

**T.C
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ
FARMAKOLOJİ VE KLİNİK FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI**

**AGMATİN'İN KINDLING EPİLEPSİ MODELLERİNDEKİ
ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Akın KÖSE

İstanbul-2007

**AGMATİN'İN KINDLING EPİLEPSİ MODELLERİNDEKİ
ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Akın KÖSE

**Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Birimi tarafından desteklenmiştir.**

Proje No: Yeni Sağlık Kod: T-802/27122005

Tez Yöneticisi: Prof. Dr. D. Okan Yıllar

İstanbul-2007

Teşekkür

Uzmanlık eğitimimde bana yol gösteren; gerekli bilgi ve beceriyle donanmamı sağlayıp bilimsel düşünme, analiz etme, yorumlama ve fikir üretme yeteneğimi geliştiren, başta Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Cihat Küçüküseyin olmak üzere, Prof. Dr. Aydın Barlas, Prof. Dr. A. Gökhan Akkan, Doç. Dr. Sibel Özyazgan'a, laboratuvar çalışmalarım da karşılaştığım problemlere akılcı çözümler bulan Prof. Dr. Öner Süzer'e, asistanlığım süresince gerçekleştirdiği projelere beni de dahil eden Prof. Dr. Zeliha Yazıcı'ya, agramatin maddesini bana da sevdiren Prof. Dr. Feyza Arıcıoğlu'na, histolojik incelemelerimde katkısı olan Mediha Eser'e, engin elektrik bilgisiyle stimülatörümüzü yapan Altuğ Bayraktar'a, tez çalışmalarım esnasında büyük bir özveriyle çalışıp bana yardım eden arkadaşım Uzm. Dr. Ersoy Öksüz ve Dr. Mahir Kula'ya, asistanlık süresince her türlü sorunu birlikte göğüslediğimiz ve gerektiğinde yardımlaştığımız asistan ve doktor arkadaşlarım Dr. Ayfer Altınok, Dr. Burçak Deniz Dedeoğlu, Dr. Zinnet Eren, Dr. Bülent Özgür Yazıcı, Dr. Uğur Uygunoğlu, Dr. Erkan Aydın, Dr. Özgür Karaman, Dr. Evren Kula'ya, her türlü desteklerini benden esirgemeyen anabilim dalı personelimizden, başta Necmi Türker olmak üzere, İbrahim Köçer, Esmâ Bilmez, Seviye Bilge, Ahmet Kaya, Faruk Çağman ve Cemil Çuhadar'a, asistanlığım süresince eğitimim için yakın ilgi gösteren, bana yol gösteren ve sonsuz destek veren değerli tez danışmanım, hocam sayın Prof. Dr. Okan Yıllar'a, bana çok iyi bir aile terbiyesi veren, beni sevgiyle ve saygıyla büyüten, bugünlere getiren, bir ferdi olmaktan her zaman gurur duyduğum, canımdan çok sevdiğim aileme çok teşekkür ederim.

Dr. Akın KÖSE

İstanbul-2007

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
I) TEŞEKKÜR	i
II) İÇİNDEKİLER	ii
III) KISALTMALARIN LİSTESİ	iv
IV) ŞEKİLLER	v
V) TABLOLAR	vi
1. ÖZET	1
2. ABSTRACT	2
3. GİRİŞ VE AMAÇ	3
4. GENEL BİLGİLER	5
4.1 EPİLEPSİ	5
4.1.1 EPİLEPSİNİN TANIMI	5
4.1.2 EPİLEPSİ ALANINDA KULLANILAN MODELLER	7
4.1.3 TEMPORAL LOB EPİLEPSİSİ	9
4.1.4 TEMPORAL LOB EPİLEPSİSİ İÇİN HAYVAN MODELLERİ, KRONİK EPİLEPSİ MODELLERİ	9
4.1.4.1 STATUS EPİLEPTİKUS MODELİ	10
4.1.4.2 KİNDLİNG MODELİ	11
4.1.4.2.1 KİNDLİNG EVRELERİ	12
4.1.4.2.2 KİNDLİNG'İN TEMEL ÖZELLİKLERİ	13
- ARD DEŞARJ	13
- DİKEN VE DALGA (SPIKE AND WAVE)	13
- HİPER DİKENLER	14
- İKİNCİL ARD DEŞARJ	14
- JACKSONİYAN DİZİ	15
- SON DÖNEM KİNDLİNG	16
4.1.4.2.2 KİNDLİNG MODELİNİN AVANTAJ VE DEZAVANTAJLARI	16
4.1.4.2.3 NÖBET DÖNGÜSÜ	17
4.1.5 EPİLEPSİ MEKANİZMALARI	18
4.1.5.1 UYARICI SİSTEMLERDE ARTMIŞ UYARILMA	18
4.1.5.1.1 GLUTAMAT VE GLUTAMAT RESEPTÖR AKTİVASYONU	18
4.1.5.1.2 NMDA RESEPTÖR AKTİVASYONU	19
4.1.5.1.3 YENİ NÖRONAL DÖNGÜLERİN OLUŞMASI	20
4.1.5.2 İNHİBİTÖR SİSTEMLERDE YETMEZLİK	21
4.1.6 EPİLEPSİ OLUŞMA MEKANİZMALARI VE ANTİ EPİLEPTİK İLAÇLAR	23
4.1.7 ŞİMDİKİ (GEÇERLİ OLAN) KİNDLİNG KAYNAKLI EPİLEPTOGENEZ HİPOTEZİ	27
4.1.7.1 NÖBET DEŞARJININ BAŞLANGICI	27
4.1.7.2 UYARILMIŞ NÖBET HASSASİYETİ GELİŞMESİNİN ERKEN EVRESİ	27
4.1.7.3 UYARILMIŞ NÖBET HASSASİYETİ GELİŞMESİNİN GEÇ EVRESİ	28
4.1.7.4 İNTERİKTAL PERİYOD	28
4.1.7.5 İKTAL PERİYOD	28
4.1.7.6 KİNDLİNG SONRASI SPONTAN NÖBETLERİN ORTAYA ÇIKMASI	30

4.2	AGMATİN	31
4.2.1	BİYOSENTEZİ	30
4.2.2	SALINIMI	32
4.2.3	DAĞILIMI	32
4.2.4	İNAKTİVASYONU	34
4.2.5	GERİ-ALIM	34
4.2.6	ENZİMATİK PARÇALANMA	35
4.2.7	AGMATİNİN FONKSİYONLARI	36
	- RESEPTÖR MEKANİZMALARI	36
	- BİYOLOJİK ETKİLERİ	36
	- KANAL BLOKAJİ ETKİSİ	38
	- HORMON SALINIMI ÜZERİNE ETKİSİ	38
	- STRES-ANKSİYETE-DEPRESYON ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ	39
	- TOLERANS VE BAĞIMLILIK KONULARINDAKİ ETKİLERİ	39
	- NÖROPROTEKTİF ETKİLERİ	39
	- ANALJEZİK ETKİLERİ	40
	- ANTİPROLİFERATİF ETKİ	41
	- ANTİKONVÜLSAN ETKİ	41
5	GEREÇ VE YÖNTEM	44
5.1	KİMYASAL MADDELER	44
5.2	HAYVANLAR	44
5.3	KULLANILAN MODELLER	44
5.3.1	BAZOLATERAL AMİGDALA KİNDLİNG	44
5.3.1.1	KİNDLİNG CERRAHİSİ	44
5.3.1.2	KİNDLİNG	50
5.4	DENEY PROTOKOLÜ	51
5.4.1	AGMATİNİN EPİLEPSİ NÖBETLERİNE AKUT ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI	51
5.4.2	AGMATİNİN EPİLEPTOGENEZDEKİ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI	51
5.5	HİSTOLOJİK İNCELEME	51
5.6	TİYONİN BOYAMASI	52
5.7	İSTATİSTİK ANALİZ	52
6.	SONUÇLAR	53
6.1	HİSTOLOJİK SONUÇLAR	53
6.2	AGMATİNİN EPİLEPSİ NÖBETLERİNE AKUT ETKİSİ	55
6.3	AGMATİNİN EPİLEPTOGENEZDEKİ ETKİSİ	57
7	TARTIŞMA	60
8	KAYNAKLAR	64
9	ÖZGEÇMİŞ	74

KISALTMALAR

AD	Ard deşarj
ADC	Arjinin dekarboksilaz
AMPA	Alfa-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolpropiyonat
ANOVA	Varyans analizi (Analysis of variance)
BLA	Bazolateral amigdala
cAMP	Siklik adenzin monofosfat
dak.	Dakika
eCDS	Endogenous Clonidine- displacing substance
EEG	Elektroensefalogram
eNOS	Endotelyal nitrik oksit sentaz
g	Gram
GABA	γ -Amino butirik asit
GTK	Jeneralize tonik klonik
Hz	Hertz
I ₁	İmidazolin-1 reseptörü
I ₂	İmidazolin-2 reseptörü
iNOS	İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
i.p.	İntraperitoneal
i.t.	İntratekal
κ_1	Kappa-1 opiyoid reseptörü
kg	Kilogram
L-NAME	N ^G -nitro-L-arjinin metil ester
mA	Miliamper
μ A	Mikroamper
MES	Maksimal Elektroşok Nöbetleri
mg	Miligram
ml	Mililitre
ms	Milisanıye
MSS	Merkezi sinir sistemi
NMDA	N-metil-D-aspartat
nNOS	Nöronal nitrik oksit sentaz
NO	Nitrik oksit
NOS	Nitrik oksit sentaz
ODC	Ornitin dekarboksilaz
SE	Status epileptikus
SF	Serum fizyolojik
SNpr	Substantia Nigra pars retikulata
STN	Subtalamik nükleus
TLE	Temporal lob epilepsisi

ŞEKİLLER

	Sayfa
Şekil 1. Kindling ve status epileptikus modeli	11
Şekil 2. EEG incelemesinde ard deşarj	13
Şekil 3. EEG incelemesinde diken dalga	13
Şekil 4. EEG incelemesinde hiper dalgalar	14
Şekil 5. Motor Homonculusun şekli	15
Şekil 6. Nöbet oluşumunun teorik modeli	29
Şekil 7. Agmatinin biyosentezi ve enzimatik yıkımı	32
Şekil 8. Deneyde kullanılan anesteziik maddeler	46
Şekil 9. Agmatin Sülfat tozu	46
Şekil 10. Stoelting stereotaksi aleti	46
Şekil 11. Akrilik malzemeleri	46
Şekil 12. Derinlik elktrodu ve kortikal vidalar	47
Şekil 13. Stimulatör	47
Şekil 14. Stereotaksi cerrahisi 1	47
Şekil 15. Stereotaksi cerrahisi 2	47
Şekil 16. Stereotaksi cerrahisi 3	48
Şekil 17. Stereotaksi cerrahisi 4	48
Şekil 18. Stereotaksi cerrahisi 5	48
Şekil 19. Stereotaksi cerrahisi 6	48
Şekil 20. Stereotaksi cerrahisi 7	49
Şekil 21. Stereotaksi cerrahisi 8	49
Şekil 22. Stereotaksi cerrahisi 9	49
Şekil 23. Deney düzeneği	49
Şekil 24. BLA koordinatları	53
Şekil 25. Normal BLA dokusunun mikroskopik görüntüsü	53
Şekil 26. Derinlik elektrodu yerleştirilmiş BLA dokusunun tiyonin boyaması ardından mikroskopik görüntüsü.	54
Şekil 27. 40 mg/kg agmatin uygulamasından önceki ve sonraki ard deşarj sürelerinin karşılaştırılması.	55
Şekil 28. 80 mg/kg agmatin uygulamasından önceki ve sonraki ard deşarj sürelerinin karşılaştırılması.	55
Şekil 29. 100 mg/kg agmatin uygulamasından önceki ve sonraki ard deşarj sürelerinin karşılaştırılması.	56
Şekil 30. Kindled hale gelmiş olan sıçanlara akut 40 mg/kg agmatinin nöbet evrelerine etkisi	56
Şekil 31. Kindled hale gelmiş olan sıçanlara akut 80 mg/kg agmatinin nöbet evrelerine etkisi	57
Şekil 32. Kindled hale gelmiş olan sıçanlara akut 100 mg/kg agmatinin nöbet evrelerine etkisi	57
Şekil 33. Epileptogenez çalışmasında ard deşarj sürelerinin karşılaştırılması	58
Şekil 34. Epileptogenez çalışmasında nöbet evrelerinin karşılaştırılması	59

TABLÖLAR

	Sayfa
Tablo 1. Uluslar Arası Epilepsiyle Savaş Derneğinin (Gözden Geçirilmiş) Epileptik Nöbet(lerin) Sınıflaması.	6
Tablo 2. Epilepsi tiplerine uygun hayvan modelleri	8
Tablo 3. Nörotrofik faktörlerin kindling ve kindling kaynaklı yosunsu lif filizlenmesi üzerindeki etkileri	21
Tablo 4. Klinik olarak etkili kabul edilen anti epileptik ilaçların değişik epilepsi modellerinde ve insan epilepsisindeki etkileri	26
Tablo 5. Ard deşarj süreleri	58
Tablo 6. Nöbet evrelerinin % olarak gösterimi	59

1. ÖZET

Bu çalışmada imidazolin reseptörlerinin endojen ligandlarından biri kabul edilen agmatinin epilepsi nöbet süreleri ve nöbet evrelerine etkisi araştırılmıştır.

Çalışmamızda, epilepsi çalışmalarında en çok tercih edilen model olan ve insan epilepsine en yakın morfolojik ve kimyasal değişiklikler gösteren, bazolateral amigdala kindling modeli kullanıldı. Deney hayvanı olarak her iki cinsiyetten Wistar Albino sıçanlar kullanıldı. Epilepsi nöbetleri oluşturmak için bazolateral amigdalalarına elektrod yerleştirilmiş hayvanlara günlük elektrik uyarıları verildi. Uyarı sonrası oluşan nöbetlerin süreleri ve evreleri kaydedildi. Agmatinin epilepsi nöbetleri üzerindeki akut etkisini görmek için tamamen kindling oluşmuş hayvanlara 40, 80, 100 mg/kg dozunda Agmatin uygulandı. Nöbet öncesi ve sonrası, nöbet süreleri ve nöbet evreleri karşılaştırıldı. Agmatinin epileptogenezdeki etkisini görmek için 80, 100 mg/kg dozlarında kronik uygulanmasının ardından kindling oluşana kadar geçen zaman içerisinde nöbet süreleri ve nöbet evreleri karşılaştırıldı.

Agmatin akut etkisinin, nöbet süreleri ve nöbet evrelerine bir etkisi olmamıştır. Epileptogenez çalışmasında 100 mg/kg dozunda verildiğinde ard deşarj süresini uzatmış ve de nöbet evresini yükselttiği görülmüştür.

Sonuç olarak agmatinin bazolateral amigdala kindling modelinde akut etkisi yoktur. Kronik uygulaması sonucunda agmatin prokonvülsan etkili bulunmuştur.

2. ABSTRACT

In this research, we investigated the effect of Agmatin which is accepted as imidazoline receptors endogen ligand.

In our study, we used basolateral amygdala kindling that one of the most favorable epilepsy model and which posses similar morphological and chemical changes with human epilepsies. Wistar Albino rats were used in the experiments. In order to achieve epilepsy seizures, daily electrical stimulations were applied to their basolateral amygdala with an electrode. After stimulus, after discharge durations and seizure grades were recorded. To investigate 40, 80, 100 mg/kg agmatine's acute effect on seizures, prestimulus and after stimulus after discharge durations and seizure grades were compared. To investigate 80, 100 mg/kg agmatine chronic applications effect on epileptogenesis, in the period of time to reach kindled rats, after discharge durations and seizure grades were compared.

All acute agmatin applications did not effected after discharge duration and seizure grade. In terms of effect on epileptogenesis rats which applied 100 mg /kg Agmatin increased the after discharge duration and increased seizure grades.

As a result of this study agmatine's acute application did not influenced seizure grade neither after discharge duration. After chronic application of agmatin 100 mg/kg dosage to investigate effects on epileptogenesis, agmatine effected as proconvulsantly.

3. AMAÇ

Epilepsi, normal nörolojik işlevlerin bozulması sonucu oluşan tekrarlayan nöbetler ve bu nöbetler sırasında sıklıkla meydana gelen bilinç kaybı ile karakterize bir hastalıktır. Epilepsi “inme”den (stroke) sonra en yaygın gözlenen nörolojik hastalıktır ve dünyada yaklaşık elli milyon kişiyi etkilemektedir.

Epilepsinin rasyonel bir tedavisi yoktur. Epilepsi tedavisinde ana strateji bazı antikonvulsan ilaçlar ile santral sinir sisteminde epilepsiye neden olan anormal elektriksel deşarjların ortaya çıkmasının ve/veya yayılmasının engellenmesidir. Hastaların sürekli ilaç kullanmak zorunda olmalarının getirdiği ekonomik maliyet, ilaç uyuncunun zamanla bozulması, özellikle yaşlı, çocuk ve ıtrah organlarında sorunlar olan hastalarda daha belirgin olmak üzere; bir çok antiepileptik ilacın gingiva hiperplazisi, aplastik anemi ve kognitif bozukluklar gibi ciddi sayılabilecek yan etkilerinin ortaya çıkması ve antiepileptik tedavide kullanılan bir çok ilacın antibiyotikler, antikoagulanlar, oral kontraseptifler, salisilatlar, simetidin ve izoniazid gibi bazı önemli ilaç veya ilaç grupları ile etkileşmeleri epilepsi tedavisinde daha rasyonel yöntemlerin geliştirilmesini zorunlu kılmaktadır. Hastaların %50-65’inde nöbetler anti-epileptik ilaç tedavisi ile azaltılabilmekle birlikte hastaların geri kalan kısmında görülen farmakorezistansın nedeni ve mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Epilepsi nöbetlerinin tam olarak kontrolü, mortalite ve morbidite oranlarını düşürdüğü gibi hastanın sosyal ve fiziksel yaşantısını da düzene sokacaktır. Bu noktada daha spesifik etkili ve hasta tarafından daha kolay tolere edilebilen yeni ilaçların geliştirilmesi önem kazanmaktadır.

Hücresele ve moleküler düzeyde epileptogenez mekanizmasının anlaşılması, yeni tedavi yaklaşımlarının getirilmesinde çok önemli rol oynar. Bu alt yapıyı incelemek için hayvan modellerinin olması bize büyük fırsat yaratmaktadır. Bu modellerden biri kindling’dir. Kısa, düşük şiddetli elektrik uyarılarının periyodik tekrarlarla amigdala ya da diğer limbik yapılara uygulanmasıyla oluşur. İlk baştaki uyarılar kısa nöbetler nöbetler oluştururken, tekrarlayan uyarılar sonucunda ilerleyen, şiddetli nöbetler oluştururlar.

Merkezi sinir sisteminde imidazolin türevi maddelerin bağlanma bölgeleri gösterildikten sonra, bu noktaların endojen ligandlarının aranmasına girişilmiştir. Çalışmalar sonunda agmatin adı verilen maddenin santral sinir sisteminde bir mediyatör olduğu gösterilmiştir.

Agmatinin bulunması, birçok çalışmanın kapısını aralamıştır. Bu konulardan biride deneysel epilepsi modelleridir. Jeneralize tonik-klonik konvülsiyonlar oluşturan maksimal elektroşok nöbetleri (MES. Maximal Elektroschock Seizure) modeli ile yapılan çalışmalarda ve yine miyoklonik nöbet modeli olan pentilentetrazol (PTZ) konvülsiyonlarında, agmatinin nöbet eşiğini yükselttiği ve nöbet başlama süresini geçiktirdiği gösterilmiştir [89,90]. Ayrıca morfinin etkili olmayan dozları ile birlikte verildiğinde, morfinin antikonvülsan etkisini arttırdığı bildirilmiştir [91].

Bu bilgiler ışığında, agmatinin kompleks parsiyel epilepsi modeli olan amigdala kindling konvülsiyonları üzerindeki etkilerini incelemeyi amaçladık.

4. GENEL BİGİLER

4.1 EPİLEPSİ

4.1.1 EPİLEPSİNİN TANIMI

Epilepsi terimi, yunancadaki “epilepsia” kelimesinden türemiştir. Epi: üstünde, üstünden, Lepsis: tutmak, tutup sarsmak demektir. Epilepsinin kelime anlamı yakalamak, birden tutulmak anlamına gelmektedir. Beyindeki nöronal hiperaktiviteden dolayı tekrarlayan spontan nöbetlerle karakterize bir hastalıktır. Her konvülsiyon geçiren kişi epileptik değildir. Epilepsi tanısının konulması için konvülsif nöbetlerin tekrarlayıcı karakter kazanması, bu özelliğini yıllarca devam ettirmesi gerekmektedir.

Kafa travmaları, inme, beyindeki hemorajiler, beyinde oluşan bazı infeksiyonlar (menenjit, ensefalit veya abseler, gibi), beyin damarlarındaki bazı yapısal bozukluklar, genetik faktörler, doğum travmaları ve tümörler belli başlı epilepsi nedenleri arasında yer alır [1,2]. Yaklaşık olarak vakaların % 70’inin nedeni bilinmemektedir [3].

Epilepsi, merkezi sinir sisteminin (MSS) bilinen en sık hastalıklarından birisidir, her yüz kişinin birinde oluşmaktadır [4]. Gerçi epilepsi yaşamın herhangi bir zamanında meydana gelebilirse de başlangıç sıklıkla çocukluk yaşlarında olmaktadır [5].

Epilepsinin altında yatan nedenleri tedavi edemediğimiz için günümüzdeki farmakoterapinin amacı, nöbet sıklığını kontrol etmektir, epilepsinin altında yatan neden(leri) tedavi etmek değildir [6]. Epileptik hastaların yaklaşık olarak % 20-30’u anti-epileptik ilaçlara cevap vermemektedir, bu hastalar genellikle, cerrahi tedavi için aday olmaktadır [7].

Epileptik nöbetler çoğunlukla fokal (parsiyel) ya da jeneralize olarak sınıflandırılırlar. Fokal nöbetlerin klinik özellikleri epileptik deşarjların kaynaklandığı yere göre değişmektedir. Buna göre motor, duyuşal, otonomik ve psişik semptomlar ortaya çıkarılırlar. Eğer bilinç kaybı yoksa nöbetler basit parsiyel, bilinç kaybı varsa kompleks parsiyel olarak ifade edilirler. Nöbet deşarjı MSS’ne yeterince yayılırsa (jeneralize) ve motor sistem de olaya katılırsa tekrarlayan,

şiddetli kas kasılmalarının görüldüğü konvülsiyonlar ortaya çıkar. Konvülsiyonların tonik (sürekli kasılma) ve klonik (kontraksiyon ve gevşeme osilasyonları ile seyreden) bileşenleri vardır.

Epilepsilerin uluslar arası sınıflandırması ve alt tiplerinin özellikleri Tablo 1'de görülmektedir.

Tablo 1. Uluslar Arası Epilepsiyle Savaş Derneğinin (Gözden Geçirilmiş) Epileptik Nöbet(lerin) Sınıflaması.

