

T.C.
ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SÜPERİOR SERVİKAL GANGLİYONEKTOMİ UYGULANAN
SIÇANLARDA TRİGEMİNAL NÜKLEUS C-FOS
AKTİVİTESİNİN VE MAST HÜCRE SAYISI VE
İÇERİKLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Erkan KILINÇ

Abant İzzet Baysal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Yönetmeliğinin Fizyoloji Programı İçin Öngördüğü
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.

BOLU- 2010

T.C.
ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SÜPERİOR SERVİKAL GANGLİYONEKTOMİ UYGULANAN
SIÇANLARDA TRİGEMİNAL NÜKLEUS C-FOS
AKTİVİTESİNİN VE MAST HÜCRE SAYISI VE
İÇERİKLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Erkan KILINÇ

Abant İzzet Baysal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Yönetmeliğinin Fizyoloji Programı İçin Öngördüğü YÜKSEK
LİSANS TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Fatma TÖRE

BOLU
2010

Abant İzzet Baysal Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne,

Erkan KILINÇ tarafından hazırlanan ve 24/05/2010 tarihinde savunulan “Superior servikal gangliyonektomi uygulanan sıçanlarda trigeminal nükleus c-fos aktivitesinin ve mast hücre sayısı ve içeriklerinin değerlendirilmesi” başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından Fizyoloji Programında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı	Doç. Dr. Fatma TÖRE (AİBÜ)	(imza)
Üye	Prof.Dr. Aysel KÜKNER (AİBÜ)	(imza)
Üye	Yrd. Doç.Dr. Şerif DEMİR (DÜ)	(imza)

ONAY:

Bu tez, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Yönetim Kurulu’nun kararıyla kabul edilmiştir.

(İmza)

Doç. Dr. Serap KÖYBAŞI ŞANAL
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜRLER

Yüksek Lisans öğrenimim boyunca tezimin planlanması, yürütülmesi ve sonuçların değerlendirilmesi sırasında yardımlarını esirgemeyen; ayrıca kendisinden bilime ve hayata dair çok şey öğrendiğim hala da öğreneceğim çok şeyler olduğuna inandığım danışman hocam Sayın Doç. Dr. Fatma TÖRE 'ye sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarım sırasında yakın ilgi ve katkılarından dolayı AİBÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji anabilim dalı başkanı Sayın Prof. Dr. Aysel KÜKNER' e teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamın doku takibi aşamasında yardımlarını esirgemeyen Histoloji ve Embriyoloji bölümü asistanı Sayın Arş. Gör. Dr. Tülin FIRAT' a ve Yüksek Lisans öğrencisi Sayın Nilüfer ULAŞ' a teşekkürlerimi sunarım.

Bu projeyi finansal olarak destekleyen Abant İzzet Baysal Üniversitesi Rektörlüğüne (Bilimsel Araştırmalar Projeleri Birimi'ne) teşekkür ederim.

BOLU, 2010

Erkan KILINÇ

ÖZET

Migren baş ağrısı, toplumsal maliyeti fazla olan ve etkili tedavilere gereksinim duyan en sık görülen ağrı sendromlarından birisidir. Dura mater sinirler tarafından yoğun bir şekilde innerve edilmiştir ve çok sayıda mast hücresi tarafından kuşatılmıştır. Trigeminal nositeptif aktivasyondan dolayı dura materde meydana gelen nörojenik inflamasyonun migren patofizyolojisinde rolü olduğu düşünülmektedir. Ayrıca migren sempatik yetmezlik ile de ilişkilendirilmiştir. Bu çalışmada, kısa süreli sempatektominin dura mater mast hücre sayısı ve trigeminal nukleustaki c-fos ekspresyonu üzerine etkilerini araştırmak amaçlanmıştır. Deneylerde 20 erkek sıçan kullanılmıştır. Birinci grup sempatektomize; anestezi altında boyun orta hat boyunca kesilerek sol süperior servikal sempatik gangliyon çıkarıldı. Anesteziden uyandıktan sonra sıçanlara kendi kafeslerinde beş gün boyunca yeterli yiyecek ve su verilerek takip edildi. İkinci grup sham opere; gangliyon ve sinirlere dokunuldu fakat çıkarılmadı. Üçüncü grup kontrol; hiçbir uygulama yapılmadı. Dördüncü grup, pozitif kontrol; c- fos ekspresyonunu indüklemek için iki farklı model kullanıldı. Birinci modelde nazal mukozaya % 5' lik 50 µl formalin uygulandı ve ikinci modelde 0,3 ml non-heparinize otolog kan tüberkülin şırınga ile bir dakika boyunca sisterna manga içine enjekte edildi (1 ml).

Sıçanlar anestezi altında önce fosfat tampon (PBS) solüsyonu daha sonra da % 4' lük paraformaldehit kullanılarak intrakardiyak perfüze edildi. Dura mater toluidin mavisi ile boyandı ve beyin sapı c-fos için indirek immünohistokimyasal olarak işaretlendi. Verilere Kruskal-Wallis testi uygulandıktan sonra Dunn 'un çoklu grup karşılaştırmaları testi kullanılarak istatistiksel analiz yapıldı. Sempatektomi, dura materde, hem ipsilateral hem de kontralateral tarafta mast hücre sayısını anlamlı derecede artırdı ($p<0,01$) ve trigeminal nukleusta aynı tarafta c-fos ekspresyonunu da anlamlı derecede artırdı. Kısa süreli sempatektominin neden olduğu mast hücre sayısında meydana gelen değişme, mast hücre-sinir etkileşiminin ve nörojenik inflamasyonun bir kanıtıdır. Mast hücre sonuçları ile birlikte trigeminal nukleustaki c-fos aktivitesi, süperior servikal gangliyonektominin deneysel migren modeli olabileceğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Migren, Dura mater, sempatektomi, mast hücresi, c-fos

****** Bu çalışma Abant İzzet Baysal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir [Proje numarası: 2009.08.01.321].

ABSTRACT

Migraine headache is one of the most common pain syndromes, with high societal costs, still requiring more efficient treatments. Dura mater is densely innervated and invested by plenty of mast cells. Neurogenic inflammation in dura mater due to trigeminal nociceptive activation has been implicated for pathophysiology of migraine. Migraine is also associated with sympathetic insufficiency. In this study it is intended to investigate the effects of short-term sympathectomy on number of mast cells in dura mater and c-fos expression in trigeminal nucleus. In the experiments 20 male sıçans were used. Group 1 Sympathectomized: Under anaesthesia, left superior servical sympathetic ganglion removed via incision by center line at neck area. Rats recovered in individual cages with tap water and food available ad libitum for five days. Group 2 Sham: Ganglion and nerves were exposed but not dissected. Group 3 Control: No treatment was done. Group 4 Positive control: Two different models were used for inducing c-fos expression. One is 50 μ l % 5 formalin applied to nasal mucosa, and second is otolog 0.3 ml of autologous non-heparinized blood was injected into the cisterna magna over about 1 min via a tuberculin syringe (1 ml).

Under deep anaesthesia, rats were perfused intracardiacally with phosphate buffer saline (PBS), followed by 4% paraformaldehyde. Dura maters stained with toluidine blue, and brainstems were labelled by indirect immunohistochemistry for c-fos. Statistical analysis was performed using Kruskal-Wallis test followed by Dunn's multiple comparison test. Sympathectomy significantly increased number of mast cells in ipsilateral and contralateral dura maters ($p < 0.001$) and the c-fos expression in ipsilateral side trigeminal nucleus. Change in number of mast cell by short term sympathectomy is a proof of mast cell-nerve interaction and neurogenic inflammation. Together with results of mast cells and the c-fos activity in trigeminal nucleus suggests that superior cervical ganglionectomy can be experimental model of migraine.

Key words: Migraine, Dura mater, sympathectomy, mast cell, c-fos

Acknowledgements: This study is funded by Abant İzzet Baysal University Scientific Research Fund [Project number: 2009.08.01.321]

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vii
İÇİNDEKİLER.....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xii
ŞEKİLLER	xv
TABLolar VE RESİMLER.....	xvi
GRAFİKLER.....	xvii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Dura Materin Anatomisi.....	3
2.2. Dura Materin Damarları	4
2.3. Dura Materin İnnervasyonu.....	6
2.4. Dura Materi Etkileyen Sensorial, Sempatik ve Parasempatik Sinirler..	7
2.4.1. Sensorial Sinirler.....	9
2.5. Nervus Trigemini Anatomisi (V. Kranial Sinir).....	9
2.5.1. Nervus Trigemini Terminal Dalları.....	10
2.5.1.1. Nervus Ophthalmicus [V1].....	10
2.5.1.2. Nervus Maxillaris [V2].....	11
2.5.1.3. Nervus Mandibularis [V3].....	11
2.5.2. Nervus Trigemini Çekirdekleri.....	11
2.6. Kolinerjik Parasempatik Sistem.....	12
2.7. Adrenerjik Sempatik Sistem.....	12
2.8. Süperior Servikal Gangliyon.....	13
2.9. Horner Sendromu.....	14
2.10. Dura Mater Mast Hücreleri.....	14
2.10.1. Mast Hücrelerinin Morfolojik Özellikleri.....	16
2.10.2. Mast Hücrelerinin Gelişimi.....	18
2.10.3. Mast Hücre Mediyatörleri.....	19

2.10.4. Mast Hücre Reseptörleri ve Uyarıları.....	23
2.10.5. Mast Hücrelerinin Fizyolojik ve Patofizyolojik Olaylardaki Rollerini..	25
2.10.6. Mast Hücreleri ve Nöropeptitlerin Çift Yönlü Etkileşimi.....	28
2.11. c-fos Geni ve Fos Proteinleri.....	28
2.11.1. c-fos İşlevi.....	29
2.11.2. Etki Mekanizmaları.....	30
2.12. Migren Tanımı.....	32
2.12.1. Migren Fizyopatolojisi.....	32
2.12.2. Nörojenik İnflamasyon ve Migren.....	35
2.12.3. Nörojenik İnflamasyonda CGRP ile İndüklenmiş Nörojenik Vazodilatasyon.....	39
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	42
3.1 Gereç ve Yöntem.....	42
3.2 Hayvan Gruplarına Uygulanan İşlemler.....	42
3.2.1. Sempatektomize.....	42
3.2.2. Sham-Opere.....	44
3.2.3. Kontrol.....	44
3.2.4. Pozitif Kontrol.....	44
3.3. Perfüzyon-Fiksasyon.....	44
3.4. Dura Mater ve Beyin Sapının Eksizyonu.....	46
3.5. Dura Materin Boyanması.....	46
3.6. Dura mater Mast Hücrelerinin Sayılması.....	47
3.7. Beyin Sapı Preparatlarının Hazırlanması ve Kesitlerin alınması.....	47
3.8. İmmünohistokimyasal Boyama Prosedürü.....	48
4. BULGULAR.....	50
4.1. Mast Hücreleri.....	50
4.2. c-fos.....	54
5. TARTIŞMA.....	59

6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	63
7. KAYNAKLAR.....	64
8. EKLER.....	69
Ek 1: CD- Rom	
Ek 2: Etik Kurul Onayı	

SİMGELER VE KISALTMALAR

ACE:	Anjiotensin konverting enzim
Ach:	Asetilkolin
ACTH:	Adrenokortikotropik hormon
AP:	Aktivatör Protein-1
BE:	Branchial efferent
BSA:	Sığır serum albumini
CALCR:	Kalsitonin reseptör
C-FOS:	Protoonkogenlerden olan FOS geninin proteini.
CGRP:	Kalsitonin gen-related peptit
c-JUN:	Protoonkogenlerden Jun geni proteini
CO:	Karbonmonoksit
CRE:	cAMP/Ca ²⁺ response -yanıt- element
CSF:	Koloni uyarıcı faktör
CTMC:	Bağ doku mast hücreleri
DAB:	Diaminobenzidine
EDNRB:	Endotelin reseptör tip-B
ERG:	Early Responses Gene,
ERK:	Hücre dışı uyarı ile ilgili kinaz
ET:	Endotelin
FGF:	Fibroblast büyüme faktörü
fMRG:	Fonksiyonel manyetik rezonans görüntüleme
GF:	Büyüme faktörü
GM-CSF:	Granülosit monosit büyüme faktörü
GRP:	Gastrin releasing peptit
GSA:	Genel somatik afferent
IBS:	İrritable bowel sendromu
IEG:	Immediate-Early Gene
IgE:	İmmünoglobülin-E
IL:	İnterlökin
KIT:	Mast hücre büyüme faktörü
M:	Molarite

MAP-kinase:	Mitojenle aktive edilmiş protein kinaz
MMC:	Mukozal mast hücreleri
MMPs:	Matrix metalloproteinaz
NANC:	Non adrenerjik non kolinerjik
NEP:	Nötral endopeptidaz
NGF:	Nöron büyüme faktörü
NI:	Nörojenik inflamasyon
NKA:	Nörokinin A
NKB:	Nörokinin-B
NMU:	Nöromedin U
NO:	Nitrik oksit
NPY:	Nöropeptit-Y
NT:	Nörotensin
NTR:	Nörotensin reseptör.
NV:	Nörojenik vazodilatasyon
PACAP:	Pituitar Adenilat siklaz-aktive edici polipeptit
PAF:	Paraformaldehit
PAF ₁ :	Trombosit aktive edici faktör
PAR:	G-protein-kenetli proteaz aktive edici reseptör
PAR:	Proteinaz-aktive edici reseptör
PBS:	Fosfat buffer saline
PEK :	Proenkefalin
PET:	Pozitron emisyon tomografi
PGD2:	Prostaglandin D2
PPE:	Plazma protein ekstravazasyonu
SCF:	Kök hücre faktörü
SP:	Substans-P
SRE :	Serum response-yanıt- element
SS:	Somatostatin
TACR1:	Takikinin reseptör 1
TH:	Tirozin hidroksilaz
TLR:	Toll benzeri reseptör

TNC:	Trigeminal nucleus kaudalis
TNF:	Tümör nekroz faktör
TRE:	Tetradecanol phorbol acetate-yanıt-element
UCN:	Urokortin
VIP :	Vazoaktif intestinal peptit
α :	Alfa
β :	Beta
μ m:	Mikrometre

ŞEKİLLER

Şekil 2.1.	Dura materin anatomik yapısı.....	4
Şekil 2.2.	Kafatası ve dura mater tabakalarına giden meningeal damarların ilişkilerinin görüldüğü başın sağ tarafı.....	5
Şekil 2.3.	Kalvaryi ortadan kaldırılmış başın üstten görünüşü.....	5
Şekil 2.4.	Trigeminal nükleusa giden ağrı yolağı.....	6
Şekil 2.5.	Süperior servikal ganglion.....	13
Şekil 2.6.	Mast hücrenin fotomikroskop ve elektron mikroskopik görüntüsü.....	16
Şekil 2.7.	Mast hücre gelişim yolağı.....	19
Şekil 2.8.	Mast hücre nöropeptit mediyatörleri, reseptörleri ve ligandları.....	24
Şekil 2.9.	Mast hücre aktivasyonunun şematik gösterimi.....	26
Şekil 2.10.	Mast hücrelerinin Fizyolojik olaylardaki rolleri.....	27
Şekil 2.11.	Migren krizinin akson refleksi.....	35
Şekil 2.12.	Nörojenik inflamasyonun komponentleri.....	38
Şekil 4.1.	Dura mater sayım alanları.....	50
Şekil 4.2.	Sıçan beyin atlasından kaudal trigeminal nükleus(TNC).....	54
Şekil 4.3.	Bregmadan 13,80 mm uzaklıktaki beyin sapı kesitinde kaudal trigeminal nükleus(TNC) şematik gösterimi.....	54

TABLÖLAR VE RESİMLER

Tablo 2.1.	Dura materi etkileyen sensorial, sempatik ve parasempatik sinirler ve nörotransmitterleri.....	8
Tablo 2.2.	Sıçan mast hücre özellikleri.....	17
Tablo 2.3.	Granüllerinde hazır bulunan bazı mediyatörler ve işlevleri.....	21
Tablo 2.4.	Mast hücreden salınan sitokinler ve işlevleri.....	22
Tablo 2.5.	Gerektiğinde sentez edilen mediatörler.....	23
Resim 3.1.	Sempatektomi işlemi.....	43
Resim 3.2.	Sol göz kapağı düşmüş sıçan (ptosis).....	43
Resim 3.3.	Perfüzyon işlemi.....	45
Resim 3.4.	Dura materi çıkarılmış sıçan beyni.....	46
Resim 4.1.	Dura mater mast hücrelerinin 10X görünümü(sham).....	51
Resim 4.2.	Dura mater mast hücrelerinin 10X görünümü(opere).....	51
Resim 4.3.	Dura mater mast hücrelerinin 40X görünümü (sham).....	52
Resim 4.4.	Degranüle ve granüle mast hücresi 100X.....	52
Resim 4.5.	c-fos immün işaretleme, Kontrol X10 büyütme.....	56
Resim 4.6.	c-fos immün işaretleme, Sham X10 büyütme.....	56
Resim 4.7.	c-fos immün işaretleme, Pozitif Kontrol-1 X10 büyütme.....	57
Resim 4.8.	c-fos immün işaretleme, Pozitif Kontrol-2 X10 büyütme.....	57
Resim 4.9.	TNC’de c-fos pozitif nöronlar Opere sol taraf X10 büyütme.....	58
Resim 4.10.	TNC’de c-fos pozitif nöronlar Opere sol taraf X40 büyütme.....	58

GRAFİKLER

Grafik 4.1.	Dura mater toplam mast hücre sayısı.....	53
Grafik 4.2.	TNC’de c-fos pozitif nöron sayısı.....	55

1. GİRİŞ

Baş ağrısı, yaygın olarak görülen bir semptom olup, hekimlerin en sık karşılaştıkları ve doğal olarak kendilerinin ve yakınlarının da en çok etkilendiği bir sağlık sorunudur. Baş ağrılarının önemli bir bölümü migren ve gerilim tipi baş ağrısı özelliğinde olan süreğen (kronik) ağrılardır. Bu baş ağrıları kişiyi, yaşamının önemli bir bölümünde hem ağrı özelliği ile hem de ağrının dolaylı ve dolaysız sonuçları ile etkileyebilmektedir. Ağrıya bağlı işgücü kaybı, baş ağrısının neden olduğu sağlık harcamaları ve ilişkili ekonomik götürülere de yol açmaktadır.

Gelişmiş ülkelerde migren *prevalans* çalışmaları bu tür baş ağrısının erişkin kadınlarda %12-24; erkeklerde ise %5-12 oranlarında görüldüğünü göstermektedir (Siva, 2002). Ülkemizde gerçekleştirilen çok merkezli bir baş ağrısı epidemiyolojisi çalışmasında, 15-55 yaş grubunda migren *prevalansı* %16.4 olarak bulunmuş olup bu oran kadınlar için %21.8, erkekler için %10.9'dur. Bu değerler göreceli olarak yüksek izlenimi vermekle birlikte yakın zamanda batıda yapılmış çalışmalar ile uyumludur. Toplumumuzda migrenin en çok görüldüğü yaş grubu 30-39 olarak bulunmuştur. Migrenle karşılaşılma sıklığı çocukluk döneminde anlamlı bir cinsiyet farkı göstermezken, puberteden sonra kadınlarda artmakta ve erişkin nüfusta kadın-erkek oranı, 2/1'e ulaşmaktadır.

Günümüzde migren tedavisi semptomatik yani baş ağrısının giderilmesi ve profilaktik yani atakların önlenmesi şeklindedir. Maalesef tam iyileşme *cure* sağlayan bir tedavi henüz mevcut değildir. Bunun en önemli nedenlerinden biri migren patofizyolojisinin tam olarak anlaşılamamasıdır.

Dura mater nosiseptör aktivasyonu ile oluşan nörojenik inflamasyon, migren gibi primer baş ağrılarının fizyopatolojisinden sorumlu tutulmaktadır (Lewis 2003; Peroutka 2005). Deri, sinoviya gibi pek çok organda mast hücrelerinin nörojenik inflamasyona katıldığı gösterilmiştir (Theoharides ve ark. 2005).

Yapılan bir çalışmada uzun süreli bilateral superior servikal ganglionektomi uygulanarak serebral ve menengial damarlarında sempatik denervasyon oluşturulan

sıçanların dura mater mast hücre davranışlarını değiştirdiği gösterilmiştir (Bergerot ve ark. 2000). İlaveten bir vaka sunumunda sempatik refleks distrofi nedeniyle gangliyon blokajı yapılan hastada migren geliştiği bildirilmiştir (Spierings 2003; Belena ve ark. 2006). Son yıllarda migren tipi başağrılarının trigeminal duysal liflerin aktivasyonu sonucu geliştiği gösterilmiştir (Levy ve ark 2007).

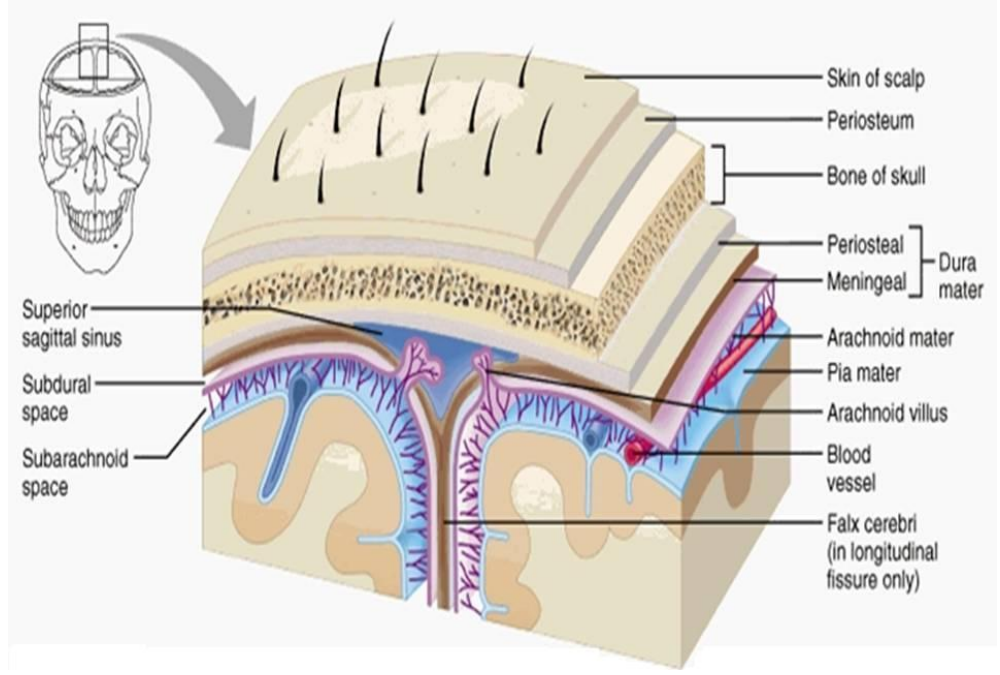
Sunulan araştırmada kısa süreli sempatektominin trigeminal nükleus c-fos aktivitesi ve dura mater hücreleri üzerine etkisi araştırılarak migren bir sempatik yetmezlik midir sorusuna yanıt aranacak ve migren fizyopatolojisine ve dolayısıyla tedavisine katkı sağlayacak bilgiler elde edilmesi planlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Dura materin anatomisi

Dura mater periosteal ve meningeal olmak üzere iki yapraktan oluşmuştur (şekil 2.1). Bu yapraklar venöz sinusların oluşma yerleri hariç birbirlerine sıkıca yapışmışlardır (Snell, 2000; Gökmen, 2003). Endosteal yaprak (lamina externa) kafatası kemiklerinin iç yüzünü döşeyen periosteumdur. Bu tabaka foramen magnumu geçerek medulla spinalisi örten dura mater ile devam etmez. Kafatası kemiklerindeki deliklerin kenarları çevresinden geçerek bu kemiklerin dış tarafındaki periosteum ile devam eder. Suturlarda sütünal bağlarla devam eder. Basis kranii kemiklerine sıkıca yapışmıştır. Esas dura mater meningeal yaprak (lamina interna)'tır. Beyini tamamen saran sıkı güçlü fibröz bir zar olup foramen magnumdan geçerek medulla spinalisin dura materi olarak devam eder. Bu yaprak kafatası deliklerinden geçen kranial sinirlere tubuler kılıflar oluşturur. Kafatasının dışında bu tabaka sinirlerin epineuriumu ile kaynaşır. Meningeal yaprağın içeri doğru gönderdiği dört bölme, cavitas craniiyi beynin alt bölümlerinin yerleştiği ve aralarında bağlantılar olan boşluklara ayırır. Bu bölmelerin görevi, baş hareket ettiği zaman hızlanma ve yavaşlama ile ilgili olarak beynin yer değiştirmesini engellemektir.

