

**T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**PTZ İLE İNDÜKLENEN KONVÜLSİF NÖBETLERDE
ADENOZİN-SİTOKİN İLİŞKİSİ**

Fazilet DEDE

Kocaeli Üniversitesi

**Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
Fizyoloji Programı İçin Öngördüğü
BİLİM UZMANLIĞI TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır**

Danışman: Prof. Dr. Nurbay ATEŞ

**Bu Tez Çalışması Kocaeli Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
Tarafından Desteklenmiştir
Proje Numarası:201564hd
Etik Kurul Onay Numarası: KOÜ HADYEK 7/1-2015**

**KOCAELİ
2016**

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(Tez Onay Sayfası)

Tez adı: PTZ ile İndüklenen Konvülsif Nöbetlerde Adrenozin-Sitotokin İnteraksi

Tez yazarı: Fazilet DEDE
Tez savunma tarihi: 08.06.2016

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Nurbay ATEŞ

İş bu çalışma Jürimiz tarafından Fizyoloji Anabilim
Dalı ..Bilin. Uzmanlığı... tezi olarak kabul edilmiştir.
(40 saat Lisans)

Tez Savunma Sınavı jüri üyeleri		İmzası
Ünvanı	Adı Soyadı	
Üye	Prof. Dr. Nurbay Ateş	
Üye	Doç. Dr. Ayşe Karsen	
Üye	Doç. Dr. Melike Sahiner	

ONAY

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

...../...../20

Prof. Dr. Mustafa Yıldız
Enstitü Müdürü

ÖZET

PTZ ile İndüklenen Konvulsif Nöbetlerde Adenozin-Sitokin İlişkisi

Amaç; Adenozinerjik sistem, sitokinler ve oksidan-anti oksidan mekanizmalar epilepsi gibi pekçok nörolojik hastalığın patogenezine katılmaktadır. Bu çalışmanın amacı PTZ ile oluşturulan nöbet aktivitesi üzerine kafein ve adenozinin etkisini araştırmak ve bu etkiyle ilişkili olabilecek sitokin düzeyleri ve oksidatif parametreleri incelemektir.

Yöntem; Wistar albino ırkı erkek ratlarda 60 mg/kg PTZ ile jeneralize tonik klonik nöbetler oluşturuldu. Kafein ve adenozin kullanılarak nöbet aktivitesi modüle edildi. Nöbet aktivitesinden sonra TNF- α , IL-1 β , IL-6 seviyeleri beyin dokusunda, MDA, GSH ve NO seviyeleri beyin dokusu ve periferik kanda belirlendi.

Bulgular; PTZ injeksiyonu ile konvulsif nöbetler oluşturuldu. Adenozinin, PTZ ile oluşturulan nöbetlerde nöbet başlangıcını anlamlı olarak geciktirdiği ($p<0,05$), nöbet süresi üzerine ise anlamlı bir sonuç vermediği gözlemlendi. Sitokine geldiğimizdeyse; TNF- α , IL-1 β ve IL-6 seviyesinde PTZ nöbet grubu ve kontrol arasında bir farklılık gözlemlenmedi ($p>0,05$). PTZ uygulanan konvulsif gruba göre PTZ+Adenozin grubundaki TNF- α , IL-6 ve IL-1 β konsantrasyonlarında ise anlamlı bir azalma gözlemlendi ($p<0,05$). PTZ ile uyarılan nöbetlerde kafein ve adenozinin kullanılması kortekste MDA seviyesinde azalmaya neden oldu ($p<0,05$). Diğer parametrelerde ise değişiklik oluşmadığı gözlemlendi.

Sonuç; Çalışmamıza göre; PTZ ile oluşturulan konvulsif nöbetlerde adenozin uygulaması konvulsiyonların artırdığı sitokin düzeyini anlamlı derecede azalmıştır. Ayrıca nöbet başlamasını da geciktirerek hem anti-epileptik hemde anti inflamatuvar etkiye sahip olduğu gösterilmektedir. IL-1beta, TNF-alfa, IL-6'nın baskılanmasının nöbet latansını uzatabileceği bulgusu, inflamatuvar moleküllerin nöbet patogenezinde etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar sözcükler: Adenozin, Kafein, Pentilentetrazol, sitokinler ve GSH, MDA, NO

ABSTRACT

Adenosine- Cytokine Relationship in Convulsive Seizures Induced with PTZ

Objective; Adenosinergic system, cytokines and oxidant-antioxidant mechanisms are thought to be involve in the pathogenesis of many neurological diseases such as epilepsy. The aim of this study is to investigate the effect of adenosine and caffeine on seizure activity induced by PTZ, and analyse cytokine levels and oxidant parameters that might be associated with this effect.

Method; Generalized tonic-clonic seizures were induced with 60 mg/kg PTZ in male Wistar Albino rats. The effect of adenosine and caffeine on seizure activity were investigated. TNF- α , IL-1 β , IL-6 levels in brain tissue and MDA, GSH, NO levels both in brain tissue and peripheral blood have been determined after seizure activity.

Results; Convulsive seizures were generated with PTZ injection. It is observed that adenosine significantly delayed seizure onset ($p < 0,05$) but not seizure duration in PTZ induced seizure group. When comes to cytokines; TNF- α , IL-1 β and IL-6 levels didn't showed significantly differences between PTZ seizure group and control group ($p > 0,05$). In PTZ+Adenosine group a significant reduction in TNF- α , IL-1 β and IL-6 concentrations were observed compare to PTZ induced seizure group ($p < 0,05$). Adenosine and caffeine caused a decline in MDA level in PTZ induced seizure group ($p < 0,05$). There hasn't been found any changes in other oxidant-antioxidant parameters.

Conclusions; According to our result; adenosine treatment in PTZ induced seizure group significantly decreased cytokine levels that has been increased by convulsions. Furthermore, it has been shown that adenosine has both anti-inflammatory effect and anti-epileptic effect. These findings demonstrate that suppression of TNF-alpha, IL-1beta, IL-6 may be cause prolonged seizures latency; so inflammatuary molecules may be effective on seizures pathogenesis.

Keywords: Adenosine, caffeine, pentylenetetrazole, cytokines and GSH, MDA, NO

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans çalışmalarım boyunca bilimsel bakış açısıyla daima örnek olan, tecrübe ve yardımlarını esirgemeyen, değerli hocam, danışmanım, Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Nurbay ATEŞ' e teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım süresince bana engin bilgileriyle katkıda bulunan ve bilgileriyle yönlendiren değerli hocalarım Doç. Dr.Deniz ŐAHİN, Doç. Dr. Ayşe KARSON, Doç. Dr.Gül İLBAY ve Yrd. Doç. F. Ceyla ERASLAN'a teşekkür ederim.

Çalışmalarım süresince yardımlarını esirgemeyen değerli çalışma arkadaşlarım Sabriye KARADENİZLİ, Sertan ARKAN, Ö.Doğa ÖZSOY, Sema KURNAZ ÖZBEK, Selenay FURAT RENÇBER, Kübra KAVRAM, Mehmet SARIHAN, Esra ACAR, Fatih HUNÇ, İrem YAVAŞ ve DETAB çalışanlarına

Eğitimim süresince gösterdikleri destek, anlayış ve hoşgörü için sevgili dostlarıma, sevgili Anneme, Abime, Kardeşime ve Rifat'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Fazilet DEDE

KOCAELİ, Mayıs 2016

TEZİN AŞIRMA OLMADIĞI BİLDİRİSİ

Tezimde başka kaynaklardan yararlanılarak kullanılan yazı, bilgi, çizim, çizelge ve diğer malzemeler kaynakları gösterilerek verilmiştir. Tezimin herhangi bir yayından kısmen ya da tamamen aşırma olmadığını ve bir İntihal Programı kullanılarak test edildiğini beyan ederim.

/ / 2016

Fazilet DEDE

İmza

İÇİNDEKİLER

KABUL ve ONAY	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
TEZİN AŞIRMA OLMADIĞI BİLDİRİSİ	vii
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
ÇİZİMLER DİZİNİ	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
1.1. EPİLEPSİ	1
1.1.1. Epilepsinin Tanımı	1
1.1.2. Epilepsinin Sınıflandırılması	1
1.1.3. Epilepsi ya da Epileptik Nöbet Modelleri	3
1.1.4. Jeneralize Tonik-Klonik Nöbetler	4
1.1.5. Pentilentetrazol ile Jeneralize Tonik-Klonik Nöbet	5
1.1.6. Epileptogenez	6
1.2. Adenozin ve Yapısı	7
1.2.1. Adenozin Reseptörleri	8
1.2.2. Adenozinin Fizyolojideki Rolü	12
1.2.3. Adenozinin Patofizyolojideki Rolü	13
1.2.4. Kafein	14
1.2.5. Epilepside Adenozin ve Kafein	15
1.3. Sitokinler	17
1.3.1. Tümör Nekrozis Faktör (TNF)	19
1.3.2. Interlökin-6 (IL-6)	20
1.3.3. Interlökin-1 Beta (IL-1 β)	20
1.3.4. Sitokinlerin Epilepside Rollerini	21
1.4. Oksidatif Stres Parametreleri	22
1.4.1. Malondialdehit (MDA)	22
1.4.2. Glutatyon (GSH)	23
1.4.3. Nitrik Oksit (NO)	23

2. AMAÇ	25
3. YÖNTEM	27
3.1 . Kimyasal Maddeler ve Uygulanış Şekilleri	27
3.1.1. Pentilentetrazol	27
3.1.2. Kafein	27
3.1.3. Adenozin	28
3.2. PTZ Uygulamasıyla Jeneralize Tonik-Klonik Nöbet Oluşturulması	28
3.3. Kan ve Beyin Dokularının Toplanması	29
3.4. Doku Homojenizasyonu	29
3.5. Doku Protein Tayini	29
3.6. Doku ve Kanda MDA, GSH ve NO Tayini	30
3.6.1. Malondialdehit Ölçümü	30
3.6.2. GSH Ölçümü	30
3.6.3. NO _x (Total Nitrit+Nitrat) Ölçümü	30
3.7. ELISA Kitlerinin Çalışılması	31
3.8. İstatistiksel Analiz	31
4. BULGULAR	32
4.2. Konvulsif Nöbetlerin Değerlendirilmesi	32
4.3. Sitokinlerin Değerlendirilmesi	34
4.4. Oksidatif Stresin Değerlendirilmesi	38
5. TARTIŞMA	42
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	49
KAYNAKLAR DİZİNİ	50
ÖZGEÇMİŞ	59
ETİK KURUL	60

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

GABA	: Gamma-Aminobütirik Asit
GABA _a	: Gamma Aminobütirik Asid-A
ILAE	: Uluslararası Epilepsi İle Savaş Komisyonu
GAERS	: Strasbourg ‘Dan Genetik Absans Epilepsili Ratlar
WAG/Rij	: Wistar Albino Glaxo/Rij-Rat
EEG	: Elektroensefalografi
DDD	: Diken Dalga Deşarjı
PTZ	: Pentilentetrazol
AMP	: Adenozin Monofosfat
JTKN	: Jeneralize Tonik-Klonik
Nöbetler CSF	: Serebrospinal Sıvı
KBB	: Kan Beyin Bariyeri
ATPaz	: Adenozin Trifosfataz
AR	: Adenozin Reseptörleri
PKA	: Protein Kinaz A
cAMP	: Siklik Adenozin Monofosfat
MSS	: Merkezi Sinir Sistemi
ATP	: Adenozin Trifosfat
TLE	: Temporal Lob Epilepsisi
LPS	: Lipopolisakkarit
TNF	: Tümör Nekrozis Faktör
TNFR1	: TNF Reseptör-1
TNFR2	: TNF Reseptör-2
IL	: İnterlökin
IL-1Ra	: İnterlökin-1 Reseptor Antagonisti
IFN	: İnterferon
CCL	: Kemokin (C-C Motif) Ligand
GIRKS	: G-protein bağımlı içe düzeltici Potasyum Kanalları
NMDA	: N-Metil-D-Aspartik Asit
PBS	: Fosfat Buffer Salin
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri

NOS : NO Sentaz
NO_x : Total Nitrit+Nitrat
G_sα : G Stimulant
G_iα : G İnhibitör
Na⁺ : Sodyum İyonu
Ca⁺² : Kalsiyum İyonu
K⁺ : Potasyum
İyonu



ÇİZİMLER DİZİNİ

Çizim 1.1 : Epileptogenezin Şeması.....	6
Çizim 1.2.1: Adenozinin moleküler yapısı	8
Çizim 1.2.2: MSS'nin belirli bölgelerinde adenozin reseptörlerinin dağılımını göstermektedir. Ekspresyonu yüksek seviyede olanlar büyük harflerle gösterilmiştir.....	11
Çizim 1.2.3: Kafeinin kimyasal ve moleküler yapısı.....	14
Çizim 1.2.4: Kafein ve adenozinin moleküler gösterimi.....	15
Çizim 1.3.1: Sinir sisteminde sitokin seviyesinin artmasıyla provoke olan patolojik olayların kaskadını göstermektedir.....	18
Çizim 4.1.1: İntraperitoneal PTZ injeksiyonu ile oluşturulan nöbetlerde adenozinerjik sistem modülasyonunun nöbet parametreleri üzerine etkisinin grafiksel gösterimi.....	33
Çizim 4.1.2: İntraperitoneal PTZ injeksiyonu ile oluşturulan nöbetlerde Adenozin, Kafein ve PTZ grubu arasındaki St4'e geçiş süresi.....	33
Çizim 4.2.1: Deney ve kontrol gruplarında ki TNF- α düzeylerinin grafiksel gösterimi (*= p<0,05).....	36
Çizim 4.2.2: Deney ve kontrol gruplarında ki IL-1 β düzeylerinin grafiksel gösterimi (*= p<0,05).....	37
Çizim 4.2.3: Deney ve kontrol gruplarında ki IL-6 düzeylerinin grafiksel gösterimi (*= p<0,05).....	38
Çizim 4.3.1. Deney ve kontrol gruplarında ki MDA düzeylerinin korteks ve serumda grafiksel gösterimi (*=p<0,05).....	40
Çizim 4.3.2. Deney ve kontrol gruplarında ki GSH düzeylerinin korteks ve plazmada grafiksel gösterimi.....	41
Çizim 4.3.3. Deney ve kontrol gruplarında ki NO düzeylerinin kortekste ki grafiksel gösterimi.....	41

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Epileptik nöbetlerin klinik ve elektroensefalografik sınıflandırması.....	2
Çizelge 1.2. Parsial ve jeneralize epilepsi modelleri.....	4
Çizelge 1.2.1. Adenozin reseptörlerinin agonist ve antagonistleri ile dokulardaki fonksiyonları belirtilmiştir.....	9
Çizelge 1.2.2. Adenozin reseptörlerinin dağılımının özetidir.....	10
Çizelge 4.1.1. İntraperitoneal PTZ injeksiyonu ile oluşturulan nöbetlerde adenozinerjik sistem modülasyonunun nöbet parametreleri üzerine etkisi.....	32
Çizelge 4.2.1. Deney gruplarının sitokin düzeyleri ortalama±standart sapma şeklinde gösterilmektedir.....	35
Çizelge 4.3.1. MDA ve GSH'ın korteks ve kanda ki konsantrasyonları, NO'in ise korteksteki konsantrasyonları gösterilmektedir.....	39

1. GİRİŞ

1.1.EPİLEPSİ

1.1.1. Epilepsinin Tanımı

Epilepsi merkezi sinir sisteminde, kortikal veya subkortikal alanlarda bulunan nöron gruplarının ani, anormal ve hipersenkron deşarjları sonucu ortaya çıkan ve genellikle tekrarlayan nöbet periyotları ile karakterize edilen klinik bir tablodur (Ciğer 2002). Nöbet ise beyinde anormal, istemsiz ve ritmik nöronal deşarjlar sonucunda oluşan ve sınırlı bir zaman içinde davranış, duygu, bilinç, hareket veya algılama fonksiyonlarında bozukluğa sebep olan paroksizmal olaylardır (Wiebe ve ark. 2009). MSS'deki inhibitör transmisyonun bozulması, aşırı eksitator transmisyon ya da ikisinin kombinasyonu ile oluşan anormallikler nöbet hassasiyetinin oluşmasına neden olur. Önceki çalışmalar primer olarak GABAerjik ve glutamaterjik sistemler üzerine odaklanmışlardır (Gouder ve diğ 2004). İnsan ve hayvan deneylerinde nöronal inhibisyonu bloklayan ya da nöronal eksitasyona neden olan ajanlar kullanılarak jeneralize konvulsiyonlar gözlemlenmiştir. Ancak konvulsif nöbetlerin bu iki sistemin birlikte mi yoksa ayrı ayrı bozulmasından dolayı mı olduğu açık değildir (Willoughby ve diğ. 1999). İnhibitör nörotransmitter reseptörlerindeki anormallikler inhibisyonun bozulmasına yol açmakta ve eksitator nöronal aktivitenin artmasına izin vermektedir. Ayrıca endojen GABA tarafından Gamma aminobütirik asid-A ($GABA_A$) reseptör aktivasyonunun memeli nöronlarında daima nöronal inhibisyonla sonuçlandığı belirtilmiştir (Willoughby ve diğ. 1999).

Şuanda dünya çapında yaklaşık 50 milyon insan tedavi gerektiren aktif epilepsiye sahiptir. Antiepileptik ilaçların (AEİ) sayısı ve çeşidi artmasına rağmen epilepsili hastaların %30'dan daha fazlası tıbbi olarak ilaçlara karşı dirençlidir (Souza ve diğ. 2013).

1.1.2. Epilepsinin Sınıflandırılması

Uluslararası Epilepsi ile Savaş Komisyonu (ILAE)'nin uzun yıllar süren çalışmaları sonucunda hazırlanan 1981'de Epileptik Nöbetlerin Klinik ve Elektrografik Sınıflaması ve 1989'da Epilepsiler ve Epileptik Sendromların Sınıflaması, tüm dünyada kabul görerek standart hale getirilmiştir (Çizelge 1.1). Epilepsi sınıflandırılırken; başlangıç yaşı, nöbete eşlik eden özellikler, hastalık nedeni, nöbet tipi, etiyolojisi, nöbeti uyaran etkenler, uygulanan tedavi biçimi, lokalizasyonu gibi nitelikler dikkate alınarak yapılmaya çalışılmıştır.

Çizelge 1.1. Epileptik nöbetlerin klinik ve elektroensefalografik sınıflandırması, (ILAE 1981)

EPİLEPTİK NÖBETLER		
Parsiyel (fokal, lokal) nöbetler	Jeneralize nöbetler (konvülfif-konvülfif olmayan)	Sınıflandırılmayan epileptik nöbetler
a)Basit parsiyel nöbetler -Motor semptomlu -Somatosensoryel veya özel duysal semptomlu -Otonomik semptomlu -Psişik semptomlu	-Absans nöbetleri Tipik Absans nöbetleri Atipik absans -Miyoklonik nöbetler -Klonik nöbetler -Tonik nöbetler -Tonik-klonik nöbetler -Atonik nöbetler (astatik) (ani düşme nöbetleri)	Yeterli bilgi olmayışı nedeni ile yukarıdaki kategorilere dahil edilemeyen nöbetlerdir. Çiğneme, ritmik göz hareketleri gibi bazı yenidoğan dönemi nöbetleri bunlardandır. -Parsiyel : kısmi, bütünü bir bölümü -Somato : vücut; sensoryel -Otonomik: istem dışı hareketlerle ilişkili örneğin kalp hızı, terleme gibi -Psişik: hem akli hem de beyni etkileyen -Otomatizm; kişinin kontrolü altında olmayan yarı amaçlı hareketler. Örneğin yalanma, yutkunma hareketleri, elbiseleri çekiştirme ve sarhoş gibi yürüme şeklinde hareketler. - Sekonder jeneralize; sınırlı bir bölgeden başlayıp yaygın hale dönüşen (genelde tonik-klonik nöbet oluşur)
b)Kompleks parsiyel nöbetler (bilinç bozukluğu ile giden) -Basit parsiyel başlangıcı izleyen bilinç bozukluğu Basit parsiyel başlangıcı izleyen bilinç bozukluğu Otomatizmlerle giden -Bilinç durumunun başlangıçtan itibaren bozulması Sadece bilinç bozukluğu ile giden Otomatizmlerle giden		
c)Sekonder jeneralize nöbete dönüşen parsiyel nöbetler -Basit parsiyel nöbetin jeneralize nöbete dönüşmesi -Kompleks parsiyel nöbetin jeneralize nöbete dönüşmesi -Basit parsiyel nöbetin kompleks parsiyel nöbete dönüşmesi ve ardından jeneralize nöbete dönüşmesi		

ILAE'ya göre kabul edilen sınıflandırma epilepsi ve epileptik sendromları; nöbet tipi, etyolojisi, nöbeti uyaran faktörler, başlangıç yaşı, tedavi seçimi gibi faktörleri kapsayacak şekilde sınıflandırmıştır (Dreifuss 1981). Klinik bilgiler ve EEG verilerine göre epileptik nöbetler basitce; parsiyel (nöbet oluşumu korteksin sınırlı bir alanından kaynaklanır), jeneralize (nöbet oluşumundan itibaren senkronize şekilde her iki hemisfere yayılan nöbetlerdir) ve sınıflandırılmayan nöbetler olarak üçe ayrılmıştır (Altay ve Bilir 1999). Ayrıca epilepsi, beyinde tespit edilen bir hasar ya da risk faktörü olmadan ortaya çıkarsa primer epilepsi; nörolojik, sistemik, metabolik, toksik ve ya travmatik nedenlerle ortaya

çıkarsa sekonder epilepsi olarak tanımlanmaktadır (Forsgren ve diğ. 2005). Parsiyel nöbetin tüm kortekse yayılmasıyla sekonder epilepsiler oluşur.

