

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
NÖROLOJİ ANABİLİM DALI**

**RATLARDA YAYILAN KORTİKAL DEPRESYONUN
SUBKORTİKAL ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. NERMİN TEPE**

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. HAYRUNNİSA BOLAY BELEN

ANKARA

OCAK 2012

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
NÖROLOJİ ANABİLİM DALI**

**RATLARDA YAYILAN KORTİKAL DEPRESYONUN
SUBKORTİKAL ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. NERMİN TEPE

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. HAYRUNNİSA BOLAY BELEN

Bu çalışma Gazi Üniversitesi Nöropsikiyatri Eğitim Uygulama ve Araştırma Merkezi Nörobilim laboratuvarlarında yapılmıştır ve Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi (01/2009-41) tarafından desteklenmiştir.

ANKARA

OCAK 2012

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay

Kısaltmalar

İçindekiler

I- GİRİŞ.....	1
II- GENEL BİLGİLER.....	3
II A) MİGRENİN KLİNİK ÖZELLİKLERİ.....	3
III- MİGREN PATOGENEZİ.....	7
III A) MİGRENDE HİPEREKSİTABİLİTE.....	7
III B) TRİGEMİNAL SİNİR VE BAŞAĞRISININ ANATOMİSİ....	9
III C) KORTİKAL YAYILAN DEPRESYON DALGALARI.....	12
III D) CSD’NİN DAVRANIŞA VE DİĞER BEYİN YAPILARINA ETKİSİ.....	14
III E) VALPROİK ASİT VE MİGRENDE ROLÜ.....	17
IV- MATERYAL VE METOD.....	20
IV A) DENEY GRUPLARI VE İLAÇLAR.....	21

IVB) ELEKTROFİZYOLOJİ.....	21
IV C) DAVRANIŞ DENEYLERİ.....	22
IV D) ULTRASONİK SES KAYDI.....	23
IV E) PERFÜZYON VE DOKULARIN HAZIRLANMASI.....	24
IV F) C-FOS İMMÜNHİSTOKİMYA ÇALIŞMASI.....	25
IV G) İSTATİSTİKSEL YÖNTEMLER.....	27
V- SONUÇLAR.....	28
V A) ELEKTROKORTİKOĞRAFI.....	28
V B) DAVRANIŞ.....	29
V C) AĞRI SESİ.....	38
V D) C-FOS İMMÜNOHİSTOKİMYA.....	38
VI- TARTIŞMA.....	49
VII- SONUÇ.....	62
VIII- KAYNAKLAR.....	64
IX- ÖZET.....	73
X- SUMMARY.....	75
XI- ÖZGEÇMİŞ.....	77

KISALTMALAR

5-HT: 5-Hidroksitriptamin

ADP: Adenozin di fosfat

CGRP: Kalsitonin gen ilişkili peptid

CL: Sentrolateral talamik nükleus

CM: Sentral medial talamik nükleus

CSD: Kortikal yayılan depresyon

ECoG: Elektrokortikografi

GABA: Gama aminobütirik asit

LDDM: Laterodorsal talamik nükleus, dorsomedial bölüm

LDVL: Laterodorsal talamik nükleus, ventrolateral bölüm

LPMR: Lateral posterior talamik nükleus, mediorostral bölüm

MHb: Medial habenular nükleus

MSS: Merkezi sinir sistemi

NMDA: N metil D aspartat

NO: Nitrik oksit

PAF: Trombosit aktive edici faktör

PAG: Periaquaduktal gri madde

PBS: Phosphate buffered saline

PC: Parasentral talamik nükleus

PO: Posterior talamik nükleer grup

PVP: Paraventriküler talamik nükleus, posterior bölüm

RT: Talamik retiküler

SF: Serum fizyolojik

TNC: Trigeminal nükleus kaudalis

USV: Ultrasonik vakolizasyon

VP: Ventroposterior

VA: Valproik asit

VPL: Ventral posterolateral talamik nükleus

VPM: Ventral posteromedial talamik nükleus

I- GİRİŞ:

Migren toplumda yaygın karşılaşılan (1), yüksek dizabilite (2) ve maddi kayba neden olan (3) kronik bir beyin hastalığıdır. Geri dönen beyin disfonksiyonunun görülebildiği tipik baş ağrısı ile eşlik eden artmış duyuşal uyarılara hassasiyet (ışık ses, koku, dokunma gibi), gastrointestinal rahatsızlık ve otonom semptomları içeren ataklar ile karakterizedir. Migren, bazı dış uyarılara ve santral sinir sistemindeki endojen siklik değışikliklere, nörovasküler reaksiyonun kalıtsal bir artmış duyarlılığı olarak da tanımlanabilir (4). Ana belirti ve bulgularının oluşumu, trigeminal ağrı yollarının periferik ve santral bileşenlerinin rol oynadığı kompleks bir patofizyolojiye sahiptir (5).

Auraya neden olan kortikal yayılan depresyon dalgasının (CSD) trigeminal siniri aktive ederek baş ağrısına yol açabildiği gösterildikten (6) sonra CSD'nin ve serebral korteksin migren nörobiyolojisindeki rolü daha fazla çalışılmaya başlanmıştır. CSD ile ilgili yapılan çalışmalarda büyük çoğunlukla anestezi altındaki deney hayvanlarında trigeminal sinir ve serebral korteksin rolü incelenmiştir. Klinik korelasyon açısından uyanık serbest dolaşan deney hayvanlarında yapılacak bir ağrı davranış çalışması CSD'nin rolünü ve davranışa etkilerini daha iyi belirleyecektir. Ayrıca hayvanlarda yayılan kortikal depresyonda subkortikal yapıların rolü, fonksiyonu korteks kadar iyi anlaşılamamıştır ve özellikle uyanık serbest dolaşan kemirgenlerde CSD'nin ağrı davranışı ve migrene eşlik eden diğer belirtilere etkileri bugüne dek çalışılmamıştır.

Yapılan çalışmada, migrenin aura belirtilerine neden olan CSD'nin serbest dolaşan sıçan davranışlarına (motor, yeme, içme, ağrı, uyku, hareket vb) etkisi incelenmiş ve trigeminal sinir; beyin sapı ağrı çekirdeği, amigdala, talamus, kauda-putamen, insula, singulat girus gibi belirli kortikal ve subkortikal beyin yapıları üzerindeki aktivasyon örüntüleri ile karşılaştırılmıştır. Klinikte etkin olarak kullanılan valproik asitin (VA) bu davranış ve aktivasyon örüntüleri üzerine olan etkisi de araştırılmıştır. Serbest dolaşan ve uyanık deney hayvanında geliştirilen bu model ve çalışma, migrende gözlenen motor, emosyonel ve duysal semptomların nrobiyolojisinin daha iyi anlaşılmasını sağlamanın yanında ileride yeni tedavi açılımlarına da fırsat verecektir.

II- GENEL BİLGİLER:

II A) Migrenin Klinik Özellikleri

Migren, genel popülasyonun %10'undan daha fazlasını etkiler (7). Türkiye'de 2009 yılında yeni yapılan prevalans çalışması genel prevalansı % 16,4 olarak raporlamıştır, bu oran erkeklerde % 6-8, kadınlarda %12-14 civarında bulunmuştur. En çok görüldüğü yaş grubu 30-39 olarak bulunmuştur. Prevalansı yaş, cinsiyet, ırk ve gelir ile değişmektedir. Puberte öncesi migren prevalansı yaklaşık %4 olup kızlar ile erkeklerde eşit oranlarda görülür. Adölesan döneme girmekle birlikte prevalans erkeklerden çok kızlarda hızla yükselir. Prevalans 40 yaşa kadar artar ve sonra düşer. Erişkin nüfusta kadın-erkek oranı 2/1'e ulaşmaktadır (8).

Migren primer baş ağrısı olup genellikle ataklar halinde seyreder ancak yaklaşık % 4 kadar hastada migren kronikleşmektedir. Son yıllarda elde edilen birçok kanıt migreni başlatan mekanizmaların santral sinir sisteminde, beyinde lokalize olduğuna işaret etmektedir. Ancak, migrenin gerçek nedenleri ve tüm bireylerin hayatının bir anda belirli koşullar altında bir migren krizi geçirme potansiyeli nedeni hakkında çok az bilgi vardır.

Ağrı, migren buzdığının sadece ucunu temsil etmekle birlikte migren genellikle bir ağrı bozukluğu olarak tasvir edilir. Son zamanlarda migren atağının genetik olarak bozulmuş beyin dengesini düzeltmek için biyodavranışsal cevap olabileceği ileri sürülmektedir (9). Birçok migren tetikleyicisi beyni direkt olarak etkilemekte (açlık, alkol, uyku azlığı veya çokluğu, gürültü, ışık, ısı, fizyolojik stress ve koku), bu tetikleyiciler beyin için iç ya da çevresel tehditler olarak

görülebılır. Spesifik tanı aracı olmamakla birlikte öykü ve nörolojik muayenenin normal olması ile tanı konur.

Migren atağı birkaç evreden oluşur; prodromal evresi, aura evresi, ağrı ve eşlikçi belirtilerin olduğu başağrısı evresi ve iyileşme evresi (10).

Prodrom Dönemi, ağrıdan birkaç saat önce başlayabildiği gibi, yirmi dört saat önce de başlayabilir. Bazı hastalarda daha da uzundur ve birkaç gün sürebilir. Prodrom döneminde sersemlik, kelimeleri anlayamama, konsantrasyon güçlüğü, çabuk sinirlenme, yorgunluk, belirli yiyecekleri yeme isteği gibi bulgular vardır.

Aura Evresi, karakteristik özellikleri ile migrende dikkat çekmektedir (11). Migren hastalarının %30'un da görülebileceği gibi izole de olabilir. Aurada geçici nörolojik disfonksiyon izlenmekte olup genellikle görsel ve/veya duyuşal semptomlarla karakterizedir. Semptomlar kortikal veya beyin saptı disfonksiyonuyla uyumlu olarak görülür. Aura semptomları 5-20 dakika içinde gelişmekte ve genellikle 60 dakikayı geçmemektedir. Görsel auralar çoğunlukla hemianopik özellikte olup pozitif ve negatif semptomlar olarak değerlendirilmektedirler. Pozitif semptomlar basit ışıık çakmaları, görme alanının ortasından başlayıp kenara doğru ilerleyen zigzag/kırık çizgiler şeklindedir. Negatif semptomlar ise hemianopik görme alanı defektleri ya da skotomlar şeklindedir. Görsel aura semptomlarının oksipital lob görme korteksinin disfonksiyonu sonucu geliştiği ve kortikal yayılan depresyonun başlangıç dönemiyle uyumlu olduğu düşünülür. Paresteziler, ikinci sıklıkta görülen aura tipleridir. Somatosensoriyel aurada tek taraflı olarak kişinin el parmaklarından

başlayıp kola doğru yayılan ve çoğu zaman aynı tarafta burun ve ağız çevresini etkileyen uyuşukluk ve karıncalanma hissi ortaya çıkmaktadır. Motor semptomlar, konuşma bozuklukları, afazi, baş dönmesi ve nadir olmakla birlikte işitsel ve koku halüsinasyonları da aura semptomları arasında sayılabilir (12). Aura nadiren kalıcı nörolojik defisit olduğu serebral iskemik atağı tetikleyebilir.

Migren aurasının serebral korteksten kaynaklandığı ve muhtemel CSD dalgalarının neden olduğu klinik gözlemler, nörogörüntüleme çalışmaları ve kan akım ölçümleri ile gösterilmiştir. Migrenlilerin 1/5'inde ağrıdan 20- 40 dakika önce ortaya çıkan görsel aura, en sık aura formu olup, bir görme alanında hızlanarak ve genişleyerek laterale doğru yayılır. Birincil görsel korteks boyunca sabit bir hızla (3 ila 6 mm/dakika) yayılır. Duyusal aura da benzer bir şekilde yavaş bir hızla yayılır ve sıklıkla önce karıncalanma ve iyileşirken uyuşukluk oluşturur.

Baş Ağrısı Döneminde, tipik olarak ağrı tek taraflı, zonklayıcı, orta-ağır şiddettedir. Genelde aktivite ile şiddetlenir. Migren ağrısı, sadece tek taraflı olabilir, başlangıcından itibaren iki taraflı olabilir ya da tek taraflı başladıktan sonra diğer tarafa yayılabilir. Migren baş ağrısı giderek şiddetlenir, 2 – 12 saat içinde maksimum şiddete ulaşır, yavaşça azalarak geçer. Tedavi edilmemiş bir migren atağının ortalama süresi 24 saattir. Erişkinlerde 4 – 72 saat, çocuklarda ise 1 – 48 saat sürebilir. Ağrıya eşlik eden ışık, ses, koku, dokunma gibi duysal uyarılara karşı artmış hassasiyet ile bulantı ve/veya kusma hastalarda ortak davranış değişikliklerine yol açar. Baş hareketleri, merdiven çıkma, eğilme gibi

günlük hareketlerle şiddetlenen başağrısı ve eşlik eden artmış duyuşal hassasiyet nedeniyle hareket etmememeye, ışık ve sestten uzak durmaya çalışırlar.

Düzelme Döneminde, baş ağrısı giderek azalır ve kaybolur. Hasta kendini yorgun, huzursuz, konsantrasyonu azalmış hiçbirşey düşünemez halde hissedebilir. Uykü ihtiyacı ve diürez belirgindir. Migren hastasının çoğunluğu uykü sonrası, nadiren de uykuya ihtiyaç duymadan kendini aşırı derecede iyi ve yenilenmiş hissederek normal hayata dönerler.

III- MİGREN PATOGENEZİ:

Santral sinir sistemi disfonksiyonu migren patofizyolojisinde asıl rol almakta olup, trigeminal sistemin çeşitli kısımları periferik semptomların belirmesinde rol almaktadır (13). Migren patofizyolojisi halen net olmamakla birlikte şimdiye kadar üç büyük teori öne sürülmüştür. Bugün geçerli olmayan, ilki vasküler teori olup, migren atağında ağrının vazodilatasyon nedeniyle olduğu savunulmuştur. Yapılan deneysel gözlemlerde de bu teoriyi destekleyecek nitelikte ekstra kranial arterlerde dilatasyon gözlenmiştir (14). İkincisi migren atağının nöronal olaylar sonucu olduğunu ileri sürüp, beynin farklı alanlarının çeşitli nörotransmitterlerin değişimine bağlı etkilendiği belirtilmektedir, bu teori CSD'yi ileri sürmekte olup aura semptomlarının altında da kortikal nöronlarda yayılan depolarizan dalgaların olduğunu belirtmiştir (15). En son teori ise nörobiyolojik ve klinik veriler eşliğinde migrenin nörovasküler bir hastalık olduğu üzerinde durulmaktadır (16). Aslında bu teori vasküler değişiklikler ile nörolojik disfonksiyonu bağdaştırmak için öne sürülen bir hipotez olup, migrendeki major adımın trigeminal sistem aracılı inflamatur nöropeptidlerin salınımı sonucu meningeal damarlarda dilatasyon olduğunu savunmaktadır (17,18).

III A) Migrende Hipereksitabilite

Migrenli beyinlerde iktal ve interiktal hipereksitabilite olduğu bilinmektedir. Hipereksitabilitenin nedenleri düşük magnezyum seviyeleri, yüksek kalsiyum ve glutamat seviyeleri, mitokondriyal disfonksiyon, nitrik oksit ile ilişkili disfonksiyon ve kanalopati olarak sıralanabilir (19). Sıralanan nedenlerin

hepsi trigeminovasküler sistemde rol alarak beyin sapında hipereksitabiliteye yol açmaktadır (7). Migrende klinik, genetik ve farmakolojik verilerin temelinde dopaminerjik sistemde hipersensitivite olduğu da belirtilmektedir (19). Yapılan hayvan çalışmaları trigeminovasküler sistemde dopamin agonistlerinin nöronal ateşlemeyi azalttığını göstermiştir. Ayrıca iktal ve interiktal periyotta düşük 5-HT düzeyinin trigeminovasküler nosiseptif yolağın aktivasyonunu kolaylaştırarak migren ataklarını predispoze edebileceği belirtilmektedir (19,20).

Migren patofizyolojisine yönelik yapılan hayvan deneylerinde anormal glutamik asid düzeylerinin CSD'ye neden olduğu, glutamattan zengin besin alımının bireylerde atak için predispozan olduğu belirtilmektedir. Glutamat, CSD oluşum ve yayılımında NMDA reseptörleri üzerinden etkili olabilir. Aslında çeşitli deneysel modellerde NMDA antagonistleriyle CSD bloke edilmiştir (21,22). Nosiseptif uyarının periakvaduktal gri cevherde (PAG) glutamat artışına yol açtığı gösterilmiştir. İyonotropik ve metabotropik glutamat reseptörleri PAG'da ağrı kontrolünde rol alabilir (23,24). Son yirmi yılda yapılan çok sayıda çalışmada özellikle auralı migren hastalarında trombositler, plazma ve beyin omurilik sıvısında glutamat ve aspartat düzeylerinin anlamlı olarak daha fazla artmış olduğu gösterilmiştir. Dendrit veya somadan glutamat salınımı artışı oksipital korteksi depolarize ederek CSD'ye aracılık edebilir. Auralı migren atağına predispozan faktörler bilinmemekle birlikte kortekste glutamat prekürsörlerinde artış ve trombositlerden salınarak trombosit agregasyonu yapan ajanların (PAF, ADP) düşük eşiğinin predispozan olabileceği belirtilmektedir. Beyinde olası bir kusurlu oksidatif metabolizma sonucu glia ve kortikal nöronlardan potasyum ve

glutamat serbestleşebilir, artmış glutamat kullanımı aurya neden olabilir (25,26,27).

III B) Trigeminal Sinir ve Başağrısının Anatomisi

Migren trigeminovasküler sistemin disfonksiyonu sonucu oluşan nörovasküler bir sendromdur. Kanıtlar migrende steril nörolojik inflamasyonla birlikte beynin farklı bölgelerinde nosiseptif aracılı sensitizasyon oluştuğunu ileri sürmektedir (28,29). Kafa içinde ağrı duyarlılığı primer olarak meningeal kan damarlarında sınırlıdır ve bu yapılar trigeminal sinirin oftalmik dalının nosiseptif duyuşal afferent dallarıyla innerve olur. Genel olarak migren başağrılarının bu afferentlerin aktivasyonuna bağılı geliştiğı düşünölür .

Trigeminal ağrı yolağlarının periferik ve santral bileşenlerinin arasındaki bağılantı aracılığıyla sıçanlarda trigeminal nosiseptörün aktivasyonu ile CSD gözlenmiştir (5). Trigeminal sinir pseudo-unipolar nöronlarla periferik ve santral projeksiyonlar içerir. Periferik lifler serebral damarların çevresine projekte olarak dura mater ve serebral kan damarlarını uyarırlar. Serebral damarların trigeminal sinirce bu şekilde uyarımı trigeminovasküler sistem olarak adlandırılmaktadır. Trigeminal sinirin myelinsiz C ve A delta lifleri, meninkslerdeki ağırlı uyanları trigeminal sinirin kaudal çekirdeğine (TNC) taşımaktadır. Trigemino nükleus kaudalisin santral bölgeye projekte olan lifleri beyin sapının kaudal kısmı, servikal spinal kordun rostral kısmı ile sinaps yapmaktadır. Trigeminovasküler sistemin santral ve periferik projeksiyonları kranial damarlardan beynin merkezlerine ağrı sinyallerinin iletiminde bir yolağ oluşturmaktadır (6,30).

