal Bez Ağırlığının Tayini

KYD uyarılma eşiği ve diğer parametreler 29. günde saptandıktan sonra adrenal bezler iki taraflı olarak çıkarılmış ve çevre yağ dokudan temizlenerek tartılmıştır (231-234). Adrenal ağırlığına göre kronik stresin etkisini daha iyi modellediği düşünülen göreceli adrenal ağırlığı, adrenal bez ağırlığı (mgr)/ fare vücut ağırlığı (gr) formülü ile hesaplanmıştır (232, 235, 236).

3.4. Elektrofizyolojik Kayıtlar ve KYD

3.4.1. Anestezi ve Vital Bulguların Takibi

Cerrahi öncesinde ksilazin (10 mg/kg, Alfazyne, %2, Alfasan, Hollanda) ve üretan (1.25 g/kg, Sigma) ile anestezi sağlanmıştır. Yeterli anestezi sağlandıktan sonra fareler yüz üstü pozisyonda dış kulak yollarından ve burunlarından sabitlenecek şekilde bir stereotaksik çerçeveye (Digital Lab Standard Stereotaxic Frame, Stoelting, Amerika Birleşik Devletleri) yerleştirilmiştir.

Deney esnasında sürekli olarak kalp atım sayısı ve kan oksijen saturasyonu puls oksimetre ile (V3304 Digital Table-Top Pulse Oximeter, SurgiVet, Amerika Birleşik Devletleri) monitorize edilerek hipoksi engellenmiştir. Çerçeveye yerleştirme, cerrahi işlemler ve KYD kayıtları sırasında 2 L/dk oksijen desteği sağlanmış ve farenin kendiliğinden solunumu devam eder vaziyette takip edilmiştir. Farelere rektal bir prob yerleştirilerek homeotermik battaniye yardımı (Harvard Apparatus Limited, İngiltere) ile vücut sıcaklığının 37.0-37.1 °C olması sağlanmıştır. Belirli aralıklarla kuyruk sıkıştırma ve göz kırpma refleksi kontrol edilerek anestezi derinliği takip edilmiştir.

3.4.2. Cerrahi İşlemler ve KYD Uyarılma Eşiğinin Tespiti

Cerrahi işlemler için stereotaksi çerçevesine yerleştirilmiş olan fare kafatası üzerindeki deri kaldırılmıştır. Sağ frontal, parietal ve oksipital kemik açığa çıkarılmıştır. Öncelikle sağ parietal kemik yüksek hızlı drill (Fine Science Tools, Amerika Birleşik Devletleri) vasıtası ile inceltilmiştir. Drilleme sırasında sık sık izotonik sodyum klorür kullanılarak inceltile kemik bölgesi ıslatılmış ve drill etkisine bağlı olarak inceltile kemiğin altında bulunan beyin bölgesinin ısınması önlenmiştir. Dural damarların yeterli belirginlikte görülebilmesi sağlanana kadar inceltmeye devam edilmiştir.

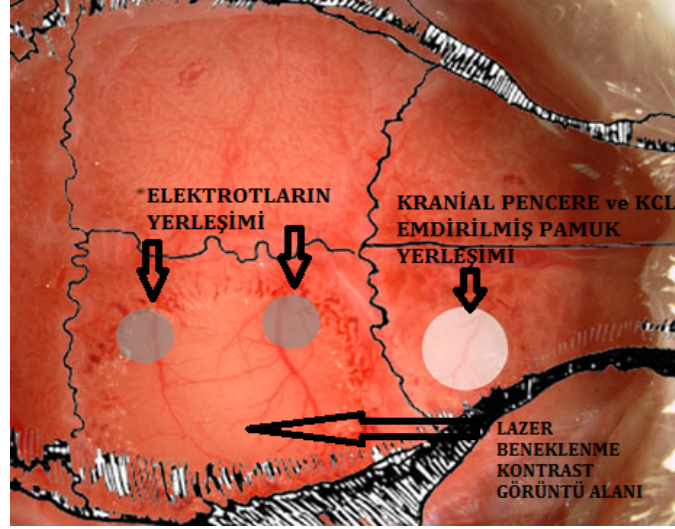
Parietal kemiğin medyaline DC potansiyelleri kayıt edebilmek amacı ile iki Ag-AgCl elektrot (Warner Instruments, Amerika Birleşik Devletleri) yerleştirilmiştir. Elektrot uçlarına jel sürülerek iletim artırılmıştır. Boyun kasları arasına bir gümüş toprak elektrot yerleştirilmiştir. Her iki elektrot ile toprak elektrotu arasındaki DC potansiyel farkı (mV) ve farelerin nabız sayısı (/dak) ve doku oksijen

saturasyonları (%) Lab Chart (AD Instruments, Amerika Birleşik Devletleri) programı ile kayıt edilmiştir.

Parietal bölgede elektrotların lateralinde inceltilen kemik bölgesine görüntü kalitesini artırmak amacı ile immersiyon yağı sürülmüş ve bu alandan lazer beneklenme kontrast görüntüleme (LBKG) ile (bkz. yöntem 3.4.4.) görüntü alınmıştır.

Frontal bölgede ise bregmanın 1 mm anterior ve 1 mm lateralinde yüksek hızlı drill aracılığı ile kemik kenarları 2.5 mm çapında bir daire şeklinde inceltildikten sonra laminektomi forsepsi ile kemik kaldırılmış ve bir kranial pencere oluşturulmuştur. Kemiği kaldırma sırasında kanama olmaması ve duranın zarar görmemesi sağlanmıştır.

KYD uyarılma eşiği farelerde elektriksel uyarı yolu ile ya da farklı potasyum klorür (KCl) derişimleri kullanılarak saptanabilir (237). Laboratuvarımızda yürüttüğümüz araştırmalarda elektriksel olarak KYD'nin uyarılması durumunda teknik farklılıklara bağlı olarak KYD uyarılma eşiğinin kontrol grubunda bile geniş bir aralıkta dağılım gösterdiği bulunmuştur. Farklı KCl derişimleri kullanılarak KYD uyarılma eşiği saptandığında ise kontrol grubunda çok daha dar bir değişkenlik saptanmıştır. Bu nedenle kimyasal uyarı yönteminin kullanılmasına karar verilmiştir. Açılan kranial pencerede duranın üzerine sırası ile 0.05, 0.075, 0.1, 0.125 ve 0.15 M derişimlerindeki KCl'nin emdirildiği eşit büyüklükte pamuk topları konmuştur. Dura her derişime 5 dakika ara ile maruz bırakılarak KYD uyarılma eşiği saptanmıştır. Fare kafatası üzerindeki cerrahi işlem bölgeleri Şekil 7' de sunulmuştur.



Şekil 7. Elektrofizyolojik kayıt sırasında elektrotların, uyarılma oluşturmak için kullanılan pamuğun ve serebral kan akımının tespiti için lazer beneklenme kontrast görüntüleme için odaklanılan alanın fare kafası üzerinde yerleşimi

3.4.3. Diğer KYD Parametrelerinin Ölçümü

Eşik saptandıktan sonra pamuk kaldırılarak 10 dakika beklenmiştir. Bu sürede, KYD sonrasında oluşacak olan refraktör periyodun geçmesi ve uyarıyı oluşturan KCl derişiminin başka bir KYD dalgası oluşturmadığının görülmesi amaçlanmaktadır.

10 dakikanın sonunda 0.5 M KCl emdirilmiş pamuk kranial pencere üzerine konulmuş ve 60 dakika süre ile 15 dakikada bir 10 µl 0.5 M KCl ile ıslatılarak DC potansiyel kayıtlarına devam edilmiştir. Bu yolla şu KYD parametrelerinin saptanması amaçlanmıştır:

3.4.3.1. KYD Frekansı (sayı/60 dakika)

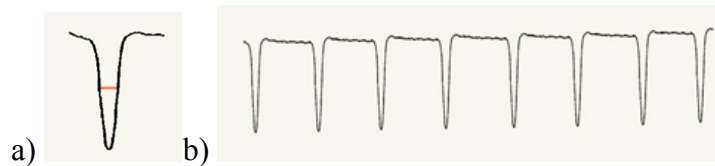
KYD frekansı, yüksek dozlarda KCl derişimi uygulanarak 60 dakika süre içinde gözlenen KYD sayısını ifade eder. KYD frekansını da beynin uyarılabilirliğinin ve migrene yatkınlığının bir göstergesi olarak kabul eden araştırmacılar da vardır (237). DC potansiyelde düşük amplitüdlü kaymalar lazer speckle kontrast görüntüleme ile teyit edilmedikçe KYD dalgası olarak kabul edilmemiştir. 1 saat boyunca belirli bir amplitüdün üzerinde olduğu görülen KYD dalga sayısı frekans olarak sayılmıştır (sayı/60 dakika).

3.4.3.2. KYD Yayılma Hızı

Birinci ve ikinci elektrot arasındaki mesafenin KYD dalgalarının başlangıç zamanları arasındaki farka bölünmesi ile hesaplanmıştır. Doğru bir hesaplama yapılabilmesi için yapılan her deneyden sonra mikroskop altında o deneyde kullanılan elektrotların arasındaki mesafe ölçülmüştür.

3.4.3.3. Yarı Maksimal Amplitüdde Geçen Süre

Yarı maksimal amplitüdde geçen süre, KYD dalgasının en yüksek amplitüd farkını gösterdiği noktanın yarısındaki amplitüdde geçen süre olarak hesaplanmıştır (79, 237). Şekil 8'de yukarıda tarif edilen KYD parametreleri şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 8. Uyarılma eşiği dışındaki KYD Parametrelerinin Şematik Gösterimi.

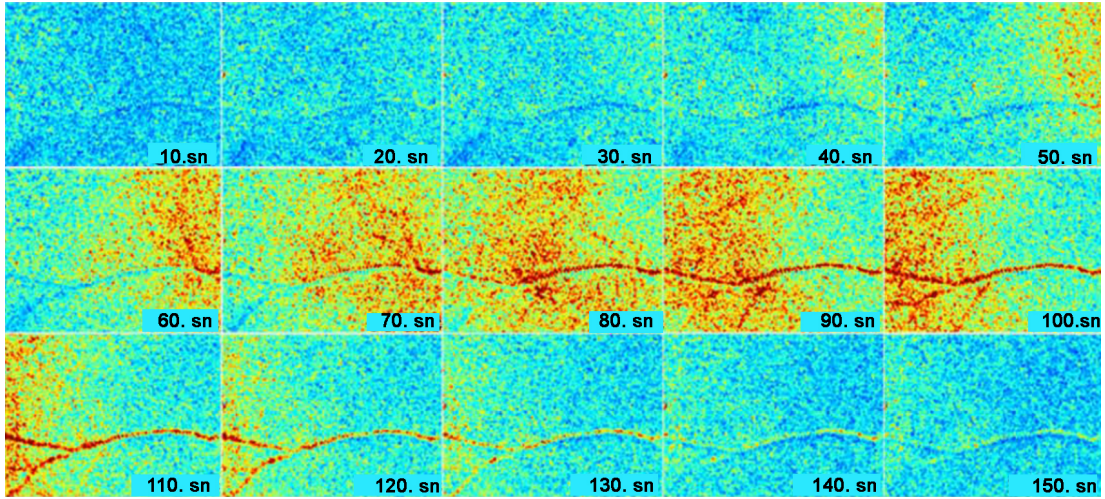
a) Yarı Maksimal Amplitüdde Geçen Süre. **b)** 0.5 M KCl ile uyarılan 60 dakika süre içindeki KYD dalga sayısı (frekans)

3.4.4. Serebral Kan Akımının Tespiti

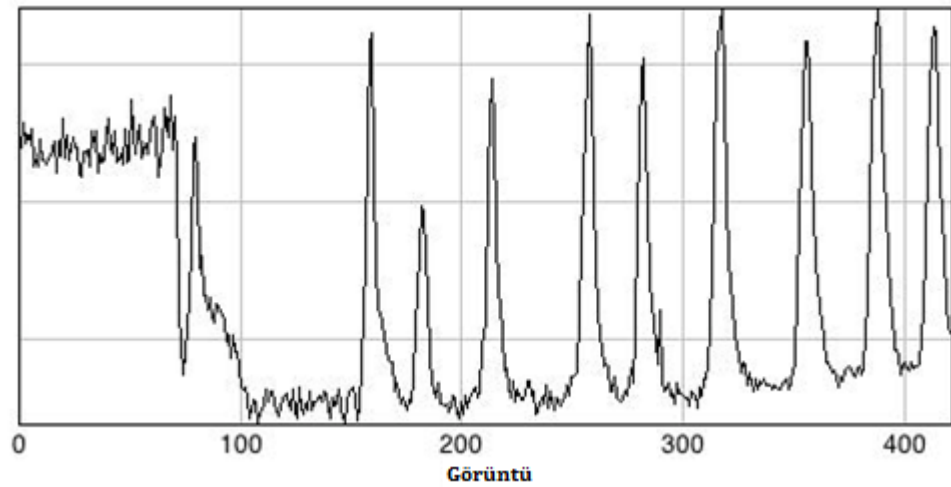
Serebral kan akımı tespiti, lazer beneklenme kontrast analizi (LABKA) ile sağlanmıştır. İnceltilerek dural damarları görülebilir hale getirilmiş olan parietal kemik, kurumayı önlemek ve görüntü kalitesini artırmak amacı ile imersiyon yağı sürülerek ince bir tabaka halinde kaplanmıştır. 785 nm'lik bir lazer diyot (Thorlabs DL7140-201, Thorlabs, Amerika Birleşik Devletleri) yardımı ile aydınlatılan bölge, bir stereomikroskop (Nikon SMZ 1000, Nikon, Japonya) ve 'charge-coupled device (CCD)' kamera (Basler 602F, Basler Vision Technologies, Almanya) kullanılarak 4x'lik büyütme altında görüntülenmiştir. Görüntüleme alanının tamamının lazer ışıklarına eşit düzeyde maruz kalmasına dikkat edilmiştir. LABKA ile kan akımı görüntülemesi işlemi yazında sıçan için tarif edildiği şekliyle gerçekleştirilmiştir (238).

Odaklanılan alan lazer ışıkları ile aydınlatılıp CCD kamera ile görüntülendiğinde granüler-benekli bir desen ortaya çıktığı görülmüştür. Ham görüntülerdeki intensite değerleri kullanılarak beneklerdeki bulanıklaşmanın sayısallaştırılması amacı ile öncelikle beneklenme kontrastı görüntüleri (speckle contrast images) oluşturulmuştur. Korteksin ham görüntüleri, 10 saniye aralıklarla, 100 Hz frekansla elde edilen görüntü setleri halinde kaydedilmiştir. Ham görüntüler 7x7 piksellik grid kullanılarak beneklenme kontrastı görüntülerine dönüştürülmüştür ve her bir görüntü setindeki beneklenme kontrastı görüntülerinin ortalaması alınarak sinyal/gürültü oranları arttırılmıştır.

Her bir zaman noktasındaki beneklenme kontrastı görüntüleri Image J 1.42 yazılımı ve gerekli eklentiler kullanılarak dokudaki kan akımı hızını gösteren korelasyon-zaman görüntülerine dönüştürülmüştür. Görüntülemeye KYD oluşturmak amacı ilk pamuk topunun frontal bölgeye yerleştirilmesi ile birlikte başlanmış ve frekans ölçümleri tamamlanana kadar devam edilmiştir. Şekil 9' da bir KYD dalgasının izlemi sırasında görülen kan akımı değişikliklerinin beneklenme kontrastı görüntüleri şematik olarak sunulmuştur. Şekil 10'da kaydedilen beneklenme kontrastı görüntülerinin ImageJ programı ile analizinden elde edilen, kan akımı değişikliklerinin zaman içindeki değişimi sunulmuştur. Elde edilen grafik üzerinden, hiperemi süresi ve serebral kan akımındaki azalma (oligemi) yüzdesi hesaplanmıştır.



Şekil 9. KYD sırasında lazer beneklenme kontrast analizi ile elde edilen serebral kan akımı değişikliklerinin şematik gösterimi. KYD uyarılması ile oluşan kısa süreli hiperemi ve arkasından gelen uzun süreli oligemi görülmektedir (sn: saniye).



Şekil 10. LABKA ile elde edilen görüntülerin ImageJ ile analizinden elde edilen serebral kan akımının zaman içinde değişimi. KYD dalgası ile hiperemi ve KYD sonrasında oligemi görülmektedir.

3.5. Psikolojik Stresin KYD İndüksiyon Eşiği Üzerine olan Etkisinin Olası Mekanizmalarının İncelenmesi

Giriş bölümünde de belirtildiği üzere stres etkisinin büyük bir kısmını hipotalamus-pituiter-adrenal eksen ve noradrenerjik sistem üzerinden göstermektedir. Bu tez çalışmasının üçüncü aşamasında, öncelikle akut stres modeli temel alınarak stresin KYD uyarılma eşiği üzerine olan etkisinin mekanizmaları incelenmiştir. Bu amaçla, glukokortikoid ve noradrenerjik sistemler üzerinden etki eden 4 ajan (mifepriston, propranolol, yohimbin ve klonidin) seçilmiştir. Mifepriston bir glukokortikoid reseptör antagonistidir. Propranolol β adrenerjik reseptörleri, yohimbin ise $\alpha 2$ adrenerjik reseptörleri antagonize eder. Klonidin bir $\alpha 2$ reseptör agonistidir.

Mifepriston etanol içinde çözülmüş ve 0.02 ml hacminde enjekte edilmiştir. Diğer moleküller % 0.9 NaCl içinde çözülmüş ve 0.2 ml hacimde enjekte edilmiştir. Ayrıca akut stresten 30 dakika önce yapılacak olan intraperitoneal enjeksiyonun da stres etkisi oluşturabileceği düşünülerek bir grup fareye de kontrol amaçlı olarak i.p. % 0.9 NaCl enjekte edilmiştir.

Çalışmada kullanılan ilaç dozları, yazında bu ajanların akut stresin etkisini anlamlı olarak olarak geri çevirdiği bildirilen dozlar incelenerek seçilmiştir (239-248). Elde edilen bilgiler ışığında, akut stresten 30 dakika önce

- 1. grup fareye % 0.9 NaCl
- 2. grup fareye mifepriston (25 mg/kg, Sigma-Aldrich)
- 3. grup fareye propranolol (10 mg/kg , Sigma-Aldrich)
- 4. grup fareye yohimbin (5 mg/kg, Sigma-Aldrich)
- 5. grup fareye klonidin (1 mg/kg, Sigma-aldrich)

intraperitoneal olarak enjekte edilmiştir. Enjeksiyonu takiben fareler, 30 dakika süre ile alışkın oldukları kafeslerinde diğer fareler ile birlikte bekletilmiştir. Bu yolla ilaçların emilerek kanda etkin düzeye çıkabilmesi amaçlanmıştır. Bu sürenin sonunda, farelere yöntem 3.2.4.'te belirtildiği şekilde 1 saat süre ile akut stres uygulanmıştır. Akut stresten hemen sonra yöntem 3.4.1 ve yöntem 3.4.2'de tarif edildiği şekilde cerrahi işlemler gerçekleştirilmiş ve KYD uyarılma eşiği saptanmıştır.

3.6. İstatistiksel yöntemler

Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak verilmiştir. Graplardan elde edilen veriler, üç ve fazla grup sayısı varlığında Kruskal-Wallis varyans analizi, iki grup ortalamaları/ortancaları varlığında Mann-Whitney U testi ile karşılaştırılmıştır. $p<0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Etkin Bir Kronik Stres Modelinin Oluşturulması ve Kronik Stresin Kortikal Yayılan Depresyon Eşiği Üzerine Etkisinin Gösterilmesi

Bu çalışmada öncelikle kronik stres-1 grubunun deney hayvanlarında yeterli stres yanıtı oluşturup oluşturmadığı, farelerin ağırlık değişimi, adrenal bez ağırlığı, görel adrenal bez ağırlığı ve KYD uyarılma eşiği üzerine olan etkisi gösterilerek incelenmiştir. Kontrol grubu 9, kronik stres-1 grubu 7, kronik stres-2 grubu 9 fareden oluşmaktadır.

Kronik stres-1 grubunda deney hayvanlarının ağırlık artışı, 14. ve 21. günde kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır, ancak 28. günde iki grup arasında ağırlık ortalamaları açısından fark olmadığı görülmüştür. Kronik stres-1 grubunda bulunan farelerin ağırlığı 4. hafta içinde artmış ve kontrol grubuna benzer özellik göstermiştir (Şekil 11).

Yirmi dokuzuncu günde ölçülen adrenal bez ağırlığının kronik stres-1 ve kontrol grubu arasında farksız olduğu görülmüştür (Şekil 12a). Görel adrenal bez ağırlığı açısından da gruplar arasında fark yoktur (Şekil 12b).

