



T. C.
ÜSKÜDAR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

NÖROBİLİM ANABİLİM DALI
NÖROBİLİM YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**POLİAMİNLERİN PENTİLENTETRAZOL'ÜN SUBEFEKTİF DOZLARI İLE
KOMBİNASYONUNUN SIÇANLARDAKİ NÖBET EŞİĞİ VE ŞİDDETİ
ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

DUYGU İNCE KALE

Tez Danışmanı

Prof. Dr. İ. Tayfun UZBAY

İSTANBUL – 2019

T. C.
ÜSKÜDAR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

NÖROBİLİM ANABİLİM DALI
NÖROBİLİM YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**POLİAMİNLERİN PENTİLENTETRAZOL'ÜN SUBEFEKTİF DOZLARI İLE
KOMBİNASYONUNUN SIÇANLARDAKİ NÖBET EŞİĞİ VE ŞİDDETİ
ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

DUYGU İNCE KALE

Tez Danışmanı


Prof. Dr. İ. Tayfun UZBAY

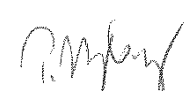
İSTANBUL – 2019


T.C.
ÜSKÜDAR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Anabilim Dalı : Nörobilim
Program : Nörobilim Yüksek Lisans Programı
Öğrenci No : 144202001
Öğrenci Adı Soyadı : Duygu İNCE KALE

“Poliaminlerin Pentilentetrazol’ün Subefektif Dozları İle Kombinasyonunun Sıçanlardaki Nöbet Eşiği Ve Şiddeti Üzerine Etkilerinin Araştırılması” isimli çalışma aşağıdaki jüri tarafından 10/06/2019 tarihinde yapılan sınavda Yüksek Lisans Tezi olarak oybirliğiyle kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı :  Doç. Dr. Korkut ULUCAN
(Marmara Üniversitesi) İmza

Danışman :  Prof. Dr. i. Tayfun UZBAY
(Üsküdar Üniversitesi) İmza

Üye :  Dr. Öğr. Üyesi Emel SERDAROĞLU KAŞIKÇI
(Üsküdar Üniversitesi) İmza

ONAY

Bu tez, yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun tarih ve sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Doç.Dr. Türker Tekin ERGÜZEL
Enstitü Müdür V.

ÖZET

Poliaminlerin merkezi sinir sistem olgunlaşması ya da travma sonrası yaralanmalar sonrasında, çeşitli hücre fonksiyonları üzerinde etki gösterdiği yapılan çalışmalarla bilinmektedir. Buna ek olarak, poliaminler gibi ikinci haberciler de, nörotansmitter alımını etkileyerek sinaptik iletim modülasyon ve deneyime bağlı beyin büyümesi gibi beyin fonksiyonlarını üzerinde anahtar rol oynamaktadırlar. Ancak poliaminlerin beyindeki rolü tam olarak anlaşılmamıştır. Öte yandan çokça tartışılan agmatinin nitrik oksit sentaz (NOS) inhibisyonu ve N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptör antagonisti özellikleri ile anksiyete ve epilepsi gibi farklı eksitator nitelikli nöropsikiyatrik hastalıkların tedavisinde kullanılabileceği veya nöropsikiyatrik hastalıkların tedavisinde kullanılan bazı ilaçların etkilerine katkı sağlayabileceğini düşündüren birçok veri bulunmaktadır.

Bu çalışmada eksojen olarak verilen poliaminlerin epileptik nöbet oluşturup oluşturmadığı veya poliaminlerin deneysel bir modelde epilepsi eşiğini değiştirip değiştirmediği araştırılmıştır.

Çalışmada deneysel epilepsi modeli oluşturulmasında 40 mg/kg Pentilentetrazol (PTZ) kullanılmıştır. Çalışmada 8 haftalık dişi Wistar albino sıçanlar kullanılarak günlük vajinal smear taraması yapılmış, metöstrus evresinde olan hayvanlar deneye alınarak 8 grup oluşturulmuştur. Spermin, spermidin ve agmatin ile ilgili belirlenen dozlar tek doz olarak deney hayvanlarına verilmiştir. Tüm madde enjeksiyonlarından sonra deneklerin nöbet aktiviteleri gözlemlenerek nöbet skorlamaları yapılmıştır.

Elde edilen veriler; PTZ 40 mg/kg + spermidin 20 mg/kg dozu, PTZ 40 mg/kg + spermidin 40 mg/kg dozu ve PTZ 40 mg/kg + spermidin 80 mg/kg dozu kontrol grubuna göre, nöbete giriş süresini erkene çektiği görülmüştür (Sırasıyla $p=0.002$; $p=0.001$; $p=0.030$).

PTZ 40 mg/kg + spermidin 20 mg/kg dozunun ise kontrol grubu olan PTZ 40 mg/kg dozuna göre, nöbet şiddetini istatistikçe anlamlı düzeyde arttırdığı görülmüştür ($p=0.019$). PTZ 40 mg/kg + sperminin 4 mg/kg dozu, kontrol grubu olan PTZ 40 mg/kg dozuna göre, nöbete giriş süresini erkene çektiği görülmüştür ($p=0.001$).

PTZ 40 mg/kg + spermin 8 mg/kg grubunun da PTZ 40 mg/kg + spermin 4 mg/kg grubuna göre nöbet şiddetini istatistikçe anlamlı düzeyde düşürdüğü görülmüştür.

Agmatinin 160 mg/kg dozunun ise nöbet eşiği ve nöbet şiddeti üzerinde anlamlı bir etkisinin olmadığı görülmüştür.

Çalışmamızdan çıkan verilere göre spermin ve spermidinin PTZ ile indüklenen nöbet eşiği ve şiddeti üzerinde bazı dozlarda anlamlı ölçüde olumsuz etkileri olduğunu göstermektedir. Bununla beraber, bir gıda takviyesi olarak da kullanılan agmatin PTZ ile indüklenen nöbetler üzerinde herhangi bir etki oluşturmamıştır. Bu sonuçlar bazı poliaminlerin epileptic nöbetler üzerine olumsuz etkileri olabileceğine ve epilepsi etiyopatogenezine katkı sağlayabileceğine işaret etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Poliaminler, Epilepsi/Nöbet, Spermin, Spermidin, Agmatin, Sıçan

ABSTRACT

Previous research has shown that polyamines have an effect on various cell functions after central nervous system maturation or posttraumatic injuries. In addition, second messengers, like polyamines also play a key role in brain functions such as synaptic transmission modulation and brain growth due to experience by affecting neurotransmitter uptake. However, the role of polyamines in the brain is not fully understood. On the other hand, there are many data available that suggest agmatine, which is widely discussed, can be used in treatment of various excitatory neuropsychiatric diseases such as anxiety and epilepsy with its nitric oxide synthase (NOS) inhibition and N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor antagonist properties, or that it may contribute to the effects of some drugs used in the treatment of neuropsychiatric diseases.

In this study, it is investigated whether the polyamines which are exogenously produced cause epileptic seizures or if polyamines change the epilepsy threshold in an experimental model.

In the study, 40 mg/kg Pentylentetrazol (PTZ) was used to form the experimental epilepsy model. In the study, daily vaginal smear screening was performed by using 8-week-old female Wistar albino rats, metoestrus stage animals were included in the experiment and 8 groups were created. Specified doses of spermine, spermidine and agmatine were administered as a single dose to the experimental animals. After all item injections, seizure activities of the subjects were observed and seizure scoring was performed.

The data obtained; PTZ 40 mg / kg + spermidine 20 mg / kg dose, PTZ 40 mg / kg + spermidine 40 mg / kg dose and PTZ 40 mg / kg + spermidine 80 mg / kg dose was seen to make the time of the seizure period earlier compared to the control group. ($p = 0.002$; $p = 0.001$; $p = 0.030$ respectively).

PTZ 40 mg / kg + spermidine 20 mg / kg dose was found to increase the severity of seizures significantly compared to the control group of PTZ 40 mg / kg dose ($p = 0.019$). PTZ 40 mg / kg + spermine 4 mg / kg dose was found to prepone the starting time of seizures compared to the control group of PTZ 40 mg / kg dose ($p=0.001$).

PTZ 40 mg / kg + spermine 8 mg / kg group was found to decrease the severity of seizures significantly statistically compared to PTZ 40 mg / kg + spermine 4 mg / kg group.

Agmatine 160 mg / kg dose did not have a significant effect on seizure threshold and seizure severity. According to the data obtained from our study, spermine and spermidine have significant negative effects on PTZ induced seizure threshold and severity in some doses. In addition, agmatine, also used as a food supplement, had no effect on PTZ-induced seizures. These results indicate that some polyamines may have adverse effects on epileptic seizures and may contribute to the etiopathogenesis of epilepsy.

Keywords: Polyamines, Epilepsy/Seizure, Spermine, Spermidine, Agmatine, Rat

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde, değerli bilgilerini benimle paylaşan, kendisine ne zaman danışsam bana kıymetli zamanını ayırıp sabırla ve büyük bir ilgiyle bana faydalı olabilmek için elinden gelenden fazlasını sunan her sorun yaşadığımda yanına çekinmeden gidebildiğim, güler yüzünü ve samimiyetini benden esirgemeyen ve gelecekteki mesleki hayatımda da bana verdiği değerli bilgilerden faydalanacağımı düşündüğüm kıymetli danışman hocam sayın Prof. Dr. İ. Tayfun UZBAY'a;

Akademik hayatta kendisiyle tanıştığım ve öğrencisi olduğum için bana kendimi çok şanslı hissettiren, şefkatini hiç bir zaman esirgemeyen, yaş ne olursa olsun öğrenciliğimin devam ettiği bu süreçte öğretmenin duruşunun, bakışının hayat yolunda hala etkili olduğunu bana gösteren çok değerli hocam sayın Prof. Dr. Muhsin KONUK'a;

Nöropsikofarmakoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (NPFUAM)'deki yapılan her türlü uygulamalarda tüm bilgi ve tecrübesini benimle paylaşan sevgili hocam Vet Hek. Burcu ÇEVRELİ'ye;

Yüksek lisans eğitimim boyunca, bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan sevgili hocam Doç.Dr. Emel SERDAROĞLU KAŞIKÇI'ya ve bütün hocalarıma;

Çalışmamda konu, kaynak ve yöntem açısından bana sürekli yardımda bulunarak yol gösteren, laboratuvar çalışmalarımda bana yardımcı olan ve gelecekteki hayatında çok daha başarılı olacağına inandığım kıymetli arkadaşım Tayfun GÖZLER'e;

Laboratuvar çalışmalarım boyunca ki bu zor süreçte her aşamada yardımcı olan NPFUAM laboratuvar personeli olan Emre KARACA'ya;

Laboratuvar çalışmalarımda bana yardımcı olan çok değerli arkadaşım Hamza KULAKSIZ'a;

Üniversiteden beri yanımda olan, araya mesafeler girse de yokluğunu hiç bir zaman hissettirmeyen, beni her zaman cesaretlendiren, yüksek lisans yapmama vesile olan hatta benim için üniversiteleri, bölümleri araştıran, tezimin yazımında bana yol gösteren, yardımcı olan canım arkadaşım Serra Çilem ERCAN'a;

Okul sırasında karşıma çıkan, hayatımın çizgisini kendi elleriyle çizdiğine inandığım, birlikte büyüdüğüm, güldüğüm, ağladığım, benim okula gelebilmem için her seferinde işini gücünü bırakıp Mevsim'e bakmaya gelen canım, sevgilim, eşim, her şeyim Adnan Barkın KALE'ye;

Bana her zaman güvenen her türlü desteklerini esirgemeyen sevgili aileme;

Sonsuz saygı ve sevgilerimi sunar, çok teşekkür ederim.

Kendimle ilgili bir çok şeyi yarım bıraktığım 2 senelik süreçte tam yapmaya çalıştığım tek şey annelikti. Günlerce uykusuz kaldım, bazen yemek yemeyi bile unuttum, evden dışarı çıkamadım, çalışmayı bıraktım... Şimdi bana diyorsun ya "benim annem olduğun için sana çok teşekkür ederim canım annem" işte diyorum her şeye değdi tüm dünyalar benim oldu, bütün sıkıntıları unuttum gitti. Asıl ben sana teşekkür ederim canım kızım, seni çok ama çok ama çok seviyorum boncuk gözlüm, Mevsimim.

Duygu İNCE KALE

BEYAN FORMU

Bu çalışmanın kendi tez çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi beyan ederim.

Tarih

Adı Soyadı

İmza



İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
BEYAN FORMU	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Epilepsi.....	2
2.1.1 Epilepsinin Tanımı.....	2
2.1.2 Epilepsinin Epidemiyolojisi.....	2
2.1.3 Epilepsinin Temel Mekanizması.....	3
2.1.4 Deneysel Epilepsi Modelleri.....	4
2.2 Poliaminler	8
2.2.1 Poliaminlerin Sentezi	10
2.2.2 Poliaminlerin Yıkımı	11
2.2.3 Agmatin	11
2.3 Poliaminler Ve Epilepsi	18
2.3.1 Spermin-Spermidin Ve Epilepsi İlişkisi	18
2.3.2 Agmatin Ve Epilepsi İlişkisi	19
2.4 Pentilentetrazol	20
3. GEREÇ VE YÖNTEM	23
3.1. Deney Hayvanları ve Etik Koşullar	23
3.2. Laboratuvar	23
3.3. Kullanılan Maddeler.....	23
3.4. Deney ve Kontrol Grupları.....	24
3.5. Kimyasallar	25
3.5.1 Pentilentetrazol (PTZ) nöbetleri ve skorlaması.....	25
3.5.2 Dozların belirlenmesi.....	26
3.6 Sikluslar.....	26

3.6.1 Evreleri.....	26
3.6.2 Evrelerdeki Temel Hormonal Değişimler.....	27
3.6.3 Deneyin Uygulanışı.....	30
3.7 Nöbetlerin değerlendirilmesi.....	33
3.8 İstatiksel analiz yöntemi.....	34
3.9 Deneyin Sonlandırılması.....	34
4. BULGULAR.....	35
4.1. PTZ (40 mg/kg) ile kombine edilmiş spermidinin (20, 40 ve 80 mg/kg) dozlarının nöbete giriş süresine etkileri.....	35
4.2. PTZ (40 mg/kg) ile kombine edilmiş spermidinin (20, 40 ve 80 mg/kg) dozlarının nöbet şiddeti üzerine etkileri.....	36
4.3. PTZ (40 mg/kg) ile kombine edilmiş sperminin (2, 4 ve 8 mg/kg) dozlarının nöbete giriş süresine etkileri.....	37
4.4. PTZ (40 mg/kg) ile kombine edilmiş sperminin (2, 4 ve 8 mg/kg) dozlarının nöbet şiddeti üzerine etkileri.....	38
4.5. PTZ (40 mg/kg) ile kombine edilmiş agmatinin 160 mg/kg dozunun nöbete giriş süresine etkileri.....	39
4.6. PTZ (40 mg/kg) ile kombine edilmiş agmatinin 160 mg/kg dozunun nöbet şiddeti üzerine etkileri.....	40
5. TARTIŞMA.....	41
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	44
7. KAYNAKLAR.....	45

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Poliamin Yapıları.....	7
Şekil 2. Poliaminlerin ve Agmatinin Sentezi.....	9
Şekil 3. Agmatinin Kimyasal Yapısı	10
Şekil 4. Agmatinerjik Sinapsların Şematik Temsili (IR: imidazolin reseptörleri)	12
Şekil 6. PTZ ile uyarılan nöbet tipleri.....	19
Şekil 7. Metaöstrusun erken döneminde kümeler (*) meydana getirmiş kornifiye hücreler (K) arasında nötrofillerin (N) varlığı görülmektedir	25
Şekil 8. Fazın ilerleyen dönemlerinde, nükleuslu epitel hücreleri (E) ve nötrofillerin (N) sayısının çoğaldığı görülmüştür. Ayrıca, çok sayıda sitoplazmik vakuol bulunduran nükleuslu epitel hücreleride yoğun olarak bulunmaktadır.....	26
Şekil 9. Metöstrus fazının ilerleyen dönemlerinde sayıca fazlaşan vakuollü nükleuslu epitel hücreleri gözlenmektedir.	26
Şekil 10. PTZ (40 mg/kg) ile kombine edilmiş spermidinin (20, 40, 80 mg/kg) dozlarının nöbete giriş süresine etkileri	32
Şekil 11. PTZ (40 mg/kg) ile kombine edilmiş spermidinin (20, 40, 80 mg/kg) dozlarının nöbet şiddeti üzerine etkisi	33
Şekil 12. PTZ (40 mg/kg) ile kombine edilmiş sperminin (2, 4, 8 mg/kg) dozlarının nöbete giriş süresine etkileri	34
Şekil 13. PTZ (40 mg/kg) ile kombine edilmiş sperminin (2, 4, 8 mg/kg) dozlarının nöbet şiddeti üzerine etkileri	35
Şekil 14. PTZ (40 mg/kg) ile kombine edilmiş agmatinin 160 mg/kg dozunun nöbete giriş süresine etkileri.....	36
Şekil 15. PTZ (40 mg/kg) ile kombine edilmiş agmatinin 160 mg/kg dozunun nöbet şiddeti üzerine etkisi	37

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Deneysel epilepsi modelleri altı sınıfa ayrılabilir (Marangoz C. 1997).....	4
Tablo 2. Epilepsi tiplerine uygun hayvan modelleri (Tayfun Uzbay, 2004).....	5
Tablo 3. Çalışmada kullanılan maddeler, çözünürlük durumları, temin edildikleri yer, çalışmada uygulanan dozları, veriliş yolları ve veriliş süreleri.....	21
Tablo 4. Çalışmada kullanılan hayvanların grupları (grup türü, grup etiketi), her grupta ihtiyaç duyulan hayvan sayısı, doz aralıkları ve maddelerin birbirleri ile olan kombinasyonları.....	22