Trigeminovasküler sistemin aktivasyonu, periferik sinir sonlanmalarından nöropeptidlerin salınımı ile, meninkslerdeki steril enflamatuvar cevabı oluşturur. Trigeminovasküler lifler boyunca olan ortodromik ileti ile santral nosiseptif bilgiler trigeminal sinirin kaudal çekirdeğine iletilir ve çekirdek içerisinde bir sefalik nosisepsiyon işaretleyicisi olan c-fos ekspresyonuna neden olur. CSD'nin trigeminal sinirin kaudal çekirdeği içerisinde c-fos ekspresyonuna ve meningeal steril enflamasyona yol açtığı deneysel çalışmalarda gösterilmiştir (31). Yakın dönemde migren aurasının modeli olan CSD'nin trigeminovasküler sistemin aktivasyonu yoluyla, orta meningeal arterde uzun süreli kan akımı artışına, dura matere plazma proteinlerinin sızmasına ve ipsilateral trigeminal sinir kaudal çekirdeklerinin aktivasyonu gibi değişikliklere neden olduğu gösterilmiştir (6). Migren atağında baş ağrısı, trigeminal afferent sinir aktivasyonuna bağlıdır. Ağrının tetikleyicileri iyi anlaşılamamakla birlikte tetikleyicilerin trigeminovasküler sistemi uyarak ağrıya neden olduğu, perivasküler aksonlardan vasoaktif nöropeptidleri serbestleştirdiği belirtilmektedir (28). CGRP ve P maddesinin artışı proinflamatuvar ve algojenik özellik gösterirken, sitokinler, 5-HT ve nitrik oksit ise vazoaktif özellik gösterir. Bu mediatörler endotel hücreleri, mast hücreleri ve trombositleri aktive ederek ekstrasellüler alanda aminler, peptidler ve araknoidit metabolitlerinin artışına yol açarlar. Ayrıca bu mediatörler CGRP sentez ve salınımına yol açarak bir kısır döngü oluştururlar (32). Nörojenik inflamasyon, meningeal duyusal lifleri uyarak impulsları trigeminal aksonlardan önce beyin sapında TNC'ye, takiben rostral beyin sapı ve talamusa, talamustan da kortekse iletir. Pozitif feedback döngüde dilate olan kan damarları trigeminal

sinirin duyuşal dallarını mekanik olarak aktive ederek bu sinir terminallerinden glutamat, P maddesi, CGRP ve diğler inflamatuvar nöropeptidlerin salınımına neden olarak dilate olan damarları daha da dilate ederek duyuşal liflerden daha çok salınımlarına neden olmaktadır. Bu nörojenik inflamasyon TNC'ye ağrı sinyalinin iletimini arttırmakta, TNC'de ağrı sinyallerini daha yüksek beyin merkezlerine (talamus ve korteks) aktarmaktadır. Kan damarlarının genişlemesi ilk sıra nöronlarını genellikle 30 dakika içinde duyarlı hale getirerek arterlerin pulsasyonu, fiziksel egzersiz, öne eğilme, öksürme ve hapşırma gibi intrakraniyal basıncı arttırıcı nosiseptif olmayan uyarılarla artan vasküler karakterdeki ağrıya neden olur (33). İlk sıra nöronlarının sensitizasyonu neden ağrının fiziksel aktivite ile arttığını ve neden hastaların başağrısı sırasında sessiz ve hareketsiz kalmayı seçtiklerini açıklar. Aktive olmuş ikinci sıra nöronlarının beyin sapının traktus solitarius gibi bulantı - kusmadan sorumlu merkezleri ile fonksiyonel bağlantıları vardır. Bu merkezlerin aktivasyonu bulantı ve kusmaya neden olur. Triptanlar gibi spesifik migren ilaçlarının trigeminal sinir nükleus kaudalis dışında traktus solitarius da bağlandığı ve bunun başağrısı yanında bulantı, kusmayı önlemede yararlı olduğu gösterilmiştir (34). Talamustan kortekse giden üçüncü sıra nöronların uyarılması ise fotofobi, fonofobi ve nosiseptif olmayan uyarının ağrı yaratması anlamına gelen allodiniden sorumludur. Allodini migren atakları sırasında oluşabilir ve genellikle kafa derisi, yüz ve bazen de ekstremiteleri etkiler (33). Tekrarlayan migren atakları santral sinir sistemini duyarlı hale getirir. PAG alanı gibi nosiseptif alanlarda kalıcı değişiklikler meydana gelir ve bu durum günlük başağrısı ve transforne olmuş migrenden sorumludur. Özetle trigeminal

vasküler sistemin birinci, ikinci ve üçüncü sıra nöronlarını etkileyen aktivasyonu ve sensitizasyonu, fiziksel aktivite ve hareketle artan vasküler karakterli ağrı, bulantı, kusma, fotofobi, fonofobi, osmofobi ve allodini gibi migren semptomlarının çoğundan sorumludur (35). Migren atağı sırasında görülen konsantrasyon güçlüğü ve kognitif fonksiyonlardaki bozulmalar, beyin sapının lokus seroleus gibi dikkatten sorumlu merkezlerinin etkilenmesi sonucu olabilir.

III C) Kortikal Yayılan Depresyon Dalgaları

Migren patogenezinin temel taşlarından biri olan CSD, masif ve kısa süreli bir nöronal eksitasyonu takip eden uzun süreli depresyon dalgasının (bir dakika veya daha fazla) yavaş hızda (dakikada yaklaşık 3mm) ilerlemesiyle karakterize geçici bir fenomendir (36,37). CSD'nin temelinde ekstrasellüler ve intrasellüler alanlar arasındaki iyon dağılımının değişimi yatmaktadır. Membran giriş rezistansında ve iyonik gradyentte ani kayıp sonucu ekstrasellüler potasyum konsantrasyonunda artış olur (istirahat durumunda 3-4 μm 'dan 40 μm 'a artış olur). İyon selektif mikroeletrotlar kullanılarak yapılan çalışmalarda da ekstrasellüler sodyum ve klor seviyelerinin yayılan depresyon esnasında 100 mM, ekstrasellüler kalsiyumun yaklaşık 10 kat azaldığını göstermiştir. Ekstrasellüler potasyum konsantrasyonunun artışıyla bir eksitasyon periyodu oluşur, takiben depolarizasyon ve sonrasında elektriksel olarak sessiz bir periyod izler. Farelerde yapılan bir çalışmada CSD'nin 1-2 dakika süreyle serebral oksijen metabolik hızını %71 ve serebral kan akışını %238 oranında arttırdığı ancak takip eden 2 saat boyunca bazal doku oksijen basıncı ve serebral kan akışını azalttığı, serebral oksijen metabolik hızının yükseldiği gözlenmiştir. CSD'yi izleyen bir saat içinde

nörometabolik değil ama nörovasküler (lokal nöral aktivite ile onun ardından serebral kan akışında görülen değişiklikler) bozulma kaydedilmiştir. Bu durum sellüler disfonksiyon ve hasara yol açabilmektedir (38).

Normal koşullarda, CSD henüz net olarak aydınlatılamamış bir mekanizma ile ilerler ve yine bilinmeyen bir mekanizma ile kendiliğinden sonlanır. İlk kez Leao nöronal depresyonun vazodilatasyon ve kan akımı artışı ile aynı zamanda oluştuğunu göstermiştir. CSD, bölgesel serebral kan akımının kısa süreli artışına, ardından da uzun süren hipoperfüzyonuna neden olur. Migren ağrısı sırasında da oksipital korteksten başlayarak öne doğru yayılan hiperemi ve oligemi dalgasının görsel semptomlarla korele olarak ortaya çıktığı gösterilmiştir. Hatta kortekste bu oligemi migren ağrısı sırasında da sürmekte, bazı aurasız migren ağrılarında da gözlenebilmektedir. Birçok olguda serebral hipoperfüzyonu hiperemi izler. Bu durum aura evresinde potent bir vazodilatör olan kalsitonin geni ile ilişkili peptidin (CGRP) salıverilmesi ile açıklanmıştır (39). Ataklar sırasında CGRP düzeylerinin yüksek bulunması da periferik trigeminal aktivasyonun bir göstergesidir. CGRP trigeminovasküler aktivasyonun biyolojik bir belirteci olarak kabul edilmiştir (35,40). Son araştırmalarda potent bir vazodilatör olan NO'nın, CGRP ile kuvvetli bir bağlantısı olduğu gösterilmiştir (41). Yayılan kortikal depresyon sonrası korteks oligemi fazında iken ağrıya hassas dura materde 45 dakika süren kan akımı artışı, vazodilatasyon gözlenmiş; bu cevabın trigeminal sinirin oftalmik dalı aracılığı ile ortaya çıktığı ve beyin sapındaki ağrıya duyarlı çekirdeklerin de aktive olduğu gösterilmiştir. Ayrıca yayılan kortikal depresyonun trigeminal sinir aktivasyonuna yol açarak durada nörojenik inflamasyona neden

olduğu da gösterilmiştir (42,6). Bolay ve arkadaşları CSD'nin trigeminovasküler afferentleri aktive edebileceğini göstermiştir. CSD sıçan korteksinde hücre dışı sıvının bileşiminde glutamat, potasyum ve hidrojen iyonları (H⁺), nitrik oksit (NO), araşidonik asit ve prostaglandinlerin konsantrasyonlarında büyük artışlara neden olur. Bu maddelerin bazıları direkt olarak ya da perivasküler inflamasyon aracılığıyla indirekt olarak meningeal trigeminovasküler afferentleri aktive ve/veya sensitize eder (6). Major sulkusların sınırlandırılmasına bağlı olarak girensefalik beyinde CSD tüm hemisfer boyunca yayılmamakta bu nedenle auralı insanlarda tüm hemisferdeki nöronal disfonksiyona bağlı semptomlar görülmemektedir (43).

CSD anestezi altındaki sıçanlarda durada nörojenik inflamasyona neden olmakta ve trigeminal siniri tetikleyerek beyin sapı ağrı çekirdeklerini aktive etmektedir (6). Bu süreç trigeminal sinir ile 7. kranial sinirin parasempatiklerini içeren bir beyin sapı refleksi aracılığıyla gerçekleşmektedir (44). CSD'den 20 dak sonra maksimum aktivasyonun görüldüğü bildirilmiştir (44,45) ve 45 dak içinde bu etki kendiliğinden sonlanmaktadır. Bu nedenle uyanık deney hayvanlarında CSD'nin yol açtığı ağrıya ait etkilerinin ilk 20 dakika içinde olacağı ön görülerek deneyler planlanmıştır.

III D) CSD'nin Davranışa ve Diğer Beyin Yapılarına Etkisi

CSD'nin, pial kan damarlarının kortekse yakın olması nedeniyle trigeminal vasküler afferentleri direkt olarak uyurabileceği iddia edilmiştir (46).

Geniş pial kan damar ağının ve perivasküler sinir sonlarının aktivasyonu ve bunu izleyen dural refleks aktivasyonu, migren ağrısını açıklayabilir. Trigeminal vasküler sistemin aktivasyonu ve sensitizasyonu ile ağrı duyusu TNC'den çıkarak beyin sapında orta hatta çaprazlaşıp trigeminal lemniskusu oluşturarak talamusun VPM nükleusunda sonlanır. Daha sonra primer somatosensorial korteks ve singulat kortekse ulaşır. Ağrıya eşlik eden affektif ve emosyonel durumdan parabrakial nükleus, talamusun intralaminar nükleusu, amigdala ve insuler korteksi içine alan farklı bir yolağın aktivasyonu sorumludur (47).

Beyin sapı yapılarının migren atakları sırasında aktive olduğu PET ve fMRI çalışmalarıyla gösterilmiş olup beyin sapının migren jeneratörü olabileceği görüşü öne sürülmüştür (48). Trigeminovasküler nosiseptif uyarıların modülasyonunda locus seruleus ve dorsal raphe çekirdekleri gibi aminerjik beyin sapı çekirdeklerinin önemli rol oynadığı görüntüleme çalışmaları ile ortaya çıkarılmıştır. Bu yapılar serebral kan akımını düzenleyebilmekte ve kortikal nöronal uyarılabilirliği etkileyebilmektedir. Trigeminovasküler sistemi dolaylı veya doğrudan etkilemesiyle de ağrının ortaya çıkabileceği bir olasılık olarak görülmektedir. Ancak başka bazı ağrılı durumlarda da aynı beyin sapı bölgesinde aktivasyonun gözlenmesi, söz konusu bölgenin migrene ne kadar spesifik olduğunun sorgulanmasına yol açmıştır. Görüntüleme yöntemleri ile saptanan beyin sapı aktivasyonu ağrının modülasyonu ile daha ilişkili görünmektedir .

CSD'nin davranışa ve beyin yapılarına etkisine yönelik yapılan çalışmaların birkaçını özetleyecek olursak;

Koroleva ve arkadaşları, uyanık ratlarda KCI ile indükledikleri tekrarlayan CSD'ler sırasında sıçanların karanlık kompartmandan kaçınma davranışı göstermedikleri için CSD'nin aversif deneyim olmadığını bildirmişlerdir. Yine aynı deneyde susuz bırakılmayı takiben CSD oluşturulan sıçanlarda 2 farklı suluk olmasına rağmen, CSD boyunca aynı suluktan su içmeye devam etmeleri de hipokampal CSD'nin kortikal CSD gibi anlık veya gecikmeli olarak aversif sonuçları etkilemediği belirtilmiştir (49).

Yapılan başka bir sıçan çalışmasında ise oksipital kortekse KCI enjeksiyonu sonrası CSD dalgalarının oluşmasını takiben agresif ve stereotipik yeme, içme ve keşif davranışlarının başlangıcının KCI enjeksiyonundan 4 ile 8 dakika sonra olması subkortikal güdüsel mekanizmaların inhibisyonu veya aktivasyonu geri tepme etkisiyle sonuçlanabilir şeklinde yorumlamışlardır (50). Uyanık sıçanlarda oluşturulan tek bir CSD sırasında belirgin donma davranışı gözlemlendiği bildirilmiştir, olası ağrı yanında anksiyetenin de varlığı amigdala aktivasyonu ile gösterilmiştir (51). Yine CSD'nin davranış üzerine etkisine yönelik yapılan başka bir çalışmada, CSD dalgalarının ön somatosensoryel kortekse doğru yayılımında yüz temizleme (grooming) davranışında yoğun artış gözlenmiştir. İlk yeme ve içmelerin frontal korteksteği Krieg'in alanı olan 6 ve 10 'cu alanlara yavaş yayılan dalgaların yayılmasından kısa süre sonra başladığı gözlenmiştir (52).

III E) Valproik asit ve Migrende Rolü

Deneyssel verilerle uyumlu olarak VA'in nörojenik inflamasyonu bloke edip nosiseptif nörotransmisyonu direkt baskıladığı belirtilmektedir (53,54). VA'in önemli analjezik özellikleri olduğu düşünülmektedir. İlk açık uçlu çalışmada valproik asidin migreni önlediği rapor edilmiştir (55). Bir diğer açık uçlu çalışmada ise VA'in migren hastalarında baş ağrısı sıklık ve şiddetini azalttığı gösterilmiştir (56). VA'in kronik kullanımının, sıçanların oksipital korteksinde KCI ile indüklenen CSD'yi bloke ettiği gösterilmiştir (57). VA MSS'ni çeşitli mekanizmalarca etkiler: GABA'nın sentezini yapan glutamik asid dekarboksilazı aktive ederek, GABA aminotransferaz ve süksinat semialdehit dehidrogenazı inhibe ederek (GABA'yı parçalayan enzim) GABA düzeylerini artırır. Baş ağrısı patofizyolojisinde yer alan dorsal raphedeki serotonerjik hücrelerin ateşlenme oranını azaltır (58). TNC'deki c-fos aktivasyonunu azaltmasıyla bağlantılı olarak santral trigeminal aktivasyonu azaltır. GABA A reseptör agonisti gibi davranarak periferik nörojenik inflamasyonu azaltabileceği belirtilmektedir (59,60). Nöron hiperpolarizasyonunda etkili olan kalsiyum iletimini arttırmakta, aspartat düzeylerini azaltmakta, santral 5-HT sistemi ile etkileşerek beyin sapındaki serotonerjik nöronların inflamatuvar etkisini azaltmaktadır. Ayrıca beyinde aspartat ve glutamat düzeylerini azaltarak eksitatör iletimi düzenlemektedir (61).

Valproik asit akut migren atağında kullanılabileceği gibi profilakside de etkinliği kanıtlanmıştır. Akut migren atağında valproik asidin intravenöz (iv) formunun etkili ve iyi tolere edilebildiği gösterilmiştir (62). (iv) formun belirgin kardiyovasküler yan etkisi olmaması, triptan veya ergotaminlerle etkileşiminin

olmaması, sedasyon ve bağımlılık potansiyelinin olmaması potansiyel yararları arasında gösterilmektedir. (iv) formu şiddetli migren atağında diğer medikal tedaviler yetersiz olduğunda, kontrendikasyon durumunda veya tolere edilemediğinde kullanılabilir. Ayrıca farklı bir özellik olarak migren atağının herhangi bir zamanında ve dirençli devam eden baş ağrısı durumunda kullanılabilirken, triptanların ise bu durumun tam tersi olarak atağın başlangıcında etkili olduğu gösterilmiştir. Valproik asit'in migren atağını durdurma süreci veya migren atağını engelleme mekanizması belirsizliğini korumaktadır. Sodyum ve nöronal kalsiyum kanallarını modülatör etkisiyle migrenin erken fazında serebral aktivasyonu inhibe edebileceği belirtilmektedir. N-metil-D-aspartik asit (NMDA) tipi glutamat reseptörleri aracılığıyla nöronal eksitasyonu azalttığı da gösterilmiştir (63). NMDA aracılı geçici depolarizasyonun VA'nın asıl antikonvülsan mekanizması olabileceği tahmin edilmekte olup, bu mekanizmanın (iv) formunun akut durumda etkili olabileceği belirtilmektedir. Bir çalışmada başlangıçta VA'nın presinaptik GABA düzeylerini çok hızlı arttırdığı ve 5 dakika içinde sinir terminalindeki GABA düzeylerinde değişiklik oluşturduğu belirtilerek, (iv) formun dirençli migren tedavisinde hızlı ve etkili oluşunun bu kısa mekanizma tarafınca olabileceği tahmin edilmektedir (64).

Valproik asit yaklaşık 20 yıldır migren baş ağrısı tedavisinde kullanılmaktadır. Son birkaç yıl içinde, migren profilaksisi için yaygın olarak kullanılmaktadır. Migren profilaksisinde kullanılan VA esas olarak GABA aracılı cevabı potansiyalize eder (65). VA'nın migren hastalarında sinir sisteminde artmış olan sensitiviteye yönelik kortikal eksitabiliteyi azaltarak migren profilaksisinde

etkili olduğu öne sürölmektedir (66). Son dönemde VA'in kronik kullanımının in vivo aracılı CSD'yi bloke ettiği gösterilmiştir (67).

VA'in duygudurum üzerine düzenleyici etkisi de bulunmaktadır. Anksiyete bozukluklarının patofizyolojisinde GABA iletim disfonksiyonu yer almaktadır. VA'in GABA geri alımı ve GABA metabolik yoluna etkisi nedeniyle anksiyolitik olabileceği belirtilmektedir (68). Duygudurum düzenleyici rolünün hücreiçi sinyal yollarını etkilemesi nedeniyle olduğu belirtilmektedir (69). Sıçanlarla yapılan bir çalışmada VA akut verildikten sonra 15-60 dakika içinde temizlenme (grooming) davranışının sıklık ve süresini azalttığı, lokomosyon, dışkılama ve şahlanma davranışına etkisinin olmadığı, morfin uygulanmasıyla da bu davranışlarda düzelme olmadığı gözlenmiştir. Giderek artan dozlarda bir ay verilip sonra kademeli kesildiğinde sıçan davranışlarını modifiye etmediği gözlenmiştir. Sonuç olarak grooming azalmasının opioid sistemden bağımsız olarak VA'in anksiyolitik özelliğinden olabileceği belirtilmiştir (70).

IV- MATERYAL VE METOD

Çalışmayla ilgili "Gazi Üniversitesi Rektörlüğü Deney Hayvanları Etik Kurulu" ndan etik kurul onayı (G.Ü. ET- 08.06/ 09.097 kod numaralı) alındıktan sonra deneyler Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöropsikiyatri Eğitim, Uygulama ve Araştırma Merkezi Nörobilim Laboratuvarında yapıldı. Deneyde kullanılan sıçanlar 200-250 gr ağırlığında olacak şekilde Gazi Üniversitesi Laboratuar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezinden alındı. 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ortamı sağlayacak şekilde düzenlenen, 18-21 °C oda sıcaklığında, dışardan gelen ışığı geçirmeyen camlı bir bölmede, tabanına talaş koyularak su ve besinin eklendiği şeffaf kafesler içinde iki gün ortama adapte olmaları için tutuldular. İki gün sonra operasyon öncesi sıçanlara ketamin (50mg/kg) ve ksilazin (8mg/kg) anestezisi verilerek anestezi derinliği sağlandı. Anestezi derinliği kalp hızı ve arka bacak çimdikleme reaksiyonuna bakılarak yapıldı. Anestezi derinliği sağlandıktan sonra ısıtıcı battaniye üzerine alınarak operasyon boyunca rektal ısı kontrolleri yapıldı. Her bir sıçan, kafasını sabitlemek için stereotaktik çerçeveye yerleştirildi, takiben kafatası derisine median insizyon açılarak cilt-ciltaltı bölgesi kesildi, drill ile sağ parietal bölgeye duranın korunduğu yaklaşık 2 mm çapında yuvarlak bir alan açıldı, açılan alana 8 mm uzunluğunda, 2,5 mm iç ve 3,5 mm dış çapında olan iki ucu açık plastik bir tüp yerleştirildi, plastik tüp çevresi dental akrilik ile sabitlendi.

