



**RATLARDA PAKLİTAKSELLE OLUŞTURULAN
NÖROPATİK AĞRI MODELİNDE
ANTİPSİKOTİK İLAÇLARIN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Ayşenur BUDAK SAVAŞ

Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Ahmet HACİMÜFTÜOĞLU**

Doktora Tezi-2022

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

**RATLARDA PAKLİTAKSELLE OLUŞTURULAN
NÖROPATİK AĞRI MODELİNDE
ANTİPSİKOTİK İLAÇLARIN ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Ayşenur BUDAK SAVAŞ

**Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı
Doktora Tezi**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Ahmet HACİMÜFTÜOĞLU**

**ERZURUM
2022**

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	I
TEŞEKKÜR	III
ÖZET	IV
ABSTRACT	V
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
TABLolar DİZİNİ	IX
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Paklitakselle İndüklenen Nöropatik Ağrı	3
2.2. Santral Sensitizasyon	5
2.3. Antipsikotikler ve Nöropatik Ağrı.....	7
2.4. Sigma Reseptörü.....	8
3. MATERYAL VE METOT	11
3.1. Hayvan Deneyleri	12
3.1.1. Paklitaksel ile Nöropatik Ağrı Modeli Oluşturma.....	12
3.1.2. Lokomotor aktivite testi.....	12
3.1.3. Analjeziyometre.....	13
3.2. Biyokimyasal analizler	14
3.3. Histopatolojik Yöntem.....	14
3.4. İmmunohistokimyasal Yöntem (IHC)	14
3.5. In-Situ Hibridizasyon Yöntemi (İSH)	15
3.6. İstatistiksel Analiz	15
3.6.1. Hayvan deneylerinin istatistiksel analizi	15

3.6.2. Patolojik çalışmaların istatistiksel analizi.....	16
4. BULGULAR.....	17
4.1. Lokomotor aktivite testi.....	17
4.2. Analjeziyometre.....	19
4.3. ELISA Testleri.....	22
4.4. Histopatolojik Bulgular	24
4.5. İmmunohistokimyasal Bulgular (IHC)	27
4.6. In-Situ Hibridizasyon Yöntemi (ISH)	33
5. TARTIŞMA.....	39
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	50
KAYNAKLAR	51
EK-2. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU.....	69
EK-3. ETİK KURUL ONAY FORMU	70

TEŞEKKÜR

Başta danışman hocam Prof. Dr. Ahmet HACİMÜFTÜOĞLU olmak üzere; tezimin her aşamasında benden bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen hocalarım Doç. Dr. Halil ÖZCAN ve Doç. Dr. Ufuk OKKAY’a; tezimdeki tüm patolojik incelemeleri büyük özveriyle yapan ve yine beni tüm süreç boyunca destekleyen hocam Doç. Dr. Mustafa ÖZKARACA’ya saygı ve şükranlarımı sunarım.

Çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen çalışma arkadaşlarıma emekleri için teşekkürü borç bilirim.

Bu çalışmayı TDK-2022-10615 BAP proje numarasıyla destekleyen Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne teşekkür ederim.

Ayşenur BUDAK SAVAŞ

ÖZET

Ratlarda Paklitakselle Oluşturulan Nöropatik Ağrı Modelinde Antipsikotik İlaçların Etkilerinin Araştırılması

Amaç: “Somatosensör sistemin bir lezyonu veya hastalığının neden olduğu ağrı” olarak tanımlanan nöropatik ağrı, yeterli düzeyde tedavi edilemeyen yaygın bir sağlık sorunudur. Patofizyolojisi üzerine yapılan çalışmalarda santral sensitizasyon mekanizmalarının rolü olduğu gözlenmiştir. Günümüzde nöropatik ağrı tedavisinde kullanılan bazı ilaç grupları bu mekanizmayı baskılamak suretiyle analjezik etki sağlamaktadır. Çalışmamızın amacı antipsikotiklerin nöropatik ağrıdaki etkinliğini ölçmek ve analjezik rolü olan etken maddelerin etki mekanizmasında santral sensitizasyon baskılanmasının rolünü belirlemektir.

Materyal ve Metot: Bu çalışmada, 95 adet 250-300 gr ağırlığında erkek Sprague dawley sıçan kullanıldı. Yaygın kullanılan beş antipsikotik etken maddenin ağrı üzerindeki etkisi analjeziyometre ve lokomotor aktivite testi ile değerlendirildi. Deney bitiminde sakrifiye edilen hayvanlardan alınan beyin ve Medulla spinalis’ten immunohistokimyasal boyama ve in-situ hibridizasyon ile santral sensitizasyon ilişkili belirteçlerin düzeylerindeki değişiklikler saptandı. ELISA testleri aracılığıyla immun belirteçlere etkisi ölçüldü. Elde edilen tüm sonuçlar istatistiksel yöntemlerle değerlendirildi.

Bulgular: Analjeziyometre ve lokomotor aktivite deneylerinde tüm etken maddelerde anlamlı analjezik etki görüldü. Histopatolojik incelemede tüm gruplarda dejeneratif değişikliklerde azalma izlendi. İmmunohistokimyasal boyama ve İn-situ hibridizasyon ile yapılan değerlendirmede beyin ve Medulla spinalis ERK, p-ERK, NMDAR2B ve p-NMDAR2B düzeylerinde paklitaksel alan kontrol grubuna kıyasla tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş görüldü.

Sonuç: Bu çalışma ile yaygın kullanılan beş antipsikotik ilacın nöropatik ağrıda analjezik etkinliği olduğu tespit edilmiştir. Bu ağrı kesici etkide santral sensitizasyon mekanizmalarının baskılanmasının da rolü olduğu gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Antipsikotik, ERK, NMDAR2B, Nöropatik ağrı, Sigma-1 reseptörü

ABSTRACT

Investigation Of The Effects Of Antipsychotic Drugs In Paclitaxel-Induced Neuropathic Pain Model In Rats.

Aim: Neuropathic pain, defined as "pain caused by a lesion or disease of the somatosensory system," is a common health problem that cannot be adequately treated. In the studies on pathophysiology, it has been observed that central sensitization mechanisms have a role. Today, some drug groups used in the treatment of neuropathic pain provide analgesic effects by suppressing this mechanism. The aim of our study is to measure the effectiveness of antipsychotics in neuropathic pain and to determine the role of central sensitization suppression in the effect of active substances with analgesic role.

Material and method: In this study, 95 male Sprague dawley rats weighing 250-300 g were used. The effect of five commonly used antipsychotic agents on pain was evaluated by analgesiometer and locomotor activity test. At the end of the experiment, changes in the levels of markers associated with central sensitization with in-situ hybridization and immunohistochemical staining from brain and Medulla spinalis from sacrificed animals were detected. The effect on immune markers was measured through ELISA tests. All results obtained were evaluated by statistical methods.

Results: In analgesiometer and locomotor activity experiments, significant analgesic effects were seen in all active substances. Histopathological examination revealed a decrease in degenerative changes in all groups. Immunohistochemical staining and evaluation by in-situ hybridization showed a statistically significant decrease in brain and Medulla spinalis ERK, p-ERK, NMDAR2B and p-NMDAR2B levels in all groups compared to the paclitaxel field control group.

Conclusion: With this study, five commonly used antipsychotic drugs were found to have analgesic efficacy in neuropathic pain. It has been shown that suppression of central sensitization mechanisms also plays a role in this pain-relieving effect.

Key Words: Antipsychotic, ERK, Neuropathic pain, NMDAR2B, Sigma-1 receptor

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

BDNF	:	Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör
CaMKII	:	Kalsiyum/Kalmodulin Bağımlı Protein Kinaz II
CGRP	:	Kalsitonin Geni ile İlişkili Peptit
CREB	:	Camp Yanıt Element Bağlayıcı Protein
DKG	:	Dorsal Kök Ganglionu
ER	:	Endoplazmik Retikulum
ERK	:	Hücre Dışı Sinyal Regüle Kinaz
GABA	:	Γ -Aminobütirik Asit
IBS	:	İnflamatuvar Barsak Sendromu
IP3	:	İnositol Trifosfat
IP3R	:	İnositol Trisfosfat Reseptörü
MAPK	:	Mitojenle Aktive Olan Protein Kinaz
mGluR	:	Metabotropik Glutamat Reseptörü
mPTP	:	Mitochondrial Permeability Transition Pore
NK-1	:	Nörokinin-1
NMDA	:	N-Metil-D-Aspartik Asit
NMDAR2B	:	N-Metil-D-Aspartik Asit Reseptörü – 2B Alt Ünitesi
PBS	:	Phosphate Buffered Saline
PIPN	:	Paklitakselle İndüklenen Periferel Nöropati
PKA	:	Protein Kinaz A
PKC	:	Protein Kinaz C
PTX	:	Paklitaksel
ROS	:	Reaktif Oksijen Türleri
TLR4	:	Toll-Like Reseptör 4

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 4.1. Sterotipik hareket süreleri (n=10)	17
Şekil 4.2. Ambulatuvar hareket süreleri(n=10)	18
Şekil 4.3. Dinlenme yüzdeleri(n=10)	18
Şekil 4.4. Kat edilen mesafe(n=10)	19
Şekil 4.5. Analjeziyometre Tedavi Sonrası Ölçüm Sonuçları	20
Şekil 4.6. PTX öncesi ve sonrası analjeziyometre değerleri	21
Şekil 4.7. IL-1 β düzeyleri (ng/ml)	22
Şekil 4.8. TNF- α düzeyleri (ng/ml)	23
Şekil 4.9. IL-10 düzeyleri (pg/ml)	23
Şekil 4.10. IL-6 düzeyleri (ng/L)	24
Şekil 4.11. Histopatolojik Bulgular	25
Şekil 4.12. Korteks M1 bölgesi Histopatolojik Bulgular	26
Şekil 4.13. Medulla Spinalis Histopatolojik Bulgular	27
Şekil 4.14. Korteks M1 bölgesinde Sigma-1 Reseptörü immunpozitiflikleri	30
Şekil 4.15. Medulla spinalis'te Sigma-1 Reseptörü immunpozitiflikleri	30
Şekil 4.16. Korteks M1 bölgesinde p-NMDAR2B immunpozitiflikleri	31
Şekil 4.17. Medulla spinalis'te p-NMDAR2B immunpozitiflikleri	31
Şekil 4.18. Korteks M1 bölgesinde p-ERK1/2 immunpozitiflikleri	32
Şekil 4.19. Medulla spinalis'te p-ERK 1/2 immunpozitiflikleri	32
Şekil 4.20. Korteks M1 bölgesinde Sigma-1 Reseptörü mRNA düzeyleri	35
Şekil 4.21. Medulla spinalis'te Sigma-1 Reseptörü mRNA düzeyleri	36
Şekil 4.22. Korteks M1 bölgesinde NMDAR2B mRNA düzeyleri	36
Şekil 4.23. Medulla spinalis'te NMDAR2B mRNA düzeyleri	37

Şekil 4.24. Korteks M1 bölgesinde ERK 1/2 mRNA düzeyleri.....	37
Şekil 4.25. Medulla spinalis'te ERK 1/2 mRNA düzeyleri.....	38



TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 3.1. mRNA için kullanılan oligonükleotidler	15
Tablo 4.1. Nöronlarda görülen dejeneratif değişimler.....	25
Tablo 4.2. Sigma-1 Reseptörü, p-NMDAR2B ve p-ERK1/2 yönünden Korteks'in M1 bölgesinde yapılan immunohistokimyasal boyamalar.	28
Tablo 4.3. Sigma-1 Reseptörü, p-NMDAR2B ve p-ERK1/2 yönünden Medulla spinalis'te yapılan immunohistokimyasal boyamalar.	28
Tablo 4.4. Sigma-1 Reseptörü, NMDAR2B ve ERK1/2 yönünden korteks'in M1 bölgesinde yapılan in situ hibridizasyon boyamalarda mRNA düzeyleri...	33
Tablo 4.5. Sigma-1 Reseptörü, NMDAR2B ve ERK1/2 yönünden Medulla spinalis'te yapılan in situ hibridizasyon boyamalarda mRNA düzeyleri	34

1. GİRİŞ

Uluslararası Ağrı Araştırmaları Derneği (IASP) nöropatik ağrıyı “somatosensoriyel sinir sisteminin bir lezyonu veya hastalığından kaynaklanan ağrı” olarak tanımlamaktadır.¹ Ağrı, periferik veya merkezi sinir sistemini etkileyen etiyolojik olarak çeşitli bozukluklardan kaynaklanabilir. Nedeni metabolik bir hastalık, örneğin diyabetik nöropati, nörodejeneratif, vasküler veya otoimmün bir durum, bir tümör, travma, enfeksiyon, toksinlere maruz kalma veya kalıtsal bir hastalık olabilir. Somatosensoriyel sinir sistemini ilgilendiren lezyonlar veya hastalıklar paradoksal olarak sadece işlev kaybına değil, aynı zamanda ağrı duyarlılığında artışa ve spontan ağrıya da yol açabilir.^{2,3} Kronik nöropatik ağrı, küresel hastalık yüküne katkıda bulunan önemli bir faktördür ve yaygınlığı genel popülasyonun %6,9'u ile %10'u arasında değişmektedir.^{3,4}

Günümüzde kanser tedavisinde kullanılan kemoterapötik ajanların birçoğu nöropatik ağrı oluşturur ve Taksanlar toksik polinöropati yaparak ağrının doğru algılanmasını bozan en önemli kemoterapötiklerdendir. Ağrı daha ilk dozlarla birlikte başlayabilir ve kümülatif şekilde artar. Bu da tedavinin yarıda yarıda kalmasına sebep olur. Ağrının oluşmasının önlenmesi ya da tedavisi, antikanser tedavinin sürdürülebilmesine olanak sağlayacaktır.

Nöropatik ağrının patofizyolojisine dair birçok araştırma yapılmış, tedavide bilinen analjezik gruplarının belirgin etkinliği olmaması nedeniyle, farklı ilaç gruplarının etkinliği değerlendirilmiştir. Günümüzde nöropatik ağrının tedavisinde ilk sırada trisiklik antidepressanlar veya serotonin ve noradrenalin geri alım inhibitörleri yer alır, ardından pregabalin veya gabapentin gelir. Dirençli vakalarda opiyatlar tedavide değerlendirilir. Ancak tüm yaklaşımlara rağmen ağrı durumu tedavi edilemeyebilir. Bu gibi durumlarda deneysel tedaviler gözden geçirilir. Antipsikotik etken maddeler de ağrı durumunda kullanımı değerlendirilen ilaç gruplarındandır. Birçok antipsikotiğin ağrı ile ilişkisi

incelenmiş ve etkililiği gösterilmiştir. Fakat nöropatik ağrıdaki etkilerine ilişkin yeterli çalışma yapılmamıştır.

Bu çalışmada amaç; yaygın kullanılan antipsikotiklerden risperidon, haloperidol, aripiprazol, klorpromazin ve ketiapinin dirençli nöropatik ağrının tedavisindeki etkisinin araştırılmasıdır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Paklitakselle İndüklenen Nöropatik Ağrı

Kanser günümüzde sıklıkla gözlenen bir tıbbi durumdur ve en belirgin kanser yaklaşımlarından biri de kemoterapidir. Taksan grubu anti-kanser ilaçlardan olan paklitaksel, Pasifik porsuk ağacının kabuğundan "*Taxus brevifolia*" dan elde edilir ve meme, over, akciğer kanseri gibi yaygın kanserlerin tedavisinde kullanılmaktadır. Paklitakselin en sık görülen ve doz kısıtlayıcı en önemli istenmeyen etkisi paklitakselle indüklenen periferik nöropatidir (PIP). Etki ilk dozdan birkaç gün sonra başlayabilir ve tekrarlayan dozlarla kümülatif olarak artar. Bazı hastalarda tedavi kesilmesine rağmen etki şiddetlenebilir ve 1-3 yıla kadar sürebilir.⁵⁻⁷

Nöropati hem büyük hem de küçük çaplı duyu liflerini, otonom sinirleri ve bazen kraniyal sinirleri etkileyebilir. Çoğunlukla küçük çaplı duyu lifleri etkilendiğinden hastada eldiven-çorap dağılımında simetrik uyuşukluk, karıncalanma, dokunma duyusunda azalma ve nöropatik ağrı gibi belirtiler tipiktir ve enjeksiyondan 24-72 saat sonra görülmeye başlayabilir. Hastaların yaklaşık %97' sinde semptomlar görülürken %60' ında PIP gelişir. Olağan dozlardan daha fazla kullanılmadığı sürece motor tutulum minimaldir.⁸

Periferik nöropatinin mekanizmasına yönelik bir çok çalışma bulunmaktadır.⁸ Nörotoksisite yolları tamamen anlaşılmış değilse de bazı mekanizmalar aydınlatılmıştır. Paklitaksel kanser hücrelerinde mikrotübül depolimerizasyonu ve repolimerizasyonunun normal döngüsünü bozarak hücre mitozunu engeller ve hücre ölümüne yol açar. Aynı etki dorsal kök ganglionunda ve periferik sinir sistemi aksonlarında da görülür. Paklitaksel mikrotübüllere bağlanıp stabilize ettiğinden anormal mikrotübül birikimleri oluşur ve mikrotübül paketleri hücre şeklinde ve stabilitesinde bozulmalara yol açar. Aynı zamanda sinaptik veziküllerin aksonal transportu da

bozulduğundan temel moleküllerin taşınımı engellenir.^{9, 10} ATP taşınmasındaki bozukluk elektriksel iletinin oluşması için gerekli olan iyon gradiyentini etkiler. Bozulan aksonal taşınımın temel hücresel bileşenlerin distal sinire ulaşımını engellemesine bağlı sinirsel yıkım oluşur. Paklitakselin direk akson üzerinde dejeneratif etkileri olduğu da gösterilmiştir.^{11, 12}

Paklitaksel mitokondrinin aksonal transportunu bozmanın yanı sıra mitokondriyal geçirgenlik geçiş gözeneği (mitochondrial permeability transition pore - mPTP) aktivasyonu yaparak mitokondrinin yapısal ve fonksiyonel hasarına da yol açar.¹³ mPTP aktivasyonu ile oluşan kalsiyum akımı düzensizlikleri ATP üretimini bozar. Bozulan mitokondri fonksiyonu reaktif oksijen türleri (ROS) üretiminde artışa sebep olurken, hücre içindeki ROS artışı da mitokondri hasarını artırır ve kısır döngü oluşturur.¹⁴ Artan ROS hücrede ve mitokondride şişme, vakuolizasyon gibi yapısal değişikliklere sebep olur ve apoptotik süreçleri tetikler.^{15, 16}

Kalsiyum dengesinin bozulmasına bağlı hücre hasarı paklitakselin sebep olduğu patolojilerden bir diğeridir. Endoplazmik retikulum (ER)'dan da 1,4,5-trisphosphate reseptör (IP3) kanalları aracılığıyla kalsiyum salınımını uyarır. Kalsiyum dengesinin bozulmasıyla akson dejenerasyonu, periferik sinirlerde demiyelinizasyon gibi süreçlere bağlı olarak sinirsel iletimde bozulmalar görülür.¹⁷⁻¹⁹

En önemli nöropati nedenlerinden biri de nöroinflamatuvar süreçlerdir. Tetiklenen inflamatuvar süreçler, vücudun duyuşsal nöronlarının büyük kısmını içeren dorsal kök ganglionunda (DKG) ve Medulla spinalis dorsal boynuzda ağrı medyatörlerinin miktarının artışına sebep olarak ve ağrı eşiğini düşürerek aşırı duyarlılık olarak nitelendirilen nöropatik ağrının oluşumuna sebep olur. Paklitaksel pro-inflamatuvar sitokinlerden IL-1 β ve TNF- α üretimini artırırken, anti-inflamatuvar sitokinlerden olan IL-4 ve IL-10 düzeylerini azaltır. Değişen sitokin dengesi ağrı reseptörlerinde

duyarlılaşmaya ve hipereksitabliteye yol açar. DKG ve periferik sinirlerde mikrogliya ve astrosit aktivasyonunun yanı sıra ağrıdaki rolü olduğu düşünülen Toll-benzeri reseptör (Toll-like Receptor - TLR4) aktivasyonuna da sebep olur.²⁰⁻²³ DKG kan beyin bariyerinin kısmen geçirgen oluşu sebebiyle paklitaksel nörotoksitesine daha fazla maruz kalır.²⁴ DKG ye makrofaj göçünün nöropatik ağrının oluşması ve sürmesi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.²⁵

2.2. Santral Sensitizasyon

Santral sensitizasyon, merkezi sinir sistemindeki ağrı reseptörlerinin normal veya normalde ağrı oluşturmayacak uyarana artan tepkisi veya inhibisyonda azalma sonucu nöronların sinaptik etkinliğinde artış olarak tanımlanabilir.^{26, 27} Nöron uyarılabilirliğindeki artış spontan ağrı, hiperaleji, allondini ve sekonder hiperaleji gibi durumlarla sonuçlanır. Bunlara uyku bozuklukları, yorgunluk, uyuşma, karıncalanma, bilişsel problemler gibi semptomlar da eşlik edebilir.²⁸ Santral sensitizasyonun nöropatik ağrı, fibromiyalji, irritabl barsak sendromu (IBS), miyofasiyal ağrı sendromu, migren gibi kronik ağrılı durumlarla ilişkili bulunduğu çalışmalar mevcuttur.²⁸⁻³³

Santral sensitizasyon ilişkili durumlarda farklı tetikleyiciler aracılığıyla nöronlarda hipereksitabilite oluşur. Yapılan çalışmaların büyük çoğunluğu santral sensitizasyonun oluşmasında ve sürmesinde ana mekanizmanın N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptör aktivitesi olduğunu ileri sürmüştür.^{34, 35} Tekrarlayan ağrı uyarısının sonucu hücre içi kalsiyum artışı; kalsiyum bağımlı kinazların aktivasyonu ile reseptör ve iyon kanallarında değişikliklere ve sinaptik aktivite artışına yol açar.

NMDA reseptörü normal şartlarda Mg^{2+} ile bloke edilmiş haldedir. Reseptörün substratı olan glutamat Mg^{2+} nin yerinden ayrılmasını sağlar ve kalsiyumun hücre içine akışını uyararak membran depolarizasyonu yapar.³⁶ Nöreseptörlerden salınan Kalsitonin geni ile ilişkili peptit (Calcitonin gene related peptide - CGRP) ve substans P de Mg^{2+}

engelini kaldırabilir. Voltaj-bağımlı bu engelin kaldırılması nöronun uyarılabilirliğini artıran temel santral sensitizasyon mekanizmalarındandır.³⁷

C-aferent nöronların tekrarlı uyarımına bağlı olarak nosiseptörlerden NMDA ile eşsamanlı salınan Substans-P, nörokinin-1 (NK-1) reseptörüne bağlanarak uzun süreli membran depolarizasyonu yapar ve santral sensitizasyonun uyarılmasına sinerjistik etkilidir.^{37,38} CGRP de küçük çaplı duysal nöronlardan salınarak CGRP1 reseptörü üzerinden protein kinaz A (PKA) ve protein kinaz C (PKC) aktive eder. Substans-P nin etkisini potansiyelize etmesinin yanı sıra spinotalamik yolakta PKC ve Ekstraselüler signal-regulated kinaz (ERK) aktive ederek santral sensitizasyonda rol oynayan Beyin kaynaklı nörotrofik faktör (Brain-derived neurotrophic factor – BDNF) salınımını uyarır.^{39, 40}

NMDA reseptör 2B (NMDAR2B) alt tipi en fazla role sahip olduğu öne sürülen NMDAR alt tipidir. Tekrarlayan veya şiddetli ağırlı uyaran sonucu hücre içine artan kalsiyum akışı ve buna bağlı aktive olan postsinaptik sinyal proteinleri NMDA reseptörünün 2B alt tipini fosforile eder ve membran geçirgenliği bozar. Özellikle kalsiyum/kalmodulin bağımlı protein kinaz II (CaMKII) ve src ailesi protein tirozin kinazların NMDAR2B fosforilasyonu ve NMDA bağımlı ağrı aşırı duyarlılığında rolü gösterilmiştir.^{35, 41, 42} NMDAR2B antagonistleri ile yapılan çalışmalarda ağrı yanıtının azaldığının gözlemlenmesi bu alt ünite fosforilasyonunun santral sensitizasyonda rolü olduğunu desteklemektedir.⁴³

Ekstraselüler signal-regulated kinaz (ERK), mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK) ailesinin bir üyesidir. ERK fosforilasyon yoluyla aktive edilir ve fosforile ERK (pERK), birçok genin transkripsiyonu ve sinaptik plastisite için gerekli olan cAMP-yanıt elemanı bağlayıcı protein (CREB) gibi çeşitli transkripsiyonel faktörleri aktive etmek için çekirdeğe geçebilir.⁴⁴ Ağırlı uyaran verilerek yapılan deneylerde dorsal boynuz

nöronlarında pERK artışı gözlenmiş, analjeziklerle pERK ekspresyonunda azalma veya ERK aktivasyonunda azalma gösteren çalışmalarla, ağrı- ERK ilişkisi desteklenmiştir.⁴⁵⁻

⁴⁷ Santral sensitizasyonla ilişkili araştırmalar ERK'nın ağrı hipersensitivitesinden sorumlu sinaptik plastisitede rol oynadığını göstermektedir.⁴⁸⁻⁵² Bu sayede ERK santral sensitizasyonun moleküler bir belirteci olarak değerlendirilebilir. ERK yolağı, her biri birkaç farklı sinyal yolu ile aktive edilebilen ardışık protein kinazlardan oluştuğu için santral sensitizasyonun NMDAR, Metabotropik glutamat reseptörleri (Metabotropic glutamate receptor – mGluR), Neurokinin 1 (NK1), CGRP1 gibi birçok tetikleyicisi ERK aktivasyonu yapar.⁵³ ERK aktive olduğunda NMDA reseptörü NR1 alt ünite fosforilasyonu ile reseptör aktivitesi artırma, Kv4.2 potasyum reseptörü fosforilasyonu aracılığıyla K⁺ akımının azalmasına sebep olarak membran uyarılabilirliğini artırma gibi etkilerle santral sensitizasyonun sürmesine yol açar.^{54, 55}

2.3. Antipsikotikler ve Nöropatik Ağrı

Antipsikotikler başta şizofreni olmak üzere psikoza tedavisinde kullanılan, ancak bunun yanında etki ettikleri reseptör çeşitliliği sebebiyle başka hastalıkların tedavisinde de etkili olabilen bir ilaç grubudur. Tipik antipsikotikler çoğunlukla dopamin D2 reseptör antagonizması yaparken atipiklerde serotonin 5-HT antagonizması daha baskındır. Ancak tüm etken maddelerin reseptör afiniteleri değişkenlik gösterir.

