

**DIYABETİK NÖROPATİ MODELİNDE LEVETİRASETAMIN ETKİLERİNİN  
PATCH-CLAMP YÖNTEMİ İLE İNCELENMESİ**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Türkan AHMADZADA**

**Eskişehir 2022**

**DIYABETİK NÖROPATİ MODELİNDE LEVETİRASETAMIN ETKİLERİNİN  
PATCH-CLAMP YÖNTEMİ İLE İNCELENMESİ**

**Türkan AHMADZADA**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Farmakoloji Anabilim Dalı  
Danışman: Prof. Dr. Yusuf ÖZTÜRK**

**Eskişehir  
Anadolu Üniversitesi  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
Mayıs 2022**

## ÖZET

### DİYABETİK NÖROPATİ MODELİNDE LEVETİRASETAMIN ETKİLERİNİN PATCH-CLAMP YÖNTEMİ İLE İNCELENMESİ

Türkan AHMADZADA

Farmakoloji Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mayıs 2022

Danışman: Prof. Dr. Yusuf ÖZTÜRK

Diyabetik nöropati, prevalansı yüksek ve hayat kalitesini düşürücü nitelikte bir sendromdur. Radikal tedavisi mevcut olmayan bu sendromda daha iyi bir farmakoterapi sağlayabilmek için çalışmalar yoğun olarak sürdürülmektedir. Etkili ilaçların etki mekanizmalarının patoloji varlığında araştırılması, hastalığın fizyopatolojisinin aydınlatılmasını ve böylece yeni ilaç geliştirme çalışmalarına yol gösterici bulgular elde edilmesini sağlayacaktır. Üçüncü jenerasyon bir antiepileptik olan Levetirasetam (LEV), diğer antiepileptiklere kıyasla daha kabul edilebilir bir yan etki profiline ve yüksek güvenlik oranına sahiptir. Taşıdığı farmakokinetik özellikler de LEV'in klinikte daha tercih edilir olmasını sağlamaktadır. LEV'in diyabetik nöropatide antihiperalezik etkileri gösterilmiştir. Bu etkilerin mekanizmalarını aydınlatmak amacıyla proje kapsamında diyabetik nöropati modelinde patch clamp yöntemi ile LEV'in elektrofizyolojik etki profili aydınlatıldı. Diyabetik nöropati modelinde LEV'in etkilerinin patch-clamp yöntemi ile incelenmesi için yaptığımız çalışmada hücrelere LEV uygulamasının uyarı iletkenliği azaltıcı yönde etkiler ortaya koyduğu gözlemlendi.

Bu çalışmada sunulan veriler LEV'in analjezik etkilerini vurguladı. LEV'in antihiperalezik etkileri, iyon kanalları üzerindeki etkilerinden DRG düzeyinde ortaya çıkabilir. LEV türevlerinin değerlendirildiği yeni ilaç geliştirme çalışmalarına yol gösterici bulgular alındı.

**Anahtar Kelimeler:** Ağrı, Dorsal kök ganglionları, Diyabetik Nöropati, Patch-clamp tekniği, Levetirasetam.

## ABSTRACT

### INVESTIGATING THE EFFECTS OF LEVETIRACETAM IN A MODEL OF DIABETIC NEUROPATHY BY PATCH-CLAMP METHOD

Türkan AHMADZADA

Department of Pharmacology

Anadolu University, Graduate School of Health Sciences, May 2022

Supervisor: Prof. Dr. Yusuf ÖZTÜRK

Diabetic neuropathy is a syndrome with high prevalence and lowers the quality of life. For this syndrome, which has no radical treatment, studies are being carried out intensively to provide a better pharmacotherapy. Investigation of the mechanisms of action of effective drugs in the presence of this pathology will help to clarify the pathophysiology of the disease and thus provide findings for new drug development studies. LEV, a third generation antiepileptic, has a more acceptable side effect profile and higher safety rate compared to other antiepileptics. The pharmacokinetic properties of LEV makes it more preferable also in the clinic. LEV has been shown to have antihyperalgesic effects in diabetic neuropathy. In order to illuminate the mechanisms of these effects, the electrophysiological effect profile of LEV elucidated by using patch clamp method in the diabetic neuropathy model. In our study to examine the effects of LEV in a diabetic neuropathy model by patch-clamp method, it was observed that LEV application to cells has shown to present effects which leads to a reduce in the activity.

The data presented in this study highlighted the analgesic effects of LEV. The antihyperalgesic effects of LEV may arise at the DRG level from its effects on ion channels. Guiding findings were obtained in new drug development studies in which LEV derivatives were evaluated.

**Keywords:** Pain, Dorsal Root Ganglion, Diabetic Neuropathy, Patch Clamp technique, Levetiracetam.

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, tezimin hazırlanmasında öneri ve yapıcı eleştirileri ile beni destekleyen değerli hocam ve tez danışmanım sayın Prof. Dr. Yusuf ÖZTÜRK'e, Bölümümüz Öğretim Üyelerine, Değerli Hocalarıma, özellikle her zaman yanımda olan, desteğini hep hiss ettiğim, iyiki beraber çalışıyoruz dediğim Arş. Gör. Dr. Feyza Alyu Altınok'a, araştırmamın tüm aşamalarında yardımlarını esirgemeyen çalışma arkadaşlarım Ahmed, Ilham ve Abderaouf'a, emeği geçmiş tüm teknik ve idari personele katkılarından dolayı teşekkür ederim. Aynı zamanda yüksek lisans çalışmalarımı sürdürebilmemde beni destekleyen, her koşulda yanımda olan aileme, özellikle de tezin son döneminde her anın heyecanını paylaştığım kardeşime teşekkürü borç bilirim.

## **ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ**

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Anadolu Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı”yla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
BAŞLIK SAYFASI .....	ii
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....	iii
FINAL APPROVAL FOR THESIS .....	iv
ÖZET .....	v
ABSTRACT.....	vi
TEŞEKKÜR .....	vii
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	viii
İÇİNDEKİLER .....	ix
TABLolar DİZİNİ.....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. LİTERATÜR .....	2
2.1. Ağrı.....	2
2.1.1. Nöropatik ağrı.....	3
2.1.2. Dorsal kök ganglionları.....	5
2.2. Diyabetik Nöropatinin Tarihçesi .....	7
2.2.1. Diyabetik nöropati nedir .....	7
2.2.2. Diyabetik periferel nöropati (DPN) .....	9
2.2.3. Distal simetrik polinöropati .....	10
2.3. Epidemiyoloji.....	11
2.4. Otonom Nöropati .....	11
2.5. Tedavi.....	14
2.6. Patch clamp.....	15
2.6.1. Patch-Clamp uygulamaları.....	20

2.6.2.	Son yıllardaki patch-clamp sitemindeki gelişmeler .....	21
2.7.	Levatirasetam .....	22
2.7.1.	LEV'nin hiperaljezi üzerindeki etkileri .....	23
3.	<b>METODOLOJİ</b> .....	27
3.1.	Yöntem .....	27
3.2.	Sitrat Tamponu (pH 3.0 ila 6.2) Hazırlama ve Tarif .....	28
3.3.	Ağrı Deneyleri.....	31
3.4.	Birincil DRG Hücre Kültürü .....	32
3.5.	Patch-Clamp Kayıtları İçin Kullanılan Çözümler .....	36
3.5.1.	Patch clamp kayıtları.....	36
3.6.	Patch clamp tekniğinin uygulanması .....	37
3.6.1.	Patch clamp kayıtlarının alınması.....	37
3.7.	İstatistiksel analiz .....	38
4.	<b>BULGULAR</b> .....	39
4.1	Diyabetik Nöropati Oluşumunu In Vivo Test Edilmesi .....	39
4.2.	Patch Clamp Deney Sonuçları .....	39
5.	<b>TARTIŞMA VE SONUÇ</b> .....	45

## **KAYNAKÇA**

## **EK 1. ETİK ONAY BELGESİ**

## **EK 2. DENEY HAYVANLARI KULLANIM SERTİFİKASI**

## **ÖZGEÇMİŞ**



## TABLULAR DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
<b>Tablo 2. 1.</b> Ağrının sınıflandırılması .....	2
<b>Tablo 2. 2.</b> Nöropatik ağrı nedenleri .....	3
<b>Tablo 2. 3.</b> Nöropatik ağrı tedavisi zamanı kullanılan ilaçlar ve oluşan kontroendikasyonları .....	4
<b>Tablo 2. 4.</b> Diyabetik nöropati risk faktörleri .....	8
<b>Tablo 2. 5.</b> Diyabetik nöropatili ayırıcı tanısı .....	8
<b>Tablo 2. 6.</b> Diyabetik hastalar için nöropatilerin sınıflandırılması .....	9
<b>Tablo 2. 7.</b> Diyabetik distal simetrik polinöropati semptom ve bulguları .....	10
<b>Tablo 2. 8.</b> Diyabetik gastrointestinal nöropati semptomları .....	12
<b>Tablo 2. 9.</b> Diyabetik kardiyovasküler otonom nöropati .....	13
<b>Tablo 3. 1.</b> Sitrat tampon için gerekli bileşenler .....	28
<b>Tablo 3. 2.</b> Akım kayıtları için pipet çözümü (dahili solüsyon için) .....	36
<b>Tablo 3. 3.</b> Akım kayıtları için pipet çözümü (harici solüsyon için) .....	36

## ŞEKİLLER DİZİNİ

### Sayfa

Şekil 2. 1. Omurilik ve sinir köklerinin vertebralarla ilişkisi (önden görünüm) .....	6
Şekil 2. 2. Omurilik ve sinir köklerinin vertebralarla ilişkisi (enine kesit) .....	6
Şekil 2. 3. Patch clamp laboratuvarımız .....	16
Şekil 2. 4. Giga seal elde edilmesi.....	18
Şekil 2. 5. Patch-clamp seti.....	18
Şekil 2. 6. Faraday kafesi.....	19
Şekil 2. 7 Pipet yapıcı puller.....	19
Şekil 2. 8. Patch-clamp uygulamaları.....	20
Şekil 2. 9. Levetirasetam'ın kimyasal formülü.....	22
Şekil 3. 1. Sprague dawley sıçan .....	27
Şekil 3. 2. Streptozotosin tartılması.....	28
Şekil 3. 3. Vorteks cihazı.....	29
Şekil 3. 4. Kuyruk veninden hayvana stz verilmesi .....	29
Şekil 3. 5. Kuyruk venozunun aranması.....	30
Şekil 3. 6. Kuyruktan kan alımı .....	30
Şekil 3. 7. Kan şekeri ölçümü.....	31
Şekil 3. 8. Vertebral kolon.....	32
Şekil 3. 9. Vertebral kolonun kesilmesi.....	33
Şekil 3. 10. Dorsal kök ganglionları .....	33
Şekil 3. 11. Elde edilen drg hücre süspansiyonunun mikroskopta görüntüsü .....	34
Şekil 3. 12. Hücrenin patch clamp kaydı sırasında görünümü .....	35
Şekil 3. 13. Patch clamp cihazı.....	37
Şekil 4. 1. Diyabetik nöropati oluşumunun in vivo ağrı deneyleri ile tespiti.....	39
Şekil 4. 2. 0.1µm lev uygulamasının dışa yönelik k <sup>+</sup> akımları üzerine etkileri.....	40
Şekil 4. 3. 0.1 µm lev uygulamasının kanal iletkenliği üzerine etkileri .....	40
Şekil 4. 4. 10 µm lev uygulamasının dışa yönelik k <sup>+</sup> akımları üzerine etkileri.....	41
Şekil 4. 5. 10 µm lev uygulamasının kanal iletkenliği üzerine etkileri .....	41
Şekil 4. 6. 100 µm lev uygulamasının dışa yönelik k <sup>+</sup> akımları üzerine etkileri.....	42
Şekil 4. 7. 100 µm lev uygulamasının kanal iletkenliği üzerine etkileri .....	42
Şekil 4. 8. Kontrol akım.....	43
Şekil 4. 9. Lev 100 uygulamasından sonra kontrol akım .....	43

<b>Şekil 4. 10.</b> Kullanılan protokol.....	44
--	----

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ANOVA	: Analysis of Variance
AP	: Action Potential
ATP	: Adenosine Triphosphate
CYP450	: Cytochrome P450
DCCT	: Diabetes Control and Complications Trial
DMEM	: Dulbecco's Modified Eagle's Medium
DMSO	: Dimethyl Sulfoxide
DN	: Diyabetik Nöropati
DPN	: Diyabetik periferel nöropati.
DPP4	: Dipeptidyl peptidase-4 inhibitor
DRG	: Dorsal Root Ganglia (Arka kök ganglion)
DSPN	: Distal simetrik periferel nöropati'yi
EDIC	: Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications
EDRF	: Endotel Kaynaklı Gevşetici Faktör
EGTA	: Ethylene Glycol TetraAcetic Acid
FBS	: Fetal Bovine Serum
GABA	: Gamma-Aminobutyric Acid
GIRK	: G protein-gated Inwardly Rectifying K <sup>+</sup>
Gion	: Membrane Ionic Conductance
GLP1	: Glucagon-like peptide-1
HCN	: Hyperpolarization-activated Cyclic Nucleotide-gated
HEPES	: 4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid
HRV	: Azalmış kalp hızı değişkenliği.
HVA	: High Voltage Activated Channels
IPA	: Integrated Patch Amplifier
Kir	: Inwardly Rectifying K <sup>+</sup>
LEV	: Levetiracetam
MNCV	: Motor sinir ileti hızı
NO	: Nitrik oksit
PBS	: Phosphate Buffered Saline

RVM	: Rostral Ventromedial Medulla
S.E.M.	: Standard Error of The Mean
SNCV	: Duyusal sinir ileti hızı
SNL	: Spinal Nerve Ligation
STZ	: Streptozotocin
TRP	: Transient Receptor Potential
V1/2	: Potential of Half Activation
VP	: Ventral Posterior Thalamus
VPL	: Ventral posterior lateral
VPM	: Ventral posterior medial

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Bu çalışmanın amacı, anti epileptik etkili LEV uygulamasının diyabetik nöropatide gözlenen olumlu etkilerinin altında yatan mekanizmaların incelenmesidir. Diyabetik nöropati diyabet mellitus'un tedavi maliyeti yüksek olan yaygın görülen ve rahatsız edici bir komplikasyonu olmakla beraber, gelişimindeki ana pathogenetik hipotezler poliyol yolunun aktivasyonu, nonenzimatik glikolizasyonda olan artış, vasküler disfonksiyon, lipit metabolizmasının hasara uğraması ve bozulmuş olan nörotrofizimdir. Son dönemlerde büyüme faktörleri, yeni nörotrofinler, inflamatuvar mediatörler daha geniş araştırılmış ve öğrenilmiştir. Diyabetik nöropatinin tanısı, nörolojik muayene ile etkili ve güvenilir olup, kantitatif sensoryal ve nörofizyolojik testler ile desteklenmiştir. Aldoz redüktaz inhibitörleri, ada hücrelerinin, tüm pankreas hücrelerinin transplantasyonu, diyabetik nöropati için yan tedavilere ulaşılabilirliğin çoğalması, hastaların tedaviden fayda sağlamasının hızlanması için ek araştırmaların yapılması ihtiyacını artırmıştır. Tezin yazım amacı da bu araştırmalara katkıda bulunmak ve patch clamp tekniği ile LEV'in diyabetik nöropatideki etkilerini öğrenmektir.

## 2. LİTERATÜR

### 2.1. Ağrı

Uluslararası ağrı araştırmaları derneği (International Association for the Study of Pain=IASP) tarafından ağrı, bedenin herhangi bir yerinden başlayan, organizmayla ilgili bir nedene bağlı olan veya olmayan, kişinin geçmişindeki deneyimleri ile alakalı, sensoryal, emosyonel, hoş olmayan bir duygu olarak bahsedilmiştir. Vücuttaki doku hasarının bilinçsiz bir şekilde farkına varılmasına da ağrı dene bilir [1]. Ağrı, insanların hayatına rahatsızlık veren, vücudun verdiği korumaya yönelik bir sinyal olup, nosiseptör adında olan özel reseptörlerin ağrı yaratabilecek uyaranlar tarafından aktive olması ile başlamaktadır [2]. Ağrı çeşitli şekillerde sınıflandırılır [1]:

**Tablo 2. 1.** Ağrının sınıflandırılması [1, 2]

Ağrının meydana gelme süresine göre sınıflama	1. Akut olan ağrı 2. Kronik ağrı
Mekanizmalarına göre ağrı sınıflaması	1. Deafferantasyon ağrısı 2. Nosiseptif ağrı 3. Reaktif ağrı 4. Psikosomatik ağrı 5. Nöropatik ağrı
Kaynaklandığı vücut bölgesine göre ağrı sınıflaması	1. Viseral ağrı 2. Somatik ağrı 3. Periferel ağrı 4. Sempatik ağrı

Ağrının vücutta algılanması 4 aşamada gerçekleşir:

1. Transdüksiyon: Sinirlerin sensoriyal uçlarında, uyarı elektriksel aktiviteye dönüştürülür.
2. Transmisyon: İmpulslar sensoryal sinir sistemi boyunca yayılması, duyusal sinirler ile üst merkeze iletilmesidir.
3. Modülasyon: Nosiseptif transmisyon nöral etkenlerle modifiye olur.
4. Persepsiyon: Uyarının alındığı sonuncu aşama olup, bireyin psikolojisi ile etkileşimi ve sübjektif emosyonel deneyim sonucu gelişir, ağrı algılanır [1].

### 2.1.1. Nöropatik ağrı

Uluslararası Ağrı Araştırmaları Birliği (International Association for the Study of Pain), nöropatik ağrıyı sinir sistemindeki primer bir lezyon ya da işlev bozukluğunun sonucu ortaya çıkan ağrı olarak 1994 yılında tanımlamıştır. Daha sonralar ise nöropatik ağrının periferik veya merkezi sinir sisteminde olan veya her ikisinde oluşan lezyondan kaynaklanan duyuşal bulgulara ve semptomlara yol açan ağrı olarak tanımlanması önerilmiştir [3].

Nöropatik ağrıyı değerlendirirken bazı kriterler uygulanarak ağrı aşağıdaki gibi çeşitlendirilir:

- ✓ Kesin nöropatik ağrı: Kesin nöroanatomik dağılım bulunmalı, periferik veya santral somatosensoryel sistemi etkilemiş olan hastalık ya da lezyonun var olmasını düşündüren sebep olmalıdır. Kesin nöroanatomik dağılım en az bir, nöropatik ağrı yapabilecek hastalık veya lezyon da en az bir teyit edici testle gösterilmelidir.
- ✓ Muhtemel nöropatik ağrı: Kesin nöropatik ağrı kriterlerinden herhangi birinin olması halinde oluşan ağrıdır.
- ✓ İhtimal dahilinde: Kesin nöroanatomik dağılım bulunmalı, periferik veya santral somatosensoryel sistemi etkilemiş olan hastalık ya da lezyonun var olmasını düşündüren sebep olmalıdır [3].

**Tablo 2. 2.** Nöropatik ağrı nedenleri [4].

Periferik sinir sistemi lezyonları		Santral lezyonlar
Lokal olan:	Diffüz olan:	✓ Dorsal kök gangliyonu (DRG) lezyonları
✓ Tuzak nöropatileri	✓ Diabetes mellitus	✓ Pleksus yaralanmalar
✓ Kompleks bölgesel ağrı sendromu	✓ Amiloid	✓ Spinal kord traktus lezyonları (travma, tümör, siringomiyeli)
✓ Postherpetik nevralsi	✓ Plazmositom	✓ Orta beyin-pons lezyonlar
✓ Diabetik mononöropati	✓ Duysal herediter nöropatiler	✓ Talamik lezyonlar (tümör, inme)
✓ İskemik nöropati	✓ AIDS nöropatisi	✓ Kortikal lezyonlar.
✓ Poliarteritis nodosa	✓ B vitamini yetmezliği	
✓ Posttravmatik nevralsi	✓ Toksik nöropatiler	



**Tablo 2. 3.** Nöropatik ağrı tedavisi zamanı kullanılan ilaçlar ve oluşan kontroendikasyonları [4].

İlaç	Etki Mekanizması	Oluşan yan Etkiler	Kontroendikasyonlar
Duloksetin (60-120 mg)	Serotonin ve noradrenalin reuptake inhibisyonu	Bulantı, karın ağrısı, konstipasyon	Hepatik hastalık ve hipertansiyon Tramadol kullanımı
Gabapentin (900-3600 mg) Pregabalin (150-600 mg)	Voltaja bağlı Kalsiyum kanallarının merkezi duyarlılığı düşürmesi	Sedasyonlar, baş dönmeleri, periferik ödem oluşumu, kilo almanın hızlanması	Böbrek yetmezliğinde dozun azaltılması
Venlafaksin (75-225 mg)	Serotonin ve noradrenalin reuptake inhibisyonu	Yüksek dozlarda bulantı ve hipertansiyon	Kardiyak hastalık ve hipertansiyon Tramadol kullanımı
Amitriptilin (25-100 mg) Nortriptilin Desipramin	Sodyum kanal blokajı, monoamin reuptake inhibisyonu, antikolinerjik etki	Uyuşukluk, antikolinerjik etkiler ve kilo alımı	Glokom, kardiyak hastalık, prostat adenoma, epilepsi
Tramadol (210 mg)	Monoamin reuptake inhibisyonu, $\mu$ -Opioid reseptor agonisti	Mide bulantısının yaranması, kusma, kabızlık oluşması, baş dönmeleri ve vücutta uyuşukluk	Yaşlılarda antidepresan kullanımı, madde kullanımı ve intihar riski
Morfin Oksikodon	$\mu$ -Opioid reseptor agonisti; oksikodon reseptor antagonismi	Mide bulantısının yaranması, kusma, kabızlık oluşması, baş dönmeleri ve vücutta uyuşukluk	İntihar riski oluşturur, Madde kullanımı yaratır.
Alpha-lipoik asid (600 mg)	Lipofilik antioksidan etkisi	Mide bulantısı, döküntü oluşur, insülin otoimmün sendromu yaranır	Hipoglisemi oluşur

Nöropatik ağrı oluşumunda yaranan başlıca semptomlar stimulusla uyarılan ve stimulustan bağımsız olarak ikiye ayrılır ve kendi içinde çeşitlenir:

Stimulusla uyarılan semptomlar:

- ✓ Allodini: Normal hallerde ağrılı olmayan herhangi bir uyarıcı etkenin ağrıya neden olmasıdır.

- ✓ Hiperalezi: Normal hallerde ağrılı olan herhangi uyaran etkene karşı verilen yanıtın artması hiperalezi adlanır.
- ✓ Hiperpati: Tekrarlanmış olan uyaran etkenlere karşı eşığin düşerek cevabın artması hiperpatidir.
- ✓ Hipoestezi: Özel duyular haricinde uyarana karşı duyarlılığın azalmasına denir.
- ✓ Hiperestezi: Özel duyular haricinde uyarana karşı duyarlılığın artmasına denir [3].