IV A) Deney Grupları ve İlaçlar

1- CSD	KCl (dura, topikal) + SF (ip)	n=9
2- CSD+ VALPROİK ASİT	KCl (dura, topikal) + VA (ip)	n=7
3- VALPROİK ASİT	SF (dura, topikal) + VA (ip)	n=8
4- KONTROL	SF (dura, topikal) + SF (ip)	n=7

Yukarıdaki gibi oluşturulan gruplar cerrahiden üç gün sonra davranış deneylerine alındılar, deney saatleri için günün hep aynı saatleri tercih edildi (16.00 $\pm$ 1.00 saat). Valproik asit 75 mg/kg intraperitoneal olarak CSD indüksiyonundan 30 dk önce verildi. Valproik asitin kontrolü olarak da başka bir gruba aynı şekilde intraperitoneal (ip) olarak 30 dk önce SF (serum fizyolojik) enjekte edildi. CSD indüksiyonu KCl ile yapıldı, 3M KCl topikal olarak uygulandı, bu grubun kontrolünde ise aynı şekilde SF verildi. Topikal KCl veya SF uygulamasının ardından sıçanlar Laboras sistemine konularak 30 dakika spontan davranışları ve ultrasonik olarak çıkardıkları sesler otomatik olarak kaydedilmekle birlikte video kayıtları ile görüntüleri kaydedildi. 2 saat sonra anestezi verilerek immünohistokimyasal analiz için kardiyak perfüzyona alındılar.

IV B) Elektrofizyoloji

Bir grup hayvanda anestezi altında ve uyanık olarak CSD kaydı alınarak davranışa eşlik eden elektrokortikografik değişimler gözlemlendi. Anestezi ile indüklenmiş sıçanlar stereotaktik çerçeveye yerleştirildi. Anterior kraniotomi yapıldı (bregmanın 2mm lateral ve anterioruna), kortekse bipolar elektrot yan yana takıldı. Gümüş-gümüş klorür toprak elektrot boyun kısmına koyuldu. Sinyal

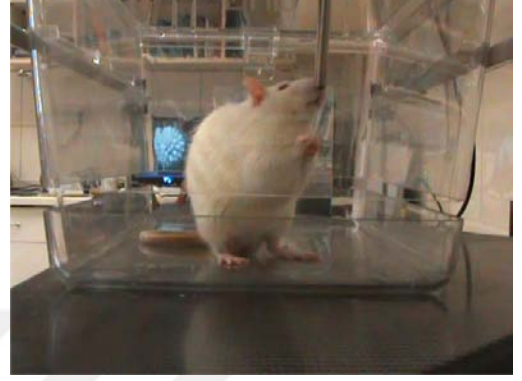
amplifikasyonu ve veri analizi, EEG amplifikatörü ve veri toplama sistemi ile yapıldı. Uyanık sıçanlarla da kortikal aktiviteyi izlemek için bipolar elektrodlar frontal loba yerleştirildi (bregmanın 2mm laterali ve 1-2 mm anterioruna, 1 mm derinliğinde). Parietal bölgeye KCI veya serum fizyolojik vermek için plastik tüp yerleştirildi. Hayvanların şeffaf bir gözlem kutusunda serbestçe hareket etmelerine izin veren ince bir kablo ile AC amplifikatörüne bağlandı. Elektrotlardan alınan sinyaller 0.05-100 Hz aralığında filtre edilip 1kHz'de örneklendi (PowerLab).

IV C) Davranış Deneyleri

Sıçan davranışları LABORAS isimli otomatik olarak noninvaziv davranış analiz sistemi aracılığı ile kayıt edilip daha sonra analiz edildi. Ayrıca eşzamanlı alınan video kayıtları ile donma, uyku gibi davranışlar birbirinden ayırd edildi. LABORAS sistemi, titreşime duyarlı bir platform üzerine sabitlenmiş, bilgisayar bağlantılı standart bir kafesten oluşmaktadır (Şekil 1) (71,72). Sıçanlar standart sıçan kafesindeki besin ve suya ulaşma konusunda kısıtlanmadı (Şekil 2). İncelenen davranışlar aşağıda sıralanmıştır: a) lokomotor aktivite, b) immobilité, c) grooming (temizlenme), d) donma, e) uyku, f) yemek yeme-su içme, g) saat yönüne ve saat yönünün tersine dönme, h) kafa silkinmesi 'head shakes (HS)', i) vücut silkinmesi 'wet dog shakes', j) çene hareketi, k) şahlanma (rearing). Ayrıca otomatik analiz verilerini doğrulamak açısından sıçanların davranışı, davranışların süreleri de gözlemlenerek not edildi.



Şekil (1)



Şekil (2)

IV D) Ultrasonik Ses Kaydı

Birçok omurgalı anne-çocuk etkileşiminde, duygusal veya ruhsal durumda (korku, ağrı veya saldırganlık), çiftleşme ve düşmanın varlığında iletişim amacıyla vokalizasyonu kullanmaktadır. Laboratuar sıçan ve farelerinin dahil olduğu en küçük kemirgen türleri >20 kHz ses çıkarırlar (73). Bu vokalizasyonlar özel ekipman kullanımı olmadan insanlarca duyulmaz. Laboratuar hayvanlarının ultrasonik sesleri (15-100 kHz aralığında) USV detektör sistemince görüntülenip analiz edilmektedir (Sonotrack®, Metris, the Netherlands). Sonotrack donanım olarak 15-100 khz arasında bandpass filtre içerir, bu filtre bozucu etkileri ve çevresel sesleri engeller. Desibel ölçeği 1mV içeren sinyale denk gelir. Spektrogramda kırmızı renk güçlü sinyale işaret ederken (50 mV veya 31 desibel), siyah renk arka plandaki sinyale işaret eder (Sonotrack'da yaklaşık 10 Mv veya 16 desibel).

Vokalizasyonun başlangıç ve sonunda frekans kayması biyolojik ses için karakteristiktir. 22-27 kHz aralığındaki vokalizasyon juvenil ve erişkin sıçanlarda ağrı, şaşkınlık, stres ve düşmanla karşılaşma sırasındaki negatif affektif durumunu gösterir. 50 kHz ise genellikle pozitif affekt durumunu gösterir.

IV E) Perfüzyon ve Dokuların Hazırlanması

Deney ortamında 2 saat boyunca tutulan hayvanlar, letal dozda intraperitoneal sodyum tiyopental (80mg/kg) verilerek kardiyak perfüzyona alındı. Perfüzyonda her bir sıçan, transkardiak 100 ml heparinli % 0,9'luk NaCl ardından, 300-350 ml 0,1 M fosfat tamponlu %4 paraformaldehit solüsyonu ile fikse edildi. Paraformaldehit solüsyonu hazırlanırken, 500 ml distile su içine 40 gr paraformaldehit eklendi. Ağzı kapatılarak 60 °C'de ısıtıldı. Magnetik karıştırıcıda (ARE Heating magnetic stirrer) 10 dakika boyunca karıştırılırken 1N NaOH eklendi ve solüsyon berrak hale getirilip soğumaya bırakıldı. Fosfat tamponu için, 450 ml distile su içine 0,144 gr KH₂PO₄, 9 gr NaCl ve 0,795 gr Na₂HPO₄ eklendi. Daha önce hazırlanan 500 ml'lik solüsyonla karıştırılarak distile suyla 1000 ml'ye tamamlandı. Solüsyon pH'sını ayarlamak için pH ölçer (pH 211 Microprocessol pH Meter) kullanıldı ve pH 7,4'e ayarlandı. Kardiyak perfüzyon sonrası beyin, beyin sapı ve üst servikal dokular 48 saat süreyle paraformaldehit solüsyonunda içinde, +4 °C'de bekletildi. Daha sonra %30 süktroz solüsyonu içine konulan dokular dibe çöktükten sonra (3-4 gün içinde) sliding mikrotomda (Leica) kuru buz ile donduruldu ve dokulardan 50 µm'lik kesitler alındı. C2 seviyesinden obekse kadar olan beyin sapından her 150 µm'de bir kesit alındı. Ayrıca

frontalden oksipitale dek tüm beyin kesitleri benzer şekilde 50µm'lik kalınlıkta alınarak immünohistokimya aşamasına geçildi.

IV F) C-FOS İmmünohistokimya Çalışması

Boyamalarda tüm gruplardan elde edilen kesitlerin yanında pozitif kontrol (CSD beyin dokusu) ve negatif kontrol grubu aynı anda boyandı. Bu amaçla, daha önceden belirtilen çalışmadaki (Bolay ve ark, 2002) yöntem kullanıldı. Kısaca kesitler 0.1 M PBS'de 3 kez 10'ar dakika yıkandıktan sonra, 10 ml PBS ve 100µl % 30 H₂O₂ karıştırılarak hazırlanan solüsyonla, oda sıcaklığında 30 dk boyunca H₂O₂ blokajı yapıldı. Kesitler tekrar PBS'te 3x 10 dk yıkandıktan sonra, 9800 µl PBS, 200 µl keçi serumu ve 30µl tritonX karıştırılarak hazırlanan solüsyonla oda sıcaklığında, 2 saat boyunca protein blokajı yapıldı. Sonrasında primer antikor aşamasına geçildi ve blokaj solüsyonuna ilave edilen, 1/5000 dilüsyonda c-fos antikoruna ile (Calbiochem, USA) +4 °C'de 1 gece bekletildi. Ertesi gün 3 kez, 10 dakika PBS'te yıkama sonrası sekonder antikor aşamasında, 1 ml %2'lik keçi serumu, 1/600 biyotinilated rabbit IgG, % 0,3 triton X'le hazırlanan solüsyonda, oda sıcaklığında, 2 saat süreyle bekletildi. 3 kez, 10 dakika PBS'te yıkandı. 5 ml PBS içine 1 damla A, 1 damla B solüsyonuyla, oda sıcaklığında, 1 saat boyunca inkübe edildi. Tekrar PBS'le yıkama yapıldıktan sonra kesitler renkleri hafif kahverengi olana dek, 1-5 dakika bekletilerek boyanmaları sağlandı. DAB (diamino benzidin) aşaması sonrası kesitler yıkandıktan sonra lam üzerine dizilerek kurumaya bırakıldı. Dokular kuruduktan sonra, 10 dakika % 75'lik alkolde, 10 dakika % 90'lık alkolde ve 10 dakika % 100'lük alkolde bekletildi.

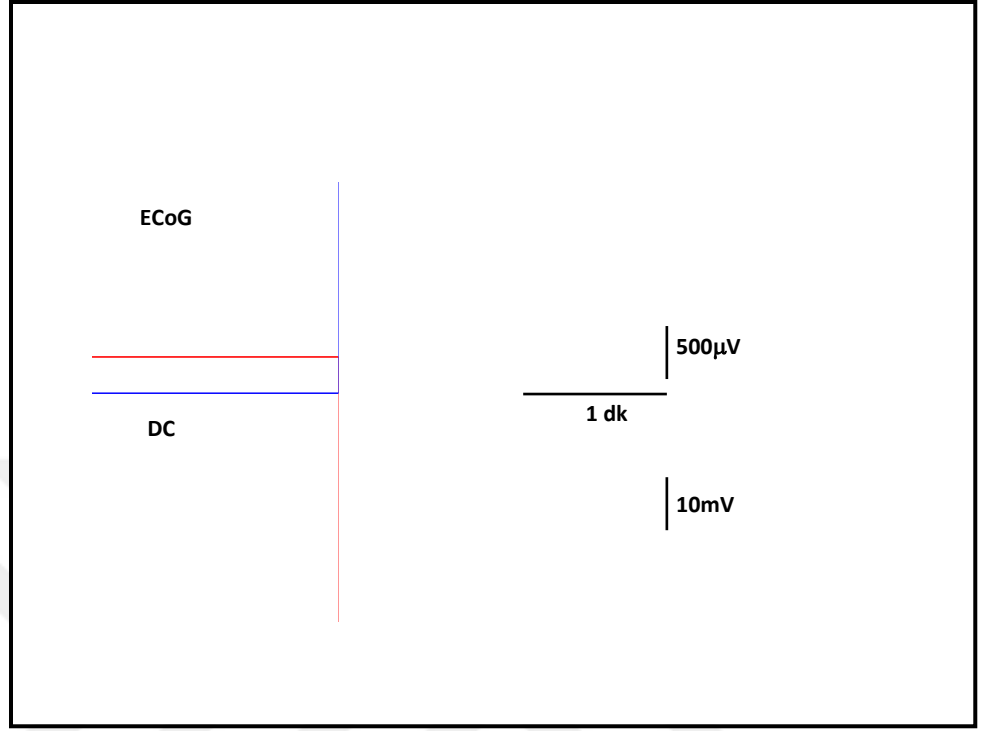
Ardından 10 dakika havada kurutuldu. Dokular 10-20 dakika ksilen solüsyonunda bekletildikten sonra, kapatma solüsyonu (vecta mount) damlatılıp lamelle kapatıldı. C-fos pozitif hücreler, ışık mikroskopunda (Nikon ECLIPSE TE 2000-U) kör olarak sayıldı. C-fos immünohistokimyasında koronal kesitlerde ipsi ve kontralateral hemisferin bir arada görülmesi CSD oluşumunun saptanmasında yardımcı oldu. CSD tarafında tüm serebral korteks katmanlarında ve çevreleyen meninks tabakalarında yaygın ve yoğun c-fos immünreaktivitesi CSD oluştuğunun kanıtı olarak kabul edildi. Bu kriterlere uymayan ve CSD oluşmamış sıçanlar deney gruplarından çıkarıldı (3 sıçan). Sayımlar rat anatomi atlasına bakılarak belirlenen seviyelerde tüm trigeminal nükleusta kaudaliste (obex -2,5 mm) nosiseptif laminalarda (lamina I ve II), amigdala (bregma -1,8 ile -3,3 mm), kauda-putamen (bregma 1,7 ile -3,6 mm), talamus (VPM, VPL, PV, TRN, Po, CM) (bregma -2,12 ile -3,6 mm) , hipotalamus (bregma -2,2 ile -3,6 mm), hipokampus (bregma -2,12 ile -4,52 mm), singulat korteks (bregma 1,7 ile -1,4 mm), insula (bregma 1,7 ile -1,8 mm) ve klastrumda (bregma 1,7 ile -1,8 mm) ayrı ayrı sayıldı .

IV G) İstatiksel Yöntemler

Sonuçlar SPSS 15 istatistik programı ile değerlendirildi. Davranış çeşitlerinin ve ipsilateral kortikal ve subkortikal yapıların gruplar arasındaki anlamlılığı tek yönlü varyans analizi (ONE WAY ANOVA) ile değerlendirildi, gruplar arası farklılık için Post Hoc analizlerinden Tukey testi kullanılarak $P < 0.05$ anlamlı olarak kabul edildi. Kortikal ve subkortikal yapıların ipsilateral ve kontrilateral hemisfer karşılaştırmalarında ise Paired Samples - T testinden yararlanıldı. Sonuçlar ortalama $\pm$ SE (standart hata) olarak verildi.

V- SONUÇLAR

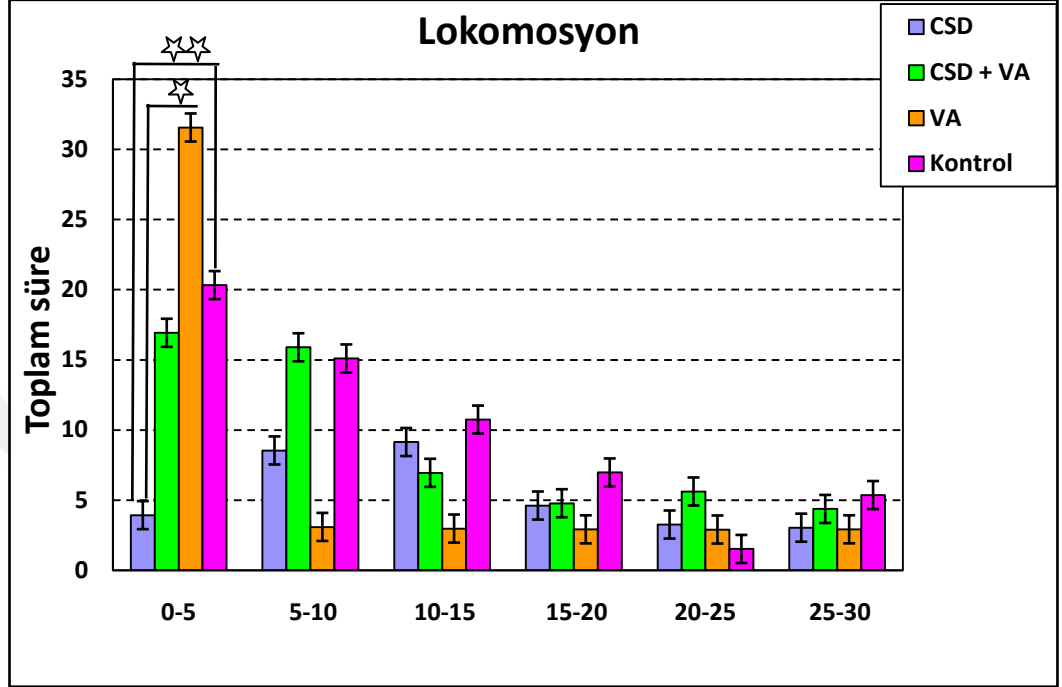
VA) Elektrokortikografi: Anestezi altında korteksten alınan kayıtlarda CSD'nin oluştuğu DC kayması ve elektrokortikogramda amplitüdlerin düşmesi ile gösterildi (Şekil 3). Serbest hareket eden sıçanlarda ise DC kayıt yapılamadı ancak AC analoğu DC kaymaları bandpass filtre ile ECoG veri filtreme aracılığıyla gözlemlendi (0,05-0,5 Hz). Topikal KCI uygulanmadan önce donma gözlemlenmedi. Donma epizotları CSD aracılı ECoG amplitüd baskılanmasıyla aynı anda olmadı. Kayıtlarda epileptiform deşarjlar gözlemlenmedi. Donma atakları sırasındaki davranış absans nöbetiyle benzerlik gösteriyordu ancak ECoG ile yapılan kayıtlarda absans nöbeti için spesifik olan 7-11 Hz diken dalga deşarjları izlenmedi. ECoG amplitüdü baskılanması süresince paralizi izlenmedi, temizlenme, şahlanma, yürüme gibi çeşitli motor hareketler izlendi. ECoG amplitüdünde baskılanma olduğunda CSD'nin muhtemel arka bacak ve ön ayak alanlarının olduğu sensorimotor alanların dahil olduğu çeşitli kortikal alanlara yayılmış olmasına bağlı olarak (yaklaşık olarak bregma -3mm ve bregma +1 mm), sıçanda WDS, temizlenme veya donma davranış reaksiyonları literatürde tanımlandığı şekilde gözlemlendi. (83). Bu hareket artefaktları çoğunlukla nöronal aktivite ve AC analogu olan DC kayıtların izlenmesini maskeleydi.



Şekil 3: Kortikal yayılan depresyon dalgalarının DC ve ECoG kayıtları ile gösterilmesi.

VB) Davranış Tipleri: Gözlem yapılan 30 dk süresince CSD'nin indüklediği davranış örüntüleri ve VA'in bunlara etkileri aşağıda sıralanmıştır.

a. Lokomotor aktivite: CSD grubunda ($3,9 \pm 2,6$), valproik asit ($31,5 \pm 5,8$) ve kontrol grubuna ($20,3 \pm 3,4$) göre istatistiksel olarak da anlamlı olacak şekilde özellikle ilk beş dakikada katedilen mesafe daha kısa bulunmuştur. Valproik asit ile azalan lokomotor aktivitenin anlamlı olarak arttığı gözlenmiştir. (Şekil 4).



