



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**PENTİLENTETRAZOL İLE OLUŞTURULAN KİNDLİNG
EPİLEPSİ MODELİNDE AGMATİNİN ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

ZÜLAL AĞALAR
YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Feyza ARICIOĞLU

İSTANBUL-2008

TEZ ONAYI

Kurum : Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Programın seviyesi : Yüksek Lisans (X) Doktora ()

Anabilim Dalı : Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji

Tez Sahibi : Zülal Ağalar

Tez Başlığı : Pentilentetrazol ile oluşturulan kindling epilepsi modelinde agmatinin etkisinin araştırılması

Sınav Yeri : Farmakoloji Anabilim Dalı Seminer Salonu

Sınav Tarihi : 09.10.2008

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

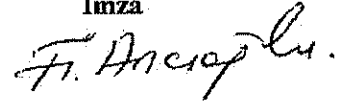
Danışman (Unvan, Adı, Soyadı)

Prof. Dr. Feyza Arıcıoğlu

Kurumu

Marmara Üniversitesi

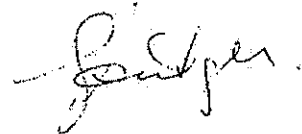
İmza



Sınav Jüri Üyeleri (Unvan, Adı, Soyadı)

Prof. Dr. Gül Dülger

Marmara Üniversitesi




Prof. Dr. Tijen Utkan

Kocaeli Üniversitesi



Yukarıdaki jüri kararı Enstitü yönetim Kurulu'nun 16.10.2008. tarih ve 10. sayılı kararı ile onaylanmıştır.


Prof. Dr. Sevim ROLLAS

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

10 / 19 2008

Zülal AĞALAR



D) TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim ve tez çalışmalarım boyunca her konuda yakın ilgi, anlayış, sabır ve büyük desteğini gördüğüm çok değerli hocam **Prof. Dr. Feyza Arıcıoğlu'na**, immünohistokimyasal çalışmaların yapılmasını sağlayan İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi öğretim üyeleri **Prof. Dr. Mehmet Kaya** ve **Doç. Dr. Candan Gürses'e**, öğrenimim süresince benden bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen değerli hocalarım Anabilim Dalı Başkanımız **Prof. Dr. Gül Ayanoğlu-Dülger'e**, **Prof. Dr. Göksel Şener'e**, **Doç. Dr. Levent Kabasakal'a**, laboratuvar çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen sevgili **Dr. Hale Zerrin Toklu'ya** ve **Dr. Ahmet Özer Şehirli'ye**, ders ve tez aşamasında benimle bilgi ve tecrübesini paylaşan ve hep destek olan sevgili arkadaşım **Elif Tatlıdede'ye**, tez aşamasında teknik desteğini esirgemeyen **Umut Güven'e**, manevi desteğini esirgemeyen arkadaşım **Bilge Sümer'e**, hayatım boyunca beni hep destekleyen, emek harcayan, sonsuz sabır ve anlayış gösteren başta sevgili annem **Sabahat Ağalar** ve babam **İsmail Ağalar** olmak üzere tüm aileme teşekkür ederim.

II) İÇİNDEKİLER

I) TEŞEKKÜR	III
II) İÇİNDEKİLER	IV
III) KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ	VI
IV) ŞEKİL LİSTESİ	VIII
V) TABLOLAR LİSTESİ	IX
VI) RESİM LİSTESİ	X
1. ÖZET	1
2. SUMMARY	2
3. GİRİŞ VE AMAÇ	3
4. GENEL BİLGİLER	6
4. 1. Epilepsi	6
4.1.1. Epilepsinin tanımı	6
4.1.2. Epilepsinin tarihçesi	7
4.1.3. Epilepsinin sınıflandırılması	8
4.1.4. Epilepsinin etiyolojisi	9
4.1.5. Epilepsinin patofizyolojisi	10
4.1.5.1. GLUerjik aktivitede artma	12
4.1.5.2. GABAerjik aktivitede azalma	13
4.1.5.3. Yeni nöronal dengelerin oluşması	16
4.1.6. Epilepside kullanılan deneysel hayvan modelleri	21
4.1.6.1. Kindling kaynaklı epileptogenez hipotezi	25
4.2. Agmatin (Guanido Butanolamin)	28
4.2.1. Sentez ve salınımı	28
4.2.2. İnaktivasyonu	30

4.2.2.1. Enzimatik parçalanma	30
4.2.2.2. Geri-alınım	31
4.2.3. Reseptörlerle etkileşimi ve biyolojik etkileri	32
5. GEREÇ ve YÖNTEMLER	36
5.1. Kimyasal Maddeler	36
5.2. Deney Hayvanları	36
5.3. Agmatinin Epileptogenezdeki Etkisinin Araştırılması	36
5.3.1. PTZ kindling modeli ve deney grupları	36
5.3.2. İmmünohistokimyasal değişikliklerin araştırılması	37
5.3.2.1. Perfüzyon fiksasyonu	37
5.3.2.2. İşaretleme	38
5.4. İstatistik Yöntemi	39
6. BULGULAR	40
6.1. Davranış Deneyinin Sonuçları	40
6.1.1. PTZ-kindling doz belirleme	40
6.1.2. Nöbet evrelerinin değerlendirilmesi	41
6.1.3. Nöbet sürelerinin değerlendirilmesi	43
6.2. İmmünohistokimya Deneylerinin Sonuçları	44
7. TARTIŞMA ve SONUÇ	48
8. KAYNAKLAR	55
9. ÖZGEÇMİŞ	67
10. ETİK KURUL ONAY RAPORU	68

III) KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

AD	: Art deşarj
ADC	: Arjinin dekarboksilaz
AMPA	: Alfa-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolpropiyonat
AP-1	: Aktivatör protein-1
BDNF	: Beyin kaynaklı nörotrofik faktör
BLA	: Bazo lateral amigdala
BNZ	: Benzodiazepin
cAMP	: Siklik adenzin mono fosfat
EEG	: Elektroensefalografi
EPSP	: Eksitatör post sinaptik potansiyel
GABA	: Gama-amino butirik asit
GAD	: Glutamik asit dekarboksilaz
GDNF	: Glial hücre dizisi kaynaklı nörotrofik faktör
GFAP	: Glial fibriler asidik protein
GLT-1	: Glutamat transporter
GLU	: Glutamat
I	: İmidazolin reseptörü
i.c.v.	: İntraserebroventriküler
i.p.	: İnteraperitoneal
IEG	: Immediate-early gene
iNOS	: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
İPSP	: İnhibitör post sinaptik potansiyel
KBB	: Kan-beyin bariyeri
LHRH	: Lüteinize edici hormon salıverici hormon
L-NAME	: Nω-Nitro-L-Arjinin metil ester
MES	: Maksimal elektrokonvülsif şok
mGluR	: Metabotropik glutamat reseptörü
MSS	: Merkezi sinir sistemi
Na ⁺ /K ⁺ -ATPaz	: Sodyum/potasyum-ATPaz

NGF	: Sinir büyüme faktörü=Neuro growth factor
NMDA	: N-Metil-D-Aspartat
nNOS	: Nöronal nitrik oksit sentaz
NO	: Nitrik oksit
NOS	: Nitrik oksit sentaz
NT-3	: Nörotrofin 3
ODC	: Ornitin dekarboksilaz
PBS	: Fosfatla tamponlanmış tuzlu su çözeltisi=Phosphate buffer saline
PTZ	: Pentilentetrazol
SF	: Serum fizyolojik
TLE	: Temporal lobe epilepsi

IV) ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: Agmatinin sentez ve metabolizması	29
Şekil 2: Agmatinin etkileştiği reseptörler ve NO ilişkisi	32
Şekil 3: Agmatinin PTZ-kindling modelinde başlama süresine etkisi	43
Şekil 4: Agmatinin PTZ-kindling modelinde toplam nöbet süresine etkisi	44

V) TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1: Uluslararası Epilepsiyle Savaş Derneğinin epilepsi sınıflandırması	8
Tablo 2: Deneysel epilepsi hayvan modelleri	22
Tablo 3: PTZ dozunun miyoklonik kasılma (MKJ), evre 5 ve sağkalıma etkisi	40
Tablo 4: PTZ (40 mg/kg i.p. gün aşırı 24 gün) grubunda nöbet evrelerinin yüzdesi	41
Tablo 5: Agmatin+PTZ (120 mg/kg agmatin+PTZ (40 mg/kg i.p.) gün aşırı toplam 24 gün) grubunda nöbet evrelerinin yüzdesi	42

VI) RESİM LİSTESİ

- Resim 1:** Sıçanların beyin dokusunda hipokampal CA1 ve CA3 alanlarında c-fos immünohistokimya sonuçları 45
- Resim 2:** Sıçanların beyin dokusunda hipokampal CA1 ve CA3 alanlarında GFAP immünohistokimya sonuçları: 46
- Resim 3:** Sıçanların beyin dokusunda hipokampal CA1 ve CA3 alanlarında okludin immünohistokimya sonuçları: 47

1. ÖZET

Bu çalışmanın amacı endojen bir madde olan agmatinin epileptogenezdeki etkisini araştırmaktır. Agmatin merkezi sinir sisteminde (MSS) yaygın dağılım gösteren endojen bir maddedir ve çalışmalar nörolojik hastalıklarda önemli rolü olabileceğini düşündürmektedir. Agmatinin epilepsi etiyopatogenezindeki rolü ise henüz bilinmemektedir. Bu projede agmatinin kronik bir model olan pentilentetrazol (PTZ)-kindling modeli kullanılarak epileptogenezdeki muhtemel rolü ve ultrastrüktürel yapılara etkileri araştırılmıştır. Çalışmada kullanılan Wistar albino sıçanlar 4 gruba ayrılmış, gruplara serum fizyolojik, PTZ (40 mg/kg), agmatin (120 mg/kg) veya agmatin ve PTZ intraperitoneal (i.p.) olarak 12 kez gūnaşırı uygulanmıştır. Enjeksiyondan hemen sonra başlayarak 30 dakika boyunca oluşan nöbetler Racine'in skalasına göre değerlendirilmiştir. Hayvanlar dekapite edilmiş, perfüzyon fiksasyonu yapılarak beyinleri çıkarılmış ve c-fos, glial fibriler asidik protein (GFAP) ve okludin hipokampal alanlarda (CA1 ve CA3) immūnohistokimyasal olarak incelenmiştir. Agmatin tek başına gerek davranış gerekse immūnohistokimyasal parametreleri değiştirmemiştir. PTZ-kindling modelinde uygulandığında epileptogenez geciktirmiş, kısalmış olan nöbet başlama süresini uzatmış ve toplam nöbet süresini kısaltmıştır. PTZ-kindling oluşmuş hayvanların hipokampusunda (CA1 ve CA3) c-fos ve GFAP'ta dramatik bir artış meydana gelmiş, agmatin bu artışı engellemiştir. Okludin düzeylerinde ise kindling sadece hafif bir artışa sebep olmuş, agmatin tedavisi bunu tümüyle bloke edebilmiştir. Bu çalışmanın sonuçları bize agmatinin hem epileptogenezde rol oynayabileceğini hem de epilepsi sırasında gelişen ultrastrüktürel değişikliklere karşı hipokampusu koruyabildiğini göstermiştir. Dolayısıyla agmatinin dışarıdan verilmesi ya da endojen üretiminin kontrolü terapötik değer taşıyabilir.

Anahtar Sözcükler: Agmatin, konvülsiyon, c-fos, GFAP, okludin

2. SUMMARY

An investigation of effect of agmatine on pentylenetetrazole-induced kindling model of epilepsy

The aim of this study was to investigate the effect of agmatine, an endogenous substance, on epileptogenesis. Agmatine is widely distributed in central nervous system and research results indicate that it may have a significant role on neurological diseases. However, the effect of agmatine on epileptogenesis is not known yet. In this study, the possible role of agmatine on epileptogenesis and ultrastructural constitution was investigated by using pentylenetetrazole (PTZ)-induced kindling, a chronic model of epilepsy. In this study Wistar albino rats have been used and were divided into four groups. Saline, PTZ (40 mg/kg), agmatine (120 mg/kg) or agmatine and PTZ were administered intraperitoneally 12 times every other day. Seizures were assessed according to Racine's scale beginning just after the PTZ injections for 30 minutes. Rats were decapitated, their brains removed after perfusion fixation and c-fos, glial fibrillar acidic protein (GFAP) and occludin were investigated in hippocampal areas (CA1 and CA3) immunohistochemically. Agmatine, itself did not change both behavioural and immunohistochemical parameters. When it was administered with PTZ, it delayed the epileptogenesis, extended onset time and shortened total seizure time. C-fos and GFAP dramatically increased in hippocampus areas (CA1 and CA3) in PTZ-kindled group and agmatine treatment blocked this effect. PTZ-kindling caused a slight increase in occludin levels and agmatine treatment was found to be effective in blocking this effect. Results of this study showed that agmatine could play a role on epileptogenesis and also it can protect hippocampus against the ultrastructural changes which occurred during seizures. Therefore both exogenous supply of agmatine and the control of production of agmatine may have a therapeutic value.

Key Words: Agmatine, convulsion, c-fos, GFAP, occludin

3. GİRİŞ ve AMAÇ

Epilepsi, normal nörolojik işlevlerin bozulması sonucu oluşan tekrarlayan nöbetler ve bu nöbetler sırasında sıklıkla meydana gelen bilinç kaybı ile karakterize bir hastalıktır. Epilepsi uzun bir zaman dilimi içerisinde tekrarlayan nöbetlerin oluşumu ile karakterize kronik bir bozukluktur (83). Epilepsi “inme”den (stroke) sonra en yaygın gözlenen nörolojik hastalıktır. Dünya genelinde 50 milyondan fazla kişiyi etkileyen bu hastalığın genellikle akut veya kronik serebral hastalıklar sonucu geliştiği düşünülmektedir (144).

Günümüzde hala epilepsinin rasyonel bir tedavisinden söz etmek mümkün değildir. Epilepsi tedavisinde ana strateji bazı antikonvülsan ilaçlar ile MSS’nde 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 itrah 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, simetidın ve izoniazid gibi bazı önemli ilaç veya ilaç grupları ile etkileşmeleri epilepsi tedavisinde daha rasyonel yöntemlerin geliştirilmesini zorunlu kılmaktadır. Hastaların yarısından çoğunda nöbetler antiepileptik ilaç tedavisi ile azaltılabilmekle birlikte hastaların geri kalan kısmında görülen farmakorezistansın nedeni ve mekanizması hala tam olarak bilinmemektedir. Epilepsi nöbetlerinin kontrol edilebilmesi ile mortalite ve morbidite oranları düşecek, hastanın sosyal ve fiziksel yaşam kalitesi artacaktır. Bu nedenle spesifik etkili ve hasta tarafından daha kolay tolere edilebilen yeni ilaçların geliştirilmesi son derece önemlidir.

Kindling, elektriksel ya da kimyasal subkonvülsif uyaranların tekrar tekrar uygulanması ile oluşan konvülsif aktivitede progresif artış ile karakterizedir. Deney hayvanında uyaran jeneralize konvülsiyon oluşturuyor ise kindling tamamlanmış ve

bundan sonra bu anormal uyarılabilir durum kalıcı hale gelmiş demektir (32). Nöronal uyarılabilirlikteki kalıcı değişiklik sinaptik etkide plastik değişiklikler olduğunu düşündürmektedir (24). Hücrel 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. Kindling, epilepsi ve epileptogenezin deneysel modelini oluşturur (52,85). Kindling bir patolojik nöral plastisite formudur, elektriksel ya da kimyasal yöntemlerle beyin yolaklarının tekrarlayan aktivasyonu nöbet uyarılmasına karşı progresif bir hassasiyete yol açar (51). Elektriksel ve kimyasal uyaranlar kullanılarak kindling modeli oluşturulabilir (132). Elektriksel kindling kompleks parsiyel epilepsinin deneysel modelini oluştururken (86) kimyasal kindling için PTZ, FG-7142 ve pikrotoksin kullanılabilir (132). PTZ ile indüklenen kimyasal kindling kompleks parsiyel epilepsi modelini oluşturmaktadır (100,125).

Agmatinin konvülsiyon eşiği üzerine etkisinin araştırıldığı az sayıda çalışma vardır ve bunların tümü akut etkinin değerlendirildiği tek doz çalışmalarıdır. Agmatin düşük dozda akut PTZ modelinde miyoklonik kasılmaların başlama süresini kısaltırken yüksek dozda uzatmıştır. Sadece yüksek dozda evre 5 görülme yüzdesini artırmış ve sağkalım yüzdesini de düşürmüştür (70). PTZ'nin frontal kortekste glutamat (GLU) düzeyini 2-3 kez artırarak nöbet oluşturduğu ve akut tek doz agmatin uygulamasının bu artışı inhibe ederek antikonvülsan etki gösterdiği (44), maksimal elektrokonvülsif şok (MES) ve GLU ile indüklenen konvülsiyonlar üzerine antikonvülsan etki yaptığı, bu etkinin kısmen N-Metil-D-Aspartat (NMDA) reseptörleri üzerinden olabileceği (138), düşük doz morfinin antikonvülsan ve yüksek doz morfinin ise prokonvülsan etkisini bloke edebildiği (123), hem PTZ ile indüklenen nöbetleri hem de MES nöbetlerini doza bağımlı olarak baskılayabildiği (8), akut agmatin tedavisine bağlı bu etkinin kısmen α_2 adrenoreseptörler kısmen ise nitrik oksit (NO) aracılı olabileceği gösterilmiştir (27). Agmatin, intraserebroventriküler (i.c.v.) GLU verilmesi ile oluşturulan konvülsiyon modelinde de MES modelinde olduğu gibi tonik arka ayak ekstansiyonu yüzdesini anlamlı olarak azaltmıştır (138). Agmatinin tek başına MES üzerinde etkisinin olmadığı

ancak karbamazepin, lamotrijin, okskarbazepin, fenobarbital, fenitoin, topiramet ve valproat gibi antiepileptik ilaçların antikonvulsan etkisini artırdığı dolayısıyla agmatinin modölatör rolünün olabileceği (84) ve ayrıca alkol yoksunluk sendromu sırasında ortaya çıkan odiojenik nöbetleri baskılayabildiği gösterilmiştir (147).

Agmatinin akut veya kronik uygulanmasının ultraströktürel etkileri neredeyse hiç bilinmiyor. Literatürde agmatinin GFAP ve c-fos ekspresyonunu artırabileceğini gösteren birer çalışma vardır (107), okludin ekspresyonuna etkisiyle ilgili ise hiçbir yayına rastlanmamıştır.

Bu tez çalışmasında agmatinin epileptogenez üzerine etkisinin kronik bir model kabul edilen PTZ-kindling modelinde araştırılması ve kindling sırasında oluşan ultraströktürel değişikliklere olası etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

4. GENEL BİLGİLER

4. 1. Epilepsi

4.1.1. Epilepsinin tanımı

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 apseler gibi), beyin damarlarındaki bazı yapısal bozukluklar, genetik faktörler, doğum travmaları ve tümörler belli başlı epilepsi nedenleri arasında yer alır (34,40). Yaklaşık olarak vakaların % 70’inin nedeni bilinmemektedir (17). Epilepsi, MSS’nin bilinen en sık hastalıklarından birisidir, her yüz kişiden birinde oluşmaktadır (94). Gerçi epilepsi yaşamın herhangi bir zamanında meydana gelebilir de başlangıç sıklıkla çocukluk yaşlarında olmaktadır (68). Epilepsinin altında yatan nedenleri tedavi edemediğimiz için günümüzdeki farmakoterapinin amacı, nöbet sıklığını kontrol etmektir, epilepsinin altında yatan neden(ler)i tedavi etmek değildir (135). Epileptik hastaların yaklaşık olarak % 20-30’u anti-epileptik ilaçlara cevap vermemektedir, bu hastalar genellikle cerrahi tedavi için aday olmaktadır (60).

Epileptik nöbetler çoğunlukla parsiyel (fokal) ya da jeneralize olarak sınıflandırılırlar. Parsiyel nöbetlerin klinik özellikleri epileptik deşarjların kaynaklandığı yere göre değişmektedir. Buna göre motor, duyusal, 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.