Antipsikotik ilaçların adjuvan analjezikler olarak rolü, uzun süredir devam eden bir tartışma konusudur. Ağrı ile ilişkili çalışmalarda çeşitli antipsikotik ilaçlar denenmiş, olumlu etkiler gözlenmiş ve dirençli ağrıda ek tedavi veya adjuvan olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.^{56, 57} Reseptör etkinliklerinin çeşitliliği, antipsikotiklerin ağrıya birçok farklı yolak aracılığıyla etki etmesini sağlar. Bunlardan biri anti-inflamatuar etkileridir. Nöral dokunun inflamasyonu; hiperaljezi, allodini ve spontan ağrı gibi nöropatik ağrı semptomlarının sebeplerinden biridir. Nöropatik ağrı

modellerinde özellikle TNF- α , IL-1 β , IL-6, ve IL-10 düzeylerinde değişimler gözlenir.⁵⁸⁻

⁶⁰ Antipsikotilerle yapılan hayvan deneylerinden alınan doku örneklerinde ve hücre kültürü deneylerinde, inflamatuvar medyatör düzeylerinde ağrıyı azaltmada etkili olabilecek değişimler gözlenmiştir.⁶¹⁻⁶³ Bu çalışmalar antipsikotiklerin paklitakselle oluşan nöropatik ağrıda da anti-inflamatuvar etki aracılığıyla ağrıyı azaltabileceğini düşündürmektedir.

Antipsikotik ajanlarla migren, fibromiyalji gibi santral sensitizasyon sendromlarında yapılan çalışmalarda alınan olumlu sonuçlar, bu etken madde grubunun ağrı üzerinde santral etkilerinin de olduğunu göstermiştir.⁶⁴⁻⁶⁶ Etken maddelerin, santral sensitizasyon belirteci olarak kullanılabileceği öngörülen ERK ve yine santral sensitizasyon oluşumunda en önemli aracı olduğu düşünölen NMDAR2B düzeylerine etkilerinin incelenmesi, altta yatan mekanizmayı yorumlamakta faydalı olacaktır.

2.4. Sigma Reseptörü

Sigma-1 reseptörü birçok organın yanı sıra periferik ve santral sinir sistemi bölümlerinde yüksek oranda eksprese edilen, uyaran olmadığı durumda inaktif iken patolojik uyarıyla aktiveşen ve sayıca artan bir transmembran proteindir.⁶⁷ Sigma-1 reseptörünün nörolojik ve psikiyatrik birçok sürecin yanı sıra santral sensitizasyon ve ağrı aşırı duyarlılığındaki rolü, nöropatik ağrının yönetimi için Sigma-1 reseptör antagonistlerinin tek başına veya adjuvan olarak umut verici ajanlar olabileceğini göstermiştir.^{68, 69-72}

Sigma-1 reseptörü hücre için kalsiyum sinyalinde önemli bir düzenleyicidir.⁷³ Yoğunlukla endoplazmik retikulumda lokalize olsa da plazma membranı ve mitokondri zarı arasında yer değiştirebilen inter-organel bir sinyal modölatördür.⁷⁴

Patolojik koşullarda, yüksek konsantrasyonlarda sitozolik IP3 varlığında, ER'den sitozole kalsiyum çıkışı artar. Sigma-1 reseptörleri ER zarından ayrılır ve IP3

reseptörlerine bağlanarak kalsiyum mobilizasyonunu artırır. Mitokondriye kalsiyum akışını sağlayarak enerji üretimini artırır.^{75, 76}

Voltaj bağımlı kalsiyum kanalları ve NMDA reseptörlerinin Sigma-1 reseptörü ile etkileşimi de sitozoldeki kalsiyum artışına yol açan faktörlerdendir. Sitozolde artan kalsiyum protein kinaz C (PKC) ve kalsiyum/kalmodulin bağımlı kinazları aktive eder. Bunlar ERK ve NMDAR-NR1 fosforile ederek santral sensitizasyon ve ağrı hipersensitivitesi oluşmasına sebep olurlar.^{77, 78} Nöropatik hayvanlarda Sigma-1 inhibisyonunun NR1 alt ünite ve ERK1/2 fosforilasyonunu azalttığını gösteren çalışmalar bu ilişkiyi destekler.^{79, 80} Plazma membranındaki G-protein bağılı reseptörler ve iyon kanallarıyla etkileşimde olan Sigma-1 reseptörünün; potasyum, γ -aminobütirik asit (GABA), Dopamin D1 gibi reseptörlerle de ilişkisi gösterilmiştir.⁸¹⁻⁸³

Nöropatik ağrı modeli oluşturulmadan önce Sigma-1 reseptör antagonisti verilerek yapılan çalışmalarda duyusal aşırı duyarlılığın oluşmasının önlendiği ve nöropati tamamen oluştuğundan sonra reseptör antagonislerinin duyusal aşırı duyarlılığı tamamen tersine çevirebildiği birçok çalışma ile doğrulanmıştır.⁸⁴⁻⁸⁶ Paklitakselle indüklenen nöropatik ağrı modellerinde de Sigma-1 reseptörü blokajıyla allodininin tamamen yok olduğu gözlenmiş, paklitaksel tarafından üretilen duyusal sinir mitokondriyal hasarının ve nöropatik ağrının gelişimi için Sigma-1 reseptörü aktivasyonunun gerekli olduğu sonucuna varılmıştır.^{84, 87, 88}

Tüm bunlardan yola çıkılarak Sigma-1 reseptör antagonistlerinin nöropatik ağrı tedavisinde kullanılabileceği öngörülmüştür. Farklı yapısal sınıflardaki etken maddelerin Sigma-1 reseptörüne afinitesi gösterilmiştir. Antipsikotiklerden bazılarının da bu reseptöre afinitesine ilişkin çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmada kimyasal yapılarına göre farklı alt tiplerde yer alan tipik antipsikotiklerden haloperidol ve klorpromazin, atipik

antipsikotiklerden ise risperidon, aripiprazol ve ketiapin kullanılarak ağrı üzerindeki Sigma-1 reseptör aracılı etkiler değerlendirilmiştir.



3. MATERYAL VE METOT

Araştırmada Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezinden temin edilen 95 adet 250-300 gr ağırlığında erkek Sprague Dawley sıçan kullanıldı. Atatürk Üniversitesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında bir haftalık adaptasyonu takiben hayvanlar rastgele dağıtılarak deney grupları oluşturuldu. Hayvanlar 3 kontrol 5 tedavi grubu olmak üzere 8 gruba ayrıldı.

Grup 1: Sağlıklı sıçanlar

Grup 2: Yalnızca nöropatik ağrı oluşturulan grup (PTX)

Grup 3: PTX+ Pregabalin (10mg/kg)

Grup 4: PTX + Haloperidol (2mg/kg)

Grup 5: PTX + Klorpromazin (10mg/kg)

Grup 6: PTX + Risperidon (2,5mg/kg)

Grup 7: PTX + Aripiprazol (20mg/kg)

Grup 8: PTX + Ketipin (10mg/kg)

Deney süresince sıçanların su ve yeme erişimi serbest bırakıldı ve 12 saat aydınlık/12 saat karanlık döngüde uygun sıcaklık ve nemde barındırıldı.

Hayvanlarda nöropatik ağrı modeli oluşturuldu ve analjeziyometre ve lokomotor aktivite testleri yapıldı. Ağrı deneyi bitiminde sakrifiye edilen hayvanlardan alınan beyin ve Medulla spinalis dokularından histopatolojik değerlendirme yapıldı. İmmunohistokimyasal boyama ve in-situ hibridizasyon aracılığıyla Sigma-1 reseptörü, NMDAR2B, p-NMDAR2B, ERK ve p-ERK düzeylerindeki değişiklikler değerlendirildi ve ağrı kesici etkinin santral sensitizasyon mekanizmaları ile ilişkisi yorumlandı. ELISA testleri aracılığıyla kan serumunda IL-1 β , IL-6, TNF- α ve IL-10 düzeyleri ölçüldü; ağrı kesici etkinin inflamatuvar mekanizmalarla ilişkisine dair çıkarımlar yapıldı.

Araştırmanın etik kurallara uygunluğu “Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (AÜHADYEK)” tarafından verilen 08.03.2022 tarihli ve E-75296309-050.01.04-2200077102 sayılı yazı ile onaylandı.

3.1. Hayvan Deneyleri

3.1.1. Paklitaksel ile Nöropatik Ağrı Modeli Oluşturma

Deney hayvanlarının tamamının bazal ölçümlerinin alınması amacıyla, lokomotor aktivite ve analjeziyometre testlerine tabi tutulmasının ardından nöropatik ağrı modelini oluşturmak için deney hayvanlarına kümülatif doz 8 mg/kg olacak şekilde gün aşırı 4 doz intraperitoneal (i.p.) 2 mg/kg Paklitaksel uygulandı. Denekler 30 günlük dinlenme ve nöropatik ağrı oluşması sürecine alındı. 30 günün sonunda ağrı ve davranış testleri tekrar edilerek bir sonraki günden itibaren tedaviye başlandı.⁸⁹ Tedavi 14 gün süreyle oral olarak uygulandı.

3.1.2. Locomotor aktivite testi

Kemirgenlerde hareket, keşif faaliyetinin en önemli bileşenlerden biridir ve duygusal, davranışsal ve fiziksel birçok süreçle ilişkilidir. İçsel faktörlerin yanı sıra çevresel faktörler, hayvanın yaşı, cinsiyeti, türü gibi parametrelere göre değişkenlik gösterir.⁹⁰ Bu deneyde hayvanların aktivitesini değerlendirmek amacıyla uygulanan, açık alan testi olarak da adlandırılan lokomotor aktivite testinde, hayvanların gezinme (ambulator) hareketleri, dikilme (vertikal) hareketleri, gezinmeksizin bulunduğu yerde yaptığı (horizontal) hareketleri, kaşınma-temizlenme gibi stereotipik hareketleri ve dinlenme zamanı ölçüldü. Değerler bir florsan lamba ile aydınlatılan etrafı pleksiglas duvarla çevrelenmiş 42x42x42 boyutlarında bir zeminde, karşılıklı kızılötesi ışınlar gönderen sensörler arasında, ışınların kesilme sıklığının bilgisayarlı sistemlerle ölçülmesi mantığıyla çalışan May-ACT-508 Locomotor Activity-Meter cihazı aracılığıyla algılanıp kaydedildi.^{91, 92}

Deney başlangıcında bazal ölçümlerin toplanması amacıyla hayvanlar lokomotor aktivite testine tabi tutuldu. Eş zamanlı olarak 3 sıçanın 10 dakika süreyle ölçümleri yapıldı. Her grup değişikliğinde yüzey alkol ile temizlenip ortam havalandırılarak kokunun giderilmesi sağlandı. Test süresi boyunca ortamda ses ve ışık kontrol altında tutularak hayvanların aktivitelerinin çevreden etkilenmemesi sağlandı. Bazal ölçümlerin kaydedilmesinin ardından nöropatik ağrı modeli oluşturmak amacıyla 4 doz gün aşırı paklitaksel verildi. Hayvanlar model oluşumu için 30 gün süreyle takip edildi ve 30 günün sonunda model ölçümleri için yeniden aynı şartlarda teste tabi tutuldu. Ağrı modeli oluşan hayvanlar 14 gün süreyle tedavi uygulanarak izlendi ve tedavi süresi sonunda tedavi ölçümleri alındı. Tüm değerler istatistiksel olarak değerlendirilerek tedavinin lokomotor aktivite üzerine etkileri yorumlandı.

3.1.3. Analjeziyometre

Bu testin yapılması amacıyla Randall-Selitto analjeziyometresi kullanıldı. Bu alet, üzerinde 25 parçaya bölünmüş yivli bir çubuk bulunan ve pedala basıldığından yiv üzerinde hareket eden 1 gramlık bir ağırlıktan oluşmuştur. Koni şeklinde bir baskı noktası ve bunun karşısında deneğin ayağının yerleştirileceği bir platform vardır. Üst tarafta bulunan koni, hayvanın sağ arka ayağında ikinci metatarsal aralığa yerleştirilerek pedala basılır. Ağırlık ilerledikçe hayvanın ayağına sabit bir hızda artan bir baskı uygulanır. Hayvanın bağırması, çırpınması ya da ayağını çekmesi durumunda, üst kolda bulunan ağırlığa bağlı işaretçinin gösterdiği değer kaydedilir.⁹³ 0-25 aralığında değerler bulunan cihazda 25'e yakın değerler ağrı eşiğinin yüksekliğini, 0'a yakın değerler ise ağrı eşiğinin düşük olduğunu gösterir.^{93, 94} Deneyde gruplandırılan hayvanlardan ilk gün bazal ölçümler alındı. Kümülatif doz 8 mg/kg olacak şekilde paklitaksel verilerek nöropatik ağrı oluşan hayvanlardan model ölçümleri ve tedavi süreci bitiminde de tedavi ölçümleri alınarak ağrı duyarlılığının değerlendirilmesinde kullanılmak üzere kaydedildi.

3.2. Biyokimyasal analizler

Antipsikotilerin IL-1 β , IL-6, IL-10 ve TNF- α düzeylerine etkisinin değerlendirilmesi için ELISA testleri kullanıldı. -20 derecede çalışma gününe dek saklanan kan serumlarından BTLAB markalı E0108Ra, E0764Ra, E0119Ra ve E0135Ra katalog no'lu ELISA kitlerinin prosedürüne uygun olarak çalışıldı ve 450 nm de okutuldu.

3.3. Histopatolojik Yöntem

Sıçanların nekropsileri yapıldı ve beyin dokusu %10'luk nötral formalin solüsyonunda sabitlendi. Rutin alkol-ksilol takip prosedürlerinin ardından parafin bloklara alındı. Polilizinli lamlara 5 μ ' lik kesitler halinde alındı ve hematoksilen-eosin ile boyanarak, beyin M1 bölgesi ve Medulla spinalis kısımlarında görülen dejeneratif değişimler semikantitatif olarak yok (-), hafif (+), orta (++) ve şiddetli (+++) olacak şekilde değerlendirildi.

3.4. İmmunohistokimyasal Yöntem (IHC)

Polilizinli lamlara alınan 4 μ m' lik kesitler, bir ksilol ve alkol serisinden geçirildi, PBS ile yıkandı ve ardından 10 dakika boyunca %3 H2O2 içinde tutuldu ve endojen peroksidazın inaktivasyonu sağlandı. Dokudaki antijenleri ortaya çıkarmak için, 2x5 dakika boyunca 500 Watt'da antijen retrieval solüsyonu ile muamele edildi. Daha sonra Sigma-1 Reseptörü (Affbiotech, Katalog no. DF7363), p-NMDAR2B (Affbiotech, Katalog no. AF3425) ve p-ERK1/2 (Affbiotech, Katalog no. AF1015) primer antikorlarıyla 1/200 dilusyon oranında +4 °C'de overnight olarak inkubasyona bırakıldı. İkincil olarak; Large Volume Detection System: anti-Polyvalent, HRP (Thermofischer, Katalog no: TP-125-HL) üreticinin önerdiği yönergelere uygun biçimde uygulandı. Kromojen olarak AEC (3-Amino-9-Ethylcarbazole) kullanıldı. Mayer's Hematoksilen ile zıt boya yapıldıktan sonra kesitler su bazlı yapıştırıcı ile kapatılarak ışık mikroskopunda

incelendi. İnceleme beyin dokularının tespit edilen immunpozitiflikler semikantitatif olarak yok (-), hafif (+), orta (++) ve şiddetli (+++) olarak değerlendirildi

3.5. In-Situ Hibridizasyon Yöntemi (İSH)

Sigma-1 Reseptörü, NMDAR2B ve ERK1/2 oligonükleotidleri kullanılarak mRNA düzeyleri incelendi (Tablo 3.1.). Bu amaçla Parafin kesitler 57 °C de 1 saat bekletildi ve ardından ksilol alkol serisinden geçirilerek deparafinizasyon işlemi gerçekleştirildi. Fosfat tamponlu salin (Phosphate buffered saline – PBS) ile yıkama işleminden sonra, kesitler proteinaz K ile muamele edildi. Pre hibridizasyon solüsyonu ile 50 °C’ de 3 saat bekletilen kesitler sonrasında, digoxigenin bağlı prop ve hidridizasyon solüsyonu ile 45 °C de overnight olarak inkube edildi. Yıkama ve bloking işlemlerinden sonra anti-dig antikoru ile oda ısısında 4 saat inkubasyona bırakıldı. Daha sonra 10’ar dk PBS ile üç kere, alkalın fosfataz buffer ile 5’ er dk iki kere yıkandıktan sonra 6.6 µl NBT ve 3.3 µl BCIP oranındaki kromojen ile oda ısında boyanma işlemi sağlandı. Daha sonra kesitler distile su ile yıkanıp mikroskopta incelendi.

Tablo 3.1. mRNA için kullanılan oligonükleotidler

Oligonükleotid
Sigma 1 Receptor: 5Dig/GTCTCTCCTGGGTAATAGACCT (Genbank Reference Sequence: AF 067769.1)
NMDA type subunit 2B: 5Dig/CCATTGGTCACCAGGTAAAGGT (NCBI Reference Sequence: XM_017592438.2)
Mitogen activated protein kinase 3: 5Dig/CGACAGATGAACCAGTGGCT (NCBI Reference Sequence: NM_017347.3)

3.6. İstatistiksel Analiz

3.6.1. Hayvan deneylerinin istatistiksel analizi

İstatistiksel analiz, çoklu karşılaştırma testi olan One Way ANOVA ile yapılmış olup, grupların arasındaki farklılıkların tespitinde Post-HOC LSD kullanılmıştır.

3.6.2. Patolojik çalışmaların istatistiksel analizi

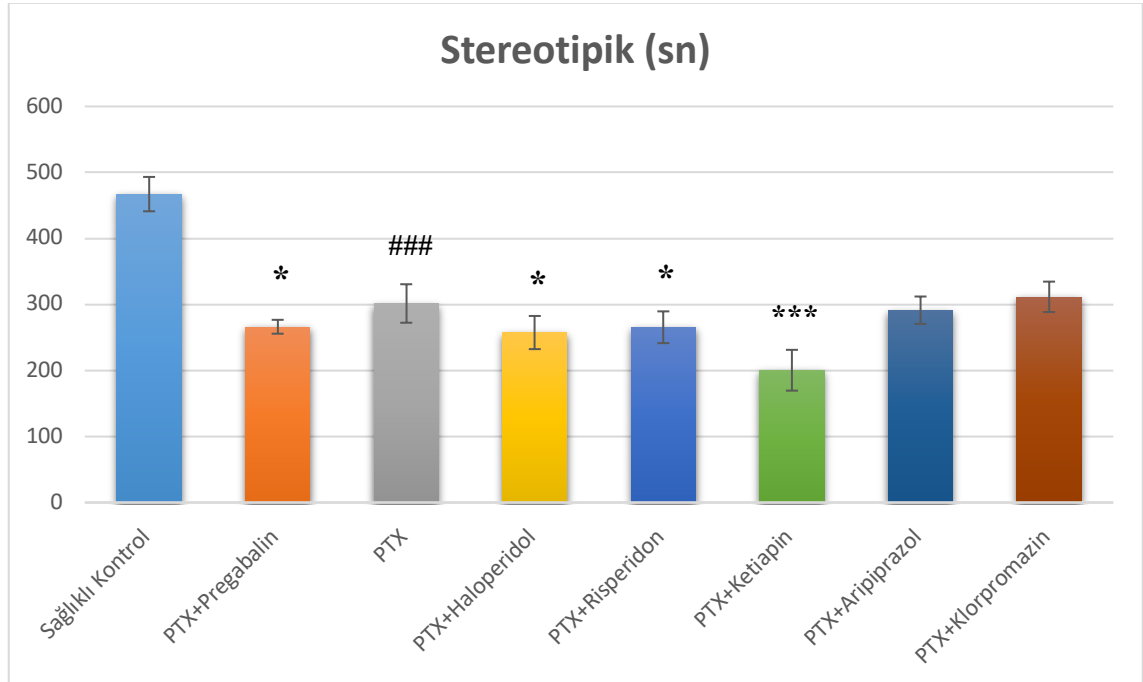
Histopatolojik, immunohistokimyasal ve in situ hibridizasyon ile boyamalarda tespit edilen pozitiflikler yok (0), hafif (1), orta (2) ve şiddetli (3) olarak değerlendirildi. Bulguların analizi için SPSS 20.00 programı kullanıldı. Gruplar arasındaki farklılıkları belirlemek için nonparametrik testlerden olan Kruskal Wallis kullanıldı, farklılığı oluşturan grup ise Mann Whitney U testiyle belirlendi ($p < 0.05$).



4. BULGULAR

4.1. Lokomotor aktivite testi

Lokomotor aktivite testi ile hayvanların stereotipik ve ambulator hareketleri, dinlenme yüzdeleri ve kat ettikleri mesafe kaydedilmiş ve değerlendirilmiştir.



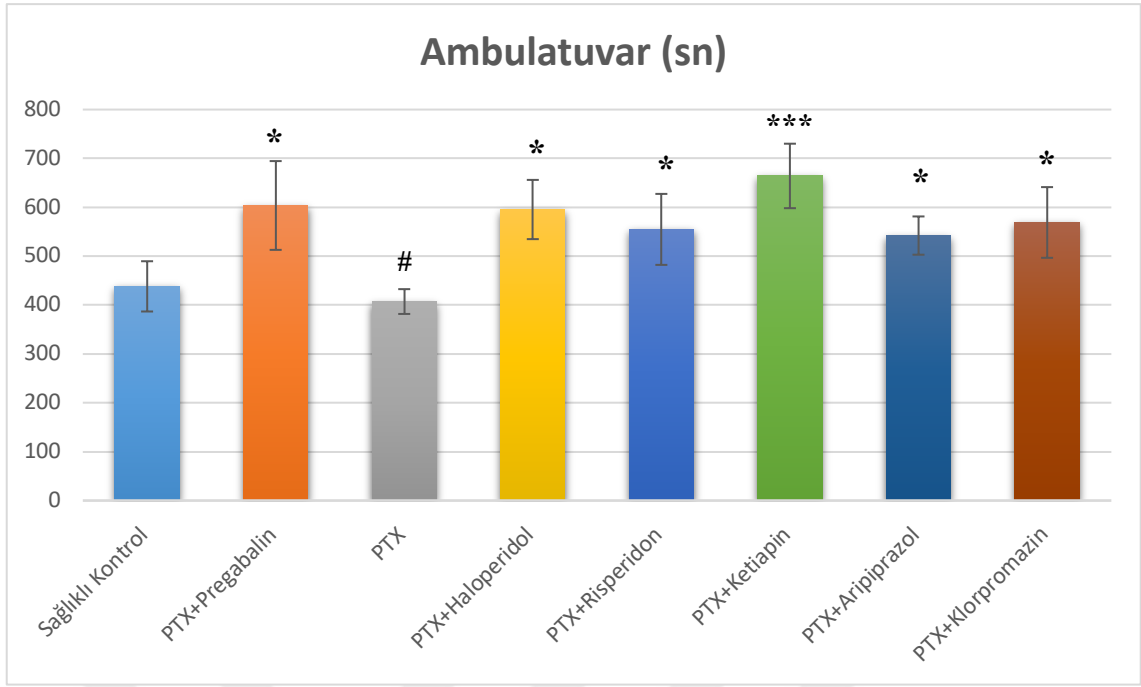
Şekil 4.1. Stereotipik hareket süreleri (n=10)

* = PTX Kontrol grubuna karşı $p < 0.05$

*** = PTX Kontrol grubuna karşı $p < 0.001$

= Sağlıklı Kontrol Grubuna karşılık $p < 0.001$

Paklitaksel alan kontrol grubunda stereotipik harekette nöropatik ağrı oluşmasına bağlı anlamlı bir azalma görülmüştür. Haloperidol, risperidon ve Ketipin ile tedavi sonrasında, stereotipik harekette azalma izlenmiş, aripiprazoldeki ve klorpromazindeki değişiklik istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Şekil 4.1.). Ambulator harekette ise tüm gruplarda artış olmuştur. Ketipindeki artış çok anlamlıdır ($p < 0,001$) (Şekil 4.2.). Haloperidol, risperidon ve ketipinde stereotipik harekette gözlenen azalmaya karşın ambulator hareket anlamlı ölçüde artmış ve ağrı kesici etki hipotezini desteklemiştir.