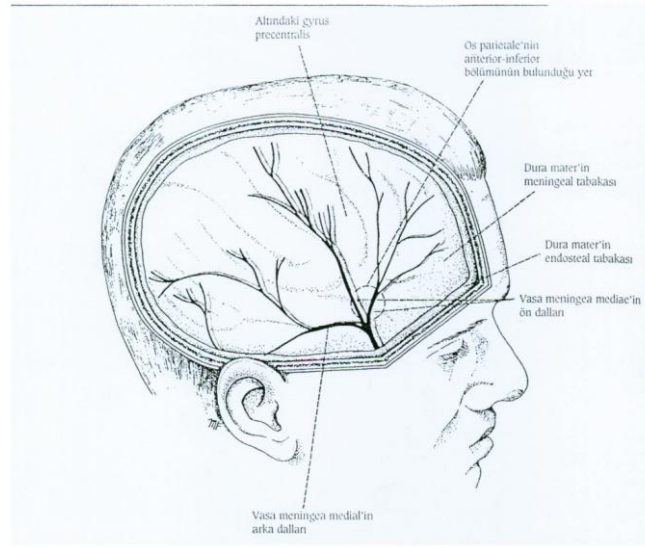
Falx cerebri iki beyin hemisferi arasında orta hatta uzanan orak şeklinde bir dura mater kıvrımıdır. Falx cerebelli küçük orak şeklinde bir dura mater kıvrımı olup crista occipitalis internaya yapışarak öne doğru beyincik hemisferi arasında uzanır. Sabit arka kenarı sinus occipitalisi içerir. Diaphragma sellae küçük, sirküler bir dura mater kıvrımı olup sella turcicanın çatısını oluşturur. Ortasındaki küçük delik, hypophysis cerebrinin sapının geçişine izin verir.



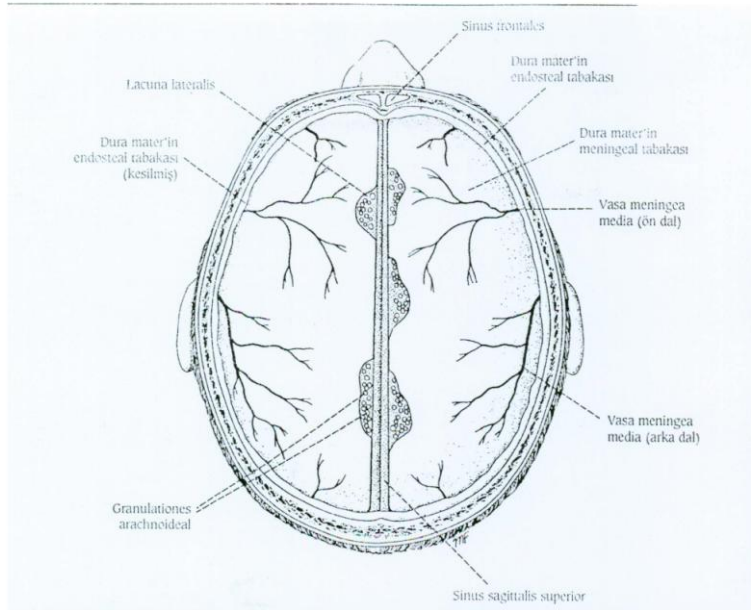
Şekil 2.1 Dura materin anatomik yapısı

2.2. Dura Materin Damarları

Dura matere arteria carotis interna, arteria maxillaris, arteria pharyngea ascendens ve arteria vertebralislerden çok sayıda arter gelmektedir (Snell, 2004). Klinik açısından en önemlisi, kafa travmalarında zarar gören arteria meningeal mediadır. Arteria meningeal media fossa infratemporaliste arteria maxillaristen ayrılır. Cavitas craniye foramen spinosumdan geçerek girer ve duranın endosteal ve meningeal tabakaları arasında uzanır (şekil 2.2 ve 2.3). Arter temporal kemiğin squamoz parçasının üst yüzeyinde bir olukta ileriye ve dış yana doğru ilerler. Ön dal parietal kemiğin ön-alt açısında derin oluklar veya tünellerde ve kabaca beyin gyrus precentralisinin çizgisine uygun olarak ilerler. Arka dal arkaya bükülür ve dura materin arka kısmını besler. Meningeal venler duranın endosteal tabakasında uzanırlar. Vena meningeal media, arteria meningeal medianın dallarını izler ve plexus venosus pterygoideus veya sinus sphenoidalise drene olurlar. Venler arterlerin dış yanlarında uzanırlar.



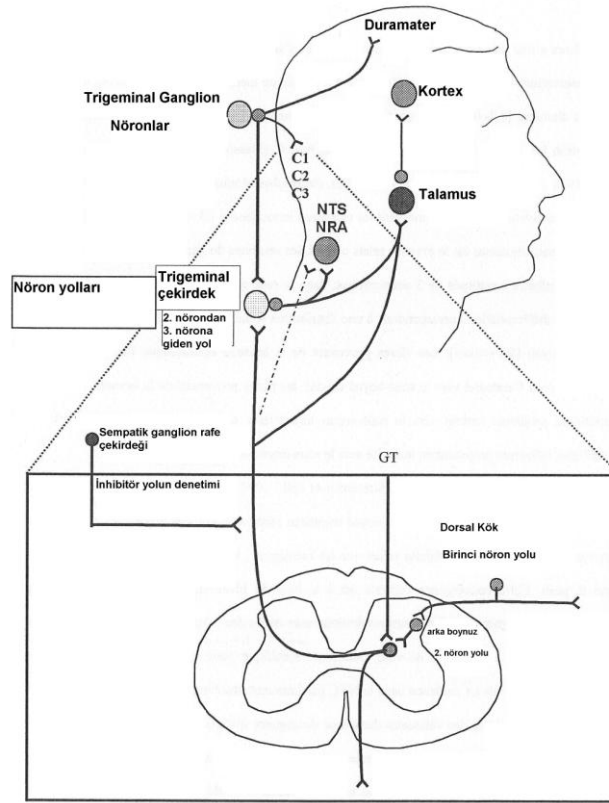
Şekil 2.2 Kafatası ve dura mater tabakalarına giden meningeal damarların ilişkilerinin görüldüğü başın sağ tarafı (Snell, 2000).



Şekil 2.3 Kalvarya ortadan kaldırılmış başın üstten görünüşü. Dura materin endosteal tabakası ortadan kaldırılmış; meningeal tabakanın altındaki sinus sagittalis superior'un iç yüzü ortaya çıkarılmıştır (Snell, 2000).

2.3. Dura Materin İnnervasyonu

Nervus trigeminusun dalları, nervus vagus, ilk üç servikal spinal sinir ve truncus sympathicusun dalları dura matere gelirler (Drake ve ark. 2007). (şekil 2.4). Durada çok sayıda gerilmeye duyarlı duysal sinir sonlanmaları vardır ki dura gerildiğinde baş ağrısı hissedilir, tentorium cerebellinin üst tarafında nervus trigeminusun duysal uçları uyarıldığında başın aynı tarafındaki deri bölgesinde yansıyan ağrı hissedilir. Tentoriumun alt tarafındaki duranın sinir sonlanmaları uyarıldığında boyunun arkasında ve saçlı derinin arkasında nervus occipitalis majorun dağılma alanı boyunca yansıyan ağrı oluşur (şekil 2.4).



Şekil 2.4 Trigeminal nukleusa giden ağrı yolağı

2.4. Dura materi Etkileyen Sensorial, Sempatik ve Parasempatik Sinirler

Sensorial sinirler mukoza çevresinin stimölasyonunu alır, parasempatik ve sempatik reflekse, lokal parasempatik yanıtı ve lokal nöropeptidlerle nörojenik inflamasyona neden olur (Kabakçı, 1999). Sensorial, parasempatik ve sempatik sinirlerin her biri, klasik nöropeptidler içerirler (asetilkolin, norepinefrin v.b.). Sensorial nöronlarda substans P (SP), nörokinin A (NKA), kalsitonin gen-related peptid (CGRP) bulunur. Parasempatik nöronlar başlıca asetilkolin (Ach), vasoaktif intestinal peptid (VIP) iltiva eder. Sempatik nöronlarda ise norepinefrin, nöropeptid Y (NPY) vardır. Bir tek nöronun depolarizasyonu tüm periferik ve santral nöropeptidlerin kombinasyonunun sekresyonunu sağlar. Çünkü bu mediatörler sinerjistik, antagonist veya otoregülatör etki göstereceklerdir. Dura materi etkileyen sensorial, sempatik ve parasempatik sinirler ve nörotransmitterleri tablo 2.1’de toplu halde verilmiştir.

Tablo 2.1 Dura Materi Etkileyen Sensorial, Sempatik ve Parasempatik Sinirler ve Nörotransmitterleri

Trigeminal sinirler	Parasempatik sinirler	Sempatik sinirler
Trigeminal gangliyon	Sfenopalatin gangliyon	Superior servikal gangliyon
a. Takikininler Substans P, Nörokinin A, Nöropeptid K, Nörokinin B	a. Asetilkolin	a. Norepinefrin
b. Calcitonin gene-related peptid	b. Vasoaktif intestinal peptid	b. Nöropeptid Y
c. Gastrin- releasing peptid		

2.4.1. Sensorial Sinirler

İki tip sensorial sinir lifleri fonksiyon yapar. A lifleri, C lifleri. Bu nöronlar inflamatuvar mediatörler, histamin, bradikinin, serotonin, potasyum ve hidrojen ile stimüle edilir. İnflamatuvar reaksiyonda SP çok önemli rol üstlenir. SP, NK 1 reseptörüne bağlanarak etkisini gösterir (Kabakçı, 1999).

NK1 reseptörleri, epitel, damarlar, glandlar ve düz kas hücreleri üzerinde bulunur ve vazodilatasyon, permeabilite artışı, glandüler sekresyon, düz kas kontraksiyonuna neden olur. SP ayrıca postganglionik parasempatik aktiviteyi stimüle eder, kolinerjik nöral yanıtı artırır. SP doğrudan doğruya çeşitli hücrelerin fonksiyonunu modüle eder. T lenfositlerin proliferasyonunu sağlarken, makrofajları aktive eder. Nötrofillerin ve makrofajların fagositozu ve kemotaksisi artar, immunoglobulin M ve A sentezi fazlalaşır. Endotel hücrelerinin proliferasyonunu stimüle eder, monositlerden çeşitli sitokinlerin sentezini artırır (IL-1, IL-6, TNF). NKA bir diğer önemli takikininidir ve düz kas kontraksiyonunda etkisi dominanttır. Takikininlerin sentezini acı biberin baharatı olan kapsaisin ve sigara içimi artırır, yanma hissi ve ağrıya neden olur. Takikinin antagonistleri bir çok kinetik çalışma ile gösterilmiştir. CP 96345 bir reseptör antagonistidir. NK1 reseptörünü bloke ederek SP'nin bağlanmasını önler. Aynı zamanda kalsiyum kanal antagonisti olarak da görev yapar. CGRP sensorial afferent sinirlerde takikininlerle beraber bulunur. CGRP-1 (CGRP) ve CGRP-II (CGRP- β) olmak üzere iki şekilde bulunur ve her iki şekilde de vazodilatatördür. Kalsitonin ile aynı gen tarafından sentezi kontrol edilir. CGRP ve metabolitleri eozinofillere kemotaktiktir. CGRP aynı zamanda antiinflamatuvar etkiye sahiptir. Hidrojen peroksit oluşumunu ve makrofajların antijen sunumunu inhibe eder. GRP, 27 aminoasitli bir peptid olup GRP 10 veya nöromedin C ve bir amfibian peptid olan bombesin ile aynı strükture sahiptir.

2.5. Nervus Trigemini Anatomisi (V. Kranial Sinir)

Nervus trigeminus en büyük kranial sinir olup, hem duyuşal hem de motor lifler içerir. Başın büyük bölümünün duyuşal siniri olan nervus trigeminus, çiğneme

kasları dahil bir çok kasın motor siniridir (Snell, 2000). Genel somatik afferent (GSA) lifleri, yüz ve kafanın ön yarısından, burun ve ağız boşluğunun mukozasından, paranasal sinüslerden, membrana tympanicanın bir kısmından, göz ve konjuktivadan, fossa kranii anterior ve mediadaki dura materden duyu uyarılarını taşır. Branchial efferent (BE) lifleri ise çiğneme kasları, tensor tympani, tensor veli palatini, mylohyoideus ve M. digastricusun venter anteriorunu innerve eder. Nervus trigeminus, ponsun anterolateral yüzünden büyükçe duyu ve daha küçük motor kök halinde çıkar. Bu kökler, fossa krani posteriodan, öne doğru fossa krani mediaya doğru, temporal kemiğin petroz parçasının medial ucu üzerinde seyrederek. Fossa krani mediada sinirin duyu kökü ganglion trigemini olarak genişler. Spinal ganglionlara benzer olarak n. trigeminusun duyu hücre gövdeleri ganglion trigeminalde bulunur. Ganglion trigeminale, temporal kemiğin petroz parçasının ön yüzünde (impressio trigeminalis), duradan oluşan mağarası (cavum meckeli) içerisinde yer alır. Motor kökü ise daha altta yerleşmiştir ve duyu kökünden tamamen ayrıdır. Bu noktada ganglion trigeminalenin ön kenarından n. trigeminusun 3 terminal dalı çıkar. Aşağıdan yukarı doğru:

1. Nervus ophthalmicus (oftalmik dal [V1])
2. Nervus maxillaris (maxillar dal [V2])
3. Nervus mandibularis (mandibular dal [V3])

2.5.1. Nervus Trigeminusun Terminal Dalları

2.5.1.1. Nervus ophthalmicus [V1]

Nervus ophthalmicus [V1], cavernous sinüsün lateral duvarının durası içerisinde seyrederek ve fossa craniyi terk eder ve fissura orbitalis süperiordan orbitaya girer. Nervus ophthalmicus göz, konjuktiva, orbita içeriği, lacrimal bez dahil tüm yapıların duyusunu taşır. Aynı zamanda, nazal boşluktan, sinüs frontalis ve sinüs ethmoidalis, üst göz kapağı, burun sırtı, scalpın ön kısmının duyusunu taşır (Snell, 2000; Drake, 2007; Gökmen 2003).

2.5.1.2. Nervus maxillaris [V2]

Nervus maxillaris [V2], cavernös sinüsün lateral duvarının dura mater i içerisinde m. ophthalmicusun hemen altında öne doğru seyreder, cavitas craniiyi foramen rotundumdan terk eder ve pterygopalatin fossaya girer (Snell, 2000). Nervus maxillaris [V2], fossa crani anterior ve fossa cranii medianın durasından, nasopharynx, damak, burun boşluğu, üst çene dişleri, maxiller sinüsten, burun kanatlarının derisinden, alt göz kapağı, yanak ve üst dudaktan duyu taşır.

2.5.1.3. Nervus mandibularis [V3]

Nervus mandibularis [V3], ganglion trigeminalenin alt kenarından çıkar ve fossa craniiyi foramen ovaleden terk eder (Snell, 2000). Nervus trigeminusun motor kısmı da foramen ovaleden geçer ve n. mandibularisin [V3] duyu kısmı ile craniumun dışında birleşir. Nervus mandibularis [V3] n. trigeminusun motor lif içeren tek dalıdır. Craniumun dışında motor lifleri çiğneme kaslarını- m. temporalis, m. masseter, m. pterygoideus medialis ve m. pterygoideus lateralis aynı zamanda m. tensor tympani, m. tensor veli palatini ve m. digastricusun venter anterior ve m. mylohyoideusu innerve eder. Nervus mandibularis [V3], aynı zamanda yüzün alt kısmının derisinden, yanak, alt dudak, kulak, dış kulak yolu, temporal bölgeden, dilin 2/3 ön kısmından, alt çene dişleri, cellula mastoidea, yanak mukozası, mandibula ve fossa cranii media durasının duyusunu taşır (Drake, 2007).

2.5.2. Nervus Trigeminusun Çekirdekleri

Nervus trigeminusun 4 çekirdeği vardır: *Nucleus principalis nervi trigemini*, *Nucleus spinalis nervi trigemini*, *Nucleus traktus mesencephali nervi trigemini*, *Nucleus motorius nervi trigemini* (Snell, 2000).

Nucleus Principalis Nervi Trigemini; Bu çekirdek ponsun arka bölümünde, nucleus motorius nervi trigemini' nin dışında bulunur. Aşağıya doğru nucleus spinalis nervi trigemini ile devam eder.

Nucleus Motorius Nervi Trigemini; Bu çekirdek pons' ta nucleus principalis nervi trigemini' nin iç tarafında yer alır.

Nucleus Spinalis Nervi Trigemini; Yukarıya doğru ponsa yer alan nucleus principalis nervi trigemini ile aşağıya doğru ise tüm medulla oblongata boyunca uzanarak medulla spinalisin üst bölümünde ikinci servikal segmente kadar ulaşır.

Nucleus Tractus Mesencephalici Nervi Trigemini; Bu çekirdek aqueductus cerebrinin çevresinde, gri maddenin dış parçasında yer alan unipolar sinir hücrelerinin oluşturduğu kolonlardan meydana gelir. Aşağıda pons içine nucleus principalis nervi trigeminiye kadar uzanır.

2.6. Kolinergik Parasempatik Sistem

Sensorial sinir stimülasyonunun en önemli fonksiyonu parasempatik refleksi arttırmasıdır (Kabakçı, 1999). Glossofaringeal, vagal ve spinal yardımcı motor nöronlar, farinks, larinks ve üst özefagus çizgili kas refleksini kontrol eder. Preganglionik parasempatik stimülasyon ile Ach açığa çıkar. Postganglionik parasempatik nöronlardan Ach, VIP ve VIP ile alakalı peptidler senteze edilir. SP ve diğer takikinler, prostoglandin ve diğer lökotrienler artan bir depolarizasyona, NPY, histamin H3, muskarinik M2, adrenerjik $\beta 2$ reseptörleri, depolarizasyonunun azalmasına neden olur. Invivo muskarinik reseptörler Ach aktivitesi gösterirler. Bilinen beş muskarinik reseptörden üçü (M1 -M3) farmakolojik olarak aktiftir. Menengial damarlar parasempatik inervasyonu sfenopalatin gangliyondan alır.

2.7. Adrenerjik Sempatik Sistem

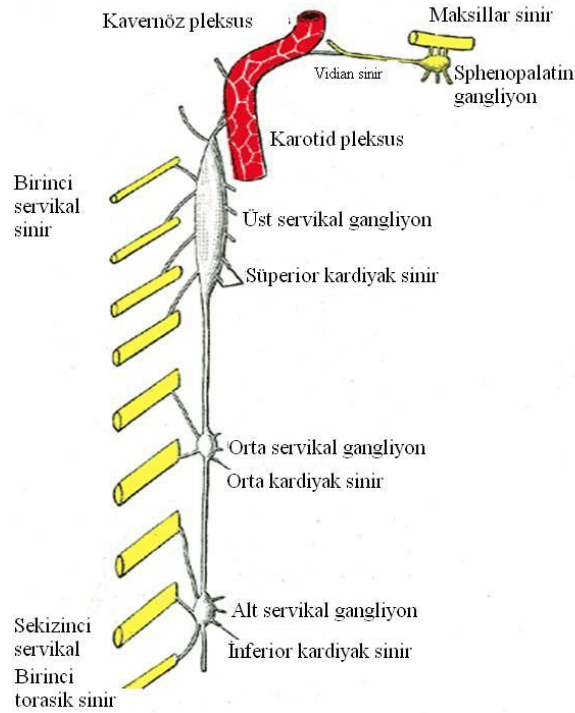
Sempatik sistem, normal deri ve mukozanın egzersiz ve diğer streslere sağlıklı yanıt vermesini kontrol eder (Kabakçı, 1999). Preganglionik sempatik sinir lifleri, üst, orta, alt servikal ganglionun post ganglionik hücreleri ile sinaps yapar. Sempatik refleks vazokonstriksiyona neden olur. Sempatik sinirler norepinefrin ve nöropeptid tirozin Y sentezlerler. Her ikisi de çok güçlü damar spazmına yol açar. Adrenerjik etki alfa ve beta reseptörler aracılığı ile gelişir. Alfa reseptörlerin α -1, α -2, beta reseptörlerin $\beta 1$, $\beta 2$, $\beta 3$, subgrupları bulunur. Norepinefrinin yanında sürrenal medullasından salgılanan adrenalin de fizyolojik dengede önemli rol oynar.

Fizyolojik olarak epinefrin kuvvetli bir düz kas gevşeticisidir Serebral ve menengial damarlar sempatik inervasyonunu superior servikal gangliyondan alır.

2.8. Süperior Servikal Gangliyon

İnferior, middle ve süperior olmak üzere üç servikal sempatik gangliyonun en büyüğüdür (Snell, 2000; Drake, 2007). C I ve C II servikal vertebra bölgesinde büyük bir ganglion cervicale superius, truncus sympathicusun üst ucunu belirler. Bunun dalları şunlardır.

1. A. Carotis externa ve a. Carotis interna tarafında plexus oluşturan sinirler (n. caroticus internus, n. carotici interni)
2. C1-C4 servikal spinal sinirlere giden rami communicantes grisei
3. Pharynx ve larynx'e giden sinirler (rami laryngopharyngei)
4. Kalbe giden n. cardiacus cervicalis superior.



Şekil 2.5 Süperior servikal ganglion (Testut ve Lasarjet 1971).

2.9. Horner Sendromu

Horner sendromu ya da Bernard-Horner syndrome sempatik sinir sisteminin hasarı ile seyreden klinik bir sendromdur. Pupil, üst göz kapağı, fasial ter bezleri ve fasial [damarlara](#) giden sempatik liflerde lezyon biçiminde açıklanır (Snell, 2000; Drake, 2007; Gökmen 2003).

Bu sendromun bulguları şunlardır: (1) Gözbebeğinin daralması (miosis), (2) üst göz kapağının düşmesi (ptosis), (3) enophthalmus, (4) deri arteriollerinin vasodilatasyonu ve (5) terleyememe (anhidrosis) tüm bu semptomlar, baş ve boynun sempatik innervasyonunun kesilmesi ile ortaya çıkar. Patolojik nedenler, hypothalamustan birinci torakal segmentle columna lateralisteki sempatik merkeze inen tractus reticulospinalisin kesilmesine neden olan beyin sapı veya medulla spinalisin servikal bölümünün lezyonlarıdır. Bu lezyonlar multiple sclerosis ve syringomyelide görülür. Ganglion stellatumun bir boyun kaburgası ile çekilmesi veya metastazik lezyonlarda ganglionun katılımı sempatik yolun periferik bölümünü etkiler.

Horner sendromlu tüm hastalarda miosis ve ptosis mevcuttur (Snell, 2000). Ancak birinci nöron (merkezi sinir sistemi içerisindeki tractus reticulospinalis lifleri), ikinci nöron (preganglionik lifler) ve üçüncü nöron (postganglionik lifler) lezyonları ayırt edilmelidir. Örneğin, birinci nöron lezyonuna (merkezi Horner sendromu) işaret eden klinik bulgular vücudun kontralateral hiperestezisi ve vücudun tüm yarısının anhidrozu. İkinci nöron katılımının işaretleri (preganglionik horner sendromu) yüz ve boyunda anhidroz ile yüz ve boynun flaşıdır. Üçüncü nöron katılımının işaretleri ise (postganglionik Horner sendromu) yüz ağrısı veya kulak, burun veya boyun hastalığıdır.