1.1.3. Epilepsi ya da Epileptik Nöbet Modelleri

Epilepsi çalışmaları için ulaşabileceğimiz birçok çeşit hayvan modeli mevcuttur ve bu modeller epileptogenezin altında yatan temel mekanizmaların anlaşılmasına, yeni antiepileptik ilaçların geliştirilmesine katkıda bulunurlar. Nöbet ve epilepsi için hayvan modelleri insan epilepsisiyle ilişkili fizyolojik ve davranışsal değişiklikleri anlamamızda temel bir role sahiptir (Sarkisian 2001). Aşağıdaki tabloda kısmi (parsial) ve jeneralize epilepsi modelleri verilmiştir.



Çizelge 1.2. Parsial ve jeneralize(tonik, tonik-klonik, absans modeller) epilepsi modelleri (Sarkisian 2001).

PARSİYAL		JENERALİZE (tonik, tonik-klonik, absans modeller)				
1)Basit parsial	2)Kompleks Parsial	1)Maksimum elektroşok (MES)				
a)Fokal ya da topikal olarak inhibitör aminoasit blokerlerinin uygulanmasıyla; Penisilin Bikukulin Pikrotoksin Striknin	a)Tetanos toksini	2) Kimyasal konvulsanlar <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: top;"> <tr> <td>Glutamat agonistleri (max. dozlarda) -Domoik asit -Kainat -NMDA</td> <td>GABA antagositleri (max. dozlarda) -PTZ -Pikrotoksin -Bikukulin</td> </tr> <tr> <td>Glutamik asit dekarboksilaz (GAD) inhibitörleri -Thiosemikarbazid -3Merkaptopropionik asit -Alilglisin</td> <td>Diğer ajanlar -Flurotil -Risinin -4-Deoksipridoksin -Teofilin,Striknin vb.</td> </tr> </table>	Glutamat agonistleri (max. dozlarda) -Domoik asit -Kainat -NMDA	GABA antagositleri (max. dozlarda) -PTZ -Pikrotoksin -Bikukulin	Glutamik asit dekarboksilaz (GAD) inhibitörleri -Thiosemikarbazid -3Merkaptopropionik asit -Alilglisin	Diğer ajanlar -Flurotil -Risinin -4-Deoksipridoksin -Teofilin,Striknin vb.
Glutamat agonistleri (max. dozlarda) -Domoik asit -Kainat -NMDA	GABA antagositleri (max. dozlarda) -PTZ -Pikrotoksin -Bikukulin					
Glutamik asit dekarboksilaz (GAD) inhibitörleri -Thiosemikarbazid -3Merkaptopropionik asit -Alilglisin	Diğer ajanlar -Flurotil -Risinin -4-Deoksipridoksin -Teofilin,Striknin vb.					
b)Metallerin kortikal implantasyonu Aluminyum (alumina jel) Kobalt Çinko Demir	b)Kainik asidin sistemik ya da intrahipokampal injeksiyonu	3)Genetik modeller -Fareler -Ratlar GEPRs NODA Flathead (<i>fh/fh</i>) -Diğer hayvan modelleri <i>Drosophila</i> mutantlar Monogolian gerbil Epileptik köpekler - Absans modeller Thalamic stimulation Sistemik düşük dozPTZ Kedilerde sistemik penisilin injeksiyonu Intraserebroventrikular opiatlar CO2 withdrawal nöbetler				
c)akut ya da fokal elektriksel uyarıyla	c)Sistemik domoik asit	-Diğer hayvan modelleri <i>Drosophila</i> mutantlar Monogolian gerbil Epileptik köpekler - Absans modeller Thalamic stimulation Sistemik düşük dozPTZ Kedilerde sistemik penisilin injeksiyonu Intraserebroventrikular opiatlar CO2 withdrawal nöbetler				
d)Eksitator ajanların fokal ya da topikal uygulanmasıyla -Glutamat agonistleri Kainat, domoik asit, NMDA -Asetilkolin agonistleri Pilokarpin(6lithium),soman	d)Pilokarpin ya da somanın sistemik kullanılması	- Absans modeller Thalamic stimulation Sistemik düşük dozPTZ Kedilerde sistemik penisilin injeksiyonu Intraserebroventrikular opiatlar CO2 withdrawal nöbetler				
e)GABA geriçekme	e)Kindling	- Genetik modeller Strasbourg ‘dan Absans ratlar (GAERS) WAG/Rij rats Spontan epileptik rat (SER) Stargazer fare Tottering fare Lethargic fare Yavaş-dalga epilepsili fareler Mocha fare Ducky fare				
f) Kriyojenik hasar	f)Partial nöbet gösteren genetik modeller Otx 2/2 fare Transgenik “jerky” fareler Ihara mutant rat Diğer mutant fareler					

1.1.4. Jeneralize Tonik-Klonik Nöbetler

Jeneralize tonik-klonik nöbetler (JTKN) eskiden beri bilinen ve en korkulan epilepsi formudur. Tüm JTKN’in ortak özellikleri şu şekildedir;

Bilinç kaybı olması, motor hareketlerin ardışık bir sırayla yaygın tonik kas kontraksiyonunu izleyerek klonik kasılmalara dönüşmesi, klinik ve EEG bulgularının simetrik olması (jeneralize terimi buradan gelir), nöbet sonrası dönemde serebral metabolizma ve davranışlarda baskılanma oluşmasıdır.

JTKN'ler; bilateral, simetrik, klinik ve elektrografik belirtileri lokal başlayan bir nöbet aktivitesinin sekonder jeneralizasyonuna bağlı gelişebileceği gibi diğer jeneralize tipte nöbetleri takibinde gelişebilir (miyoklonik ya da absans nöbetler gibi) ya da başlangıçtan itibaren jeneralize olabilir (primer jeneralize). Atakların jeneralize diye adlandırılmasının nedeni elektroensefalografi (EEG) kullanılan çalışmalarda genelleştirilmiş bir elektriksel bozukluk, karmaşa gözlemlendiği içindir. Elektriksel bozukluk tüm beyin üzerinde eş zamanlı olarak açık bir şekilde tüm EEG'lerde oluşmaktadır (Delgado-Escueta ve diğ. 1986). Bu elektriksel bozukluk önce beynin küçük bir kısmında daha sonra dakikalar ya da saniyeler içinde daha geniş alanda gözlenmektedir. Hayvan çalışmalarında jeneralize konvulsif epilepsilerin bir nöronal bağlantıdan daha fazlasının etkinliğiyle doğan ve konvulsiyonun birkaç tipiyle oluşan epilepsi çeşidi olduğu belirtilmiştir. Özellikle korteks ve beyin sapının konvulsiyona sebep olan çeşitli yollarla ilişkili olabileceği ve hatta bağımsız hareket edebilecekleri söylenmektedir. Farmakolojik ajanlar nöronal eksitabilitede spesifik değişiklikler üretebilir ve böylece insandaki olası nörofizyolojik bozuklukların modeli sağlanabilir (Willoughby ve diğ. 1999).

1.1.5. Pentilentetrazol ile Jeneralize Tonik-Klonik Nöbet

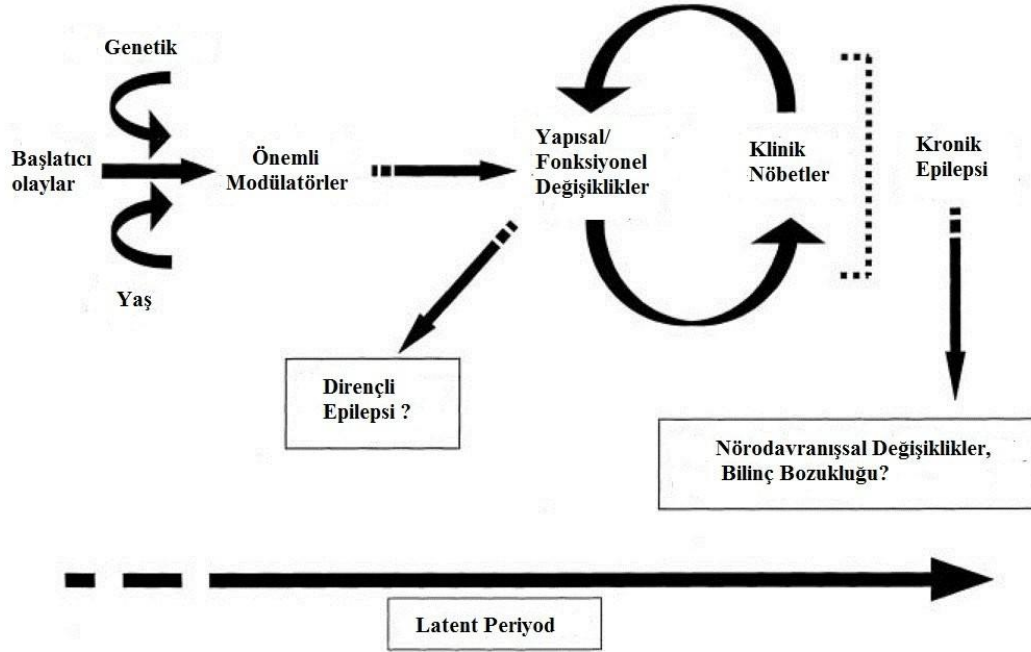
Konvulsif nöbetler, klonik aktivitenin akabinde oluşan tonik arka ayakların ekstansiyon ve fleksiyonu ile karakterize edilen nöbetlerdir (Sarkisian 2001). PTZ (pentilentetrazol) ile uyarılan konvulsif nöbetler hem nöbet hassasiyetinin ölçülmesinde hemde yeni antiepileptik ilaçların gösterilmesinde etkili ve hızlı bir modeldir. Oluşturulan bu modeller nöbetlerle gelen uzun dönem davranış bozukluğu, anormal sinaptik ve nöronal bağlantılar gibi nöbet oluşumunun altında yatan temel mekanizmayı keşfetmek için kullanılmaktadır (Sarkisian 2001).

Pentilentetrazol 60 yıldan daha fazla süredir yeni antiepileptik ilaçların araştırılması ve epileptogenik mekanizmaların anlaşılması için geniş çapta kullanılan konvulsan ajandır (Löscher 2011). Doza ya da veriliş tarzına bağlı olarak farklı epilepsi modeli oluşmasına neden olur. Düşük dozda uzun süre uygulanan PTZ absans benzeri non-konvulsif nöbet oluşumu için kullanılırken (Abdallah 2010), yüksek dozda akut kullanılan PTZ sıçan ya da farelerde tonik-klonik konvulsyonlar üretir (Abdallah 2010). **GABA_A** antagonisti olarak

hareket etmektedir ve aynı zamanda voltaj bağımlı mekanizmalar yoluyla hücre membranının potasyuma olan geçirgenliğinde değiştirmektedir. Çalışmalarda PTZ'nin merkezi GABAerjik fonksiyonu azalttığı gösterilmiştir. GABAerjik sistemin inhibisyonunun konvulsif nöbet oluşumunda süreyi ve devamlılığı artırdığı belirtilmiştir (Corda ve diğ. 1992).

1.1.6. Epileptogenez

Epileptogenez nöronal aktivitenin kontrol dışına çıkması ile ortaya çıkan ve normal bir beyin epileptik olmasına kadar geçen süreçtir. Bu süreçte genetik, yaş, beyin fonksiyonel plastisitesi ve inherent yapılar gibi düzenleyici faktörler kronik ya da dirençli epilepsi sürecini belirlemeye yardımcı olurlar (Giblin ve Blumenfeld 2010). Epileptogenezde oluşan başlangıç hasarından sonra nöronal yollar tekrarlayan spontan epileptik nöbetleri oluşturur ve bu nöbetlerin daha sık meydana gelmesiyle kronik epilepsi oluşur (Rakhade ve Jensen 2009). Giblin ve Blumenfeld bu durumu aşağıdaki gibi şematize etmiştir.



Çizim 1.1. Epileptogenezin Şeması (Giblin ve Blumenfeld 2010).

Uyarılma-inhibisyon dengesini değiştiren herhangi bir değişiklik potansiyel bir epileptogenez mekanizması olarak tanımlanır. Nöronal uyarılmanın aşırı düzeylere çıkması sonucu ortaya çıkan nöbetlerin tetiklenmesi, senkronizasyonu, yayılması ve sonlanması

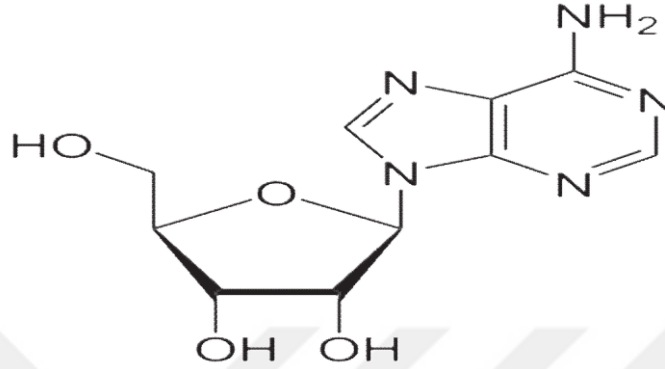
için gerekli olan sinaptik, sinaps dışı ve hücre içi mekanizmaların birbiriyle ilişkili olduğu bilinmektedir. Epileptogenez oluşumu altında yatan mekanizmalar tam olarak bilinmemekle birlikte bu konuda sinaps dışı olaylar, hücre kaybı, değişmiş reseptör yapımı, hücresel düzeyde anatomik değişiklikler, presinaptik sonlanmadaki aşırı uyarılma ve hatalı sinaptogenez gibi birçok mekanizma sorumlu olabilir. Epileptogenez oluşumuyla ilgili moleküler mekanizmalar arasında voltaj bağımlı Na^+ kanallarının aktivasyonu, GABA sentez veya yıkımındaki değişiklikler, hücresel GABA alımının inhibisyonu, başta $GABA_A$ reseptörü olmak üzere çeşitli uyarıcı aminoasit reseptörlerinin modülasyonu ve adenosin metabolizmasındaki düzenlenme ile ortaya çıkan değişikliklerde yer alır. Sonuç olarak, beyin dokusunda nöbet aktivitesinin sürdürülmesi veya inhibisyonunda voltaj bağımlı sodyum kanallarının, GABA ve glutamat sistemlerinin ve adenosin yapımının önemli rolü olduğu önerilmiştir (Bora İ ve diğ. 2008).

Bazı araştırmacılar jeneralize epilepsilerde, beyin sapının retiküler formasyonunda orta hat talamus nükleusları üzerinden yaygın bir girdinin aşırı uyarılmış kortekse taşınması üzerinde durulmaktadır. Bazı araştırmacılar ise tetikleyici bölgenin korteks olduğu ve talamusa yayıldığını savunmaktadır. Ayrıca dinlenim membran potansiyelinin bozulmasına neden olan primer bir nöronal membran defekti üzerinde durulmakta ve buna neden olan mekanizmalar arasında potasyum iletimindeki bozukluk, voltaj duyarlı kalsiyum kanallarında defekt ve ya ATPaz'a bağlı iyon transportunda bozukluklar yer almaktadır. GABAerjik inhibitör sistemlerindeki defekt ve eksitatör nörotransmisyonunda rol alan reseptörlerin düzenlenmesi ile ilişkili olası defektler üzerinde de durulmaktadır (Tilek 2014).

1.2. Adenosin ve Yapısı

Adenosin birçok fizyolojik prosesleri özellikle kalp ve beyin gibi uyarılabilir dokulardaki prosesleri düzenleyen 'pürinerjik mesajcı' dır. Adenosin ya uyarılabilir dokuların aktivitesini azaltır (Ör; kalp hızının yavaşlaması) ya da metabolik maddelerin dağıtımını artırır (vazodilatasyonu uyararak) ve böylece enerji kaynağı ile enerji harcanmasının oranı arasında bir eşitlik oluşturulur (Dunwiddie ve Masino 2001). Bunun yanı sıra adenosin interselüler haberci olarak çeşitli roller oynar. Bu durum özellikle yüksek konsantrasyonlar da adenosin reseptörlerinin eksprese olduğu beyinde; hem normal hemde patofizyolojik proseslerde gösterilmiştir. Örneğin uykunun düzenlenmesi, uyarılma, nörokoruma ve epilepsi gibi (Dunwiddie ve Masino 2001).

Adenozin reseptörlerinin sınıfındaki temel agonist olduğu için bu ismi almaktadır. Adenozin çok yüksek miktarda verildiği zaman intraselüler nükleotid havuzunu etkileyebilir hatta metabolize olabilen enerji kaynağı sağlayabilir.



Çizim 1.2.1. Adenozinin moleküler yapısı

Ekstraselüler adenozin seviyesini düzenleyen mekanizmalar bulunmaktadır. Normalde adenozin intraselüler ve ekstraselüler olarak sürekli oluşturulur. İntraselüler üretimi ya defosforile AMP olan 5' nükleosit ya da S-adenozil-homosisteinin hidrolizi tarafından üretilir. İntraselüler olarak üretilen adenozin kolaylaştırılmış difüzyonla ekstraselüler alana taşınır. Ekstraselüler alanda adenozin miktarı yükseldiğinde ise transporterlar aracılığıyla hücre içine taşınır (Fredholm ve diğ. 2001). Yani ekstraselüler ve intraselüler alandaki adenozin için bir denge vardır.

1.2.1. Adenozin Reseptörleri

Adenozin reseptörleri (AR) çok yoğun çalışılmıştır ve insanoğlu dahil olmak üzere çeşitli türlerde dört farklı reseptör alt tipi: A1AR, A2aAR, A2bAR ve A3AR klonlanmıştır. Reseptörlerin tüm alt tipleri vücut boyunca yayılmıştır. AR agonist ve antagonistlerinin potansiyel terapötik yarara sahip oldukları bilinmektedir (Olah ve Stiles 1995). Adenozin reseptörlerinin tümü G-proteinine kenetli reseptörlerdir ve çeşitli taşıma mekanizmalarıyla ilişkilidirler. G proteinleri (guanin nükleotid-bağlayıcı proteinler) hücrenin dışından gelen sinyalleri hücre içine ileten ve hücre içinde değişiklikler oluşturan bir protein ailesidir. G proteinleri heterotrimerik G proteinleri ve ufak G proteinleri şeklinde iki aileye ayrılmıştır. Daha sonra alfa (α), beta (β) ve gama (γ) alt ünitelerine, ek olarak da β - γ kompleksi üniteleri belirtilmiştir. Adenozin reseptörleri heterotrimerik G proteinleri ($G_s\alpha$ (G stimulan), $G_i\alpha$ (G inhibitör) gibi) ile kenetlenmiştir. G proteinlerinin aktivasyonu sonrası, enzimler ve iyon kanalları etkilenir.

G-proteinleri reseptörden aldıkları sinyalleri kenetli oldukları efektör proteinlere aktarırlar. G_s cAMP-bağımlı-yolu ATP'den cAMP üretimini arttırarak etkinleştirir ve böylece hücre içi cAMP sentezi artmış olur. Bu doğrudan zarla ilişkili olan adenilat siklaz enziminin uyarılmasıyla olur. cAMP bir ikinci ulak gibi etki ederek protein kinaz A (PKA)'yı uyarır. PKA daha sonra diğer yolları etkinleştirir. G_i ATP'den cAMP üretimini inhibe ederek hücre içi cAMP miktarının azalmasına neden olur (Kukkonen ve diğ. 2001).