Stimulustan bağımsız semptomlar ise aşığıdakilerdir:

- ✓ Dizestezi: Kendi kendine ya da uyarı ile yaranan anormal bir duyu olup, bir uyaran olmadan oluşan yanma gibi ağrılı bir histir.
- ✓ Parestezi: Kendi kendine ya da uyarı ile yaranan hoş olmayan bir duyu olup, bir uyaran olmadan oluşan karıncalanma gibi ağrısız bir histir [3].

Nöropatik ağrı sendromlarında klinik yaranan bulgular aşığıdakilerdir:

- ✓ Spontan, paroksizmal ya da devamlı ağrı
- ✓ Allodini ve hiperalezi
- ✓ Refere ağrı ve anormal ağrı yayılımı
- ✓ Anormal duyular
- ✓ Duyu kaybı ve ağrı oluşumu [4].

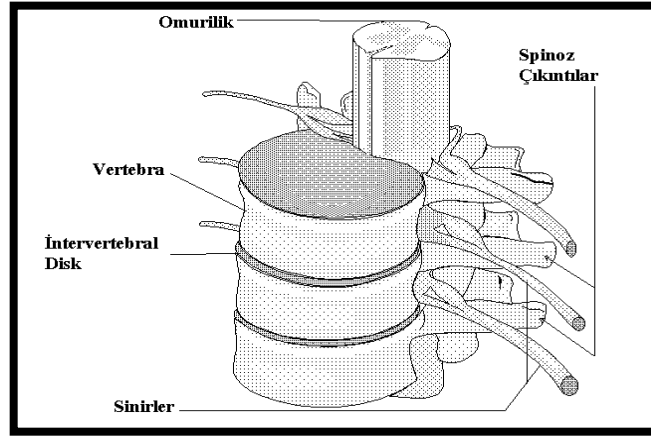
### **2.1.2. Dorsal kök ganglionları**

Periferik sinir sistemindeki bir grup nöronal hücreye ganglion denir. Ganglion; bağ dokusu kılıfı ve glial hücreler iğerren dairesel bir yapı ile çevrili nöronal hücre gövdesinden oluşur. Kapsülden ganglionun içerisine ince bağ doku bölmeleri girmekte olup, organı bölmelere ayırmaktadır. Gangliondaki hücelere ganglion hücresi denir. Ganglion hücresinin çevresinde tek sıralı yassı Satellit (uydu=manto=peyk) hüceleri denilen hüceler bulunur. Ganglionda birkaç hücre veya 50-100.000 hücre de olabilir. Genel anlamda ganglion; nöron, myelinli-myelinsiz sinir lifleri ve bunların arasında oluşan bağ dokudan ibaretdir [5-7].

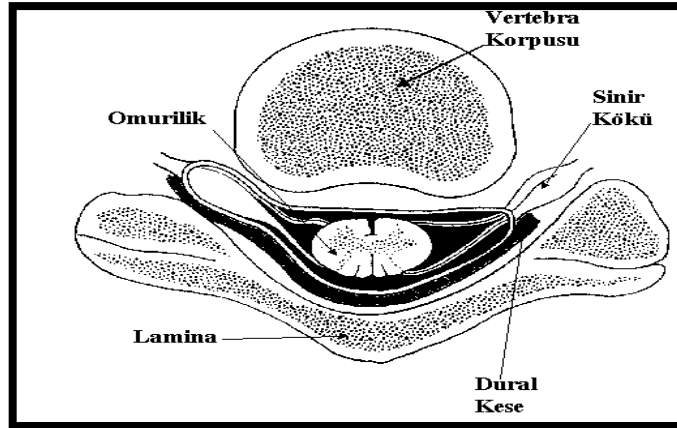
Ganglionlar çeşitli şekillerde adlandırılırlar. Medulla spinalisin arka kökünün üzerinde olan nöronlar arka kök ganglionudur. Kranial sinirler boyunca ganglionlar bulunmaktadır. Ganglionların şekil ve ebatlarında olan farklılıklar da dikkate alınarak 2 grupta sınıflandırılırlar [7]:

1-Duyu Ganglionları (Kraniospinal ganglionlar). Grup dahilinde de bu ganglionlar Spinal ganglion (Arka kök ganglionu) ve Kranial sinir ganglionları olarak ikiye ayrılır.

2-Otonomik Ganglionlar. Bu ganglionlarda iki çeşittir; Sempatik ganglionlar ve parasempatik ganglionlar. Sempatik ganglionlar paravertebral ve prevertebral olarak çeşitlenir. Ganglionlara sinirsel uyarı verilmesi zamanı dağıtım istasyonu olarak iş görür. Gangliona bir sinir girer, bir sinir çıkar. Sinir uyarısının yönüne göre ganglionun duyuusal veya otonom olacağı belirlenir [6].



Şekil 2. 1. Omurilik ve sinir köklerinin vertebralarla ilişkisi (önden görünüm)



Şekil 2. 2. Omurilik ve sinir köklerinin vertebralarla ilişkisi (enine kesit)

Dorsal kök ganglionunda yerleşmiş ağrı yolunun ilk nöronları nosiseptörlerin hücre gövdeleridir. Spinal kordun dorsal boynuzundaki yerleşik nöronlar ikinci sıra nöronlardır, bunların akson uzantıları spinotalamik traktusu oluşturur. Talamusta yer alan nöronlar ise üçüncü sıra nöronlardır. Ağrının affektif kısmı, orta beyin retiküler formasyonu bağlantısı üzerinden talamusun intralaminer çekirdeklerine gelir,

diskriminatif kısım ise talamusun ventral posterior lateral (VPL) ve medial (VPM) çekirdeklerine ulaşır [8–11]. Yapılan çalışmaların birinde talamusun ventral posterior lateral (VPL) ve medial (VPM) çekirdeklerindeki uyarıcı nöronların, anterior singulat korteks'deki aktiviteyi değiştirdiği ve affektif ağrı modülünde etkin olduğu ortaya çıkmıştır [11]. Ağrının duysal sinyallerinin taşınma şeklini özetlersek iki yoldan biri anterolateral sistem dediğimiz mediyal lemniskus sistemin lateral spinotalamik traktus yolu ile birincil ağrının taşınımında görevli olan yol, diğeri ise medial spinotalamik traktus ile ikincil ağrı taşınımı gerçekleştiren yol olur.

## **2.2. Diyabetik Nöropatinin Tarihçesi**

Diyabetiklerde oluşan nöropati ile ilgili ilk bilgiler 19. yüzyılın başlarında tıp literatüründe dikkat çekmiş, 1864'te Marchal de Calvi periferik sinir sistemindeki çeşitli değişikliklerin diabet sonucu ortaya çıktığını ileri sürmüştü, siniyatik sinirin dağılım alanındaki ağrı ile parestezi bölgelerinin diyabetiklerde mutant olduğunu bildirmiştir. 1884-1885'li yıllarda, Bouchard, Pavy ve Althous, Marinian uzun süre diabetes mellitus olan hastalarda tendon reflekslerinin alt ekstremitelerde kaybolduğunu göstermişler. 1886-1930 yılları arasında giderek artan diyabetik nöropatideki klinik gözlemler diabetolojinin oldukça dikkat çeken bölümü olmuştur. İlk defa John Rollo 1798'de Diabetes Mellitusu olan bir hastanın periferik sinir sisteminde lezyonlar olduğunu söylemiştir. John "Cases of Diabetes Mellitus" kitabında diyabetiklerde alt ekstremitelerdeki ağrı ve paretezilerin aktif hareketlerin sınırlı şekilde yapılmasına neden olduğu, hayat kalitesini ciddi şekilde düşürdüğünü belirtilmiştir [12].

### **2.2.1. Diyabetik nöropati nedir**

Diyabetes mellitus hâlen dünyada oldukça sık görülen, obezitenin çok görüldüğü ülkelerde ciddi ekonomik yük olan, hastaların günlük yaşamlarını olumsuz etkileyen hastalıktır. Dünyada 246 milyon insanı etkileyen diyabetin 20-30 milyonunun semptomatik diyabetik polinöropati oluşturur. Tip 1 diyabetli genç hasta bireylerde diyabetin kötü kontrolü sonucunda birkaç ay içinde polinöropati ortaya çıkmaktadır. Erken tanı oldukça önemlidir, çünkü yapılan çalışmalarda intens diyabet kontrolünün klinik nöropati prevalansının %60-69 oranda azaldığı görülmüştür [13].

Diabetes mellitusun yaygın olan kronik komplikasyonu olan diyabetik nöropati sinir sisteminde çeşitli bölgelere etki eder, periferik ve otonom sinir sistemi ile alakalı çeşitli klinik bulgular meydana getirir. Diyabetik hastalarda periferik nöropati subklinik nöropati, ağrısız ya da fokal nöropati ve ağrılı nöropati (akut veya kronik) şeklinde seyreder. Diyabetik periferik nöropati vakalarının neredeyse yarısında semptom görülmez. Bu nedenle diyabetli hastalarda diyabetik olmayan nöropati gelişebilir [14].

**Tablo 2. 4.** *Diyabetik Nöropati Risk Faktörleri* [14].

✓	Diyabet hastalığının başlangıcından geçen zaman
✓	Visseral obezite
✓	Glisemik kontrol
✓	Hiperlipidemi
✓	Arteriyel hipertansiyon varlığı
✓	Alkol ya da nikotin kullanımı
✓	Periferik arter hastalığı
✓	Fiziksel aktivite eksikliği
✓	Diyabetik retinopati
✓	Demografik faktörler (yaşın kaç olması, boy uzunluğu, kilo)
✓	Diyabetik nefropati

Nöropatik bozukluklar periferik sinir sisteminin otonomik veya somatik parçalarını tutabilir, bir semptom, bir bulgu veya testin varlığında tanı Diyabetik nöropati olmaz. En az iki anormallik (semptom, bulgu, sinir ileti anormalliği, kantitatif duysal testler veya kantitatif otonom testler) olması gerektiği Dyck tarafından önerilmiştir [15].

**Tablo 2. 5.** *Diyabetik Nöropatili Ayırıcı Tanısı.*

✓	Metabolik olan hastalıklar ( <i>tiroid hastalığı-hipotiroidizm, böbrek hastalığı</i> )
✓	Sistemik oluşan hastalıklar ( <i>vaskülit, paraproteinemi, amiloid, bronş kanseri</i> )
✓	Bulaşıcı hastalıklar ( <i>hepatit B ve C, HIV, Lyme hastalığı</i> )
✓	İnflamatuvar ( <i>kronik inflamatuvar demiyelinizan poliradikülönöropati</i> )
✓	Besin maddeleri ( <i>B12 vitamini, piridoksin, tiamin, tokoferol</i> )
✓	Gastroplastiyeye bağlı nöropatiler
✓	Ağır metaller ( <i>arsenik, cıva</i> )
✓	Endüstriyel iş malzemeleri ( <i>akrilamid, organofosfatlar</i> )
✓	İlaçlar ( <i>alkol, amiodaron, kolşisin, vinka alkaloid, dapson</i> )

Diyabetik nöropati, sinir sisteminin hem otonomik hem de somatik bileşenlerini etkileyen, ancak diyabetik hastalarda kalıtsal, travmatik, kompresif, metabolik, toksik, nutrisyonel ve enfeksiyona dayalı periferik sinir bozukluğu olarak tanımlanan heterojen bir hastalıktır. Hipergliseminin başlamasından sonraki ilk birkaç ayda azalmış MNCV (motor sinir iletim hızı) ve SNCV (duyusal sinir iletim hızı), ağrı oluşumuna karşı artan hassasiyet (hiperaljezi), normal uyaranlara ağırlı yanıt (diferansiyel) ve diğer işlev bozuklukları ortaya çıkar, hastalık ileri boyutlara ulaştıkça aksonopati, demiyelinizasyon, sinir dejenerasyonu ve ağrıya duyarlılık azalır [16].

**Tablo 2. 6.** *Diyabetik Hastalar için nöropatilerin Sınıflandırılması.*

A. Diffüz nöropati çeşitleri	
Distal simetrik polinöropati:	Otonom nöropati:
İnce lif nöropatisi Kalın lif nöropatisi Miks - ince ve kalın lif nöropatisi	Kardiyovasküler otonom nöropati Gastrointestinal otonom nöropati Ürogenital sistem otonom nöropati Sudomotor disfonksiyon Hipoglisemi algılayamama Anormal pupil fonksiyonları
B. Mononöropati çeşitleri	
İzole kranial veya periferik sinir mononöropatisi (okulomotor, ulnar, femoral, peroneal) Mononörit multipleks	
C. Radikülopati veya poliradikülopati çeşitleri	
Radikülopleks nöropati (lumbosakral poliradikülopati, proksimal motor amyotrofi) Torasik radikülopati	
D. Diyabete bağlı olmayan nöropati çeşitleri	
Kronik inflamatuvar demiyelinizan polinöropati Akut ağırlı küçük lif nöropatileri (tedaviye bağlı) Basınç palsileri	

### 2.2.2. Diyabetik periferik nöropati (DPN)

Diyabetin en yaygın ve ciddi komplikasyonu olan periferik nöropati ağrı, trofik değişiklikleri ve otonomik disfonksiyon riskini artırır. Diyabetik nöropati meydana geldiğinde, ayaklarda duyu kaybı fark edilebilir ve hastayı distal trofik komplikasyonlarının önlenmesi konusunda eğitmek gerekebilir [13].

Kronik hiperglisemi, DPN'ye neden olan metabolik olayların nedenidir ve çalışmalar insülin ve/veya C-peptid eksikliğinin DPN'ye neden olduğunu göstermektedir. C-peptid, insülin katlanmasına yardımcı olmak için proinsülinin A ve B zincirlerini birbirine bağlayan 31 amino asitten oluşan bir proteindir. C-peptid, hayvan çalışmalarında nöroperfüzyonu artırıyor gibi görünmektedir. Hiperglisemi ise mikroanjyopatinin metabolik sonuçlarına bağlı olarak insülin direnci, adiposit toksisitesi, endotel hasarı ve aksonal hasar ile nöroiskemiye neden olur. Diyabetin, NO (nitrik oksit) yetersizliği ve EDRF (Endotel Kaynaklı Gevşetici Faktör) değişikliklere neden olduğu, mikrovasküler reaktivite ve yapısal mikroanjyopati gibi DPN'yi ağırlaştırmış olan fonksiyonel bozukluklara yol açtığı bildirilmiştir [16].

### 2.2.3. Distal simetrik polinöropati

Başka nöropati nedenleri dışlandıktan sonra diyabetli hastalarda periferik nöropati semptom veya bulgularının varlığı, distal simetrik polinöropatinin kanıtıdır.

**Tablo 2. 7.** Diyabetik Distal Simetrik Polinöropati Semptom ve Bulguları [14].

	İnce Lif Nöropatisi İnce Myelinli ve Miyelinsiz Sinir Lifleri A $\delta$ Lifler ve C Lifler.	Kalın Lif Nöropatisi Kalın Myelinli Sinir Lifleri A $\alpha$ ve $\beta$ Lifler.
Fonksiyon	Nosisepsiyon,	Basınç yapma, denge bozukluğu
Semptomlar	Allodini, hiperaljezi, hiperestezi, vücutta ağrı (yanma hissi, elektrik çarpması, bıçak batması gibi)	Dengesiz davranış, uyuşukluk, hareket bozukluğu, sendeleme, düşme.
Muayene	Soğuk ve sıcak ısı hissi, azalmış iğne batma hissi (pinprick), ayak cildinde kuruma, terlemede azalma	Ashill refleksi, monofilaman testi, propriyosepsiyon, el ve ayak kaslarında zayıflama,
Klinik etkiler	Bozulmuş nonisepsiyon, ayak ülserlerine yatkınlık oluşur, amputasyon riskinde artmalar olur	Bozulmuş denge duygusu oluşur, travmatik kırıklar ve Charcot artropatisi
Sinir iletim çalışmaları	İntraepidermal sinir liflerinin kaybı, korneal, konfokal mikroskopi, Kantitatif duyu testleri: Sıcak ve soğuk duyarlılığı ve ağrı algısının azalması, Sudorimetri: Terleme bozukluklarının tespiti için	Sinir iletim: Anormal test sonuçları (medyan, sural ve peroneal sinirler), vibrasyon duygusu kaybını değerlendirmek için kantitatif duyu testleri yapılır.

Diyabetik nöropatinin neredeyse %75'i distal simetrik polinöropatidir. Diyabetik nöropati, ayaklarda ülserlere, amputasyonlara ve proprioseptif disfonksiyona neden olur. Yürüme sırasındaki dengesizlik ve düşme riskinin artması ciddi travmaların nedenidir [13, 14].

### **2.3. Epidemiyoloji**

Bir çalışmada, laboratuvar testlerinde diyabetik hastaların %40,4'ünün diyabetik periferik nöropatiye sahip olduğunu ve laboratuvar testlerine sinir iletim testleri eklendiğinde bu oranın %62,2'ye yükseldiğini göstermektedir. Diyabetiklerin %83'ünde orta ve şiddetli nöropati bulundu. Nöropatik ağrı prevalansı %14,0 idi. Kötü glisemik kontrol, mikroalbuminüri ve hiperlipidemi, retinopati, diyabetik nöropatinin gelişimine yol açar [14].

Diyabetik periferik nöropati (DPN), diyabetik amyotrofi ve simetrik polinöropatiler (DSPN; distal simetrik periferik nöropati) olmakla iki gruba ayrılır [16]. Bu nöropatinin ilk semptomları ince lif tutulumu ile gelişir. Bunlara ağrının oluşumu, yanma ve karıncalanma gibi hoş olmayan semptomlar dahildir. Kalın lif tutulumu uyusukluğa ve his kaybına sebep olur. Diyabetik nöropati, bacaklarda ülserlere ve amputasyonlara neden olur [14].

Tip 1 diyabetli hastalar tanı koyulduktan 5 yıl sonra değerlendirilmeli, tip 2 diyabetli hastalar tanı anında değerlendirilmeli ve diyabetik nöropatiyi değerlendirmek için en azından yılda bir defa laboratuvar testleri kullanılmalıdır. Diyabetik nöropatinin tanı ve tedavisi, tanının kesin olmadığı atipik durumlar dışında elektrofizyolojik ve nörolojik muayene gerektirmez [14].

Distal Simetrik Polinöropatinin Değerlendirilmesi; diyabetik hastalarda nöropati öyküsü ile başlar. İnce fibröz nöropati için soğuk ısı algısı ve karıncalanmanın değerlendirilmesi gerekir. Kalın lif nöropatisi için, titreşim hassasiyeti 128 Hz'lik bir diyapazon ile değerlendirilmelidir. Tüm diyabet hastaları, diyabetik ayak riskini değerlendirmek için en az yılda bir kez 10g monofilament testi yapılmalıdır [14].

### **2.4. Otonom Nöropati**

Diyabetik otonom nöropati, hayat beklentisinde azalmaya, hedef organlarda artan hasara ve hayat kalitesinin düşmesine neden olur. Kardiyovasküler otonom nöropati,



kardiyovasküler risk nedenlerinden bağımsız olup, mortalite ile ilişkilidir ve bu tür diyabetik hastalarda mortalite 3,5 kat arttığı görülmüştür. DCCT / EDIC takibinde, tip 1 diyabet hastaların %30'unun tanı koyulduktan 20 yıl sonra kardiyak otonom nöropati geliştirdiğini göstermektedir. Bu oran tip 2 diyabetli hastalarda ise 15 yıl sonra %60'a ulaşmaktadır [14].

Otonomik nöropati, istirahat taşikardisi, ortostatik hipotansiyon, sindirim bozuklukları, kabızlık, ishal ve dışkı kaçırma, mesane disfonksiyonu, erektil disfonksiyon, terleme bozuklukları, hipoglisemik duyarsızlık ve açıklanamayan glisemik dalgalanmaları, gastrointestinal semptomları olan hastalarda değerlendirilmelidir [14].

Aniden ayağa kalkmaya bağlı baş dönmesinin oluşması, halsizlik ve çarpıntı, bayılma ve senkop kardiyak otonom nöropati belirtisidir. Azalan kalp hızı değişkenliği (HRV), hastalığın erken evrelerinde tamamen asemptomatik olan kardiyak otonomik nöropatinin erken saptanmasını sağlar. Kardiyak otonom nöropatinin ileri bir aşamasında, klinik tabloya istirahat taşikardisi (100 atım / dak) ve ortostatik hipotansiyon eklenir [14].

**Tablo 2. 8.** *Diyabetik Gastrointestinal Nöropati Semptomları* [14].

Organlar	Oluşan sorunlar	Meydana gelen semptomlar
Ösophagus	Dismotilite ve kandidiasis oluşur.	Disfaji, reflü
Mide	Gastroparesiz	Bulantı ve kusma, gaz, erken doyma, çabuk acıkma, gastrik çıkış obstruksiyonu
İnce barsak	Dismotilite, bozulmuş sıvı reabsorpsiyonu	Malabsorpsiyon, diare
Kalın barsak	Dismotilite, iskemi	Konstipasyon, megakolon, fekal inkontinans, iskemik colitis.
Safra kesesi	Dismotilite, safra taşı	Bilier obstrüksiyon, sepsis

Erken tokluk, çabuk açlık, midede şişkinlik, bulantı ve kusma, şiddetli glisemik dalgalanmaları olan hastalar diyabetik gastroparezi açısından değerlendirilmelidir. Opioidlerin veya GLP1 reseptör agonistlerinin kullanımına bağlı olarak organik mide çıkışı tıkanıklığına neden olan hastalıklar, gastroparezi diyabet için belirli testler yapılmadan önce ekarte edilmelidir. Gastroparezi saptamak için mide boşalmasının

sintigrafi veya 13-kotanoik nefes testi ile değerlendirilmesi gerekir. Diyabetik enteropati konstipasyon, diare ve gaita inkontinansa sebep olur [14].