4.1.2. Epilepsinin tarihçesi

Epilepsi oldukça sık görülen bir hastalık olup genel popülasyonda görülme sıklığı % 0.5-1 arasındadır (113). Epilepsi ile ilgili tarihi ilk bilgiye M.Ö. 2080 yılında yayınlandığı bildirilen Hammurabi Kanunları'nda rastlanmıştır. Bu kanunda ateş ile konvülsiyon arasında bir ilişki olduğu bildirilmiştir. Daha sonra Alkmelin ve Krolon M.Ö. 500 yıllarında epilepsi ile beyin arasında bir ilişki olduğunu bildirmişlerdir. Epilepsi konusunda ilk gerçek tanımı bundan 2400 yıl kadar önce Hippocrates'in yaptığı ve epilepsinin orijininin beyinden geldiğini bildirdiği bilinmektedir. İlk bilimsel tanımı 19. yüzyılda Huglings Jackson yapmıştır. Bu tanıma göre epilepsi, özellikle beyin gri cevherinde oluşan deşarjlardır. Daha sonra 1881 yılında Gowers epilepsiyi ilk kez sınıflandırmıştır. Caton 1875'te tavşan ve maymunların kafatasına elektrotlar takarak yaptığı çalışmalar sonucunda ilk defa beyinde birtakım elektriksel faaliyetlerin varlığını keşfetmiştir. Elektroensefalografi (EEG)'yi oluşturan potansiyelleri bulmuştur. 1929 yılında bir Alman psikiyatristi olan Hans Berger ilk defa insanlarda elektroensefalografi uygulamıştır. 1934'te Adrian ve Matthews elektrotlarla alınan EEG işaretlerini kuvvetlendirip kaydedilmesini sağlamışlardır. Daha sonra Gibbses spesifik EEG bulgularını ortaya koymuş ve epilepsi tanı ve tedavisinde önemli bir adım atılmıştır (97,83).

Epilepsi olgularında ilk sistematik tedavi 1857 yılında Sir Charles Locock tarafından potasyum bromür verilerek yapılmıştır. Bromidler 1912 yılına kadar tek antikonvülsif ilaç olarak kullanılmış fenobarbital'in sentezi ile etkin tedavi dönemine geçilmiştir. Sonra 1938'de epilepsi tedavisine difenilhidantoin, 1944'te trimetadion katılmıştır. Bugün modern antikonvülsanlarla epileptik nöbetlerin % 75-80'i kontrol altına alınabilmektedir. Epilepsi tedavisine cerrahi yaklaşımların katılımı ise 1800'lerin sonlarına doğru olabilmıştır (97,83).

4.1.3. Epilepsinin sınıflandırılması

Epilepsi bugüne kadar çeşitli şekillerde sınıflandırılmıştır. Son uluslararası sınıflandırma 1981 yılında yapılmıştır (113) (Tablo1).

Tablo 1: Uluslararası Epilepsiyle Savaş Derneğinin epilepsi sınıflandırması

Parsiyel (lokal, fokal) nöbetler: Bunlara lokal başlayan nöbetler adı da verilir.

Basit parsiyel nöbetler (Basit semptomatoloji gösteren ve bilinç bozulmasına neden olmayan kısmi nöbetler)

1. Motor belirtiler gösterenler (Jaksoniyen nöbetler bu gruptandır)
2. Somatoduyusal veya özel duyuşsal belirtiler gösterenler
3. Otonom sinir sistemine ilişkin belirti gösterenler
4. Psişik semptomlar gösterenler

Karmaşık (kompleks) parsiyel nöbetler (Karmaşık semptomatoloji gösteren ve bilincin bozulmasına neden olan kısmi nöbetler = temporal lop nöbetleri veya psikomotor nöbetler)

1. Basit kısmi nöbetler şeklinde başlayan sonra bilinç bozulukluğu olanlar
2. Başlangıçtan itibaren bilinç bozukluğu olanlar
 - a) Sadece bilinç bozukluğu gösterenler
 - b) İlave olarak otomatizmalar gösterenler

Sekonder olarak jeneralize olan parsiyel nöbetler

1. Basit kısmi nöbetlere sekonder olanlar
2. Kompleks kısmi nöbetlere sekonder olanlar

Jeneralize nöbetler: Bilateral olarak simetrik olan, lokal başlangıç göstermeyen

- A. 1. Absens (kesinti) nöbetleri (eski adıyla petit mal)
2. Atipik absens nöbetleri (Lennox-Gastaut sendromu dahil)
- B. Miyoklonik nöbetler
- C. Klonik nöbetler
- D. Tonik nöbetler
- E. Tonik-klonik nöbetler (eski adıyla grand mal)
- F. Atonik nöbetler

Sınıflandırılmamış epileptik nöbetler: Veriler tam değil veya yetersiz.

Epilepsilerin rasyonel bir tedavisi yoktur. Epilepsi tedavisinde ana strateji, bazı antikonvülsan ilaçlar ile MSS'nde 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 itrah 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 (38).

4.1.4. Epilepsinin etiyojisi

Etiyolojik yönden epilepsiler üç grupta incelenebilir (22):

- a) İdiyopatik epilepsiler (Primer jeneralize epilepsiler): Kalıtsal yatkınlık dışında bir neden gösterilemeyen, başka bir nörolojik hastalıkla korelasyonu olmayan epilepsilerdir. Çocukluk veya genç erişkinlik döneminde başlarlar. Bu türdeki hastaların nörolojik ve mental muayeneleri normaldir. Normal gelişim gösterirler.
- b) Kriptojenik epilepsiler: Semptomatik oldukları kabul edilen, fakat etiyojik nedeni ortaya konamayan epilepsilerdir. Bu gruptaki hastalar, idiyopatik epilepsi kriterlerine uymazlar.
- c) Semptomatik epilepsiler: Belli bir serebral bozukluğa bağlı olan veya en azından onunla ilişkilendirilen epilepsi grubudur. Bu grubun etiyojisinde pek çok neden sıralanabilir:
 - 1) Konjenital bozukluklar: Girus anomalileri (makrogiri, mikrogiri, polimikrogiri), korpus kallosum agenezisi, heterotopi (kortikal disgenезis) başta olmak üzere değişik konjenital malformasyonlar bunlar arasındadır.

- 2) Kafa travmaları: Doğum travmasından başlayarak her yaşta geçirilen kafa travmaları epilepsi etiyolojisi yönünden önemlidir. Özellikle ağır kafa travmaları ve bunlara bağlı fraktürler, hematomlar.
- 3) İnfeksiyonlar: İntrauterin infeksiyonlar, her yaşta geçirilen menenjit ve ensefalitler, kronik ve ağır otitis media, mastoidit vs.
- 4) Kitle lezyonları: Beynin primer ve metastatik tümörleri, apse ve kistler; buldukları yere, türüne ve büyüklüğüne bağlı olarak epilepsiye neden olabilirler.
- 5) Metabolik bozukluklar: Hipoglisemi, hiperglisemi, hipokalsemi, hiponatremi veya diğer elektrolit bozuklukları. Kronik böbrek yetmezliği, hepatik ensefalopati.
- 6) Toksik durumlar: Karbonmonoksit, kurşun, alkol, talyum ve çeşitli ilaç intoksikasyonları.
- 7) Vasküler lezyonlar: Arteriovenöz malformasyonlar, anevrizmalar. Geç yaştaki epilepsilerde serebrovasküler hastalıklar (enfarkt veya kanamalar)
- 8) Dejeneratif ve demiyelinize hastalıklar: Özellikle çocukluk yaşındaki epilepsilerde önemlidir.
- 9) Sistemik hastalıklar: Malign hipertansiyon, kollagen doku hasarları
- 10) MSS'nde inhibisyon yapan maddelerin ani kesilmesi (alkol, morfin, hipnotik ilaçlar vs.)
- 11) Yüksek doz fenotiazinler, nöroleptikler, trisiklik antidepressanlar ve santral serotonin reuptake inhibitörleri.

4.1.5. Epilepsinin patofizyolojisi

Epileptik deşarjların oluştuğu nöronlara epileptik nöron veya epileptojenik fokus denir. Epileptik nöbetlerin patofizyolojisi tam olarak bilinmemektedir. Ayrıca tüm epilepsi nöbetlerinde aynı patofizyoloji geçerli değildir. Epilepside özellikle eksitatör-inhibitör denge bozulması üzerinde durulmaktadır. İlginçtir ki temel inhibitör nörotransmitter olan gama amino bütirikasit (GABA) yine temel eksitatör olan GLU'dan sentezlenir. Dolayısıyla bu iki nörotransmitter arasındaki dengenin GABA aleyhine değişmesi epilepsinin temel mekanizmalarından biri kabul edilmektedir (74,61). Gerek deneysel hayvan modellerinde ve gerekse insanlarda

cerrahi olarak çıkarılan epileptojenik lezyonlarda benzer anormallikler bulunmuştur. GABA sentezinin inhibe edilmesi, salınımının engellenmesi veya postsinaptik bir reaksiyonun konvülsiyonları artırabileceği kabul edilir. Beyinde sinir terminallerinde GABA konsantrasyonlarında % 28'lik bir azalma konvülsiyonlara yol açar. Bu görüşü destekleyen birçok bulgu vardır: i) GABA sentezinde kullanılan temel enzim glutamik asit dekarboksilaz (GAD) ve B₆ vitamininden oluşan pridoksal fosfat koenzim rolü oynamaktadır. B₆ vitamini yetmezliğinde GABA miktarı da yetersiz kalacağından nöbet oluşabileceği bilinmektedir, ii) Parsiyel epilepsilerde o bölgede sinir terminallerinde GABA'da bir azalma gösterilmiştir, iii) Febril konvülsiyonlarda ve tedaviye dirençli nöbetleri olan hastalarda serebrospinal sıvı GABA konsantrasyonunun azaldığı bulunmuştur, iv) Amigdoloid nukleusa GABA transaminaz inhibitörlerinin verilmesi hayvanlarda nöbet oluşturur. GABA ve GLU dışında diğer aminoasitler de nöbet oluşumunda etkili olabilirler. Hem insan hem de deneysel epileptojenik lezyonlarda, glisin konsantrasyonunda artma, taurin, glutamin, glutamik asit ve aspartik asit düzeylerinde ise azalma gösterilmiştir. Epileptik nöbetlerin oluşmasında nörotransmitterler arası denge değişimi dışında reseptör sonrası olayların da rolü olabileceği düşünülmektedir. Postsinaptik hedef hücrelerde reseptörün aktive olması adenilat siklazı aktive ederek siklik adenozin mono fosfat (cAMP) oluşmasını sağlar. Hem deneysel hayvan modellerinde hem de insanlarda konvülsiyonlarda serebrospinal sıvıda cAMP düzeyleri artmış bulunmuştur. Bunun dışında oksijen, glikoz ve vücut pH'sı ile ilgili metabolizmadaki ekstrakranial veya jeneralize bozukluklar da nöbetlere yol açabilir (48).

Bugünkü bilgiler ışığında genel görüş 3 mekanizma üzerinde yoğunlaşmıştır:

- a) GLUerjik aktivitede artma,
- b) GABAerjik aktivitede azalma,
- c) Glia ve astrositlerin fonksiyonunun bozulmasıyla karakterize yeni nöronal döngülerin oluşması (35).

4.1.5.1. GLUerjik aktivitede artma

GLU memeli beynindeki başlıca uyarıcı nörotransmitterdir. GLU ve analogları nöronlar üzerinde güçlü depolarizan etkiye sahiptir. Kindling modelinde, ekstraselüler GLU miktarı amigdalada belirgin olarak artmıştır (146). Depolarizasyonla sağlanan presinaptik GLU salınımı, kindled epileptogenezde artmıştır (72). GLU reseptörleri, genellikle intrinsik katyon kanalları olan iyonotropik reseptörler ile membran iyon kanalları ve ikinci haberci üzerinde etkili G protein alt birimlerini modifiye ederek uyarılabilirliği etkileyen metabotropik reseptörler olarak sınıflandırılır. Alfa-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolpropiyonat (AMPA), NMDA ve kainat olmak üzere üç tip iyonotropik reseptör vardır. AMPA reseptörleri, GLU sinapslarından en hızlı eksitator post sinaptik potansiyel (EPSP)'lere aracılık ederler. NMDA reseptörleri ise yavaş EPSP'leri ve hem kimyasal hem de voltaja bağımlı kanallar ile Ca^{2+} akışına aracılık eder.

GLU reseptör alt tipleri, reseptör alt birimlerinin heteromerik birleşmesinden oluşur. İyonotropik GLU reseptörlerinden AMPA reseptörleri GluR1, 2, 3, 4 alt birimlerinden, kainat reseptörleri düşük afiniteli alt birimler GluR5, 6 ve 7 ve yüksek afiniteli KA1 ve 2 alt birimlerinden ve NMDA reseptörleri NR1, NR2A, 2B, 2C ve 2D alt birimlerinden oluşmaktadır. Farklı alt birimlerin çeşitli kombinasyonlar ile birleşmesi, farklı farmakolojik ve biyofizik özelliklere sahip heterojen reseptör protein topluluğuna yol açar. Örneğin; GluR2 alt biriminin yapısına katıldığı AMPA reseptörleri Ca^{2+} geçirmeyen kanal oluşturur. NMDA reseptör fonksiyonu için NR1 alt birimi gereklidir. NR2A-D alt birimleri reseptör duyarlılığını, kapı kinetiğini ve Ca^{2+} iletimini düzenler. GluR7'nin epileptogenezini azalttığı düşünülmektedir.

Metabotropik GLU reseptörlerinin (mGluR) özellikleri de alt birim 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 çalışmaları ve GLU salınımını azalttığı tahmin edilmektedir (94).

NMDA reseptörleri, kindling sırasında değişim göstermekte ve NMDA reseptör bağımlı EPSP'leri artırmaktadırlar. 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 kindlingde 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 (94). Fakat NMDA antagonistleri art deşarj (AD) sürelerini anlamlı olarak artırmaktadır. Aynı zamanda Benzgon ve ark. yüksek nöronal NR2D seviyesi olan farelerde, amigdala kindling gelişmesinde belirgin azalma tespit etmiştir (13). Bu sonuçlar, kindling gelişiminin NMDA reseptör aktivasyonuna dayandığını önermektedir.

Kindlingdeki ilerleyici nöbet gelişimi üzerine potent etkilerinin aksine, bu NMDA reseptör antagonistleri, kindled yapılmış hayvanlar üzerinde zayıf antikonvülsan etki göstermektedirler (81). 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 değişikliklere neden olmaktadır (91).

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 mGluR'nin selektif agonistlerinin amigdala kindled nöbetlerde hem antiepileptogenik hem de antikonvülsan etkileri vardır (94,56).

4.1.5.2. GABAerjik aktivitede azalma

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 MSS'nin başlıca inhibitör nörotransmitterlerindedir. 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, GABA_B reseptörleri ise 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.

GLU 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 oluşturmakta kullanılırlar. Bu maddeler ile oluşturulan kindling, muscimol ve progabid gibi selektif GABA agonistleri, GABA parçalanma inhibitörü vigabatrin, GABA geri-alım inhibitörlerinden SKF89976A ve tiagabin ile birlikte verildiklerinde nöbet aktivitesini baskılamaktadır (94). Sözü edilen GABA agonistleri, amigdala kindled yapılmış hayvanlarda potent antikonvülsan etki göstermektedir (93). Aksine, selektif GABA_B reseptör agonisti baklofen, sistemik ya da intra-amigdala enjeksiyonunun ardından sadece zayıf antikonvülsan etki ortaya çıkarmıştır (91,92). Baklofen interiktal deşarjları artırmıştır (92). Gerçi, GABA agonistlerinin de dahil olduğu antiepileptik ilaçların birçoğu, status epileptikus ardından uygulanırsa epileptogenez gelişmesini önleyememektedir (82). 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 (59). 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 Ca²⁺ bağımlı GABA salınımı kindling ardından artmıştır (72).

Hipokampal mikrodializ çalışmaları, kindled nöbetleri sırasında yetersiz ekstraselüler GABA konsantrasyonlarını ortaya koymaktadır. Bu nöbetler boyunca GABA seviyesi, temel seviyesinden yaklaşık % 250-350 gibi bir oranda artarken, GLU seviyeleri % 550-650 artmaktadır (146). Bu insan temporal lop epilepsi (TLE)'sindeki artışla uyumludur (30). Amigdala kindling'de nöbetler sırasında ekstraselüler GLU % 200-300 artarken GABA seviyesi % 67 azalmıştır (72). Doring ve ark. amigdala kindling ardından nöbet kaynaklı GABA salınımının iki farklı komponenti olduğuna dikkat etmiştir. Birincisi K^+ kaynaklı GABA salınımı, ikincisi de GLU kaynaklı GABA salınımıdır. K^+ kaynaklı GABA salınımı hipokampusta gerçekleşmektedir. GLU kaynaklı Ca^{2+} bağımsız GABA salınımı ise hipokampusta azalmaktadır (31). GABA salınımının azalmasının altında yatan neden tam olarak açık değildir. Bu konudaki teorilerden biri olan GABA taşıyıcılarının azalması, altta yatan faktörlerden biri değildir, çünkü kindled hayvanlarda GABA taşıyıcılarının arttığı birçok çalışmada gösterilmiştir (62,77). Sonuç olarak, bu bilgiler bize kindled nöbetlerinde GABA salınımının, GLU salınımını karşılamadığını ifade etmektedir.

GABA_A reseptörleri, α 1-6, β 1-3, γ 1-3, δ ve ϵ alt birimlerinin kombinasyonundan oluşan heteromerik protein kompleksidir. Alt birimlerin kompozisyonu farklı fonksiyonel ve farmakolojik özelliklerini ortaya çıkarır: α ve γ altbirimleri BNZ (benzodiazepin) ve çinko duyarlılığını belirler. β alt birimi kanal özelliklerini, BNZ efikasitesini ve GABA afinitesini belirler (25). Bu alt birimlerden α 4, β 1 ve β 3 mRNA ekspresyonlarının amigdala kindling ardından dentat girusta arttığı gösterilmiştir (23). GABA aracılı inhibisyon, GABA_A/BNZ reseptörlerinin sayısını değiştirir. Birçok çalışma, GABA_A/BNZ reseptörlerinin kindling ardından piriform kortekste arttığını göstermektedir. [³H]Flunitrazepam'ın bağlanması kindled amigdala, hipokampusta ve dentat girusta artmıştır (145).

Epilepsi nöbetlerinin oluşmasında tüm bunların yanında önemli derecede nöron kaybı olmaktadır ve bu konudaki önemli çalışmalardan biri Peredery'nin pilocarpin ile çalışmasıdır (105). Bu çalışmada nöronal kaybın çok geniş olduğu, en erken değişikliklerin 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 (94).

4.1.5.3. Yeni nöronal döngülerin oluşması

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 (140). Nöronal filizlenmenin bir başka göstergesi 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 (18,139). Yosunsu lif filizlenmesinin GLUerjik döngü yarattığı sanılmaktadır, bu döngüde AMPA reseptör aktivasyonu gereklidir ve NMDA reseptörleri ise kısmen katılmaktadır (103).

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 (94).

Epileptojenik odaktaki gliozisli hücreler, hücre dışı K^+ iyonlarını tamponlama kabiliyetleri bozulduğundan, hücre dışında K^+ iyon artışına yol açarak, nöronların uyarılabilme eşiğinin düşmesine ve epilepsi nöbetlerinin oluşmasına yol açmaktadır. Ayrıca epileptojenik bölgelerde sodyum/potasyum-ATPaz (Na^+/K^+ -ATPaz) aktivitesinin azalması nedeniyle hücre dışı K^+ iyon konsantrasyonu artmıştır. Bu şekilde nöronların uyarılması ve oluşan uyarının yayılması kolaylaşır. Bunun dışında deneysel modellerde de iyon akımı dengesinin bozulduğu bildirilmiştir. Na^+/K^+ -ATPaz'ın digoksin veya oubain gibi kardiyak glikozitlerle bloke edilmesi epileptiform deşarj ve nöbetler oluşturabilir. Epileptik nöronlarda Na^+/K^+ -ATPaz enziminde bir defekt oluşabileceği üzerinde de durulmuştur (29).

Glial hücreler uyarılmış hücreden çıkan aşırı K^+ 'u alır ve depolar. Ekstraselüler K^+ aktivasyonu glial absorpsiyon kapasitesini aşarsa nöbet oluşur. Nöbetler sınırlı kalabildiği gibi çeşitli bölgelere anormal aktivite şeklinde yayılabilir. Başka bir neden de yine glial regülasyon bozukluğu sonucu hücre dışı Ca^{2+} 'un azalmış olmasıdır. Bu durum sinaptik geçişin bozulmasına yol açar (48). Ayrıca ultrastrüktürel çalışmalarda epileptik nöronların dendritik çıkıntılarında azalma olduğu (dendritik deafferentasyon), epileptojenik fokusta yeni sinapslar oluştuğu, astrositlerin artmasıyla gliozis oluştuğu gösterilmiştir. MSS'nde zedelenmeyi takiben, astrositler doku kaybını çoğalarak doldurmaya çalışırlar. Ortaya çıkan glial skar dokusu fibriler gliozis olarak isimlendirilir. Bu süreçte astrositik yapısal bir protein olan GFAP sentezi zedelenmeye ikincil olarak artmaktadır. Nöron kaybı ile karakterize pek çok nörodejeneratif hastalıkta GFAP sentezi artmış olarak saptanmıştır (57).