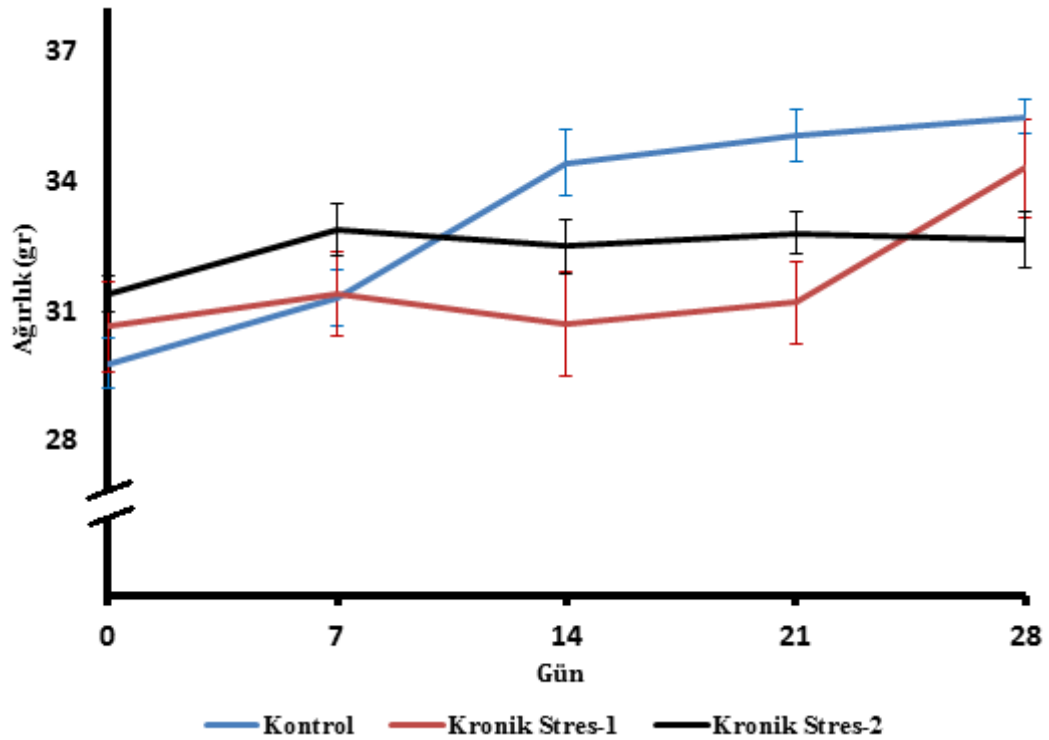
Kronik stres-1 grubunda bulunan 7 fareden 3'ünde KYD uyarılma eşiği, kontrol grubuna göre azalmıştır ancak gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır (Şekil 13).

Tüm bulgular bir arada değerlendirildiğinde, kronik stres-1 grubunda beklenen stres yanıtının oluşmadığı düşünülmüştür. Daha etkin bir stres yanıtı oluşturabilmek amacı ile kullanılan stres paradigmaları tekrar gözden geçirilerek farelerin sıçana maruz kaldığı süre ve maruz bırakma sırasında kullanılan kafes ölçülerinin değiştirilmesine karar verilmiştir. Sıçana maruz bırakma süresi 1 saate çıkarılmıştır. Farelerin sıçanla temas alanını daha da artıran kafesler ile sıçan kafesi içine yerleştirilmeleri sağlanmıştır.

Oluşturulan kronik stres-2 grubunun hem 21. günde hem de 28. günde ağırlık ortalamaları kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur (Şekil 11). Ayrıca bu grubun adrenal bez ağırlığı ortalaması ve görel adrenal bez ağırlığı ortalaması da kontrol grubuna göre yüksektir (Şekil 12a, Şekil 12b). Kronik stres-2

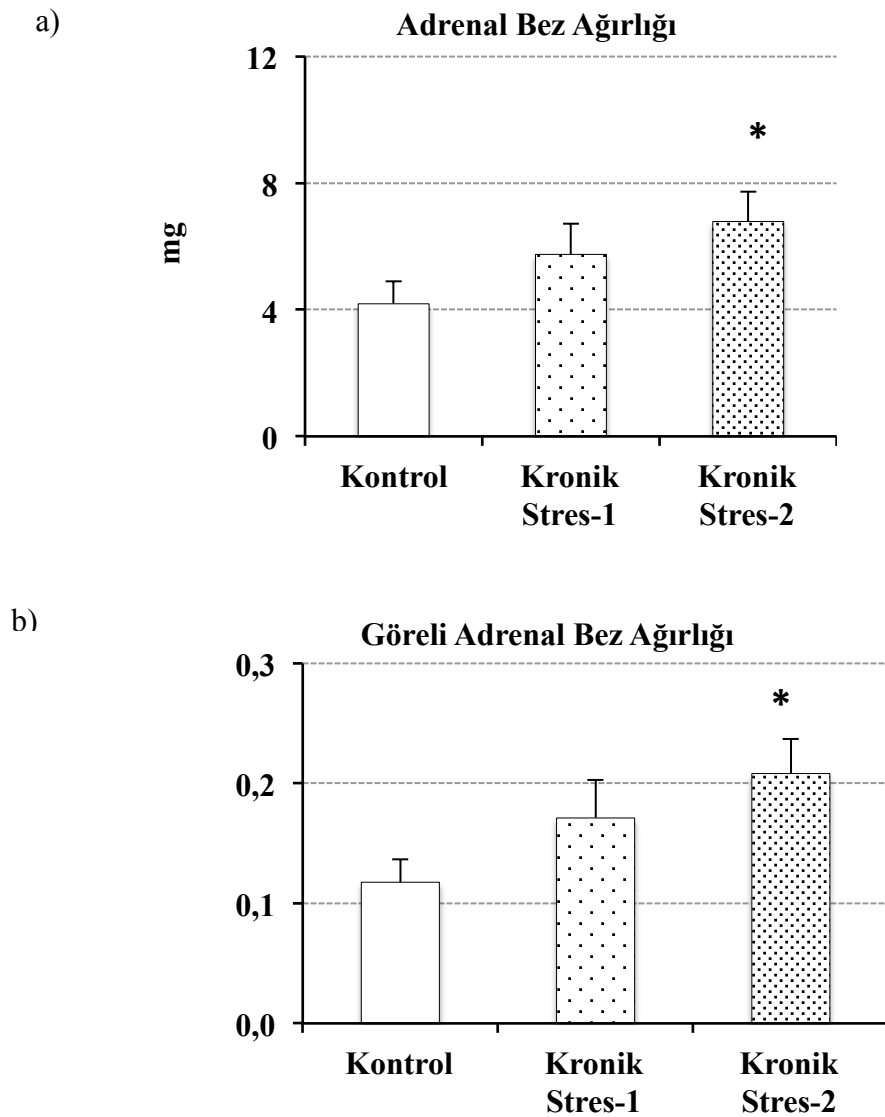
grubundaki tüm farelerin KYD uyarılma eşik değeri azalmıştır. Bu azalma istatistiksel olarak anlamlıdır (Şekil 13).

Kronik stres-1 (KS-1) grubunun 21. gündeki ağırlık ortalaması kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık göstermekte olup ($p=0.016$), 28. günde iki grup arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p=0.91$). Kronik stres-2 (KS-2) grubunda ise hem 21. günde hem de 28. günde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak ağırlık ortalamalarında anlamlı bir düşme saptanmıştır (sırasıyla $p= 0.019$, $p= 0.003$). KS-1 grubundan farklı olarak KS-2’de 28. gün ağırlığının da kontrol grubuna göre düşük olması bu grubun etkinliğinin sürdüğünü göstermiştir (Şekil 11).



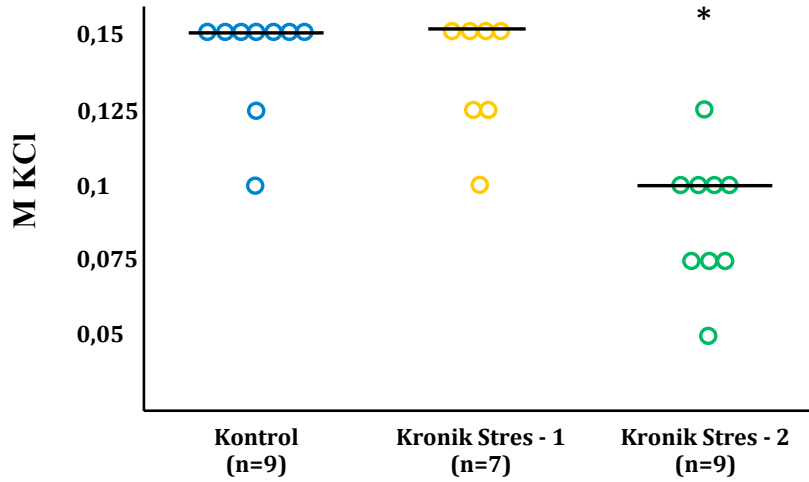
Şekil 11. Kontrol grubu ve kronik stres gruplarının 28 gün süresince ağırlık değişimleri. *: Kronik stres gruplarının ağırlık ortalamaları, kontrol grubuna göre düşüktür. **: Kronik stres-2 grubunun ağırlık artışı, kontrol grubuna göre azalmıştır.

KS-1 grubu ile kontrol grubunun adrenal bez ağırlık ortalamaları farksızdır ($p= 0.2$). KS-2 grubunun adrenal bez ağırlık ortalaması kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmıştır ($p=0.03$). Stres modellerinde kronik stres yanıtının adrenal bez ağırlığına göre daha iyi bir göstergesi olduğu kabul edilen görel adrenal bez ağırlıkları açısından kontrol grubu ile KS-1 grubu arasında fark yoktur ($p= 0.17$). KS-2 grubunun görel adrenal bez ağırlığında kontrol grubuna göre anlamlı bir artış mevcuttur ($p= 0.014$) (Şekil 12) .



Şekil 12. Kontrol grubu ve kronik stres gruplarının adrenal bez (a) ve görel adrenal bez ağırlığı (b) ortalamaları

Kontrol grubu ve KS-1 grubunun KYD uyarılma eşik değeri ortancaları farksızdır. ($p= 0.53$). KS-2 grubunda KYD uyarılma eşiği kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır ($p<0.001$) (Şekil 13).



Şekil 13. Kontrol grubu ve kronik stres gruplarının KYD uyarılma eşik değerlerinin dağılımı (*: $p<0.001$)

Bu tez çalışmasının birinci aşamasında, ağırlık artışındaki azalmanın 28. güne kadar devam etmesi, adrenal ağırlığı ve göreceli adrenal ağırlığın kontrol grubuna göre daha fazla artış göstermesi ve KYD uyarılma eşik değerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalması, KS-2'nin stres etkisi oluşturabildiğinin ve KYD üzerindeki etkilerinin hafif stresten farklılık gösterdiğinin işareti olarak kabul edilmiştir. Kronik stres, kortikal yayılan depresyon uyarılma eşiğini azaltmıştır.

Bu bulgudan sonra ikinci aşamaya geçilmiştir. İkinci aşamada kronik stres deney grubu olarak KS-2 grubundan elde edilen veriler kullanılmıştır.

4.2. Stres Paradigmalarının Kortikal Yayılan Depresyon Parametreleri Üzerine Etkisinin Gösterilmesi

4.2.1. Deney Gruplarının Standardizasyonunun Sağlanması

İkinci aşamada akut stres gruplarının kontrol grubu ile standardizasyonu amacı ile Tablo 2’de gösterilen şekilde izlemi yapılmıştır. Kronik stres grubunun (KS) 28. gün ağırlık ortalaması, akut stresten hemen sonra KYD kaydı alınan grup (AS), akut stresten 24 saat sonra KYD kaydı alınan grup (AS-24) ve kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşüktür (sırasıyla $p=0.003$, $p=0.003$, $p=0.003$). KS’nin adrenal bez ağırlığı, AS, AS-24 ve kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı artma göstermiştir (sırasıyla $p=0.045$, $p=0.023$, $p=0.03$, Tablo 3). KS’nin görel adrenal ağırlığı, AS, AS-24 ve kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artmıştır (sırasıyla $p=0.007$, $p=0.009$, $p=0.014$).

Tablo 3. Deney gruplarının vücut ağırlığı, adrenal bez ağırlığı ve görel adrenal bez ağırlık ortalamaları

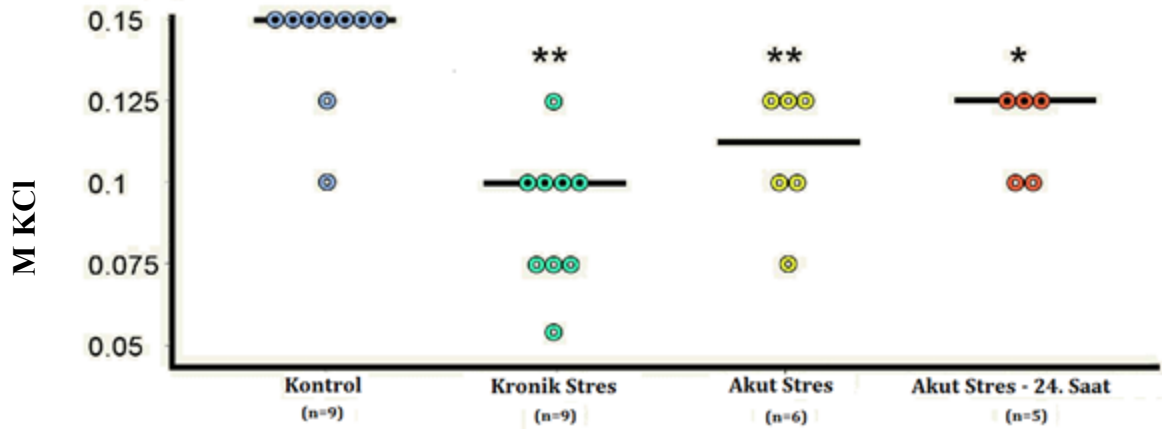
	Kontrol (n=9)	Kronik Stres (n=9)	Akut Stres (n=6)	Akut Stres-24.saat (n=5)
	Ort $\pm$ S.h.	Ort $\pm$ S.h.	Ort $\pm$ S.h.	Ort $\pm$ S.h.
Ağırlık (gr)	35,5 $\pm$ 0,4	32,6 $\pm$ 0,6 *	37 $\pm$ 0,7	37,4 $\pm$ 0,5
Adrenal Bez Ağırlığı (mgr)	4,2 $\pm$ 0,7	6,8 $\pm$ 0,9 **	4,2 $\pm$ 0,4	3,9 $\pm$ 0,4
Görel Adrenal Ağırlığı	0,11 $\pm$ 0,01	0,20 $\pm$ 0,02 ***	0,11 $\pm$ 0,01	0,10 $\pm$ 0,01

*: $p<0.001$, **: $p=0.048$, ***: $p=0.009$

4.2.2. Deney gruplarının Kortikal Yayılan Depresyon Parametrelerinin Karşılaştırılması

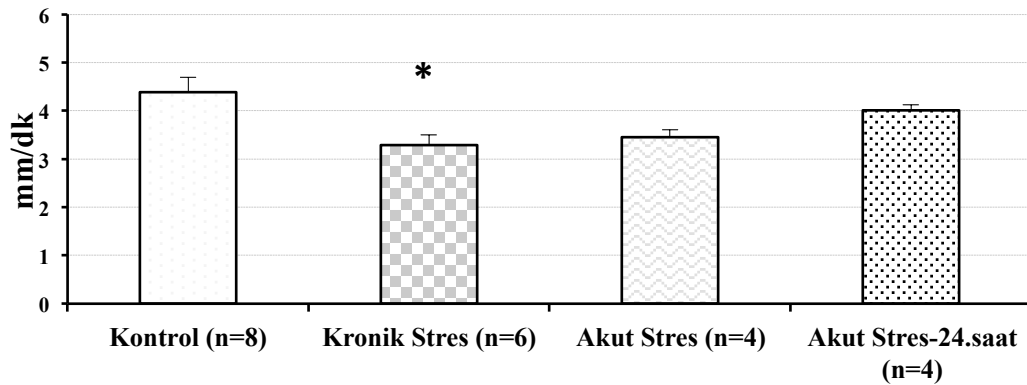
Tüm stres gruplarında KYD uyarılma eşik değeri, kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır. En düşük KYD uyarılma eşiği ortanca değeri kronik stres grubuna aittir (Şekil 14). KS, AS ve AS-24 gruplarında KYD uyarılma eşik değeri

ortancaları, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalma göstermektedir (sırasıyla $p<0.001$, $p=0.007$, $p=0.014$).



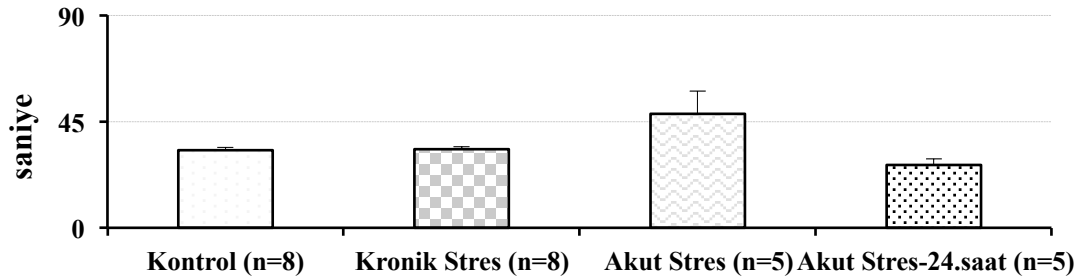
Şekil 14. Grupların KYD uyarılma eşik değeri dağılımı (* $p<0.05$, ** $p<0.01$)

KS sonrası KYD yayılma hızı, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalma göstermiştir ($p=0.028$). AS grubunda da KYD yayılma hızı azalma göstermiştir ($p=0.049$) ancak AS-24 ile kontrol grubu arasında fark yoktur ($p=0.146$) (Şekil 15).



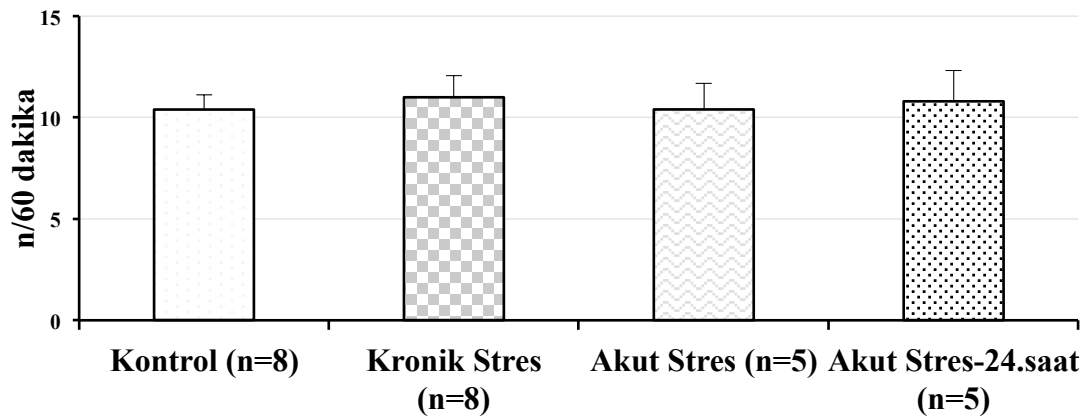
Şekil 15. Grupların KYD yayılma hızı ortalamaları

KS, AS ve AS-24 gruplarının KYD yarı maksimal amplitüdde geçen süre ortalamaları kontrol grubundan farksızdır (sırasıyla $p=0.9$, $p=0.24$, $p=0.43$) (Şekil 16).



Şekil 16. Grupların KYD yarı maksimal amplitüdde geçen süre ortalamaları

KS, AS ve AS-24 gruplarının KYD frekansı kontrol grubundan farksızdır (sırasıyla $p=0.6$, $p=0.9$, $p=0.9$) (Şekil 17).



Şekil 17. Grupların KYD frekansı ortalamaları

KS, AS ve AS-24 gruplarının KYD sonrasında gözlenen oligemi yüzdesi, (sırasıyla $p=0.72$, $p=0.061$, $p=0.167$) ve hiperemi süresi, kontrol grubundan farksızdır (sırasıyla $p=0.053$, $p=0.78$, $p=0.34$). Tablo 4'te grup ortalamaları ve standart hataları sunulmuştur.