1. Parsiyel (fokal, lokal) nöbetler:

A. Basit - motor, somatosensor, otonomik, psişik

B. Kompleks

a. Başlangıçta bilinç kaybı ile beraber

b. Basit parsiyeli takiben bilinç kaybı

C. Parsiyel nöbetlerden Jeneralize Tonik-Klonik'e geçen (GTK)

a. Basitten GTK'e geçen

b. Kompleksten GTK'e geçen

2. Jeneralize nöbetler (konvülsif ya da konvülsif olmayan)

A. Absans nöbetleri

a. Tipik absans nöbetleri (petit-mal)

b. Atipik absans nöbetleri

B. Myoklonik (ritmik spazmlı silkinme ve sıçramalar)

C. Klonik (sadece klonik spazmlarla karakterize)

D. Tonik (sadece kas tonusunda artış ile karakterize)

E. Tonik-klonik (tonus artışını izleyen klonik kasılmalar)

F. Atonik (tüm kas tonusunun ani olarak kaybı)

G. Kombinasyonları

3. Sınıflandırılmayan epileptik nöbetler

Epilepsilerin rasyonel bir tedavisi yoktur. Epilepsi tedavisinde ana strateji, bazı antikonvülsan ilaçlar ile santral sinir sisteminde epilepsiye neden olan anormal elektriksel deşarjların ortaya çıkmasının ve /veya yayılmasının engellenmesidir. Hastaların sürekli ilaç kullanmak zorunda olmalarının getirdiği ekonomik maliyet, ilaç uyuncunun zamanla bozulması, özellikle yaşlı,

çocuk ve ıtrah organlarında sorunlar olan hastalarda belirgin olmak üzere; bir çok antiepileptik ilacın gingiva hiperplazisi, aplastik anemi ve kognitif bozukluklar gibi ciddi sayılabilecek yan etkilerinin ortaya çıkması ve antiepileptik tedavide kullanılan bir çok ilacın antibiyotikler, antikoagülanlar, oral kontraseptifler, salisilatlar, simetidin, ve izoniazid gibi bazı önemli ilaç veya ilaç grupları ile etkileşmeleri, epilepsi tedavisinde daha rasyonel yöntemlerin geliştirilmesini zorunlu kılmaktadır. Bu noktada daha spesifik etkili ve hasta tarafından daha kolay tolere edilebilen yeni ilaçların geliştirilmesi önem kazanmaktadır [8].

4.1.2 EPİLEPSİ ALANINDA KULLANILAN MODELLER

Etik kurallar nöbetlerin tedavisi için yeni ilaç geliştirme çalışmalarının yapılmasına da önemli kısıtlamalar getirmektedir. Bunun sonucu olarak deneysel epilepsi çalışmalarında birçok hayvan modeli geliştirilmiş ve kullanılmıştır. Epilepsi çalışmalarında kullanılabilen hayvan modelleri ile ilişkili olarak birçok derleme makale yayınlanmış ve bu makalelerde epileptik araştırmalarda kullanılan hayvan türleri ile hangi epileptik nöbetin nasıl oluşturulacağı net olarak açıklanmıştır. Epilepsi çalışmalarında kedi, köpek ve rodentler (fare, sıçan, gerbil) en çok tercih edilen hayvanlar arasındadır.

Deneysel epilepsi modelleri sıklıkla parsiyel veya jeneralize epileptik fenomenlerin incelenmesine olanak sağlayan iki gruba ayrılır. Bu iki nöbet modeli, ayrıca akut ve kronik olarak alt gruplara ayrılarak incelenmektedir. Akut modeller bazı kimyasal maddelerin sistemik ya da beyine lokal uygulanması, beyine elektriksel stimülasyon, metabolik ya da iyonik bozukluklar oluşturarak hayvanda geçici epileptik aktivite oluşturulması esasına dayanmaktadır. Buna karşılık kronik modeller, beyinde yapısal lezyonlar ile ya da tekrarlanan elektriksel stimülasyonlarla kalıcı epileptiform anomaliler yerleştirilmesi şeklindedir.

Jeneralize modeller kendi içlerinde, konvülsif, konvülsif olmayan modeller şeklinde gruplara ayrılırlar. Konvülsif epilepsi modelleri içinde maksimal elektroşok (MES), farmakolojik modeller; lokal veya sistemik yoldan bikukulin (klasik GABA-A antagonisti), pikrotoksin (GABA-A reseptör antagonisti, SSS potent stimülatörü), yüksek doz pentilentetrazol (GABA-A reseptör antagonisti) uygulaması sayılabilir. “Kindling”, kainik asit (kainat reseptörü agonisti) ve topikal kobalt / alüminyum gibi metallerin lokal veya sistemik yoldan uygulanması parsiyel epilepsi modeli olarak kabul edilir. Deneysel absans tipi konvülsif olmayan nöbet kriterlerini taşıyan ve en çok kullanılan metodlar ise “felin jeneralize penisilin

epilepsi modeli” ve genetik hayvan modelleri olan GAERS (Genetic Absanse Epileptic Rats From Strasbourg) ve WAG-Rij (Wistar Albino Gloxo-Rijwijk) (Tablo 2) suşu sıçanlarla yapılan modellerdir. Bu modeller içinde GAERS suşu sıçanlar absans epilepsinin nörofizyolojik, farmakolojik ve davranışsal özelliklerini bir arada bulundurmaktadır.

Tablo 2. Epilepsi tiplerine uygun hayvan modelleri [122].

Akut basit parsiyel epilepsi oluşturma

Konvülsan ajanların uygulanması

- Penisilin, bikukulin, pikrotoksin ve striknin

Akut elektriksel stimülasyon uygulama

- GABA kesilmesi

Kronik basit parsiyel epilepsi oluşturma

Kortikal olarak metallerin implante edilmesi

- Alüminyum hidroksit, kobalt, çinko, demir

Kompleks parsiyel epilepsi oluşturma

Konvülsan ajanların uygulanması

- Kainik asit, tetanoz toksini

Amigdala ya da hipokampal kindling

Beyin dilimlerinde çalışmalar

- Rodent hipokampal kesitleri, izole hücre preparatları

Jeneralize tonik-klonik nöbet oluşturma

Genetik

- Fotosensitif baboonlar, odiojenik stimülasyona duyarlı fareler,
- Genetik olarak epilepsiye eğilimli sıçanlar
- GAERS (Genetic Absanse Epileptic Rats From Strasbourg) sıçanları
- WAG-Rij (Wistar Albino Gloxo-Rijwijk) sıçanları

Maksimal elektroşok uygulama

Kimyasal ajanlar

- Pentilentetrazol, pikrotoksin, bikukulin, penisilin

Metabolik olaylar

- Hipoksi, hipoglisemi, hiperbarik oksijen, üremi, ilaç kesilmesi, yüksek ateş

Jeneralize absans (petit-mal) nöbet oluşturma

- Talamik stimülasyon, sistemik penisilin, gamahidroksibutirat

4.1.3 TEMPORAL LOB EPİLEPSİSİ (TLE)

Hastalar tarafından nöbet sırasında gösterilen birçok semptom, nöbetin kaynaklandığı anatomik bölgeler ile ilişkilidir. Bu yüzden, nöbetlerin başlangıcında görülenler, nöbet odağının tespitinde önemli bilgiler sağlayabilmektedir. Beyindeki bir lokal epileptik odağın uyarılması, beyindeki seçici bölgelere, özellikle de limbik sisteme yayılarak jeneralize konvulsif nöbetlere yol açmaktadır. Bu patolojinin ağırlığı, hipokampus ve amigdala gibi subkortikal çekirdekler arasında yakın ilişkiye dayanmaktadır. Temporal lob epilepsisi oluşmasında ve yayılmasında bu çekirdeklerin kilit yapılar olduklarına inanılmaktadır. Sonuçta temporal loptan kaynaklanan bir nöbet aktivitesi, en sık ve tedaviye dirençli fokal epilepsi tipi olan temporal lob epilepsisini oluşturmaktadır[8].

TLE hastalarında epileptik odak, sıklıkla mesial temporal yapılardan; hipokampus, amigdala ya da her ikisinden kaynaklanmaktadır ve nöbetleri kompleks parsiyel tipte olup, hareketsiz kalıp dik dik bakma ve orolimenter otomatizmler göstermektedirler. TLE'nin etyolojisi heterojen olmakla birlikte, mesial TLE hastalarında sıklıkla uzamış febril nöbet ya da status epileptikus hikayesi vardır [9]. İn vivo nöroradyolojik incelemelerde epilepsi ilişkili yapısal ve metabolik anormallikler saptanmaktadır. Magnetik Rezonans Görüntüleme hipokampal atrofi, Pozitron Emisyon Tomografide interiktal dönemde serebral kan akımında/glikoz metabolizmasında azalma ve iktal dönemde ise dramatik yükselme görülmektedir [4]. Bu bulgularla uyumlu olarak tedaviye dirençli TLE hastalarının cerrahi olarak çıkarılmış hipokampuslarında sıklıkla hipokampal skleroz adı verilen gliosis ve nöron kaybı içeren dejeneratif odaklar görülmektedir. Bu dejeneratif değişikliklere ilaveten, epileptogenik hipokampusta nöronal reorganizasyon, aksonal filizlenme ve sinaptogenez oluşmaktadır [10].

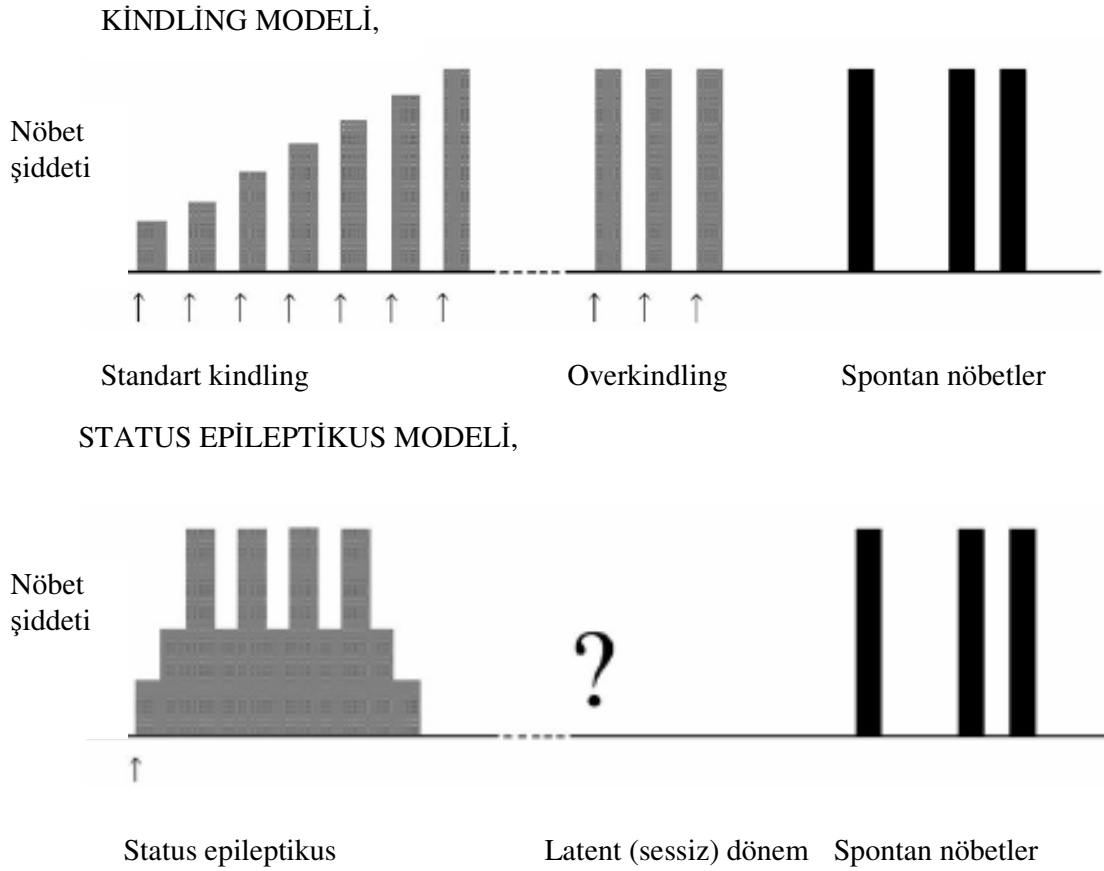
4.1.4 TEMPORAL LOB EPİLEPSİSİ İÇİN HAYVAN MODELLERİ, KRONİK EPİLEPSİ MODELLERİ

Epilepsi ve epileptik nöbetler için sayısız hayvan modeli vardır fakat bunlardan sadece birkaçı farmakolojik testlerde kullanılmaktadır. Kronik epilepsi modelleri ikiye ayrılır; kazanılan epilepsi ve genetik epilepsi modelleri. İlk kategoride epilepsi, elektriksel ya da kimyasal yolla, sağlam hayvanlarda oluşturulur. En sık kullanılan hayvan modelleri status epileptikus ve kindling'tir. [4].

4.1.4.1 STATUS EPİLEPTİKUS MODELİ

Status epileptikus hipokampusun (perforant yolak, angular dal ya da CA3 bölgesinin) lateral veya bazolateral amigdala (BLA) ya da diğer limbik beyin bölgelerinin uzun süreli elektriksel uyarılması ile ya da yüksek dozdaki uygun kimyasal maddenin, sistemik olarak uygulamasının ardından [kolinerjik (muskarinik) agonist pilokarpin, eksitotoksik glutamat analogu kainik asit] oluşmaktadır. Oluşan 1,5-2 saatlik status epileptikusta mortaliteyi azaltmak için nöbet, sıklıkla diazepam ile durdurulmaktadır. SE, dört evreye ayrılmıştır 1) Akut faz, kainat enjeksiyonundan sonraki ilk on gündür. 2) Aktif faz, 10–30 gün arası 3) Latent faz, 30–90 gün arası ve 4) Kronik faz, 90 günden sonrası. İnteriktal diken frekansı latent fazda gelişmektedir, latent fazın ardından spontan nöbetler ortaya çıkmaktadır. Bu sırada hipokampusta insan TLE'sinde gözlenen nöron kaybı ve yosunsu lif filizlenmesi gibi benzer morfolojik değişiklikler oluşmaktadır. Hayvanda oluşan bu değişiklikler insana göre daha ağır ve daha geniş olmaktadır.

Bu modelin dezavantajları; statusun kontrol altına alınmasındaki güçlük, (hayvanlar bu dönemde kaybedilmektedir) ayrıca spontan nöbetlerin görülmesinin önceden tahmin edilememesi ve yarattığı nöronal hasarın çok ağır olmasıdır [11].



Şekil 1. Kindling ve status epileptikus modeli [4].

Epileptik aktivitenin kendisi sağlam nöronlarda fonksiyon değişikliklerine neden olup kalıcı epileptogeneze yol açmaktadır. Artık biliniyor ki, elektrik uyarısı ya da kimyasal ajanlar ile tetiklenen nöbet deşarjı nörotransmitter, reseptör, iyon kanalları, hücre içi iletim sistemleri ve nörotrofik faktör mRNA ve protein değişikliklerine yol açmaktadır. Epilepsi hastalığının temelinin anlaşılması ve ona yönelik çareler aranmasında kindling modeli büyük yararlar sağlamaktadır.

4.1.4.2 KİNDLİNG MODELİ

Kindling isim olarak, bir kıvılcımın çıraya uygulandıktan sonra bir ateşi tutuşturması ve nihayetinde gürleyen bir şenlik ateşi yakılmasıdır. Benzer olarak, bir kısa “ard deşarj” ya da bir epileptiform aktivite patlaması yaratabilecek şekilde bir küçük elektriksel uyarı, tekrarlanarak uygulanırsa tamamen jeneralize davranışsal konvülsiyonlara yol açan nöbetler

oluşturur. Bu yüzden kindling, kompleks parsiyel veya sekonder jeneralize temporal lop epilepsilerini araştırmak için kullanılan en iyi modellerinden biridir.

Kindling, bilim yaparken kazara bulunmuş bir yöntemdir. Graham Goddard 60'lı yılların sonunda amigdala kompleksi üzerinde elektrik uyarılarının öğrenmeye olan etkisini araştırırken, deneyleri sırasında birçok sayıda sıçanın tekrarlayan uyarıların sonunda nöbet geliştirdiğini not etmiştir [12]. Goddard beyinin sabit uyarıya cevap olarak değişik yanıtlar verdiğini göstermiştir ve bu değişiklik, kalıcı değişiklikler yaratarak kullanışlı bir epilepsi modeli oluşturmuştur. Daha sonra kindling'in kimyasal maddelerle de yapılabildiğini bildirmiştir [13]. Ayrıca, kindling'in doğrudan hasar, ödem ve metal toksisitesi patolojilerine bağlı olmadığını ve gelişen nöbetlerin tekrarlayan uyarılar sonucunda ve elektrottan bağımsız olduğunu göstermiştir. Bir diğer araştırıcı olan Ron Racine ise, doktora çalışmasında artmış nöbet duyarlılığı ile ilgili olduğu düşünölen ard deşarj eşiği azaltılması konusu üzerine yoğunlaşmıştır [14]. Daha sonra kindling gelişmesini detaylı bir şekilde tarif etmiş ve 5 farklı davranış evresine göre nitelendirmiştir [15].

4.1.4.2.1 KİNDLİNG EVRELERİ:

Evre 1: Yüz ve ağız hareketleri (çiğneme davranışı),

Evre 2: Ritmik baş sallama hareketi ve vücut etrafında bir tarafa dönme hareketi,

Evre 3: Ön ekstremitelerin bir ya da iki taraflı klonusu,

Evre 4: Ön ekstremiteler havada, arka arka geri gitme hareketi,

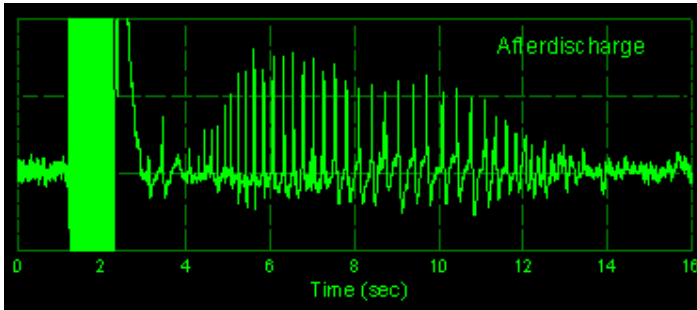
Evre 5: Düşme ve postural kontrolün kaybı ile birlikte jeneralize nöbet geçirme.

Bu yanıtlar erken dönemlerde donup kalma iken tekrarlayan uyarılar sonucunda jeneralize olup, bilateral klonik nöbetlere (Racine'nin skorlandırmasına göre evre 5 nöbetler yani en şiddetli nöbetler) dönüşmektedir. Bu aşamada başlangıçta gözlenen kısa odaksal ard deşarjlar dramatik olarak değişmekte, ard deşarjların süresinde artma, genliğinde, diken sıklığında, ve diken morfolojisinde değişiklikler gözlenmektedir [15,16]. Nöbet eşiği kindling sürecince düşmektedir. Bir kere evre 5 jeneralize kindled hayvanlar oluştuktan sonra nöbet geçirebilme özelliklerini aylar boyunca korumaktadır [4].

4.1.4.2 KİNDLİNG'İN TEMEL ÖZELLİKLERİ:

Ard Deşarj:

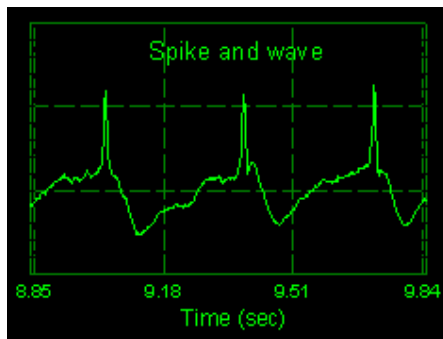
Ard deşarj (AD) kindling'in temelinde yer alır. Stimulus verilir kesildikten sonra hücre toplulukları senkron patlamalarla ateşlenmeye devam eder. Bir ard deşarj örneği şekil 2'de gösterilmiştir.



Şekil 2. EEG incelemesinde ard deşarj [121].

Uyarı sonrasında EEG düzleşmesi ve ardından 3 Hz'lik senkron patlamalarla devam eden EEG trasesi görülür. 3 Hz'lik dikenlerin yüksekliklerinde artan azalan form gösterirler Buna diken dalga formu denir. (Şekil 3).

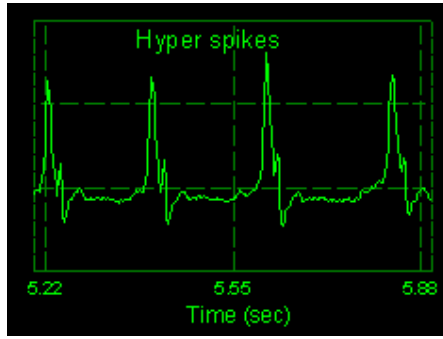
Diken ve Dalga (Spike and Wave):



Şekil 3. EEG incelemesinde diken ve dalga [121].

3 Hz'lik dikenler, daha iyi görülebilmeleri için açılırsa, karakteristik diken-dalga şekli ortaya çıkar, yüksek genlikli hızlı dalgayı, (diken) az genlikli yavaş dalga takip etmektedir. 3 Hz frekanslı, normal EEG dalgalarından daha genlikli, "artan azalan" dalgalar, ard deşarj ya da epileptiform aktivitenin karakteristiğidir. Senkron diken dalgalarında hücrelerin büyük çoğunluğu hep birden, aynı anda uyarılmaktadır. Bu dalga, doğal olarak uzun süre sessiz olan nöronların normal EEG dalgalarından daha büyük genlikte olmaktadır. Senkron diken dalgaları bitince EEG yeniden karakteristik genlikli, senkron olmayan ya da rastgele ateşlenen formuna geri dönmektedir.

Hiper dikenler:



Şekil 4. EEG incelemesinde Hiper dalgalar [121].

Hiper dikenler daha az genlikli, standart 3Hz'lik dalgalar arasında ya da onlardan hemen sonra oluşan dalgalardır. Hiper dikenler epileptiform aktiviteye katılan diğer beyin yapılarının ekolarıdır. Hiper dikenler, eğer birden fazla nöbet odağı, baskın olan odakla baskınlık açısından yarışa girerse, nöbetin başlangıç kısımlarında olabilir (Şekil 4). Öte yandan, hiper dikenler birincil odağın tetiklediği diğer yapılardan kaynaklanıyorsa, ard deşarjın ortasında ya da sonunda da görülebilir.