**Tablo 2. 9. Diyabetik Kardiyovasküler Otonom Nöropati** [14].

Klinik	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ İstirahat (dinlenme) taşikardisi</li> <li>✓ Kalp hızında değişkenliğin azalması</li> <li>✓ Ortostatik hipotansiyon</li> <li>✓ Egzersiz intoleransı</li> <li>✓ Perioperatif instabilite</li> <li>✓ Sessiz miyokard infarktüsü</li> <li>✓ QT aralığının uzatılması</li> <li>✓ Ani kalp ölümü</li> </ul>				
Tanı Yöntemleri	<p><i>Kardiyovasküler otonom nöropati testleri yapılır:</i></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Parasempatik</th> <th>Sempatik</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Derin solunuma kalp hızı cevabı</li> <li>✓ Valsalva'ya kalp hızı cevabı</li> <li>✓ Ayağa kalkmaya kalp hızı cevabı (30:15 oranı)</li> </ul> </td> <td> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Ayağa kalkmaya kan basıncının yanıtı</li> <li>✓ Kalp hızı değişkenliğinin (HRV) spektral analizi</li> <li>✓ Bir bozuk HRV testi</li> <li>✓ İki bozuk HRV testi</li> <li>✓ İki bozuk HRV + ortostatik hipotansiyon.</li> </ul> </td> </tr> </tbody> </table>	Parasempatik	Sempatik	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Derin solunuma kalp hızı cevabı</li> <li>✓ Valsalva'ya kalp hızı cevabı</li> <li>✓ Ayağa kalkmaya kalp hızı cevabı (30:15 oranı)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Ayağa kalkmaya kan basıncının yanıtı</li> <li>✓ Kalp hızı değişkenliğinin (HRV) spektral analizi</li> <li>✓ Bir bozuk HRV testi</li> <li>✓ İki bozuk HRV testi</li> <li>✓ İki bozuk HRV + ortostatik hipotansiyon.</li> </ul>
Parasempatik	Sempatik				
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Derin solunuma kalp hızı cevabı</li> <li>✓ Valsalva'ya kalp hızı cevabı</li> <li>✓ Ayağa kalkmaya kalp hızı cevabı (30:15 oranı)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Ayağa kalkmaya kan basıncının yanıtı</li> <li>✓ Kalp hızı değişkenliğinin (HRV) spektral analizi</li> <li>✓ Bir bozuk HRV testi</li> <li>✓ İki bozuk HRV testi</li> <li>✓ İki bozuk HRV + ortostatik hipotansiyon.</li> </ul>				
Tedavi.	<table border="1"> <thead> <tr> <th><i>Kardiyovasküler otonom nöropati:</i></th> <th><i>Ortostatik hipotansiyon:</i></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Koroner kalp hastalığının ve kalp yetmezliğinin erken tanı ve tedavisi</li> <li>✓ Sinüs taşikardisi: kardiyoselektif beta blokerler</li> </ul> </td> <td> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Liberal tuz alımı, fiziksel eğitim, hipotansif ilaçlardan kaçınma</li> <li>✓ Kan basıncını artıran ilaçlar (midodrin ve droksidopa)</li> <li>✓ Fludrokortizon (düşük doz)</li> </ul> </td> </tr> </tbody> </table>	<i>Kardiyovasküler otonom nöropati:</i>	<i>Ortostatik hipotansiyon:</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Koroner kalp hastalığının ve kalp yetmezliğinin erken tanı ve tedavisi</li> <li>✓ Sinüs taşikardisi: kardiyoselektif beta blokerler</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Liberal tuz alımı, fiziksel eğitim, hipotansif ilaçlardan kaçınma</li> <li>✓ Kan basıncını artıran ilaçlar (midodrin ve droksidopa)</li> <li>✓ Fludrokortizon (düşük doz)</li> </ul>
<i>Kardiyovasküler otonom nöropati:</i>	<i>Ortostatik hipotansiyon:</i>				
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Koroner kalp hastalığının ve kalp yetmezliğinin erken tanı ve tedavisi</li> <li>✓ Sinüs taşikardisi: kardiyoselektif beta blokerler</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Liberal tuz alımı, fiziksel eğitim, hipotansif ilaçlardan kaçınma</li> <li>✓ Kan basıncını artıran ilaçlar (midodrin ve droksidopa)</li> <li>✓ Fludrokortizon (düşük doz)</li> </ul>				

Tekrarlayan idrar yolu enfeksiyonu, piyelonefrit, inkontinans veya mesane dolumu olan diyabet hastalarında otonom nöropatinin var olmasına ve mesane fonksiyonuna bakılır. Erkek şeker hastaları libido, erektil disfonksiyon ve retrograd ejakülasyon açısından değerlendirilmelidir. Prevalansı %40 olan erektil disfonksiyon ile kardiyak otonom nöropati ve diğer diyabetik komplikasyonların gelişimi arasında bir bağlantı vardır. Kadın şeker hastalarında da cinsel işlev bozukluğu sık görülür. Hastalarda tekrarlayan idrar yolu enfeksiyonlarının varlığı detaylı araştırılır [14].

## 2.5. Tedavi

Diyabetik nöropatinin patogenetik mekanizmalara yönelik olan sinir hasarını yok eden bir tedavisi yoktur. Diyabetik nöropatiyi önlemek için glisemik kontrole ve yaşam tarzındaki değişikliklere dikkat edilmelidir. Tip 1 diyabette hastalarında normoglisemiye hedeflemiş olan sıkı glisemik kontrol, distal simetrik polinöropati insidansını önemli miktarda azaltır ve bu nedenle tip 1 diyabette distal simetrik polinöropati gelişimini önlemek için çok önemlidir. Çoklu risk faktörleri ve komorbiditeleri olan tip 2 diyabetlilerde, tek başına sıkı glisemik kontrol, distal simetrik polinöropatiyi önlemede kısmen etkilidir. Nöron kaybını önlemeden nöropatinin ilerlemesini biraz yavaşlatır. Bu durumda hasta merkezli tedavi hedeflerinin belirlenmesi gerekir. Prediyabet sendromu, metabolik sendrom veya tip 2 diyabetlilerde distal simetrik polinöropatiyi önlemek için yaşam tarzı müdahaleleri yapılmalıdır [14].

Veriler, nöropatinin patogenezi için oksidatif ve nitrozasyon stresinin önemli olduğunu ve antioksidanların terapötik olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir.  $\alpha$ -lipoik asidin uzun süreli oral uygulamasının, distal simetrik polinöropatisi olan hastalarda klinik olarak anlamlı iyileşme ve nöropati defektlerinin artmasında hafif gecikme ile sonuçlandığı belirtilmiştir [14].

Diyabetik nöropati tedavisine yönelik ilaçları kullanmaktaki amaç ağırlı diyabetik nöropatinin nöropatik ağrısını azaltmak ve otonom nöropati semptomlarını kontrol altına alarak yaşam kalitesini iyileştirmektir [14].

Nöropatik ağrı tedavisinde diyabetli hastaların klinik durumu dikkate alınarak planlama yapılmalıdır. Hastalığın semptomatik tedavisinde ilk olarak pregabalin (kalsiyum kanal  $\alpha 2$ - $\delta$  subunit ligandı) veya duloksetin (seçici bir norepinefrin veya serotonin geri alım inhibitörü) seçilmelidir. İki ilaçta da yan etkiler yaşlı olan hastalarda daha şiddetli görülür ve düşük dozla başlayıp azar azar artan düşük dozla başlayıp önlenebilir. Venlafaksin ve gabapentin de hastanın sosyoekonomik durumu, komorbiditeleri ve potansiyel ilaç etkileşimleri dikkate alınarak kullanılabilir. Trisiklik antidepressanlar nöropatik ağrıda etkili olmasına rağmen yan etki riskleri yüksektir ve dikkatli kullanılmaları gerekir. Tramadol ve tapentadol gibi opioidlerin ise birinci veya ikinci basamak ilaçlar gibi kullanımı bağımlılık ve diğer yan etkiler nedeniyle önerilmemektedir [14].

HRV'yi olumsuz etkiledikleri ve aritmi riski oluşturdıkları için kardiyak otonom nöropatili hastalarda intrinsik semptomimetik aktiviteye sahip beta blokerler ve klinik olarak etkili dozlarda trisiklik antidepresanlar kullanılmamalıdır. Ortostatik hipotansiyonlu hastalar, postüral semptomları hafifletmek, fiziksel aktiviteyi teşvik etmek ve hipotansiyona neden olan ilaçların kullanımından kaçınmak için yeterli tuz alımını sağlamaya dikkat etmelidir. Midodrin ve droxidopa, ortostatik hipotansiyonu tedavi etmek için kullanılabilir [14].

Gastroparezi tedavisinde gastrointestinal motiliteyi iyileştiren bir ilaç olan metoklopramid kullanılır. Metoklopramidin etkilerine dair zayıf kanıtlar ve ekstrapiramidal sistemin yan etkileri nedeniyle 5 günden fazla kullanmamanızı önerilir. Opioidler, antikolinergik ajanlar, trisiklik antidepresanlar, GLP1 agonistleri ve DPP4 inhibitörleri gibi gastrointestinal motiliteyi olumsuz etkileyen ilaçların durdurulması da gastrointestinal motiliteyi artırarak tedavide kullanılabilir [14].

Fosfodiesteraz tip 5 inhibitörleri esas olarak erektil disfonksiyonun farmakolojik tedavisi için kullanılır. Gerekliğinde üretrada prostaglandinler, vakum cihazları veya penil protezler kullanılabilir [14].

Bir çalışma, diyabetik periferik nöropatili hastalarda vitamin B12, metilforat ve piridoksal fosfat kombinasyonunun etkilerini inceledi, ancak önemli etkiler göstermedi. B12 vitamini eksikliği olan metformin alan hastalara metilkobalamin önerilmelidir. B12 vitamini eksikliği ile ilişkili nöropatinin genellikle 250 pg / mL'nin altındaki konsantrasyonlarda meydana geldiği görülmüştür [14].

## **2.6. Patch clamp**

Doku ve organların elektriksel uyarıya bilirligi Faraday'dan beri bilinmektedir. Motor sinirlerden geçen ve kasları kasılan elektriksel pulsların ilk kaydını Lucas oluşturdu. Lucas'ın eğittiği Adrian ölçümleri geliştirdi ve öncelikle bir osiloskopta bir mikropipet elektrot ve bir termoionik valvden oluşan bir amfi tarafından elde edilen sinyali gösterdi. Osiloskop, aksiyon potansiyelleri gibi yüksek hızlı sinyalleri kaydeden ilk cihazdı. Adrian'ın keşifleri ve yorumları, günümüz sinir bilim dünyasının temellerini atan ve 1932'de Nobel Ödülü'nü kazanan birkaç tuğladan biri oldu. Bu alandaki araştırmalar, uyarıya bilirlilik mekanizmasını aydınlatmaya odaklanmıştır. Uyarıya bilirligin temeline ilişkin ilk açıklama, 20. yüzyılın başlarında Bernstein'nin önerdiği "membran kırılması" teorisine dayanmaktadır. Bernstein, uyarıcı hücre zarlarının

istirahat halinde potasyuma nüfuz ettiğini, ancak bu seçiciliğin uyarım üzerine kaybolduğunu ve diğer iyonların nüfuz etmesine izin verdiğini öne sürdü. O zamanki laboratuvar koşullarında iyon kanallarını ayırmak ve etkinliklerini kaydetmek mümkün olmamıştır. Neredeyse tüm deneyler, değişiklikleri gözlemlemek ve yorumlamak için çeşitli tuz çözeltileri veya sinir kas preparatı kullanılarak gerçekleştirilebilirdi. Osiloskopların laboratuvara girmesi ve yüksek hızlı sinyallerin güvenilir şekilde kaydedilmesi bu alanda önemli adımlardandı. Biyoelektrik potansiyeller ve ürettikleri akımlar çok küçük ve zayıftı. Bu nedenle, ikinci önemli adım olarak, özel kayıt cihazlarının ve bu sinyalleri ölçmek için yöntemlerin geliştirilmesine odaklanıldı. Bu cihaz ve yöntemlerin tarihsel gelişimine bakıldığında üç grubun önemli ölçüde katkıları olduğu görülmektedir. Bunlar; İngiltere'den Hodgkin, ABD'den Cole ve Curtis, İngiltere'den Hodgkin, Rushton, Huxley ve Katz, Almanya'dan Neher ve Sakmann'dır [17].



Şekil 2. 3. Patch clamp laboratuvarımız

Patch-clamp tekniği genellikle hücre zarı kanallarından iyon akımlarını incelemekte kullanılır. Bu modern ve elektrofizyolojik tekniktir [10]. Hücreden hücreye değişen bir iyon kanalından geçen birim akım pA seviyesindedir. Bu boyuttaki küçük bir akışı kaydetmek, ortam ve sistem gürültüsü olan bir ortamda çok zordur. 1 pA'lık bir iyon akımını %10 doğrulukla tespit etmek için sinyal kaynağının direnci en az 2 GΩ olmalıdır [18].

İyonların hücre fizyolojisindeki rolü 1880'de Ringer tarafından açıklanmıştır. Denge iyon potansiyeli deneyi Nernst (1888) tarafından yapılmıştır. 1902'de Julius

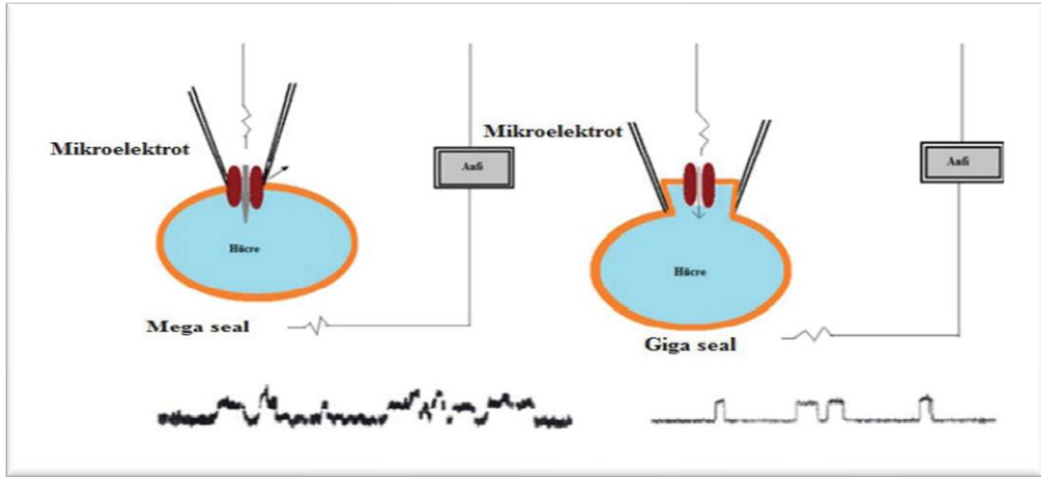
Bernstein, istirahat halindeki hücre zarının potasyum iyonlarına seçici olarak nüfuz ettiğini belirtti. Bernstein'a göre, potasyum iyonları için zar seçiciliği, zarın parçalanması nedeniyle zarın uyarılması üzerine geçici olarak kaybolur ve diğer iyonların karşı hücre zarından difüze olmasına ve depolarize olmasına izin verir. Aynı zamanda (1905), Herman, yüksek elektrik direncine ve yüksek kapasitansa sahip bir zarla çevrili silindirik bir iletim çekirdeğine sahip bir akson modeli önerdi. Membranın elektriksel özelliklerinin deneysel çalışmaları, Cole ve Curtis'in Wheatson köprüsünü kullanarak zarın direncini ve kapasitansını ölçmesi 1923'te başladı. Elde ettikleri sonuçlar, her hücrenin 1 mF / cm<sup>2</sup> kapasitansına ve düşük iletkenliğe sahip bir zarla çevrili oldukça iletken bir sitoplazmaya sahip olduğunu göstermektedir. Hücre zarlarının elektriksel özellikleri, gelecekteki araştırmalar için referans materyal sağladı. 1937'de Hodgkin, depolarize dalgaların elektrik akımı şeklinde üretildiğini gösterdi. Bu sonuçlar Harman'ın kablo hipotezini desteklemektedir. 1939'da Cole ve Cortis, aksiyon potansiyeli ateşlemesi sırasında iletkenlikteki değişiklikleri ölçmek wheatstone köprüsünü kullandılar. Elde edilen sonuçlara dayanarak "potasyum elektrot hipotezi" önerildi [19].

Patch clamp tekniğinin 3 kuralı var:

- 1- Pozitif akım hücreyi depolarize eder ve negatif akım hücreyi hiperpolarize eder.
- 2- Akım hücrelerden gönderildiğinde depolarizasyon ve hiperpolarizasyon için zaman geçer ki, bu zamanda hücrelerin kapasitansının değiştirilmesi gerekir.
- 3- İyonların hücre içine difüzyonu olmazsa hücre zarı potansiyeli değişmez.

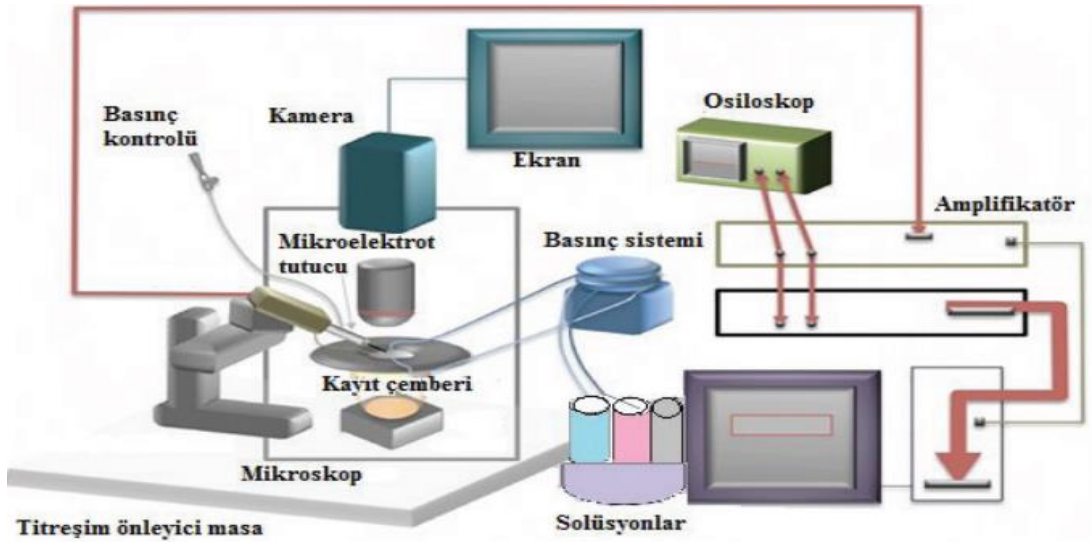
Hodgkin-Huxley modeli: Potasyum ve sodyum iyonları, membran geçirgenliğinin kantitatif ölçümleridir. İletkenlik, zar potansiyeli ve zamanın bir fonksiyonudur. Bu, uyarıcı hücrelerin aksiyon potansiyellerini incelemek için değerli bir araçtır [19].

PatchClamp, kanal boyunca akımı kaydederek, özel olarak hazırlanmış mikroelettrot ağzının hücre zarı parçasının bir şekilde yapıştırılarak ve membran potansiyelini sabit bir değerde belirleyerek bu kayıtları analiz etmek için tasarlanmıştır. Isıtma işlemi sırasında kesilen bir cam pipet, pipetin diğer ucunu bir absorpsiyon pompasıyla vakumlayarak hücre zarı ile yakın temas haline getirilir. Kontak parçasında (Gigaseal) elektrik direnci oluşur.



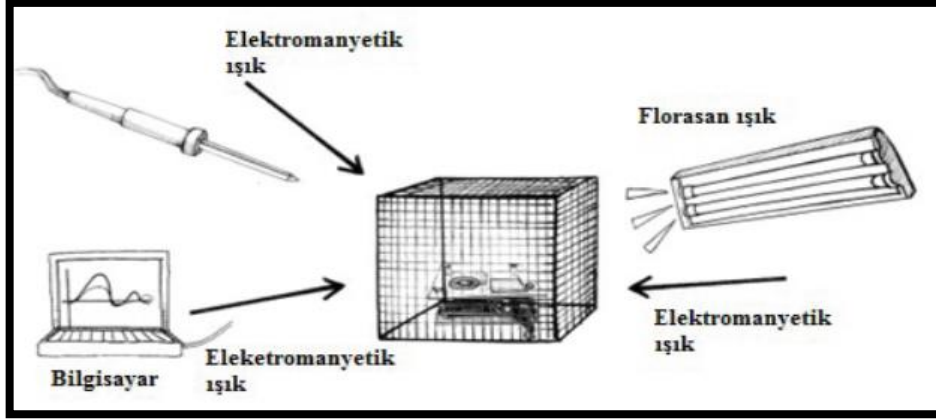
Şekil 2. 4. Giga seal elde edilmesi [18]

Patch-clamp seti aşağıdaki kısımlardan oluşur:



Şekil 2. 5. Patch-clamp seti [18]

- 1- Alınmış olan biyopotansiyel kayıtlarını yükseltip, anlaşılır hale sokan Patch Clamp Amplifiers'ten.
- 2- Chart programı ile kayıtları alan bilgisayardan.
- 3- Pipet tutucununun ilk olarak hızlı, sonradan ise hassas ve yavaş hareket ettirilmesini sağlayan manipulatorlardan.
- 4- Gigaseal oluşturulduktan sonra pipetin hafif hareketi zamanı hücre zarının yırtılmasına sebep olan titreşimi önleyen masa ve Faraday kafesinden.



Şekil 2. 6. Faraday kafesi [18]

5- Patch çemberi içindeki hücelere hücre dışı yollarla farklı sıvı veya sıvı içerisinde ilaç, nörotransmitter madde aktarılması için kullanılmış olan Perfüzyon sistemlerinden.

6- Hücrelerin görüntülenmesi ve hücre zarı ile pipet ucunun patch clamp deneyinin yapılması için kullanılan İnvrted mikroskop'tan.



Şekil 2. 7 Pipet yapıcı puller [17]

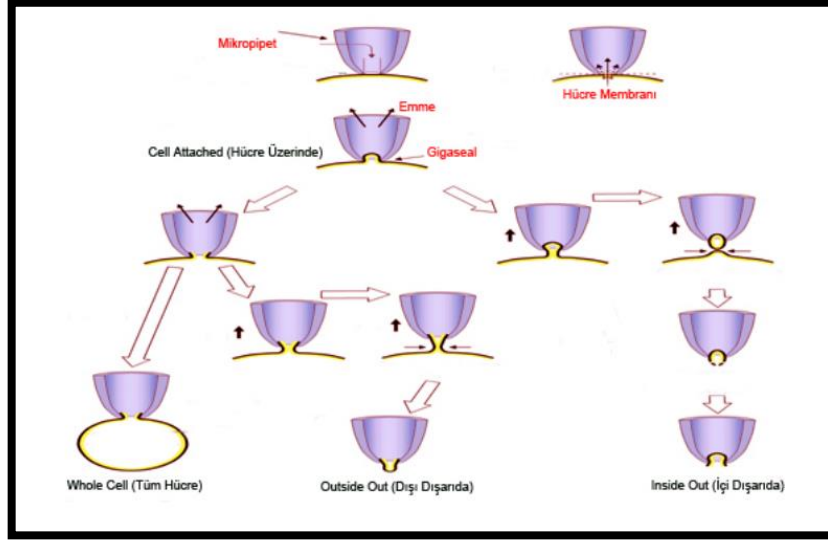
7- Pipet yapıcı pullerden.