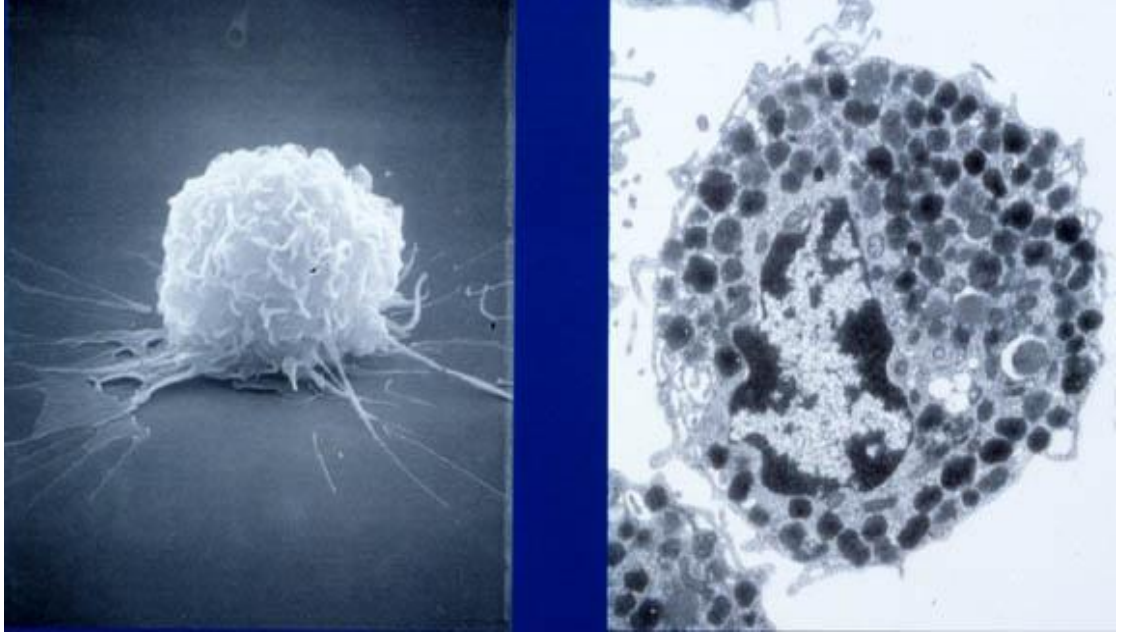
2.10. Dura mater mast hücreleri

Hemen hemen her organda bulunan dura materde bol miktarda bulunan mast hücreleri çok işlevli efektör hücelerdir (Töre ve Tuncel, 2009; Crivellato ve ark., 2003). Mast hücre araştırmalarının tarihi Leipzig Üniversitesi Tıp Fakültesinde bir öğrenci olan Paul Erlich tarafından bu hücrelerin keşfiyle başlamıştır. O, diğer hücrelerden kolaylıkla ayırt edilebilen anilin-reaktif granüler hücreleri gözlemledi ve

onları Yunanca bir kelimeden gelen ve anlamı göğüs (meme) olan “mastos” olarak isimlendirdi. O, bu hücrelerin beslenmeyi sağladığını ve fibroblastlardan orjinlendiğini önermişti. Bilinmektedir ki mast hücreleri, kemik iliğindeki pluripotent hemopoietik hücrelerden orjinlenmektedir ve beslenmeyi sağlamazlar, bununla birlikte bu hücreler dokuların tropizmini içermektedirler. Mast hücreleri uzun ömürlü, tüm damarlanmış dokuların içine geniş bir şekilde dağılmış ve çevresel etkilere maruz kalan yüzeylerin yakınında, ciltte, gastrointestinal ve solunum yollarında özellikle bol bulunmaktadır. Bu dokularda, mast hücreleri, kan damarlarının yanlarında, epitelde, düz kaslar ve sinirlere komşu olarak bulunurlar.

Farklı mast hücre heterojenitesi kemirgen ve insanlarda gözlemlenmiştir. Kemirgenlerde mast hücreleri, bağ doku mast hücreleri (CTMC), mukozal mast hücreleri (MMC) ve ara tip mast hücreleri olarak sınıflandırılmaktadır. Kemirgen mast hücre özellikleri tablo 2.2’de verilmiştir (Metcalf, 1997; Krishnaswamy, 2006). Bununla birlikte insanlarda mast hücreleri, triptaz, kimaz veya hem triptaz hem de kimaz gibi proteaz enzimlerin temeli üzerine sınıflandırılırlar. Triptaz kimaz içeren alt tipi ciltte ve küçük intestinal submukozada, daha fazla bulunur. Kimaz içerenler akciğerde ve ince bağırsak mukozasında bulunur ve böylece en çok kemirgen MMC’sine benzemesi uygundur. Sadece kimaz içeren, intestinal submukozada ve nazal mukozada daha az sıklıkta bulunur.

Mast hücrelerinin geleneksel olarak inflamatuvar oldukları düşünülür. Onlar, hücre yüzeyine, spesifik antijen tarafından çapraz bağlı Fc epsilon reseptör I’e IgE bağlandığında aktive edilirler, araşidonik metabolitlerin, sitokinlerin ve kemokinlerin yeniden sentezini ve mast hücre degranülasyonunu başlatırlar. Bununla birlikte mast hücreleri inflamatuvar cevaplar esnasında nöropeptitler gibi Fc epsilon RI dan bağımsız uyarılara cevap da verebilirler. Mast hücreleri dokunun yeniden şekillenmesini, doku korumasını ve homeostasisi önemli derecede etkilemektedir. Mast hücreleri, yara iyileşmesinin üç fazında, inflamatuvar reaksiyonda, anjiojenesizde ve extrasellüler matrix re-absorbsiyonunda önemli rol oynar.



Şekil 2.6 Mast hücresinin SEM (taramalı elektron mikroskobu) ve TEM (transmisyon elektron mikroskobu) görüntüsü (Theoharides ve ark. 2001).

2.10.1. Mast Hücrelerinin Morfolojik Özellikleri

Mast hücreleri insanda yaklaşık 30 μm , kemirgenlerde 3.5–22 μm büyüklüğünde olup sitoplazmalarında yaklaşık 50–500 salgı granülü içeren hücrelerdir (Ercan ve Çetinel, 2008). (şekil 2.6). Genellikle gastrointestinal sistem mukozasında, solunum yollarında, deride, mesanede ve merkezi sinir sisteminde kan ve lenf damarlarına ve periferik sinir sistemine komşu bölgelerde yerleşirler. Histolojik olarak toluidin mavisi gibi metakromatik boyalarla, kloroasetat esteraz aktivitesiyle, alsiyan mavisi-safranin ikili boyaması ile ve antitriptaz ve anti-kimaz immunohistokimya teknikleri ile gösterilebilirler.

Mast hücreleri doku içindeki lokalizasyonlarına bağlı olarak polihedral, fusiform, oval ve dikdörtgen şekillerinde bulunabilir. Nukleusları da genellikle yuvarlak veya oval olup periferik yayılmış heterokromatini vardır. Mast hücreleri, histokimyasal özellikleri, histamin depolarının durumu, proteoglikan ve nötral proteazları içeren granül durumu ve tetikleyici ve inhibe edici ilaçlara karşı verdikleri yanıtlara göre alt tiplerine ayrılır (tablo 2.2).

Bağ doku mast hücreleri safranin pozitif granüller içerir ve submukozal alanlarda lokalize olurlar, mukozal mast hücreleri de mukozal alanda lokalize olup safranin negatiftirler. Bu iki hücre farklı proteinazları sentezleyebilme yeteneğindedir. Mukozal mast hücreleri interlökin IL-3 ve IL-4'ten etkilenirken bağ doku mast hücreleri bu interlökinlerden etkilenmezler.

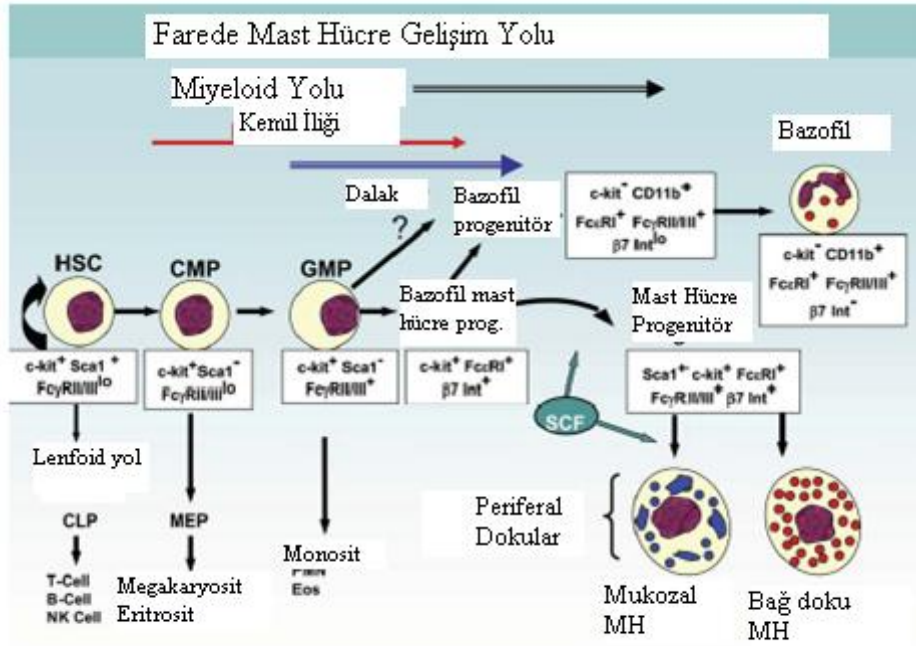
Tablo 2.2 Sıçan mast hücre özellikleri (Metcalf ve ark. 1997)

Özellikler	Periton Boşluğu Mast Hücresi	İntestinal Mukoza Mast Hücresi
Alternatif İsimler	Bağ doku mast hücresi, tipik mast mücresi	Mukozal mast hücresi, atipik mast hücresi
Büyüklik	10-20 µm	5-10 µm
Formaldehit fiksasyonu	Dirençli	Hassas
Boyanma	Safranin	Alcian blue
Gelişiminde T-hücresine bağımlılık	Hayır	Evet
Proteaz içeriği	Kimaz (RMCP I)	Kimaz (RMCP II)
Proteoglikanların moleküler büyüklüğü	Heparin 750-1,000 kDa	Kondroitin sülfat di B 100-150 kDa
Histamin	10-20 pg/hücre	1 pg/hücre
5-Hidroksitriptamin	1-2 pg/hücre	< 0,5 pg/hücre
Prostaglandin D ₂	+	+
Lökotrien C ₄	-	++
Fc,RI agregasyonu tarafından aktive edilmesi	Evet	Evet
Bileşik 48/80 tarafından aktive edilmesi	Evet	Hayır
Substans-P tarafından aktive edilmesi	Evet	Hayır
Sodyum kromoglikat tarafından inhibe edilmesi	Evet	Hayır

RMCP: rat mast hücresi proteazıdır

2.10.2. Mast Hücrelerinin Gelişimi

Mast hücreleri, kemik iliğinde CD34+ pluripotent kök hücrelerden meydana gelirler (Töre ve Tuncel, 2009; Gurish ve Boyce, 2006). (şekil 2.7). CD34+, Fc ϵ RI-, Kit+ olarak kan yoluyla sirküle olurlar; fakat hücreler farklılaşmamıştır ve dokulara göç ederler, burada Kit-Ligand (kök hücre faktörü: SCF olarak da bilinir) ve diğer lokal olarak üretilmiş sitokinlerin varlığında olgunlaşırlar. Mast hücreleri, SCF olmadığında programlanmış hücre ölümüne uğrarlar. Mast hücreleri, fibronektin ve laminin gibi özgül bağ doku komponentlerine yapışırlar. SCF mediyatör salınımını ve mast hücrelerinin bağ doku matriksine adhezyonunu regüle edebilir. Mast hücre gelişiminin düzenlenmesi ve fenotipi üzerine mikroçevre de önemlidir. Farklı lokalizasyondaki mast hücreleri, onların histokimyasal, altyapısal ve fonksiyonel özellikleri bakımından çeşitlilik arz eder. Mast hücresi eksik fareye kültüre alınmış olgunlaşmamış mast hücreleri enjekte edilmiş ve bulundukları dokular için spesifik olgun fenotipler elde edilebilmiştir. Kültüre alınmış mast hücreleri, anatomik yerleşime bağlı olarak ya CTMC ya da MMC fenotipinde mast hücrelerini artırabilir. Sadece alcian mavisi ile boyanmış glandular mide mukozasında gelişmesinin aksine temsilci olarak CTMC (%50-30 WBB6F1-+/+ fareden elde edilen peritoneal mast hücreleri) nin intravenöz enjeksiyonu, kültüre alınmış mast hücreleri ile elde edilenlere benzer sonuçlar vermiştir, mast hücreleri peritoneal boşlukta, ciltte, dalakta ve berberin sülfat ve safranin ile boyanmış WBB6F1-W/W alıcıların glandular mide kas tabakası propriasında gelişmişlerdir (Krishnaswamy ve ark. 2006). Mast hücrelerinin gelişimi şekil 2.7’de şematize edilmiştir.



Şekil 2.7 Mast hücre gelişim yolağı: Mast hücreleri gelişimi miyeloid yol boyunca önce CMP'ler yoluyla sonra GMP' ler yoluyla ilerler. Kemik iliğinde GMP' ler, MCP ve BaP' ların öncüleridir. BMCP' ler sadece dalakta bulunur ve kültürde miyeloid büyüme faktörleri içinde MCP ve BaP' lara farklılaşırlar. HSC: hemopoietik kök hücre; CLP, genel lenfoid progenitör; MEP, megakaryosit eritrosit progenitör; NK, natural killer hücreler (Gurish ve Boyce, 2006).

2.10.3. Mast Hücre Mediyatörleri

Mast hücreleri, çeşitli uyaranlara cevap olarak çok sayıda vazoaktif, nosiseptif ve proinflamatuvar moleküller sekrete ederler. Mast hücrelerinden salınan bazı mediyatörler mast hücrelerinin granüllerinde preformasyon edilir ve depolanır (Töre ve Tuncel, 2009; Krishnaswamy ve ark. 2006; Metcalfe ve ark. 1997). Histamin, serotonin(5-HT), renin, adenozin, heparin, triptaz, kimaz, elastaz, karboksipeptidaz A ve B, katepsin, beta-galaktosidaz, beta-glukoronidaz, matrix metalloproteinaz (MMPs), özellikle MMP-1 ve MMP-9, eizonofil ve nötrofil için kemotaktik faktörler mast hücreleri içinde depolanır ve mast hücre degranülasyonu

üzerine ortama salınır (tablo 2.3 ve 2.5). Diğer taraftan platalet aktive edici faktör (PAF), prostaglandin D2 (PGD2), lökotrien B4 (LTB4), LTC4, LTD4, tromboksan A2 ve B2 gibi çeşitli lipit mediyatörler ihtiyaç anında sentezlenmektedir (tablo 2.5). Dahası, mast hücrelerinin nitrik oksit (NO) ve çeşitli sitokinleri TNF-alfa, İnterferon-gama, interlökin(IL); IL-1,IL-2,IL-3,IL-4,IL-5,IL-6,IL-9,IL-10,IL-13,IL-16, transforming büyüme faktörü (TGF-beta) ve diğer büyüme faktörleri; vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGEF), koloni stimulan faktör (CSF), granulosit-monosit koloni stimulan faktör (GM-CSF), sinir büyüme faktörü (NGF) ve temel fibroblast büyüme faktörü (b-FGF)' nı salgıladığı da bildirilmiştir. Mast hücrelerinden salınan sitokinler ve işlevleri tablo 2.4'te verilmiştir. Mast hücrelerinin degranüle olması onları ölüme götürmez, hem insan hem de kemirgenlerde bulunan mast hücrelerinin, degranülasyonlarını takiben granüllerini yeniden oluşturdukları bildirilmiştir. Mast hücreleri, kortikotropin-releasing faktör (CRF), endorfin (beta-EP), kininler (bradikinin), somatostatin (SS), substans-P, vazoaaktif intestinal peptit (VIP), urokortin (UCN) ve nöromedin U (NMU) gibi nöropeptitleri de içerir. Her bir mast hücre mediyatörü birden fazla fonksiyona sahiptir ve mediyatörlerin biyolojik etkileri birbiri üzerine eklenebilir. Bu mediyatörler mast hücre davranışlarını otokrin etkiyle değiştirirler; komşu sinirleri, endotel ve damar düz kas fonksiyonlarını ise parakrin etkiyle değiştirirler, endokrin etkiyle de organ fonksiyonlarını uzaktan kumanda ederler.

Tablo 2.3 Granüllerinde hazır bulunan bazı mediyatörler ve işlevleri
(Töre ve Tuncel 2009; Theoharides ve ark. 2001; Krishnaswamy, 2006).

Mediyatör	İşlev
Histamin	Damar geçirgenliğini artırır (H1 ve H2) Düz kasları kasar (H ₁) Prostaglandin üretimine katkıda bulunur (H ₁) PMN hücre kemokinezini artırır (H ₁) Eozinofil C3b reseptörlerini artırır (H ₁) Fibroblast ve endotelial hücre büyümesini artırır (H ₁) Baskılayıcı T-lenfositlerini stimüle eder (H2) Bazofil histamin salınımını azaltır (H2) Lenfokin salınımını azaltır (H2) PMN göçünü azaltır (H2) Gastrik asit üretimini artırır (H2) Mukus üretimini artırır (H1 ve H2) Nöronları stimüle eder (H1 ve H3)
Heparin	Antitrombin III ve Platelet faktör IV' e bağlanır kompleman aktivasyonunu azaltır Endotelial hücre göçünü artırır Fibroblast büyüme faktörlerine bağlanır Plazminojen aktivatör, fosfolipaz A2 ve trigliseritlerin salınımını artırır Kollajene fibronektin bağlanmasına katkıda bulunur Tryptaz, kimaz ve nötrofil elastaz aktivitesini düzenler
Kemotaktik Faktörler: ECF-A ECF-Oligopeptidler	Eozinofil ve nötrofillerin deaktivasyonu ve kemotaksisi Eozinofil ve nötrofillerin deaktivasyonu, kemotaktik atraktanı
Tryptaz	Proteolizis, C3a üretimi, yüksek moleküllü kininojenlerin inaktivasyonu
Kimotripsin benzeri proteaz	Proteolizis, anjiotensin dönüşümü
Arilsülfatazlar	Aromatik sülfatların ve sülfonların bölünmesi
N-Aseül B-D Glukozaminidaz	Glukozamin artıklarının ayrılması
B Glukuronidaz	Glukronid artıklarının bölünmesi

Tablo 2.4 Mast hücreden salınan sitokinler ve işlevleri (Töre 2009; Theoharides ve ark. 2001; Krishnaswamy, 2006).

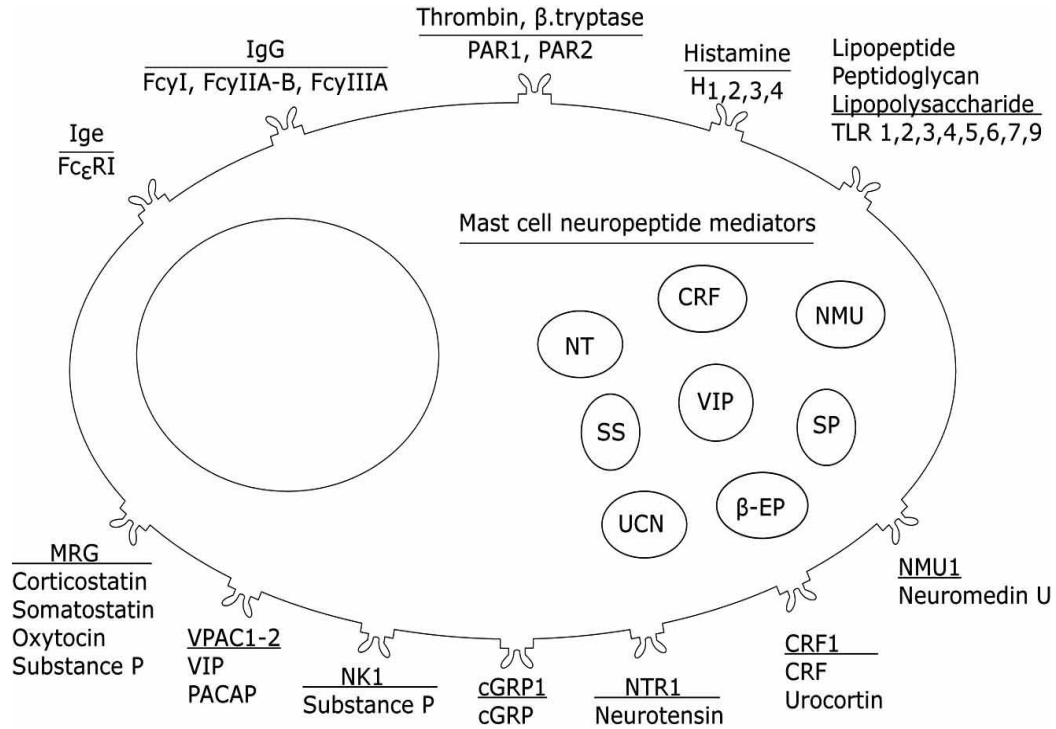
Sitokin	İşlev
TNF- α	Fibroblast büyüme ve kemotaksisini artırır PGE ₂ ve kollajenaz üretimini artırır PMN cell kemotaksisini, fagositozu, ve süperoksit üretimini artırır T hücresi sınıf II antijen and IL-2 reseptör ekspresyonunu artırır Mast hücresinden histamin ve triptaz salınımını artırır Langerhans hücreleri ve endotelyal hücreler üzerinde adezyon molekülü ekspresyonunu indükler Tümör hücresi sitotoksitesini indükler Eizofil sitotoksitesini artırır
IL-4	Fibroblast proliferasyonunu, kemotaksisini ve matrix protein üretimini artırır IgE üretimini artırır B-hücre proliferasyonunu artırır B hücre IL-6 üretimini artırır T-hücre proliferasyonunu artırır Makrofajın yok etme aktivitesini ve sitokin üretimini azaltır
IL-5	Eozinofil kemotaksisini, büyümesini ve hayatta kalmasını artırır
IL-6	IgE üretimini artırır T –hücre büyüme ve farklılaşmasını sağlar Havayolu mukus üretimini artırır
IL-8	PMN hücre kemotaksisini artırır

Tablo 2.5 Gerektiğinde sentez edilen mediatörler (Töre ve Tuncel 2009; Theoharides ve ark. 2001; Krishnaswamy, 2006).

Mediyatör	Fonksiyon
PGD ₂	Vazodilatasyon Damar geçirgenliğinde artış Düz kaslarda kontraksiyon Bronkokonstrüksiyon Nötrofil kemotaksisinde artış Platelet agregasyonunda azalma
LTC ₄ , LTD ₄	Vazodilatasyon Düz kaslarda kontraksiyon Damar geçirgenliğinde artış PG ve LTE ₄ üretimine katkıda bulunur
PAF	Vazokonstrüksiyon Damar geçirgenliğinde artış PMN ve monosit kemotaksisinde artış

2.10.4. Mast Hücre Reseptörleri ve Uyaranları

Mast hücreleri, hücrel cevapların geniş bir spektrumunu başlatan çok sayıda ve farklılıkta yüzey reseptörlerine sahiptirler (Töre ve Tuncel 2009). Bazı reseptörler mast hücre aktivasyonunu module ederken, bazıları inhibitördürler. Aktive edici ana reseptör, Fc-epsilonRI, IgE-bağlı erken hipersensitif reaksiyonlara katılan bir reseptördür. Fc-epsilon-RI bağlı mast hücreleri aktivasyonunu içeren sinyal transdüksiyon yolları yaygın bir biçimde çalışılmıştır. IgE kanda çok kısa yarı ömre sahip olmasına rağmen, mast hücreleri üzerine bağlandığında yarı ömrü 2 aydan uzundur. IgE için yüksek affiniteye sahip reseptörlere ek olarak, mast hücreleri de IgG reseptörleri, Fc-gamaRI, Fc-gamaRIIA ve B ve Fc-gama RIIIA'yı ekspresse ederler. Mast hücrelerinin üzerinde bulunan reseptörler ve bunların ligandları şekil 2.8'de verilmiştir.