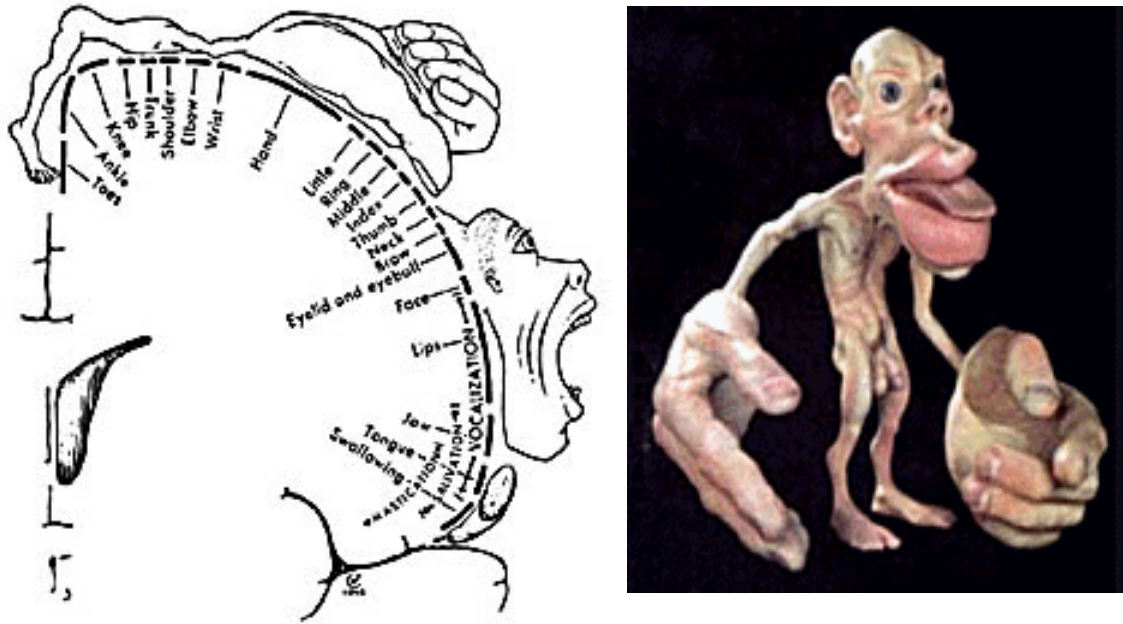
İkincil ard deşarj

3 Hz'lik diken dalga kompleksi bitince saniyeler sonra nöbetin yayıldığını gösteren ikincil ard deşarj ortaya çıkar. Hiper dalgaların aksine, birçok merkez nöbet tarafından aynı anda tetiklenirse, o zaman nöbet aktivitesini bir merkez belirler. İkincil ard deşarj, bir merkezden diğerini uyaran ve oradan yeniden geri uyarılan epileptiform aktiviteyi ifade eder. Nöbet

aktivitesi haşlanmış, sıcak bir patates gibi elden ele dolaşır. Bu durum bir çok odağın işin içine katıldığı hiper dalgalardan farklıdır.

Jacksoniyan dizi

Nöbet aktivitesinin motor kortekse yayılması, kindling'in açık ve gözlenebilir diğer davranış bildireleridir. Bunlar ekstremitelelerin klonik şıçramaları ve sonunda tüm kasların eş zamanlı kasılmasından dolayı tonik rijidite ile seyrederek. Bu evrede nöbet aktivitesi sıklıkla epilepside çok önemli bir kişi olan, Hughlings Jackson tarafından tarif edilen "Jacksoniyan dizi" tarzındadır. Jacksoniyan dizi prensibinde, motor korteksi, vücuttaki baskınlık sıra ve derecelerine göre bölümler halinde nöbet aktivitesinin içine sokmaktadır.



Şekil 5. Motor homunculusun şekli. [121].

Vücutun biçim ya da derecesinin beyindeki temsili, homunculus olarak bilinmektedir. Bu sıklıkla, ters çevrilmiş ve şekli farklı bir insan gibi ifade edilmektedir (Şekil 5). Bu yaratığın

farklı görünüşü, korteks bölümlerinin değişik miktarlarda fonksiyon görmelerinden kaynaklanmaktadır. Çevreyle iletişim kurmamızda bize yardımcı olan dudak, göz ve el gibi ince motor fonksiyon gerektiren bölgelerimizin beyindeki temsili daha büyük, kol bacak ve sırt gibi daha az duyarlı olan beden kısımlarımızın beyindeki bölgeleri daha küçük temsil edilir. Örneğin, konuşmak gibi karışık iletişim ifadeleri kurmak için yüzümüzün ve ağzımızın ince motor fonksiyonlarını kullanırız. Aynı zamanda el ve parmaklarımızı da kol ve ayaklarımızdan daha fazla kullanırız. Bu yüzden yüz ve ellerimizin motor korteksteki bölgeleri daha büyük temsil edilmektedir. Sonuç olarak, nöbet aktivitesinin davranış kısmı ilk olarak yüzde başlamaktadır, sonrasında ellerin ve ayakların katılımı ile devam etmektedir. Nöbet aktivitesi, motor korteks bölgelerinin katılması ile ilerlemektedir. Böylece konvülsiyonlara daha fazla vücut kısımları katılmaktadır.

Son Dönem Kindling

Evre 5 kindling, son dönem olarak belirlenmiştir. Bu evrenin ilerisinde hayvanlarda spontan nöbetler geliştiği görülmektedir [17]. Beyinde kindling ile oluşturulan değişiklikler uzun süre devam etmekte ve yarı-kalıcı olarak değerlendirilmektedir [18,19].

4.1.4.2 KİNDLİNG MODELİNİN AVANTAJLARI VE DEZAVANTAJLARI:

Kindling epilepsi modeli avantajları:

- 1) Kindling’te stereotaksik teknik ile istenilen her beyin bölgesine elektrot yerleştirilebilir.
- 2) Nöbet odağı, geniş bir skar dokusu oluşturulmadan gerçekleştirilir.
- 3) Araştırmacı nöbet gelişiminin sürecini kontrol altında tutabilir.
- 4) Kindlingin erken evrelerinde nöbetler, kısa elektrik uyarı paketleri sonucunda oluşur ve uyarı yokluğunda oluşmaz, konvülsiyonlar araştırmacının kontrolü altındadır.
- 5) Eğer uyarılar uzun bir süre daha devam ederse, spontan nöbetler gelişir ve bu da bir gerçek epilepsi modeli olduğunu gösterir [4].

Kindling epilepsi modeli dezavantajları: İş yoğun bir metot olmasıdır, beyine elektrodların yerleştirilmesi ve birçok kez aralıklı uyarılar verilmesi gerekmektedir.

4.1.4.2.3 NÖBET DÖNGÜSÜ

Nöbetlerin SSS’de nasıl yayıldığı, motor sistemin buna nasıl katıldığı ve konvülsiyonlara yol açtığı hem epilepsi patogenezi anlamada ve de tedavisinde oldukça önemlidir. Literatüre dayanan bilgilere göre “tercih edilen nöbet döngüleri” vardır. Önemli olan hangi yapı ya da yapıların nöbet yanıtının jeneratörü olduğudur. Bazı dokular nöbet deşarjı oluştururken, motor döngüye bağlantıları zayıf olduğu için konvülsiyon oluşturmayabilirler [4].

Nöbetin yayılma izlerini takip edebilmek için [¹⁴C]2-deoksizükloz veya C-fos metodu uygulanabilir. C-Fos, transkripsiyon faktörü AP-1 alt ünitesini (fos) kodlayan hızlı erken genidir. AP-1 bir çok genin ekspresyonunu düzenleyen transkripsiyon faktörüdür. Aktivasyonla yukarı regüle olan ilk genlerden biri olarak bilinir. Aktivasyon bölgelerinin hassas bir belirteçidir.

C-fos analizleri ile epileptik nöbetin yayılması takip edilmiştir. Piriform lop tipik olarak kindling işleminde ilk işaretlenen bölgedir. Nöbet sırasında birinci stimülasyon ardından amigdala çekirdekleri, piriform ve perirhinal korteks işaretlenmiştir. İnsular, entorhinal ve endopiriform korteksler parsiyel kindling ardından işaretlenmiştir. Tamamen kindling olmuş hayvanlarda kindling odağı ile aynı hemisferdeki hipokampus, temporal korteks, parietal korteks, karşı hemisferin amigdala çekirdekleri, piriform, perirhinal, insular, entorhinal, endopiriform, temporal, parietal korteksleri C-fos ile işaretlenmişlerdir [20].

Temporal lobtan kaynaklanan nöbetin motor kortekse ulaşırken kullandığı yolda bazı yapılar ön plana çıkmıştır. Bu konuda en çok üzerinde durulan bölge, Substantia Nigra pars reticulata (SNpr)’dir. SNpr’ye bilateral GABA agonist enjeksiyonları, amigdala kindled sıçanlarda antikonvülsan etki göstermiştir [21]. Subtalamo-nigral projeksiyonların amigdala kindled nöbetlerinin motor yapılara ulaşmasında ve modülasyonunda önemli rolü olduğu düşünülmektedir [22].

Li-Hong Shi ve arkadaşlarının yaptığı jeneralize amigdala kindling nöbetleri sırasında iktal deşarjların zamansal dağılımını gösteren çalışmada, stimulus BLA’ya uygulandıktan sonra, aynı taraf korteks ve SNpr yaklaşık 14 ± 2.5 msn’de, hipokampus 21 ± 2.5 msn’de ve de Subtalamik nucleus (STN) nöronları 30.5 ± 4.2 msn sonra uyarılmıştır. Yine uyarı BLA’ya uygulandıktan sonra kontralateral amigdala stimulus uygulanan amigdalaya göre 10 msn

sonra, karşı taraf SNpr, aynı taraf SNpr'ye göre ~ 8 msn, karşı hemisferin korteks, hipokampus ve STN'si stimulus uygulanan hemisferin korteks, hipokampus ve STN'sine göre ortalama 2 msn sonra uyarılmıştır [23].

4.1.5 EPİLEPSİ MEKANİZMALARI

Birçok çalışma, sinaptik fonksiyonun farmakolojik düzenlenmesinin, nöbet eğilimini düzenlediğini desteklemektedir. Elektrofizyolojik çalışmalar sayesinde hem sinaptik hem de sinaptik olmayan mekanizmalarla, epilepsi izah edilmeye çalışılmıştır. Elektrofizyolojik teknikteki ilerlemelerle nöron topluluklarının elektroensefalografik analizinden, bireysel nöron analizlerine hatta bireysel sinaps ve iyon kanallarına inilmiştir.

Moleküler çalışmalar ışığında epilepsi, uyarıcı sistemlerde artmış uyarılma ve inhibitör sistemlerde yetmezlik olmak üzere iki temel mekanizmaya dayandırılmıştır.

4.1.5.1 UYARICI SİSTEMLERDE ARTMIŞ UYARILMA

Birçok deneysel epilepsi çalışması, epilepsi mekanizması olarak uyarıcı sistemlerin iletiminin özellikle de glutamaterjik sistemin artışına odaklanmıştır. Bu artmış mekanizma, artmış presinaptik nörotransmitter salınımı, artmış postsinaptik reseptör duyarlılığı ve değişen glutamat metabolizması gibi çok çeşitli elemanları içine almaktadır. Ama en son olayı bilmek efektör yollarında hala soru işaretleri bırakmaktadır.

4.1.5.1.1 GLUTAMAT VE GLUTAMAT RESEPTÖR AKTİVASYONU

Glutamat memeli beynindeki başlıca uyarıcı nörotransmitterdir. Glutamat ve analogları nöronlar üzerinde güçlü depolarizasyon etkiye sahiptir. İnsan TLE'de, kindling modelinde, ekstrasellüler glutamat miktarı amigdala belirgin olarak artmıştır [24]. Depolarizasyonla sağlanan presinaptik glutamat salınımı, amigdala kindled epileptogenezde artmıştır [25]. Glutamat reseptörleri, genellikle intrinsik katyon kanalları olan iyonotropik reseptörler ile, membran iyon kanalları ve ikinci haberci üzerinde etkili G protein altbirimlerini modifiye ederek uyarılabilirliği etkileyen metabotropik reseptörleri olarak sınıflandırılır. AMPA, NMDA ve kainat olmak üzere üç tip iyonotropik reseptör vardır. AMPA reseptörleri,

glutamat sinapslarından en hızlı EPSP'lere aracılık ederler. NMDA reseptörleri ise yavaş EPSP'leri ve hem kimyasal hem de elektriksel bağımlı kanallar ile Ca^{2+} akışına aracılık eder. Glutamat reseptör alttipleri, reseptör altbirimlerinin heteromerik birleşmesinden oluşur. İyonotropik glutamat reseptörlerinden AMPA reseptörleri GluR1, 2, 3, 4 altbirimlerinden, kainat reseptörleri düşük afiniteli altbirimler GluR5, 6 ve 7 ve yüksek afiniteli KA1 ve 2 altbirimlerinden ve NMDA reseptörleri NR1, NR2A, 2B, 2C ve 2D altbirimlerinden oluşmaktadır. Farklı altbirimlerin çeşitli kombinasyonlar ile birleşmesi, farklı farmakolojik ve biyofizik özelliklere sahip heterojen reseptör protein topluluğuna yol açar. Örneğin GluR2 altbiriminin yapısına katıldığı AMPA reseptörleri Ca^{2+} geçirmeyen kanal oluşturur.

NMDA reseptör fonksiyonu için NR1 altbirimi gereklidir: NR2A-D altbirimleri reseptör duyarlılığını, kapı kinetiğini ve Ca^{2+} iletimini düzenler. GluR7'nin, epileptogenezi azalttığı düşünülmektedir.

Metabotropik glutamat reseptörlerinin (mGluR) özellikleri de altbirim kompozisyonu ile belirlenmektedir. mGluR1-8 üç gruba ayrılır. Grup I; fosfolipaz C'yi aktive eder ve ikinci haberci olarak diaçilgliserol ve inositol trifosfat oluşturur; grup II ve III adenil siklazla negatif olarak birleşmiştir. Grup II (mGluR2 ve 3) ve grup III (mGluR4, 6-8) reseptörlerin presinaptik olarak çalıştıkları ve glutamat salınımını azalttığı tahmin edilmektedir [4].

4.1.5.1.2 NMDA RESEPTÖR AKTİVASYONU

NMDA reseptörleri, kindling sırasında değişim göstermekte ve NMDA reseptör bağımlı EPSP'leri arttırmaktadırlar. NMDA'nın amigdalya tekrarlayan mikroenjeksiyonları kindling benzeri etki ortaya çıkarmakta aynı etki selektif NMDA reseptör antagonisti AP-7'nin birlikte verilmesi ile geri çevrilebilmektedir [26]. NMDA reseptörlerinin elektriksel kindlingte rolü olduğu, selektif, yarışmalı NMDA reseptör antagonistleri AP-5, CPP ve CGS19755 ve yarışmasız NMDA reseptör antagonisti MK-801 uygulamasının ardından nöbet gelişimini geciktirmesiyle gösterilmiştir [4]. Fakat NMDA antagonistleri AD sürelerini anlamlı olarak arttırmaktadır. Aynı zamanda Benzgon ve ark. yüksek nöronal NR2D seviyesi olan farelerde, amigdala kindling gelişmesinde belirgin azalma tespit etmiştir [27]. Bu sonuçlar, kindling gelişiminin NMDA reseptör aktivasyonuna dayandığını önermektedir.

Kindlingteki ilerleyici nöbet gelişimi üzerine potent etkilerinin aksine, bu NMDA reseptör antagonistleri, kindled yapılmış hayvanlar üzerinde zayıf antikonvülsan etki göstermektedirler [28]. Morimoto ve ark. AP-5'i amigdala kindled hayvana mikroenjekte etmişler ve nöbet evrelerinde ve AD sürelerinde herhangi bir belirgin etki bulamamışlardır. NMDA reseptörleri kalıcı kindled epileptogenez altında yatan trans sinaptik değişiklere neden olmaktadır [29].

Öte yandan, AMPA reseptörlerinin nöbet deşarj tetiklenmesinde rolü olduğuna inanılmaktadır ve kainat reseptörlerinin epileptogenezdeki rolü ise tam olarak belirli değildir. GluR6 ile nöbet kolaylaşmakta, GluR7 antikonvülsan etki ortaya koymaktadır. Grup II ve III metabotropik glutamat reseptörlerinin selektif agonistlerinin amigdala kindled nöbetlerde hem antiepileptogenik hem de antikonvülsan etkileri vardır [4,30].

Reseptör tabanlı mekanizmalara ilaveten, özellikle voltaj bağımlı Na⁺ ve Ca²⁺ kanalları da TLE modellerinde modifiye olmaktadır. Pilocarpin ile oluşturulan status epileptikus ardından hipokampus piramidal nöronlarının yarısı düzenli ateşlenme modundan patlama moduna geçmiştir ve hipokampal CA1 piramidal nöronlarında T-tip Ca²⁺ akım dansitesi artmıştır [31].

4.1.5.1.3 YENİ NÖRONAL DÖNGÜLERİN OLUŞMASI

Var olan uyarıcı bağlantıların artmasının yanında muhtemelen yeni bağlantılar da oluşmaktadır. Yeni bağlantıların oluşmasının en büyük sebebi epilepsi kaynaklı nöronal hasarlanmadır. Aksonal gelişme ve sinaptogenez ile oluşan yeni döngüler, epileptiform deşarjın yayılmasını tekrarlayan uyarıcı kangallar yaratarak ya da etkilenen bölgenin yanıtını yükselterek sağlamaktadır. Bu konuda en çok çalışılan yolak hipokampustaki dentat girus iç moleküler tabakasının ve CA3 stratum oriens kısımlarından dentat granül ve CA3 piramidal nöron aksonlarına doğru yosunsu lif vermesidir. Bu yolağın çok çalışılmasının nedeni, yüksek seviyede çinko içermesidir bu yüzden Timm boyaması ile çok rahat işaretlenebilmektedir. Kindling gelişmesini bozan tedaviler örneğin MK-801 uygulanması, yosunsu lif gelişmesini azaltmakta ya da bloke etmektedir [32]. Nöronal filizlenmenin bir başka göstegesini 43 kDa ağırlığındaki gelişme ile ilgili GAP-43 sinaptik proteini ve sinapsin I proteindir. GAP-43 proteinin ekspresyonu, perforant yol kindlingi ardından; sinapsin I proteini ise amigdala kindling ardından dentat girus ve CA3 bölgelerinde olmak üzere anlamlı derecede artmıştır [33,34]. Yosunsu lif filizlenmesinin glutamaterjik döngü yarattığı sanılmaktadır, bu döngüde AMPA reseptör aktivasyonu gereklidir ve NMDA reseptörleri ise kısmen katılmaktadır [35].

Nöronal aktivasyonda, büyüme ile ilişkili moleküller iki sınıf halinde görev alırlar; nörotrofik faktörler ve aksona kılavuzluk eden moleküller. Bunlar nöron gelişiminin miktarını ve yönünü tayin eden unsurlardır. Nörotrofik faktörler; nörotrofinler olan Sinir Büyüme Faktörü (NGF), Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör (BDNF) ve Nörotrofin 3 (NT-3)'ten ve TGF- β ailesinden Glial Hücre Dizisi Kaynaklı Nörotrofik Faktör (GDNF)'den oluşur. Akson kılavuzluk molekülleri, daha az incelenmiştir fakat açık bir şekilde eph reseptör ailesinden en az bir üye ve ligandları kindling kaynaklı filizlenmede görev alır [4].

Tablo 3. Nörotrofik faktörlerin kindling ve kindling kaynaklı yosunsu lif filizlenmesi üzerindeki etkileri

	NGF	BDNF	NF-3	GDNF
Kindling	↑	↓	↓	↓
Kindling kaynaklı yosunsu lif filizlenmesi	↑	–	↓	↓

NGF: Sinir Büyüme Faktörü, BDNF: Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör, NT-3: Nörotrofin 3, GDNF: Glial Hücre Dizisi Kaynaklı Nörotrofik Faktör.

4.1.5.2 İNHİBİTÖR SİSTEMLERDE YETMEZLİK

GABA sisteminin nöronal aktivite ve epileptiform deşarjların kontrolündeki önemi iyi bilinmektedir. Bu konuda daha az bilinen ise, inhibitör sistem fonksiyonlarının, uzun dönem değişikliklerinin epilepsi gelişimindeki rolüdür. GABA sistemleri nöbet aktivitesi ile değişebilir. Ortaya çıkan bu değişiklikler, aşırı uyarılmadan koruyucu olabileceği gibi epileptik durumu kolaylaştırabilir.

GABA, merkezi sinir sisteminin başlıca inhibitör nörotransmitterlerindendir. İnhibitör post sinaptik potansiyeller (IPSP) oluştururlar. GABA reseptörleri 2 alt tipe ayrılır: GABA-A ve GABA-B. GABA-A reseptörleri, Cl⁻ akımı ile hızlı IPSP'lere aracılık ederler ve GABA-B ise reseptörleri artmış K⁺ iletimi ile presinaptik otoreseptör olarak fonksiyon görüp, yavaş

IPSP'lere aracılık eder. Genelde, selektif GABA-A reseptör antagonistleri prokonvülsan ve selektif agonistleri ise antikonvülsan etkilidir.

Glutamat aktivasyonuna benzer şekilde GABA deaktivasyonu da epileptiform deşarjlar ortaya çıkarır. Örneğin; selektif GABA-A reseptör antagonisti pikrotoksin ya da bikukulin kindling benzeri yanıtlar ortaya çıkarmaktadır. Aynı zamanda kimyasal kindling oluşturmada kullanılırlar. Bu maddeler ile oluşturulan kindling, muscimol ve progabid gibi selektif GABA agonistleri, GABA parçalanma inhibitörü vigabatrin, GABA gerialım inhibitörlerinden SKF89976A ve tiagabin ile birlikte verildiklerinde nöbet aktivitesini baskılamaktadır [4].

Sözü edilen GABA agonistleri, amigdala kindled yapılmış hayvanlarda potent antikonvülsan etki göstermektedir [36]. Aksine, selektif GABA-B reseptör agonisti baklofen, sistemik ya da intra-amigdala enjeksiyonunun ardından sadece zayıf antikonvülsan etki ortaya çıkarmıştır [29,37]. Baklofen interiktal deşarjları arttırmıştır [37]. Gerçi, GABA agonistlerinin de dahil olduğu antiepileptik ilaçların birçoğu, status epileptikus ardından uygulanırsa epileptogenez gelişmesini önleyememektedir [38]. Örneğin Halonen ve ark. amigdala stimülasyonu ile oluşturdukları status ardından beyin GABA seviyelerini 10 hafta boyunca sürekli yüksek tutmak için vigabatrini subkütan osmotik mini pompalarla enjekte etmişlerdir. Bu tedavi spontan nöbetlerin gelişmesine ya da nöron filizlenme derecesine hiç etki etmemiştir. Bu bize status sonrası gelişen nöbetlerin inhibisyon sistemiyle ilişkisi olmadığını göstermektedir [39].

Kindling ya da status epileptikus ile gerçekleştirilen nöbetler sırasında, GABA aracılı inhibisyon, amigdala ve hipokampus CA1 bölgesi gibi bazı spesifik bölgelerde sınırlı kalmıştır. K^+ kaynaklı Ca^{2+} bağımlı GABA salınımı kindling ardından artmıştır [25].

Hipokampal mikrodializ çalışmaları, kindled nöbetleri sırasında yetersiz ekstrasellüler GABA konsantrasyonlarını ortaya koymaktadır. Bu nöbetler boyunca GABA seviyesi, temel seviyesinden yaklaşık % 250-350 gibi bir oranda artarken, glutamat seviyeleri % 550-650 artmaktadır [24]. Bu insan, TLE'sindeki artışla uyumludur [40]. Amigdala kindling'de nöbetler sırasında ekstrasellüler glutamat % 200-300 artarken GABA seviyesi % 67 azalmıştır [25]. Doring ve ark., amigdala kindling ardından nöbet kaynaklı GABA salınımının iki farklı komponenti olduğuna dikkat etmiştir. Birincisi K^+ kaynaklı GABA salınımı, ikincisi de glutamat kaynaklı GABA salınımıdır. K^+ kaynaklı GABA salınımı hipokampusta

gerçekleşmektedir. Glutamat kaynaklı Ca^{2+} bağımsız GABA salınımı ise hipokampusta azalmaktadır [41]. GABA salınımının azalmasının altında yatan neden tam olarak açık değildir. Bu konudaki teorilerden biri olan GABA taşıyıcılarının azalması, altta yatan faktörlerden biri değildir, çünkü kindlined hayvanlarda GABA taşıyıcılarının arttığı birçok çalışmada gösterilmiştir [42,43]. Sonuç olarak, bu bilgiler bize kindled nöbetlerinde GABA salınımının, glutamat salınımını karşılamadığını ifade etmektedir.