Tablo 4. Grupların serebral kan akımında azalma (oligemi) yüzdeleri ve hiperemi süresi ortalamaları

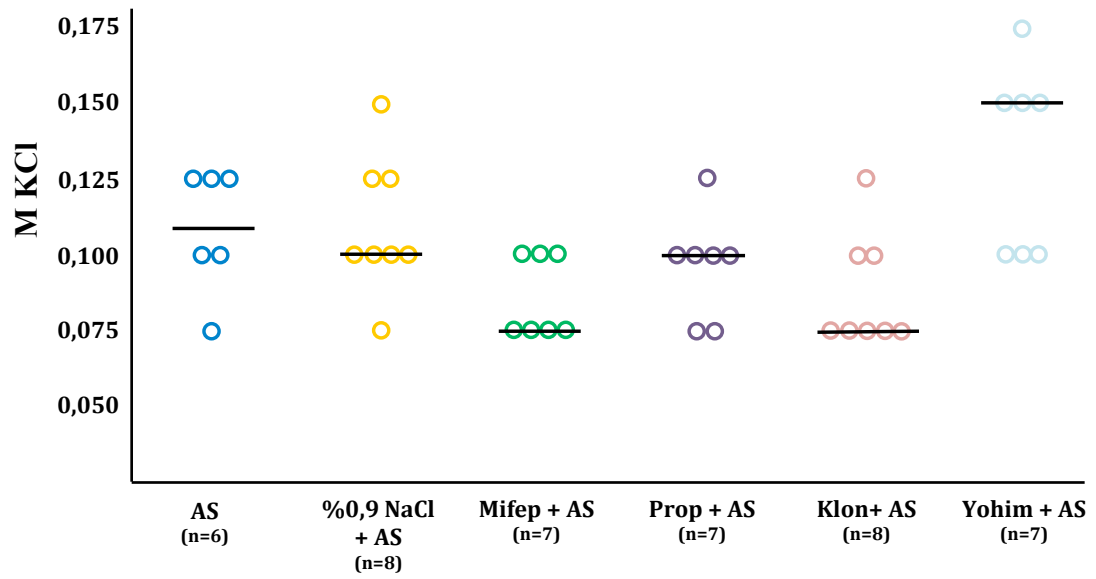
	Kontrol		Kronik Stres		Akut Stres		Akut Stres- 24. saat	
	n	Ort $\pm$ s.h.	n	Ort $\pm$ s.h.	n	Ort $\pm$ s.h.	n	Ort $\pm$ s.h.
Serebral Kan Akımında Azalma (%)	7	35 $\pm$ 6	6	40 $\pm$ 4	5	17 $\pm$ 4	5	23 $\pm$ 6
Hiperemi Süresi	7	197 $\pm$ 8	7	171 $\pm$ 7	4	190 $\pm$ 16	5	184 $\pm$ 9

4.3. Stresle Kortikal Yayılan Depresyon Eşiği İlişkisinin Olası Mekanizmalarının İncelenmesi

Akut stresin kortikal yayılan depresyon eşiği üzerine olan etkisini test etmek amacı ile 5 grup oluşturulmuştur. Akut stresten 30 dakika önce %0.09 NaCl, mifepriston, propranolol, klonidin ve yohimbin uygulanan gruplar ile AS grubu arasında KYD uyarılma eşik değeri ortancaları farklı değildir (sırasıyla $p=0.9$, $p=0.07$, $p=0.29$, $p=0.10$, $p=0.23$).

Akut stresten 30 dakika önce %0.09 NaCl'a göre, akut stresten 30 dakika önce mifepriston, propranolol, klonidin ve yohimbin uygulanan gruplar arasında da KYD uyarılma eşik değeri ortancaları farksızdır (sırasıyla $p=0.54$, $p=0.34$, $p=0.06$, $p=0.19$). Ancak yohimbin uygulanan grupta 7 farenin 4'ünde KYD uyarılma eşik değeri, kontrol grubunun KYD uyarılma eşik değeri ortancası olan 0.15 M KCl ve üzerinde bulunmuştur. Klonidin uygulanan grupta ise 8 farenin 5'inde KYD uyarılma eşiği, akut stres grubunun KYD uyarılma eşik değeri ortancasından daha düşüktür.

Grupların KYD uyarılma eşik değeri dağılımı ve ortancaları Şekil 18'de sunulmuştur.



Şekil 18. Akut stresten 30 dakika önce farmakolojik ajanlar uygulanan grupların KYD uyarılma eşik değeri dağılımları (AS: akut stres, mifep: mifepriston, prop: propranolol, klon: klonidin, yohim: yohimbin)

5. TARTIŞMA

Tartışma bölümünde tezin sonuçları, üç aşama için ayrı ayrı tartışılacaktır.

5.1. Kronik Stres Modelinin Geçerliliği ve KYD Uyarılma Eşiği Üzerine Olan Etkisi

Bu tez çalışmasında kronik stres ve KYD arasındaki ilişkiyi test edebilmek amacıyla, daha önce KYD uyarılma eşiği üzerinde etkinliği gösterilmiş bir stres modeli (211) laboratuvarımıza adapte edilmiştir. Buna göre hayvanlar, 28 gün boyunca, sıçana maruz bırakma, kısıtlayıcı stres ve kuyruktan asma streslerine maruz bırakılmıştır. Aşağıda kısaca özetlendiği üzere, uygulanan ilk modelde (kronik stres-1) KYD uyarılma eşiğinde beklenen stres etkisinin görülmemesi üzerine modelde bazı değişiklikler yapılmıştır (kronik stres 2).

Kronik stres-1 grubunda, ilk haftalarda kontrol grubuna göre ağırlık artışında anlamlı bir azalma olduğu görülmüştür. Fakat bu farklılık, 21- 28. günler arasında ortadan kalkmıştır. Kontrol grubu ile kronik stres-1 grupları arasında adrenal bez ağırlık ortalamaları ve KYD uyarılma eşikleri açısından ise hiçbir fark gözlenmemiştir. Bunun üzerine kronik stres-2 grubunda 1-7. günler ve 15-21. günler arasında uygulanan sıçana maruz bırakmanın süresi 30 dakikadan 1 saate çıkarılmış, farelerin sıçana maruz bırakıldığı kafesin boyutları küçültülmüştür. Kronik stres-1 grubunun sıçana maruz bırakıldığı kafesin içinde fare rahatça hareket edebilmekte ve sıçanla yakın temastan uzak durabilmektedir. Kronik stres-2 grubunda kullanılan kafesler ise farenin hareket alanını daraltmanın yanısıra sıçanın kafesin üzerine çıkmasına olanak sağlayarak fareyle daha yakın temas etmesini sağlayabilmektedir. Yapılan deneyler sonucunda, kronik stres-2 grubunda kontrol grubuna göre ağırlık artışında gözlenen azalmanın stres uygulamaları boyunca devam ettiği ve kronik stres-2 grubunun adrenal bez ağırlığının kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu grupta stres belirteçlerinin varlığı ile uyumlu şekilde KYD uyarılma eşiğinin anlamlı olarak azaldığı saptanmıştır.

İki kronik stres grubundan elde edilen bulguların farklılık göstermesinin iki temel nedeni olabilir:

1) Kronik stres-1 grubunda bulunan fareler, uygulanan stresin etkisine adaptasyon göstermiştir. Kronik stres modellerinde uygulanan stres paradigmasının

etkilerini kaybetmesi ve deney hayvanlarının stres etkisine alışması sık gözlenen bir durumdur (248-252). Gerçek yaşamda karşılaşılan stres etmenlerinin çoğu, beklenmeyen, tekrarlayan ve kalıcı özellikler gösteren türdendir (253-255). Deney hayvanlarında gerçek yaşamdakine benzer beklenmedik stres kaynakları oluşturmak zordur ve tekrarlayan uygulamalarda strese adaptasyon gözlenebilir. Bu tez çalışmasında kronik stres-1 grubunda ilk haftalarda görülen ağırlık artışıdaki azalmanın ilerleyen haftalarda ortadan kalkması, hayvanların strese adapte olmuş olabileceğini düşündürmektedir. Yazında da benzer sonuçlar bildirilmiştir (Olası moleküler mekanizmaları için ayrıntılı bir derleme olan kaynak 256 incelenebilir.). Örneğin Tuli ve arkadaşlarının (257) yürüttüğü bir çalışmada farelere 21 gün kronik stres uygulandığında, farelerin ilk 10 günde kontrol grubuna ve başlangıç ağırlıklarına göre anlamlı bir ağırlık azalması olmuştur. 10 günden sonra ise ağırlıkları artarak başlangıç ağırlıklarına ulaşmışlardır.

Kronik strese yanıt olarak HPA ekseninin aktivitesinde adaptasyon düşündüren bulgular da mevcuttur (258-264). Kronik stres, adrenal bez ağırlığında artışa ve kilo alımında azalmaya neden olduğu ancak aynı tür stresin tekrar uygulanmasının CRH ve kortizol yanıtlarını azalttığı gösterilmiştir (258-264). Ayrıca 6 gün boyunca günde 1 saat kısıtlayıcı strese maruz bırakılan hayvanların hipotalamusun CRH salınımından sorumlu olan PVÇ'de c-fos mRNA seviyesinde akut stresine benzer artış göstermediği, dolayısı ile tekrarlayan stres uygulamalarının HPA ekseninde de adaptif yanıtlara yol açabileceği savunulmaktadır (265).

Her ne kadar ağırlık artışında son haftada izlenen azalma strese adaptasyon lehine düşünülebilse de, kronik stres-1' de olduğu gibi farklı stres paradigmasının dönüşümlü kullanılmasının bu olasılığı azalttığına dair yayınlar da vardır. Kant ve arkadaşları (266), 10 gün boyunca hareketi kısıtlama, zorla yüzdürme ya da elektrik şoku stresörlerinin uygulandığı sıçanlara 11. günde daha önce uygulanan stresörü tekrarladıklarında, farklı bir stresör uygulamasına göre stres hormon yanıtlarının anlamlı olarak düştüğünü göstermiştir. Benzer şekilde Konarska ve arkadaşları (267) herhangi bir kronik strese maruz bırakılmış hayvanlarda, kronik stres modelinin içinde olmayan, farklı bir akut stresör uygulamasının, kronik strese maruz bırakılmamış hayvanlara göre daha fazla katekolamin yanıtına neden olduğunu ve

aynı stresin tekrarlayan uygulamaları yerine farklı stres paradigmalarının dönüşümlü olarak uygulanmasının deney hayvanlarında ağırlık kaybına neden olabildiğini bulmuştur (268). Yakın zamanda Zamaro- Gonzales ve arkadaşlarının (269) yaptığı bir diğer çalışmada da bu bulguları destekleyici şekilde kısıtlayıcı stres ve zorlu yüzdürme stresinin gūnaşırı, 28 gün boyunca uygulanması, strese adaptasyon yanıtı gelişmesini engellemiş ve kortikosteron seviyelerinin sürekli yüksek kalmasını sağlamıştır. Flak ve arkadaşlarının (270) çalışması bu bulgulara moleküler seviyede destek sağlamıştır. Bu son çalışmada iki hafta boyunca farklı (rotasyon stresi, sıcak suda yüzmeye, soğuk suda yüzmeye, soğuk oda stresi ve düşük oksijen seviyesi bulunan odada bulunma vb.) stresörlerin rastgele şekilde sabah ve akşam olmak üzere iki kez uygulandığı kronik değişken stres modelinde PVÇ’de ve limbik bölgelerde c-fos seviyeleri azalma göstermemiş, kontrollere göre daha da artmıştır. Yani strese adaptasyon yanıtı gelişmemiştir. Bu, Girotti ve arkadaşlarının (265), tekrarlayan tek tip stresör kullanarak elde ettiklerinin aksine bir bulgudur ve tekrarlayan farklı tip stresörlere adaptasyon gelişmediğini göstermektedir.

Bu tez çalışmasında kullanılan kronik stres modelleri, kronik değişken stres modeli kadar çeşitli ve beklenmedik stresörleri içermemektedir. Üç farklı stres paradigması dönüşümlü olarak kullanılmış olsa da, stres paradigmaları günler içinde değil, haftalar içinde değişmektedir. Bu durum farelerde strese adaptasyonu kolaylaştıran bir etmen olabilir.

2) Kronik stres-1 ve kronik stres-2 grupları arasında ağırlık artışı, adrenal bez ağırlığı ve KYD uyarılma eşiğı açısından saptanan değişikliklerin bir başka açıklaması, uygulanan stresörlerin şiddetindeki ve kontrol edilebilirliğindeki farklılıklar olabilir. Kronik stres-1 grubundaki farelerin sıçana maruz bırakılma süreleri daha kısadır, üstelik sıçana daha büyük, dolayısıyla da sıçandan uzak durabilecekleri bir kafes içinde maruz kalmışlardır. Bu nedenle kronik stres-2 grubuyla karşılaştırıldığında, kronik stres-1 grubuna uygulanan stresörün şiddeti daha düşük ve kontrol edilebilirliği daha yüksektir. Kronik stres-1 grubunun adrenal bez ağırlıkları ortalamalarının kontrollerden farklı olmaması da uygulanan stresin düşük şiddette olduğunu destekler niteliktedir.

Uygulanan stresin şiddeti ve stres uygulaması esnasında ortamın koşulları farelerin strese yanıtını değiştirebilir (262, 268). Amaral ve arkadaşlarının (271)

fareler üzerinde yaptığı bir çalışmada 10 dakika sıçana maruz kalma, beklenen stres yanıtına uygun şekilde 15 dakika içinde hızlı bir kortikosteron yanıtı oluşturabilmiş ve 60 dakika içinde kortikosteron normal seviyeye dönmüştür. Hayley ve arkadaşlarının aynı stres paradigmasını 20 dakika süre ile uygulamaları, 10 dakika süren maruz bırakmaya göre prefrontal bölge ve hipokampusta dopamin, serotonin ve norepinefrin seviyelerini daha da fazla yükseltmiştir (272).

Sonuç olarak yukarıdaki bilgiler ışığında, iki kronik stres grubu arasında saptanan değişikliklerin, kronik stres-1 grubunda kısmen adaptasyon, kısmen de stresörün daha kısa süre ile uygulanması ve hayvanın stresör üzerindeki kontrolünün derecesi ile açıklanabileceği düşünülmüştür. Bu bulgular stresin KYD uyarılma eşiği üzerindeki etkilerinin stresin şiddetine ve algılanan kontrol edilebilirlik düzeyine bağımlı olduğunu düşündürmektedir.

Bu tez çalışmasının ileri aşamasındaki analizlerinde kronik stres-2 grubunun verileri kullanılmıştır. Tartışma 5.2’de kronik stres ile kronik stres-2 grubu kastedilmektedir.

5.2. Stres Paradigmalarının Kortikal Yayılan Depresyon Parametreleri Üzerine Etkisi

Bu tez çalışmasının en önemli bulgularından birisi, hem akut hem de kronik stresin KYD uyarılma eşiğini kontrol grubuna göre düşürmesidir. Bunun yanında diğer parametrelerde gözlenen değişiklikler kısaca şöyle özetlenebilir:

1. 60 dakika süre içinde 0.5 M KCl ile uyarılmış olan KYD dalgası sayısı, yani frekans, stres grupları ile kontrol grubu arasında değişiklik göstermemiştir.
- 2.KYD yarı maksimal amplitüdde geçen süre açısından stres grupları ile kontrol grubu gruplar arasında fark yoktur.
- 3.Kronik stres grubunda kontrol grubuna göre KYD yayılma hızı azalmıştır.
4. KYD dalgası ile oluşan beyin kan akımı değişikliklerine bakıldığında ise kontrol grubu ile diğer gruplar arasında hiperemi süresi ve KYD sonrasında oluşan oligemi şiddeti açısından fark yoktur.

Tüm bulgular bir arada değerlendirildiğinde, akut ve kronik stresin KYD dalgası üzerine olan etkisinin, KYD’nin yayılma aşaması, süresi ve refraktör dönemi

ile ilişkili olan mekanizmalardan çok uyarılma aşaması ile ilişkili olduğu söylenebilir.

KYD uyarılma eşiği, süresi, yayılma hızı ve KYD' ye bağlı kan akımı değişiklikleri farklı moleküler mekanizmalarla ilişkili olabilen ve her zaman birbirleri ile bağlantılı sonuç vermeyebilen parametrelerdir (237). Aşağıda, incelenen her parametre tek tek ele alınacak ve çalışmada kullanılan yöntemin özellikleri, her parametrenin olası ilişkili olduğu ve hipotezimizle ilişkili olabilecek mekanizmaları göz önünde bulundurularak tartışılacaktır.

5.2.1. Stres ve KYD Uyarılma Eşiği

Bu çalışmada hem akut hem de kronik stresin KYD uyarılma eşiğini azaltabildiği ve bu etkinin 24 saat sürdüğü gösterilmiştir. Yazındaki klinik araştırmalar bu bulguyla uyumludur (22,23,273-275).

Son yıllarda stres ve migren ile ilişkisi konusunda yapılan insan çalışmaları daha çok çocukluk çağı travmaları ya da travma sonrası stres bozukluğu ile migren ilişkisine odaklanmıştır. Sadece stres ile migren ilişkisini inceleyen ve stresin türü, süresi ve migren atağının başlangıç zamanı ile ilişkisini araştıran çalışma sayısı bir hayli azdır. Bu çalışmalar stresin migrenin önemli tetikleyicileri arasında yer aldığını göstermektedir.

Geniş örneklemli bir çalışmada, 16 migren ağrısını başlatan sebep arasında katılımcılardan tarafından en sık bildirilen faktör, % 70 oranında akut stresi izleyen rahatlamadır. Ancak katılımcıların % 58'si akut stres sırasında da tetiklenmeden bahsetmiştir. (22). Ailesel hemiplejik migren hasta grubunda yapılan bir diğer çalışmada da akut stresi takiben atak geçirme % 37, kronik stresi modellemek için sorgulanan yoğun duygusal etkilenmeler de % 32 olarak bildirilmiştir. Katılımcıların % 24' ü akut stresi takiben mutlaka migren atağı yaşadığını belirtmiştir (23).

Stresin migren atağını tetikleyici etkisi kültürler arasında da değişmemektedir. İki farklı ülkede yaşayan migren hastalarının katıldığı bir çalışmada migren ağrısını en sık tetikleyen faktör stres olmuştur. Brezilya' da bu oran % 73.1, İspanya' da % 46.4'tür (273). 14-58 yaş arasındaki (ort; 30.7) 182 migren hastasını kapsayan Hindistan çalışmasında da, hastaların % 87.9'unda bir tetikleyici saptanırken, en sık görülen tetikleyici % 70 ile duygusal stres olarak

bulunmuştur (274). Bu çalışmaların kısıtlılığı, stresin akut mu yoksa kronik mi olduğu, tetiklenmenin stres sırasında mı yoksa stres sonrasında mı sorgulandığının belirtilmemiş olmasıdır. Ayrıca migren hastalarında İsveç Üniversiteleri Kişilik Envanteri kullanılarak kişilik özelliklerine bakıldığında, stres duyarlılığının hem erkeklerde hem de kadınlarda kontrollere göre anlamlı olarak daha yüksek olduğu gösterilmiştir (275).

Pediyatrik yaş grubunda da stresle migren ilişkisi bildirilmiştir. Fransa'da pediatrik migreni olan 7-16 yaş arasındaki 102 adolesan ve çocuğun katıldığı bir çalışmada, farklı besinler, uykusuzluk, gürültü, sıcaklık, enfeksiyon, koku gibi 15 tetikleyici etmen geriye dönük olarak bir anket aracılığı ile araştırılmıştır. Bu çalışmaya göre, en çok bildirilen bireysel tetikleyici % 75.5 ile strestir. Ayrıca atakları her zaman tetiklediği belirtilen en yüksek etmen de yine % 24.5 ile stres olmuştur. Stresi bir tetikleyici olarak belirtenlerin %85' inde stres bitiminden 0 ile 3 saat sonra atak başlamıştır (276).

Günümüze kadar stresin migren ağrısı ile ilişkisini inceleyen en detaylı araştırma ise 181 hastanın katılımı ile yürütülen Hauge ve arkadaşlarının (277) çalışmasıdır. Bu çalışmaya auralı migren tanısı almış ve migren atakları için en az bir tetikleyici faktör tanımlayan hastalar alınmıştır. Stres faktörlerini belirleyebilmek için detaylı bir anket oluşturulmuştur ve çok çalışmak, üstleri ile problem yaşamak, iş arkadaşları ile kötü ilişki kurmak, işte gürültü olması, işe ulaşım süresi, evlilik sorunları gibi kronik stres etkisi oluşturabilecek etmenler, öznel olarak algılanan stres yoğunluğu ve atağı tetiklemek için gereken stresör süresi ile birlikte sorgulanmıştır. Bu anketin sonuçlarına göre, en sık belirtilen risk faktörü çok çalışmaktır. Genellikle günler (1 haftadan az) ya da saatler süren bir stres etmeni atağı tetiklemektedir. Atağın stres faktörü ile zamansal ilişkisi incelendiğinde ise atağın stres faktörünü takiben 1 saat içinde geliştiği görülmektedir (22,277).

Sonuç olarak, akut stresten sonra migren ağrısının tetiklenebilmesi ve akut stresten 24 saat sonra migren ağrısına duyarlılığın yüksek olması, insanlarda gözlenen migren ağrısı ile stres faktörlerinin zamansal ilişkisi ile uyumludur. Kronik stresin migren atağını tetiklemesi ile ilgili araştırmalar kısıtlıdır, ancak bu konuda da giriş bölümünde bahsedildiği üzere kronik stresle güçlü bir ilişkisi olan majör

depresyon hastalarında migren tanısının yaygın olması, bu tez çalışmasının sonuçlarını destekler niteliktedir (18-50).