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

NO: Nitrik Oksit

NOS: Nitrik Oksit Sentaz

NMDA: N-Metil-D-Aspartat

PTZ: Pentilentetrazol

NPFUAM: Nöropsikofarmakoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi

ILAE: Uluslararası Epilepsi İle Savaş Derneği

GABA: Gamma-Aminobütirik Asit

GABA_A: Gamma-aminobütirik asit reseptörü

5-HT: Serotonin

iNOS: inducible Nitrik Oksit Sentaz

nNOS: Nöronal Nitrik Oksit Sentaz

SSS: Santral sinir sistemi

ADC: Arjinin Dekarboksilaz

AMPA: Alfa-Amino-3-Hidroksi-5-Metil-4-İzoksazolpropiyonat

cAMP: Siklik Adenozin Monofosfat

cGMP: Siklik Guanozin Monofosfat

NAc: Nucleus Accumbens

İV: İntravenöz

İP: İntraperitoneal

P: Proöstrus

Ö: Östrus

M: Metöstrus

D: Diöstrus

K: Kornifiye Hücreler

N: Nötrofil

E: Epitel Hücresi

KL: Korpus Luteum

FMJ: First Myoclonic Jerk

TGE: Tonic Generalized Extension

GCS: Generalize Clonic Seizure

LH: Lüteinleştirici Hormon

FSH: Folikül Uyarıcı Hormon

1. GİRİŞ

Poliaminler, doğada ve canlı organizmalarda yaygın olarak bulunan 2, 3 veya 4 amino grubu içeren alifatik moleküllerdir (Tabor ve Tabor 1984). Putresin, spermidin ve spermin beyinde de bulunduğu bilinen poliaminlerdir. Bir guanidino-amin olan agmatinin de memeli beyinde varlığı gösterilmiştir (Raasch ve ark. 1995, Reis ve Regunathan 1998). Agmatin ilk olarak 1910 yılında Albrecht Kossel tarafından ringa balığının sperminde keşfedilmiştir. Doğada ve memelilerde yaygın olarak bulunur. Agmatin biyolojik olarak aktif bir maddedir ve yüksek bir afinite ile imidazolin ve α_2 adrenajik reseptörlere bağlandığı gösterilmiştir. Agmatin beyinde sentezlenen, veziküllerde depolanan ve beyinden salıverilen bir nörotransmitter özelliklerine sahiptir. Nitrik oksit (NO) oluşumuna katkı sağlayan NOS enzimini inhibe edici (Galea ve ark. 1996) ve sıçan hipokampal nöronlarında glutamaterjik NMDA reseptörleri bloke edici etkileri vardır (Yang ve Reis 1999).

Daha önce yapılan deneysel epilepsi çalışmalarında sıçan beyinde epileptik nöbetler ve kindling sonrası poliamin düzeylerinde anlamlı artışlar saptanmıştır (Hayashi ve ark. 1993). Bu çalışmanın amacı eksojen olarak verilen poliaminlerin epileptik nöbet oluşturup oluşturmadığını veya poliaminlerin deneysel bir modelde epilepsi eşiğini değiştirip değiştirmediğini anlamaktır. Bu önemlidir, çünkü agmatin gibi bazı poliaminler gıda takviyesi olarak kullanılmakta ve sporcular vücut geliştirme için agmatini kullanmaktadır. Eğer poliaminlerin nöbet eşiği veya şiddetini doğrudan etkilediği saptanırsa gıda takviyesi olarak veya sporcuların kullanımları yeniden gözden geçirilebilir. Eksojen olarak verilen poliaminlerin doğrudan nöbet üzerine etkilerini değerlendiren herhangi çalışma da henüz yapılmamıştır.

Çalışmada deneysel epilepsi modeli oluşturulmasında Pentilentetrazol (PTZ) kullanılmıştır. Çalışmada 8 haftalık dişi Wistar albino sıçanlar kullanılarak günlük vajinal smear taraması yapılmış, metöstrus evresinde olan hayvanlar deneye alınarak 8 grup oluşturulmuştur. Spermin, spermidin ve agmatin ile ilgili belirlenen dozlar tek doz olarak deney hayvanlarına verilmiştir. Tüm madde enjeksiyonlarından sonra deneklerin nöbet aktiviteleri gözlemlenerek nöbet skorlamaları yapılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. EPİLEPSİ

2.1.1. Epilepsinin Tanımı

Epilepsi terimi, Yunancadaki “epilepsia” kelimesinden türemiştir. Epi: üstünde, üstünden, Lepsis: tutmak, tutup sarsmak demektir. Epilepsi kelime olarak tutulmak, kriz gelmek anlamındadır.

Beyindeki nöronların aşırı aktivitesi nedeniyle oluşan tekrarlayan spontan nöbetlerle karakterize bir hastalıktır. Başka bir deyişle, epilepsi santral sinir sisteminde, kortikal veya subkortikal bölgelerde yer alan nöron gruplarının ani, anormal ve hiper-senkron deşarjları sonucu ortaya çıkan ve genellikle tekrarlayıcı nitelikte olan bir klinik tablodur (Ciğer, 2002).

Hughlings Jackson’ın hala kullanılan tanımına göre nöbet “ara sıra, ani, aşırı, hızlı bir şekilde olan, serebral kortekste ki düzensiz ateşleme”dir (Parsons, 2008).

2.1.2. Epilepsinin Epidemiyolojisi

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

Epileptik nöbet gelişmiş ülkelerde en sık görülen nörolojik bir hastalıktır (Chang and Lowenstein, 2003; Lipson et al., 2002). Dünya Sağlık Örgütü’nün 2009 verileri dünyada yaklaşık 50 milyon epilepsili hasta olduğunu bildirmektedir (Bambal ve ark., 2011).

Dünya Sağlık Örgütü’nün tahminine göre, epilepsi aktivitesinin ortalama prevalansı genel popülasyonda 1000’ de 8,2 kişidir (Ransom ve Blumenfeld, 2007). Yapılan çalışmalarda Türkiye’ de epilepsi prevalansı 7-12.2/1000 olarak bulunmuştur (Karaağaç ve ark., 1999; Çalışır ve ark., 2006).

Epilepsi insidansının çocukluk çağında ve yaşlılıkta en yüksek düzeyde olduğu

gözlemlenirken, erken erişkinlikte daha düşük düzeyde olduğu gözlenmiştir (Zupec-Kania ve Spellman, 2009).

2.1.3. Epilepsinin Temel Mekanizması

Epileptik bir nöbet, beyindeki anormal yüksek nöronal aktiviteden dolayı oluşan geçici semptomlara verilen isimdir.

Epileptogenezis, spontan nöbetlerin oluşmasına neden olan hücrel ve moleküler değişiklikler basamaklarının tetiklenmesi ile sonuçlanan beyin hasarı sürecini ifade etmektedir.

Nöbet oluşumuna yol açan yaygın faktörler; metabolik anormallikler (hipoglisemi ve hiperglisemi, hiponatremi, hipokalsemi vs.), alkol yoksunluğu, akut nörolojik hasar (menenjit, ensefalit gibi infeksiyonlar, inme, kafa travması), teofilin, trisiklik antidepresanlar gibi nöbet eşiğini düşüren ilaçlar ve çocuklarda yüksek ateştir. Epilepsiye yatkın serebral nöronların fonksiyonunun veya yapısının değişmesine neden olan herhangi bir süreç epilepsiye eğilimi artırmaktadır. Epilepsiye neden olabilen bazı yapısal beyin hastalıklarını konjenital (heterotopiler, kortikal displazi), dejeneratif (Alzheimer hastalığı), enfeksiyöz (menenjit, ensefalit, abse), travma, tümör, vasküler (vasküler malformasyon, inme, subaraknoid hemoraji) şeklinde özetleyebiliriz.

Epileptogenez oluşumunun altında hangi mekanizmanın yattığı çok iyi bilinmemektedir. Tüm epilepsi nöbetlerinde aynı mekanizmadan söz edilemezken hepsinde artmış nöronal uyarılabilirlik ve senkronizasyon gibi ortak özellikler mevcuttur. Epileptojenik odak adını verdiğimiz beyin bölgelerindeki hücreler tam açıklanamayan nedenlerle artan uyarılma ve anormal ateşlenme özelliği gösterirler ve etraflarındaki normal hücreleri de bu duruma ortak ederler (Baykan B ve ark, 2004). Epileptogenez oluşumuyla ilgili moleküler mekanizmalar arasında voltaj bağımlı Na⁺ kanallarının aktivasyonu, gama aminobütirik asit (GABA) sentez veya yıkımındaki değişiklikler, hücrel GABA alımının inhibisyonu, GABA_A reseptörü başta olmak üzere çeşitli uyarıcı amino asit reseptörlerinin modülasyonu ve adenosin metabolizmasındaki düzenleme ile ortaya çıkan değişiklikler yer alır (Avoli ve ark. 2005; Wendling ve ark. 2002; Wilson ve ark. 1992).

Bazı epileptik sendromlarda genetik faktörlerin etkili olduğu gösterilmiştir. Örneğin, gen mutasyonları anormal iyonik kanal fonksiyonlarına yol açabilmekte ve anormal ağ bağlantılarını fazladan etkileyebilmektedir (Stafstrom CE, 2006). Tek gen

epilepsilerinin çoğu, nöronal iyon kanallarını kodlayan genlerdeki mutasyonlardan kaynaklanmaktadır (Sanchez-Carpintero Abad R, Sanmarti Vilaplana FX, Serratos Fernandez JM, 2007). İyon kanallarındaki mutasyonlar inhibitör ve eksitator nörotransmisyonun etkinliğinin değişmesine yol açmakta; bunun sonucunda eksitator nörotransmisyonun artmasına ya da inhibitör fonksiyonun kaybına neden olmaktadır. İyon kanallarının dışında GABAerjik sisteme ait genetik bozukluklar da tespit edilmiştir. Sekonder epilepsi sendromlarında glutamaterjik sistem önemli bir yer tutmaktadır. Birçok epilepsi çeşidinin aşırı glutamaterjik sinaptik iletim bozukluğundan kaynaklanabileceği öngörülmektedir (Alexander ve Godwin, 2006). Glutamat ve GABA, merkezi sinir sisteminde en çok bulunan nörotransmitterlerdir (Bambal ve ark. 2011). Glutamaterjik ve GABA'erjik nöronlar arasındaki denge, geçici nöron senkronizasyonunu kontrol etmektedir (Cloix ve Hevor 2009). Glutamat beyinde ki en önemli eksitator nörotransmitter olarak NMDA ve non-NMDA reseptörleri üstünden etkisini göstermektedir. NMDA reseptörleri sodyum ve kalsiyumun nöron içine girişine sebep olarak uzun süreli ve yavaş etkili eksitator postsinaptik potansiyellere sebep olmaktadır. Bu sayede epileptik burst sinyallerinin meydana gelmesini sağlamaktadır (Uysal 2008).

2.1.4. Deneysel Epilepsi Modelleri

Deneysel epilepsi modelleri, epilepsinin altında yatan temel patofizyolojik mekanizmaların anlaşılmasında, uygun olan ilaçların üretilmesinde, yeni tedavi yöntemlerinin belirlenmesinde önemli rol oynar. Deneysel epilepsi modelleri antikonvulsan ilaçların uygulanması (penisilin, Ba, Co, Fe, Ni, Cd, fluorothyl), GABAerjik antagonistlerin (bikukullin, pikrotoksin, pentilentetrazol), nörotoksinler (kainik asit, pilokarpin, tetanos toksini) ve lezyon uygulamaları ile ortaya çıkartılır. Buna ilaveten bazı elektriksel uyaranlar ile de nöbet oluşturulabilir.

Tablo 1. Deneysel epilepsi modelleri altı sınıfa ayrılabilir (Marangoz C. 1997):

- 1) Basit parsiyel (akut)
 - a. Topikal konvulsanlar (penisilin, bikukullin v.b.)
 - b. Akut elektriksel uyarı
 - c. GABA kesilmesi
 - d. Neokorteks dilimleri
- 2) Basit parsiyel (kronik)
 - a. Kortekse metal verilmesi (Alüminyum hidroksit, Kobalt, Çinko, Demir v.b.)

- b. Kriyojenik hasar
 - c. Gangliosit antikor verilmesi
 - d. Sistemik fokal epileptogenez
- 3) Jeneralize tonik-klonik
- a. Genetik (ışığa duyarlı babunlar, farede sesle oluşan nöbetler, paytak ve E1 fareleri, sıçan gerbil ve drozifola)
 - b. Maksimal elektrik şoku
 - c. Kimyasal konvulsanlar (PTZ, penisilin v.b.)
 - d. Metabolik düzensizlik (hipoksi, hiperglisemi, hiperbarik oksijen, hiperkarpi, yüksek ısı, ilaç kesilmesi).
- 4) Kompleks parsiyel
- a. Kainik asit, tetanos toksini
 - b. Fırtınalar alanına enjeksiyon
 - c. Tutuşma
 - d. Beyin dilimleri
- 5) Jeneralize absans
- a. Talamusun uyarılması
 - b. Bilateral odak
 - c. Sistemik penisilin
 - d. γ -hidroksi-butirat
 - e. i.v. opiat v.b.
- 6) Status epileptikus
- a. Lityum-pilokarpin
 - b. Kobalt-hemosistein
 - c. Tekrarlayan uyarılma

Tablo 2. Epilepsi tiplerine uygun hayvan modelleri (Tayfun Uzbay, 2004)

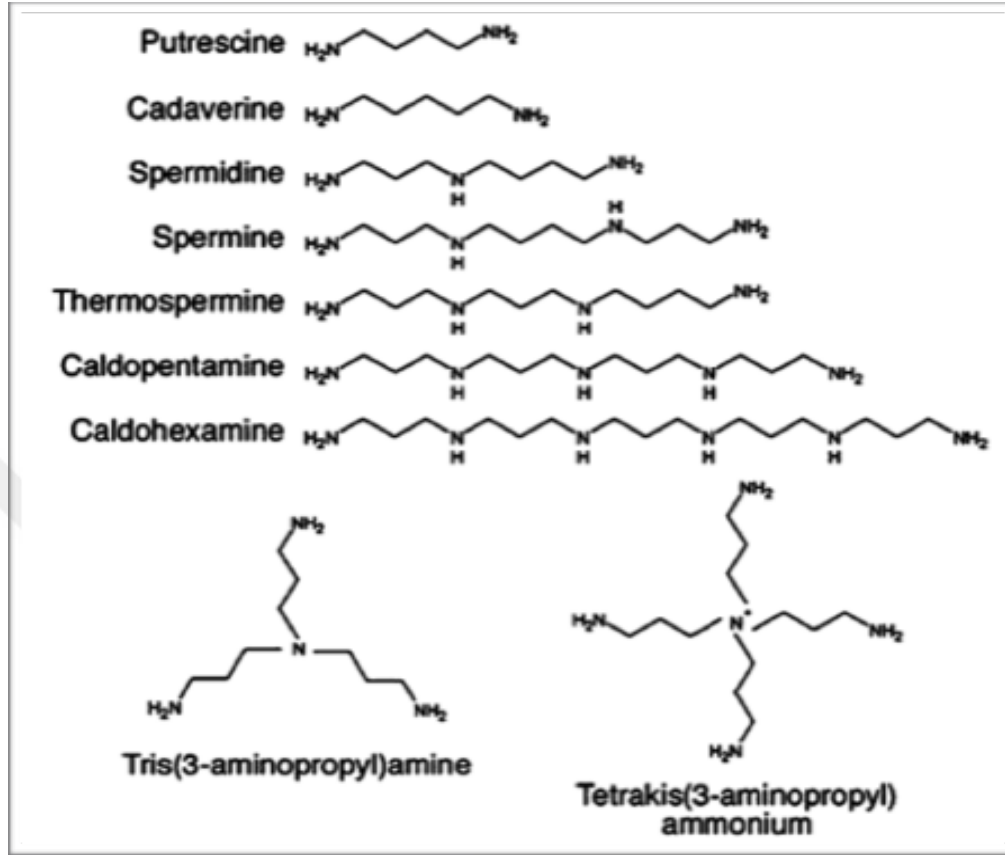
1. Akut basit parsiyel epilepsi oluşturma
 - a. Konvulsan ajanların uygulanması
 - Penisilin, bikukulin, pikrotoksin ve striknin
 - b. Akut elektriksel stimülasyon uygulama
 - GABA kesilmesi
2. Kronik basit parsiyel epilepsi oluşturma
 - a. Kortikal olarak metallerin implante edilmesi
 - Alüminyum hidroksit, kobalt, çinko, demir
3. Kompleks parsiyel epilepsi oluşturma

- a. Konvülsan ajanların uygulanması
 - Kainik asit, tetanoz toksini
 - b. Amigdala ya da hipokampal kindling
 - c. Beyin dilimlerinde çalışmalar
 - Rodent hipokampal kesitleri, izole hücre preparatları
4. Jeneralize tonik-klonik nöbet oluşturma
- a. Genetik
 - Fotosensitif baboonlar, odiyojenik stimülasyona duyarlı fareler,
 - Genetik olarak epilepsiye eğilimli sıçanlar
 - GAERS (Genetic Absanse Epileptic Rats From Strasbourg) sıçanları
 - W AG-Rij (Wistar Albino Gloxo-Rijwijk) sıçanları
 - b. Maksimal elektroşok uygulama
 - c. Kimyasal ajanlar
 - Pentilentetrazol, pikrotoksin, bikukulin, penisilin
 - d. Metabolik olaylar
 - Hipoksi, hipoglisemi, hiperbarik oksijen, üremi, ilaç kesilmesi, yüksek ateş
 - e. Jeneralize absans (petit-mal) nöbet oluşturma
 - Talamik stimülasyon, sistemik penisilin, gamahidroksibutirat

2.2. Poliaminler

Poliaminler, ilk kez 1678 yılında Antonie Van Leeuwenhoek tarafından sperm anomalilerinin ortaya çıkarılması esnasında bulunan, doğada ve canlı organizmalarda yaygın olarak 2, 3 veya 4 amino grubu içeren alifatik moleküllerdir (Tabor ve Tabor, 1984). Putresin, kadevrin, spermidin, spermin, termospermin, kaldopentamin, kaldohexamin, tris amin ve tetrakis amonyum gibi birçok poliamin çeşidi bulunmaktadır (Cohen, 1998; Oshima, 2007). Bunlardan putresin ve kadaverin bir diamin, spermidin triamin ve spermin ise tetraamindir (Smith, 1979; Bagni ve Pistochoni, 1992; Liu ve ark., 2000).