8- Çalışmanın ana konusuna göre değişik tipleri bulunan Glass pipettes'den [19].



### 2.6.1. Patch-Clamp uygulamaları

Patch-clamp uygulaması çalışmaların amacına, araştırması istenilen kimyasal, kanal blokör veya nörotransmitter maddeye göre 4 çeşide ayrılmaktadır.



Şekil 2. 8. Patch-Clamp Uygulamaları [17]

1- Hücre üzerinde (Cell attached- On cell): Bu uygulamada ilk adım ısıtılarak 1-5 mikron çapında pipet ucu oluşturmaktır. Ardından mikroskop dairesindeki hücreye dokunulur. Pipetin kör ucundaki bir emici pompa, hücre zarı ile pipet arasında bir vakum oluşturur. Gegaohm (Gegaseal) düzeyinde bir akım üretilir. Pipetin ucundaki hücre zarının elektrotlarla temas eden kısmı diğerlerinden izole edilmiştir. Membran potansiyeli doğrudan hesaplanmaz, ancak hücreden bağımsız patch clamp yöntemiyle ölçülür. Bu yöntem, hücre zarı kanallarının açılıp kapanması ve ikincil haberciler ve diğer düzenleyiciler nedeniyle voltaj değişimleri incelenirken tercih edilir.

2- Tüm Hücre Kaydı (Whole-cell recording): Pipet ucuyla zara pompa ile vakum yapılır, zar yırtılır. Sitoplazmanın voltaj değişimleri pipet elektrotları ile ölçülür. Pipet ucu zarının yırtılmasıyla pipet içerisindeki solüsyon hücre sitoplazmasına geçer. Bu zaman hücre sitoplazması sıvısı da pipet içerisine geçer. Dengeli bir durum oluşur. Bu uygulamalarda hücre zarı tüm kalsiyum kanallarının araştırılmasında kullanılır ve nöronların hücre zarı kısımlarına kolayca girilmesini sağlar.

3- Dışı Dışarıda (Outside-out): Hücrenin tüm hücre kaydında olduğu zaman, hücre zarının dışarı koparılması durumunda kayıt alınır. Çember hücre dışı solüsyon

içerir. Pipet içerisinde hücre içindeki solüsyon olur. Hücre dışı faktörlerin öğrenilmesine ihtiyaç duyulduğunda seçilen bir yöntemdir.

4- İçi dışarıda (Inside-out): Manipulatörün mikro ayarından makro ayarına alınmasıyla hızlı geri çekme hareketi yapılır, bu zaman hücre zarının dışarı koparılmasında kayıt alınır. Hücre zarı ve iyon kanalları hücre zarından dışarıya alınır. Pipet ucundaki hücre zarını tampon içerisinden çıkmamalıdır. Pipet ucundaki hücre zarı parçacığı bilinmeyen nedenlerden dolayı ters dönmektedir. Dışı dışarda kayıt sisteminde hücre zarının içi ve dışı yerlerini değişmez. Ancak içi dışarıda kayıt sisteminde pipet ucundaki hücre zarı yer değiştirip dışı içeriye ve içi dışarıya gelmektedir. Çember hücre dışı solüsyon içerir. Pipet içerisi hücre içi solüsyon içerir. Tekli kanal araştırmalarının uygulanması, bu yöntemle araştırılabilir. Pipet ucundaki arada kalan kanalların değişik maddelere maruz kalması sebebiyle açılıp kapanabiliyorlar. Hücre içi organellere gerek olmadığı ve hücre kanalını açan unsurların zarın üzerinde olduğu sonucu çıkarılır [19].

### **2.6.2. Son yıllardaki patch-clamp sitemindeki gelişmeler**

Laboratuvarlarda HEKA firmasının ürettiği amplifier cihazı 10 yıl önceye kadar EPC7 modeliydi. Şu anda, model EPC10 kullanımda. Bu cihaz tarafından kaydedilen biyoelektrik potansiyel daha anlamlı bir formata dönüştürülür. İsteğe bağlı olarak patch ampermetre uygulamaları ve 3 elektrotlu konfigürasyonlar için özel kapak gereksinimleri karşılanmaktadır. Bakır levhayı yerleştirmeden önce patch çemberinin uygun şekilde yerleştirilmesi ve tüm hücre kayıt sisteminin hücreden kayıt yapacak şekilde yapılandırılması gerekir.

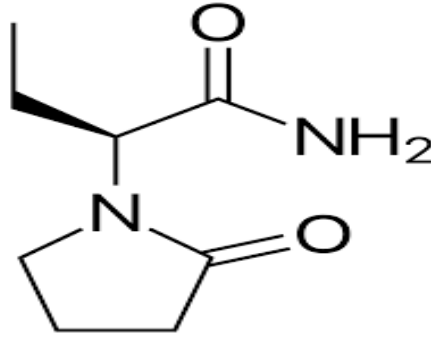
Pipet ucunu mumla kaplamak ve hücrede sabit tutmak için önce 25 mL'lik bir behere az miktarda renkli mum koyulmalı, beher mumu eritmek için ısıtılmalıdır. Mikropipetin arkasını gelecek şekilde yaklaşık 10 cm uzunluğunda 10 mL'lik bir enjektörün ucuna plastik bir serum tüpü takılır.

Tüp yerleştirildikten sonra enjektör ile vakum uygulanıp, cam beher içerisine konur. Elektrik geçirilerek eritilmiş düzenek içindeki muma hızlıca batırılıp çıkarılır. Ardından mikroskop altında polishing cihazı vasıtasıyla mikropipet ucuna elektrik verilerek mumun pipet içerisinden çıkması ve sonucunda pipetin ucunun açılması sağlanır. Bu zaman mikropipetin dış kısmı mum ile kaplanmış olur. Hücreye temas edildiğinde ise mum sayesinde pipetin hareketi en aza indirilmiş olur.

Pipet ucunun istenilen düzeye getirilmesi (polishing): Patch pipetin ucu 1-5 mm arasında olmalıdır. Bazı durumlarda pipet yapıcılarının rezistanslarındaki zamana bağlı olan değişikliklerle istenilen düzeyde pipet ucu oluşturamaz ve pipet uçları geniş olur. Bu da patch pipetinde 3–6 GOhm arasında olması gereken hücre zarı direnç (r-membrane) değerlerini çok yüksek olmasına sebep olur. Bu durumlarda, pipetin sivri ucu lehim makinesine benzeri ısıtma sistemine yaklaştırılarak ve 2-3 saniye kadar ısıya maruz bırakılarak geniş pipet ucunun istenilen düzeylere getirilmesi sağlanmaktadır.

Patch clamp uygulaması sayesinde elektrofizyoloji yeni bir soluk aldı. Bu yöntem, hücre zarlarındaki kanalların yapısını, kanalların nasıl açılıp kapandığını ve çeşitli nörotransmitterlere ve kimyasallara nasıl tepki verdiklerini incelemek için kullanılabilir. Özellikle patch clamp araştırmasının rehberliğinde, katyon kanallarını doğrudan bloke eden maddeleri incelemek özellikle önemlidir. Patch clamp uygulamaları, yakın zamanda keşfedilen birçok iyon kanalının çalışmasında önemini korumaktadır [19].

## 2.7. Levatirasetam



Şekil 2. 9. Levatirasetam'ın kimyasal formülü

LEV fokal ve jeneralize epilepsilerde tercih edilen, yeni kuşak bir anti-nöbet ilacıdır. Etkisi merkezi sinir sistemi ve endokrin dokularda bulunan sinaptik vezikül 2A proteinine bağlanarak gerçekleşmektedir. Vücuttan eliminasyonu böbreklerledir. Sersemlik, yorgunluk, bulantı, baş ağrısı, somnolans, davranış değişikliği, psikiyatrik bozukluklar gibi genel yan etkileri, az sayıda çalışmada ise LEV'in testosteron ve östrojen sekresyonunu arttırarak endokrin fonksiyonları etkilediği tespit edilmiştir [20].

LEV'in çeşitli hayvan modellerinde, prokonvülzan etkisi olmadan, parsiyel ve primer jeneralize epilepsi nöbetlerine karşı korunmayı arttırdığı belirlenmiştir. Primer metaboliti aktif değildir. İnsanlarda parsiyel ve jeneralize epilepsilerdeki etkinliği ile LEV'in farmakolojik profilinin geniş spektrumu doğrulanmıştır [21].

LEV geniş spektrumlu, iyi tolere edilen bir antikonvülzandır ve mekanizmada nöropatik ağrı yönetimi açısından muhtemelen ilginç olduğu söylenmiş bir etkiye sahiptir [22]. Bu, geniş bir etki spektrumuna sahip bir ilaç sınıfı olan pirolidon ailesine ait ikinci nesil bir anti-epileptik ilaçtır. Diğer antiepileptiklerden farklı bir kimyasal yapıya sahip olan LEV, geleneksel antikonvülzanlara kıyasla benzersiz bir farmakolojik profile sahiptir [23–25].

LEV, 1980'lerin başında, ikinci nesil bir nootropik ilacı keşfetmeyi amaçlayan bir kimyasal takip programı sırasında sentezlendi. 1999'da ABD Gıda ve İlaç Dairesi tarafından ve 2000'de Avrupa'da [26] miyoklonik nöbetler, juvenil miyoklonik epilepsi veya primer jeneralize tonik-klonik nöbetlerin kullanımı [27] için onaylandı. LEV, mükemmel bir farmakokinetik profil sergiledi ve çok çeşitli klinik olarak karmaşık durumlarda kullanıldı [26–29]. LEV, pentilentetrazol ve maksimal elektroşok modelleri gibi akut hayvan nöbet modellerinde antikonvülzan aktiviteyi kaçıran, kronik epilepsi hayvan modellerinde güçlü bir nöbet koruması ve antiepileptojenik aktivite sağladığı gözlemlendi [25, 30]. Çeşitli epilepsi biçimleri için, LEV'in, monoterapi [31–34] ve erken travma sonrası nöbetlerin [35–38] önlenmesine ek tedavi olarak önlemede etkili olduğu kanıtlandı. Yenidoğan nöbetlerinde etkinliği ve güvenliği geniş çapta araştırıldı. [39–41].

LEV'in diğer ilaçlarla düşük etkileşimi, uygun farmakokinetik özellikleri, yüksek tolere edilebilirlik kabiliyeti ve çeşitli etki mekanizmaları büyük ilgi görmüş ve klinik araştırmalar için yeni yollar açmıştır [42].

### **2.7.1. LEV'nin hiperaljezi üzerindeki etkileri**

LEV'nin hiperaljezi hayvan modellerinde faydalı özelliklere sahip olduğuna ve çeşitli ağrılı merkezi veya periferik nöropatik ağrılardan muzdarip hastalarda etkili ve güvenli olduğuna dair kanıtlar vardır [25, 43–50]. LEV, inflamatuvar ağrı antihiperalezik etkiler [51–53], kronik ağrı [54] ve nöropatik ağrı [48, 55–57] modellerinde etki sağladığını gösterse bile, spesifik etki mekanizması henüz tam olarak açıklanamamıştır [23].

LEV'nin iyi tolere edildiği ve multipl skleroz ile ilişkili merkezi nöropatik ağrı üzerinde klinik olarak anlamlı bir etki gösterdiği görülmüştür [32, 57–60]. Ancak multipl skleroz tarafından indüklenen santral nöropatik ağrıda LEV'nin etkileriyle ilgili çelişkili sonuçlar bulunmuştur [48, 58].

LEV'nin profilaktik veya semptomatik migren tedavisindeki etkinliği de birkaç araştırmada gösterilmiştir [57]. Ayrıca LEV'in klinik olarak trigeminal nevraljide etkili olduğu bulunmuştur [61, 62].

Araştırmacılar LEV'nin siyatik sinir ve omurilik üzerinde koruyucu etkileri olduğunu açıkladılar. Toplamda, diyabetik hastalarda nöropatik ağrıyı hafifletmek için LEV'nin kullanılması önerildi ve ayrıca çoğu çalışmanın mekanizmaları tam olarak tanımlamak için hala gerekli olduğuna işaret edildi [63].

Yine diyabetik nöropatide LEV ile ibuprofen/aspirin/parasetamol kombinasyonları termal nosisepsiyon açısından değerlendirildi. Bir sinerjizm bildirildi [64].

Diyabetik nöropatinin kullanıldığı başka bir çalışmada, LEV'in önemli bir antihiperalezik etki gösterdiği gösterilmiştir ( $p < 0,001$ ) [55]. Enflamatuvar ağrıda, LEV'nin antihiperalezik etkilerinin, en azından kısmen A tipi GABA,  $\alpha 2$ -adrenerjik reseptörler, opioid ve serotonin (5-HT) ile bağlantılı olduğu gösterilmiştir. 5-HT ve noradrenerjik sistemlere ek olarak opioid sistem aktivasyonunun, LEV tarafından indüklenen antihiperalezinin, azalan inhibitör sistemin etkileşimine bağlı olduğu belirtilmiştir [51].

LEV'nin lokal periferik antihiperalezik ve ayrıca anti-ödem etkileri de gösterilmiş ve 5-HT, adrenerjik, opioid, adenosin ve GABA reseptörleri ve bunların alt tipleri ile ilişkilendirilmiştir [52]. Lokalize inflamasyonda hiperaleziye göre, LEV'nin nonsteroidal analjezikler (parasetamol, selekoksib ve ibuprofen) ve kafein ile iki ilaç kombinasyonunun etkileri değerlendirildi. Elde edilen sonuçlara göre araştırmacılar, LEV ve nonsteroidal analjezikler/kafeinden oluşan iki ilaç kombinasyonunun inflamatuvar ağrı tedavisinde işlevsel olabileceğini öne sürdüler.

LEV'nin nöropatik ağrı ile ilgili klinik etkinliği, elektriksel sinir stimülasyonunun kullanıldığı bir çalışmada tanıtıldı [47].

Sistemik olarak uygulanan LEV nöropatik ağrılı insan modelinde, epilepsideki etkili dozlarla karşılaştırılabilir bir doz aralığında antihiperalezik etkiler gösterdiği bulunmuştur [30]. Yazarlar, nöropatik ağrı hastalarında, tercihen spesifik nöropatik ağrı

durumlarında etkili olabilecek şekilde, LEV'nin terapötik potansiyelini öne sürmüşler [25]. Genel olarak antikonvülzanların etkinlik açısından benzer etkiler gösterdiği kabul edilmiştir ve LEV bu açıdan farklı görünmektedir. Bu özelliği ile, nöropatik ağrı sendromunun tipine göre LEV, muhtemelen etki mekanizmasından ve orijinal farmakolojik profilden ortaya çıkan bir özelliikle belirli aktiviteye sahip ilk antiepileptik ilaç olarak gösterilmiştir [30, 65, 66]. Epileptik ve nöropatik ağrı modelleri arasındaki doz aralığının benzerliği, antiepileptik tedavi için kullanılan dozda LEV'nin kronik ağrı için uygun olabileceği düşünülmektedir.

LEV'nin termal uyarana karşı antihiperalezik etkilerini değerlendiren başka bir çalışmada, sonuçlar, sadece nöropatik hayvanlarda, ilacın doza bağlı bir şekilde neden olduğu önemli ve geri dönüşümlü bir azalma sergilenmiştir. Elde edilen sonuçların, nöropatik ağrı sendromlarında LEV için umut verici terapötik potansiyelin doğrulanmasına destek sağlaması önerilmiştir. Ayrıca, önceki çalışmalarda LEV antinosiseptifinin etkileri de araştırılmış ve sıçan periferik nöropati modelinde etkileri gösterilmiştir [25, 67, 68]. LEV'nin sıçanlarda anestezik kaynaklı hiperaleziyi azalttığı da öne sürülmüştür [44]. Ayrıca, nöropatik ağrı modellerinde nosiseptif davranışları iyileştirir [69].

LEV, erişkin hastalarda lokalize başlangıçlı miyoklonik nöbetlerin ve primer jeneralize tonik-klonik nöbetlerin kombine tedavisi için 1999'dan beri kullanılır. 2004 yılında FDA tarafından 4 yaşından büyük çocuklarda ve 2012 yılında 1 aylıktan küçük çocuklarda gözlenen fokal epilepsi için kombinasyon tedavisinde kullanım için onaylanmıştır. Etki mekanizması, diğer antiepileptiklerin aksine, diğer AEİ'ler gibi Na<sup>+</sup> ve Ca<sup>+</sup> ile çalışmaz. Mekanizma tam olarak aydınlatılamamış ancak, MSS'de nörotransmitter salınımında rol alan sinaptik vezikül proteini SV2A'ya spesifik olarak bağlanır ve bu proteinin Ca<sup>+2</sup> bağımlı ekzositoz fonksiyonu uyguladığı, modüle ettiği görülür. Gastrointestinal sistemden emilim neredeyse tamamlanır, 1-2 saat sonra maksimum plazma konsantrasyonuna ulaşır ve plazma proteinlerine hafifçe bağlanır (%10'dan az). Alınan miktarın %66-76'sı değişmeden idrarla atılır. Geri kalanı ise aktif olmayan metabolitlere dönüşür.

Metabolizması CYP450 enzimlerinden bağımsız olup eliminasyon yarılanma ömrü 5-6 saat, yaşlılarda 10-11 saatdir. Böbrek yetmezliğinde yarılanma ömrü uzamaktadır. Kararlı durum plazma konsantrasyonuna, 2 gün günde üç kez kullanıldığı zaman ulaşmaktadır. Eliminasyonun CYP450 sistemi üzerinden olmaması, aynı

zamanda bu sistemle ilgili ilaç etkileşiminin olmaması olumlu kinetik özelliktir. LEV geniş antiepileptik ilaç yelpazesine sahiptir.

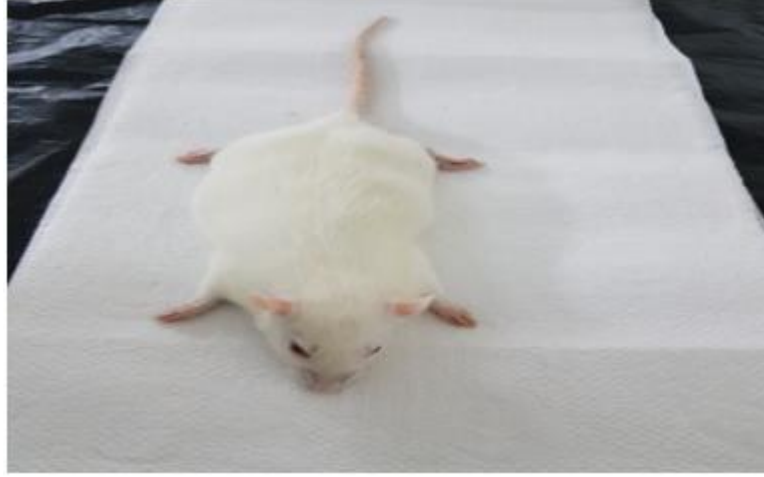
Primer jeneralize tonik-klonik nöbetleri, fokal ve sekonder jeneralize nöbetleri ve myoklonik nöbetleri olan erişkin ve pediatrik epilepsi vakalarında monoterapi ve politerapi uygulanabilmektedir. Antiepileptik özelliklerinin yanı sıra epileptijeniteyi etkilediği bilinmektedir. Nöroprotektif etkisinden dolayı tercihen travma sonrası epilepsi tedavisinde kullanılır.

Erişkinler için ortalama günlük doz 2000 mg olup, 3000 mg/güne kadar arttırılabilir. Optimum terapötik serum seviyesi 12-46 µg / Ml'dir. Ağızdan LEV'i alamayan yatan hastalar için 100 mg/ml LEV içeren solüsyonlar veya damardan verilebilecek enjektabl formülasyonlar vardır. LEV tolere edilebilir bir ilaç olarak kabul edilir, ancak terapötik dozlarda alındığında çeşitli yan etkilere neden olabilir. Yorgunluk, uyuşukluk, bozulmuş motor koordinasyon, sinirlilik, huzursuzluk ve agresif davranış gibi merkezi sinir sistemi yan etkileri sık görülür ve tedavinin başlamasından sonraki 4 hafta içinde meydana gelebilir. Kalp, karaciğer veya sindirim sistemi üzerinde ciddi yan etkisi yoktur. Ayrıca nazofarenjit, baş ağrısı, kaza sonucu yaralanma, kusma, iştahsızlık, öksürük, konuşma bozukluğu, uyuşukluk, konsantrasyon kaybı, güçsüzlük, halsizlik, unutkanlık, uyku süresinde artış, uyku süresinde azalma, rüyalarda artış, duygusal kayıtsızlık, distonisi olan hastalar rijidite, hipokinezi, akinezi, hiperkinezi, tremor, akatizi, epileptik nöbetler, felç, tükürük salgısında artış, tükürük salgısında azalma, ağız kuruluğu, bulantı, ishal, kabızlık, gece enürezisi, poliüri, polidipsi, baş dönmesi, döküntü, kilo kaybı, kilo alımı yan etkiler nedeniyle izlenir. Gebelik kategorisi FDA tarafından C olarak belirlenmiştir.

### 3. METODOLOJİ

#### 3.1. Yöntem

DRG diseksiyonu için 150-200 gram ağırlığındaki 8-12 aylık erkek veya dişi Sprague Dawley sıçanlar kullanıldı. Yapılan çalışma için deney hayvanları Anadolu Üniversitesindeki Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Birimi'nden alınmıştır.



Şekil 3. 1. *Sprague Dawley* sıçan

Sıçanlar deneyler öncesinde 18–25°C’de, iyi havalandırılmış ve 12 saat gece/gündüz aydınlatması olan odalarda barındırıldı. Beslenmeleri amacıyla standart yem pelletleri kullanıldı. Bu süreçte istedikleri kadar yem ve su tüketmelerine izin verildi, bakımları sağlandı. Çalışmamız, Anadolu Üniversitesi Farmakoloji Anabilim dalı laboratuvarında sıcaklık ve nemi sabit bir ortamda, 09.00- 16.00 saatleri arasında her gün yapıldı.

Her deney grubundan elde edilecek ölçüm sayısı (hücre sayısı) 17- 25 olarak belirlendi. (Kullanılacak hayvan sayısı grup başına n=6, her gruptaki 6 hayvandan elde edilecek toplam 17-25 DRG nöronundan ölçüm gerçekleştirildi). Test maddesi chamber içine uygulanacak olan gruplardaki her bir hayvanın DRG’lerinden elde edilen nöronların anlamlı bir oranı diyabetik kontrol grubu olarak kullanıldı [70, 71].

Primer hücre kültürü, enzimatik ve fiziksel ayrışma ile alındı. Diyabet modeli ise i.v. streptozosin enjeksiyonu ile oluşturuldu.