A2a ve A2b reseptörleri G proteinlerinin G_s'i üyeleriyle, A1 ve A3 reseptörleri ise Gi/o protein ailesi üyeleriyle ilişkilidir (Fredholm ve diğ. 2001). Aynı zamanda bir adozin reseptörü birden fazla G protein ile kenetlenebilir genelde bu durum transfeksiyondan sonra yaygın olarak görülmektedir. HEK 293 hücreleri, insan HMC-1 mast hücreleri ve köpek BR mast hücrelerinin endojen A2b reseptörleri G_s ve G_q ile ikili bir şekilde kenetlenmiş haldedir (Auchampach ve diğ.1997, Linden ve diğ. 1999).

Çizelge 1.2.1. Adozin reseptörlerinin agonist ve antagonistleri ile dokulardaki fonksiyonları belirtilmiştir (Fredholm ve diğ. 2001, Dunwiddie ve Masino 2001).

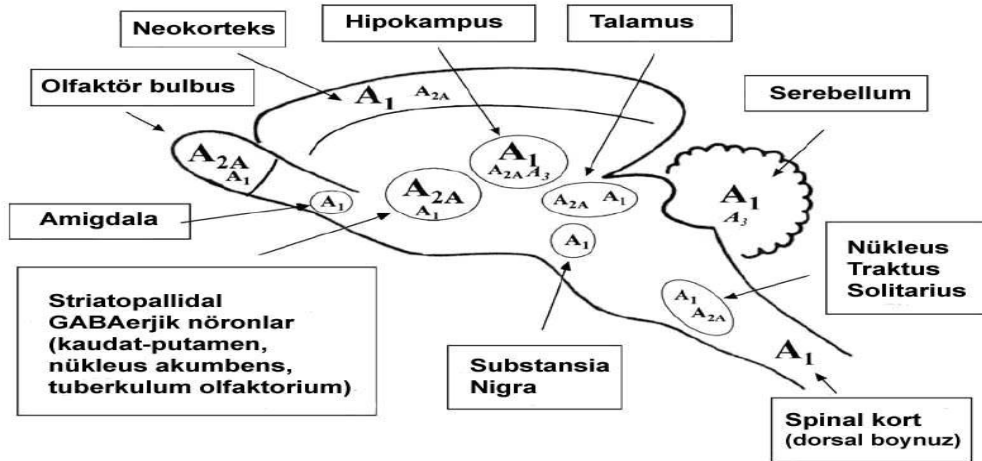
Reseptör	A1	A2a	A2b	A3
Selektif agonistleri	CPA, CCPA, CHA	CGS 21680, HENECA, CV-1808, CV-1674, ATL146e	Yok	CI-IB-MECA
Selektif antagonistleri	DPCPX, 8-cyclopentyl-theofilin (CPT), WRC0571	Selektif; SCH 58261 Orta selektif; ZM241385, KF17387, CSC	MRS1754, enprofilin	MRS1220, MRE3008-F20, MRS 1191 MRS 1523
Dokudaki fonksiyonları	Bradikardi, lipoliz inhibisyonu, glomerüler filtrasyon azalır, tubero-glomerüler geribildirim, antinosisepsiyon, sempatik ve parasempatik aktivitenin azaltılması, presinaptik inhibisyon, nöronal hiperpolarizasyon	Bazal gangliyonlarda sensorimotor entegrasyonun düzenlenmesi, Trombosit agregasyonunun ve polimorfonükleer lökositlerin inhibisyonu, Vazodilatasyon, İskemik hasara karşı koruma, duyuşal sinir aktivitesinin uyarılması	Damar ve bağırsak düz kasların gevşemesi, Monosit ve makrofaj fonksiyonu inhibisyonu, Mast hücresi mediatör salınımının uyarılması(bazı türlerde)	Mast hücrelerinden salınan mediatörlerin artması(bazı türlerde), önkoşullanma(bazı türlerde)
Beyindeki fizyolojik işlevi	Sinaptik taşınımı inhibe etmek Nöronları hiperpolarize etmek	Transmitter salınımını kolaylaştırmak Transmitter salınımını inhibe etmek	Beyin kesitlerinde cAMP'deki artış Ca^{2+} kanal fonksiyonunun düzenlenmesi(?)	Eşleşmemiş A1, mGlu reseptörleri

A1 reseptörü beyinde en bol bulunan adenozin reseptörüdür. A1 reseptörleri adenilat siklazın inhibisyonuna aracılık ederler ve potasyum (K^+) kanallarının birkaç tipinin aktivasyonunu (muhtemelen β ve γ -alt birimleri yoluyla) (Trussell ve Jackson 1985, Klotz ve diğ.2000) ve N-, P-, ve Q-tipi Ca^{+2} kanallarının inaktivasyonunu (MacDonald ve diğ. 1986, Klotz ve diğ.2000) sağlayarak nöronal aktiviteyi inhibe etmektedir. Bunlar A3 reseptörleri içinde geçerlidir (Klotz ve diğ.2000). A2a reseptörü beyinin sadece birkaç bölgesinde yüksek seviyede eksprese edilir ve primer olarak adenil siklazın aktivasyonu ile bağlantılıdır. Lokomotor aktivitenin uyarılmasında A2a etkisi primer olsa da (Ongini 1997, El Yacoubi ve diğ. 2000), hem A1 hem de A2a reseptör antagonizmi, en azından rodentlerde, adenozin reseptör antagonistlerinin uyarıcı etkilerinden sorumludur (Marston ve diğ. 1998) . A2b reseptörleri adenil siklazı aktive ederler. Beyinde bol buldukları düşünülmektedir fakat A2b'ye spesifik agonist ve antagonistin azlığından dolayı spesifik fizyolojik ve davranışsal cevaplarda bu reseptöre bağlanmak zordur. Önceleri diğer reseptörlerle karşılaştırıldığında A2b'nin adenozine düşük afinitesinden dolayı, sıklıkla A2a reseptörünün düşük afiniteli bir versiyonu olarak düşünülürdü ve daha az fizyolojik öneme sahipti. Son çalışmalarda A2a reseptöründen farklı rollere sahip olduğu görülmüştür ve tekrardan üzerine yoğunlaşmıştır. A2b reseptörlerinin mast hücre aktivasyonu ve astım, vazodilatasyon, hücre büyümesinin düzenlenmesi, intestinal fonksiyon ve nörosekresyonun düzenlenmesinde rol oynadığı belirtilmiştir (Feoktistov ve Biaggioni 1997). A3 reseptörleri ise insan vücudunda çoğu dokuda yüksek afiniteli olmasına karşın düşük yoğunlukta bulunmaktadır (Ribeiro ve diğ. 2002). İnsanda A3R serebellum, hipokampus ve orta beynin diğer bölgelerinde düşük düzeyde ekspresyona sahiptir (Fredholm ve diğ. 2001). Genel olarak reseptörlerin mRNA ekspresyonlarına göre dağılımı tabloda gösterilmiştir.

Çizelge 1.2.2. Adenozin reseptörlerinin dağılımının özetidir (Fredholm ve diğ. 2001)

A ₁ Reseptörü	A _{2A} Reseptörü	A _{2B} Reseptörü	A ₃ Reseptörü
Yüksek ekspresyon	Yüksek ekspresyon	Yüksek ekspresyon	Yüksek ekspresyon
Beyin (korteks, serebellum, hipokampus), spinal kordun dorsal boynuzu, göz, adrenal bez, atrium	Dalak, timus, lökosit (lenfositler ve granüositler her ikisi de), kan plateletleri. Striatopallidal GABAerjik nöronlar (Kaudat-putamen, nükleus akumbens, tüberkülüm olfaktoriumdaki), olfaktör bulb	Çekum, kolon, mesane	Testis (sıçan), mast hücreleri (sıçan)
Orta seviyede	Orta seviyede	Orta seviyede	Orta seviyede
Diğer beyin bölgeleri. İskelet kası, karaciğer, böbrek, yağ dokusu, tükürük bezleri, yemek borusu, kolon, antrum, testis	Kalp, akciğer, kan damarları	Akciğer, kan damarları, göz, median eminence, mast hücreleri	Beyincik (insan?), Hipokampus (insan?), Akciğer, dalak (koyun), epifiz
Düşük seviyede	Düşük seviyede	Düşük seviyede	Düşük seviyede
Akciğer(fakat bronşlarda daha yüksek), pankreas	Diğer beyin bölgeleri	Adipoz doku, adrenal bez, beyin, böbrek, karaciğer, yumurtalık, hipofiz bezi	Tiroid, beyinin çoğu kısmı, adrenal bez, dalak (insan), karaciğer, böbrek, kalp, bağırsak, testis (insan)

Ayrıca çeşitli beyin bölgelerinde ki adenozin reseptör dağılımı aşağıdaki gibi şematize edilmiştir.



Çizim 1.2.2. MSS'nin belirli bölgelerinde adenozin reseptörlerinin dağılımını göstermektedir. Ekspresyonu yüksek seviyede olanlar büyük harflerle gösterilmiştir (Ribeiro ve diğ. 2002)

Adenozinin klasik tarzda Ca^{+2} 'ye bağılı salınımı ya da vezikülde depolandığıyla ilgili bilgi ve sinapslarda adenozinin primer transmitter olduğuna dair kanıt yoktur (Dunwiddie ve Masino 2001). Bununla birlikte, A1 reseptörleri kısmen her klasik nörotransmitterin salınımının inhibisyonuyla bağlantılıdır (glutamat, GABA, asetilkolin, nörepinefrin, 5-hidroksitriptamin, dopamin ve diğer transmitterlerde). En belirgin inhibitör işlemi genellikle uyarıcı glutamaterjik sistemler üzerinedir (Dunwiddie & Hoffer 1980, Kocsis ve ark.1984), ki burada sinaptik iletim genellikle adenozin tarafından tamamen bloke edilebilir. İnhibitör sistemlerin (örn GABA) inhibitör modülasyonu daha az sıklıkla gözlemlenmiştir, böylece hemen hemen tüm beyin bölgelerindeki adenozin reseptör aktivitesinin net etkisi uyarılabilirliği azaltmaktır. Transmitter salınımında inhibitör modülasyon mekanizması kapsamlı olarak çalışılmış ve sinir sonlarında Ca^{+2} kanallarının G-proteini ile kenetlenerek inhibe olduğu belirtilmiştir, ancak bu hala tartışma halindedir. Adenozin aynı zamanda spontan olarak Ca^{+2} 'den bağımsız bir şekilde nörotransmitterlerin salınımını inhibe edebildiğinden dolayı diğer mekanizmalarında bu etkiye katkıda bulunabileceği düşünülmektedir (Scanziani ve diğ. 1992). Fakat fizyolojik koşullar altında primer inhibitör mekanizması Ca^{+2} akışının inhibisyonuyla gerçekleşmektedir (Fredholm ve Dunwiddie 1988, Wu ve Saggau 1997). Adenozin reseptörleri aynı zaman da nörotransmitter salınımını artırabilir (Cunha ve diğ. 1994), fakat baskın olan durum nörotransmitter salınımının inhibisyonudur. A1 reseptörlerinin başka bir majör eylemi G-protein bağımlı içe düzeltici Potasyum Kanalları (GIRKs) aktivasyonu yoluyla dinlenim membran potansiyelinin hiperpolarizasyonuna aracılık etmektir (Dunwiddie ve Masino 2001). Bu kanallar K^{+} iyonunun hücre dışına değil de hücre içine akımını sağlayarak hiperpolarizasyona sebep olur.

1.2.2. Adenozinin Fizyolojideki Rolü

Adenozin uykuya teşvik ve uykuyu sürdürmek, uyarılmanın genel durumunu aynı zamanda lokal nöronal uyarılabilirliği düzenlemek gibi normal fizyolojide birçok farklı rollere sahiptir. Selektif adenozin antagonistleri adenozinin bu rollerini açığa çıkarmak için kullanılmaktadır.

Adenozin uyku homeostazisi ve uykuyla ilişkili bilinç performansında anahtar role sahiptir (Benington ve diğ. 1995, Boison ve Aronica 2015). Basal önbeyin aracılı mekanizmalar yoluyla A1R agonisti uykuyu uyarırken antagonist uykuyu baskılamaktadır (Boison ve Aronica 2015). Benzer şekilde, A2AR agonistinin intraserebroventriküler

infüzyonu uykuyu artırırken, A2AR knockout farelerde aynı ilacın etkisinin olmadığı gösterilmiştir (Urade ve diğ. 2003). Adenozinin uykuda rol oynadığıyla ilgili bazı çalışmalarda; kedilerin bazal ön beyinde mikrodiyaliz kullanılarak endojen adenozinin direk ölçümü yapılmış ve uzun süreli uyanıklık boyunca adenozin seviyesinin arttığı, ardından uyumasına müsaade edildiğinde ise uyku ile adenozin seviyesinin azaldığı gösterilmiştir (Porkka-Heiskanen ve diğ. 1997, Porkka-Heiskanen 1999). Hipokampüste endojen adenozin ve davranış durumu arasındaki benzer bir ilişkinin varlığı gösterilmiştir (Huston ve diğ. 1996). Adenozin reseptörlerini kapsayan farmakolojik manipülasyonlarda adenozin agonistlerinin genelde uykuya teşvik ederken (Portas ve diğ.1997), antagonistlerinde uykuyu azalttığı gösterilmiştir (Lin ve diğ. 1997).

Adenozin serebral kan akışının otoregülasyonunda rol alır. Adenozin antagonistleri vazokonstrüksiyona neden olurken endojen adenozin bunu geri çevirerek vazodilatasyon sağlar. Buna göre herhangi bir uyarı nöronlardan ya da gliadan ek adenozin salınımını sağlayarak vazodilatasyonu uyaracaktır. İskemi gibi durumlar boyunca adenozin salınımındaki artış serebral kan akışını artırır ve iskeminin etkisini düzeltebilir (Dunwiddie ve Masino2001).

Adenozin her ne kadar klasik bir nörotransmitter olarak görünmese de retrograd bir sinaptik haberci olarak işlev yaptığına dair bazı çalışmalar vardır. Eğer tek bir nörona patch pipetle adenozin yüklenirse, hücreden dışarıya akan adenozinin bulunduğu hücrenin sinaptik girdilerini önemli bir şekilde inhibe etmeye yeterken, hücrenin komşu hücrelerle sinaptik iletişimini etkilemediği gösterilmiştir (Brundege ve Dunwiddie 1996).

1.2.3. Adenozinin Patofizyolojideki Rolü

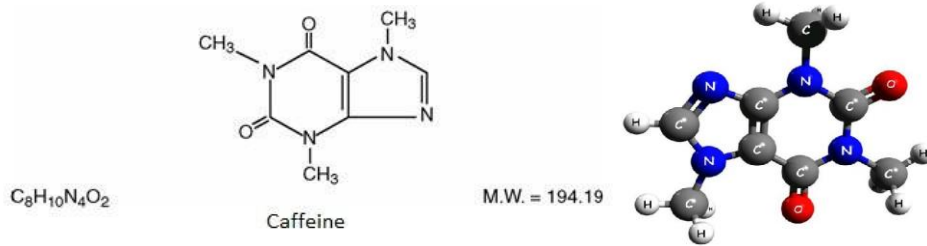
Patolojik bir uyarı ile adenozinin beyindeki ekstraselüler konsantrasyonu önemli şekilde artar ve bu artış nörokoruyucu etki göstermektedir. Aynı zamanda akut protektif etkilerde sahiptir, adenozin reseptörlerinin geçici aktivasyonu hipoksi ve iskemik olaylardan sonra uyarılan zarara karşı koruma sağlar. Bu durum ön koşullanmadır ve hem beyinde hem de uyarılabilir dokularda oluşur (Miura ve Tsuchida 1999). Adenozinin nörokoruyucu etkisi primer olarak A1 reseptör aktivasyonu ile gerçekleşir ve en az üç hücresel mekanizmayı kapsar. Bu mekanizmalar da adenozinin işlevi; güçlü bir şekilde transmitter salınımını özellikle glutamat salınımını inhibe etmek, nöronların hiperpolarizasyonu sağlamak ve direk bir şekilde kalsiyum kanallarının belirli çeşitlerinin inhibe edilmesine katkıda bulunmaktır. Tüm bu işlemler eksitotoksik zararda anahtar rolü olduğu düşünülen Ca^{+2} girişini sınırlayarak ve metabolik talebi azaltarak (bu olay hücrenin dışına Ca^{+2}

pompalamak için gerekli olan ATP depolarını korumaya yardım eder) eksitotoksisiteyi azaltabilmektedir. Koruyucu etkiye adenezine afinitesi olan diğer reseptörlerde (A3) katkıda bulunabilmektedir (Dunwiddie ve Masino 2001).

A2a reseptörü ise iskemik doku zararına katkıda bulunmaktadır. A2a reseptörü eksik farelerde yapılan bir çalışmada fokal iskemiden sonra beyin hasarında azalma gösterilmiştir (Chen ve diğ. 1999). A2a reseptörlerinin ağrının düzenlenmesinde, platelet agregasyonunun inhibisyonunda ve kan basıncının düzenlenmesinde rolü olduğu gösterilmiştir (Ledent ve diğ. 1997). Bunların yanında adenezinin psikoza etkili olabileceği belirtilmiştir. Presinaptik A1R aktivasyonun azalması dopamin artmasını tetikler (Borycz ve diğ. 2007) ve bu durum basal dopamin D2 reseptörünün aktivitesinin artmasına sebep olur buda psikoza tetikler (Seeman ve Kapur 2000) . Aynı zamanda bazal gangliyondaki adenezin, dopamin ve adenezin reseptörleri arasında oluşan kompleksler boyunca dopaminerjik sinyalleri modüle etmektedir (Fuxe ve diğ. 2007).

1.2.4. Kafein

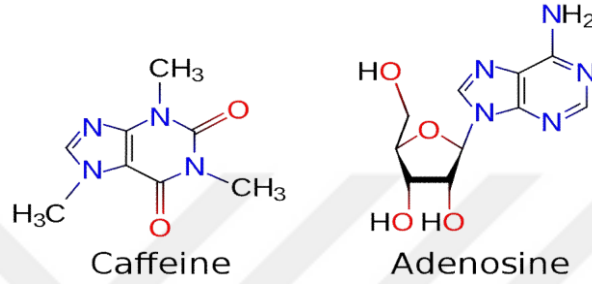
Kafein (1,3,7-trimethylxanthine) pürin alkaloid grubuna ait olan en yaygın ve geniş şekilde kullanılan psikoaktif maddedir. Kahve, ay gibi içeceklerde ve birçok alkolsüz içecekte aynı zamanda çikolata ürünlerinde ve kurutulmuş hindistan cevizinde bulunmaktadır (Butt ve Sultan 2011). Sistemik ismi 1,3,7-Trimethylpurine-2,6-dione ya da 3,7-dihydro-1,3,7-trimethyl-1H-purine-2,6'dır. Kafein geniş çapta tüketilen sinir sistemi uyaranıdır (Nehlig ve diğ. 1992).



Çizim 1.2.3. Kafeinin kimyasal ve moleküler yapısı

Yapısal olarak adenezine benzemekte olan endojen bir nöromodülatör olan kafein, A1 ve A2 reseptörlerinin non-selektif antagonisti olmakla beraber iki reseptör üzerinde hemen hemen eşit etkiye sahiptir ve inflamasyonun düzenlenmesi boyunca koruma sağlar. Kafein diğer adenezin reseptör blokerlerinden daha etkilidir, ayrıca yüksek dozda kullanıldığında periferel adenezin reseptörlerini de bloke edebilmektedir. Kafein mikroglia üzerindeki

adenozin reseptörlerini bloklayarak mikroglanın aktivasyonunu direk azaltmaktadır. A1 ve A2 reseptörleri glutamatın presinaptik salınımını düzenler böylece kafein adenzin reseptörünün glutamat salınımını düzenlemesi yoluyla nöro-inflamasyonu azaltabilir. Epilepsili deney modellerinde kafeini kronik kullanımının nörokoruyucu etki sağladığı, tek yüksek dozda akut kullanımının ters etkiye sahip olduğu belirtilmektedir (Souza vd. 2013).