Günümüzde KYD uyarılma eşiğini etkileyebilen çok sayıda aracı molekül tanımlanmıştır. Giriş bölümünde detaylı olarak anlatıldığı üzere bunların başında hücre dışı K^+ seviyeleri ve NMDA reseptörleri sayılabilir. Ayrıca voltaj bağımlı Ca^{+2} kanalları ve diğer bazı nörotransmitter sistemlerinin de KYD uyarılma eşiğini değiştirebildiği bildirilmiştir (77). Akut ve kronik stresin KYD uyarılma eşiğine üzerine olan etkisi de bu mekanizmalarla ilişkili olabilir.

Yakın zamanda Schnell ve arkadaşlarının yürüttüğü çalışmaya göre, 3 hafta süre ile günde 6 saat kısıtlayıcı stres uygulanan grupta, KYD başlamadan önce hücre dışı alanda bulunan K^+ iyon seviyelerinin çok daha yüksek olduğu, KYD dalgasının başlaması ile birlikte hücre dışı alanda K^+ seviyelerinin kontrol grubuna göre çok daha fazla arttığı ve KYD dalgası sonrasında da normal seviyelere gelmesinin daha uzun zaman aldığı bulunmuştur. Hücre dışında artan K^+ seviyeleri, hücrelerin daha kolay depolarize olmasına ve KYD uyarılma eşiğinin azalmasına katkıda bulunuyor olabilir. Araştırmacılar yaptıkları diğer çalışmalarla, kronik stresin KYD dalgası süresi ve K^+ iyon değişiklikleri üzerine gözlenen bu etkisinin, hücre membranından K^+ iyonu akışını sağlayan mekanizmalarla ilişkili olmadığını, daha çok interstisiyel alandaki sıvı azalması ile ilişkili olduğunu savunmuştur (278). Bunun yanı sıra Rosenkraz ve ekibi, kronik kısıtlayıcı stresin, lateral amigdalada bulunan ve duygusal düzenlemelerden sorumlu olan nöronların bazal ateşleme hızını artırdığını göstermiştir. Bu artışa, Ca^{+2} ile indüklenen K^+ kanal aktivitesinin artışı aracılık etmektedir (279). Yani kronik stres de, K^+ iyonu dengelerini değiştirebilmektedir.

Son yıllarda yapılan çalışmalar ayrıca akut ve kronik stresin glutamat aracılı yollar üzerinden de etki edebildiğini göstermektedir. 10 haftalık kronik hafif stres uygulamasının sıçan dorsal hipokampusunda veziküler glutamat derişimini artırdığı (280) ve 3 hafta kronik stres uygulamasının sinaptik aralıktan glutamatın uzaklaştırılmasında rol alan glutamat taşıyıcısı EAAT2 seviyesini % 20 azalttığı gösterilmiştir (281). Ketamin gibi NMDA reseptörler antagonisti olan maddelerin depresyon gibi stresle ilişkili hastalıkların tedavisinde kullanımını öneren çalışmalar da bunu desteklemektedir (282-285).

Kronik strestekine benzer şekilde akut stresin de, hücre dışı glutamat miktarını artırabildiğini gösteren çalışmalar vardır (286-288). Bir çalışmada, 1 saat süren akut stresten sonra serebral korteks ve hipokampusta artan glutamat seviyelerinin stres sonlandıktan 1 saat sonra bile azalmakla birlikte hala kontrol grubuna göre yüksek seyrettiği gösterilmiştir. (289). Ancak akut stresten 24 saat sonra (279) ya da 3 gün süren kısıtlayıcı stres uygulamasını (281) takiben kronik strestekine benzer glutamaterjik değişikliklerinin saptanmadığını bildiren iki çalışma da mevcuttur.

Akut stresin hücre dışı glutamata artırıcı etkisini hücre içi Ca^{+2} iyon seviyesini artırarak gerçekleştirdiği düşünülmektedir (290, 291). Satoh (290), 2 saat süren akut stresin kandaki kortikosteron seviyelerini, dalak hücrelerinde dinlenme anındaki hücre içi Ca^{+2} seviyelerini ve serebrokortikal sinaptozomlarda dinlenme anında hücre içi Ca^{+2} düzeylerini (291) kontrol grubuna göre artırdığını göstermiştir. Akut stres grubunda 3 mM ve daha üstünde K^{+} derişimleri uygulanarak hücreler depolarize edildiğinde de hücre içinde kontrol grubuna göre daha fazla hücre içi Ca^{+2} artışı saptanmıştır (291). Bu yüksek hücre içi Ca^{+2} seviyeleri KYD patogenezinde de olduğu gibi, hücrelerden daha fazla glutamat salınımına neden olarak KYD uyarılma eşiğini düşürebilir.

Akut stresin, glukokortikoid ve sempatikoadrenal sistem üzerinden etki ettiği savunulmaktadır (135-138). Bir kaç çalışma akut ve kronik stresin gerek Ca^{+2} akımları gerekse glutamat sistemi üzerine olan etkilerine de kortikosteron ve norepinefrinin aracılık ettiğini göstermektedir. Bir glukokortikoid reseptör antagonisti olan mifepriston, akut stresten 60 dakika önce (292) ve 21 gün süren kronik stresin son 4 gününde uygulandığında, stresin hücre içi Ca^{+2} akımı üzerine olan etkisini geri çevirmiştir (293). Mifepriston, kuyruk kıstırma (294) ve akut elektrik şoku (295). streslerinden sonra görülen glutamat seviyelerindeki artışı da azaltabilmektedir. Norepinefrin konusunda doğrudan kanıtlar yoktur ancak stres ile salınan norepinefrin de yine HPA eksenini üzerinden uyarılabilirliği değiştirici etkide bulunabilir (296).

Sonuç olarak, hem akut hem de kronik stres, KYD uyarılma eşiğini belirleyen sistemleri değiştirerek KYD uyarılma eşiğini düşürmüş olabilir.

5.2.2. Stres ve Kortikal Yayılan Depresyonun Diğer Parametreleri

Bu tez çalışmasında kontrol grubu ile stres grupları arasında uyarılma eşiği dışındaki KYD yayılma hızı açısından da farklılık olduğu gözlenmiştir. Ancak bu bulgunun anlamlılık derecesi sorgulanabilir.

Kronik stres, KYD'nin yayılma hızını kontrol grubuna göre azaltmıştır.

KYD yayılma hızı, bazı araştırmacılar tarafından bir uyarılabilirlik göstergesi ve KYD'ye yatkınlığı belirleyen ikinci bir parametre olarak kabul edilmektedir (237) ve uyarılma eşiği ile kısmen benzer mekanizmalarla ilişkilendirilmektedir. KYD yayılma hızı da KYD uyarılma eşiğinde olduğu gibi, hücre dışında biriken K^+ iyonları ve derişiminden etkilenebilmektedir (77). KYD uyarılma eşiği ile yakından ilişkili olan glutamat ile uyarılan NMDA reseptörleri, (100,297), hücreler arasında bulunan yarıklı bağlantılar (298), hipoglisemi ve serotonin geri alım inhibitörleri KYD yayılma hızını değiştirebilir (118). Voltaj bağımlı kalsiyum kanal blokasyonu yapan ajanlar kullanıldığında ise KYD yayılma hızı etkilenmemiştir (83).

KYD frekansı, bu tez çalışmasında gruplar arasında farklılık göstermemiştir. Frekans, hem KYD süresine hem de refraktör periyoduna bağlı bir durumdur. Ayata ve ekibi, bu özellik nedeni ile KYD frekansını da uyarılabilirliğin bir göstergesi olarak kabul etmekte ve çoğu çalışmada elektriksel uyarımın yanında kullanılmaktadır (237). Bu tez çalışmasında ise KYD uyarılma eşiği azalmasına rağmen KYD frekansı değişmemiştir.

KYD frekansını ve yayılma hızını inceleyen yukarıda bahsedilen çalışmalarda yüksek doz, yani 2 M derişimde KCl uygulanmıştır. Bu derişim, fizyolojik düzeylerin çok üzerindedir. Bu tez çalışmasında 0.5 M KCl uygulandıktan sonra frekans ve yarı maksimal amplitüdde geçen süre gibi parametreler hesaplanmıştır. 0.5 M KCl dozunun fizyolojik koşullara daha yakın olması, bu tez çalışmasında diğer KYD parametreleri üzerinde başka çalışmalarla elde edilen anlamlı bulguların gözlenmemesine neden olabilir. Daha yüksek KCl düzeylerini tamponlayabilmek ve homeostaz düzeyine dönebilmek için hücreler üzerindeki iyon kanallarının daha aktif olması ve daha fazla enerjinin sağlanması gerekebilir. Dolayısı ile yüksek KCl derişimleri hücreler arasındaki değişikliklerin daha iyi saptanmasına neden olmuş olabilir.

İkinci olarak, uyarılma eşiği dışındaki KYD parametreleri, daha az güvenilir sonuçlar verebilmekte ve ölçüm işlemleri sırasında öznel değişiklikler gösterebilmektedir. Ayata ve arkadaşları, 2000-2012 yılları arasında yayınladıkları çalışmaların verilerini incelediklerinde, yayılma hızı ile KYD yatkınlığının güçlü bir ilişkisi olduğunu, ancak yayılma hızının yatkınlıktaki değişim oranını yordama bakımından ancak % 84 pozitif yordayıcı değeri (% 56 negatif yordayıcı değeri) olduğunu göstermiştir. KYD süresi ise 0.17 kappa değeri ile KYD' ye yatkınlık ile en az ilişkili olan parametre olmuştur. KYD'ye yatkınlığın artması ya da azalması çoğunlukla KYD toplam süresini değiştirmemiştir (237). Dolayısı ile diğer KYD parametreleri, her zaman KYD uyarılma eşiği ile korelasyon göstermeyebilir ve başka moleküler mekanizmalarla ilişkili olabilir.

Tüm bu bulgular birarada değerlendirildiğinde, akut ve kronik stresin KYD dalgası üzerine olan etkisinin, KYD nin yayılma aşaması, süresi ve refraktör dönemi ile ilişkili olan mekanizmalardan çok uyarılma aşaması ile ilişkili olduğu söylenebilir.

5.2.3. Akut ve Kronik Stresin KYD Uyarılma Eşiği Üzerine Olan Etkisini Değiştirebilen İlaçlar ve Bunların Etki Mekanizmaları

Akut ve kronik stresin, etkilerini genel olarak glukokortikoid sistemi ve noradrenerjik sistem üzerinden gösterdiği kabul edilmektedir (135-138). Stresin, KYD uyarılma eşiği üzerine olan etkisinin hangi yolla olduğunu belirlemek amacı ile bu sistemleri hedefleyen ilaçlar intraperitoneal olarak uygulanmıştır. Glukokortikoid reseptör antagonisti olan mifepristonun akut stresin yol açtığı KYD uyarılma eşiğindeki azalmayı değiştirmedeği görülmüştür.

Mifepriston, bir çok kronik ve akut stres çalışmasında bu tez çalışmasında kullanılan dozlarda, stresin biyolojik ve davranış üzerine olan etkilerini (239-242) geri çevirebilmektedir. Bu tez çalışmasında benzer etkinin görülmemesi, akut stresin KYD uyarılma eşiği üzerine olan etkisine glukokortikoidlerin aracılık etmediğini düşündürmektedir. Ancak bu bulguyu yorumlarken çalışmanın örneklem boyutunun küçüklüğü gibi bazı kısıtlılıklarının göz önünde bulundurulması gerekir. Deney hayvanlarının strese yanıtı geniş bir varyasyon gösterebilir. Mifepriston grubunu oluşturan fareler strese yanıtı yüksek olan farelerden oluşmuş olabilir. Ayrıca

mifepristonu çözmek amacı ile çok düşük bir hacim aralığında etanol kullanılabilmiştir (239,299). Mifepristonun daha geniş hacimler içinde enjekte edilebileceği bir çözücü kullanılması ya da İSV olarak uygulanması düşünülebilir. Ancak bu çalışmada, İSV uygulamanın kendisinin de KYD oluşturabileceği ve kanül yerleştirdikten sonra farelerin tekli olarak kafeslenmesinin akut stres etkisi yaratabileceği göz önünde bulundurularak intraperitoneal enjeksiyon tercih edilmiştir.

Migren profilaksisinde de sıklıkla kullanılan bir β adrenerjik reseptör blokörü olan propranolol, 7 farede de akut stresle azalan KYD uyarılma eşiğini yükseltmemiştir. Propranololün etkisiz olmasının sebebinin intraperitoneal uygulanması olduğu ve İSV uygulamanın etkili olabileceği düşünülebilir, ancak propranololün 3-6 saat olan yarılanma ömrü (300) ve periferik uygulamadan sonra 12 saat beyinde aktif olabilmesi (301) gözönünde bulundurulduğunda stresten 30 dakika önce enjekte edilen propranololün hem akut stres uygulaması hem de DC potansiyel kaydı sırasında beyinde etkili düzeyde olması beklenir. Ayrıca bir çalışmada 20 mg/kg dozunda akut uygulanan DL-propranolol, kontrol grubuna göre KYD uyarılma eşiğini değiştirememiş, ancak 10 hafta kronik uygulamada etkili olabildiği bulunmuştur (97, 302). Yazında propranololün 10 mg/kg dozunda uygulanması ile KYD ile indüklenen gen ifadesinin daha da artırdığını bildiren tersi bir çalışma da mevcuttur (243). Sonuç olarak bulgularımız, akut stresin KYD üzerine olan etkisinin β adrenerjik reseptörlerden bağımsız olduğunu düşündürmektedir.

Propranololden farklı olarak, α_2 adrenerjik reseptörler üzerinden etki eden yohimbin akut stres etkisi ile azalan KYD uyarılma eşiğini yükseltirken klonidin düşürmüştür. Bu bulgu, akut stresin KYD uyarılma eşiğini azaltıcı etkisine α_2 adrenerjik reseptörlerin aracılık ettiğine işaret etmektedir. Bu reseptörler beyinde limbik bölgeler de dahil olmak üzere yaygın bir dağılım gösterir (303-306). α_2 adrenerjik reseptörlerin presinaptik otoresptörler olduğu ve uyarımları ile birlikte N tipi voltaj bağımlı Ca^{+2} kanallarının aktivitesini baskılayarak norepinefrin salınımını azalttıkları bilinmektedir (200, 307, 308). Ancak az miktarda α_2 adrenerjik reseptörü postsinaptik olarak da yerleşebilir. GABAerjik internöronlar üzerinde ve prefrontal korteksin piramidal nöronlarındaki glutamaterjik sinapslarının üzerinde postsinaptik bölgede de α_2 adrenerjik reseptörler saptanmıştır (307,309).

Yohimbin ve klonidinin KYD uyarılma eşiği üzerine olan etkisi olasılıkla presinaptik reseptörler üzerinden gerçekleşmektedir. Klonidinin, 0.3 mg/kg dozunda intraperitoneal verilmesi serebral kortekste (310), 100 μ M dozunda lokus seruleusa infuze edilmesi de lokus seruleusta norepinefrin salınımını % 30- 70'den fazla azaltmıştır (311,312). Ancak klonidin 10 μ M dozunda tüberomamiller cisimciğe uygulandığında, norepinefrine benzer etki göstererek spontan inhibitör postsinaptik potansiyellerin frekansını azaltmış, yohimbin de tersi etki ile frekansı artırmıştır (313). Bir diğer çalışmada, 0.00001 mg/kg gibi çok düşük doz yohimbinin presinaptik reseptörleri bloke ederek norepinefrin salınımını artırdığı, postsinaptik reseptörleri ise doğrudan uyaramadığı, bir postsinaptik α 2 adrenerjik reseptör blokörü verildiğinde yohimbinin iyileştirici etkisinin ortadan kalktığı savunulmuştur (314). Dolayısı ile bu moleküllerin doz ve uygulanan beyin bölgesine bağımlı olarak norepinefrinin etkisini artırabildiği ya da azaltabildiği söylenebilir. Bu tez çalışmasında kullanılan klonidin ve yohimbin dozları, daha çok presinaptik reseptörlerin etkilendiği gösterilen dozlardır. KYD uyarılma eşiğini norepinefrinin ne şekilde etkilediğinin anlaşılması için DSP-4 (N-(2-kloroetil)-N-etil-2-bromobenzilamin) gibi lokus seruleus denervasyonu sağlayan ve korteks, hipokampus ve serebellumda norepinefrin seviyelerini % 70' e yakın azaltabilen bir ajan uygulandıktan sonra akut stresin KYD uyarılma eşiğine etkisinin incelenmesi bu konuda fikir verebilir (315-318).

Diğer yandan, α 2 adrenerjik reseptörler sadece nöronlar üzerindeki reseptörleri aracılığı ile değil astrositlerdeki reseptörleri ile de KYD uyarılma eşiğini değiştirmiş olabilir. α 2 adrenerjik reseptörler astrositler ve mikrogialar üzerinde de yerleşebilmektedir (319). Astrosit kültürlerinde yapılan çalışmalarda norepinefrinin hızlı bir glikojenolitik etkisi olduğu görülmüştür. α 2 adrenerjik reseptörlerin uyarılması glikojen sentezini artırır. Ayrıca norepinefrin krebs siklusunda rol alan piruvat dehidrogenaz ve α -ketoglutarat dehidrogenaz enzimlerinin aktivasyonunu da sağlayabilmiştir (319, 320). KYD, beyin enerji metabolizması ile yakından ilişkilidir (112-124). α 2 adrenerjik reseptör üzerinden etki eden yohimbin ve klonidin, vücutta olduğu gibi beyinde de astrosit enerji metabolizmasını glikojenoliz ve glikojen sentezi üzerinden etkileyebilir.

Klonidin ve yohimbinin KYD uyarılma eşiği üzerine olan etkisinin, bu ajanların periferik etkileri ile arter kan basıncı ve nabız sayısını değiştirerek doku kanlanmasını etkilemelerinden kaynaklandığı düşünülebilir ancak bu tez çalışmasında DC potansiyel kayıtları sırasında farelerin nabız sayısı ve oksijen saturasyonlarının normal sınırlarda seyrettiği görülmüştür. Dolayısı ile yohimbin ve klonidinin etkisinin bu periferik etkilerden kaynaklanmadığı düşünülmektedir. Yine de ileri çalışmalarda bu ajanların intraserebroventriküler olarak verilmesi bu kısıtlılığı ortadan kaldırabilir.

Bu tez çalışmasında stres yazınında norepinefrinin etkisinin gözlenebilmesi için sıklıkla $\alpha 2$ adrenerjik reseptör sisteminin incelenmesi nedeni ile $\alpha 2$ adrenerjik reseptörlere odaklanılmıştır (243-248). $\alpha 1$ adrenerjik reseptörler de beyinde yaygın olarak bulunmaktadır ve glutamat geri alımı, hücre içi Ca^{+2} seviyelerinin artışı gibi KYD uyarılma eşiği ile ilişkili olabilecek mekanizmalar da rol almaktadır (308). İleri çalışmalarda fentolamin gibi bir $\alpha 1$ adrenerjik reseptör blokörü kullanarak da stresin KYD uyarılma eşiği üzerine olan etkisinin incelenmesinde fayda olabilir. Yine HPA eksenini başlatan ana molekül olan ve glukokortikoid etkisinden bağımsız olarak kendisi de bir nörotransmitter görevi görüp beynin pituitary bez dışında lokus seruleus gibi önemli bölgelerini de uyarabilen CRH da akut stresin etkisinden sorumlu olabilir (152-167). CRH antagonistlerinin etkisi de ileri çalışmalarda incelenebilir. Sıklıkla kronik stresin etkisini geri çevirebildiği gösteren serotonin geri alım inhibitörlerinin uygulanması da ileri çalışmalarda fikir verebilir.

5.2.4. Çalışma Sırasında Karşılaşılan Sorunlar ve Çözümleri

Tez çalışması süresince yürütülen deneylerin hepsi aynı zamanda yapılamamıştır. Yöntemde belirtilen akut stres uygulaması ve ardından DC potansiyel kayıtlarının alınması bir fare için en az 2-3 saat zaman almaktadır. Bunun yanı sıra bu tez çalışması için hazırlanan farelerin laboratuvarındaki cerrahi uygulanan fareler, iyi beslenemeyen fareler ve sıçanlarla aynı ortamda kalmasının stres etkisi yaratabilmesi nedeni ile en fazla 6 kafes konulabilen fare dolabında tutulmaları gerekmiştir. Bu durum bir hafta içinde en fazla 24 fare deneyinin yapılabilmesine izin vermiştir. Bu kısıtlılığın önüne geçmek için deney haftalarında bir kontrol fare deneyinin de olması ve eşiğin 0.15 M KCl olarak saptanmasına dikkat edilmiştir.