Hayvanlara önce Streptozocin ve Sitrata buffer karışımı verildi. Karışımı hazırlamak için 155,2 mg Streptozocin 5.06 sitrata buffer eklendi.



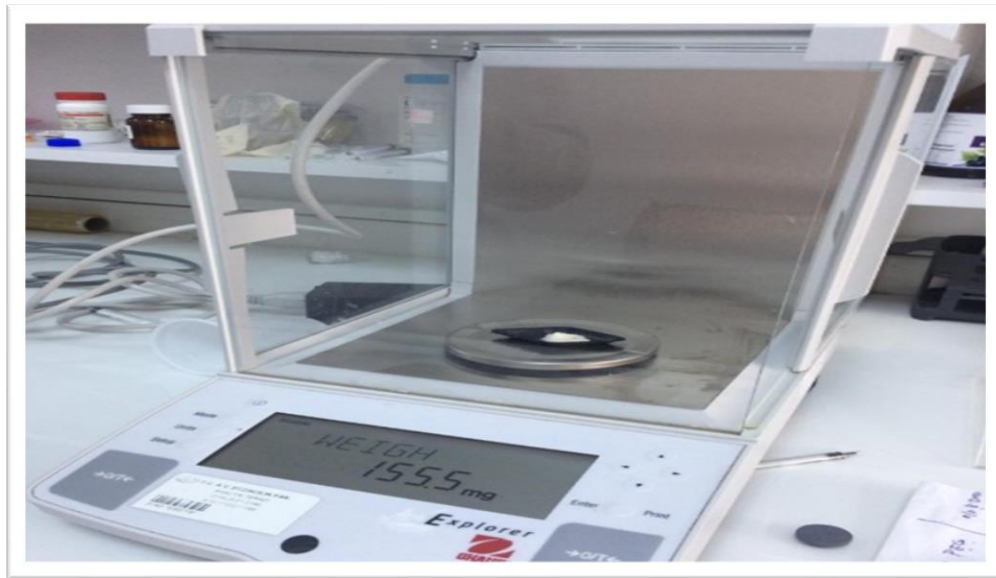
### 3.2. Sitrat Tamponu (pH 3.0 ila 6.2) Hazırlama ve Tarif

Sitrat tamponları, baz hidrolizini önleme yeteneklerinden dolayı RNA izolasyonu için kullanılabilir. Tampon ayrıca, antijenler ve fiksasyon ortamındaki herhangi bir madde arasındaki çapraz bağları kırarak antijen tespiti için de kullanılır. Sitrat tamponu, arka plan sinyaline katkıda bulunmadan leke yoğunluğuna yardımcı olabileceğinden, immünofloresan boyama uygulamaları için popüler bir seçimdir. Biyolojik araştırmalar ve patoloji dahil klinik uygulamalar için popüler bir seçimdir ve diyaliz etkinliğini hafifçe iyileştirdiği gösterildiğinden tıp alanında artan bir role sahiptir. Oda sıcaklığında 3 aya kadar raf ömrü vardır.

**Tablo 3. 1.** Sitrat tampon için gerekli bileşenler.

Bileşen	Miktar	Konsantrasyon
Sodyum Sitrat dihidrat (294.10 g/mol)	25,703 g	0.0874 milyon
Sitrik Asit (192.12 g/mol)	2.421 g	0.0126 milyon

1. Uygun bir kaptaki 800 mL distile su hazırlanır.
2. Çözeltiye 25.703 g Sodyum Sitrat dihidrat eklenir.
3. Çözeltiye 2.421 g Sitrik Asit eklenir.
4. HCl veya NaOH kullanarak çözeltiyi istenen nihai pH'a ayarlanır.
5. Hacim 1 L olana kadar distile su eklenir.



**Şekil 3. 2.** Streptozotosin tartılması



**Şekil 3. 3.** Vorteks cihazı

Vorteks cihazında karıştırılır. Çözülme tam gerçekleşmezse ultrasonla karıştırılır. Daha sonra STZ hayvanlara intravenöz yapılıyor.



**Şekil 3. 4.** Kuyruk veninden hayvana STZ verilmesi

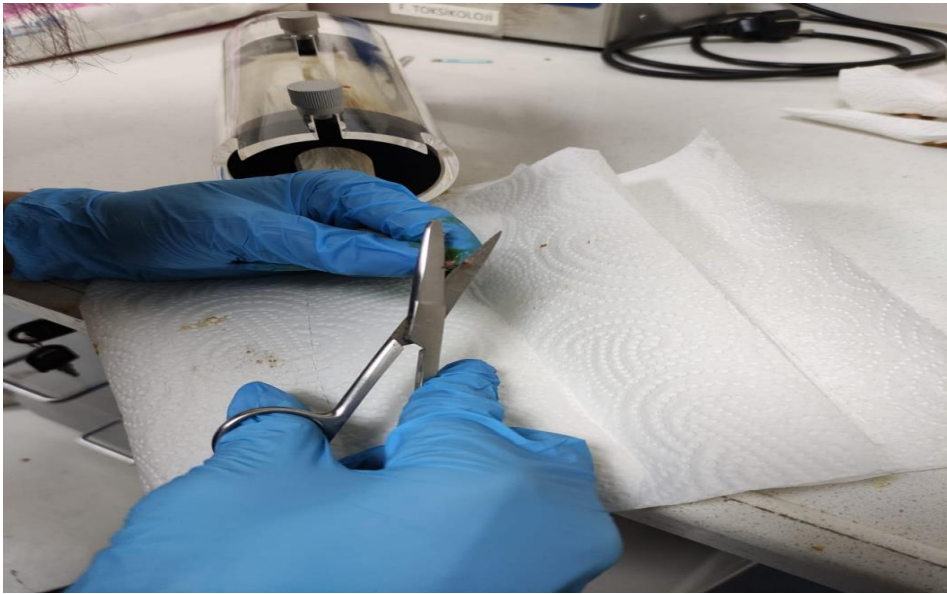
Diyabet oluşturulacak sıçan grupları bir gece aç bırakıldı. Ertesi gün kuyruk venlerinin içine 55 mg/kg tek doz STZ uygulandı. Uygulanan STZ, pH=4.5, 0.1 M sitrat tamponu içerisinde hazırlandı. STZ enjeksiyonu yapıldıktan sonra hiperinsülinemi ve

hipoglisemik şoku azaltmak veya önlemek amacıyla sıçanların bulunduğu kafeslere 5 mmol/L glukoz solüsyonu içeren suluklar yerleştirildi [72].

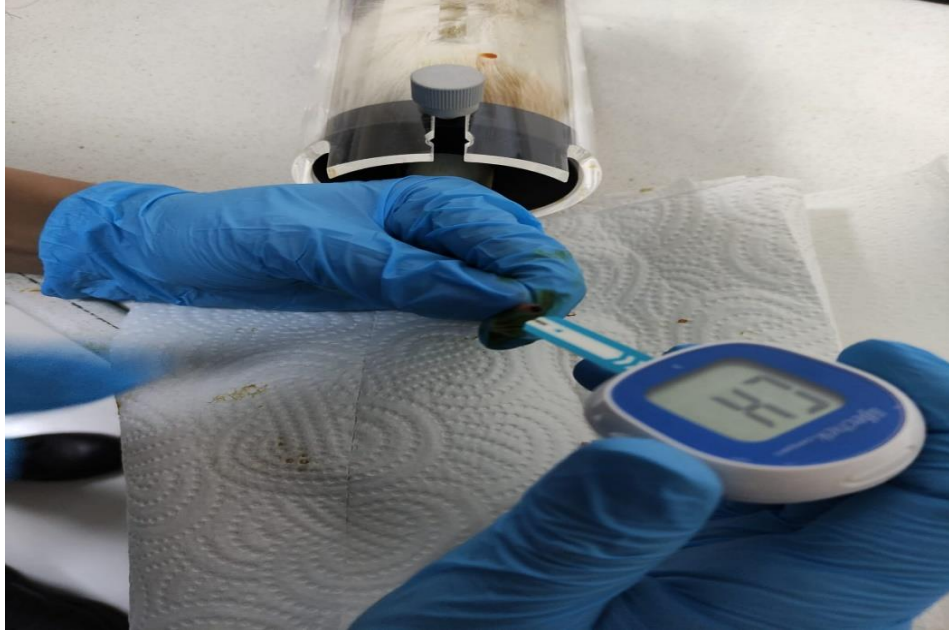


*Şekil 3. 5. Kuyruk venozunun aranması*

Enjeksiyon yapıldıktan 72 saat sonra kan örnekleri alındı. Bu örneklerden Glukotrend® (Roche, Basel, İsviçre) ile kan şekeri ölçümleri yapıldı. Kan glukoz düzeyi 300 mg/dL üzerinde çıkan hayvanlar diyabetik olarak kabul edildi.



*Şekil 3. 6. Kuyruktan kan alımı*



**Şekil 3. 7.** Kan şekeri ölçümü

Diyabetik sıçanların kontrolü olarak kullanılan sağlıklı sıçanlara intravenöz (i.v.) olarak aynı hacimde sitrat tamponu enjekte edildi. Diyabet oluşturulan deney hayvanlarında periferik nöropati gelişimi için 4 hafta süre ile beklendi [73]. STZ alan hayvanlara 1 litrede 5mlm glikoz 24 saat verildi.

### **3.3. Ağrı Deneyleleri**

STZ enjeksiyonu ile diyabet modeli oluşumundan 4 hafta sonra nöropati varlığı in vivo ağrı deneyleleri ile tespit edildi.

Mekano-taktıl allodini elektronik Von Frey cihazı ile değerlendirildi. Sıçanlar cihazın parçası olan yükseltilmiş metal bir ızgara (boşluk ölçüler 1cm<sup>2</sup>) olan platform üzerinde, bireysel plastik kafeslerde ortama alışmaları için ölçümler öncesi 15 dak – keşfetme davranışı sonlanadek bekletildi. Sağ pençede orta plantar bölgeye dik olarak, artan kuvvet ile filamentin sert ucu bastırıldı, pençe çekme davranışının gerçekleştiği kuvvet sistem tarafından otomatik olarak tespit edilip kaydedildi ve ağrı eşliğinin belirteci olarak kabul edildi [74]. 50 g kuvvet son değerdir. Her bir testte 3 ölçümün ortalaması alınmıştır [75].

Termal hiperaljezi Hargreave's aparatı ile değerlendirilmiştir. Deneklerin arka pençelerine radyant ısı uygulamasını içerir. Pençe çekme süresi kaydedilmekte ve

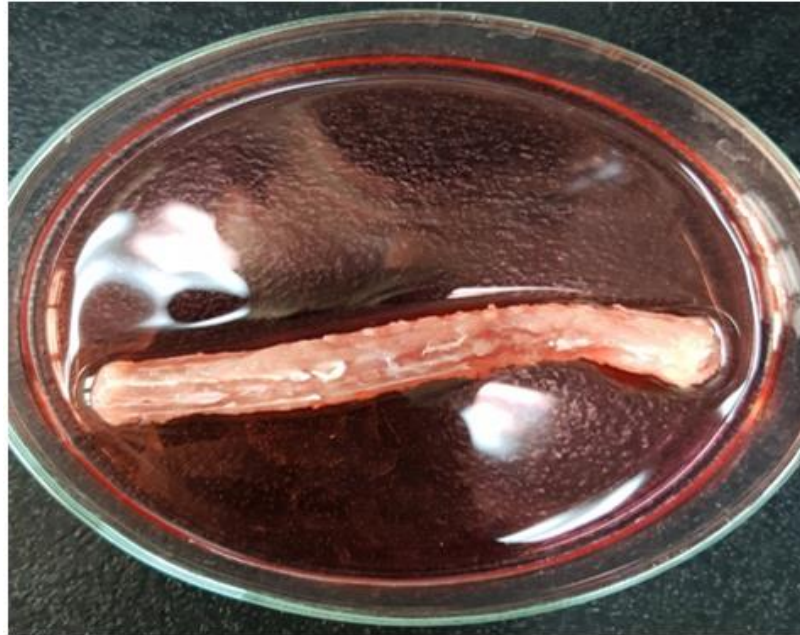


değerlendirilmektedir. Plantar test cihazı kullanılır. Bu cihaz (Ugo-basile, 37370, Verase, İtalya), cam zemin üzerinde yerleştirilen 17x69x14 cm boyutunda 6 adet pleksiglas bölmeden ve cam zeminin altında konumlandırılmış mobil bir radyan ısı kaynağından ibarettir. Bu cihazdaki deneyler pençe hasarının olmaması için ısı 30 saniyeden daha uzun süre uygulanmamıştır [76].

### 3.4. Birincil DRG Hücre Kültürü

Hayvan anestezisi için sırasıyla 90 (mg/kg) ila 10 (mg/kg)5 oranında 1 ml/kg ketamin ve ksilazin karışımının intraperitoneal enjeksiyonu kullanıldı tam anestezinin etkili olması için 5-8 dakika süre verildi.

Hayvanın tamamen anestezisi altına alındığından emin olduktan sonra, dekapitasyon gerçekleştirildi, daha sonra sırt derisinin bir insizyonu ile vertebral kolon açığa çıkarıldı, sonra çıkarıldı ve 5 dakika boyunca buz gibi soğuk PBS ile doldurulmuş 50 ml'lik bir tüpe aktarıldı [42, 77, 78].

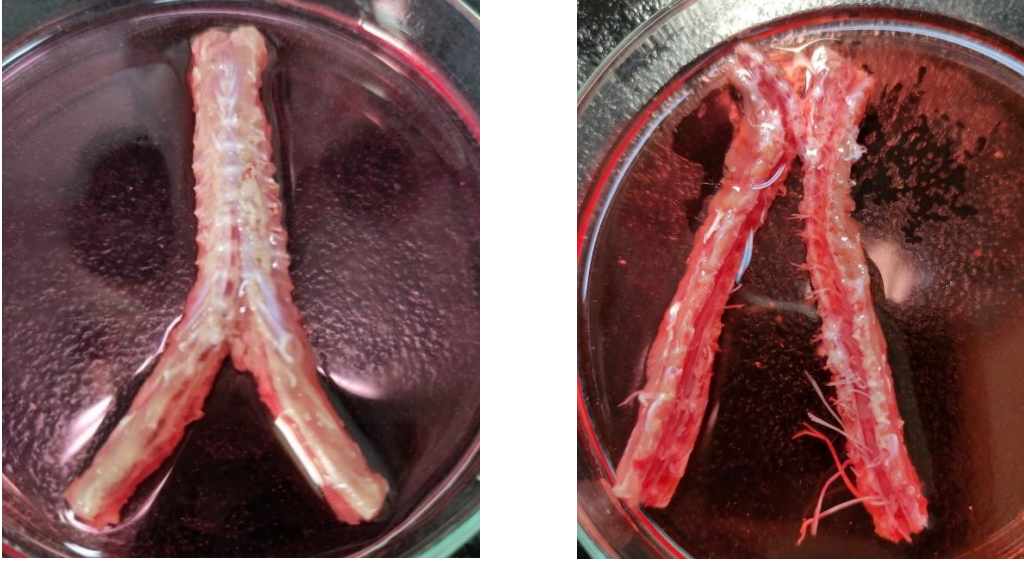


Şekil 3. 8. Vertebral kolon

Steriliteyi sağlamak ve kontaminasyonu önlemek için, vertebral kolonun taşınması, DRG'lerin çıkarılması ve ganglionların mekanik sindirimi bir laminar akış kabini altında gerçekleştirildi. Vertebral kolon, 4°C'de DMEM solüsyonu ile

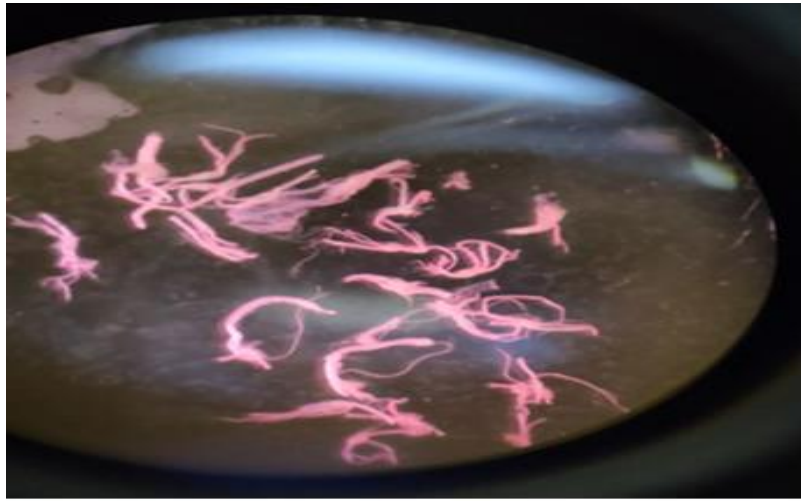
doldurulmuş petri kabına yerleştirilir, daha sonra vertebral kolonun merkez hattından simetrik iki parçaya kesmek için iri makas kullanıldı.

Omuriliğin dikkatli bir şekilde çıkarılmasından sonra, DRG'lerin toplanması, yaylı cımbız kullanılarak gerçekleştirildi ve elde edilen bireysel ganglionlar, DMEM-Penisilin-Streptomisin ile doldurulmuş bir petri kabına yerleştirildi.



Şekil 3. 9. Vertebral kolonun kesilmesi

Hücre kültüründe enkaz ve diğer hücre tiplerini önlemek için elde edilen DRG'ler projeksiyonlardan mümkün olan en yüksek düzeyde temizlendi ve cerrahi bir Lancet ve iris makası kullanılarak yapılandırıldı [42, 77, 78].



Şekil 3. 10. Dorsal kök ganglionları

Enzimatik sindirim- elde edilen temiz gangliyonlar, 1 ml DMEM-Penisilin-Streptomisin içinde çözülmüş 2 mg kolajenaz tip IV içeren bir Eppendorf tüpüne aktarıldığında enzimatik sindirim başlatıldı ve ardından 45 dakika 37°C'de ve %5 CO<sub>2</sub>'de inkübe edildi.

İlk inkübasyon periyodunun bitiminden sonra süpernatant atıldı ve PBS ile 3 yıkama döngüsü (süpernatantı atın, 1 ml PBS ekleyin, 30 saniye santrifüjleyin) yapıldı, sonra yıkandı. Ganglionların resüspansiyonu her 10 dakikada bir gerçekleştirildi. Ardından yıkanmış ganglionlar 1 ml DMEM-Penisilin içine yerleştirildi.

Ganglionlar, 100 ul %0.25 tripsin içeren 1 ml DMEM-Penisilin-Streptomisine yerleştirildi ve 3 dakika sonra DRG'lerin yeniden süspansiyonu ile inkübe edildi. DMEM ile 3 yıkama döngüsü daha (süpernatantı atın, 1 ml DMEM ekleyin, 45 ila 60 saniye santrifüjleyin) gerçekleştirildi. Ganglia solüsyonu içeren toplam 2 ml DMEM hacmi elde edildi.

Daha sonra Eppendorf tüpündeki tripsinle sindirilmiş DRG'lere 1 ml DMEM ilave edildi, daha sonra ganglion solüsyonu içeren toplam 2 ml DMEM hacmi elde etmek için 1 ml DMEM içeren 15 ml'lik bir şahin tüpüne aktarıldı [42, 77, 79].



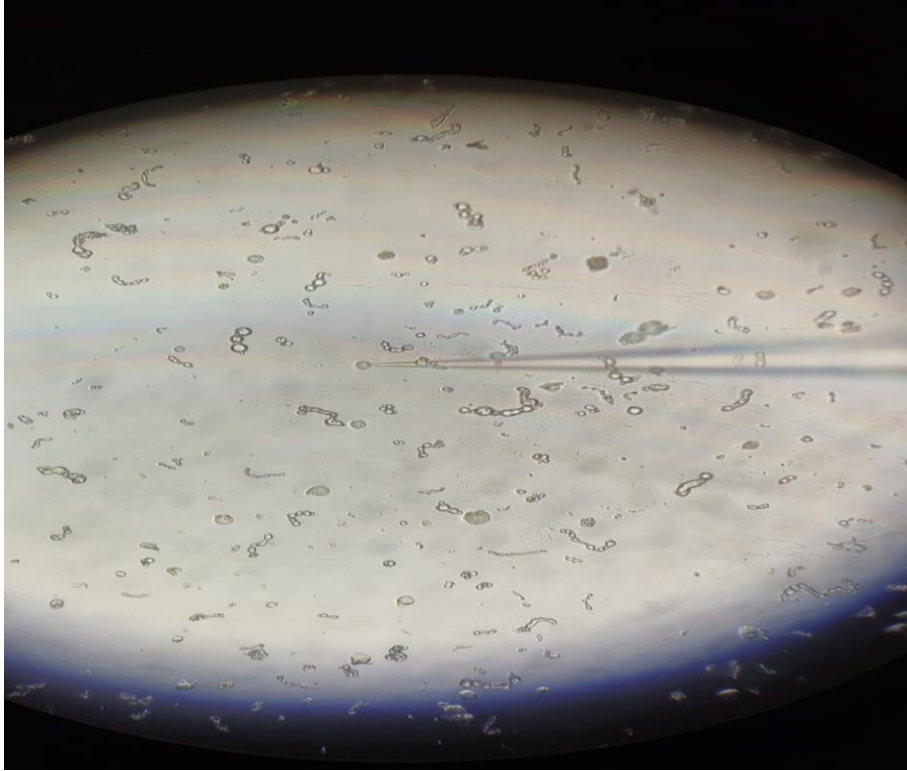
**Şekil 3. 11.** Elde edilen DRG hücre süspansiyonunun mikroskopta görüntüsü

Mekanik sindirim, kesikli 1 ml mavi uçla dakikada 4 kez, kesilmemiş 1 ml mavi uçla 5 dakika, ardından insülin şırıngasından 3 kez çok yavaş geçirilerek 5 dakika süreyle hafif bir pipetleme ile ardışık olarak gerçekleştirildi [77] (Mekanik sindirim, 6-8'lik nazik pipetlemelerle ardışık olarak gerçekleştirildi).

Elde edilen DRGs hücre süspansiyonu, 1 ml hücreler için 12.5 ml olarak DMEM-Penisilin-Streptomisin + FBS'ye aktarıldı [77, 78].

Elektrofizyolojik kayıtlar yapılmadan önce hücrelere 2-3 saat dinlenme aralığı verildi.

Elektrofizyolojik deneyler oda sıcaklığında (18-20 °C) Patch clamp tekniğinin tüm hücre tekniği kullanılarak gerçekleştirilmiştir. LEV, PBS içinde çözüldü ve stok çözelti, standart harici çözelti ile seyreltilti.