Glial hücreler; astrositler, oligodendrositler, ependimal hücreler ve mikrogliyalardan oluşur. Astrositler glia hücreleri içinde sayısı en fazla olanıdır. Yapısal destek sağlar, onarım işlemlerinde ve metabolik değişimlerde görevlidir, kan-beyin bariyeri (KBB)'nin elemanıdır. Nöronları, kılcal kan damarları ve pia mater'e bağlar. Gri madde içinde yer alan protoplazmik astrositler ve beyaz madde içinde yer alan fibriler astrositler olmak üzere iki tipi vardır. Astrositler yıldız şekilli, küçük hücrelerdir. Sitoplazmalarında hücre uzantılarına doğru ilerleyen, GFAP'tan

oluşan glial iplik demetleri mevcuttur. Beynin parankimal incinme vakalarında astrositler, yoğun hücresel çıkıntılardan meydana gelmiş bir ağ oluşturur. Sitoplazmik incinmeye cevap olarak kendisinin başlıca hücre iskelet proteini olan GFAP sentezinin artışı eşliğinde şişebilir (55).

Astrositler birçok MSS hastalıklarının erken evresinde değişmiş morfoloji sergilerler ve 'reaktif' astrositler olarak adlandırılırlar. Reaktif astrositler akut ve kronik MSS hastalıklarının her ikisinde de GFAP ekspresyonunun up-regülasyonunda önemli rol oynar. Reaktif gliosis ilk olarak Virchow tarafından 19. yy'da tanımlanmıştır. Virchow nörosifilizli hastalarda normal görünümlü spinal kordun fibriler yapısında patolojik artma gözlemlemiştir. Reaktif gliosis, astrositlerin basınca karşı tipik cevabıdır, bunun fonksiyonel sonuçları hakkında bilgi yeterli değildir. Son çalışmalar astrositlerin Alexander hastalığı ve amiyotrofik lateral skleroz gibi çeşitli nörolojik hastalıklarda göze çarpan bir role sahip olduğunu göstermiştir. Astrositlerin reaktif değişimlerinin epilepsi ile özel bir ilgisi olduğu düşünülmüştür. Gliosisin derecesi posttravmatik epilepsi gelişiminin habercisidir. Bununla birlikte pek çok çalışma epilepside nöronların morfolojik değişimlerini göstermiş, GFAP ekspresyonunun açık biçimde up-regüle olduğu görülmüştür. GFAP up-regülasyonu hipertrofik astrositlerin göstergesidir. Epileptik odakları çevreleyen astrositlerin morfolojik değişimlerine nöronlardaki değişimler eşlik etmektedir. İnsan ve rodent (kemirgen) çalışmaları, epilepsideki reaktif astrositlerin glutamin sentetaz'a ek olarak GLU transporterı (GLT-1) down-regüle ettiğini göstermiştir. Bu durum astrositlerde aşırı salınma sonucu GLU artışına, nöron gruplarının senkronize depolarizasyonunun ya da paroksizmal depolarizasyon shift'lerinin tetiklenmesine yol açabilir. Nöbetler, nöronlardaki morfolojik değişimlerle birlikte astrositlerin yapı ve organizasyonunda kalıcı değişikliklere yol açmaktadır (98).

Astrosit ve glial aktivasyon nöbeti takiben oluşur ve epileptogenezde rol oynar. TLE modeli olan pilokarpin modeli nöbetleri takiben oluşan glial değişimlere bakmak için seçilmiştir, çünkü hipokampustaki morfolojik değişimler insandaki durumu taklit etmektedir. Hipokampustaki astrositik ve mikroglial değişimlere

sıçanlardaki pilokarpine bağılı nöbetlerin GFAP analizleri ile bakılmıştır. Nöbetten 1 gün sonra ve devamındaki 5 gün boyunca incelenmiş, GFAP-labeled astrositler gözlenmiştir (134). GFAP ekspresyonu, nörolojik hastalıklarda reaktif glia için iyi bir belirteçtir. Bu bulgular epileptik farelerdeki nöbet aktivitesinin hipokampal gliosis ile ilişkisini göstermektedir. Bununla birlikte hipokampal gliosis kompleks parsiyel nöbetlerin temel bulgusudur (133).

Bu değişiklikler sırasında değişebilen parametrelerden biri okludindir. KBB, beyni kanda dolaşan zararlı maddelerden ve toksinlerden korunurken serebral hücre fonksiyonları için gerekli besinlerin geçişine izin veren özelleşmiş karmaşık hücresel bir sistemdir. KBB yıkılımasının MSS patolojileri ile ilişkili durumlarda anahtar rol oynadığı düşünülmektedir. Beyin kapiller endotel hücreleri KBB'ni oluştururlar ve MSS'nin normal ekstraselüler çevresinin idamesini sağlamada esansiyel role sahiptirler. Beyin kapillerini oluşturan endotel hücreleri arasında tight junction denilen sıkı bağlantı bölgeleri bulunur ve devamlı bir bazal membrana sahiptir (58). Bu sıkı bağlantılar KBB endotel hücreleri arasında yüksek bir elektrik direnci oluştururlar bunun sonucunda paraselüler geçirgenliği azalır (20,58). KBB'ndeki bütünlüğün bozulması MSS'nde önemli etkilere sahiptir ve bariyer fonksiyonlarındaki değişiklikler çeşitli nörolojik hastalıklarla (inme, multiple sklerozis, Alzheimer hastalığı gibi) birliktelik gösterir (20). Okludin ise normal beyin damar yapısı içinde endotel hücrelerinde, bariyer bütünlüğünü sağlayan önemli sıkı bağlantı proteinleridir. Okludin beyin endotelinde yüksek düzeyde bulunmakta iken nöronal olmayan dokularda düzeyi düşüktür. Okludin artışı, artmış bariyer fonksiyonlarını göstermektedir (2,20).

Bu değişiklikler sırasında hücrede herhangi bir uyarana karşı ilk yanıt veren genlerden kabul edilen c-fos da artar (Immediate-Early Gene, IEG veya Early Responses Gene, ERG). Bu nedenle bu gruba giren genler hücre büyümesi (growth), çoğalması (proliferasyon), farklılaşması (differansiasyon) ve hücrenin programlı ölümü (apoptosis) ile ilgili transkripsiyon faktörleridir (124). c-fos geninin transkripsiyonu, hücreleri etkileyerek büyüme ve farklılaşmayı sağlayan çok sayıda etken tarafından hızla ve geçici olarak sağlanır, böylece bağımsız olarak yeni protein

sentezi meydana getirir. Bu nedenle bu genler protoonkojenler ve bunların ürünü olan proteinler de onkoproteinler olarak adlandırılırlar (45). Fos proteinleri (c-fos, Fos B, Fra 1 ve Fra 2) c-fos geninin ürünü olan çekirdek proteinleridir. Bunların hücredeki ekspresyonu herhangi bir etki olmaksızın görülebildiği gibi uyarılara yanıt olarak hücre aktivasyonu ile birlikte de artar. Fos proteinlerinin ekspresyonu tipik olarak geçicidir. Ancak bu ailenin bazı üyelerinin ekspresyonunun kronik stimülasyonlarla devamlı hale geldiği rapor edilmiştir. Bu Fos benzeri (Fos-like) proteinler Fra (kronik-Fos akrabası antijen) olarak adlandırılırlar. Fos proteinlerinin gelişimsel anomaliler nedeniyle protoonkojenlerin aşırı aktivasyonu ile yüksek düzeyde onkoprotein üretmelerine veya protoonkojenlerin anormal üretimine yol açan bir mutasyonla ilişkili olabileceği de ileri sürülmüştür (75).

c-fos bazı uyarı çeşitlerini takiben ilgili nöron topluluklarının çekirdeklerinde Fos proteinlerini uyarır (108). Bu yüzden c-fos gibi IEG'lerin ekspresyonunun MSS'nde nöronal aktiviteyi yansıtan bir model olduğu düşünülmekte (126) ve nöronal aktivite göstergesi olarak kullanılırlar (108). Bu özelliğinden hangi etkinin, MSS'ndeki hangi nöronlarda aktivite değişikliği yaptığının saptanmasında yani nöronal haritalanma yönteminde yararlanılır. Ancak nöronların tümü aktive edildikleri zaman gen eksprese etmedikleri, c-fos ekspresyonu eşliğinin nöronlar arasında farklı olabileceği ve c-fos ekspresyonu yokluğunun nöronal aktivite yokluğunu göstermeyebileceği ve c-fos ekspresyonundaki artışın da nöronal aktivite artışını göstermeyebileceği yönünde iddialar vardır (75). c-fos gibi IEG'lere NGF fonksiyonu için gereksinim olduğu bildirilmektedir (1). c-fos hücrelerin hücre dışı değişikliklere vereceği yanıtın büyüklüğünü saptamada da fonksiyonel bir gösterge olarak kullanılabilirdiği düşünülmektedir. c-fos'un transkripsiyonu bazı nörohormonal etkilerle kontrol edilir. Pek çok hücre dışı etkenin c-fos transkripsiyonunun hızlı ve geçici olarak artmasını sağlamasına karşın, bazı geçici, nöral ve hormonal stimülasyonla bu transkripsiyonun azaltılabileceğini gösteren çalışmalar vardır (75).

Tekrarlayan subkonvülsif dozlarda PTZ uygulanması ile oluşan nöbetlerin beyinde c-fos ekspresyonunu artırdığını gösteren çalışmalar vardır. Evre 3'e kadar nöbetler herhangi bir beyin bölgesinde belli bir c-fos ekspresyonuna neden olmaz.

Kortekste c-fos ekspresyonu 4. evreden sonra ve daha da fazla miktarda 5. evreden sonra gözlenir. Hipokampusta ise nöbetlerin c-fos'a neden olabilmesi için 5. evreye gelmesi gerektiği kabul edilir (37).

4.1.6. Epilepside kullanılan deneysel hayvan modelleri

İnsanlarda epileptik nöbetlerin tedavisi için yeni ilaç geliştirme çalışmalarının yapılmasına da önemli kısıtlamalar vardır. Bunun sonucu olarak deneysel epilepsi çalışmalarında birçok hayvan modeli geliştirilmiş ve kullanılmıştır. 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 beyne lokal uygulanması, beyinde 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 (36) (Tablo 2).

Epilepsi hayvan modelleri anormal (genellikle epilepsi ile ilişkili) ve normal beyin fonksiyonlarının temel nöronal mekanizmalarını incelemek için kullanılır. Hayvan modelleri, yeni tanı yaklaşımlarını tasarlamak, yeni antiepileptik ilaçların etkinliklerini ya da diğer yeni terapötik müdahaleleri test etmek için belirli bir biçimde oluşturulduğu için önemlidir.

Epilepside deneysel hayvan modellerinden bazıları, akut epileptik koşullar oluşturarak nöbet fizyopatolojisine (iktogenez) ait bilgiler verirken, diğer bir kısım modeller ise epilepsinin yerleşme sürecinin yani epileptogeneze ait mekanizmaların anlaşılmasına yardımcı olmaktadır. Epilepsinin mekanizmalarını ortaya koymak ve tedavisine yeni yaklaşımlar sağlamak amacıyla kullanılan bu deneysel modeller, insandakine benzer şekilde, jeneralize ve parsiyel nöbet modelleri olmak üzere ikiye ayrılırlar ya da akut ve kronik modeller olarak sınıflandırılabilirler (39).

Tablo 2: Deneysel epilepsi hayvan modelleri

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, odiyojenik 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

- PTZ, pikrotoksin, bikukulin, penisilin

Metabolik olaylar

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

Jeneralize absens (petit-mal) nöbet oluşturma

- Talamik stimülasyon, sistemik penisilin, gamahidroksibutirat
-

Akut olarak oluşturulan modeller daha çok iktogenez ve nöbet modeli olarak kabul edilirler. Akut modeller, sistemik veya topikal olarak konvülsan maddelerin uygulanmasıyla ya da elektrik stimülasyonu veya metabolik değişiklikler sonucunda ortaya çıkan geçici epileptiform aktiviteleri içerir. Kronik modeller ise genellikle yapısal lezyonlar veya tekrarlayan elektrik stimülasyonları ile oluşturulurlar ya da spontan genetik epilepsi modellerini içerirler (39).

Jeneralize modeller, kendi içlerinde, konvülsif ve konvülsif olmayan modeller şeklinde gruplara ayrılırlar. Konvülsif epilepsi modelleri içinde MES, farmakolojik modeller (lokal ve sistemik yoldan bikukulin, pikrotokisin, yüksek doz PTZ uygulaması) sayılabilir. Deneysel, absens tipi konvülsif olmayan nöbet kriterlerini taşıyan ve en çok kullanılan modeller ise felin jeneralize penisilin epilepsi modeli, farmakolojik modeller (gamahidroksibutirikasit, düşük doz PTZ uygulaması gibi) ve genetik hayvan modelleri olan GAERS (Genetic Absance Epileptic Rats from Strasbourg) ve WAG-Rij (Wistar albino Glaxo-Rijaveek) suşu sıçanlardır. Bu modeller içinde GAERS suşu sıçanlar absens epilepsisinin nörofizyolojik, farmakolojik ve davranışsal özelliklerinin hepsini bir arada bulundurmaktadır. 'Kindling', kainik asit ve topikal kobalt/alüminyum gibi metallerin lokal veya sistemik bir yoldan uygulanması parsiyel epilepsi modeli olarak kabul edilir (39).

Bu çalışmada bir kompleks parsiyel epilepsi modeli olan PTZ-kindling modeli kullanılmıştır. Kindling isim olarak, bir kıvılcımın çıraya uygulandıktan sonra bir ateşi tutuşturması ve nihayetinde gürleyen bir şenlik ateşi yakılmasıdır. Benzer olarak, bir kısa AD 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 modellerden biridir (64,156).

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 (51). Goddard beynin 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 (52). İlk uygulamalarda kindling yerleştirmede elektriksel etken kullanılırken daha sonra bazı MSS uyarıcısı kimyasallar da bu amaçla uygulamaya girmiştir. Kimyasal kindling amacıyla kullanılan maddeler arasında PTZ, kokain, lidokain, penisilin, karbakol gibi maddelerin sistemik ya da intraserebral kullanımı dikkati çekmektedir. Düzenli olarak subkonvülsif dozda PTZ uygulanması PTZ-kindling adını almaktadır. PTZ etki mekanizması tam olarak anlaşılabilmif değildir. Genel olarak pikrotoksinin bağlanma bölgesi olan postsinaptik klor kanalları ile bağlantılı GABA_A reseptörlerine bağlanarak reseptör blokajı yaparak etkili olduğu bilinmektedir. GABA ve diğer inhibitör nörotransmitterlerin etkisini azaltarak nöronların depolarizasyonunu kolaylaştırmaktadır. Ayrıca, kindling'in doğrudan hasar, dem 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 düşünülen AD eşiği azaltılması konusu üzerine yoğunlaşmıştır (110). Daha sonra kindling gelişmesini detaylı bir Şekilde tarif etmiş ve 5 farklı davranış evresine göre nitelendirmiştir (111).

Evre 1: Yüz ve ağız hareketleri (iğneme davranışı),

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

Evre 3: n ekstremitelerin bir ya da iki taraflı klonusu,

Evre 4: n 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 AD'ler dramatik olarak değişmekte, AD'lerin süresinde artma, genliğinde, diken sıklığında ve diken morfolojisinde değişiklikler gözlenmektedir

(111,112). Nöbet eşiği kindling sürecinde düşmektedir. Bir kere evre 5 jeneralize kindled hayvanlar oluştuktan sonra nöbet geçirebilme özelliklerini aylar boyunca korumaktadır (94).

Nöbetlerin MSS'nde nasıl yayıldığı, motor sistemin buna nasıl katıldığı ve konvülsiyonlara yol açtığı hem epilepsi patogenezini anlamada hem 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 oluşturamayabilirler (94). Nöbetin yayılma izlerini takip edebilmek için [¹⁴C]2-deoksiglikoz veya c-fos metodu uygulanabilir. c-fos, transkripsiyon faktörü Aktivatör protein-1 (AP-1) alt ünitesini (fos) kodlayan hızlı erken gendir. AP-1 birçok genin ekspresyonunu düzenleyen transkripsiyon faktörüdür. Aktivasyonla up-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. Tam kindling oluşmuş 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 yüksek oranda işaretlenmişlerdir (131).

4.1.6.1. Kindling kaynaklı epileptogenez hipotezi

Birinci aşama nöbet deşarjının başlamasıdır. Normal beyin limbik bölgesinin yüksek frekanslı uyarılması, presinaptik terminallerden sinaptik aralığa GLU ve GABA salınımında artışa yol açmaktadır. GLU 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.

İkinci aşama uyarılmış nöbet duyarlılığının gelişmesidir. AMPA ve özellikle NMDA reseptörlerinin uyarılması, intraselüler kaskatları tetikler ve sonuçta hem GLU hem de GABA sistemlerinde fonksiyonel değişiklikler başlar. Bu da sinaptik reorganizasyona 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 potansiyalizasyon, çeşitli beyin bölgelerinde gelişmektedir. Odaksal AD'ın komşu ve uzak beyin bölgelerine trans-sinaptik yayılmasını hem artırarak 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, hipokampal dentat girus ve piriform kortekste bir kompensasyon mekanizması olarak artmaktadır.

Üçüncü aşama uyarılmış nöbet duyarlılığının geç evresidir. Geç evrede, odaksal nöbet aktivitesi uzamış ve jeneralize olmuştur. Nörogenezis, 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 nöroplastisitede önemli rol oynamaktadır. BDNF, GDNF ve NT-3 daha çok nöronal uyarılabilirlik, nörogenezis ya da internöronal gelişmede rol oynamaktadır. Nörogenezis ve sinaptogenezis sadece yosunsu liflerde oluşmamakta, limbik önbeyinde de olmaktadır ayrıca sinaptofizin ile sinaptik terminal işaretlenmesi, piriform korteks ve hipokampusta da söz konusudur.

Dördüncü dönem interiktal evredir. Kindled epileptogenez interiktal periyodunda, amigdala, piriform ve korteks nöronları artan şekilde ateşlenmeye

yatkın hale gelmektedir. Sonuçta, limbik sistem ve ilişkili beyin yapılarında spontan interiktal deşarjlar meydana gelmektedir. Hipokampal 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/Nöropeptit Y içeren internöronal sinaptik terminal sayılarından kaynaklanmaktadır. Muhtemelen inhibitör internöronal sistemde artmış bir uyarılma vardır. Bu artmış inhibisyon interiktal deşarjların hipersenkronizasyonunu kolaylaştırmaktadır.

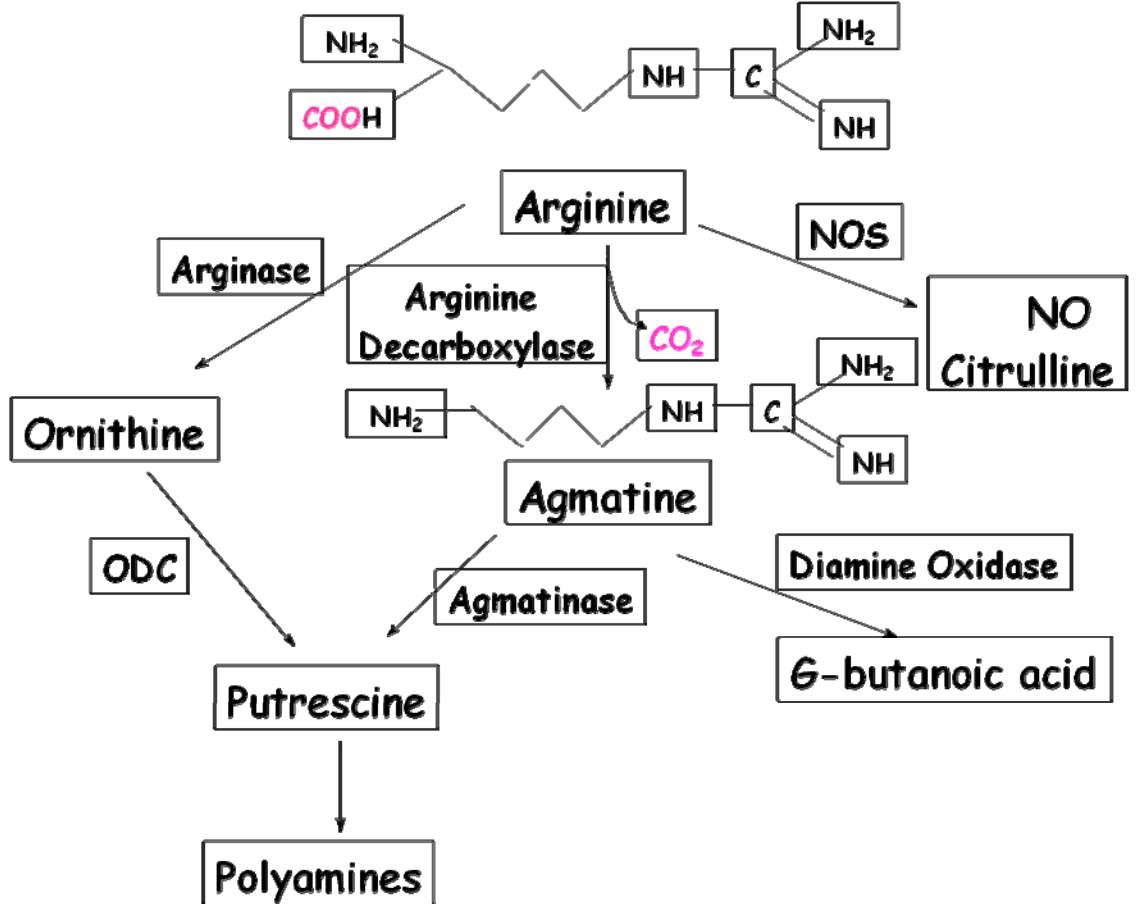
Beşinci dönem iktal evredir. Kindled hayvanlarda, uyarılma ya da GABA_A reseptör antagonistleri uygulanmasından sonra GABA aracılı inhibisyonda yetmezlik olursa, AD uzar ve birçok ağır inhibitör sistemin devre dışı kalması ve yeni oluşan uyarıcı döngünün sonucunda AD kompleks hale gelir. Bu yeniden modellenen epileptogenik döngü GLU ve GABA arasındaki dengesizlik olarak karakterize edilmektedir. Nöbet sırasında GLU salınımı belirgin şekilde artmaktadır. Aynı zamanda GABA salınımı ise aşırı depolarizasyonu baskılamakta yetersiz kalmaktadır. Artmış GLU salınımı birçok olayı tetiklemektedir. Örneğin, yeni terminal sayısının artması, artmış salınım ve azalmış presinaptik otoreseptör kaybı gibi. Odaksal nöbet aktivitesi perirhinal korteks, motor korteks, talamus, bazal ganglionlar ve beyin sapının dahil olduğu çoklu reorganize beyin döngüleri kullanarak, jeneralize olup motor nöbetler oluşturmaktadır.