Şekil 2.8 Mast hücre nöropeptit mediyatörleri, reseptörleri ve ligandları. NMU; Nöromedin U, CRF; kortikotropin releasing faktör, NT; Nörotensin, VIP; Vazoaktif İntestinal peptit, cGRP; Kalsitonin gene related peptit, NK; Nörokinin, beta-EP; Endorfin, PACAP; Pituitar Adenilat siklaz-aktive edici polipeptit, SS; Somatostatin, UCN; Urokortin, TLR: Toll benzeri reseptör, PAR; Proteinaz-aktive edici reseptör, MRG; Mas related gene, NTR; Nörotensin reseptör (Töre ve ark. 2009).

Mast hücrelerini uyaran birçok faktör vardır. Bunlardan mast hücre degranülasyonuna sebep olanlar arasında öncelikle IgE ve antijenler gelir. Diğer mast hücre uyaranları arasında anafilatoksinler (C3a and C5a), bakteriler (*Escherichia coli*), kimyasallar (deterjanlar, besin katkı maddeleri/ preservative), ksenoöstrojenler, radyolojide kullanılan kontrast maddeler, sitokinler (IL-1, IL-2, IL-4, TNF- α), ilaçlar (lokal anestetikler, nöromusküler bağlantı blokerleri, opioidler), serbest radikaller, büyüme faktörleri (NGF: sinir büyüme faktörü, SCF: kök hücre faktörü), hormonlar (ACTH, CRH, östradiol, parathormon) nöropeptitler (bradikinin, CGRP, NT, SP, VIP, nörotransmitterler (asetilkolin), fiziksel şartlar (soğuk, egzersiz, basınç), radyasyon, toksinler (bakteriler, böcekler, bitkiler, vb) ve virüsler (kızamık, grip vb) sayılabilir (Ercan ve Çetinel, 2008). Mast hücreleri, VIP, nöropeptit Y, SP,

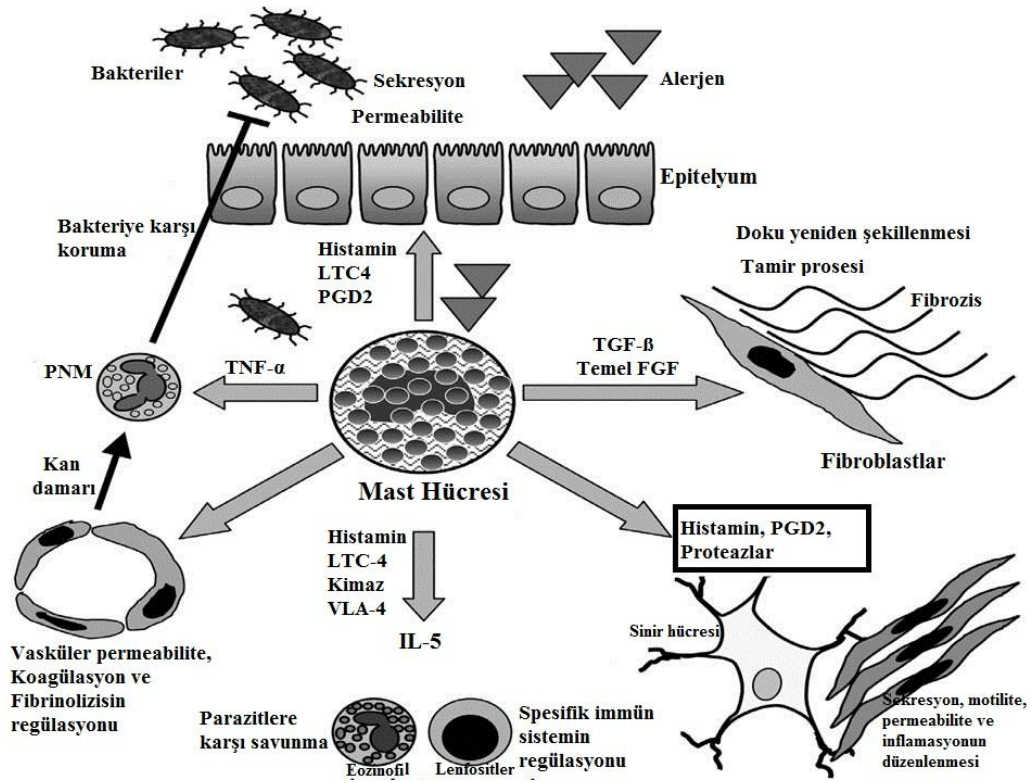
CGRP, proopiymelankortin (POMC), galanin, NMU, putiuter adenilat siklaz-aktive edici polipeptit (PACAP), nörotensin (NT) ve CRF gibi nöropeptitler için de reseptörler eksprese ederler ayrıca bu nöropeptidleri kendileri sentez de edebilir. Sinirlere yakın olarak yerleşmiş mast hücrelerinin üzerinde nöropeptit reseptörleri görmek şaşırtıcı değildir. Bu durum mast hücre davranışının kompleksliğini artırmaktadır.

2.10.5. Mast Hücrelerinin Fizyolojik ve Patofizyolojik Olaylardaki Roller

Mast hücreleri üreme işlevlerine de katılmaktadır. İnek uterusunda miyometriyum, perimetriyum ve endometriyum dokularında östrüs ve diöstrüs dönemlerinde mast hücre sayılarının değiştiği gösterilmiştir (Eren ve ark. 1999). Aydın ve Tuncel, sıçan östrüs siklusunda beyin, uterus ve ovaryum mast hücrelerinin siklusun evrelerine göre sayılarını ve içeriklerini değiştirdiğini göstermişlerdir (Aydın ve Tuncel, 1998).

Mast hücrelerinin yara iyileşmesinde de fizyolojik rolleri vardır; yara iyileşmesinde etkili olan büyüme faktörlerinden TNF ve lökosit kaynaklı büyüme faktörü (LDGF) ilgili başka hücreler tarafından salgılanmasının yanında mast hücreleri tarafından da salgılanmaktadır. Yara iyileşmesi sırasında görülen hipertrofik skar oluşumunda yine mast hücrelerinin rolleri vardır. Yara iyileşmesinin inflamasyon fazında yaraya substrat girişi sağlanması için mast hücrelerinden histamin salgılanarak vazodilatasyon ve kapiller permeabilite artışı olur.

Mast hücreleri erken tip aşırı duyarlılık reaksiyonlarında santral rol oynarlar. Mast hücrelerine Fc parçalarıyla tutunmuş olan IgE bir antijenle karşılaşp çapraz bağ oluşturunca, kalsiyumun hücre içine girmesine neden olan biyokimyasal olaylar zinciri başlar. Hücre membranı aktive olur. cAMP düzeyi artar, mast hücrelerinde daha önce üretilip, depolanmış veya yeni üretilen mediatörlerin salınımı gerçekleşir (şekil 2.9). Böylece immün yanıtın erken fazı oluşur. Bu dönemde oluşan semptomlar mast hücrelerinin bulunduğu organa ve içerdiği mediatörlere göre değişir.



Şekil 2.10 Mast hücrelerinin Fizyolojik olaylardaki rolleri (Maurer ve ark. 2003)

Mast hücreleri dahili non-alerjik hastalıkların fizyopatolojilerinde aktif rol oynamaktadırlar (He, 2004). Örneğin, kronik obstrüktif pulmoner hastalığı, bu hastalıkta epitelyal ve bronşiyal bezlerde mast hücre hiperplazisi ve bronko alveolar lavaj sıvısında histamin ve triptaz salınımı bulunmuştur; kor pulmonale hastalığı, bronşektazi hastalığı, akut solunum sıkıntısı sendromu, bronşiolitis obliterans organize pnömoni, kistik fibrozis hastalığı, interstisyel akciğer hastalığı, silikozis hastalığı, sarkoidoz hastalığı, akciğer kanserinde mast hücre hiperplazisi, tüberkülozda mast hücre degranülasyonu, gastrit, karsinom, chron hastalığı, karaciğer sirozu, hepatit, pankreatit, ateroskleroz, miyokard infarktüsü, konjenital kalp hastalığı, miyokardit, kardiyomiyopati, diyabet, tiroidit, osteoporoz, glomerulonefrit, multipl skleroz, romatoid artrit, osteoartrit gibi hastalıklarda da mast hücrelerinin rol oynadığı saptanmıştır.

2.10.6. Mast Hücreleri ve Nöropeptitlerin Çift Yönlü Etkileşimi

Biyolojik sistemlerde uzaysal ilişkiler kaçınılmaz çift yönlü etkileşimi doğurur (Töre ve Tuncel, 2009; Dimitriadou ve ark. 1987). Mast hücreleri ile sinirler her dokuda çok yakın komşuluk içindedir. Mast hücre sinir iletimini etkileyebilmekte, sinir hücreleri mast hücre davranışını değiştirebilmektedir. Ekstrem bir örnek olarak, mast hücre granül içeriği, transgranülasyon yoluyla duysal sinirlere girebildiği gösterilmiştir. Böylece mast hücreleri duysal geçişi değiştirebilirler. Bu, mast hücreleri ve nöropeptitlerin karşılıklı etkileşiminin tanımlanmasına yeni bir boyut kazandırmıştır. Nöropeptitler nörotransmitter maddelerin iyi bilinen geniş bir sınıfını temsil ederler, alışılmışın dışında farklı fonksiyonları modüle ederler. Nöropeptitler hem periferik nöronlarda hem de merkezi sinir sisteminde ve de mast hücrelerinde üretilirler. Nöropeptitler, plazma ekstrasvazasyonunu, ödemi, sitokinlerin salınımını, iyileşmeyi ve inflamatuvar hücrelerin proliferasyonunu modüle etmektedirler. Diğer taraftan onlar, sağlıklı doku üzerinde ve hasarlı dokunun tamiri esnasında trofik etkilerini gösterirler.

Nöropeptitlerin iltihaplanmış dokuda büyüme faktörleri gibi davrandığı önerilmiştir (Töre ve Tuncel 2009). İnflamasyonda çift yönlü fonksiyonları vardır, kroniklik ve doku iyileşmesi arasındaki dengeyi ayarlayabilirler. Nöropeptitler, periferik ve santral düzeyde nosisepsiyon üzerinde önemli etkilere sahiptirler. İnflamasyonda nöral gelişmeler üzerine bilgilerin artması nörojenik inflamasyon fikrine götürmektedir, durum böyle olunca nöropeptitler, mast hücreleri ve mast hücre mediyatörleri parakrin aktivasyonun üçlü şa  ayağını oluşturmaktadırlar

2.11.C-fos Geni ve Fos Proteinleri

c-fos geninin transkripsiyonunu ilk kez 1984 yılında Mike E. Greenberg ve Ed B. Ziff büyüme faktörleri (growth faktörler) ile stimüle ettikleri fibroblastlarda gösterdiler (Keklikoğlu, 2004). c-fos geninin transkripsiyonu, hücreleri etkileyerek büyüme ve farklılaşmayı sağlayan çok sayıda etken tarafından hızla ve geçici olarak sağlanır. Bu yüzden c-fos geni hücrede herhangi bir uyarana karşı ilk yanıt veren genlerdendir (Immediate-Early Gene, IEG veya Early Responses Gene, ERG). Bu

gruba giren genler hücre büyümesi (growth), çoğalması (proliferasyonu), farklılaşması (differansiasyon) ve hücrenin programlı ölümü (apoptosis) ile ilgili transkripsiyon faktörleridir. IEG (İmmediate-Early Gene) grubundan olan c-fos geni çekirdeksel (nüklear) bir transkripsiyon faktörüdür ve nüklear üçüncü ulak veya hücrel işlevler yönünden ana anahtar (cellular master switch) olarak düşünülmektedir. Bir diğer tanımlama ile 'çekirdeksel protoonkojen (nuclear protooncogene)' olan c-fos hücre çoğalması ve farklılaşması sırasında, gen ekspresyonunun aşamalı düzenlenmesi ile ilgilidir. Fos proteinleri bu c-fos geninin ürünü olan çekirdek proteinleridir. Bunların hücredeki ekspresyonu ve birikimi herhangi bir etki olmaksızın görülebilir ancak bu ekspresyonu ve birikim çeşitli uyarılara yanıt olarak hücre aktivasyonu ile birlikte artar.

Fos proteinleri yine bir IEG olan c-jun geninin ürettiği Jun proteinleri ile birlikte transkripsiyon faktör kompleksi Activator Protein-1 (AP-1) in komponentleri olarak birlikte işlev görürler. Fos proteinlerinin ekspresyonu tipik olarak geçicidir. Ancak bu ailenin bazı üyelerinin ekspresyonundaki yüksekliğin devamının kronik stimülasyonlar tarafından uyarıldığı rapor edilmiştir. Bu Fos benzeri (Fos-like) proteinler Fra (kronik-Fos akrabası antijen, chronic-Fos related antigen) olarak adlandırılırlar. AP-1 (Activator Protein-1); Fos proteinleri (c-Fos, Fos B, Fra 1 ve Fra 2), Jun proteinleri (c-Jun, Jun B ve Jun D) ve bazı ATF proteinlerinden (ATFa, ATF-2 ve ATF-3) oluşmuştur. Fos proteinleri, Jun proteinleri ile stabil dimerler oluşturur. Oysa Jun proteinleri homodimerler veya Fos ve ATF proteinleri ile heterodimerler oluşturabilir. Bütün AP-1 proteinleri fosfoproteinlerdir ve hiperfosforilasyon ve defosforilasyon onların DNA-bağlanma ve transaktivasyon aktivitelerini etkileyebilir. AP-1 Kompleksin üyeleri değişik gen ekspresyonlarını modüle ederler. Bu komponentler çoğalma, farklılaşma, programlı ölüm ve onkojenik transformasyon gibi çok sayıda hücrel süreçlerle kritik olarak ilgilidir.

2.11.1. c-fos İşlevi

c-fos transkripsiyonu çok çeşitli mitojenler ve farklılaşmayı uyaran maddeler tarafından uyarılabilir ve bağımsız olarak yeni protein sentezi meydana getirir (Keklikoğlu, 2004). Bu yüzden bu tür genler protoonkojenler ve bunların ürünü olan

proteinler de onkoproteinler olarak adlandırılırlar. Kanser gelişiminde Fos proteinlerinin katkısı olduğu bilinmektedir. Bazı tümör tiplerinde c-fos ve c-jun düzeyinin arttığı gösterilmiş ve bu artışın artan hücre çoğalmasının bir kanıtı olacağı için tümör oluşmasında (tümorogenesiste) önemli bir rol oynadığı ileri sürülmüştür. Ancak protoonkojenler yalnız kötü huylu gelişim (malignite) ile birlikte değildir, normal büyüme ve farklılaşmayı da düzenlerler. Gelişimsel anomalilerin protoonkojenlerin uygun olmayan aktivasyonu ile yüksek düzeyde onkoprotein üretmelerine veya protoonkojenlerin anormal üretimine yol açan bir mutasyona bağlı olabileceği ileri sürülmüştür.

Tüm AP-1 proteinleri büyüme faktörlerine hücre sel yanıtın bazı yönlerini düzenlerler. c-fos Protoonkojeninin büyüme faktörleri (GF) tarafından oluşturulan uyarıların hücre dışı ortamdan hücre çekirdeği içine iletilmesinde temel rolü oynadığına inanılmaktadır. c-fos bazı uyarı çeşitlerini takiben ilgili nöron topluluklarının çekirdeklerinde Fos proteinlerini uyarır. Bu yüzden c-fos gibi IEG'lerin ekspresyonunun merkezi sinir sisteminde nöronal aktiviteyi yansıtan bir model olduğu düşünülür ve nöronal aktivite göstergesi olarak kullanılırlar. Bu özelliğinden hangi etkinin, merkezi sinir sistemindeki hangi nöronlarda aktivite değişikliği yaptığının saptanmasında yani nöronal haritalama yönteminde yararlanılır.

c-fos gibi IEG'lere NGF (Neuron growth factor) aksiyonu için gereksinim olduğu ve örneğin hasarlanmış retinal ganglion hücrelerinin rejenerasyonlarıyla ilgili olduğu, bu yüzden nöronların canlılığını sürdürmesi ve rejenerasyonunun anlaşılması için c-fos'un düzenlediği biyolojik olaylar zincirinin kesin tanımlanmasına çok gereksinim olduğu bildirilmektedir. c-fos Hücrelerin hücre dışı değişikliklere vereceği yanıtın büyüklüğünü saptamada da fonksiyonel bir gösterge (marker) olarak yaygın kullanılır.

2.11.2. Etki Mekanizmaları

c-fos'un transkripsiyonu bazı nörohormonal etkilerle İntron 1 de lokalize olan intragenik bölge tarafından kontrol edilir (Keklikoğlu, 2004). Bu kontrolde etkin olan CRE (cAMP/Ca²⁺ response -yanıt- element) ve SRE (serum response -yanıt- element) dir. Bunlar çeşitli hücre dışı uyarılara yanıtta c-fos transkripsiyonunun

düzenlenmesi için gereklidir. GF, c-fos ERK (Hücre dışı uyarı ile ilgili kinaz, extracellular signal related kinase) aktivasyonu yoluyla uyarır. SRE (serum response-yanıt-element) değişik büyüme ve gelişimi uyaran sinyaller yoluyla c-fos'un transkripsiyonal aktivasyonundan sorumludur. SRE ile SRF (serum response-yanıt-factor) arasındaki etkileşim bu transkripsiyonun düzenlenmesinde önemlidir.

c-fos Transkripsiyonu büyüme faktörleri ile uyarıldıktan sonra 10 dk. içerisinde en üst düzeye ulaşır ve TRE (tetradecanol phorbol acetate-yanıt-element) aracılığı ile hedef genlerin transkripsiyonunu aktive eder. PEK (Proenkephalin) ve TH (tyrosine hydroxylase) genleri c-fos' un potansiyel hedefleridir. Pek çok hücre dışı etkenin c-fos transkripsiyonunun hızlı ve geçici olarak artmasını sağlamasına karşın, bazı geçici, nöral ve hormonal stimülasyonla bu transkripsiyonun azaltılabileceğini gösteren çalışmalar vardır. Örneğin, somatostatinin c-fos ekspresyonu ve MAP-kinase (Mitojenle aktive edilmiş protein kinaz,) aktivitesini baskılayıcı etkisi olduğu gösterilmiştir. Ayrıca hücrenin yaşlanmasıyla AP-1 transkripsiyon faktörün kompozisyonunda ve DNA bağlanma kapasitesinde önemli değişiklikler olur. Hücresel yaşlanma; gen ekspresyonundaki proliferatif kapasite değişiklikleri, c-fos'un serumla uyarılabilirliğindeki bozukluk ve SRF'nin bağlanma aktivitesindeki bozukluk gibi çok sayıdaki fenotipik değişikliklerle karakterizedir. Bu değişiklikler yaşlı hücrelerde transkripsiyonun potansiyel aktivatörü olan c-fos ekspresyonunu azaltan etkenlerdir.

Sonuç olarak, c-fos geni ve Fos proteinlerinin growth faktörleri, mitojenler ve pek çok hücre dışı etkenle ekspresyonunun artması ve bu artışın hücredeki büyüme, çoğalma, farklılaşma ve programlı ölüm gibi çok önemli biyolojik süreçlerle ilgisi yüzünden, bu gen ve proteinler özellikle doğumsal anomalilerin, onkogenik transformasyonun ve normal gelişimin değerlendirilmesi yönünde yapılacak hücresel ve genetik çalışmalarda önemli bir anahtardır. Ayrıca c-fos aktivitesi nöronal aktivasyonu göstermesi açısından nöronal işaretleyici olarak kullanılmaktadır (Keklikoğlu, 2004).

2.10. Migren Tanımı

Migren çeşitli nörolojik, gastrointestinal ve otonomik değişikliklerle karakterize primer epizodik baş ağrısı bozukluğudur. Tıbbi ve popüler literatüre göre, baş ağrısı tetikleyicileri, rahatlatan faktörler ve migren bileşenlerini oluşturan baş ağrısı, aura, prodrom, bulantı, kusma iyileşme ve ailevi eğilim gibi özellikler tanımlanmıştır (Patterson ve ark.1993).

2.12.1. Migren Fizyopatolojisi

Migren fizyopatolojisine dair bugüne kadar çok sayıda teoriden bahsedilmiştir; teknolojinin ilerlemesi ve klinikte teşhis için ileri düzeyli teknolojik cihazların ortaya çıkması ve dünyanın değişik yerlerinden bilim adamlarının entegre olarak çalışması ile geliştirilmiştir.

Migren fizyopatolojisinde son yıllara kadar vasküler teori hakimdi; ancak son zamanlarda bunun yerini entegre nörovasküler teori almıştır. Vasküler teoriye göre migren belirtileri kranyal damarlardaki vazospazm ve vazodilatasyon ile ortaya çıkmaktadır. Nörovasküler teoriye göre ise öncelikle nöronal aktivasyon olur ve buna vasküler değişiklikler eşlik eder (Lewis, 2003). Yine bu teoriye göre nöronal aktivasyon sonucu ağrıya duyarlı kan damarları genişlemekte ve bu da trigeminal nükleusta sinirsel aktivasyona yol açmakta ve ağrı gelişmektedir. Bu yaklaşımın sonucu olarak trigeminal sinirden nöropeptitlerin salınımını önlemek üzere yeni antimigren ilaçları geliştirilmiştir. Migren ağrısının oluşmasında iki mekanizmanın olduğu düşünülmektedir, bunlar; Meningeal damarlarda nörojenik inflamasyonun oluşması ve santral ve periferik trigeminal sinirin afferentlerinin daha duyarlı hale gelmesi.

Trigeminal sinir oftalmik dalı aracılığı ile pia, araknoid ve dura materdeki damarları, intrakranial damarların proksimalini yoğun bir biçimde innerve etmektedir (Çağırıcı, 2005). Trigeminal aksonların ve ağrı duyusunu taşıyan reseptörlerin damar çevresindeki yerleşimi nedeniyle meninksler ve büyük damarlar ağrıya duyarlı iken trigeminal inervasyondan yoksun beyin parankiminde ağrı duyusu bulunmamaktadır. Küçük çaplı trigeminal sinir liflerinin bir kısmı aksonal dallanma nedeniyle hem pia-

araknoid (orta serebral arter) hem de dural damarları (orta meningeal arter) innerve etmektedir. Trigeminal sinirin periferik aksonlarının aktivasyonu ağrı duyusunu trigeminal gangliona ve santral aksonları aracılığı ile 2. nöronlarını oluşturan C2'den bulbusa dek uzanan trigeminal nucleus kaudalise (TNC) iletir (şekil 2.4). Periferik trigeminal aksonların aktivasyonu bir yandan da antidromik olarak içerdiği nöropeptidlerin (CGRP, substance P, Nörokinin A) perivasküler alana salınması ile vazodilatasyon, kan akımı artışı ve protein ekstrasvazasyonuna yani nörojenik inflamasyona neden olur (şekil 2.11).

Bu vazodilatasyon ve ödem perivasküler trigeminal aksonların daha fazla uyarılmasına ve beyin sapındaki trigeminal nükleusta artmış *c-fos* ekspresyonuna yol açarak daha fazla ağrıya yol açmaktadır. Bugün migren modellerinde nörojenik inflamasyonun varlığı gösterilmiştir. Etkin bir tedavi edici ilaç olan triptanlarla nörojenik inflamasyon bloke edilmektedir. Ataklar sırasında CGRP düzeylerinin yüksek bulunması da periferik trigeminal aktivasyonun bir göstergesidir. Ağrının TNC'den ön beyin bölgelerine iletilmesi sırasında beyin sapındaki çoklu sinaptik bağlantıları nedeniyle superior salivator nükleus uyarılmakta pterigopalatin ve otik ganglia aracılığı ile parasempatik aktivasyona (NO ve VIP salınımı) ve bu yolla da vazodilatasyona neden olmaktadır. Ağrı duyusu TNC'den çıkarak beyin sapında orta hattı çaprazlayıp trigeminal lemniskusu oluşturarak talamusta sonlanır, daha sonra birincil somatosensoriyel korteks ve singulat kortekse ulaşır. Ağrıya eşlik eden afektif ve emosyonel durumdan ise parabrakial nükleus, talamusun intralaminar nükleusu, amigdala ve insuler korteksi içine alan farklı bir yolağın aktivasyonu sorumludur.