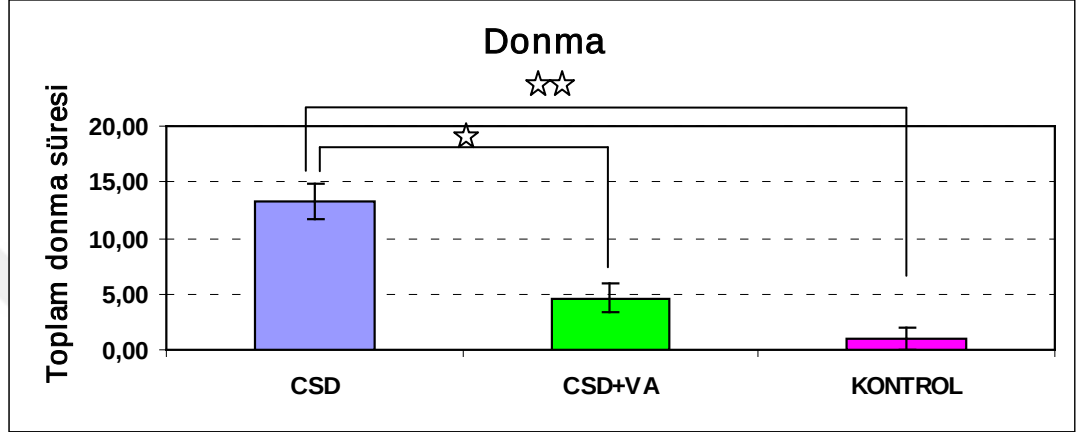
☆ $P < 0,001$ CSD ile valproik asit karşılaştırıldığında

☆☆ $P < 0,05$ ($p = 0,037$) CSD kontrol grubu ile karşılaştırıldığında

Şekil 4: CSD ilk beş dakikada lokomotor aktiviteyi azaltırken, valproik asit arttırmıştır.

b. Donma davranışı (Freezing): Donma davranışı, sıçanın normal hareketi sırasında aniden hareketsiz kalıp sabit ve ‘boş boş’ bakması olarak kabul edildi. CSD sıçanda özellikle ilk 10 dakikada anlamlı olarak donma hareketine yol açtı CSD ($13,3 \pm 1,6$). Donma süresi sıçanlar arasında değişkenlik gösterdi ve saniyeler ile dakikalar arasında değişen bloklar gözlemlendi. Uzun donma sürelerinin uykudan ayırımı, uyku pozisyonunda olmaması, gözlerin açık ve göz kırpması refleksiyle yapıldı. Donma davranışı dış uyaranla geçici olarak

çözülebiliyordu. Valproik asit ise CSD'nin neden olduğu donmayı anlamlı oranda azalttı ($4,6 \pm 1,3$) (Şekil 5).

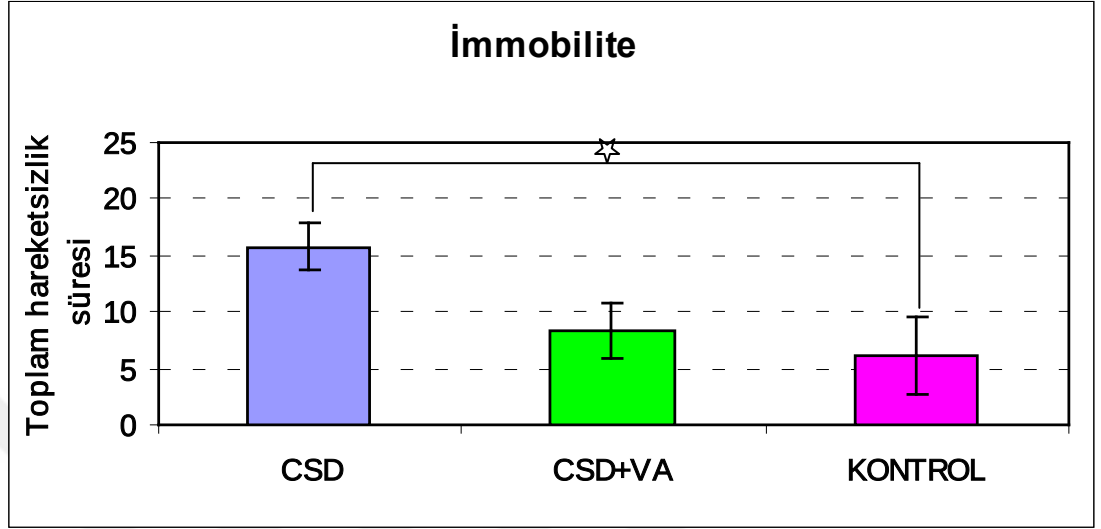


☆ $P < 0,01$ ($p=0,001$) valproik asit ile karşılaştırıldığında

☆☆ $P < 0,001$ kontrol grubu ile karşılaştırıldığında

Şekil 5: CSD donma süresini istatistiksel olarak anlamlı arttırdı, valproik asit verilmesi CSD'ye bağlı bu artışı geri çevirdi.

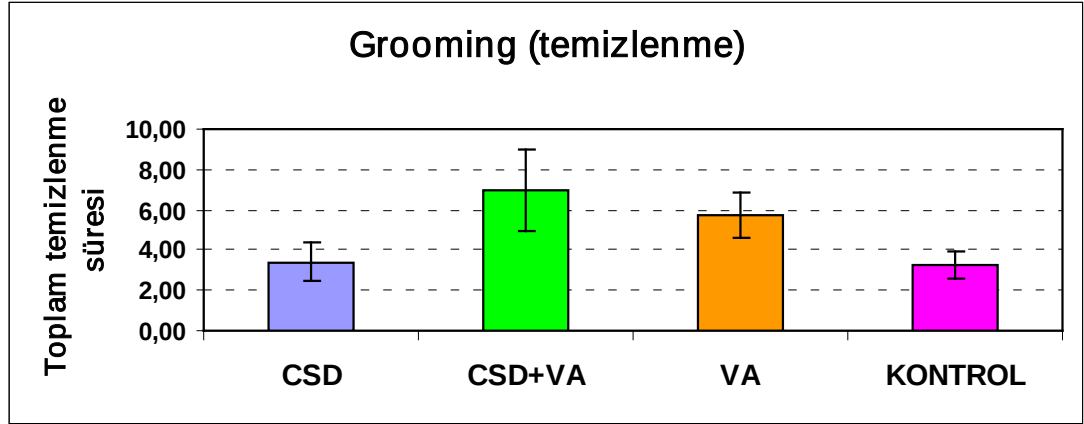
c. *İmmobilite*: İmmobilite toplam uyku ve donma süresi olarak değerlendirildi. CSD grubunda diğer gruplara göre anlamlı olarak immobilite süresi daha uzun bulundu (16 ± 2). Valproik asit ile uzayan immobilite süresinin belirgin azaldığı gözlemlendi ($8,4 \pm 2,4$) (Şekil 6).



☆P<0,05 (p=0,035) kontrol grubu ile karşılaştırıldığında

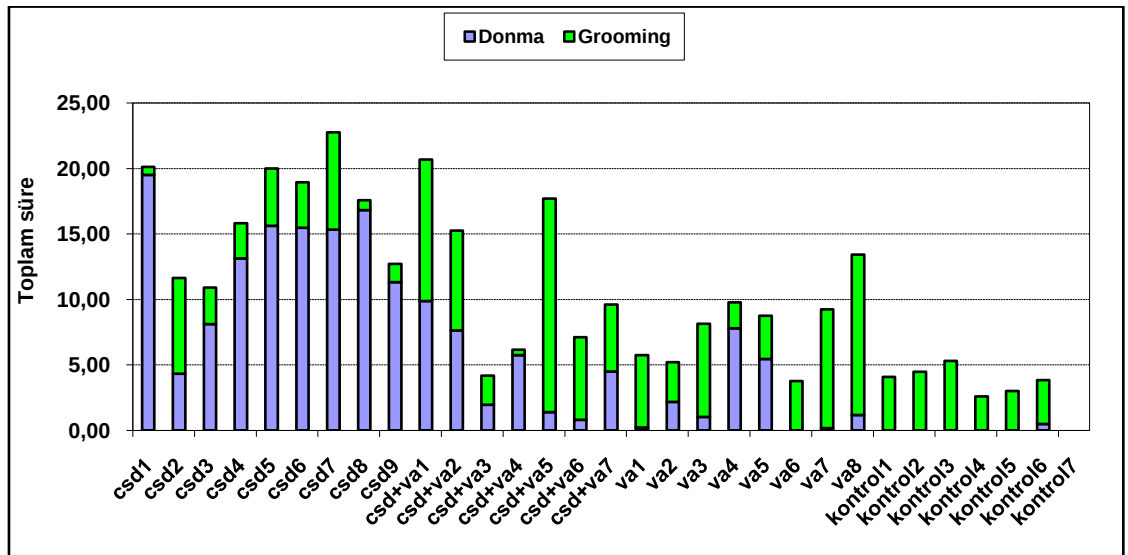
Şekil 6: CSD ile artış gösteren immobilité süresi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

d. *Grooming (Temizlenme)* : Bu davranış sıçanın baş, gövde ve ekstremitelerini doğrudan yalayarak veya ellerini stereotipik olarak hareket ettirerek vücudunu temizlemesidir. Toplam grooming süresi CSD ($3,4 \pm 0,9$) ve kontrol grubunda ($3,3 \pm 0,6$) benzerken, CSD + valproik asit (7 ± 2) ile valproik asit grubunda ($5,8 \pm 1,2$) daha uzundu. Ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Şekil 7).



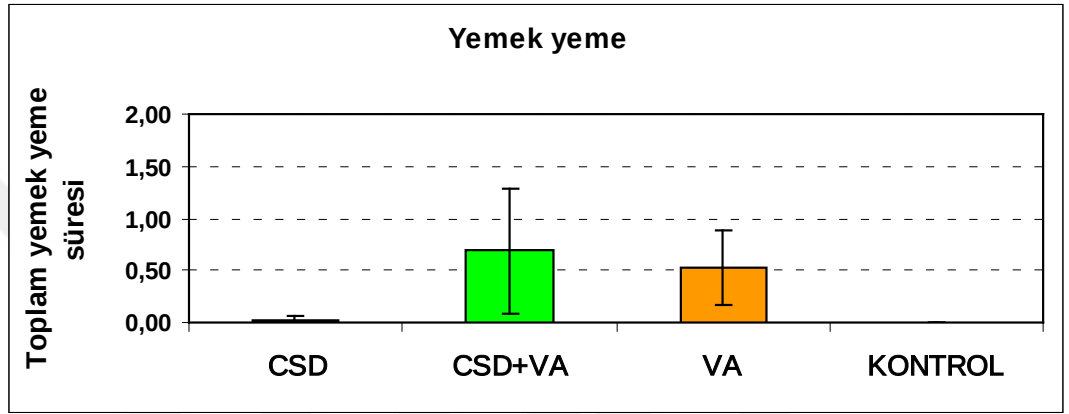
Şekil 7: Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı temizlenme süresi olmazken, valproik asit verilen gruplarda temizlenme süresi daha uzundu.

Aşağıdaki grafikte ise gruplar arası donma ve grooming davranışları karşılaştırılmaktadır. Görüldüğü gibi donma süresi fazla olanlarda grooming süresi daha azken, donma süresi kısa olanlarda da grooming süresi daha fazla olmaktadır (Şekil 8).



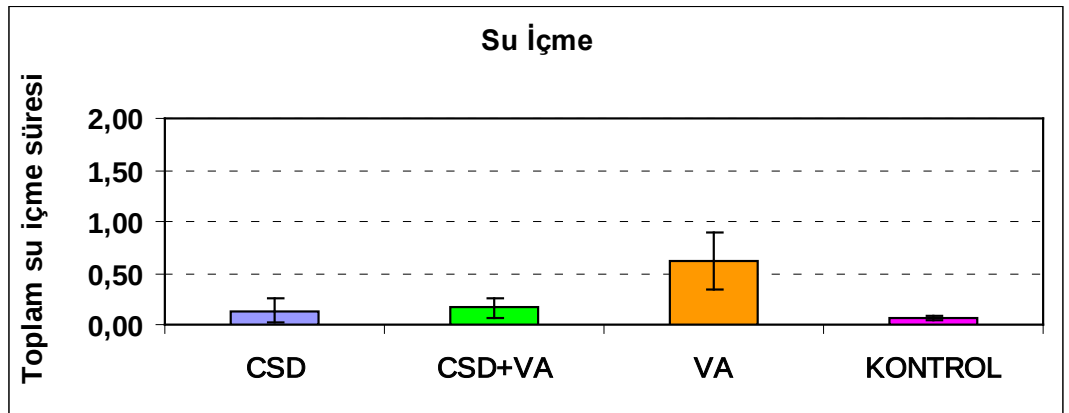
Şekil 8: Gruplar arası donma ve temizlenme sürelerinin karşılaştırılması; Donma süresi arttıkça temizlenme süresi azalırken, temizlenme süresi arttıkça donma süresi azalmaktadır.

e. *Yemek yeme*: Gruplar arasında istatistiksel farklılık saptanmamakla birlikte valproik asit ve CSD + valproik asit grubunda diğer gruplara göre yemek yeme süresinde artış gözlemlendi. (CSD: $0,03 \pm 0,03$ CSD + VA: $0,7 \pm 0,6$ VA: $0,5 \pm 0,35$ Kontrol: 0 ± 0).



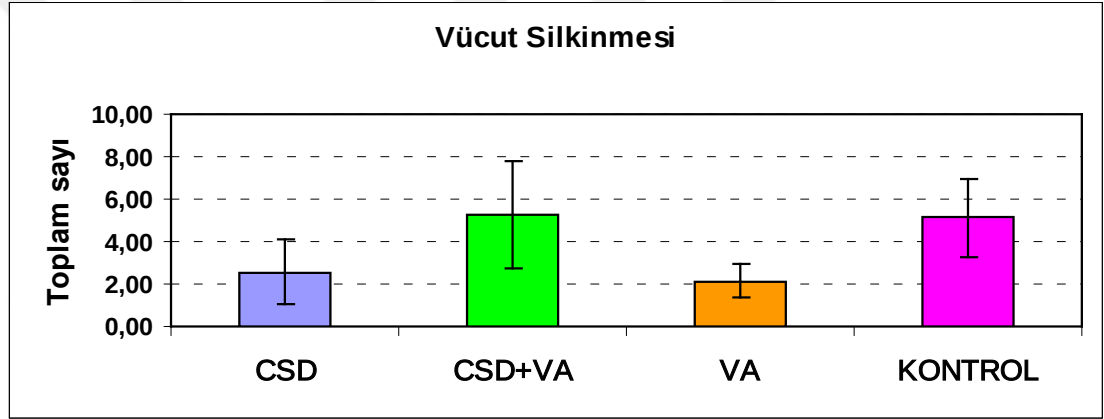
Şekil 9: Gruplar arasında istatistiksel olarak yemek yeme sürelerinde anlamlılık yokken, valproik asit verilen gruplarda yemek yeme sürelerinde artış gözlemlendi.

f. *Su İçme*: Gruplar arasında farklılık saptanmadı (CSD: $0,13 \pm 0,12$ CSD + VA: $0,2 \pm 0,10$ VAt: $0,61 \pm 0,28$ Kontrol: $0,06 \pm 0,02$) (Şekil 10).



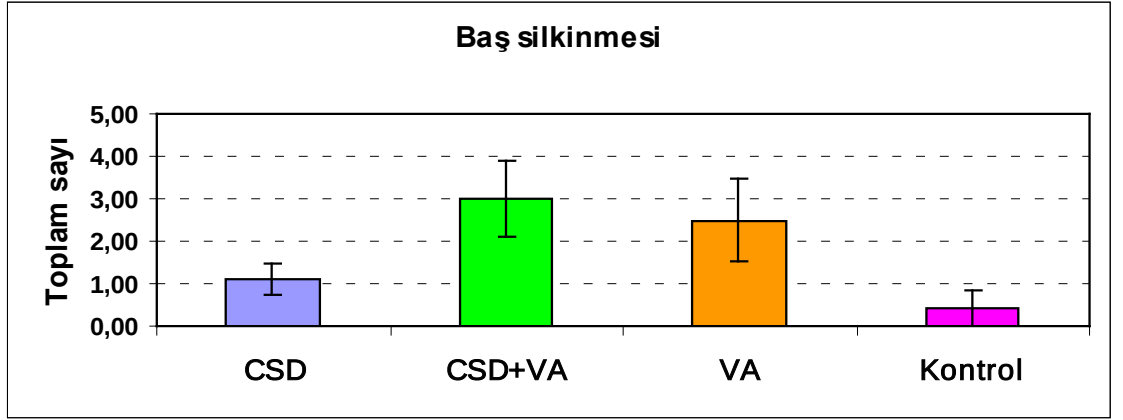
Şekil 10: Su içme sürelerinde istatistiksel olarak anlamlılık bulunmazken, valproik asit alan grupta su içme süresinde diğer gruplara göre artış gözlemlendi.

g. WDS (*wet dog shake*, *Vücut silkinmesi*): Vücudun uzun ekseninde baş, boyun ve gövdenin kuvvetli rotatuar hareketidir. Islak köpeğin vücudundaki suyu uzaklaştırmak için yapmış olduğu silkinme davranışı ile karakterizedir. CSD + valproik asit ($5,3 \pm 2,6$) ve kontrol grubunda ($5,14 \pm 1,9$), CSD ($2,6 \pm 1,5$) ve valproik asit grubuna ($2,1 \pm 0,8$) göre silkinme sayısı artmış olarak gözlemlendi. Ancak bulgular istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Şekil 11).



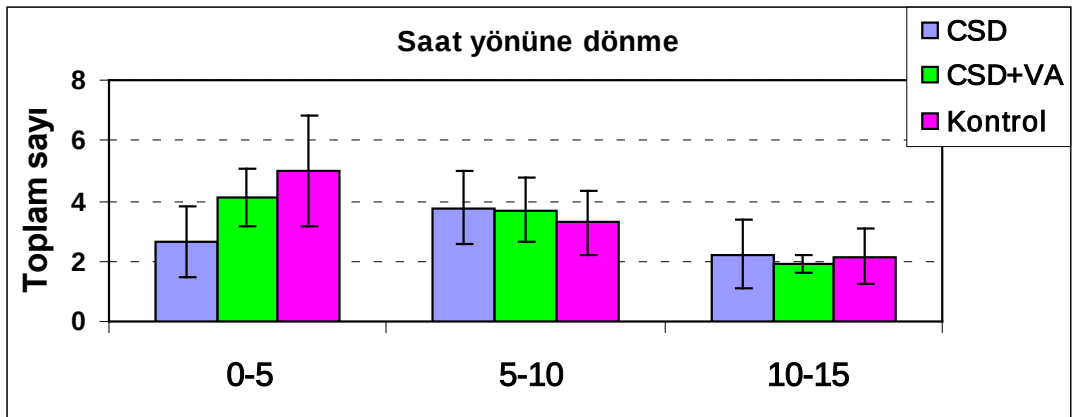
Şekil 11: Vücut silkinme sayısı kontrol grubu ve CSD + valproik asit grubunda yüksek gözlemlendi, ancak gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

h. HS (*head shake*, *baş silkinmesi*): Başın hızlı bir şekilde sağa ve sola doğru 45° açı ile dönme hareketi olup, CSD + valproik asit ($3 \pm 0,9$) ve valproik asit ($2,5 \pm 0,96$) grubunda diğer gruplara göre baş silkinme sayısı daha fazlaydı ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (CSD: $1,1 \pm 0,4$ Kontrol: $0,4 \pm 0,4$) (Şekil 12).

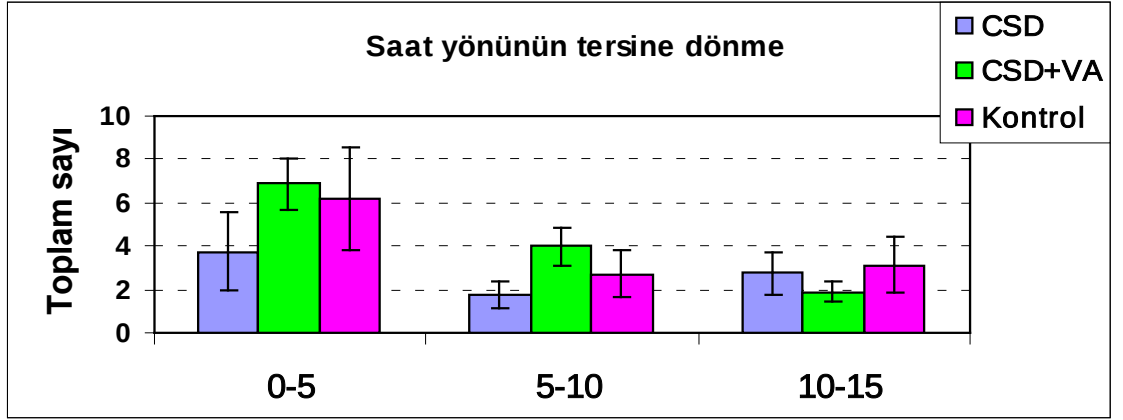


Şekil 12: Gruplar arasında baş silkinme sayısında istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken, valproik asit verilen gruplarda sayı olarak artış gözlemlendi.

1. *CW* ve *CCW* (saat yönüne ve saat yönünün tersine dönme): CSD grubunda diğer gruplara göre saat yönü (CSD: $2,7 \pm 1,8$ CSD+VA: $6,1 \pm 1$ Kontrol: 5 ± 2) ve tersine dönme (CSD: $4,4 \pm 2$ CSD+VA: $6,4 \pm 1,2$ Kontrol: $6,1 \pm 2,3$) sayılarında artış saptanmadı Şekil (13-14).