Şekil 1. Poliamin Yapıları



(Cohen, 1998)

Poliaminler, bitkiler, hayvanlar ve bakterilerde bulunurlar (Alcazar ve ark., 2006). Putresin, spermidin ve spermin beyinde de bulunduğu bilinen poliaminler olup, yapılan araştırmada bir guanidino-amin olan agmatinin de memeli beyinde varlığı gösterilmiştir (Raasch ve ark. 1995; Reis ve Regunathan 1998). Tüm prokaryotik ve ökaryotik nükleus yapısına sahip hücreler, putresin ve spermidin sentezlemektedir. Ancak spermin sadece nükleus içeren ökaryotlarda bulunmaktadır (Demir ve Vural, 1995).

Agmatin metabolitleri olan spermin, spermidin ve putresine odaklanan birçok çalışma yayınlanmıştır. Pozitif yüklü doğaları nedeniyle negatif yüklü DNA, RNA, proteinler ve fosfolipid gibi yapılarla etkileşerek stabilizasyonlarını sağlarlar (Liu, 2012; Takahashi ve Kakehi, 2010). Nörolojik açıdan bakıldığında beyinde NMDA reseptörleri ve iyon kanallarının açılışını düzenlerler (Ficker ve ark., 1994; Lopatin ve ark., 1994; Fakler ve ark., 1995; Williams, 1997) ve nörodejenerasyon aşamalarında yer alırlar (Morrison ve ark., 1998).

Poliaminler bulunduğu hücrelerde protein ve nükleik asit sentezinde, oksidatif hasarda, iyon kanallarının etkinliğinde, hücre çoğalma ve farklılaşması ve apoptoz gibi olaylarda önemli rol oynar (Shimosato 1997).

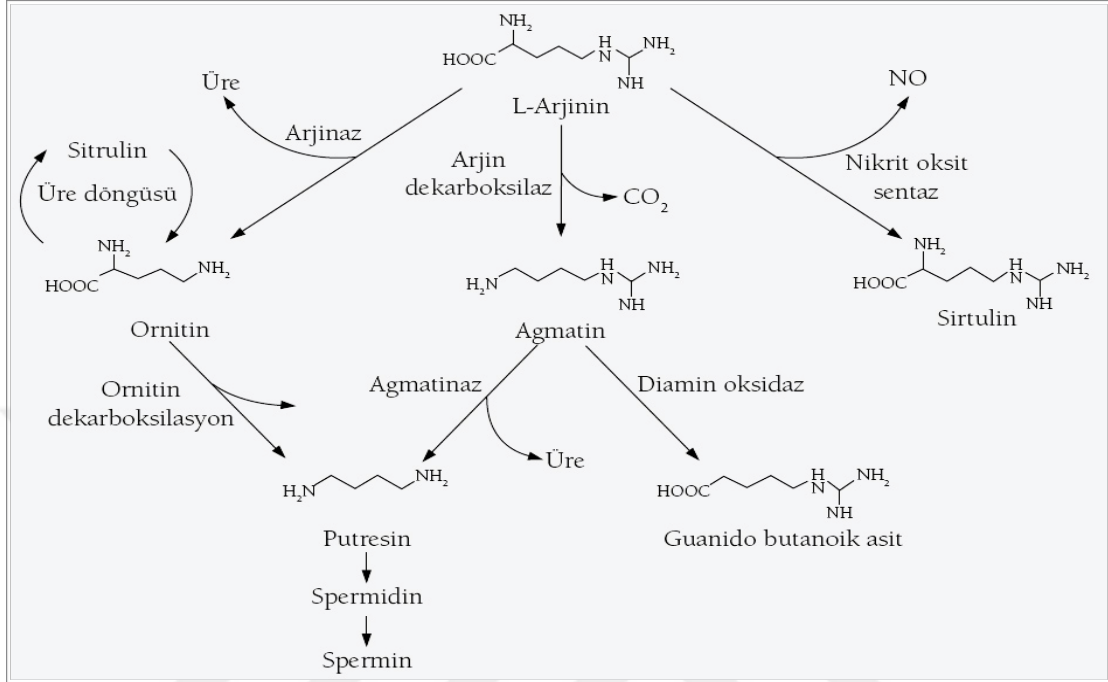
Yapılan araştırmalar, poliaminlerin; hücre döngüsünü, membranın yapı ve fonksiyonunu, protein fonksiyonunu, protein kinaz aktivitesinin modülasyonunu ve iyon kanallarının aktivitesinin düzenlenmesi, DNA üzerindeki fosfat gruplarının negatif yüklerini stabilize ettikleri, RNA'nın sekonder yapısını etkileyerek protein sentezi üzerinde etkinlik gösterdikleri, ribozomlara bağlanarak ribozom alt ünitelerinin bir araya gelmesini sağladıkları tespit edilmiştir (Demir ve Vural, 1995; Pegg, 2014). Poli-aminler, santral sinir sisteminde (SSS) G proteinleri, protein kinazlar, nükleotid si-klazlar ve reseptörlerle; ayrıca katekolaminler, GABA, NO ve glutamat gibi başka sis-temlerle de etkileşirler. Memelilerde hücre büyümesi ve hücre membran fonksiyon-larının düzenlenmesinde (nöronlar dahil) önemli bir katkıya sahiptir. Poliaminler hücre farklılaşması, gelişmesi ve bölünmesine düşük konsantrasyonlarda etki ederler (Gallardo ve Matilla, 1996). Poliaminler merkezi sinir sistem olgunlaşması ya da travma sonrası yaralanmalar sonrasında, çeşitli hücre fonksiyonları üzerinde etki gösterdiği yapılan çalışmalarla bilinmektedir (Tabor ve Tabor 1984). Buna ek olarak, poliaminler gibi ikinci haberciler nörotransmitter alımını etkileyerek sinaptik iletim modülasyon ve deneyime bağlı beyin büyümesi gibi beyin fonksiyonlarını üzerinde anahtar rol oynarlar (Ferchmin ve Eterovie 1987). Ancak poliaminlerin beyindeki rolü tam olarak anlaşılmamıştır.

2.2.1. Poliaminlerin Sentezi

Poliaminlerin biyosentezinde, ornitin ve agmatin olmak üzere iki yolak vardır. İlk olarak L-arjininden başlayarak arginaz ve arjinin dekarboksilaz enzimleriyle ornitin ve agmatin sentezlenir. L-arjinin, doğada bulunan 20 aminoasitten biridir. İkinci olarak putresin; ornitinin ornitin dekarboksilaz, agmatinin agmatinaz enzimleriyle reaksiyonu ile sentezlenir (Bell and Malmberg, 1990; Michael et al., 1996; Liu et al., 2007). Pu-tresin daha sonra; spermidin sentazın etkisi ile spermine; spermidin de spermin sentaz enzimi ile spermine dönüşür. Ayrıca metioninden, metionin adenosiltransferaz ile S-adenosil-metionin sentezlenir, S-adenosil- metionin de spermidin ve spermin biyosentezinde aracı rol oynar (Bagni and Tassoni, 2000). Spermin ve spermidin etkili NO üretimini arttırıcı poliaminlerdendir, fakat putresin ve öncüsü olan arginin NO

üretimine katkı sağlamazlar. Bu aktivitede sperminin rolü spermidine göre daha fazladır (Yamasaki and Cohen, 2006). Beyinde bulunan NOS agmatin tarafından inhibe edilir.

Şekil 2. Poliaminlerin ve Agmatinin Sentezi



(Reis ve Regunathan 2000)

2.2.2. Poliaminlerin Yıkımı

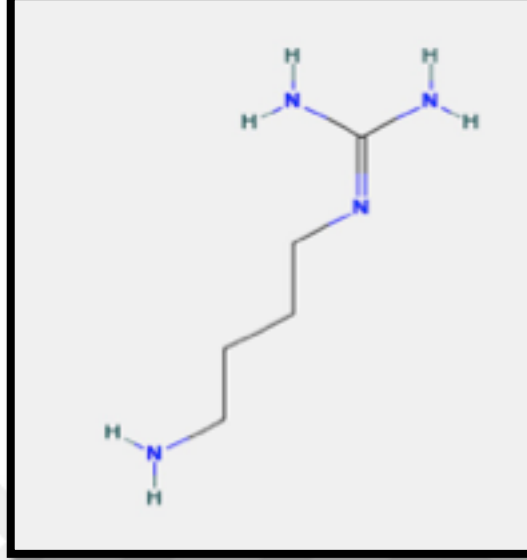
Spermidin ve sperminin yıkımı için azotun asetil ile asetillenmesi gerekir ve bu evrede kullanılan enzim spermidin/spermin asetiltransferazdır. Bu enzim hücre içi spermidin veya spermine Asetil-Coenzim A'dan asetil gruplarının transferini sağlar. Gerçekleşen reaksiyon sonucu N-asetil-spermidin ile N-asetil-spermin oluşur. Bu ürünler ya hücre dışına verilir ya da asetilpoliamin oksidaz enzimi varlığında indirgenerek spermidin ve putresine dönüşür. Bunun yanı sıra hidrojen peroksit ile asetoamidopropanol oluşur (Pegg, 2008; Zahedi, 2012; Liu, 2012).

2.2.3. Agmatin

Agmatin ilk olarak 1910 yılında Nobel ödüllü bilim insanı Albrecht Kossel tarafından ringa balığının sperminde keşfedilmiştir (Kossel 1910). Agmatin L-arjinininden, arjinin dekarboksilaz (ADC) enzimi aracılığıyla sentezlenen bir amindir

(Şekil 2). Doğada ve memelilerde yaygın olarak bulunur .

Şekil 3. Agmatinin Kimyasal Yapısı



(Uzbay 2012)

Agmatin biyolojik olarak aktif bir maddedir (Lortie ve ark. 1996) ve yüksek bir afinite ile imidazolin ve α_2 -adrenerjik reseptörlere bağlandığı gösterilmiştir (Li ve ark. 1994; Piletz ve ark. 1995; Regunathan ve Reis 1996; Reis ve Regunathan 1998). Ayrıca gıdalarda oluşan başlıca biyojen aminler putresin, kadaverin, histamin, tiramin, triptamin, 2-feniletilamin, spermin, spermidin, metilamin, agmatin, etilamin ve etanolamin-dir (Shalaby, 1996). 1994 yılına kadar agmatin ve ADC'nin bitkiler, bakteriler, omurgasız hayvanlarda sentezlenip depolandığı, memelilerde ise sentezlenmediği düşünülmektedir (Lortie, 1996). 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 (Li, Regunathan ve Reis 1995). Arjinin dekarboksilaz, 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 depo-

landığı, fakat sadece endotelde ADC eksprese edildiği bilinmektedir (Regunathan ve ark. 1996). 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 (Reis ve ark. 1998).

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 (Walter ve ark.1995).

Agmatin beyinde lokal olarak sentez edilir ve sinaptik veziküllerde depolanır (Reis ve Regunathan, 2000). Ayrıca agmatinin sentez edildikten sonra nöronal ve glial havuzlar arasında transfer edildiği bilinmektedir (Reis ve ark., 1998; Köse, 2007). Vücudun böbrek, vasküler düz kas hücreleri, endotel ve astrositleri de içeren bir çok dokusunda bulunmaktadır (Sastre ve ark., 1998).

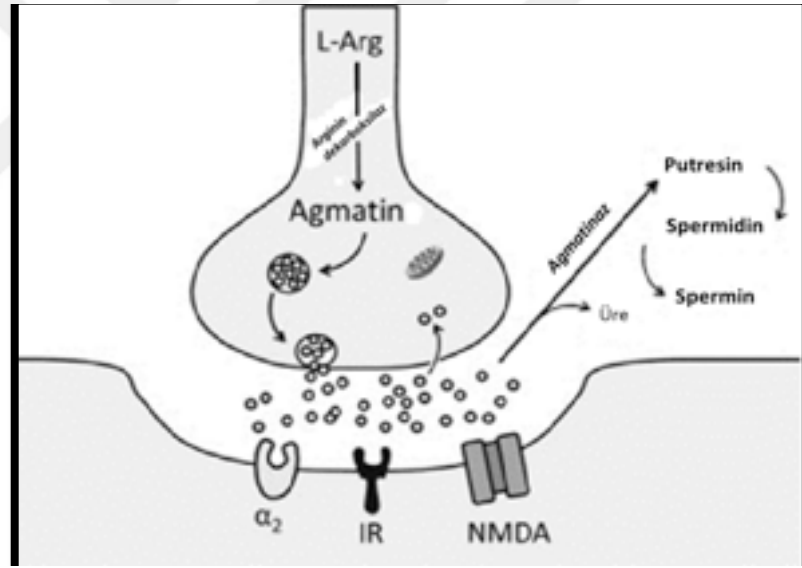
İmmünohistokimyasal çalışmalar, beyindeki agmatinin büyük bir kısmının nöronal olduğunu göstermektedir. Hipokampustaki nöronlar büyük ölçüde glutamaterjik olduğu için bu sistem içinde agmatinin glutamatla birlikte yer aldığını düşünülmektedir (Reis ve ark. 1998). Agmatin periferik yoldan (i.p.) verildikten 15 dakika sonra frontal korteks ve hipokampustaki seviyeleri artmaya başlar ve yaklaşık 1 saat sonra da etkisi sona erer. Periferik yoldan enjekte edilen agmatinin ancak %1 'lik kısmı beyine ulaşabilmektedir. Agmatinin beyine bu kadar düşük oranda ulaşabilmesinin nedeni, böbrek ve karaciğerde, diamin oksidaz enzimi ya da agmatinaz enzimi tarafından hızlı bir şekilde metabolize edilmesidir (Holt ve ark. 1995; Sastre ve ark. 1996). Yenidoğan bebek sıçanlara periferik yoldan agmatin verildikten sonra, beyindeki toplam agmatin seviyeleri aşırı miktarda artar (Fengy ve ark. 2002). Erişkin sıçanlarda ise, kan-beyin engeli gelişimini tamamladığı için, agmatinin beyine geçisi son derece küçük miktarlarda olur. Bu bilgiler bize in vivo çalışmalarda agmatin etkisini görebilmemiz için yüksek ve tekrarlayan dozlarda uygulamamız gerektiğini ifade etmektedir (Fengy ve ark. 2005).

Sıçan hipokampal piramidal hücrelerdeki elektron mikroskobu çalışmalarında perikarya, dendritler, akson ve akson terminallerinde dağılım gösterdiği saptanmıştır. Agmatin alfa-adrenerjik ve imidazolin reseptörlerine bağlanır, nikotinik kolinerjik, serotonerjik 5-HT₃ ve glutamaterjik NMDA reseptörlerini ve NOS'u bloke eder. Endojen bir madde olan agmatin sinir sisteminde birçok fonksiyonu modüle edebilir (Arıcıoğlu

ve ark, 2008; Reis ve Regunathan, 2000).

Agmatin beyinde sentezlenen, beyin ve omurilikte veziküllerde depolanan ve depolarizasyonla salıverilen bir nörotransmitter özelliğine de sahiptir (Goracke-Postle ve ark., 2006; Reis ve ark., 1998; Uzbay 2012), (Şekil 4). NO oluşumuna katkı sağlayan NOS enzimini inhibe edici ve sıçan hipokampal nöronlarında glutamaterjik NMDA reseptörleri bloke edici etkileri vardır (Galea ve ark. 1996; Yang ve Reis 1999). Yani, merkezi sinir sisteminde biyolojik etkilerini özgül reseptörler ve nöronal yollarla etkileşerek göstermektedir. Yapılan çalışmalarda agmatinin bir nörotransmitter tanımı için gerekli tüm ölçütlere sahip olduğu ve yeni bir nörotransmitter olarak kabul edilebileceği ileri sürülmüştür (Reis ve Regunathan 1998; 2000; Uzbay 2012) (Şekil 4).

Şekil 4. Agmatinerjik Sinapsların Şematik Temsili (IR: imidazolin reseptörleri)



(Uzbay 2012)

Agmatinin geri-alım çalışmaları, sıçan beyninden hazırlanan sinaptozomlarda radyoaktif işaretli agmatinin birikmesinin ölçümü ile yapılmıştır (Sastre ve ark. 1997). Agmatinin geri-alımı, sıcaklığa bağlıdır ve sadece yüksek konsantrasyonlarda doygunluğa ulaşabilir. Na^+ / K^+ ATPaz inhibisyonu ya da ekstrasellüler Na^+ replasmanından etkilenmemektedir. Agmatinin taşıyıcılarına bağlanmak için yarışma şekli incelen-

diğinde geri-alımının noradrenalin, dopamin, 5-HT ya da yapısal benzer amino asit taşıyıcıları ile olmadığı, başka bir taşıyıcı sistem ile sağlandığı düşünülmektedir. Gerçi, agmatin bir amin ve poliaminlerin bir öncüsü olmasına rağmen, geri alımı poliaminlerden de farklıdır. Çeşitli iyon kanalı modülatörlerinden sadece Ca^{2+} kanal blokerleri bu geri alımı inhibe eder. İdazoksan ve fentolamin gibi imidazolin reseptörleri ile etkileşen ilaçlar, geri-alımın güçlü yarışmasız inhibitörleridir (Reis ve Regunathan 1998). 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 (Reis ve Regunathan,1998).