Son dönem kindling sonrası ortaya çıkan spontan nöbetlerdir. Eğer standart evre 5 nöbetler ortaya çıktıktan sonra elektriksel stimulus verilmeye devam edilirse, stimulus sonrasında büyük nöbetler ve stimulus verilmediği dönemlerde de spontan nöbetler oluşmaya başlar, hipokampal skleroz gibi patolojiler oluşur. Bu spontan nöbetlerin oluşma nedeni büyük ihtimalle selektif inhibitör nöronların kaybıdır.

4.2. Agmatin (Guanido Butanolamin)

4.2.1. Sentez ve salınımı

Agmatin L-arjininden, arjinin dekarboksilaz (ADC) enzimi aracılığıyla sentezlenen bir amindir (Şekil 1). 1994 yılına kadar agmatin ve ADC'nin bitkiler, bakteriler, omurgasız hayvanlarda sentezlenip depolandığı, memelilerde ise sentezlenmediği düşünülmekteydi (80). 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 (79). 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 artırılmakta, 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 (116). Sinaptozomlarda ADC aktivitesine rastlanması, 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 (121). Diğer transmitterler gibi sinaptozomlardan depolarizasyonla Ca^{2+} bağımlı olarak salınmaktadır.



Şekil 1: Agmatinin sentez ve metabolizması. (122)

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 (150). Beyindeki konsantrasyonu düşük olmasına rağmen diğer nörotransmitterlerle karşılaştırılabilecek düzeydedir. Kromatografik analiz ile sıçan beyindeki agmatin 4.5 $\mu\text{g/g}$ olarak tespit edilmiştir (42). İmmünohistokimyasal çalışmalar, beyindeki agmatinin büyük bir kısmının nöronal olduğunu göstermektedir. Hipokampustaki nöronlar büyük ölçüde GLUerjik olduğu için bu sistem içinde agmatinin GLU ile birlikte yer aldığı düşünülmektedir (121). 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 beyne ulaşabilmektedir. Agmatinin beyne bu kadar düşük oranda ulaşabilmesinin nedeni, böbrek ve karaciğerde diamin oksidaz enzimi ya da

agmatinaz enzimi tarafından hızlı bir şekilde metabolize edilmesidir (63,128). Yenidoğan bebek sıçanlara periferik yoldan agmatin verildikten sonra, beyindeki toplam agmatin seviyeleri aşırı miktarda artar (43). Erişkin sıçanlarda ise, KBB gelişimini tamamladığı için, agmatinin beyne geçişi son derece küçük miktarlarda olur. Bu bilgiler bize in vivo çalışmalarda agmatin etkisini görebilmemiz için yüksek ve tekrarlayan dozlarda uygulamamız gerektiğini ifade etmektedir (44).

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 kortektir. Bunun haricinde astrositlerden hazırlanan hücre kültüründe, nöronal bağlantılı hücrelerde örneğin, adrenal kromafin hücrelerinde ve karotid cisimciği glomus hücrelerinde de agmatin varlığı gösterilmiştir (101).

4.2.2. İnaktivasyonu

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

4.2.2.1. Enzimatik parçalanma

Agmatinin enzimatik parçalanmasında rol oynayan enzim, agmatinaz (Agmatin üre hidrolaz)'dır. Bakterilerde ana metabolik yol, agmatinin bu enzim aracılığıyla putresin ve üreye dönüştürülmesidir. Çözünabilir (soluble) bir enzim olan agmatinazın memeli beyninde 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 (117). Putresinden spermin ve spermidin oluşur. Putresin, poliamin biyosentezinde metabolik bir prekürsör olduğu için, dolayısıyla agmatin de önemli moleküllerin metabolik prekürsörü durumundadır (Şekil 1). Bu nedenle agmatin-putresin kaskadının, memelilerde poliamin sentezi için

özel bir metabolik yolak olduğu düşünülmektedir (117,122). ADC ve agmatinin spesifik inhibitörlerinin bulunmaması agmatinin beyindeki fonksiyonunun araştırılmasını kısıtlamaktadır. Agmatinin yıkılmasını sağlayan bir diğer enzim ise diamin oksidaz enzimidir. Agmatin bu enzim ile G-bütanoik asite dönüşmektedir (120).

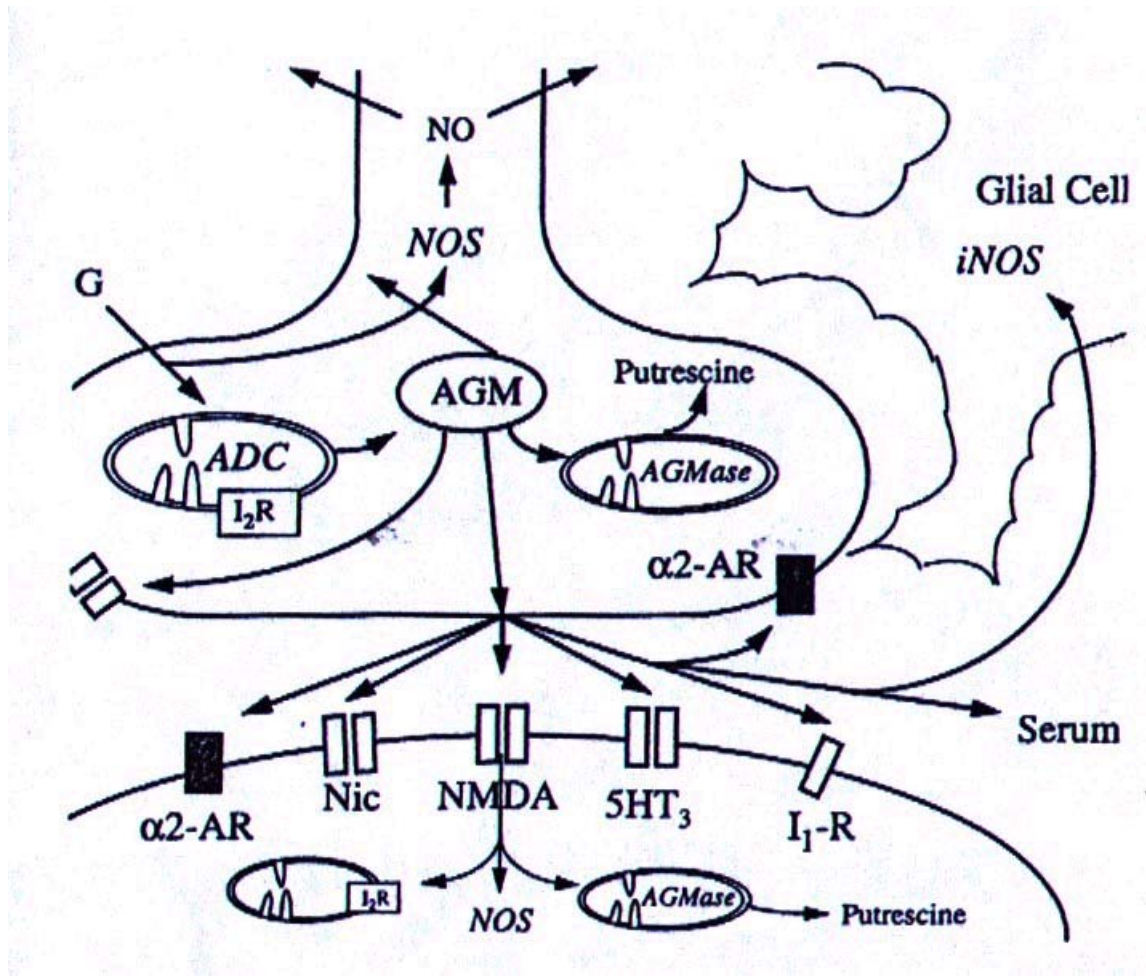
4.2.2.2. Geri-alınım

Geri-alınım çalışmaları, sıçan beyninden hazırlanan sinaptozomlarda radyoaktif işaretli agmatinin birikmesinin ölçümü ile yapılmıştır (129). Agmatinin geri-alınımı, sıcaklığa bağlıdır ve sadece yüksek konsantrasyonlarda doyumluğa ulaşabilir. Na^+/K^+ -ATPaz inhibisyonu ya da ekstraselüler Na^+ replasmanından etkilenmemektedir. Agmatinin taşıyıcılarına bağlanmak için yarışma şekli incelendiğinde geri-alınımının 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-alınımı poliaminlerden de farklıdır. Çeşitli iyon kanalı modülatörlerinden sadece Ca^{2+} kanal blokerleri bu geri alınımı inhibe eder. İdazoksan ve fentolamin gibi imidazolin reseptörleri ile etkileşen ilaçlar, geri-alınımın güçlü yarışmasız inhibitörleridir (120). 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 (120).

Agmatin, MSS'nde nörotransmitter/nöromodülatör kriterlerinin çoğunu göstermektedir. Örneğin, beyinde lokal olarak ADC aracılığı ile sentezlenmektedir (79). MSS'nde birçok nöronda depolanmaktadır (114). Akson uçlarındaki küçük veziküllerde bulunmakta ve hipokampusun presinaptik terminallerinde konsantre edilerek eksitator sinaptik aşırım yapmaktadır.

4.2.3. Reseptörlerle etkileşimi ve biyolojik etkileri

Agmatin, α_2 adrenerjik reseptörlere ve imidazolin reseptörlerinin bütün alt tiplerine (I_1 ve I_2) yüksek afinite ile bağlanır. Presinaptik α_2 reseptörler üzerinde agonist etki göstererek noradrenalinin salınımını inhibe ettiği düşünülmektedir (Şekil 2). Vücutta endojen olarak bulunan agmatinin, pek çok endojen ligand gibi agonist etki göstermesi olasıdır. I reseptörlerinin aktivasyonuna bağlı olarak meydana gelen sinyal transdüksiyonu ve hücresel yanıt tam olarak aydınlatılamadığı için, I_1 ve I_2 reseptörlerine bağlanan agmatinin fonksiyonel cevabı da tam olarak bilinmemektedir. Agmatin, α_1 ve β adrenerjik reseptörlere ise bağlanmamaktadır (120).



Şekil 2: Agmatinin etkileştiği reseptörler ve NO ile ilişkisi (120)

Sıçanların hipokampal piramidal nöronları üzerinde yapılan kültür çalışmalarında, bu nöronların veziküler agmatin taşıyan aksonlarca inerve edildiği gösterilmiştir. Agmatin ekstraselüler olarak bu kültür ortamına uygulandığında voltaja ve konsantrasyona bağlı olarak NMDA akımını engellediği saptanmıştır (153). AMPA ve kainat akımlarında ise bir değişiklik olmadığı görülmüştür. Buradan hareketle, agmatinin NMDA reseptörleri için selektif bir antagonist olduğu kanısına varılmıştır (120). Agmatin NMDA reseptörlerinin kalsiyum kanallarını bloke ederek antagonize eder (153). Ayrıca kolinerjik, nikotinik ve serotonerjik 5-HT₃ reseptörleri gibi iyonotropik reseptör kanallarını da bloke ettiği bildirilmiştir (109). Agmatinin nöroblastoma hücrelerinde serotonin ile ilişkili katyon kanalı aktivitesini de inhibe ettiği bilinmektedir (115,117) (Şekil 2).

Bütün bu reseptör etkileşimlerinin dışında agmatin, NOS (Nitrik oksit sentaz)'un bütün izoformlarını inhibe etmektedir (Şekil 2). En güçlü inhibisyonu ise iNOS (indüklenebilir nitrik oksit sentaz) üzerinde oluşturmaktadır (46). NOS, L-arjininin guanidin gruplarını oksitleyerek 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 (46). Agmatin, NOS'u doza bağımlı olarak inhibe eder ve enzimin katalitik bölgesine bağlanmak için L-arjinin ile yarışır. Afinitesi L-arjininden daha düşük olduğundan, etkili bir yarışma için L-arjininden daha yüksek konsantrasyonlarda bulunması gerekir. Ancak özellikle nNOS (nöronal nitrik oksit sentaz) sentezleyen nöronların katalitik bölgesinde, agmatin konsantrasyonunun fizyolojik olarak yeterli olduğu gösterilmiştir (121,119). 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 (46). Agmatinin, beyin ve böbrekte NO oluşumunu inhibe ederek NOS yolağını etkilediği bilinmektedir (121).

Serumda bulunan agmatinin ise glial hücelere girerek iNOS ekspresyonunu ve aktivitesini düzenlediği gösterilmiştir (119) (Şekil 2). 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 (115,117).

Agmatinin çoğu MSS üzerine olmak üzere birçok etkisi gösterilmiştir. Adrenal medullanın kromafin hücrelerinden adrenalın ve noradrenalin salınımını, pankreasın adacık hücrelerinden insülin salınımını, hipotalamustan lüteinize edici hormon salıverici hormon (LHRH) ve gastrin sekresyonunu uyarır, vazopressin salınımını inhibe eder (117,99,53). Morfine tolerans gelişimini engellediği, morfin yoksunluk sendromunun tüm semptomlarını baskıladığı gösterilmiştir (76,3,9,4,10). Davranışsal değişikliklerin bir kısmının da nNOS aracılığı ile olabileceği düşünülmüştür (10). Akut ağrı modellerinde hem spinal hem de supraspinal düzeyde analjezi sağladığı, nöropati gibi ağrı modellerinde termal ve mekanik hiperaljeziyi azalttığı ve ayrıca morfinin oluşturduğu analjezik etkiyi potansiyelize ettiği gösterilmiştir (76,41,127,6,71). Anksiyolitik, anti-stres ve antidepresan etki potansiyeline sahip olduğu, iskemide ve eksitotoksistide nöron kaybını azalttığı, damar düz kas hücrelerinin proliferasyonunu bloke ettiği gösterilmiştir (5,6,7,49,118).

Agmatinin konvülsiyon eşiği üzerine etkisinin araştırıldığı az sayıda çalışma vardır ve bunların tümü akut etkinin değerlendirildiği tek doz çalışmalarıdır. Agmatin düşük dozda akut PTZ modelinde miyoklonik kasılmaların başlama süresini kısaltırken yüksek dozda uzatmıştır. Sadece yüksek dozda evre 5 görülme yüzdesini artırmış ve sağkalım yüzdesini de düşürmüştür (70). PTZ'nin frontal kortekste GLU düzeyini 2-3 kez artırarak nöbet oluşturduğu ve akut tek doz agmatin uygulamasının bu artışı inhibe ederek antikonvülsan etki gösterdiği (44), MES ve GLU ile indüklenen konvülsiyonlar üzerine antikonvülsan etki yaptığı, bu etkinin kısmen NMDA reseptörleri üzerinden olabileceği (138), düşük doz morfinin antikonvülsan ve yüksek doz morfinin ise prokonvülsan etkisini bloke edebildiği (123), hem PTZ ile indüklenen nöbetleri hem de MES nöbetlerini doza bağımlı olarak baskıladığını (8), akut agmatin tedavisine bağlı bu etkinin kısmen α_2 adrenoreseptörler kısmen ise

NO aracılı olduğu gösterilmiştir (27). Agmatinin i.c.v. GLU verilmesi ile oluşturulan konvülsiyon modelinde de, MES modelinde olduğu gibi tonik arka ayak ekstansiyonu yüzdesi anlamlı olarak azalmıştır (138). Agmatinin tek başına MES üzerinde etkisinin olmadığı ancak karbamazepin, lamotrijin, okskarbazepin, fenobarbital, fenitoin, topiramet ve valproat gibi antiepileptik ilaçların antikonvülsan etkisini arttırdığı dolayısıyla agmatinin modölatör rolünün olabileceği (84) ve ayrıca alkol yoksunluk sendromu sırasında ortaya çıkan odiojenik nöbetleri baskılayabildiği gösterilmiştir (147).

Agmatinin akut veya kronik uygulanmasının ultrastrüktürel etkileri neredeyse hiç bilinmiyor. Literatürde agmatinin GFAP ve c-fos ekspresyonunu artırabileceğini gösteren birer çalışma vardır (107). Okludin ekspresyonuna etkisiyle ilgili hiçbir yayına rastlanmamıştır. Agmatinin bazı etkilerini NO aracılı gerçekteştirdiğine dair birçok makale olmasına karşın histokimyasal olarak yapılmış sadece dört çalışma vardır ve bunların hiçbiri epilepsi ile ilgili değildir. (54,15,41).

5. GEREÇ ve YÖNTEMLER

5.1. Kimyasal Maddeler

Agmatin sülfat (Sigma), PTZ (Sigma), pentobarbital (Sigma), c-fos (SantaCruz, tavşan poliklonal), GFAP ve okludin (Zymed, tavşan) antikorları kullanıldı. Agmatin ve PTZ çözeltileri her deney günü serum fizyolojik (SF) içinde çözündürülerek hazırlandı ve 100 g/0.1 ml olacak şekilde enjekte edildi.

5.2. Deney Hayvanları

Bu çalışmada 180-250 g ağırlığında Wistar albino suşu dişi sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar Marmara Üniversitesi Deney Hayvanı Yetiştirme Ünitesi'nden temin edildi ve deneyler süresince 12 saat aydınlık – 12 saat karanlık döngü içerisinde yem ve su alımları serbest bırakılarak, sıcaklığı sabit tutulan (21 ± 3 °C) hayvan saklama odasında, her kafeste 4 sıçan olacak şekilde barındırıldı. Tüm deneyler sabahtan, sessiz bir ortamda ve oda sıcaklığı 22-24 °C'de gerçekleştirilmiştir. Çalışma protokolü Marmara Üniversitesi Deney Hayvanı Etik Kurulu (tarih 10.04.2008, 12.2008.mar sayı ile) (Ek-1) tarafından onaylanmıştır.

5.3. Agmatinin Epileptogenezdeki Etkisinin Araştırılması

5.3.1. PTZ-kindling modeli ve deney grupları

Subkonvülsif dozlar, akut konvülsiyona sebep olmazken periyodik olarak uygulandıklarında zamanla sadece 1 veya 2 stimulusla ve bazen de spontan olarak konvülsiyon oluşmasına yol açar. Çalışmalara başlamadan önce PTZ-kindling modeli için doz tespit edildi. Literatürde konvülsif ve subkonvülsif dozlar oldukça değişken olduğu için biz kendi laboratuvar koşullarımızda subkonvülsif dozu tespit etmek için PTZ üç farklı dozda (40, 50, 60 mg/kg, i.p.) denendi. Buradan elde edilen sonuçlar doğrultusunda tüm deneylerde 40 mg/kg PTZ kullanıldı ve deney hayvanlarına gün aşırı, tek doz uygulanarak kindling oluşturuldu.

Deney grupları:

Deneyde kullanılacak hayvanlar randomize olarak dört gruba (n:40) ayrıldı.

Grup 1:

Kontrol Grubu: 12 kez i.p. SF (24 gün süreyle gūnaşırı) uygulandı.

Grup 2:

Agmatin Grubu: 12 kez i.p. agmatin (120 mg/kg, 24 gün süreyle gūnaşırı) uygulandı.

Grup 3:

PTZ Grubu: 12 kez i.p. PTZ (40 mg/kg, 24 gün süreyle gūnaşırı) uygulandı.

Grup 4:

Agmatin + PTZ Grubu: 12 kez i.p. agmatin ve 30 dakika sonra PTZ (24 gün süreyle gūnaşırı) uygulandı.