Beyin sapı yapılarının migren atakları sırasında aktive olduğu pozitron emisyon tomografi (PET) ve fonksiyonel manyetik rezonans görüntüleme (fMRG) çalışmalarıyla gösterilmiş, buna dayanarak beyin sapının migren jeneratörü olabileceği de öne sürülmüştür. Trigeminovasküler nosiseptif uyarıların akomodasyonunda lokus seruleus ve dorsal rafe çekirdekleri gibi aminerjik beyin sapı çekirdeklerinin önemli rol oynadığı görüntüleme çalışmalarıyla ortaya çıkarılmıştır. Bu yapılar serebral kan akımını düzenleyebilmekte ve kortikal nöronal uyarılabilirliği etkileyebilmektedir (Bolay ve ark., 2002). Trigeminovasküler sistemi dolaylı veya doğrudan etkilemesiyle de ağrının ortaya çıkabileceği bir ihtimal olarak

görülmektedir. Ancak başka bazı ağırlı durumlarda da aynı beyin sapı bölgesinde aktivasyonun gözlenmesi, söz konusu bölgenin migrene ne kadar özgül olduğunun sorgulanmasına yol açmıştır. Görüntüleme yöntemleri ile saptanan beyin sapı aktivasyonu ağrının modülasyonu ile daha ilişkili gibi görünmektedir.

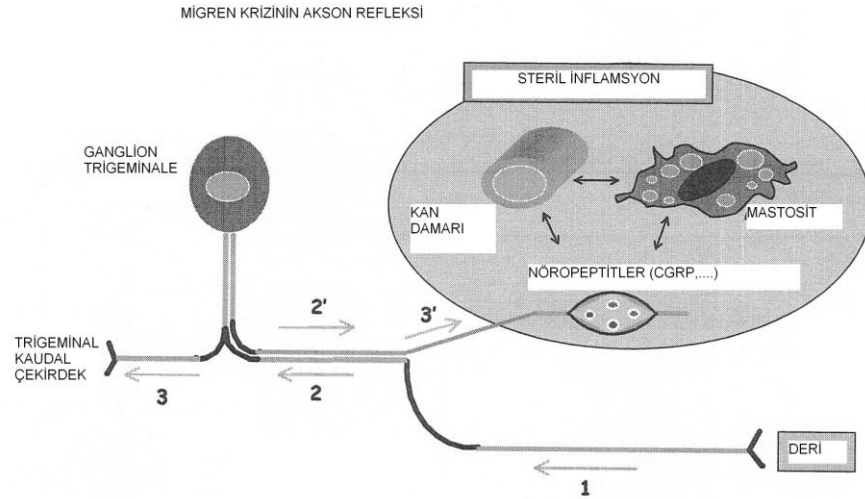
Migren patofizyolojisine açıklık getiren bir diğer gelişme de serotonin reseptörlerinin alt tiplerinin ve dağılımlarının keşfi ile birlikte vazokonstriktör özellikleri nedeniyle kullanılan ergot alkaloidlerinin 5HT-1B/D reseptör agonisti olduğunun anlaşılmasıdır. Daha sonra bu reseptörlerin spesifik agonisti olan triptanlar etkin migren ilaçları olarak geliştirilmiştir. 5HT-1B/D reseptörleri trigeminal akson uçlarında yoğun olarak bulunmakta ve trigeminal aktivasyonu ve dolaylı olarak nöropeptid salınımını ve nörojenik inflamasyonu inhibe etmektedir. Ergotamin, dihidroergotamin ve sumatriptan 5-HT_{1A} reseptörü agonisti olup akut migren tedavisinde etkilidir. Migrende koruma tedavisinde kullanılan pizotifen, metiserjid ve siproheptadin de 5-HT₂ antagonisti olarak etkisini göstermektedir. Migrenli olguların beyinlerinin nitelik ve nicelik açısından migrenli olmayan olgulardan farklı olduğu düşünülmektedir. Migrenli hastalarda transkranial manyetik stimülasyonla yapılan çalışmalarda beyinin uyarılma eşiğinin daha düşük olduğu ve antiepileptik ilaçlardan valproatla bunun normale çevrildiği gösterilmiştir. Bu değişiklikler özellikle auralı migrenlilerde daha belirgin saptanmıştır.

Migren genetik olarak multifaktoriyel bir hastalık olarak ele alınmaktadır. Oldukça heterojen bir hasta grubunun olması da genetik çalışmaları güçleştirmektedir. Ancak auralı migrenin en ağır formunu oluşturan otozomal dominant geçen ailesel hemiplejik migren hastaları gibi homojen alt grupların genetik incelemesi hastalığın patogenezeine ait çok önemli keşiflerin yapılmasını sağlamıştır. Ailesel hemiplejik migren hastalarında yaklaşık ailelerin yarısında 19. kromozomda yer alan nöronal P/Q tipi kalsiyum kanallarının α -1a alt ünitesini kodlayan CACNA1A genindeki missense mutasyon mevcuttur. Son zamanlarda ikinci AHM gen (AHM2) mutasyonu 1. kromozomda (1q23) Na/K-ATPaz geninde saptanmıştır. Diğer kanal patolojilerinin de migren patofizyolojisinde yer alması olasıdır. Aurasız migrende daha farklı genlerin etkilenebileceği düşünülmektedir (Çağırıcı, 2005).

2.12.2. Nörojenik İnflamasyon ve Migren

Moleküler farmakolojideki önemli son ilerlemeler nörojenik inflamasyondaki moleküler yolları aydınlığa kavuşturmuştur (Peroutka, 2005). Trigeminal nöronlardan endotelin-3 (ET-3) ve takikinin salınımı, endotelial hücreler üzerindeki endotelin reseptör tip-B ve takikinin reseptör-1 in aktivasyonu yoluyla dural vasküler permeabiliteyi ve vazodilatasyonu tetiklemektedir.

Endotelial hücre reseptör stimülasyonu hücresel kontraksiyona ve plazma protein extravazasyonuna neden olmaktadır ki bu nitrik oksitle indüklenmiş vazodilatasyonun ve nörojenik inflamasyonun en tanınmış göstergesidir. Aksine, trigeminal nöronlardan kalsitonin CGRP salınması (nörojenik inflamasyon fizyolojik komponentinin bir anahtarıdır) vasküler permeabiliteyi etkilememekte; fakat vasküler düz kasların direkt gevşemesi (endotelium bağımsız) yoluyla nörojenik vazodilatasyonu indüklemektedir (şekil 2.11).



Şekil 2.11 Migren krizinin akson refleksi. 1,2,3: anterograd ağrı duyusunun duyuşal liflerle taşınması; 2' ve 3': retrograd nörojenik (steril) inflamasyon oluşumu.

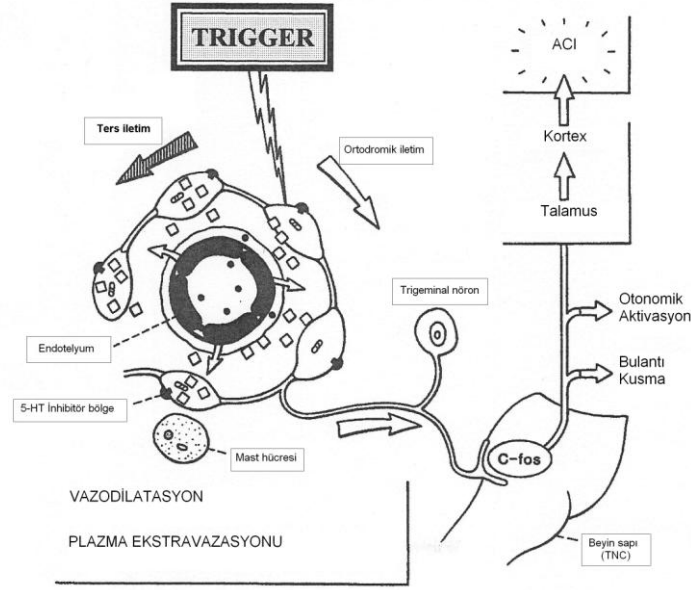
1910'da Bruce, deneysel hayvan modellerinde konjuktival keseye hardal yağı uygulanmasının inflamasyon ürettiğini ve bunun duysal sinir ablagasyonu ile bloklanabildiğini göstermiştir (Bruce, 1913).

Bu ilk, duysal nöronla indüklenmiş reaksiyon çalışmaları, nörojenik inflamasyon fikrine götürdü, bu durum hem vazodilatasyon hem de artmış vasküler permeabiliteye istinaden periferde kapsaisine duyarlı duysal nöronlar tarafından nöropeptitlerin "retrograd" salınımından meydana gelmektedir. Nörojenik inflamasyon böylece, sinir sistemi tarafından tetiklenen inflamasyonun fizyolojik bir prosesi olarak fark edildi. Lokal kan akışı ve vasküler permeabilitenin küçük lifli duysal nöronlar (C lifleri ve bazı A δ lifleri) tarafından modülasyonu olmaktadır. Moleküler seviyede bu modülasyon, SP, NKA, ET-3 ve CGRP nöropeptitlerin periferik salınımı tarafından ayarlanmaktadır. Kemirgenlerde duysal sinirlerin direk kimyasal, termal veya elektriksel stimülasyonu, vazodilatasyon ve takikinler tarafından hakim olarak modüle edilen vasküler permeabilite değişikliklerini tetiklemektedir.

Nörojenik inflamasyon ve migren arasındaki olası ilişki ilk kez Dalessio tarafından önerilmiştir o, migrenin steril lokal inflamator reaksiyon ile ilişkili vazodilatasyonun bir sonucu olarak meydana geldiğini belirtmiştir (Dalessio, 1974). 1984'te Moskowitz migren baş ağrıları için bir mekanizma önerdiğinde bu ilişkiyi genişletmiştir ki trigeminal terminallerden substant-P veya diğer nöropeptitlerin depolarizasyonla indüklenmiş salınımını içermektedir ve akson refleksi ile bu nöropeptitlerin vasküler permeabiliteyi artırdığı ve serebral kan damarlarını dilate ettiği kabul edilir (şekil 2.11). Migrenin nörojenik inflamasyon teorisi (Moskowitz ve Macfarlane, 1993) nörojenik inflamasyon hayvan modellerinin geliştirilmesiyle önemli derecede ilerletilmiş olup bu modeller sayesinde kimyasal, elektriksel veya immünolojik uyarmayı takiben PPE ortaya çıkarıldı. Vasküler permeabilite değişiklikleri inflamasyon ile tutarlıdır ve trigeminal nöronlardan salınan substans-P tarafından tetiklenir, bunun CGRP tarafından indüklenen nörojenik vazodilatasyonda sınırlayıcı veya önemsiz bir rolü olması yönüyle migren patofizyolojisinde anahtar bir rol oynadığı farz edilir. Migren patofizyolojisinde esas bir bileşen olarak nörojenik inflamasyonun devam eden geniş çapta kabulüne rağmen migren

patofizyolojisinde dural nörojenik inflamasyonun kesin rolü çözüme kavuşmuş değildir. Bazı etkili antimigren ajanlar hayvanlarda trigeminal stimülasyonu takiben dural nörojenik inflamasyonu inhibe etmektedir. Son on yılda, çeşitli tartışmalara rağmen migrende nörojenik inflamasyonun ilişkisi geliştirilmiştir. Bu tartışmalar, sayısız ilaçlar hayvanlarda nörojenik inflamasyonun PPE bileşenini bloke etmesine dayanmaktadır. Nörojenik inflamasyon iki fizyolojik koldan meydana gelmektedir, yani, plazma protein ekstrasvazasyonu ve nörojenik vazodilatasyon. Trigeminal nöronlardan nöropeptitlerin salınmasını farklı ajanlar uyabilir veya inhibe edebilir.

Hem endotelyum hem de vasküler düz kaslar farklı olarak nörojenik inflamasyona katkıda bulunabilir. Örneğin endotelyum bir haberci olarak NO kullanılması yoluyla vazodilatasyonu ilerletebilir aksine vasküler düz kaslar ise direk olarak vazodilatasyona katkıda bulunabilir. Migrende nörojenik inflamasyonun iki farklı fizyolojik bileşenin anlaşılması migren patofizyolojisinin daha iyi anlaşılmasına olanak verecektir ve bu bilgi migrenle mücadele terapötik ajanları daha iyi kullanmada öğretici olabilir. Migrende nörojenik inflamasyonun objektif bir değerlendirmesi nörojenik inflamasyonun insan şartlarında çeşitli laboratuvar modellerinden elde edilen bilgiyi değerlendirme kabiliyeti sağlamalıdır. Şekil 2.12' de nörojenik inflamasyonun komponentleri şematize edilmiştir.



Şekil 2.12 Nörojenik inflamasyonun componentleri (Moskowitz ve Macfarlane, 1993)

Kemirgenlerde periferik duyuşal sinirlerin uyarılmasını takiben postkapiller venüllerde PPE (şekil 2.12) ortaya çıkmaktadır. PPE'ye arteriollerin dilatasyonundan kaynaklanan artmış kan akımı eşlik eder. Mast hücre mediyatörleri bu olaya aracılık etmektedirler. CGRP ve SP' nin farklı moleküler mekanizma yoluyla vazodilatasyonu indüklemesinin aksine PPE için sorumlu mediyatör SP'dir. Belirli bir biçimde nörojenik inflamasyonun PPE bileşeni, postkapiller venüllerin ve toplardamarların endotelial hücreleri üzerinde Tacrl'in takikinin aktivasyonu sonucudur. Tacrl aktivasyonunun ikincisinde endotelial aralıklar (Diameterde 0,5-1,5 mikron) plazma proteinlerinin ekstravazasyonuna izin vermektedir. SP'ye cevapta oluşan bu aralıklar, endotelial hücrelerin intersellüler bağlantılarında yerleşmişlerdir ve tamamen geri dönüşümlüdürler. SP ile indüklenmiş vazodilatasyon, endotelium bağımlıdır ve NO salınımından kaynaklanmaktadır. Gen nakavt çalışmaları, takikininlerin nörojenik inflamasyonun PPE bileşeninin primer

mediyatörleri olduğu konusunda bilgi vermektedir. Örnek olarak, fare preprotakinin A (Tac1) geninin kesilmesi hem SP hem de nörokinin-A (NKA) üretimi için alternatif splaylara uğrayabiliyor, nörojenik inflamator cevapları bozuyor; fakat non-nörojenik inflamatuvar uyarıyı etkilemiyor. Farede Tac1 eksikliğinde, nörojenik inflamasyonun minimum olduğu bildirilmiştir, öyle ki fare kulağına kapsaisinin topikal uygulamasını takiben PPE son derece azalmıştır. Bu gözlemlerle tutarlı olarak farede Tac1 eksikliği, kapsaisine cevapta PPE gelişiminde başarısız olmuştur.

2.12.3. Nörojenik İnflamasyonda CGRP ile İndüklenmiş Nörojenik Vazodilatasyon

CGRP duysal nöronlardan salınan güçlü bir vasodilatördür, sıklıkla takikin ve ET-3 ile sinkronizedir ve nörojenik vazodilatasyonun (NV) primer mediyatörüdür (Peroutka, 2005). NV kemirgenlerde nörojenik inflamasyonu indükleyen uyarı (ters uyarma, kapsaisin) tarafından indüklenebilmesine rağmen o ilk önce CGRP ile indüklenmiş vasküler düz kasların gevşemesi ile ayarlanır. Daha belirgin bir biçimde, CGRP, G proteini ile birleşmiş vasküler düz kas üzerindeki adenil siklaz stimülasyonuna bağlı reseptörlerin direk uyarılması yoluyla NV'yi indüklüyor. Böylece CGRP'nin vasodilatör etkisi insanlarda endotelyuma bağlı değildir. Migren patofizyolojisinde nörojenik inflamasyonun varsayılan rolü ilk kez 35 yıl önce önerildi. Hipotez, migrenin dura içinde ikinci bir infkasyonla sonuçlanan trigeminal duysal nöronlardan SP ve diğer nöropeptitlerin salınımı ile karakterize edilmesi durumunu geliştirdi. Bu hipotez geniş çapta ilerledi, fakat tamamlanamadı, 1990'da kabul edildi ve 10 yıldan daha fazla süredir imkan dahilinde migrene yeni terapatik yaklaşımların geliştirilmesine yardımcı oldu. Çoğunlukla, presinaptik trigeminal nöron terminalleri üzerinde yerleşmiş inhibitör reseptörlerin uyarılmasıyla oluşan dural nörojenik inflamasyonun farmakolojik inhibisyonu üzerinde çalışıldı. Bununla birlikte bu G-protein kenetli reseptörler (5-HTR1B, ADRA1A) tüm duysal nöropeptitlerin salınımını inhibe etmektedir.

Sonuç olarak bu mekanizma hem PPE'yi hem de NV'yi bloke etmektedir. Böylece tüm duysal nöropeptit salınımının presinaptik inhibisyonu yoluyla hareket eden farmakolojik ajanlar hem PPE hem de NV'yi inhibe etmektedir. Aksine, NI'nın

PPE ve NV bileşenlerini farklı şekilde inhibe edebilen farmakolojik yaklaşımlar tespit edilmiştir. Böyle ajanlar NI' nin fizyolojik bileşenlerinden birinin veya her ikisinin analiz edilip edilemeyeceğini mümkün kılar, bu da migren patofizyolojisini içerir. Örneğin, kemirgenlerde nörojenik inflamasyon, üç farklı farmakolojik yaklaşım ile inhibe edilebilir, selektif olarak PPE'yi inhibe eder; fakat CGRP ile indüklenmiş NV' yi etkilemez. Spesifik olarak, ilaçlar endotelial hücreler üzerindeki TACR1 ve EDNRB reseptörlerini bloke eder, endotelial hücre aracılı PPE ve vazodilatasyon indüklenmesinden takikininleri ve ET-3'ü selektif olarak önler; fakat CGRP salınımı tarafından indüklenen NV üzerine hiçbir etkiye sahip değildir. Üçüncü bir farmakolojik mekanizma, CP-122,288 ve 4991W93 gibi ajanları içerir ki bu ajanlar trigeminal nöronlar içinde ekstrasözasyon reseptörleri etkisi göstererek PPE'yi önlerler; fakat NV'yi önleyemezler. Bu üç mekanistik yaklaşımın hepsi insan migren çalışmalarında araştırıldı. Toplamda sekiz farmakolojik ajan geliştirilmiştir ki bunlar prelinik kabiliyette dural PPE'yi selektif olarak inhibe etmekte; fakat trigeminal indüklenmiş NV'yi inhibe edememektedirler. Bu ajanlar "Migrenin Nörojenik İnflamasyon Teorisi" ile son derece ilişkilidirler çünkü onların PPE' yi inhibisyon yeteneği var; fakat NV'de inhibisyon yeteneği yoktur, eğer PPE migren patofizyolojisinde bir rol oynuyorsa onlar insanlarda antimigren ajan olarak etkili olabilirler. Böylece bu ilaçlar, "Migrenin Nörolojik İnflamasyon Teorisi"ni test etmede kullanılan ekipmanın güçlü bir setini oluşturmaktadır.

Migren patofizyolojisinde CGRP ile indüklenmiş NV'nin bir rolü olduğu, selektif CGRP reseptör antagonisti kullanılarak yapılan klinik çalışmalar sonucu desteklenmiştir. Olcegepantin başladıktan sonra 6 saate kadar migren akut tedavisinde etkili olduğu bildirilmiştir (Sixt ve ark., 2009). Migrenli 126 hastada BIBN 4096 BS'in uluslararası, çok merkezli, rastgele klinik denemesinde hastalar ya plasebo almışlar ya da 0,25 ve 10 mg arasında intravenöz olarak 10 dakikayı aşkın peryotlarda BIBN 4096 BS almışlardır. Bir grup sıralı uyarlanmış tedavi işi dizaynında minimum sayıda hasta, bu tedaviye maruz bırakılacak şekilde kullanıldı. 2,5 mg doz önemli bir cevap oranı uyandırdı (plasebo, $p=0,001$). BIBN 4096 tüm bir grup olarak %60 oranında bir cevaba sahipti. Pozitif bir etki 3 dakika sonra ortaya çıktı ve sonraki birkaç saat içinde arttı. Tüm yan etkilerin oranı 2,5 mg ilaç dozundan sonra %25'ti. Ciddi yan etki yoktu. Araştırmacılar, akut migren atağı tedavisinde

CGRP antagonisti BIBN 4096 BS'nin etkili olduğu sonucuna vardılar (Peroutka, 2005).

Günümüzde kullanılan nörojenik inflamasyon hayvan modelleri, dura materin mekanik, kimyasal ve elektriksel uyarılmasını içermektedir. Bunun için kafatasını açmak gerekmekte ve oldukça invazif modellerdir.

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Abant izzet Baysal Üniversitesi, Hayvan araştırmaları yerel etik kurulu tarafından etik onay alınmıştır (04.03.2009, 2009/04).

Çalışma Abant İzzet Baysal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklenmiştir. [Proje numarası: 2009.08.01.321].

3.1. Gereç ve Yöntem

Çalışma için 20 adet Sprague-Dawley erkek sıçan “Kobay deney hayvanları laboratuvarı AŞ” Ankara’dan temin edildi. Seyahat ve yeni ortama adaptasyon için bir hafta Fizyoloji laboratuvarında isteği kadar yem ve su tüketerek 12 saat karanlık 12 saat aydınlık periyotlarında tutuldu. Çalışma için sıçanlar 4 gruba ayrıldı. Bunlar:

1. Sempatektomize: 6
2. Sham-opere: 6
3. Kontrol: 6
4. Pozitif kontrol: 2

3.2. Hayvan Gruplarına Uygulanan İşlemler

3.2.1. Sempatektomize

Ketamin (ketalar, Pfizer, 60 mg/kg), Xylazine (Rompun, 5 mg/kg) intramüsküler uygulanarak sıçanlar anestezi edildi. Enjeksiyonu takiben sıçanların acıyı hissetmediği geri çekme refleksi ve kornea refleksi ile kontrol edildikten sonra, steril laboratuvar şartlarında boynun ventral kısmından girilerek 1 cm açıldı. Daha sonra arteria karotisin bifurkasyon yaptığı alan bulundu ve bunun altında olan sol süperior servikal sempatik ganglion preganglionikleri ve postganglionikleri kesilerek çıkarıldı, bu işlem resim 3.1’de gösterilmiştir. Sonra 3/0 sütür ile kapatıldı. 2 saat sonra anesteziden uyanan hayvanlar bireysel kafeslere konarak yem ve su verildi ve 5 gün takip edildi. Operasyonun başarılı olup olmadığı operasyondan sonra uyanan sıçanların sol göz kapaklarının düşmesi (ptosis) ile kontrol edildi. Resim 3.2’de sol süperior servikal gangliyonu çıkarılmış sıçanın sol gözünde ptosis olduğu görülmektedir.



Resim 3.1 Sempatektomi işlemi: Süperior servikal gangliyonun çıkarılması



Resim 3.2 Sol göz kapağı düşmüş sıçan (ptosis)

3.2.2. Sham-Opere

Rastgele seçilen 6 sıçan anestezize edildi. Boynun ventral kısmından disekte edildi, sol süperior servikal sempatik ganglion bulundu ve ganglion çıkarılmadan açılan boyun bölgesi tekrar dikildi. 2 saat sonra anesteziden uyanan hayvanlar bireysel kafeslere konarak yem ve su verildi ve 5 gün takip edildi.

3.2.3. Kontrol

Hiçbir işleme tabii tutulmadı.

3.2.4. Pozitif kontrol

İki sıçana trigeminal nükleus kaudaliste c- fos immnohistokimyasal işaretlemeyi test etmek üzere Nozaki ve ark. tariflediği iki farklı model uygulandı. (Nozaki ve ark. 1992). Nazal mukozanın kimyasal zararlı madde ile stimülasyonu beyin sapının trigeminal nükleus interpolaris' inde özellikle subnükleus kaudalis' in lamina I ve II'sinde c-fos ekspresyonu ile sonuçlanmaktadır (Herrera, 1996). Birinci modelde nazal mukozaya % 5'lik 50 µl formalin uygulandı ve ikinci modelde 0,3 ml non-heparinize otolog kan tüberkülin şırınga ile bir dakika boyunca sisterna magna içine yumuşak bir kateter (0,28 mm internal diameter) ile enjekte edildi (1 ml). Sonra bazal sisterna içinde kanın kolay akmasını kolaylaştırmak için hayvanlar 30 dakika baş aşağı tutuldu. 40 dakika sonra sıçanlar perfüze edildi.