**Şekil 3. 12.** Hücrenin patch clamp kaydı sırasında görünümü



### 3.5. Patch-Clamp Kayıtları İçin Kullanılan Çözümler

#### 3.5.1. Patch clamp kayıtları

Patch clamp tekniğinde akım kayıtları için kullanılan dahili solüsyon (pipet solüsyonu) ve bileşenlerinin konsantrasyonları (Tablo 3. 2.'te listelenmiştir), pH KOH ile 7.2'ye ayarlanmıştır [80].

**Tablo 3. 2.** Akım kayıtları için pipet çözümü (dahili solüsyon için)

Dahili solüsyonun içeriği (310 mOsm)	Konsantrasyon (mM)
KCl	140
NaCl	10
MgCl <sub>2</sub>	2
CaCl <sub>2</sub>	0.1
HEPES Acid	10
EGTA	1.1
D-glucose	3

Gerilim modunda akım kayıtları için kullanılan harici solüsyon (banyo solüsyonu) ve bileşenlerinin konsantrasyonları Tablo 3.3'te listelenmiştir, pH NaOH ile 7.3'e ayarlanmıştır.

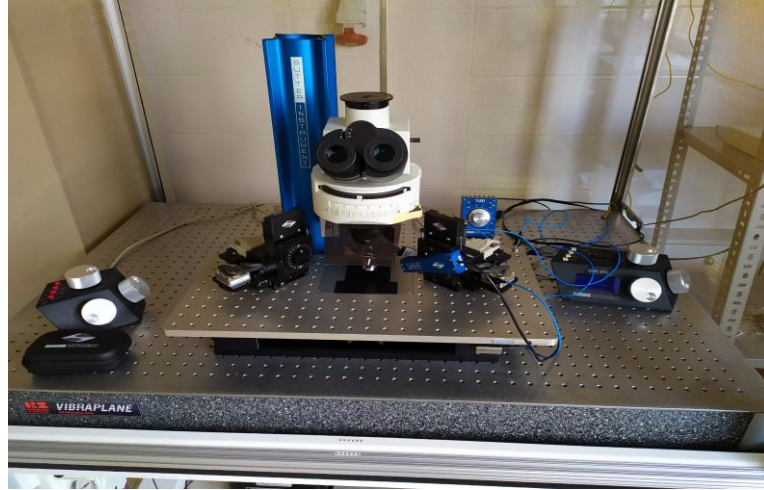
**Tablo 3. 3.** Akım kayıtları için pipet çözümü (harici solüsyon için)

Harici solüsyonun içeriği (320 mOsm)	Konsantrasyon (mM)
NaCl	140
KCl	3
MgCl <sub>2</sub>	1
CaCl <sub>2</sub>	1
D-glucose	10
HEPES Acid	10

### 3.6. Patch clamp tekniğinin uygulanması

Patch clamp ölçümleri, 4 ila 6 saatlik hücre dinlenmesinden sonra birincil ayrılmış DRG hücre kültürü üzerinde gerçekleştirildi.

Elektrofizyolojik deneyler oda sıcaklığında (18-20°C) patch clamp tekniğinin tüm hücre tekniği (whole cell method) kullanılarak çalışıldı. Tüm hücre kayıt konfigürasyonuna kaydedildikten sonra ölçümler gerçekleştirilmeden önce nöronlar, dengeli hale gelmeleri için 5 dakika boyunca bekletildi. 3-9 MΩ rezistanslı pipetler ve mikroelettrot puller kullanıldı. Tüm hücre patch clamp kayıtları pCLAMP versiyon 7.0 içeren bilgisayara bağlı Axoclamp 200B amplifikatör ile elde edildi. Test maddelerinin uygulanması ekstrasellüler ortama pinomatik basınç enjeksiyon sistemi ile düşük basınçta ve kaydedilen hücrenin 50-100 µm uzağından kör pipet ile gerçekleştirildi [81].



Şekil 3. 13. Patch clamp cihazı

Stok solüsyon standart harici solüsyon ile 100 µM ve 10 µM ve 0.1 µM dozlarda seyreltildi.

Test maddelerinin uygulaması, kaydedilen hücreden 50-100 µm uzaklıkta ekstrasellüler solüsyona yapılmıştır [84, 85].

Deneylerde kullanılan elektrofizyolojik teçhizatın resmi Şekil 3.13'te gösterilmektedir.

#### 3.6.1. Patch clamp kayıtlarının alınması

Akut ayrılmış DRG hücrelerinden iyon akımlarını kaydetmek için tüm hücre konfigürasyonunda patch clamp kayıtları yapıldı.

İnce Duvar Borosilikat Cam pipetler kullanılarak oluşturuldu (Sutter Instrument BF150-110-10). P-97 Mikropipet Çektirmesi (Sutter Enstrümanı) tarafından çekilen Patch clamp kayıtları için 2-5 M $\Omega$ 'luk son pipet direncine kadar dahili çözüm ile dolduruldu.

Tüm hücre konfigürasyonuna geçiş, ağız yoluyla veya 1 ml'lik şırınga kullanılarak uygulanan negatif basınçta yapıldı, tüm hücreye geçiş, seri dirençte yaklaşık 10 M $\Omega$ 'a kadar büyük bir düşüş ve membran kapasitansının artması ile işaretlendi.

Kayıtlar oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir [85].

Membran potansiyeli -60 mV'a kenetlenir. Sonra 300 ms için 0 mV'ye depolarize edici darbeler kullanıldı. Akım-voltaj ilişkileri (IV-eğrisi), -60 mV'den +80 mV'a 10 mV'lik artışlarla depolarizasyon adımları kullanılarak elde edildi.

Membran potansiyeli -60 mV'a kenetlendikten sonra 300 ms için 0 mV'ye depolarize edici darbeler kullanıldı. Test kimyasalı, 0 mV'a kadar çoklu depolarizasyon adımlarına yanıt olarak kararlı bir dışa doğru akım elde edildikten sonra uygulandı.

Test Kimyasalı, 0 mV [85]'e kadar çoklu depolarizasyon adımlarına yanıt olarak kararlı bir dışa doğru akım elde edildikten sonra uygulandı.

Akımlar, Windows 10'da kurulu olan ve voltaj kısaç modunda kullanılan Integrated Patch Amplifier (IPA) (Sutter Instrument) ve SutterPatch Veri Toplama ve Analiz Yazılımının (SutterPatch 2.0.4) tek bir başlık versiyonu kullanılarak kaydedildi.

Veriler 25 kHz'de örneklendi ve IPA'nın yerleşik filtresi kullanılarak 5 kHz'de filtrelendi. Elektrot kompanzasyonu ve seri direnç kompanzasyonu, yazılımdaki otomatik kompanzasyon seçeneği kullanılarak otomatik olarak uygulandı.

Veriler aynı yazılım kullanılarak analiz edildi (SutterPatch 2.0.4).

### **3.7. İstatistiksel analiz**

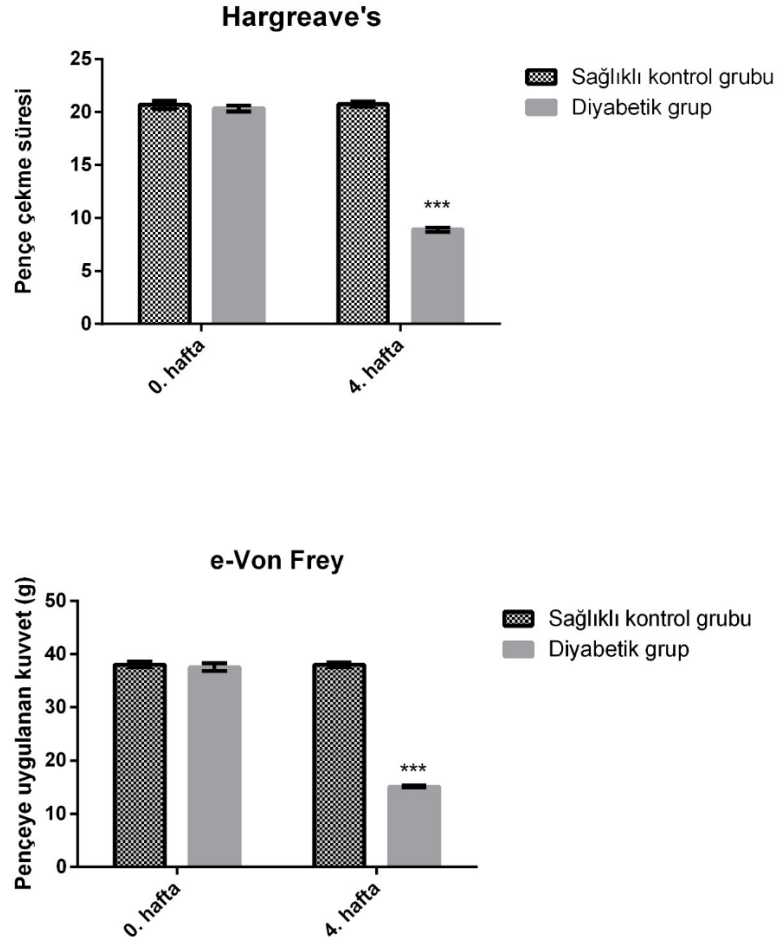
İstatistiksel analiz, GraphPad InStat 3 (Deneme) ve OriginPro 9.8.0.200 (Öğrenme Sürümü) kullanılarak yapıldı.

Veriler ortalama  $\pm$  ortalamanın standart hatası şeklinde verilmiştir. Aksiyon potansiyeli değerlendirilirken eşleştirilmemiş Student's t test 7 kullanıldı. Potasyum akımı ölçümlerinde eşleştirilmiş Student's t test ve tek-yönlü ANOVA prosedürü kullanıldı. ANOVA ve post hoc analiz (Tukey) ile değerlendirildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1 Diyabetik Nöropati Oluşumunu In Vivo Test Edilmesi

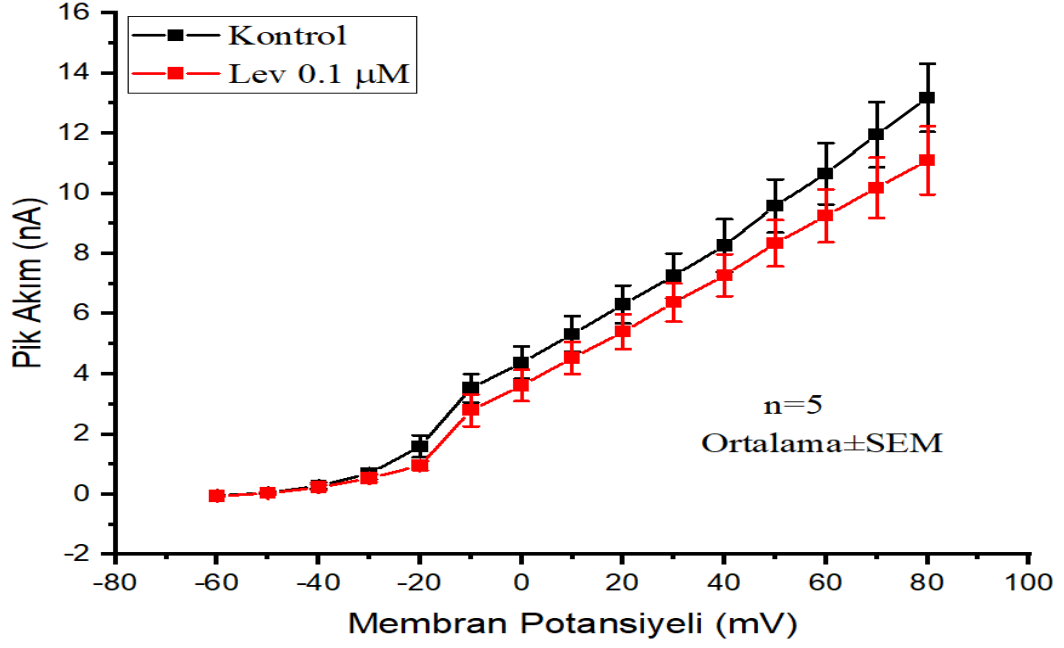
Nöropati oluşumu Hargreave's ve e-Von Frey testleri ile STZ enjeksiyonu sonrası 4. haftada test edilmiştir.



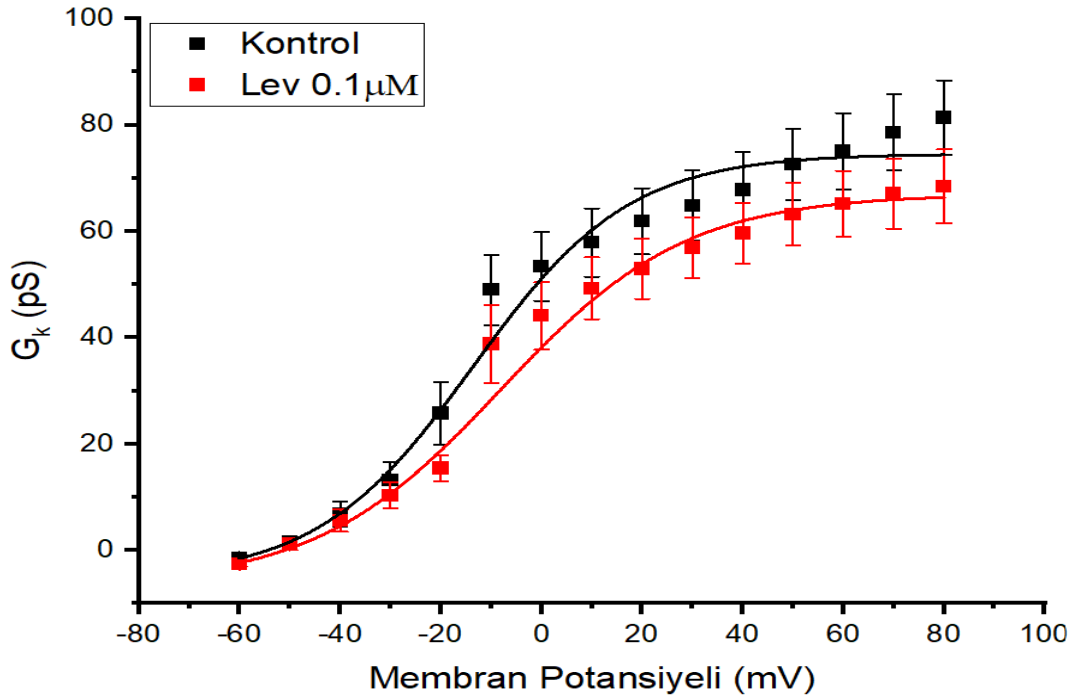
**Şekil 4. 1.** Diyabetik nöropati oluşumunun in vivo ağrı deneyleri ile tespiti. Termal hiperaljezide Hargreave's, mekanik allodinide e-Von Frey testleri kullanılmıştır. One-way ANOVA ardından Sidak testi ile çoklu karşılaştırma yapılmıştır. Veriler ortalama  $\pm$  SEM olarak verilmiştir.  $p < 0.5$  değeri anlamlı kabul edilmiştir. \* sembolü  $p < 0.01$  anlamına gelmektedir. (n= 8)

### 4.2. Patch Clamp Deney Sonuçları

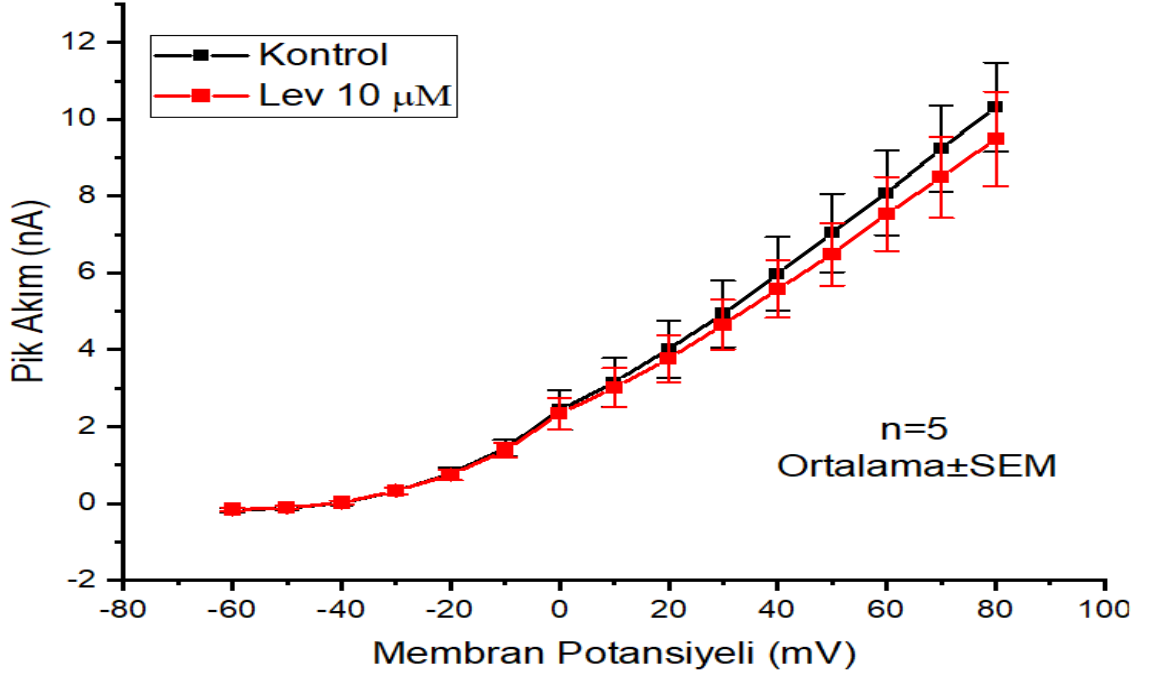
Çalışmamızda LEV 3 dozajı kullanılmıştır: 0,1  $\mu$ M; 10  $\mu$ M; 100  $\mu$ M. Aşağıdaki grafiklerde her 3 dozajda da aldığımız sonuçlar gösterilmiştir. 100 $\mu$ M dozajda beklenen etki gözlemlenilmiştir.



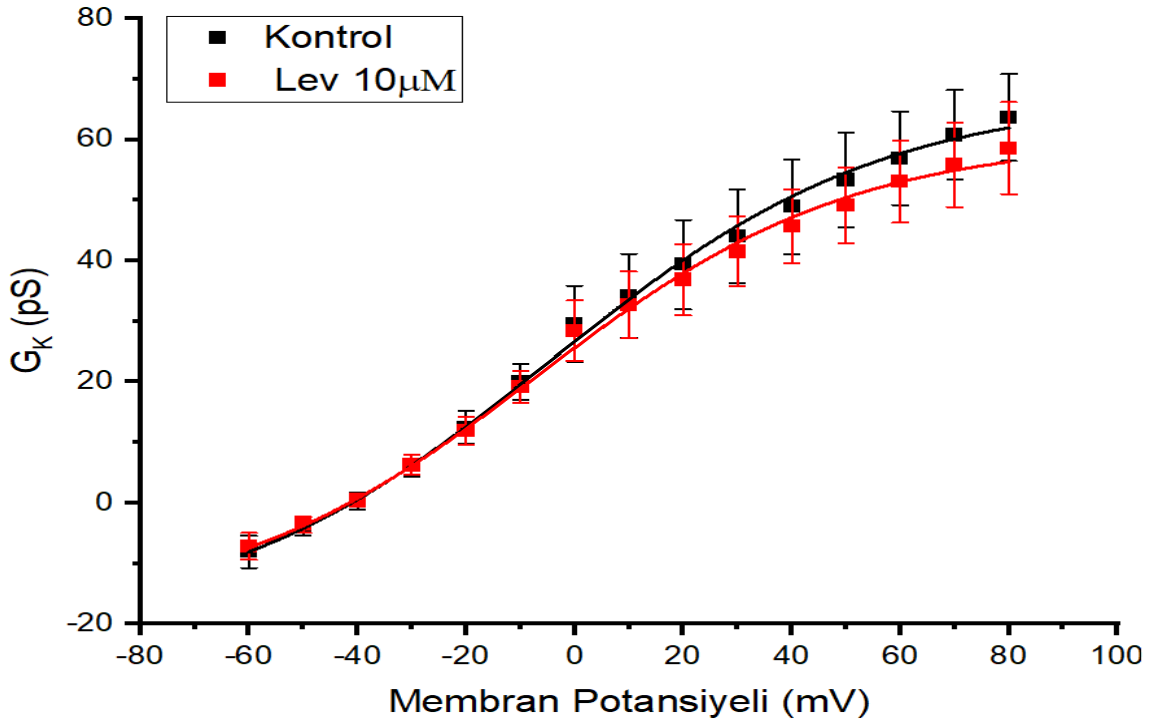
Şekil 4. 2.  $0.1\mu\text{M}$  LEV uygulamasının dışa yönelik  $\text{K}^+$  akımları üzerine etkileri. Membran potansiyeli değerlerine göre pik akımların gösterimi. Veriler ortalama  $\pm$  SEM olarak verilmiştir.  $P < 0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. ( $n=5$ )



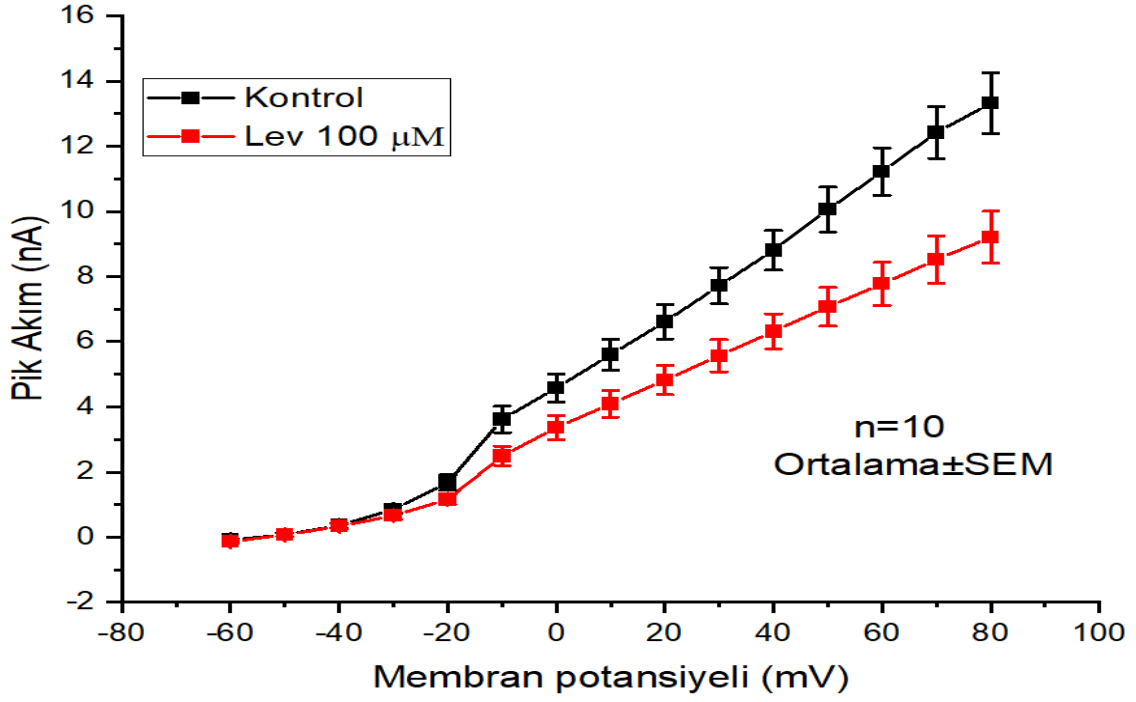
Şekil 4. 3.  $0.1\mu\text{M}$  LEV uygulamasının kanal iletkenliği üzerine etkileri. Membran potansiyeli değerlerine göre kanal iletkenlik değerlerinin gösterimi. Veriler ortalama  $\pm$  SEM olarak verilmiştir.  $P < 0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. ( $n=5$ )