PTZ dozları uygulandıktan hemen sonra 30 dakika boyunca gözlem kafeslerinde tutuldular ve video kayıtları alındı. Daha sonra tüm video kayıtları izlenerek nöbetler Racine'in skalası kriter alınarak evrelere ayrılarak değerlendirildi. Buna göre:

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 ekstremitel klonusu, şahlanma var.
5. Şahlanma ve jeneralize klonik nöbetten dolayı bir taraf üzerine düşme.

Ayrıca PTZ enjeksiyonundan nöbet oluşumuna kadar geçen süre "başlama süresi" (onset-time) ve toplam nöbet süresi kaydedildi.

5.3.2. İmmünohistokimyasal değişikliklerin araştırılması**5.3.2.1. Perfüzyon fiksasyonu**

Bu yöntem için davranış deneylerini tamamlayan sıçanlara 50 mg/kg pentobarbital i.p. uygulandı. Hayvanlar sırtüstü yatırılarak ekstremitelerinden tahta

bir yüzeye sabitlendi. Göğüs kafesi açılarak sol ventriküle anjiokatla girildi ve kleplendi. Daha sonra kalbin sağ atriumuna bir kesik atıldı ve kanın boşalıp yerine SF'in vücutta dolaşması sağlandı. Bu işlem kalpten kan gelmeyinceye kadar devam ettirilip hemen sonrasında SF yerine fiksasyon maddesi verilmeye başlandı. Ense sertliği sağlanıncaya kadar fiksasyona devam edildi. Kranyum açılarak beyinler çıkarıldı ve işaretleme işlemine kadar paraformaldehitte bekletildi.

5.3.2.2. İşaretleme

Fikse edilen dokular akarsuda 8 saat yıkandıktan sonra 1 gece %70 alkolde bırakıldılar. Sonra sırasıyla %80, %90 ve %100 alkol serilerinde 2'şer saat dehidrate edildiler. Ksilol ile çalkalandıktan sonra 2 ayrı ksilol banyosunda 30'ar dakika kaldılar. Daha sonra 60 °C'deki ksilol parafinde 30 dakika inkübe edildiler ve 1 gece dışarıda bekletildiler. Bu işlemden sonra dokular parafine gömüldüler ve bu dokulardan mikrotomda 4µm'lik kesitler poly-L-lysine kaplı lamlara alındılar.

Okludin, GFAP, c-fos antikorlarının immünoaktivitesine bakmak için lamlara alınan dokular etüvde parafinleri eritildikten sonra iki ayrı ksilol banyosunda deparafinize edildi. Bunu takiben lamlar üzerine alınan dokular 10'ar dakika alkol serilerinden geçirilerek PBS (Fosfatla tamponlanmış tuzlu su çözeltisi=Phosphate buffer saline) içine alındı. Antijen iyileştirmesi gerekli olan bazı antikorlar için uygun koşullarda antijen iyileştirilme yapıldıktan sonra 10 dakika PBS'te bekletilen lamlar, daha sonra dokudaki endojen peroksidaz aktivitesini yok etmek için saf metanol içindeki %3'lük H₂O₂ solüsyonunda 15 dakika bekletildi. Sonrasında PBS'de 5 dakika bekletilen dokular 15 dakika non-immün serum ile muamele edildi. Bu sürenin sonunda primer antikor uygulanması aşamasına geçildi. Hem kontrol grubu, hem de deney grupları tamponla dilüe edilmiş primer antikorlarla oda ısısında 24 saat bekletildi. Ayrıca, negatif kontrolü sağlamak amacıyla bir grup da primer antikor yerine sadece onun dilüe edildiği tampon eklendi. 24 saatin sonunda tüm dokular 5'er dakika süreyle ikişer kez PBS'de yıkandı. Sonra, biyotinle işaretli sekonder antikor aşamasına geçilerek, 30 dakika inkübe edildi. Bu sürenin sonunda tekrar 5'er dakika süreyle ikişer kez PBS'de yıkandı ve tüm gruplar streptavidin-peroksidaz ile 15 dakika muamele edilerek tekrar yıkandı. Yine 5'er dakika süreyle ikişer kez PBS'de

yıkandıktan sonra görünür hale getirildi. Renklenmenin uygun olduğuna kanaat getirildikten sonra, distile suyla tekrar iki kez 5'er dakika yıkayıp dokudaki çekirdeklerinin daha net görülebilmesi ve ayrılabilmesi için 1-2 dakika kontrollü olarak Mayer hematoksilen ile zıt boyama yapıldıktan sonra yıkandı. İncelemeye hazırlamak için lamelle kapatıldı. Son aşamada ise Olympus BX-50 araştırma mikroskopuyla incelendi.

5.4. İstatistik Yöntemi

PTZ enjeksiyonlarından sonra miyoklonik kasılmaların başlamasına kadar geçen süre ve toplam nöbet süreleri açısından gruplararası farklar tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve ileri analiz Student's t testi ile yapıldı. P değerinin 0,05'ten küçük olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Oluşan nöbetlerin evrelerinin görülme yüzdeleri ve deney sonunda sağkalım yüzdeleri ise ki kare testi ile değerlendirilmiştir. Tüm sonuçlar ortalama \pm SEM olarak ifade edilmiştir.

6. BULGULAR

Bu çalışmada önce subkonvulsif PTZ dozları tesbit edildi daha sonra tekrarlanan enjeksiyonlarla uygulandıktan sonra gözlem yapılarak nöbetler Racine'in skalasına göre evrelere ayrıldı. Ayrıca PTZ enjeksiyonundan nöbet oluşumuna kadar geçen süre "başlama süresi" (onset-time) ve toplam nöbet süresi belirlendi. Aynı hayvanların hipokampusunda CA1 ve CA3 bölgelerinde c-fos, GFAP ve okludin immünohistokimyasal olarak değerlendirildi.

6.1. Davranış Deneyinin Sonuçları

6.1.1. PTZ-kindling doz belirleme

PTZ kindling modelinde kullanılacak subkonvulsif doza karar verme aşamasında uygulanan dozlarla miyoklonik nöbetlerin ortalama başlama süresi, tonik klonik kasılmalarla karakterize evre 5% leri ve sağkalım % leri hesaplanmıştır. Buna göre miyoklonik kasılmalara ve tonik klonik kasılmalara neden olmayan en düşük doz seçildi (Tablo3). Buradan elde edilen sonuçlar doğrultusunda 40 mg/kg PTZ'nin bizim deney koşullarımızda subkonvulsif olduğu görülmüş ve tüm deneylerde bu doz kullanılmıştır.

Tablo 3: PTZ dozunun miyoklonik kasılma (MKJ), evre 5 ve sağkalıma etkisi

Grup	MKJ (s)	Evre 5 (%)	Sağkalım (%)
PTZ 40 (40 mg/kg)	0	0	100
PTZ 50 (50mg/kg)	10,5	0	100
PTZ 60 (60mg/kg)	62,5	1	100

6.1.2. Nöbet evrelerinin değerlendirilmesi

Kindling bir patolojik nöral plastisite formudur. PTZ ile beyin yolaklarının tekrarlayan aktivasyonu nöbetin uyarılmasına ve progresif bir duyarlılığa yol açar. Bizim bulgularımız PTZ ile bu duyarlılığın tekrarlanan enjeksiyonlarla oluştuğunu göstermiştir, 2. uyarıdan itibaren giderek artan şiddette konvülsiyonlar oluşmuştur.

Evreler açısından değerlendirildiğinde PTZ'nin tek başına uygulanması ile 2. uyarıdan sonra görülmeye başlayan miyoklonik kasılmalar 4. uyarıdan itibaren tüm evrelerin gözlemlenebildiği nöbetlere dönüşmüştür. Özellikle nöbet duyarlılığının 9. uyarıdan itibaren maksimuma ulaştığı (%100) görülmüştür (Tablo 4).

Tablo 4: PTZ (40 mg/kg i.p. gūnaşırı 24 gün) grubunda nöbet evrelerinin yüzdesi

	Evre 1	Evre 2	Evre 3	Evre 4	Evre 5
1. uyarı	0	0	0	0	0
2. uyarı	2	0,5	0	0	0
3. uyarı	5	2	0,5	0	0
4. uyarı	9	5	4	2	2
5. uyarı	17	10	10	8	6
6. uyarı	35	25	20	18	12
7. uyarı	64	64	45	40	29
8. uyarı	78	76	58	50	45
9. uyarı	89	89	89	75	62
10. uyarı	100	100	100	95	86
11. uyarı	100	100	100	100	97
12. uyarı	100	100	100	100	100

Her PTZ dozundan sonra 30 dakika önce agmatin uygulamasının bu duyarlılığı belirgin olarak azaltmış olduğu, 2. uyarıdan itibaren nöbet evrelerinin görülmeye başladığı, 5. uyarıdan itibaren tüm evrelerin oluştuğu ve gözlemlenerek skorlanan bu

evrelerin şiddet açısından PTZ grubundan farklı olduğu görülmüştür. PTZ grubunda 12. uyaranda %100 olan ve tüm evrelerin aynı şiddette olduğu nöbetlere karşın agmatin+PTZ grubunda bu etki % 75-81’de kalmış ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$) (Tablo5).

Tablo 5: Agmatin+PTZ (120 mg/kg agmatin+PTZ (40 mg/kg i.p) gınaşırı toplam 24 gün) grubunda nöbet evrelerinin yüzdesi

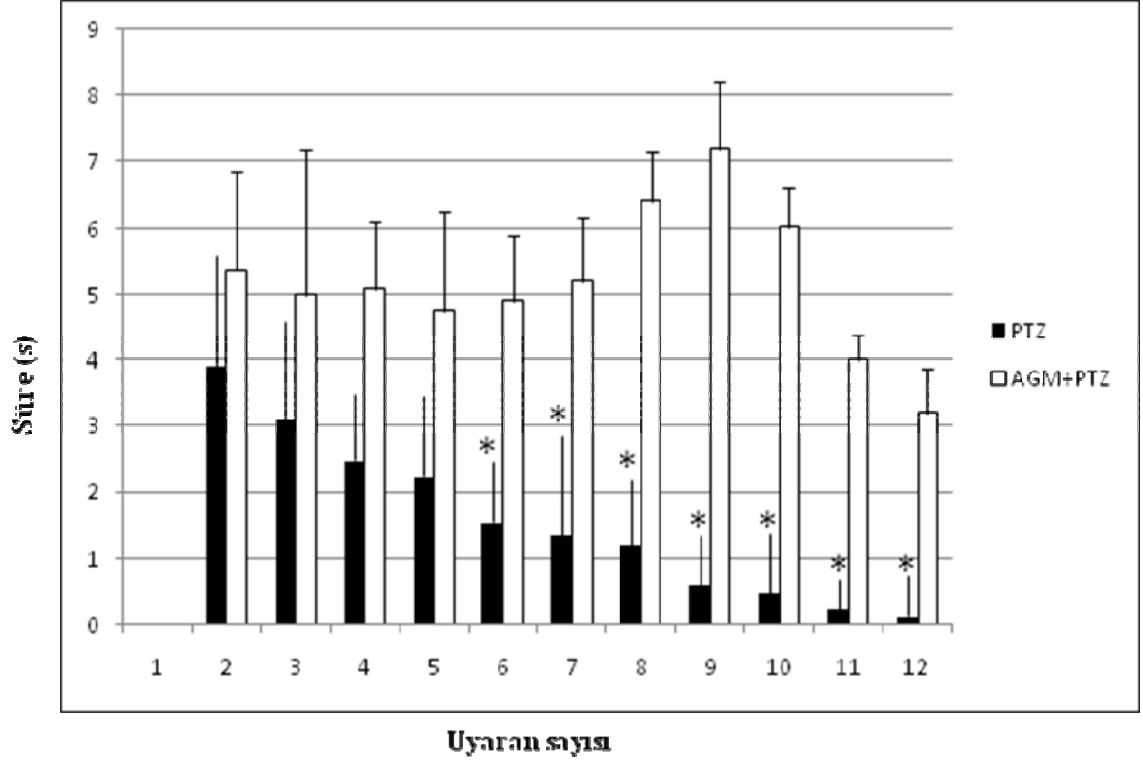
	Evre 1	Evre 2	Evre 3	Evre 4	Evre 5
1.uyarı	0	0	0	0	0
2.uyarı	1	0,5	0	0	0
3. uyarı	2	1	0	0	0
4. uyarı	3	3	1	0	0
5. uyarı	7	5	3	1	1
6. uyarı	9	9	6	2	2
7. uyarı	16	14	10	5	4
8. uyarı	25	22	17	12	9
9. uyarı	37	29	21	21	17
10. uyarı	59	50	41	38	36
11. uyarı	72	70	70	66	65
12. uyarı	81	79	80	75	75

Bizim bulgularımız tek başına PTZ ile oluşan nöbetlere duyarlılığın oldukça hızlı ve tam geliştiğini, agmatin tedavisinin hem nöbet gelişimini (evreler açısından) hem de uyarın sayıyla şiddet karşılaştırıldığında bu duyarlılaşmayı anlamlı bir biçimde baskılayabildiğini göstermiştir ($p<0,05$).

6.1.3. Nöbet süresinin değerlendirilmesi

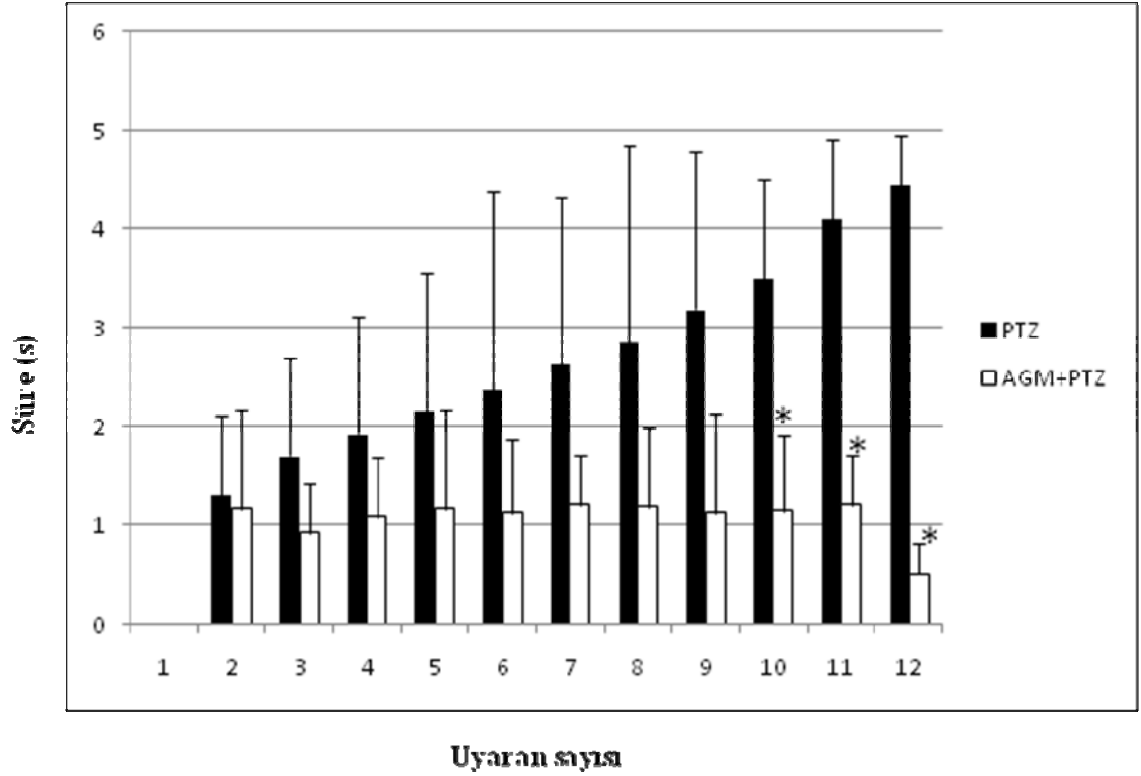
Gerek PTZ’nin tek başına uygulanmasından sonra gerekse agmatin ön tedavisi uygulandığında sırasıyla ilk uyarıdan başlayarak 12. uyarıdan sonraya kadar nöbet başlama süreleri (sn) ve toplam nöbet süreleri (dak.) kaydedilmiş ve karşılaştırılmıştır.

İlk 5 uyarıya alınan cevap açısından PTZ ve agmatin+PTZ gruplarında epileptik nöbetin başlaması için geçen sürede anlamlı bir fark gözlenmezken ($p>0,05$) 6. uyarıdan itibaren agmatin ön tedavisi nöbet başlama süresini anlamlı derecede uzatmıştır ($p<0,05$) (Şekil 3).



Şekil 3: Agmatinin PTZ-kindling modelinde nöbet başlama süresine etkisi. PTZ veya agmatin+PTZ'nin tekrarlanan uygulamalarının nöbet başlama süresi üzerine etkisi ortalama \pm SEM olarak ifade edildi ve * $p<0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Agmatinin toplam nöbet süresi üzerine etkisi incelendiğinde 10. uyarıya kadar PTZ grubuyla agmatin+PTZ grubunda anlamlı bir fark gözlenmezken son üç uyarıya (10., 11. ve 12.) yanıt olarak gözlenen nöbetlerin toplam süresinde istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$) bir kısalma görülmüştür (Şekil 4).

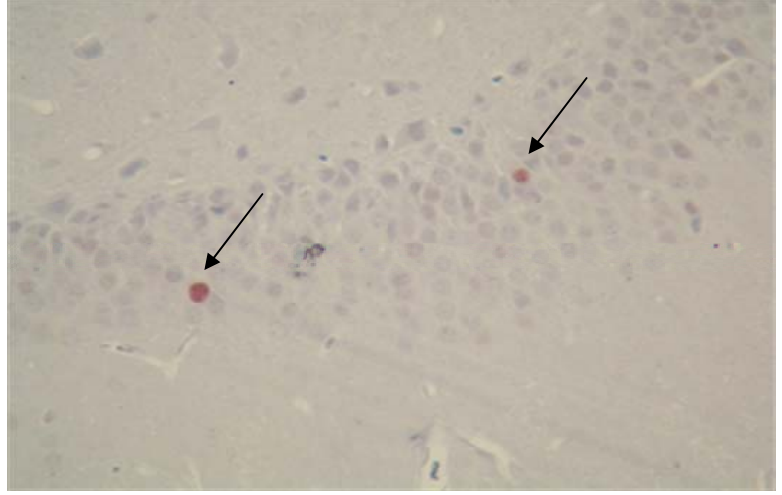


Şekil 4: Agmatinin PTZ-kindling modelinde toplam nöbet süresine etkisi. PTZ veya agmatin+PTZ'nin tekrarlanan uygulamalarının toplam nöbet süresi üzerine etkisi ortalama \pm SEM olarak ifade edildi ve * $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

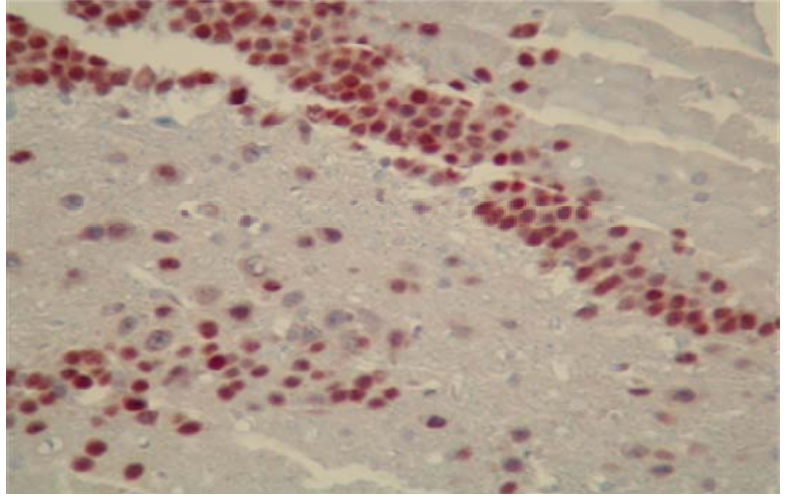
6.2. İmmünohistokimyasal Deney Sonuçları

c-fos (Resim 1), GFAP (Resim 2) ve okludin (Resim 3) immünoaktivitesi histolojik olarak hipokampal alanda değerlendirilmiştir. Kronik agmatin uygulaması immünohistokimyasal olarak hiçbir parametrede kontrolden farklı bulunmamıştır. Özellikle c-fos ekspresyonunun PTZ-kindling modelinde kontrol grubuyla karşılaştırıldığında hipokampusun CA1 ve CA3 alanlarında ileri dercede arttığı görülmüştür (Resim 1 A,B). Kindling sürecinde kronik olarak agmatin uygulanması c-fos'daki bu artışı tümüyle engellemiştir (Resim 1C). GFAP immünoaktivitesinde benzer biçimde kindling grubunda kontrole oranla büyük bir artış görülürken (Resim 2 A,B) agmatin tedavi grubunda kontrol grubuna yakın düzeyler tespit edilmiştir (Resim 2C). KBB permeabilitesinin önemli göstergelerinden kabul edilen okludin immünoaktivitesinde PTZ-kindling grubunda kontrol grubuna oranla hafif bir artış görülmüş (Resim 3 A,B) ve agmatin tedavisi bu artışı engellemiştir (Resim 3C).