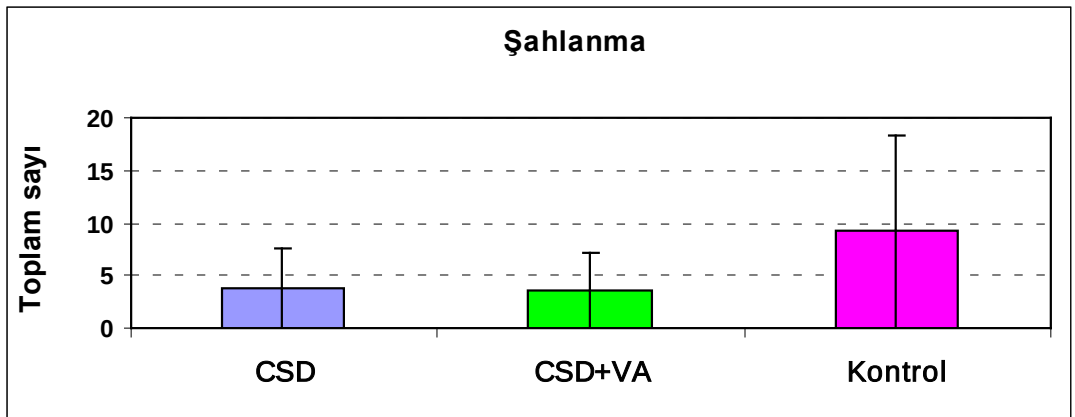


Şekil 13: Gruplar arasında saat yönüne dönme hareketi istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.



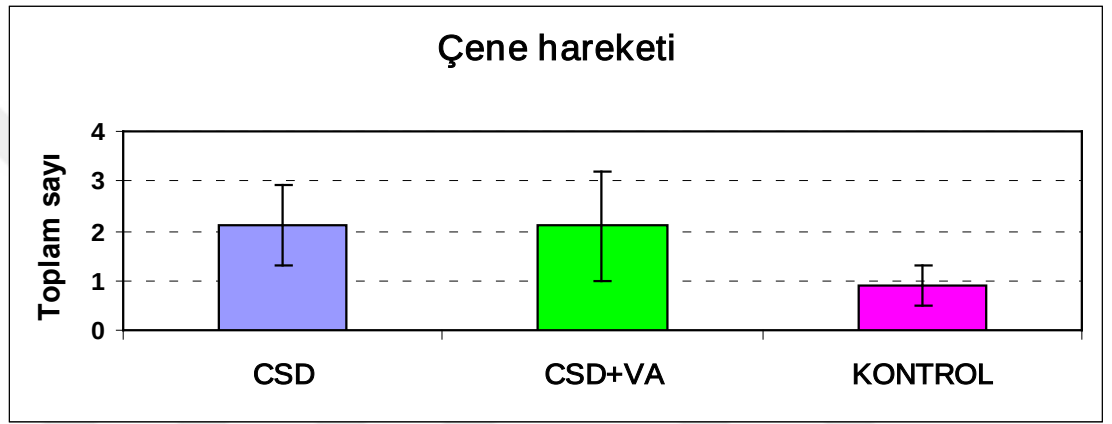
Şekil 14: Gruplar arasında saat yönünün tersine dönme hareketi istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

i. *Şahlanma*: Şahlanma, sıçanların ön pençelerini kaldırıp arka bacakları üzerinde durdukları pozisyonudur. Çevreyi araştırmanın belirtisi olarak kabul edilir. Kontrol $26,4 \pm 9,2$ ve CSD + valproik asit grubunda ($29,1 \pm 3,6$), CSD grubuna ($19 \pm 3,9$) göre şahlanma sayısı daha fazla gözlemlendi, ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Şekil15).



Şekil 15: Gruplar arasında şahlanma sayısı istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

g. *Çene hareketi*: Çenede titreme hareketi olarak değerlendirildi. CSD ($2,1 \pm 0,9$) ve CSD + valproik asit grubunda ($2,1 \pm 1,10$), kontrol grubuna ($0,9 \pm 0,5$) göre çene hareketi sayısında kısmen artış gözlemlendi, ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Şekil 16).



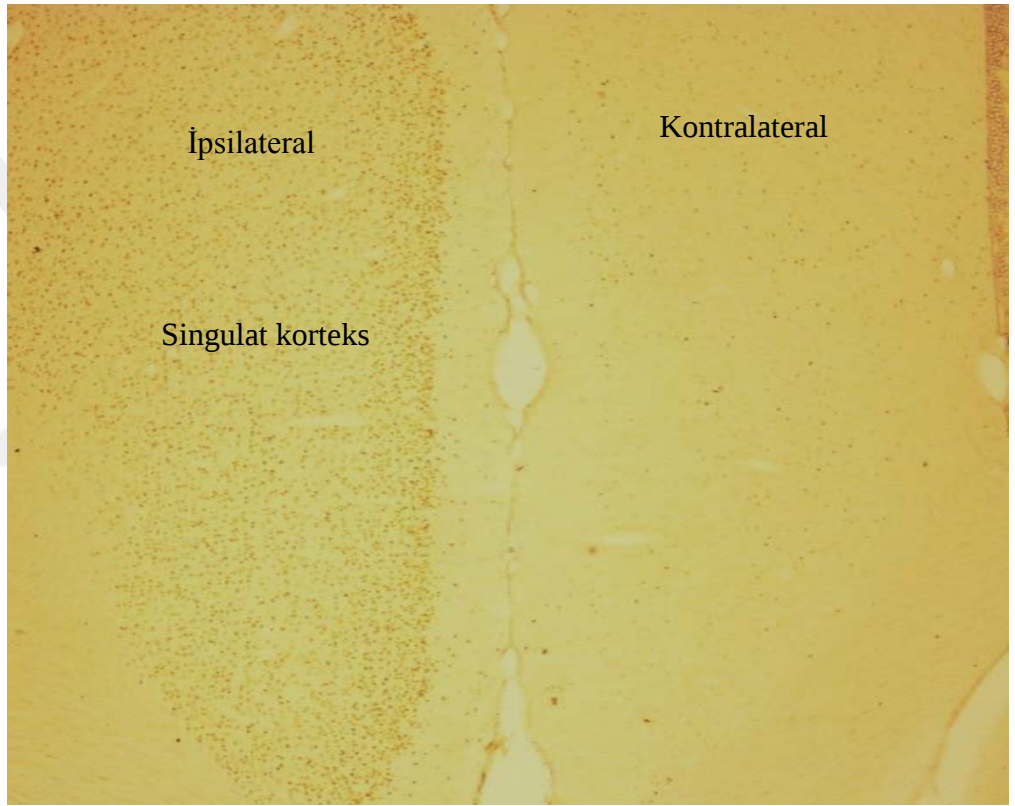
Şekil 17: Gruplar arasında çene hareketi sayısı istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken, CSD ve CSD+VPA gruplarında sayıca artış gözlemlendi.

V C) Ağrı Sesi: Spontan aktivite gözlemi sırasında ağrı sesi saptanmadı.

V D) Beyin ve beyin sapı kesitlerinde C-fos immünoreaktivitesi

Tüm gruplarda CSD olan tarafta serebral kortekste yoğun ve yaygın c-fos ekspresyonu tanımlandığı üzere saptandı. Sıçanların uyanık ve serbest hareket etmesine bağlı olarak CSD olmayan kontralateral serebral kortekste de yamasal tarzda c-fos ekspresyonu gözlemlendi ancak hiçbir zaman ipsilateral korteksle kıyaslanabilecek bir dağılım ve yoğunlukta değildi. Kontrol grubunda serebral kortekste CSD için karakteristik olan c-fos ekspresyonu bulunmadı.. Ayrıca CSD

grubunda, CSD olan hemisferde talamusun retiküler çekirdeğinde ve TNC’de anlamlı olarak kontrlateral tarafa göre belirgin farklılık bulundu, valproik asit grubunda ipsilateral retiküler çekirdekte c-fos aktivasyonu saptanmazken, ipsilateral TNC’de de c-fos aktivasyonunda azalma saptandı. (Şekil 18) (Tablo 1).



Şekil 18: CSD’nin etkilediği ipsilateral hemisferde tüm korteks tabakalarında tipik olarak gözlenen yaygın ve yoğun nöronal c-fos ekspresyonu görülmektedir (x40).

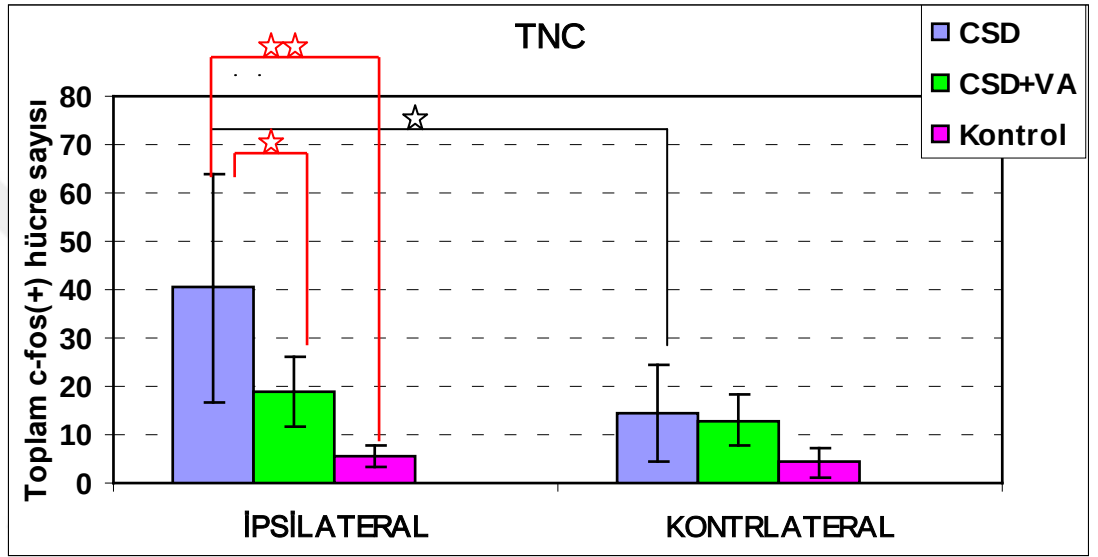
Tablo 1: İmmünohistokimyasal kesitlerin grup içi ve gruplar arası karşılaştırılması

=Grup içi,(karşı hemisfere göre) anlamlılık değeri *p<0,05 **p<0,01p<0,001**

#Gruplar arası anlamlılık değeri #p<0,05 ##p<0,01 ###p<0,001 (ORT±SE)

			CSD	CSD + VA	KONTROL
Cauda putamen		ipsilateral	*7,42± 3,7	*24,7± 7,2	#3,6 ± 1,07
		kontralateral	13,1± 4,8	15,14± 4	#3,6 ± 2,2
Amigdala		ipsilateral	*124,1± 25,37	*105± 23,9	#7,2± 1,7
		kontralateral	38± 3,21	28,7± 6,8	10,2± 4,2
Singulat korteks (Cg1)		ipsilateral	**483,6± 76,9	*449,6± 83	###13,8± 4,09
		kontralateral	60,4± 23	83± 20,7	11,2± 5,1
İnsular korteks(AID+AIV)		ipsilateral	**335,8±69,6	*180,6± 67	##9± 4,06
		kontralateral	19,9± 6,1	13,1± 4,1	6,2± 1,82
Clastrum		ipsilateral	**53±12,64	*65,6± 13,3	##5,6± 3
		kontralateral	11,1± 3,4	15,7± 3,1	2,8± 1,15
Talamus	VPL	ipsilateral	-	-	-
		kontralateral	-	-	-
	VPM	ipsilateral	-	-	-
		kontralateral	-	-	-
	RT	ipsilateral	*##68,4± 25,5	##0	##0
		kontralateral	1,6± 1,6	0	0
	CM		-	-	-
	CL	ipsilateral	13	-	-
		kontralateral	6		
	PO	ipsilateral	-	-	-
		kontralateral	-	-	-
	PC	ipsilateral	-	-	-
		kontralateral	-	-	-
	MHb	ipsilateral	20	-	-
		kontralateral	10	-	-
	PVP		#35,2± 7,7	#32,3± 6,2	14,8± 2,3
	LPMR LDDM LDVL	ipsilateral	-	65	-
		kontralateral	-	-	-
TNC	L1-2	ipsilateral	**40,4±23,7	**18,9±7	##5,7±2,1
		kontralateral	14,5±10	13±5,2	4,3±3,1

- a. **TNC:** CSD + valproik asit grubunda ($18,8 \pm 3,1$), CSD grubuna ($52,8 \pm 9,5$) göre c-fos aktivasyonu azalmış olarak bulundu (Şekil 19, 20) (Tablo 1).

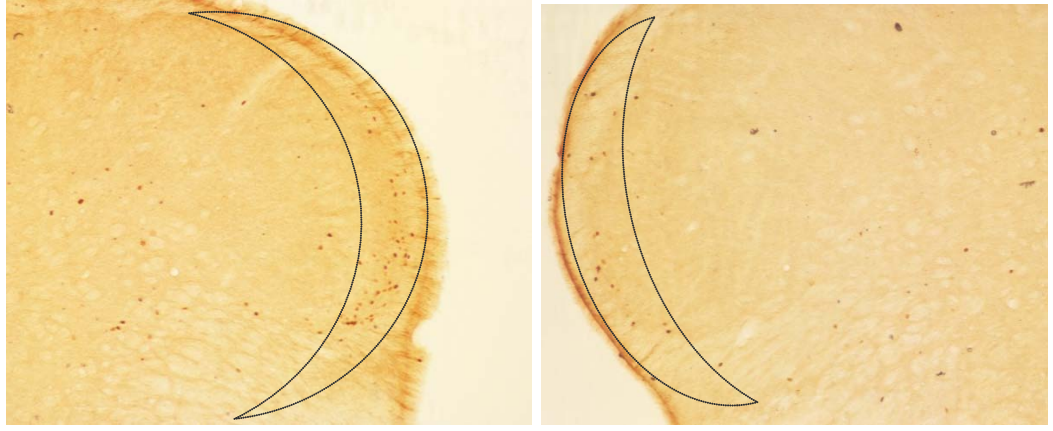


☆ $P < 0,05$ kontralateral ile karşılaştırma

☆☆ $P < 0,05$ CSD grubunu ipsilateral CSD + valproik asit grubu ile karşılaştırma

☆☆☆ $P < 0,001$ CSD grubunu ipsilateral kontrol grubu ile karşılaştırma

Şekil 19: TNC lamina I-II'deki c-fos(+) hücre sayımlarında CSD ve CSD+ VA gruplarında ipsilateral taraf kontralateral ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,05$). Yine CSD grubunun ipsilateral tarafı CSD+VA grubunun ipsilaterali ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,05$). İpsilateral CSD, ipsilateral kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak belirgin anlamlı bulundu ($p < 0,001$).

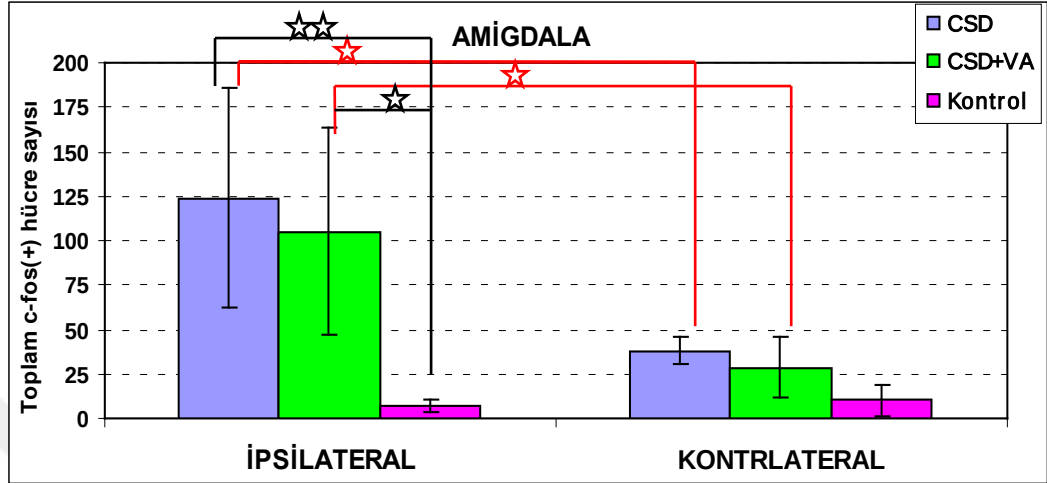


(a)

(b)

Şekil 20: (a) CSD grubunda obex -2.0-2.5 mm kesitinde c-fos pozitif nöronların lamina I ve II'de dağılımı işaretlenmiştir (x100). (b) CSD+ VA grubunda ise lamina I-II'deki kümelenmenin azaldığı görülmektedir.

b. Amigdala: CSD ve CSD + valproik asit grubunda ipsilateral c-fos pozitif hücre sayısı ortalaması kontrlateral tarafa ve ipsilateral kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunurken, her iki grup arasında amigdala da c-fos aktivasyonu açısından anlamlı farklılık saptanmadı (Şekil 21,22) (Tablo 1).

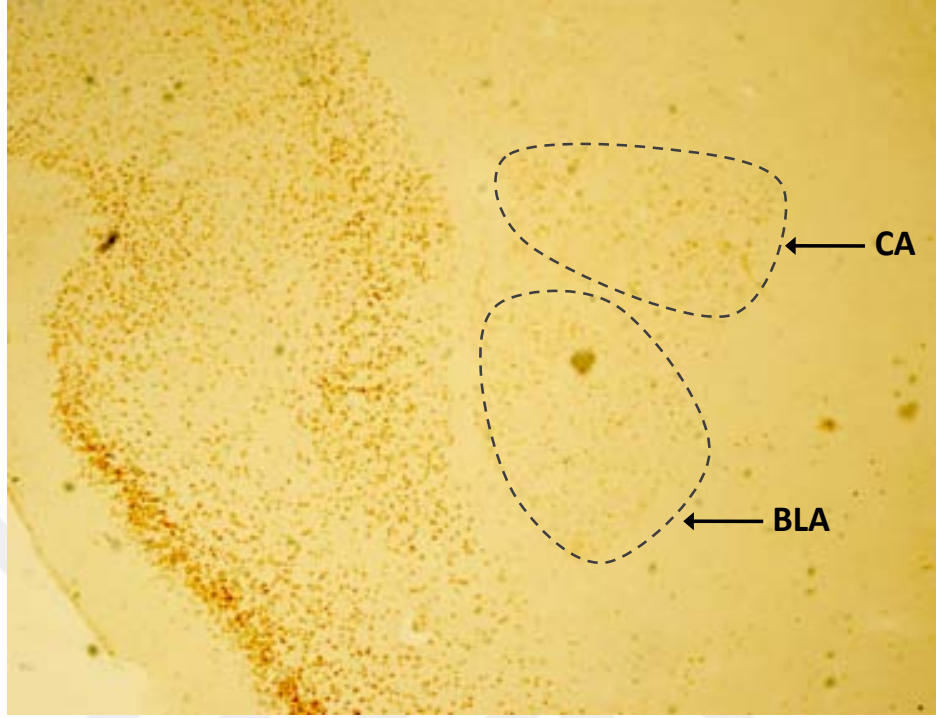


☆ $P < 0,05$ kontralateral ile karşılaştırma

☆ $P < 0,05$ CSD + VA grubunu ipsilateral kontrol grubu ile karşılaştırma

☆☆ $P < 0,01$ CSD grubunu ipsilateral kontrol grubu ile karşılaştırma

Şekil 21: Amigdalada c-fos(+) hücre sayımlarında CSD ve CSD+VA gruplarında ipsilateral c-fos(+) hücre ortalaması kontralaterale göre istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ($p < 0,05$), her iki grubun ipsilateral sayımları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Kontrol grubunun ipsilateral ile karşılaştırıldıklarında ise CSD grubu ile istatistiksel olarak belirgin anlamlı bulunurken ($p < 0,01$), VA ile de sayımlar anlamlı bulundu ($p < 0,05$).



Şekil 22: CSD ve CSD+ VA gruplarında ipsilateral amigdalada c-fos ekspresyonu ok ile işaretlenmiştir (bazolateral ve santral nukleus).

c. **C/P(Cauda putamen):** CSD ve CSD + valproik asit grubunda CSD olan tarafta, kontrlaterale göre ortalama c-fos pozitif hücre sayısı istatistiksel olarak anlamlı bulunurken, her iki grup arasında farklılık saptanmadı, ancak kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklı bulundular (Tablo 1).

d. Talamus ve çekirdekleri:

i. *VPM ve VPL (Ventroposteromedial, ventroposterolateral):*

CSD ve CSD + valproik asit gruplarında c-fos aktivasyonu saptanmadı.