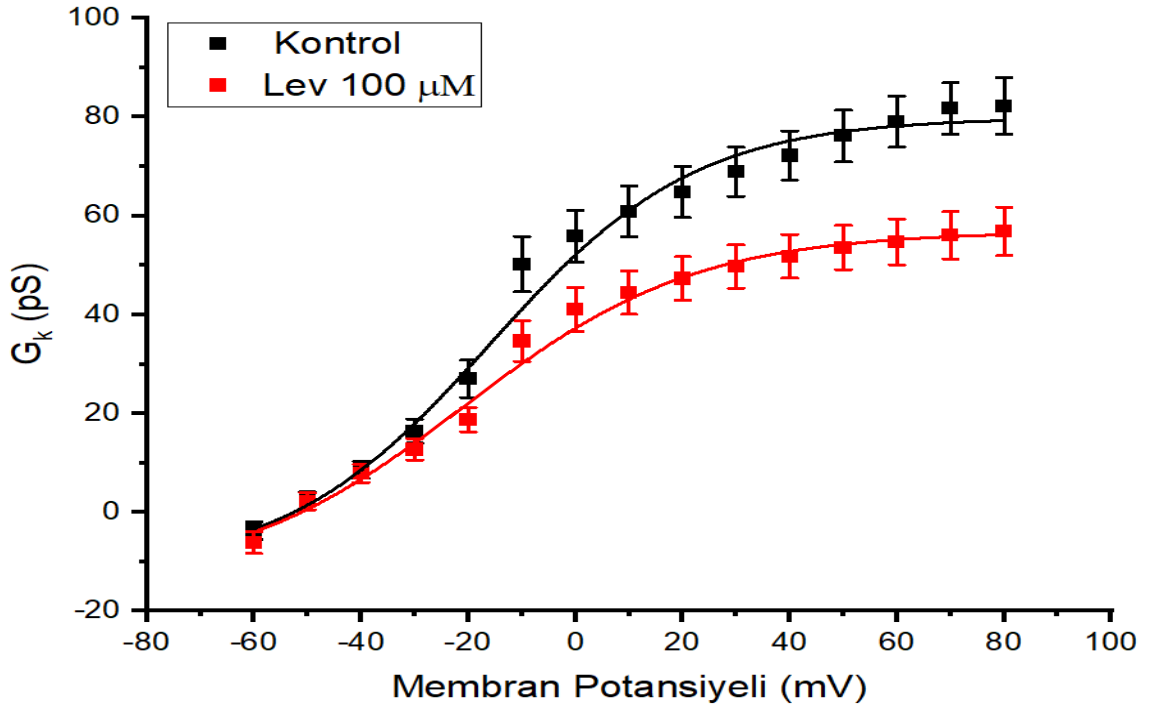
Şekil 4. 4. 10  $\mu\text{M}$  LEV uygulamasının dışa yönelik  $\text{K}^+$  akımları üzerine etkileri. Membran potansiyeli değerlerine göre pik akımların gösterimi. Veriler ortalama  $\pm$  SEM olarak verilmiştir.  $P < 0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. ( $n=5$ )



Şekil 4. 5. 10  $\mu\text{M}$  LEV uygulamasının kanal iletkenliği üzerine etkileri. Membran potansiyeli değerlerine göre kanal iletkenlik değerlerinin gösterimi. Veriler ortalama  $\pm$  SEM olarak verilmiştir.  $P < 0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. ( $n=5$ )

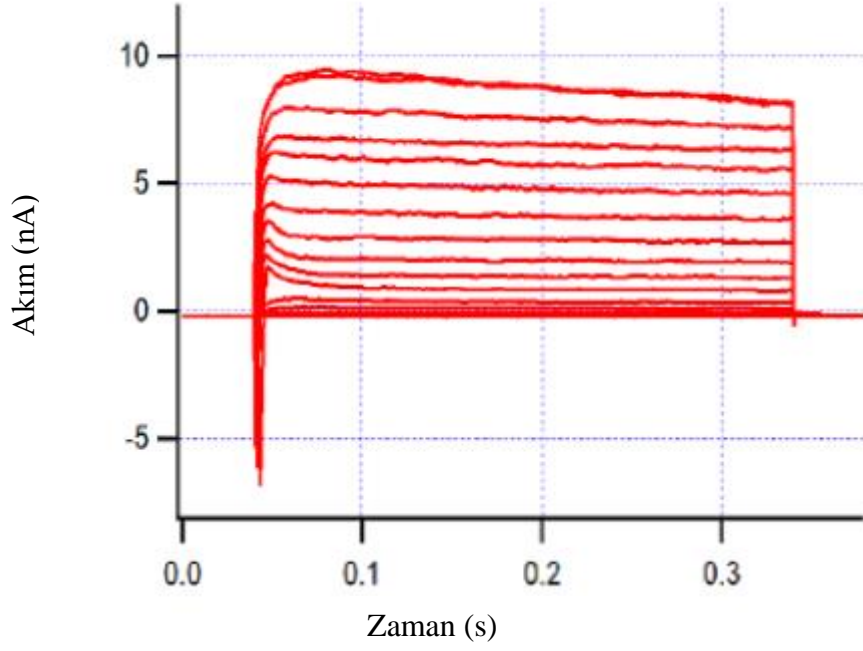


Şekil 4. 6. 100  $\mu$ M LEV uygulamasının dışa yönelik  $K^+$  akımları üzerine etkileri. Membran potansiyeli değerlerine göre pik akımların gösterimi. Veriler ortalama  $\pm$  SEM olarak verilmiştir.  $P < 0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. ( $n=10$ )

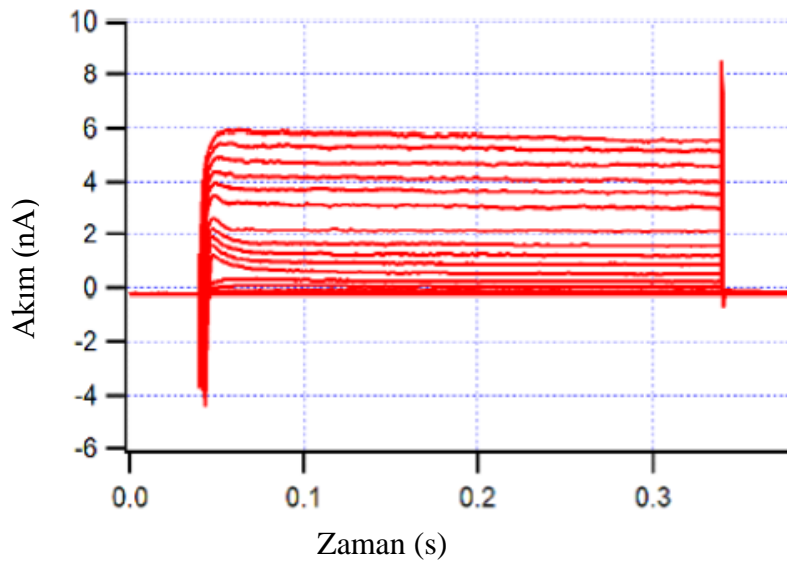


Şekil 4. 7. 100  $\mu$ M LEV uygulamasının kanal iletenliği üzerine etkileri. Membran potansiyeli değerlerine göre kanal iletenlik değerlerinin gösterimi. Veriler ortalama  $\pm$  SEM olarak verilmiştir.  $P < 0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. ( $n=10$ )

Kontrol hücrelerinden ve 100  $\mu\text{M}$  dozda LEV uygulamasından sonra membran potansiyeline göre  $\text{K}^+$  kanallarının iletkenliği yukarıda gösterilmektedir. LEV (100  $\mu\text{M}$ ),  $\text{K}^+$  akımlarının maksimum iletkenliğini ( $n=10$ ;  $p<0.05$ ) önemli ölçüde azalttı. Veriler, ortalama değerler  $\pm$  S.E.M olarak temsil edilir.

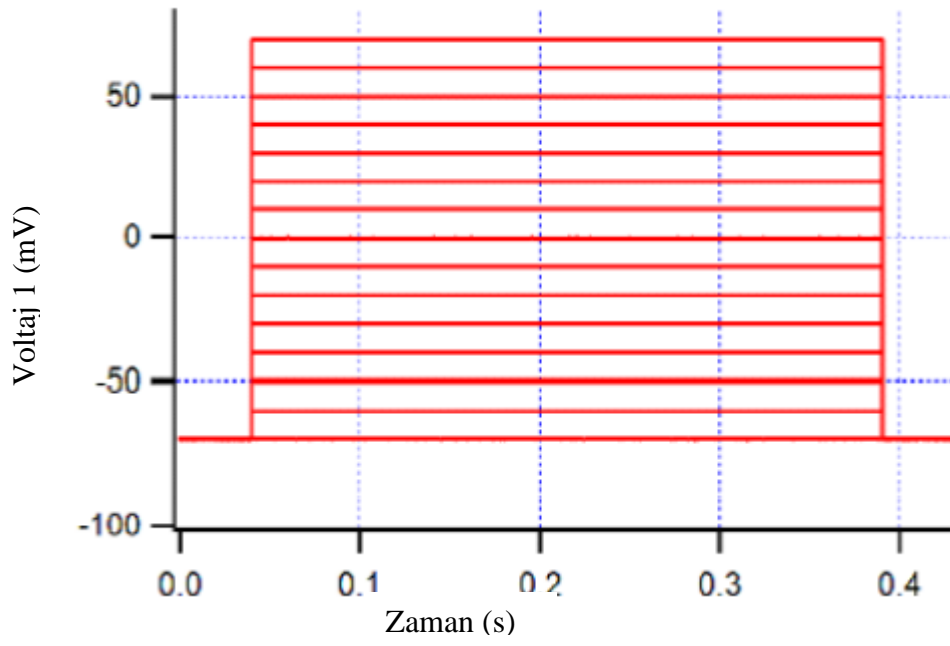


Şekil 4. 8. Kontrol akım



Şekil 4. 9. LEV 100 uygulamasından sonra kontrol akım





Şekil 4. 10. Kullanılan Protokol

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Ağrı, yaşam kalitesini düşüren ve radikal tedavisi olmayan bir durumdur. Diyabetik nöropati prevalansı önemlidir ve yeni farmakoterapötik yaklaşımlar gelişmektedir. Diyabetik nöropatide iyileştirici etkilerin ve mekanizmalarının farmakolojik ajanlarla saptanmasının önemli olduğu vurgulanmıştır.

LEV olan ilgi son dönemde artmış, çeşitli araştırmalar yapılmıştır. Öncelikle epilepsiyi tedavi etmek için kullanılan yeni bir antikonvülsan ajan olan LEV, ağrı tedavisinde kullanılmıştır, ancak bu etkinin hücresel mekanizması belirsizliğini korumakta idi. Ağrı hissinin homeostazın sürdürülmesindeki endişe verici rolüne rağmen, kronik ağrı sağlıkla ilgili yaşam kalitesi açısından çok önemli bir klinik durumdur. Kronik ağrı prevalansı dünya çapında yüksektir ve yalnızca ABD'deki nüfusun yaklaşık %30'unu etkiler. Nöropatik ağrı, otuz yaşın üzerindeki her 10 yetişkinden 1'inde ortaya çıkabilir, nöropatik sırt ağrısı en yaygın olanıdır, bunu diyabetik nöropati ve postherpetik nevralji izler. Bazı ağrılı durumlar ağrı kliniği alanında dirençli semptomlar gösterir, çünkü nonsteroidal antiinflatuar ilaçlar ve hatta opioidler gibi genel analjezikler bu ağrı sendromlarının yönetiminde sıklıkla etkisizdir. Bu nedenle, yardımcı ilaçlar, özellikle nöropatik ağrıda kronik ağrının tedavisi için uzun süredir klinik olarak kullanılmaktadır. Dünya çapında çok sayıda hasta ağrıdan muzdarip olmasına rağmen, günümüzde ağrı için ideal olarak etkili, güvenli ve bağımlılık yapmayan bir tedavi mevcut değildir. Bu nedenle, kronik ağrılı durumun tedavisi için daha iyi tedavi seçeneklerinin geliştirilmesi gerekir.

LEV'nin hücresel etki mekanizmasına ilişkin oldukça sınırlı araştırmalar bulunmaktadır. Diğer AED'lerin aksine LEV, hipokampal nöronlardaki nöronal voltaj kapılı  $Na^+$  ve T-tipi  $Ca^{2+}$  kanallarını etkilemez. Klasik AED'ler nöronal voltaj kapılı  $Na^+$  ve T tipi  $Ca^{2+}$  kanal akımlarını modüle eder. LEV, GABA-A akımı azaltmış, N tipi ve kısmen P/Q tipi yüksek voltajlı aktif  $Ca^{2+}$  kanallarını modüle edebilmiştir.

Antiepileptik ilaçların (AED'ler) kronik ağrı tedavisinde etkili olduğu gösterilmiştir. LEV, epilepsi tedavisinde belirli nöbet tiplerini kontrol etmek için yeni bir AED'dir. Ayrıca hayvan modellerinde ve insan çalışmalarında LEV'nin analjezik etkileri hakkında raporlar vardır. LEV, onu klasik AED'lerden ayıran birkaç benzersiz özelliğe sahiptir. LEV, AED'ler arasında farmakokinetik, ilaç etkileşim potansiyeli, yan

etkiler ve dozlama dikkate alındığında avantajlı olmasının yanı sıra ağrı yönetiminde yüksek etkinlik ve tolere edilebilirliğe sahiptir.

Periferik duyu nöronlarının yaralanmasını takiben ağrı ortaya çıkabilir. Dorsal kök ganglion (DRG) nöronları, nosiseptif sinyalleşmede çok önemli bir rol oynar [86]. Son yıllarda, duyuusal nöronal model, olası ağrı tedavisi ilaçları üzerine araştırmalar için yaygın olarak kullanılmaktadır [87]. Birçok çalışma, periferik sinir yaralanmasını takiben ligand ve voltaj kapılı iyon kanallarının ekspresyonunu ve fonksiyonunu içeren DRG'nin fonksiyonlarındaki değişikliklere odaklanmıştır. Bu nedenle, DRG'deki bu kanallar, analjeziklerin geliştirilmesi için kilit hedefler olarak kabul edilir. Antagonistlerin voltaj kapılı kalsiyuma uygulanması kanallar N, P/Q ve L tipi kanalların bloke edilmesinin ağrıyı, allodiniyi ve hiperaljeziyi azalttığını gösterdi [88]. Bu çalışmanın amacı, yeni antiepileptik ajan LEV'nin izole duyu nöronlarındaki olası analjezik etki mekanizmasını tam hücre patch clamp ve kalsiyum görüntüleme teknikleri kullanarak araştırmaktır [81].

Yeni AED LEV'nin olası etki mekanizmasını araştırmayı amaçlayan bu tam hücre yama kelepçesi ve kalsiyum görüntüleme çalışmasının sonuçları, LEV'nin membran hiperpolarizasyonuna ve kalsiyum sinyalleşmesinin inhibisyonuna neden olduğunu ortaya koydu. LEV tarafından dinlenme durumundan doza bağlı membran potansiyel hiperpolarizasyonlarının ters potansiyelleri daha negatife kaymıştır, bu da LEV'nin esas olarak  $K^+$  iletkenliğini aktive ettiğini gösterir. Bu nedenle,  $K^+$  kanallarının açılmasının LEV ile indüklenen membran hiperpolarizasyonuna katkıda bulunduğu sonucuna varıldı. Kanallar daha fazla karakterize edilmedi. Potasyum kanallarının açılması, konsantrasyonlarında depolarizasyona bağlı artışta ikincil değişikliklere neden olabilecek membran potansiyelini hiperpolarize eder. Bu nedenle, kalsiyum görüntüleme deneylerinde LEV, KCl- depolarizasyonun inhibisyonuna neden olmasına ve  $[Ca^{2+}]$ 'de artışa neden olmasına rağmen, membran potansiyeli değişikliklerinin LEV'nin  $[Ca^{2+}]$  sinyali üzerindeki inhibitör etkisi üzerindeki etkisini dışlamak zordur. Bununla birlikte, her iki etki de bu periferik duyuusal duyuların uyarılabilirliğinin inhibisyonuna aracılık eder.

Sonuç olarak, mevcut veriler AED LEV'nin analjezik etki mekanizması için kanıt sağlar. Halihazırda bu ilacın nosiseptif sinyal mekanizmasının belirlenmesi, daha fazla analjezik içgörü elde edebilir [81].

Başka bir doktora çalışmasında- kronik konstrüksiyon hasarı modelinde LEV'in zaman ve doza bağlı antihiperalezik etki gösterdiği görülmüştür. Bu etkiler nörotenseriik ve kanabinoideriik katılım, antagonistlerin ön uygulaması ile araştırılmış ve her iki sistem için de önemli bir katılım tespit edilmiştir. Elektrofizyolojik çalışmalarda, LEV'in -130 ile -90 mV aralığındaki hiperpolarize membran potansiyellerinde aktif olan bir ya da birden fazla akımı tetiklediğı belirlenmiştir. Bulgular HCN,  $K_{ir}$  veya GIRK kanallarının olası katılımını göstermiştir. LEV ve türevleri nöropatik ağrının farmakoterapisinde alternatif seçenekler olarak değerlendirilmelidir. Elde edilen sonuçlar, nöropatik ağrının tedavisi için LEV türevlerine yönelik yeni ilaç geliştirme çalışmalarına öncülük edecek nitelikte olmuştur [89].

Diyabetik nöropati modelinde yaptığımız çalışmada hücrelere LEV uygulamasının iletkenliğı azalttığı gözlemlendi. Bu azalma, aktif kanalların sayısındaki bir azalmadan, açık durum olasılığındaki bir değışiklikten veya kanalın sinyal genliğinden kaynaklanabilir.  $K^+$  kanalı aktivasyonunun inhibisyonu, hücrenin azaltılmış bir uyarılabilirliğine yol açar. Bu, voltaj kapılı  $Na^+$  kanallarını inaktive eden depolarizasyon üreterek ya da AP repolarizasyonunu yavaşlatarak ve böylece ateşleme hızını azaltarak meydana gelebilir. Bununla birlikte, bu çalışmada sunulan veriler LEV'nin olası analjezik etkilerini vurgulamaktadır. LEV'nin antihiperalezik etkileri, iyon kanalları üzerindeki etkilerinden DRG düzeyinde ortaya çıkabilir.

DN sendromunda radikal tedavi henüz keşfedilmemiştir. Nöropatik ağrıda etkili olan ilaçların etki mekanizmalarının incelenmesi radikal tedavi sağlanması ve daha iyi bir farmakoterapötik yaklaşım geliştirilmesi sürecinde önem taşımaktadır. Bu proje kapsamında gerçekleştirilen çalışmanın başarılı sonucunda, Türkiye'de klinik kullanımı bulunan LEV'in spinal düzeyde etki mekanizmaları aydınlatılmış oldu. Böylece farmakolojik profili ayrıntılandırılmış olan, öngörülen sonuçlar elde edilmiştir. Terapötik yaklaşımlarda ilaç seçimleri değerlendirilirken göz önüne alınacak prelinik veriler elde edilmiştir. LEV türevlerinin değerlendirildiğı yeni ilaç geliştirme çalışmalarına yol gösterici bulgular alınmıştır. Ayrıca sağlıklı deney hayvanları ile DN oluşturulan hayvanlar arasındaki patofizyolojik farklılık vurgulanmış ve ileri çalışmalarda araştırmacıların göz önüne alacağı sonuçlar literatüre kazandırılmıştır.

## KAYNAKÇA

- [1] Aydın, O. (2002). Ağrı ve ağrı mekanizmalarına güncel bakış. *ADÜ Tıp Fakültesi Derg.*, 3 (2), 37–48.
- [2] Saygin, M., Yağcı, Ü. (2019). AğFizyopatolojisi. *SDÜ Tıp Fakültesi Derg.*, 26 (2), 209–220.
- [3] Hayta, E. (2017). Nöropatik Ağrıda Tanı ve Değerlendirme Yöntemleri. (January 2012), .
- [4] Pain, N., Mechanisms, P. (2004). Nöropatik Ağrı ve Fizyopatolojik Mekanizmalar. 1–5.
- [5] Erkoçak A. Özel Histoloji, 5th edn, İzmir, Ankara Üniversitesi Basım Evi, 1984: 247-250.
- [6] Aytekin Y, Solakoğlu S. Temel Histoloji Text &Atlas, 11th edn. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevi, 2006:181-182
- [7] Gardner LP, Hiatt JL. Color textbook of Histology 2nd edn. Philadelphia, W.B. Saunders Company, 1997: 207-210.
- [8] Rodney A.R, David R.B. Tıbbi Fizyoloji (Ed. Ağar E.). İstanbul, Türkiye, İstanbul Tıp Kitabevi, 2017; 61-67.
- [9] Velioğlu S.K. Ağrı Anatomisi: Ağrı Yolakları, Beyin Sapı ve Beyin. Türk Klinikleri Dergisi Nöroloji 2017; 10(4): 329-335.
- [10] Savrun F. Ağrıda Nörofizyolojik Yöntemlerin Yeri. Türk Klinikleri Dergisi Nöroloji 2017; 10(4): 339-347.
- [11] Kramer P.R, Strand J, Stinson C, Bellinger L.L, Kinchington P.R, Yee M.B, Umorin M, Peng Y.B. Role for the Ventral Posterior Medial/Posterior Lateral Thalamus and Anterior Cingulate Cortex in Affective/Motivation Pain Induced by Varicella Zoster Virus. *Front Integr Neurosci.* 2017; 11: 27.
- [12] Baylilkem, D.K. (1978). Diabetiklerde oluşan noropati ile ilgili semptomatolojinin gözlemlenmesini.
- [13] Ünal, E., Akan, O., Üçler, S. (2015). Diyabet ve Nörolojik Hastalıklar. 3145–51.
- [14] TURKDİAB. (2019). *TÜRKDİAB Diyabet tanı ve tedavi rehberi 2019*, [https://www.turkdiab.org/admin/PICS/files/Diyabet\\_Tani\\_ve\\_Tedavi\\_Rehberi\\_2019.pdf](https://www.turkdiab.org/admin/PICS/files/Diyabet_Tani_ve_Tedavi_Rehberi_2019.pdf).
- [15] Alp, R. (2008). DİYABET KÖK NÖROPATİ KÖK DE SINIFLANDIRMA VE KLİNİK

N K ÖZELL KLER.