GABA-A reseptörleri, α 1-6, β 1-3, γ 1-3, δ ve ϵ altbirimlerinin kombinasyonundan oluşan heteromerik protein kompleksidir. Altbirimlerin kompozisyonu farklı fonksiyonel ve farmakolojik özelliklerini ortaya çıkarır: α ve γ altbirimleri BNZ ve çinko duyarlılığını belirler. β alt birimi kanal özelliklerini, BNZ efikasitesini ve GABA affinitesini belirler [44]. Bu altbirimlerden α 4, β 1 ve β 3 mRNA ekspresyonlarının amigdala kindling ardından dentat girusta arttığı gösterilmiştir [45]. GABA aracılı inhibisyon, GABA-A/BNZ reseptörlerinin sayısını değiştirir. Bir çok çalışma, GABA-A/BNZ reseptörlerinin kindling ardından piriform kortekste arttığını göstermektedir. [3 H]Flunitrazepam'ın bağlanması kindled amigdala, hipokampusta ve dentat girusta artmıştır [46].

Epilepsi nöbetlerinin oluşmasında tüm bunların yanında önemli derecede nöron kaybı olmaktadır ve bu konudaki önemli çalışmalardan biri Peredery'nin pilocarpin ile çalışmasıdır [47]. Bu çalışmada nöronal kaybın çok geniş olduğu, en erken SNpr, CA1 hipokampal alanında, piriform korteks ve talamusta olduğu gösterilmiştir. Nöronal hasarın ardından inhibitör sistemin yeniden modellenmesi gelmektedir. Reorganizasyonun, bir kısmı artmış uyarıya karşı koruma olarak inhibitör sistemin artması yönündedir, diğer kısmı ise kronik epileptik nöbetlerin yayılması için inhibisyonun yetmezliği ile sonuçlanan reorganizasyondur [4].

4.1.6 EPİLEPSİ OLUŞMA MEKANİZMALARI VE ANTİEPİLEPTİK İLAÇLAR

Hüresel elektrofizyolojik epilepsi çalışmaları ilk 1960 ortalarında “depolarizasyon kayması”nın altında yatan mekanizmayı incelemekle başlamıştır. Depolarizasyon kaymasının EEG'deki karşılığı olan interiktal diken (nöbetler arası diken). Depolarizasyon kayması, asemptomatik bir olaydır ve hastanın davranışında saptanabilen bir değişiklik yapmamaktadır. İnteriktal diken yerleşimi nöbet odağının yerini tespit etmekte yardımcı olabilmektedir.

Depolarizasyon kayması, nöronal membranın geniş depolarizasyonundan oluşup, aksiyon potansiyelleri (AP) patlaması yapmaktadır. Birçok kortikal nöronda depolarizasyon kayması geniş, uyarıcı sinaptik akım ile oluşmakta, voltaj-bağımlı intrinsik membran akımlarının aktivasyonu ile artmaktadır. Gerçi, depolarizasyon kaymasının mekanizması büyük çoğunlukla anlaşılmış olsa da interiktal dikenin bir nöbeti nasıl tetiklediği hala bilinmemektedir.

1980'li yıllarda izole beyin kesitleri gibi *in vitro* epilepsi modelleri gelişmiştir. *In vivo* hipokampal kesitlerde, medyum banyosunun iyon içeriği düşük Ca^{2+} , sıfır Mg^{2+} ve yüksek K^+ ile değiştirilerek, nöbetlerde görülen elektrografik özelliklere sahip hipokampal kesitler elde edilmiştir.

Birçok *in vitro* modelde sinaptik fonksiyonda, inhibitör sistemin % 20 azalmasının epileptiform aktiviteye, eksitator sinaps aktivasyonuna ve nöbet başlangıcına yol açabileceği gösterilmiştir. Ekstrasellüler alan hacmi ve K^+ , Na^+ , Ca^{2+} geçişini sağlayan voltaj duyarlı iyon kanallarının özellikleri gibi birçok önemli faktör tanımlanmıştır.

Nöbetleri kontrol eden bu sinaptik ve sinaptik olmayan faktörlerin tanımlanması, *in vitro* modellerde değerli farmakolojik hedeflerin bulunmasını sağlar.

Parsiyel nöbetlere etkili ilaçların etki mekanizmalarına dair araştırmalar, son yirmi beş yıldır yapılmaktadır. Bu araştırmaların büyük çoğunluğu memeli SSS'den izole edilen hücre kültürü gibi *in vitro* modellerde elektrofizyolojik çalışmalardan elde edilmiştir. Deneylerin kontrol edilebilir ve kolay yapılabilir olması, klinikle uyumlu dozlarda çalışılmaları, ilaçların etki mekanizmalarının anlaşılmasına yardımcı olmuştur. Tek bir nöronun parsiyel nöbet sırasındaki elektrofizyolojik analizleri, nöronların nasıl depolarizasyona uğradığını ve yüksek frekansla AP'leri ateşlediğini göstermiştir. Bu nöronal ateşlenme olayı, nöbetlerin karakteristiğidir ve fizyolojik nöronal aktivitede olmayan bir aktivitedir. Bu ateşlenmenin selektif inhibisyonu ile nöbetlerin engelleneceği umulmuştur.

Karbamazepin, lamotrijin, fenitoin ve valproik asit bu yüksek frekanslı ateşlenmeyi, Na^+ kanallarının inaktivasyonunu azaltarak, nöronların ateşlenebilme yeteneklerini azaltarak sağlamaktadır. Depolarizasyonla tetiklenen Na^+ kanalının açılması, AP için gereklidir. Kanal açıldıktan sonra kendiliğinden kapanmaktadır. Bu işlemin adı inaktivasyondur. Bu

inaktivasyonun bir refrakter dönem yarattığı düşünülmektedir, böylece AP'den kısa bir süre sonra yeniden AP oluşması mümkün olmamaktadır. İnaktivasyon düzelerken Na⁺ kanalları yeniden AP oluşturabilmektedir. Düşük oranda ateşleme, Na⁺ kanallarının inaktivasyonun düzelmesine zaman yarattığı için inaktivasyon, düşük oranda ateşlemelere çok az etki etmekte ya da hiç etki etmemektedir. Öte yandan Na⁺ kanallarının inaktivasyonun ardından düzelme hızının azalması, nöronun yüksek frekansta ateşlenmesini sınırlandırmaktadır. Bu parsiyel nöbetlere etkili olan karbamazepin, lamotrijin, fenitoin, topiramet, valproik asit, zonisamidin etki mekanizmasıdır.

Nöbet mekanizmaları araştırmalarında GABA aracılı sinaptik inhibisyon nöronal uyarılabilirliği azaltıp, nöbet eşiğini yükseltir. Birçok ilacın, sinaps üzerinde değişik yerlere etki ederek GABA aracılı sinaptik inhibisyonla nöbetleri inhibe ettiği düşünülmektedir. Salınan GABA'nın postsinaptik başlıca reseptörü GABA-A reseptörüdür. GABA-A reseptörünün aktivasyonu hücre içine Cl⁻ akımını artırarak nöronu hiperpolarize ederek postsinaptik inhibisyon yapmaktadır. Klinik olarak benzodiazepinler ve barbituratlar GABA-A reseptörleri üzerinde etki ederek GABA-A aracılı inhibisyon yaparlar.

γ -Vinil GABA (vigabatrin) antiepileptik etkisini GABA'yı metabolize eden enzim olan GABA transaminazı irreversibl inhibe ederek gösterdiği bildirilmiştir. Bu işlem sonucunda, sinaptik salınım için gerekli GABA miktarını arttırmaktadır.

GABA aracılı sinaptik inhibisyonun arttırılmasının bir üçüncü yolu GABA'nın nörona geri alım inhibisyonudur. Tiagabinin antiepileptik etkisini GABA taşınmasını inhibe ederek, nöronal ve glial GABA geri alımını inhibe ederek gösterir [7].

Klinik olarak etkili bazı anti epileptik ilaçlar, deneysel epilepsi modellerinde farklı etkiler ortaya çıkarabilmektedirler. Bu farklılıklar Tablo 4'te verilmiştir.

Tablo 4. Klinik olarak etkili kabul edilen anti epileptik ilaçların değişik epilepsi modellerinde ve insan epilepsisindeki etkileri

İlaç	Deneysel modellerdeki antikonvülsan aktivite			Klinik effikasi			
	MES testi	PTZ testi	Amigdala Kindling	Parsiyel nöbetler	Jenerelize nöbetler		
					Tonik-klonik	Absans	Miyoklonik
Karbamazepin	+	E.D.	+	+	+	E.D.	E.D.
Fenitoin	+	E.D.	+	+	+	E.D.	E.D.
Fenobarbital	+	+	+	+	+	E.D.	+
Primidon	+	+	+	+	+	E.D.	+
Valproat	+	+	+	+	+	+	+
Benzodiazepinler	+	+	+	+	+	+	+
Etosüksimit	E.D.	+	E.D.	E.D.	E.D.	+	±
Lamotrijin	+	E.D.	+	+	+	+	+
Topiramet	+	E.D.	+	+	+	±	+
Okskarbazepin	+	±	?	+	+	?	?
Felbamat	+	+	+	+	+	±	+
Vigabatrin	E.D.	+	+	+	?	E.D.	E.D.
Tiagabin	E.D.	+	+	+	+	E.D.	E.D.
Gabapentin	±	±	+	+	?	E.D.	E.D.
Levetirasetam	E.D.	E.D.	+	+	?	?	?
Zonisamit	+	±	?	+	+	+	+
NMDA antagonistleri	+	±	E.D.	E.D.	?	?	?

+ Etkili, ± Çelişkili veri, E:D: Etkili Değil, ? herhangi bir veri yok (ya da bulunamadı). (Löscher, W., Animal models of epilepsy for the development of antiepileptogenic and disease-modifying drugs. A comparison of the pharmacology of kindling and post-status epilepticus models of temporal lobe epilepsy. Epilepsy Research 50 (2002) 105–123)

4.1.7 ŞİMDİKİ (GEÇERLİ OLAN) KİNDLING KAYNAKLI EPİLEPTOGENEZ HİPOTEZİ

4.1.7.1 NÖBET DEŞARJININ BAŞLANGICI

Normal beyin limbik bölgesinin yüksek frekanslı uyarılması, presinaptik terminallerden sinaptik aralığa glutamat ve GABA salınımında artışa yol açmaktadır. Glutamat postsinaptik AMPA reseptörlerini uyarmaktadır. Fakat bu depolarizasyon hemen GABA-A aracılı tekrarlayıcı inhibisyon ile hızla azaltılmaktadır. Eğer uyarı yoğunluğu eşik değerin üzerindeyse, AMPA reseptörlerinin sürekli uyarılmasına karşın inhibisyondaki yetmezlik, bir patlama tarzı nöronal ateşlenmeye ve senkronizasyona yol açmaktadır (AD başlangıcı). Bu uzun süreli depolarizasyon ikincil olarak NMDA reseptörlerini aktive eder. Böylece, voltaj bağımlı kanallardan limbik Ca^{2+} içeri akımı başlar.

4.1.7.2 UYARILMIŞ NÖBET HASSASİYETİ GELİŞMESİNİN ERKEN EVRESİ

AMPA ve özellikle NMDA reseptörlerinin aktiflenmesi, intrasellüler kaskatları tetikler ve sonuçta hem glutamat hem de GABA sistemlerinin fonksiyonel değişikliklerine ve de sinaptik reorganizasyonuna yol açar. Bu değişikliklerin birçoğu, aktivite bağımlıdır ya da kompensatuvar değişikliklerdir, direkt olarak epileptogenez ile ilişkili değildir. Kindling gelişiminin erken evrelerinde, NMDA reseptör bağımlı sinaptik potansiyelizasyon, çeşitli beyin bölgelerinde gelişmektedir ve odaksal AD'nın komşu ve uzak beyin bölgelerine trans-sinaptik yayılmasını hem arttırarak hem de gelişmesine yardımcı olarak sağlar. NMDA reseptör bağımlı akımların gelişmesi, dentat girusta kısa sürede gelişmektedir. Kindling sürecinin devamında GABA aracılı inhibisyonun yetmezliği, birçok beyin bölgesinde özellikle amigdala ve hipokampus CA1'de belirgin hale gelmektedir. Öte yandan yinelenen inhibisyon, hippokampal dentat girus ve piriform kortekste bir kompensasyon mekanizması olarak artmaktadır.

4.1.7.3 UYARILMIŞ NÖBET HASSASİYETİ GELİŞMESİNİN GEÇ EVRESİ

Geç evrede, odaksal nöbet aktivitesi uzamış ve jeneralize olmuştur. Nörogenesis, aksonal filizlenme, sinaptogenezis ve astrogliozis gibi morfolojik değişiklikler oluşmuştur. Sonuçta, uyarıcı ve inhibe edici sistemlerin yeniden modellenmesi ve nörotransmisyonun anormal paternleri meydana gelmiştir. Kindling kaynaklı nörotrofin NGF ekspresyonu ve akson kılavuzluk faktörleri efrinler ve Eph reseptörleri filizlenmede önemli rol oynamaktadır. BDNF, GDNF ve NT-3 daha çok nöronal uyarılabilirlik, nörogenesis ya da internöronal gelişmede rol oynamaktadır. Nörogenesis ve sinaptogenezis sadece yosunsu liflerde oluşmamakta, limbik önbeyinde de olmaktadır ayrıca sinaptofizin ile sinaptik terminal işaretlenmesi, piriform korteks ve hipokampusta da söz konusudur.

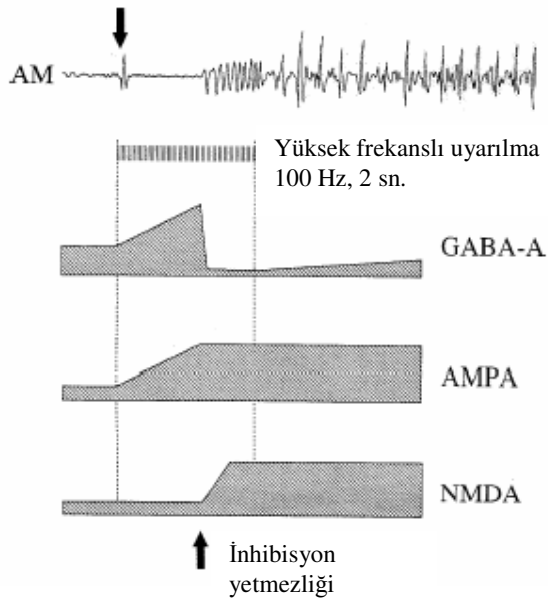
4.1.7.4 İNTERİKTAL PERİYOD

Kindled epileptogenez interiktal periyodunda, amigdala, piriform ve korteks nöronları artan şekilde ateşlenmeye meyilli hale gelmektedir. Sonuçta, limbik sistem ve ilişkili beyin yapılarında spontan interiktal deşarjlar meydana gelmektedir. Hippokampal CA1 ve CA2 nöronlarında hipereksitabilite gelişmesi sonucunda meydana gelen spontan interiktal deşarjlar, kindling için uygulanan stimulusun yarattıkları kadar sık değildir. Hatta, kindling sonrasında piriform korteks en erken spontan deşarj gösteren MSS yapısıdır. Dentat girustaki GABA aracılı inhibisyondaki artış, spontan deşarjları baskılamaktadır ve hipokampal kindlingi yavaşlatmaktadır. Bu artmış inhibisyon, GABA-A/BNZ B₁ reseptörlerindeki artış ve GABA/NPY içeren internöronal sinaptik terminal sayılarından kaynaklanmaktadır. Muhtemelen inhibitör internöronal sistemde artmış bir uyarılma vardır. Bu artmış inhibisyon interiktal deşarjların hipersenkronizasyonunu kolaylaştırmaktadır.

4.1.5.7.5 İKTAL PERİYOD

Kindled hayvanlarda, yüksek frekansta elektriksel uyarılma ya da GABA-A reseptör antagonistleri uygulanmasından sonra GABA aracılı inhibisyonda yetmezlik oluşursa, AD uzar ve birçok ağır inhibitör sistemin devre dışı kalması ve yeni oluşan uyarıcı döngünün

sonucunda AD kompleks hale gelir. Bu yeniden modellenen epileptogenik döngü glutamat ve GABA arasındaki dengesizlik olarak karakterize edilmektedir. Nöbet sırasında glutamat salınımı belirgin şekilde artmıştır. Aynı zamanda GABA salınımı, ise aşırı depolarizasyonu baskılamakta yetersiz kalmaktadır. Artmış glutamat salınımı birçok olayı tetiklemektedir. Örneğin, yeni terminal sayısının artması, artmış salınım ve azalmış presinaptik otoresptör kaybı gibi. Odaksal nöbet aktivitesi peririnal korteks, motor korteks, talamus, bazal ganglionlar ve beyin sapının dahil olduğu çoklu reorganize beyin döngüleri kullanarak, jeneralize olup, motor nöbetler oluşturmaktadır.



Şekil 6. Nöbet oluşumunun teorik modeli [4].

Kindled amigdala (AM) yüksek frekanslı uyarılma sırasında (100 Hz ve 2 sn) EEG kaydı alınmaktadır. Ok, stimülasyonun başlangıcını göstermektedir. Uyarılma sürecinde (1) başlangıç potansiyel oluşturulması (2) ardışık EEG supresyonu ve (3) bir ard deşarjı takiben ritmik senkron deşarjı görülmektedir. İlk basamakta stimülasyon AMPA reseptörlerini uyarır ve başlangıç tek yanıtı oluşturmaktadır, aynı zamanda artmış GABA-A aracılı inhibisyon oluşmaktadır. Bunun sonucunda EEG’de bir baskılanma ortaya çıkmaktadır. İkinci basamakta, sürekli AMPA reseptörleri aktive olurken ve inhibisyon yetmezliği oluşurken, eksitasyon ve inhibisyon arasındaki denge bozulur, aniden ritmik senkron deşarjlar sekonder

olarak NMDA reseptörlerini ve sinaptik plastisite için gerekli intrasellüler sistemleri aktive eder [4].

4.1.7.6 KİNDLİNG SONRASI SPONTAN NÖBETLERİN ORTAYA ÇIKMASI

Eğer standart evre 5 nöbetler ortaya çıktıktan sonra elektrik stimulus verilmeye devam edilirse, stimulus sonrasında büyük nöbetler ve stimulus verilmediği dönemlerde de spontan nöbetler oluşmaya başlar, hippocampal skleroz gibi patolojiler oluşur. Bu spontan nöbetlerin oluşma nedeni büyük ihtimalle selektif inhibitör nöronları kaybıdır.

4.2 AGMATİN (GUANİDO BUTANOLAMİN)

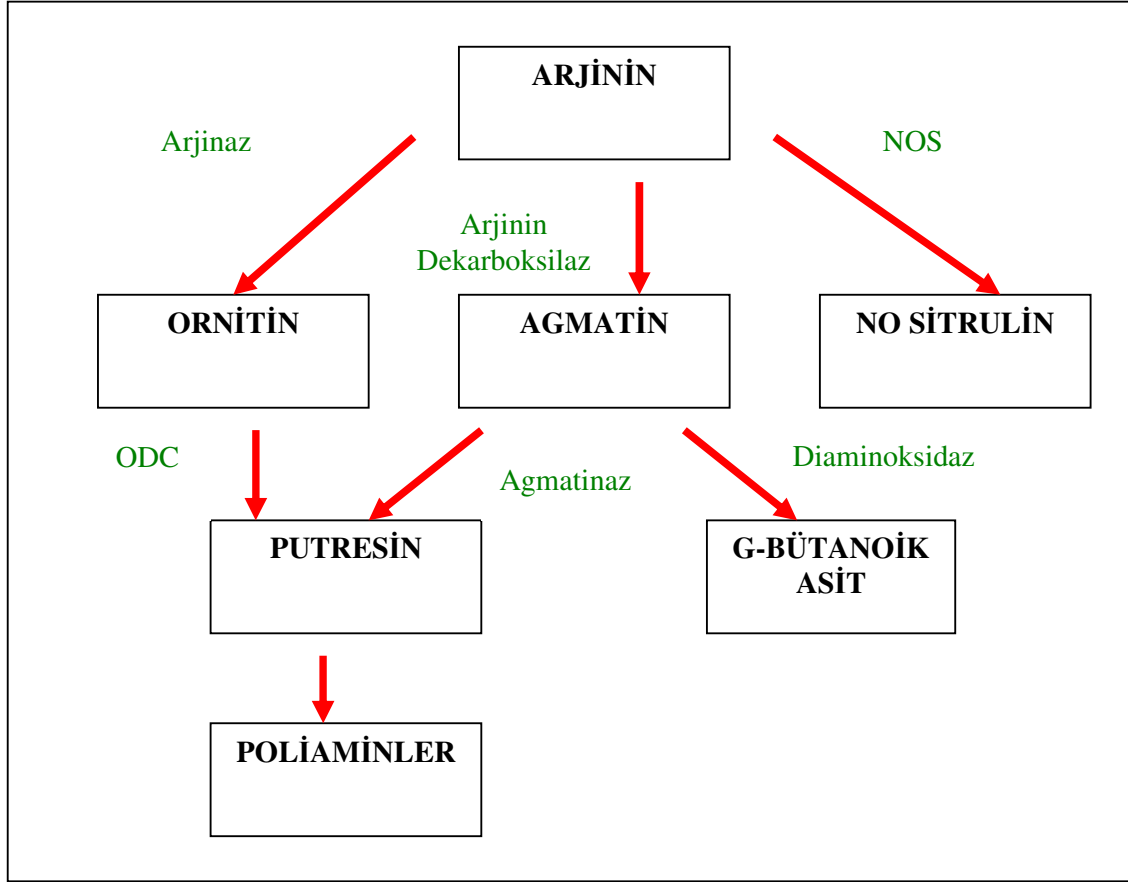
Bousquet ve Feldman, 1984 yılında klonidin ve diğer imidazolin türevi ilaçların beyinde non-adrenerjik bağlanma bölgelerine bağlandığını ve bunun antihipertansif bir etki oluşturduğunu göstermişlerdir [48]. Daha sonra bu konuda yapılan çalışmalarla, imidazolin reseptörlerinin endojen ligandlarının varlığı ortaya konulmuştur. Bu endojen ligandların başında eCDS (endogenous clonidine- displacing substance) ve agmatin gelir [49].

4.2.1 BİYOSENTEZİ:

Agmatin L-arjininden, arjinin dekarboksilaz (ADC) enzimi aracılığıyla sentezlenen bir amindir (Şekil 7). 1994 yılına kadar agmatin ve ADC'nin bitkiler, bakteriler, omurgasız hayvanlarda sentezlenip depolandığı, memelilerde ise sentezlenmediği düşünülmekteydi [50]. 1995 yılında Regunathan ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada ADC'nin sıçan beyinde eksprese edildiğinin gösterilmesiyle, agmatinin memelilerde de sentezlendiği ve enterik bakteri veya diyet kaynaklı olmadığı anlaşılmıştır [51]. ADC, memelilerde hücre membranına bağlı olarak bulunur ve özellikle de mitokondri membranında daha yoğundur. İlk araştırmacıların enzimi saptayamamalarının nedeni, enzimi çözünür (soluble) memeli dokularında aramalarıdır. ADC beyinde en fazla striatum ve beyin sapında, en az ise kortekste bulunmaktadır. Memelilerdeki ADC aktivitesi Mg^{2+} tarafından arttırılmakta, Ca^{2+} tarafından inhibe edilmektedir. Diğer iyonlar ise, ADC aktivitesini değiştirmemektedir. Kan damarlarında, agmatinin endotel ve düz kas hücrelerinde depolandığı, fakat sadece endotelde ADC eksprese edildiği bilinmektedir [52].