Agmatinin enzimatik parçalanmasında rol oynayan enzim, agmatinaz (Agmatin üre hidrolaz)'dır. Bakterilerde ana metabolik yol, agmatinin bu enzim aracılığıyla putresin ve üreye dönüştürülmesidir (Şekil 2).

Sıçanların hipokampal piramidal nöronları üzerinde yapılan kültür çalışmalarında, bu nöronların veziküler agmatin taşıyan aksonlarca innerve edildiği gösterilmiştir. Agmatin ekstrasellüler olarak bu kültür ortamına uygulandığında voltaja ve konsantrasyona bağlı olarak NMDA akımını engellediği saptanmıştır (Yang ve ark. 1997). Alfa-amino-3-hidroksi-5-metil-4- izoksazolpropiyonat (AMPA) ve kainat akımlarında ise bir değişiklik olmadığı görülmüştür. Buradan hareketle, agmatinin NMDA reseptörleri için selektif bir antagonist olduğu kanısına varılmıştır (Reis ve Regunathan,1998). Agmatinin nöroblastoma hücrelerinde serotonin ile ilişkili katyon kanalı aktivitesini de inhibe ettiği bilinmektedir (Reis ve Regunathan,1996; 1998).

Bütün bu reseptör etkileşimlerinin dışında agmatin, NOS'un bütün izoformlarını inhibe etmektedir. En güçlü inhibisyonu ise iNOS üzerinde oluşturmaktadır (Galea ve ark. 1996). 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 (Galea ve ark. 1996). Agmatin, NOS'u doza bağımlı olarak inhibe eder ve enzimin katalitik bölgesine bağlanmak için L-arjinin ile yarışır. Afinitesi L-arjinininden daha düşük ol-

duğundan, etkili bir yarışma için L-arjininden daha yüksek konsantrasyonlarda bulunması gerekir. Ancak özellikle nNOS sentezleyen nöronların katalitik bölgesinde, agmatin konsantrasyonunun fizyolojik olarak yeterli olduğu gösterilmiştir. L-arjinin ve agmatinin farklı organlardaki dağılımı karşılaştırıldığında, dokularda L-arjininin agmatine göre 4 ila 50 kat daha fazla olduğu görülmüştür. Bu nedenle agmatinin NOS aktivitesi üzerinde zayıf bir regülatör etkisinin olduğu düşünülmektedir. Agmatinin, beyin ve böbrekte NO oluşumunu inhibe ederek NOS yolağını etkilediği bilinmektedir (Reis ve ark. 1998)

Serumda bulunan agmatinin ise glial hücrelere girerek iNOS ekspresyonunu ve aktivitesini düzenlediği gösterilmiştir (Regunathan ve ark. 2003). 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 (Reis ve Regunathan,1996; 1998).

Agmatinin NOS inhibisyonu ve NMDA reseptör antagonisti özellikleri ile anksiyete ve epilepsi gibi başka eksitator nitelikli nöropsikiyatrik hastalıkların tedavisinde kullanılabileceği veya nöropsikiyatrik hastalıkların tedavisinde kullanılan bazı ilaçların etkilerine katkı sağlayabileceğini düşündüren birçok veri bulunmaktadır (Uzbay 2012). Bunun yanında antikonvülzan (Su ve ark., 2004; Riazi ve ark., 2005), anti-depresan (Halaris ve Piletz, 2003; Arıcıoğlu ve Regunathan, 2005) ve antinörotoksik (Zhu ve ark., 2006; Gilad ve ark., 2005; Wang ve ark., 2006) etkiler gösterdiği çeşitli çalışmalarda belirlenmiştir.

Hareketsizlik ve soğuk stresine maruz bırakılmış sıçanların endojen agmatin üretimini 5 kattan daha fazla arttırdığı, yükseltilmiş + maze ve zorunlu yüzme testi gibi modellerde klasik antidepresan imipramin kadar anksiyolitik ve antidepresan etki potansiyeline sahip olduğu gösterilmiştir (Arıcıoğlu ve ark. 2003).

Agmatinin deney hayvanlarında morfin ve alkol yoksunluk sendromunun birçok belirtisini hafiflettiği ve bu etkisinden NOS inhibisyonu yapıcı veya NMDA reseptörlerini inhibe edici özelliklerinin sorumlu olabileceği ileri sürülmüştür (Arıcıoğlu, Kartal ve Uzbay 1997; Uzbay ve ark. 2000). Ayrıca daha önce gerçekleştirilen bir çalışmanın sonuçları agmatinin α_2 reseptörler üzerinden morfinin analjezik etkisini potansiyelize ettiğini göstermiştir (Yeşilyurt ve Uzbay 2001). Yapılan klinik öncesi araştırmalar eksojen olarak beyine uygulanan agmatinin; depresyon, anksiyete, hipoksik iskemi, nosisep-

siyon, morfin toleransı, artan sayıda, Parkinson hastalığı, Alzheimer hastalığı, travmatik beyin yaralanması ve epileptik hastalıklarda yararlı etkileri olduğu kanıtlanmıştır (Moretti ve ark 2014).

Agmatinin NOS inhibisyonu ve NMDA reseptör antagonisti özellikleri ile anksiyete ve epilepsi gibi başka eksitatör nitelikli nöropsikiyatrik hastalıkların tedavisinde kullanılabilirliği veya nöropsikiyatrik hastalıkların tedavisinde kullanılan bazı ilaçların etkilerine katkı sağlayabileceğini düşündüren birçok veri bulunmaktadır (Uzbay 2012).

Agmatinin, merkezi sinir sisteminde, sinir hücresi içerisinde kendine özgü enzimi olan ADC aracılığıyla sentezlenmesi, akson ucunda küçük veziküller içerisinde depolanarak Ca^{+2} bağımlı depolarizasyon sonucu ekzositoz ile presinaptik uçtan sinaptik aralığa salınması, agmatinaz enzimi tarafından yıkıma uğraması ve seçici olarak presinaptik uca geri alınması, ayrıca beyindeki konsantrasyonunun bilinen diğer nörotransmitterlere benzerlik göstermesi nedeniyle yeni bir nörotransmitter/nöromodülatör olabileceği ileri sürülmektedir (Li ve ark.1994; Li ve ark.1995; Reis ve ark.2000).

2.3 Poliaminler Ve Epilepsi

Biyojen aminlerin epileptik nöbetlerin patogenezinde önemli olduğu, katekolaminlerin antikonvülzan etki gösterdiği bilinmektedir. Alfa, beta adrenerjik reseptörlerin bloke edilmesi nöbet eşiğini düşürmektedir. Siklik nükleotidlerden siklik adenosin monofosfat (cAMP) artışının nöbetleri önlediği, siklik guanozin mono fosfat (cGMP) artışının nöbetleri başlattığı, adenosin ve biyojen aminlerin ise merkezi sinir sisteminde cAMP düzeyini artırarak inhibitör etki gösterdikleri bilinmektedir (Durlach, 1987).

2.3.1 Spermin - Spermidin ve Epilepsi İlişkisi

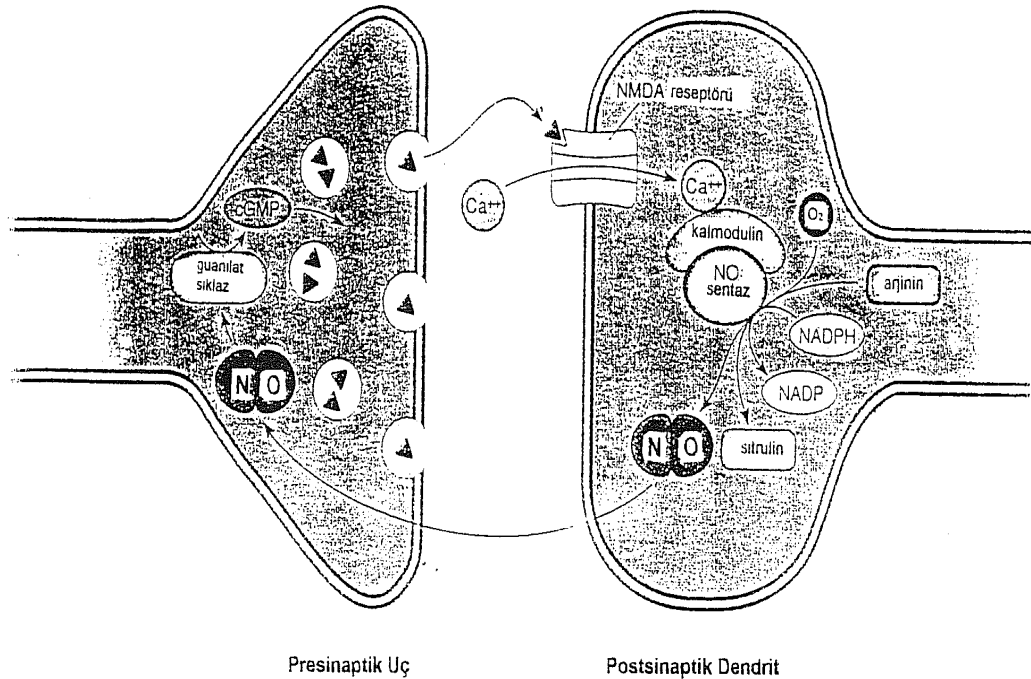
Hayashi ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada PTZ enjeksiyonlarının tek sefer yapıldığı grupların nöbetlerinde beyinde spermin ve spermidin konsantrasyonlarında anlamlı bir artış gözlenmemiş fakat kindling ile yapılan grupların nöbetlerinde anlamlı bir artış gözlemlenmiştir (Hayashi ve ark. 1993).

2.3.2 Agmatin ve Epilepsi İlişkisi

Agmatin ve NOS enziminin hücresel birlikteliği, bu aminin NO üretiminin endojen bir modülatörü olduğunu ve agmatinin oluşturduğu birtakım biyolojik etkilerin NO sistemi ile etkileşimle meydana gelme olasılığını güçlendirmektedir (Galea ve ark.1998). Agmatinin, beyin ve böbrekte NO oluşumunu inhibe ederek NOS yolağını etkilediği bilinmektedir (Galea ve ark.1998). NO'nun sinaptik iletideki etkisi Şekil 5'te gösterilmiştir (Lancaster 1992).

NO'nun epileptiform aktiviteyle olan ilgisini belirlemek için deneysel epilepsinin çok çeşitli modelleri kullanılmıştır. Elde edilen sonuçların bir kısmı NO'nun endojen bir prokonvulsan olduğunu gösterirken, diğer önemli bir kısmı bu küçük inorganik molekülün antikonvulsan olduğunu vurgulamaktadır. NO artışı epilepsiyi durdurabilir. NMDA reseptörünün aktifleşmesi ile NO, cGMP artışına, bu da epileptik nöbetlerin azalmasına sebep olmaktadır (Marangoz 1996).

Şekil 5. NO' in sinaptik iletideki etkisi



(Lancaster 1992)

2.4. Pentilentetrazol

Pentilentetrazol 60 yıldan daha fazla süredir yeni antiepileptik ilaçların araştırılması ve epileptogenik mekanizmaların anlaşılması için geniş çapta kullanılan konvulsan ajandır (Löscher 2011). Deney hayvanlarında başlangıçta tonik tipte, sonrasında ise klonik tipte kasılmalar oluşturur. PTZ deneysel nöbet modellerinde konvulsan ve antikonvulsan ilaçların nöbet eşiğine etkilerini gözlemek için en etkin yöntemlerden biridir.

PTZ, GABA reseptör kanalının selektif blokeridir ve merkezi sinir sisteminde GABA aracılı nörotransmisyonun azaltılması ile ilişkilidir (Pitkanen ve ark., 2006). GABAerjik sistemin inhibisyonu konvulsif nöbet oluşumunda süreyi ve devamlılığını artırır (Bambal ve ark., 2011). GABA_A antagonisti olarak hareket etmektedir ve aynı zamanda voltaj bağımlı mekanizmalar yoluyla hücre membranının potasyuma olan geçirgenliğini de değiştirmektedir. Çalışmalarda PTZ'nin merkezi GABAerjik fonksiyonu azalttığı gösterilmiştir. GABAerjik sistemin inhibisyonunun konvulsif nöbet oluşumunda süreyi ve devamlılığını artırdığı belirtilmiştir (Corda ve diğ. 1992).

PTZ, fare ve ratlara fizyolojik tuzlu su solüsyonu içinde çözdürülerek subkutan, intravenöz ve intraperitoneal (İP) olarak uygulanabilir. PTZ 30-160 mg/kg arası dozlarında rodentlerde miyoklonik jerklerle (çekilmeler) başlayan ve verilen dozun miktarı ile deneğin duyarlılığına bağlı olarak tonik-klonik tipte nöbetlere veya nöbet esnasında ölüme kadar varan şiddette yanıtlar oluşturur (Bonetti ve ark.,1982; Öztaş ve Kaya, 1994; Zhao ve ark.,1994; Osonoe ve ark.,1994; Kaputlu ve Uzbay,1997 ; Sneyder-Keller ve ark.,2000). İntraperitoneal enjeksiyon sonrası hayvanlar kafeslere tek tek konularak davranışları 30 dakika süresince gözlenir ve nöbetler değerlendirilir. Bu yöntemde kullanılan skorlama şu şekildedir;

0, anormal davranış yok;

1, ilk miyoklonik jerk (ani kas spazmı, bazen eşlik eden kuyruk hareketleri ve hayvanın kafasında titremeler);

2, atipik klonus (tek taraflı) ya da kaba miyoklonik titremeler;

3, bilateral ön ekstremitte klonusu ya da koşma şeklinde klonuslar (tüm vücut klonusu, "righting" refleksi kaybının eşlik etmesi ya da etmemesi şeklinde olabilir),

tonik jeneralize ekstansiyon (aşırı rijidite, ön ve arka ekstremitenin kuyruğa doğru ekstansiyonu);

4, tonik-klonik nöbetler.

Her hayvan deney boyunca geçirdiği en ağır nöbete göre skorlanmaktadır.

PTZ ile Uyarılan Nöbet Tipleri (Marangoz,1997):

- Grand-mal (büyük nöbet) şuurun aniden ve tamamen kaybı ile tonik-klonik hareketlerle belirgindir.
- Tonik dönemde kas tonusu yükselir.
- Klonik dönemde kaslarda sertleşme olur.
- Myoklonik nöbette yüz veya ekstremitelere bir veya birkaç kez gerilmeler olur. Uzun-ritmik gerilmeler görülmez.
- Tonik nöbetler sertleşme , klonik nöbetler ise ritmik gerilmeler ile karakterizedir.

Bu nöbet tipleri şematik olarak Şekil 6' da gösterilmiştir.

Şekil 6. PTZ ile uyarılan nöbet tipleri



(Marangoz,1997)

A, ön ve arka ekstremiteleri, kulakları ve bıyıkları etkileyen jeneralize kasılmalar. B, boyun, gövde ve ön ekstremitelerde tonik fleksiyon, arka ekstremitelerde kasılma. C, B dekinden farklı olarak arka ekstremitelerde parsiyel tonik ekstensiyon. D, C dekinden farklı olarak arka ekstremitelerde tam ekstensiyon olur.

PTZ ile ilgili dişi deney hayvanlarında yapılan literatür taramalarında tonik-klonik ve myoklonik nöbetler için en anlamlı sonuçlar metöstrus evresinde bulunmuştur (Kaboutari ,2012). Bizde bu nedenle çalışmamızda metöstrus evresindeki dişi deney hayvanlarını kullandık.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları ve Etik Koşullar

Çalışmada deney hayvanı olarak yetişkin (2.5 aylık), dişi Wistar sıçanlar kullanıldı. Deneklerin ağırlıkları 250-350 g arasında değişmekteydi. Gruplardaki denek sayıları 6-8 arasındaydı. Gruplardaki deneklerin doğum tarihleri arasında en fazla 2 hafta vardı.

Yapılan tüm uygulamalarda Helsinki Bildirgesi ve Amerikan Ulusal Sağlık Enstitüsü'nün 1996 yılında yayınlamış olduğu kitaptaki etik kurallara uyulmuştur. Ek olarak Üsküdar Üniversitesi Hayvan Araştırmaları Etik Kurulundan onay alınmıştır (Tarih: 2016; Karar No: 11).

3.2. Laboratuvar

Çalışmalar İstanbul'da, Üsküdar Üniversitesi, Nöropsikofarmakoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde (NPFUAM) yürütüldü ve tamamlandı.

Deneilerin gerçekleştirildiği NPFUAM Laboratuvarları 12 saat aydınlık-12 saat karanlık periyodunun sağlandığı (07:00-19:00, aydınlık), sıcaklığın 22 ± 3 °C, bağıl nemin ise 60 ± 5 'te sabit tutulduğu, dış etkenlere karşı izole ve ilgili bakanlık izni ve akrediteasyonu olan laboratuvarlardır.

3.3. Kullanılan Maddeler

Çalışmalarda kullanılan maddeler, temin edildiği yer, çözünme durumları ve deney hayvanına verilmiş yolu Tablo 3'te verilmiştir.