Deneyler tamamlandıktan sonra 5. günde tüm sıçanlara intrakardiyak perfüzyon-fiksasyon işlemi uygulandı.

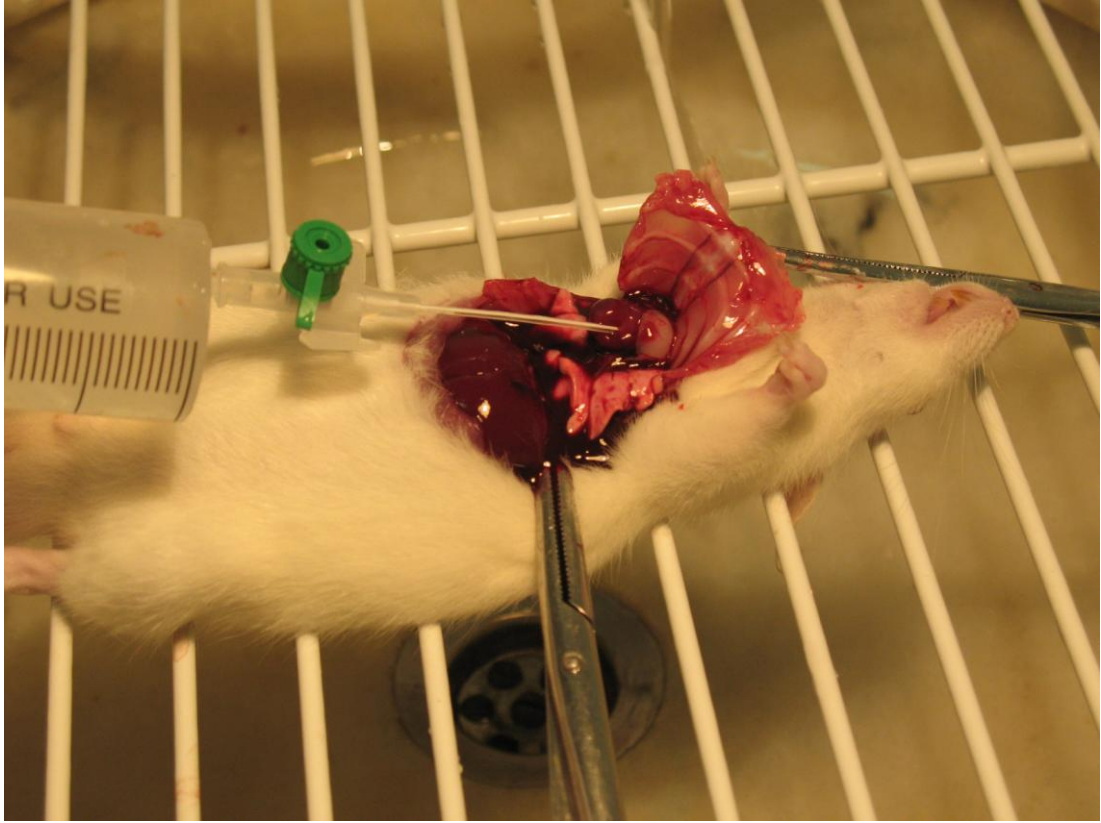
3.3. Perfüzyon-Fiksasyon

Bütün gruplar aynı perfüzyon işlemine tabi tutuldu. Perfüzyon işlemi için PBS (fosfat buffer saline ph:7,4) ve % 4'lük paraformaldehit (PAF) kullanıldı. Solüsyonlar uygulama esnasında taze olarak hazırlandı.

PBS' in hazırlanışı:

1. NaCl 8 gr./L
2. KCl 0,2 gr./L
3. NaH₂PO₄ 1,44 gr./L
4. KH₂PO₄ 0,24 gr./L pH:7,4

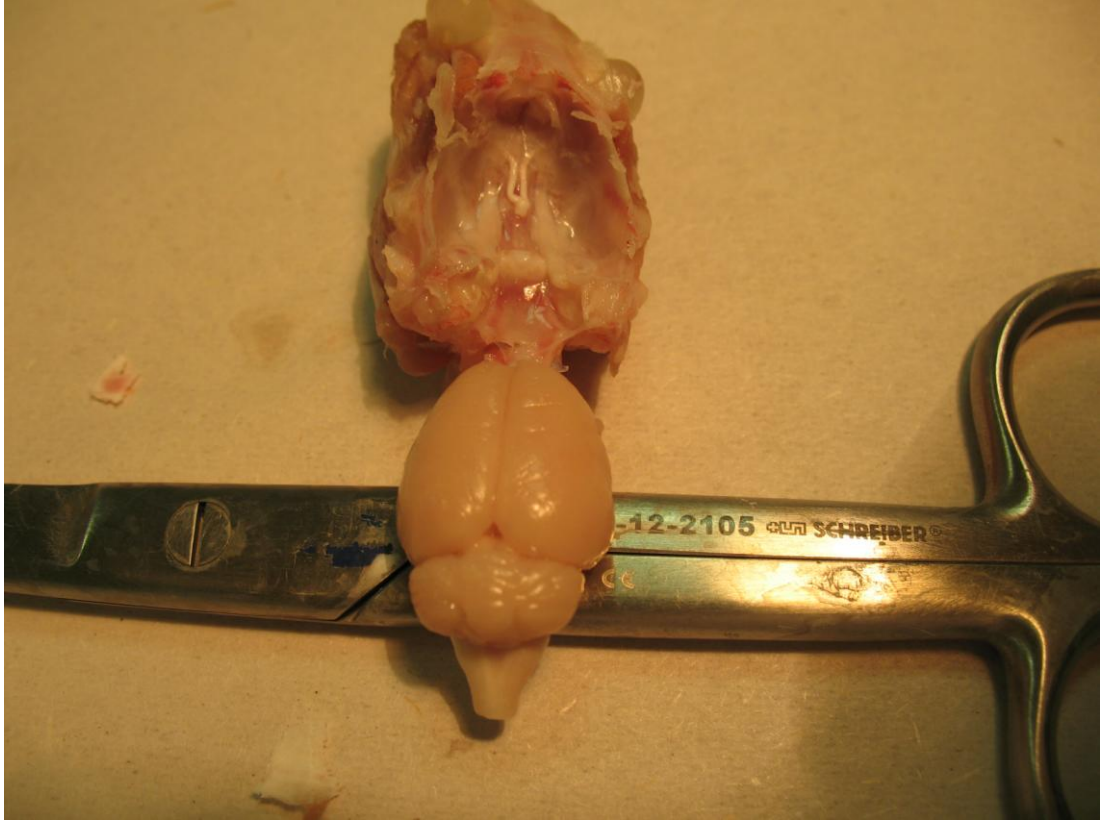
Bir litre PBS kaynatılarak ve 40 gr. PAF eklenerek çözünmesi sağlandı. Elde edilen çözeltiden 100 ml. ve PBS' den 50 ml. her bir hayvanın perfüzyonunda kullanıldı. Perfüzyon işlemimde önce anestezi uygulandı sonra hayvan sırt üstü yatırıldı ve thoraks bölgesinden açılarak kalbe ulaşıldı. Sadece beyin ve beyin sapı perfüzyonunu sağlamak için abdominal aorta ve inferior vena kava klemple sıkıştırıldı. Sol ventrikül apeksten kateterize edilip önce 50 ml PBS yavaş bir şekilde 1 saat süreyle perfüze edildi. Ardından 100 ml %4'lük soğuk PAF iki saat boyunca verildi. Aşağıdaki resimde perfüzyon işlemi görülmektedir.



Resim 3.3 Perfüzyon işlemi

3.4. Dura mater ve Beyin Sapının Eksizyonu

Perfüzyon işlemi tamamlanan sıçanların kafaları kesilerek kafa derileri yüzüldü ve medulla spinalis tarafından yaklaşılarak ince uçlu bir pensle kafatası, dura matere zarar vermeden uzaklaştırıldı. Önce dura mater, sonra da beyin sapı çıkarılarak daha önceden hazırlanmış olan ve içinde % 4'lük PAF bulunan şişelere konularak etiketlendi. Resim 3.4'te dura materi çıkarılmış sıçan beyni gösterilmiştir.



Resim 3.4 Dura materi çıkarılmış sıçan beyni

3.5. Dura materin Boyanması

Fiksatiften çıkarılan her bir dura mater, lam üzerine alınarak tüm doku yayma preparatlar yapıldı. Preparatlar boyama kabının üzerine yerleştirilerek mast hücrelerini gözlemlemek için Toluidin mavisi ile boyama yapıldı.

Boyama prosedürü:

1. Stok Toluidin mavisi solüsyonundan 5 ml. ve % 1'lik NaCl çözeltisinden 45 ml. karıştırıldı ve glisayel asetik asit ile pH: 2,5'e ayarlanarak 50 ml. boyama solüsyonu hazırlandı.
2. Fiksatiften çıkarılan dura materleri yıkamak üzere 1L. PBS hazırlandı.
3. Dura materler fiksatiften çıkarıldı ve PBS ile yıkama yapıldı.
4. Boyama kabının üzerine yerleştirilen lamalar üzerine, dura materleri kaplayacak kadar Toluidin mavisi solüsyonu damlatıldı ve 10 dak. inkübe edildi.
5. Üç kez distile su ile yıkandı.
6. % 95' lik alkolde 1 dak. bekletildi.
7. % 100' lük alkolde 1 dak. bekletildi.
8. Xylene' de 1 dak. bekletildi.
9. Üzerine entellan damlatılarak lamel ile kapatıldı.

3.6. Dura Mast Hücrelerinin Sayılması

Dura materdeki mast hücreleri, 10x objektif ile Olympus CX21 ışık mikroskopunda her preparat için 5 sol taraf ve 5 de sağ taraf olmak üzere toplam 10 alanda sayıldı, granüle, degranüle durumları 40X objektif ile değerlendirildi ve fotoğraflar çekildi.

3.7. Beyin sapı preparatlarının hazırlanması ve kesitlerin alınması

Histolojik doku takibi yapıldıktan sonra parafin bloklar hazırlandı. Bu bloklardan mikrotomla 10 µ kalınlığında beyin sapının trigeminal nucleus caudalis (TNC) bölgesinden kesitler alınarak polizinli lamalar üzerine yerleştirildi. Doğru yerden kesitlerin alınması için sıçan anatomi kitabından alınmış ve sıçan beyninin trigeminal nukleus kaudalis bölgesini gösteren beyin haritalarından yararlanılmıştır (Paxinos ve Watson 1997). İlk blokta 10 kesitte Hematoksilen eozin boyama ile doğrulama yapılmıştır.

3.8. İmmünohistokimyasal Boyama Prosedürü

Bu prosedür trigeminal nucleus caudalis' te herhangi bir nörojenik inflamasyon durumunda veya nosisepsiyon sırasında ekspresyonu artan proto-onkojenlerden olan *c-fos*'un ekspresyon ürününü gözlemlemek amacıyla yapılmıştır. Mitsikostas ve ark.'larının boyama prosedürü modifiye edilerek kullanılmıştır (Mitsikostas ve ark., 1998).

Boyama Prosedürü:

1. Polizimli lamalar üzerine alınan TNC kesitleri deparafinizasyon-dehidratasyon işlemlerine tabi tutuldu:
 1. Etüvde 60 dak. bekletildi.
 2. Xylene' de 3 dak. bekletildi.
 3. Xylene ve % 100' lük alkolde 3 dak. bekletildi.
 4. % 100' lük alkolde 3 dak. bekletildi.
 5. % 96' lık alkolde 3 dak. bekletildi.
 6. % 70' lik alkolde 3 dak. bekletildi.
 7. % 50' lik alkolde 3 dak. bekletildi.
 8. Distile su ile yıkama yapıldı.
2. İstenmeyen antijenler, preparatlar sodyum sitrat buffer (10 μ M 2,94 gr./L. % 0,05 Tween, pH: 6)'dan geçirildi, 350 Watt mikrodalga fırında 5 dak. bekletilerek maskelendi.
3. Kesitler, 0,1 M PBS (Sigma P3280) ile 2 kez 10' ar dak. yıkandı.
4. Kesitler, % 4'lük BSA (bovine serum albumine, Sigma A4553) ve % 0,25 tritonun PBS içinde ile hazırlanan solüsyonda 30 dak. bekletildi.
5. Kesitler, blok solüsyonla dilüe edilmiş primer antikor ile bir gece inkübe edildi (PBS 0.1 M; 0.1 % BSA; 0.3% Triton X-100; 2% serum (anti *c-fos* 1/5000, Abcam, AB 62147)
6. Ertesi gün kesitler PBS ve % 0,025 triton ile hazırlanan solüsyonla 3 kez 15'er dak. yıkandı.
7. Kesitler, % 0,05 H₂O₂' in, A solüsyonu (PBS + % 0,025 triton + % 1 BSA) içinde 5 dakika bekletildi.
8. Kesitler, PBS ve % 0,025'lik tritonla hazırlanmış solüsyonla 1 kez yıkandı.

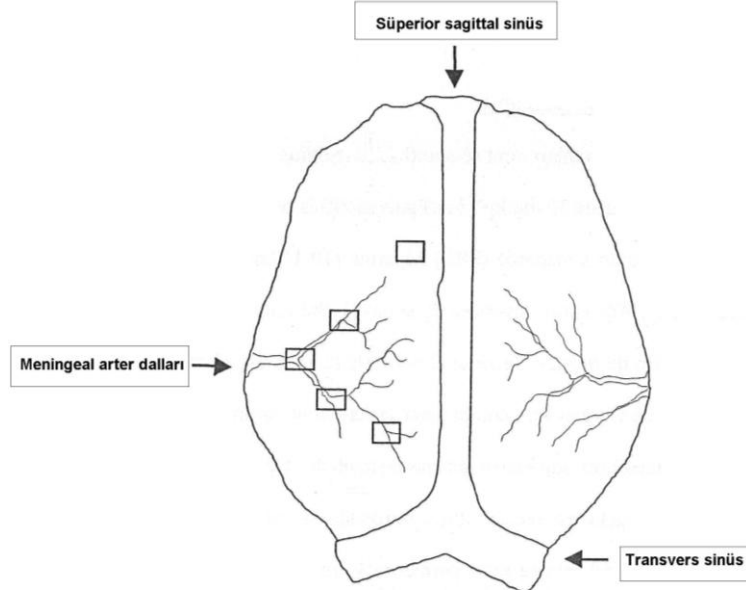
9. Kesitler, A solüsyonunda sekonder antikorun (Anti-sheep 1/2000, Abcam AB 6895) çözünmesiyle elde edilen solüsyonda 2 saat inkübe edildi.
10. Kesitler, PBS ile 3 kez 15'er dak. yıkama işlemine tabi tutuldu.
11. Kesitler, 2 saat ABC (Vector laboratuar, PK 7200) solüsyonunda inkübe edildi.
12. Kesitler, PBS ile 3 kez 5'er dak. yıkama işlemine tabi tutuldu.
13. Diamino benzamid (DAB % 40'lık Sigma D 0426) kromojeni ve % 0,003 H₂O₂' ile 5 dakika inkübe edildi.
14. Kesitler sırasıyla dehidrate edildi.
 1. Distile su 2 dak.
 2. % 70' lik alkol 2 dak.
 3. % 90' lık alkol 2 dak.
 4. %100' lük alkol 2 dak.
 5. Xylene 2 dak.
15. Kesitler, entellan ile kapatıldı.

Kesitlerde c-fos pozitif nöron sayısı, olympus CX21 ışık mikroskobu ile sayıldı ve fotoğrafları çekildi.

4. BULGULAR

4.1. Mast hücreleri

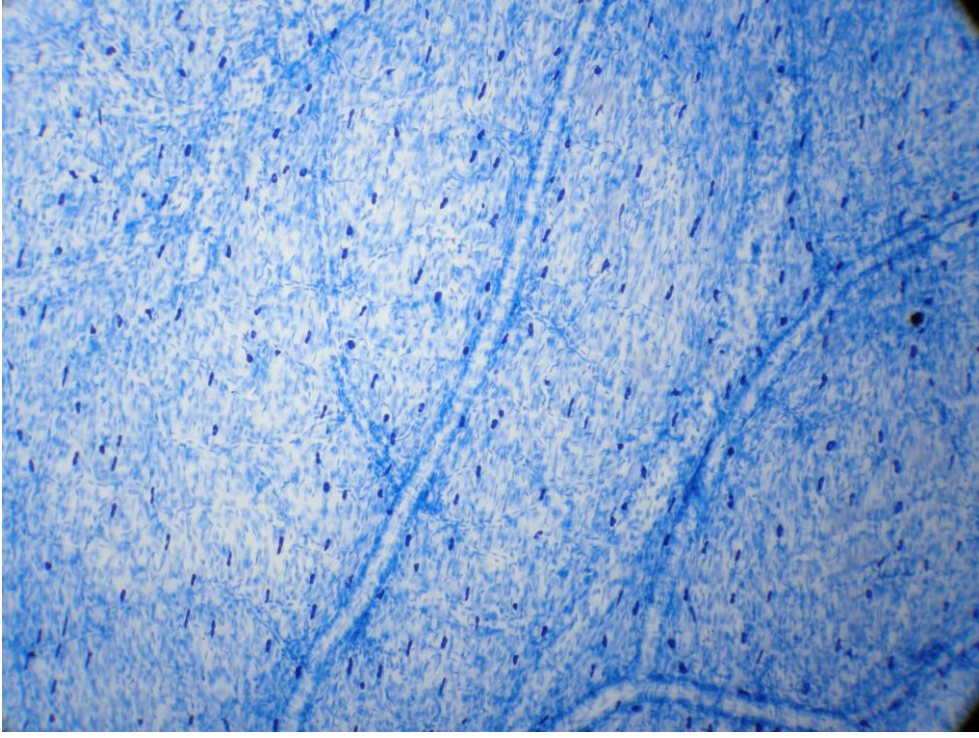
Dura mater mast hücreleri sayımı Toulidine mavisi ile boyamasından sonra sol ve sağ durada her bir preparat için 5'er alanda 10'luk oküler ile yapılmıştır. Meningeal damarlar referans alınarak seçilen sayım alanları şekil 4.1'de verilmiştir.



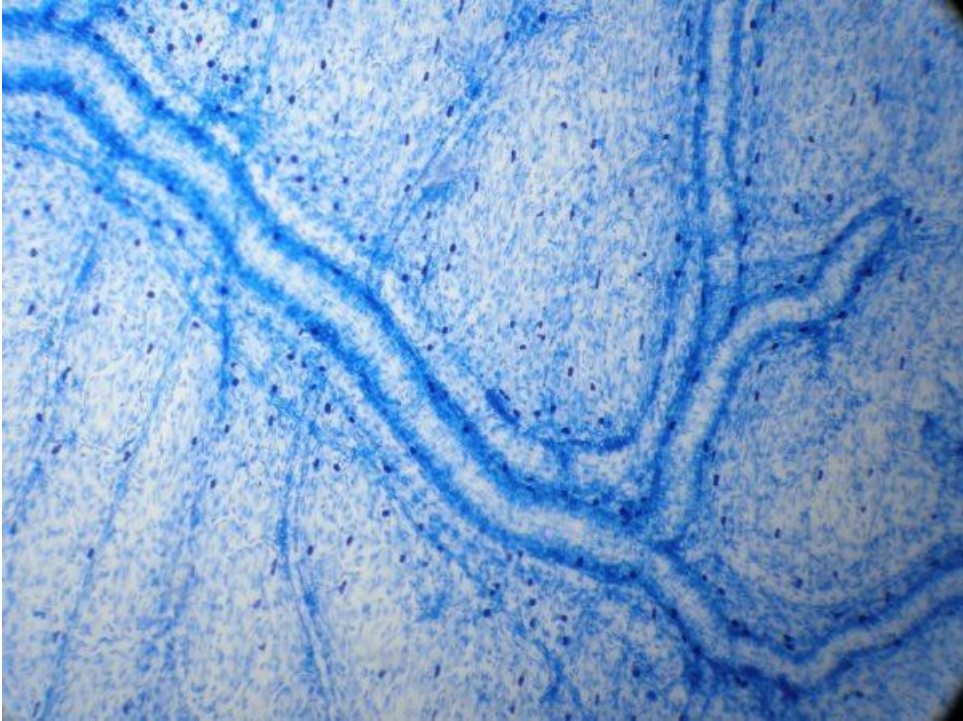
Şekil 4.1 Dura mater sayım alanları (Bergerot'dan modifiye edilerek alınmıştır).

Gruplara ait dura mater fotoğrafları farklı büyütme ölçeklerinde resim 4.1, 4.2, 4.3, 4.4'de verilmiştir.

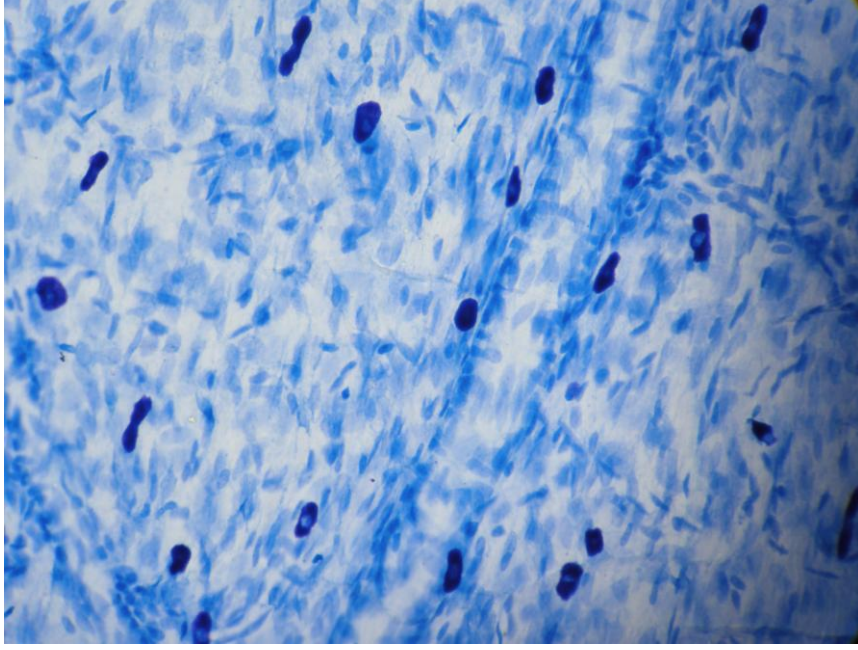
Gruplara ait toplam mast hücre sayıları grafik 4.1'de verilmiştir. Mast hücre sayımı sonucu elde edilen veriler One-way ANOVA Kruskal Wallis testi ile karşılaştırıldı. Gruplar arası fark anlamlı çıktı. Dunn'nun çoklu grup karşılaştırmaları uygulandı. Her bir grupta grup içi sol ile sağ değerleri arasında fark bulunmadı. Mast hücre sayıları açısından laterilizasyon saptanmamıştır. Kontrol ve sham grupları arasında da fark yok iken opere grupta hem ipsilateral ($p < 0,001$) hem de kontralateral tarafta ($p < 0,01$) mast hücre sayısının anlamlı düzeyde arttığı bulundu (grafik 4.1).