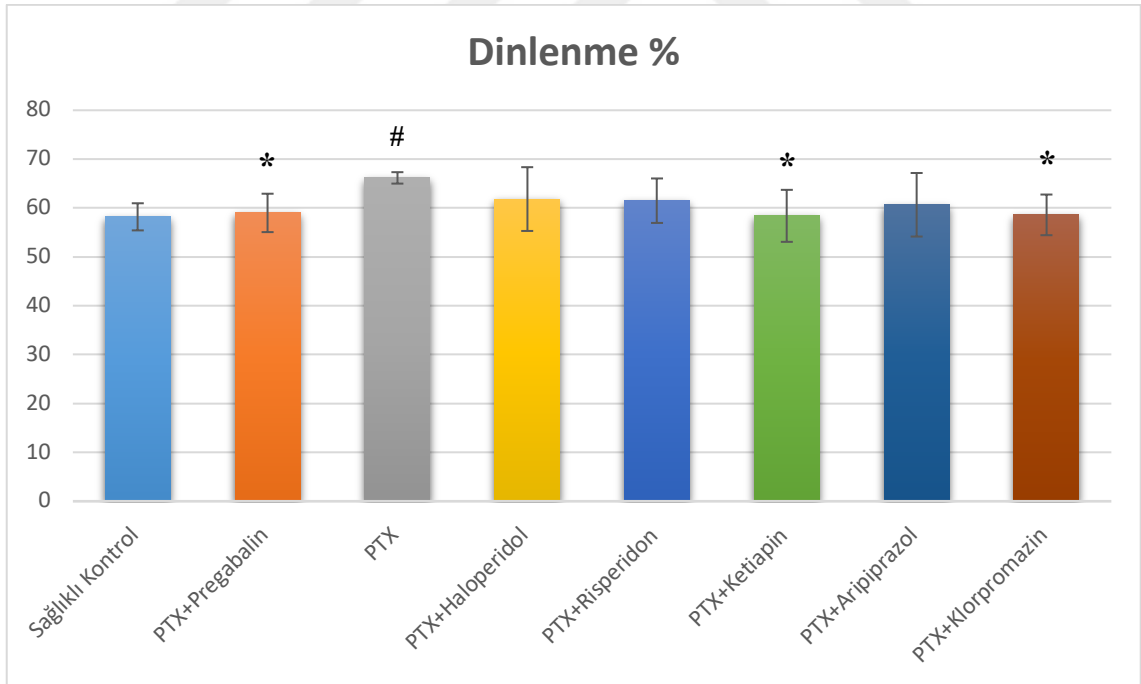


Şekil 4.2. Ambulatuvar hareket süreleri(n=10)

* = PTX Kontrol grubuna karşı $p < 0.05$

*** = PTX Kontrol grubuna karşı $p < 0.001$

= Sağlıklı Kontrol Grubuna karşılık $p < 0.05$

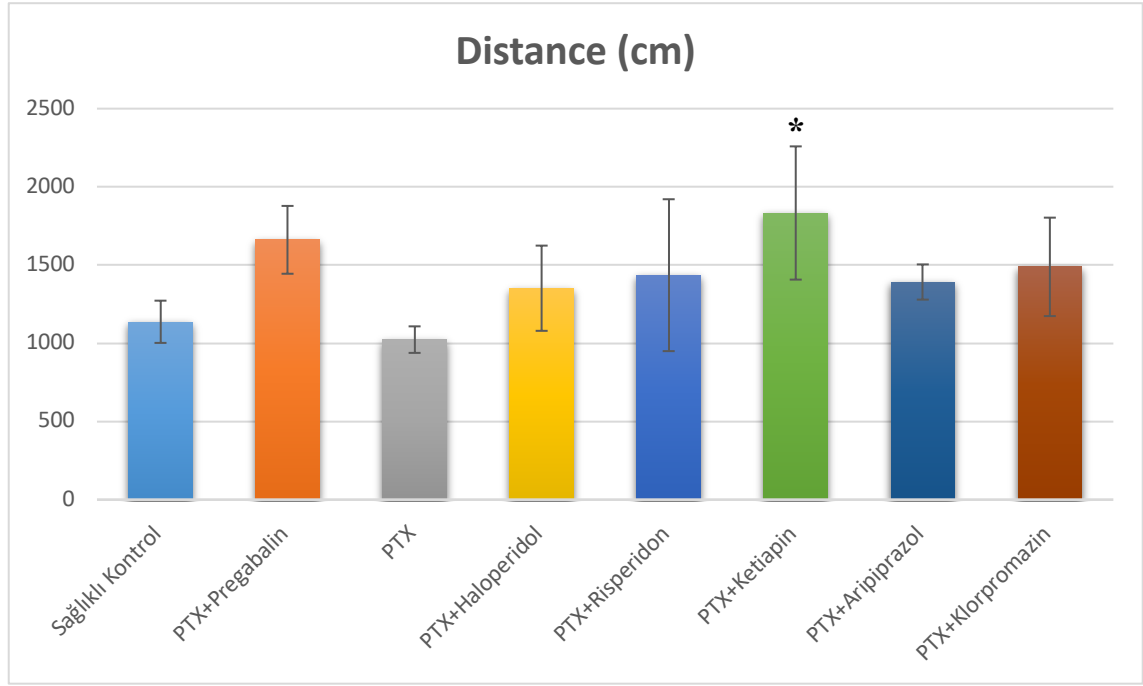


Şekil 4.3. Dinlenme yüzdeleri(n=10)

* = PTX Kontrol grubuna karşı $p < 0.05$

= Sağlıklı Kontrol Grubuna karşılık $p < 0.05$

Dinlenme yüzdelere bakıldığında paklitaksel alan nöropatik ağrılı grupta sağlıklı kontrole kıyasla anlamlı artış olmuş, tüm tedavi gruplarında azalma izlenmiştir. Ketiapin ve klorpromazin alan grupta anlamlı ölçüde azalma olmuştur (Şekil 4.3.). Dinlenme oranlarının sağlıklı kontrol grubuna göre yüksek oluşu ise antipsikotiklerin ve pregabalinin sedatif özellikleriyle ilişkilendirilebilir.



Şekil 4.4. Kat edilen mesafe(n=10)

* = PTX Kontrol grubuna karşı $p < 0.05$

*** = PTX Kontrol grubuna karşı $p < 0.001$

= Sağlıklı Kontrol Grubuna karşılık $p < 0.05$

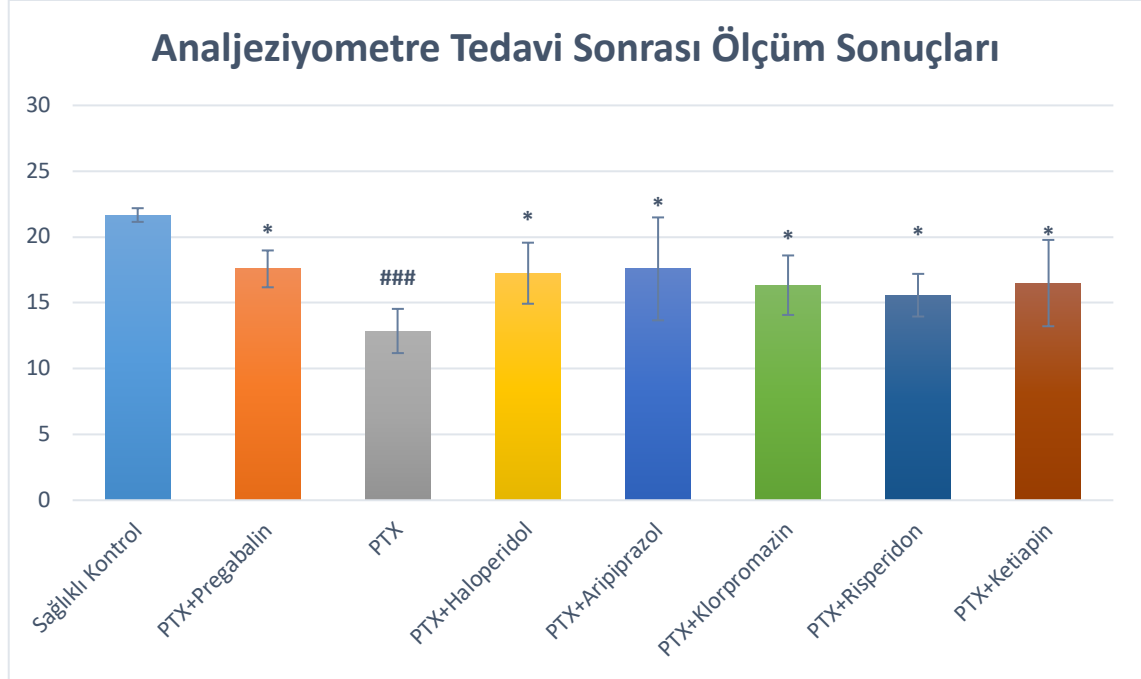
= Sağlıklı Kontrol Grubuna karşılık $p < 0.001$

Kat edilen mesafe değerlendirildiğinde yalnızca ketiapin alan grupta anlamlı bir artış olsa da tüm gruplarda izlenen artış, lokomotor aktivitede izlenen iyileşmeyi ve analjezik etkiyi destekler niteliktedir (Şekil 4.4.).

4.2. Analjeziyometre

Antipsikotik etken maddelerin ağrı üzerindeki etkilerini değerlendirmek amacıyla analjeziyometre ölçümleri yapıldı. Yapılan çalışmada anlamlı ağrı kesici etkisi olan etken maddeler tespit edildi. Kontrol grubu olarak sağlıklı hayvanlar, yalnızca paklitaksel alanlar ve günümüzde nöropatik ağrı tedavisinde kullanılan bir etken madde olan

pregabalin alan hayvanlar kullanıldı. Seçilen etken maddelerin ağrıya etkisi bu kontrol gruplarıyla karşılaştırılarak değerlendirildi. Paklitaksel alan grupta, tedavi sonrasında sağlıklı kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir ağrı duyarlılığı artışı gözlemlendi (Şekil 4.5.).

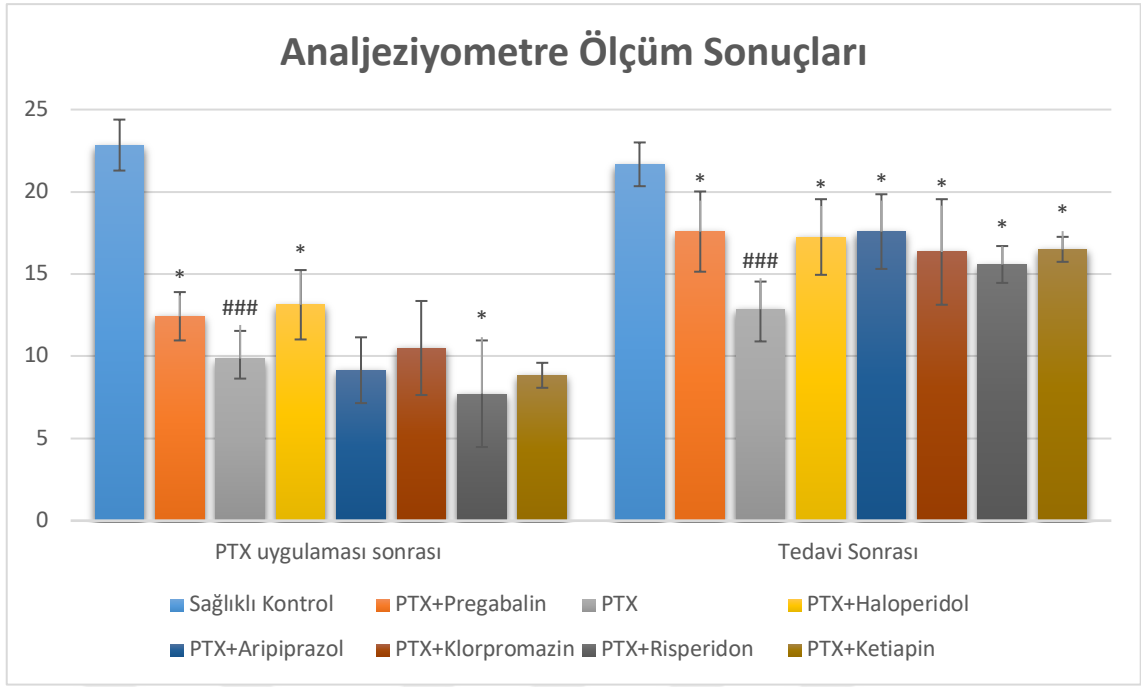


Şekil 4.5. Analjeziyometre Tedavi Sonrası Ölçüm Sonuçları

* = PTX Kontrol grubuna karşı $p < 0.05$ anlamlılığı gösterir.

= Sağlıklı Kontrol Grubuna karşılık $p < 0.001$ anlamlılığı gösterir.

Tedavi sonrasında alınan ölçümlerde Şekil 4.5. te gözlemlendiği üzere tüm etken madde gruplarında yalnızca paklitaksel alan kontrol grubuna kıyasla ağrı duyarlılığında azalma gözlemlendi. Nöropatik ağrının bir sonucu olarak oluşan hiperaljezi, allodini gibi ağrı eşiğinde azalmaya yol açan semptomların antipsikotikler ile azaldığı bu deney ile desteklenmiş oldu.

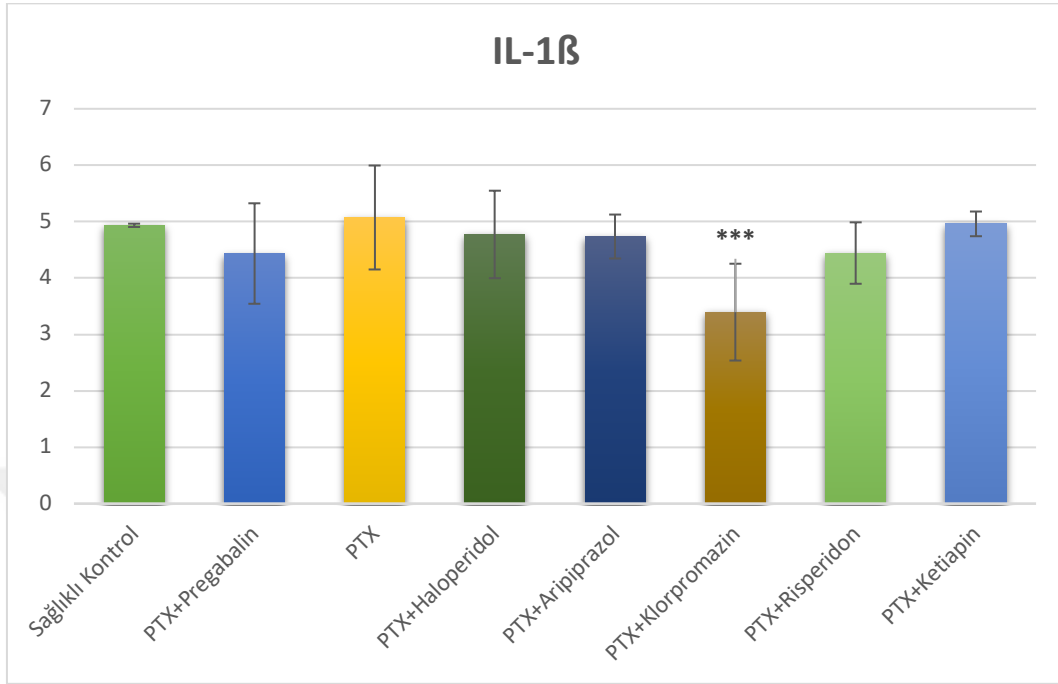


Şekil 4.6. PTX öncesi ve sonrası analjeziyometre değerleri
* = PTX Kontrol grubuna karşı $p < 0.05$ anlamlılığı gösterir.
= Sağlıklı Kontrol Grubuna karşılık $p < 0.001$ anlamlılığı gösterir.

Tüm sonuçlar değerlendirildiğinde tedavi gruplarında analjezik etkinliğin sonucu olarak ağrı eşiğindeki artış gözlenmektedir (Şekil 4.6.).

4.3. ELISA Testleri

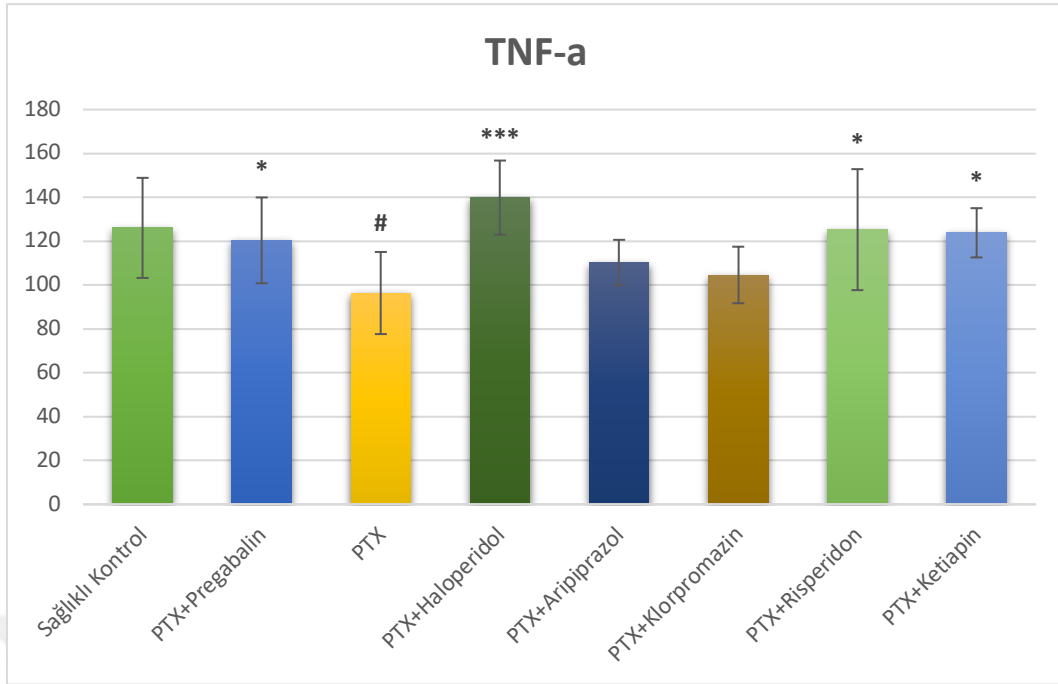
ELISA testlerinde elde edilen veriler aşağıdaki grafiklerde görüldüğü gibidir.



Şekil 4.7. IL-1 β düzeyleri (ng/ml)

*** = PTX Kontrol grubuna karşı $p < 0.001$ anlamlılığı gösterir.

IL-1 β düzeyi tüm gruplarda hafifçe düşmüş, Klorpromazin grubunda çok anlamlı bir düşüş görülmüştür (Şekil 4.7.).



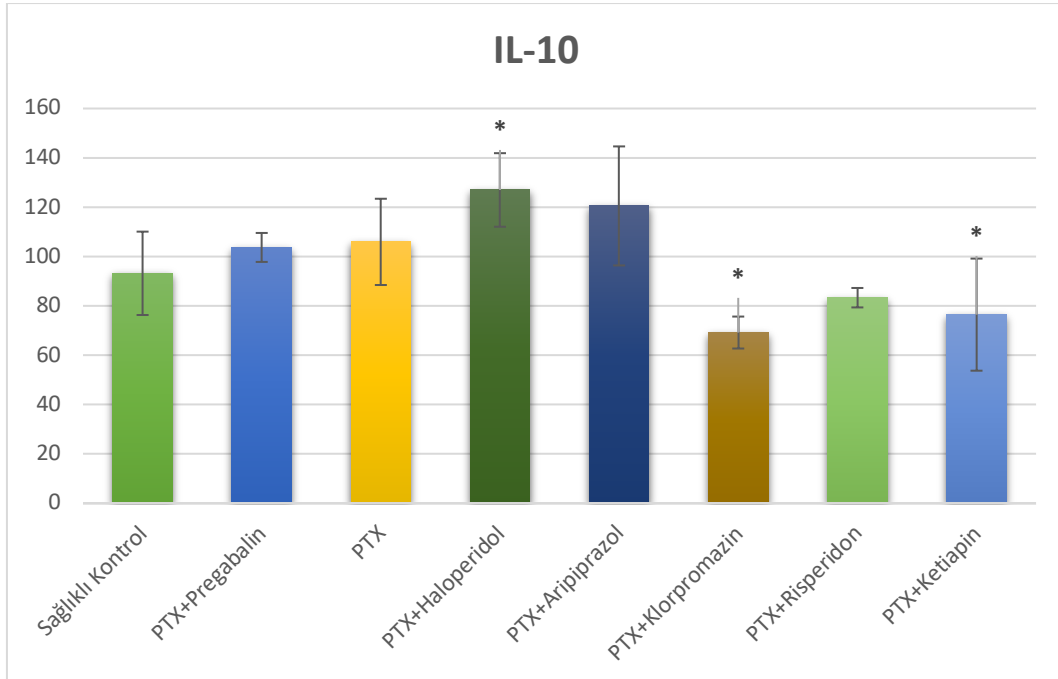
Şekil 4.8. TNF- α düzeyleri (ng/ml)

* = PTX Kontrol grubuna karşı $p < 0.05$ anlamlılığı gösterir.

*** = PTX Kontrol grubuna karşı $p < 0.001$ anlamlılığı gösterir.

= Sağlıklı Kontrol Grubuna karşılık $p < 0.05$ anlamlılığı gösterir.

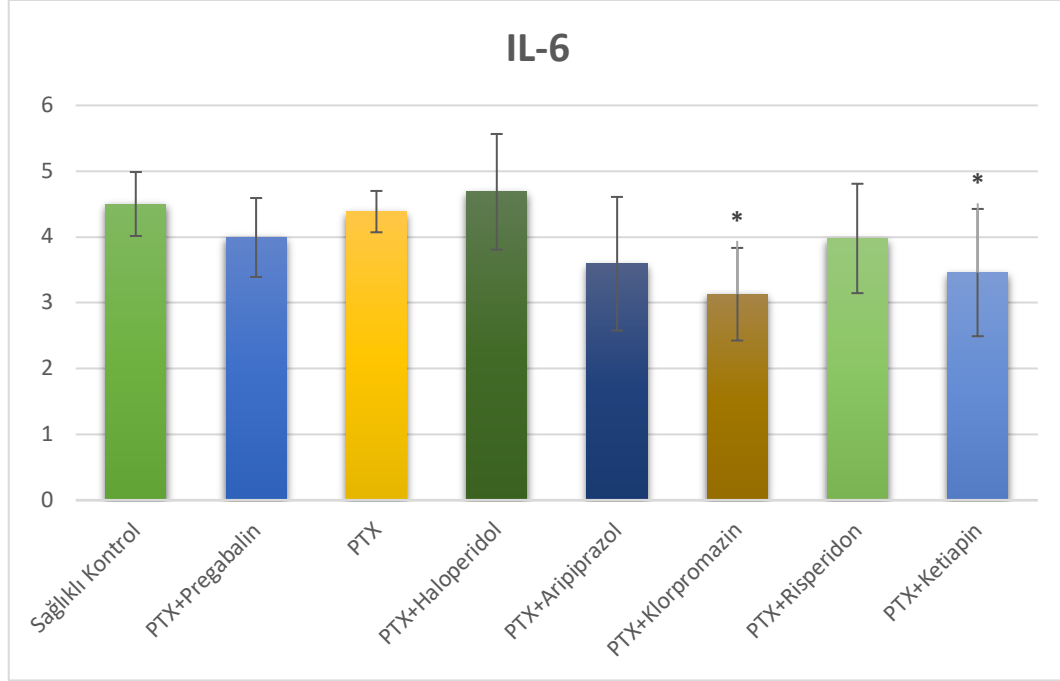
TNF- α düzeylerinde Haloperidol, Risperidon ve Ketipin gruplarında anlamlı olmak üzere tüm gruplarda PTX kontrol grubuna kıyasla bir artış olmuştur (Şekil 4.8.).