Çizim 1.2.4. Kafein ve adenzinin moleküler gösterimi

Kahve ya da çay içtikten sonra kafein tüm organlarımıza ve neredeyse tüm hücrelerimize kan ile dakikalar içinde taşınır. Çünkü kafein yağda çözülebilir ve kolaylıkla tüm hücre membranlarından geçebilir. Bağırsaklardan ve mideden hızlıca ve tamamen absorbe olarak kana geçer böylece tüm organlara taşınır. Kafein, hemen hemen her vücut sistemini etkileyen bir nörotransmitter olan adenzin aktivitesini bloke ederek etki gösterir. Sinir hücresinde adenzin gibi görünerek adenzin reseptörüne bağlanır. Adenzin birincil eylemlerden biri bizi yorgun ya da uykulu yapmak olduğundan, kafein adenzin alımını bloke ederek yorgunluk hissini azaltır. Bunun sonucunda kafein adenzinin normal bir şekilde bağlandığı tüm reseptörlere bağlandığı için hücre artık adenzin molekülünü tanıyamaz. Adenzinin etkisinden dolayı hücrenin yavaşlaması yerine sinirsel aktivite artış gösterir.

1.2.5. Epilepside Adenzin ve Kafein

Adenzin nörokoruyucu ve antikonvulsan özellikleri ile beyin aktivitesinin endojen inhibitör modülatörüdür. Nöbet tutulması ve postiktal refraktörden sorumludur (Boison 2012). Adenzinin koruyucu fonksiyonunun çoğu A1 reseptör aktivasyonu aracılığıyla oluşur. A1 reseptörleri çoğunlukla nöbet oluşması ve yayılmasını engeller (Szybala ve diğ. 2009). Eksojen olarak adenzin reseptör agonistlerinin kullanımının nöbet aktivitesini azalttığını antagonistler ise prokonvulsan bir etki gösterdiği belirtilmiştir (Dunwiddie ve

Masino 2001). Nöbet aktivitesi boyunca endojen adenzinin miktarı belirli bir şekilde arttığı için, adenzin bir endojen antikonvulsan olarak fonksiyon gösterir (Dragunow 1988) ve antikonvulsif etkisine primer olarak A1 reseptörleri aracılık eder (Murray ve diğ.1992, Zhang ve diğ.1994). DBA/2 ırkı farelerdeki endojenik nöbetler hem A1 hem de A2A reseptör agonistleri tarafından baskılanmış ve her bir reseptör alt tipinin selektif antagonistleri ise nöbet oluşumuna teşvik etmiştir (De Sarro ve diğ. 1999). A1 reseptörlerinde adenzinin akut antikonvulsan etkisinin yanında, insan ve sıçanın epileptik dokularında A1 reseptörlerinde kronik bir azalma bulunmuştur (Ochiishi ve diğ.1999, Glass ve diğ. 1996).

Endojen adenzin artışı epileptik nöbetleri hatta ilaçlara direnç gösteren epilepsileri bile baskılamak için güçlü bir stratejdir (Boison ve Aronica 2015). Endojen adenzin bağımlı kontrol mekanizmalarında oluşan bozulmanın epileptik nöbetlerin oluşması için direk bir sebep olabileceğinden bahsedilmektedir (Boison ve Aronica 2015). Uygulanan adenzin takviyesinin epilepsinin çeşitli sıçan modellerinde epileptik nöbetleri baskıladığı gösterilmiştir (Boison ve diğ. 2002). Fokal implant ya da hücre bazlı adenzin takviyesinin iki türdeki (fare ve sıçan) üç farklı temporal lob epilepsi nöbetlerini engellediği söylenmiştir (Boison ve Aronica 2015). Adenzin uygulanmasının TLE'nin intrahipokampal kainik asit modelindeki karbamazepine dirençli nöbetleri baskıladığı gösterilmiştir (Gouder ve diğ 2003). Adenzin, A2a reseptörü aracılığıyla nöroinflamasyon sırasında mikroglialdan salınan TNF- α üretimini baskıladığı gösterilmiştir (Newell ve diğ. 2015). WAG/Rij'lerde adenzinin periferal kullanımının absans epileptik nöbet frekansında belirli bir artışa sebep olduğu gösterilmiştir (Ilbay ve diğ.2001). Ayrıca adenzinle ilgili yapılan bir başka çalışmada invitro serebral korteksin nöronlarından GABA salınımını inhibe ettiği gösterilmiştir (Hollins ve Stone 1980).

Kafeinin tek doz kullanılmasındansa uzun dönem kullanılmasının yetişkin erkek Wistarlarda EEG ile kaydedilen sonuçlara ve davranışsal analizlere göre PTZ ile uyarılmış nöbet süresini azalttığı, akut kullanımının (6mg/kg) ise nöbetleri etkilemediği ve oksidatif stresi azaltmadığı gösterilmiştir (Souza ve diğ. 2013). Ayrıca absans epilepsili ratlarda kronik kafein kullanımının nöbet ekspresyonunu etkilemediği, nöbet durumlarında kafeinin akut ve kronik kullanımının konvulsif ve non-konvulsif nöbette zıt etkili olduğu gösterilmiştir. Düşük dozlarda akut kafeine maruz kalmak GAERS'lerde DDD'nin ekspresyonunu azaltmıştır (Germé ve diğ. 2015). Konvulsif nöbetlerin farklı yetişkin rat modellerinde, tekrarlayan kafein kullanımının nöbet uyarılabilirliği üzerine etkisinin uyarılabilirliği azaltma şeklinde olduğu gösterilmiştir. Ayrıca kafeinin gelişme çağındaki

ratlarda nöbet eşik değerinde ki azalmayı geciktirebileceği söylenmiştir. Bunun spesifik beyin yapılarında adenozin1 reseptör yoğunluğundaki artışla ilişkili olabileceği düşünülmektedir (Guillet ve Dunham 1995, Holloway 1982, Hughes ve Beveridge 1990, Guillet 1995). Wistar ratlara yüksek doz kafeinin 60 ve 80 mg/kg/akut/i.p uygulanmasından 15 ve 30 dk sonra PTZ nöbet eşik değerinde bir değişiklik olmadığı ve prokonvulsant etki göstermediği belirtilmiştir (Bankstahl ve diğ. 2012). Kafein A1R'i bloklayarak cAMP üretimini artırdığı ve kordon kanı monositleri tarafından pretranskripsiyonal TNF- α üretimini inhibe ettiği gösterilmiştir (Chavez-Valdez ve diğ. 2009).

1.3. Sitokinler

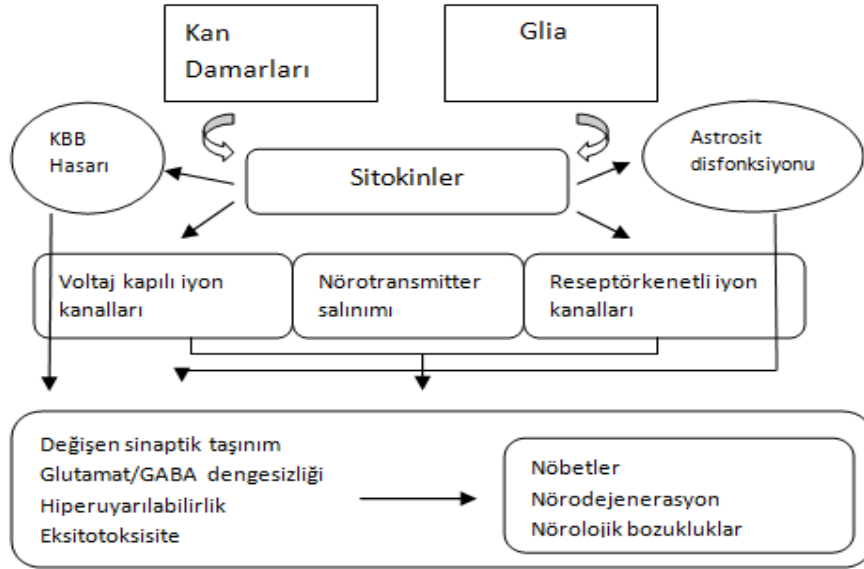
Epilepsinin patolojisi tamamen anlaşılmamakla birlikte toplanan kanıtlara göre epilepsi ve inflamasyon arasında bir bağlantı olduğu düşünülmektedir (de Vries ve diğ. 2016). Epilepsili hastalarda ve deneysel epilepsi modellerinde inflamasyon süreci; mikroglia ve astrositin aktivasyonu ile proinflamatuvar sitokinler ve ilişkili moleküllerin üretilmesi şeklinde devam eden bir süreç olarak tanımlanmıştır (Choi ve Koh 2008). Ayrıca inflamasyona genetik duyarlılık epilepsi riskinin artmasına katkıda bulunur. Bu durum inflamasyonun epileptogeneze katkıda bulunabileceği ve epilepside nöronal yaralanmaya neden olabileceğiyle ilgili hipotezleri desteklemektedir (Choi ve Koh 2008).

Sitokinler hücre büyümesi, aktivasyon, farklılaşım ve inflamatuvar cevaba katkıda bulunan çözümlü proteinlerdir (Commins ve diğ. 2010). Endotelyum, lenfositler, astrositler, mikroglia ve nöronları kapsayan birçok hücre tarafından salgılanan küçük sinyal molekülleridir. Başlıca TNF, IL, IFN ve kemokinler şeklinde sınıflandırılmıştır (Griffith ve diğ. 2014; Williams ve diğ 2014).

Sitokinler bağışıklık ve inflamatuvar yanıtları yönetir ve lökositlerin kendi aralarında ve diğer hücrelerle iletişimini sağlar (Abbas 2014). Reseptörleri ise serebellum, korteks, hipokampus, hipotalamus, talamus ve nukleus akkumbenste bulunurlar (Arisi 2014). Kemokinler ise immün ve non-immün hücrelerin göçünü uyaran ve MSS'nin homeostatik fonksiyonunun sürdürülmesinde önemli rol oynayan kemotaktik sitokinlerdir (Griffith ve diğ. 2014; Williams ve diğ 2014). Sitokin ve kemokinler insan fütal gelişimi boyunca astrosit ve mikroglia hücrelerinden salınırlar ve MSS'nin gelişmesinde önemli oldukları düşünülmektedir. Uyarılmamış yetişkin insan beyinde mikroglia hücreleri IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-15, TNF, CCL2, CCL3, ve CCL4'ü eksprese ederler.

Astrosit ve mikroglia beynin mikroçevresinin homeostazını sürdürmesini sağlamaktadırlar. Bu hücreler nöromodülatör fonksiyonu olan gliotransmitterler salgırlar. Beyin yaralandığında astrosit ve mikroglia fizyolojik olarak aktiflenir ve büyüme faktörleri salarak, ekstraselüler iyon ve glutamatı tamponlayıp dokunun iyileşmesine katkıda bulunurlar. Buna karşın, eğer kontrolsüz bir şekilde aşırı aktive olurlarsa reaktif oksijen ve nitrojen gibi toksik mediatörler salgırlar ve mikroçevrenin homeostatik özelliği kaybolur, böylece doku bozulmasına ve hasarına katkıda bulunmuş olurlar (Ravizza ve diğ. 2013).

Sitokinler fizyolojik durumlarda sinir sisteminde düşük miktarda bulunur. Fakat patolojik durumlarda onların miktarı bazal konsantrasyonlarının yüzlerce katına kadar çıkabilmektedir (Arisi 2014). Patolojik durumlar da kemokin üretimi artmakta ve sitokinler mikroglia hücreleri ve astrositler tarafından sentezlenerek beynin koruma mekanizmasında görev almaktadırlar. Son beyin çalışmalarında pro-inflamatuar sitokin üretimi için beyin ve glial hücrelerinin (mikroglia ve astrositler) önemli bir etkisi olduğu gösterilmiştir (Barres 2008, Michell ve diğ. 2015). Nöronal uyarılabilirlik ve karakteristik bağlantılarda sitokin değişikliğiyle ilgili çalışmaların potansiyel hedeflenen bir tedavi olabileceği önerilmektedir (Vezzani ve Viviani 2015).



Çizim 1.4.1. Sinir sisteminde sitokin seviyesinin artmasıyla provoke olan patolojik olayların kaskadını göstermektedir (Vezzani ve Viviani 2015).

Sitokinler glialar tarafından sentezlenir ve salgılanırlar aynı zaman da kan immun hücreleri ile özellikle KBB’de patolojik bir durum söz konusu olduğunda sinir dokusuna geçiş gösterebilirler. Hem glialar hem de KBB bozukluğu ile aşırı yükselen sitokin

seviyelerinin nöronal canlılık ve ekstabillite üzerine etkisi olabilir. Bunların yanında nöronal reseptörler aktiflelenerek, voltaj kapılı kanalları ve reseptör-aracılı iyon kanalları ile sitokinlerin fizyolojik seviyesini ve presinaptik nörotransmitter salınımını modüle edebilirler. Nöronlardaki sitokin reseptörlerinin aşırı aktivasyonu nöronal hücre kaybına, nörolojik eksikliklere ve nöbetlere katkıda bulunarak aşırı uyarılabilirliğe ve eksitotoksisteye sebep olabilir (Vezzani ve Viviani 2015). Bu durum çizim 1.4.1'de şematize edilmiştir.

Farklı epilepsi sendromları ve inflamasyon arasındaki bağlantıda, epileptik beyindeki inflamasyonun kan-beyin bariyerinin (KBB) geçirgenliğinde artışa neden olduğu böylece nöronal eksitabilitede artışa yol açtığı söylenmektedir (de Vries ve diğ. 2016). Birçok inflamatuvar proteinin kan beyin bariyerinden taşınabildiği ve epilepsili hastalarda sık sık KBB'nin bozulduğu bilinmektedir (Friedman ve Heinemann 2010, de Vries ve diğ. 2016). Multiple sklerozis lezyonlarında kan beyin bariyeri endotel hücrelerinde ve invivoda IL-17 ve IL-22'nin KBB'nin bozulmasında katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Kebir ve diğ. 2007).

Jeneralize konvulsif epilepsi nöbetlerinden sonra hastaların serum ve serebrospinal sıvılarında (CSF) herhangi bir infeksiyon olmadığı halde akut inflamasyon reaksiyonunun gözlemlenmiş olması epilepsi ve inflamasyon arasında bir ilişki olduğuyla ilgili şüpheler uyandırmıştır (Choi ve Koh 2008). Bu kapsamda MSS'i hastalık etiyopatogenezinde inflamasyonun rolü geniş çaplı olarak araştırılmaktadır. Ayrıca Serebral iskemi, Multiple sclerosis, Parkinson, Alzheimer ve travmatik beyin yaralanmaları gibi birçok nörolojik bozukluklarda serum inflamatuvar mediatörlerinin yükseldiği bulunmuştur (de Vries ve diğ. 2016).

1.3.1. Tümör Nekrozis Faktör (TNF)

TNF 185 aminoasitlik bir glikoprotein hormonudur, ancak bazı hücreler daha uzun veya daha kısa izoformlarını salgılayabilir. İnsanlarda 7. kromozomda kodlanmaktadır. TNF, TNF- α ve TNF- β olmak üzere iki alt gruba sahiptir ve yapısal olarak benzer iki ayrı hücre yüzey reseptörü vardır; TNF reseptör-1 (TNFR1 ya da p55) ve TNF reseptör-2 (TNFR2 ya da p75) (Pfizenmaier ve diğ. 1996). Bu reseptörler farklı sitoplazmik etki alanlarına sahip oldukları için farklı sinyal yollarını aktive ederler. İnflamatuvar etkilerin çoğunluğu TNFR1'e bağlıyken, TNFR2 ise TNF stimülasyonuna hassasiyeti artırır ve TNFR1 tarafından verilen cevabı geliştirir (Peschon ve diğ. 1998).

TNF- α önemli bir proinflatuar sitokindir ve sistemik inflamasyon boyunca immün hücrelerinin aktivasyonu, proliferasyonu, farklılaşması ve infiltrasyonundan sorumludur (Sonar ve Lal 2015). Elektriksel uyarı ile oluşturulan nöbetlerde kan ve beyin dokusunda TNF- α seviyesinde anlamlı bir artış olması, amigdala kindling ratlara sistemik TNF- α uygulandıktan 24 saat sonra epileptik deşarjların artması ve davranışsal nöbetlerin kolaylaşması, proinflatuar sitokinler ve nöbetler arasında kolaylaştırıcı mutual bir ilişki olduğunu göstermektedir (Shandra ve diğ. 2002). Ancak TNF- α 'nın nöbet ve epilepsi patogeneğinde ikili role sahip olduğu TNFR1 boyunca prokonvulsif etki gösterirken, TNFR2 yoluyla anti-konvulsif etki gösterdiği belirtilmiştir (Balossoa ve diğ. 2013, 2005). Böylece TNFR1'in inhibe edilmesi ve ya TNFR2'nin aktivasyonunun epilepsiyi kapsayan nörolojik bozukluklarda yeni tedavi stratejisi olabileceği düşünülmektedir. Aynı şekilde TNFR2 agonistinin oksidatif stresle uyarılmış hücre ölümünden insan dopaminerjik nöronları koruyabileceği gösterilmiştir (Fischer ve diğ. 2011).

1.3.2. Interlökin-6 (IL-6)

IL-6, 19-30 kDa molekül ağırlığına sahip bir glikoproteindir. İnsanda IL-6 28 aminoasit sinyal peptitten oluşup toplam 212 aminoasit içermektedir. Konak savunması, inflamasyon, doku hasarı ile ilişkili birçok humoral ve hücrel immün etkileri olan multifonksiyonel bir sitokindir. Makrofajlar, fibroblastlar, endotel hücreleri, aktive olmuş T helper hücreleri, B hücreleri, monositler, keratinositler, granüositler, mast hücreleri ve tümör hücreleri tarafından üretilir (Dominique ve ark., 1993). IL-6'nın MSS'inde özellikle astrosit ve mikroglialar olmak üzere, nöronlardan da salgılandığı gösterilmiştir fakat ana uyarıcısı LPS, IL-1 ve TNF- α 'dır (Schobitz ve diğ. 1993, Gadiant ve Otten 1997). Bazı çalışmalarda IL-6'nın bazı nörodejeneratif hastalıkların patogeneğinde önemli rol oynadığı belirtilmiştir (Hirano ve diğ. 1997, Bauer ve diğ. 2007). IL-6'nın ekstraselüler medyumdaki konsantrasyonunun A1 ve A2A seviyesi arasındaki dengede önemli rol oynadığı düşünülmektedir (Perígolo-Vicente ve diğ. 2014).

1.3.3. Interlökin-1 Beta (IL-1 β)

İnflamator sitokin olan interlökin-1 beta geniş spektrumlu biyolojik fonksiyonuyla 17 kDa'luk polipeptittir. Periferal immün hücreleriyle sınırlanan immün modülatör olmasına rağmen MSS'nde önemli rolü olduğu gösterilmiştir (Rothwell 1998). Primer hipokampal

kültürde IL-1 β 'nın hipokampal nöronlarda **GABA_A** reseptör fonksiyonunu inhibe ettiği bilinmektedir (Wang ve diğ. 2000).