Bu çalışmada stresin KYD uyarılma eşiği ile ilişkisinin mekanizmaları akut stres modeli üzerinde test edilmiştir. Kronik stresin KYD uyarılma eşiği ile ilişkisi farklı mekanizmalarla ilişkili olabilir. Akut stres modeli üzerinde olası mekanizmalar test edildikten sonra kronik stres modelinde de olası mekanizmaların çalışılabileceği dūřünölmüřtür.

İlaçların intraperitoneal olarak uygulanması sistemik etkilere de neden olabilir, ancak intraserebroventriköler uygulamanın bazı sakıncaları olabileceği dūřünölerek bu yola karar verilmiştir.

6. SONUÇ

- Kronik stres KYD uyarılma eşiğini düşürmektedir. Ancak bulgularımız bu etkinin stresin şiddeti ve kontrol edilebilirliği ile ilişkili olduğunu göstermektedir.
- Akut stres KYD uyarılma eşiğini düşürmektedir ve bu etki en az 24 saat sürmektedir.
- Bulgularımız stresin klinik çalışmalarda bildirilen, migren ağrısını tetikleyici etkisini KYD uyarılma eşiğini düşürerek gösterebileceğini düşündürmektedir.
- Yohimbinin akut stresin etkisi ile azalan KYD uyarılma eşiğini yükseltmesi, klonidinin ise eşiği düşürmesi akut stresin KYD uyarılma eşiği üzerindeki etkisine α_2 adrenerjik reseptörlerin aracılık ettiğini düşündürmektedir.
- Glukokortikoid reseptör antagonisti olan mifepriston ve β adrenerjik reseptör blokörü olan propranolol akut stresin KYD uyarılma eşiği üzerine olan etkilerini değiştirmemiştir. Bu da akut stresin KYD uyarılma eşiği üzerindeki etkilerine glukokortikoid reseptörlerinin ve β adrenerjik reseptörün aracılık etmediğini göstermektedir.
- Gelecekte yapılacak çalışmalarda DSP-4 gibi lokus seruleus denervasyonu sağlayan bir ajan kullanılarak yohimbin ve klonidinin KYD uyarılma eşiği üzerine olan etkisinin norepinefrin seviyelerinin artışından mı yoksa azalmasından mı kaynaklandığı daha net olarak açıklığa kavuşturabilir. Ayrıca α_1 adrenerjik reseptörler, CRH reseptörleri ve serotonerjik sistemleri hedefleyen ajanların akut stresin KYD uyarılma eşiği üzerine olan etkisi ile olan ilişkisi de ileri çalışmalarda incelenebilir.
- Bu çalışmada kronik stresin KYD uyarılma eşiği üzerine olan etkisinin olası mekanizmaları incelenmemiştir. Bu etki akut stresten farklı mekanizmalar ile ilişkili olabilir. Bunun gelecekteki çalışmalarda ele alınması konuya açıklık getirebilir.

KAYNAKLAR

1. Ropper A.H., Brown R.H. (2006). *Adam's and Victor's Principles of Neurology*. (M.Emre, Çev). Güneş Kitabevi (2006).
2. Ward, T. N. (2012). Migraine diagnosis and pathophysiology. *CONTINUUM: Lifelong Learning in Neurology*, 18(4), 753-763.
3. Lipton, R. B. ve Bigal, M. E. (2005). Migraine: epidemiology, impact, and risk factors for progression. *Headache: The Journal of Head and Face Pain*, 45(1), 3-13.
4. Rasmussen, B. K. (1995). Epidemiology of migraine. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 49(10), 452-455.
5. Huang, G. B., Yao, L. T., Hou, J. X., Zhang, Z. J., Xin, Y. T., Wu, X. Y., Lu G. Y., Chen Z.Q. ve Huang, J. P. (2013). Epidemiology of migraine in the She ethnic minority group in Fujian province, China. *Neurological Research*, 35(7), 684-692.
6. Morillo, L. E., Alarcon, F., Aranaga, N., Aulet, S., Chapman, E., Conterno, L., Estevez, E., Garcia-Pedroza, F., Garrido, J., Macias-Islas, M., Monzillo, P., Nunez, L., Plascencia, N., Rodriguez, C., Takeuchi, Y. ve Latin American Migraine Study Group. (2005). Prevalence of migraine in Latin America. *Headache: The Journal of Head and Face Pain*, 45(2), 106-117.
7. Lipton, R. B., Scher, A. I., Kolodner, K., Liberman, J., Steiner, T. J. ve Stewart, W. F. (2002). Migraine in the United States epidemiology and patterns of health care use. *Neurology*, 58(6), 885-894.
8. Zencir, M., Ergin, H., Şahiner, T., Kılıç, İ., Alkış, E., Özdel, L., Gürses, D. ve Ergin, A. (2004). Epidemiology and symptomatology of migraine among school children: Denizli urban area in Turkey. *Headache: The Journal of Head and Face Pain*, 44(8), 780-785.
9. Stewart, W. F., Wood, C., Reed, M. L., Roy, J. ve Lipton, R. B. (2008). Cumulative lifetime migraine incidence in women and men. *Cephalalgia*, 28(11), 1170-1178.
10. Lantéri-Minet, M., Duru, G., Mudge, M. ve Cottrell, S. (2011). Quality of life impairment, disability and economic burden associated with chronic daily

- headache, focusing on chronic migraine with or without medication overuse: a systematic review. *Cephalalgia*, 31(7), 837-850.
11. Negro, A., D'Alonzo, L. ve Martelletti, P. (2010). Chronic migraine: comorbidities, risk factors, and rehabilitation. *Internal and Emergency Medicine*, 5(1), 13-19.
 12. Nash J. M. ve Thebarg R. W. (2006). Understanding psychological stress, its biological processes and impact on primary headache. *Headache*, 46(9), 1377-1386
 13. Levy, D., Strassman, A. M. ve Burstein, R. (2009). A critical view on the role of migraine triggers in the genesis of migraine pain. *Headache: The Journal of Head and Face Pain*, 49(6), 953-957.
 14. Lipton, R. B. ve Bigal, M. E. (2007). Ten lessons on the epidemiology of migraine. *Headache: The Journal of Head and Face Pain*, 47(s1), S2-S9.
 15. Scher, A. I., Stewart, W. F., Ricci, J. A., ve Lipton, R. B. (2003). Factors associated with the onset and remission of chronic daily headache in a population-based study. *Pain*, 106(1), 81-89.
 16. Katsarava, Z., Schneeweiss, S., Kurth, T., Kroener, U., Fritsche, G., Eikermann, A., Diener, H.C. ve Limmroth, V. (2004). Incidence and predictors for chronicity of headache in patients with episodic migraine. *Neurology*, 62(5), 788-790.
 17. Silberstein, S., Diener, H. C., Lipton, R., Goadsby, P., Dodick, D., Bussone, G., Freitag, F., Schwalen, S., Ascher, S., Morein, J., Greenberg, S., Biondi, D. ve Hulihan, J. (2008). Epidemiology, risk factors, and treatment of chronic migraine: a focus on topiramate. *Headache: The Journal of Head and Face Pain*, 48(7), 1087-1095.
 18. Bigal, M. E., ve Lipton, R. B. (2006). Modifiable risk factors for migraine progression. *Headache: The Journal of Head and Face Pain*, 46(9), 1334-1343.
 19. Moloney, M. F. ve Johnson, C. J. (2011). Migraine headaches: diagnosis and management. *Journal of Midwifery & Women's Health*, 56(3), 282-292.
 20. Holm, J. E., Lokken, C. ve Myers, T. C. (1997). Migraine and stress: a daily examination of temporal relationships in women migraineurs. *Headache: The Journal of Head and Face Pain*, 37(9), 553-558.

21. De Benedittis, G., Lorenzetti, A. ve Fieri, A. (1990). The role of stressful life events in the onset of chronic primary headache. *Pain*, 40(1), 65-75.
22. Hauge, A. W., Kirchmann, M. ve Olesen, J. (2010). Trigger factors in migraine with aura. *Cephalalgia*, 30(3), 346-353.
23. Hansen, J. M., Hauge, A. W., Ashina, M. ve Olesen, J. (2011). Trigger factors for familial hemiplegic migraine. *Cephalalgia*, 31(12), 1274-1281.
24. Baskin, S. M. ve Smitherman, T. A. (2011). Comorbidity between migraine and depression: update on traditional and alternative treatments. *Neurological Sciences*, 32(1), 9-13.
25. Beghi, E., Allais, G., Cortelli, P., D'Amico, D., De Simone, R., d'Onofrio, F., Genco S., Manzoni G. C., Moschiano F, Tonini M. C., Torelli P., Quartaroli M., Roncolato M., Salvi S. ve Bussone G. (2007). Headache and anxiety–depressive disorder comorbidity: the HADAS study. *Neurological Sciences*, 28(2), S217-S219.
26. Beghi, E., Bussone, G., D'Amico, D., Cortelli, P., Cevoli, S., Manzoni, G. C., Torelli, P., Tonini, M.C., Allais, G., De Simone, R., D'Onofrio, F., Genco, S., Moschiano, F., Beghi, M. ve Salvi, S. (2010). Headache, anxiety and depressive disorders: the HADAS study. *The Journal of Headache and Pain*, 11(2), 141-150.
27. Antonaci, F., Nappi, G., Galli, F., Manzoni, G. C., Calabresi, P. ve Costa, A. (2011). Migraine and psychiatric comorbidity: a review of clinical findings. *The Journal of Headache and Pain*, 12(2), 115-125.
28. Molgat, C. V. ve Patten, S. B. (2005). Comorbidity of major depression and migraine-a Canadian population-based study. *Canadian Journal of Psychiatry*, 50 (13), 832-837.
29. Baskin, S. M. ve Smitherman, T. A. (2009). Migraine and psychiatric disorders: comorbidities, mechanisms, and clinical applications. *Neurological Sciences*, 30 (1), 61-65.
30. Samaan, Z., Farmer, A., Craddock, N., Jones, L., Korszun, A., Owen, M. ve McGuffin, P. (2009). Migraine in recurrent depression: case–control study. *The British Journal of Psychiatry*, 194(4), 350-354.

31. Stam, A. H., De Vries, B., Janssens, A. C. J. W., Vanmolkot, K. R. J., Aulchenko, Y. S., Henneman, P., Oostra, B.A., Frants, R.R., van den Maagdenberg, A.M., Ferrari, M.D., van Duijn, C.M. ve Terwindt, G. M. (2010). Shared genetic factors in migraine and depression Evidence from a genetic isolate. *Neurology*, 74(4), 288-294.
32. Schur, E. A., Noonan, C., Buchwald, D., Goldberg, J. ve Afari, N. (2009). A twin study of depression and migraine: evidence for a shared genetic vulnerability. *Headache: The Journal of Head and Face Pain*, 49(10), 1493-1502.
33. Carrasco, G. A. ve Van de Kar, L. D. (2003). Neuroendocrine pharmacology of stress. *European Journal of Pharmacology*, 463(1), 235-272.
34. Pruessner, J. C., Dedovic, K., Pruessner, M., Lord, C., Buss, C., Collins, L., Dagher, A. ve Lupien, S. J. (2010). Stress regulation in the central nervous system: evidence from structural and functional neuroimaging studies in human populations -2008 Curt Richter Award Winner. *Psychoneuroendocrinology*, 35(1), 179-191.
35. Lashley, K. S. (1941). Patterns of cerebral integration indicated by the scotomas of migraine. *Archives of Neurology and Psychiatry*, 46(2), 331-339.
36. Leao, A. A. (1944). Spreading depression of activity in the cerebral cortex. *Journal of Neurophysiology*, 7, 159-390.
37. Olesen, J., Larsen, B. ve Lauritzen, M. (1981). Focal hyperemia followed by spreading oligemia and impaired activation of rCBF in classic migraine. *Annals of Neurology*, 9(4), 344-352.
38. Lauritzen, M., Jørgensen, M. B., Diemer, N. H., Gjedde, A. ve Hansen, A. J. (1982). Persistent oligemia of rat cerebral cortex in the wake of spreading depression. *Annals of Neurology*, 12(5), 469-474.
39. Olesen, J., Friberg, L., Olsen, T. S., Iversen, H. K., Lassen, N. A., Andersen, A. R. ve Karle, A. (1990). Timing and topography of cerebral blood flow, aura, and headache during migraine attacks. *Annals of Neurology*, 28(6), 791-798.
40. Hadjikhani, N., del Rio, M. S., Wu, O., Schwartz, D., Bakker, D., Fischl, B., Kwong, K.K., Cutrer, F.M., Rosen, B.R., Tootell, R.B., Sorensen, A.G. ve Moskowitz, M. A. (2001). Mechanisms of migraine aura revealed by

- functional MRI in human visual cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(8), 4687-4692.
41. Afridi, S. K., Matharu, M. S., Lee, L., Kaube, H., Friston, K. J., Frackowiak, R. S. J. ve Goadsby, P. J. (2005). A PET study exploring the laterality of brainstem activation in migraine using glyceryl trinitrate. *Brain*, 128(4), 932-939.
 42. Grafstein, B. (2011). Subverting the hegemony of the synapse: Complicity of neurons, astrocytes, and vasculature in spreading depression and pathology of the cerebral cortex. *Brain Research Reviews*, 66 (1), 123-132.
 43. Zhang, X., Levy, D., Nosedá, R., Kainz, V., Jakubowski, M. ve Burstein, R. (2010). Activation of meningeal nociceptors by cortical spreading depression: implications for migraine with aura. *The Journal of Neuroscience*, 30 (26), 8807-8814.
 44. Lambert, G. A., Truong, L., ve Zagami, A. S. (2011). Effect of cortical spreading depression on basal and evoked traffic in the trigeminovascular sensory system. *Cephalalgia*, 31(14), 1439-1451.
 45. Pesa, J. ve Lage, M. J. (2004). The medical costs of migraine and comorbid anxiety and depression. *Headache: The Journal of Head and Face Pain*, 44(6), 562-570.
 46. Pringsheim, T, Davenport, W., Mackie, G., Worthington, I., Aube, M., Christie, S. N., Gladstone, J., ve Becker, W. J. (2012). Canadian Headache Society guideline for migraine prophylaxis. *Canadian Journal of Neurological Sciences*, 39(2 Suppl 2), S1-S59.
 47. Moja, P. L., Cusi, C., Sterzi, R. R., ve Canepari, C. (2005). Selective serotonin re-uptake inhibitors (SSRIs) for preventing migraine and tension-type headaches. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 3: CD002919.
 48. Modgill, G., Jette, N., Wang, J. L., Becker, W. J. ve Patten, S. B. (2012). A Population - Based Longitudinal Community Study of Major Depression and Migraine. *Headache: The Journal of Head and Face Pain*, 52(3), 422-432.
 49. Swanson, S. A., Zeng, Y., Weeks, M. ve Colman, I. (2013). The contribution of stress to the comorbidity of migraine and major depression: results from a prospective cohort study. *BMJ Open*, 3(3). doi: 10.1136/bmjopen-2012-002057.

50. Tietjen, G. E., Brandes, J. L., Peterlin, B. L., Eloff, A., Dafer, R. M., Stein, M. R., Drexler, E., Martin, V.T., Hutchinson, S., Aurora, S.K., Recober, A., Herial, N.A., Utley, C., White, L. ve Khuder, S. A. (2010). Childhood maltreatment and migraine (part II). Emotional abuse as a risk factor for headache chronification. *Headache: The Journal of Head and Face Pain*, 50(1), 32-41.
51. Peterlin, B. L., Tietjen, G. E., Brandes, J. L., Rubin, S. M, Drexler, E., Lidicker, J. R. ve Meng, S. (2009). Posttraumatic stress disorder in migraine. *Headache: The Journal of Head and Face Pain*, 49(4), 541-551.
52. Maleki, N., Becerra, L. ve Borsook, D. (2012). Migraine: maladaptive brain responses to stress. *Headache: The Journal of Head and Face Pain*, 52(s2), 102-106.
53. Borsook, D., Maleki, N., Becerra, L. ve McEwen, B. (2012). Understanding migraine through the lens of maladaptive stress responses: a model disease of allostatic load. *Neuron*, 73(2), 219-234.
54. Tfelt - Hansen, P. C. ve Koehler, P. J. (2011). One hundred years of migraine research: major clinical and scientific observations from 1910 to 2010. *Headache: The Journal of Head and Face Pain*, 51(5), 752-778.
55. Karatas, H., Erdener, S. E., Gursoy-Ozdemir, Y., Lule, S., Eren-Koçak, E., Sen, Z. D. ve Dalkara, T. (2013). Spreading Depression Triggers Headache by Activating Neuronal Panx1 Channels. *Science*, 339(6123), 1092-1095.
56. Ray, B. S. ve Wolff, H. G. (1940). Experimental studies on headache pain-sensitive structures of the head and their significance in headache. *Archives of Surgery*, 41(4), 813-856.
57. Graham, J. R. ve Wolff, H. G. (1938). Mechanism of migraine headache and action of ergotamine tartrate. *Archives of Neurology & Psychiatry*, 39(4), 737-763.
58. Costa, C., Tozzi, A., Rainero, I., Cupini, L. M., Calabresi, P., Ayata, C. ve Sarchielli, P. (2013). Cortical spreading depression as a target for anti-migraine agents. *The Journal of Headache and Pain*, 14(1), 1-18.
59. Nosedá, R. ve Burstein, R. (2013). Migraine pathophysiology: Anatomy of the trigeminovascular pathway and associated neurological symptoms, cortical spreading depression, sensitization, and modulation of pain. *Pain, Advance*

online publication. doi: 10.1016/j.pain.2013.07.021.

60. Asghar, M. S., Hansen, A. E., Amin, F. M., van der Geest, R. J., Koning, P. V. D., Larsson, H. B., Olesen, J. ve Ashina, M. (2011). Evidence for a vascular factor in migraine. *Annals of Neurology*, 69(4), 635-645.
61. Jansen, I., Uddman, R., Ekman, R., Olesen, J., Ottosson, A. ve Edvinsson, L. (1992). Distribution and effects of neuropeptide Y, vasoactive intestinal peptide, substance P, and calcitonin gene-related peptide in human middle meningeal arteries: comparison with cerebral and temporal arteries. *Peptides*, 13(3), 527-536.
62. Moskowitz, M. A. (1984). The neurobiology of vascular head pain. *Annals of Neurology*, 16(2), 157-168.
63. Moskowitz, M. A. ve Macfarlane, R. (1993). Neurovascular and molecular mechanisms in migraine headaches. *Cerebrovascular and brain metabolism reviews*, 5(3), 159-77.
64. Raddant, A. C. ve Russo, A. F. (2011). Calcitonin gene-related peptide in migraine: intersection of peripheral inflammation and central modulation. *Expert Reviews in Molecular Medicine*, 13, 36.
65. Levy, D. (2009). Migraine pain, meningeal inflammation, and mast cells. *Current Pain and Headache Reports*, 13(3), 237-240.
66. Levy, D., Burstein, R. ve Strassman, A. M. (2006). Mast cell involvement in the pathophysiology of migraine headache: A hypothesis. *Headache: The Journal of Head and Face Pain*, 46(1), 13-18.
67. Williamson, D. J. ve Hargreaves, R. J. (2001). Neurogenic inflammation in the context of migraine. *Microscopy Research and Technique*, 53(3), 167-178.
68. Goadsby, P. J., Lipton R. B. ve Ferrari M. D. (2002). Migraine-current understanding and treatment. *The New England Journal of Medicine*, 346(4), 257-270.
69. Kagan, R., Kainz, V., Burstein, R. ve Nosedá, R. (2013). Hypothalamic and basal ganglia projections to the posterior thalamus: Possible role in modulation of migraine headache and photophobia. *Neuroscience*, 248, 359-368.

70. Goadsby, P. J., Edvinsson, L. ve Ekman, R. (1990). Vasoactive peptide release in the extracerebral circulation of humans during migraine headache. *Annals of Neurology*, 28(2), 183-187.
71. Brennan, K. C. ve Charles, A. (2010). An update on the blood vessel in migraine. *Current Opinion in Neurology*, 23(3), 266-274.
72. Iwashita, T., Shimizu, T., Shibata, M., Toriumi, H., Ebine, T., Funakubo, M. ve Suzuki, N. (2013). Activation of extracellular signal-regulated kinase in the trigeminal ganglion following both treatment of the dura mater with capsaicin and cortical spreading depression. *Neuroscience Research*. Advance online publication. doi: 10.1016/j.neures.2013.08.001.
73. Leo, L., Gherardini, L., Barone, V., De Fusco, M., Pietrobon, D., Pizzorusso, T. ve Casari, G. (2011). Increased susceptibility to cortical spreading depression in the mouse model of familial hemiplegic migraine type 2. *PLoS Genetics*, 7(6), e1002129.
74. Di Lorenzo C., Grieco G.S., Santorelli F. M. (2012). Migraine headache: a review of the molecular genetics of a common disorder. *Journal of Headache and Pain*, 13(7):571-580.
75. Tozzi, A., de Iure, A., Di Filippo, M., Costa, C., Caproni, S., Pisani, A., Bonsi, P., Picconi, B., Cupini, L.M., Materazzi, S., Geppetti, P., Sarchielli, P. ve Calabresi, P. (2012). Critical role of calcitonin gene-related peptide receptors in cortical spreading depression. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(46), 18985-18990.
76. Bolay, H., Reuter, U., Dunn, A. K., Huang, Z., Boas, D. A. ve Moskowitz, M. A. (2002). Intrinsic brain activity triggers trigeminal meningeal afferents in a migraine model. *Nature Medicine*, 8(2), 136-142.
77. Somjen, G. G. (2001). Mechanisms of spreading depression and hypoxic spreading depression-like depolarization. *Physiological Reviews*, 81(3), 1065-1096.
78. Gursoy-Ozdemir, Y., Qiu, J., Matsuoka, N., Bolay, H., Bempohl, D., Jin, H., Wang, X., Rosenberg, G.A., Lo, E.H. ve Moskowitz, M. A. (2004). Cortical spreading depression activates and upregulates MMP-9. *Journal of Clinical Investigation*, 113(10), 1447-1455.