Şekil 4.9. IL-10 düzeyleri (pg/ml)

* = PTX Kontrol grubuna karşı $p < 0.05$ anlamlılığı gösterir.

Haloperidol PTX kontrol grubuna göre IL-10 düzeyini anlamlı oranda artırmış, Ketiapin ve klorpromazinde ise baskılayan bir etki görülmüştür. Aripiprazol de anlamlı oranda olmasa da artış ölçülmüştür (Şekil 4.9.).



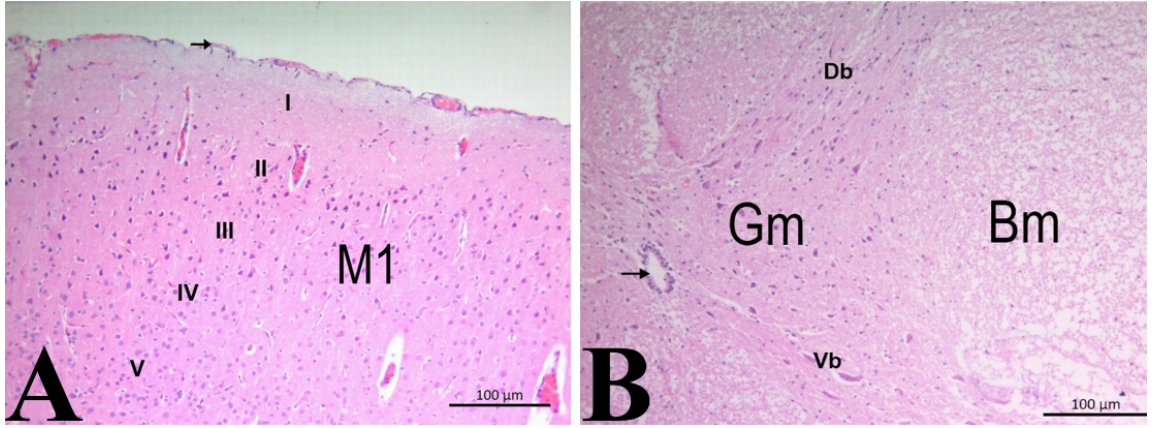
Şekil 4.10. IL-6 düzeyleri (ng/L)

* = PTX Kontrol grubuna karşı $p < 0.05$ anlamlılığı gösterir.

IL-6 düzeylerinde Ketiapin ve Klorpromazin alan gruplarda anlamlı bir azalma görülmüştür. Haloperidol alan grupta artış tespit edilmiş, diğer tedavi gruplarında ise istatistiksel olarak anlamlı olmasa da azalma izlenmiştir (Şekil 4.10.)

4.4. Histopatolojik Bulgular

Histopatolojik değerlendirme beyinde korteks'in M1 bölgesi ile Medulla spinalis'te yapıldı (Şekil 4.11.).



Şekil 4.11. Histopatolojik Bulgular

A- Korteks'in M1 bölgesi. I- Moleküler tabaka, II- Eksternal granüler tabaka, III- Eksternal primidal tabaka, IV- Internal granular tabaka, V- Internal piramidal tabaka, **B- Medulla Spinalis.** Gm- Gri madde, Bm- Beyaz madde, Db- Dorsal boynuz, Vb- Ventral boynuz.

Korteks'te ve Medulla spinalis'te gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklar görüldü (Tablo 4.1.).

Tablo 4.1. Nöronlarda görülen dejeneratif değişimler.

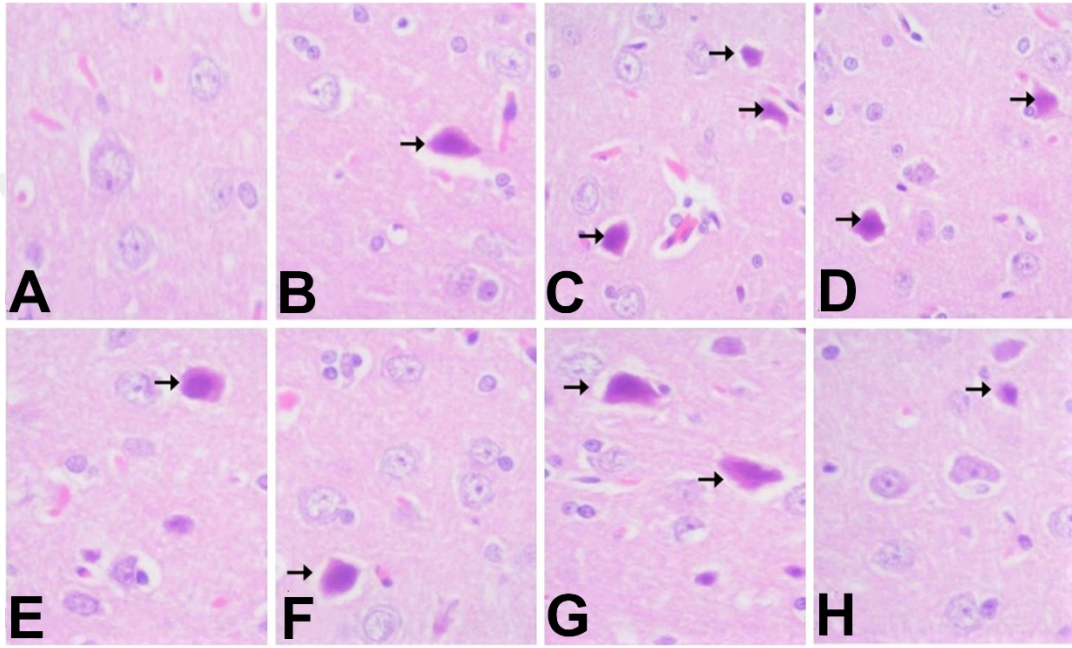
Gruplar	M1	Medulla spinalis
Sağlıklı	0.16±0.40 ^{aA}	0.33±0.51 ^{aA}
PTX+Pregabalin	1.33±0.51 ^{bA}	1.16±0.40 ^{bA}
PTX	2.83±0.40 ^{cA}	2.83±0.40 ^{cA}
PTX+Haloperidol	2.00±0.00 ^{dA}	2.16±0.40 ^{dA}
PTX+Aripiprazol	1.33±0.51 ^{bA}	1.16±0.40 ^{bA}
PTX+Klorpromazin	1.66±0.51 ^{bA}	1.33±0.51 ^{bA}
PTX+Risperidon	1.83±0.40 ^{dA}	1.00±0.00 ^{bB}
PTX+Ketiapin	1.16±0.40 ^{bA}	1.33±0.51 ^{bA}

^{a,b,c} Sütundaki gruplar arasında istatistiksel farklılığı belirtir (p <0.05)

^{A, B} Satırdaki gruplar arasında istatistiksel farklılığı belirtir (p <0.05)

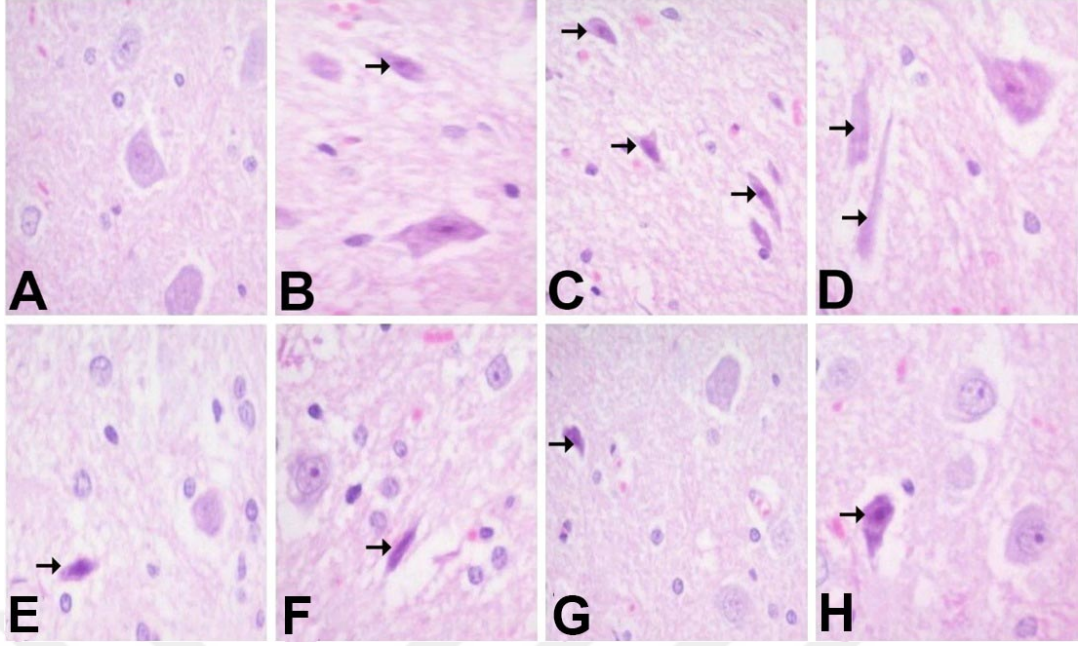
Sağlıklı sıçanların korteksindeki M1 bölgesi kısımları normal histolojik görünümdeydi. Uygulama gruplarından PTX grubunda şiddetli düzeyde dejeneratif değişimler gözlemlendi. Diğer uygulama gruplarından PTX+Haloperidol ve PTX+Risperidon'da dejeneratif değişimlerin orta düzeyde, PTX+Pregabalin,

PTX+Aripiprazol, PTX+Klorpromazin ile PTX+Ketiafin gruplarında ise hafif düzeyde olduğu belirlendi (Tablo 4.1.). Medulla spinalis'te de benzer bulgular olmakla birlikte sadece PTX+Risperidon grubunda M1'de orta düzeyde görülen dejeneratif değişimlerin, Medulla spinalis'te hafif düzeyde yer aldığı tespit edildi (Tablo 4.1.). Mikroskopik olarak dejeneratif değişimlerin olduğu nöronların çekirdeklerinde yoğunluk artmış, çekirdek koyu renkli ve büzüşmüş haldeydi (Şekil 4.12., Şekil 4.13.).



Şekil 4.12. Korteks M1 bölgesi Histopatolojik Bulgular

A- Sağlıklı grup. Normal histolojik görünüm, **B-** PTX+Pregabalin grubu. Hafif düzeyde, **C-** PTX grubu. Şiddetli düzeyde, **D-** PTX+Haloperidol grubu. Orta düzeyde, **E-** PTX+Aripiprazol grubu. Hafif düzeyde, **F-** PTX+Klorpromazin grubu. Hafif düzeyde, **G-** PTX+Risperidon grubu orta düzeyde, **H-** PTX+Ketiafin grubu. Hafif düzeyde dejeneratif nöronlar (oklar). Korteks M1 bölgesi, H-E.



Şekil 4.13. Medulla Spinalis Histopatolojik Bulgular

Sağlıklı grup. Normal histolojik görünüm, **B-** PTX+Pregabalin grubu. Hafif düzeyde, **C-** PTX grubu. Şiddetli düzeyde, **D-** PTX+Haloperidol grubu. Orta düzeyde, **E-** PTX+Aripiprazol grubu. Hafif düzeyde, **F-** PTX+Klorpromazin grubu. Hafif düzeyde, **G-** PTX+Risperidon grubu orta düzeyde, **H-** PTX+Ketiapin grubu. Hafif düzeyde dejeneratif nöronlar (oklar). Medulla Spinalis, H-E.

4.5. İmmunohistokimyasal Bulgular (IHC)

Sigma-1 Reseptörü, p-NMDAR2B ve p-ERK1/2 yönünden Korteks'in M1 bölgesinde ve Medulla spinalis'te istatistiksel açıdan anlamlı farklar tespit edildi (Tablo 4.2., Tablo 4.3.).

Tablo 4.2. Sigma-1 Reseptörü, p-NMDAR2B ve p-ERK1/2 yönünden Korteks'in M1 bölgesinde yapılan immunohistokimyasal boyamalar.

Gruplar	Sigma-1 Reseptörü	p-NMDAR2B	p-ERK1/2
Sağlıklı	0.00±0.00 ^{aA}	0.83±0.40 ^{aB}	0.33±0.51 ^{aA}
PTX+Pregabalin	0.33±0.51 ^{aA}	1.83±0.40 ^{bB}	0.83±0.40 ^{bC}
PTX	0.83±0.40 ^{bA}	1.83±0.40 ^{bB}	1.66±0.51 ^{cB}
PTX+Haloperidol	1.00±0.00 ^{bA}	2.00±0.00 ^{bB}	0.83±0.40 ^{aA}
PTX+Aripiprazol	0.83±0.40 ^{bA}	1.00±0.00 ^{aA}	0.83±0.40 ^{aA}
PTX+Klorpromazin	1.00±0.00 ^{bA}	1.16±0.40 ^{aA}	1.00±0.00 ^{aA}
PTX+Risperidon	0.83±0.40 ^{bA}	0.83±0.40 ^{aA}	1.00±0.00 ^{aA}
PTX+Ketipin	1.00±0.00 ^{bA}	0.83±0.40 ^{aA}	1.16±0.40 ^{aA}

^{a,b,c} Sütundaki gruplar arasında istatistiksel farklılığı belirtir (p <0.05)

^{A, B} Satırdaki gruplar arasında istatistiksel farklılığı belirtir (p <0.05)

Tablo 4.3. Sigma-1 Reseptörü, p-NMDAR2B ve p-ERK1/2 yönünden Medulla spinalis'te yapılan immunohistokimyasal boyamalar.

Gruplar	Sigma-1 Reseptörü	p-NMDAR2B	p-ERK1/2
Sağlıklı	0.00±0.00 ^{aA}	0.83±0.40 ^{aB}	1.00±0.00 ^{aB}
PTX+Pregabalin	0.83±0.40 ^{bA}	2.00±0.00 ^{bB}	0.83±0.40 ^{aA}
PTX	1.83±0.40 ^{cA}	2.83±0.40 ^{cB}	2.83±0.40 ^{bB}
PTX+Haloperidol	1.16±0.40 ^{bA}	1.83±0.40 ^{bB}	2.00±0.00 ^{cB}
PTX+Aripiprazol	1.00±0.00 ^{bA}	2.83±0.40 ^{cB}	1.00±0.00 ^{aA}
PTX+Klorpromazin	1.16±0.40 ^{bA}	1.00±0.00 ^{aA}	1.16±0.40 ^{aA}
PTX+Risperidon	2.00±0.00 ^{bA}	2.66±0.51 ^{cB}	1.83±0.40 ^{cA}
PTX+Ketipin	1.83±0.40 ^{cA}	1.16±0.40 ^{aB}	1.00±0.00 ^{aB}

^{a,b,c} Sütundaki gruplar arasında istatistiksel farklılığı belirtir (p <0.05)

^{A, B} Satırdaki gruplar arasında istatistiksel farklılığı belirtir (p <0.05)

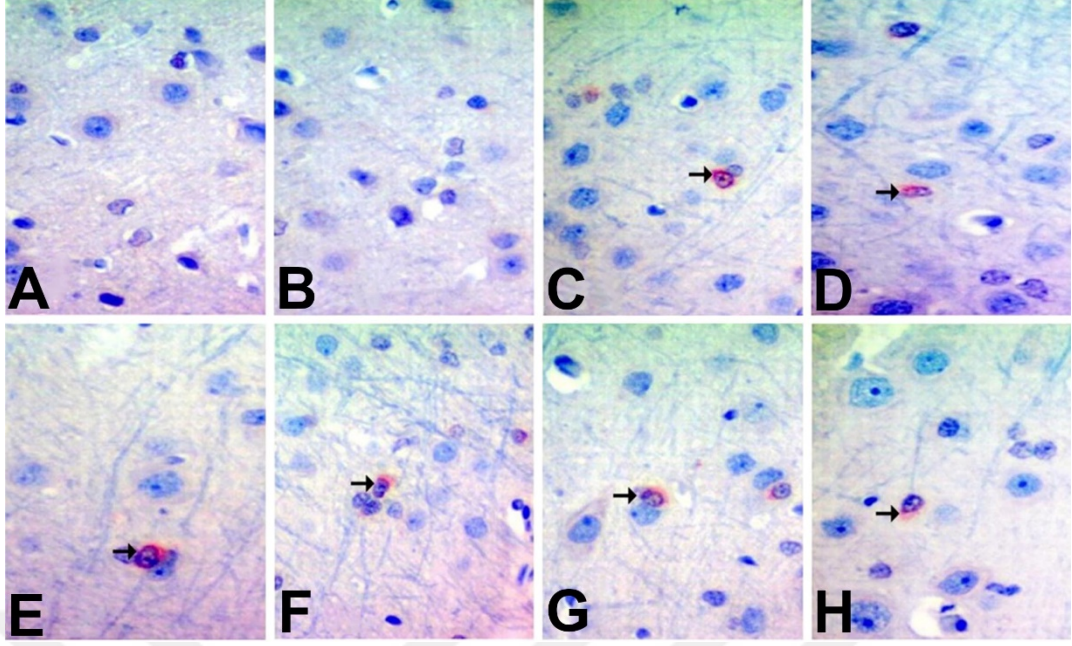
Sigma-1 Reseptörü yönünden M1'de yapılan boyamalarda sağlıklı, PTX+Pregabalin gruda önemli düzeyde immunpozitiflik gözlenmezken, diğer uygulama

gruplarında hafif düzeyde immunpozitiflik vardı. Medulla spinalis'te ise sadece sağlıklı grupta immunpozitiflik bulunmamaktaydı. Uygulama gruplarından PTX, PTX+Risperidon ve PTX+Ketipin gruplarında orta, PTX+ Pregabalin, PTX+Haloperidol, PTX+Aripiprazol ve PTX+Klorpromazin gruplarında hafif düzeyde Sigma-1 Reseptörü immunpozitifliği bulunmaktaydı (Şekil 4.14., Şekil 4.15.).

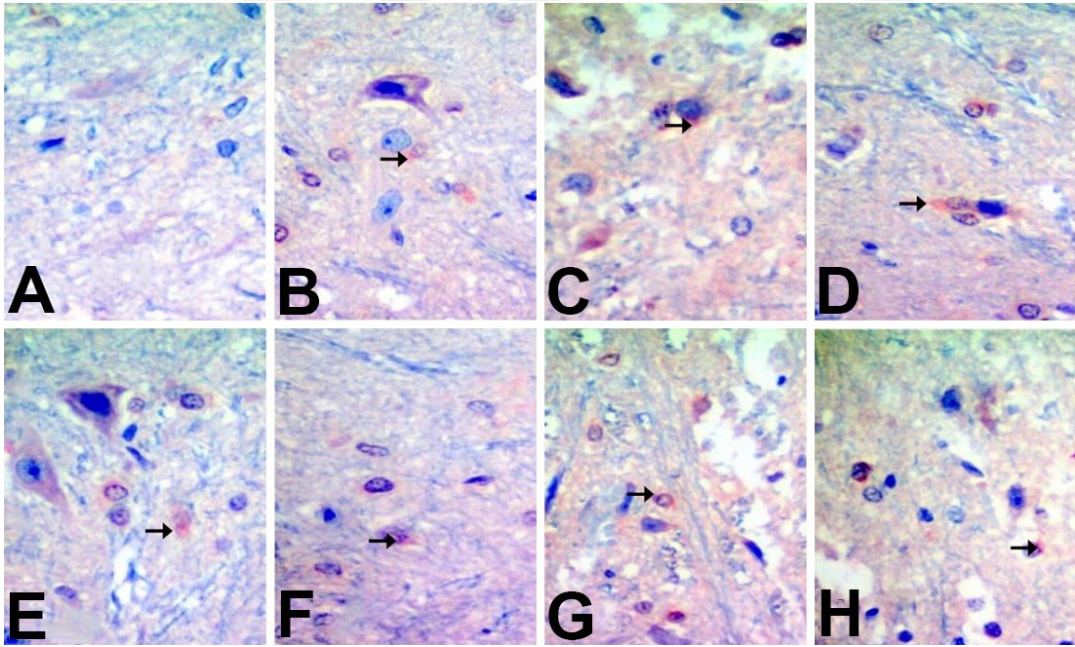
p-NMDAR2B immunpozitiflikleri tüm grupların korteks'lerinin M1 kısımlarında ve Medulla spinalis'te görüldü. Yapılan boyamalarda; sağlıklı, PTX+Aripiprazol, PTX+Klorpromazin PTX+Risperidon ve PTX+Ketipin gruplarında hafif, diğer uygulama grupları olan PTX+Pregabalin, PTX, PTX+Haloperidol'da ise orta düzeyde immunpozitiflikler vardı. Medulla Spinalis'te p-NMDAR2B immunpozitiflikleri genel olarak korteks'in M1 kısmına göre daha şiddetliydi. PTX, PTX+Aripiprazol ve PTX+Risperidon gruplarında şiddetli, PTX+Pregabalin, PTX+Haloperidol gruplarında orta, sağlıklı, PTX+Klorpromazin ve PTX+Ketipin gruplarında ise hafif düzeyde p-NMDAR2B immunpozitiflikleri tespit edildi (Şekil 4.16., Şekil 4.17.).

p-ERK1/2 çoğu sağlıklı gruptaki sıçanların M1 bölgesi hariç, tüm gruplarda hem M1'de hem de Medulla spinalis'te gözlemlendi. p-ERK1/2 immunpozitiflikleri sağlıklı grubun M1 bölgesinde gözlenmezken, diğer grupların tamamında hafif düzeyde immunpozitiflikler bulunmaktaydı. Medulla spinalis'teki pozitiflikler sağlıklı, PTX+Pregabalin, PTX+Aripiprazol, PTX+Klorpromazin ve PTX+Ketipin gruplarında hafif, PTX+Haloperidol, PTX+Risperidon gruplarında orta, PTX grubunda ise şiddetli düzeydeydi (Şekil 4.18- Şekil 4.19).

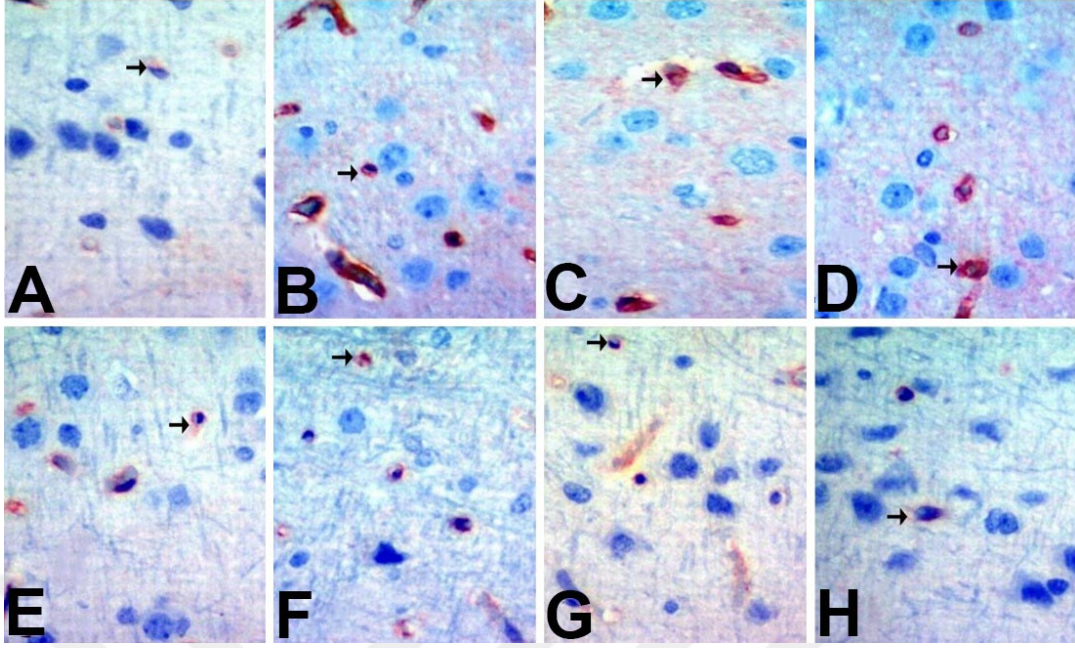
Sigma-1 Reseptörü, p-NMDAR2B ve p-ERK1/2 immunpozitiflikleri hem M1'de hem de Medulla spinalis'te; nörofil dokuda, glia hücrelerinde, hafif olarak da nöronlardaydı.