Sinaptozomlarda ADC aktivitesine rastlanılması, agmatinin büyük olasılıkla nöronlarda eksprese edildiğini düşündürmektedir. Glia hücrelerinde de ADC aktivitesinin olduğu

gösterilmiştir. Ayrıca agmatinin sentez edildikten sonra nöronal ve glial havuzlar arasında transfer edildiği bilinmektedir [53].



Şekil 7. Agmatinin biyosentezi ve enzimatik yıkımı [64].

4.2.2 SALINIMI:

Agmatin diğer transmitterler gibi sinaptozomlardan depolarizasyonla Ca^{2+} bağımlı olarak salınmaktadır.

4.2.3 DAĞILIMI:

Agmatin çeşitli organlarda, dokularda ve serumda yaygın ve düzensiz bir dağılım gösterir. En fazla mide, aorta, ince bağırsak, adrenal bez, kalp, beyin, kalın bağırsak ve plazmada bulunduğu gösterilmiştir; beyindeki konsantrasyonu nispeten düşüktür [54]. Beyindeki

konsantrasyonu düşük olmasına rağmen diğer nörotransmitterlerle karşılaştırılabilecek düzeydedir. HPLC analizi ile sıçan beyindeki agmatin 4.5 µg/g olarak tespit edilmiştir [55]. İmmünohistokimyasal çalışmalar, beyindeki agmatinin büyük bir kısmının nöronal olduğunu göstermektedir. Hipokampustaki nöronlar büyük ölçüde glutamaterjik olduğu için bu sistem içinde agmatinin glutamatla birlikte yer aldığını düşünülmektedir [53]. Agmatin periferik yoldan (i.p.) verildikten 15 dakika sonra frontal korteks ve hipokampustaki seviyeleri artmaya başlar ve yaklaşık 1 saat sonra da etkisi sona erer. Periferik yoldan enjekte edilen agmatinin ancak %1 'lik kısmı beyine ulaşabilmektedir. Agmatinin beyine bu kadar düşük oranda ulaşabilmesinin nedeni, böbrek ve karaciğerde, diamin oksidaz enzimi ya da agmatinaz enzimi tarafından hızlı bir şekilde metabolize edilmesidir[56,57]. Yenidoğan bebek sıçanlara periferik yoldan agmatin verildikten sonra, beyindeki toplam agmatin seviyeleri aşırı miktarda artar [58]. Erişkin sıçanlarda ise, kan-beyin engeli gelişimini tamamladığı için, agmatinin beyine geçisi son derece küçük miktarlarda olur. Bu bilgiler bize in vivo çalışmalarda agmatin etkisini görebilmemiz için yüksek ve tekrarlayan dozlarda uygulamamız gerektiğini ifade etmektedir [59].

Agmatinin beyinde en yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu yerler; hipokampus, amigdala, septum, talamus, hipotalamus, stria terminalis bed nucleus, nucleus tractus solitarii, pontin parabrakiyal kompleks, peri ventriküler alan, ön beyin ve serebral kortekstir. Bunun haricinde astrositlerden hazırlanan hücre kültüründe, nöronal bağlantılı hücrelerde örneğin, adrenal kromafin hücrelerinde ve karotid cisimciği glomus hücrelerinde de agmatin varlığı gösterilmiştir [60].

4.2.4 İNAKTİVASYONU:

Agmatinin beyindeki biyolojik inaktivasyonu, geri alım ve enzimatik parçalanma ile olmaktadır.

4.2.5 GERİ-ALIM:

Geri-alım çalışmaları, sıçan beyinden hazırlanan sinaptozomlarda radyoaktif işaretli agmatinin birikmesinin ölçümü ile yapılmıştır [61]. Agmatinin geri-alımı, sıcaklığa bağlıdır ve sadece yüksek konsantrasyonlarda doygunluğa ulaşabilir. Na^+ / K^+ ATPaz inhibisyonu ya da ekstrasellüler Na^+ replasmanından etkilenmemektedir. Agmatinin taşıyıcılarına bağlanmak için yarışma şekli incelendiğinde geri-alımının noradrenalin, dopamin, 5-HT ya da yapısal benzer amino asit taşıyıcıları ile olmadığı, başka bir taşıyıcı sistem ile sağlandığı düşünülmektedir. Gerçi, agmatin bir amin ve poliaminlerin bir öncüsü olmasına rağmen, geri-alımı poliaminlerden de farklıdır. Çeşitli iyon kanalı modülatörlerinden sadece Ca^{2+} kanal blokerleri bu geri alımı inhibe eder. İdazoksan ve fentolamin gibi imidazolin reseptörleri ile etkileşen ilaçlar, geri-alımın güçlü yarışmasız inhibitörleridir [62]. Sinaptozomlar aminoasit, poliamin veya monoamin taşınmasından farklı bir mekanizma ile agmatini geri alıp konsantre ederler. Bu transport şeklinin sodyum ve enerji bağımlı olduğu düşünülmektedir. Agmatin, hücreye ligandla kenetli iyon kanallarının voltaja bağımlı olarak çalışması ile de girebilir. Bu konudaki ilk bulgular bir yumuşakça olan *Hemissenda crassicornis*'in sempatik ganglionundaki nikotinik reseptörler ve tavuk retinasında yapılan çalışmalardan elde edilmiştir [62].

4.2.6 ENZİMATİK PARÇALANMA:

Agmatinin enzimatik parçalanmasında rol oynayan enzim, agmatinaz (Agmatin üre hidrolaz)'dır. Bakterilerde ana metabolik yol, agmatinin bu enzim aracılığıyla putresin ve üreye dönüştürülmesidir. Çözünebilir (soluble) bir enzim olan agmatinazın memeli beyinde de eksprese edildiği gösterilmiştir. Agmatinaz en çok hipotalamus ve hipokampusta ve en az da korteks ve striatumdadır. Bölgesel ADC ve agmatinaz konsantrasyonları benzer değildir, belki de agmatin metabolizması bölgesel olarak seçicilik göstermektedir. Agmatinin, agmatinaz ile putresine dönüşmesi, ornitinin, ornitin dekarboksilaz (ODC) aracılığıyla putresine dönüşmesi ile paralellik gösterir. Ancak ornitinden ODC aracılığıyla putresin oluşumunun, sadece memelilerde gerçekleştiğine inanılmaktadır [63]. Putresinden spermin ve spermidin oluşur. Putresin, poliamin biyosentezinde metabolik bir prekürsör olduğu için, dolayısıyla agmatin de önemli moleküllerin metabolik prekürsörü durumundadır. Bu nedenle agmatin-putresin kaskadının, memelilerde poliamin sentezi için özel bir metabolik yolak olduğu düşünülmektedir [63,64]. ADC ve agmatinazın spesifik inhibitörlerinin bulunmaması agmatinin beyindeki fonksiyonunun araştırılmasını kısıtlamaktadır [62]. Agmatinin yıkılmasını sağlayan bir diğer enzim ise diamin oksidaz enzimidir. Agmatin bu enzim ile G-bütanoik asite dönüşmektedir.

Agmatin, MSS'inde nörotransmitter/nöromodülatör kriterlerinin çoğunu göstermektedir. Örneğin, beyinde lokal olarak ADC aracılığı ile sentezlenmektedir [65]. MSS'inde birçok nöronda depolanmaktadır [66]. Akson uçlarındaki küçük veziküllerde bulunmakta ve hipokampusun presinaptik terminallerinde konsantre edilerek, eksitator sinaptik aşırım yapmaktadır.

4.2.7 AGMATİNİN FONKSİYONLARI

RESEPTÖR MEKANİZMALARI

Agmatin, α_2 adrenerjik reseptörlere ve imidazolin reseptörlerinin bütün alt tiplerine (I_1 ve I_2) yüksek afinite ile bağlanır. Bu reseptörlerin agonisti mi yoksa antagonisti mi olduğu henüz bilinmemektedir. Ancak agmatin, sıçanların kuyruk arterinde, tavşanların pulmoner arter/aortalarındaki, presinaptik α_2 reseptörler üzerinde agonist etki göstererek noradrenalinin salınımını inhibe ettiğinden, α_2 reseptörlerinin agonisti olduğu düşünülmektedir [62]. Vücutta endojen olarak bulunan agmatinin, pek çok endojen ligand gibi agonist etki göstermesi olasıdır. İmidazolin reseptörlerinin aktivasyonuna bağlı olarak meydana gelen sinyal transdüksiyonu ve hücreyel yanıt tam olarak aydınlatılmadığı için, I_1 ve I_2 reseptörlerine bağlanan agmatinin fonksiyonel cevabı da tam olarak bilinmemektedir. Agmatin, α_1 ve β adrenerjik reseptörlere ise bağlanmamaktadır [62].

BİYOLOJİK ETKİLERİ

Sıçanların hipokampal piramidal nöronları üzerinde yapılan kültür çalışmalarında, bu nöronların veziküler agmatin taşıyan aksonlarca innerve edildiği gösterilmiştir. Agmatin ekstrasellüler olarak bu kültür ortamına uygulandığında voltaja ve konsantrasyona bağlı olarak NMDA akımını engellediği saptanmıştır [67]. Alfa-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolpropiyonat (AMPA) ve kainat akımlarında ise bir değişiklik olmadığı görülmüştür. Buradan hareketle, agmatinin NMDA reseptörleri için selektif bir antagonist olduğu kanısına varılmıştır [62]. Agmatinin nöroblastoma hücrelerinde serotonin ile ilişkili katyon kanalı aktivitesini de inhibe ettiği bilinmektedir [49,63].

Bütün bu reseptör etkileşimlerinin dışında agmatin, NOS (Nitrik Oksit Sentaz)'un bütün izoformlarını inhibe etmektedir. En güçlü inhibisyonu ise iNOS üzerinde oluşturmaktadır [68]. NOS, L-arjininin guanidin gruplarını oksitleyerek nitrik oksit (NO) sentezler. L-arjinin analogu olan agmatinin de guanidin grupları içermesi, agmatinin NOS için bir substrat olabileceğini ve agmatinden NO sentezlenebileceğini düşündürmüştür. Ancak daha sonradan yapılan çalışmalarla, agmatinin NO için bir prekürsör olmadığı gösterilmiştir [68]. Agmatin, NOS'u doza bağımlı olarak inhibe eder ve enzimin katalitik bölgesine bağlanmak için L-arjinin ile yarışır. Afinitesi L-arjiininden daha düşük olduğundan, etkili bir yarışma için L-arjininden daha yüksek konsantrasyonlarda bulunması gerekir. Ancak özellikle nNOS sentezleyen nöronların katalitik bölgesinde, agmatin konsantrasyonunun fizyolojik olarak yeterli olduğu gösterilmiştir. L-arjinin ve agmatinin farklı organlardaki dağılımı karşılaştırıldığında, dokularda L-arjininin agmatine göre 4 ila 50 kat daha fazla olduğu görülmüştür. Bu nedenle agmatinin NOS aktivitesi üzerinde zayıf bir regülatör etkisinin olduğu düşünülmektedir. Agmatin bazı durumlarda, arjinin için daha etkili bir yarışmaya girer. Örneğin sıçanlarda aortanın iskemik hasarından sonra agmatin miktarının 20 kat arttığı gösterilmiştir [68]. Agmatinin, beyin ve böbrekte NO oluşumunu inhibe ederek NOS yolağını etkilediği bilinmektedir [53].

Serumda bulunan agmatinin ise glial hücrelere girerek iNOS ekspresyonunu ve aktivitesini düzenlediği gösterilmiştir [69]. Agmatin ve NOS enziminin hücre içinde birlikte bulunmaları, bu aminin NO üretiminin endojen bir modülatörü olma olasılığını güçlendirmektedir. Ayrıca agmatinin bazı biyolojik etkilerinin, NO sistemi ile etkileşim sonucunda meydana geldiği düşünülmektedir [49,63]

Agmatinin nörotransmitter özellikleri ile ilgili artan sayıda hücresele çalışma olmasına rağmen, intakt organizmadaki fonksiyonu için yeterince kanıt yoktur. Bunun sebebi, agmatinin normal fizyolojik rolünü araştıran çok az sayıda çalışmadır. Agmatinin etki profili, aynı reseptöre bağlanan diğer maddelerden farklılık göstermektedir. Örneğin agmatin, klonidin gibi hem imidazolin hem de α_2 adrenerjik reseptörlere bağlanmasına rağmen, klonidinin etkilerini göstermemektedir.

Endojen aktif bir madde olan agmatinin bilinen temel etkileri şunlardır:

KANAL BLOKAJI ETKİSİ

Agmatin NMDA reseptörlerindeki gibi reseptöre bağımlı kalsiyum kanallarını bloke eder. Ayrıca kolinerjik nikotinik ve serotonerjik 5-HT₃ reseptörleri (sigma-2 bağlanma bölgesi üzerinden) gibi iyonotropik reseptör kanallarını da bloke ettiği bildirilmiştir [63,70].

HORMON SALINIMI ÜZERİNE ETKİSİ

Adrenal medullanın kromafin hücrelerinden adrenalin ve noradrenalin salınımını, pankreasın adacık hücrelerinden, doz bağımlı olarak insülin salınımını artırır. Hipotalamustan lüteinize edici hormon salıverici hormon (LHRH) ve gastrin sekresyonu uyarır [63]. Agmatin, muhtemelen presinaptik voltaj bağımlı kalsiyum kanallarını inhibe ederek nörohipofizden vazopressin ve perivasküler sinir terminallerinden noradrenalin salınımını inhibe etmektedir. Bu bilgiler ise nörotransmitter salınımında bir presinaptik aktivite düzenleyicisi olduğunu göstermektedir [71,72].

STRES-ANKSİYETE-DEPRESYON ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

Hareketsizlik ve soğuk stresine maruz bırakılmış sıçanların endojen agmatin üretimini 5 kattan daha fazla arttırdığı, yükseltilmiş + maze ve zorunlu yüzme testi gibi modellerde klasik antidepresan imipramin kadar anksiyolitik ve antidepresan etki potansiyeline sahip olduğu gösterilmiştir [73,74].

TOLERANS VE BAĞIMLILIK KONULARINDAKİ ETKİLERİ

κ_1 –opioid reseptör aracılı morfine tolerans gelişimini engellediği, morfin yoksunluk sendromunun tüm semptomlarını baskıladığı, morfin bağımlılığı sırasında meydana gelen cAMP süperaktivasyonunu engellediği bildirilmiştir [75,76,77]. Bu etkilerin bir kısmının bağımlılık sırasında agmatin biyosentezinde meydana gelen değişikliklere bağlı olduğu bildirilmiştir [78]. Davranışsal değişikliklerin bir kısmının da nNOS aracılığı ile olabileceği düşünülmüştür [79].

NÖROPROTEKTİF ETKİLERİ

Agmatinin intratekal (i.t.) veya sistemik verilmesi iskemide ve eksitotoksistide nöron kaybını azaltmıştır. Bunun, voltaja bağımlı kalsiyum kanallarının blokajı, NMDA reseptörlerinin bloke edilmesi ve iNOS oluşumunu inhibe etmesine bağlı olabileceği düşünülmektedir [80]. Agmatinin iskemik hasar üzerindeki etkisini araştıran bir başka çalışmada, primer kortikal nöronlardan hazırlanan hücre kültüründe oksijen ve glikoz mahrumiyeti ile oluşturulan hasarın agmatin ile önlendiği gösterilmiştir. Agmatinin bu koruyucu etkisinin nNOS aracılığıyla meydana geldiği, iNOS'un bu etkide rolü olmadığı düşünülmektedir. Bu çalışmada agmatinin koruyucu etkilerinin in vivo ortamda da değerlendirilmesi amacıyla, orta serebral arter oklüzyonu modeli kullanılmıştır. Bu modelde oklüzyondan önce ve oklüzyon anında verilen agmatinin iskemik hasarı önemli ölçüde

azalttığı görülmüştür. Agmatinin bu etkisinde nNOS kadar iNOS'unda rolü olabileceği düşünülmektedir. iNOS ekspresyonunun agmatin tedavisi uygulanan grupta belirgin şekilde azalması bu düşünceyi doğrulamaktadır [81].

ANALJEZİK ETKİLERİ

Akut ağrı modellerinde agmatin, hem spinal hem de supraspinal düzeyde analjezi sağladığı, siyatik sinirin bağlanması ile oluşan ağrıyı etkilediği diyabetik nöropati gibi ağrı modellerinde termal ve mekanik hiperaljeziyi azalttığı ve ayrıca morfinin oluşturduğu δ -opioid reseptör aracılı analjezik etkiyi dokuz kat potansiyelize ettiği gösterilmiştir [75,82,83]. Nöropatik ağrı modelinde farklı konsantrasyonlarda uygulanan agmatinin nöropatik ağrı eşiğini yükselttiği bulunmuştur [83,84,85]. Ayrıca beyin sapı ve serebellumda nitrit ve nitrat konsantrasyonunun agmatin tedavisi ile azaltıldığı saptanmıştır. Bu bulgular agmatinin, NO miktarını azaltmak suretiyle nöropatik ağrıyı engellediğini düşündürmektedir. Agmatinin, mekanik uyarılara olan duyarlılık üzerindeki etkisini araştıran bu çalışmanın yanı sıra başka bir çalışma da termal uyarılara olan duyarlılık üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir [84]. İntraplantar karregen anestezi uygulandıktan önce i.t. agmatin tedavisi uygulanan farelerde, agmatinin termal hiperaljeziyi önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir [75]. Aynı çalışmada agmatinin, i.t. olarak verilen morfinin anti-hiperaljezik etkisini potansiyelize ettiği de gösterilmiştir. Klonidin gibi α_2 -adrenoreseptörlere bağlanan ilaçların da aynı etkiyi göstermesi agmatinin bu potansiyelizasyonu α_2 -adrenoreseptörler aracılığıyla oluşturduğunu düşündürmektedir [86].

ANTİPROLİFERATİF ETKİ

Agmatinin sıçan aortasında imidazolin reseptörleri aracılığıyla damar düz kas hücrelerinin proliferasyonunu bloke ettiği gösterilmiştir. Agmatin antiproliferatif etkisini I₂ reseptörleri aracılığı ile göstermesine karşın, antiinflamatuvar etkisini membran üzerindeki reseptörlerle göstermemektedir. Farklı imidazolin ajanlarının iNOS inhibisyonu ile bu ajanların imidazolin reseptörlerine olan afinitesi arasında bir korelasyon olmaması bu düşüncüyü doğrulamaktadır. Ayrıca makrofajlarda imidazolin reseptörleri eksprese olmadığı halde, bazı imidazolin ajanlarının iNOS'u inhibe ettiği gösterilmiştir [87].

Tüm bu olumlu etkilerinin yanı sıra, agmatin 50 mg/kg dozunda, su labirentinde yer bulma (water maze place learning) testinde, hayvanların gizli platformu bulma süreleri kontrol grubu ile farklı çıkmamıştır. Elektrikle ve sesle tetiklenen korku öğrenme testinde (auditory-cued fear learning) doz bağımlı olarak öğrenme tiplerini zayıflatmaktadır [88].

ANTİKONVÜLSAN ETKİ

Agmatinin, jeneralize tonik klonik epilepsi modeli olan MES (Maximal Elektroschock Seizure) modelinde konvülsiyon eşiğini yükselttiği ve morfinin subefektif dozlarda antikonvülsan etkisini sinerjistik şekilde arttırdığı bildirilmiştir [89,90].

Agmatin miyoklonik nöbet modeli olan GABA antagonisti pentilentetrazol ile gerçekleştirilen nöbetlerde, konvülsiyon eşiğini yükseltmiş ve nöbet başlama zamanını geciktirmiştir. PTZ (60 mg/kg, i.p.) enjekte edilen sıçanlarda 100 mg/kg agmatin dozu uygulamasından sonra (11 tanenin 9'u) evre II ya da III nöbetleri geçirirken, agmatin grubundan sadece 1 hayvan evre V nöbet geçirmiştir. Agmatin yerine SF verilen kontrol grubu hayvanlarda ise 11 hayvanın 8'i evre V nöbet geçirmiştir. Aynı zamanda nöbet başlama süresi agmatin grubunda kontrol

grubuna göre anlamlı derecede gecikmiştir. Agmatin (100 mg/kg, i.p.), PTZ (60 mg/kg, i.p.) verilmesinden sonra 0-15 dakika içerisinde glutamat seviyesini anlamlı derecede azaltmıştır [59,91]. Agmatin, sıçan beyinine intraserebroventriküler (i.c.v.) glutamat verilmesi ile oluşturulan konvülsiyon modelinde de, MES modelinde olduğu gibi tonik arka ayak ekstansiyonu yüzdesini anlamlı olarak azaltmıştır [92].

Nöbet sırasındaki koşullar, oldukça fazla glutamat salınımı ve aşırı NMDA reseptör aktivasyonu içermektedir. NMDA reseptörü iyonotropik glutamat reseptörlerinden birisidir ve epilepsi nöbetlerinin başlangıcında rolü vardır. Yarışmalı NMDA antagonistlerinden; NMDA reseptör ilişkili iyon kanalına bağlanan antagonistleri, NMDA glisin bölgesi antagonistleri ve NMDA poliamin bölgesi antagonistleri olmak üzere tüm NMDA antagonistlerinin antikonvülsan özelliği vardır. Agmatin, nöronlardaki NMDA reseptör kanallarına bağlanır ve onları selektif olarak bloke eder [93,94,95]. Hipokampustaki uyarıcı sinapsları bloke ettiği bildirilmiştir [53]. Bu bilgilerin tümü bize agmatinin etki mekanizmalarından en azından birinin glutamaterjik iletinin inhibisyonu olduğunu göstermektedir. NMDA reseptör inhibisyonu muhtemel mekanizmalardan biri iken presinaptik glutamat salınımına etkisi bu etkisine katkı sağlamaktadır.

Agmatin, α_2 adrenoseptör agonisti bir maddedir. α_2 adrenoseptörlerin epilepsi üzerindeki etkileri şöyledir: α_2 adrenoseptör agonisti klonidin PTZ ile gerçekleştirilmiş nöbetlerde ve amigdala kindling modelinde antikonvülsan olarak rol almaktadır [96]. Öte yandan, α_2 adrenoseptör antagonistisi yohimbin, prokonvülsan etki sergilemektedir [97].

NO, farklı epilepsi modellerinde antikonvülsan etki ortaya çıkarmaktadır [98,99]. Agmatinin, beyin ve böbrekte NO oluşumunu inhibe ederek NOS yolağını etkilediği bilinmektedir [53].

Nitrik oksit sentaz (NOS) substratı L-arginin agmatinin PTZ modelinde ki antikonvülsan etkisini inhibe etmiştir ve bu etki NOS inhibitörü L-NAME ile geri döndürülmüştür. L-NAME ile agmatin kombinasyonu sinerjistik etki ile anlamlı derecede kendilerinin bireysel etkilerinden daha fazla koruyucu etki ortaya çıkarmıştır [100].

5. GEREÇ VE YÖNTEM

5.1 KİMYASAL MADDELER

Agmatin sülfat tozu (Sigma), ketamin (Ketalar flakon) ve klorpormazin (Largaktil ampul) kullanılmıştır. Enjeksiyonluk çözeltiler her deney günü ve serum fizyolojik (SF) içinde çözüldürülerek hazırlanmıştır. Agmatinin epilepsi nöbetlerindeki akut etkisini değerlendirmek için 40, 80, 100 mg/kg dozlarında ve agmatinin uzun süreli epileptogenez çalışmasındaki etkisini değerlendirmek için 80, 100 mg/kg dozlarında uygulanmıştır. Her sıçanın 100 g ağırlığı başına 0,1 ml i.p. olarak verilmiştir. Kontrol grubundakiler ise aynı volümde serum fizyolojik uygulanmıştır.