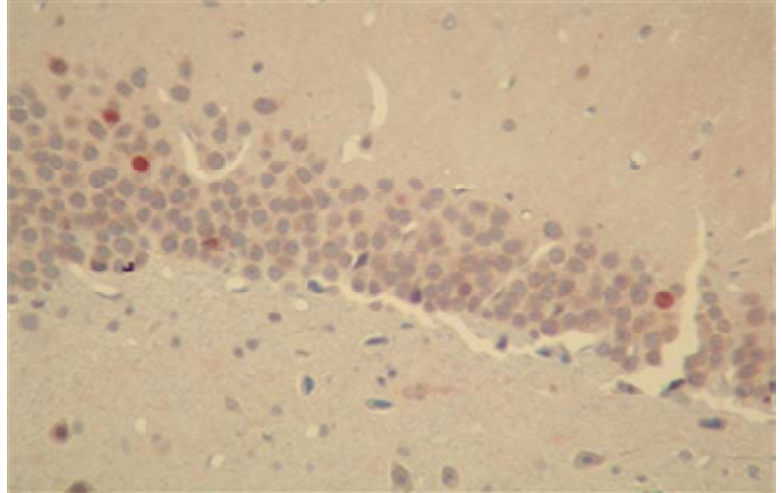
A



B

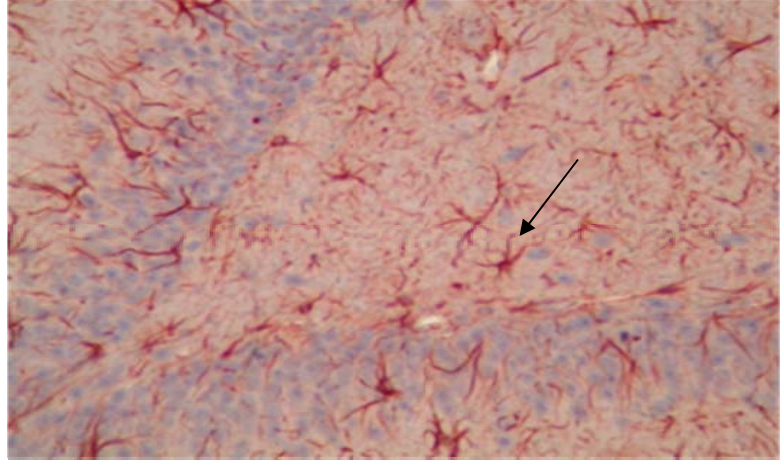


C

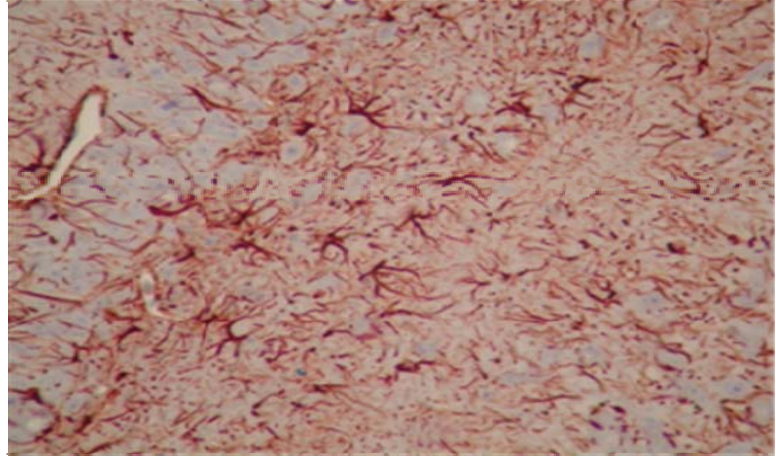


Resim 1: Sıçanların beyin dokusunda hipokampal CA1 ve CA3 alanlarında c-fos immünohistokimya sonuçları: A) Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında B) PTZ-kindling grubunda c-fos immünoaktivitesinin ileri derecede artmış olduğu ve bu grupla C) Agmatin+PTZ-kindling grubu karşılaştırıldığında c-fos düzeylerinin kontrol grubuna yakın düzeyde olduğu görülmüştür.

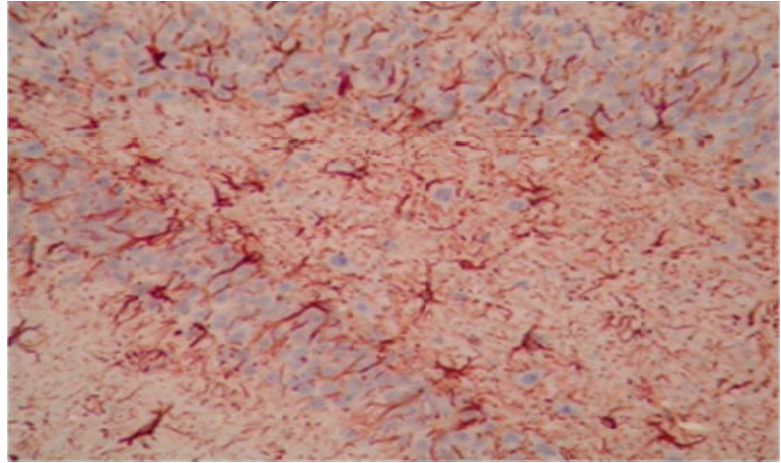
A



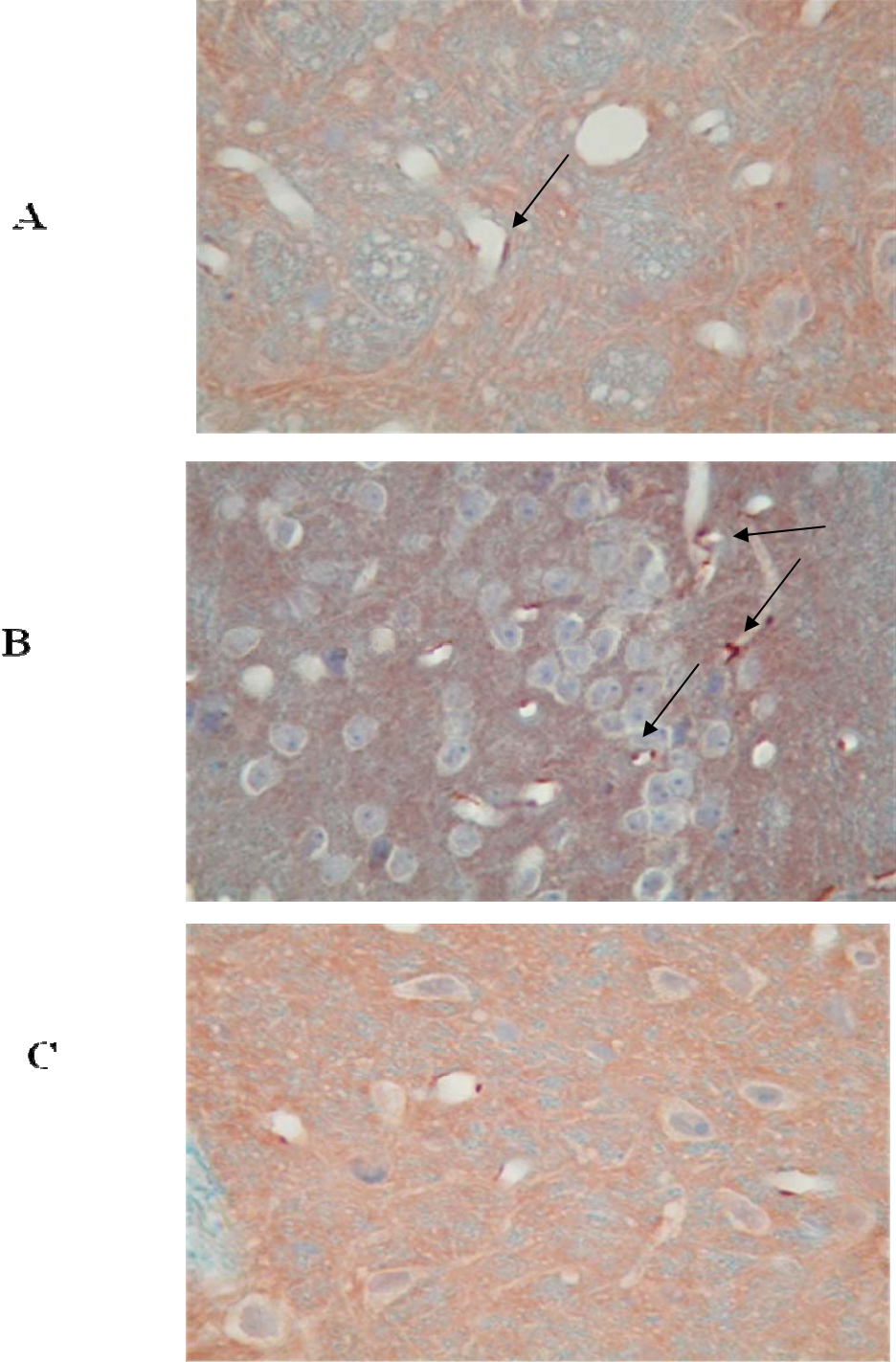
B



C



Resim 2: Sıçanların beyin dokusunda hipokampal CA1 ve CA3 alanlarında GFAP immünohistokimya sonuçları: A) Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında B) PTZ-kindling grubunda GFAP immünoaktivitesinin ileri derecede artmış olduğu ve bu gruba C) Agmatin+PTZ-kindling grubu karşılaştırıldığında GFAP düzeylerinin kontrol grubuna yakın düzeyde olduğu görülmüştür.



Resim 3: Sıçanların beyin dokusunda hipokampal CA1 ve CA3 alanlarında okudinin immünohistokimya sonuçları: A) Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında B) PTZ-kindling grubunda okudinin immünoaktivitesinde hafif bir artış olduğu ve bu grupla C) Agmatin+PTZ-kindling grubu karşılaştırıldığında okudinin düzeylerinin kontrol grubuna yakın düzeylere döndüğü görülmüştür.

7. TARTIŞMA ve SONUÇ

Epilepsi ve epileptik nöbetler için çok sayıda deneysel hayvan modeli vardır, fakat bunlardan sadece birkaçı farmakolojik testlerde sıklıkla kullanılmaktadır. Kronik epilepsi modelleri ikiye ayrılır; kazanılan epilepsi ve genetik epilepsi modelleri. İlk kategoride epilepsi, elektriksel ya da kimyasal yolla sağlam hayvanlarda oluşturulur. Bunların da en sık kullanılan hayvan modelleri status epileptikus ve kindling'dir. (94). Bu çalışmada kullanılan PTZ-kindling modelinin insanda oluşana çok benzer şekilde kognitif, emosyonel ve nöropatolojik sorunlara yol açtığı (95), öğrenme ve bellek fonksiyonlarını bozabileceği (65,151), bu etkinin epilepsiye sekonder olarak limbik yapılarda gelişen iskemi ve hipoksiye bağlı olabileceği (141) gösterilmiştir. 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 konvülsif nöbetlere yol açmaktadır. Bu patoloji en fazla hipokampus ve amigdala gibi subkortikal çekirdeklerde görülür. TLE 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 TLE'yi oluşturmaktadır (38). Bizim araştırmamızda kullandığımız PTZ-kindling modeli TLE modeli olarak tanımlanmıştır. TLE hastalarında epileptik odak, sıklıkla mesial temporal yapılardan hipokampus ve amigdala ya da her ikisinden kaynaklanmaktadır. Nöbetler kompleks parsiyel tiptedir ve hareketsiz donakalma ile karakterizedir. TLE'nin etiyolojisi heterojen olmakla birlikte, mesial TLE hastalarında sıklıkla uzamış febril nöbet ya da status epileptikus hikayesi vardır (33). İn vivo nöroradyolojik incelemelerde epilepsi ilişkili yapısal ve metabolik anormallikler saptanmaktadır. Magnetik rezonans görüntüleme hipokampal atrofi, pozitron emisyon tomografide interiktal dönemde serebral kan akımında ve/veya glikoz metabolizmasında azalma ve iktal dönemde ise dramatik yükselme görülmektedir (94). Bu bulgularla uyumlu olarak tedaviye dirençli TLE hastalarının cerrahi olarak çıkarılmış hipokampuslarında sıklıkla

hipokampal skleroz adı verilen gliozis ve nöron kaybı içeren dejeneratif odaklar görülmektedir. Bu dejeneratif değişikliklere ilaveten, epileptogenik hipokampusta nöronal reorganizasyon, aksonal filizlenme ve sinaptogenez oluşmaktadır (88).

Çeşitli metotlarla oluşturulan konvülsiyonlara etkisi araştırılan agmatinin, kindling epilepsi modelinde ne gibi sonuçlar getireceğini öğrenmek için planladığımız çalışmamızda, agmatini kronik olarak uyguladık. Önceki çalışmalarımızda akut uygulandığında nöbet evrelerini çok değiştirmemekle birlikte nöbet süresini kısaltmıştır (8). Biz bu çalışmada deney hayvanı olarak Wistar albino dişi sıçanlar kullandık. Literatürde kullanılan hayvanın suşu ve cinsiyetinin önemli olduğunu düşündüren bulgular vardır. Örneğin, erkek Wistar sıçanları, erkek Sprague Dawley sıçanlarına göre genellikle daha çok stimulusa ihtiyaç duymaktadır. Cinsiyet olarak da dişi Wistar sıçanları erkek Wistar sıçanlarına göre bazo lateral amigdala (BLA) stimuluslarına daha az duyarlıdır. Bu yüzden sıçan cinsiyet ve türü BLA-kindling modelini etkileyebilir (16). PTZ-kindling modelinde cinsiyetin önemini vurgulayan bir çalışmaya rastlamadık. Biz deneyde her iki cins ait farkları inceleme şansımız olmadığı için sadece dişi Wistar albino sıçanları kullandık. Suş ve cinsiyet farklarının irdelenebilmesi için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar ışığında agmatinin PTZ-kindling modelinde epileptogenez üzerine etkili olduğunu söyleyebiliriz. Agmatin PTZ ile birlikte uygulandığında nöbet evrelerinin hem oluşum süresini hem de şiddetini azaltmıştır. Bu çalışmada dışarıdan uyguladığımız agmatinin epileptik nöbet duyarlılığı gelişimine etkili olduğunu görmemiz büyük olasılıkla endojen agmatinin nöbet gelişimi üzerinde rolü olduğunu düşündürmektedir. Bu çalışmada yapılan deneyler gözlenen etkinin nasıl gerçekleştiğini açıklayamaz. Agmatin konvülsiyon eşliğinin belirlenmesi ve epileptogenez üzerindeki bu etkisini çeşitli mekanizmalarla yapıyor olabilir.

Agmatin etkisini I reseptörleri aracılığıyla oluşturuyor olabilir: Daha önce yapılan çalışmalarda antazolinin status epileptikusta oluşan nöronal hasara karşı

koruyucu olduğu (89), klonidinin tonik-klonik konvülsiyonları baskılayabildiği (149), imidazolin yapısındaki bazı bileşiklerin (4-aryl-4-imidazoline-2-one türevi) antikonvülsan olduğu (19,21) bazılarının özellikle tonik konvülsiyonlar üzerinde etkili olduğu (67) ve bazılarının ise tam antikonvülsan etkili olduğu gösterilmiştir.

Agmatin etkisini GLUerjik sistem üzerinden NMDA reseptörleri aracılığıyla yapıyor olabilir. Agmatinin GLU salınımı üzerine etkisi bilinmemekle beraber NMDA reseptörlerinin Ca^{2+} geçişine izin veren iyon kanalını bloke ederek bazı etkilerini oluşturmaktadır. GLU'nın nöbet gelişimine ve nöbet ortaya çıkarmasındaki rolüne dayanarak GLU reseptör antagonistlerinin antikonvülsif etkili olabileceği mantıklı bir strateji olarak düşünölmüştür. NMDA reseptörlerinin epilepsi etiyopatogenezindeki rolü ve antagonistlerinin antikonvülsan etki potansiyeli ile ilgili çok sayıda çalışma vardır (12,28,69,69,152,47). NMDA reseptörlerinin kindling nöbetlerinde kritik rol oynamadığını bildiren çalışmalar da vardır (81,87,130,50,154,155). Agmatinin epileptogenez üzerindeki etkisi kısmen de olsa NMDA reseptörleri aracılığıyla olabilir.

Agmatin etkisini NO üretimini kontrol ederek yapıyor olabilir. NOS inhibitörlerinin etkileri nöbet modellerine ve deneyde kullanılan hayvan türlerine göre değişmektedir. Spesifik olmayan NOS inhibitörü N ω -Nitro-L-Arjinin metil ester (L-NAME) kainat kaynaklı nöbetleri Wistar hayvanlarında değil Sprague Dawley sıçanlarında potansiyelize etmiştir. Seçici nöronal NOS inhibitörü 7-nitroindazol (7-NI) PTZ ve kainat ile oluşturulmuş nöbetleri etkilememiştir (106,104). 7-NI 100 mg/kg i.p. dozuna kadar uygulanmış amigdala kindling modelinde nöbet şiddetine, nöbet süresi ve nöbet AD süresine anlamlı hiç bir etkisi olmamıştır (14). Agmatin NOS'un her 3 izoformunu inhibe edebilen bir maddedir. Diğer maddelerden temel farkı NOS'un endojen inhibitörü olarak kabul edilmesidir. Agmatin düşük dozda farelere uygulanan PTZ modelinde miyoklonik kasılmaların başlama süresini kısaltırken yüksek dozda uzatmıştır. Sadece yüksek dozda evre 5 görölme yüzdesini artırmış ve sağkalım yüzdesini de düşürmüştür, sonuç olarak PTZ ile indüklenen nöbeti şiddetlendirmiştir (70). Bizim deneyimizin sonuçları Bilge Kan'ın yüksek lisans tezi sonuçları ile benzerlik göstermektedir. Kindling nöbetlerinde beyinde NOS aktivitesinin amigdalada çok arttığı bilinmektedir (142).

Endojen NO'in nöbetlerdeki rolü belirsizdir, nöbet duyarlılığının modulatorüdür. Farklı epilepsi modellerinde antikonvülsan ve prokonvülsan etki ortaya çıkarmaktadır (137,143,96,148). Bu çalışma ile agmatinin konvülsiyon eşiği üzerine etkisi olduğunu söyleyebiliriz ancak, bu etkinin tek bir mekanizmayla mı sözkonusu tüm mekanizmaların katılımıyla mı olduğunu söylemek mümkün değildir. Gerek literatür bilgileri gerekse bizim bulgularımız beyin dokusunda yaygın dağılım gösteren agmatinin konvülsiyon eşiğinin belirlenmesinde rol oynayan endojen bir madde olabileceğini düşündürmektedir.

Epilepsi nöbetlerinin oluşması ve tekrarlanması önemli derecede nöron kaybı olmaktadır (105). Çalışmalar nöronal kaybın olduğunu, en erken kaybın CA1 hipokampal alanda, piriform korteks ve talamusta olduğunu göstermiştir. 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 (94). 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 liflerdir. Ayrıca ultrastrüktürel çalışmalarda epileptik nöronların dendritik çıkıntılarında azalma olduğu (dendritik deafferentasyon), epileptojenik fokusta yeni sinapslar oluştuğu, astrositlerin artmasıyla gliosis oluştuğu gösterilmiştir. Astrositler doku kaybını çoğalarak doldurmaya çalışırlar. Bu süreçte astrositik yapısal bir protein olan GFAP sentezi bozulur ve ikincil olarak artar (94). GFAP yapısal destek sağlamak, onarım işlemlerinde ve metabolik değişimlerde görevli olmanın dışında KBB'nin de elemanıdır. Astrositler birçok MSS hastalıklarının erken evresinde değişmiş morfoloji sergilerler ve 'reaktif' astrositler olarak adlandırılırlar. Reaktif astrositler akut ve kronik MSS hastalıklarının her ikisinde de GFAP ekspresyonunun up-regülasyonunda önemli rol oynar. Epileptik odakları çevreleyen astrositlerin

morfolojik değişimlerine nöronlardaki değişimler eşlik etmektedir. Pek çok çalışma epilepside nöronların morfolojik değişimlerini ve GFAP ekspresyonunun açık biçimde up-regüle olduğunu göstermiştir. GFAP up-regülasyonu hipertrofik astrositlerin göstergesidir. Bu değişiklikler sırasında hücrede herhangi bir uyarana karşı ilk yanıt veren genlerden kabul edilen c-fos da artar. c-fos ekspresyonu MSS'nde nöronal aktivite göstergesi olarak kullanılır. Tekrarlayan subkonvülsif dozlarda PTZ uygulanması ile oluşan nöbetlerin beyinde c-fos ekspresyonunu artırdığını gösteren çalışmalar vardır (131). Evre 3'e kadar nöbetler herhangi bir beyin bölgesinde belli bir c-fos ekspresyonuna neden olmaz. Kortekste c-fos ekspresyonu 4. evreden sonra ve daha da fazla miktarda 5. evreden sonra gözlenir. Hipokampusta ise nöbetlerin c-fos'a neden olabilmesi için 5. evreye gelmesi gerektiği kabul edilir. Bizim çalışmamızda PTZ-kindling oluşmuş hayvanların hipokampusunda (CA1 ve CA3) c-fos ve GFAP ekspresyonunda dramatik bir artış meydana gelmiş, agmatin bu artışı tümüyle engellemiştir. Dolayısıyla agmatinin MSS'nde nöbetler sırasında oluşan aşırı aktivitenin kontrolünde ve frenlenmesinde rolü olduğu düşünülebilir. PTZ-kindling'in kognitif, emosyonel ve nöropatolojik sorunlara yol açabildiği (95), öğrenme ve bellek fonksiyonlarını bozduğu (65,151), epilepsiyeye sekonder olarak limbik yapılarda iskemi ve hipoksiye neden olduğu (141) gösterilmiştir. Agmatinin, nöbetler sırasında c-fos ve GFAP ekspresyonundaki artışı engellemesi, nöbetlere sekonder gelişen kognitif, emosyonel ve nöropatolojik sorunları engelleme açısından, öğrenme ve bellek fonksiyonlarının korunmasında, ayrıca limbik yapılarda gelişen iskemi ve hipoksiye bağlı hasarı engellemede de önemlidir. Literatürde agmatinin akut veya kronik uygulanmasının epilepside ultrastrüktürel yapılara etkisi ile ilgili çalışmaya rastlanmamıştır.