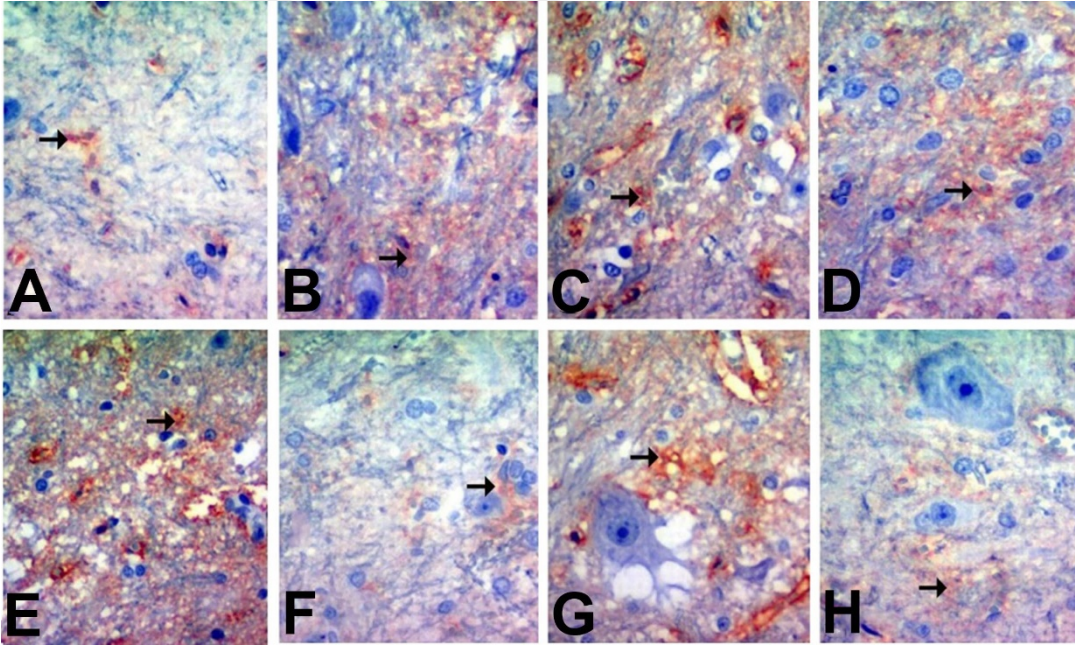
Şekil 4.14. Korteks M1 bölgesinde Sigma-1 Reseptörü immunpozitiflikleri
A- Sağlıklı grup ve **B-** PTX+Pregabalin grubu. İmmun negatiflik, **C-** PTX grubu ve **D-** PTX+Haloperidol grubu. Hafif düzeyde immunpozitiflik, **E-** PTX+Aripiprazol grubu, **F-** PTX+Klorpromazin grubu, **G-** PTX+Risperidon grubu, **H-** PTX+Ketiapin grubu. Hafif düzeyde immunpozitiflik (oklar), IHC.



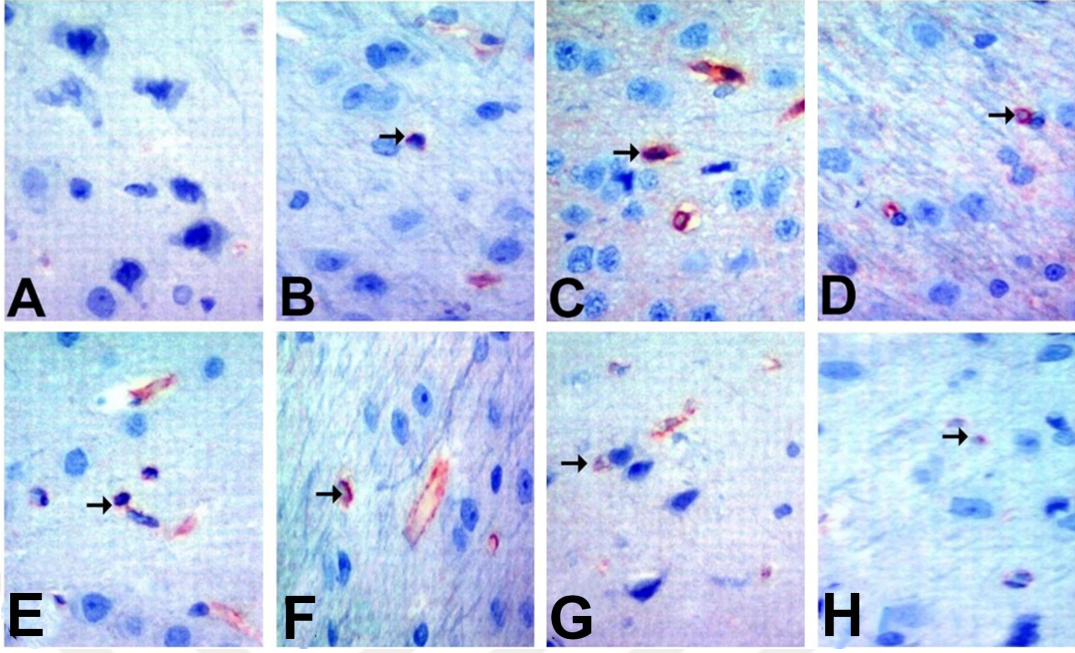
Şekil 4.15. Medulla spinalis'te Sigma-1 Reseptörü immunpozitiflikleri
A- Sağlıklı grup. İmmun negatiflik, **B-** PTX+Pregabalin grubu. Hafif düzeyde, **C-** PTX grubu. Orta düzeyde, **D-** PTX+Haloperidol grubu. Hafif düzeyde, **E-** PTX+Aripiprazol grubu ve **F-** PTX+Klorpromazin grubu. Hafif düzeyde, **G-** PTX+Risperidon grubu ve **H-** PTX+Ketiapin grubu. Orta düzeyde immunpozitiflik (oklar). IHC.



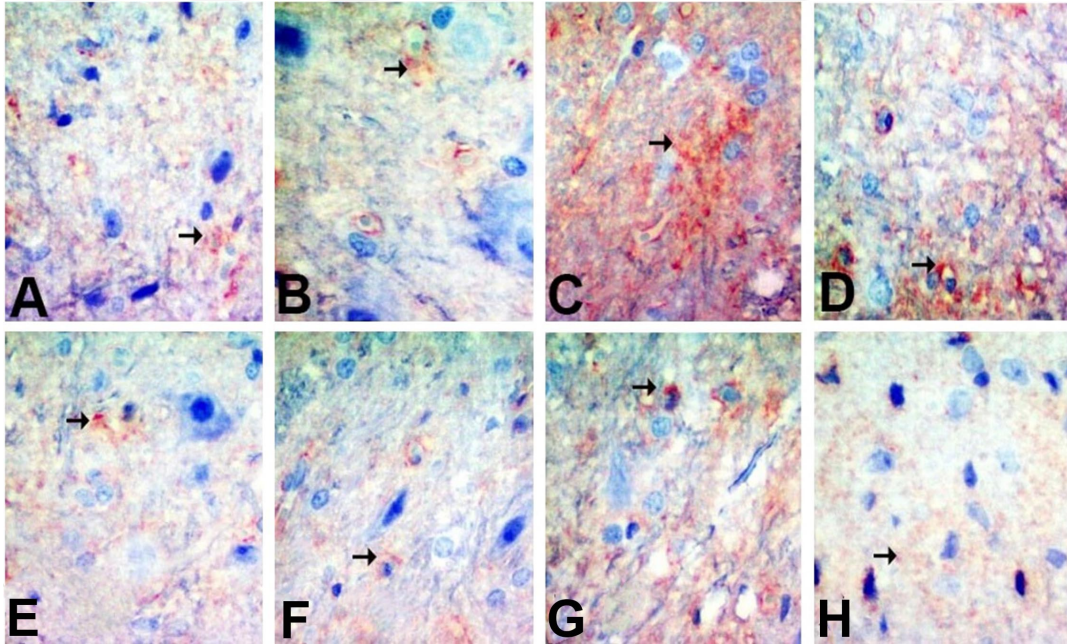
Şekil 4.16. Korteks M1 bölgesinde p-NMDAR2B immunpozitiflikleri
A- Sağlıklı grup. Hafif düzeyde, **B-** PTX+Pregabalin grubu, **C-** PTX grubu, **D-** PTX+Haloperidol grubu, Orta düzeyde, **E-** PTX+Aripiprazol grubu, **F-** PTX+Klorpromazin grubu, **G-** PTX+Risperidon grubu, **H-** PTX+Ketiapin grubu. Hafif düzeyde immunpozitiflik (oklar), IHC.



Şekil 4.17. Medulla spinalis'te p-NMDAR2B immunpozitiflikleri
A- Sağlıklı grup. Hafif düzeyde, **B-** PTX+Pregabalin grubu. Orta düzeyde, **C-** PTX grubu. Şiddetli düzeyde, **D-** PTX+Haloperidol grubu. Orta düzeyde, **E-** PTX+Aripiprazol grubu. Şiddetli düzeyde, **F-** PTX+Klorpromazin grubu. Hafif düzeyde, **G-** PTX+Risperidon grubu. Şiddetli düzeyde, **H-** PTX+Ketiapin grubu. Hafif düzeyde immunpozitiflik (oklar). IHC.



Şekil 4.18. Korteks M1 bölgesinde p-ERK1/2 immunpozitiflikleri
A- Sağlıklı grup. İmmün negatiflik, **B-** PTX+Pregabalin grubu, Hafif düzeyde, **C-** PTX grubu, Orta düzeyde, **D-** PTX+Haloperidol grubu, **E-** PTX+Aripiprazol grubu, **F-** PTX+Klorpromazin grubu, **G-** PTX+Risperidon grubu, **H-** PTX+Ketiapin grubu. Hafif düzeyde immunpozitiflik (oklar), IHC.



Şekil 4.19. Medulla spinalis'te p-ERK 1/2 immunpozitiflikleri
A- Sağlıklı grup ve **B-** PTX+Pregabalin grubu. Hafif düzeyde, **C-** PTX grubu. Şiddetli düzeyde, **D-** PTX+Haloperidol grubu. Orta düzeyde, **E-** PTX+Aripiprazol grubu ve **F-** PTX+Klorpromazin grubu. Hafif düzeyde, **G-** PTX+Risperidon grubu. Orta düzeyde, **H-** PTX+Ketiapin grubu. Hafif düzeyde immunpozitiflik (oklar). IHC.

4.6. In-Situ Hibridizasyon Yöntemi (ISH)

Sigma-1 Reseptörü, NMDAR2B ve ERK1/2 yönünden korteks'in M1 bölgesinde ve Medulla spinalis'te mRNA ekspresyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı farklar tespit edildi (Tablo 4.4., Tablo 4.5.).

Tablo 4.4. Sigma-1 Reseptörü, NMDAR2B ve ERK1/2 yönünden korteks'in M1 bölgesinde yapılan in situ hibridizasyon boyamalarda mRNA düzeyleri

Gruplar	Sigma-1 Reseptörü	NMDAR2B	ERK1/2
Sağlıklı	0.83±0.40 ^{aA}	1.83±0.40 ^{aB}	1.00±0.00 ^{aA}
PTX+Pregabalin	0.83±0.40 ^{aA}	2.66±0.51 ^{bB}	1.83±0.40 ^{bC}
PTX	1.66±0.51 ^{bA}	2.83±0.40 ^{bB}	2.66±0.51 ^{cB}
PTX+Haloperidol	1.83±0.40 ^{bA}	2.83±0.40 ^{bB}	1.83±0.40 ^{bA}
PTX+Aripiprazol	1.66±0.51 ^{bA}	1.66±0.51 ^{aA}	1.66±0.51 ^{bA}
PTX+Klorpromazin	1.66±0.51 ^{bA}	1.83±0.40 ^{aA}	1.83±0.40 ^{bA}
PTX+Risperidon	2.00±0.00 ^{bA}	1.66±0.51 ^{aA}	1.83±0.40 ^{bA}
PTX+Ketipin	1.83±0.40 ^{bA}	1.66±0.51 ^{aA}	1.66±0.51 ^{bA}

^{a,b,c} Sütundaki gruplar arasında istatistiksel farklılığı belirtir (p <0.05)

^{A,B} Satırdaki gruplar arasında istatistiksel farklılığı belirtir (p <0.05)

Tablo 4.5. Sigma-1 Reseptörü, NMDAR2B ve ERK1/2 yönünden Medulla spinalis'te yapılan in situ hibridizasyon boyamalarda mRNA düzeyleri

Gruplar	Sigma-1	NMDAR2B	ERK1/2
Sağlıklı	1.00±0.00 ^{aA}	1.83±0.40 ^{aB}	1.66±0.51 ^{aB}
PTX+Pregabalin	1.66±0.51 ^{bA}	2.66±0.51 ^{bB}	1.83±0.40 ^{aA}
PTX	2.66±0.51 ^{cA}	2.83±0.40 ^{bA}	2.66±0.51 ^{bA}
PTX+Haloperidol	1.83±0.40 ^{bA}	2.66±0.51 ^{bB}	2.66±0.51 ^{bB}
PTX+Aripiprazol	1.66±0.51 ^{bA}	2.66±0.51 ^{bB}	1.83±0.40 ^{aA}
PTX+Klorpromazin	1.66±0.51 ^{bA}	1.66±0.51 ^{aA}	1.83±0.40 ^{aA}
PTX+Risperidon	2.83±0.40 ^{cA}	2.83±0.40 ^{bA}	2.83±0.40 ^{bA}
PTX+Ketiapin	2.66±0.51 ^{cA}	1.66±0.51 ^{aB}	2.00±0.00 ^{aB}

^{a,b,c} Sütundaki gruplar arasında istatistiksel farklılığı belirtir (p <0.05)

^{A,B} Satırdaki gruplar arasında istatistiksel farklılığı belirtir (p <0.05)

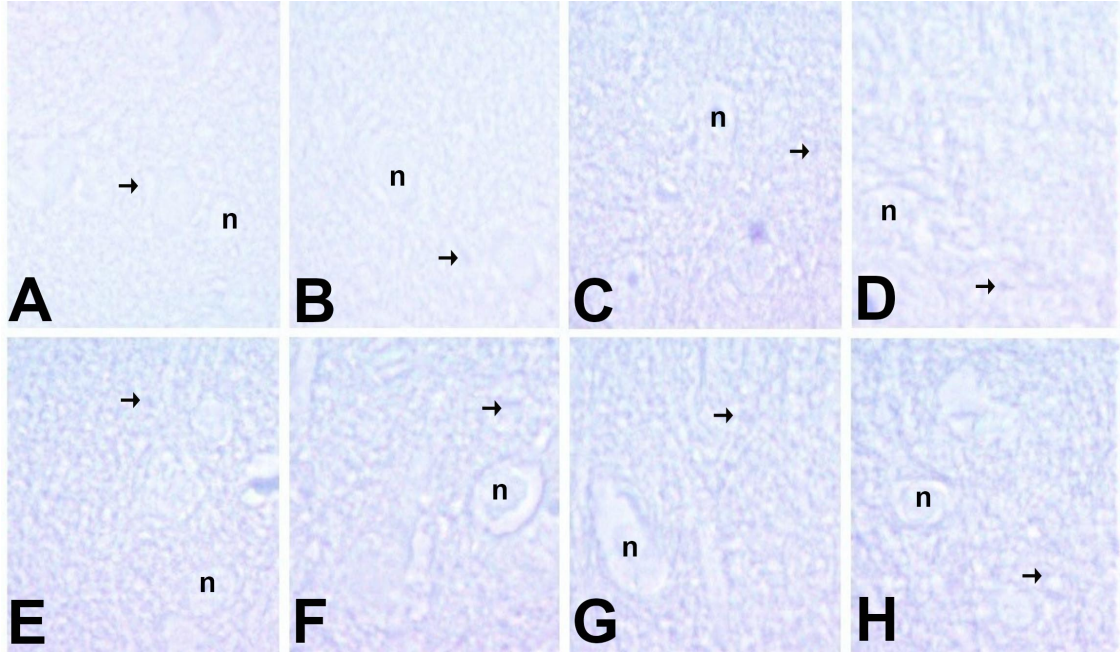
Korteks'in M1 bölgesinde Sigma-1 Reseptörü mRNA düzeyleri sağlıklı ve PTX+Pregabalin grubunda hafif iken diğer uygulama gruplarında orta düzeydeydi. Medulla spinalis'te ise Sigma-1 Reseptörü mRNA düzeyleri PTX, PTX+Risperidon ve PTX+Ketiapin gruplarında şiddetli, PTX+Pregabalin, PTX+Haloperidol, PTX+Aripiprazol ve PTX+Klorpromazin gruplarında orta, sağlıklı grupta hafif olarak tespit edildi (Şekil 4.20., 4.21.).

NMDAR2B mRNA düzeyleri M1 bölgesinde PTX+Pregabalin, PTX, PTX+Haloperidol gruplarında şiddetli, diğer uygulama grupları ile sağlıklı grupta orta seviyede tespit edildi. Medulla spinalis'te de benzer bulgulara rastlandı. Gruplardan sağlıklı, PTX+Klorpromazin ve PTX+Ketiapin'de orta düzeyde NMDAR2B mRNA tespit edilirken, diğer uygulama gruplarında NMDAR2B mRNA düzeyi şiddetli olarak bulundu (Şekil 4.22., 4.23.).

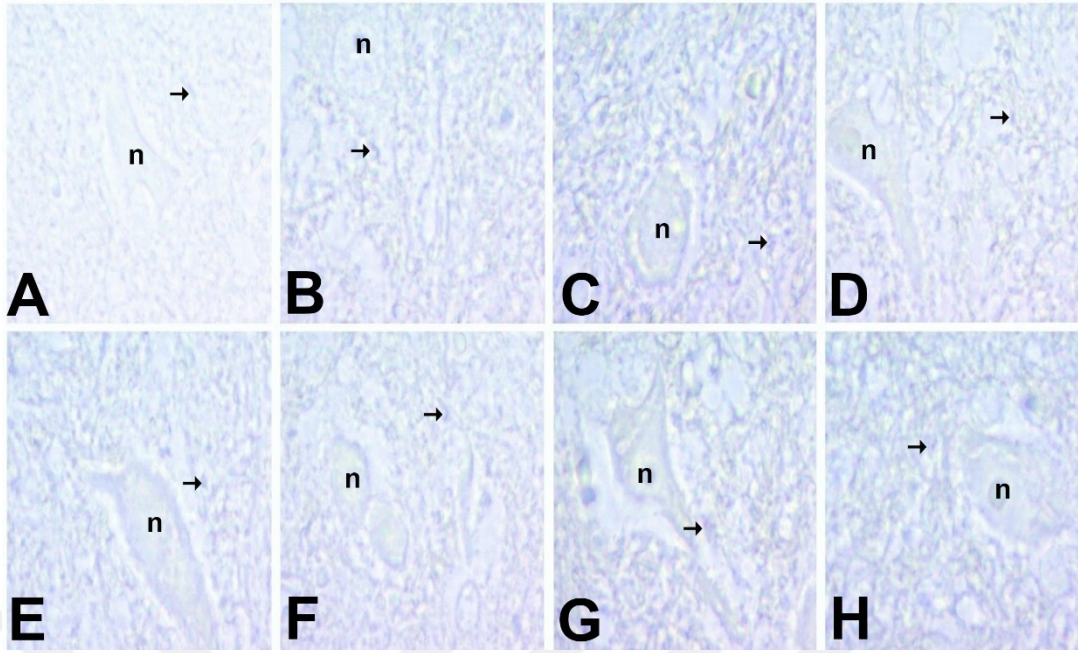
ERK1/2 mRNA ekspresyonu tüm gruplardaki sıçanların hem M1'de hem de Medulla spinalis'te gözlemlendi. Korteks'in M1 bölgesindeki ERK1/2 mRNA ekspresyonu

PTX grubunda şiddetli iken, diğer gruplarda orta düzeydeydi. Medulla spinalis'te ise PTX, PTX+Haloperidol ve PTX+Risperidon gruplarında şiddetli, diğer gruplarda orta düzeydeydi (Şekil 4.24., 4.25.).

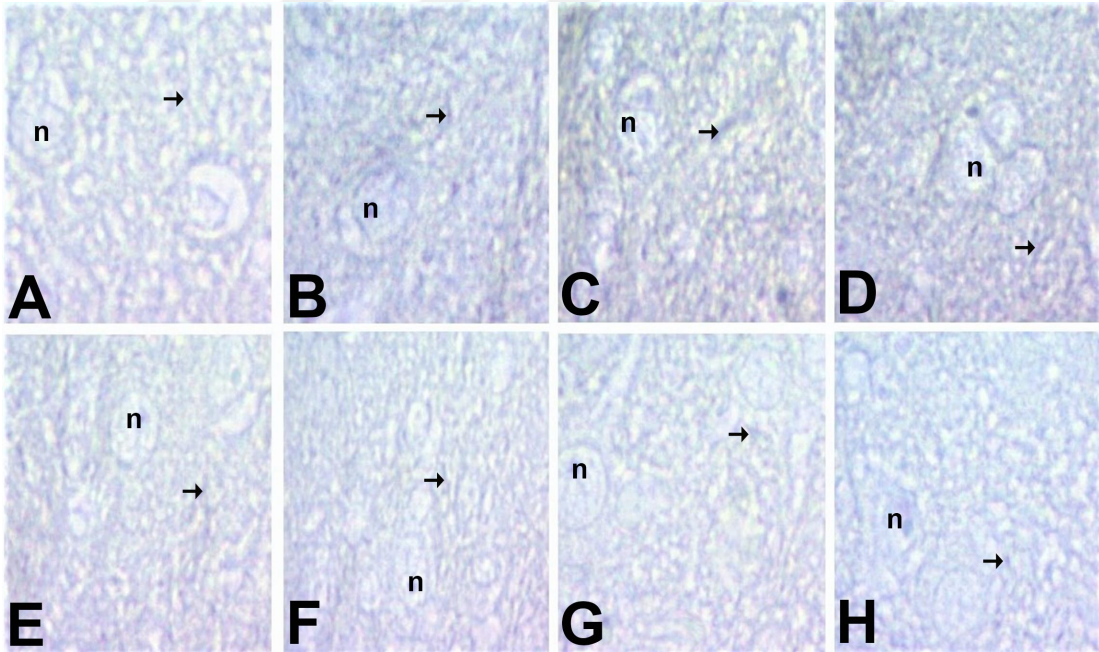
Sigma-1 Reseptörü, NMDAR2B ve ERK1/2 mRNA ekspresyonları nörofil dokuda gözlemlendi.



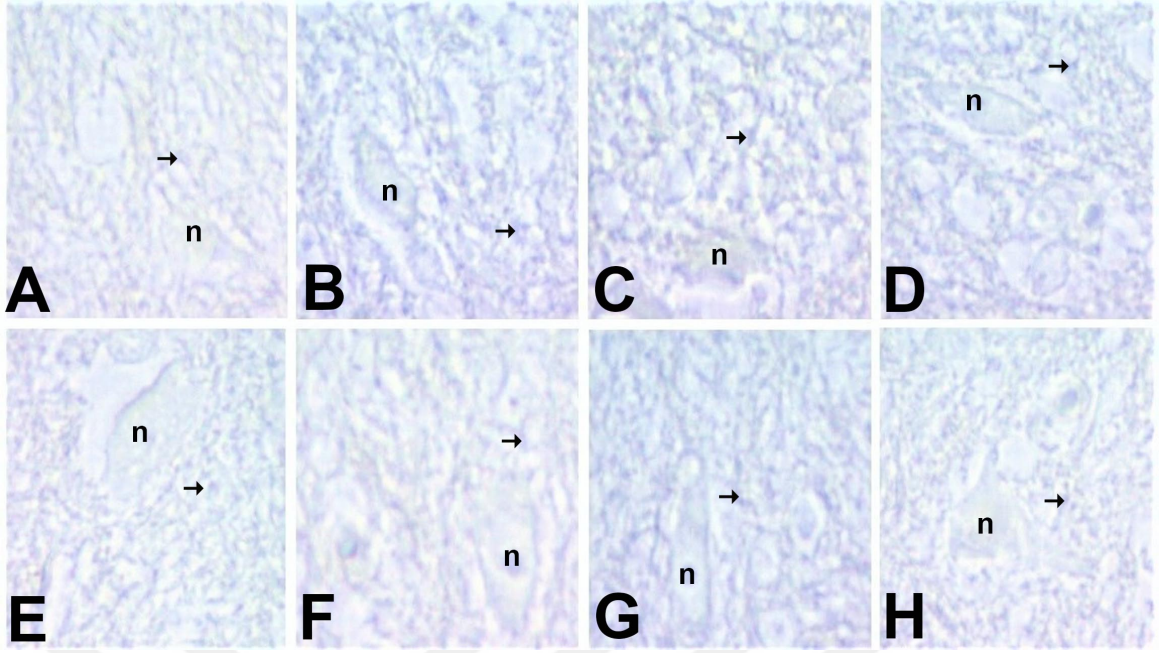
Şekil 4.20. Korteks M1 bölgesinde Sigma-1 Reseptörü mRNA düzeyleri
A- Sağlıklı grup ve B- PTX+Pregabalin grubu. Hafif düzeyde, C- PTX grubu, D- PTX+Haloperidol grubu, E- PTX+Aripiprazol grubu, F- PTX+Klorpromazin grubu, G- PTX+Risperidon grubu, H- PTX+Ketiapin grubu. Orta düzeyde pozitiflik (oklar), (n=nöron) ISH.