Resim 4.1 Dura mater mast hücrelerinin 10X görünümü (sham)

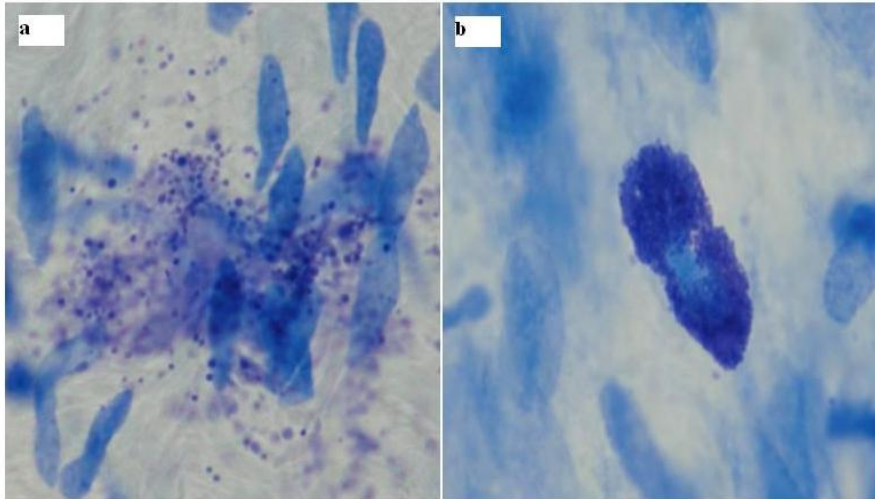


Resim 4.2 Dura mater mast hücrelerinin 10X görünümü(opere)

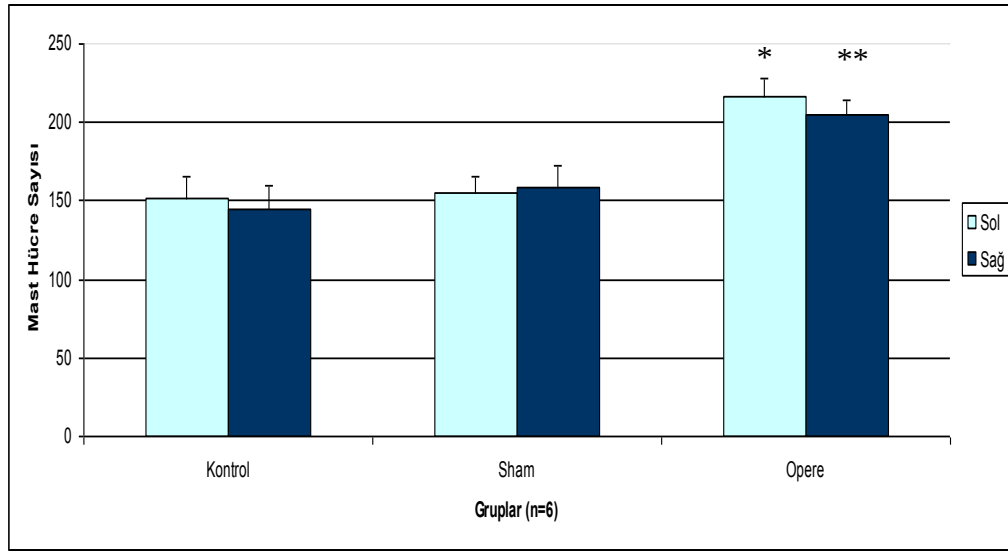


Resim 4.3 Dura mater mast hücrelerinin 40X görünümü (sham)

Gangliyonektomi, mast hücre granüle/degranüle yüzdelerinde bir değişikliğe yol açmamıştır. Sempatektomi uygulanmış bir sıçanın dura mater mast hücrelerinde %15 oranında degranülasyona uğradığı bulundu, opere olan diğer sıçanlarda ve diğer guruplarda gözlenmemesi bireysel farklılık olarak değerlendirildi (resim 4.4).

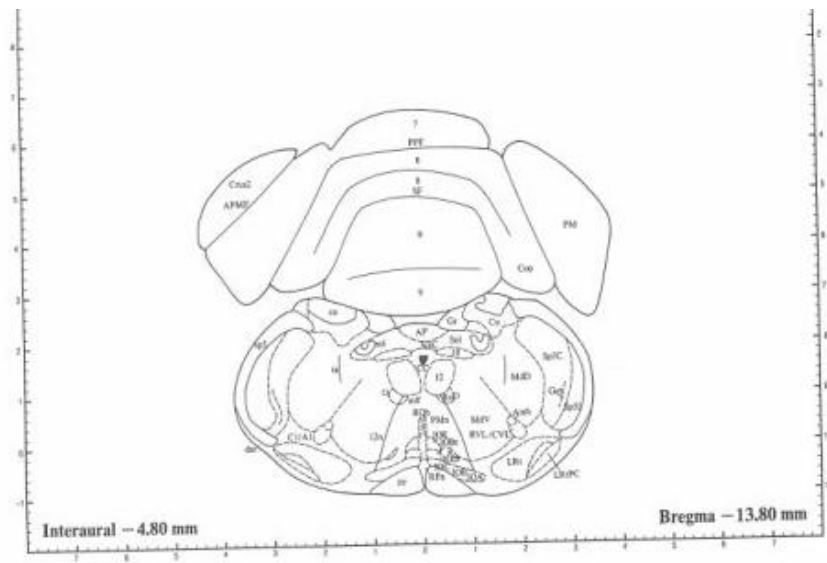


Resim 4.4 Degranüle ve granüle mast hücresi 100X. a) degranüle mast hücresi b) granüle mast hücresi

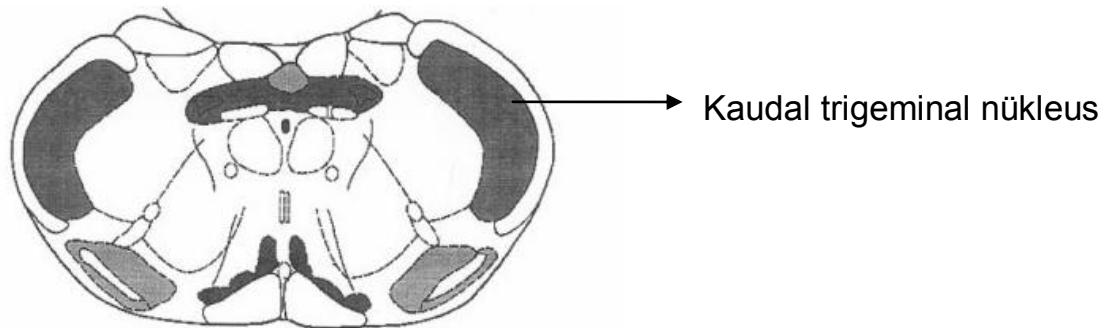


Grafik 4.1. Dura mater toplam mast hücre sayısı. *($p < 0,001$), ** ($p < 0,01$) İstatiksel olarak anlamlı düzeyde diğer gruplardan farklı ($n=6$).

c-fos indirek immuno histokimyasal işaretleme için beyin sapı kesitlerinden trigeminal kaudal nukleusu (TNC) içeren alanlardan 5 kesit sayım için kullanıldı. TNC içeren kesitler sıçan beyin atlası kullanılarak bregmadan 14,60 mm ile 13,24 mm arasındaki bölge seçildi. Şekil 4.2’de bregmadan 13,80 mm uzaklıktaki kesit ve içerdiği nükleuslar görülmektedir (Paxinos ve Watson 1997). Nükleusun şematik gösterimi şekil 4.3’te verilmiştir.



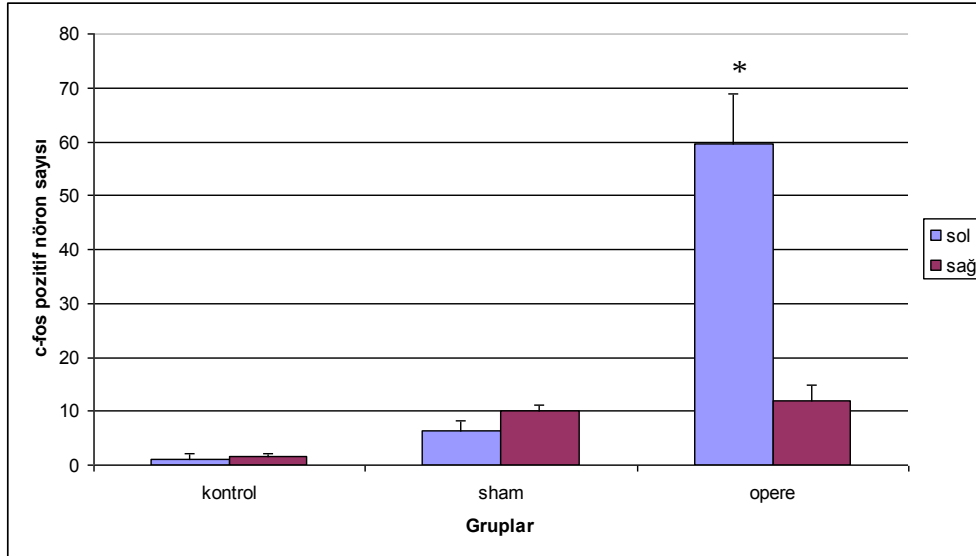
Şekil 4.2 Sıçan beyin atlasından kaudal trigeminal nükleus (Paxinos ve Watson , 1997).



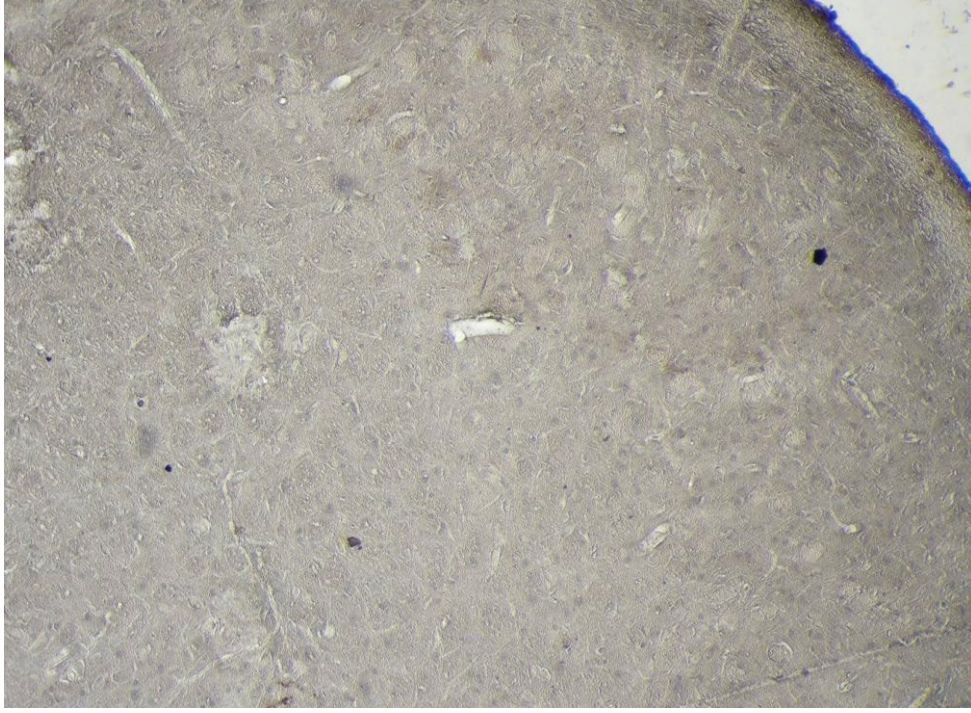
Şekil 4.3 Bregmadan 13,80 mm uzaklıktaki beyin sapı kesitinde kaudal trigeminal nükleusun şematik gösterimi.

Gruplara ait c-fos işaretlemeisinin farklı büyütmelelerdeki fotoğrafları resim 4.5, 4.6, 4.7, 4.8 4.9 ve 4.10’da verilmiştir. c-fos pozitif nöronlar DAB ile boyama sonucu koyu lacivert noktalar olarak izlenmektedir. Pozitif kontrollerde yoğun c-fos ekspresyonu gözlenmiştir (resim 4.7, 4.8). Gerek kontrol gerekse sham opere grubun c-fos aktivasyonu yok denecek kadar azdı (resim 4.5 ve 4.6). c-fos pozitif nöronlarının sayısı grafik 4.2’de verilmiştir.

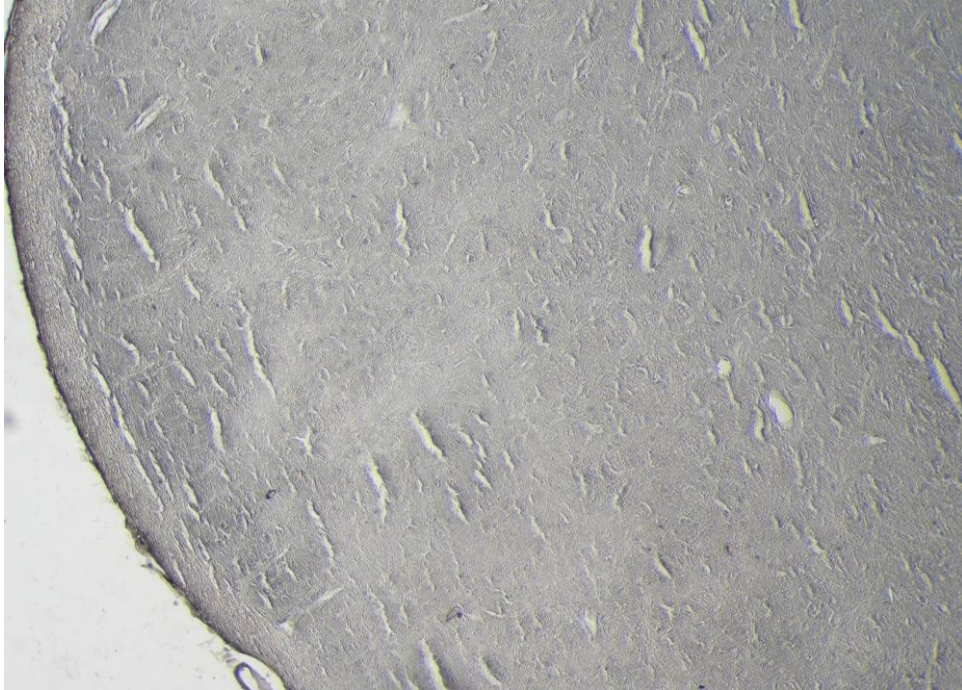
c-fos pozitif nöron sayılarından elde edilen veriler One-way ANOVA Kruskal Wallis testi ile karşılaştırıldı. Gruplar arası fark anlamlı çıktı. Opere gruptaki c-fos pozitif nöron sayıları ipsilateral tarafta kontrol gruplarına göre anlamlı derecede artmış bulundu ($p<0,001$). Kontrol ve sham grupları sol ile sağ değerleri arasında fark bulunmazken (resim 4.5 ve 4.6) unilateral sempatektominin sol taraftaki c-fos pozitif nöron sayısını anlamlı düzeyde arttırdığı bulundu (resim 4.9 ve 4.10, grafik 4.2 $p<0,001$).



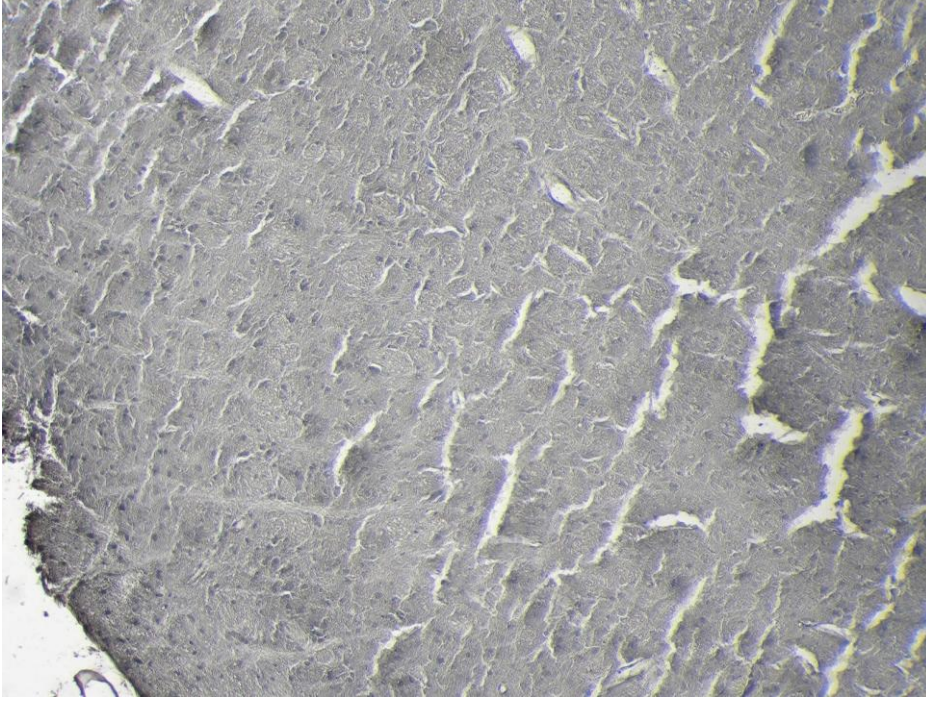
Grafik 4.2 TNC’de c-fos pozitif nöron sayısı $*(p< 0,001)$ İstatiksel olarak anlamlı düzeyde diğer gruplardan farklı ($n=6$).



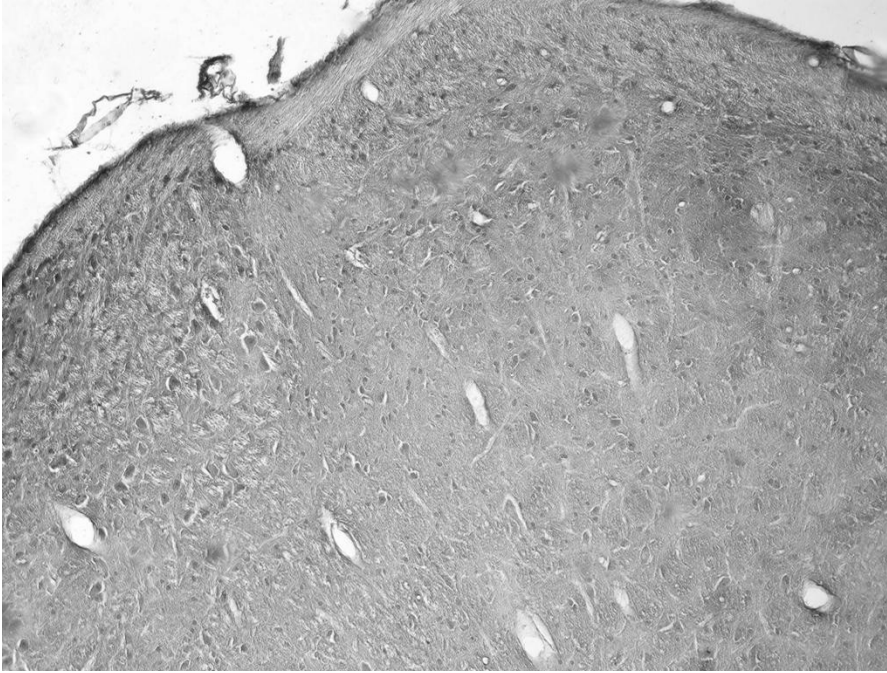
Resim 4.5 TNC’de c-fos immün işaretleme, Kontrol X10 büyütme. DAB ile boyama sonucu koyu lacivert noktalar nadiren izlenmektedir.



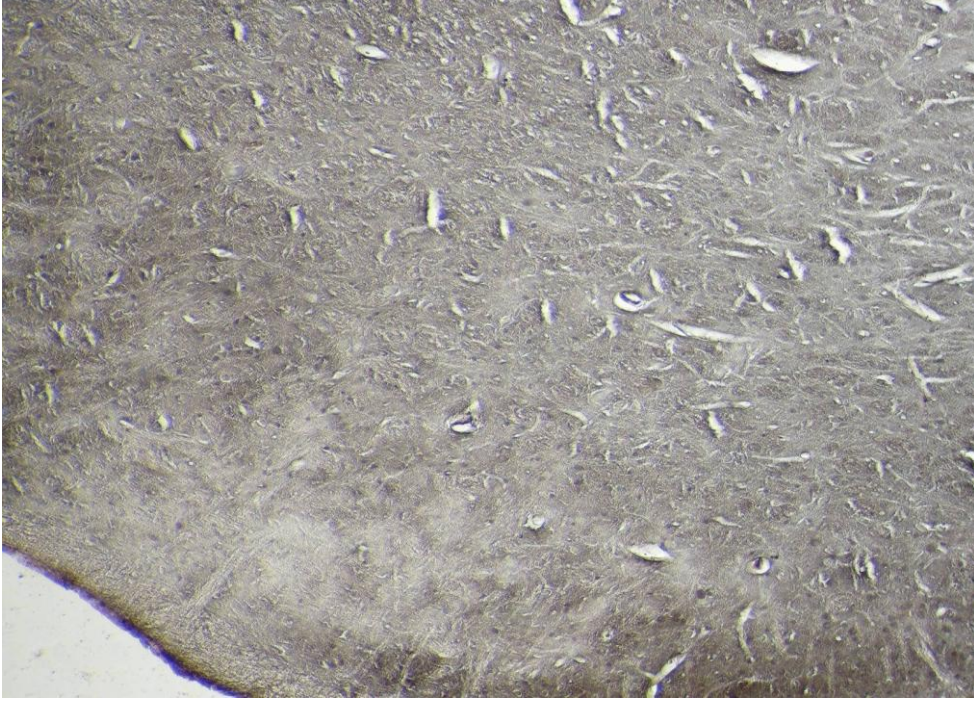
Resim 4.6 TNC’de c-fos immün işaretleme, Sham X10 büyütme. DAB ile boyama sonucu koyu lacivert noktalar nadiren izlenmektedir.



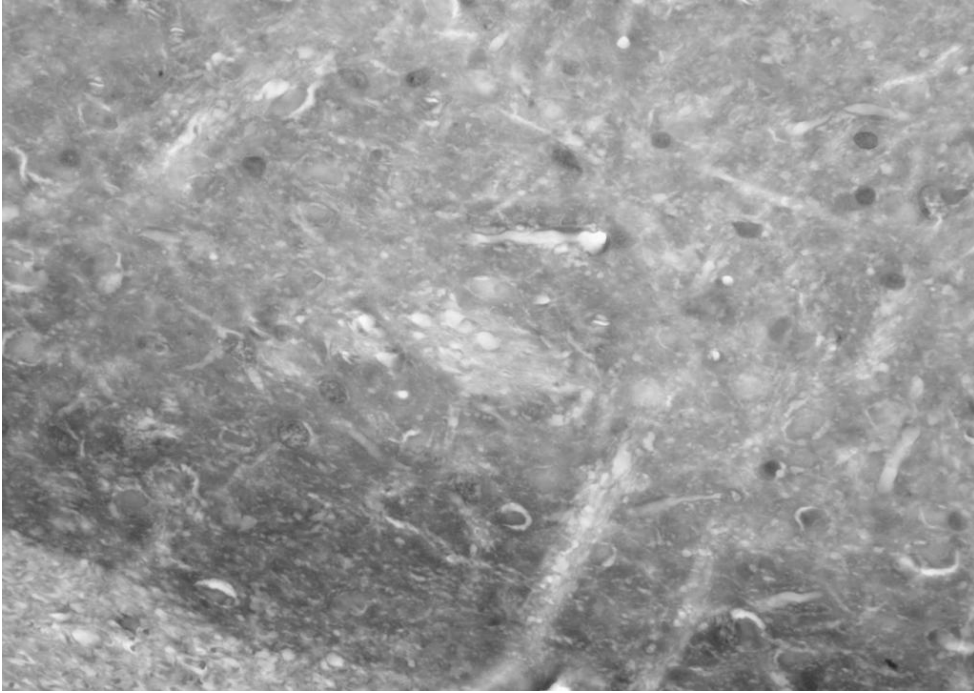
Resim 4.7 TNC’de c-fos immün işaretleme, Pozitif Kontrol-1 X10 büyütme. DAB ile boyama sonucu koyu lacivert noktalar çok yoğun izlenmektedir.



Resim 4.8 TNC’ de c-fos immün işaretleme, Pozitif Kontrol-2 X10 büyütme. DAB ile boyama sonucu koyu lacivert noktalar çok yoğun izlenmektedir.



Resim 4.9 TNC’de c-fos immün işaretleme, Opere sol taraf X10 büyütme. DAB ile boyama sonucu koyu lacivert noktalar yoğun izlenmektedir.