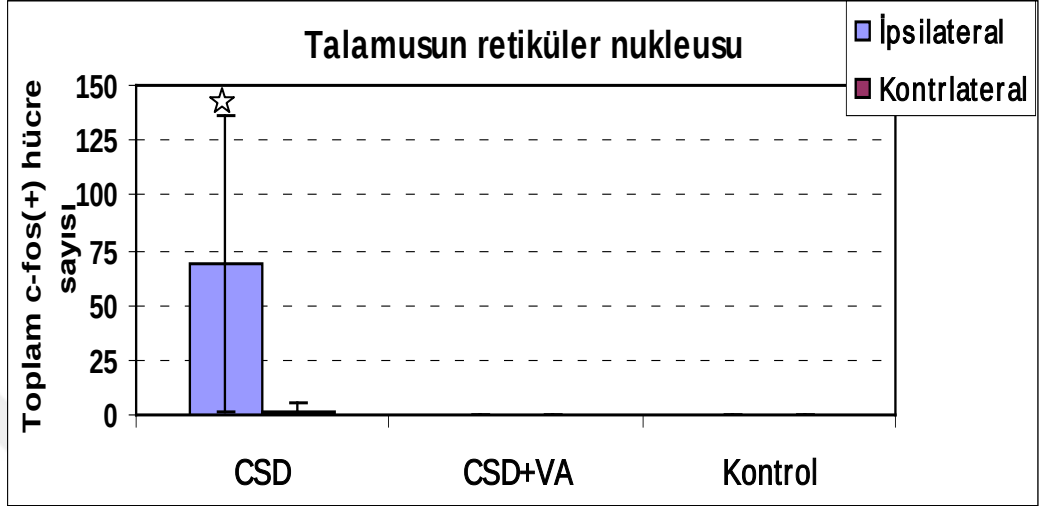
ii. *Paraventriküler, Sentral median, Sentral lateral*: CSD + valproik asit grubunda iki sıçanda sentral median nukleusta, CSD grubundan bir sıçanda da ipsilateral sentral lateral nukleusta c-fos aktivasyonu saptandı. Paraventriküler çekirdekte bütün gruplarda c-fos aktivasyonu izlenirken, CSD ve CSD + valproik asit gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır (Tablo 1).

iii. *Mediodorsal talamik nukleus*: CSD grubunda bir sıçanda ipsilateral c-fos aktivasyonu saptandı.

iv. *Lateral habenular nukleus (lateral ve medial parçaları)*: CSD grubundan iki sıçanda ipsilateral lateral habenular çekirdeğin medial ve lateral parçalarında c-fos aktivasyonu saptandı.

v. *Reineus ve Rhomboid*: CSD + valproik asit grubundan bir sıçanda reineus çekirdeğinde, diğer bir sıçanda ise rhomboid çekirdekte c-fos aktivasyonu saptandı.

vi. *TRN (Talamusun retiküler nukleusu)*: CSD grubunda ipsilateral c-fos aktivasyonu saptanırken, CSD + valproik asit grubunda valproik asit tarafından bu aktivasyonun engellendiği bulundu (Şekil 23, 24) (Tablo 1). TRN'nin özellikle rostroventral 1/3'ünü oluşturan görsel kısmında aktivasyon saptanırken, somatosensoryal ve işitsel kısımlarında aktivasyon saptanmadı.

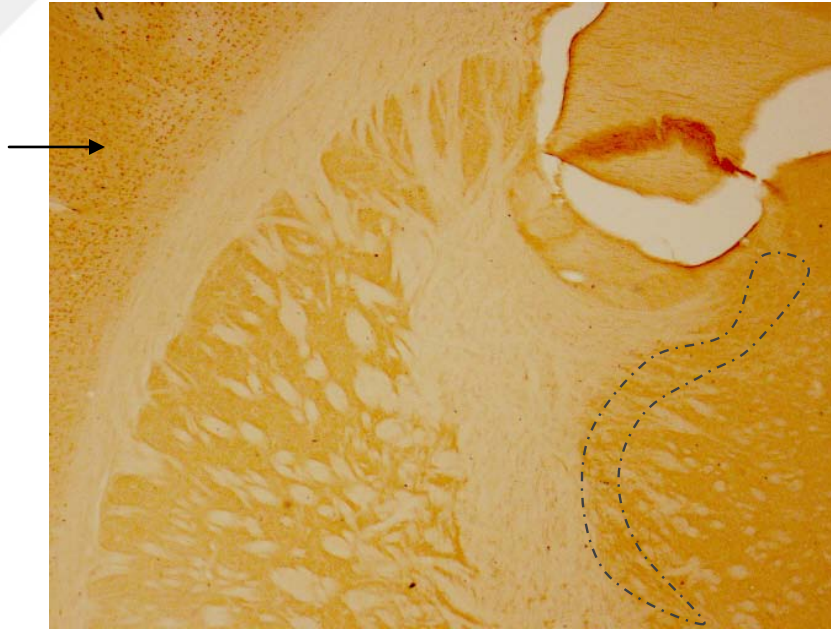


☆ $P < 0,01$ kontrol grubu ve valproik asit ile karşılaştırma

Şekil 23: Talamik retiküler nukleustaki c-fos(+) hücre sayımlarında CSD grubunda ipsilateral aktivasyon saptanırken, valproik asit ile bu aktivasyonun engellendiği gözlemlendi ($p < 0,01$).



(a)



(b)

Şekil 24: (a) CSD grubunda ipsilateral talamusun retiküler çekirdeğinde c-fos ekspresyonu işaretli alanda gösterilmiştir. CSD olan korteks ince okla işaretlenmiştir. (b) CSD + valproik asit grubunda valproik asitin eklenmesiyle retiküler çekirdekteki c-fos ekspresyonunun izlenmediği işaretli alanda gösterilmiştir. CSD olan korteks ince okla işaretlenmiştir.

e. İnsula, Klastrum ve singulat : CSD ve CSD + valproik asit grubunda ipsilateral klastrum, insula ve singulatta kontrlaterale göre istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde c-fos aktivasyonu saptandı, ancak her iki grup arasında bu alanlarda istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde farklılık saptanmadı (Tablo 1).

f. Hipokampus: CSD gruplarının hiçbirinde c-fos ekspresyonu saptanmadı.

g. Hipotalamus: CSD ve CSD + valproik asit gruplarındaki tüm sıçanlarda magnosellüler alanda bilateral c-fos ekspresyonu saptanırken parvosellüler alanlarda saptanmadı.

CSD migren patofizyolojisinde önemli rol oynamaktadır. CSD'nin uyanık ve serbest dolaşan sıçanlarda davranışa etkisi incelendiğinde donma davranışı ve immobilityyi arttırdığı, buna paralel olarak lokomotor aktiviteyi azalttığı, TNC'de ağrı nükleusunda c-fos aktivasyonuna yol açtığı görülmüştür. CSD kortikal bölgedeki yaygın ve yoğun c-fos aktivasyonu ile birlikte talamusun retiküler çekirdeğinde de anlamlı olarak c-fos aktivasyonuna neden olmuştur. Valproik asit ise CSD'yi etkilememiş, ağrı ile ilişkili ikincil kortikal bölgelere istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi olmamıştır. Ancak TNC ve TRN'deki c-fos aktivasyonunu anlamlı olarak geri çevirirken, amigdala aktivasyonu üzerine anlamlı bir fark görülmemiştir. Bu etkiler davranışa da yansımış; valproik asit istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde donmayı azaltıp, lokomotor aktivite süresini arttırırken, HS (baş silkinmesi) sayısında, yemek yeme, su içme ve temizlenme sürelerinde artış yapmıştır.

VI- TARTIŞMA

Sunulan çalışmada dolaşan, serbest hareket eden sıçanlarda aurayı oluşturan CSD'nin spontan davranışlar üzerine olan etkisi ve valproik asitin bu davranış değişikliklerine olan rolü araştırılmıştır. Yapılan çalışmada nonselektif depolarizan olarak CSD'yi tetikleyen güçlü bir kimyasal ajan olan potasyum ile CSD oluşturulduktan sonra ortaya çıkan davranış değişiklikleri ilk yarım saat süreyle otomatik davranış analiz sistemi, video ve ultrasonik vokalizasyon kaydı yapılarak incelenmiştir. Oluşturulan CSD dalgaları; ECoG değişikliği ve ipsilateral kortikal c-fos aktivasyonu ile doğrulanmıştır. CSD istatistiksel anlamlı olarak immobilité ve donma davranış süresini arttırmıştır. Ancak CSD ile yeme, içme, temizlenme, şahlanma, çene hareketi, WDS, HS ve ağrı sesi arasında ilişki bulunmamıştır. Valproik asit ise CSD'ye bağlı uzayan donma süresini azaltıp, azalan lokomotor aktiviteyi arttırmıştır, HS sayısında, temizlenme, yemek yeme ve su içme sürelerinde istatistiksel olmasa da diğer gruplara göre artışa neden olmuştur. CSD kortikal bölgedeki yaygın ve yoğun c-fos aktivasyonu ile birlikte, TNC'nin ağrı nükleusunda ve talamusun retiküler çekirdeğinde anlamlı olarak c-fos aktivasyonuna yol açtığı görülmüştür. Valproik asit ile CSD'nin değişmediği, TNC'de ağrı nükleuslarında c-fos ekspresyonunun azaldığı, talamusun retiküler çekirdeğinde c-fos ekspresyonunun engellendiği saptanmıştır.

Deneylerde CSD tarafından indüklenen donma davranışı farklı mekanizmalarla ortaya çıkabilir. Bu mekanizmalar aşağıda sıralanmıştır : 1) CSD sırasında bir hemisfere ait duyu ve motor işlev bozukluğu 2) CSD'nin yol açtığı

migren benzeri zonklayıcı baş ağrısı, 3)Anksiyete ve korku 4) CSD'nin kaudaputaminal bölgeye yayılımı ve katalepsi benzeri durum 5) Epileptik nöbet. Birinci olasılık valproik asitin CSD'yi engellememesine rağmen donma süresini anlamlı olarak kısaltması nedeniyle dışlanmıştır. CSD'nin ağrıya neden olduğu gösterilmiştir, zonklayıcı ağrı sırasında hareket azalması buna işaret edebilir, TNC'de ağrının azalması ve valproik asitin donmayı da azaltması bu durumu destekleyebilir. İlave olarak, immobilitenin CSD sonrası artmış olması ve lokomotor aktivitenin de azalması muhtemel ağrı duyumsaması ve buna ikincil hareketin kısıtlandığına işaret etmektedir. Alternatif bir açıklama olarak donmanın bazal ganglia tutulumu ile ilişkili olduğu yönündedir. CSD invazyonunun kortekste sinaptik aktiviteyi sonlandırdığı, bunun da fonksiyonel olarak kauda putamene glutamaterjik projeksiyonları engelleyebileceği belirtilirken, kauda putamende dopamin salınımını inhibe ettiği gösterilmiştir (74). Donma davranışı bazal ganglia hastalıklarında da görülebilir. Sıçanda CSD' nin kullanılan anestezi, ırk gibi faktörlere bağlı olarak striatumu işgal ettiği gösterilmiştir. Yapılan çalışmada sıçanlarda kas tonusunun değişmemesi, herhangi bir dış uyaranla donmanın çözülmesi kateleptik donmayı düşündürmemektedir (75). Donma atakları sırasındaki davranış absans nöbetiyle benzerlik göstermekle birlikte ECoG ile yapılan kayıtlarda absans nöbeti için spesifik olan 7-11 Hz diken dalga deşarjları izlenmeyişi ve dış uyaranla (ses, ışık, dokunma) donmanın engellenmesi ile absans nöbeti dışlandı. Donma CSD ile trigeminovasküler sistemin aktivasyonuna bağlı ağrı duyusunu gösterebilir. Migren hastalarında baş ağrısı sırasında, perivasküler trigeminal sinir sonlanmalarının duyarlılaşması

zonklayıcı başağrısına neden olur ve zonklayıcı ağrı günlük başçevirme gibi hareketlerle şiddetlendiği için hastalar hareket etmek istemez. Aynı nedenle sıçanlarda CSD ile gözlenen donma ve artmış immobilizasyon, hayvanın baş ve vücut hareketlerini kısıtlamak için kullandığı bir mekanizmayı yansıtır olabilir. Valproik asit ile donma süresinin azalması lokomasyonun artması TNC’de ağrı nukleusunda c-fos pozitif hücre sayısında azalmanın olması, ağrı duyusuna bağlı donmanın gelişebileceğini destekleyebilir.

Bu çalışmada immobilité uyku ve donma sürelerinin toplamı olarak değerlendirilmiştir. Donma davranışına benzer şekilde immobilité süresi CSD olan grupta diğer gruplara göre istatistiksel olarak daha uzun bulunmuştur.

Grooming (temizlenme) davranışı genel olarak anksiyete ve ağrı davranışının göstergesi olarak kabul edilmektedir. Temizlenme çeşitli stresörlerle ilgili olup strese karşı adaptasyonda önemli rol almaktadır. Ancak bu çalışmada donmaya paralel olarak groomingin CSD grubunda diğer gruplara göre göreceli azaldığı, valproik asit ile azalmış yanıtın artış gösterdiği izlenirken, sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Artmış donma ve immobilité nedeniyle grooming davranışının da baskılanmış olması büyük olasıdır. CSD olmaksızın valproik asit verilen grupta da temizlenme davranışının artmış olması ilacın bir etkisi olduğunu düşündürmektedir. Donma ve grooming CSD grubunda ters orantılı görülmüştür.

Çalışmamızda valproik asit ile diğer gruplara göre HS sayısında artış saptanmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. WDS sayısı ise kontrol ve CSD + valproik asit grubunda istatistiksel olarak anlamlı olmasa da diğer

gruplara göre artış gösterdi. WDS'in nörofarmakolojisi net olmayıp, yapılan çalışmalarda santral 5 hidroksitriptaminerjik mekanizmaların özellikle 5-HT_{2C} reseptörlerinin olası rol aldığı ileri sürülmektedir (76). Yapılan bir çalışmada sıçanlara periferik dekarboksilaz inhibitörü (25 mg/kg, i.p) verildikten yarım saat sonra 5 hidroksitriptofan (5-HTP) (25-150 mg/kg, s.c.) verilip, 15 dakika sonra WDS'in başladığı 2 saat içinde artış gösterdiği izlenirken, 5-HT antagonisti olan metiserjid (5 mg/kg) ve siproheptadin (10 mg/kg) verildiğinde WDS'in engellendiği gözlenmiştir, 5-HT agonistleri (lysergic acid diethylamide (0.1 and 0.2 mg/kg), 5-methoxy-N,N-dimethyltryptamine (0.5-1 mg/kg) and quipazine (1.5-10 mg/kg)) verildiğinde de WDS sayısında artış saptanmıştır (77). Valproik asitin GABA_Aerjik ve 5-hidroksitriptaminerjik sistem aracılığıyla sıçanlarda WDS'e neden olabileceği belirtilmekte olup, sıçan beyinde 5-HT düzeylerini arttırdığı gösterilmiştir. VA'nın 5-HT sentez ve salınımını arttırarak WDS'yi arttırabileceği iddia edilmektedir (78,79). Yapılan bir çalışmada ratlara bir gün ve bir ay boyunca günlük tek doz (300 mg/kg) valproik asit verildiğinde WDS sayısında benzer sayıda artış saptanırken, 5-HT antagonistleriyle bu cevabın azaldığı gözlenmiştir (80). HS'in de benzer şekilde 5-HT reseptörleri aracılığıyla özellikle 5-HT_{2A} reseptörleri aracılığıyla artış gösterdiği, 5-HT reseptör antagonistleriyle azaldığı gösterilmiştir. Valproik asidin WDS ve HS'i serotonerjik sistem aracılığıyla arttırabileceği belirtilmektedir. Valproik asit aracılı HS'in GABA_A reseptör antagonisti ile inhibe edilmesi GABA_Aerjik mekanizmaların da bu davranışta rol alabileceğini düşündürmektedir (81).

Bu çalışmada CSD + valproik asit ve valproik asit grubunda CSD grubuna göre yemek yeme ve su içme süresi daha fazla gözlenirken, istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. CSD grubunda yeme ve içme süresinde artışın olmaması donma süresinin fazlalığına ikincil olarak düşünülürken, valproik asit alan gruplarda yemek yeme ve su içme sürelerindeki artışın ilacın etkisine bağlı olabileceği düşünülmüştür. Frontal korteks ile lateral hipotalamus arasındaki bağlantı anatomik ve elektrofizyolojik olarak gösterilmiştir (82,83). Frontal korteksin 10. alanı lateral hipotalamusun dorsal yarısına eksitator ve inhibitör lifler göndermektedir. Frontal korteksin elektriksel uyarımı lateral hipotalamusu doğrudan uyararak yemek yemeyi arttırmaktadır (84). Bures ve arkadaşlarının belirttiğine göre CSD frontal kortekse doğru yayıldığında, lateral hipotalamusun kısa süreli hiperaktivitesini takiben ipsilateral lateral hipotalamus baskılanmaktadır. Lateral hipotalamustaki bu değişiklikler CSD'nin yalnızca kortiko-hipotalamik etkisine bağlanmamakta, aynı zamanda talamus ve retiküler formasyondaki sekonder değişikliklerin de üçüncül bir etkisi olabileceği ileri sürülmektedir (85,86). Yapılan bir çalışmada sıçanların ilk yemek yeme veya su içmeye başlamaları CSD dalgaları frontal kortekse yayıldığında gözlenmiştir. Alternatif olarak yemek yeme ve su içmenin CSD'nin frontal kortekse yayılımı ile birlikte entorhinal korteks, amigdala veya n.accumbensi etkilemesi sonucu da olabileceği belirtilmektedir (87).

Şahlanma davranışı anksiyetenin davranış göstergelerinden biri olup, bu çalışmada CSD grubunda şahlanma sayının az olması artmış immobilité ve donma davranışı süresi ile açıklanabilir. Literatürde limbik sistem içinde yer alan

septum, rearing(şahlanma) davranışında önemli bir yapı olup yapılan çalışmalarda lezyonlarında rearing davranışının azaldığı gözlenmiştir. Yine yapılan çalışmalarda septal lezyonların özellikle posterior kısmının anksiyolitik benzeri etki gösterdiği gösterilmiştir (88). Dolayısıyla bu çalışmada CSD'ye bağlı olarak bu bölgenin de direkt veya indirekt olarak baskılanmasında şahlanmada azalmaya yol açabilir .

Bu çalışmada CSD ve CSD + valproik asit gruplarında ortalama olarak benzer sayıda çene hareketi gözlemlendi. Amigdalanın santral nukleusunun beyin sapında trigeminal nukleusa yoğun efferentler gönderdiği, trigeminal sinirin duyu ve motor nöronlarının aktivasyonunu modüle edebileceği, çene hareketlerinin kontrolünde rol alabileceği belirtilmektedir (89). Trigeminal motor nukleusun motor ve premotor nöronları çiğneme refleksi ve çene hareketlerinin kontrolünde görev almaktadır. Yapılmış fizyolojik çalışmalarda amigdalanın santral nukleusunun trigeminal motor nöron aktivitesini direkt etkilemesi, amigdalanın santral nukleusa elektriksel uyarı verilerek sıçanlarda ritmik çene hareketleri gözlenmesiyle gösterilmiştir (90). Ayrıca bazal amigdala uzun süreli uyarıldığında çiğneme refleksinin inhibisyonunda gecikme gözlenmiştir (91). Bu çalışmada da CSD'nin olduğu ilk 10 dakika süresince donma hareketiyle beraber çenede titreme hareketi gözlemlendi, bu durum CSD sırasında amigdalanın uyarılması sonucu TNC'yi direkt etkilemesi sonucu olabilir şeklinde yorumlandı.