Tablo 3. Çalışmada kullanılan maddeler, çözünürlük durumları, temin edildikleri yer, çalışmada uygulanan dozları, veriliş yolları ve veriliş süreleri. (Sigma: Sigma Chemical)

Maddeler	Temin Yeri	Çözücü	Doz	Veriliş Yolu	Veriliş Süresi
Pentilentetrazol (PTZ)	Sigma	İzotonik	40 mg/kg	İntraperitoneal	Tek sefer
Agmatin	Sigma	İzotonik	160 mg/kg	İntraperitoneal	Tek sefer
Spermin	Sigma	İzotonik	2 mg/kg 4 mg/kg 8 mg/kg	İntraperitoneal	Tek sefer
Spermidin	Sigma	İzotonik	20 mg/kg 40 mg/kg 80 mg/kg	İntraperitoneal	Tek sefer

3.4.Deney ve Kontrol Grupları

Çalışmada kullanılan hayvanların grupları (grup türü, grup etiketi), her grupta ihtiyaç duyulan hayvan sayısı, doz aralıkları ve maddelerin birbirleri ile olan kombinasyonları Tablo 4’te ve maddeler, veriliş yolları, çözücüleri, veriliş süreleri ise Tablo 3’te verilmiştir. Gruplar ve işlemlerle ilgili ilerleyen bölümlerde, ilgili yöntemler açıklanırken daha detaylı olarak bilgi verilmiştir.

Tablo 4. Çalışmada kullanılan hayvanların grupları (grup türü, grup etiketi), her grupta ihtiyaç duyulan hayvan sayısı, doz aralıkları ve maddelerin birbirleri ile olan kombinasyonları.

Grup Türü	Grup Adı	Sayı	Kombinasyonlar				Doz Miktarları			
			Spermin	Spermidin	Agmatin	PTZ	Spermin	Spermidin	Agmatin	PTZ
Kontrol 1. Kafes	PTZ	8	-	-	-	+				40 mg/kg
Deney 2. Kafes	Spermin + PTZ	8	+	-	-	+	2 g/kg			40 mg/kg
Deney 3. Kafes	Spermin + PTZ	8	+	-	-	+	4 g/kg			40 mg/kg
Deney 4. Kafes	Spermin + PTZ	8	+	-	-	+	8 g/kg			40 mg/kg
Deney 5. Kafes	Spermidin + PTZ	8	-	+	-	+		20 mg/kg		40 mg/kg
Deney 6. Kafes	Spermidin + PTZ	8	-	+	-	+		40 mg/kg		40 mg/kg
Deney 7. Kafes	Spermidin + PTZ	8	-	+	-	+		80 mg/kg		40 mg/kg
Deney 8. Kafes	Agmatin + PTZ	8	-	-	+	+			160 mg/kg	40 mg/kg

3.5. Kimyasallar

3.5.1 Pentilentetrazol (PTZ) nöbetleri ve skorlaması

Dai ve ark. (2014) PTZ ile uyarılan nöbetlere yatkınlık, dişi ve erkek deney hayvanlarında dozlar, nöbetlerin ortaya çıkış zamanı, doz /evre uyumu ve eşik yoğunlukları bakımından aralarında anlamlı bir fark olmadığını çalışmalarında göstermişlerdir. Deneyde dişi hayvan kullanılması, erkek hayvan kullanılmasından farklı bir sonuç ortaya çıkarmayacaktır.

PTZ nöbetlerinde yapılan skorlama şu şekildedir (Grecksch ve ark. 1997):

Evre 0: Cevap yok

Evre 1: Kulaklar ve yüzde seyirmeler

Evre 2: Vücuda yayılan konvülsif dalga

Evre 3: Myoklonik jerkler ya da arka ayaklar üzerinde Şaha kalkma

Evre 4: Hayvanın olduğu yere düşmesi ile birlikte klonik nöbetler

Evre 5: Tekrarlayan şiddetli tonik-klonik ya da ölümcül nöbetler

3.5.2 Dozların belirlenmesi

PTZ'nin Tablo 3'te belirtilen dozu laboratuvarımızda yapılan ön doz denemeleri ile belirlenmiştir.

Spermin ve Spermidinin Tablo 3'te belirtilen dozu Hayashi ve ark.(1993)'nin yapmış olduğu çalışmadan alınmıştır.

Agmatinin Tablo 3'te belirtilen dozu Uzbay ve ark. (2012)'nin yapmış olduğu çalışmadan alınmıştır.

3.6 Sikluslar

3.6.1 Evreleri

İnsanlardakine benzer olarak fare ve sıçanlarda, , genital siklus farklı hormonlar ile kontrol edilmektedir. Östrus siklusu, proöstrus (P), östrus (Ö), metöstrus (M) ve diöstrus (D) olmak üzere 4 fazdan oluşmaktadır. Proöstrus 12 saat, östrus 12-24 saat, metöstrus 6-8 saat, diöstrus ise 52-60 saat sürmektedir (Snell 1956).

Östrus fazlarının nasıl ayırt edileceği aşağıda belirtilmiştir (Sapmaz Metin 2008):

Östrus fazı: Smear örneklerinde kornifiye hücrelerin genellikle dağınık olarak bulunduğu gözlenmektedir.

Proöstrus fazı: Smearlerde kümeler meydana getirmiş çok sayıda nükleuslu epitel hücresiyle beraber, salgı hücresi yapısına sahip musinöz hücelere rastlanmaktadır. Proöstrus dönemi İleri aşamalarına ait smear görüntülerinde kornifiye hücrelerin ve musinöz hücrelerin arttığı gözlenmektedir.

Diöstrus fazı: Vajinal epitel kalınlığı bu dönemde en az durumdur, smear örneklerinde de az sayıda epitel hücresi görülmektedir.

Metöstrus fazı: Erken metöstrus fazında kümeler meydana getirmiş kornifiye hücreler arasında nötrofillerin bulunduğu gözlenmektedir. Dönemin ilerleyen zamanlarında, nükleuslu epitel hücreleri ve nötrofillerin sayısının yükseldiği gözlenmiştir. Ayrıca, çok sayıda sitoplazmik vakuol bulunduran nükleuslu epitel hücrelerine de çokça rastlanmaktadır.

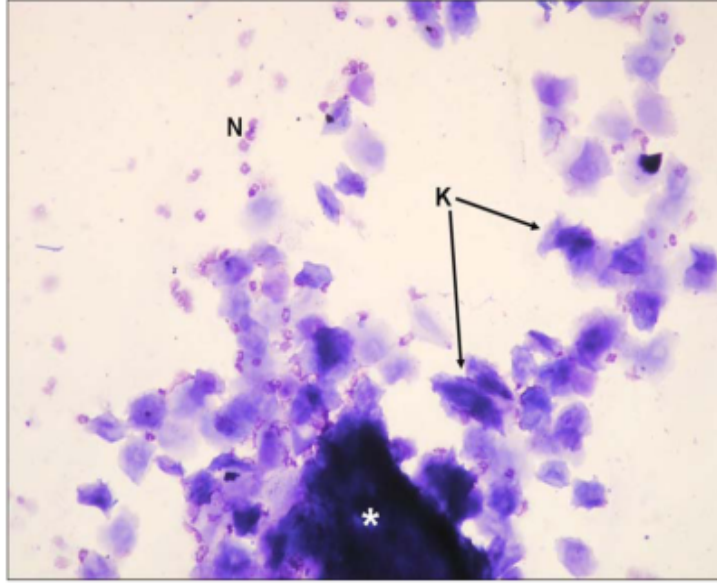
3.6.2 Evrelerdeki Temel Hormonal Değişimler

Cinsiyet hormonları östrus dönemi boyunca siklik değişimleri ile vajinal epitelin histolojik görünümünde belirgin farklılıklar oluşturur. Prolaktin, LH ve FSH proöstrus döneminin akşam saatlerinde artmaya başlar. Östradiol düzey metöstrusta artmaya başlar, proöstrusta pik yapar ve östrusta tekrar normal düzeye ulaşır. Progesteron sekresyonu metöstrus ve diöstrus dönemleri süresince yüksek orandadır, diöstrusun ardından düşmeye başlar. Bu hormonal etki ile proöstrus ve östrus döneminde ovaryumda folikül gelişimi, östrusun ortalarında ovulasyon, metöstrus döneminde KL oluşumu meydana gelir. Diöstrus dönemi ise dinlenme dönemidir (Snell 1956).

Çalışmada dişi deney hayvanları kullanılmıştır. PTZ günlerinde sabah 09.00 ile 12.00 arası vajinal smear taraması yapılarak ve metöstrus evresinde olan hayvanlar deneye alınmıştır.

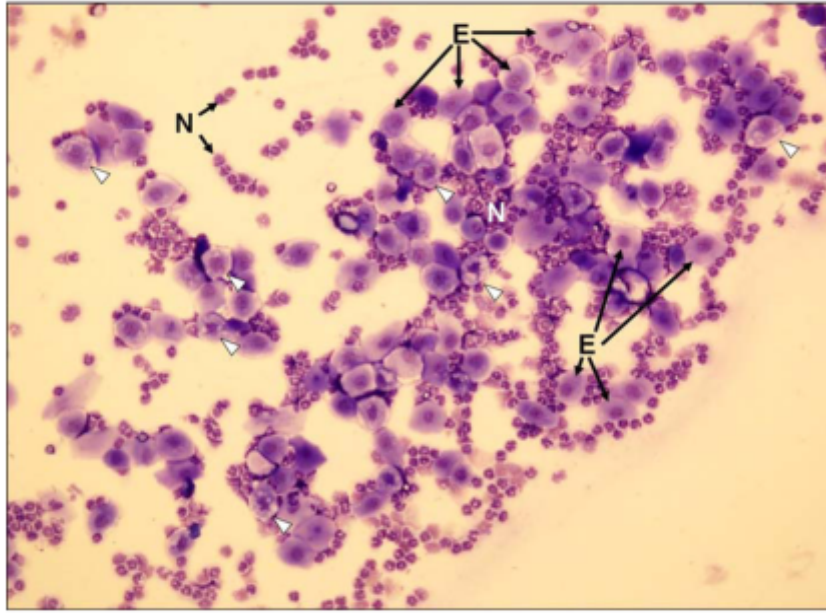
Metöstrus evresine ait smear görüntüleri Şekil 7, Şekil 8 ve Şekil 9'lerde gösterilmiştir.

Şekil 7. Metaöstrusun erken döneminde kümeler (*) meydana getirmiş kornifiye hücreler (K) arasında nötrofillerin (N) varlığı görülmektedir (Toludin mavisi: X 200).



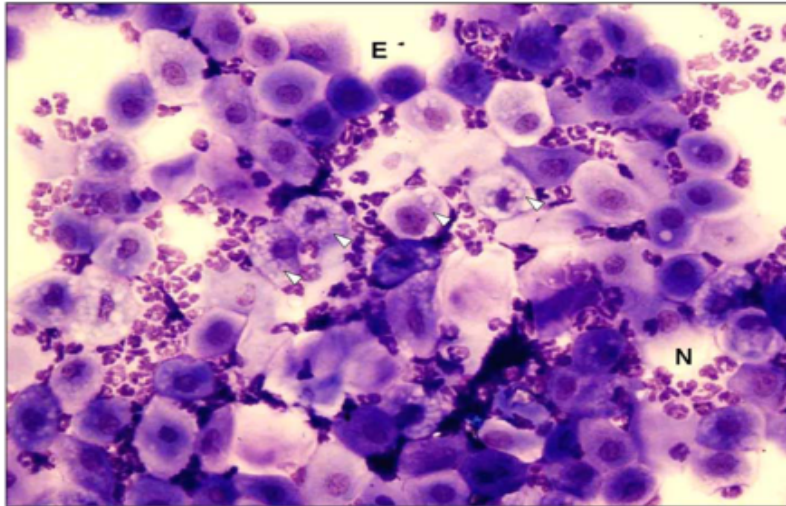
(Sapmaz Metin 2008)

Şekil 8. Fazın ilerleyen dönemlerinde, nükleuslu epitel hücreleri (E) ve nötrofillerin (N) sayısının çoğaldığı görülmüştür. Ayrıca, çok sayıda sitoplazmik vakuol bulunduran nükleuslu epitel hücrelerinde yoğun olarak bulunmaktadır (Toluidin mavisi: X 200).



(Sapmaz Metin 2008)

Şekil 9. Metöstrus fazının ilerleyen dönemlerinde sayıca fazlaşan vakuollü nükleuslu epitel hücreleri gözlenmektedir (E: Nükleuslu epitel hücresi, N: Nötrofil. Toluidin mavisi: X 400).



(Sapmaz Metin, 2008)

3.6.3 Deneyin Uygulanışı

Deneye başlamadan önce ilk olarak hayvanların ağırlıkları fareler için kullanılan hassas terazide tartılmıştır. Deneyde kullanılacak olan hayvanların ortalama ağırlıkları 250-350 gram arası olanlar deneyde kullanılmak için ayrılmıştır.. Sonrasında deney boyunca hayvanlara PTZ günlerinde sabah saat 09.00 ile 12.00 arasında vajinal smear taraması yapılmıştır. Vajinal smear taraması sonucunda metöstrus evresinde olan denekler deneye alınmıştır. Daha sonra her grupta 8 tane olacak şekilde 8 gruba randomize olacak şekilde dağıtılmıştır.

NOT: Deneylere başlamadan önce yapılan vajinal smear taramasında metöstrus bulunmayan hayvanlar deneye başlatılmayıp metöstrus evresinde yaklaşıncaya kadar smear takibine devam edilmiştir.

1.Kafes PTZ grubu (n=8): Bu grup kontrol grubudur. Önce sıçanlara ağırlık ölçümü yapılmıştır. Ardından vajinal smear taraması yapılmış ve metöstrus evresinde ise madde enjeksiyonu yapılmıştır. PTZ 40 mg/kg miktarında serum fizyolojik içerisinde çözülerek intraperitoneal yolu ile verilmiştir. PTZ enjeksiyonlarından hemen sonra hayvanlar sırayla içi boş ve üstü kapalı bir kafese nöbet skorlamaları yapılması için alınmıştır. Hayvanların nöbete girdiği andan bitiş anına kadar tüm nöbet aktiviteleri takip edilip skorlaması kaydedilmiştir. Nöbetler her zaman sirkadiyen ritmin olası komplike etkilerini en aza indirmek için 13:00 ile 17:00 saatleri arasında uyarılmıştır. Bütün bu işlemler bittikten sonra deney sonlandırılmıştır.

2.Kafes PTZ + Spermin (2 mg/kg) grubu (n=8): Bu grup deney grubudur. Önce sıçanlara ağırlık ölçümü yapılmıştır. Ardından vajinal smear taraması yapılmış ve metöstrus evresinde ise madde enjeksiyonu yapılmıştır. Spermin 2 mg/kg miktarında serum fizyolojik içerisinde çözülerek intraperitoneal yolu ile verilmiştir. Ardından yaklaşık 30 dk sonra PTZ 40 mg/kg miktarında serum fizyolojik içerisinde çözülerek intraperitoneal yolu ile verilmiştir. PTZ enjeksiyonlarından hemen sonra hayvanlar sırayla içi boş ve üstü kapalı bir kafese nöbet skorlamaları yapılması için alınmıştır. Hayvanların nöbete girdiği andan bitiş anına kadar tüm nöbet aktiviteleri takip edilip skorlaması kaydedilmiştir. Nöbetler her zaman sirkadiyen ritmin olası komplike etkilerini en aza indirmek için 13:00 ile 17:00 saatleri arasında uyarılmıştır. Bütün bu işlemler bittikten sonra deney sonlandırılmıştır.

3. Kafes PTZ + Spermin (4 mg/kg) grubu (n=8): Bu grup deney grubudur. Önce sıçanlara ağırlık ölçümü yapılmıştır. Ardından vajinal smear taraması yapılmış ve metöstrus evresinde ise madde enjeksiyonu yapılmıştır. Spermin 4 mg/kg miktarında serum fizyolojik içerisinde çözülerek intraperitoneal yolu ile verilmiştir. Ardından yaklaşık 30 dk sonra PTZ 40 mg/kg miktarında serum fizyolojik içerisinde çözülerek intraperitoneal yolu ile verilmiştir. PTZ enjeksiyonlarından hemen sonra hayvanlar sırayla içi boş ve üstü kapalı bir kafese nöbet skorlamaları yapılması için alınmıştır. Hayvanların nöbete girdiği andan bitiş anına kadar tüm nöbet aktiviteleri takip edilip skorlaması kaydedilmiştir. Nöbetler her zaman sirkadiyen ritmin olası komplike etkilerini en aza indirmek için 13:00 ile 17:00 saatleri arasında uyarılmıştır. Bütün bu işlemler bittikten sonra deney sonlandırılmıştır.

4.Kafes PTZ + Spermin (8 mg/kg) grubu (n=8): Bu grup deney grubudur. Önce sıçanlara ağırlık ölçümü yapılmıştır. Ardından vajinal smear taraması yapılmış ve metöstrus evresinde ise madde enjeksiyonu yapılmıştır. Spermin 8 mg/kg miktarında serum fizyolojik içerisinde çözülerek intraperitoneal yolu ile verilmiştir. Ardından yaklaşık 30 dk sonra PTZ 40 mg/kg miktarında serum fizyolojik içerisinde çözülerek intraperitoneal yolu ile verilmiştir. PTZ enjeksiyonlarından hemen sonra hayvanlar sırayla içi boş ve üstü kapalı bir kafese nöbet skorlamaları yapılması için alınmıştır. Hayvanların nöbete girdiği andan bitiş anına kadar tüm nöbet aktiviteleri takip edilip skorlaması kaydedilmiştir. Nöbetler her zaman sirkadiyen ritmin olası komplike etkilerini en aza indirmek için 13:00 ile 17:00 saatleri arasında uyarılmıştır. Bütün bu işlemler bittikten sonra deney sonlandırılmıştır.