1.3.4. Sitokinlerin Epilepside Rollerini

Sinir dokusundaki inflamasyon süreci epilepsili hastalarda ve deneysel hayvanlarda tanımlanana göre; mikroglia ve astrositlerin aktivasyonu ile sitokinlerin ve ilişkili moleküllerin salınma ve ekspresyonunu kapsayan bir süreçtir (Choi ve Koh 2008). Yapılan çalışmalarda kainik asitle oluşturulan status epilepsiden 24 saat sonra hipokampüste IL-1 β 'nin konsantrasyonunun arttığı, aynı modeli kullanan diğer bir çalışmada da IL-6'nın RNA seviyesinin anlamlı şekilde artmış olduğu bulunmuştur (Vezzani ve diğ.1999, Lehtimäki ve diğ. 2003). Aynı şekilde nöbetlerden sonra farklı epilepsiye sahip hastalardan elde edilen serumlarda IL-1 β , IL-6, TNF gibi sitokinlerin seviyesinde artış olduğu tespit edilmiş, tonik-klonik nöbetli hastaların serebrospinal sıvısında da nöbet sonrası yüksek miktarda IL-6 ölçülmüştür (Sinha ve diğ. 2008, Peltola ve diğ. 2000). Pediatrik epilepsi hastalarının kortekslerinde de IL-6, IL-1 β gibi sitokin miktarlarında anlamlı artışlar belirtilmiştir (Choi ve diğ. 2009). TLE'li hastalarda IL-1 ailesinden pro-inflamatuar sitokinlerin seviyesinin beyin dokusunda arttığı, serumda ise sadece IL-6 seviyesinde artış olduğu belirtilmiştir (de Vries ve diğ. 2016). MTLE'li çocuklarda ve immatür ratlarda yapılan çalışma sonucunda beyin dokusundan alınan örneklerde özellikle hipokampüste IL-1 β seviyesi hastalığın fazına bağlı olarak yüksek bulunmuş ve posttranskripsiyonel inflamasyonla ilişkili miR-146a ile arasında bir bağlantı olduğu belirtilmiştir (Omran ve diğ 2012). Çocuklarda febril konvulsiyonun akut fazı boyunca plazmada IL-1 β , CSF'de ise TNF- α 'nın seviyesinde anlamlı bir artış olduğu ve hem kontrollerde hem de hastalarda ateşin seviyesiyle plazma IL-1 β seviyesi arasında pozitif bir korelasyon olduğu gösterilmiştir (Tütüncüoğlu ve diğ. 2001). Ratlarda oluşturulan limbik nöbetlerin hipokampüsteki glialar tarafından sitokinleri hızlı ve geri dönüşümlü bir şekilde sentezlediği gösterilmiştir (Vezzani ve diğ. 2002). Farelerde GABA_A reseptörünün selektif antagonisti olan bikukulin methiodid'in intrahipokampal enjeksiyonu ile oluşturulan nöbetlerde IL-1 β ve IL-1Ra'nın hipokampüste seviyelerinin arttığı gösterilmiş ve ekzojen olarak IL-1 β enjeksiyonunun nöbet aktivitesini daha da kötüleştirdiği ve nöbet eşik değerini azalttığı belirtilmiştir (Vezzani ve diğ. 2000). EEG kaydı altındaki epilepsili hastalarda (temporal lob epilepsi (TLE), ekstra-temporal lob epilepsi, idiyomatik jeneralize epilepsi) nöbet oluşumundan 12 saat sonra IL-6, interlökin-1

reseptör antagonisti (IL-1Ra), ve IL-1 β 'nın konsantrasyon değişikliklerine plazmada bakılmış ve IL-6 ve IL-1Ra'nın plazma seviyesinde önemli bir artış gösterilmişken, IL-1 β seviyesinde değişiklik olmadığı belirtilmiştir (Uludağ ve diğ. 2013). Başka bir çalışmada da proinflatuar sitokin olan IL-6'nın konsantrasyonunun tonik-klonik nöbetin akabindeki 24 saat içinde hastaların plazma ve CSF'sinde arttığı gösterilmiştir (Peltola ve diğ. 1998).

Bir çalışmada PTZ ile uyarılmış kindling (tutuşma) boyunca rat hipokampusünde IL-1 β seviyesinde anlamlı bir değişiklik gözlemlenirken, herhangi bir nöbet fazında TNF- α ve IL-6 için bir değişiklik gözlenmemiştir. Burdan IL-1 β 'nın kindling de önemli rol oynadığı ortaya konulmuştur (Kolosowska ve diğ. 2014). Wistar Audiogenic Rat'larda yapılan çalışmada yüksek yoğunluklu ses tarafından uyarılan odyojenik nöbetlerden sonra IL-6, TNF- α ve IL-1 β miktarının kortekste arttığı, TNF- α ve IL-6 miktarının aynı zamanda striatumda arttığı ve TNF- α 'nın inferior collicustada arttığı gösterilmiştir (de Souza Bernardino ve diğ. 2015). Adenozinin farklı dokularda IL-6 salınımını regüle ettiği gösterilmiştir (Schwaninger ve diğ. 1997, Ritchie ve diğ. 2009). Caspaz-1 inhibisyonu IL-1 β salınımını azalttığı, hipokampüste IL-1 β 'nın üretimini durmasının nöbetin başlamasını geciktirdiği ve nöbet süresini %50 azalttığı gösterilmiştir (Ravizza ve diğ. 2006).

1.4. Oksidatif Stres Parametreleri

Beyin reaktif oksijenlerin geniş miktarda üretildiği majör organdır. Beyinde ki antioksidan enzim aktivitesi diğer organlara göre düşük olduğu için oksidatif stresten daha fazla zarar gördüğü düşünölmektedir (Dringen 2000). NO gibi serbest radikaller lipid peroksidasyonuna sebep olmaktadır ve buda glutamin sentazı direk inaktive ederek glutamatın anormal salgılanmasına yol açar ve böylece epileptik nöbet aktivitesi uyarılabilir. Oksidatif stresin glutamat reseptör aktivitesi ve eksitotoksitesisi sonucu oluştuğu düşünölmektedir. Glutamatın NMDA reseptör alt tipleri ve NO sentazın aktivitesine eşlik eden NO, epileptik hasarın uyarılmasında ve kindling oluşmasında önemli rol oynamaktadır (Sejima ve diğ. 1997, Dillioglugil ve diğ. 2010).

1.4.1. Malondialdehit (MDA)

Serbest radikallerden etkilenen membran yapısındaki çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu sonucunda gelişen MDA, oksidatif hasarın, sistematik dolaşımında düzeyi saptanabilen dolaylı göstergesidir ve oksidatif stresin bir indikatörü olarak kullanılmaktadır (Koca 2007). MDA lipid peroksidasyonunun son ürünüdür ve hücre membranına, hücrelere

toksik etki gösterir. Konsantrasyonu tiyobarbitürik asit (TBA) metodu kullanılarak plazma ve çeşitli doku homojenatlarında belirlenebilmektedir (Bobrowski, 2005).

1.4.2. Glutasyon (GSH)

GSH; Tripeptit glutasyon (L- γ -glutamil-L-sisteinil-glisin; GSH) çoğu memeli dokusunda milimolar konsantrasyonlarda bulunur. GSH, sisteinin organlar arasında taşınmasında ve depolanmasında, aynı zamanda glutasyon S-transferaz ve glutasyon peroksidazın kofaktörü olarak elektrofilik ajanlar, peroksitler ve serbest radikallere karşı hücrel korumada önemli rol oynar. Glutasyon peroksidaz hidrojen peroksitin varlığında glutasyonu(GSSG) okside ederek GSH'a dönüştürür, aynı zamanda GSSG glutasyon redüktaz tarafından katalizlenerek meydana gelir.

Beyinde GSH çoğunlukla astroglial hücrelerde lokalizedir ve sinir terminallerinde ve bazı nöronlarda bulunduğu düşünülür (Philbert ve diğ. 1991, Raps ve diğ. 1989). Beyinde ki GSH konsantrasyonu yaklaşık olarak 2mM'dır. Çoğu GSH formundayken, %1.2'lik ya da daha az kısmı GSSG'ye oksitlenir. GSH aynı zamanda beyinde nörotransmitter ve nöromodülatör olarak fonksiyon gösterir (Abe ve diğ. 2000). Ekstraselüler alanda artan GSH seviyesinin antikonvulsan rolü olduğu, GSH inhibitörü kullanılarak GSH seviyesi azaldıkça nöbet hassasiyetinin arttığı gösterilmiştir ve beyinde nöronal uyarılmanın modülasyonunda önemli olduğu belirtilmiştir (Abe ve diğ. 2000). GSH lipid peroksidasyonunu engelleyen ve serbest radikallere karşı en önemli fizyolojik antioksidanlardan biridir(Seyhan ve Canseven 2006).

1.4.3. Nitrik Oksit (NO)

NO; Fizyolojik şartlar altında merkezi sinir sisteminde çeşitli fonksiyonların modülasyonunda önemlidir. Memeli hücrelerinde normal miktarlarda üretilen nitrik oksit konak savunması, nöronal iletişim, yangı ve vasküler regülasyon gibi fizyolojik süreçlerde görev alan sinyal molekülüdür (Gao ve ark. 2003). Aşırı ve kontrol edilemeyen NO sentezi inme, diyabet, nörodejenerasyon, artrit ve kronik yangı gibi birçok ölümcül hasara neden olabilir (Ebadi ve Sharma 2003). Nitrik oksit, NO sentaz(NOS) enzimi vasıtasıyla L-arjininden sentezlenir ve hücre içine ve hücre membranlarına kolaylıkla difüze olup moleküler hedeflerle reaksiyona girebilen kısmen kararlı serbest radikal bir gazdır.

NO, aynı zamanda NMDA reseptör kompleksi içinde bazı redoks sitelerinin oksitlenmesinden sorumludur ve böylece negatif feed back olarak onun aktivasyonu için

gereken Ca^{+2} un influksını inhibe eder. Nöronal aktivitedeki bölgesel artış NO bağımlı bölgesel kan akışının artmasıyla ilişkilidir. Bu artış, NMDA reseptörlerinin aşırı aktive olmasını sağlar ve epileptik nöbet boyunca artan kan akışı patogeneze katkıda bulunur (De Luca ve ark. 2006) . Fakat NO'nin rolü epilepsi için net açıklanamamıştır, NOS'un inhibisyonu bikukulinle uyarılan nöbetleri uzatmıştır. NO'nin rat beynine direk uygulanması (330–800 μ mol) kısa tonik konvulsiyonlara sebep olmuştur (Smith et al., 1991). Ayrıca Rundfeldt ve arkadaşlarının 1995'te yaptıkları çalışmada NO'nin doza bağılı olarak aynı nöbet modeli üzerinde antikonvulsan ya da konvulsan olabileceğini göstermişlerdir.



2. AMAÇ

Epilepsi tekrarlayan nöbetlerle karakterize edilen ve populasyonun yaklaşık %1'ini etkileyen önemli patolojik durumlardan birisidir. Her bir nöronun paroksizmal depolarizasyonu nöbet oluşumunun başlamasına neden olan olaydır. Yeterli sayıda nöron aktive olduğunda nöbet başlangıcı görülür. Bazı çalışmalarda epilepsi ve inflamasyon arasında bir ilişki olduğu belirtilmiştir. Epileptogenez ve inflamatuvar süreçler arasındaki ilişki nöro-immün ilişkisinin önemli bir örneğidir ve geniş bir çalışma alanına sahiptir (Györfly vd 2014). Otoimmünite, nörodejenerasyon ve epileptik bozuklukları kapsayan çeşitli MSS hastalıklarında beyinde inflamasyon reaksiyonları oluşur.

Epilepsinin deneysel modellerinde ve klinik çalışmalarında, MSS'inde ve plazmada proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinler ve bunlarla ilişkili moleküller tanımlanmıştır. Deneysel çalışmalarda beyinde inflamatuvar reaksiyonların nöronal eksitabiliteyi, kan beyin bariyerinin geçirgenliğini artırabildiği gösterilmiştir. Ayrıca antiinflamatuvar tedavilerin epilepsinin klinik durumlarında ve deneysel modellerinde nöbetleri azalttığı belirtilmiştir. (Vezzani ve Granata 2005). Epilepsili hastalarda ve deneysel epilepsi modellerinde sinir dokusundaki inflamasyon sürecinin mikroglia ve astrositin aktivasyonu ile sitokin ve ilişkili moleküllerin salınmasını ve ekspresyonunu kapsadığı gösterilmiştir (Choi ve Koh 2008, Vezzani ve diğ. 1999). Ayrıca yapılan çalışmalardan toplanan kanıtlara göre pürinerjik sistem sinyalindeki değişiklik de immünite ve inflamasyonla ilişkilidir. Adenozinin, anahtar bir pürin nükleositidir, iskemi, inflamasyon durumu ve doku yaralanması gibi metabolik stres boyunca üretildiği gösterilmiştir (Safarzadeh vd. 2016). Bu gibi sonuçlarda görüldüğü üzere epilepsi, inflamasyon ve adenozinerjik sistem arasında bağlantılı bir ilişki olduğu farkedilmektedir.

Bu sonuçlara bağlı olarak bizde;

PTZ ile uyarılan konvulsif epilepside inflamasyonda etkili olan moleküller ve bu moleküller üzerine adenozinerjik sistem modülasyon etkilerinin nasıl olduğunu inflamasyondaki önemli moleküller olan IL-1 β , IL-6 ve TNF- α sitokinlerinin ekspresyon düzeyleri saptanarak araştırıldı. Bunun için adenozinerjik sistemin non-selektif agonisti olan adenozin ve non-selektif antagonisti olan kafein sıçanlara uygulanarak gözlem yapıldı.

Nöbet parametrelerinin ve immün yanıtların değerlendirilmesinin yanı sıra adenozinerjik modülasyonun oksidatif mekanizma üzerine etkisinin araştırılmasında diğer amacımızdı.

Kanda, beyin korteksinde oksidatif mekanizmalarda yer alan NO, GSH ve MDA miktarları değerlendirildi. Böylece adenzinerjik modulasyonun etkisi oksidatif stress parametreleri açısından hem bölgesel hem de sistematik olarak araştırılması yapılmış oldu.



3. YÖNTEM

Hayvan deneyleri Kocaeli Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Birimi'nde (DETAB) Deney hayvanları Etik Kurulunun 09.07.2015 tarihinde yapılan toplantısında alınan 7/1-2015 sayılı karar doğrultusunda etik yönden 'uygun' bulunarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızda DETAB laboratuvarlarında üretilen $319 \pm 26,55$ gr ağırlığında Wistar albino ırkı yetişkin 4 aylık erkek sıçanlar kullanıldı (Böning ve diğ. 2015). Bu birimde hayvanlar 3-4'lü gruplar halinde, yem ve su kısıtlaması olmaksızın, 12 saat karanlık, 12 saat aydınlık periyotlarda muhafaza edildi. Deneysel araştırma standartlarına uyum sağlamayan ya da ölen sıçanlar çalışma dışında bırakıldılar. Çalışmada kullanılan hayvanlar ise rastgele yedi gruba ayrıldı;

Grup 1) 60 mg/kg/ip PTZ uygulanan grup (n:7)

Grup 2) 5 mg/kg/ip kafein uygulandıktan yarım saat sonra PTZ uygulanan grup (n:7)

Grup 3) 500 mg/kg/ip adenozin uygulandıktan 15 dk sonra PTZ uygulanan grup (n:7)

Grup 4) 5 mg/kg/ip kafein uygulanan grup (n:7)

Grup 5) 500 mg/kg/ip adenozin uygulanan grup (n:7)

Grup 6) Salin kontrol grubu (n:7)

Grup 7) %8'lik Tween 20 kontrol grubu (n:7)

3.1. Kimyasal Maddeler ve Uygulanış Şekilleri;

Tüm ilaçlar Sigma® ' dan temin edilmiştir.

3.1.1. Pentilentetrazol;

Formülü: $C_6H_{10}N_4$, Formül Ağırlığı: 138.17 g/mol, Depolandığı sıcaklık: -20 °C

Uygulanırken hayvanların kilolarına göre doz ayarı yapıldı ve 50 mg'ı 1 ml'de çözülecek şekilde çözücü miktarı da hesaplandı. Çözücü olarak salin kullanıldı. İlaç hergün taze hazırlanarak intraperitoneal uygulandı. Katalog Numarası: P6500.

3.1.2. Kafein;

Formülü: $C_8H_{10}N_4O_2$, Formül Ağırlığı: 194.19 g/mol, Depolandığı sıcaklık: +4°C

Uygulanırken hayvanların kilolarına göre doz ayarı yapıldı ve 50 mg'ı 1 ml'de çözülecek şekilde çözücü miktarı da hesaplandı. Çözücü olarak ılık salin kullanıldı. İlaç hergün taze hazırlanarak intraperitoneal uygulandı. Katalog numarası: C0750.

3.1.3. Adenozin;

Formülü: $C_{10}H_{13}N_5O_4$, Formül Ağırlığı: 267.24 g/mol, Depolandığı sıcaklık: +4°C
Uygulanırken hayvanların kilolarına göre doz ayarı yapıldı ve %8'lik Tween 20'de
çözöldükten sonra yaklaşık 1 ml hacminde intraperitoneal uygulandı. Katalog numarası:
A9251.

3.2. PTZ Uygulamasıyla Jeneralize Tonik-Klonik Nöbet Oluşturulması

Voltaj bağımlı mekanizmalar yoluyla hücre membranının potasyuma olan geçirgenliğini değiştiren ve $GABA_A$ antagonisti olarak hareket eden PTZ ile nöbetlerimizi oluşturduk.

İlk üç grupta konvulsif nöbetler PTZ'nin 60 mg/kg dozunda intraperitoneal olarak verilmesi ile elde edildi. Birinci grupta PTZ uygulandıktan sonra iki saat boyunca gözlem yapıldı. İkinci gruba kafein intraperitoneal olarak uygulandıktan yarım saat sonra PTZ injeksiyonu yapıldı ve iki saat gözlemlendi. Üçüncü grupta ise adenozin uygulamasından 15 dakika sonra PTZ uygulandı ve iki saat boyunca gözlem yapıldı. Gözlemin iki saat yapılmasının nedeni PTZ'nin yarılanma ömründen (Homayoun vd. 2002) ve beyindeki sitokin seviyelerinin 2 saatlik süre sonunda maksimum seviyeye ulaşıyor olmasından kaynaklanmaktadır (De Simoni vd 2000). PTZ uygulandıktan sonra oluşan nöbetler gözlemlenirken Velisek ve arkadaşları tarafından oluşturulan nöbet skalası kullanıldı. Bu nöbet skalası aşağıdaki gibidir.

0- Davranışta değişiklik yok

0.5- Atipik davranış (yoğun grooming, koklama ve hareket tutukluğu)

1- İzole miyoklonik jerkler, kulak ve yüz seğirmesi

2- Atipik minimal nöbetler, vücut boyunca kasılma dalgası

3- Tamamen gelişmiş minimal nöbetler, ön ayak ve baş kaslarında kasılma, doğrulma refleksi mevcut

4- Majör nöbetler (tonik fazın olmadığı), doğrulma refleksi yoktur

5- Running ile jeneralize major tonik-klonik nöbetlerin başlaması, doğrulma refleksinin kaybı, küçük tonik faz gelişir (ön ve arka ayakların fleksiyon ya da ekstansiyonu gibi), bazende hayvanın ölümüne yol açan 4 bacağıın kasılmasını sağlayan klonuslar oluşur.

Nöbet başlama süresi (latansı) PTZ uygulandıktan sonra yüz ve kulakta seğirmeleri görülmesi ve izole miyoklonik jerklerin oluşmasına kadar geçen süre olarak değerlendirilirken, toplam nöbet süresi kasılmaların ve nöbetin bittiği an olarak kabul

edildi. St4'e geçiş süresi ise PTZ uygulandıktan sonra majör nöbetler başlayana kadar geçen süre olarak belirlendi. PTZ uygulanan grupların hepsinde jeneralize klonik nöbetler gözlemlendi. Geriye kalan dört grupta ise belirtilen enjeksiyonlar uygulanıp iki saat gözlem yapıldı.

3.3. Kan ve Beyin Dokularının Toplanması

Gözlemler tamamlandıktan sonra hayvanlar eter ile anestezi altına alındı ve göğüsleri açılmadan yaklaşık 4-5 ml olacak şekilde kanları alındı. Daha sonra giyotinle dekapite edilerek beyinleri çıkartıldı.

Beyinler çıkarıldıktan sonra korteks ayrıldı ve tartılarak -40°C'da kullanılana kadar depolandı. Her hayvandan alınan kan; serum ve plazma için ayrı tüplere konuldu. TNF- α , IL-1 β ve IL-6 konsantrasyonlarına sadece kortekste bakılırken, MDA, GSH ve NO konsantrasyonlarına hem kortekste hemde kanda bakıldı. Ancak NO için serum yetmediğinden dolayı sadece dokuda çalışılabildi. MDA serumda bakılırken, GSH için plazmadan hazırlanan solüsyon kullanıldı. Bu solüsyon;

3000 μ L proteinsizleştirme solüsyon

1800 μ L saf su

200 μ L kan (heparinli), bir tüpe konuldu.

Daha sonra serum, plazma ve hazırlanan GSH tüpü santrifüje yerleştirilerek 3500 rpm 'de 10 dakika santrifüj edilirdi. Süpernatantlar toplandı ve kullanılana kadar -40°C'da depolandı.

3.4. Doku Homojenizasyonu

Toplanan sıçan beyin kortekslerinde; IL-1 β , IL-6, TNF- α , MDA, GSH, NO ve protein tayini yapmak için dokuların ağırlığına göre üzerine 1/10 (ağırlık/volüm) oranında PBS (0,1 M / pH 7,4) eklenip doku homojenizatörü ile homojenize edildi (Calkins vd. 2001). Homojenatlar 20 dk 3000rpm'de santrifüj edilerek süpernatantları ayrıldı ve ependorflara alınarak -40°C de analiz edileceğİ zamana kadar saklandı. Analiz sırasında çözümlenerek kullanıldılar.