79. Richter, F., Mikulik, O., Ebersberger, A. ve Schaible, H. G. (2005). Noradrenergic agonists and antagonists influence migration of cortical spreading depression in rat—a possible mechanism of migraine prophylaxis and prevention of postischemic neuronal damage. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 25(9), 1225-1235.
80. Busija, D. W., Bari, F., Domoki, F., Horiguchi, T. ve Shimizu, K. (2008). Mechanisms involved in the cerebrovascular dilator effects of cortical spreading depression. *Progress in Neurobiology*, 86(4), 417-433.
81. Duckrow, R. B. (1991). Regional cerebral blood flow during spreading cortical depression in conscious rats. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 11(1), 150-154.
82. Wahl, M., Lauritzen, M. ve Schilling, L. (1987). Change of cerebrovascular reactivity after cortical spreading depression in cats and rats. *Brain Research*, 411(1), 72-80.
83. Akerman, S., Holland, P. R. ve Goadsby, P. J. (2008). Mechanically-induced cortical spreading depression associated regional cerebral blood flow changes are blocked by Na ion channel blockade. *Brain Research*, 1229, 27-36.
84. Tuckwell, H. C. ve Hermansen, C. L. (1981). Ion and transmitter movements during spreading cortical depression. *International Journal of Neuroscience*, 12(2), 109-135.
85. Kager, H., Wadman, W. J. ve Somjen, G. G. (2002). Conditions for the triggering of spreading depression studied with computer simulations. *Journal of Neurophysiology*, 88(5), 2700-2712.
86. Martins-Ferreira, H., Nedergaard, M. ve Nicholson, C. (2000). Perspectives on spreading depression. *Brain Research Reviews*, 32(1), 215-234.
87. Zandt, B. J., ten Haken, B., van Dijk, J. G. ve van Putten, M. J. (2011). Neural dynamics during anoxia and the “Wave of Death”. *PloS One*, 6(7), e22127.
88. Zandt, B. J., ten Haken, B. ve van Putten, M. J. (2013). Diffusing Substances during Spreading Depolarization: Analytical Expressions for Propagation Speed, Triggering, and Concentration Time Courses. *The Journal of Neuroscience*, 33(14), 5915-5923.

89. Florence, G., Dahlem, M. A., Almeida, A. C. G., Bassani, J. W. ve Kurths, J. (2009). The role of extracellular potassium dynamics in the different stages of ictal bursting and spreading depression: a computational study. *Journal of Theoretical Biology*, 258(2), 219-228.
90. Vanmolkot, K. R., Kors, E. E., Turk, U., Turkdogan, D., Keyser, A., Broos, L. A., Kia, S.K., van den Heuvel, J.J., Black, D.F., Haan, J., Frants, R.R., Barone, V., Ferrari, M.D., Casari, G., Koenderink, J.B. ve van den Maagdenberg, A. M. (2006). Two de novo mutations in the Na, K-ATPase gene ATP1A2 associated with pure familial hemiplegic migraine. *European Journal of Human Genetics*, 14(5), 555-560.
91. Hoffmann, U., Dileköz, E., Kudo, C. ve Ayata, C. (2010). Gabapentin suppresses cortical spreading depression susceptibility. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 30(9), 1588-1592.
92. Ophoff, R. A., Terwindt, G. M. Vergouwe, M. N., van Eijk, R., Oefner, P. J., Hoffman, S. M., Lamerdin, J.E., Mohrenweiser, H.W., Bulman, D.E., Ferrari, M., Haan J., Lindhout, D., van Ommen, G.J., Hofker, M.H., Ferrari, M.D., Frants, R.R. ve Frants, R. R. (1996). Familial Hemiplegic Migraine and Episodic Ataxia Type-2 Are Caused by Mutations in the Ca^{+2} Channel Gene CACNL1A4. *Cell*, 87(3), 543-552.
93. Cao, Y. Q. (2006). Voltage-gated calcium channels and pain. *Pain*, 126(1), 5-9.
94. Ertel, E. A., Campbell, K. P., Harpold, M. M., Hofmann, F., Mori, Y., Perez-Reyes, E., Schwartz, A., Snutch, T.P., Tanabe, T., Birnbaumer, L., Tsien, R.W. ve Catterall, W. A. (2000). Nomenclature of voltage-gated calcium channels. *Neuron*, 25(3), 533-535.
95. Richter, F., Ebersberger, A. ve Schaible, H. G. (2002). Blockade of voltage-gated calcium channels in rat inhibits repetitive cortical spreading depression. *Neuroscience Letters*, 334(2), 123-126.
96. Tottene, A., Urbani, A. ve Pietrobon, D. (2011). Role of different voltage-gated Ca^{2+} channels in cortical spreading depression: specific requirement of P/Q-type Ca^{2+} channels. *Channels*, 5(2), 110-114.

97. Ayata, C., Jin, H., Kudo, C., Dalkara, T. ve Moskowitz, M. A. (2006). Suppression of cortical spreading depression in migraine prophylaxis. *Annals of Neurology*, 59(4), 652-661.
98. Lauritzen, M. ve Hansen, A. J. (1992). The effect of glutamate receptor blockade on anoxic depolarization and cortical spreading depression. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 12(2), 223-229.
99. Nellgård, B. ve Wieloch, T. (1992). NMDA - receptor blockers but not NBQX, an AMPA - receptor antagonist, inhibit spreading depression in the rat brain. *Acta Physiologica Scandinavica*, 146(4), 497-503.
100. Marrannes, R., Willems, R., De Prins, E. ve Wauquier, A. (1988). Evidence for a role of the N-methyl-d-aspartate (NMDA) receptor in cortical spreading depression in the rat. *Brain Research*, 457(2), 226-240.
101. Lenti, L., Domoki, F., Gáspár, T., Snipes, J.A., Bari, F. ve Busija, D.W. (2009). N-methyl-D-aspartate induces cortical hyperemia through cortical spreading depression-dependent and -independent mechanisms in rats. *Microcirculation*, 16(7), 629-639.
102. Pellerin, L. ve Magistretti, P. J. (2011). Sweet sixteen for ANLS. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 32(7), 1152-1166.
103. de Lima, D. S. C., de Seixas Maia, L. M. S., de Almeida Duarte, R., de Souza, L. S. ve Guedes, R. C. A. (2009). l-Glutamine supplementation during the lactation period facilitates cortical spreading depression in well-nourished and early-malnourished rats. *Life Sciences*, 85(5), 241-247.
104. Southwell, N., Williams, J. D. ve Mackenzie, I. (1964). Methysergide in the prophylaxis of migraine. *The Lancet*, 283(7332), 523-524.
105. Pedersen, E. ve Moller, C. E. (1965). Methysergide in migraine prophylaxis. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 7(4), 520-526.
106. Ferrari, M. D., Odink, J., Tapparelli, C., Van Kempen, G. M. J., Pennings, E. J. M. ve Bruyn, G. W. (1989). Serotonin metabolism in migraine. *Neurology*, 39(9), 1239-1239.
107. Hering, R., Glover, V., Pattichis, K., Catarci, T. ve Steiner, T. J. (1993). 5HT in migraine patients with medication - induced headache. *Cephalalgia*, 13(6), 410-412.

108. Sakai, Y., Dobson, C., Diksic, M., Aube, M. ve Hamel, E. (2008). Sumatriptan normalizes the migraine attack-related increase in brain serotonin synthesis. *Neurology*, 70(6), 431-439.
109. Supornsilpchai, W., Sanguanrangsirikul, S., Maneesri, S. ve Srikiatkachorn, A. (2006). Serotonin depletion, cortical spreading depression, and trigeminal nociception. *Headache: The Journal of Head and Face Pain*, 46(1), 34-39.
110. le Grand, S. M., Supornsilpchai, W., Saengjaroentharn, C. ve Srikiatkachorn, A. (2011). Serotonin depletion leads to cortical hyperexcitability and trigeminal nociceptive facilitation via the nitric oxide pathway. *Headache: The Journal of Head and Face Pain*, 51(7), 1152-1160.
111. Maneesri, S. (2011). Effect of serotonin depletion on cortical spreading depression evoked cerebrovascular changes. *Asian Biomedicine (Research Reviews and News)*, 4(5), 731-738.
112. Bélanger, M., Allaman, I. ve Magistretti, P. J. (2011). Brain energy metabolism: focus on astrocyte-neuron metabolic cooperation. *Cell Metabolism*, 14(6), 724-738.
113. Pellerin, L., Bouzier - Sore, A. K., Aubert, A., Serres, S., Merle, M., Costalat, R. ve Magistretti, P. J. (2007). Activity - dependent regulation of energy metabolism by astrocytes: an update. *Glia*, 55(12), 1251-1262.
114. Nedergaard, M. ve Astrup, J. (1986). Infarct rim: effect of hyperglycemia on direct current potential and [14C] 2-deoxyglucose phosphorylation. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 6(5), 607-615.
115. Gido, G., Katsura, K., Kristian, T. ve Siesjo, B. K. (1993). Influence of plasma glucose concentration on rat brain extracellular calcium transients during spreading depression. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 13(1), 179-182.
116. Hoffmann, U., Sukhotinsky, I., Eikermann-Haerter, K. ve Ayata, C. (2012). Glucose modulation of spreading depression susceptibility. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*.
117. Batista-de-Oliveira, M., Monte-Silva-Machado, K. K., Paiva, A. K., Lima, H., Fregni, F. ve Guedes, R. C. A. (2012). Favorable and unfavorable lactation

- modulates the effects of electrical stimulation on brain excitability: A spreading depression study in adult rats. *Life Sciences*, 91, 306-311.
118. Amancio-dos-Santos, A., Maia, L. M. S. D. S., Germano, P. C. P. D. S., Negrão, Y. D. D. S. ve Guedes, R. C. A. (2013). Tianeptine facilitates spreading depression in well-nourished and early-malnourished adult rats. *European Journal of Pharmacology*, 706, 70-75.
 119. Seidel, J. L. ve Shuttleworth, C. W. (2011). Contribution of astrocyte glycogen stores to progression of spreading depression and related events in hippocampal slices. *Neuroscience*, 192, 295-303.
 120. Costa-Cruz, R. R. G. ve Guedes, R. C. A. (2001). Cortical spreading depression during streptozotocin-induced hyperglycaemia in nutritionally normal and early-malnourished rats. *Neuroscience Letters*, 303(3), 177-180.
 121. Batinga, H., Barbosa, P. P. D. P. ve Ximenes-da-Silva, A. (2011). Daytime modulation of cortical spreading depression according to blood glucose levels. *Neuroscience Letters*, 491(1), 58-62.
 122. Ximenes-da-Silva, A. ve Guedes, R. C. (1990). Differential effect of changes in blood glucose levels on the velocity of propagation of cortical spreading depression in normal and malnourished rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 24(12), 1277-1281.
 123. Sukhotinsky, I., Dilekoz, E., Moskowitz, M. A. ve Ayata, C. (2008). Hypoxia and hypotension transform the blood flow response to cortical spreading depression from hyperemia into hypoperfusion in the rat. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 28(7), 1369-1376.
 124. Takano, T., Tian, G. F., Peng, W., Lou, N., Lovatt, D., Hansen, A. J., Kasischke, K.A. ve Nedergaard, M. (2007). Cortical spreading depression causes and coincides with tissue hypoxia. *Nature Neuroscience*, 10(6), 754-762.
 125. Haghiri, H., Kovacs, S., Speckmann, E. J., Zilles, K. ve Gorji, A. (2009). Patterns of neurotransmitter receptor distributions following cortical spreading depression. *Neuroscience*, 163(4), 1340-1352.
 126. Li, B., Zhou, F., Luo, Q. ve Li, P. (2012). Altered resting-state functional connectivity after cortical spreading depression in mice. *Neuroimage*, 63(3), 1171-1177.

127. McEwen, B. S. (1998). Stress, adaptation, and disease: Allostasis and allostatic load. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 840(1), 33-44.
128. Droogleever Fortuyn, H. A., van Broekhoven, F., Span, P. N., Bäckström, T., Zitman, F. G. ve Verkes, R. J. (2004). Effects of PhD examination stress on allopregnanolone and cortisol plasma levels and peripheral benzodiazepine receptor density. *Psychoneuroendocrinology*, 29(10), 1341-1344.
129. Dickerson, S. S. ve Kemeny, M. E. (2004). Acute stressors and cortisol responses: a theoretical integration and synthesis of laboratory research. *Psychological Bulletin*, 130(3), 355-391.
130. Dickerson, S. S., Mycek, P. J. ve Zaldivar, F. (2008). Negative social evaluation, but not mere social presence, elicits cortisol responses to a laboratory stressor task. *Health Psychology*, 27(1), 116-121.
131. Kudielka, B. M., Hellhammer, D. H. ve Wüst, S. (2009). Why do we respond so differently? Reviewing determinants of human salivary cortisol responses to challenge. *Psychoneuroendocrinology*, 34(1), 2-18.
132. Kaminski K.L ve Watts A.G. (2012). Intact catecholamine inputs to the forebrain are required for appropriate regulation of corticotrophin-releasing hormone and vasopressin gene expression by corticosterone in the rat paraventricular nucleus. *Journal of Neuroendocrinology*, 24(12), 1517-26.
133. Herman, J. P., Figueiredo, H., Mueller, N. K., Ulrich-Lai, Y., Ostrander, M. M., Choi, D. C. ve Cullinan, W. E. (2003). Central mechanisms of stress integration: hierarchical circuitry controlling hypothalamo-pituitary-adrenocortical responsiveness. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 24(3), 151-180.
134. Herman, J. P., Ostrander, M. M., Mueller, N. K. Ve Figueiredo, H. (2005). Limbic system mechanisms of stress regulation: hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 29(8), 1201-1213.
135. Feldman, S. ve Conforti, N. (1985). Modifications of adrenocortical responses following frontal cortex simulation in rats with hypothalamic deafferentations and medial forebrain bundle lesions. *Neuroscience*, 15(4), 1045-1047.

136. Feldman, S., Saphier, D. ve Conforti, N. (1987). Hypothalamic afferent connections mediating adrenocortical responses that follow hippocampal stimulation. *Experimental Neurology*, 98(1), 103-109.
137. Feldman, S., Siegel, R. A. ve Conforti, N. (1983). Differential effects of medial forebrain bundle lesions on adrenocortical responses following limbic stimulation. *Neuroscience*, 9(1), 157-163.
138. Feldman, S., Conforti, N. ve Siegel, R. A. (1982). Adrenocortical responses following limbic stimulation in rats with hypothalamic deafferentations. *Neuroendocrinology*, 35(3), 205-211.
139. Erkut, Z. A., Pool, C. ve Swaab, D. F. (1998). Glucocorticoids suppress corticotropin-releasing hormone and vasopressin expression in human hypothalamic neurons. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 83(6), 2066-2073.
140. Chrousos, G. P. ve Gold, P. W. (1992). The concepts of stress and stress system disorders. *JAMA: the journal of the American Medical Association*, 267(9), 1244-1252.
141. Munck, A., Guyre, P. M. ve Holbrook, N. J. (1984). Physiological functions of glucocorticoids in stress and their relation to pharmacological actions. *Endocrine Reviews*, 5(1), 25-44.
142. De Kloet, E. R., Vreugdenhil, E., Oitzl, M. S. ve Joëls, M. (1998). Brain corticosteroid receptor balance in health and disease. *Endocrine Reviews*, 19(3), 269-301.
143. Liu, L., Wang, C., Ni, X. ve Sun, J. (2007). A rapid inhibition of NMDA receptor current by corticosterone in cultured hippocampal neurons. *Neuroscience Letters*, 420(3), 245-250.
144. Groeneweg, F. L., Karst, H., de Kloet, E. R. ve Joëls, M. (2012). Mineralocorticoid and glucocorticoid receptors at the neuronal membrane, regulators of nongenomic corticosteroid signalling. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 350(2), 299-309.
145. Virgin, C. E., Ha, T. P. T., Packan, D. R., Tombaugh, G. C., Yang, S. H., Homer, H. C. ve Sapolsky, R. M. (1991). Glucocorticoids inhibit glucose

- transport and glutamate uptake in hippocampal astrocytes: implications for glucocorticoid neurotoxicity. *Journal of Neurochemistry*, 57(4), 1422-1428.
146. Homer, H. C., Packan, D. R. ve Sapolsky, R. M. (1990). Glucocorticoids inhibit glucose transport in cultured hippocampal neurons and glia. *Neuroendocrinology*, 52(1), 57-64.
 147. Tombaugh, G. C., Yang, S. H., Swanson, R. A. ve Sapolsky, R. M. (1992). Glucocorticoids exacerbate hypoxic and hypoglycemic hippocampal injury in vitro: biochemical correlates and a role for astrocytes. *Journal of Neurochemistry*, 59(1), 137-146.
 148. Krugers, H. J., Knollema, S., Kemper, R. H., Ter Horst, G. J. ve Korf, J. (1995). Down-regulation of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis reduces brain damage and number of seizures following hypoxia/ischaemia in rats. *Brain Research*, 690(1), 41-47.
 149. Kerr, D. S., Campbell, L. W., Thibault, O. ve Landfield, P. W. (1992). Hippocampal glucocorticoid receptor activation enhances voltage-dependent Ca^{2+} conductances: relevance to brain aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 89(18), 8527-8531.
 150. Werkman, T. R., Van der Linden, S. ve Joëls, M. (1997). Corticosteroid effects on sodium and calcium currents in acutely dissociated rat CA1 hippocampal neurons. *Neuroscience*, 78(3), 663-672.
 151. Sato, S., Osanai, H., Monma, T., Harada, T., Hirano, A., Saito, M. ve Kawato, S. (2004). Acute effect of corticosterone on n-methyl-d-aspartate receptor-mediated Ca^{+2} elevation in mouse hippocampal slices. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 321(2), 510-513.
 152. Koob, G. F. (1999). Corticotropin-releasing factor, norepinephrine, and stress. *Biological Psychiatry*, 46(9), 1167-1180.
 153. Valentino, R. J., Page, M., Van Bockstaele, E. ve Aston-Jones, G. (1992). Corticotropin-releasing factor innervation of the locus coeruleus region: distribution of fibers and sources of input. *Neuroscience*, 48(3), 689-705.
 154. Van Bockstaele, E. J., Colago, E. E. ve Valentino, R. J. (1996). Corticotropin - releasing factor - containing axon terminals synapse onto catecholamine dendrites and may presynaptically modulate other afferents in

- the rostral pole of the nucleus locus coeruleus in the rat brain. *Journal of Comparative Neurology*, 364(3), 523-534.
155. Curtis, A. L., Lechner, S. M., Pavcovich, L. A. ve Valentino, R. J. (1997). Activation of the locus coeruleus noradrenergic system by intracoeular microinfusion of corticotropin-releasing factor: effects on discharge rate, cortical norepinephrine levels and cortical electroencephalographic activity. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 281(1), 163-172.
 156. Page, M. E. ve Abercrombie, E. D. (1999). Discrete local application of corticotropin-releasing factor increases locus coeruleus discharge and extracellular norepinephrine in rat hippocampus. *Synapse*, 33(4), 304-313.
 157. Smagin, G. N., Swiergiel, A. H. ve Dunn, A. J. (1995). Corticotropin-releasing factor administered into the locus coeruleus, but not the parabrachial nucleus, stimulates norepinephrine release in the prefrontal cortex. *Brain Research Bulletin*, 36(1), 71-76.
 158. Schulz, C. ve Lehnert, H. (1996). Activation of noradrenergic neurons in the locus coeruleus by corticotropin-releasing factor. *Neuroendocrinology*, 63(5), 454-458.
 159. Palamarchouk, V. S., Swiergiel, A. H. ve Dunn, A. J. (2002). Hippocampal noradrenergic responses to CRF injected into the locus coeruleus of unanesthetized rats. *Brain Research*, 950(1), 31-38.
 160. Lavicky, J. ve Dunn, A. J. (1993). Corticotropin - releasing factor stimulates catecholamine release in hypothalamus and prefrontal cortex in freely moving rats as assessed by microdialysis. *Journal of Neurochemistry*, 60(2), 602-612.
 161. Zhang, J. J., Swiergiel, A. H., Palamarchouk, V. S. ve Dunn, A. J. (1998). Intracerebroventricular infusion of CRF increases extracellular concentrations of norepinephrine in the hippocampus and cortex as determined by in vivo voltammetry. *Brain Research Bulletin*, 47(3), 277-284.
 162. Yang, X. M. ve Dunn, A. J. (1990). Central β adrenergic receptors are involved in CRF-induced defensive withdrawal. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 36(4), 847-851.