5.2 HAYVANLAR

Bu çalışmada her iki cinsten, 5 ila 9 aylık, Wistar Albino sıçanları (150-250 g) kullanılmıştır. Hayvanlar İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarından temin edilmiş, 32 x 28 x 28 cm kafeslerde tek başlarına tutulmuşlardır. Serbest yeme ve su içme imkanı tanınmıştır. Tüm sıçanlar 23 ± 3 °C de ve doğal aydınlık/karanlık siklusuna uygun tutulmuşlardır. Deneylerin tümü günün aydınlık periyodunda yapılmıştır. Her sıçan sadece bir kez kullanılmıştır. Bu araştırma için İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hayvan Etik Kurulu'nun onayı alınmıştır. (İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Dekanlığı 23.03.2006 tarihli ve 6288 sayılı yazısı).

5.3 KULLANILAN MODELLER

5.3.1 BAZOLATERAL AMİGDALA KİNDLİNG

5.3.1.1 KİNDLİNG CERRAHİSİ

Cerrahi müdahaleye 100 mg/kg ketamin 0,5 mg/kg klorpromazin karışımı i.p. ile genel anestezi sağlandıktan sonra başlandı. Her hayvanın başı stereotaksik alete (Stoelting model 51600, Stoelting, Wood Dale, III., USA) yerleştirildi. Hayvanın kafa derisinin kılları traş

edildi. Kafa derisinin traş edilmiş kısmı iyod ve ve alkolle temizlendikten sonra kafa derisi, orta çizgide bregma ve lambda açıkta kalacak şekilde bistüri ile kesilerek yanlara açıldı. Kafa kemiğinin periostu kürete edildi. Bundan sonra, daha önce hazırlanmış olan bipolar derinlik elektrodu, aletin mutlak sıfır noktası olan bregmanın üzerine getirildi. (bregma noktası: frontal kemik ile pariyetal kemiklerin birleşme noktası). Sonrasında bipolar derinlik elektrodu yerleştirilecek olan sağ Nucleus Amigdaloides Basolateralis' e yerleştirmek üzere lateral ve anterior koordinatlarının kesim noktaları kafa kemiği üzerine işaretlendi ve bu noktada kemikte diş frezi ile çapı 2-3 mm kadar bir delik açıldı. Derinlik elektrodu uygun noktaya kadar beyin içine sokuldu. Kortikal kayıtlar için 3,6 mm boyunda ve 1.2 mm. çapında arka ucu, üzeri plastik izolasyonlu yumuşak bakır telle lehimlenmiş çelik vidalar kullanıldı. Bunların, 2 frontal, 2 oksipital olmak üzere 4 tanesi iki taraflı olarak kraniuma vidalandı ve derinlik elektrodu ve kortikal elektrodu akrilik materyali ile kafa kemiğine tutturulur. Ameliyat sonrası hayvanlar bir hafta iyileşmeye bırakıldı (Şekil 8-23).



Şekil 8. Denedeyde kullanılan anesteziik maddeler



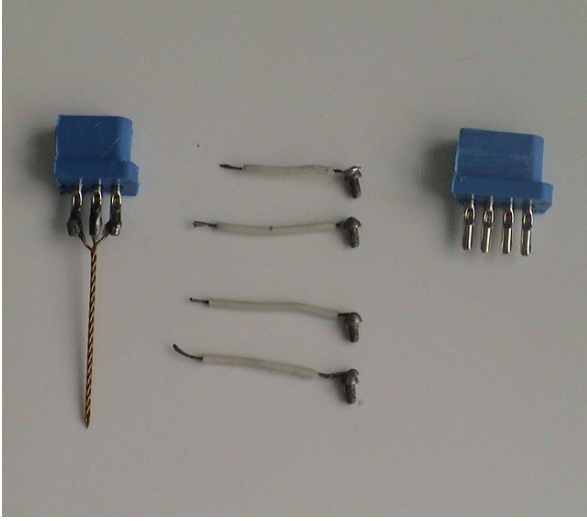
Şekil 9. Agmatin Sülfat tozu



Şekil 10. Staeling stereotaksi aleti



Şekil 11. Akriik malzemeleri



Şekil 12. Derinlik elktrodu ve kortikal vidalar



Şekil 13. Stimulötör



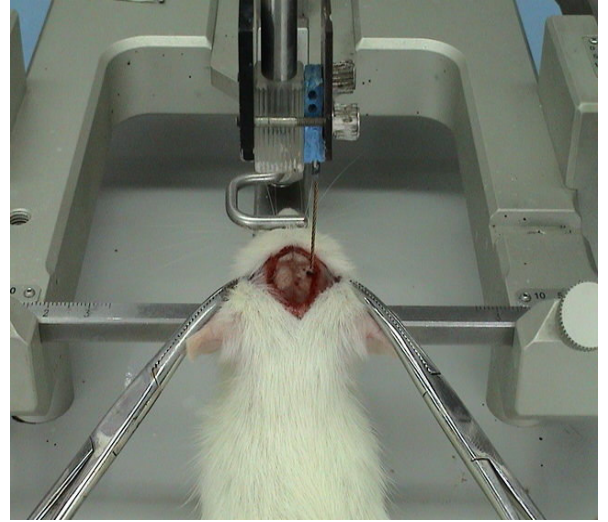
Şekil 14. Stereotaksi cerrahisi 1



Şekil 15. Stereotaksi cerrahisi 2



Şekil 16. Stereotaksi cerrahisi 3



Şekil 17. Stereotaksi cerrahisi 4



Şekil 18. Stereotaksi cerrahisi 5



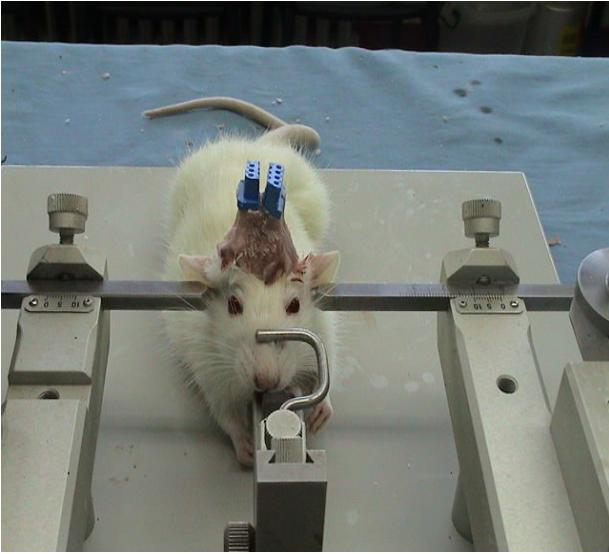
Şekil 19. Stereotaksi cerrahisi 6



Şekil 20. Stereotaksi cerrahisi 7



Şekil 21. Stereotaksi cerrahisi 8



Şekil 22. Stereotaksi cerrahisi 9



Şekil 23. Deney düzeneği

5.3.1.2 KİNDLİNG

Deney günü hayvanlar 30 x 30 x 40cm ebatında Pleksiglass gözlem kafesine alındı. Hayvanın başına stimulus vermek için ve EEG kaydı almak için gerekli soketler yerleştirildi. 10 dakikalık adaptasyon süresinden sonra temel EEG'leri kaydedildi. Amigdala kindling sürecinde nöbet ortaya çıkarmak için sabit akım uyarıları: 500 μ A, 1 ms sürede, 80 Hz frekansında monofazik kare dalga akımı, 2 sn boyunca, günde iki kez ve 3 kez ardarda evre 5 nöbetler ortaya çıkana kadar uyguladı. Nöbet evreleri de Racine skalasına göre değerlendirildi.

Ard deşarj, verilen uyarı sonucunda en az 1 Hz frekansında ve uyarı öncesi temel EEG çizgisinin en az 2 katı yüksekliğe çıkan, 3 saniyeden uzun süren dikenler olarak tanımlandı.

Ard deşarj oluştuktan sonra bunun öncesi ve sonrası kaydedilmeye başlandı. Nöbet aktivitesi modifiye Racine'nin ölçeğine göre değerlendirildi.

Racine ölçeklendirilmesi:

0. Hiç nöbet yanıtı yok.
1. Hareketsizlik, göz kapanması, kulak oynatılması, bıyık oynatılması, koklama hareketi, fasiyal klonus.
2. Daha ağır fasiyal klonusa baş sallanması eklenmesi.
3. Ön ekstremitelerden birinin klonusu, şahlanma yok.
4. Bilateral ön ekstremitte klonusu, şahlanma var.
5. Şahlanma ve jeneralize klonik nöbetten dolayı bir taraf üzerine düşme.

Nöbet süresi, limbik nöbetlerin (evre 1-2), ve motor nöbetlerin (evre 3-5) süresi olarak tespit edilmiştir. EEG kaydedilmesinde 70 Hz.'in yukarısı filtre edilmiştir. Zaman sabiti (Time constant: alçak frekans filtrelerinin kare dalgalar üzerindeki etkisini tanımlar. Zaman sabiti, bir kalemin, amplifikatörün girişine kalibrasyon sinyali gibi sabit voltaj uygulandığında ortaya çıkan pik sapmasının %37'sine kadar inmesi için gereken zamandır.) kortikal aktivitelerin kaydedilmesinde 0.30 sn. olarak alınmıştır.

Bazolateral amigdalaya stimulus, Arı Bakım Teknik Hizmetler San. Ve Tic. Ltd Şti tarafından özel yapılmış olan, çok özellikli stimulator tarafından verilmiştir. Stimulus sonrasında kortikal aktivite Nihon Kohden marka EEG ile alınmış, bilgiler Biopac Student Lab. versiyon 3.0 ile digital ortama taşınmış ve kaydedilmiştir.

5.4 DENEY PROTOKOLÜ

5.4.1 AGMATİNİN EPİLEPSİ NÖBETLERİNE AKUT ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Agmatinin 40, 80, 100 mg/kg dozlarında akut etkisini gözlemlemek için (n=6) 3 grup oluşturuldu. Sıçanlara her gün günde iki kez elektrik uyarısı verildi ve yaklaşık olarak 15. stimuluslarında 3 kez ardarda evre 5 nöbet geçirmeleri sağlanarak kindled oluşturuldu. Bu aşamada sıçanlara taze hazırlanmış, SF içinde çözdürülmüş 40, 80, 100 mg/kg dozunda agmatin i.p. olarak enjekte edildi. 30 dakika sonra son stimulusları verilip agmatinin nöbet süresinde bir azalmaya yol açıp açmadığı, nöbet evresinde bir gerilemeye yol açıp açmadığı incelendi.

5.4.2 AGMATİNİN EPİLEPTOGENEZDEKİ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Agmatinin kronik epileptogenez deneyindeki etkisini incelemek için 2 grup oluşturuldu (n=6). Sıçanlara hergün elektrik uyarısı vermeden 30 dakika önce 80 ve 100 mg/kg dozunda agmatin i.p. enjekte edildi. Ortalama 15 stimulus sonrasında oluşan kindled (evre 5) nöbetlerinin gelişiminin kontrol grubuna göre farkı incelendi.

Kontrol grubu olarak hayvanlara hergün elektrik uyarısı vermeden 30 dakika önce kilolarına göre i.p. SF enjekte edildi.

5.5 HİSTOLOJİK İNCELEME

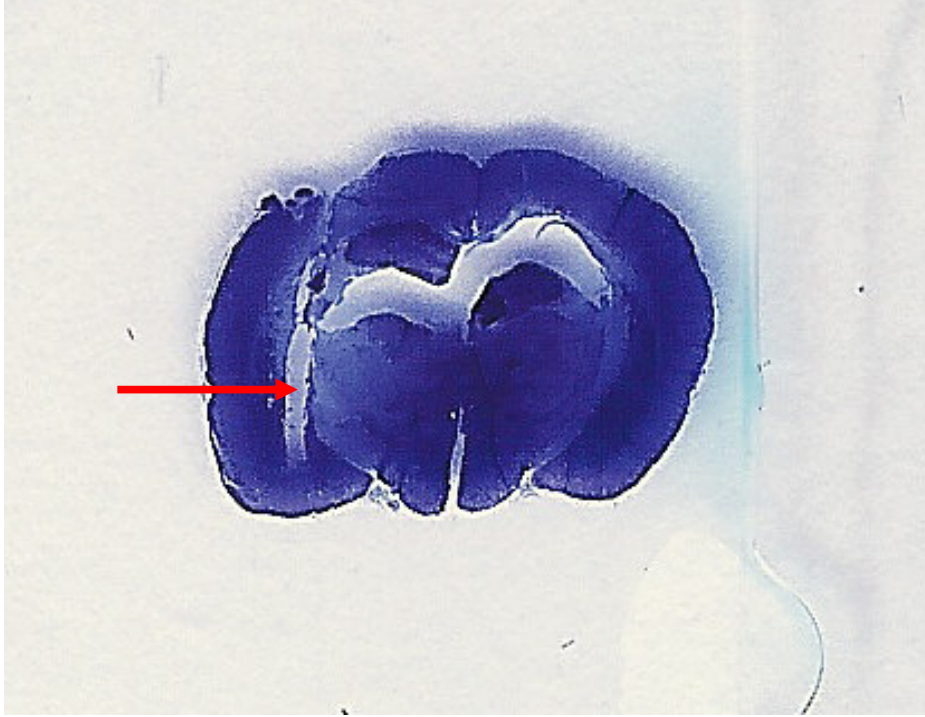
Sıçanlar deney sonunda eter anestezisi ile uyutulup ve öldürüldü. Elektrodlar çıkarılıp kranium geniş olarak açıldıktan sonra beyinleri çıkarıldı, % 10'luk formol solüsyonuna aktarılıp ve tespit edildi. Formolden çıkarılan beyinler bir gün süre ile sırasıyla çeşme 70^o, 90^o ve 96^o alkolde birer gün bekletildi. 100^o alkolde 12 saat tutulduktan sonra yine 100^o alkolde 1 gün daha bekletildi. Alkolden alınan beyinler 15 dakika aralıklarla aynı konsantrasyonda 3 toluolde (toluol 1, toluol 2 ve toluol 3) bekletildikten sonra yumuşak parafinde 45 dakika tutuldu. Daha sonra 1 saat süresince sert parafinde bekletilerek hazırlanan parafin bloktan yapılan kesitler tiyonin ile boyandı.

5.6 TİYONİN BOYAMASI

Mikrotomda 5µ kalınlığında kesilen kesitler bir gece 37 °C lik etüvde bekletildikten sonra deparafinize edilmek için toluolde 30 dakika bekletildi. Ardından 100° - 96° - 90° - 70° alkollerden geçirildikten sonra distile suda yıkandı. Distile suda % 0.2'lik Tiyonin'de 10 dakika bekletildikten sonra distile suda fazla boyası alındı ve 70° - 90° - 96° - 100°'lük alkollerden geçirilerek toluole konup boyama işlemi tamamlandı. Lam ve lamel arasında entellan ile kapatılarak preparat hazırlandı. Mikroskopik incelemede bazolateral amigdalya yerleştirilmiş elektrodun histolojik doğrulaması yapıldı. Çalışmaya sadece doğrulaması yapılan preparatlar dahil edildi.

5.7 İSTATİSTİK ANALİZ

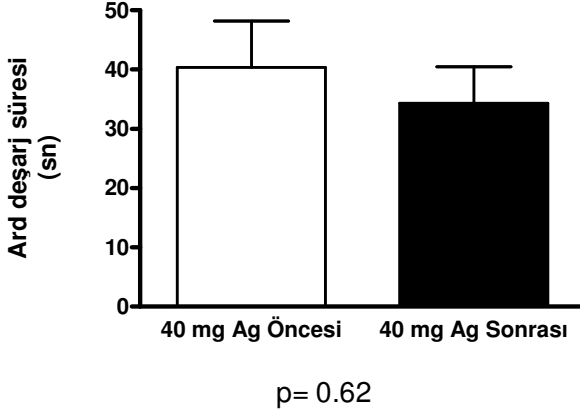
Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak gösterildi. Verilerin analizi ve grafik çizimlerinde Microsoft Excel 2003 ve Graphad Prism 4.0 bilgisayar programı kullanıldı. Uyarı öncesi 40, 80 ve 100 mg akut agmatin uygulanan hayvanların uyarı öncesi ve sonrası nöbet evreleri ve ard deşarj sürelerinin karşılaştırılmasında, *two tailed paired student t-test*, uyarı öncesi 80 ve 100 mg kronik agmatin uygulanan hayvanlar ile kontrol grubunun ard deşarj süreleri ve nöbet evreleri değerlendirilirken, varyans analizi yapıldı (*two-way ANOVA post-hoc Benforoni*). $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.



Şekil 26. Derinlik elektrodu yerleştirilmiş BLA dokusunun tiyonin boyaması ardından mikroskobik görüntüsü. Elektrodun izi ok ile gösterilmiştir.

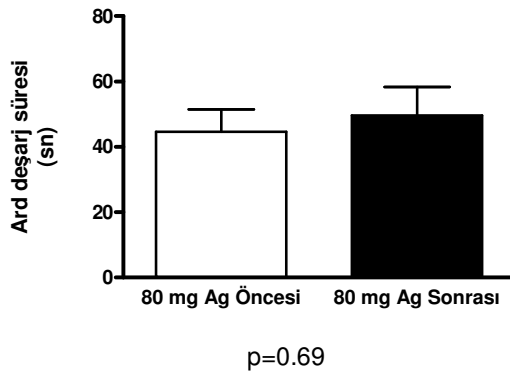
6.2 AGMATİNİN EPİLEPSİ NÖBETLERİNE AKUT ETKİSİ

Kindled hale gelmiş sıçanlara, agmatin uygulanmadan önceki son nöbeti ($40,33 \pm 7,83$ sn) ile 40 mg/kg dozunda agmatin verildikten sonraki nöbetinin ard deşarj süreleri ($34,3 \pm 6,17$ sn) karşılaştırıldığında ard deşarj süreleri arasında anlamlı fark görülmemiştir. ($p= 0,62$), (Şekil 27).



Şekil 27. 40 mg/kg agmatin uygulamasından önceki ve sonraki ard deşarj sürelerinin karşılaştırılması.

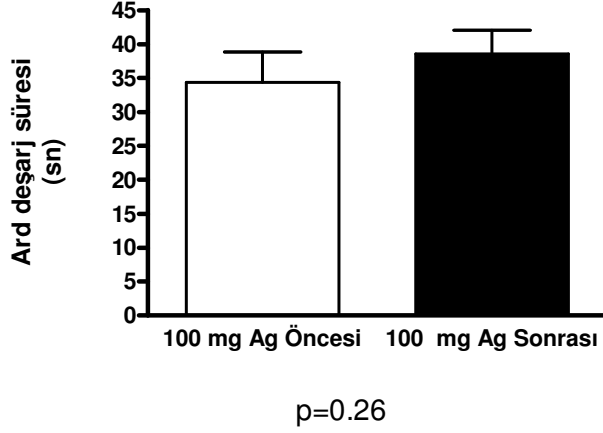
Kindled hale gelmiş sıçanlara, agmatin uygulanmadan önceki son nöbeti ($44,65 \pm 6,77$ sn) ile 80 mg/kg dozunda agmatin verildikten sonraki nöbetinin ard deşarj süreleri ($49,55 \pm 8,83$ sn) karşılaştırıldığında ard deşarj süreleri arasında anlamlı fark görülmemiştir. ($p= 0,69$), (Şekil 28).



Şekil 28. 80 mg/kg agmatin uygulamasından önceki ve sonraki ard deşarj sürelerinin karşılaştırılması.

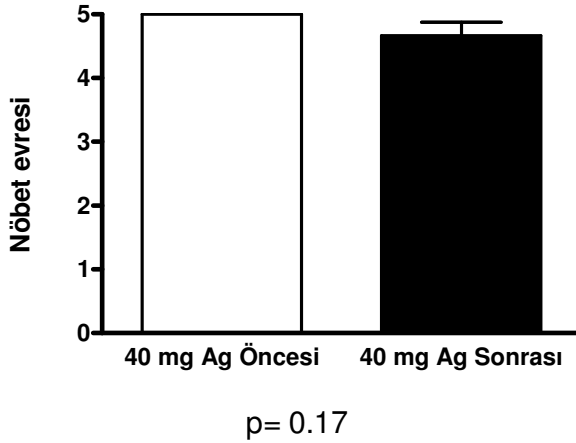
Kindled hale gelmiş sıçanlara, agmatin uygulanmadan önceki son nöbeti ($34,36 \pm 4,45$ sn) ile 80 mg/kg dozunda agmatin verildikten sonraki nöbetinin ard deşarj süreleri ($38,58 \pm 3,46$ sn)

karşılaştırıldığında ard deşarj süreleri arasında anlamlı fark görülmemiştir. ($p= 0,26$), (Şekil 29).



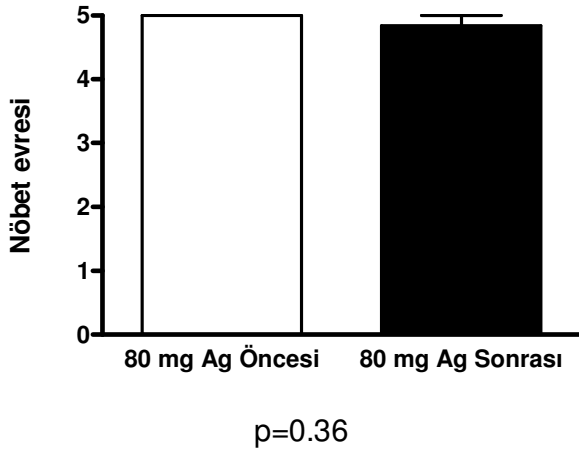
Şekil 29. 100 mg/kg agmatin uygulamasından önceki ve sonraki ard deşarj sürelerinin karşılaştırılması.

Kindled hale gelmiş sıçanlarda 40 mg/kg dozunda agmatin verildikten sonraki nöbet evreleri karşılaştırıldığında anlamlı bir fark görülmedi. ($5.00/4.66 \pm 0.21$, $p= 0,17$) (Şekil 30).



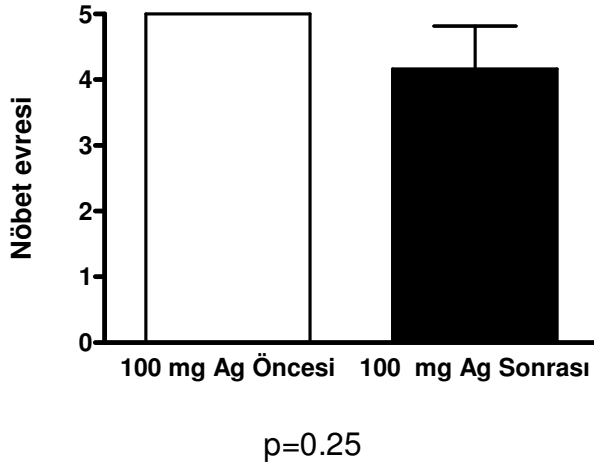
Şekil 30. Kindled hale gelmiş olan sıçanlara akut 40 mg/kg agmatinin nöbet evrelerine etkisi

Kindled hale gelmiş sıçanlarda 80 mg/kg dozunda agmatin verildikten sonraki nöbet evreleri karşılaştırıldığında anlamlı bir fark görülmedi. ($5.00/4.83 \pm 0.16$, $p= 0,36$) (Şekil 31).