5.Kafes PTZ + Spermidin (20 mg/kg) grubu (n=8): Bu grup deney grubudur. Önce sıçanlara ağırlık ölçümü yapılmıştır. Ardından vajinal smear taraması yapılmış ve metöstrus evresinde ise madde enjeksiyonu yapılmıştır. Spermidin 20 mg/kg miktarında serum fizyolojik içerisinde çözülerek intraperitoneal yolu ile verilmiştir. Ardından yaklaşık 30 dk sonra PTZ 40 mg/kg miktarında serum fizyolojik içerisinde çözülerek intraperitoneal yolu ile verilmiştir. PTZ enjeksiyonlarından hemen sonra hayvanlar sırayla içi boş ve üstü kapalı bir kafese nöbet skorlamaları yapılması için alınmıştır. Hayvanların nöbete girdiği andan bitiş anına kadar tüm nöbet aktiviteleri takip edilip skorlaması kaydedilmiştir. Nöbetler her zaman sirkadiyen ritmin olası komplike etkilerini en aza

indirmek için 13:00 ile 17:00 saatleri arasında uyarılmıştır. Bütün bu işlemler bittikten sonra deney sonlandırılmıştır.

6.Kafes PTZ + Spermidin (40 mg/kg) grubu (n=8): Bu grup deney grubudur. Önce sıçanlara ağırlık ölçümü yapılmıştır. Ardından vajinal smear taraması yapılmış ve metöstrus evresinde ise madde enjeksiyonu yapılmıştır. Spermidin 40 mg/kg miktarında serum fizyolojik içerisinde çözülerek intraperitoneal yolu ile verilmiştir. Ardından yaklaşık 30 dk sonra PTZ 40 mg/kg miktarında serum fizyolojik içerisinde çözülerek intraperitoneal yolu ile verilmiştir. PTZ enjeksiyonlarından hemen sonra hayvanlar sırayla içi boş ve üstü kapalı bir kafese nöbet skorlamaları yapılması için alınmıştır. Hayvanların nöbete girdiği andan bitiş anına kadar tüm nöbet aktiviteleri takip edilip skorlaması kaydedilmiştir. Nöbetler her zaman sirkadiyen ritmin olası komplike etkilerini en aza indirmek için 13:00 ile 17:00 saatleri arasında uyarılmıştır. Bütün bu işlemler bittikten sonra deney sonlandırılmıştır.

7.Kafes PTZ + Spermidin (80 mg/kg) grubu (n=8): Bu grup deney grubudur. Önce sıçanlara ağırlık ölçümü yapılmıştır. Ardından vajinal smear taraması yapılmış ve metöstrus evresinde ise madde enjeksiyonu yapılmıştır. Spermidin 80 mg/kg miktarında serum fizyolojik içerisinde çözülerek intraperitoneal yolu ile verilmiştir. Ardından yaklaşık 30 dk sonra PTZ 40 mg/kg miktarında serum fizyolojik içerisinde çözülerek intraperitoneal yolu ile verilmiştir. PTZ enjeksiyonlarından hemen sonra hayvanlar sırayla içi boş ve üstü kapalı bir kafese nöbet skorlamaları yapılması için alınmıştır. Hayvanların nöbete girdiği andan bitiş anına kadar tüm nöbet aktiviteleri takip edilip skorlaması kaydedilmiştir. Nöbetler her zaman sirkadiyen ritmin olası komplike etkilerini en aza indirmek için 13:00 ile 17:00 saatleri arasında uyarılmıştır. Bütün bu işlemler bittikten sonra deney sonlandırılmıştır.

8.Kafes PTZ + Agmatin grubu (n=8):Bu grup deney grubudur. Önce sıçanlara ağırlık ölçümü yapılmıştır. Ardından vajinal smear taraması yapılmış ve metöstrus evresinde ise madde enjeksiyonu yapılmıştır. Agmatin 160 mg/kg miktarında serum fizyolojik içerisinde çözülerek intraperitoneal yolu ile verilmiştir. Ardından yaklaşık 30 dk sonra PTZ 40 mg/kg miktarında serum fizyolojik içerisinde çözülerek intraperitoneal yolu ile verilmiştir. PTZ enjeksiyonlarından hemen sonra hayvanlar sırayla içi boş ve üstü kapalı bir kafese nöbet skorlamaları yapılması için alınmıştır. Hayvanların nöbete girdiği

andan bitiş anına kadar tüm nöbet aktiviteleri takip edilip skorlaması kaydedilmiştir. Nöbetler her zaman sirkadiyen ritmin olası komplike etkilerini en aza indirmek için 13:00 ile 17:00 saatleri arasında uyarılmıştır. Bütün bu işlemler bittikten sonra deney sonlandırılmıştır.

3.7 Nöbetlerin değerlendirilmesi

Kontrol ve test edilen ilaç gruplarında, epileptik “uyaranın verilmesini izleyerek nöbetlerin ortaya çıkmasına kadar geçen zamanın saptanması (onn-set time)”, “epileptik nöbetlerin var veya yok şeklinde değerlendirilerek yüzde sıklıklarının saptanması” ve “oluşan nöbetlerin davranışsal düzeyde skorlanarak şiddetinin saptanması” epileptik çalışmalarda kullanılan başlıca değerlendirme yöntemlerindedir (Uzbay 2003).

Rodentlerde gerek kimyasal, gerek elektriksel ve gerekse odiyogenik stimuluslarla uyarılmış olan nöbetlerin yüzde(%) oluş sıklığı, latent süresi veya şiddeti değerlendirilebilir. Nöbetlerin şiddetinin değerlendirilmesinde çeşitli skorlama tabloları kullanılabilir (Morriset ve ark.1990; Asanuma ve ark. 1995; Uzbay ve ark. 2000).

PTZ nöbetlerinde yapılan skorlama (Gözler ve Uzbay 2016)

Evre 0: Cevap yok

Evre 1: Kulaklar ve yüzde seyirmeler ile vücuda yayılan konvülsif dalga

Evre 2: Myoklonik jerkler ve arka ayaklar üzerinde şaha kalkma

Evre 3: Kısa süreli klonik nöbetler

Evre 4: Hayvanın yan yatmasıyla geçirilen uzun süreli klonik nöbetler

Evre 5: Hayvanın nöbetten çıkmasıyla birlikte tekrar nöbete girmesi

Evre 6: Her açılmayla birlikte art arda tekrarlayan şiddetli tonik-klonik nöbetler

Evre 7: Nöbetlerden çıkamayarak gerçekleşen ölüm

Evre 8:Kendi kendine geçirilen şiddetli tonik-klonik nöbetler ve beraberinde gelen ölüm

Kaputlu ve Uzbay 1997 tarafından yapılan çalışmada değerlendirildiği gibi: PTZ enjeksiyonu sonrasında onn-set time (nöbet başlangıcı) için üç karakteristik davranış değişiklikleri olan; ilk myoklonik silkinmelerin (FMJ),jeneralize klonik nöbetlerin (GCS), tonik jeneralize ekstensiyonların (TGE) geliş süreleri saptanmış ve nöbet şiddeti değerlendirilmesi yapılmıştır.

3.8 İstatiksel analiz yöntemi

Oluşturulan veriler İstatistik Paketi (SPSS) sürüm 20.0 ile analiz edilmiştir. Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. Grupların (Spermidin 20-40-80 mg ve spermin 2-4-8 mg) nöbete giriş süresi verilerine One Way Anova testi ve post-hoc olarak Tukey testi uygulanmıştır. Grupların (Spermidin 20-40-80 mg ve Spermin 2-4-8 mg) nöbet şiddeti verilerine ise Kruskal Wallis ve Mann Whitney U testi uygulanmıştır. PTZ ile PTZ + Agmatin 160 mg gruplarının nöbete giriş süresi ve nöbet şiddeti verilerine ise Student t testi uygulanmıştır. İstatistiksel anlamlılık değeri $p < 0.05$ kabul edilmiştir.

3.9 Deneyin Sonlandırılması

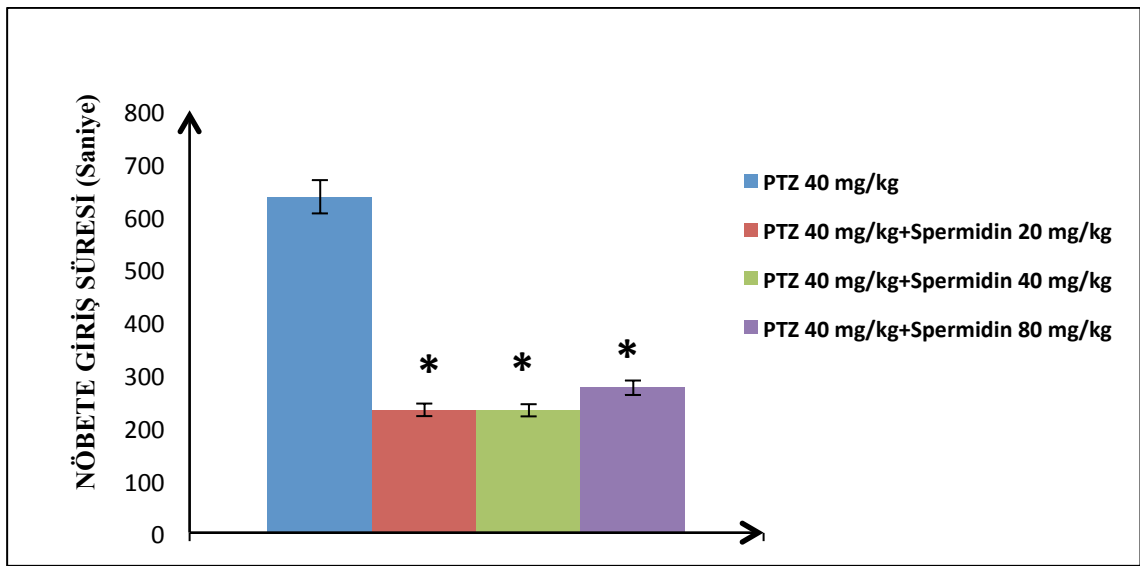
Deney sonlandırılma prosedürü, yüksek doz, Rompun (ksilazine) ve Ketamine anestezisi altında yapılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. PTZ (40 mg/kg) İle Kombine Edilmiş Spermidinin (20, 40 Ve 80 mg/kg) Dozlarının Nöbete Giriş Süresi Üzerine Etkileri

PTZ (40 mg/kg) ile kombine edilmiş spermidinin 20, 40 ve 80 mg/kg dozlarının nöbete giriş süresi üzerine etkileri Şekil 10'te görülmektedir.

Şekil 10. PTZ (40 mg/kg) ile kombine edilmiş spermidinin (20, 40, 80 mg/kg) dozlarının nöbete giriş süresine etkileri (* $p < 0.05$ PTZ (40 mg/kg) grubuna göre anlamlı ölçüde farklı)

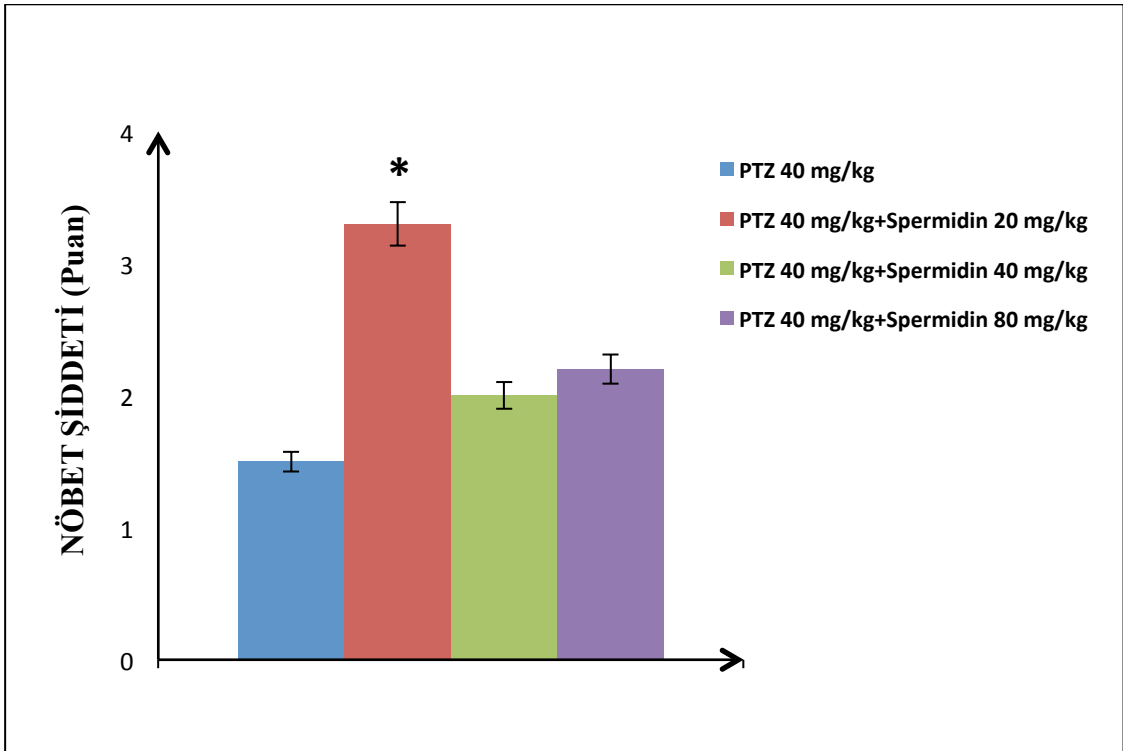


Şekil 10'da görüldüğü gibi, PTZ (40 mg/kg) + spermidin 20 mg/kg grubu, PTZ (40 mg/kg) + spermidin 40 mg/kg grubu, PTZ (40 mg/kg) + spermidin 80 mg/kg grubu kontrol grubu olan PTZ 40 mg/kg grubuna göre nöbete giriş süresi üzerine istatistikçe anlamlı bir etki yapmıştır.[$F(3,28)= 19,409$, $p < 0.01$ ANOVA test]. Grupların nöbete giriş süresi verilerine post-hoc analizi uygulandığında PTZ (40 mg/kg) + spermidin 20 mg/kg grubu, PTZ (40 mg/kg) + spermidin 40 mg/kg grubu ve PTZ (40 mg/kg) + spermidin 80 mg/kg grubu kontrol grubuna göre, nöbete giriş süresini erkene çektiği görülmüştür (Sırasıyla $p=0.002$; $p=0.001$; $p=0.030$ Tukey test).

4.2. PTZ (40 mg/kg) İle Kombine Edilmiş Spermidinin (20, 40 Ve 80 mg/kg) Dozlarının Nöbet Şiddeti Üzerine Etkileri

PTZ (40 mg/kg) ile kombine edilmiş spermidinin 20, 40 ve 80 mg/kg dozlarının nöbet şiddeti üzerine etkisi Şekil 11’te görülmektedir.

Şekil 11. PTZ (40 mg/kg) ile kombine edilmiş spermidinin (20, 40, 80 mg/kg) dozlarının nöbet şiddeti üzerine etkisi (* $p < 0.05$ PTZ (40 mg/kg) grubuna göre anlamlı ölçüde farklı)

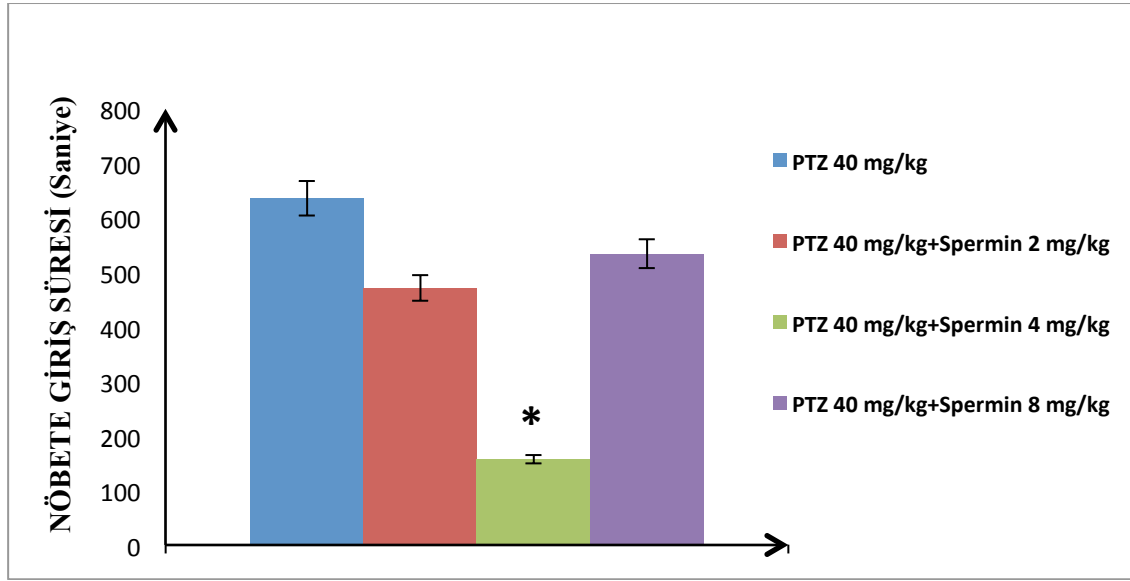


Şekil 11’de görüldüğü gibi, PTZ (40 mg/kg) + spermidin 20 mg/kg grubu, PTZ 40 mg/kg grubuna göre nöbet şiddeti üzerine istatistikçe anlamlı bir etki yapmıştır. Fakat PTZ (40 mg/kg) + spermidin 40 mg/kg grubu ve PTZ (40 mg/kg) + spermidin 80 mg/kg grubu PTZ 40 mg/kg grubuna göre nöbet şiddeti üzerine istatistikçe anlamlı bir etkisi olmamıştır. ($p=0,020$ kruskal- Wallis test). PTZ (40 mg/kg) + spermidin 20 mg/kg grubunun ise PTZ 40 mg/kg grubuna göre, nöbet şiddetini istatistikçe anlamlı düzeyde arttırdığı görülmüştür ($p=0.019$; Man whitney U test).