163. Yang, X. M., Gorman, A. L. ve Dunn, A. J. (1990). The involvement of central noradrenergic systems and corticotropin-releasing factor in defensive-withdrawal behavior in rats. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 255(3), 1064-1070.
164. Kirby, L. G., Rice, K. C. ve Valentino, R. J. (2000). Effects of corticotropin-releasing factor on neuronal activity in the serotonergic dorsal raphe nucleus. *Neuropsychopharmacology*, 22(2), 148-162.
165. Price, M. L., Kirby, L. G., Valentino, R. J. ve Lucki, I. (2002). Evidence for corticotropin-releasing factor regulation of serotonin in the lateral septum during acute swim stress: adaptation produced by repeated swimming. *Psychopharmacology*, 162(4), 406-414.
166. Dallman, M. F., Pecoraro, N., Akana, S. F., La Fleur, S. E., Gomez, F., Houshyar, H., Bell, M.E., Bhatnagar, S., Laugero, K.D. ve Manalo, S. (2003). Chronic stress and obesity: a new view of “comfort food”. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(20), 11696-11701.
167. Ginty, A. T., Phillips, A. C., Roseboom, T. J., Carroll, D. ve Derooij, S. R. (2012). Cardiovascular and cortisol reactions to acute psychological stress and cognitive ability in the Dutch Famine Birth Cohort Study. *Psychophysiology*, 49(3), 391-400.
168. Kirschbaum, C., Pirke, K. M. ve Hellhammer, D. H. (1993). The ‘Trier Social Stress Test’—a tool for investigating psychobiological stress responses in a laboratory setting. *Neuropsychobiology*, 28(1-2), 76-81.
169. Williams, R. A., Hagerty, B. M. ve Brooks, G. (2004). Trier Social Stress Test: A method for use in nursing research. *Nursing Research*, 53(4), 277-280.
170. Wirtz, P. H., Ehlert, U., Bärtschi, C., Redwine, L. S. ve von Känel, R. (2009). Changes in plasma lipids with psychosocial stress are related to hypertension status and the norepinephrine stress response. *Metabolism*, 58(1), 30-37.
171. Rohleder, N., Wolf, J. M., Herpfer, I., Fiebich, B. L., Kirschbaum, C. ve Lieb, K. (2006). No response of plasma substance P, but delayed increase of interleukin-1 receptor antagonist to acute psychosocial stress. *Life Sciences*, 78(26), 3082-3089.

172. Campisi, J., Bravo, Y., Cole, J. ve Gobeil, K. (2012). Acute psychosocial stress differentially influences salivary endocrine and immune measures in undergraduate students. *Physiology & Behavior*, 107, 317–321.
173. Lennartsson, A. K., Kushnir, M. M., Bergquist, J. ve Jonsdottir, I. H. (2012). DHEA and DHEA-S response to acute psychosocial stress in healthy men and women. *Biological Psychology*, 90(2), 143-149.
174. Grillon, C., Duncko, R., Covington, M. F., Kopperman, L. ve Kling, M. A. (2007). Acute stress potentiates anxiety in humans. *Biological Psychiatry*, 62 (10), 1183-1186.
175. Armario, A., Marti, O., Molina, T., De Pablo, J. ve Valdes, M. (1996). Acute stress markers in humans: response of plasma glucose, cortisol and prolactin to two examinations differing in the anxiety they provoke. *Psychoneuroendocrinology*, 21(1), 17-24.
176. Kirschbaum, C., Prüssner, J. C., Stone, A. A., Federenko, I., Gaab, J., Lintz, D., Schommer, N. ve Hellhammer, D. H. (1995). Persistent high cortisol responses to repeated psychological stress in a subpopulation of healthy men. *Psychosomatic Medicine*, 57(5), 468-474.
177. Tsigos, C. ve Chrousos, G. P. (2002). Hypothalamic–pituitary–adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. *Journal of Psychosomatic Research*, 53(4), 865-871.
178. Pike, J. L., Smith, T. L., Hauger, R. L., Nicassio, P. M., Patterson, T. L., McClintick, J., Costlow, C. ve Irwin, M. R. (1997). Chronic life stress alters sympathetic, neuroendocrine, and immune responsivity to an acute psychological stressor in humans. *Psychosomatic Medicine*, 59(4), 447-457.
179. Viena, T. D., Banks, J. B., Barbu, I. M., Schulman, A. H. ve Tartar, J. L. (2012). Differential effects of mild chronic stress on cortisol and S-IgA responses to an acute stressor. *Biological Psychology*, 91, 307-311.
180. Žarković, M., Stefanova, E., Ćirić, J., Penezić, Z., Kostić, V., Šumarac - Dumanović, M., Macut, D., Ivočić, M.S. ve Gligorović, P. V. (2003). Prolonged psychological stress suppresses cortisol secretion. *Clinical Endocrinology*, 59(6), 811-816.

181. Haller, J., Bakos, N., Rodriguiz, R. M., Caron, M. G., Wetsel, W. C. ve Liposits, Z. (2002). Behavioral responses to social stress in noradrenaline transporter knockout mice: effects on social behavior and depression. *Brain Research Bulletin*, 58(3), 279-284.
182. Checkley, S. (1996). The neuroendocrinology of depression and chronic stress. *British Medical Bulletin*, 52(3), 597-617.
183. Tai, T. C., Claycomb, R., Siddall, B. J., Bell, R. A., Kvetnansky, R. ve Wong, D. L. (2007). Stress-induced changes in epinephrine expression in the adrenal medulla in vivo. *Journal of Neurochemistry*, 101(4), 1108-1118.
184. Kendler, K. S., Karkowski, L. M. ve Prescott, C. A. (1999). Causal relationship between stressful life events and the onset of major depression. *American Journal of Psychiatry*, 156(6), 837-841.
185. Swaab, D. F., Bao, A. M. ve Lucassen, P. J. (2005). The stress system in the human brain in depression and neurodegeneration. *Ageing Research Reviews*, 4(2), 141-194.
186. Bao, A. M., Meynen, G. ve Swaab, D. F. (2008). The stress system in depression and neurodegeneration: focus on the human hypothalamus. *Brain Research Reviews*, 57(2), 531-553.
187. Tata, D. A., Marciano, V. A. ve Anderson, B. J. (2006). Synapse loss from chronically elevated glucocorticoids: relationship to neuropil volume and cell number in hippocampal area CA3. *Journal of Comparative Neurology*, 498(3), 363-374.
188. Lee, A. L., Ogle, W. O. ve Sapolsky, R. M. (2002). Stress and depression: possible links to neuron death in the hippocampus. *Bipolar Disorders*, 4(2), 117-128.
189. Gold, P. W., Licinio, J., WONG, M. L. ve Chrousos, G. P. (1995). Corticotropin releasing hormone in the pathophysiology of melancholic and atypical depression and in the mechanism of action of antidepressant drugs. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 771(1), 716-729.
190. Carpenter, L. L., Shattuck, T. T., Tyrka, A. R., Geraciotti, T. D. ve Price, L. H. (2011). Effect of childhood physical abuse on cortisol stress response. *Psychopharmacology*, 214(1), 367-375.

191. Beluche, I., Chaudieu, I., Norton, J., Carrière, I., Boulenger, J. P., Ritchie, K. ve Ancelin, M. L. (2009). Persistence of abnormal cortisol levels in elderly persons after recovery from major depression. *Journal of Psychiatric Research*, 43(8), 777-783.
192. Mason, J. W. (1968). A review of psychoendocrine research on the sympathetic-adrenal medullary system. *Psychosomatic Medicine*, 30(5), 631-653.
193. Coupland, R. E., Parker, T. L., Kesse, W. K. ve Mohamed, A. A. (1989). The innervation of the adrenal gland. III. Vagal innervation. *Journal of Anatomy*, 163, 173-181.
194. Guyton, A. C., Hall, J. E., Çavuşoğlu, H., Yeğen, B. Ç., Aydın, Z. ve Alican, İ. (2007). *Tıbbi Fizyoloji*. Nobel Tıp Kitabevleri.
195. Wong, D. L., Tai, T. C., Wong - Faull, D. C., Claycomb, R. ve Kvetňanský, R. (2008). Adrenergic Responses to Stress. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1148(1), 249-256.
196. Williams, C. L., Men, D., Clayton, E. C. ve Gold, P. E. (1998). Norepinephrine release in the amygdala after systemic injection of epinephrine or escapable footshock: contribution of the nucleus of the solitary tract. *Behavioral Neuroscience*, 112(6), 1414-1422.
197. Chen, C. C. ve Williams, C. L. (2012). Interactions between epinephrine, ascending vagal fibers, and central noradrenergic systems in modulating memory for emotionally arousing events. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 6. doi: 10.3389/fnbeh.2012.00035
198. Miyashita, T. ve Williams, C. L. (2006). Epinephrine administration increases neural impulses propagated along the vagus nerve: Role of peripheral β -adrenergic receptors. *Neurobiology of Learning and Memory*, 85(2), 116-124.
199. Goddard, A. W., Ball, S. G., Martinez, J., Robinson, M. J., Yang, C. R., Russell, J. M. ve Shekhar, A. (2010). Current perspectives of the roles of the central norepinephrine system in anxiety and depression. *Depression and Anxiety*, 27(4), 339-350.
200. Cooper, J. R. ve Roth, R. H. (2003). *The Biochemical Basis of Neuropharmacology*. Oxford University Press.

201. Tanaka, M., Yoshida, M., Emoto, H. ve Ishii, H. (2000). Noradrenaline systems in the hypothalamus, amygdala and locus coeruleus are involved in the provocation of anxiety: basic studies. *European Journal of Pharmacology*, 405(1), 397-406.
202. Charney, D. S., Heninger, G. R. ve Breier, A. (1984). Noradrenergic function in panic anxiety: effects of yohimbine in healthy subjects and patients with agoraphobia and panic disorder. *Archives of General Psychiatry*, 41(8), 751-763.
203. Charney, D. S., Woods, S. W., Krystal, J. H., Nagy, L. M. ve Heninger, G. R. (1992). Noradrenergic neuronal dysregulation in panic disorder: the effects of intravenous yohimbine and clonidine in panic disorder patients. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 86(4), 273-282.
204. Sabban, E. L. ve Kvetňanský, R. (2001). Stress-triggered activation of gene expression in catecholaminergic systems: dynamics of transcriptional events. *Trends in Neurosciences*, 24(2), 91-98.
205. Nankova, B., Kvetnanský, R., McMahon, A., Viskupic, E., Hiremagalur, B., Frankle, G., & Sabban, E. L. (1994). Induction of tyrosine hydroxylase gene expression by a nonneuronal nonpituitary-mediated mechanism in immobilization stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91(13), 5937-5941.
206. Sabban, E. L., Hiremagalur, B., Nankova, B. ve Kvetnansky, R. (1995). Molecular Biology of Stress - Elicited Induction of Catecholamine Biosynthetic Enzymes. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 771(1), 327-338.
207. Ayala, A. R., Pushkas, J., Higley, J. D., Ronsaville, D., Gold, P. W., Chrousos, G. P., Pacak, K., Calis, K.A., Gerald, M., Lindell, S., Rice, K.C. ve Cizza, G. (2004). Behavioral, adrenal, and sympathetic responses to long-term administration of an oral corticotropin-releasing hormone receptor antagonist in a primate stress paradigm. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 89(11), 5729-5737.

208. Liu, Y., Ishida, Y., Shinoda, K. ve Nakamura, S. (2003). Effects of repeated stress on regeneration of serotonergic and noradrenergic axons in the cerebral cortex of adult rats. *Neuroscience Letters*, 339(3), 227-230.
209. Kitayama, I., Yaga, T., Kayahara, T., Nakano, K., Murase, S., Otani, M. ve Nomura, J. (1997). Long-term stress degenerates, but imipramine regenerates, noradrenergic axons in the rat cerebral cortex. *Biological Psychiatry*, 42(8), 687-696.
210. Morilak, D. A., Barrera, G., Echevarria, D. J., Garcia, A. S., Hernandez, A., Ma, S. ve Petre, C. O. (2005). Role of brain norepinephrine in the behavioral response to stress. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 29(8), 1214-1224.
211. Balkaya M.G., Offenhauser N., Baldinger T., Kröber J., Dreier JP., Endres M. (2010) *Chronic stress reduces cortical spreading depolarization threshold in a mouse model*. (Poster) Society for Neuroscience Kongresi, Poster Bildirisi, San Francisco.
212. Strekalova, T., Gorenkova, N., Schunk, E., Dolgov, O. ve Bartsch, D. (2006). Selective effects of citalopram in a mouse model of stress-induced anhedonia with a control for chronic stress. *Behavioural Pharmacology*, 17(3), 271-287.
213. Strekalova, T., Spanagel, R., Dolgov, O. ve Bartsch, D. (2005). Stress-induced hyperlocomotion as a confounding factor in anxiety and depression models in mice. *Behavioural Pharmacology*, 16(3), 171-180.
214. Dugan, A. L., Schwemberger, S., Noel, G. J., Babcock, G., Ogle, C. K. ve Horseman, N. D. (2007). Psychogenic stress prior to burn injury has differential effects on bone marrow and cytokine responses. *Experimental Biology and Medicine*, 232(2), 253-261.
215. Meier, I., Fellini, L., Jakovcevski, M., Schachner, M. ve Morellini, F. (2010). Expression of the snoRNA host gene gas5 in the hippocampus is upregulated by age and psychogenic stress and correlates with reduced novelty - induced behavior in C57BL/6 mice. *Hippocampus*, 20(9), 1027-1036.
216. D'Arbe, M., Einstein, R. ve Lavidis, N. A. (2002). Stressful animal housing conditions and their potential effect on sympathetic neurotransmission in mice. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative*

- Physiology*, 282(5), R1422-R1428.
217. Linthorst, A. C., Flachskamm, C., Barden, N., Holsboer, F. ve Reul, J. M. (2000). Glucocorticoid receptor impairment alters CNS responses to a psychological stressor: an in vivo microdialysis study in transgenic mice. *European Journal of Neuroscience*, 12(1), 283-291.
 218. Beekman, M., Flachskamm, C. ve Linthorst, A. C. (2005). Effects of exposure to a predator on behaviour and serotonergic neurotransmission in different brain regions of C57bl/6N mice. *European Journal of Neuroscience*, 21(10), 2825-2836.
 219. Bilanz - Bleuel, A., Ulbricht, S., Chandramohan, Y., De Carli, S., Droste, S. K. ve Reul, J. M. (2005). Psychological stress increases histone H3 phosphorylation in adult dentate gyrus granule neurons: involvement in a glucocorticoid receptor - dependent behavioural response. *European Journal of Neuroscience*, 22(7), 1691-1700.
 220. Dalm, S., de Visser, L., Spruijt, B. M. ve Oitzl, M. S. (2009). Repeated rat exposure inhibits the circadian activity patterns of C57BL/6J mice in the home cage. *Behavioural Brain Research*, 196(1), 84-92.
 221. Yang, M., Augustsson, H., Markham, C. M., Hubbard, D. T., Webster, D., Wall, P. M., Blanchard, R. J. ve Blanchard, D. C. (2004). The rat exposure test: a model of mouse defensive behaviors. *Physiology & Behavior*, 81(3), 465-473.
 222. Buynitsky, T. ve Mostofsky, D. I. (2009). Restraint stress in biobehavioral research: recent developments. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 33(7), 1089-1098.
 223. Vyas, A., Mitra, R., Rao, B. S. ve Chattarji, S. (2002). Chronic stress induces contrasting patterns of dendritic remodeling in hippocampal and amygdaloid neurons. *The Journal of Neuroscience*, 22(15), 6810-6818.
 224. Bauer, M. E., Perks, P., Lightman, S. L. ve Shanks, N. (2001). Restraint stress is associated with changes in glucocorticoid immunoregulation. *Physiology & Behavior*, 73(4), 525-532.
 225. Belda, X., Márquez, C. ve Armario, A. (2004). Long-term effects of a single exposure to stress in adult rats on behavior and hypothalamic–pituitary–adrenal

- responsiveness: comparison of two outbred rat strains. *Behavioural Brain Research*, 154(2), 399-408.
226. Bizon, J. L., Helm, K. A., Han, J. S., Chun, H. J., Pucilowska, J., Lund, P. K. ve Gallagher, M. (2001). Hypothalamic–pituitary–adrenal axis function and corticosterone receptor expression in behaviourally characterized young and aged Long–Evans rats. *European Journal of Neuroscience*, 14(10), 1739-1751.
 227. Costa, A., Smeraldi, A., Tassorelli, C., Greco, R. ve Nappi, G. (2005). Effects of acute and chronic restraint stress on nitroglycerin-induced hyperalgesia in rats. *Neuroscience Letters*, 383(1), 7-11.
 228. Weinberg, M. S., Girotti, M. ve Spencer, R. L. (2007). Restraint-induced fra2 and c-fos expression in the rat forebrain: Relationship to stress duration. *Neuroscience*, 150(2), 478-486.
 229. Cryan, J. F., Mombereau, C. ve Vassout, A. (2005). The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: review of pharmacological and genetic studies in mice. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 29(4), 571-625.
 230. Cruz, F. C., Marin, M. T., Leão, R. M. ve Planeta, C. S. (2012). Behavioral and neuroendocrine effects of the exposure to chronic restraint or variable stress in early adolescent rats. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 30(1), 19-23.
 231. Retana-Marquez, S., Bonilla-Jaime, H., Vazquez-Palacios, G., Dominguez-Salazar, E., Martinez-Garcia, R. ve Velazquez-Moctezuma, J. (2003). Body weight gain and diurnal differences of corticosterone changes in response to acute and chronic stress in rats. *Psychoneuroendocrinology*, 28(2), 207-227.
 232. Marin, M. T., Cruz, F. C. ve Planeta, C. S. (2007). Chronic restraint or variable stresses differently affect the behavior, corticosterone secretion and body weight in rats. *Physiology & Behavior*, 90(1), 29-35.
 233. Bhatnagar, S., Vining, C., Iyer, V. ve Kinni, V. (2006). Changes in Hypothalamic - Pituitary - Adrenal Function, Body Temperature, Body Weight and Food Intake with Repeated Social Stress Exposure in Rats. *Journal of Neuroendocrinology*, 18(1), 13-24.