Resim 4.10 TNC’de c-fos immün işaretleme. Opere sol taraf X40 büyütme. DAB ile boyama sonucu koyu lacivert noktalar olarak izlenmektedir

5. TARTIŞMA

Dura mater sfenopalatin gangliyondan parasempatik, trigeminal gangliyondan duyuşal ve superior servikal gangliyondan sempatik inervasyon almaktadır (Keller ve ark. 1989; Delephine ve Aubineau 1997). Sfenoplatin ve trigeminal gangliyondan elektriksel uyarılması dura materde plazma protein ekştravazasyonuna neden olduğu bulunmuştur (Dimitriadou ve ark. 1991; Delephine ve Aubineau 1997). Dura materin nörojenik inflamasyonun otonom sinir sistemi ile ilişkili olduğu ve primer baş ağrıların etiopatogenizine katıldığı ileri sürölmektedir. Peroutka, migreni bir kronik sempatik sinir sistemi hastalığı olarak tarif etmektedir (Peroutka 2004). Pek çok klinik ve deneysel veriler sempatik bozukluğun migrenle ilişkili olduğunu göstermektedir. Migrende sempatik disfonksiyon, sempatik ko-transmitter dengesizliğiyle ilişkilidir. Migren atağı dopamin, prostoglandin, ATP, adenosin gibi sempatik ko-transmitterlerin salınımında artışla ilişkili olarak sempatik noradrenalin depolarının boşalmasıyla karakterizedir. Migrenli kişilerde noradrenalin düzeyi normal kişilere göre daha az bulunmuştur. Deneysel olarak sempatektominin trigeminal nöronlarda c-Jun'u, trigeminal nöronlarda CGRP'i indüklediğı gösterilmiştir. (Bolden 1996; Bolden et al. 1997). Migren, sempatik distrofi hastada tedavi olarak uygulanan ganglion blokajı sonrası bir komplikasyon olarak da gözlenmiştir (Springies 2003; Belena ve ark. 2006). Springies kedilerde kimyasal sempatektominin serebral kan akımını arttırdığını göstermiştir. Migrenlilerle yapılan klinik bir araştırmada, Yıldız ve arkadaşları, migrenörlerde fasiyal sempatik deri cevaplarını incelemişler. İnteriktal (atak arası) dönemlerde ve ataklarda sempatik hipofonksiyon ve atak sonrası dönemde sempatik hiperfonksiyon geliştiğini bulmuşlar (Yıldız ve ark. 2008). Bu çalışma da migren ataklarının sempatik işlevlerde azalma ile birlikteliğine klinik bir kanıt sağlamaktadır.

Sıçanlarda uzun süreli sempatektominin dura mater mast hücrelerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada sempatektomiden 15, 30 ve 60 gün sonra mast hücre sayılarının, dura histamin düzeylerinin anlamlı arttığı ve dura tirozin hidroksilaz aktivitesinin azaldığı bulunmuştur (Bergerot ve ark. 2000). Bizim çalışmamızda sempatektominin 5 gün sonraki etkilerine bakılmıştır ve kısa süreli sempatektominin de mast hücre sayısını arttırdığı bulunmuştur. Migren baş ağrısının

stres ile tetiklendiği göz önüne alınırsa sempatik sistem ve mast hücrelerinin migren ile ilişkili olmadığını düşünmek imkansızdır. Mast hücreleri stres ile aktive olmakta, sempatik sinir sistemi de vücudun strese karşı koymasında en önemli sistemdir. Vücut strese karşı koyamadığında baş ağrısı ortaya çıkıyor denebilir. Theoharides ve ark. mast hücrelerin sorumlu olduğu alerji, ekzema, astım ve iritabl barsak sendromu gibi hastalıkları olanlarda migrenin yüksek insidansda bulunduğunu göstermiştir (Theoharides ve ark. 2005). Mast hücrelerden salınan vazodilator mediatörler bradikinin, histamin, NO, VIP, VEGF, TNF-alfa migrenin vazodilator fazı ile ilişkilendirilmiştir. Histamin uygulaması şiddetli baş ağrısını indüklerken, VIP uygulaması baş ağrısı oluşturmamıştır (Theoharides ve ark. 2005; Rahmann ve ark., 2008). Bir diğer vazodilator mast hücre mediatörü NO hastalık ve sağlıkta önemli rolleri gösterilmiş, son yıllarda en çok araştırılmış moleküldür. Migreni de içeren primer baş ağrısı hastalıkların etiyopatogenzinden sorumlu tutulmaktadır, NO infüzyonu (gliseril trinitrat [GTN 0,5-2 mg/kg/dak]) migrenörlerde hemen kısa süreli baş ağrısına yol açmaktadır ve kontrol gruplarında baş ağrısı daha az yoğunlukta olmaktadır (Offenhauser ve ark. 2005; Olesen 2008). Migrenli hastalarda NO ile indüklenmiş baş ağrısı 5 saatten fazla sürmüştür. Sık baş ağrısı çeken hastalara ekzojen NO denenmiş, baş ağrısı epizodları tekrar etmiş, ağrı, beyni NO'ye duyarlı hale getirmiş ve dural kan damarlarında vazodilatasyon yapmıştır. Uzun süren veya tekrarlanan nosiseptif girişten dolayı beyinde ve periferde nöronal uyarılabilirlik artmıştır. (Oshinsky ve ark. 2007). Töre ve arkadaşları kısa süreli sempatektominin dura mater NO düzeylerini artırdığını bulmuşlardır (Töre ve ark. 2009). Ancak bu NO nöronal kaynaklı mı, endotel kaynaklı mı yoksa mast hücre kaynaklı mı bu henüz bilinmemektedir.

Sunulan çalışmadan elde edilen sonuçlara göre akut sempatektomide dura mast hücre sayısında ve trigeminal nükleus kaudalis c-fos aktivitesinde anlamlı bir artış görülmüştür. c-fos hedef genlerin transkripsiyonunu düzenleyen nüklear bir fosfoproteindir ve hücresel fonksiyonun uzun süreli değişimlerinde rol oynar (Morgan ve Curron 1991). c-fos beyinde travma, iskemi, genel nöbetler, yangı, direk elektriksel stimülasyon, yayılan depresyon ve birkaç farmakolojik ajanla indüklenebilir, ayrıca ışığa cevap gibi fizyolojik stimülasyonla da indüklenebilir. Beyin sapında ve spinal kordda c-fos proteini zararlı ve zararsız periferik uyarıyla

indüklenebilir. Devam eden ve uzun süreli stimülasyon çok güçlü cevap oluşturabilmekte ve c-fos proteini içeren hücre sayısı, uyarının şiddetiyle doğru orantılı olarak artmaktadır. c-fos bir nöronal aktivasyon göstergesidir (Morgan ve Curron 1991).

Dura materin kimyasal, mekanik ve elektriksel uyarılması trigeminal duysal sistemi aktive etmektedir (Nozaki, 1991; Bolden, 1997). Trigeminal gangliyonun elektriksel olarak stimüle edilmesi dural plazma ekstrasvazasyonuna yol açmış ve TCN' de c-fos mRNA ekspresyonunu artırmıştır. Nazal mukozanın kimyasal zararlı stimülasyonu beyin sapında trigeminal beyin sapının nükleus interpolarisinde özellikle subnükleus kaudalis' in lamina I ve II sinde c-fos ekspresyonu ile sonuçlanmaktadır (Herrera ve ark. 1996). Subaraknoid boşluk trigeminal gangliyondaki nöronların afferent aksonları ile innerve edilir, bu aksonlar nöropeptit içerirler. Kan veya inflamasyon kaynaklı meningeal irritasyon inflamasyon; ağır baş ağrısı, bulantı, kusma ve otonomik stabilitenin bozulmasıyla karakterizedir. Bu semptomlar ve işaretler trigeminovasküler sistemi kapsayan küçük trigeminal afferent aksonların (miyelinsiz) kimyasal stimülasyonu sonucu gelişebilir. Kanıtı ise kan enjeksiyonundan sonra nöropeptit sayısının artmasıdır. Otolog arteriyel kan ve serobrospinal sıvının cisterna magna' ya verilmesiyle beyin sapında c-fos protein ekspresyonu incelenmiş c-fos proteinleri iki saatte pik yapmıştır, sekiz saat içinde azalmıştır. TNC içinde, nükleus solitarius traktus' ta, area postrema, ependim' de pia ve araknoid mater' de ekspresyon olmuştur. Otolog kan verilen hayvanların NTC' sinde serebrospinal sıvı benzeri bir sıvı verilenlerden daha fazla c-fos ekspresyonu vardır. Subaraknoid boşluktaki kan beyin sapı nöronlarında c-fos ekspresyonunu aktive için etkili bir uyarıcıdır. Bu c-fos ekspresyonu, baş ağrısı özellikleriyle ilişkili subaraknoid boşluğa zararlı kimyasalların girmesinden sonra beyin sapı bölgelerinde tonik aktivasyonu yansıtabilir (Nozaki ve ark. 1991). Bu sebeple çalışmamızda pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Dura ve onun kan damarları trigeminal sensör afferentler tarafından innerve edilir ve aktive edildiğinde vazodilatasyon ve PPE sonucu nöropeptit, SP ve CGRP salar. Trigeminal lifler TCN ye uzanan medulla oblongata içinde uzanır ve daha yüksek beyin merkezinde sekonder sensör nöronlarla sinaps yaparlar. Migren atağı sırasında bu yolun aktivasyonu ağrıyı, bulantıyı artırır.

c-fos erken geninin ekspresyonu, spinalde ve sefalik nosiseptif yolda nöronal aktivite işaretleyicisi olarak kullanılmaktadır. Trigeminal nucleus kaudalis içinde *c-fos* ekspresyonu, kortikal yayılan depresyonun indüksiyonundan sonra trigemino-vasküler mekanizmalar yoluyla tetiklenmektedir. Ağrının yayılmasında glutamat rol oynamaktadır, NMDA reseptör antagonistleri analjezik olarak iş görebilirler. NMDA reseptör antagonistleri ağrı-hayvan modellerinde anti-nosiseptif bir etki sergilemektedirler. (Mitsikostas ve ark. 1998)

Ayrıca daha önceki çalışmalardan elde edilen; beyne penetre olan NK1 reseptör antagonistlerinin dural ekstrasvazasyon blokajı ve nosiseptif yolların inhibisyonu yoluyla anti migren etki oluşturmuş olmaları ve 5HT1D reseptörlerinin TNC’de *c-fos* ekspresyonunu azaltmıştır (Sixt ve ark. 2009). Kapsaisin ile induklenen trigeminal kaudal nükleus *c-fos* aktivitesinin cGRP antagonisti olcegepant ile engellendiği gösterilmiştir. Büyük olasılıkla sempatektomi ile oluşan nörojenik inflamasyona da cGRP içeren duysal liflerin aktivitesinin artışı neden olmuştur.

Mast hücresiyle indüklenmiş nosiseptör etkileşimi spinal trigeminal nükleusun aktivasyonundaki düşüşle ilgilidir (*c-fos* ekspresyonundaki bir artma tarafından belirlenmektedir) (Levy ve ark. 2007). Dural mast hücre degranülasyonu, trigeminal ağrı yolunun uzun süreli aktivasyonuna yol açmakta ve migren gibi baş ağrılarının temelinde bu yatmaktadır. Trigeminal gangliyonun elektriksel uyarılması sonucu, meningeal nosiseptörler aktive olmakta ve dural mast hücrelerinin granül içeriğinin salınmasını kuvvetlendirmektedir. Aktive olmuş meningeal nosiseptörler, substans-P gibi nöropeptitlerin ve kalsitonin gen-related peptidin salınımını ortaya çıkararak dural mast hücrelerinin aktivasyonunu tetikler. Aktif olmuş mast hücrelerinden nörojenik inflamasyon sırasında inflamator moleküllerin salınımı, meningeal nosiseptörleri daha fazla uyarır, bu durum da uzun süreli baş ağrısı olan migreni kuvvetlendirir. Trigemino-vasküler sistem aktivasyonu ve dural mast hücreleri arasında spesifik bir bağlantı vardır.

Yaptığımız çalışmada akut sempatektomiye bağlı *c-fos* ekspresyonunda anlamlı artış bulunmuştur; bu sonuç migren fizyopatolojisini anlamamıza katkı sağlamaktadır. Daha önce yapılmış çalışmalarla da büyük paralellik göstermektedir. Fakat tedaviyi geliştirmek de mekanizmayı ortaya koymak kadar önemlidir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan çalışma sonucunda sempatektomize sıçan gruplarında kontrol ile sham opere grupları arasında mast hücre sayısı bakımından anlamlı fark görülmez iken sol gangliyonektomize hem sol taraf için hem sağ taraf için mast hücre sayısını anlamlı düzeyde artırmıştır. Ayrıca trigeminal nükleus kaudalisteki c-fos ekspresyonu, kontrol gruplarına göre opere grupta anlamlı derecede artmıştır.

Opere grupta hem mast hücre sayısının artışı hem de c-fos ekspresyonunun anlamlı artışı, dural vazodilatasyonun ve buna bağlı olarak gelişen nörojenik inflamasyonun dolayısıyla trigeminal liflerle taşınan nozisepsiyonun ve mast hücre-sinir çift yönlü etkileşiminin kanıtıdır. Ayrıca otonom sinir sisteminin duysal sinir sistemini etkilediği, duysal bilgiyi değiştirdiğini göstermektedir. Sonuçlar diğer araştırmacıların konu ile ilgili çalışmaları ile paralellik göstermektedir.

Çalışma migren etiyopatogenezine dolayısıyla tedavi seçeneklerine yeni bilgi sağlamıştır.

Deneyisel migren modelleri durameterin kimyasal, elektriksel ve mekanik uyarılmasına dayanan kafatası açılarak uygulanan invazif yöntemlerdir. Gangliyonektomi her ne kadar operasyon ile sağlansa da küçük bir cerrahi girişimdir ve uzun süreli deneylerde rahatça kullanılabilir. Bu bağlamda deneyisel migren modeli olarak kullanılabilir.

Klinikte yapılacak olan migren araştırmalarında sempatik sistem ve mast hücreleri değerlendirmeye alınmalıdır.

Mast hücrelerini module etmek veya vazodilatasyon yapan mediatörlerini antagonize etmek migren tedavilerinde bir seçenek olarak denenebilir.

7. KAYNAKLAR

- Apaydın R.** Dermatolojide Mast Hücreleri. T Klin Dermatoloji. **1999**; 9:167-174.
- Aydın Y, Tunçel N, Gürer F, Tuncel M, Koşar M, Oflaz G.** Ovarian, uterine and brain mast cells in female rats: cyclic changes and contribution to tissue histamine. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol. **1998**; 120: 255-62.
- Beleña J, Petersen I, Cabeza R, Núñez M, Vidal A.** Migraine headache: a rare complication after cervicothoracic block. Journal of Headache Pain. **2006**; 7: 367–368.
- Bergerot A, Reynier-Rebuffel AM, Callebert J ve Aubineau P.** Long-term superior cervical sympathectomy induces mast cell hyperplasia and increases histamine and serotonin content in the sıçan dura mater. Neuroscience. **2000**; 96: 205-213.
- Bolay H, Reuter U, Dunn A, Huang Z, Boas D, Moskowitz A.** İntrinsic brain activity triggers trigeminal meningeal afferents in a migraine model. Nature Medicine. **2002**; 8:136-42.
- Bolden DA.** Sympathectomy induces c-Jun in adult trigeminal neurons: an immunohistochemical and tract-tracing study. Neuroscience Letters. **1996**; 6: 83-214.
- Bolden DA, Sternini C ve Kruger L.** GAP-43 mRNA and calcitonin gene-related peptide mRNA expression in sensory neurons are increased following sympathectomy. Brain Research Bulletin. **1997**; 42: 39-50.
- Crivellato E, Beltrami C, Mallardi F, Ribatti D.** Paul Ehrlich's doctoral thesis: a milestone in the study of mast cells. Br J Haematol **2003**; 123: 19-21.
- Çağırıcı S.** İstanbul İlinin Maltepe İlçesindeki okul çocuklarında migren ve gerilim tipi baş ağrısı prevalansı ile klinik özellikleri. Doktora tezi, Sağlık Bakanlığı Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi. Türkiye Klinikleri Nöroloji. **2003**; Cilt:1, Sayı:2.
- Dalessio DJ.** Vascular permeability and vasoactive substances: Their relationship to migraine. Adv. Neurol. **1974**; 4: 395–401.

- Delepine L, Aubineau P.** Plasma protein extravasation induced in the sıçan dura mater by stimulation of the parasympathetic sphenopalatine ganglion, *Exp. Neurol.* **1997**; 147: 389– 400.
- Drake RL, Vogl W, Mitchell AWM.** Gray's Anatomy for Students. 2th edition. **Toronto:** Churchill Livingstone, **2007**: 933.
- Drake RL, Vogl W, Mitchell AWM.** Gray's Anatomy for Students. 38th Edition. Newyork: Philadelphia Sydney Toronto. **1995**: 901-1023.
- Dimitriadou V, Buzzi MG, Moskowitz MA, Theoharides TC.** Trigeminal sensory fiber stimulation induces morphologic changes reflecting secretion in sıçan dura mast cells, *Neuroscience* . **1991**; 44: 97– 112.
- Dimitriadou V, Aubineau P, Taxi J, Seylaz J.** Ultrastructural evidence for a functional unit between nerve fibers and type II cerebral mast cells in the cerebral vascular wall, *Neuroscience*. **1987**; 22: 621– 630.
- Ercan F, Çetinel Ş.** Mast hücrelerinin enflamasyondaki rolü: insan ve deneysel hayvan modelleri üzerinde yapılan çalışmaların değerlendirilmesi. *Türkiye Marmara Medical Journal* **2008**; 21: 179-186.
- Eren Ü.** İnek Uterusunda Mast Hücrelerinin Histolojik ve Histokimyasal Özellikleri ve Mast Hücre Heterojenitesi. *Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences*. **1999**; 1: 193-201.
- Gökmen FG.** Sistematik Anatomi. 3. Baskı. İzmir: Güneş ofset matbacılık Tic. Ltd. Şti. **2003**: 615-625.
- Gurish MF, Boyce JA.** Mast cells: Ontogeny, homing, and recruitment of a unique innate effector cell. *J Allergy Clin Immunol* **2006**; 117:1285-1291.
- He SH.** Key role of mast cells and their major secretory products in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* **2004**; 10:309-318.
- Herrera DG, Robertson HA.** Activation of *c-fos* in the brain. *Progress in neurobiology*. **1996**; 50; 83-107
- Jensen R.** Pathophysiological mechanisms of tension type headache: a review of epidemiological and experimental study. *Cephalalgia* **1999**; 19: 602-21.
- Kabakçı T.** Allerjik reaksiyonun nöroregülasyonu. *T Klin J Allergy-Asthma* **1999**; 1: 1-5.
- Keklikoğlu N.** C-fos Geni ve Fos Proteinleri. *Cerrahpaşa J Med* **2004**; 35.

- Keller JT, Marfurt CF, Dimlich RV ve Tierney BE.** Sympathetic innervation of the supratentorial dura mater of the sıçan. The Journal of Comparative Neurology. **1989**; 290: 310-321.
- Krishnaswamy G, Ajitawi O, Chi DS.** Mast cells Methods and protocols. Humana Press Inc.: Totowa, **2006**; 315: 3-68.
- Levy D, Burstein R, Kainz V, Jakubowski M, Strassman AM.** Mast cell degranulation activates a pain pathway underlying migraine headache. Pain **2007**; 130: 166–176.
- Lewis DW.** Toward the definition of childhood migraine, Curr Opin Pediatr **2004**; 16: 628-636.
- Maurer M.** What is the physiological function of mast cells? Experimental Dermatology. **2003**; 12: 886–910.
- Meggs WJ.** Neurogenic Inflammation and Sensitivity to Environmental Chemicals. Environ Health Perspect. **1993**; 101: 243-238
- Metcalf DD, Baram D, Mekori YA.** Mast cells. Physiol Rev **1997**; 77: 1033-1079.
- Mitsikostas DD, Rio MS, Waeber C, Moskowitz MA, ve Cutrer FM.** The NMDA receptor antagonist MK-801 reduces capsaicin-induced *c-fos* expression within rat trigeminal nucleus caudalis. Pain **1998**; 76: 239-248.
- Moskowitz MA, Macfarlane.** Neurovascular and molecular mechanisms in migraine headaches. Cerebrovasc Brain Metab. **1993**; 5: 159-177.
- Nozaki K, Boccalini P ve Maskowitz MA.** Expression of *c-fos* like immunoreactivity in brainstem after meningeal irritation by blood in the subarachnoid space. Neuroscience. **1991**; 49: 669-680.
- Offenhauser N, Zinck T, Hoffmann J ve ark.** CGRP release and *c-fos* expression within trigeminal nucleus caudalis of the rat following glyceryltrinitrate infusion. Cephalalgia. **2005**; 25: 225-36.
- Olesen J.** The role of nitric oxide (NO) in migraine, tension-type headache and cluster headache. Pharmacology and Therapeutics. **2008**; 120: 157–171.
- Oshinsky ML, Gommonchareonsiri S.** Episodic dural stimulation in awake rats: a model for recurrent headache. Headache. **2007**; 47: 1026-1036.

Patterson SM, Silberstein SD. Sometimes Jello helps: perceptions of headache etiology, triggers and treatment in literature. *Headache*. **1993**; 33: 76-81.

Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. Second edition, Academic press. **1997**; 70-76.

Peroutka SJ. Migraine: A Chronic Sympathetic Nervous System Disorder. *Headache*. **2004**; 44: 53-64.

Peroutka SJ. Neurogenic inflammation and migraine: implications for the therapeutics. *Molecular Interventions*. **2005**; 5: 304-311.

Sanchez del Rio M, Reuter U ve Moskowitz MA. Central and peripheral mechanisms of migraine. *Functional Neurology*. **2000**; 15: 157-162.

Siva A. Baş Ağrısı Epidemiyolojisi İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Baş, Boyun, Bel Ağrıları Sempozyum Dizisi No: 30 Mayıs **2002**; s. 9-14

Sixt ML, Meslinger KJ, Michael M, Calcitonin gene-related peptide receptor antagonist olcegepant acts in the spinal trigeminal nucleus. *Brain*. **2009**; 132; 3134–3141.

Snell RS. Clinical Neuroanatomy for Medical Students. Fourth edition. **2000**: 406-480.

Snell RS. Klinik Anatomi. 6. Baskı, İzmir: Tavaslı Matbacılık Tic. Ltd. Şti, **2004**: 663-723

Spierings ELH. Headache following cervical sympathectomy and results of a blood flow study in the cat. *Headache*. **2003**; 43: 410-414.

Testut L, Latarjet A. Trattato di anatomia humana. Torino: Unione Tipografico-Editrice Torinese. **1971**; 4: 330–342.

Theoharides TC, Donelan J, Grzybowska K, Konstantinidou A. The role of mast cells in migraine pathophysiology, *Brain Research Reviews*. **2005**; 49: 65-76.

Theoharides TC, Kempuraj D, Sant GR. [Mast cell involvement in interstitial cystitis: a review of human and experimental evidence](#). *Urology*. **2001**; 57: 47-55

Töre F, Tuncel N. Mast Cells: Target and Source of Neuropeptides. Current Pharmaceutical Design. **2009**; 15: 3433-3445.

Töre F, Korkmaz OT, Dogrukol-Ak D, Tunçel N. The effect of vasoactive intestinal peptide on dura mater nitric oxide levels and vessel-contraction responses in sympathectomized rats. J Mol Neurosci. **2009** Nov 20 [Epub ahead of print].

Yavuz AS, Klonal hematopoietik bir hastalık modeli olarak sistemik mastositoz. Moleküler hematoloji ve sitogenetikalt komitesi temel moleküler hematoloji kursu. **2005.** Erişim: http://www.thd.org.tr/doc/kurs_pdf/selimyavuz.pdf. Erişim tarihi: 03.03.2010.

Yıldız SK, Yıldız N, Korkmaz B, Altunrende B, Gezici AR, Alkoy S. Sympathetic skin responses from frontal region in migraine headache: a pilot study. Cephalalgia. **2008**; 28: 696-704.

8. EKLER

CD- Rom

Etik kurul onayı