4.3. PTZ (40 mg/kg) İle Kombine Edilmiş Sperminin (2, 4 Ve 8 mg/kg) Dozlarının Nöbete Giriş Süresine Etkileri

PTZ (40 mg/kg) ile kombine edilmiş sperminin 2, 4 ve 8 mg/kg dozlarının nöbete giriş süresi üzerine etkisi Şekil 12’de görülmektedir.

Şekil 12. PTZ (40 mg/kg) ile kombine edilmiş sperminin (2, 4, 8 mg/kg) dozlarının nöbete giriş süresine etkileri (* $p < 0.05$ PTZ (40 mg/kg) grubuna göre anlamlı ölçüde farklı)

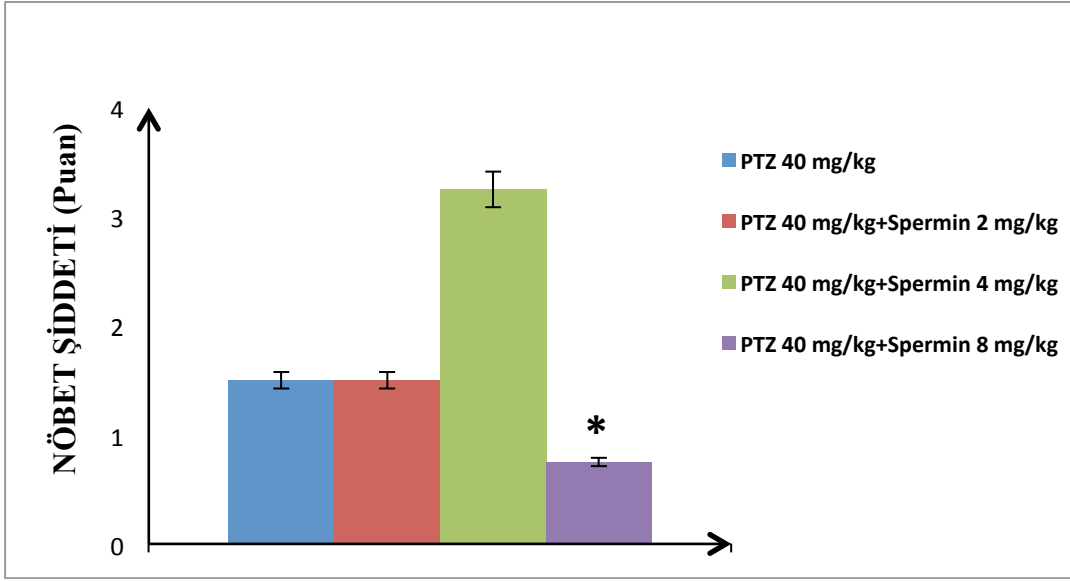


Şekil 12’de görüldüğü gibi, PTZ (40 mg/kg) + spermin 4 mg/kg grubu kontrol grubu olan PTZ 40 mg/kg göre nöbete giriş süresi üzerine istatistikçe anlamlı bir etki yapmıştır [$F(3,28)= 4,247$, $p= 0.014$ ANOVA test]. Grupların nöbete giriş süresi verilerine post-hoc analizi uygulandığında PTZ (40 mg/kg) + sperminin 4 mg/kg grubu, PTZ 40 mg/kg grubuna göre, nöbete giriş süresini erkene çektiği görülmüştür ($p=0.001$, Tukey test). Ancak PTZ (40 mg/kg) + sperminin 2 mg/kg grubu ile PTZ (40 mg/kg) + sperminin 8 mg/kg grubu nöbete giriş süresini PTZ 40 mg/kg grubuna göre erkene çekse de bu etki istatistikçe anlamlı bir düzeye erişememiştir (sırasıyla $p=0,673$; $p=0,907$ Tukey test).

4.4. PTZ (40 mg/kg) İle Kombine Edilmiş Sperminin (2, 4 Ve 8 mg/kg) Dozlarının Nöbet Şiddeti Üzerine Etkileri

PTZ (40 mg/kg) ile kombine edilmiş sperminin 2, 4 ve 8 mg/kg dozlarının nöbet şiddeti üzerine etkisi Şekil 13'te görülmektedir.

Şekil 13. PTZ (40 mg/kg) ile kombine edilmiş sperminin (2, 4, 8 mg/kg) dozlarının nöbet şiddeti üzerine etkileri (* $p < 0.05$ PTZ (40 mg/kg) +spermin 4 mg/kg kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde farklı)

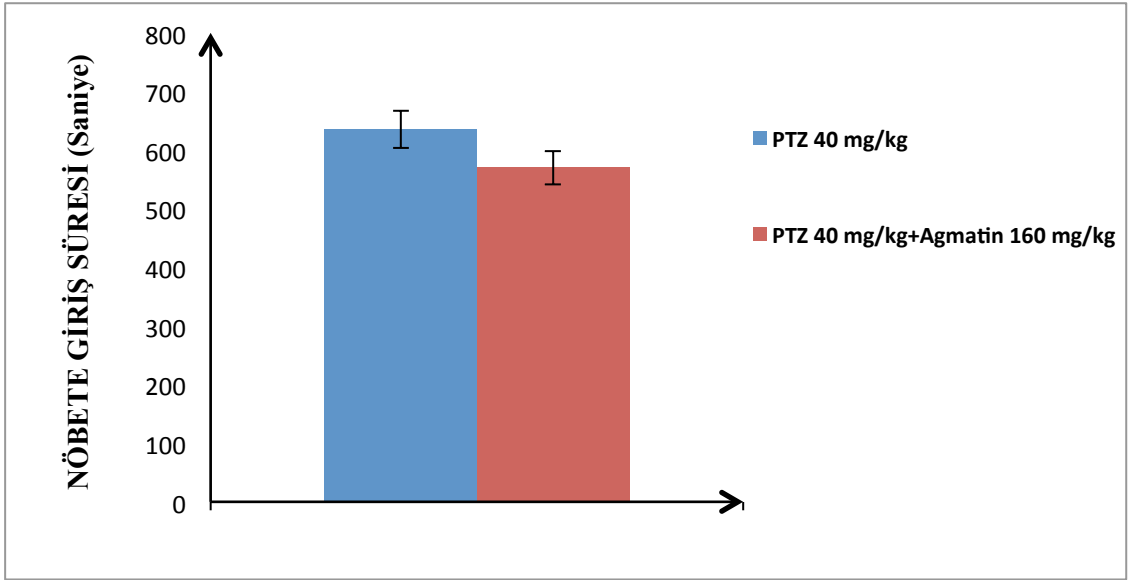


Şekil 13'te görüldüğü gibi, PTZ (40 mg/kg) + spermin 8 mg/kg grubunun PTZ (40 mg/kg) + spermin 4 mg/kg grubuna göre nöbet şiddetini istatistikçe anlamlı düzeyde düşürdüğü görülmüştür ($p=0,020$ Man Whitney-U test). Fakat PTZ (40 mg/kg) + spermin 4 mg/kg grubu, PTZ 40 mg/kg ve PTZ (40 mg/kg) + spermin 2 mg/kg gruplarına göre nöbet şiddetini arttırsada bu etki istatistikçe anlamlı bir düzeye erişememiştir (sırasıyla $p=0,101$; $p=0,087$ Man whitney-U test).

4.5. PTZ (40 mg/kg) İle Kombine Edilmiş Agmatinin 160 mg/kg Dozunun Nöbete Giriş Süresine Etkileri

PTZ (40 mg/kg) ile kombine edilmiş agmatinin 160 mg/kg dozunun nöbete giriş süresi üzerine etkisi Şekil 14'te görülmektedir.

Şekil 14. PTZ (40 mg/kg) ile kombine edilmiş agmatinin 160 mg/kg dozunun nöbete giriş süresine etkileri

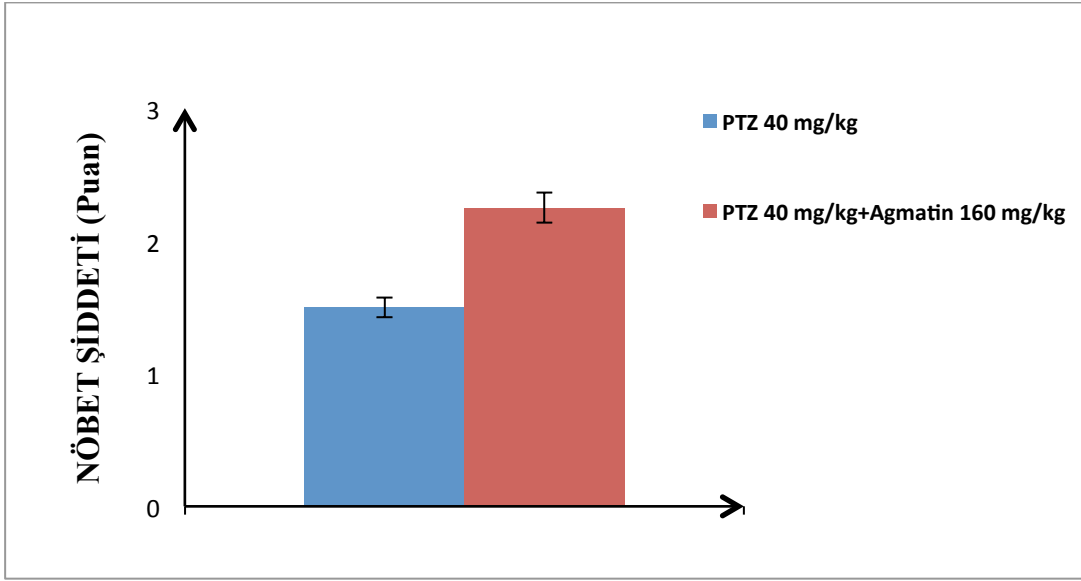


Şekil 14'te görüldüğü gibi, agmatin 160 mg/kg dozu, PTZ 40 mg/kg dozu ile kombine edildiğinde nöbete giriş süresi üzerine istatistikçe anlamlı bir etki yapmadığı görülmüştür. ($p= 0.549$, Student'in t testi).

4.6. PTZ (40 mg/kg) İle Kombine Edilmiş Agmatinin 160 mg/kg Dozunun Nöbet Şiddeti Üzerine Etkileri

PTZ (40 mg/kg) ile kombine edilmiş agmatinin 160 mg/kg dozunun nöbet şiddeti üzerine etkisi Şekil 15’te görülmektedir.

Şekil 15. PTZ (40 mg/kg) ile kombine edilmiş agmatinin 160 mg/kg dozunun nöbet şiddeti üzerine etkisi



Şekil 15’ te görüldüğü gibi, agmatin 160 mg/kg dozu, PTZ 40 mg/kg dozu ile kombine edildiğinde nöbete şiddetini arttırsada bu etki istatistikçe anlamlı bir düzeye erişememiştir ($p= 0.349$, Student’in t testi).

5. TARTIŞMA

Çalışmamızdan elde ettiğimiz veriler açıkça göstermiştir ki, intraperitoneal (ip) olarak verilen spermidinin 20, 40 ve 80 mg/kg dozları sıçanlarda PTZ ile indüklenen epileptik nöbetlerin eşliğini anlamlı ölçüde düşürmüştür. Fakat spermidinin sadece 20 mg/kg dozu PTZ ile indüklenen epileptik nöbetlerin şiddetini arttırmıştır. Sperminin 4 mg/kg dozu sıçanlarda PTZ ile indüklenen epileptik nöbetlerin eşliğini anlamlı ölçüde düşürürken şiddetini de arttırmıştır. Agmatinin 160 mg/kg dozu ise sıçanlarda PTZ ile indüklenen epileptik nöbetlerin eşigi ve şiddeti üzerine anlamlı bir etki yapmamıştır.

Glutamat ve gama aminobütirik asit (GABA), merkezi sinir sisteminde en çok bulunan nörotransmitterlerdir (Bambal ve ark., 2011). Glutamaterjik ve GABA'erjik nöronlar arasındaki denge, geçici nöron senkronizasyonunu kontrol etmektedir (Cloix ve Hevor, 2009). İnsan beyni alt sistemlerin karşılıklı olarak etkileştiği karmaşık bir ağdır ve senkronizasyonun beyin fonksiyonunda ve disfonksiyonunda önemli bir rol oynadığı yaygın bir şekilde kabul edilmektedir (Lehnertz ve ark., 2009). Farklı beyin yapılarında veya yapıları arasında meydana gelen senkronizasyon veya osilatör aktivite anormalliklerinin; epilepsi, parkinson, şizofreni gibi birkaç nörolojik hastalıklar ile ilişkisi olabileceği bildirilmiştir (Artieda ve ark.,2009; Postnova ve ark., 2010). Glutamat en önemli eksitatör nörotransmitter olarak NMDA ve non-NMDA reseptörleri üzerinden etkisini gösterir. NMDA reseptörleri sodyum ve kalsiyumun nöron içine girişini sağlayarak yavaş etkili ve uzun süreli eksitatör postsinaptik potansiyellere neden olur. Bu da epileptik burst sinyallerinin oluşmasına sağlar (Uysal, 2008). Non-NMDA reseptörlerinin en önemli alt tipi olan AMPA özellikle piramidal nöronlarda eksitatör sinaptik aktivite yapar (Özkara ve Ataklı, 2002; Majeda ve ark., 2003). Epileptogenez oluşumunun altında hangi mekanizmanın yattığı çok iyi bilinmemektedir. Epileptogenez oluşumuyla ilgili moleküler mekanizmalar arasında voltaj bağımlı Na⁺ kanallarının aktivasyonu, GABA sentez veya yıkımındaki değişiklikler, hücrel GABA alımının inhibisyonu, GABA reseptörü başta olmak üzere çeşitli uyarıcı amino asit reseptörlerinin modülasyonu ve adenosin metabolizmasındaki düzenleme ile ortaya çıkan değişiklikler yer alır (Avoli ve ark., 2005; Wendling ve ark., 2002; Wilson ve ark., 1992). Biyojenik aminlerin epileptik nöbetlerin patogenezinde önemli olduğu, katekolaminlerin antikonvülzan etki gösterdiği bilinmektedir. Alfa, beta adrenerjik reseptörlerin bloke edilmesi nöbet eşliğini düşürmektedir. Sıklık nükleotidlerden sıklık

adenozin monofosfat (cAMP) artışının nöbetleri önlediği, siklik guanozin mono fosfat (cGMP) artışının nöbetleri başlattığı, adenosin ve biyojenik aminlerin ise SSS'de cAMP düzeyini yükselterek inhibitor etki gösterdikleri bilinmektedir (Durlach, 1987).

Hayashi ve ark.(1993)'nın yaptıkları çalışmada PTZ enjeksiyonlarının tek sefer yapıldığı grupların nöbetlerinde beyinde spermin ve spermidin konstrasyonlarında anlamlı bir artış gözlenmemiş fakat kindling ile yapılan grupların nöbetlerinde anlamlı bir artış gözlemlenmiştir.

Çalışmamızda spermidinin 20, 40 ve 80 mg/kg dozlarını kullandık ve yaklaşık bir saat bekledikten sonra PTZ subefektif dozu olan 40 mg/kg dozunu tek sefer olarak denekelere uyguladık. Nöbetlerden elde ettiğimiz verilere baktığımızda spermidinin 20, 40 ve 80 mg/kg dozlarının sıçanlarda PTZ ile indüklenen epileptik nöbetlerin eşliğini anlamlı ölçüde düşürmüştür. Fakat spermidinin sadece 20 mg/kg dozu PTZ ile indüklenen epileptik nöbetlerin şiddetini arttırmıştır. Ayrıca sperminin 2, 4 ve 8 mg/kg dozlarını da uyguladık ve yine bir saat bekledikten sonra PTZ subefektif dozu olan 40 mg/kg dozunu tek sefer olarak denekelere uyguladık. Spermin uygulanan grupların nöbet verilerine baktığımızda ise sperminin 4 mg/kg dozu sıçanlarda PTZ ile indüklenen epileptik nöbetlerin eşliğini anlamlı ölçüde düşürürken şiddetini de arttırmıştır. Çalışmamızdan çıkan veriler Hayashi ve ark. (1993)'nın PTZ enjeksiyonunun tek sefer uygulandığı grupların verileri ile örtüşmemektedir. Her ne kadar çalışmamızda nöbetlerden sonra denekelerin beyinlerinde spermin ve spermidinin konstrasyonlarına bakmamış olsakta çalışmamızda gözlemlediğimiz nöbetlerin şiddeti beyinde bu konstrasyonların artmış olabileceğini düşündürmektedir.

Agmatinin deney hayvanlarında morfin ve alkol yoksunluk sendromunun birçok belirtisini hafiflettiği ve bu etkisinden NOS inhibisyonu yapıcı veya NMDA reseptörlerini inhibe edici özelliklerinin sorumlu olabileceği ileri sürülmüştür (Aricioglu-Kartal ve Uzbay 1997; Uzbay ve ark. 2000). Ayrıca daha önce gerçekleştirilen bir çalışmanın sonuçları agmatinin α_2 reseptörler üzerinden morfinin analjezik etkisini potansiyelize ettiğini göstermiştir (Yeşilyurt ve Uzbay 2001). Yapılan klinik öncesi araştırmalar eksojen olarak beyine uygulanan agmatinin; depresyon, anksiyete, hipoksik iskemi, nosisepsiyon, morfin toleransı, artan sayıda, Parkinson hastalığı, Alzheimer hastalığı, travmatik beyin yaralanması ve epilepsi hastalıklarda yararlı etkileri ve nöromodülatör ve nörokoruyucu özelliği gösterdiği kanıtlanmıştır (Moretti ve ark 2014). Agmatinin

NOS inhibisyonu ve NMDA reseptör antagonisti özellikleri ile anksiyete ve epilepsi gibi başka eksitatör nitelikli nöropsikiyatrik hastalıkların tedavisinde kullanılabileceği veya nöropsikiyatrik hastalıkların tedavisinde kullanılan bazı ilaçların etkilerine katkı sağlayabileceğini düşündüren birçok veri bulunmaktadır (Uzbay 2012).