KBB, beyni kanda dolaşan zararlı maddelerden ve toksinlerden korurken serebral hücre fonksiyonları için gerekli besinlerin geçişine izin veren özelleşmiş karmaşık hücrenel bir sistemdir. KBB yıkılımı MSS patolojileri ile ilişkili durumlarda anahtar rol oynadığı düşünölmektedir. KBB'ndeki bütönlüğün epilepsi gibi nörolojik hastalıklarla bozulabileceği gösterilmiştir (78,73,11). Endotel hücreleri KBB'ni oluştururlar ve MSS'nin normal ekstraselöler çevresinin idamesini sağlamada esansiyel role sahiptirler. Beyin kapillerini oluşturan endotel hücreleri arasında tight junction denilen sıkı bağlantı bölgeleri bulunur ve devamlı bir bazal membrana

sahiptir (2). Bu sıkı bağlantılar KBB endotel hücreleri arasında yüksek bir elektrik direnci oluştururlar bunun sonucunda geçirgenliği azaltırlar. Okludin de normal beyin damar yapısı içinde endotel hücrelerinde, bariyer bütünlüğünü sağlayan önemli sıkı bağlantı proteinleridir. Okludin beyin endotelinde yüksek düzeyde bulunmakta iken nöronal olmayan dokularda düzeyi düşüktür ve okludin artışı, artmış bariyer fonksiyonlarını göstermektedir (2). Bizim çalışmamızda okludin düzeylerinde PTZ-kindling grubunda hafif bir artış görülmüş ve bu artış agmatin tedavisi ile tümüyle bloke edilebilmiştir. Literatürde PTZ-kindling'in tek başına hipokampusta oluşturduğu değişikliklerle ilgili bilgiler son derece sınırlıdır ve agmatinin okludin üzerine etkisini araştıran çalışmaya rastlanmamıştır. Epileptik nöbetlerin yaşam boyu tekrarlayabilmesi özellikle tedaviye dirençli epilepsilerde hastanın sık sık geçirdiği nöbetlerde bariyer bütünlüğünün korunması son derece önemlidir. Bu noktada agmatinin bariyerin korunmasında en azından okludin üzerinden bunu sağlaması son derece önemlidir.

Epilepsi hastalığında düşük kan şekeri de epilepsi nöbetlerine yol açabilmektedir. Agmatin, pankreatik β hücrelerinden insülin sekresyonunu artırmak suretiyle kan şekerini düşürme potansiyeli olan bir maddedir (90). Agmatin streptozotosin ile oluşturulmuş diyabetik sıçanlarda kan şekerini (0,05-1,5 $\mu\text{mol/sıçan}$, i.c.v.) doz bağımlı olarak düşürmüştür, aynı zamanda agmatin streptozotosin ile oluşturulan diyabetik sıçanlarda plazma insülin miktarını değiştirmemiştir. Agmatinin glikoz düzenleyici etkisi insülinden bağımsız olduğu ileri sürülmüştür. Fakat 1 $\mu\text{mol/sıçan}$ (i.c.v.) dozunda normal hayvanların MSS'ne verilince agmatin plazma glikoz seviyelerinde bir değişikliğe yol açmamıştır (136). Agmatin 5 mg/kg dozunda 1 ay süre ile normal sıçanlara i.p. verilmesinin ardından kan glikoz değerlerine etki etmemiştir (102). Agmatin normal sıçanlara intravenöz verildikten sonra yarım saat sonra bakılan kan şekeri düzeyinde de bir değişiklik yapmamıştır (66).

Epilepsi en yaygın gözlenen nörolojik hastalıklardan biri olmasına karşın rasyonel bir tedavisi yoktur. Günümüzde epilepsi tedavisinde kullanılan ilaçlar sadece beyinde epilepsiye neden olan anormal elektriksel deşarjların ortaya çıkmasının ve/veya yayılmasını engellerler. Uzun süreli ilaç kullanımı ekonomik

maliyet açısından, ilaç uyuncunun zamanla bozulması, ciddi sayılabilecek yan etkilerinin ortaya çıkması ve beraber kullanılan diğer ilaç grupları ile etkileşmeleri epilepsi tedavisinde daha rasyonel yöntemlerin geliştirilmesini zorunlu kılmaktadır. Hastaların sadece %50-65'inde nöbetler antiepileptiklerle azaltılabilmektedir. 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 ilaçlara gereksinim tartışmasız çok gereklidir. Oysa hücrenel ve moleküler düzeyde epileptogenez mekanizmaları ile ilgili bilgimiz hala son derece sınırlıdır ve bu da amaca uygun ilaç geliştirilmesini kısıtlayan temel nedenlerdendir.

Bu çalışmanın sonuçları bize agmatinin hem epileptogenezde rol aldığını hem de epilepsi sırasında gelişen ultrastrüktürel değişikliklere karşı hipokampusu koruyabildiğini göstermiştir. Bu çalışmanın sonuçları gerek endojen bir madde olan agmatinin epilepsideki rolünün anlaşılması gerekse ileride agmatin sentezi üzerinden yapılacak manipulasyonların terapötik yeni yaklaşımlar sağlayabilmesi açısından heyecan vericidir ve konuyla ilgili ileri çalışmaların planlanmasını gerektirmektedir.

8. KAYNAKLAR

1. Ahn S, Olive M, Aggarwal S, Krylov D, Ginty DD, Vinson C. (1998). A dominant-negative inhibitor of CREB reveals that is general mediator of stimulus-dependent transcription of c-fos. *Mol Cell Biol*, 18:967-977.
2. Altıntaş A, Benbir G. (2004). Kan-beyin bariyeri. *Türk Nöroloji Dergisi*, 10(5):401-406.
3. Arıcıoğlu-Kartal F, Uzbay IT. (1997). Inhibitory effect of agmatine on naloxone precipitated abstinence syndrome in morphine dependent rats. *Life Sci*, 61:1775-1781.
4. Arıcıoğlu-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.
5. Arıcıoğlu F, Altunbaş H. (2003a). Is agmatine an endogenous anxiolytic/antidepressant agent? *Ann. NY. Acad. Sci*, 1009:136-140.
6. Arıcıoğlu F, Körçeğiz E, Bozkurt A, Özyalçın S. (2003b). Effect of agmatine on acute and mononeuropathic pain. *Ann. NY. Acad. Sci*, 1009:106-115.
7. Arıcıoğlu F, Regunathan S, Piletz J. (2003c). Is agmatine an endogenous factor against stress? *Ann. N. Y. Acad. Sci*, 1009:127-132.
8. Arıcıoğlu F, Kan B, Yıllar O, Körçeğiz E, Berkman K. (2003d). Effect of agmatine on electrically and chemically induced seizures in mice. *Ann. NY.Acad. Sci*, 1009:141-146.
9. Arıcıoğlu F, Means A, Regunathan S. (2004a). Effects of agmatine on the development of morphine dependence in rats: Potential role of cAMP system. *Eur. J. Pharmacol*, 504:191-197.
10. Arıcıoğlu F, Paul IA, Regunathan S. (2004b). Agmatine reduces only peripheral related behavioral signs, not the central signs, of morphine withdrawal in nNOS deficient transgenic mice. *Neurosci. Lett*, 354:153-157.
11. Arican N, Kaya M, Kalayci R, Uzun H, Ahishali B, Bilgic B, Elmas I, Kucuk M, Gurses C, Uzun M. (2006). Effects of lipopolysaccharide on blood-brain barrier permeability during pentylentetrazole-induced epileptic seizures in rats. *Life Sci*, 79(1):1-7.
12. Auzmendi J, Gonzalez N, Girardi E. (2008). The NMDAR subunit NR2B expression is modified in hippocampus after repetitive seizures. *Neurochem Res*, (Baskıda).
13. Bengzon J, Okabe S, Lindvall O, McKay RD. (1999). Suppression of epileptogenesis by modification of N-methyl-D-aspartate receptor subunit composition. *Eur J Neurosci*, 11:916-922.

14. Borowicz KK, Kleinrok Z, Czuczwar SJ. (2000). 7-Nitroindazole differentially affects the anticonvulsant activity of antiepileptic drugs against amygdala kindled seizures in rat. *Epilepsia*, 41(9):1112-1118.
15. Braissant O, Gotoh T, Loup M, Mori M, Bachmann C. (2001). Differential expression of the cationic amino acid transporter 2(B) in the adult rat brain. *Brain Res Mol Brain Res*, 91(1-2):189-195.
16. 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 Res*, 55:83-103.
17. Bruton CJ. (1988). The neuropathology of temporal lobe epilepsy. New York, Oxford UP, p.36-40.
18. Bulsara KR, Iskandar BJ, Villavicencio AT, Skene JH. (2002). A new millennium for spinal cord regeneration: Growth-associated genes. *Spine*, 27:1946–1949.
19. Calis U, Dalkara S, Ertan M. (1992). Synthesis and anticonvulsant activity of some new 4-aryl-4-imidazoline-2-one derivatives. *Arzneimittelforschung*, 42(5):592-594.
20. Ceylan U. (2004). Ooferektomize sıçanlarda, hipoöstrojenik ortamın ve iki farklı hormon tedavisinin, beyin korteksi ve hippocampusta; zonula occludens-1, occludin, glial fibriller asidik protein ve c-fos aktivitesi üzerine etkisi. T.C. İstanbul Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, İstanbul.
21. Chapleo CB, Myers PL, Smith AC, Tulloch IF, Turner S, Walter DS. (1987). Substituted 1,3,4-thiadiazoles with anticonvulsant activity 3. Guanidines. *J Med Chem*, 30(5):951-954.
22. Chusid JG. (1973). Epilepsy. In: *Correlative Neuroanatomy and Functional Neurology*. 15th ed, LANGE Medical Publications Los Altos, California, p.361-365.
23. Clark M, Massenburg GS, Weiss SR, Post RM. (1994). Analysis of the hippocampal GABA_A receptor system in kindled rats by autoradiographic and in situ hybridization techniques: Contingent tolerance to carbamazepine. *Mol. Brain. Res*, 26:309–319.
24. Cooper JR, Bloom FE. (1996). The biochemical basis of neuropharmacology. Ed: Roth RH, Oxford University Press, New York, p.126-193.
25. Coulter DA. (2001). Epilepsy-associated plasticity in gamma-aminobutyric acid receptor expression, function, and inhibitory synaptic properties. *Int. Rev. Neurobiol*, 45:237-252.
26. Croucher MJ, Ruffle KL, Bradford HF. (1997). The effects of focal N-methyl-D-aspartate pretreatment on the parameters of amygdaloid electrical kindling. *Eur. J. Pharmacol*, 319:207–213.

27. Demehri S, Homayoun H, Honar H, Riazi K, Vafaie K, Roushanzamir F, Dehpour AR. (2003). Agmatine exerts anticonvulsant effect in mice: Modulation by α_2 -adrenoceptors and nitric oxide. *Neuropharmacol*, 45(4):534–542.
28. Deshpande LS, Lou JK, Mian A, Blair RE, Sombati S, Attkisson E, DeLorenzo RJ. (2008). Time course and mechanism of hippocampal neuronal death in an in vitro model of status epilepticus: role of NMDA receptor activation and NMDA dependent calcium entry. *Eur J Pharmacol*, 583(1):73-83.
29. Dudek FE, Yasumara T, Rash JE. (1998). ‘Non-synaptic’ mechanisms in seizures and epileptogenesis. *Cell Biol Int*, 22(11-12):793-805.
30. During MJ, Spencer DD. (1993). Extracellular hippocampal glutamate and spontaneous seizure in the conscious human brain. *Lancet*, 341:1607–1610.
31. During MJ, Ryder KM, Spencer DD. (1995). Hippocampal GABA transporter function in temporal-lobe epilepsy. *Nature*, 376:174–177.
32. Elmer E, Kokaia M, McIntyre DC, Londavall O. (1998). Epileptogenesis induced by rapidly recurring seizures in genetically fast-but not slow-kindling rats. *Brain Res*, 789:111-117.
33. Engel J. (1996). Introduction to temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res*, 26:141-150.
34. Engel J, Plum F, Gilman S, Martin JB. (Eds), (1989). Causes of human epilepsy. In: *Seizures and Epilepsy*. Philadelphia, p.112-134.
35. Engel J, Pedley TA. (1997). Epilepsy: A comprehensive textbook. Lippincott-Raven, Philadelphia, p. 1-3.
36. Engel J, Schwartzkroin PA. (2006). What should be modeled. In: *Models of Seizures and Epilepsy*. Eds: Pitkanen A, Schwartzkroin PA, Moshe SL, Elsevier, Amsterdam, p. 1-14.
37. Erdtmann-Vourliotis M, Riechert U, Mayer P, Grecksch G, Höllt V. (1998). Pentylentetrazole (PTZ)-induced c-fos expression in the hippocampus of kindled rats is suppressed by concomitant treatment with naloxone. *Brain Res*, 792:299-308.
38. Eşkazan E. (1975). Kompleks semptomatolojili parsiyel epilepsi ve lityum iyonu (klinik ve deneysel çalışma). Uzmanlık tezi, İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Nöroloji Kürsüsü.
39. Eşkazan E, Onat F. (2002). Beynin Nörofizyolojik Organizasyonu ve Deneysel Epilepsi Modelleri. İçinde: *Epilepsi*. Eds: Özkara Ç, Ataklı D, 5US Yayınları, İstanbul, s. 76-79.
40. Ettinger AB. (1994). Structural causes of epilepsy. *Neurol. Clin*, 12(1):41-56.
41. Fairbanks CA, Schreiber KL, Brewer KL, Yu CG, Stone LS, Kitto KF, Nguyen HO, Grocholski BM, Shoeman DW, Kehl LJ, Regunahtan S, Reis DJ, Yeziarski RP, Wilcox GL. (2000). Agmatine reverses pain induced by inflammation, neuropathy and spinal cord injury. *PNAS*, 97:10584-10589.

42. Feng Y, Halaris A, Piletz JE. (1997). Determination of agmatine in brain and plasma using high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J. Chromatogr*, 691:277-286.
43. Feng Y, Piletz JE, Leblanc MH. (2002). Agmatine suppresses nitric oxide production and attenuates hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats. *Pediatr. Res*, 52:606–611.
44. Feng Y, Leblanc MH, Regunathan S. (2005). Agmatine reduces extracellular glutamate during pentylentetrazole-induced seizures in rat brain: A potential mechanism for the anticonvulsive effects. *Neurosci. Lett*, 390:129-133.
45. Fisch TM, Prywes R, Reoder RG. (1987). C-fos sequence necessary for basal expression and induction by epidermal growth factor, 12-O-tetradecanoyl phorbol-13-acetate and the calcium ionophore. *Mol Cell Biol*, 7:3490-3502.
46. Galea E, Regunathan S, Eliopoulos V, Feinstein DL, Reis DJ. (1996). Inhibition of mammalian nitric oxide synthases by agmatine, an endogenous polyamine formed by decarboxylation of arginine. *Biochem. J*, 316:247-249
47. Gao WJ, Goldman-Rakic PS. (2006). NMDA receptor-mediated epileptiform persistent activity requires calcium release from intracellular stores in prefrontal neurons. *Exp Neurol*, 197(2):495-504.
48. Ge WP, Duan S. (2007). Persistent enhancement of neuron-glia signaling mediated by increased extracellular K⁺ accompanying long-term synaptic potentiation. *J Neurophysiol*, 97(3):2564-2569
49. Gilad GM, Gilad VH. (2000). Accelerated functional recovery and neuroprotection by agmatine after spinal cord ischemia in rats. *Neurosci. Lett*, 296:97-100.
50. Gilbert ME. (1988). The NMDA-receptor antagonist, MK-801, suppresses limbic kindling and kindled seizures. *Brain Res*, 463:90–99.
51. Goddard G. (1967). Development of epileptic seizures through brain stimulation at low intensity. *Nature*, 214:1020-1021.
52. Goddard G, McIntyre DC, Leech CK. (1969). A permanent change in brain function resulting from daily electrical stimulation. *Exp Neurol*, 25:295-330.
53. Gonzalez C, Regunathan S, Reis DJ, Estrada C. (1996). Agmatine is an endogenous modulator of noradrenergic neurotransmission in the rat tail artery. *Br. J. Pharmacol*, 119:677–684.
54. Goracke-Postle CJ, Nguyen HO, Stone LS, Fairbanks CA. (2006). Release of tritiated agmatine from spinal synaptosomes. *Neuroreport*, 17(1):13-17.
55. Gözel S. (2006). Grade IV astrositik tümörlerde Her2/Neu ekspresyonu ve CD105 ile boyanan mikrodamar yoğunluğunun birbiriyle ilişkisi ve erken dönem mortalite üzerine

- etkileri. T.C. Sağlık Bakanlığı Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Laboratuvarı, Uzmanlık Tezi, İstanbul, (Danışman: Doç. Dr. Fevziye Kabukçuoğlu).
56. Greenwood RS, Fan Z, Mchugh R, Meeker R. (2000). Inhibition of hippocampal kindling by metabotropic glutamate receptor antisense oligonucleotides. *Mol. Cell. Neurosci*, 16:233–243.
57. Gurnett CA, Landt M, Wong M. (2003). Analysis of cerebrospinal fluid glial fibrillary acidic protein after seizures in children. *Epilepsia*, 44(11):1455-1458.
58. Gültürk S, İmir G, Tuncer. (2007). Kan-beyin bariyeri. *Erciyes Tıp Dergisi*, 29(2):147-154.
59. 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. *Neuropharmacol*, 40:536–550.
60. Hardman JG, Limbird LE, Goodman GA. (2001). Goodman & Gimman's The Pharmacological Basis Of Therapeutics. 10th ed, McGrawHill, New York, Chicago, San Francisco, Lisbon, London, Mexico city, Milan, New Delhi, san Juan, Seoul, Singapore, Sydney, Toronto, p. 1354-1369.
61. Hauser SL, Beal MF. (2008). Mechanisms of Neurologic Diseases. In: *Harrison's Principles of Internal Medicine*. Eds: Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, Loscalzo J, 17th ed, Mc Graw Hill, United States of America.
62. 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. *Mol. Brain Res*, 54:49-55.
63. Holt, Baker GB. (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.
64. Homayoun H, Khavandgar S, Dehpour AR. (2002). Anticonvulsant effects of cyclosporin A on pentylenetetrazole-induced seizure and kindling: Modulation by nitricoxidergic system. *Brain Res*, 939:1-10.
65. Huang LT, Yang SN, Liou CW, Hung PL, Lai MC, Wang CL, Wang TJ. (2002). Pentylenetetrazol-induced recurrent seizures in rat pups: time course on spatial learning and long-term effects. *Epilepsia*, 43(6):567-573.
66. Hwang SL, Liu IM, Tzeng TF, Cheng JT. (2005). Activation of imidazoline receptors in adrenal gland to lower plasma glucose in streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetologia*, 48:767–775.