CSD dalgalarının tek hemisfer boyunca yayılımı geçici duyu ve motor disfonksiyona neden olmaktadır. Bu çalışmada da 4 sıçanda hemiparezi gözlemlendi. Özellikle hemiparezi oluşan sıçanlarda kontralateral tarafa doğru dönme sayısında

artış beklenirken bu çalışmada gruplar arası farklılık saptanmadı. Özellikle başın rotasyonunda talamusun anterior kısmında yer alan başın yön hücreleri dönme hareketini belirleyen hücreler olup çevresindeki saat yönü ve saat yönünün tersine dönme hareketi yapan eksitatör internöronlarla uyarılmaktadır. Sıçan dönmediğinde saat yönü ve tersindeki hücreler eşit uyarılmakta, başın yönü fıkse edilerek sabit kalmaktadır. Başını saat yönüne çevirdiğinde, saat yönüne çevirmeyi sağlayan hücreler daha fazla uyarılıp, ters yöne dönüşü sağlayan hücreler daha az uyarılmaktadır. Dolayısıyla dönüş hareketlerinde talamusun rolü olabileceği gibi nigro-striatal sistemin unilateral lezyonlarında da beynin her iki kısmında striatal dopamin eşitsizliğine bağlı olarak rotasyonel hareketler gelişmektedir. Substantia nigra veya striatumda unilateral lezyon olduğunda ipsilateral dönme ve rotasyon hareketi oluşmaktadır. Çalışmamızda da CSD ve CSD + valproik asit gruplarında ipsilateral putamende c-fos ekspresyonu kontrlaterale göre istatistiksel olarak anlamlı saptanmasına rağmen dönme hareketlerinde kontrol grubuna göre farklılık saptanmadı.

CSD'nin başağrısı oluşturabildiği trigeminal sinirin beyin sapındaki ağrı çekirdekleri incelenerek gösterilmiştir (6,92). C-fos güvenilir ve nöronal aktivitenin göstergesidir. TNC'de lamina I ve II nosiseptif uyarının göstergesi olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmada CSD grubunda TNC'de ipsilateral lamina I ve II'de c-fos aktivitesinde belirgin artış görülmüştür. KCI⁺ veya iğne uygulanan sıçanlarda tekrarlayan CSD dalgalarının ipsilateral TNC'de c-fos ekspresyonuna neden olduğu gösterilmiştir (6,46). CSD'yi takiben TNC aktivasyonu, CSD sırasında ortama salınan nosiseptif ve vazoaktif moleküllerin meningeal damarları

saran trigeminal sinir uçlarını uyarması sonucu ortaya çıkmaktadır (6). Bir çalışmada KCl^{+} aracılı CSD indüksiyonu sonrası TNC'nin lamina I ve II'sinde c-fos boyanmasında artış saptanarak TNC'nin ventrolateral bölümünün (lamina I-II) boyanmasının oftalmik kısmından gelen girdiler ile uyumlu olduğu belirtilmiştir (6,46). Bu çalışmada CSD grubunda, diğer gruplardan belirgin farklılık gösteren TNC'de c-fos ekspresyonu saptanmıştır. CSD'nin yol açtığı artmış c-fos aktivasyonunun valproik asit verilmesiyle istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı bulunmuştur. Valproik asit CSD'yi etkilemeyerek TNC'deki ağrı çekirdeğinin aktivasyonuna engel olmuştur. Bu bulgu valproatın akut etkili olabileceğine dair ilk deneysel kanıtı oluşturmaktadır. Klinikte ağrının akut tedavisinde (900-1200mg iv) kullanılmakla beraber bunun deneysel bir temeli bulunmamaktaydı. CSD'nin ipsilateral hemisferdeki serebral kortikal yapıları yoğun biçimde kuşatması nedeniyle ikincil ağrı merkezleri olan insüla ve singulat gibi yapıların c-fos aktivasyonu ve valproatın bunlar üzerindeki etkisi değerlendirilememiştir.

CSD'nin kortikal ve subkortikal yapıları etkilemesine bağlı yapılan bir çalışmada anestezi altında KCl^{+} uygulanan sıçanların en az yarısında ipsilateral hipokampusta, talamusun VPM ve VPL gibi üçüncü sıra nöronların yer almadığı daha küçük çekirdeklerinde (paraventriküler, mediodorsal, intermediodorsal, sentromedian), hipotalamusta c-fos aktivasyonu saptanmıştır (46). Bizim çalışmamızda da CSD ve CSD + valproik asit grubundan toplam altı sıçanda subkortikal yapılardan talamusun midline ve intralaminar çekirdeklerinde c-fos aktivasyonu saptanırken talamusun paravenriküler çekirdeğinin aktivasyonu tüm sıçanlarda saptanmıştır. Hipokampus aktivasyonu hiçbir sıçanda gözlenmemiştir.

Benzer subkortikal yapıların sıçanlarda CSD sonrasında aktive olduğu bildirilmiştir. Ancak bu çalışmalarda pentobarbital, uretan gibi anesteziklerle anestezi altında CSD yapılmış olduğu için arada farklar olması beklenebilir. Uyanık hayvanda amigdala ve TRN’de c-fos ekspresyonu ilk kez bu çalışmada gösterilmiştir.

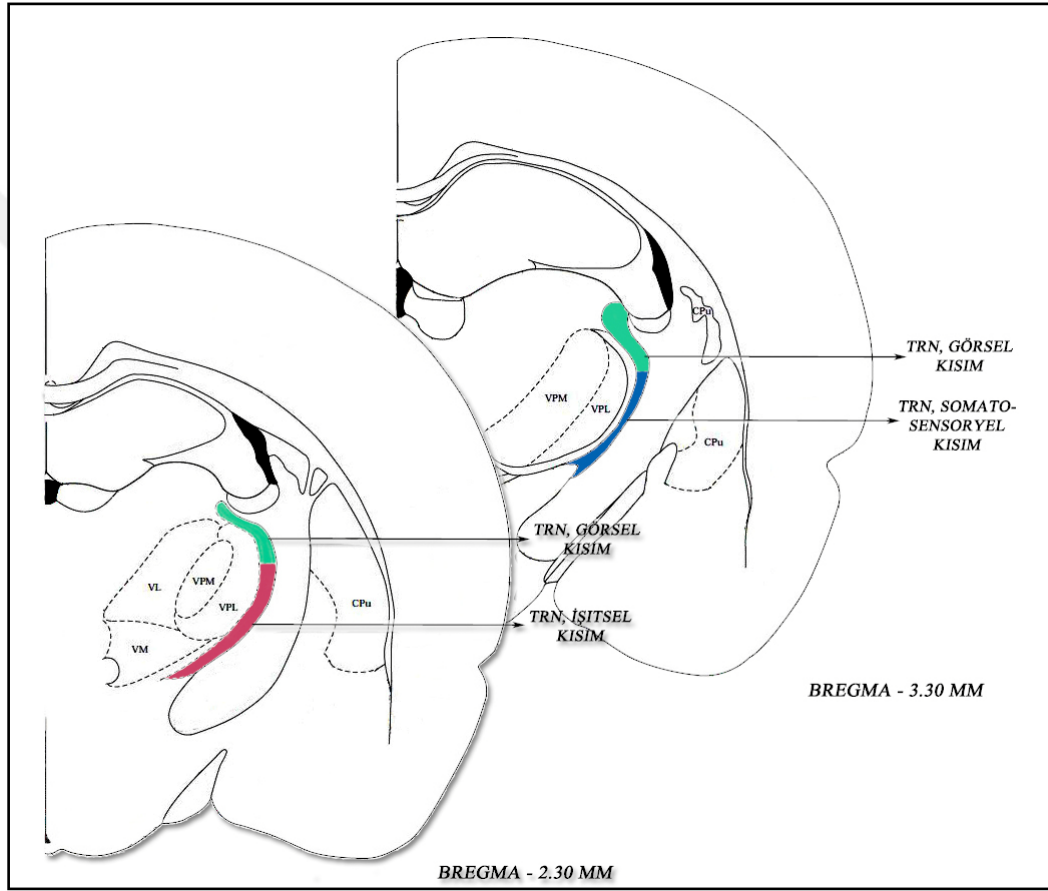
Talamusun paraventriküler nukleusunun otonomik fonksiyonun regulasyonunda, özellikle strese karşı visseral yanıtta (93), psikoaktif ilaçlara verilen davranış yanıtlarında, sirkadien zamanlama sisteminde (94,95) rol aldığı belirtilmektedir. Çeşitli ağırlı veya stres yapan uyaranlarla ve psikoaktif ilaç verilmesiyle paraventriküler nukleusta c-fos aktivasyonu olduğu saptanmıştır. Bizim çalışmamızda da dört grupta c-fos aktivasyonu bilateral gözlenirken CSD ve CSD + valproik asit gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır. Talamusun midline (paraventriküler, intermediodorsal, mediodorsal, rhomboid, reuniens ve submedius) ve intralaminar (sentral lateral, sentral medial, paracentral) nukleusları ağırlı somatik ve visseral uyarıya cevapta rol almaktadırlar (96). Özellikle mediodorsal nukleus olmak üzere talamusun midline çekirdekleri öğrenme, hafıza ve emosyonel durum gibi çeşitli yüksek beyin fonksiyonlarında rol almakta olup; prefrontal korteks, singulat, orbital korteks ve temporal loba topografik ve resiprokal bağlantıları bulunmaktadır. Ayrıca striatum, amigdala, beyin sapından projeksiyonlar almaktadırlar (97). İntralaminar çekirdekler ise retiküler formasyondan, bazal gangliadan, major afferent yollardan kollateral alırlar, tüm serebral kortekse çıktı gönderirler, bu çekirdekler retiküler aktive edici ve motor kontrol sisteminde talamik düzeyde

çeşitli duyu tiplerini (spesifik, non-spesifik ağrı, sıcaklık, dokunma, basınç, titreşim ve işitsel) algılamada önemi rol alırlar. Bizim çalışmamızda da CSD grubundan bir sıçanda medial dorsal nukleusta, bir sıçanda sentral lateral nukleusta, CSD + valproik asit grubundan ise iki sıçanda sentral medial nukleusta, bir sıçanda reineus, bir sıçanda da rhomboid nukleusta c-fos aktivasyonu saptanmıştır.

Hipotalamik nöronların termoreseptör, osmoreseptör veya kemoreseptör fonksiyonlarının olması nedeniyle çeşitli stimulus tarafından nonspesifik uyarılmaktadırlar. Paraventriküler nukleus (PVN) stres yanıtında anahtar bir role sahip olup, nöbet durumunda magnosellüler ve parvosellüler alanları aktive olurken, çeşitli stresörler sonucu özellikle parvosellüler parçasında c-fos boyanması belirgin olmaktadır (98). CSD’de ise magnosellüler parçasında c-fos aktivasyonunda artış gözlenirken, parvosellüler parçasında azalma görülmektedir. CSD sırasında parvosellüler alanda aktivasyonun olmayıp nöbet durumunda olmasının farklı bir mekanizmaya bağlı olabileceği belirtilmektedir. Yine CSD süresince PVN’nin magnosellüler parçasının aktivasyon mekanizması bilinmemektedir. Bizim çalışmamızda da CSD oluşan sıçanlarda PVN’nin magnosellüler parçasında belirgin c-fos aktivasyonu saptanırken, parvosellüler parçasında azalmış c-fos aktivasyonu saptanmıştır.

TRN’nin uyanık kemirgende CSD tarafından aktive olduğu, bu aktivasyonun tek taraflı ve CSD ile aynı taraflı olduğu ilk kez bu çalışma ile gösterilmiştir. Ayrıca valproik asidin TRN üzerine belirgin azaltıcı etkisi de etkisi ilk kez bu çalışmada bulunmuştur. Talamusun retiküler nukleusu korteks ile

talamus arasında yer alır. TRN talamus ve korteksten kollateraller alır, talamusa organize projeksiyonlar gönderir. İşitsel, görsel ve somatosensoryal olmak üzere üç bölümden oluşur (99)(Şekil 25).



TRN'ye girişler eksitörken, talamusun düzenleyici hücrelerine TRN tarafından inhibitör çıktılar gönderilir, görsel aktivitenin erken işleme sürecinin düzenlenmesinde ideal bir organizasyon sağladığı belirtilen TRN nöronlarının GABA'erjik özellik gösterdiği belirtilmektedir. Bizim çalışmamızda da c-fos aktivasyonunun özellikle görsel uyarıların yerleştiği bölgede ve bu bölgenin rostroventral 1/3 kısmında olduğunun ortaya çıktığı bulunmuştur. Valproatın ise TRN'nin visüel bölümünde ortaya çıkan c-fos ekspresyonunu engellediği

gözlenmiştir. Talamik patlama ve tonik ateşleme paterni birçok davranış durumunda önemlidir. Talamik ateşleme paterni nosisepsiyon ile yüksek korelasyon göstermektedir (100). Talamik patlayıcı ateşleme ağrı fonksiyonunda önemli olabilir. Talamik patlayıcı ateşlemesinde T tipi Ca^{++} kanalları kritik öneme sahiptir. T tipi Ca^{++} kanalları geçici depolarizasyon aracılığıyla hiperpolarizasyonu aktive etmektedir. Ca^{++} 'un içeri akışıyla yüksek sıklıkta çoklu Na^+ dikenleri oluşarak patlayıcı ateşleme paterni oluşur. Üç tip T tipi Ca^{++} kanalı vardır: Cav3.1, Cav3.2 ve Cav3.3. Bu kanallardan Cav3.1, Cav3.2 hızlı aktive ve inaktive olur. Bu subtiplerin talamus çekirdeklerinde dağılımı spesifikdir. Cav3.1 yalnızca VP'de (ventroposterior) ekspresse olurken, Cav3.2 ve Cav3.3 RT'de (talamik retiküler) ekspresse olmaktadır (101). VP'nin talamokortikal nöronları RT nöronlarıyla topografik bağlantılı olarak inhibitör GABAerjik girdiler almaktadır (102). Periferik uyarıya bağlı talamik yanıtta VP, eksitator talamokortikal nöronları ve inhibitör RT nöronları arasında denge sağlamaktadır. RT ve VP'nin tüm nosiseptif yollarda önemli rolleri olduğu düşünülmektedir. Yeni çalışmalar ile T tipi Ca^{++} kanallarının spesifik subtiplerinin ağrı fonksiyonunda çeşitli etkileri gösterilmiştir. Cav3.1 KO farenin VP talamik nukleusuna T kanal blokörü verildiğinde termal, visseral ve ağırlı inflamatuvar uyarıya artmış cevap gösterilmiştir (103). Cav3.2 KO farede mekanik, termal, visseral ve inflamatuvar uyarıya azalmış cevap gözlenmiştir (104). RT kapısının zayıflaması ve VP ateşlemesinde artış sonucu talamusta nosiseptif nöronların oranında azalma Cav3.2 KO farelerde ağrı davranışının değişmesine katkı sağlayabilir (105). Bizim çalışmamızda da TRN'nin valproik asit tarafından c-fos ekspresyonunun

engellenmesinin ağrı yanıtıyla ilgili olabileceğini, valproik asitle ağrı yanıtı azalınca TRN'de de benzer şekilde yanıt azalıyor olabilir düşüncesini desteklemektedir. Ancak valproik asitin pek çok etki mekanizmasının arasında bulunan T tipi Ca^{++} kanal inhibisyonu da akılda tutulmalıdır. Valproik asitin akut ağrıya etkili olmasında TRN aktivasyonunu azaltmasının da rolü olabilir. Valproik asitin donma süresini azaltırken amigdala da c-fos aktivasyonunu değiştirmemesi de anksiyete üzerine çok etkisi olmadığını düşündürmektedir.

VII- SONUÇ:

1-CSD'nin uyanık ve serbest dolaşan sıçanlarda davranışa etkisi incelendiğinde lokomotor aktiviteyi azalttığı, immobilityi arttırdığı ve donma davranışına neden olduğu gözlenmiştir.

2- Valproik asit CSD ile artmış olan donma süresini anlamlı oranda azaltırken, azalmış olan lokomotor aktiviteyi arttırmıştır. İstatiksel olarak anlamlı olmasa da valproik asit alan sıçanlarda yemek yeme, su içme ve grooming süreleri ile baş silkinme sayısında artış gözlenmiştir.

3- CSD ipsilateral TNC ağrı nükleusunda anlamlı c-fos aktivasyonuna yol açmıştır.

4- Valproik asit'in CSD'yi ve kortikal c-fos immünreaktivitesini etkilemediği, ağrı ile ilişkili insüla, singulat gibi ikincil kortikal bölgelere istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi olmadığı görülmüştür. Ancak, TNC'deki ipsilateral c-fos aktivasyonunu anlamlı olarak geri çevirdiği ilk kez gösterilmiştir.

5- CSD kortikal bölgedeki yaygın ve yoğun c-fos aktivasyonu ile birlikte amigdala ve talamusun ipsilateral retiküler çekirdeğinde de anlamlı olarak c-fos aktivasyonuna neden olmuştur.

6- Uyanık sıçanda CSD'ye bağımlı olarak TRN'nin aktive olduğu ilk kez gösterilmiştir.

7- Valproik asit'in TRN'deki c-fos aktivasyonunu anlamlı olarak geri çevirdiği ancak amigdala aktivasyonu üzerine anlamlı bir fark yapmadığı ilk kez gösterilmiştir.

8- CSD'nin ağrı nukleuslarını uyardığı, bu etkinin valproik asit tarafından akut olarak engellendiği ve bu etkide TRN'nin rol alabileceği ilk kez gösterilmiştir.

VIII- KAYNAKLAR

- 1- Lipton RB, Stewart WF, Scher AI. Epidemiology and economic impact of migraine. *Curr Med Res Opin.* 2001;17 Suppl 1: 4-12.
- 2- Matthew Menken, Theodore L. Munsat, James F. Toole. The Global Burden of Disease Study. Implications for Neurology. *Arch Neurol.* Vol. 57, Mar 2000; 418-420.
- 3- Andlin-Sobocki P, Jönsson B, Wittchen HU, Olesen J. Cost of disorders of the brain in Europe. *Eur J Neurol.* 2005 Jun;12 Suppl 1:1-27.
- 4- Lance JW. Current concepts of migraine pathogenesis. *Neurology.* 1993 Jun; 43(6 Suppl 3): S11-5.
- 5- Buzzi MG, Moskowitz MA. The pathophysiology of migraine: year 2005. *J Headache Pain.* 2005 Jun; 6(3): 105-11. Epub 2005 May 13.
- 6- Bolay H, Reuter U, Dunn A, Huang Z, Boas D, Moskowitz A. Intrinsic brain activity triggers trigeminal meningeal afferents in a migraine model. *Nat Med* 2002; 8: 136–142.
- 7- Pietrobon D. Migraine: New Molecular Mechanisms. *The Neuroscientist,* 2005; 11, 373-386.
- 8- Stewart WF, Lipton RB, Celentano DD, et al. Prevalance of migraine headache in the United States. *JAMA* 1992; 267: 64-69
- 9- Montagna P, Pierangeli G, Cortelli P. The primary headaches as a reflection of genetic Darwinian adaptive behavioral responses. *Headache* 2010; 50: 273–289.
- 10- Blau JN. Migraine: Theories of pathogenesis. *Lancet* 1992; 339:1202–1209.
- 11- Headache Classification Committee of the International Headache Society. The international classification of headache disorders. *Cephalalgia* 2004; 24: 1–160.
- 12- Özön Ö, Bolay H. Primer Baş ağrılarında Tanı ve Tedavi Yaklaşımları. *Türk Nöroşirurji Derg.* 2003; 13:97-112.

- 13- Olesen J, Burstein R, Ashina M, Tfelt-Hansen P. Origin of pain in migraine: Evidence for peripheral sensitisation. *Lancet Neurol* 2009; 8:679–690.
- 14- Graham J.R., Wolf H.G. Mechanism of migraine headache and action of ergotamine tartrate. *Arch. Neurol. Psychiatry* 1938; 39, 737–763.
- 15- Arulmozhi D.K., Veeranjanyulu A., Bodhankar S.L. Migraine: Current concepts and emerging therapies. *Vascul. Pharmacol* 2005;. 43, 176–187.
- 16- Moskowitz MA. Pathophysiology of headache--past and present. *Headache*. 2007 Apr; 47 Suppl 1:S58-63.
- 17- Silberstein SD. Migraine pathophysiology and its clinical implications. *Cephalalgia* 2004; 24: (2): 2-7.
- 18- Shibata K, Osawa M, Iwata M. Pattern reversal visual evoked potentials in migraine with aura and migraine aura without headache. *Cephalalgia* 1998; 18: 319–23.
- 19- Bergerot A, Storer RJ, Goadsby PJ. Dopamine inhibits trigeminovascular transmission in the rat. *Ann Neurol*. 2007 Mar; 61(3): 251-62.
- 20- Hamel E. Serotonin and migraine: Biology and clinical implications. *Cephalalgia*. 2007 Nov; 27(11): 1293-300.
- 21- Marrannes R, Willems R, De Prins E, Wauquier A. Evidence for a role of the N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor in cortical spreading depression in the rat. *Brain Res*. 1988 Aug 9; 457(2): 226-40.
- 22- Gorji A. Spreading depression: A review of the clinical relevance. *Brain Res Brain Res Rev*. 2001 Dec; 38(1-2):33-60.
- 23- Silva E, Hernandez L, Contreras Q, Guerrero F, Alba G. Noxious stimulation increases glutamate and arginine in the periaqueductal gray matter in rats: A microdialysis study. *Pain*. 2000 Aug; 87(2):131-5.
- 24- Berrino, L., Oliva P., Rossi F., Palazzo E., Nobili B., Maione S., 2001. Interaction between metabotropic and NMDA glutamate receptors in the periaqueductal grey pain modulatory system. *Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol*. 364, 437–443.
- 25- Vaccaro M, Riva C, Tremolizzo L, Aliprandi A et al. Platelet glutamate uptake and release on migraine with and without aura. *Cephalalgia*, 2007; 27(1): 35–40).