Şekil 31. Kindled hale gelmiş olan sıçanlara akut 80 mg/kg agmatinin nöbet evrelerine etkisi

Kindled hale gelmiş sıçanlarda 100 mg/kg dozunda agmatin verildikten sonraki nöbet evreleri karşılaştırıldığında anlamlı bir fark görülmedi ($5.00/4.16 \pm 0.65$, $p=0.25$) (Şekil 32).



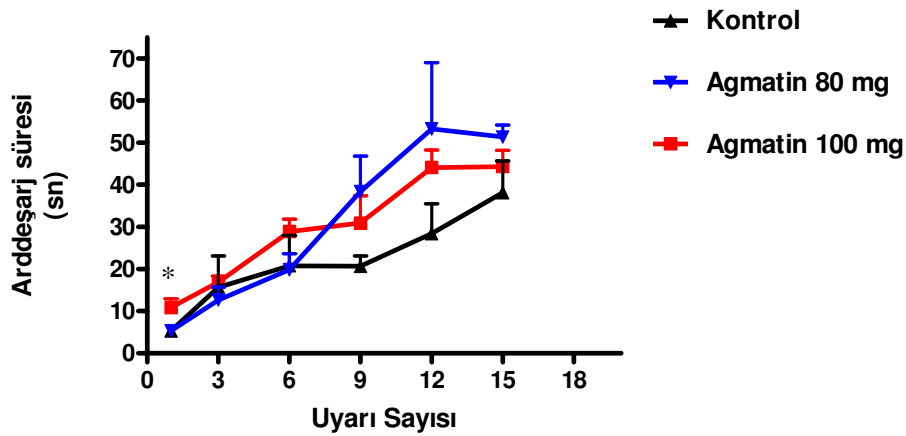
Şekil 32. Kindled hale gelmiş olan sıçanlara akut 100 mg/kg agmatinin nöbet evrelerine etkisi

6.3 AGMATİNİN EPİLEPTOGENEZDEKİ ETKİSİ

80 mg/kg ve 100 mg/kg agmatin uygulaması sonrası, kontrol grubuna göre sırasıyla 1., 3., 6., 9., 12. ve 15. uyarılar sonrası ard deşarj süreleri (sn) karşılaştırıldığında, yalnız 100 mg/kg agmatin uygulanan grupta 1. uyarı sonrası ard deşarj süresi kontrol ve 80 mg/kg agmatin gruplarından yaklaşık 2 kat uzun bulundu ($p=0.011$) (Tablo 5, Şekil 33).

Tablo 5. Ard deşarj süreleri (sn) (ortalama \pm SE, n=6)

Uyarı No.	Kontrol grubu	80 mg/kg Agmatin	100 mg/kg Agmatin	p değerleri
1.uyarı	5,33 \pm 0,42	5,36 \pm 0,44	10,81 \pm 2,11	0.011*
3.uyarı	15,63 \pm 7,48	12,65 \pm 3,04	16,81 \pm 1,52	0.817
6. uyarı	20,7 \pm 7,20	20,38 \pm 3,48	28,83 \pm 2,98	0.485
9. uyarı	20,65 \pm 2,44	38,4 \pm 8,46	32,76 \pm 5,20	0.129
12. uyarı	28,38 \pm 7,16	53,25 \pm 15,78	44,1 \pm 4,17	0.256
15. uyarı	38,13 \pm 7,55	51,31 \pm 2,92	44,35 \pm 3,88	0.231



Şekil 33. Epileptogenez çalışmasında ard deşarj sürelerinin karşılaştırılması. *p<0.05.

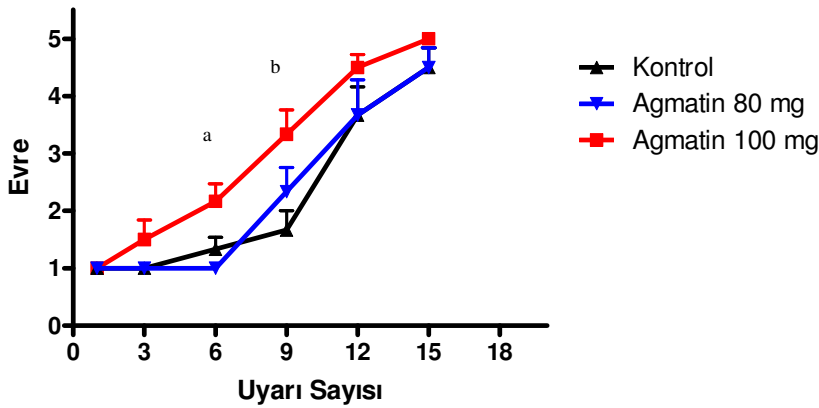
Agmatinin epileptogenez çalışmasında kullanılan 80 mg/kg ve 100 mg/kg dozlarının kontrol grubuna göre nöbet evreleri karşılaştırılmasında, sırasıyla 1., 3., 6., 9., 12., 15. uyarıları birbirleri içerisinde karşılaştırılmıştır. 100 mg/kg dozunda agmatin verilen hayvanlara 6. ve 9. uyarıda nöbet evreleri arasında ileri derecede anlamlı fark vardır. Agmatin nöbetin şiddetini arttırmıştır. $p^a=0.005$, $p^b=0.029$ (n=6) (Şekil 34.)

Tablo 6. Nöbet evrelerinin % olarak gösterimi

	Kontrol grubunda nöbet evrelerinin yüzdesi [% (n)]				
	Evre 1	Evre 2	Evre 3	Evre 4	Evre 5
1.uyarı	100 (6/6)	0 (0/6)	0 (0/6)	0 (0/6)	0 (0/6)
3.uyarı	100 (6/6)	0 (0/6)	0 (0/6)	0 (0/6)	0 (0/6)
6. uyarı	67 (4/6)	33 (2/6)	0 (0/6)	0 (0/6)	0 (0/6)
9. uyarı	50 (3/6)	33 (2/6)	16 (1/6)	0 (0/6)	0 (0/6)
12. uyarı	0 (0/6)	16 (1/6)	33 (2/6)	16 (1/6)	33 (2/6)
15. uyarı	0 (0/6)	0 (0/6)	0 (0/6)	33 (2/6)	67 (4/6)

	80 mg/kg agmatin grubunda nöbet evrelerinin yüzdesi [% (n)]				
	Evre 1	Evre 2	Evre 3	Evre 4	Evre 5
1.uyarı	100 (6/6)	0 (0/6)	0 (0/6)	0 (0/6)	0 (0/6)
3.uyarı	100 (6/6)	0 (0/6)	0 (0/6)	0 (0/6)	0 (0/6)
6. uyarı	100 (6/6)	0 (0/6)	0 (0/6)	0 (0/6)	0 (0/6)
9. uyarı	33 (2/6)	0 (0/6)	67 (4/6)	0 (0/6)	0 (0/6)
12. uyarı	16 (1/6)	0 (0/6)	16 (1/6)	33 (2/6)	33 (2/6)
15. uyarı	0 (0/6)	0 (0/6)	16 (1/6)	16 (1/6)	67 (4/6)

	100 mg/kg agmatin grubunda nöbet evrelerinin yüzdesi [% (n)]				
	Evre 1	Evre 2	Evre 3	Evre 4	Evre 5
1.uyarı	100 (6/6)	0 (0/6)	0 (0/6)	0 (0/6)	0 (0/6)
3.uyarı	67 (4/6)	16 (1/6)	16 (1/6)	0 (0/6)	0 (0/6)
6. uyarı	16 (1/6)	50 (3/6)	33 (2/6)	0 (0/6)	0 (0/6)
9. uyarı	0 (0/6)	33 (2/6)	0 (0/6)	67 (4/6)	0 (0/6)
12. uyarı	0 (0/6)	0 (0/6)	0 (0/6)	50 (3/6)	50 (3/6)
15. uyarı	0 (0/6)	0 (0/6)	0 (0/6)	0 (0/6)	100 (6/6)



7. TARTIŞMA

Agmatinin merkezi sinir sisteminde bulunmasından ve imidazolin reseptörlerine olan ilgisinin aydınlatılmasından sonra, imidazolin reseptörlerinin endojen ligandı olarak anılmaya başlanmıştır. Daha sonraki çalışmalarda, periferde çeşitli bölgelerde birçok role sahip olduğu gösterilmiştir.

Agmatinin etkilerinin açıklanabilmesi için yapılan araştırmalar sonucunda yoğun bilgi sahibi olunmuştur. Hem periferdeki hem de merkezi sinir sistemindeki rolünün aydınlatılabilmesi için gösterilen efor halen devam etmektedir.

Literatür verileri incelendiğinde, merkezi sinir sisteminin çeşitli noktalarındaki lokalizasyonu, miktarı ve dışarıdan verildiğinde ulaşabildiği beyin bölgeleri, etki süresi ve farmakokinetiği ile ilgili bilgilere ulaşılabilmektedir.

Agmatin, glutamat reseptörlerinin bir alttipi olan NMDA reseptörü antagonistidir [67]. NMDA reseptörlerinin aktivasyonu, kalsiyumun içe alımı ile sonuçlanmaktadır; ayrıca nNOS da aktive edilir. [101]. Agmatin NMDA reseptör antagonistisi olmasının yanında NOS'un tüm izoformlarını da inhibe edebilmektedir [68]; bu etkinliğini doz bağımlı olarak meydana getirir. Agmatinin NMDA reseptörlerinde olduğu gibi, diğer reseptörlerle çalışan kalsiyum kanallarını, nikotinik reseptörlerdeki katyon kanallarını ve 5HT₃ reseptör kanalını da bloke ettiği bildirilmiştir [49,63]. Ayrıca, birçok çalışmada agmatinin nöroprotektif etkisinin varlığı gösterilmiştir [80,81].

Agmatinin yukarıdaki özelliklerinin göz önüne alınması, epilepsi modellerinde denenmesini gündeme getirmiş ve bu alanda birçok araştırma yapılmıştır. Bunlarda biri olan ve elektrokonvulsif yanıt oluşturan MES modelinde denenmiş Agmatin, elektroşokla oluşturulan büyük nöbetleri engellemiştir [89]; yine aynı çalışmada PTZ ile ortaya çıkan nöbetleri engelleyici etkisi olduğu da ortaya konmuştur.

Beyine i.c.v. glutamat uygulanması ile konvülsiyonların ortaya çıkarıldığı başka bir çalışmada yine antikonvülsan etkiler sergilemiştir [92]. Yine agmatinin, morfinin antikonvülsan dozlarının verilmesiyle ortaya çıkan antikonvülsif etkide sinerjistik olarak etkisi olduğu bildirilmiştir [90].

Çeşitli metodlarla oluşturulan konvülsiyonlara etkisi araştırılan agmatinin, kindling epilepsi modelinde ne gibi sonuçlar getireceğini öğrenmek için planladığımız çalışmamızda, hem akut hem de kronik olarak uyguladık. Bu sırada agmatinin akut etkisinin takip edilen nöbet evreleri ve nöbet sürelerinde bir etkisini saptayamadık. Ancak, epileptogenez çalışması sırasında 100mg/kg agmatin verilen deneklerin ilk uyarıda ard deşarj süresini arttırdığını ve 100 mg/kg agmatin verilen deneklerin 6. ve 9. uyarıları sırasında diğerlerine göre daha şiddetli nöbet geçirdiğini izledik. Bu, nöbetin daha hızlı ve daha çok beyin bölgesine yayıldığını ifade etmektedir.

Daha önce yaptığımız ön çalışmada kullandığımız sıçan türü olan Sprague Dawley’lerde Agmatin uygulaması antikonvülsif olarak etki etmişti. Bu etkinin saptanması üzerine planlanan çalışmanın devamında ise Wistar tipi sıçanlar kullanılmıştır. Bize göre bu “tür” farklılığı, etkinin sergilenmesinde de farklılık göstermiştir. Bu yeni durum karşısında incelenen literatür bilgilerinde benzer farklılıkların bildirildiği görülmüştür. Örneğin, erkek Wistar sıçanları, erkek Sprague Dawley sıçanlarına göre genellikle daha çok stimulasyona ihtiyaç duymaktadır. Cinsiyet olarak ta dişi Wistar sıçanları erkek Wistar sıçanlarına göre BLA stimulasyonlarına daha az duyarlıdır. Bu yüzden sıçan cinsiyet ve türü BLA kindling modelini etkileyebilir [102]. Biz deneyimizde her iki cinsiyetten Wistar Albino sıçanları kullandık. Tür farkı sonuçlarımızı etkilemiş olabilir.

Glutamatın nöbet gelişimine ve nöbet ortaya çıkarmasındaki rolüne dayanarak glutamat reseptör antagonistlerinin antikonvülsif etkili olabileceği mantıklı bir strateji olarak düşünülmüştür. Fakat, yarışmalı ya da yarışmasız NMDA reseptör antagonistlerinin ilk klinik denemelerinde sağlıklı gönüllülerde, antikonvülsan etki göstermeden ağır nörotoksik advers etkilere yol açtığı gösterilmiştir. NMDA reseptör antagonistleri, odaksal nöbet aktivitesine etki etmemekte ve zayıf olarak nöbetin ikincil jeneralizasyonunu azaltmaktadır. Bu bilgiler ışığında NMDA reseptörleri tamamen kindled hayvanların nöbetlerinde kritik rol oynamamaktadır [28,103,104,105,106,107]. Morimoto ve ark. NMDA reseptör antagonisti AP-5’i amigdala kindled hayvana mikroenjekte etmişler ve nöbet evrelerinde ve AD sürelerinde herhangi bir belirgin etki bulamamışlardır [29]. Agmatinde NMDA reseptörleri üzerinde antagonist etki göstermesinden dolayı akut ve kronik uygulamanın ardından AD sürelerine etkisiz çıkmış olabilir.

Kindling nöbetlerinde beyinde NOS aktivitesinin amigdala da çok arttığı bilinmektedir [108]. Endojen NO'in nöbetlerdeki rolü belirsizdir, nöbet duyarlılığının modülatörüdür. Farklı epilepsi modellerinde antikonvülsan ve prokonvülsan etki ortaya çıkarmaktadır [98,99,109,110].

NOS inhibitörlerinin etkileri nöbet modellerine ve deneyde kullanılan hayvan türlerine göre değişmektedir. Spesifik olmayan NOS inhibitörü L-NAME kainat kaynaklı nöbetleri Wistar hayvanlarında değil Sprague Dawley sıçanlarında potansiyelize etmiştir. Seçici nöronal NOS inhibitörü 7-nitroindazol (7-NI) pentilentetrazol ve kainat ile oluşturulmuş nöbetleri etkilememiştir [112,113]. 7-NI 100 mg/kg i.p. dozuna kadar uygulanmış amigdala kindling modelinde nöbet şiddetine, nöbet süresi ve nöbet ard deşarj süresine anlamlı hiç bir etkisi olmamıştır [114]. Agmatin NOS'un her 3 izoformunu inhibe edebilen bir maddedir. Diğer maddelerde temel farkı NOS'un endojen inhibitörü olarak kabul edilmesidir. Agmatin düşük dozda farelere uygulanan PTZ modelinde miyoklonik sıçramaların başlama süresini azaltırken yüksek dozda arttırmıştır. Sadece yüksek dozda evre 5 görülme yüzdesini arttırmış ve sağkalım yüzdesini de düşürmüştür, sonuç olarak PTZ ile indüklenen nöbeti şiddetlendirmiştir [115]. Bizim deneyimizin sonuçları Kan Bilge'nin yüksek lisans tezi sonuçları ile benzerlik göstermektedir.

Epilepsi hastalığında düşük kan şekeri de epilepsi nöbetlerine yol açabilmektedir. Agmatin, pankreatik β hücrelerinden insülin sekresyonunu arttırmak suretiyle kan şekerini düşürme potansiyeli olan bir maddedir [116]. Agmatin streptozotosin ile oluşturulmuş diyabetik sıçanlarda kan şekerini (0,05-1,5 μ mol/sıçan, i.c.v.) doz bağımlı olarak düşürmüştür, aynı zamanda agmatin streptozotosin ile oluşturulan diyabetik sıçanlarda plazma insülin miktarını değiştirmemiştir. Agmatinin glikoz düzenleyici etkisi insülininden bağımsız olduğu ileri sürülmüştür. Fakat (1 μ mol/sıçan, i.c.v.) dozunda normal hayvanların santral sinir sistemine verilince agmatin plazma glikoz seviyelerinde bir değişikliğe yol açmamıştır [117]. Agmatin 5 mg/kg dozunda 1 ay süre ile normal sıçanlara i.p. verilmesinin ardından kan glikoz değerlerine etki etmemiştir [118]. Agmatin (1.0 mg/kg) dozunda normal sıçanlara i.v. verildikten sonra yarım saat sonra bakılan kan şekeri düzeyinde de bir değişiklik yapmamıştır [119]. Bizim deneyimizde agmatin verildikten yarım saat sonra elektrik uyarısı ile nöbet tetiklenmiştir bu süre içerisinde agmatinin kan şekeri üzerine bir etkisi olmadığı düşünülmektedir.

Kindling, tekrarlayan deneyimlerin sonucu olarak davranışta ve hafızada kalıcı değişiklikler yapmaktadır. İlk önceleri, epilepsi modeli olmasından ziyade, öğrenme ve hafızanın fizyolojik modeli olarak kabul edilmekteydi. Kindling öğrenme ve hafıza için epilepsi ile aynı nöronal ağı kullanır, ikisinin de altında yatan kimyasal ve moleküler mekanizmalar süphesiz birbirleriyle ilişkilidir. Kindling'in ilerleyici doğası, en iyi kindling uyarılarının zaman içinde dağıldığı zamanda oluşmaktadır. Uyarılar arasında ne kadar uzun saat farkı varsa nöbet gelişimi de en üst seviyede olmaktadır. Eğer uyarılar zaman içerisinde çok yakın aralıklarla verirse nöbet gelişimi şiddetlenir [120]. Biz deneyimizde günde iki defa en az 4 saat ara ile stimulus verdik, belkide BLA kindling nöbetlerinin öğrenilmesini etkilemiş olabiliriz.

Sonuç olarak literatürde anti konvülsan etkili olduğu düşünülen agmatin bizim deneylerimizde epilepsi nöbetlerine akut etki etmemiş, kronik verildiğinde ise prokonvülsan etkili göstermiştir.

8 KAYNAKLAR

1. ENGEL J., Plum F., Gilman S., and J.B. Martin (eds), 1989. Causes of human epilepsy. In: Seizures and Epilepsy. Philadelphia. pp 112-134.
2. Ettinger A.B., 1994. Structural causes of epilepsy. *Neurologic Clinics* 12(1): 41 -56.
3. BRUTON C.J., 1988, The neuropathology of temporal lobe epilepsy., New York: Oxford UP.
4. MORİMOTO K., FAHNESTOCK M., RACİNE R. J., 2004 Kindling and status epilepticus models of epilepsy: rewiring the brain., *Progress in Neurobiology* 73: 1-60
5. JANZ, D., 1997, The idiopathic generalized epilepsies of adolescence with childhood and juvenile age of onset, *Epilepsia*. 38(1):4-11.
6. SHİN, CS. AND MCNAMARA J.O., 1994. Mechanism of epilepsy, *Annu. Rev. Med.* 45:379-89.
7. HARDMAN JOEL G., LIMBIRD LEE E. GILMAN ALFRED GOODMAN, 2001, *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis Of Therapeutics*. McGrawHill, New York, Chicago, San Francisco, Lisbon, London, Mexico city, Milan, New Delhi, San Juan, Seoul, Singapore, Sydney, Toronto 0-07-135469-7.
8. EŞKAZAN ESAT., 1975, Kompleks semptomatolojili parsiyel epilepsi ve lityum iyonu (klinik ve deneysel çalışma) Uzmanlık tezi, İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Nöroloji Kürsüsü.
9. ENGEL JR., J., 1996, Introduction to temporal lobe epilepsy, *Epilepsy Res.* 26: 141-150.
10. MİKKONEN M., SOİNİNEN H., KALVİANEN R., TAPIOLA T., YLİNEN A. VAPALAHTI, M. PALJARVI L., PİTKANEN A., 1998, Remodeling of. Neuronal circuitries in human temporal lobe epilepsy: increased expression of highly polysialylated neural adhesion molecule in the hippocampus and the entorhinal cortex, *Ann. Neurol.* 44: 923-934.
11. LOSCHER W., 2002, Animal models of epilepsy for the development of antiepileptogenic and disease-modifying drugs. A comparison of the pharmacology of kindling and post-status epilepticus models of temporal lobe epilepsy, *Epilepsy Res.* 50: 105–123.
12. GODDARD G.V., 1967, Development of epileptic seizures through brain stimulation at low intensity, *Nature*, 214, 1020-1021.
13. GODDARD G.V., MCINTYRE D.C., AND LEECH C.K., 1969, A permanent change in brain function resulting from daily electrical stimulation, *Experimental Neurology*, 25: 295-330.

14. RACINE R.J., 1972a. Modification of seizure activity by electrical stimulation. I. After-discharge threshold, *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 32: 269-279.
15. RACINE R.J., 1972b, Modification of seizure activity by electrical stimulation. II. Motor seizure., *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 32: 281-284.).
16. RACINE R.J., NEWBERRY F., BURNHAM W.M., 1975, Post-activation potentiation and kindling phenomenon, *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 393: 261-271.
17. PINEL J.P.J., VE ROVNER L.I., 1978, Experimental epileptogenesis: Kindling-induced epilepsy in rats, *Experimental Neurology*, 58: 190-202.
18. WADA J.A., SATO M. VE CORCORAN M.E., 1974, Persistent seizure susceptibility and recurrent spontaneous seizures in kindled cats, *Epilepsia*, 15: 465-478.
19. DENNISON Z., TESKEY G.C. VE CAIN D.P., 1995, Persistence of kindling: effect of partial kindling, retention interval, kindling site, and stimulation parameters, *Epilepsy Research*, 21: 171-82.
20. SATO T., YAMADA N., MORIMOTO K., UEMURA S., KURODA S., 1998, A behavioral and immunohistochemical study on the development of perirhinal cortical kindling: a comparison with other types of limbic kindling, *Brain Res.* 811: 122-132.
21. MCNAMARA, J.O., GALLOWAY, M.T., RIGSBEE, L.C., SHIN, C., 1984. Evidence implicating substantia nigra in regulation of kindled seizure threshold. *J. Neurosci.* 4: 2410–2417.
22. DERANSART C., LE B.T., MARESCAUX C., DEPAULIS A., 1998, Role of the subthalamo-nigral input in the control of amygdala-kindled seizures in the rat. *Brain Res.* 807: 78–83.
23. LI-HONG S., FEI LUO, DONALD J. WOODWARD, DAN C. MCINTYRE, JING-YU CHANG, 2007, Temporal sequence of ictal discharges propagation in the corticolimbic basal ganglia system during amygdala kindled seizures in freely moving rats, *Epilepsy Research* 73: 85—97.
24. UEDA Y., TSURU N., 1995. Simultaneous monitoring of the seizure-related changes in extracellular glutamate and gamma-aminobutyric acid concentration in bilateral hippocampi following development of amygdaloid kindling, *Epilepsy Res.* 20: 213–219.
25. KAURA S., BRADFORD H.F., YOUNG A.M., CROUCHER M.J., HUGHES P.D., 1995, Effect of amygdaloid kindling on the content and release of amino acids from the amygdaloid complex: in vivo and in vitro studies, *J. Neurochem.* 65: 1240–1249.