3.5. Doku Protein Tayini

Proteinler içerisinde kolayca reaksiyona girebilecek gruplar vardır. Histidin'in içerdiği imidazol grubu, tirozinin içerdiği fenolik-OH grubu, sisteindeki sülfidril grubu gibi pek çok proteinde belli aralıklarda tirozin grubu görülür. Kullandığımız metod bu tirozinlerin

içerdiği fenolik-OH gruplarının belirlenmesine dayanan bir protein miktarı belirleme yöntemidir.

Total protein tayini Lowry modifiye metoduyla yapıldı (Hartree 1972). Analiz ettiğimiz parametrelerin doku sonuçları, doku protein miktarına oranlanarak elde edildi.

3.6. Doku ve Kanda MDA, GSH ve NO Tayini

Hazırlanan homojenatlar ve kan örnekleri çözülerek tayin için kullanıldı.

3.6.1. Malondialdehit Ölçümü (MDA)

Lipit peroksidasyon ürünü olan MDA tiyobarbitürik asit (TBA) ile reaksiyona girerek 535 nm'de maksimum absorbans veren pembe renkli bir kompleksin renginin şiddeti spektrofotometrik olarak ölçüldü ve korteks homojenatı ve serumda MDA konsantrasyonu tayin edildi (Buege ve Aust 1978).

3.6.2. GSH Ölçümü

Non-protein sülfidril gruplarının tümü redükte glutatyon formundadır. 5,5'-ditiyobis (2-nitrobenzoik asit) (DTNB) disülfid bir kromojendir ve sülfidril grubu içeren bileşiklerle kolayca redükte olarak koyu sarı renkli bir bileşik oluşturur. Bu redükte kromojenin 412 nm'de ölçülen absorbansı GSH konsantrasyonu ile direk orantılıdır (Ellman 1959). Bunun sonucunda homojenat ve plazmada GSH konsantrasyonları elde edildi.

3.6.3. NO_x (Total Nitrit+Nitrat) Ölçümü

NO[•] (nitrik oksit), biyolojik sistemlerde üretildikten sonra 2-30sn gibi çok kısa sürede nitrit (NO₂⁻) ve ardından nitrat (NO₃⁻) 'a oksitlenir (Medina ve Nicholas 1957). Nitrat formu, NO[•] türevlerinin en kararlı yapısıdır.



Görüldüğü gibi stabil bir yapıda olmaması nedeniyle, nitrik oksidi direkt ölçmek oldukça zordur. Bu yüzden araştırmamıza, numunede bulunan nitratı, nitrit formuna redükleyerek (kadmiyum redüksiyonu ile) ortamda bulunan toplam nitrit ve nitrat formu ölçüldü (Beckman vd. 1994). Bu iki formun toplamı ise NO_x ile gösterildi. Sonuç olarak NO[•] kaynaklı ürünler olan NO₂ ve NO₃'ün tamamı ölçülmüş oldu. Sadece homojenat örnekleriyle çalışıldı.

3.7. ELISA Kitlerinin Çalışılması

IL-1 β , IL-6, TNF- α ; eBioscience (Vienna, Austria) ELISA kiti kullanılarak çalışıldı. Çalışma kit protokolüne uygun olarak yapıldı. Kitlerin genel çalışma prensibi aşağıda ki gibidir;

ELISA kit plateleri 96'lık mikrokuyucuk içermektedir. Mikrokuyucuklar örnek ya da standartları bağlayan immobilize rat sitokin antikoları ile kaplıdır. Standartlar ve örnekler hazırlanarak plate duvarına pipetlenir ve örnekte bulunan hedef sitokin immobilize antikor tarafından bağlanır. Plate yıkanır ve biotin-konjuge anti rat sitokin antikoruna kuyucuklara eklenir ve ilk antikora bağlanan rat sitokinleri tarafından tutulur. Sonra inkübasyona bırakılır ve inkübasyon sonunda yıkama yapılarak bağlanmamış biyotin-konjuge antikorlar uzaklaştırılır. HRP-konjuge streptavidin kuyucuklara pipetlenir bununda biotin-konjuge antikorlara bağlanması gerekir. Ve tekrar yıkama yapılarak bağlanmayanlar uzaklaştırılır. Streptavidin-HRP ile reaktif olacak substrat solüsyonu kuyucuklara eklenir ve ölçülecek sitokin için renk oluşması sağlanır. Renkli ürün örnek ya da standart içinde bulunan sitokin yoğunluğuna göre oluşur. Daha sonra stop solüsyonu eklenerek renk oluşumu tamamlanır ve absorbans 450 nm'ölçülür.

3.8. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirme, IBM SPSS 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) paket programı ile yapıldı. Normal dağılıma uygunluk testi Kolmogorov-Smirnov Testi ile değerlendirildi ve tüm veriler ortalama +/- standart sapma olarak gösterildi. Normal dağılım gösteren IL-6, GSH plazma ve NO-korteks tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile, normal dağılım göstermeyen diğer parametreler ise Kruskal Wallis Testi ile belirlendi. Çoklu karşılaştırmalar için Tukey ve paired t testleri kullanıldı. $p < 0.05$ istatistiksel olarak önemlilik için yeterli kabul edildi.

4. BULGULAR

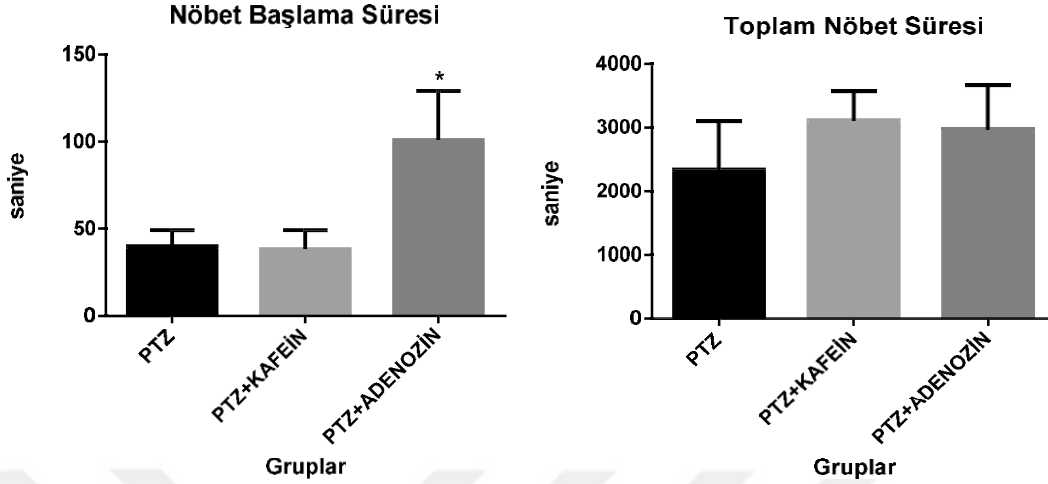
4.1. Konvulsif Nöbetlerin Değerlendirilmesi

PTZ injeksiyonu yapılan tüm gruplarda jeneralize konvulsif nöbet oluşturuldu. Tek başına PTZ uygulanan gruplarda nöbet latansı $40,00 \pm 9,18$ sn, toplam nöbet süresi $2335,14 \pm 760,09$ sn, Kafein+PTZ injeksiyonu yapılan grubun nöbet latansı $38,29 \pm 10,84$ sn, toplam nöbet süresi $3110,14 \pm 452,80$ sn, adenozin+PTZ enjeksiyonu yapılan grubun nöbet latansı $101,00 \pm 28,06$ sn, toplam nöbet süresi $2970,29 \pm 685,16$ sn olarak bulundu. PTZ ile oluşturulan konvulsif nöbetler ve bu nöbetler üzerine adenozin ve kafein uygulanarak elde edilen verilerin düzeyleri aşağıdaki çizelge 4.1.1’de sunulmuştur.

Çizelge 4.1.1: İntraperitoneal PTZ injeksiyonu ile oluşturulan nöbetlerde adenozinlerjik sistem modülasyonunun nöbet parametreleri üzerine etkisi (* $p < 0,05$ PTZ grubuna göre; ** $p < 0,001$ PTZ grubuna göre)

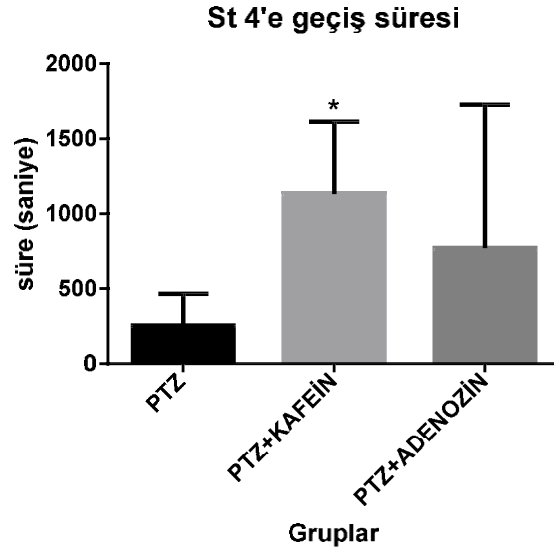
Parametreler Gruplar	Hayvan Sayısı	Nöbet Latansı (sn)	Nöbet Süresi (sn)	Nöbet Şiddeti / St 4’ giriş süresi (sn)	
PTZ	7	$40,00 \pm 9,18$	$2335,14 \pm 760,09$	St 4	$258,29 \pm 209,34$
PTZ+Kafein	7	$38,29 \pm 10,84$	$3110,14 \pm 452,80$	St 4	$1249,33 \pm 403,96^{**}$
PTZ+Adenozin	7	$101,00 \pm 28,06^*$	$2970,29 \pm 685,16$	St 4	$772,00 \pm 427,80$

PTZ’den önce adenozin uygulanan grup ile PTZ grubu karşılaştırıldığında nöbet latansında istatistiksel olarak anlamlı bir gecikme gözlemlenirken ($p < 0,05$), PTZ’den önce kafein uygulanan grupla PTZ grubu karşılaştırıldığında nöbet latansında azalma gözlemlense de bu azalma istatistiksel olarak anlamlı değildir. Gruplar arasında toplam nöbet süresinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$) (Çizelge 4.1.1.).



Çizim 4.1.1: İntraperitoneal PTZ injeksiyonu ile oluşturulan nöbetlerde adenozerjik sistem modülasyonunun nöbet parametreleri üzerine etkisinin grafiksel gösterimi (* = $p < 0,05$, PTZ grubuna göre)

Bunun yanı sıra PTZ ve PTZ+Kafein gruplarının St 4' e giriş süreleri arasında anlamlı bir fark gözlemlenmiştir ($p < 0,001$). PTZ+Adenozin grubu ile diğer gruplarımız arasında anlamlı bir farklılık bulunamamıştır (Çizelge 4.1.1 ve Çizim 4.1.2)



Çizim 4.1.2: İntraperitoneal PTZ injeksiyonu ile oluşturulan nöbetlerde Adenozin, Kafein ve PTZ grubu arasındaki St4'e geçiş süresi; * $p < 0,001$ (PTZ grubuna göre)

4.2. Sitokinlerin Değerlendirilmesi

Sitokin miktarları belirlenirken homojenize edilen kortekste protein tayini yapıldı ve elde edilen protein konsantrasyonu mg/ml olarak hesaplandı. Analiz edilen parametrelerin doku sonuçları, doku protein miktarına oranlanarak sonuçlar pg/mg.protein cinsinden elde edildi.

Salin grubunda korteksten elde edilen TNF-alfa düzeyi $221,43 \pm 20,81$ pg/mgprotein, IL-1beta düzeyi $7,37 \pm 1,11$ pg/mgprotein, IL-6 düzeyi $65,35 \pm 18,17$ pg/mgprotein olarak bulunmuştur.

Yüzde sekizlik Tween20 grubunda korteksten elde edilen TNF-alfa düzeyi $188,98 \pm 37,30$ pg/mgprotein, IL-1beta düzeyi $9,14 \pm 3,77$ pg/mgprotein, IL-6 düzeyi $54,30 \pm 8,63$ pg/mgprotein olarak bulunmuştur.

PTZ grubunda korteksten elde edilen TNF-alfa düzeyi $278,26 \pm 33,41$ pg/mgprotein, IL-1beta düzeyi $13,36 \pm 4,19$ pg/mgprotein, IL-6 düzeyi $67,66 \pm 23,19$ pg/mgprotein olarak bulunmuştur.

PTZ+Kafein grubunda korteksten elde edilen TNF-alfa düzeyi $204,26 \pm 73,76$ pg/mgprotein, IL-1beta düzeyi $10,05 \pm 6,14$ pg/mgprotein, IL-6 düzeyi $44,61 \pm 27,94$ pg/mgprotein olarak bulunmuştur.

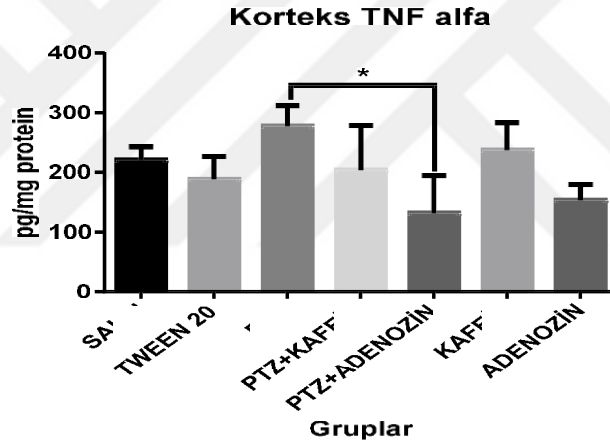
PTZ+Adenozin grubunda korteksten elde edilen TNF-alfa düzeyi $132,16 \pm 62,98$ pg/mgprotein, IL-1beta düzeyi $5,42 \pm 2,30$ pg/mgprotein, IL-6 düzeyi $33,11 \pm 25,37$ pg/mgprotein olarak bulunmuştur.

Kafein grubunda korteksten elde edilen TNF-alfa düzeyi $238,16 \pm 44,10$ pg/mgprotein, IL-1beta düzeyi $11,66 \pm 2,26$ pg/mgprotein, IL-6 düzeyi $59,25 \pm 13,71$ pg/mgprotein olarak bulunmuştur.

Adenozin grubunda korteksten elde edilen TNF-alfa düzeyi $153,63 \pm 26,27$ pg/mgprotein, IL-1beta düzeyi $8,60 \pm 1,48$ pg/mgprotein, IL-6 düzeyi $44,34 \pm 8,25$ pg/mgprotein olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.2.1: Deney gruplarının sitokin düzeyleri ortalama±standart sapma şeklinde gösterilmektedir.

Sitokinler Gruplar	TNF- α (pg/mgprotein)	IL-1 β (pg/mgprotein)	IL-6 (pg/mgprotein)
Salin	221,43±20,81	7,37±1,11	65,35±18,17
Tween20	188,98±37,30	9,14±3,77	54,30±8,63
PTZ	278,26±33,41	13,36±4,19	67,66±23,19
PTZ+Kafein	204,26 ±73,76	10,05±6,14	44,61±27,94
PTZ+Adenozin	132,16±62,98	5,42±2,30	33,11±25,37
Kafein	238,16±44,10	11,66±2,26	59,25±13,71
Adenozin	153,63±26,27	8,60±1,48	44,34±8,25

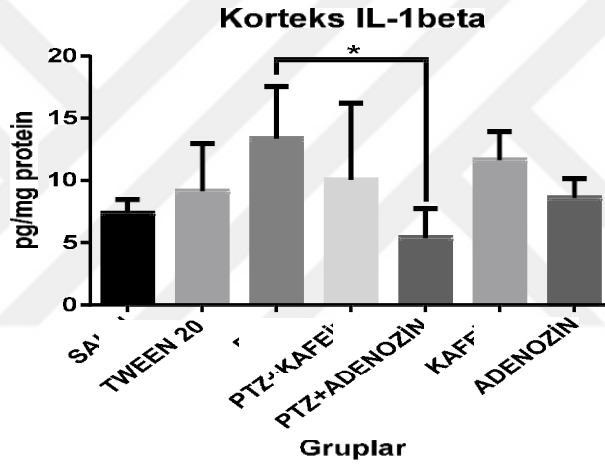


Çizim 4.2.1: Deney ve kontrol gruplarında ki TNF- α düzeylerinin grafiksel gösterimi (* = p<0,05).

Bu sonuçlara göre TNF- α ;

PTZ grubundaki TNF- α konsantrasyonu salin kontrol grubuna göre anlamlı olmayan bir artış göstermiştir (p>0,05). Bu artış PTZ ile uyarılan konvulsif nöbetlerde TNF- α konsantrasyonunun arttığını ve nöbetin inflamasyona katkıda bulunabileceğini göstermektedir. PTZ ve PTZ+Kafein grubu arasındaki TNF- α konsantrasyonlarında bir fark gözlemlenmemiş olmasına rağmen kafein TNF- α konsantrasyonunda azalma sağlamıştır (p>0,05). PTZ+Adenozin grubundaki TNF- α konsantrasyonunda PTZ uygulanan gruba göre anlamlı bir azalma gözlemlenmiştir (p<0,05). PTZ+Kafein ile PTZ+Adenozin grubu arasında da anlamlı bir farklılık elde edilmemiş olmasına rağmen PTZ+Adenozin grubunda TNF-alfa konsantrasyonu daha azdır (p>0,05). Salin ve %8'lik

Tween20 grupları karşılaştırıldığında aralarında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Bu durum adenozinin çözücüsü olan Tween20'nin sonuçlar üzerinde etkisinin olmadığını göstermektedir. Salin uygulanan grup ile kafein grubu karşılaştırıldığı zaman aralarında anlamlı bir fark gözükmemektedir ($p>0,05$) ancak kafein saline göre TNF- α miktarında artış sağlamıştır. Tek başına adozin uygulanan grupla Tween20 karşılaştırıldıklarında ise aralarında farklılık gözlemlenmemiştir ($p>0,05$), ama adozin Tween20'ye göre TNF-alfa miktarında azalmaya sebep olmuştur. Tek başına kafein ve adozin uygulanan gruplar arasında da yine anlamlı bir farklılık elde edilmemiştir ($p>0,05$). Adenozinde anlamlı bir azalma gözlemlenirken kafeinde çok az bir artış gözlemlenmiştir (Çizim 4.2.1)

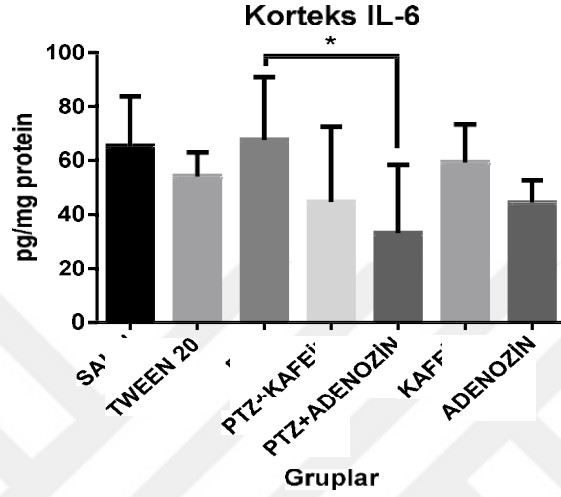


Çizim 4.2.2: Deney ve kontrol gruplarında ki IL-1 β düzeylerinin grafiksel gösterimi (* = $p<0,05$).

Bu sonuçlara göre IL-1 β ;

PTZ grubundaki IL-1 β konsantrasyonu salin kontrol grubuna göre anlamlı olmayan bir artış gösterdi ($p>0,05$). Bu artış PTZ ile uyarılan konvulsif nöbetlerde IL-1 β konsantrasyonunun arttığını ve nöbetin inflamasyona katkıda bulunabileceğini göstermektedir. PTZ ve PTZ+Kafein grubu arasındaki IL-1 β konsantrasyonlarında bir fark gözlemlenmemiş olmasına rağmen Kafein IL-1 β konsantrasyonunda azalma sağlamıştır ($p>0,05$). PTZ uygulanan gruba göre PTZ+Adenozin grubundaki IL-1 β konsantrasyonunda anlamlı bir azalma gözlemlendi ($p<0,05$). PTZ+Kafein ile PTZ+Adenozin grubu arasındada anlamlı bir farklılık elde edilmemiş olmasına rağmen PTZ+Adenozin grubunda IL-1 β konsantrasyonu daha azdır ($p>0,05$). Salin ve %8'lik Tween20 grupları karşılaştırıldığında IL-1 β konsantrasyonu arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Salin uygulanan grup ile kafein grubu karşılaştırıldığı zaman aralarında

anamlılık yoktur ($p>0,05$) ama kafein IL-1 β konsantrasyonunda artışa sebep olmuştur. Tek başına adenozin uygulanan grupla Tween20 karşılaştırıldığı zaman aralarında fark gözlemlenmedi ($p>0,05$). Tek başına kafein ve adenozin uygulanan gruplar arasındada yine anlamlı bir farklılık bulunamadı ($p>0,05$) (Çizim 4.2.2).