- 26- Peres MF, Zukermann E, Senne Soares CA, Alonso EO, Santos BF, Faulhaber MH. Cerebrospinal fluid glutamate levels in chronic migraine. *Cephalalgia*, 2004; 24(9):735–739.
- 27- Prescott A, Becerra L, Pendse G, Tully S, Burnstein R, et al. Excitatory neurotransmitters in brain regions in the interictal migraine patients. *Mol. Pain*, 2009; 5: 34.
- 28- Moskowitz MA, Macfarlane R. Neurovascular and molecular mechanisms in migraine headaches. *Cerebrovasc. Brain Metab Rev.* 1993; 5:159-177.
- 29- Reuter U, Bolay H, Jansen-Olesen I, Chiarugi A, Sanchez del Rio M, Letourneau R, et al. Delayed inflammation in rat meninges: Implications for migraine pathophysiology. *Brain*. 2001; 124: 2490-2502.
- 30- Strassman AM, Raymond SA, Burstein R. Sensitization of meningeal sensory neurons and the origin of headaches. *Nature*. 1996; 384: 560-564.
- 31- Sanchez-del-Rio M., Reuter U. Migraine aura: New information on underlying mechanisms. *Curr. Opin. Neurol.* 2004; 17, 289–293.
- 32- Durham P.L. Calcitonin gene-related peptide (CGRP) and migraine. *Headache*. 2006; 46, S3–S8.
- 33- Burstein R, Yarnitsky D, Goor-Aryeh I, et al. An association between migraine and cutaneous allodynia. *Ann Neurol* 2000; 47:614-624.
- 34- Goadsby P.J. Current concepts of the pathophysiology of migraine. *Neurol Clin* 1997;15: 27-42.
- 35- Goadsby P.J. Lipton R.B. and Ferrari M.D. Migraine current understanding and treatment, *N. Engl. J. Med.* 2002; 346: 257–270.
- 36- Yilong C, Yosky K, Qing-Hua L, Chihiro Y, Aya Y, Noriko MO, et al. Targeted tissue oxidation in the cerebral cortex induces local prolonged depolarization and cortical spreading depression in the rat brain. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 300. 2003; 631–636.
- 37- Somjen G. Mechanisms of spreading depression and hypoxic spreading depression-like depolarization. *Physiol rev* 81. 2001; 1065–1096.
- 38- Piilgaard H, Lauritzen M. Persistent increase in oxygen consumption and impaired neurovascular coupling after spreading depression in rat

neocortex. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2009 Sep; 29(9): 1517-27.

- 39- Goadsby PJ, Edmundson L, Erkman R. Vasoactive peptide release extracerebral circulation of humans during migraine headache. *Ann Neurol* 1990; 28: 183- 187.
- 40- Edvinsson L. Blockade of CGRP receptors in the intracranial vasculature: A new target in the treatment of headache. *Cephalalgia* 2004; 24: 611–622.
- 41- Lassen L.H, Christiansen I, Iversen H.K, Jansen I, Olesen J. The effect of nitric oxide synthase inhibition on histamine induced headache and arterial dilatation in migraineurs. *Cephalalgia* 2003; 23:877–886.
- 42- Iadecola C. From CSD to headache: A long and winding road. *Nat Med.* 2002; 8(2):110- 271.
- 43- Cutrer FM, Huerter K. Migraine aura. *Neurologist* 2007; 13: 118–125.
Reuter U, Bolay H, Jansen I. Delayed inflammation in rat meninges: Implications for migraine pathophysiology. *Brain* 2001; 124: 2490–502.
- 44- XiChun Z, Dan L, Rodrigo N, Vanessa K, Moshe J, Rami B. Activation of meningeal nociceptors by cortical spreading depression: implications to migraine with aura. *J Neurosci.* 2010 June 30; 30(26): 8807–8814.
- 45- Moskowitz MA, Nozaki K, Kraig RR. Neocortical spreading depression provokes the expression of c-Fos protein-like immunoreactivity within trigeminal nucleus caudalis trigeminovascular mechanisms. *J Neurosci* 1993;13: 1167- 1177.
- 46- Bolay H, Moskowitz MA, Mechanisms of pain modulation in chronic syndromes. *Neurology*, 2002; 59 (5 Suppl 2): S2-7.
- 47- Weiller C, May A, Limmroth V, et al. Brain stem activation in spontaneous human migraine attacks. *Nat Med* 1995; 1: 658- 660.
- 48- Koroleva VI, Bures J. Rats do not experience cortical or hippocampal spreading depression as aversive. *Neurosci Lett* 1993; 149: 153–156.
- 49- Huston JP, Bures J. Drinking and eating elicited by cortical spreading depression. *Science* .1970 Aug 14; 169(946): 702-4.
- 50- Akcali D, Sayin A, Sara Y, Bolay H. Does single cortical spreading depression elicit pain behaviour in freely moving rats?. *Cephalalgia* 2010 30(10): 1195- 1206.

- 51- Shibata M. Unilateral cortical spreading depression in the rat: Effects on feeding, drinking and other behaviors. *Brain Res Bull.* 1978 Jul-Aug; 3(4): 395-400.
- 52- Storer RJ, Akerman S, Goadsby PJ. GABA receptors modulate trigeminovascular nociceptive neurotransmission in the trigeminocervical complex. *Br. J. Pharmacol* 2001; 134: 896–904.
- 53- Thomaides T, Karapanayiotides T, Kerezoudi E et al. Intravenous valproate aborts glyceryl trinitrate-induced migraine attacks: a clinical and quantitative EEG study. *Cephalalgia* 2008; 28: 250–6.
- 54- Sorensen, K.V. Valproate: A new drug in migraine prophylaxis. *Acta Neurol. Scand.* 1988; 78: 346–348.
- 55- Mathew, N.T. Valproate in the prophylaxis of migraine. *Cephalalgia* 1992; 12: 67.
- 56- Bogdanov VB, Multon S, Chauvel V, Bogdanova OV, Makarchuk MY, Schoenen J. Cortical spreading depression and associated neuronal fos expression in rats are affected differentially by chronic treatment with lamotrigine, valproate or riboflavin. *Cephalalgia*, 2009; 29(Suppl 1):10.
- 57- Nishikawa T, Scatton B. Inhibitory influence of nuclei as the neuroanatomical site of GABAergic inhibition of cerebral serotonergic neurons. *Brain Res* 1985; 331: 91–103.
- 58- Cutrer FM, Limmroth V, Ayata G, Moskowitz MA. Valproate reduces c-fos expression in trigeminal nucleus caudalis (TNC) after noxious meningeal stimulation. *Cephalalgia* 1995; 14: 96.
- 59- Cutrer FM, Moskowitz MA. The actions of valproate and neurosteroids in a model of trigeminal pain. *Headache* 1996; 36: 265.
- 60- Chapman A, Keane P.E., Meldrum B.S, Simiand J, Vernieres J.C. Mechanism of anticonvulsant action of valproate. *Prog. Neurobiol.* 1982; 19: 315–359.
- 61- Robbins LR. Intravenous sodium injection for prolonged migraine headache. *Am J Pain Manag* 2001; 11: 5.
- 62- Loscher W, Fisher JE, Nau H, Honack D. Marked increase in anticonvulsant activity but decrease in wet-dog shake behavior during short-term treatment of amygdale-kindled rats with valproic acid. *Eur J Pharmacol* 1988; 150: 221–32.

- 63- Loscher W, Vetter M. In vivo effects of aminooxyacetic acid and valproic acid on nerve terminal (synaptosomal) GABA levels in discrete brain areas of the rat. Correlation to pharmacological activities. *Biochem Pharmacol* 1985; 34:1747–56.
- 64- Cutrer FM, Limmroth V, Moskowitz MA. Possible mechanisms of valproate in migraine prophylaxis. *Cephalalgia* 1997;17: 93–100.
- 65- Mulleners WM, Chronicle EP, Vredevelde JW, Koehler PJ. Visual cortex excitability in migraine before and after valproate prophylaxis: A pilot study using TMS. *Eur J Neurol* 2002; 9: 35–40.
- 66- Ayata C, Jin H, Kudo C, Dalkara T, Moskowitz M.A. Suppression of cortical spreading depression in migraine prophylaxis. *Ann. Neurol.* 2006; 59: 652–661.
- 67- Nemeroff CB. The role of GABA in the pathophysiology and of anxiety disorders. *Psychopharmacol Bull* 2003; 37: 133-46.
- 68- Johannessen Landmark C. Antiepileptic drugs in non-epilepsy disorders: Relations between mechanisms of action and clinical efficacy. *CNS Drugs.* 2008; 22(1): 27-47.
- 69- Barros HM, Tannhauser SL, Tannhauser MA, Tannhauser M. Effect of sodium valproate on the open-field behavior of rats. *Braz J Med Biol Res.* 1992; 25(3): 281-7.
- 70- Van de Weerd HA, Bulthuis RJ, Bergman AF, et al. Validation of a new system for the automatic registration of behaviour in mice and rats. *Behav Processes* 2001; 53: 11-20.
- 71- Quinn LP, Stean TO, Trail B, et al. LABORAS: initial pharmacological validation of a system allowing continuous monitoring of laboratory rodent behaviour. *J Neurosci Methods* 2003; 130: 83–92.
- 72- Portfors CV. Types and functions of ultrasonic vocalizations in laboratory rats and mice. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 2007; 46: 28–34.
- 73- Yavich L, Ylinen A. Spreading depression in the cortex differently modulates dopamine release in rat mesolimbic and nigrostriatal terminal fields. *Exp Neurol* 2005; 196: 47–53.
- 74- Wadenberg ML. Serotonergic mechanisms in neuroleptic-induced catalepsy in the rat. *Neurosci Biobehav Rev* 1996; 20: 325–339.

- 75- Kuldip D.D, John A.H, Vincent J.A. A novel behavioral model that discriminates between 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptor activation. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 2002; 72: 371–378.
- 76- Bedard P Pycock JC. “Wet Dog Shake“ behavior in the rat: A possible quantitative model of central 5-hydroxytryptamine activity. *Neuropharmacology* 1977; 16 : 663–670.
- 77- Fletcher A, Harding V. An examination of the 'wet dog shake' behavior in rats produced by acute administration of sodium n-dipropylacetate. *J Pharm Pharmacol* 1981; 33: 811–813.
- 78- Biggs CS, Pearce BR, Fowler LJ, Whitton PS. Regional effects of sodium valproate on extracellular concentrations of 5-hydroxytryptamine, dopamine and their metabolites in the rat brain : an in vivo microdialysis study. *J Neurochem* 1992; 59: 1702–1708.
- 79- Prathibha E.A.J, Joy D, Vikram K.Y, Chanda K. Valproate-induced “wet dog shakes” a reproducible animal model of human compulsive behavior : Effect of antidepressants. *Annals of Neurosciences* 2007; Volume 14, Issue 4.
- 80- De Boer T. H. K, Bartels H. J, Metselaar R, Bruinvels J. Di-n propylacetate-induced abstinence behaviour as a possible correlate of increased GABA-ergic activity in the rat. *Psychopharmacology* 1980; 71: 257–267.
- 81- Yamamoto T, Y. Shibata Y. Direct fiber connections between the frontal cortex and the hypothalamus in the rat: an electron microscope study. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior* .1975, 3(1 Suppl): 15-22.
- 82- Oomura Y. and Takigawa M. Input–output organization between the frontal cortex and the lateral hypothalamus. In *Mechanism in Transmission of Signals for Conscious Behavior* 1976: 163–192.
- 83- Mogenson, G. J, Gentil C. G, Stevenson J. A. Feeding and drinking elicited by low and high frequencies of hypothalamic stimulation. *Brain Res.* 1971; Oct 8; 33(1): 127-37.
- 84- Bures J. Buresová, O. Fifkova, E. Olds, J. Olds, M. E., & Travis, R. P. Spreading depression and subcortical drive centers. *Physiol. Bohemoslov.* 1961;10.:321-331.
- 85- Waller HJ, Feldman SM. Somatosensory thalamic neurons: Effects of cortical depression. *Science* 1967 Sep 1; 157(792):1074-7.

- 86- Fifkova and J. Syka, Relationships between cortical and striatal spreading depression in rat. *Exp. Neurol.* 1964; 9: 355–366.
- 87- Janet Menard. Lateral and medial septal lesions reduce anxiety in the plus-maze and probe-burying tests. *Physiology & Behavior* Volume 60, Issue 3, September 1996; 845-853 .
- 88- Nikolai E. L, Kamen G. U, Oliver S, Dimitar E. I, Arndt R, Andreas W. Amygdalotrigeminal projection in the rat: An anterograde tracing study. *Annals of Anatomy* 193 (2011); 118–126.
- 89- Sasamoto, K., Ohta, M. Amygdaloid-induced jaw opening and facilitation or inhibition of the trigeminal motoneurons in the rat. *Comp. Biochem. Physiol.* 1982; 73A: 349–354.
- 90- Bobo, E.G., Bonvallet, M., 1975. Amygdala and masseteric reflex. I. Facilitation, inhibition and diphasic modifications of the reflex, induced by localized amygdaloid stimulation. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 39, 329–339.
- 91- XiChun Z, Dan L, Rodrigo N, Vanessa K, Moshe J, Rami B. Activation of meningeal nociceptors by cortical spreading depression: Implications to migraine with aura. *J Neurosci.* 2010 June 30; 30(26): 8807–8814.
- 92- Michael B, Ariel Y. D. Stress induces Fos expression in neurons of the thalamic paraventricular nucleus that innervate limbic forebrain sites. 1999; Volume 32, Issue 1: 13-22.
- 93- Deutch A. Y, Bubser M, Young C. D. Psychostimulant-induced fos protein expression in the thalamic paraventricular nucleus. *J. Neurosci.* 1998; 18:10680-10687.
- 94- Margaret M. M, Roger P. W, Robert Y. M. Efferent projections of the paraventricular thalamic nucleus in the rat. *The Journal of Comparative Neurology* 1995; Volume 359, Issue 2: 221–238.
- 95- Berkley KJ, Benoist J-M, Gautron M, Guilbaud G. Responses of neurons in the caudal intralaminar thalamic complex of the rat to stimulation of the uterus, vagina, cervix, colon, and skin. *Brain Res* 1995; 695: 92–95.
- 96- Ray JP, Price JL. The organization of the thalamocortical connections of the mediodorsal thalamic nucleus in the rat, related to the ventral

- forebrain-prefrontal cortex topography. *J Comp Neurol* 1992; 323: 167–197.
- 97- Bullitt E. Expression of c-fos-like protein as a marker for neuronal activity following noxious stimulation in the rat. *J. Comp.Neurol* 1990; 296: 517- 530.
 - 98- Lozsadi DA, Gonzalez-Soriano J, Guillery RW. The course and termination of corticothalamic fibres arising in the visual cortex of the rat. *Eur J Neurosci* 1996; 8: 2416–27.
 - 99- Sherman SM, Guillery RW. Exploring the thalamus and its role in cortical function. London: The MIT Press; 2006.
 - 100- Talley EM, Cribbs LL, Lee JH, Daud A, Perez-Reyes E, Bayliss DA. Differential distribution of three members of a gene family encoding low voltage activated (T-type) calcium channels. *J Neurosci* 1999; 19(6): 1895-1911.
 - 101- Yen CT, Conley M, Hendry SH, Jones EG: The morphology of physiologically identified GABAergic neurons in the somatic sensory part of the thalamic reticular nucleus in the cat. *J Neurosci* 1985, 5(8): 2254-2268.
 - 102- Kim D, Park D, Choi S, Lee S, Sun M, Kim C, Shin HS: Thalamic control of visceral nociception mediated by T-type Ca²⁺ channels. *Science* 2003; 302(5642):117-119.
 - 103- Choi S, Na HS, Kim J, Lee J, Lee S, Kim D, et al. Attenuated pain responses in mice lacking Ca(V)3.2 T-type channels. *Genes Brain Behav* 2007; 6(5): 425-431.
 - 104- Yi-Fang Liao et al. Involvement of the Cav3.2 T-type calcium channel in thalamic neuron discharge patterns, *Molecular Pain* 2011, 7: 43.

VIII- ÖZET

Migren toplumun yaklaşık %20'sinde görülür ve baş ağrısı ve eşlik eden diğer bulgular nedeniyle erişkinlerde iş gücü kaybı ve ekonomik kayıplara neden olan önemli hastalıklardan biridir. Yayılan kortikal depresyon (CSD) migrenin patogenezinde rol alan önemli bir beyin fenomenidir ve migren ağrısını başlattığı düşünülmektedir. Yayılan kortikal depresyonun subkortikal yapılara olan etkisi ve özellikle davranışlara olan etkisi bilinmemektedir. Hayvanlarda yayılan kortikal depresyon modelinin subkortikal direkt yayılımı veya indirekt etkileri ile ilgili az sayıda çalışma vardır ve bunlar anestezi altında yapılmış olan çalışmalardır. Bu çalışmada hayvanlarda yayılan kortikal depresyonun kaudaputamen, amigdala ve talamus gibi yapılardaki etkileri elektrokortikogram kaydı ile incelenmiş, otomatik davranış kaydedici bir cihaz vasıtasıyla mobilizasyon, immobilité, yeme –içme davranışı, grooming, dönme, v.b. davranışları kaydedilerek analiz edilmiştir. Eş-zamanlı olarak ratların duymadığımız spektrumda çıkardıkları ağrı ve sevinç sesleri ultrasonik bir ses kaydetme programı ile incelenmiştir.

Bu çalışmada, uyanık sıçanlarda CSD'nin ağrı ile ilişkili donma (freezing), immobilité gibi spontan davranış değişikliklerine yol açtığı gösterilmiştir. CSD'nin ortaya çıkardığı donma, immobilité gibi davranış değişikliklerinin valproik asitle önlenemediği gösterilmiştir. Beyinde c-fos aktivasyon paterni beyin ve subkortikal diğer yapılar incelendiğinde, davranış ile uyumlu olarak beyin sapı ve nosiseptif ağrı ile ilişkili trigeminal nükleus caudalis (TNC) ve talamus retiküler nükleusda (TRN) istatistiksel anlamlılık gösteren c-fos aktivasyon

örüntüsünün valproik asit ile bloke olduğu ortaya çıkmıştır. Valproik asitin migrende akut etkinliğinin saptanması ve bu etkide TRN gibi yapıların rol oynadığının ilk kez gösterilmesi açısından bu çalışma önem taşımaktadır.

Anahtar kelimeler: Migren, yayılan kortikal depresyon, davranış, kaudaputamen, valproik asit, elektrofizyoloji



IX- SUMMARY

Migraine is seen approximately in 20% of the population and is one of the debilitating disorders in adults leading to economic loss due to headache and other associated symptoms. Cortical spreading depression (CSD) is an intrinsic brain phenomenon that plays an important role in migraine pathogenesis and considered to initiate migraine attacks. The effect of CSD on subcortical structures and on behaviour remain unclear. There are very few studies investigating direct subcortical spread or indirect effects of CSD in animals and those studies were performed under general anesthesia. In this study, effects of CSD is investigated by recording electrocorticogram (ECoG) in subcortical structures such as caudate-putamen, amigdala and thalamus. In addition, mobilization, immobility, eating, drinking, turning, grooming behaviour is analyzed through automated behaviour recording device (Laboras). Simultaneously, ultrasonic pain calls and chirp sounds by rats are investigated via laboratory animal sound recording device.

In this study, CSD caused behavior alterations such as pain related freezing and immobility. CSD induced freezing and immobility were blocked with valproic acid. Brain c-fos activation pattern was investigated in brain and subcortical structures and it was shown that valproic acid significantly blocked c-fos activation in brain stem and nociceptive pain related trigeminal nucleus caudalis (TNC), amygdala and thalamic reticular nucleus (TRN). This is an important

study for the discovery of acute efficacy of valproic acid in migraine and role of TRN for this effect.

Key words: Migraine, cortical spreading depression (CSD), behaviour, caudaputamen, valproic acid, electrophysiology



X- ÖZGEÇMİŞ

Adı – Soyadı : Nermin Tepe

Doğum Yeri/Tarih : Almanya / 20-10-1978

Medeni Hali : Evli

Öğrenim Durumu : Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2003

Yabancı Dil : İngilizce, Arapça

Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar : Türk Nöroloji Derneği