234. Fuchsl, A. M., Uschold-Schmidt, N. ve Reber, S. O. (2013). Chronic psychosocial stress in male mice causes an up-regulation of scavenger receptor class B type 1 protein in the adrenal glands. *Stress*, 16(4), 461-468.
235. Seo, H. J., Ham, H. D., Jin, H. Y., Lee, W. H., Hwang, H. S., Park, S. A., Kim, Y.S., Choi, S.C., Lee, S., Oh, K.J., Kim, B.S., Park, B.R. ve Lee, M. Y. (2010). Chronic Administration of Monosodium Glutamate under Chronic Variable Stress Impaired Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis Function in Rats. *The Korean Journal of Physiology & Pharmacology*, 14(4), 213-221.
236. Kim, Y. S., Lee, M. Y., Choi, C. S., Sohn, Y. W., Park, B. R., Choi, M. G., Nah, Y.H. ve Choi, S. C. (2008). The effect of chronic variable stress on bowel habit and adrenal function in rats. *Journal of gastroenterology and hepatology*, 23(12), 1840-1846.
237. Ayata, C. (2013). Pearls and pitfalls in experimental models of spreading depression. *Cephalalgia*, 33(8), 604-613.
238. Dunn, A. K., Bolay, H., Moskowitz, M. A. ve Boas, D. A. (2001). Dynamic imaging of cerebral blood flow using laser speckle. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 21(3), 195-201.
239. McCullers, D. L., Sullivan, P. G., Scheff, S. W. ve Herman, J. P. (2002). Mifepristone protects CA1 hippocampal neurons following traumatic brain injury in rat. *Neuroscience*, 109(2), 219-230.
240. Llorens-Martín, M. ve Trejo, J. L. (2011). Mifepristone prevents stress-induced apoptosis in newborn neurons and increases AMPA receptor expression in the dentate gyrus of C57/BL6 mice. *PloS one*, 6(11), e28376.
241. Jadavji, N. M., Supina, R. D. ve Metz, G. A. (2011). Blockade of mineralocorticoid and glucocorticoid receptors reverses stress-induced motor impairments. *Neuroendocrinology*, 94(4), 278-290.
242. Jarillo-Luna, A., Rivera-Aguilar, V., Garfias, H. R., Lara-Padilla, E., Kormanovsky, A. ve Campos-Rodríguez, R. (2007). Effect of repeated restraint stress on the levels of intestinal IgA in mice. *Psychoneuroendocrinology*, 32(6), 681-692.
243. Shen, P. J. ve Gundlach, A. L. (2000). Differential modulatory effects of α - and β -adrenoceptor agonists and antagonists on cortical immediate-early gene

- expression following focal cerebrocortical lesion-induced spreading depression. *Molecular Brain Research*, 83(1), 133-144.
244. Ley, E. J., Park, R., Dagliyan, G., Palestrant, D., Miller, C. M., Conti, P. S., Margulies, D.R. ve Salim, A. (2010). In vivo effect of propranolol dose and timing on cerebral perfusion after traumatic brain injury. *The Journal of Trauma and Acute Care Surgery*, 68(2), 353-356.
 245. Kotagale, N. R., Taksande, B. G., Gahane, A. Y., Ugale, R. R. ve Chopde, C. T. (2010). Repeated agmatine treatment attenuates nicotine sensitization in mice: Modulation by α_2 -adrenoceptors. *Behavioural brain research*, 213(2), 161-174.
 246. Conrad, K. L., Davis, A. R., Silberman, Y., Sheffler, D. J., Shields, A. D., Saleh, S. A., Sen, N., Matthies, H.J., Javitch, J.A., Lindsley, C.W. ve Winder, D. G. (2012). Yohimbine depresses excitatory transmission in BNST and impairs extinction of cocaine place preference through orexin-dependent, norepinephrine-independent processes. *Neuropsychopharmacology*, 37(10), 2253-2266.
 247. Holmes, A. ve Quirk, G. J. (2010). Pharmacological facilitation of fear extinction and the search for adjunct treatments for anxiety disorders-the case of yohimbine. *Trends in Pharmacological Sciences*, 31(1), 2-7.
 248. Telegdy, G. ve Schally, A. V. (2012). Neurotransmitter-mediated action of an antagonist of growth hormone-releasing hormone on anxiolysis in mice. *Behavioural Brain Research*, 233(1), 232-236.
 249. Wann, B. P., Audet, M. C. ve Anisman, H. (2010). Impact of acute and chronic stressor experiences on heart atrial and brain natriuretic peptides in response to a subsequent stressor. *Hormones and Behavior*, 58(5), 907-916.
 250. Patel, S. ve Hillard, C. J. (2008). Adaptations in endocannabinoid signaling in response to repeated homotypic stress: a novel mechanism for stress habituation. *European Journal of Neuroscience*, 27(11), 2821-2829.
 251. Martí, O. ve Armario, A. (1998). Anterior pituitary response to stress: time-related changes and adaptation. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 16(3), 241-260.
 252. McCarty, R., Horwatt, K. ve Konarska, M. (1988). Chronic stress and sympathetic-adrenal medullary responsiveness. *Social Science & Medicine*,

- 26(3), 333-341.
253. Sheehan, T. J. (1998). Stress and low birth weight: a structural modeling approach using real life stressors. *Social Science & Medicine*, 47(10), 1503-1512.
 254. Cochrane, R. ve Robertson, A. (1973). The life events inventory: a measure of the relative severity of psycho-social stressors. *Journal of Psychosomatic Research*, 17(2), 135-139.
 255. Holahan, C. J. ve Moos, R. H. (1990). Life stressors, resistance factors, and improved psychological functioning: An extension of the stress resistance paradigm. *Journal of Personality and Social Psychology*, 58(5), 909-917.
 256. Herman, J. (2013). Neural Control of Chronic Stress Adaptation. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 7, 61. Advance Online Publication. doi: 10.3389/fnbeh.2013.00061.
 257. Tuli, J. S., Smith, J. A. ve Morton, D. B. (1995). Effects of acute and chronic restraint on the adrenal gland weight and serum corticosterone concentration of mice and their faecal output of oocysts after infection with *Eimeria apionodes*. *Research in Veterinary Science*, 59(1), 82-86.
 258. Helmreich, D. L., Parfitt, D. B., Lu, X. Y., Akil, H. ve Watson, S. J. (2005). Relation between the hypothalamic-pituitary-thyroid (HPT) axis and the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis during repeated stress. *Neuroendocrinology*, 81(3), 183-192.
 259. Pace, T. W., Cole, M. A., Ward, G., Kalman, B. A. ve Spencer, R. L. (2001). Acute exposure to a novel stressor further reduces the habituated corticosterone response to restraint in rats. *Stress: The International Journal on the Biology of Stress*, 4(4), 319-331.
 260. Zamora-González, E. O., Santerre, A., Palomera-Avalos, V. ve Morales-Villagrán, A. (2012). A chronic combinatory stress model that activates the HPA axis and avoids habituation in BALB/C mice. *Journal of Neuroscience Methods*. 213(1), 70-75.
 261. Armario, A., Lopez-Calderon, A., Jolin, T. ve Balasch, J. (1986). Response of anterior pituitary hormones to chronic stress. The specificity of adaptation. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 10(3), 245-250.

262. Armario, A., Lopez-Calderon, A., Jolin, T. ve Castellanos, J. M. (1986). Sensitivity of anterior pituitary hormones to graded levels of psychological stress. *Life Sciences*, 39(5), 471-475.
263. Armario, A., Garcia-Marquez, C. ve Jolin, T. (1987). The effects of chronic stress on corticosterone, GH and TSH response to morphine administration. *Brain Research*, 401(1), 200-203.
264. Herman, J. P., McKlveen, J. M., Solomon, M. B., Carvalho-Netto, E. ve Myers, B. (2012). Neural regulation of the stress response: glucocorticoid feedback mechanisms. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 45(4), 292-298.
265. Girotti, M., Pace, T. W. W., Gaylord, R. I., Rubin, B. A., Herman, J. P. ve Spencer, R. L. (2006). Habituation to repeated restraint stress is associated with lack of stress-induced c-fos expression in primary sensory processing areas of the rat brain. *Neuroscience*, 138(4), 1067-1081.
266. Jean Kant, G., Eggleston, T., Landman-Roberts, L., Kenion, C. C., Driver, G. C. ve Meyerhoff, J. L. (1985). Habituation to repeated stress is stressor specific. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 22(4), 631-634.
267. Konarska, M., Stewart, R. E. ve McCarty, R. (1990). Predictability of chronic intermittent stress: Effects on sympathetic—adrenal medullary responses of laboratory rats. *Behavioral and Neural Biology*, 53(2), 231-243.
268. Konarska, M., Stewart, R. E. ve McCarty, R. (1990). Habituation and sensitization of plasma catecholamine responses to chronic intermittent stress: effects of stressor intensity. *Physiology & Behavior*, 47(4), 647-652.
269. Zamora-González, E. O., Santerre, A., Palomera-Avalos, V. ve Morales-Villagrán, A. (2012). A chronic combinatory stress model that activates the HPA axis and avoids habituation in BALB/C mice. *Journal of Neuroscience Methods*, 213(19), 70-75
270. Flak, J. N., Solomon, M. B., Jankord, R., Krause, E. G. ve Herman, J. P. (2012). Identification of chronic stress - activated regions reveals a potential recruited circuit in rat brain. *European Journal of Neuroscience*, 36(4), 2547-2555.

271. Amaral, V. C. S., Santos Gomes, K. ve Nunes-de-Souza, R. L. (2010). Increased corticosterone levels in mice subjected to the rat exposure test. *Hormones and Behavior*, 57(2), 128-133.
272. Hayley, S., Borowski, T., Merali, Z. ve Anisman, H. (2001). Central monoamine activity in genetically distinct strains of mice following a psychogenic stressor: effects of predator exposure. *Brain Research*, 892(2), 293-300.
273. Carod-Artal, F. J., Ezpeleta, D., Martín-Barriga, M. L. ve Guerrero, A. L. (2011). Triggers, symptoms, and treatment in two populations of migraineurs in Brazil and Spain. A cross-cultural study. *Journal of the Neurological Sciences*, 304(1), 25-28.
274. Yadav, R. K., Kalita, J. ve Misra, U. K. (2010). A study of triggers of migraine in India. *Pain Medicine*, 11(1), 44-47.
275. Hedborg, K., Anderberg, U. M. ve Muhr, C. (2011). Stress in migraine: personality-dependent vulnerability, life events, and gender are of significance. *Uppsala Journal of Medical Sciences*, 116(3), 187-199.
276. Neut, D., Fily, A., Cuvellier, J. C. ve Vallée, L. (2012). The prevalence of triggers in paediatric migraine: a questionnaire study in 102 children and adolescents. *The Journal of Headache and Pain*, 13(1), 61-65.
277. Hauge, A. W., Kirchmann, M. ve Olesen, J. (2011). Characterization of consistent triggers of migraine with aura. *Cephalalgia*, 31(4), 416-438.
278. Schnell, C., Janc, O. A., Kempkes, B., Callis, C. A., Flügge, G., Hülsmann, S. ve Müller, M. (2012). Restraint stress intensifies interstitial K⁺ accumulation during severe hypoxia. *Frontiers in Pharmacology*, 3. 53. doi: 10.3389/fphar.2012.00053.
279. Rosenkranz, J. A., Venheim, E. R. ve Padival, M. (2010). Chronic stress causes amygdala hyperexcitability in rodents. *Biological Psychiatry*, 67(12), 1128-1136.
280. Raudensky, J. ve Yamamoto, B. K. (2007). Effects of chronic unpredictable stress and methamphetamine on hippocampal glutamate function. *Brain Research*, 1135, 129-135.

281. Imbe, H., Kimura, A., Donishi, T. ve Kaneoke, Y. (2012). Chronic restraint stress decreases glial fibrillary acidic protein and glutamate transporter in the periaqueductal gray matter. *Neuroscience*, 223, 209-218.
282. Musazzi, L., Treccani, G., Mallei, A. ve Popoli, M. (2013). The action of antidepressants on the glutamate system: Regulation of glutamate release and glutamate receptors. *Biological Psychiatry*, 73(12), 1180-1188.
283. Garcia, L. S., Comim, C. M., Valvassori, S. S., Réus, G. Z., Stertz, L., Kapczinski, F., Gavioli, E.C. ve Quevedo, J. (2009). Ketamine treatment reverses behavioral and physiological alterations induced by chronic mild stress in rats. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 33(3), 450-455.
284. Krystal, J. H., Sanacora, G. ve Duman, R. S. (2013). Rapid-acting glutamatergic antidepressants: The path to ketamine and beyond. *Biological Psychiatry*, 73(12), 1133-1141.
285. Murrough, J. W., Iosifescu, D. V., Chang, L. C., Al Jurdi, R. K., Green, C. M., Perez, A. M., Iqbal, S., Pillemer, S., Foulkes, A., Shah, A., Charney, D.S. ve Mathew, S. J. (2013). Antidepressant Efficacy of Ketamine in Treatment-Resistant Major Depression: A Two-Site Randomized Controlled Trial. *American Journal of Psychiatry*, Advance online publication. doi: 10.1176/appi.ajp.2013.13030392
286. Suenaga, T., Morinobu, S., Kawano, K. I., Sawada, T. ve Yamawaki, S. (2004). Influence of immobilization stress on the levels of CaMKII and phospho-CaMKII in the rat hippocampus. *The International Journal of Neuropsychopharmacology*, 7(3), 299-309.
287. Martisova, E., Solas, M., Horrillo, I., Ortega, J. E., Meana, J. J., Tordera, R. M. ve Ramírez, M. J. (2012). Long lasting effects of early-life stress on glutamatergic/GABAergic circuitry in the rat hippocampus. *Neuropharmacology*, 62(5), 1944-1953.
288. Singewald, N., Kovelas, D., Mostafa, A., Sinner, C. ve Philippu, A. (2000). Release of glutamate and GABA in the amygdala of conscious rats by acute stress and baroreceptor activation: differences between SHR and WKY rats. *Brain Research*, 864(1), 138-141.

289. Kim, S. Y., Jang, E. J., Hong, K. S., Lee, C., Lee, D. W., Choi, C. B., Lee, H. ve Choe, B. Y. (2012). Acute Restraint-Mediated Increases in Glutamate Levels in the Rat Brain: An In Vivo ¹H-MRS Study at 4.7 T. *Neurochemical Research*, 37(4), 740-748.
290. Satoh, E., Edamatsu, H. ve Omata, Y. (2006). Acute restraint stress enhances calcium mobilization and proliferative response in splenic lymphocytes from mice. *Stress: The International Journal on the Biology of Stress*, 9(4), 223-230.
291. Satoh, E. ve Shimeki, S. (2010). Acute restraint stress enhances calcium mobilization and glutamate exocytosis in cerebrocortical synaptosomes from mice. *Neurochemical Research*, 35(5), 693-701.
292. Joels, M., Velzing, E., Nair, S., Verkuyl, J. M. ve Karst, H. (2003). Acute stress increases calcium current amplitude in rat hippocampus: temporal changes in physiology and gene expression. *European Journal of Neuroscience*, 18(5), 1315-1324.
293. Van Gemert, N. G. ve Joëls, M. (2006). Effect of Chronic Stress and Mifepristone Treatment on Voltage - Dependent Ca²⁺ Currents in Rat Hippocampal Dentate Gyrus. *Journal of Neuroendocrinology*, 18(10), 732-741.
294. Butts, K. A. ve Phillips, A. G. (2013). Glucocorticoid receptors in the prefrontal cortex regulate dopamine efflux to stress via descending glutamatergic feedback to the ventral tegmental area. *The International Journal of Neuropsychopharmacology*, 16(8), 1799-1807.
295. Musazzi, L., Milanese, M., Farisello, P., Zappettini, S., Tardito, D., Barbiero, V. S., Bonifacino, T., Mallei, A., Baldelli, P., Racagni, G., Raiteri, M., Benfenati, F., Bonanno, G. ve Popoli, M. (2010). Acute stress increases depolarization-evoked glutamate release in the rat prefrontal/frontal cortex: the dampening action of antidepressants. *PLoS One*, 5(1), e8566.
296. Flak, J. N., Ostrander, M. M., Tasker, J. G. ve Herman, J. P. (2009). Chronic stress - induced neurotransmitter plasticity in the PVN. *Journal of Comparative Neurology*, 517(2), 156-165.
297. Hernández-Cáceres, J., Macías-González, R., Brožek, G. ve Bureš, J. (1987). Systemic ketamine blocks cortical spreading depression but does not delay the

- onset of terminal anoxic depolarization in rats. *Brain Research*, 437(2), 360-364.
298. Tamura, K., Alessandri, B., Heimann, A. ve Kempinski, O. (2011). The effect of a gap-junction blocker, carbenoxolone, on ischemic brain injury and cortical spreading depression. *Neuroscience*, 194, 262-271.
 299. Worthley, E. G. ve Schott, C. D. (1965). *Pharmacotoxic evaluation of nine vehicles administered intraperitoneally to mice*. *Lloydia*, 29, 123-129.
 300. Chen, J., Joyal, J. S., Hatton, C. J., Juan, A. M., Pei, D. T., Hurst, C. G., Xu, D., Stahl, A., Hellstrom, A. ve Smith, L. E. (2012). Propranolol inhibition of β -adrenergic receptor does not suppress pathologic neovascularization in oxygen-induced retinopathy. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 53(6), 2968-2977.
 301. Wohleb, E. S., Hanke, M. L., Corona, A. W., Powell, N. D., Stiner LM, Bailey, M.T., Nelson, R.J., Godbout, J.P. ve Sheridan, J. F. (2011). β -Adrenergic receptor antagonism prevents anxiety-like behavior and microglial reactivity induced by repeated social defeat. *The Journal of Neuroscience*, 31(17), 6277-6288.
 302. Eikermann-Haerter, K., Can, A. ve Ayata, C. (2012). Pharmacological targeting of spreading depression in migraine. *Expert Review of Neurotherapeutics*, 12(3), 297-306.
 303. King, P. R., Gundlach, A. L. ve Louis, W. J. (1995). Quantitative autoradiographic localization in rat brain of α_2 -adrenergic and non-adrenergic I-receptor binding sites labelled by rilmenidine. *Brain Research*, 675(1), 264-278.
 304. Unnerstall, J. R., Kopajtic, T. A. ve Kuhar, M. J. (1984). Distribution of α_2 agonist binding sites in the rat and human central nervous system: Analysis of some functional, anatomic correlates of the pharmacologic effects of clonidine and related adrenergic agents. *Brain Research Reviews*, 7(1), 69-101.
 305. Unnerstall, J. R., Fernandez, I. ve Orensanz, L. M. (1985). The alpha-adrenergic receptor: radiohistochemical analysis of functional characteristics and biochemical differences. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 22(5), 859-874.

306. Young, W. S. ve Kuhar, M. J. (1980). Noradrenergic alpha 1 and alpha 2 receptors: light microscopic autoradiographic localization. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 77(3), 1696-1700.
307. Arnsten, A. F. T. ve Goldman-Rakic, P. S. (1985). Alpha 2-adrenergic mechanisms in prefrontal cortex associated with cognitive decline in aged nonhuman primates. *Science*, 230(4731), 1273-1276.
308. O'Donnell, J., Zeppenfeld, D., McConnell, E., Pena, S. ve Nedergaard, M. (2012). Norepinephrine: a neuromodulator that boosts the function of multiple cell types to optimize CNS performance. *Neurochemical Research*, 37(11), 2496-2512.
309. Wang, M., Ramos, B. P., Paspalas, C. D., Shu, Y., Simen, A., Duque, A., Vijayraghavan, S., Brennan, A., Dudley, A., Nou, E., Mazer, J.A., McCormick, D.A. ve Arnsten, A. F. (2007). α 2A-adrenoceptors strengthen working memory networks by inhibiting cAMP-HCN channel signaling in prefrontal cortex. *Cell*, 129(2), 397-410.
310. L'Heureux, R., Dennis, T., Curet, O. ve Scatton, B. (1986). Measurement of endogenous noradrenaline release in the rat cerebral cortex in vivo by transcortical dialysis: effects of drugs affecting noradrenergic transmission. *Journal of Neurochemistry*, 46(6), 1794-1801.
311. Kawahara, Y., Kawahara, H. ve Westerink, B. H. (1999). Tonic regulation of the activity of noradrenergic neurons in the locus coeruleus of the conscious rat studied by dual-probe microdialysis. *Brain Research*, 823(1), 42-48.
312. Van Gaalen, M., Kawahara, H., Kawahara, Y. ve Westerink, B. H. (1997). The locus coeruleus noradrenergic system in the rat brain studied by dual-probe microdialysis. *Brain Research*, 763(1), 56-62.
313. Stevens, D. R., Kuramasu, A., Eriksson, K. S., Selbach, O. ve Haas, H. L. (2004). A-2 Adrenergic receptor-mediated presynaptic inhibition of GABAergic IPSPs in rat histaminergic neurons. *Neuropharmacology*, 46(7), 1018-1022.
314. Arnsten, A. F. T. ve Cai, J. X. (1993). Postsynaptic alpha-2 receptor stimulation improves memory in aged monkeys: indirect effects of yohimbine versus direct effects of clonidine. *Neurobiology of Aging*, 14(6), 597-603.

315. Matsumoto, K., Ojima, K. ve Watanabe, H. (1995). Noradrenergic denervation attenuates desipramine enhancement of aggressive behavior in isolated mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 50(3), 481-484.
316. Harro, J., Terasmaa, A., Eller, M. ve Rinken, A. (2003). Effect of denervation of the locus coeruleus projections by DSP-4 treatment on [3H]-raclopride binding to dopamine D2 subreceptors and D2 sub receptor-G protein interaction in the rat striatum. *Brain Research*, 976(2), 209-216.
317. Häidkind, R., Eller, M., Harro, M., Kask, A., Rinken, A., Oreland, L. ve Harro, J. (2003). Effects of partial locus coeruleus denervation and chronic mild stress on behaviour and monoamine neurochemistry in the rat. *European Neuropsychopharmacology*, 13(1), 19-28.
318. Kõiv, K., Zobel, R., Raudkivi, K., Kivastik, T. ve Harro, J. (2011). The effect of denervation of the locus coeruleus projections with N-(2-chloroethyl)-N-ethyl-2-bromobenzylamine (DSP-4) on cocaine-induced locomotion and place preference in rats. *Behavioural Brain Research*, 216(1), 172-179.
319. Hertz, L., Lovatt, D., Goldman, S. A. ve Nedergaard, M. (2010). Adrenoceptors in brain: Cellular gene expression and effects on astrocytic metabolism and Ca. *Neurochemistry International*, 57(4), 411-420.
320. Hertz, L., Peng, L. ve Dienel, G. A. (2006). Energy metabolism in astrocytes: high rate of oxidative metabolism and spatiotemporal dependence on glycolysis/glycogenolysis. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 27(2), 219-249.