26. CROUCHER M.J., RUFFLE K.L., BRADFORD H.F., 1997, The effects of focal N-methyl-d-aspartate pretreatment on the parameters of amygdaloid electrical kindling, *Eur. J. Pharmacol.* 319: 207–213.
27. BENZON J., OKABE S., LINDVALL O., MCKAY R.D., 1999, Suppression of epileptogenesis by modification of N-methyl-D-aspartate receptor subunit composition, *Eur J Neurosci* 11: 916–922.
28. LOSCHER W., 1998. Pharmacology of glutamate receptor antagonists in the kindling model of epilepsy, *Prog. Neurobiol.* 54: 721–741.
29. MORIMOTO K., HOLMES K.H., GODDARD G.V., 1987, Kindling-induced changes in EEG recorded during stimulation from the site of stimulation. III. Direct pharmacological manipulations of the kindled amygdala, *Exp. Neurol.* 97: 17–34.
30. GREENWOOD R.S., FAN Z., MCHUGH R., MEEKER R., 2000, Inhibition of hippocampal kindling by metabotropic glutamate receptor antisense oligonucleotides, *Mol. Cell. Neurosci.* 16: 233–243.
31. SU H., SOCHIVKO D., BECKER A., CHEN J., JIANG Y., YAARI Y., BECK H., 2002, Upregulation of a T-type Ca²⁺ channel causes a long-lasting modification of neuronal firing mode after status epilepticus, *J. Neurosci.* 22: 3645–3655.
32. SUTULA T., KOCH J., GOLARAI G., WATANABE Y., MCNAMARA J.O., 1996, NMDA receptor dependence of kindling and mossy fiber sprouting: evidence that the NMDA receptor regulates patterning of hippocampal circuits in the adult brain, *J. Neurosci.* 16: 7398–7406.
33. BULSARA K.R., ISKANDAR B.J., VILLAVICENCIO A.T., SKENE J.H., 2002, A new millenium for spinal cord regeneration: growth-associated genes, *Spine* 27: 1946–1949.
34. SUEMARU S., SATO K., MORIMOTO K., YAMADA N., SATO T., KURODA S., 2000, Increment of synapsin I immunoreactivity in the hippocampus of the rat kindling model of epilepsy, *Neuroreport* 11:1319-1322.
35. PATRYLO P.R., DUDEK F.E., 1998, Physiological unmasking of new glutamatergic pathways in the dentate gyrus of hippocampal slices from entate-induced epileptic rats, *J. Neurophysiol.* 79: 418–429.
36. MORIMOTO K., SATO H., YAMAMOTO Y., WATANABE T., SUWAKI H., 1997, Antiepileptic effects of tiagabine, a selective GABA uptake inhibitor, in the rat kindling model of temporal lobe epilepsy, *Epilepsia* 38: 966–974.
37. MORIMOTO K., SANEI T., SATO K., 1993, Comparative study of the anticonvulsant effect of gamma-aminobutyric acid agonists in the feline kindling model of epilepsy, *Epilepsia* 34: 1123–1129.
38. LOSCHER W., 2002, Animal models of epilepsy for the development of antiepileptogenic and disease-modifying drugs. A comparison of the pharmacology of

- kindling and post-status epilepticus models of temporal lobe epilepsy, *Epilepsy Res.* 50: 105–123.
39. HALONEN T., NISSINEN J., PITKANEN A., 2001, Chronic elevation of brain GABA levels beginning two days after status epilepticus does not prevent epileptogenesis in rats, *Neuropharmacology* 40: 536–550.
 40. DURING M.J., SPENCER D.D., 1993, Extracellular hippocampal glutamate and spontaneous seizure in the conscious human brain, *Lancet* 341:1607–1610.
 41. DURING M.J., RYDER K.M., SPENCER D.D., 1995, Hippocampal GABA transporter function in temporal-lobe epilepsy, *Nature* 376: 174–177.
 42. HIRAO T., MORIMOTO K., YAMAMOTO Y., WATANABE T., SATO H., SATO K., SATO S., YAMADA N., TANAKA K., SUWAKI H., 1998, Time-dependent and regional expression of GABA transporter mRNAs following amygdala-kindled seizures in rats, *Brain Res. Mol. Brain Res.* 54: 49–55.
 43. LAMAS M., GOMEZ-LIRA G., GUTIERREZ R., 2001, Vesicular GABA transporter mRNA expression in the dentate gyrus and in mossy fiber synaptosomes, *Brain. Res. Mol. Brain Res.* 93: 209–214.
 44. COULTER D.A., 2001, Epilepsy-associated plasticity in gamma-aminobutyric acid receptor expression, function, and inhibitory synaptic properties, *Int. Rev. Neurobiol.* 45: 237–252.
 45. CLARK M., MASSENBURG G.S., WEISS S.R., POST R.M., 1994, Analysis of the hippocampal GABAA receptor system in kindled rats by autoradiographic and in situ hybridization techniques: contingent tolerance to carbamazepine, *Brain Res. Mol. Brain. Res.* 26: 309–319.
 46. TITULAER M.N., KAMPHUIS W., LOPES DA SILVA F.H., 1995, Long-term and regional specific changes in [3H]flunitrazepam binding in kindled rat hippocampus, *Neuroscience* 68: 399–406.
 47. PEREDERY O., PERSINGER M.A., PARKER G., MASTROSOV L., 2000, Temporal changes in neuronal dropout following inductions of lithium/pilocarpine seizures in the rat, *Brain Res.* 881: 9–17.
 48. BOUSQUET P., FELDMAN J., SCHWARTZ J., 1984, Central cardiovascular effects of alpha adrenergic drugs: Differences between catecholamines and imidazolines, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 230: 232-236.
 49. REGUNATHAN S., REIS D.J., 1996, Imidazolin receptors and their endogenous ligands, *Ann. Rev. Pharmacol. & Toxicol.*, 36: 511-544

50. LORTIE M.J., 1996, Agmatine, a bioactive metabolite of arginin, *J. Clin.Invest.*, 97: 413-420.
51. LI G., REGUNATHAN S., REIS D.J., 1995, Agmatine is synthesized by a mitochondrial arginine decarboxylase in rat brain, *Ann.N.Y. Acad. Sci.*, 763: 325-329.
52. REGUNATHAN S., YOUNGSON C., RAASCH W., WANG H., REIS D.J., 1996, Imidazoline receptors and agmatine in blood vessels: A novel system inhibiting vascular smooth muscle proliferation, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 276: 1272-1282.
53. REIS D.J., YANG X.C., MILNER T.A., 1998, Agmatine containing axon terminals in rat hippocampus from synapses on pyramidal cells, *Neurosci. Lett.*, 250: 185-188.
54. WALTER R., REGUNATHAN S., LI G., REIS D.J., 1995, Agmatine is widely and unequally distributed in rat organs, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 763: 330-334.
55. FENG Y., HALARIS, PILETZ J. E., 1997, Determination of agmatine in brain and plasma using high-performance liquid chromatography with fluorescence detection, *J. Chromatogr.* 691, 277-286.
56. HOLT, BAKER G.B, 1995, Metabolism of agmatine (clonidine-displacing substance) by diamine oxidase and the possible implications for studies of imidazoline receptors, *Prog. Brain Res.*, 106 187–197.
57. SASTRE M., REGUNATHAN S., REIS D.J., 1996, Agmatinase activity in rat brain: a metabolic pathway for the degradation of agmatine, *J. Neurochem.*, 67 1761–1765.
58. FENG Y., PILETZ J.E., LEBLANC M.H , 2002, Agmatine suppresses nitric oxide production and attenuates hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats, *Pediatr. Res.*, 52 606–611.
59. FENG Y., LEBLANC M.H., REGUNATHAN S., 2005 Agmatine reduces extracellular glutamate during pentylenetetrazole-induced seizures in rat brain: A potential mechanism for the anticonvulsive effects. *Neuroscience Letters* 390, 129-133.
60. OTEKA K., RUGGIERO D.A., REGUNATHAN S., WANG H., MILNER T.A., REIS D.J., 1998, Regional localization of agmatine in the rat brain: an immunocytochemical study. *Brain Res.*, 787: 1-14.
61. SASTRE M., REGUNATHAN S., REIS D.J., 1997. Uptake of agmatine into rat brain synaptosomes: possible role of cation channels, *J. Neurochem.*, 69. 2421-2426.
62. REIS D.J., REGUNATHAN S., 1998, Agmatine: an endogenous ligand at imidazoline receptors may be a novel neurotransmitter in brain, *J. Auton. Nerv. Syst.*, 72: 80-85.
63. REGUNATHAN S., REIS D.J., 1998, Agmatin: A novel neurotransmitter? *Adv. Pharmacol.*, 42:645-649.

64. REİS D.J., REGUNATHAN S., 2000 Is agmatine a novel neurotransmitter in brain?, Trends Pharmacol. Sci., 21: 187-193.
65. Lİ G., REGUNATHAN S., REİS D.J., 1995, Agmatine is synthesized by a mitochondrial arginine decarboxylase in rat brain, Ann.N.Y. Acad. Sci., 763: 325-329.
66. REGUNATHAN S., FEİNSTEİN D.L., RAASCH W., REİS D.J., 1995 Agmatine, decarboxylated arginine is localised and synthesized in glial cells, Neuroport, 6: 1987-1900.
67. YANG X., REİS D.J., 1997. Agmatin selectively blocks the NMDA subclass of glutamat receptor channels in cultured mouse hippocampal neurons, Soc. Neurosci. Abstr. 23, 1763.
68. GALEA E., REGUNATHAN S., ELİOPOULUS V., FEİNSTEİN D.L., REİS D.J., 1996, Inhibition of mammalian nitric oxide synthases by agmatine, an endogenous polyamine formed by decarboxylation of arginine, Biochem. J., 316: 247-249
69. REGUNATHAN S., PİLETZ J.E., 2003, Regulation of inducible nitric oxide synthesis in macrophages and astrocytes, Ann. NY. Acad. Sci., 1009: 20-29
70. RAASCH W, SCHAFFER U, CHUN J, DOMİNIAK P., 2001, Biological significance of agmatine, an endogenous ligand at imidazoline binding sites, Br J Pharmacol, 133:755– 80.
71. OLMOS G., DEGREGORİO-ROCASOLANO N., REGALADO M.P., GASULL T., BORONAT M.A., TRULLAS R., VİLLARROEL A., LERMA J., GARCÍA J.A. – WANG G., GORBATYUK O., DAYANİTHİ G., OUYANG W., WANG J., MİLNER T.A., REGUNATHAN S., REİS D.J., 2002, Evidence for endogenous agmatine in hypothalamo-neurohypophysial tract and its modulation on vasopressin release and Ca²⁺ channels, Brain Res. 932:25–36.
72. C. GONZALEZ, S. REGUNATHAN, D.J. REİS, C. ESTRADA, 1996, Agmatine is an endogenous modulator of noradrenergic neurotransmission in the rat tail artery, Br. J. Pharmacol. 119: 677–684.
73. ARICIOĞLU F.,REGUNATHAN S., PİLETZ ., 2003, Is agmatine an endogenous factor against stress?, Ann.NY.Acad. Sci., 1009: 127-132.
74. ARICIOĞLU F., ALTUNBAŞ H., 2003,Is agmatine an endogenous anxiolytic/antidepressant agent?, Ann. NY. Acad. Sci., 1009: 136-140.
75. KOLESNİKOV Y., JAİN S., PASTERNAK G.W., 1996, Modulation of opioid analgesia by agmatine., Eur. J. Pharmacol., 296: 17-22.
76. ARICIOĞLU-KARTAL F., UZBAY IT., 1997, Inhibitory effect of agmatine on nolxane precipitated abstinence syndrome in morphine dependent rats., Life Sci. 61: 1775-1781.

77. ARICIOĞLU F., MEANS A., REGUNATHAN S., 2004, Effects of agmatine on the development of morphine dependence in rats: potential role of cAMP system., *Eur. J. Pharmacol.*, 504: 191-197.
78. ARICIOĞLU-KARTAL F., REGUNATHAN S., 2002, Effect of chronic morphine treatment on the biosynthesis of agmatine in rat brain and other tissues., *Life Sci.*, 71: 1695-1701.
79. ARICIOĞLU F., PAUL I.A., REGUNATHAN S., 2004 Agmatine reduces only peripheral related behavioral signs, not the central signs, of morphine withdrawal in nNOS deficient transgenic mice., *Neurosci. Lett.*, 354: 153-157.
80. GİLAD G.M., GİLAD V.H., 2000, Accelerated functional recovery and neuroprotection by agmatine after spinal cord ischemiain rats., *Neurosci. Lett.* 296: 97-100.
81. KİM J.H., YENARİ M.A., GIFFARD R.G., CHO S.W., PARK K.A., LEE J.E., 2004, Agmatine reduces infarct area in a mouse n-model of transient focal cerebral ischemia and cerebral ischemia and protects culured neurons from ischemia-like injury. *Exp. Neurol.*, 189: 122-130.
82. ARICIOĞLU F., KÖRCEĞİZ E., BOZKURT A., ÖZYALÇIN S., 2003, Effect of agmatine on acute and mononeuropathic pain. *Ann. NY. Acad. Sci.*, 1009: 106-115,
83. KARADAĞ H.C., ULUGÖL A., TAMER M., İPÇİ Y., DÖKMECİ İ., 2003, Systemic agmatine attenuates tactile allodynia in two experimental neuropathic pain models in rats., *Neurosci. Lett.*, 339: 88-90.
84. FAİRBANKS C.A., SCHREİBER K.L., BREWER K.L. YU C.G., STONE L.S., KİTTO K.F., NGUYEN H.O., GROCHOLSKİ B.M., SHOEMAN D.W., KEHL L.J., REGUNATHAN S., REİS D.J., YEZİERSKİ R.P., WİLCOX G.L., 2000 Agmatine reverses pain induced by inflammation, neuropathy and spinal cord injury. *PNAS.*, 97: 10584-10589.
85. SANTOS A:R.S., GADOTTİ V.M., OLİVEİRA G.L., TİBOLA D., PAZCUK A.F., NETO A., SPİNDOLA H.M., SOUZA M.M., RODRÍGUES A.L.S., CALÍXTO J.B., 2005, Mechanisms involved in the antinociception caused by agmatine in mice., *Neuropharmacol.*, 48: 1021-1034.
86. HORVARD G., KEKESİ G., DOBOS I., SZIKSZAY M., KLİMSCHA W., BENEDEK G., 1999, Effect of agmatine on inflammation-induced thermal hyperalgesia in rats., *Eur.J. Pjarmacol.*, 368: 197-204.
87. REGUNATHAN S., FEİNSTEİN D.L., REİS D.J., 1999, Anti-proliferative and inflammatory actions of imidazoline agents., Are imidazoline receptors involved? *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 881: 410-419.

88. MCKAY BE, LADO WE, MARTÍN LJ, GALÍC MA, FOURNIER NM., 2002, Learning and memory in agmatine-treated rats., *Pharmacol Biochem Behav*, 72: 551–7.
89. ARICIOĞLU F., KAN B., YILLAR O., KÖRCEĞEZ E., BERKMAN K., 2003, Effect of agmatine on electrically and chemically induced seizures in mice., *Ann. NY.Acad. Sci.*, 1009: 141-146.
90. RIAZİ K., HONAR H., HOMAYOUN H., RASHİDİ N., KİANİ S., EBRAHİMKHANİ M.R., NOORİAN A.R., GHAFARİ K., JANNATİ A., DEHPOUR A.R., 2005, The synergistic anticonvulsant effect of agmatine and morphine: Possible role of alpha 2-adrenoceptors., *Epilepsy Research* 65: 33–40.
91. BENCE A.K., WORTHEN D.R., STABLES J.P., CROOKS P.A., 2003, An in vivo evaluation of the antiseizure activity and acute neurotoxicity of agmatine, *Behav. Brain Res.* 74: 771–775.
92. SU R.B., WEI X.L., ZHENG J.Q., LIU Y., LU X.Q., LI J., 2004, Anticonvulsive effect of agmatine in mice, *Pharmacol. Biochem. Behav.* 77: 345–349.
93. REYNOLDS I.J., 1990, Arcaine uncovers dual interactions of polyamines with the N-methyl-d-aspartate receptor, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 255: 1001–1007.
94. OLMOS G., DEGREGORÍO-ROCASOLANO N., REGALADO M.P., GASULL T., BORONAT M.A., TRULLAS R., VILLARROEL A., LERMA J., GARCÍA-SEVILLA J.A., 1999, Protection by imidazol(ine) drugs and agmatine of glutamate-induced neurotoxicity in cultured cerebellar granule cells through blockade of NMDA receptor, *Br. J. Pharmacol.* 127.
95. YANG X.-C., REIS D.J., 1999, Agmatine selectively blocks the NMDA subclass of glutamate receptor channels in cultured mouse hippocampal neurons, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 288: 544–549.
96. PELLETIER M.R., CORCORAN M.E., 1993, Infusions of alpha-2 noradrenergic agonists and antagonists into the amygdala: effects on kindling. *Brain Res.* 632, 29–35.
97. FLETCHER A., FORSTER E.A., 1988. A proconvulsant action of selective alpha-adrenoceptor antagonists., *Eur. J. Pharmacol.* 151, 27–34.
98. STARR M.S., STARR B.S., 1993. Paradoxical facilitation of pilocarpine induced seizures in the mouse by MK-801 and the nitric oxide synthesis inhibitor L-NAME. *Pharmacol., Biochem. Behav.* 45: 321–325.
99. THEARD M.A., BAUGHMAN, V.L., WANG, Q., PELLIGRINO, D.A., ALBRECHT, .F., 1995, The role of nitric oxide in modulating brain activity and blood flow during seizure., *Neuroreport* 6: 921–924.
100. DEMEHRİ S., HOMAYOUN H., HONAR H., RIAZİ K., VAFAİE K., ROUSHANZAMİR F., DEHPOUR A.R., 2003, Agmatine exerts anticonvulsant effect

- in mice: modulation by α 2-adrenoceptors and nitric oxide, *Neuropharmacology* 45: 534–542.
101. KATZUNG BERTRAM G., 2007, *Basic and clinical pharmacology Tenth Ed.*, Lange Medical publications, sayfa 314.
 102. BRANDT C., GLIEN M., POTSCHKA H., VOLK H., LOSCHER W., 2003, Epileptogenesis and neuropathy after different types of status epilepticus induced by prolonged electrical stimulation of the basolateral amygdala in rats., *Epilepsy Research* 55, 83-103.
 103. MCNAMARA J.O., RUSSELL R.D., RIGSBEE L., BONHAUS D.W., 1988, Anticonvulsant and antiepileptogenic actions of MK-801 in the kindling and electroshock models., *Neuropharmacology* 27, 563–568.
 104. SATO K., MORIMOTO K., OKAMOTO M., 1988, Anticonvulsant action of a non-competitive antagonist of NMDA receptors (MK-801) in the kindling model of epilepsy. *Brain Res.* 463, 12–20.
 105. GILBERT M.E., 1988, The NMDA-receptor antagonist, MK-801, suppresses limbic kindling and kindled seizures. *Brain Res.* 463, 90–99.
 106. YEN W., WILLIAMS J., BERTRAM E. H., KAPUR J., 2004, A comparison of three NMDA receptor antagonists in the treatment of prolonged status epilepticus. *Epilepsy Research* 59: 43-50.
 107. YOURICK D.L., REPASÍ R.T., RITTASE, B.W., STATEN L.D., MEYERHOFF J.L., 1999, Ifenprodil and arcaïne alter amygdala-kindling development. *European Journal of Pharmacology* 371: 147–152.
 108. TALAVERA E, MARTÍNEZ-LORENZANA G, CORKIDÍ G, LEON-OLEA M, CONDES-LARA M., 1997, NADPH-diaphorase-stained neurons after experimental epilepsy in rats. *Nitric Oxide*; 1: 484-93.
 109. NIDHÍ G., BALAKRISHNAN S., PANDHÍ P., 1999, Role of nitric oxide in electroshock and pentylenetetrazole seizure threshold in rats, *Meth. Find. Exp. Clin. Pharmacol.* 21: 609–612.
 110. VAN LEEUWEN R., DE VRIES R., DZOLJIC M.R., 1995, 7-Nitro indazole, an inhibitor of neuronal nitric oxide synthase, attenuates pilocarpine-induced seizures. *Eur. J. Pharmacol.* 287: 211–233.
 111. KIRKBY RD, CAROLL DM, GROSSMAN AB, SUBRAMANIAM S., 1996, Factors determining proconvulsant and anticonvulsant effects of inhibitors of nitric oxide synthase in rodents, *Epilepsy Res.* 24: 91-100.

112. PRZEGALİNSKI E, BARAN L, SIWANOWICZ J., 1996, The role of nitric oxide in chemically and electrically induced seizures in mice. *NeurosciLett.* 217: 145-8.
113. PENIX LP, DAVIS W, SUBRAMANIAM S., 1994, Inhibition of NO synthase increases the severity of kainic acid-induced seizures in rodents. *Epilepsy Res*; 18: 177-84.
114. BOROWICZ KK, KLEINROK Z VE CZUCZWAR SJ., 2000, 7-Nitroindazole differentially affects the anticonvulsant activity of antiepileptic drugs against amygdala kindled seizures in rat, *Epilepsia* 41(9):1112-1118.
115. KAN BİLGE. Kimyasal ve elektriksel olarak oluşturulan epileptik nöbetlerde nitriderjik sistemin rolü. Yüksek lisans tezi. Marmara üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İstanbul, 2002.
116. MORGAN N.G., CHAN S.L., MOURTADA M., MONKS L.K., RAMSDEN C.A., 1999, Imidazolines and pancreatic hormone secretion, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 881: 217-228.
117. SHUO-BİN JOU, I-MİN LIU, JUEİ-TANG CHENG, 2004, Activation of imidazoline receptor by agmatine to lower plasma glucose in streptozotocin-induced diabetic rats, *Neuroscience Letters* 358: 111-114.
118. ÖZYAZGAN S., BİCAKCI B., OZAYDİN A., DENİZBASİ A., UNLUER E. E., AKKAN G.A. 2003, The effect of agmatine on the vascular reactivity in streptozotocin-diabetic rats. *Pharmacological research* 48: 133-138.
119. S.-L. HWANG . I.-M. LIU . T.-F. TZENG . J.-T., 2005, Cheng Activation of imidazoline receptors in adrenal gland to lower plasma glucose in streptozotocin-induced diabetic rats, *Diabetologia*, 48: 767-775.
120. MCINTYRE D. C., POULTER M.O., GILBY K., 2002, Kindling: some old some new, *Epilepsy research* 50: 79-92.
121. Eric L. Hargreaves. 2002. The Neuroplasticity Phenomenon of Kindling [online] New York University. <http://homepages.nyu.edu/~eh597/kindle.htm> [Ziyaret tarihi: 2 Mart 2007].
122. İ. Tayfun Uzbay., 2004., *Psikofarmakolojinin temelleri ve deneysel araştırma teknikleri*. Çizgi Yayınevi, Ankara, ISBN: 975-92384-5-4

9. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel bilgiler

Doğum yeri: İnegöl
Doğum tarihi: 24.07.1978
Yabancı dil: İngilizce
Adres: Eminalipaşa Cad. Elif Apt. 117/20 Bostancı İstanbul
e-posta: drakinkose@yahoo.com

Eğitim bilgileri

İlköğretim Nurettin Ersin İlköğretim Okulu, Ankara
Orta öğretim Gazi Anadolu Lisesi, Ankara
Yüksek öğretim İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi
Mezuniyet sonrası 2003–2007 İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi
Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji A.b.D.,
Uzmanlık öğrencisi.