Çalışmamızda agmatinin 160 mg/kg dozunu ip olarak uyguladık. Yaklaşık bir saat bekledikten sonra PTZ subefektif dozu olan 40 mg/kg dozunu tek sefer olarak denekelere uyguladık. Agmatinin 160 mg/kg dozu sıçanlarda PTZ ile indüklenen epileptik nöbetlerin eşiği ve şiddeti üzerine anlamlı bir etki yapmamıştır. Çalışmamızdan çıkan bu sonuçlar agmatinin, spermin ve spermidin gibi diğer poliaminlerin aksine epileptik nöbet eşiği ve şiddeti ile etkileşmediğini göstermektedir. Bu veri aynı zamanda bu grup ajanların poliamin kimyasal yapılarında başka mekanizmalarla epilepsi üzerine etkileri olduğunu düşündürmektedir. Agmatinin NMDA antagonistik etkileri epilepsi eşiği üzerine olumsuz etkileri olmasını engellemiş olabilir. NMDA agonistleri epilepsi eşiğini düşürüp şiddetini artırırken, antagonistler antiepileptik aktivite sergilerler (Szczurowska ve ark., 2013; Amini-Khoei ve ark., 2018). Ayrıca agmatinin NOS inhibitor özelliği de epilepsileri kötüleştirmemesi ile ilişkili olabilir. NOS inhibitörlerinin antikonsulsan etkileri vardır (Uzbay ve Oglesby, 2001).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak çalışmamızdan çıkan sonuçlar doğrultusunda ilk defa eksojen olarak verilen poliaminlerin epileptik nöbet oluşturup oluşturmadığı veya poliaminlerin deneysel bir modelde epilepsi eşiğini değiştirip değiştirmediği tarafımızca incelenmiştir. Elde edilen veriler sonucunda poliaminlerinden spermin ve spermidinin nöbet eşiği veya şiddeti üzerine potansiyelize edici yönde bir etkisi olduğu gösterilmiştir. Agmatinin ise çalışmamızda nöbetler üzerine herhangi bir olumsuz etkisi ortaya çıkmamıştır.

Verilerimiz agmatinin gıda takviyesi olarak kullanımının epilepsi bakımından bir risk oluşturmayabileceğine işaret etmektedir.

Agmatin ile spermidin ve spermin arasındaki farklı etkilerin mekanizmasının anlaşılabilmesi için ileri çalışmalar yapılması ve bu çalışmalarda özellikle glutamaterjik ve nitreerjik sistemlere odaklanılması yerinde olacaktır.

7. KAYNAKLAR

AMINI-KHOEI, H., KORDJAZY, N., HAJ-MIRZAIAN, A., AMIRI, S., HAJ-MIRZAIAN, A., SHIRZADIAN, A., HASANVAND, A., BALALI-DEHKORDI, S., HASSANIPOUR, M., DEHPOUR, A.R., 2018. Anticonvulsant effect of minocycline on pentylenetetrazole-induced seizure in mice: involvement of nitric oxide and N-methyl-d-aspartate receptor. *Can J Physiol Pharmacol* 96:742-750.

ARICIOGLU, K.F., UZBAY, I.T., 1997. Inhibitory effect of agmatine on naloxone-precipitated abstinence syndrome in morphine dependent rats. *Life Sciences*, 61:1775-1781.

ARTIEDA, J., ALEGRE, M., VALENCIA, M., 2009. Brain oscillations: pathophysiological and potentially therapeutic role in some neurological and psychiatric diseases. *An Sist Sanit Navar*,32(Suppl 3):45-60.

ASANUMA, M., OGAWA, N., NISHIBAYASHI, S., KONDO, Y., MORI, A., 1995. Effects of repeated injection of cyclosporin A on pentylenetetrazol-induced convulsion and cyclophilin mRNA levels in rat brain. *Neurochem Res* ,20: 101-105.

AVOLI, M., LOUVEL, J., PUMAIN, R., 2005. Cellular and molecular mechanisms of epilepsy in the human brain. *Prog Neurobiol*, 77(3):166-200.

BAMBAL, G., ÇAKIL, D., EKİCİ, F., 2011. Models of experimental epilepsy. *Journal of Clinical and Experimental Investigations* , 2 (1): 118-123.

BONETTI, E.P., PIERI, L., CUMIN, R., SCHAFFNER, R., PIERI, M., GAMZU, E.R., MÜLLER, R.K.M., HAEFLEY, W., 1982. Benzodiazepine antagonist Ro 15-1788: Neurological and behavioral effects. *Psychopharmacology* ,78: 8-18.

CHANG, B.S., LOWENSTEIN, D.H., 2003. Epilepsy. *New England Journal of Medicine* ,349, 1257—1266.

CİĞER A., 2002. Erişkinlerde Epilepsi. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji ders notları, 5:115-118.

CLOIX, J.F., HÉVOR, T., 2009. Epilepsy, regulation of brain energy metabolism and neurotransmission. *Curr Med Chem* ,16:841-853.

ÇALISIR, N., BORA, I., IRGİL, E., BOZ, M., 2006. Prevalence of epilepsy in Bursa city center, an urban area of Turkey. *Epilepsia* , 47: 1691-9.

DAI, Y.J., XU,Z.H., FENG ,B., XU, C.L., ZHAO, H.W., WU, D.C., HU, W.W., CHEN, Z., 2014. Gender difference in acquired seizure susceptibility in adult rats after early complex febrile seizures. *Neurosci Bull.*, 30(6):913-22.

- DURLACH, J., POENARU, S., ROUHANI, S., BARA, M., GUIET-BARA, A., 1987. SAYFA 48. The control of central neural Hyperexcitability in Magnesium Deficiency, *Nutrients and Brain Function*, Central neural Excitability and magnesium Deficiency.
- FERCHMÁN, P.A., ETEROVIE, V.A. 1987. Role of polyamines in experience dependent brain plasticity. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 26: 341-349.
- GALEA, E., REGUNATHAN, S., ELIOPOULOS, V., FEINSTEIN, D.L., REIS, D.J., 1996. Inhibition of mammalian nitric oxide synthases by agmatine, an endogenous polyamine formed by decarboxylation of arginine. *Biochem J* 316:247-249.
- GRECKSCH, G., BECKER, A., RAUCA C., 1997. Effect of age on pentylentetrazol-kindling and kindling-induced impairments of learning performance. *Pharmacol Biochem Behav.* 56(4):595-601.
- Gümrü S, Sahin C, Arıcıoğlu F. 2013. "Yeni Bir Nörotransmitter/Nöromodulator Olarak Agmatine Genel Bir Bakış". *MÜSBED*.3(Suppl. 1):S23-S28.
- HAYASHI, Y., HATTORI, Y., MORIWAKI, A., LU, Y.F., HORI, Y., 1993. Increases in brain polyamine concentrations in chemical kindling and single convulsion induced by pentylentetrazol in rats. *Neuroscience Letters*, 149; 63-6.
- KABOUTARI, J., ZENDEHDEL, M., HABIBIAN, S., AZIMI, M., SHAKER, M., KARIMI, B., 2012. The antiepileptic effect of sodium valproate during different phases of the estrous cycle in PTZ-induced seizures in rats. *J Physiol Biochem.*, 68(2):155-61.
- KARAAGAC, N., YENI, S.N., SENOCAK, M., BOZLUOLCAY, M., SAVRUN, F.K., OZDEMİR, H., 1999. Prevalence of epilepsy in Silivri, a rural area of Turkey. *Epilepsia* , 40: 637-42.
- KARPUTLU, İ., UZBAY, T., 1996. L-NAME inhibits pentylentetrazole and strychnine-induced seizures in mice. *Brain Research*, 753 (1997) 98 – 101.
- KELOGLAN, S., BITIKTAS, S., DOLU, N., SUER, C., ARTIS, S., 2016. Effects of environmental enrichment on hippocampal electrophysiological changes in the pentylentetrazole model of epilepsy. *Journal Of The Turkish Epilepsy Society*. 22(3), 93-101.
- SHIMOSATO, K., WATANABE, S., KATSURA, M., OHKUMA, S., 1997. Role of cerebral spermidine in the development of sensitization to convulsant activity of cocaine and lidocaine. *Brain Research* 775 ; 198-202.
- KOSSEL, A., 1910. Über das Agmatin. *Zeitschrift für Physiologische Chemie*, 66:257-261.

KÖSE, A. , 2007. Agmatin'in Kindling Epilepsi Modellerindeki Etkisi. Uzmanlık Tezi. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji Anabilim Dalı.

LANCESTER, JR., 1992. Nitric oxide in cells. *Amer Sci*; 80 :248-259.

LEHNERTZ , K., BIALONSKI, S., HORSTMANN, M.T., 2009. Synchronization phenomena in human epileptic brain networks. *J Neurosci Methods*, 183:42-48.

LÍ, G., REGUNATHAN, S., BARROW, C.J., ESHRAGHÍ, J., COOPER, R., REÍS, D.J., 1994. Agmatine: An endogenous clonidine-displacing substance in the brain. *Science*, 263:966-969.

LÍ ,G., REGUNATHAN, S., REÍS, D.J., 1995. Agmatine is synthesized by a mitochondrial arginine decarboxylase in rat brain. *Ann NY Acad Sci*.763:325-329.

LİPSON, S.E., MONTES, J.A., DEVİNSKY, O., 2002. Epilepsy in the alienist and neurologist, 1880—1920. *Epilepsia*, 43, 912—919.

LORTİE, M.J., NOVOTNY, W.F., PETERSON, O.W., VALLON, V., MALVEY, K., MENDONCA, M., SATRIANO, J., INSEL, P., THOMSON, S.C., BLANTZ, R.C.1996. Agmatine, a bioactive metabolite of arginine. *The Journal of Clinical Investigation*, 97:413-420.

MAJEDA, M., MARGİNEANU, D.G., GORJÍ, A., SİEP, E.2003. Reduction of voltage-operated potassium currents by levetiracetam: a novel antiepileptic mechanism of action? *Neuropharmacology*., 45(5): 661-71.

MARANGOZ, C. 1996. Nitrik Oksit Ve Deneysel Epilepsi. *O:M:Ü:Tıp Dergisi*, 13(3): 165- 183.

MARANGOZ, C. 1997. Deneysel epilepsi modelleri. *O:M:Ü:Tıp Dergisi*,14(3):147-186.

MORETTİ, M., MATHEUS, F.C., OLİVEİRA, P., NEİS, V., BEN, J., WALZ, R., RODRİGUES, A.N.S., PREDİGER, R.D., 2014. Role of agmatine in neurodegenerative diseases and epilepsy. *Frontiers in Bioscience E6*, 341-359.

MORRİSET, R.A., REZVANİ, A.H., OVERSTREET, D., JANOWSKY, D.S., WİLSON, W.A., SWARTZWELDER, H.S., 1990. MK-801 potently inhibits alcohol withdrawal seizures in rats. *Eur J Pharmacol*,176: 103-105.

SASTRE, M., REGUNATHAN, S., GALEA, E., REİS., D. J., 1996. Agmatinase activity in rat brain: a metabolic pathway for the degradation of agmatine. *J Neurochem*, 67(4), 1761-5.

- OSONOE, K., MORI, N., SUZUKI, I. K., OSONOE, M., 1994. Antiepileptic effects of nitric oxide synthase examined in pentylenetetrazol-induced seizures in rats. *Brain Res*, 663: 338-340.
- ÖZKARA, Ç., ATAKLI, D., 2002. *Epilepsi*. İstanbul: 5Us Yayın, 63-107.
- ÖZTAÇ, B., KAYA, M., 1994. The effect of profound hypothermia on blood-brain barrier permeability during pentylenetetrazol-induced seizures. *Epilepsy Res* 19: 221-227.
- PİLETZ, JE., CHIKKALA, D.N., ERNSBERGER, P., 1995. Comparison of the properties of agmatine and endogenous clonidine-displacing substance at imidazoline and alpha 2-adrenergic receptors. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 272:581-587.
- POSTNOVA, S., FİNKE, C., JİN, W., SCHNEIDER, H., BRAUN, H.A., 2010. A computational study of the interdependencies between neuronal impulse pattern, noise effects and synchronization. *J Physiol Paris*, 104:176-189.
- RAASCH, W., REGUNATHAN, S., Lİ, G., REİS, D.J., 1995. Agmatine, the bacterial amine, is widely distributed in mammalian tissues. *Life Sciences*, 56:2319-2330.
- REGUNATHAN, S., REİS, D.J., 1996. Imidazoline receptors and their endogenous ligands. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 36:511-544.
- REİS, D.J., REGUNATHAN S., 1998. Agmatine: An endogenous ligand at imidazoline receptors may be a novel neurotransmitter in brain. *Journal of Autonomic Nervous System*, 72:80-85.
- REİS, D.J., REGUNATHAN, S., 2000. Is agmatine a novel neurotransmitter in brain? *Trends in Pharmacological Science*, 21:187-193.
- RANSOM, C.B., BLUMENFELD, H., 2007. *Acquired epilepsy: cellular and molecular mechanisms*. Molecular Neurology. Editörler: Waxman, S.G., Burlington: Elsevier Academic Press .
- SAPMAZ, M., 2008. Normal ve süperovule farelerde iyonizan radyasyonun ovaryum morfolojisi, östrus siklusu ve ovulasyon oranı üzerine etkilerinin incelenmesi. Doktora Tezi. Trakya üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji doktora programı.
- SCHUBER, P., 1989. Influence of polyamines on membrane functions. *B&hem. J.* 260, 1-10.
- SEİNO, M., 2006. Classification criteria of epileptic seizures and syndromes. *Epilepsy Res* ,70(Suppl 1):27-33.

SHALABY, A.R., 1996. Significance of biogenic amines to food safety and human health. *Food Research International*, 29(7):675-690.

SNELL ,G.D, 1956. Sayfa 55-89. *Biology of Mouse*.Editör:Snell,G.D.USA: Dover Publications

SNYDER-KELLER, A., SAM, C., KELLER, R.W.JR., 2000. Enhanced susceptibility to cocaine- and pentylenetetrazol-induced seizures in prenatally cocaine-treated rats. *Neurotoxicol Teratol* ,22:231-236.

SZCZUROWSKA, E., MAREŠ, P., 2013. NMDA and AMPA receptors: development and status epilepticus. *Physiol Res*. 62 Suppl 1: S21-38, 2013.

TABOR, C.W., TABOR, H., 1984. Polyamines. *Annual Review of Biochemistry*, 53:749-790.

UZBAY, I.T., YESİLYURT O., ÇELİK T., ERGÜN H., İSİMER A., 2000. Effects of agmatine on ethanol withdrawal syndrome in rats. *Behavioral Brain Research*, 107:153-159.

UZBAY, I.T.2003. Epilepsi araştırmalarında kullanılan hayvan modelleri. *Türk Nöroloji Dergisi*, 8: 45-54.

UZBAY, T.I., 2012. The pharmacological importance of agmatine in the brain. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 36:502-519.

UZBAY, I.T., KAYA YERTUTANOL, F.D., MIDI, A., ÇEVRELI, B., 2017. Subcutaneous Toxicity Of Agmatine In Rats. *The Turkish Journal Of Pharmaceutical Sciences*, 14(2), 127-133.

UZBAY, I.T., OGLESBY, M., 2001. Nitric oxide and substance dependence. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 25(1), 43-52.

UYSAL, P., 2008. İlk kez afebril konvülsiyon geçiren çocuklarda etiyolojik ve prognostik faktörler. Uzmanlık Tezi. T.C. Sağlık Bakanlığı Bakırköy Kadın Doğum Ve Çocuk Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi.

WALTER, R., REGUNATHAN, S., Lİ, G., REİS, D.J., 1995. Agmatine is widely and unequally distributed in rat organs. *Ann NY Acad Sci* 763:330-334.

WENDLİNG, F., BARTOLEMEİ, F., BELLANGER, J.J., 2002. Epileptic fast activity can be explained by a model of impaired GABAergic dentritic inhibition. *Eur J Neurosci*, 15(9):1499-508.

WİLSON, W.A., STASHEFF, S., SWARTZWELDER, S., 1992. The role of NMDA receptors in in vitro epileptogenesis. *Epilepsy Res Suppl* ., 8:157-165.

YAMANAKA, H., SHIOMI, K., KIKUCHI, T., 1987. Agmatine as a potential index for freshness of common squid (*Todarodes pacificus*). *Journal of Food Science*, 52:936-938.

YANG, X.C., REIS, D.J., 1999. Agmatine selectively blocks the N-methyl-D-aspartate subclass of glutamate receptor channels in rat hippocampal neurons. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 288:544-549.

YESILYURT, O., UZBAY, I.T., 2001. Agmatine potentiates the analgesic effect of morphine by an alpha-2-adrenoceptor-mediated mechanism in mice. *Neuropharmacology*, 25:98-103.

ZHAO, D., LEUNG, L.S., BOON, F., CAIN, D.P., 1994. Persistent physiological effects caused by a single pentylentetrazol induced seizure in neonatal rats. *Brain Res Dev Brain Res* 15:190-198.

ZUPEC-KANIÁ, B.A., SPELLMAN, E., 2009. An overview of the ketogenic diet for pediatric epilepsy. *Nutr Clin Pract* ,23:589-596.