Çizim 4.2.3: Deney ve kontrol gruplarında ki IL-6 düzeylerinin grafiksel gösterimi (*= $p<0,05$).

Bu sonuçlara göre IL-6;

PTZ ve salin grubundaki IL-6 konsantrasyonu arasında anlamlı bir sonuç elde edilmemiştir ($p>0,05$). PTZ ve PTZ+Kafein grubu arasındaki IL-6 konsantrasyonlarında anlamlı bir fark gözlemlenmemesine rağmen PTZ+Kafein grubunda IL-6 konsantrasyonunda PTZ grubuna göre bir azalma söz konusudur ($p>0,05$). PTZ uygulanan gruba göre PTZ+Adenozin grubunda ki IL-6 konsantrasyonunda anlamlı bir azalma gözlemlenmiştir ($p<0,05$). Adenozin hem nöbet latansını uzatmış hemde IL-6 konsantrasyonunda anlamlı bir azalmaya sebep olmuştur. PTZ+Kafein ile PTZ+Adenozin grubu arasındada anlamlı bir farklılık elde edilmemiş olsada PTZ+Adenozin grubunda IL-6 konsantrasyonu daha azdır ($p>0,05$). Salin ve %8'lik Tween20 grupları karşılaştırıldığında aralarında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Bu durum adenozinin çözücüsü olan tween20'nin sonuçlar üzerinde etkisinin olmadığını göstermektedir. Salin uygulanan grup ile kafein grubu karşılaştırıldığı zaman aralarında anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,05$). Tek başına adenozin uygulanan grupla Tween20 karşılaştırıldığı zaman aralarında fark elde edilmedi ($p>0,05$), ama adenozin tween20'ye göre IL-6 miktarında azalmaya sebep oldu. Tek başına kafein ve adenozin uygulanan grup arasında da anlamlı bir farklılık yoktur ($p>0,05$) (Çizim 4.2.3)

4.3. Oksidatif Stresin Değerlendirilmesi

Oksidatif stresi değerlendirmek için kullandığımız GSH ve MDA tüm gruplarda korteks ve kanda çalışılırken NO sadece kanda çalışılmıştır. Elde edilen sonuçlar aşağıda ki gibidir;

Salin grubunda korteksten elde edilen MDA değeri $3,92 \pm 0,08$ nanomol/10 mg protein, GSH değeri $10,90 \pm 0,89$ mg/gram protein, NO değeri ise $22,89 \pm 4,67$ nanomol/100 mg protein' dir. Serumdan elde edilen MDA değeri ise $4,44 \pm 0,59$ nanomol/ml, plazma daki GSH değeri ise $11,21 \pm 1,72$ mg/dl şeklinde elde edilmiş.

Tween 20 grubunda korteksten elde edilen MDA değeri $4,33 \pm 0,86$ nanomol/10 mg protein, GSH değeri $10,02 \pm 2,10$ mg/gram protein, NO değeri ise $19,83 \pm 2,35$ nanomol/100 mg protein' dir. Serumdan elde edilen MDA değeri ise $4,12 \pm 0,19$ nanomol/ml, plazma daki GSH değeri ise $12,37 \pm 2,68$ mg/dl şeklinde elde edilmiş.

PTZ grubunda korteksten elde edilen MDA değeri $4,80 \pm 0,92$ nanomol/10 mg protein, GSH değeri $11,93 \pm 2,60$ mg/gram protein, NO değeri ise $23,65 \pm 2,44$ nanomol/100 mg protein' dir. Serumdan elde edilen MDA değeri ise $4,41 \pm 0,35$ nanomol/ml, plazma daki GSH değeri ise $9,49 \pm 0,73$ mg/dl şeklinde elde edilmiş.

PTZ+Kafein grubunda korteksten elde edilen MDA değeri $3,97 \pm 0,81$ nanomol/10 mg protein, GSH değeri $10,07 \pm 1,00$ mg/gram protein, NO değeri ise $21,12 \pm 1,69$ nanomol/100 mg protein' dir. Serumdan elde edilen MDA değeri ise $5,40 \pm 0,60$ nanomol/ml, plazma daki GSH değeri ise $9,74 \pm 0,43$ mg/dl şeklinde elde edilmiş.

PTZ+Adenozin grubunda korteksten elde edilen MDA değeri $3,83 \pm 0,33$ nanomol/10 mg protein, GSH değeri $9,72 \pm 0,63$ mg/gram protein, NO değeri ise $23,03 \pm 2,77$ nanomol/100 mg protein' dir. Serumdan elde edilen MDA değeri ise $4,57 \pm 0,39$ nanomol/ml, plazma daki GSH değeri ise $9,48 \pm 0,97$ mg/dl şeklinde elde edilmiş.

Kafein grubunda korteksten elde edilen MDA değeri $3,61 \pm 0,46$ nanomol/10 mg protein, GSH değeri $9,23 \pm 0,97$ mg/gram protein, NO değeri ise $20,59 \pm 4,05$ nanomol/100 mg protein' dir. Serumdan elde edilen MDA değeri ise $4,25 \pm 0,26$ nanomol/ml, plazma daki GSH değeri ise $10,53 \pm 0,88$ mg/dl şeklinde elde edilmiş.

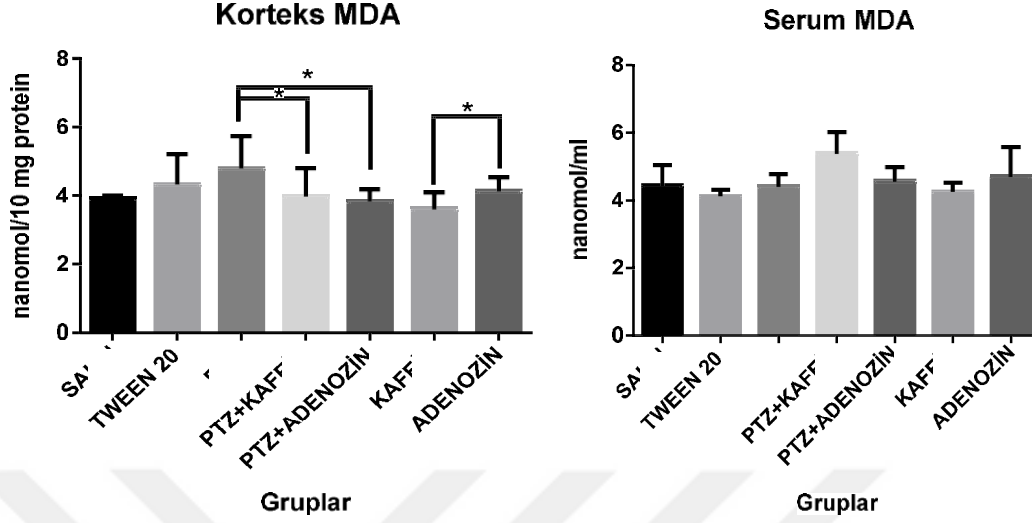
Adenozin grubunda korteksten elde edilen MDA değeri $4,14 \pm 0,38$ nanomol/10 mg protein, GSH değeri $9,81 \pm 0,51$ mg/gram protein, NO değeri ise $21,35 \pm 2,59$ nanomol/100 mg protein' dir. Serumdan elde edilen MDA değeri ise $4,69 \pm 0,85$ nanomol/ml, plazma daki GSH değeri ise $12,96 \pm 1,26$ mg/dl şeklinde elde edilmiş. Tüm bu sonuçlar Çizelge 4.3.1.'de verilmiştir.

Çizelge 4.3.1. MDA ve GSH'nin korteks ve kanda ki konsantrasyonları, NO'in ise kortekste ki konsantrasyonları gösterilmektedir. Veriler ortalama± standart sapma şeklinde gösterilmiştir.

Bölgeler Gruplar	MDA-Korteks (nanomol/10 mg protein)	MDA-Serum (nanomol/ml)	GSH-Korteks (mg/gram protein)	GSH- Plazma (mg/dl)	NO-Korteks (nanomol/100 mg protein)
Salin	3,92±0,08	4,44±0,59	10,90±0,89	11,21±1,72	22,89±4,67
Tween20	4,33±0,86	4,12±0,19	10,02±2,10	12,37±2,68	19,83±2,35
PTZ	4,80±0,92	4,41±0,35	11,93±2,60	9,49±0,73	23,65±2,44
PTZ+Kafein	3,97±0,81	5,40±0,60	10,07±1,00	9,74±0,43	21,12±1,69
PTZ+Adenozin	3,83±0,33	4,57±0,39	9,72±0,63	9,48±0,97	23,03±2,77
Kafein	3,61±0,46	4,25±0,26	9,23±0,97	10,53±0,88	20,59±4,05
Adenozin	4,14±0,38	4,69±0,85	9,81±0,51	12,96±1,26	21,35±2,59

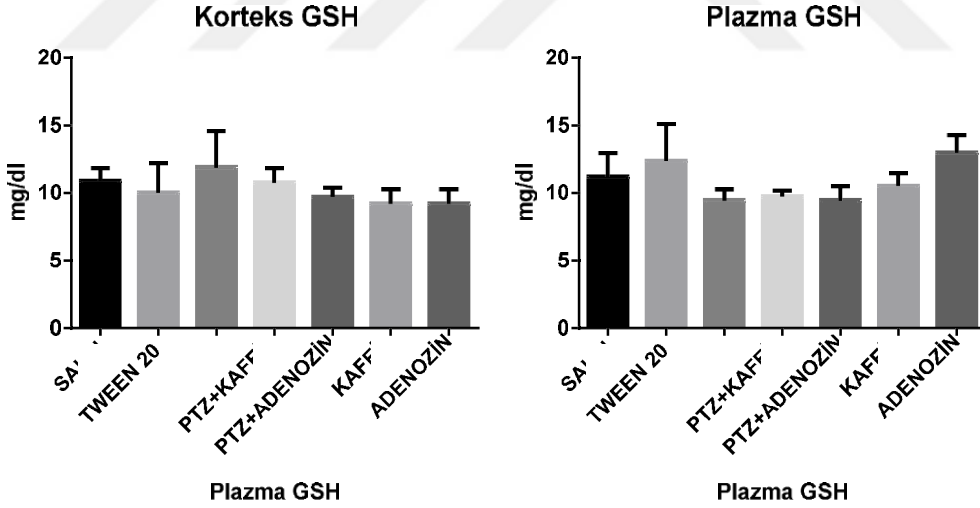
Bu sonuçlara göre MDA;

PTZ ve salin gruplarında ki korteks ve serumdan elde edilen MDA konsantrasyonları arasında anlamlı bir sonuç elde edilemedi ($p>0,05$). PTZ ve PTZ+Kafein grubunda korteksten elde edilen MDA konsantrasyonları arasında anlamlılık söz konusuyken ($p<0,05$), serumda bir anlamlılık bulunmamıştır ($p>0,05$). Bunun sonucunda PTZ ile uyarılan nöbetlerde kafeinin MDA'yı azalttığı bulundu. PTZ uygulanan gruba göre PTZ+Adenozin grubunda kortekste ki MDA seviyesi anlamlı bir şekilde azalırken ($p<0,05$), serumda ise bir farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$). PTZ+Kafein ile PTZ+Adenozin grubu arasındada serumda ve kortekste farklılık elde edilmedi ($p>0,05$). Salin ve %8'lik Tween20 grupları karşılaştırıldığında aralarında anlamlı bir farklılık yoktur ($p>0,05$). Tek başına adenozin uygulanan gruba Tween20 karşılaştırıldığı zaman ise serumda ve kortekste anlamlılık yoktur ($p>0,05$). Tek başına kafein ve adenozin uygulanan gruplar arasındaa kortekste anlamlı bir farklılık bulunmuştur ($p<0,05$). Bu sonuçlar çizim 4.3.1.'de şematize edilmiştir.



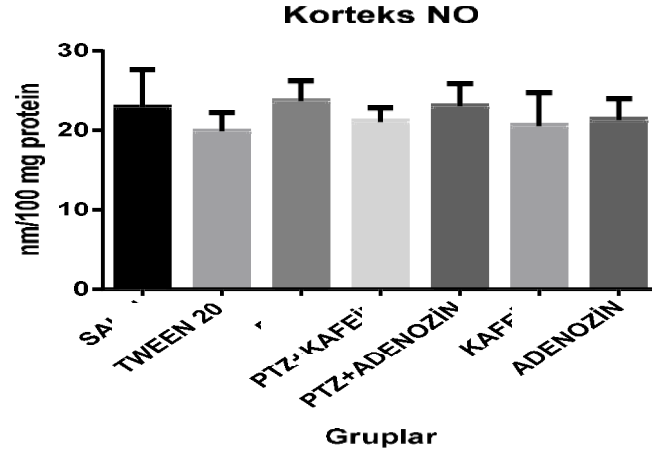
Çizim 4.3.1. Deney ve kontrol gruplarında ki MDA düzeylerinin korteks ve serumda grafiksel gösterimi (*= p<0,05).

Yaptığımız çalışmanın sonuçlarına göre korteks ve plazma da GSH konsantrasyonları arasında anlamlı bir farklılık elde edilmemiştir (Çizim 4.3.2).



Çizim 4.3.2. Deney ve kontrol gruplarında ki GSH düzeylerinin korteks ve plazmada grafiksel gösterimi

Bu sonuçlara göre korteks NO konsantrasyonları arasında anlamlı bir farklılık elde edilmemiştir. Gruplarda ki NO konsantrasyonlarının karşılaştırmalı gösterimi Çizim 4.3.3.'de şematize edilmiştir.



Çizim 4.3.3. Deney ve kontrol gruplarında ki korteks NO düzeylerinin grafiksel gösterimi

5. TARTIŞMA

Sonuçlarımız 60 mg/kg PTZ injeksiyonunun 30 dk ve üzerinde süren nöbetler oluşturduğunu göstermektedir. Sitokin konsantrasyonları değerlendirildiği zaman PTZ uygulanan grupta salin kontrole göre TNF- α , IL-1 β ve IL-6 seviyelerinde bir farklılık olmadığı gözlemlenmektedir. Ancak PTZ uygulanan gruplarda ki bu sitokinlerin konsantrasyonu salin kontrole göre fazladır. Bu durumda nöbet oluşumu inflamatuvar mediatör olan TNF- α , IL-1 β ve IL-6 miktarlarında artışın uyarılmasına sebep olmuştur. Yani bu mediatörlerin baskılanması nöbet aktivitesinin oluşmasını engelleyebilir ya da azalmasına neden olabilir. Bu durumu değerlendirmek için hem inflamasyonda hem de nöbet patogenezinde etkisi olan adenozerjik sistemin non-selektif agonist ve antagonistini kullandık. PTZ ile oluşturulan nöbetlerde adenozin antagonistini olan kafeinin 5 mg/kg dozunda uygulanmasının nöbet başlangıcını ve nöbet süresini değiştirmedikini ($p>0,05$) ancak nöbetlerin 4. faza giriş süresini anlamlı derecede geciktirdiğini tespit ettik ($p<0,05$). Bu iki grup arasındaki TNF- α , IL-1 β ve IL-6 konsantrasyonları değerlendirildiği zaman ise bir fark elde edilmemiştir. Buna rağmen PTZ grubuna göre PTZ+Kafein grubunda TNF- α , IL-1 β ve IL-6 konsantrasyonlarında bir azalma söz konusudur ($p>0,05$). Bu azalma st4'e girişteki uzamaya sebebiyet vermiş olabilir.

Öte yandan 500 mg/kg adenozinin, PTZ ile oluşturulan nöbetlerde nöbetin başlama süresini anlamlı olarak geciktirdiği ($p<0,05$), nöbet süresi üzerine ise anlamlı bir sonuç vermediği belirlenmiştir. Nöbetler bu şekildeyken gruplar arasındaki sitokin ilişkisi de bunu destekler niteliktedir. PTZ uygulanan gruba göre PTZ+Adenozin grubundaki TNF- α , IL-6 ve IL-1 β konsantrasyonlarında anlamlı bir azalma söz konusudur ($p<0,05$) ve bu azalma nöbet başlama süresini ertelemiş olabilir. Bu durum inflamasyonla epilepsi arasında bir ilişkinin olduğunu ortaya koymaktadır.

Diğer gruplara bakıldığında; PTZ+Kafein ile PTZ+Adenozin grubu arasında TNF-alfa, IL-1beta ve IL-6 konsantrasyonlarında anlamlı bir farklılık olmamasına rağmen adenozin uygulaması kafeine göre sitokin seviyelerinde azalmaya sebep olmuştur. Salin kontrole göre tek başına kafein uygulanan grupta sitokin konsantrasyonlarında anlamlı olmayan bir artış gözlemlenirken, tek başına adenozin ise TNF- α ve IL-6 seviyelerinde anlamlı olmayan bir azalmaya sebep olmuş ve IL-1 β seviyesinde değişiklik oluşturmamıştır. Bu sonuçlar adenozinin sitokin salınımının baskılanması üzerine etkili olabileceğini göstermektedir. Ayrıca inflamatuvar moleküllerin nöbet patogenezinde etkili oldukları,

nöbet latansını uzatabilecekleri görülmektedir. Böylece adenozinin hem anti-epileptik hemde anti inflamatuvar etkiye sahip olduğu görülmektedir.

Yapılan bir çalışmada kafein'in akut kullanımının nöbetler üzerine etkisinin olmadığı ve oksidatif stresi azaltmadığı belirtilmiştir (Souza ve diğ. 2013). Bu bulgu bizim sonuçlarımızla uyusmaktadır. Başka bir çalışmada ise düşük dozlarda akut kafeine maruz kalan GAERS'lerde DDD'nin ekspresyonunda azalma olduğu gözlemlenmiştir (Germé ve diğ. 2015). Bu sonuçlara göre kafein kullanım süresi ve dozuna bağlı olarak konvulsif ve non-konvulsif nöbetlerde zıt etkiye sahiptir.

Farklı yetişkin rat modellerinde tekrarlayan kafein kullanımının konvulsif nöbetler üzerine nöbet uyarılabilirliğini azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca gelişme çağındaki ratlar üzerine kafeinin nöbet eşik değerindeki azalmayı ertelediği söylenmiştir. Bunun spesifik beyin yapılarında A1 reseptör yoğunluğundaki artışla ilişkili olabileceği düşünülmektedir (Guillet ve Dunham 1995, Holloway 1982, Hughes ve Beveridge 1990, Guillet 1995). Kafeinin A1R'i bloklayarak cAMP üretimini artırdığı ve kordon kanı monositleri tarafından pretranskripsiyonel TNF- α üretimini inhibe ettiği gösterilmiştir (Chavez-Valdez ve diğ. 2009). Böylece nöbet eşik değerindeki hassasiyetin azalmamasının nedeni kafein tarafından sebep olunan TNF- α üretim inhibisyonu olmuştur. Bizim çalışmamızda da anlamlı olarak bir azalma meydana gelmesede kafein uygulanan PTZ'li hayvanlarda TNF- α , IL-1beta ve IL-6 konsantrasyonlarında PTZ grubuna göre bir azalma meydana gelmiştir. Bunun yanında ise bu iki grup arasında st4'e girişte anlamlı bir farklılık vardır ve kafein st4'e giriş süresini geciktirmiştir. Sitokin konsantrasyonlarında ki bu değişiklikten dolayı gecikme meydana gelmiş olabilir.