67. Jackson HC, Ripley TL, Dickinson SL, Nutt DJ. (1991). Anticonvulsant activity of the imidazoline 6,7-benzodiazoxan. *Epilepsy Res*, 9(2):121-126.
68. Janz D. (1997). The idiopathic generalized epilepsies of adolescence with childhood and juvenile age of onset. *Epilepsia*, 38(1):4-11.
69. Kamida T, Takeda Y, Fujiki M, Abe T, Abe E, Kobayashi H. (2007). Nitric oxide synthase and NMDA receptor expressions in cavernoma tissues with epileptogenesis. *Acta Neurol Scand*, 116(6):368-373
70. Kan B. (2002). Kimyasal ve elektriksel olarak oluşturulan epileptik nöbetlerde nitriderjik sistemin rolü. M. Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, (Danışman: Doç. Dr. Feyza Arıcıoğlu).
71. Karadağ HC, Ulugöl A, Tamer M, İpçi Y, Dökmeci İ. (2003). Systemic agmatine attenuates tactile allodynia in two experimental neuropathic pain models in rats. *Neurosci. Lett*, 339:88-90.
72. Kaura S, Bradford HF, Young AM, Croucher MJ, Hughes PD. (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.
73. Kaya M, Gurses C, Kalayci R, Ekizoglu O, Ahishali B, Orhan N, Oku B, Arican N, Ustek D, Bilgic B, Elmas I, Kucuk M, Kemikler G. (2008). Morphological and functional changes of blood-brain barrier in kindled rats with cortical dysplasia. *Brain Res*, 1208:181-191.
74. Kayaalp O. (1995). Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 7. Basım, Ankara, s.2027-2033.
75. Keklikoğlu N. (2004). C-fos gene and fos proteins. *Cerrahpaşa J Med*, 35:1-6.
76. Kolesnikov Y, Jain S, Pasternak GW. (1996). Modulation of opioid analgesia by agmatine. *Eur. J. Pharmacol*, 296:17-22.
77. Lamas M, Gomez-Lira G, Gutierrez R. (2001). Vesicular GABA transporter mRNA expression in the dentate gyrus and in mossy fiber synaptosomes. *Mol. Brain Res*, 93:209–214.
78. Lamas M, Gonzalez-Mariscal L, Gutierrez R. (2002). Presence of claudins mRNA in the brain. Selective modulation of expression by kindling epilepsy. *Mol Brain Res*, 104(2):250-254.
79. Li G, Regunathan S, Reis DJ. (1995). Agmatine is synthesized by a mitochondrial arginine decarboxylase in rat brain. *Ann .N. Y. Acad. Sci*, 763:325-329.
80. Lortie MJ. (1996). Agmatine, a bioactive metabolite of arginin. *J. Clin.Invest*, 97:413-420.

81. Loscher W. (1998). Pharmacology of glutamate receptor antagonists in the kindling model of epilepsy. *Prog. Neurobiol*, 54:721–741.
82. 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.
83. Lowenstein DH. (1998). Status epilepticus. *N Engl J Med*, 338:970-976.
84. Luszczki Jj, Czernecki R, Wojtal K, Borowicz Kk, Czuczwar Sj. (2008). Agmatine enhances the anticonvulsant action of phenobarbital and valproate in the mouse maximal electroshock seizure model. *J Neural Transm*, In: Manipulations of the kindled amygdala. *Exp. Neurol*, 97:17–34.
85. Mason CR, Cooper RM. (1972). A permanent change in convulsive threshold in normal and brain-damaged rats with repeated small doses of pentylenetetrazol. *Epilepsia*, 13:663-674.
86. McNamara JO. (1984). Kindling: An animal model of complex partial epilepsy. *Ann Neurol*, 168(Suppl):72-76.
87. Mcnamara JO, Russell RD, Rigsbee L, Bonhaus DW. (1988). Anticonvulsant and antiepileptogenic actions of MK-801 in the kindling and electroshock models. *Neuropharmacol*, 27:563–568.
88. Mikkonen M, Soininen H, Kalvianen R, Tapiola T, Ylinen A, Vapalahti M, Paljarvi L, Pitkanen 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.
89. Milhaud D, Rondouin G, Lerner-Natoli M, Bockaert J, Lafon-Cazal M. (2003). Neuroprotective activity of antazoline against neuronal damage induced by limbic status epilepticus. *Neurosci*, 120(2):475-484.
90. Morgan NG, Chan SL, Mourtada M, Monks LK, Ramsden CA. (1999). Imidazolines and pancreatic hormone secretion. *Ann. N. Y. Acad. Sci*, 881:217–228.
91. Morimoto K, Holmes KH, Goddard GV. (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.
92. 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.

93. 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.
94. Morimoto K, Fahnestock M, Racine RJ. (2004). Kindling and status epilepticus models of epilepsy: Rewiring the brain. *Prog. in Neurobiol*, 73:1-60.
95. Mortazavi F, Ericson M, Story D, Hulce VD, Dunbar GL. (2005). Spatial learning deficits and emotional impairments in pentylenetetrazole-kindled rats. *Epilepsy Behav*, 7(4):629-638.
96. Nidhi G, Balakrishnan S, Pandhi P. (1999). Role of nitric oxide in electroshock and pentylenetetrazole seizure threshold in rats. *Meth. Find. Exp. Clin. Pharmacol*, 21:609–612.
97. O’Leary JL, Goldring S. (1976). Science and Epilepsy Neuroscience Gains in Epilepsy Research. Raven Press, New York, p.122-129.
98. Oberheim NA, Tian GF, Han X, Peng W, Takano T, Ransom B, Nedergaard M. (2008). Loss of astrocytic domain organization in the epileptic brain. *J. Neurosci*, 28(13):3264-3276.
99. Olmos G, Degregorio-Rocasolano N, Regalado MP, Gasull T, Boronat MA, Trullas R, Villarroel A, Lerma J, Garcia JA, Wang G, Gorbatyuk O, Dayanithi G, Ouyang W, Wang J, Milner TA, Regunathan S, Reis DJ. (2002). Evidence for endogenous agmatine in hypothalamo-neurohypophysial tract and its modulation on vasopressin release and Ca²⁺ channels. *Brain Res*, 932:25–36.
100. Ono J, Vieth RF, Walson PD. (1990). Electrocorticographical observation of seizures induced by pentylenetetrazol injections in rats. *Funct Neurol*, 5:345-352.
101. Oteka K, Ruggiero DA, Regunathan S, Wang H, Milner TA, Reis DJ. (1998). Regional localization of agmatine in the rat brain: an immunocytochemical study. *Brain Res*, 787:1-14.
102. Özyazgan S, Bicakci B, Ozaydin A, Denizbasi A, Unluer EE, Akkan GA. (2003). The effect of agmatine on the vascular reactivity in streptozocin-diabetic rats. *Pharmacol. Res*, 48:133-138.
103. Patrylo PR, Dudek FE. (1998). Physiological unmasking of new glutamatergic pathways in the dentate gyrus of hippocampal slices from entate-induced epileptic rats. *J. Neurophysiol*, 79:418–429.
104. Penix LP, Davis W, Subramaniam S. (1994). Inhibition of NO synthase increases the severity of kainic acid-induced seizures in rodents. *Epilepsy Res*, 18:177-184.

105. Peredery O, Persinger MA, Parker G, Mastrosov L. (2000). Temporal changes in neuronal dropout following inductions of lithium/pilocarpine seizures in the rat. *Brain Res*, 881:9–17.
106. Przegalinski E, Baran L, Siwanowicz J. (1996). The role of nitric oxide in chemically and electrically induced seizures in mice. *Neurosci Lett*, 217:145-148.
107. Qiu WW, Zheng RY. (2006). Neuroprotective effects of receptor imidazoline 2 and its endogenous ligand agmatine. *Neurosci Bull*, 22(3):187-191.
108. Quattrochi JJ, Bazalakova M, Hobson JA. (2005). From synapse to gene product: Prolonged expression of c-fos induced by a single microinjection of carbachol in the pontomesencephalic tegmentum. *Mol Brain Res*, 136(1-2):164-176.
109. Raasch W, Schafer U, Chun J, Dominiak P. (2001). Biological significance of agmatine, an endogenous ligand at imidazoline binding sites. *Br J Pharmacol*, 133:755–780.
110. Racine RJ. (1972a). Modification of seizure activity by electrical stimulation. I. After-discharge threshold. *Electroencephalogr and Clin Neurophysiol*, 32:269-279.
111. Racine RJ. (1972b). Modification of seizure activity by electrical stimulation. II. Motor seizure. *Electroencephalogr and Clin Neurophysiol*, 32:281-284.
112. Racine RJ, Newberry F, Burnham WM. (1975). Post-activation potentiation and kindling phenomenon. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol*, 39:261-271.
113. Rankin EJ, Adams RL, Jones HE. (2001). Epilepsy and Nonepileptic Attack Disorder. In: *Neuropsychology for Clinical Practice Etiology, Assessment and Treatment of Common Neurological Disorders*. Eds: Adams RL, Parsons O, Culbertson JL, Nixon SJ, 4th ed, American Psychological Association, Washington, DC, p.131-136.
114. Regunathan S, Feinstein DL, Raasch W, Reis DJ. (1995). Agmatine, decarboxylated arginine is localised and synthesized in glial cells. *Neuroport*, 6:1987-1900.
115. Regunathan S, Reis DJ. (1996a). Imidazolin receptors and their endogenous ligands. *Ann. Rev. Pharmacol. & Toxicol*, 36:511-544
116. Regunathan S, Youngson C, Raasch W, Wang H, Reis DJ. (1996b). Imidazoline receptors and agmatine in blood vessels: A novel system inhibiting vascular smooth muscle proliferation. *J. Pharmacol. Exp. Ther*, 276:1272-1282.
117. Regunathan S, Reis DJ. (1998). Agmatin: A novel neurotransmitter? *Adv. Pharmacol*, 42:645-649.
118. Regunathan S, Feinstein DL, Reis DJ. (1999). Anti-proliferative and inflammatory actions of imidazoline agents. Are imidazoline receptors involved? *Ann. N.Y. Acad. Sci*, 881:410-419.

119. Regunathan S, Piletz JE. (2003). Regulation of inducible nitric oxide synthesis in macrophages and astrocytes. *Ann. NY. Acad. Sci*, 1009:20-29
120. Reis DJ, Regunathan S. (1998a). Agmatine: An endogenous ligand at imidazoline receptors may be a novel neurotransmitter in brain. *J. Auton. Nerv. Syst*, 72:80-85.
121. Reis DJ, Yang XC, Milner TA. (1998b). Agmatine containing axon terminals in rat hippocampus from synapses on pyramidal cells. *Neurosci. Lett*, 250:185-188.
122. Reis DJ, Regunathan S. (2000). Is agmatine a novel neurotransmitter in brain? *Trends Pharmacol. Sci*, 21:187-193.
123. Riazi K, Honar H, Homayoun H, Rashidi N, Kiani S, Ebrahimkhani MR, Noorian AR, Ghaffari K, Jannati A, Dehpour AR. (2005). The synergistic anticonvulsant effect of agmatine and morphine: Possible role of alpha 2-adrenoceptors. *Epilepsy Res*, 65:33–40.
124. Roche E, Buteau J, Aniento I, Reig JA, Soria B, Prentki M. (1999). Palmitate and oleate induce the immediate-early response genes c-fos and nur-77 in the pancreatic beta-cell line INS-1. *Diabetes*, 48:2007-2014.
125. Rossi R. (1996). Sensitization induced by kindling and kindling related phenomena as a model for multiple chemical sensitivity. *Toxicol*, 111:87-100.
126. Sagen J, Wang H. (1995). Adrenal medullary grafts suppress c-fos induction in spinal neuron of arthritic rats. *Neurosci Lett*, 192:181-184.
127. Santos ARS, Gadotti VM, Oliveira GL, Tibola D, Pazcuk AF, Neto A, Spindola HM, Souza MM, Rodrigues ALS, Calixto JB. (2005). Mechanisms involved in the antinociception caused by agmatine in mice. *Neuropharmacol*, 48:1021-1034.
128. Sastre M, Regunathan S, Reis DJ. (1996). Agmatinase activity in rat brain: A metabolic pathway for the degradation of agmatine. *J. Neurochem*, 67:1761–1765.
129. Sastre M, Regunathan S, Reis DJ. (1997). Uptake of agmatine into rat brain synaptosomes: Possible role of cation channels. *J. Neurochem*, 69:2421-2426.
130. 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.
131. 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.
132. Schmoll H, Badan I, Grecksch G, Walker L, Kessler C, Popa-Wagner A. (2003). Animal Model: Kindling status in sprague-dawley rats induced by pentilenetetrazole. *Am J Pathology*, 162:1027-1034.

133. Seyfried TN, Todorova M. (1999). The Epilepsies: Etiologies and Prevention. Genetic Causes of Epilepsy, Chapter 65 Experimental models of epilepsy. Academic Pres, p. 527-539.
134. Shapiro LA, Wang L, Ribak CE. (2008). Rapid astrocyte and microglial activation following pilocarpine-induced seizures in rats. *Epilepsia*, 49(Suppl2):33-41.
135. Shin CS, Mcnamara JO. (1994). Mechanism of epilepsy. *Annu. Rev. Med*, 45:379-89.
136. Shuo-Bin J, I-Min L, Juei-Tang C. (2004). Activation of imidazoline receptor by agmatine to lower plasma glucose in streptozotocin-induced diabetic rats. *Neurosci Lett*, 358:111–114.
137. Starr MS, Starr BS. (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.
138. Su RB, Wei XL, Zheng JQ, Liu Y, Lu XQ, Li J. (2004). Anticonvulsive effect of agmatine in mice. *Pharmacol. Biochem. Behav*, 77:345–349.
139. 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.
140. Sutula T, Koch J, Golarai G, Watanabe Y, Mcnamara JO. (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.
141. Szyndler J, Piechal A, Blecharz-Klin K, Skorzevska A, Maciejak P, Walkowiak J, Turzynska D, Bidzinski A, Płaznik A, Widy-Tyszkiewicz E. (2006). Effect of kindled seizures on rat behavior in water morris maze test and amino acid concentrations in brain structures. *Pharmacol Res*, 58(1):75-82.
142. Talavera E, Martinez-Lorenzana G, Corkidiĭ G, Leon-Olea M, Condes-Lara M. (1997). NADPH-diaphorase-stained neurons after experimental epilepsy in rats. *Nitric Oxide*, 1:484-493.
143. Theard MA, Baughman VL, Wang, Q, Pelligrino DA, Albrecht F. (1995). The role of nitric oxide in modulating brain activity and blood flow during seizure. *Neuroreport*, 6:921–924.
144. Thom M. (2004). Neuropathological findings in epilepsy. *Curr. Diag. Path*, 10:93-105.

145. Titulaer MN, Kamphuis W, Lopes Da Silva FH. (1995). Long-term and regional specific changes in [3H]flunitrazepam binding in kindled rat hippocampus. *Neurosci*, 68:399–406.
146. 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.
147. Uzbay IT, Yeşilyurt O, Celik T, Ergün H, Işimer A. (2000). Effects of agmatine on ethanol withdrawal syndrome in rats. *Behav Brain Res*, 107(1-2):153-159.
148. Van Leeuwen R, De Vries R, Dzoljic MR. (1995). 7-Nitro indazole, an inhibitor of neuronal nitric oxide synthase, attenuates pilocarpine-induced seizures. *Eur. J. Pharmacol*, 287:211–233.
149. Velisek L, Bohacenkova L, Capkova M, Mares P. (1994). Clonidine, but not ritanserin, suppresses kainic acid-induced automatisms in developing rats. *Physiol Behav*, 55(5):879-884.
150. Walter R, Regunathan S, Li G, Reis DJ. (1995). Agmatine is widely and unequally distributed in rat organs. *Ann. N.Y. Acad. Sci*, 763:330-334.
151. Wang P, Wang WP, Sun-Zhang , Wang HX, Yan-Lou , Fan YH. (2008). Impaired spatial learning related with decreased expression of calcium/calmodulin-dependent protein kinase II(alpha) and cAMP-response element binding protein in the pentylenetetrazol-kindled rats. *Brain Res*, (Baskıda).
152. Yang J, Woodhall GL, Jones RS. (2006). Tonic facilitation of glutamate release by presynaptic NR2B-containing NMDA receptors is increased in the entorhinal cortex of chronically epileptic rats. *J Neurosci*, 26(2):406-410.
153. Yang X, Reis DJ. (1997). Agmatin selectively blocks the NMDA subclass of glutamat receptor channels in cultured mouse hippocampal neurons. *Soc. Neurosci. Abstr*, 23:1763.
154. Yen W, Williamson J, Bertram EH, Kapur J. (2004). A comparison of three NMDA receptor antagonists in the treatment of prolonged status epilepticus. *Epilepsy Res*, 59:43-50.
155. Yourick DL, Repasi RT, Rittase BW, Staten LD, Meyerhoff JL. (1999). Ifenprodil and arcaine alter amygdala-kindling development. *Eur. J. Pharmacol*, 371:147–152.
156. Yue W, Liu YX, Zang DL, Zhou M, Zhang F, Wang L. (2002). Inhibitory effects of succinic acid on chemical kindling and amygdala electrical kindling in rats. *Acta Pharmacol Sin*, 23(9):847-850.

9. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	ZÜLAL	Soyadı	AĞALAR
Doğum Yeri	İSTANBUL	Doğum Tarihi	09.07.1982
Uyruğu	T.C.	TC Kimlik No	40183441498
E-mail	zulalagalar@gmail.com	Tel	0533 662 7998 0216 483 3758

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Lisans	MARMARA ÜNV. FEN-ED. FAK. BİYOLOJİ BÖLÜMÜ	2004
Lise	PENDİK LİSESİ (YDA)	2000

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1. MERKEZ KOORDİNATÖRÜ	NOVARTIS İLAÇ A.Ş.	2007-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*
İNGİLİZCE	İYİ	ORTA	ORTA

* Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

Yabancı Dil Sınav Notu #								
KPDS	ÜDS	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE

Başarılmış birden fazla sınav varsa, tüm sonuçlar yazılmalıdır

KPDS: Kamu Personeli Yabancı Dil Sınavı; ÜDS: Üniversitelerarası Kurul Yabancı Dil Sınavı; IELTS:

International English Language Testing System; TOEFL IBT: Test of English as a Foreign Language-Internet-Based Test TOEFL PBT: Test of English as a Foreign Language-Paper-Based Test; TOEFL CBT: Test of English as a Foreign Language-Computer-Based Test; FCE: First Certificate in English; CAE: Certificate in Advanced English; CPE: Certificate of Proficiency in English

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı			
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
MS OFFICE	İYİ

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

Uluslararası ve Ulusal Yayınları/Bildirileri/Sertifikalari/Ödülleri/Diğer

Makale adı	Yazarlar	Dergi adı	Cilt Sayfa No	Tarih

10. ETİK KURUL ONAY RAPORU



**MARMARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
HAYVAN DENEYLERİ ETİK KURULU
PROJE ONAY FORMU**

PROJENİN ADI : Sıçanlarda Pentilentetrazol ile oluşturulan kindling epilepsi modelinde Agmatin'in etkisinin araştırılması .
PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ : Prof.Dr. Feyza ARICIOĞLU
PROJEDEKİ ARAŞTIRICILAR : Zülal AĞALAR
PROJENİN YÜRÜTÜLECEĞİ LABORATUVAR : Marmara Üniversitesi Eczacılık fak.
Farmakoloji ABD
ONAY TARİHİ VE ONAY SAYISI : 12.2008.mar 10.04.2008

Sayın : Prof.Dr. Feyza ARICIOĞLU

Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'na "Sıçanlarda Pentilentetrazol ile oluşturulan kindling epilepsi modelinde Agmatin'in etkisinin araştırılması " isimli projeniz"Hayvan Deneyleri Etik Kurulu " tarafından incelenerek onaylanmıştır.

Çalışmalarınızda başarılar dileriz.

Prof. Dr. Berrak YEĞEN
Hayvan Deneyleri Etik Kurulu
Başkanı

Not: Deneylerin yapılması sırasında ortaya çıkan zorluklar, deney protokolünde yapılması gereken değişiklikler, "Deney Hayvanları Araştırma Etik Kurulu'na" bildirilmelidir. Bütün yazışmalarda, proje onay tarihi ve onay sayısı belirtilmelidir. Araştırmacıların proje ile yapılan bütün yayınlarda proje onay tarih ve numarası belirtmesi zorunludur.

9. CURRICULUM VITAE

Personal Information

Name	ZÜLAL	Surname	AĞALAR
Birth Place	İSTANBUL	Birth Date	09.07.1982
Nationality	T.C.	TC Identity Number	40183441498
E-mail	zulalagalar@gmail.com	Phone	0533 662 7998 0216 483 3758

Education

	Name of Graduated School	Year of Graduation
License	MARMARA UNV. ART & SCIENCE. FAC. BIYOLOGY DEPARTMENT	2004
High School	PENDİK HIGH SCHOOL	2000

Work Experience (From last to past)

	Function	CORPORATION	Duration (Year-Year)
1.	SITE COORDINATOR	NOVARTIS PHARMACEUTICAL	2007-

Foreign Language	Reading*	Speaking*	Writing*
ENGLISH	Good	Intermediate	Intermediate

* Assess as excellent, good, intermediate, weak

Foreign Language Examination Mark #								
KPDS	ÜDS	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Mark			

Computer Knowledge

Program	Usage Ability
MS OFFICE	GOOD

* Assess as excellent, good, intermediate, weak

International and National Publication/Notification/Certificate/Prize/Etc.

Article Name	Authors	Journal Name	Volume, Page Number	Date