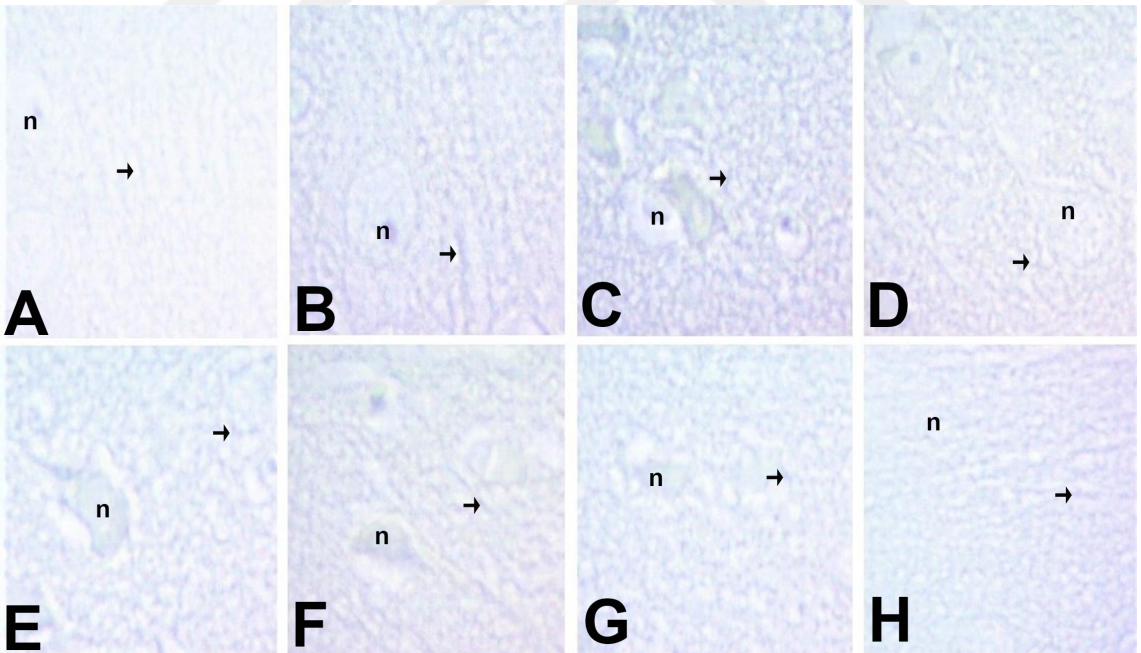
Şekil 4.21. Medulla spinalis'te Sigma-1 Reseptörü mRNA düzeyleri
A- Sağlıklı grup. Hafif düzeyde **B-** PTX+Pregabalin grubu. Orta düzeyde, **C-** PTX grubu. Şiddetli düzeyde **D-** PTX+Haloperidol grubu, **E-** PTX+Aripiprazol grubu ve **F-** PTX+Klorpromazin grubu. Orta düzeyde, **G-** PTX+Risperidon grubu ve **H-** PTX+Ketiapin grubu. Şiddetli düzeyde pozitiflik (oklar), (n=nöron) ISH.



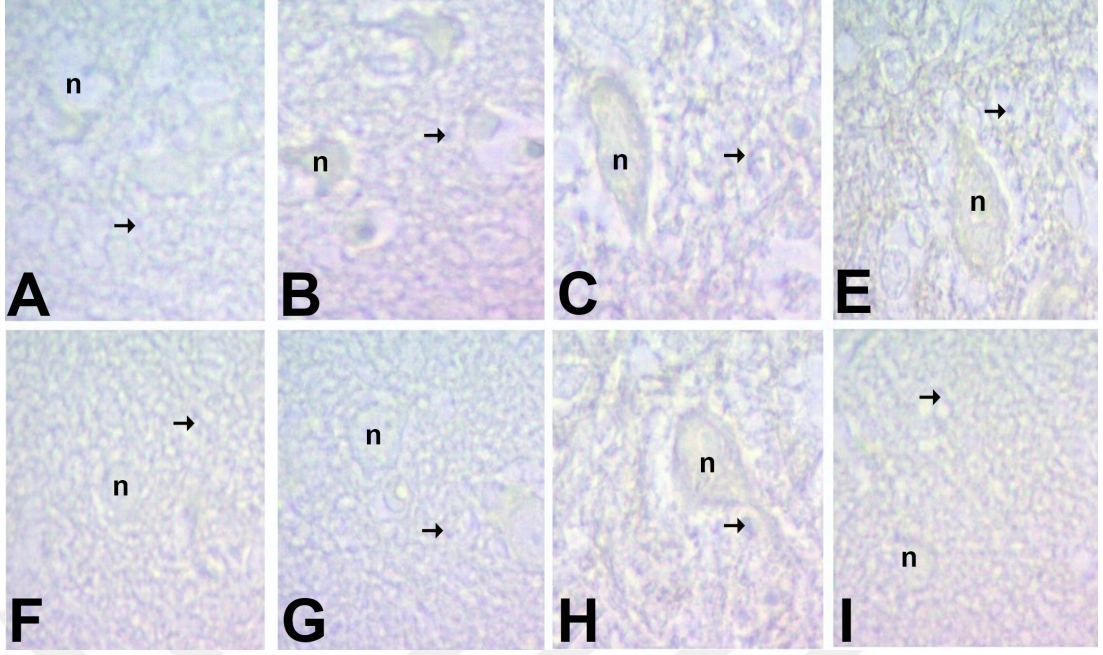
Şekil 4.22. Korteks M1 bölgesinde NMDAR2B mRNA düzeyleri
A- Sağlıklı grup. Orta düzeyde, **B-** PTX+Pregabalin grubu, **C-** PTX grubu ve **D-** PTX+Haloperidol grubu. Şiddetli düzeyde, **E-** PTX+Aripiprazol grubu, **F-** PTX+Klorpromazin grubu, **G-** PTX+Risperidon grubu, **H-** PTX+Ketiapin grubu. Orta düzeyde pozitiflik (oklar), (n=nöron) ISH.



Şekil 4.23. Medulla spinalis'te NMDAR2B mRNA düzeyleri
A- Sağlıklı grup. Hafif düzeyde **B-** PTX+Pregabalin grubu, **C-** PTX grubu ve **D-** PTX+Haloperidol grubu, **E-** PTX+Aripiprazol grubu. Şiddetli düzeyde, **F-** PTX+Klorpromazin grubu. Orta düzeyde, **G-** PTX+Risperidon grubu. Şiddetli düzeyde, **H-** PTX+Ketiapin grubu. Orta düzeyde pozitiflik (oklar), (n=nöron) ISH.



Şekil 4.24. Korteks M1 bölgesinde ERK 1/2 mRNA düzeyleri
A- Sağlıklı grup. Hafif düzeyde, **B-** PTX+Pregabalin grubu. Orta düzeyde, **C-** PTX grubu. Şiddetli düzeyde, **D-** PTX+Haloperidol grubu, **E-** PTX+Aripiprazol grubu, **F-** PTX+Klorpromazin grubu, **G-** PTX+Risperidon grubu, **H-** PTX+Ketiapin grubu. Orta düzeyde pozitiflik (oklar), (n=nöron) ISH.



Şekil 4.25. Medulla spinalis'te ERK 1/2 mRNA düzeyleri

A- Sağlıklı grup ve **B-** PTX+Pregabalin grubu. Orta düzeyde, **C-** PTX grubu ve **D-** PTX+Haloperidol grubu. Şiddetli düzeyde, **E-** PTX+Aripiprazol grubu, **F-** PTX+Klorpromazin grubu. Orta düzeyde, **G-** PTX+Risperidon grubu. Şiddetli düzeyde, **H-** PTX+Ketiapin grubu. Orta düzeyde pozitiflik (oklar), (n=nöron) ISH.

5. TARTIŞMA

Antipsikotikler psikiyatrik hastalıklarda yaygın şekilde kullanılan, psikiyatrik durumlar dışında da pek çok hastalığın tedavisinde kullanımları zaman geçtikte yaygınlaşan bir ilaç grubudur. Dopamin D2 ve Serotonin 5HT2A reseptör blokajı temel işleyiş mekanizması olsa da etki ettikleri reseptör çeşitliliği çok fazladır. Bu sayede farklı endikasyonlarda da uygunluğuna yönelik araştırmalar yapılmaktadır. Ağrı bu alanlardan biridir.

Farklı antipsikotik etken maddelerle yıllardır ağrı ile ilişkili çalışmalar yapılmış, adjuvan olarak kullanımının ağrı kesici etkiyi artırdığını gösteren sonuçlar elde edilmiştir.⁵⁶ Bu çalışmada kullanılan etken maddelerin bazılarının da ağrıda etkinliklerine dair çalışmalar yapılmış ancak nöropatik ağrıda kullanımlarına ilişkin literatürde eksiklik olduğu saptanmıştır.

Nöropatik ağrının farklı tanımları yıllar içinde kullanılmış olsa da, yaygın olarak kabul gören tanımı, somatosensör sistemin bir lezyonu veya hastalığının neden olduğu ağrıdır.⁹⁵ Postherpetik nevralji, ağrılı diyabetik polinöropati, multipl skleroz, omurilik yaralanması, inme, kanser gibi bir çok durumda oluşabilen nöropatik ağrının sebeplerinden biri de kemoterapötik ajanlarla kanser tedavisidir.⁹⁵ Paklitakselin indüklediği nöropatik ağrı bunlardan biridir.

Paklitaksel meme, akciğer, over gibi yaygın görülen kanserlerin tedavisinde etkili olan taksan grubu anti-kanser ilaçlardandır. Bu ilaçla ilişkili doz kısıtlayıcı en önemli yan etki ise paklitakselle indüklenen nöropatik ağrıdır.⁶ Hastaların %97'si gibi yüksek bir oranda ve daha ilk dozlardan itibaren görülebilen bu yan etki tedaviye devam edildiğinde kümülatif olarak artar.⁸ Tedavinin kesildiği durumda bile semptomlar sürebilir ve uzun süreli veya kalıcı olabilir. Nöropatiden küçük çaplı duysal lifler etkilendiğinden; eldiven-çorap tarzı uyuşukluk, yanma, karıncalanma, dokunma duyusunda azalma ve nöropatik

ağrı gibi belirtiler tipiktir. Nöropatik ağrı ile yapılacak çalışmalarda paklitakselin bu yan etkisi kullanılarak hayvanda nöropatik ağrı modeli oluşturulması sık kullanılan yöntemlerdendir.

Yapılan birçok araştırmada elde edilen bulgularla patofizyolojiyi açıklayacak bazı yollar bulunsa da nöropatik ağrının kesin mekanizmasına dair yeterli bir sonuç varılamamıştır. Merkezi sinir sistemindeki nosiseptörlerin normal veya eşik altı afferent girdiye artan tepkisi veya inhibisyonunda azalma sonucu nöronların sinaptik etkinliğinde artış olarak tanımlanan santral sensitizasyon durumu, nöropatik ağrının olası yollarındandır.^{26, 27} Santral sensitizasyon oluşmasında ana mekanizma olarak görülen NMDA reseptörü aktivasyonu, tekrarlayan ağrı sinyaline bağlı olarak uyarıcı aminoasitlerin ve nöropeptitlerin salınımı ile fazla miktarda uyarılır. Uyarı, ağrı yanıtını artırırken; reseptör aktivasyonu ile artan hücre içi kalsiyum, NMDAR2B alt tipini fosforile ederek membran geçirgenliğini bozar ve reseptör aşırı duyarlılığına sebep olur.³⁵ Nöron uyarılabilirliğindeki bu değişiklikler ve kısır döngüye giren uyarı artışı fiziksel allodiniyi makul bir şekilde açıklar ve hayvan ve insan çalışmalarından elde edilen verilerle desteklenmiştir.^{28, 96} Ağrı hipersensitivitesinden sorumlu sinaptik plastisitede rol oynadığı çalışmalarla gösterilen ve santral sensitizasyonun bir belirteci olarak kullanılabileceği öngörülen fosforile ERK düzeyi tespit edilerek tedavi sonrası ağrı düzeyindeki değişiklik değerlendirilebilir.^{45-49, 51}

Sigma-1 reseptörü periferik ve santral sinir sistemi bölümlerinde yüksek oranda eksprese edilen ve santral sensitizasyon ile ilişkilendirilen bir transmembran proteindir.⁶⁷ Endoplazmik retikulumda lokalize olsa da plazma membranı ve mitokondri zarı arasında yer değiştirebilen bu reseptör, uyarı olmadığı durumda inaktif iken patolojik uyarılarla aktifleşir ve sayıca artar.^{67, 74} Ağrı durumunda artışı gözlenen Sigma-1 reseptörünün blokajı ile yapılan çalışmalarda nöropatik ağrıda umut verici sonuçlar elde edilmiştir.^{68,}

⁶⁹⁻⁷² Patolojik durumlarda sayıca artışı ve santral sensitizasyon ile ilişkilendirildiği çalışmalar ise ağrı belirteci olarak kullanılabilirliğinin göstergesidir.⁹⁷

Bilinen ağrı tedavilerinin büyük çoğunluğu ile nöropatik ağrıda belirgin bir tedavi sağlanamamıştır. Bu da ağrı tedavisinde bizi araştırmaya ve alternatif tedaviler bulmaya yöneltmektedir. Antidepresanlar ve antiepileptikler nöropatik ağrı tedavisinde en fazla çalışılan ilaç gruplarıdır. Analjezik etkisi gözlenen bu ilaçların ağrı kesici etkisi santral sensitizasyon baskılaması ile ilişkilendirilmiştir.⁹⁸ Antipsikotiklerin de analjezik etkileri çeşitli çalışmalarda değerlendirilmiş, olumlu etkiler gözlenmiş ve dirençli ağrıda ek tedavi veya adjuvan olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.^{56, 57} Ancak santral sensitizasyon üzerine etkilerini değerlendiren bir çalışma yapılmamıştır ve antipsikotiklerin de santral sensitizasyonun baskılanması aracılığıyla etki etmesi olasıdır. Antipsikotikler nöropatik ağrılı hastayı psikososyal açıdan da destekleyecek ve ağrının sebep olduğu duygudurum bozuklularını düzenleyecektir.

Nöropatik ağrının nöroinflamatuvar süreçlerle ilişkisi olduğu bilindiğinden, anti-inflamatuvar özellikleri olan antipsikotiklerin ağrıyı azaltması olasıdır. Paklitakselle indüklenen nöropatik ağrıda artışı gözlenen pro-inflamatuvar medyatörlerden IL-6, TNF- α , IL-1 β ve anti-inflamatuvar bir belirteç olan IL-10 düzeylerinde, antipsikotiklerin verilmesinin ardından oluşan değişiklikler tespit edilerek antipsikotiklerin nöroinflamasyona etkileri değerlendirilebilir.⁹⁹

Antipsikotikler, reseptör aktiviteleri göz önünde bulundurularak iki gruba ayrılır. Tipik veya birinci nesil antipsikotikler birincil olarak dopamin D2 reseptörlerini antagonize ederek pozitif semptomlar üzerinde etkinlik gösterirler, ancak sıklıkla istenmeyen ekstrapiramidal yan etkiler (titremeler, spazmlar, sertlik ve tardif diskinezi) ve hiper-prolaktinemiye yol açarlar.¹⁰⁰ Buna karşılık atipik antipsikotikler hem serotonin hem de dopamin reseptörlerinde blokaaj aracılığıyla terapötik etkinlik sergilerler.

Ekstrapiramidal yan etki ve hiperprolaktinemi riskleri tamamen ortadan kalkmasa da klinik olarak etkili aralıklarda uygulandığında insidans önemli ölçüde azalır.^{101, 102} Baskın olan reseptör etkinlikleri dopamin ve seratonin olsa da reseptör afiniteleri her etken madde için değişkenlik gösterir ve çok çeşitlidir.

Bu çalışmada antipsikotiklerin nöropatik ağrı üzerine etkilerini incelemek amacıyla beş etken madde seçilmiş ve öncelikle analjeziyometre ile antipsikotiklerin ağrıya etkisini incelemek hedeflenmiştir. Lokomotor aktivite testi aracılığıyla tedavinin hayvanın ağrısının yanı sıra lokomotor aktivite üzerine etkisi hakkında da yorum yapılabilmektedir. Sonrasında kurban edilen hayvanlardan alınan dokularda Sigma-1 reseptörü, NMDAR2B ve ERK düzeyleri immunohistokimyasal boyama ve in-situ hibridizasyon yöntemleriyle tespit edilmiş ve antipsikotiklerin santral sensitizasyon üzerine etkilerine dair yorumlar yapılmıştır.

Haloperidol, birçok psikiyatrik bozukluğun tedavisinde kullanılan ve bilinen etkilerinin yanında yeni endikasyonlarda kullanılma potansiyeli olan bir etken maddedir. Haloperidol ve ağrı ilişkisini inceleyen çalışmalarda analjezik etkili olduğu çok kez gösterilmiştir. Ağrı kesici mekanizmaya ilişkin çalışmalarda haloperidolün Sigma-1 reseptörü antagonisti olma özelliği ön plana çıkmıştır.¹⁰³ Çalışmalar, Sigma-1-reseptör nakavt farelerinde formalin tarafından indüklenen nosisepsiyona yanıtta bir azalma olduğunu göstermiştir.¹⁰⁴ Haloperidolün hayvanda kapsaisin tarafından indüklenen duyarlılığı önemli ölçüde azalttığı bulunmuş, bir diğer çalışmada ise Sigma-1 reseptör antagonizmasının, opioidlerin istenmeyen etkilerini artırmadan opioid antinositif etkileri güçlendirdiği yönünde sonuçlar toplanmıştır.^{105,106} Bu tez çalışmasında elde ettiğimiz sonuçların literatür verileriyle uyumlu olduğunu belirledik. Paklitakselle nöropatik ağrı oluşturarak yaptığımız çalışmamızda, haloperidolün ambulator hareket süresinde PTX kontrol grubuna göre gösterdiği anlamlı artış ve analjeziyometrede ağrı

eşğinde gözlenen anlamlı düşüş nöropatik ağrıdaki etkinliğini doğrulamıştır (Şekil 4.2, Şekil 4.5). İmmunohistokimyasal incelemede; Sigma-1 reseptörü ve p-NMDAR2B seviyelerinde beyin M1 bölgesinde PTX alan kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı değişiklik gözlenmese de Medulla spinalis değerlendirildiğinde haloperidolün her iki reseptör sayısını anlamlı düzeyde azalttığı görülmüştür (Tablo 4.2., Tablo 4.3.). Hem beyin M1 bölgesinde hem de Medulla spinalis'te p-ERK düzeyi azalmıştır. Santral sensitizasyon mekanizmalarına bağlı değişikliklerin Medulla spinalis'te belirgin olduğu düşünülürse, beyinde ciddi değişiklik yapmamasına rağmen Medulla spinalis'te her üç belirteci de baskılaması kıymetlidir. İn-situ hibridizasyon ile yapılan çalışmada beyinde M1 bölgesinde ERK düzeyi, Medulla spinalis'te ise Sigma-1 reseptör sayısının azaldığı gözlenmiştir (Tablo 4.4., Tablo 4.5.). Bu sonuçlar değerlendirildiğinde haloperidolün analjeziyometre ile gösterilen ağrı kesici etkisinde santral sensitizasyon mekanizmalarının baskılanmasının rolü olduğu söylenebilir.

Haloperidolün inflamasyon ile ilişkili etkilerinin araştırıldığı glial kültür deneyinde anti-inflamatuar bir sitokin olan IL-10 ekspresyonu üzerinde olumsuz etkileri olmadan IL-1 β ve TNF- α pro-inflamatuar sitokinlerinin üretimini azalttığı gözlenmiştir.⁶² Ancak şizofrenik hastalarla yapılan bir klinik çalışmada serum IL-6 seviyelerinde bir değişiklik oluşturmadığı tespit edilmiş; 12 hafta süreyle haloperidol tedavisi alan hasta grubuyla yapılan çalışmada IL-6 ve IL-8 düzeylerinde anlamlı değişiklik oluşturmadığı görülmüştür.^{107, 108} Yine şizofreni tanılı bir hasta grubunda haloperidol tedavisine rağmen kandaki IL-6 ve TNF- α düzeyi yükselmiştir.¹⁰⁹ Bizim çalışmamızda gösterilen ağrı kesici etkide inflammatuar belirteç seviyelerinin ilişkisi değerlendirildiğinde ise TNF- α da ciddi bir yükseliş görülmüş, IL-6 seviyelerinin de yükseldiği izlenmiştir (Şekil 4.8., Şekil 4.10.). IL-10 düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış olmuş olsa da haloperidolün anti-inflamatuar bir etki oluşturduğuna dair yeterli sonuç elde edilememiştir (Şekil 4.9.).

Geçmişte yapılan çalışmalarla mevcut sonuçlar karşılaştırıldığında, haloperidolün anti-inflamatuar etki yaptığı gözlenen makalelerde sonuçların *in-vitro* çalışmalarda elde edildiği görülmüştür. Hasta gruplarında yapılan klinik deneylerde ise serumda bakılan medyatör düzeyleri çalışmamızda toplanan verilerle paraleldir. Mevcut deneyde belirteçler serumdan çalışılmış ve haloperidolün, paklitaksele bağlı oluşan inflamasyonun yükselttiği belirteç düzeylerini sistemik olarak baskılamadığı şeklinde yorumlanmıştır.

Risperidon, serotoninergik, dopaminergik, adrenergik ve histaminergik reseptörlere antagonist etkisi olan güçlü bir atipik antipsikotiktir. Birçok endikasyonda yaygın kullanılan ve yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde ağrı tedavisi için de ümit vadeden bir etken maddedir. Ağrı ile ilişkili çalışmalarda risperidon opioid ile sağlanan ağrı kesici etkiyi güçlendirmiş, akut inflamatuvar ağrıda steroid olmayan anti-inflamatuar ilaçların analjezik gücünü artırmıştır.¹¹⁰⁻¹¹² Kronik ağrıya bağlı dirençli depresif duygu durumu olan hasta grubunda psikososyal fonksiyon kaybını azalttığı da gösterilmiştir.¹¹³ Ağrıda etkili olduğunu gösteren çalışmalar olsa da nöropatik ağrıdaki etkinliğine dair çalışma olmayan risperidon, yaptığımız nöropatik ağrı modelinde analjezik etki göstermiştir. Nöropatik ağrılı hayvanlarda analjeziyometrede anlamlı ağrı eşiği artışı olmuş ve LMA testi ile stereotipik ve ambulator hareket artışı gösterilmiştir (Şekil 4.5., Şekil 4.1., Şekil 4.2.). Ağrı kesici etkinin santral sensitizasyon ilişkisine dair yorum yapabilmek için yapılan immunohistokimyasal boyamalarda beyinde M1 bölgesinde p-NMDAR2B ve p-ERK düzeyini azaltan etkisi olduğu, Medulla spinalis'te ise p-ERK 'nın yanında Sigma-1 reseptörü sayısını da baskıladığı görülmüştür (Tablo 4.2., Tablo 4.3.). İn-situ hibridizasyon da immunohistokimyasal bulguları destekler şekilde M1 bölgesinde NMDAR2B ve ERK düzeylerinde düşüş sağlamıştır (Tablo 4.4.). Bu verilere dayanarak yorumlandığında, risperidonun santral sensitizasyon yolları aracılığı ile ağrı kesici etki yaptığı sonucuna varılabilir.

İnflamatuvar medyatörlere etkisi incelendiğinde literatürdeki çalışmaların sonuçları birbiri ile çelişmektedir. Glial kültürde yapılan bir çalışmada IL-10 düzeyini etkilemeden IL-1 β , IL-6 veya TNF- α üretimini azalttığı gözlenmiştir.⁶² Şizofreni tanılı hasta grubunda aralıklı olarak 6 aylık tedavi süresince alınan serum örneklerinde risperidon IL-2, IL-6 ve TNF- α serum düzeylerini düşürmüştür.¹¹⁴ Ancak yine risperidon tedavisi alan şizofreni tanılı hasta grubundaki diğer bir çalışmada plazma IL- β , IL-2, IL-6, ve IFN- γ düzeyleri tedaviden önce ve sonra anlamlı olarak farklılık göstermemiştir.¹¹⁵ Bizim çalışmamızda da hayvanların serum örneklerinden bakılan medyatör düzeyleri değerlendirildiğinde risperidon IL-1 β , IL-10 ve IL-6 düzeylerinde anlamlı bir değişiklik yapmamış; TNF- α da ise belirgin bir artışa sebep olmuştur (Şekil 4.7., Şekil 4.8., Şekil 4.9., Şekil 4.10.). Bu verilerden risperidonun inflamasyona sistemik bir baskılayıcı etkisi olmadığı; analjeziyometre ile tespit edilen ağrı duyarlılığını azaltıcı etkisinde anti-inflamatuvar etkinin aracılık etmediği sonucuna varılabilir. Hayvan deneyleri ile örtüşmeme sebebi olarak in-vitro çalışmaların sistemik yanıtı yeterince iyi yansıtamaması gösterilebilir.