- [16] Bayram, E.H., Elcioğlu, H.K. (2016). Diyabetik noropatiye guncel tedavi yaklaşımları. *Marmara Pharm. J.*, 20 (3), 252–262.
- [17] Biyofizik, A.D., Tarihi, E. (1932). Patch clamp tekniği. (16), .
- [18] Fakültesi, T., Cilt, K., Düzgün Ergün, D., Dursun, Ş. (2018). 1 Sayı 1-Nisan. 2018 (38), 93–108.
- [19] Güngör, İ. (2010). Journal of Experimental and Clinical Medicine Deneysel ve Klinik Tıp Dergisi. *Dergi.Omu.Edu.Tr*, (1905), 2004–2006.
- [20] Demir, A., Aydın, Z. (2021). Levetirasetam Kullanımına Bağlı Olarak Nöbetleri Artış Gösteren Hipoglisemi Olgusu. 8 (3), 165–167.
- [21] Publications, M.J., Hs, S., Ananya, C., Nithin, K., Ca, J., Hv, S.B., Bn, S. (2013). Levetiracetam : A Review of its use in the treatment of epilepsy. 2 (3), 166–172.
- [22] Landmark, C.J. (2006). Targets for antiepileptic drugs in the synapse. *Medical Science Monitor*, 13 (1), RA1-RA7.
- [23] Cortes-Altamirano, J., Olmos-Hernández, A., Bonilla-Jaime, H., Bandala, C., González-Maciel, A., Alfaro-Rodríguez, A. (2016). Levetiracetam as an antiepileptic, neuroprotective, and hyperalgesic drug. *Neurology India*, 64 (6), 1266.
- [24] Margineanu, D.-G., Matagne, A., Kaminski, R.M., Klitgaard, H. (2008). Effects of chronic treatment with levetiracetam on hippocampal field responses after pilocarpine-induced status epilepticus in rats. *Brain Research Bulletin*, 77 (5), 282-285.
- [25] Ardid, D., Lamberty, Y., Alloui, A., Coudore-Civiale, M.A., Klitgaard, H., Eschalier, A. (2003). Antihyperalgesic effect of levetiracetam in neuropathic pain models in rats. *European Journal of Pharmacology*, 473 (1), 27-33.
- [26] Coppola, G., Arcieri, S., D'Aniello, A., Messana, T., Verrotti, A., Signoriello, G., Pascotto, A. (2010). Levetiracetam in submaximal subcutaneous pentylentetrazol induced seizures in rats. *Seizure*, 19 (5), 296-299.
- [27] Wang, H., Gao, J., Lassiter, T.F., McDonagh, D.L., Sheng, H., Warner, D.S., Lynch, J.R., Laskowitz, D.T. (2006). Levetiracetam is neuroprotective in murine models of closed head injury and subarachnoid hemorrhage. *Neurocritical Care*, 5 (1), 71-78.

- [28] Löscher, W., Schmidt, D. (1988). Which animal models should be used in the search for new antiepileptic drugs? A proposal based on experimental and clinical considerations. *Epilepsy Research*, 2 (3), 145-181.
- [29] Cormier, J., Chu, C.J. (2013). Safety and efficacy of levetiracetam for the treatment of partial onset seizures in children from one month of age. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, 9, 295.
- [30] Klitgaard, H., Matagne, A., Gobert, J., Wülfert, E. (1998). Evidence for a unique profile of levetiracetam in rodent models of seizures and epilepsy. *European Journal of Pharmacology*, 353 (2-3), 191-206.
- [31] Swaroop, H., Ananya, C., Nithin, K., Jayashankar, C., Babu, H.S., Srinivas, B. (2013). Levetiracetam: a review of its use in the treatment of epilepsy. *International Journal of Medicine and Biomedical Research*, 2 (3), 166-172.
- [32] Ben-Menachem, E., Falter, U. (2000). Efficacy and tolerability of levetiracetam 3000 mg/d in patients with refractory partial seizures: a multicenter, double-blind, responder-selected study evaluating monotherapy. *Epilepsia*, 41 (10), 1276-1283.
- [33] Alsaadi, T.M., Shatzel, A., Marquez, A.V., Jorgensen, J., Farias, S. (2005). Clinical experience of levetiracetam monotherapy for adults with epilepsy: 1-year follow-up study. *Seizure*, 14 (2), 139-142.
- [34] Lim, D.A., Tarapore, P., Chang, E., Burt, M., Chakalian, L., Barbaro, N., Chang, S., Lamborn, K.R., McDermott, M.W. (2009). Safety and feasibility of switching from phenytoin to levetiracetam monotherapy for glioma-related seizure control following craniotomy: a randomized phase II pilot study. *Journal of Neuro-oncology*, 93 (3), 349- 354.
- [35] Milligan, T.A., Hurwitz, S., Bromfield, E.B. (2008). Efficacy and tolerability of levetiracetam versus phenytoin after supratentorial neurosurgery. *Neurology*, 71 (9), 665-669.
- [36] Jones, K.E., Puccio, A.M., Harshman, K.J., Falcione, B., Benedict, N., Jankowitz, B.T., Stippler, M., Fischer, M., Sauber-Schatz, E.K., Fabio, A. (2008). Levetiracetam versus phenytoin for seizure prophylaxis in severe traumatic brain injury. *Neurosurgical Focus*, 25 (4), E3.
- [37] Zachenhofer, I., Donat, M., Oberndorfer, S., Roessler, K. (2011). Perioperative levetiracetam for prevention of seizures in supratentorial brain tumor surgery.

Journal of Neuro-oncology, 101 (1), 101-106.

- [38] Bähr, O., Hermisson, M., Rona, S., Rieger, J., Nussbaum, S., Körtvelyessy, P., Franz, K., Tatagiba, M., Seifert, V., Weller, M. (2012). Intravenous and oral levetiracetam in patients with a suspected primary brain tumor and symptomatic seizures undergoing neurosurgery: the HELLO trial. *Acta Neurochirurgica*, 154 (2), 229-235.
- [39] Lee, Y.J., Kang, H.-C., Kim, H.D., Lee, J.S. (2010). Efficacy and safety of adjunctive levetiracetam therapy in pediatric intractable epilepsy. *Pediatric Neurology*, 42 (2), 86-92.
- [40] Weinstock, A., Ruiz, M., Gerard, D., Toublanc, N., Stockis, A., Farooq, O., Dilley, D., Karmon, Y., Elgie, M.J., Schiemann-Delgado, J. (2013). Prospective openlabel, single-arm, multicenter, safety, tolerability, and pharmacokinetic studies of intravenous levetiracetam in children with epilepsy. *Journal of Child Neurology*, 28 (11), 1423-1429.
- [41] Özkale, Y., Özkale, M., Saygi, S., Erol, I. (2014). Long-term accidental overdose of levetiracetam in an infant. *Journal of Child Neurology*, 29 (7), 959-961.
- [42] De Luca, A.C., Faroni, A., and Reid, A.J. (2015). Dorsal root ganglia neurons and differentiated adipose-derived stem cells: An in vitro co-culture model to study peripheral nerve regeneration. *J. Vis. Exp.*, 96 (96), 525–543
- [43] Price, M.J. (2004). Levetiracetam in the treatment of neuropathic pain: three case studies. *The Clinical Journal of Pain*, 20 (1), 33-36.
- [44] Archer, D.P., Lamberty, Y., Wang, B., Davis, M.J., Samanani, N., Roth, S.H. (2007). Levetiracetam reduces anesthetic-induced hyperalgesia in rats. *Anesthesia & Analgesia*, 104 (1), 180-185.
- [45] Guay, D.R. (2003). Oxcarbazepine, topiramate, zonisamide, and levetiracetam: potential use in neuropathic pain. *The American Journal of Geriatric Pharmacotherapy*, 1 (1), 18-37.
- [46] Rowbotham, M.C., Manville, N.S., Ren, J. (2003). Pilot tolerability and effectiveness study of levetiracetam for postherpetic neuralgia. *Neurology*, 61 (6), 866- 867.
- [47] Enggaard, T.P., Klitgaard, N.A., Sindrup, S.H. (2006). Specific effect of levetiracetam in experimental human pain models. *European Journal of Pain*, 10



(3), 193-193.

- [48] Falah, M., Madsen, C., Holbech, J., Sindrup, S. (2012). A randomized, placebo-controlled trial of levetiracetam in central pain in multiple sclerosis. *European Journal of Pain*, 16 (6), 860-869.
- [49] Hawker, K., Frohman, E., Racke, M. (2003). Levetiracetam for phasic spasticity in multiple sclerosis. *Archives of Neurology*, 60 (12), 1772-1774.
- [50] Frediani, F. (2004). Anticonvulsant drugs in primary headaches prophylaxis. *Neurological Sciences*, 25 (3), s161-s166.
- [51] Micov, A., Tomić, M., Popović, B., Stepanović-Petrović, R. (2010). The antihyperalgesic effect of levetiracetam in an inflammatory model of pain in rats: mechanism of action. *British Journal of Pharmacology*, 161 (2), 384-392.
- [52] Stepanovic-Petrovic, R.M., Micov, A.M., Tomic, M.A., Ugrešić, N.D. (2012). The local peripheral antihyperalgesic effect of levetiracetam and its mechanism of action in an inflammatory pain model. *Anesthesia & Analgesia*, 115 (6), 1457-1466.
- [53] Tomić, M.A., Micov, A.M., Stepanović-Petrović, R.M. (2013). Levetiracetam interacts synergistically with nonsteroidal analgesics and caffeine to produce antihyperalgesia in rats. *The Journal of Pain*, 14 (11), 1371-1382.
- [54] Shannon, H.E., Eberle, E.L., Peters, S.C. (2005). Comparison of the effects of anticonvulsant drugs with diverse mechanisms of action in the formalin test in rats. *Neuropharmacology*, 48 (7), 1012-1020.
- [55] Ozcan, M., Ayar, A., Canpolat, S., Kutlu, S. (2008). Antinociceptive efficacy of levetiracetam in a mice model for painful diabetic neuropathy. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*, 52 (7), 926-930.
- [56] Howard, P., Remi, J., Remi, C., Charlesworth, S., Whalley, H., Bhatia, R., Hitchens, M., Mihalyo, M., Wilcock, A. (2018). Levetiracetam. *J. Pain Symptom Manage.*, 56 (4), 645–649.
- [57] Brighina, F., Palermo, A., Aloisio, A., Francolini, M., Giglia, G., Fierro, B. (2006). Levetiracetam in the prophylaxis of migraine with aura: a 6-month open-label study. *Clinical Neuropharmacology*, 29 (6), 338-342.
- [58] Rossi, S., Mataluni, G., Codeca, C., Fiore, S., Buttari, F., Musella, A., Castelli, M., Bernardi, G., Centonze, D. (2009). Effects of levetiracetam on chronic pain in multiple sclerosis: results of a pilot, randomized, placebo-controlled study.

- European Journal of Neurology, 16 (3), 360-366.
- [59] Newton, H.B., Goldlust, S.A., Pearl, D. (2006). Retrospective analysis of the efficacy and tolerability of levetiracetam in brain tumor patients. *Journal of Neurooncology*, 78 (1), 99-102.
- [60] Striano, P., Coppola, A., Vacca, G., Zara, F., Morra, V.B., Orefice, G., Striano, S. (2006). Levetiracetam for cerebellar tremor in multiple sclerosis. *Journal of Neurology*, 253 (6), 762-766.
- [61] Jorns, T., Johnston, A., Zakrzewska, J. (2009). Pilot study to evaluate the efficacy and tolerability of levetiracetam (Keppra®) in treatment of patients with trigeminal neuralgia. *European Journal of Neurology*, 16 (6), 740-744.
- [62] Mitsikostas, D.D., Pantes, G.V., Avramidis, T.G., Karageorgiou, K.E., Gatzonis, S.D., Stathis, P.G., Fili, V.A., Siatouni, A.D., Vikelis, M. (2010). An observational trial to investigate the efficacy and tolerability of levetiracetam in trigeminal neuralgia. *Headache: The Journal of Head and Face Pain*, 50 (8), 1371-1377.
- [63] Reda, H.M., Zaitone, S.A., Moustafa, Y.M. (2016). Effect of levetiracetam versus gabapentin on peripheral neuropathy and sciatic degeneration in streptozotocindiabetic mice: Influence on spinal microglia and astrocytes. *European Journal of Pharmacology*, 771, 162-172.
- [64] Micov, A., Tomić, M., Pecikoza, U., Ugrešić, N., Stepanović-Petrović, R. (2015). Levetiracetam synergises with common analgesics in producing antinociception 115 in a mouse model of painful diabetic neuropathy. *Pharmacological Research*, 97, 131- 142.
- [65] McQuay, H.J. (2002). Neuropathic pain: evidence matters. *European Journal of Pain*, 6 (SA), 11-18.
- [66] Margineanu, D., Klitgaard, H. (2002): Levetiracetam: Mechanisms of action. In Antiepileptic Drugs“(RH Levy, RH Mattson, BS Meldrum, and E. Perucca, Eds.). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- [67] Beyreuther, B., Callizot, N., Stöhr, T. (2006). Antinociceptive efficacy of lacosamide in a rat model for painful diabetic neuropathy. *European Journal of Pharmacology*, 539 (1-2), 64-70.
- [68] Lambeng, N., Gillard, M., Vertongen, P., Fuks, B., Chatelain, P. (2005). Characterization of [3H] ucb 30889 binding to synaptic vesicle protein 2A in the

- rat spinal cord. *European Journal of Pharmacology*, 520 (1-3), 70-76.
- [69] Blackburn-Munro, G., Jensen, B.S. (2003). The anticonvulsant retigabine attenuates nociceptive behaviours in rat models of persistent and neuropathic pain. *European Journal of Pharmacology*, 460 (2-3), 109-116.
- [70] Messinger, R. B., Naik, A. K., Jagodic, M. M., Nelson, M. T., Lee, W. Y., Choe, W. J., ... & Jevtovic-Todorovic, V. (2009). In vivo silencing of the Ca V 3.2 T-type calcium channels in sensory neurons alleviates hyperalgesia in rats with streptozocin-induced diabetic neuropathy. *PAIN®*, 145(1), 184-195.
- [71] Nazıroğlu, M., Çiğ, B., Özgül, C. (2014). Modulation of oxidative stress and Ca(2+) mobilization through TRPM2 channels in rat dorsal root ganglion neuron by *Hypericum perforatum*. *Neuroscience*, 263, 27-35.
- [72] Skalska, S., Kyselova, Z., Gajdosikova, A., Karasu, C., Stefek, M., Stolc, S., (2008). Protective effect of stobadine on NCV in streptozotocin-diabetic rats: augmentation by vitamin E, *Gen. Physiol. Biophys.*, 27 (2), 106-114.
- [73] Yan, J.E., Yuan, W., Lou, X., Zhu, T., (2012). Streptozotocin-induced diabetic hyperalgesia in rats is associated with upregulation of tolllike receptor 4 expression. *Neurosci. Lett.*, 526 (1), 54-58.
- [74] Spradley, J. M., Guindon, J., & Hohmann, A. G. (2010). Inhibitors of monoacylglycerol lipase, fatty-acid amide hydrolase and endocannabinoid transport differentially suppress capsaicin-induced behavioral sensitization through peripheral endocannabinoid mechanisms. *Pharmacological research*, 62(3), 249-258.
- [75] Whiteside, G. T., Harrison, J., Boulet, J., Mark, L., Pearson, M., Gottshall, S., & Walker, K. (2004). Pharmacological characterisation of a rat model of incisional pain. *British journal of pharmacology*, 141(1), 85-91.
- [76] Chattopadhyay, M., Zhou, Z., Hao, S., Mata, M., Fink, D.J. (2012). Reduction of voltage gated sodium channel protein in DRG by vector mediated miRNA reduces pain in rats with painful diabetic neuropathy, *Mol. Pain*, 8, 17.
- [77] Lin, Y.T. and Chen, J.C. (2018). Dorsal root ganglia isolation and primary culture to study neurotransmitter release. *J. Vis. Exp.*, 1 (140), 57-76.
- [78] Sleight, J.N., West, S.J., and Schiavo, G. (2020). A video protocol for rapid dissection of mouse dorsal root ganglia from defined spinal levels. *BMC Res. Notes*, 13 (1), 302-311.

- [79] Heinrich, T., Hübner, C., and Kurth, I. (2016). Isolation and Primary Cell Culture of Mouse Dorsal Root Ganglion Neurons. *Bio. Protoc.*, 6 (7), 36–50.
- [80] Cummins, T.R., Rush, A.M., Estacion, M., Dib-Hajj, S.D., and Waxman, S.G. (2009). Voltage-clamp and current-clamp recordings from mammalian DRG neurons. *Nat. Protoc.*, 4 (8), 1103–1112.
- [81] Ozcan, M., Ayar, A. (2012). Modulation of action potential and calcium signaling by levetiracetam in rat sensory neurons odulation of action potential and calcium signaling by levetiracetam in rat sensory neurons. 9893. Epub ahead of print 2012. DOI: 10.3109/10799893.2012.672993.
- [82] Hyun, S.W., Kim, B.R., Hyun, S.A., and Seo, J.W. (2017). The assessment of electrophysiological activity in human-induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes exposed to dimethyl sulfoxide and ethanol by manual patch clamp and multi-electrode array system. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*, 87 (3), 93–98.
- [83] Du, X., Lu, D., Daharsh, E.D., Yao, A., Dewoody, R., and Yao, J.A. (2006). Dimethyl sulfoxide effects on hERG channels expressed in HEK293 cells. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*, 54 (2), 164–172.
- [84] Ozcan, M. and Ayar, A. (2012). Modulation of action potential and calcium signaling by levetiracetam in rat sensory neurons. *J. Recept. Signal Transduct.*, 32 (3), 156–162.
- [85] Molleman, A. (2003). Whole-Cell Protocols and Data Analysis. in: *Patch Clamping An Introd. Guid. To Patch Clamp Electrophysiol.* (p. 115–139). Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd.
- [86] Yetişkinlerde nöropatik ağrı için Levetirasetam. *Sistemik İncelemelerin Cochrane Veritabanı*. 2014; 7: CD010943 [www.thecochranelibrary.com](http://www.thecochranelibrary.com)
- [87] Patsalos PN Levetirasetamın klinik farmakokinetiği. *Klinik Farmakokinetik*. 2004; 43 : 707-724
- [88] Duque, A.P. do N., Pinto, N. de C.C., Mendes, R. de F., da Silva, J.M., Aragão, D.M. de O., Castañon, M.C.M.N., and Scio, E. (2016). In vivo wound healing activity of gels containing Cecropia pachystachya leaves. *J. Pharm. Pharmacol.*, 68 (1), 128–138.
- [89] Alyu Tekeş, F. (2019). Investigating the antihyperalgesic effects of levetiracetam and its involved mechanisms at supraspinal level in a model of

neuropathic pain. Doktora Tezi. Eskişehir: Anadolu Üniversitesi, Sosyal Bilimler Enstitüsü (23-37).

## ÖZGEÇMİŞ

**Adı Soyadı:** Türkan Ahmadzada.

**Yabancı Dil:** İngilizce, Rusca, Azerbaycan dili.

### **Eğitim ve Mesleki Geçmiş:**

#### **Eğitim:**

- 2010- 2014. Azerbaycan Tıp Üniversitesi Eczacılık Bölümü. Lisans.
- 2018-2022. Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakoloji Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans.
- 2018-2021. Açık öğretim Fakültesi, Sağlık Yönetimi Bölümü, Lisans.
- 2021- 2022. İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı Tezsiz Yüksek Lisans.
- 2021. Medipol Üniversitesi Ürün Tanıtım Temsilcisi Eğitimi TİTCK- "Ürün tanıtım Temsilcisi"
- 2021-2022. Proje Yönetimi ve Hibe/Fon Kaynakları Eğitimi
- 2021-2022. Stres Yönetimi Eğitimi

#### **Mesleki geçmiş:**

- 2014-2016. Mesul Müdür, ATF.H- Liliüm Eczanesi.
- 2016-2017. Mesul Müdür, Vita Zincir Eczanesi

### **Yayınlar ve/veya Bilimsel/Sanatsal Faaliyetler:**

- 2022. 9. Uluslararası Tıp ve Sağlık Bilimleri Araştırmaları Kongresi, Sözlü bildiri, Konu: 'DİYABETİK NÖROPATİDE LEVETİRASETAM UYGULAMASININ POTASYUM İLETKENLİĞİ ÜZERİNE İNHİBİTÖR ETKİSİ'. Ankara Bilim Üniversitesi.

### **Ödüller:**

- 2005. Türkiye Diyanet Vakfı Bakü Türk Lisesi – Teşekkür name.
- 2010. Türkiye Diyanet Vakfı Bakü Türk Lisesi – Taktirname.
- 2011. Azerbaycan Tıp Üniversitesinin 'Öğrenci İlmi Kuruluşu'nun II dereceli diploması.
- 2011. Azerbaycan Tıp Üniversitesinin Debat Kulübünün ATU TGT'nin desteğiyle düzenlediği Karl Popper Debat formatında II Debat formunun 'III En İyi Spikeri' Sertifikası.
- 2011. Parlament Debatı açık Yarışının Katılımcısı Sertifikası.
- 2011. III Azerbaycan Devlet İktisat Üniversitesinin Açık Debat Yarışının Katılımcısı Sertifikası
- 2011. Respublika Gençler Debat Yarışı -Payız 2011'in Finalçısı Şahadetnamesi.
- 2012. Bakı Debat Forumu- 'Yeşil Düşünce Kupası 2012'- Azerbaycan Tıp Üniversitesinin III Dahili Yarışmasının 'III En İyi Spikeri' Şahadetnamesi.
- 2019-2020. Anadolu Üniversitesi Onur belgesi: 2019-2020 bahar dönemindeki başarısından dolayı bu belgeyi almaya hak kazanmıştır.
- 2020-2021. Anadolu Üniversitesi Onur belgesi: 2020-2021 bahar dönemindeki başarısından dolayı bu belgeyi almaya hak kazanmıştır.

**Mesleki Birlik/Dernek/Kuruluş Üyelikleri:**

- 2021. Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu. Türkiye.