Aripiprazol en yaygın reçete edilen atipik antipsikotiklerden biridir. Çeşitli endikasyonlar için etkinliğini kanıtlamış bu etken maddenin ağrıya etkisi ile ilgili yapılan çalışmalarda analjezik özelliği de olduğu yönünde bulgular elde edilmiştir. Farelerde tail flick testi ile morfinin antinosiseptif etkisinin uzatılmasında etkili olmuş, hot plate testi ile morfinin antinosiseptif etkisinin süresini önemli ölçüde arttırdığı, akut morfin toleransını önlediği gözlenmiştir.¹¹³ Bir diğer çalışmada farelerde sistemik aripiprazol enjeksiyonu, pençe basınç testinde formalin kaynaklı pençe yalamayı ve PGE2 kaynaklı hiperaljeziyi inhibe etmiştir.¹¹⁶ Nöropatik ağrıya etkinliğini incelemek amacıyla aripiprazol kullandığımız mevcut çalışmada da sonuçlar literatür ile uyumlu bulunmuştur. Analjeziyometre ile tedavi sonrası ölçümlerinde model ölçümlerine kıyasla ağrı eşiğinde anlamlı artış izlenmiş, LMA testlerinde aripiprazol ambulatuvar hareketi anlamlı ölçüde

artırmıştır (Şekil 4.5., Şekil 4.2.). Santral sensitizasyon ilişkisini değerlendirmek için yapılan immunohistokimyasal boyamada, Medulla spinalis'te Sigma-1 ve p-ERK düzeylerinde; M1 bölgesinde ise NMDAR2B ve p-ERK düzeylerinde kontrol grubuna göre anlamlı düşüş izlenmiştir (Tablo 4.2., Tablo 4.3.). İn-situ hibridizasyon ile tespit edilen M1 de NMDAR2B ve ERK düzeyinde baskılanma ve Medulla spinalis'te Sigma-1 reseptörü ve ERK düzeyinde düşüş de immunohistokimyasal boyamanın sonuçlarını desteklemiştir (Tablo 4.4., Tablo 4.5.). Belirteçlerinin düzeyleri, aripiprazolün santral sensitizasyon mekanizmasını baskılanması aracılığıyla etki ettiğini kanıtlar biçimdedir.

İnflamatuar mediyatörler ile ilişkili çalışmalara bakıldığında IFN- α aktive mikrogliya'dan NO ve TNF- α üretiminin, aripiprazol tarafından önemli ölçüde inhibe edildiği gözlenmiştir; aripiprazol stimülasyonu, IL-1 β , IL-6 ve TNF- α 'nın mRNA seviyelerini azaltmıştır.^{108, 117, 118} Nöropatik ağrı modelinde ise Nöronal nitrik oksit sentaz (nNOS) aşırı ekspresyonunu ve Nuclear Factor kappa B (NF- κ B) hiperaktivasyonunu sınırlandırarak vinkristin kaynaklı nöropatiyi etkili bir şekilde önlemiştir.¹¹⁹ Ancak literatürün aksine, yaptığımız ELISA testlerinde inflamatuvar belirteç düzeyleri kontrol grubuyla aynı seviyelerde izlenmiş, anlamlı azalma ya da artış oluşturmamıştır.

Ketiapin, ağrı ile ilişkili çalışılmalarda analjezik etkisi birçok kez gösterilen antipsikotiklerdendir. Nöropatik ağrıda çalışılan tek antipsikotik olan ketiapinin ağrı kesici mekanizmasına dair farklı hipotezler mevcuttur ancak santral sensitizasyon ilişkisiyle ilgili bir çalışma yapılmamıştır. Ratlarda nöropatik ağrı modelinde 10. günden sonra verilen ketiapin ısı hiperaljezisi ile mekanik ve soğuk allodinisini önemli ölçüde azaltmış, sinir hasarından sonra uygulandığında nöropatik ağrının ekspresyonunu tersine çevirebileceği gözlenmiştir.¹²⁰ Bu çalışmada α_2 -adrenoseptörlerin antinosisepsiyon üzerindeki rolü ile analjezik etki ettiği sonucuna varılmıştır.

Klinik çalışmalarda fibromiyalji tanılı hasta grubunda 12 hafta süreyle uygulanan

tedavide hem ağrı düzeyinde hem de hayat kalitesinde önemli iyileşme sağlamış; fibromiyaljide geriye dönük olarak yapılan bir diğer klinik çalışmada pregabalinin etkisini artırdığı gözlenmiştir.^{121, 122} Pregabalin ile beraber verildiğinde fibromiyalji semptomlarını; özellikle uyku bozukluğu, yorgunluk, sabah katılığı ve zihinsel iyilik halini iyileştirdiği, ancak ağrı kesici etkisi için yeterli kanıt olmadığı şeklinde yorumlanmıştır.¹²² Fakat fibromiyalji patogenezinde santral sensitizasyonun rolü olduğu bilindiğinden bu çalışmadaki olumlu sonuçlar çalışmamız açısından da destekleyicidir.

Mevcut çalışmada ketiapinin ağrı üzerine etkisi belirgin şekilde öne çıkmıştır. Analjeziyometre sonuçlarına göre anlamlı ağrı kesici etki yapan ketiapin, LMA testinde stereotipik ve ambulator harekette çok anlamlı artış sağlamış ($p<0,001$), dinlenme süresini anlamlı ölçüde azatmıştır (Şekil 4.5., Şekil 4.1., Şekil 4.2., Şekil 4.3.). IHC boyamada her iki bölgede p-ERK ve p-NMDAR2B düzeylerini diğer etken maddelere göre daha güçlü bir biçimde baskımlarken Sigma-1 üzerine her iki bölgede de anlamlı etkisi olmamıştır (Tablo 4.2., Tablo 4.3.). İSH ta ise IHC ile uyumlu oranda her iki bölgede NMDAR2B ve ERK seviyesinde güçlü baskılanma gözlenmiştir (Tablo 4.4., Tablo 4.5.). Bu verilerle bakılarak ağrı kesici etkide santral sensitizasyon mekanizmalarının aracı olduğu sonucuna varılabilir.

Biyokimyasal verilere ilişkin literatür tramasında glial aktivasyon üzerine etkilerin değerlendirildiği bir çalışmada ketiapin ve metaboliti hipokampusta artmış IL-10 ekspresyonu sağlamış ve serum IL-10 düzeylerini arttırmıştır.¹²³ İnterferon- γ ile indüklenen mikrogliyal aktivasyonda ketiapin aktive mikrogliadan NO üretimini ve TNF- α salınımını önemli ölçüde inhibe etmiştir.¹²⁴ Şizofreni hastalarında bakılan serum düzeylerine ilişkin çalışmalarda ise ketiapinin pro-inflamatuvar bir etkisi olduğu görülmüştür. hastanede yatarak ketiapin tedavisi alan bir hasta grubunda serum IL-2 ve IL-6 düzeylerinde yükselişler görülmüş, IL-10 düzeyi ise düşmüştür.¹²⁵ Mevcut çalışma

verilerinde serum IL-6 düzeyini baskıladığı görölse de diğér parametrelerde sonuç inflamasyonu baskılayamadığı yönündedir ve hayvan deneylerinin aksine sonuçlanmış olsa da klinik çalışmalarla örtüşmektedir (Şekil 4.10.).

Klorpromazin, tipik antipsikotikler ilaç kategorisinin bir üyesidir ve diğér antipsikotiklerde olduğu gibi çeşitli ağırlı durumlarda kullanımına dair çalışmalar yapılmıştır. Örneğın klorpromazin ile yapılan bir ağırı deneyinde tramadol ve klorpromazinin analjezik olmayan dozlarda kombinasyonunun analjezik etki ettiğı sonucuna varılmıştır.¹²⁶ Ancak özellikle migrenin akut atağında I.V. tedavi seçeneğı olabileceğine dair çalışmalar son dönemde öne çıkmıştır. Migrenin santral sensitizasyon ilişkisi olduğu bilindiğinden, bu makaleler bizim araştırmamızı da destekleyicidir.¹²⁷ Yapılan bir klinik çalışmada bir grup migren hastasında klorpromazin baş ağrısı sıklığını azaltmıştır.¹²⁸ Bir diğér klinik çalışmada akut migren atağında ketorolak ile benzer etki göstermiş atağı başarılı şekilde tedavi etmiştir.¹²⁹ Tipik antipsikotiklerden olan proklorperazin ile etkinliğinin karşılaştırıldığı bir çalışmada ise her iki etken maddenin de acil serviste migren akut atağı tedavisinde aynı oranda etkili olduğu bulunmuştur.¹³⁰

Çalışmamızda yapılan deneylerde nöropatik ağırlı hayvanlarda klorpromazin LMA ölçümlerinde ambulator hareketi artırmış ve dinlenme süresini azaltmış, analjeziyometrede ise ağırı duyarlılığında anlamlı düşüş sağlamıştır (Şekil 4.2., Şekil 4.3., Şekil 4.5.). ISH ta Medulla spinalis'te Sigma-1 reseptörü, NMDAR2B ve ERK düzeylerini azalttığı görölmüş; M1 bölgesinde NMDAR2B ve ERK baskılamıştır (Tablo 4.4., Tablo 4.5.). IHC de beyin M1 bölgesinde her üç parametrede de anlamlı düşüş sağlayan klorpromazin, Medulla spinalis'te p-NMDAR2B ve p-ERK düzeylerinde şiddetli bir düşüş sağlamıştır (Tablo 4.2., Tablo 4.3.). Bu sonuçlara dayanarak klorpromazinin analjezik etkili olduğu ve bu etkinin santral sensitizasyon mekanizmalarıyla ilişkili olduğu söylenebilir. Migren ve nöropatik ağırı gibi santral

sensitizasyon ilişkili ağırlı diğer durumlarda da tedavide kullanımı değerlendirilebilir.

Literatürde yapılan hayvan doku ve hücre kültürü çalışmaları klorpromazinin anti-inflamatuar etkili olduğunu göstermiştir. Yaptığımız çalışmada IL-6, IL-1 β ve IL-10 düzeylerinde anlamlı düşüş saptanmıştır. Sıçan glial ve mikrogial hücrelerinin karışık kültürlerinde, bizim elde ettiğimiz sonuçlara paralel şekilde IL-1 β ve IL-2 düzeylerinde azalma olduğu bildirilmiş; şizofreni veya mani tanılı hasta gruplarında klorpromazin uygulanmasının ardından çalışmamızdakine benzer şekilde IL-6 serum düzeylerinde azalma izlenmiştir (Şekil 4.10.).^{131, 132} Akut nüks durumundaki şizofreni tanılı hastalarda klorpromazin tedavisi öncesi ve sonrasında serum inflammatuar belirteçlerinin düzeyleri karşılaştırılmış ve IL-6 düzeylerinde anlamlı düşüş görülmüş ancak TNF- α düzeylerinde artış izlenmiştir.¹³³ Mevcut çalışmadakinin aksine antipsikotiklerin pro ve anti-inflamatuar etkilerini karşılaştıran bir diğer *in-vitro* çalışmada ise klorpromazin kültür süpernatantlarında IL-10 düzeylerini artırmış ve IL-10 mRNA ekspresyonunda bir artış sağlamıştır (Şekil 4.9.).⁶² Klorpromazinin IL-10 serum düzeylerini değerlendiren bir klinik çalışma ise yapılmamıştır. Tüm bu sonuçlar değerlendirildiğinde klorpromazin mevcut deneyde anti-inflamatuar etki yapıyor gibi görünmektedir, fakat literatürde yeterli veri olmadığından ve mevcut veriler çeliştiğinden inflamasyondaki rolü üzerine daha fazla çalışma yapılması gerektiği sonucuna varılmıştır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Nöropatik ağrıda antipsikotiklerin etkinliğini değerlendirmek amacıyla yapılan bu çalışmada görüldü ki; literatürde de desteklendiği gibi antipsikotiklerin analjezik etkileri mevcuttur. Yan etki profili açısından çok güvenli olmasalar da geçmişteki çalışmalar düşük dozlarının ağrıda adjuvan olarak kullanıldığında bile etkili olduğunu göstermiştir. Ağrıda çok kez çalışılmalarına rağmen antipsikotiklerin nöropatik ağrıya etkisi yeterince incelenmemiştir. Geçmişte yapılan sınırlı sayıda çalışmada ise görülen ağrı kesici etkinin mekanizması, antipsikotiklerin etki ettiği reseptör grupları üzerinden açıklanmıştır. Fakat günümüzde nöropatik ağrı tedavisinde tercih edilen trisiklik antidepresanlar, serotonin ve nöradrenalin geri alım inhibitörleri gibi ilaçların santral sensitizasyon mekanizmaları üzerinden de etkili olduğu bilinmektedir. Santral etkili olan antipsikotik ilaç grubunun, santral sensitizasyon mekanizmalarına etkisine dair ise bir çalışma yapılmamıştır.

Çalışmamızda hem nöropatik ağrıda yaygın kullanılan beş antipsikotikğin ağrı eşiğini azalttığı gözlemlenmiş hem de bu ağrı kesici etkide santral sensitizasyonda arttığı bilinen belirteçlerin düzeylerindeki değişikliklerin tespit edilmesi suretiyle santral sensitizasyon aracılıklı bir analjezik etki olduğu gösterilmiştir.

Çalışmamızda özellikle ketiapin ve klorpromazin alan gruplarda analjezik etkinin daha belirgin olduğu ve santral sensitizasyon belirteçlerindeki baskılanmanın daha yüksek oranda olduğu görülmüştür.

Bu sonuçlar gösterir ki, özellikle ketiapin ve klorpromazin olmak üzere her beş etken madde de dirençli nöropatik ağrının da dahil olduğu santral sensitizasyon ilişkili klinik durumlarda etkinlik gösterebilir ve kullanımına dair daha fazla çalışma yapılmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Jensen TS, Baron R, Haanpaa M, Kalso E, Loeser JD, Rice ASC, Treede RD. A new definition of neuropathic pain. *Pain*, 2011, 152: 2204-2205.
2. Max MB. Clarifying the definition of neuropathic pain. *Pain*, 2002, 96: 406-407.
3. van Hecke O, Austin SK, Khan RA, Smith BH, Torrance N. Neuropathic pain in the general population: a systematic review of epidemiological studies. *Pain*, 2014, 155: 654-662.
4. Rice ASC, Smith BH, Blyth FM. Pain and the global burden of disease. *Pain*, 2016, 157: 791-796.
5. Pereira S, Fontes F, Sonin T, Dias T, Fragoso M, Castro-Lopes JM, Lunet N. Chemotherapy-induced peripheral neuropathy after neoadjuvant or adjuvant treatment of breast cancer: a prospective cohort study. *Supportive Care in Cancer*, 2016, 24: 1571-1581.
6. Scripture CD, Figg WD, Sparreboom A. Peripheral neuropathy induced by paclitaxel: recent insights and future perspectives. *Current Neuropharmacology*, 2006, 4: 165-172.
7. Tanabe Y, Hashimoto K, Shimizu C, Hirakawa A, Harano K, Yunokawa M, Yonemori K, Katsumata N, Tamura K, Ando M, Kinoshita T, Fujiwara Y. Paclitaxel-induced peripheral neuropathy in patients receiving adjuvant chemotherapy for breast cancer. *International Journal of Clinical Oncology*, 2013, 18: 132-138.
8. Banach M, Juranek JK, Zygulska AL. Chemotherapy-induced neuropathies-a growing problem for patients and health care providers. *Brain Behav*, 2017, 7: e00558.

9. LaPointe NE, Morfini G, Brady ST, Feinstein SC, Wilson L, Jordan MA. Effects of eribulin, vincristine, paclitaxel and ixabepilone on fast axonal transport and kinesin-1 driven microtubule gliding: implications for chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *Neurotoxicology*, 2013, 37: 231-239.
10. Bober BG, Shah SB. Paclitaxel alters sensory nerve biomechanical properties. *Journal of Biomechanics*, 2015, 48: 3559-3567.
11. Gornstein EL, Schwarz TL. Neurotoxic mechanisms of paclitaxel are local to the distal axon and independent of transport defects. *Experimental Neurology*, 2017, 288: 153-166.
12. Sahenk Z, Barohn R, New P, Mendell JR. Taxol neuropathy. Electrodiagnostic and sural nerve biopsy findings. *Archives of Neurology*, 1994, 51: 726-729.
13. Varbiro G, Veres B, Gallyas F, Jr., Sumegi B. Direct effect of Taxol on free radical formation and mitochondrial permeability transition. *Free Radical Biology and Medicine*, 2001, 31: 548-558.
14. Yang Y, Karakhanova S, Hartwig W, D'Haese JG, Philippov PP, Werner J, Bazhin AV. Mitochondria and Mitochondrial ROS in Cancer: Novel Targets for Anticancer Therapy. *Journal of Cellular Physiology*, 2016, 231: 2570-2581.
15. Wozniak KM, Vornov JJ, Wu Y, Liu Y, Carozzi VA, Rodriguez-Menendez V, Ballarini E, Alberti P, Pozzi E, Semperboni S, Cook BM, Littlefield BA, Nomoto K, Condon K, Eckley S, DesJardins C, Wilson L, Jordan MA, Feinstein SC, Cavaletti G, Polydefkis M, Slusher BS. Peripheral Neuropathy Induced by Microtubule-Targeted Chemotherapies: Insights into Acute Injury and Long-term Recovery. *Cancer Research*, 2018, 78: 817-829.
16. Duggett NA, Griffiths LA, McKenna OE, de Santis V, Yongsanguanchai N, Mokori EB, Flatters SJ. Oxidative stress in the development, maintenance and

- resolution of paclitaxel-induced painful neuropathy. *Neuroscience*, 2016, 333: 13-26.
17. Kidd JF, Pilkington MF, Schell MJ, Fogarty KE, Skepper JN, Taylor CW, Thorn P. Paclitaxel affects cytosolic calcium signals by opening the mitochondrial permeability transition pore. *Journal of Biological Chemistry*, 2002, 277: 6504-6510.
 18. Mironov SL, Ivannikov MV, Johansson M. $[Ca^{2+}]_i$ signaling between mitochondria and endoplasmic reticulum in neurons is regulated by microtubules. From mitochondrial permeability transition pore to Ca^{2+} -induced Ca^{2+} release. *Journal of Biological Chemistry*, 2005, 280: 715-721.
 19. Boehmerle W, Splittgerber U, Lazarus MB, McKenzie KM, Johnston DG, Austin DJ, Ehrlich BE. Paclitaxel induces calcium oscillations via an inositol 1,4,5-trisphosphate receptor and neuronal calcium sensor 1-dependent mechanism. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103: 18356-18361.
 20. Doyle T, Chen Z, Muscoli C, Bryant L, Esposito E, Cuzzocrea S, Dagostino C, Ryerse J, Rausaria S, Kamadulski A, Neumann WL, Salvemini D. Targeting the overproduction of peroxynitrite for the prevention and reversal of paclitaxel-induced neuropathic pain. *Journal of Neuroscience*, 2012, 32: 6149-6160.
 21. Zhang H, Li Y, de Carvalho-Barbosa M, Kavelaars A, Heijnen CJ, Albrecht PJ, Dougherty PM. Dorsal Root Ganglion Infiltration by Macrophages Contributes to Paclitaxel Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy. *Journal of Pain*, 2016, 17: 775-786.

22. Li Y, Zhang H, Zhang H, Kosturakis AK, Jawad AB, Dougherty PM. Toll-like receptor 4 signaling contributes to Paclitaxel-induced peripheral neuropathy. *Journal of Pain*, 2014, 15: 712-725.
23. Wu Z, Wang S, Wu I, Mata M, Fink DJ. Activation of TLR-4 to produce tumour necrosis factor-alpha in neuropathic pain caused by paclitaxel. *European Journal of Pain (London, England)*, 2015, 19: 889-898.
24. Yeh TY, Luo IW, Hsieh YL, Tseng TJ, Chiang H, Hsieh ST. Peripheral Neuropathic Pain: From Experimental Models to Potential Therapeutic Targets in Dorsal Root Ganglion Neurons. *Cells*, 2020, 9: 2725.
25. Yu X, Liu H, Hamel KA, Morvan MG, Yu S, Leff J, Guan Z, Braz JM, Basbaum AI. Dorsal root ganglion macrophages contribute to both the initiation and persistence of neuropathic pain. *Nat Commun*, 2020, 11: 264.
26. Woolf CJ, Walters ET. Common patterns of plasticity contributing to nociceptive sensitization in mammals and Aplysia. *Trends in Neurosciences*, 1991, 14: 74-78.
27. Woolf CJ. Central sensitization: uncovering the relation between pain and plasticity. *Anesthesiology*, 2007, 106: 864-867.
28. Latremoliere A, Woolf CJ. Central sensitization: a generator of pain hypersensitivity by central neural plasticity. *Journal of Pain*, 2009, 10: 895-926.
29. Staud R. Biology and therapy of fibromyalgia: pain in fibromyalgia syndrome. *Arthritis Research & Therapy*, 2006, 8: 208.
30. Verne GN, Price DD. Irritable bowel syndrome as a common precipitant of central sensitization. *Current Rheumatology Reports*, 2002, 4: 322-328.
31. Stankewitz A, May A. The phenomenon of changes in cortical excitability in migraine is not migraine-specific—a unifying thesis. *Pain*, 2009, 145: 14-17.

32. Srbely JZ. New trends in the treatment and management of myofascial pain syndrome. *Curr Pain Headache Rep*, 2010, 14: 346-352.
33. Schaible HG, Richter F. Pathophysiology of pain. *Langenbecks Archives of Surgery*, 2004, 389: 237-243.
34. Woolf CJ, Thompson SWN. The induction and maintenance of central sensitization is dependent on N-methyl-D-aspartic acid receptor activation; implications for the treatment of post-injury pain hypersensitivity states. *Pain*, 1991, 44: 293-299.
35. Li S, Cao J, Yang X, Suo ZW, Shi L, Liu YN, Yang HB, Hu XD. NR2B phosphorylation at tyrosine 1472 in spinal dorsal horn contributed to N-methyl-D-aspartate-induced pain hypersensitivity in mice. *Journal of Neuroscience Research*, 2011, 89: 1869-1876.
36. Mayer ML, Westbrook GL, Guthrie PB. Voltage-dependent block by Mg^{2+} of NMDA responses in spinal cord neurones. *Nature*, 1984, 309: 261-263.
37. Khasabov SG, Rogers SD, Ghilardi JR, Peters CM, Mantyh PW, Simone DA. Spinal neurons that possess the substance P receptor are required for the development of central sensitization. *Journal of Neuroscience*, 2002, 22: 9086-9098.
38. Laird JM, Roza C, De Felipe C, Hunt SP, Cervero F. Role of central and peripheral tachykinin NK1 receptors in capsaicin-induced pain and hyperalgesia in mice. *Pain*, 2001, 90: 97-103.
39. Sun RQ, Tu YJ, Lawand NB, Yan JY, Lin Q, Willis WD. Calcitonin gene-related peptide receptor activation produces PKA- and PKC-dependent mechanical hyperalgesia and central sensitization. *Journal of Neurophysiology*, 2004, 92: 2859-2866.

40. Geng SJ, Liao FF, Dang WH, Ding X, Liu XD, Cai J, Han JS, Wan Y, Xing GG. Contribution of the spinal cord BDNF to the development of neuropathic pain by activation of the NR2B-containing NMDA receptors in rats with spinal nerve ligation. *Experimental Neurology*, 2010, 222: 256-266.
41. Chen BS, Roche KW. Regulation of NMDA receptors by phosphorylation. *Neuropharmacology*, 2007, 53: 362-368.
42. Wang XY, Zhou HR, Wang S, Liu CY, Qin GC, Fu QQ, Zhou JY, Chen LX. NR2B-Tyr phosphorylation regulates synaptic plasticity in central sensitization in a chronic migraine rat model. *Journal of Headache and Pain*, 2018, 19: 102.
43. Qu XX, Cai J, Li MJ, Chi YN, Liao FF, Liu FY, Wan Y, Han JS, Xing GG. Role of the spinal cord NR2B-containing NMDA receptors in the development of neuropathic pain. *Experimental Neurology*, 2009, 215: 298-307.
44. Impey S, Obrietan K, Wong ST, Poser S, Yano S, Wayman G, Deloulme JC, Chan G, Storm DR. Cross talk between ERK and PKA is required for Ca²⁺ stimulation of CREB-dependent transcription and ERK nuclear translocation. *Neuron*, 1998, 21: 869-883.
45. Kawasaki Y, Kohno T, Ji RR. Different effects of opioid and cannabinoid receptor agonists on C-fiber-induced extracellular signal-regulated kinase activation in dorsal horn neurons in normal and spinal nerve-ligated rats. *J Pharmacol Exp Ther*, 2006, 316: 601-607.
46. Ji RR, Baba H, Brenner GJ, Woolf CJ. Nociceptive-specific activation of ERK in spinal neurons contributes to pain hypersensitivity. *Nature Neuroscience*, 1999, 2: 1114-1119.
47. Jeong YC, Pyun K, Kwon YB. Inhibition of mitogen-activated protein kinases phosphorylation plays an important role in the anti-nociceptive effect of

- pregabalin in zymosan-induced inflammatory pain model. *Biol Pharm Bull*, 2014, 37: 1694-1698.
48. Song XS, Cao JL, Xu YB, He JH, Zhang LC, Zeng YM. Activation of ERK/CREB pathway in spinal cord contributes to chronic constrictive injury-induced neuropathic pain in rats. *Acta Pharmacologica Sinica*, 2005, 26: 789-798.
49. Obata K, Noguchi K. MAPK activation in nociceptive neurons and pain hypersensitivity. *Life Sciences*, 2004, 74: 2643-2653.
50. Ma W, Quirion R. The ERK/MAPK pathway, as a target for the treatment of neuropathic pain. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, 2005, 9: 699-713.
51. Ji RR, Woolf CJ. Neuronal plasticity and signal transduction in nociceptive neurons: implications for the initiation and maintenance of pathological pain. *Neurobiology of Disease*, 2001, 8: 1-10.
52. Ji RR. Mitogen-activated protein kinases as potential targets for pain killers. *Curr Opin Investig Drugs*, 2004, 5: 71-75.
53. Ji RR, Gereau RWt, Malcangio M, Strichartz GR. MAP kinase and pain. *Brain Research Reviews*, 2009, 60: 135-148.
54. Hu HJ, Carrasquillo Y, Karim F, Jung WE, Nerbonne JM, Schwarz TL, Gereau RWt. The kv4.2 potassium channel subunit is required for pain plasticity. *Neuron*, 2006, 50: 89-100.
55. Slack SE, Pezet S, McMahon SB, Thompson SW, Malcangio M. Brain-derived neurotrophic factor induces NMDA receptor subunit one phosphorylation via ERK and PKC in the rat spinal cord. *European Journal of Neuroscience*, 2004, 20: 1769-1778.

56. Seidel S, Aigner M, Ossege M, Pernicka E, Wildner B, Sycha T. Antipsychotics for acute and chronic pain in adults. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2013: CD004844.
57. Seidel S, Aigner M, Ossege M, Pernicka E, Wildner B, Sycha T. Antipsychotics for acute and chronic pain in adults. *Journal of Pain and Symptom Management*, 2010, 39: 768-778.
58. Uceyler N, Sommer C. Cytokine regulation in animal models of neuropathic pain and in human diseases. *Neuroscience Letters*, 2008, 437: 194-198.
59. Okamoto K, Martin DP, Schmelzer JD, Mitsui Y, Low PA. Pro- and anti-inflammatory cytokine gene expression in rat sciatic nerve chronic constriction injury model of neuropathic pain. *Experimental Neurology*, 2001, 169: 386-391.
60. Hung AL, Lim M, Doshi TL. Targeting cytokines for treatment of neuropathic pain. *Scand J Pain*, 2017, 17: 287-293.
61. Kowalski J, Labuzek K, Herman ZS. Flupentixol and trifluoperidol reduce secretion of tumor necrosis factor-alpha and nitric oxide by rat microglial cells. *Neurochemistry International*, 2003, 43: 173-178.
62. Obuchowicz E, Bielecka-Wajdman AM, Paul-Samojedny M, Nowacka M. Different influence of antipsychotics on the balance between pro- and anti-inflammatory cytokines depends on glia activation: An in vitro study. *Cytokine*, 2017, 94: 37-44.
63. Borovcanin M, Jovanovic I, Radosavljevic G, Djukic Dejanovic S, Stefanovic V, Arsenijevic N, Lukic ML. Antipsychotics can modulate the cytokine profile in schizophrenia: attenuation of the type-2 inflammatory response. *Schizophrenia Research*, 2013, 147: 103-109.

64. Freedenfeld RN, Murray M, Fuchs PN, Kiser RS. Decreased pain and improved quality of life in fibromyalgia patients treated with olanzapine, an atypical neuroleptic. *Pain Pract*, 2006, 6: 112-118.
65. Krymchantowski AV, Jevoux C. Quetiapine for the prevention of migraine refractory to the combination of atenolol + nortriptyline + flunarizine: an open pilot study. *Arquivos de Neuro-Psiquiatria*, 2008, 66: 615-618.
66. Jimenez XF, Sundararajan T, Covington EC. A Systematic Review of Atypical Antipsychotics in Chronic Pain Management: Olanzapine Demonstrates Potential in Central Sensitization, Fibromyalgia, and Headache/Migraine. *Clinical Journal of Pain*, 2018, 34: 585-591.
67. Hayashi T, Su T. The sigma receptor: evolution of the concept in neuropsychopharmacology. *Current Neuropharmacology*, 2005, 3: 267-280.
68. Zamanillo D, Romero L, Merlos M, Vela JM. Sigma 1 receptor: a new therapeutic target for pain. *European Journal of Pharmacology*, 2013, 716: 78-93.
69. Cobos EJ, Entrena JM, Nieto FR, Cendan CM, Del Pozo E. Pharmacology and therapeutic potential of sigma(1) receptor ligands. *Current Neuropharmacology*, 2008, 6: 344-366.
70. Vela JM, Merlos M, Almansa C. Investigational sigma-1 receptor antagonists for the treatment of pain. *Expert Opin Investig Drugs*, 2015, 24: 883-896.
71. Davis MP. Sigma-1 receptors and animal studies centered on pain and analgesia. *Expert Opin Drug Discov*, 2015, 10: 885-900.
72. Romero L, Merlos M, Vela JM. Chapter Seven - Antinociception by Sigma-1 Receptor Antagonists: Central and Peripheral Effects. İçinde: Barrett JE (editör). *Advances in Pharmacology*, Academic Press, 2016: 179-215.

73. Hayashi T, Maurice T, Su T-P. Ca²⁺ Signaling via σ 1-Receptors: novel regulatory mechanism affecting intracellular Ca²⁺ concentration. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2000, 293: 788-798.
74. Su TP, Hayashi T, Maurice T, Buch S, Ruoho AE. The sigma-1 receptor chaperone as an inter-organelle signaling modulator. *Trends in Pharmacological Sciences*, 2010, 31: 557-566.
75. Tsai SY, Hayashi T, Mori T, Su TP. Sigma-1 receptor chaperones and diseases. *Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry*, 2009, 9: 184-189.
76. Hayashi T, Su TP. Sigma-1 receptor chaperones at the ER-mitochondrion interface regulate Ca(2+) signaling and cell survival. *Cell*, 2007, 131: 596-610.
77. Hayashi T, Kagaya A, Takebayashi M, Shimizu M, Uchitomi Y, Motohashi N, Yamawaki S. Modulation by sigma ligands of intracellular free Ca⁺⁺ mobilization by N-methyl-D-aspartate in primary culture of rat frontal cortical neurons. *J Pharmacol Exp Ther*, 1995, 275: 207-214.
78. Monnet FP, Morin-Surun MP, Leger J, Combettes L. Protein kinase C-dependent potentiation of intracellular calcium influx by sigma1 receptor agonists in rat hippocampal neurons. *J Pharmacol Exp Ther*, 2003, 307: 705-712.
79. Puente B, Nadal X, Portillo-Salido E, Sanchez-Arroyos R, Ovalle S, Palacios G, Muro A, Romero L, Entrena JM, Baeyens JM, Lopez-Garcia JA, Maldonado R, Zamanillo D, Vela JM. Sigma-1 receptors regulate activity-induced spinal sensitization and neuropathic pain after peripheral nerve injury. *Pain*, 2009, 145: 294-303.
80. Roh DH, Kim HW, Yoon SY, Seo HS, Kwon YB, Kim KW, Han HJ, Beitz AJ, Na HS, Lee JH. Intrathecal injection of the sigma(1) receptor antagonist BD1047 blocks both mechanical allodynia and increases in spinal NR1 expression during

- the induction phase of rodent neuropathic pain. *Anesthesiology*, 2008, 109: 879-889.
81. Aydar E, Palmer CP, Klyachko VA, Jackson MB. The sigma receptor as a ligand-regulated auxiliary potassium channel subunit. *Neuron*, 2002, 34: 399-410.
 82. Navarro G, Moreno E, Aymerich M, Marcellino D, McCormick PJ, Mallol J, Cortes A, Casado V, Canela EI, Ortiz J, Fuxe K, Lluís C, Ferré S, Franco R. Direct involvement of sigma-1 receptors in the dopamine D1 receptor-mediated effects of cocaine. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107: 18676-18681.
 83. Zhang B, Wang L, Chen T, Hong J, Sha S, Wang J, Xiao H, Chen L. Sigma-1 receptor deficiency reduces GABAergic inhibition in the basolateral amygdala leading to LTD impairment and depressive-like behaviors. *Neuropharmacology*, 2017, 116: 387-398.
 84. Nieto FR, Cendan CM, Sanchez-Fernandez C, Cobos EJ, Entrena JM, Tejada MA, Zamanillo D, Vela JM, Baeyens JM. Role of sigma-1 receptors in paclitaxel-induced neuropathic pain in mice. *Journal of Pain*, 2012, 13: 1107-1121.
 85. Romero L, Zamanillo D, Nadal X, Sanchez-Arroyos R, Rivera-Arconada I, Dordal A, Montero A, Muro A, Bura A, Segales C, Laloya M, Hernandez E, Portillo-Salido E, Escriche M, Codony X, Encina G, Burgueno J, Merlos M, Baeyens JM, Giraldo J, Lopez-Garcia JA, Maldonado R, Plata-Salaman CR, Vela JM. Pharmacological properties of S1RA, a new sigma-1 receptor antagonist that inhibits neuropathic pain and activity-induced spinal sensitization. *British Journal of Pharmacology*, 2012, 166: 2289-2306.
 86. Bura AS, Guegan T, Zamanillo D, Vela JM, Maldonado R. Operant self-administration of a sigma ligand improves nociceptive and emotional

- manifestations of neuropathic pain. *European Journal of Pain (London, England)*, 2013, 17: 832-843.
87. Nieto FR, Cendan CM, Canizares FJ, Cubero MA, Vela JM, Fernandez-Segura E, Baeyens JM. Genetic inactivation and pharmacological blockade of sigma-1 receptors prevent paclitaxel-induced sensory-nerve mitochondrial abnormalities and neuropathic pain in mice. *Molecular Pain*, 2014, 10: 11.
88. Tomohisa M, Junpei O, Aki M, Masato H, Mika F, Kazumi Y, Teruo H, Tsutomu S. Possible involvement of the Sigma-1 receptor chaperone in chemotherapeutic-induced neuropathic pain. *Synapse*, 2015, 69: 526-532.
89. Polomano RC, Mannes AJ, Clark US, Bennett GJ. A painful peripheral neuropathy in the rat produced by the chemotherapeutic drug, paclitaxel. *Pain*, 2001, 94: 293-304.
90. Kelley AE. Locomotor activity and exploration. İçinde: van Haaren F (editör). *Methods in Behavioral Pharmacology*, Elsevier, 1993: 499-518.
91. Kraeuter A-K, Guest PC, Sarnyai Z. The Open Field Test for Measuring Locomotor Activity and Anxiety-Like Behavior. İçinde: Guest PC (editör). *Pre-Clinical Models: Techniques and Protocols*, New York, NY, Springer New York, 2019: 99-103.
92. Ferah Okay I, Okay U, Gundogdu OL, Bayram C, Mendil AS, Ertugrul MS, Hacimuftuoglu A. Syringic acid protects against thioacetamide-induced hepatic encephalopathy: Behavioral, biochemical, and molecular evidence. *Neuroscience Letters*, 2022, 769: 136385.
93. Anseloni VC, Ennis M, Lidow MS. Optimization of the mechanical nociceptive threshold testing with the Randall-Selitto assay. *Journal of Neuroscience Methods*, 2003, 131: 93-97.

94. Santos-Nogueira E, Redondo Castro E, Mancuso R, Navarro X. Randall-Selitto test: a new approach for the detection of neuropathic pain after spinal cord injury. *Journal of Neurotrauma*, 2012, 29: 898-904.
95. Colloca L, Ludman T, Bouhassira D, Baron R, Dickenson AH, Yarnitsky D, Freeman R, Truini A, Attal N, Finnerup NB, Eccleston C, Kalso E, Bennett DL, Dworkin RH, Raja SN. Neuropathic pain. *Nat Rev Dis Primers*, 2017, 3: 17002.
96. Peyron R. Functional brain imaging: what has it brought to our understanding of neuropathic pain? A special focus on allodynic pain mechanisms. *Pain*, 2016, 157: S67-S71.
97. Drews E, Zimmer A. Central sensitization needs sigma receptors. *Pain*, 2009, 145: 269-270.
98. Luo ZD, Chaplan SR, Higuera ES, Sorkin LS, Stauderman KA, Williams ME, Yaksh TL. Upregulation of dorsal root ganglion (alpha)2(delta) calcium channel subunit and its correlation with allodynia in spinal nerve-injured rats. *Journal of Neuroscience*, 2001, 21: 1868-1875.
99. Ellis A, Bennett DL. Neuroinflammation and the generation of neuropathic pain. *British Journal of Anaesthesia*, 2013, 111: 26-37.
100. Mathews M, Gratz S, Adetunji B, George V, Mathews M, Basil B. Antipsychotic-induced movement disorders: evaluation and treatment. *Psychiatry (Edgmont)*, 2005, 2: 36-41.
101. Seeman P. Atypical antipsychotics: mechanism of action. *Canadian Journal of Psychiatry. Revue Canadienne de Psychiatrie*, 2002, 47: 27-38.
102. Kusumi I, Boku S, Takahashi Y. Psychopharmacology of atypical antipsychotic drugs: From the receptor binding profile to neuroprotection and neurogenesis. *Psychiatry Clin Neurosci*, 2015, 69: 243-258.

103. Espinosa-Juarez JV, Jaramillo-Morales OA, Lopez-Munoz FJ. Haloperidol Decreases Hyperalgesia and Allodynia Induced by Chronic Constriction Injury. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 2017, 121: 471-479.
104. Cendan CM, Pujalte JM, Portillo-Salido E, Montoliu L, Baeyens JM. Formalin-induced pain is reduced in sigma(1) receptor knockout mice. *European Journal of Pharmacology*, 2005, 511: 73-74.
105. Entrena JM, Cobos EJ, Nieto FR, Cendan CM, Baeyens JM, Del Pozo E. Antagonism by haloperidol and its metabolites of mechanical hypersensitivity induced by intraplantar capsaicin in mice: role of sigma-1 receptors. *Psychopharmacology*, 2009, 205: 21-33.
106. Sanchez-Fernandez C, Montilla-Garcia A, Gonzalez-Cano R, Nieto FR, Romero L, Artacho-Cordon A, Montes R, Fernandez-Pastor B, Merlos M, Baeyens JM, Entrena JM, Cobos EJ. Modulation of peripheral mu-opioid analgesia by sigma1 receptors. *J Pharmacol Exp Ther*, 2014, 348: 32-45.
107. Zhang XY, Zhou DF, Cao LY, Zhang PY, Wu GY, Shen YC. Changes in serum interleukin-2, -6, and -8 levels before and during treatment with risperidone and haloperidol: relationship to outcome in schizophrenia. *Journal of Clinical Psychiatry*, 2004, 65: 940-947.
108. O'Brien SM, Scully P, Dinan TG. Increased tumor necrosis factor-alpha concentrations with interleukin-4 concentrations in exacerbations of schizophrenia. *Psychiatry Research*, 2008, 160: 256-262.
109. Monteleone P, Fabrazzo M, Tortorella A, Maj M. Plasma levels of interleukin-6 and tumor necrosis factor alpha in chronic schizophrenia: effects of clozapine treatment. *Psychiatry Research*, 1997, 71: 11-17.

110. Schreiber S, Backer MM, Weizman R, Pick CG. Augmentation of opioid induced antinociception by the atypical antipsychotic drug risperidone in mice. *Neuroscience Letters*, 1997, 228: 25-28.
111. Vargas CG, Miranda HF, Sierralta F, Noriega V, Prieto JC. Pharmacological interaction between NSAIDS with clomipramine and risperidone in mice visceral pain. *Drug Development Research*, 2019, 80: 471-474.
112. Miranda HF, Noriega V, Sierralta F, Sotomayor-Zarate R, Prieto JC. Risperidone in analgesia induced by paracetamol and meloxicam in experimental pain. *Fundamental and Clinical Pharmacology*, 2022, 36: 494-500.
113. Fe-Bornstein M, Watt SD, Gitlin MC. Improvement in the level of psychosocial functioning in chronic pain patients with the use of risperidone. *Pain Medicine*, 2002, 3: 128-131.
114. Lu LX, Guo SQ, Chen W, Li Q, Cheng J, Guo JH. [Effect of clozapine and risperidone on serum cytokine levels in patients with first-episode paranoid schizophrenia]. *Di 1 Jun Yi Da Xue Xue Bao. Academic Journal of the First Medical College of Pla*, 2004, 24: 1251-1254.
115. Kim DJ, Kim W, Yoon SJ, Go HJ, Choi BM, Jun TY, Kim YK. Effect of risperidone on serum cytokines. *International Journal of Neuroscience*, 2001, 111: 11-19.
116. Almeida-Santos AF, Ferreira RC, Duarte ID, Aguiar DC, Romero TR, Moreira FA. The antipsychotic aripiprazole induces antinociceptive effects: Possible role of peripheral dopamine D2 and serotonin 5-HT1A receptors. *European Journal of Pharmacology*, 2015, 765: 300-306.
117. Kato T, Mizoguchi Y, Monji A, Horikawa H, Suzuki SO, Seki Y, Iwaki T, Hashioka S, Kanba S. Inhibitory effects of aripiprazole on interferon-gamma-

- induced microglial activation via intracellular Ca²⁺ regulation in vitro. *Journal of Neurochemistry*, 2008, 106: 815-825.
118. Stapel B, Sieve I, Falk CS, Bleich S, Hilfiker-Kleiner D, Kahl KG. Second generation atypical antipsychotics olanzapine and aripiprazole reduce expression and secretion of inflammatory cytokines in human immune cells. *Journal of Psychiatric Research*, 2018, 105: 95-102.
 119. Khalilzadeh M, Hassanzadeh F, Aghamiri H, Dehpour AR, Shafaroodi H. Aripiprazole prevents from development of vincristine-induced neuropathic nociception by limiting neural NOS overexpression and NF- κ B hyperactivation. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 2020, 86: 393-404.
 120. Abed A, Khoshnoud MJ, Taghian M, Aliasgharzadeh M, Mesdaghinia A. Quetiapine reverses paclitaxel-induced neuropathic pain in mice: Role of alpha2-adrenergic receptors. *Iran J Basic Med Sci*, 2017, 20: 1182-1188.
 121. Hidalgo J, Rico-Villademoros F, Calandre EP. An open-label study of quetiapine in the treatment of fibromyalgia. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 2007, 31: 71-77.
 122. Calandre EP, Morillas-Arques P, Rodriguez-Lopez CM, Rico-Villademoros F, Hidalgo J. Pregabalin augmentation of quetiapine therapy in the treatment of fibromyalgia: an open-label, prospective trial. *Pharmacopsychiatry*, 2007, 40: 68-71.
 123. Jaehne EJ, Corrigan F, Toben C, Jawahar MC, Baune BT. The effect of the antipsychotic drug quetiapine and its metabolite norquetiapine on acute inflammation, memory and anhedonia. *Pharmacol Biochem Behav*, 2015, 135: 136-144.

124. Bian Q, Kato T, Monji A, Hashioka S, Mizoguchi Y, Horikawa H, Kanba S. The effect of atypical antipsychotics, perospirone, ziprasidone and quetiapine on microglial activation induced by interferon-gamma. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 2008, 32: 42-48.
125. Kao YC, Ko CY, Wang SC, Liu YP. Protective Effects of Quetiapine on Metabolic and Inflammatory Abnormalities in Schizophrenic Patients during Exacerbated Stage. *Chinese Journal of Physiology*, 2016, 59: 69-77.
126. Aljbori MAA, Alshalchi RFA, Faris GA. Evaluation the sedative and analgesic effects of tramadol and chlorpromazine alone or as a combination in chicks. *Kufa Journal For Veterinary Medical Sciences*, 2021, 12: 16-22.
127. Suzuki K, Suzuki S, Shiina T, Kobayashi S, Hirata K. Central Sensitization in Migraine: A Narrative Review. *Journal of Pain Research*, 2022, 15: 2673-2682.
128. Ruiz Yanzi MA, Goicochea MT, Yorio F, Alessandro L, Farez MF, Marrodan M. Intravenous chlorpromazine as potentially useful treatment for chronic headache disorders. *Headache: The Journal of Head and Face Pain*, 2020, 60: 2530-2536.
129. Shrestha M. Ketorolac vs Chlorpromazine in the Treatment of Acute Migraine Without Aura. *Archives of Internal Medicine*, 1996, 156: 1725-1728.
130. Hodgson SE, Harding AM, Bourke EM, Taylor DM, Greene SL. A prospective, randomized, double-blind trial of intravenous chlorpromazine versus intravenous prochlorperazine for the treatment of acute migraine in adults presenting to the emergency department. *Headache*, 2021, 61: 603-611.
131. Labuzek K, Kowalski J, Gabryel B, Herman ZS. Chlorpromazine and loxapine reduce interleukin-1beta and interleukin-2 release by rat mixed glial and microglial cell cultures. *European Neuropsychopharmacology*, 2005, 15: 23-30.

132. Maes M, Bosmans E, Calabrese J, Smith R, Meltzer HY. Interleukin-2 and interleukin-6 in schizophrenia and mania: effects of neuroleptics and mood stabilizers. *Journal of Psychiatric Research*, 1995, 29: 141-152.
133. Luo Y, He H, Zhang J, Ou Y, Fan N. Changes in serum TNF-alpha, IL-18, and IL-6 concentrations in patients with chronic schizophrenia at admission and at discharge. *Comprehensive Psychiatry*, 2019, 90: 82-87.



EK-2. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU



SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Graduate School of Health Sciences

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU¹

Öğrencinin Adı ve Soyadı

Ayşenur BUDAK SAVAŞ

Ana Bilim Dalı

Tıbbi Farmakoloji

Öğrencinin Kayıtlı Olduğu Program Türü

Doktora

Yukarıda bilgileri verilen tezin intihal tespit yazılımıyla (Turnitin) yapılan tarama sonucunda elde edilen benzerlik oranları aşağıdaki gibidir. Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi hâlde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.

Bölümler	Benzerlik Oranı	Maksimum Benzerlik Oranları
I. Giriş	% 6	% 15
II. Genel Bilgiler	% 1	% 35
III. Materyal ve Metod	% 11	% 35
IV. Bulgular	% 4	% 15
V. Tartışma	% 2	% 20

***Not:** Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5'den büyük olmaması gerekir.*

Tez Yazarı (Öğrenci)

Ayşenur BUDAK SAVAŞ

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Ahmet HACİMÜFTÜOĞLU

EK-3. ETİK KURUL ONAY FORMU



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Tıp Fakültesi Dekanlığı
Dahili Tıp Bilimleri Bölümü Başkanlığı



Sayı : E-42190979-050.01.04-2200082229
Konu : HADYEK Kararı

09.03.2022

TIBBİ FARMAKOLOJİ ANA BİLİM DALI BAŞKANLIĞINA

İlgi : 18.02.2022 tarihli ve E-42190979-000-2200056378 sayılı belge.

Tıbbi Farmakoloji Ana Bilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr.Ahmet HACİMÜFTÜOĞLU'nun yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuvarlarında yürütülen "Ratlarda Paklitakselle Oluşturulan Nöropatik Ağrı Modelinde, Antipsikotik İlaçların Etkilerinin Araştırılması" isimli araştırma çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna ilişkin, Dekanlık Makamının 09.03.2022 tarih ve 2200080865 sayılı yazısı ekindeki, Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığının 08.03.2022 tarih ve 2200077102 sayılı yazısı ekte gönderilmiştir.

Bilgilerinizi ve Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuvarlarında yürütülmesine ve taahhüname hükümlerine göre çalışmada kullanılan hayvanlara ait bilgilerin, T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğünün, Hayvanları Koruma Bilgi Sistemi (HAYBİS)'ne girilebilmesi için ekte sunulan "HADYEK Sonuç Raporu"nun Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığına gönderilmesi hususunda gereğini rica ederim.

Prof.Dr. Fuat ERDEM
Bölüm Başkanı



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Rektörlük



Sayı : E-75296309-050.01.04-2200077102
Konu : HADYEK Kararı.

08.03.2022

TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

İlgi : 21.02.2022 tarihli ve E-42190979-000-2200058289 sayılı belge.

İlgide kayıtlı yazınız; Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 28.02.2022 tarihli ve 2022/2 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 40 no'lu kararı ile sözkonusu tez çalışmasındaki değişikliğin yapılarak yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna, mevcut oy birliği ile karar verilmiş olup, çalışmanın Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuvarlarında yürütülmesine ve taahhüname hükümlerine göre çalışmada kullanılan hayvanlara ait bilgilerin, T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğünün, Hayvanları Koruma Bilgi Sistemi (HAYBİS)'ne girilebilmesi için ekte sunulan "HADYEK Sonuç Raporu"nun Başkanlığımıza gönderilmesi hususunda;

Gereğini bilgilerinize arz ederim.