Adenozin ise nöbet başlangıcını geciktirmedeki işlevini, koruyucu fonksiyon gösteren A1 reseptör aktivasyonu aracılığıyla sağlamış olabilir. Çünkü yapılan bir çalışmaya göre A1 reseptörlerinin çoğunlukla nöbet oluşmasını ve yayılmasını engellediği belirtilmiştir (Szybala ve diğ. 2009, Murray ve diğ.1992, Zhang ve diğ.1994). A1 reseptörlerinin başka bir majör eylemi GIRKs aktivasyonu yoluyla dinlenim membran potansiyelinin hiperpolarizasyonuna aracılık etmektir (Dunwiddie ve Masino 2001). Bu kanallar

K^+

iyonunun hücre dışına değil de hücre içine akımını sağlayarak hiperpolarizasyona sebep olur. Aynı zamanda adenozin glutamat salınımını inhibe ederek nöronları hiperpolarize eder ve direk bir şekilde kalsiyum kanallarının bazı çeşitlerini inhibe ederek eksitotoksisiteyi azaltmaktadır (Dunwiddie ve Masino 2001). Absans epilepsili Long Evans ve WAG/Rij ırkı ratlarda yapılan çalışmada adenozinin aktivitesinin serebral

kortekste ve talamusta firing oranını azalttığı belirtilmiştir. Bu adenozin aktivasyonunda



neokorteks ve talamusta adenozin reseptörlerinden dominant olan A1 reseptörlerinin inhibisyonuyla alakalı olabileceği belirtilmiştir (Kovács ve diğ. 2013) Ayrıca yapılan başka bir çalışmada eksojen olarak adenozin reseptör agonistlerinin kullanımının nöbet aktivitesini azalttığı, antagonistler ise prokonvulsant bir etki gösterdiği belirtilmiştir (Dunwiddie ve Masino 2001). Bu bulgular adenozinin nöbet aktivitesini azalttığıyla ilgili olan sonuçlarımızla uyum halindedir.

Sitokinlerin etkinliğiyle ilgili olarak; PTZ'nin kronik ve akut uygulanmasıyla oluşturulan modellerde kortikal seviyede TNF- α miktarının arttığı gösterilmiştir (Abdallah 2010). Bir çalışmada amigdalanın elektriksel uyarılmasıyla elde edilen kindling ratların tüm beyin dokusunda TNF- α ve IL-1 β içeriğinin arttığı ve ayrıca i.p. TNF- α kullanımının amigdala kindlingindeki hassasiyeti artırdığı belirtilmiştir (Khoshdel ve diğ. 2012). TNF- α inflamatuvar cevabın primer mediatörü olduğu için, TNF- α seviyesindeki değişikliklerin konvulsif nöbet patogenezinde önemli bir role sahip olduğu söylenebilir. Yapılan bir çalışmada PTZ ile uyarılan nöbet akabinde hem plazmada hem de beyinde TNF- α seviyesinde kontrol gruplara göre anlamlı bir artış bulunmuştur (Rao vd. 2008) ve TNF- α reseptör genlerinin piriform korteks ve hipokampüste anlamlı olarak arttığı gösterilmiştir (Ahmadirad vd. 2014). Jeneralize kindled nöbetlerinden 2 saat sonra hipokampus ve amigdalada IL-1 β 'nin mRNA ekspresyonunda artış olduğu bulunmuştur (Plata-Salaman ve diğ. 2000). Kainat, bikukulin ya da elektriksel uyarı tarafından uyarılan limbik nöbetlerde IL-1 β , IL-6 and TNF- α mRNA ekspresyonunun hipokampüste arttığı belirtilmiştir. Ayrıca IL-1 β 'nin intrahipokampal injeksiyonu ile bu nöbet modellerinde prokonvulsant etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Vezzani ve diğ. 2002). Bu gibi çalışmalar bizim sonuçlarımızla kısmen uyum içindedir, PTZ sitokin konsantrasyonlarını anlamlı arttırmamasına rağmen bir yükselmeye sebep oluşturmuştur.

Ayrıca PTZ öncesi adenozin uygulanan gruptaki sonuçlara göre inflamatuvar mediatörlerin baskılanmasının nöbet başlama süresini uzattığını söyleyebiliriz. Bu inflamasyonla epilepsi arasında bir ilişki olduğunu ortaya koymaktadır. Rao ve arkadaşlarının 2009 yılında ki çalışmalarında bahsettiklerine göre beyinde azalan TNF- α seviyesinin farelerde nöbet inhibisyonunu sağladığı belirtilmiştir. Bu çalışma bizim çalışmamızı destekler niteliktedir. Ayrıca yapılan çalışmalar da TNF- α reseptörlerinin aktif olan çeşidine göre pro ya da anti konvulsan etki gösterdiği belirlenmiştir (Balosso ve diğ. 2013). Buna göre bizim çalışmamızda adenozin TNFR2'yi aktive ederek ya da TNFR1 reseptörünü inhibe ederek etkisini göstermiş olabilir. Status ve elektriksel konvulsif nöbetlerden sonra IL-1 β ve TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerin mRNA seviyelerinin

yükseldiği belirtilmiştir (Abdallah 2010). Tonik-klonik nöbetlerden sonra CSF’de IL-6 seviyesinin arttığı bulunmuştur (Rao vd. 2009). Bizim çalışmamızdaysa adenozin uygulanan PTZ’li grubun korteksinde kontrollere göre adenozinin IL-6 üretimini baskıladığı gösterilmiştir. IL-6^{-/-} knock out farelerde yapılan çalışma sonucunda PTZ ile oluşturulan nöbetlerde hassasiyetin arttığı ve IL-6’nın nöbet hassasiyetini azaltmakta önemli olduğu belirtilmiştir (De Sarro vd. 2004). PTZ uyguladığımız gruptaki IL-6 konsantrasyonunda anlamlı bir artış gözlemlenmemiştir. Ancak adenozinin IL-6 üretimini baskıladığı, nöbet başlama süresini uzattığı bizim çalışmamız için söylenebilir. PTZ+Adenozin ve salin grubu arasında adenzinden kaynaklanan anlamlı bir azalma söz konusudur (p<0,05). Buradan çıkarabileceğimiz sonuç var olan IL-6 nöbet oluşumu üzerinde çok etkili değildir ancak belli ölçüde baskılanması nöbet başlama süresini uzatabilir.

Son çalışmalarda pro-inflamatuar sitokin üretimi üzerine beyin ve glial hücrelerin (mikroglia ve astrositler) önemli bir etkisi olduğu gösterilmiştir (Barres 2008, Michell ve diğ. 2015). Ratlarda oluşturulan limbik nöbetlerin hipokampüsteki glialar tarafından sitokinleri hızlı ve geri dönüşümlü bir şekilde sentezlediği gösterilmiştir (Vezzani ve diğ. 2002). Biz de buna dayanarak PTZ ile oluşturulan konvulsif nöbetlerde ki sitokin artışında glial hücrelerin rol oynadığını ve adenozin uygulandığı zaman gliaların inaktivasyonunu sağlayarak sitokin konsantrasyonlarında azalmaya yol açtığını söyleyebiliriz. Başka bir çalışmada adenozinin A2a reseptörü aracılığıyla beyin hastalıklarında aktiflenen mikroglia tarafından TNF- α üretimini baskıladığı ve LPS ile uyarılmış TNF- α üretiminin primer murin mikroglia kültüründe inhibe edildiği gösterilmiştir (Newell ve diğ. 2015). Periferal kolon inflamasyonuna sahip ratlarda PTZ ile oluşturulan epilepsi modelinde inflamasyonun nöbet hassasiyetini artırdığı ve mikroglia aktivasyonu ile üretilen TNF- α ’nın bu hassasiyete katkıda bulunduğu hipokampal kesitlerde gösterilmiştir (Riazi vd. 2008). Artan inflamatuvar mediatörlerin nöbet cevaplarının sürdürülmesi ve gelişmesinde önemli olduğu ve ikinci bir epileptogenik atak ürettiği belirtilmiştir. Bunu glutamat homeostazisini modüle ederek sağlamış olabileceği düşünülmektedir (Abdallah 2010). Farelerde GABA_A reseptörünün selektif antagonisti olan bikukulin methiodid’in intrahipokampal enjeksiyonu tarafından oluşturulan nöbetlerde IL-1 β ve IL-1Ra’nın hipokampüste seviyelerinin arttığı gösterilmiş ve ekzojen olarak IL-1 β enjeksiyonunun nöbet aktivitesini daha da kötüleştirdiği ve nöbet eşik değerini azalttığı belirtilmiştir (Vezzani ve diğ. 2000).

Yuhas ve diğ erlerinin yaptı ğı çalışmada (1999) sistemik *Shigella dysenteriae* uygulanan farelerde PTZ'nin konvulsan dozuna karşı onların cevabının arttı ğını ve bu olgunun IL-1 β ve TNF- α gibi proinflatuar sitokinlerle ilişkili oldu ğunu belirtmiştir. Bu alışmalarda IL-1 β ve TNF- α üretiminin nöbet hassasiyetini artırdı ğı gösterilmektedir. İmmüsupresr ajan olan FK-506 ya da sislosporin A'nın sistemik injeksiyonunun elektriksel amigdala kindling boyunca ratlarda st 5 nöbetlerine ulaşılması engellenmiştir aynı şekilde FK-506 farede oluşturulan PTZ kindling modelinde de aynı etkiyi gösterdi ği belirtilmiştir (Moia vd. 1998 ve Singh vd 2003). Fakat ilaç geri çekildikten sonra uyarılan hayvanlarda st 5 tekrar grlmüştir. Başka bir çalışmada ise FK-506'nın PTZ nöbetlerini hızlandırdı ğı belirtilmiştir (Suzuki vd 2001). Yapılan bu çalışmalar immün sistemin nöbetlerle ilişkisini desteklemektedir.

Oksidatif parametreler incelendi ği zamansa; yapılan çalışmalara göre GSH ya da GSSG'un intraserebroventriküler kullanılmasının konvulsiyon oluşturmadı ğı ve subkutan PTZ'den önce kullanılması durumunda PTZ ile uyarılan konvulsiyonları inhibe etti ği gösterilmiştir (Abe ve di ğ. 1999,2000). Ekstraselüler alanda artan GSH seviyesinin antikonvulsan rolü oldu ğu, GSH inhibitörü kullanılarak GSH seviyesi azaldıkça nöbet hassasiyetinin arttı ğı gösterilmiş ve beyinde nöronal uyarılmanın modülasyonunda önemli oldu ğu belirtilmiştir (Abe ve di ğ. 2000).

PTZ ile uyarılan nöbetlerden sonra hipokampüsteki oksidatif hasarın artmasıyla protein oksidasyonunun ve lipit peroksidasyonunun arttı ğı, GSH ve GSSG seviyesinde de ğişlik olmadı ğı gösterilmiştir (Patsoukis ve di ğ. 2004), başka çalışmada ise lipit peroksidasyon belirteci TBARS seviyesinin beyin dokusu, karaci ğer ve eritrositlerde arttı ğı, GSH seviyesinde anlamlı şekilde azaldı ğı gözlemlenmiştir (Obay ve di ğ 2008, Dillioglugil ve di ğ. 2010). Aynı şekilde PTZ'nin tek doz kullanılmasıyla uyarılan nöbetler sonunda kontrol grubuna göre MDA konsantrasyonu, lipit peroksidasyonu ve oksidatif strete bir artışa sebep oldu ğu belirtilmiştir. MDA seviyesinin artması antioksidanların seviyesindeki azalmaya ba ğlı gerçekleşmiştir ve yükselen MDA seviyesi, azalan SOD ile birlikte oksidatif stresin arttı ğını göstermektedir (Chowdhury ve di ğ. 2013). Bunlara karşın başka bir çalışmada ise konvulsif nöbetlerin sonunda beyin dokusunda oksidatif strete anlamlı bir de ğişlik bulunamadı ğı belirtilmiştir (Devi ve di ğ. 2006). Bizim alışmamızdaysa Salin ve %8'lik Tween20 gruplarını karşılaştırdı ğımız zaman oksidatif parametreler zerine Tween20'nin salinle aynı etkiyi gösterdi ğini görmekteyiz. PTZ ve salin grubunda ise korteks ve serumdan elde edilen MDA konsantrasyonları arasında anlamlı bir sonuç elde edilmemiştir. Bu sonuçlarımız Devi ve arkadaşlarının yaptı ğı çalışmayla (2006)

uyuşmaktadır. Ancak PTZ uygulanan gruptaki korteks MDA seviyesinde salin kontrole göre artış görülmektedir. Aynı şekilde antioksidan mekanizmanın belirteci olan GSH için bu iki grup karşılaştırıldığında kortekste anlamlı bir farklılık olmadığı ancak PTZ'nin plazmada ki GSH seviyesinde anlamlı olmayan bir azalmaya neden olduğu görülmektedir. Bu sonuçlarımız yukarıda belirtilen çalışmalarla kısmen uyum içindedir.

Kafein adenzin reseptörleri aracılığıyla ROS (reaktif oksijen türleri) üretiminin düzenlenmesini, diğer biyolojik sistemler ve nöronlarda serbest radikallerin oluşmasını etkilemektedir (Abreu ve diğ. 2011). Kronik kahve ve kafein kullanımının beyin membranlarında lipid peroksidasyonunu azalttığı ve indirgenmiş glutatyon konsantrasyonunu artırdığı gösterilmiştir (Abreu ve diğ. 2011). Bir çalışmada adenzinin ROS oluşumuyla salındığı ve A1 reseptör aktivasyonu ile hipokampüste ROS'un zararlı hücresel sonuçları azalttığı belirtilmiştir (Almeida ve diğ. 2003). Başka bir çalışmada ise A2AR'nin bloklanması ya da inhibisyonu sonucunda endotel hücrelerinin oksidatif strese korunduğu gösterilmiştir (Thakur ve diğ. 2010). Kafeinin (10 mg/kg) intraperitoneal enjeksiyonu ile C57BL/6 farelerinin hipokampüsünde total GSH seviyesinde anlamlı bir artış olduğu bulunmuştur (Aoyama ve diğ.2011). Bizim sonuçlarımızda ise PTZ'den 30 dk önce uygulanan kafein grubu PTZ grubuna göre kortekste MDA konsantrasyonunda azalmaya sebep olmuştur. GSH konsantrasyonlarında ise iki grup arasında ne plazmada ne de kortekste bir anlamlılık söz konusudur. PTZ'den önce adenzin uygulanan grupla PTZ grubu karşılaştırıldığında adenzinin kortekste MDA konsantrasyonunu azalttığı görülmektedir. Tek başına adenzin uygulanması ise MDA ve GSH konsantrasyonlarında anlamlı bir artış oluşturmamıştır.

Bunların yanı sıra NO ile yapılan çalışmalar sonucunda; PTZ ile uyarılan nöbetlerde NO üretiminin aktive olması nöbet eşik değerinde azalmaya neden olmuş (Sayyah ve diğ. 2003) ayrıca ratların beyin bölgelerinde NO konsantrasyonunun PTZ enjeksiyonundan sonra arttığı belirlenmiştir (Bikjdaouene ve diğ. 2003). Akut PTZ'ye maruz kalan rat beyinlerinde nNOS aktivitesindeki değişikliklerle paralel olarak NO seviyesinde değiştiği gösterilmiştir. Benzer şekilde anti-epileptik ilaçlar olan karbamazepin, fentobarbital ve lamotrijin PTZ tarafından oluşturulan nöbetlerde NO üretimini ve nöbet yoğunluğunu azalttığı belirtilmiştir (Bikjdaouene ve diğ. 2003).

Yapılan araştırmalar da nitrik oksidin epilepside anti ya da pro-konvulsan etkilere sahip olduğu açığa çıkmıştır. Kindling ve PTZ modelinde aşırı nitrik oksit üretiminin nöronal nitrik oksit sentazın aktivasyonu ile bağlantılı olduğu belirtilirken, uyarılabilir nitrik oksit sentazın (iNOS) kindling cevapları ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (De Luca ve diğ. 2006,

Abdallah 2010). Ayrıca NO'nin nöbet başlama mekanizmasından ziyade nöbetin süresini, tipini ve devamlılığını etkileyebileceği belirtilmektedir (de Vasconcelos ve diğ. 2000). Itoh ve arkadaşlarının (2004) yaptığı çalışmada PTZ kindling modelinde nNOS'un aktivasyonu ile NO üretildiği gösterilmiş ve serebellar NO seviyesinin tonik-klonik konvülsiyonlar sonucu arttığı gözlemlenmiştir. Fakat De Luca ve ark. (2006) uyarılabilir nitrik oksit sentaz (iNOS) knock out (iNOS^{-/-}) farelerde yaptıkları deneylerde PTZ kullanıldığı zaman daha yavaşça kindlinge ulaştığını açığa çıkarmışlardır ve NO'nin epilepsinin bazı türlerinin gelişmesinde pro-epileptogenik bir rol oynayabileceği belirtilmiştir. Bizim çalışma sonuçlarımızda ise NO değerleri arasında gruplarda bir farklılık elde edilmemiştir. Bunun sebebi injeksiyondan 2 saat sonra hayvanların dekapite edilerek dokularının alınmasından dolayı olabilir. Çünkü bu süreç içinde oksidan ve antioksidan mekanizmaları çoktan devreye girmiş ve bazal seviyelerine geri dönmeye başlamış olabilirler. Ancak oksidan mekanizmalar bazal seviyelerine dönerken sitokin konsantrasyonlarının da dalgalanmalar mevcuttur. Bikjdaouene ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmaya göre PTZ injeksiyonundan 3 saat sonra aldıkları doku sonuçlarında PTZ injeksiyonunun rat beyin bölgelerinde NO konsantrasyonunu artırdığını belirtirken başka bir çalışmada ise PTZ uygulandıktan 24 saat sonra uyarılabilir nitrik oksit sentazın (iNOS) kindling cevaplarıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir (Abdallah 2010).

Çalışmamızın sonuçlarına göre PTZ ile oluşturulan konvulsif nöbetlerde adozin ve kafein uygulamasının korteks dokusunda MDA seviyesini azalttığı ancak GSH ve NO üzerine anlamlı etkisinin olmadığı gözlenmiştir.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Yaptığımız çalışmanın sonucuna göre; jeneralize konvulsif nöbetlerin inflamatuvar moleküllerin ekspresyonunu artırdığı, nöbetin inflamasyona neden olduğu görülmektedir. Ayrıca adenozerjik sistem modülasyonu inflamatuvar molekülleri baskılayarak nöbete başlangıç süresini ertelediği bulunmuştur. Böylece inflamasyon ve epilepsi arasında karşılıklı bir ilişki olduğu ve birbirlerini tetikledikleri görülmektedir. İleriki çalışmalar için reseptöre spesifik agonist ve antagonistler kullanılıp sitokin seviyesinde ki değişikliğe aracılık eden reseptör alt tipleri belirlenerek nöbet patogenezinde ki süreçler değerlendirilebilir. Ayrıca kafeinin kronik uygulamasından sonra ki değişiklikler anlamlı sonuçlar verebilir.

Elde ettiğimiz sonuçlar bize adenozinin PTZ ile uyarılan konvulsif nöbetlerde TNF- α , IL-1 β ve IL-6 seviyesini nöbet aktivitesi sonrasında anlamlı derecede azalttığını göstermektedir. Bu sitokinlerin baskılanması ile nöbetlerin tedavisi düşünülebilir ki bazı çalışmalarda bu durumlar değerlendirilmiştir. Ayrıca TNF- α reseptör modülasyonu üzerine adenozinin etkisi olabileceğini düşünmekteyiz. Bunu belirlemek içinde ileri moleküler çalışmalar planlanmaktadır.

PTZ ile uyarılan nöbetlerin oksidatif parametreleri etkilemediği, bunun kısmi bir oksidatif cevap oluşmasıyla ilgili olabileceği ve hayvanlar dekapite edilene kadar oksidatif dengenin tekrar kurulduğu düşünülmektedir. Zamana bağlı çalışma ile değerlendirmeler yapılabilir. Aynı zamanda farklı deneysel nöbet ya da epilepsi modeli kullanılarak daha ayrıntılı sonuçlar elde edilebilir.

KAYNAKLAR

- Abbas AK, Lichtman AH ve Pillai S. Basic Immunology Functions and Disorders of the Immune System Fourth Edition. Çev. Camcıoğlu Y, Deniz G. *Güneş Tıp Kitapevleri*, İstanbul 2014.
- Abdallah DM. Anticonvulsant potential of the peroxisome proliferator-activated receptor γ agonist pioglitazone in pentylenetetrazole-induced acute seizures and kindling in mice. *Brain Res.* 2010 Sep 10;1351:246-53.
- Abe K, Nakanishi K, Saito H The possible role of endogenous glutathione as an anticonvulsant in mice *Brain Research.* Volume 854, Issues 1–2, 31 January 2000, Pages 235–238
- Abe K, Nakanishi K, Saito H. The anticonvulsive effect of glutathione in mice. *Biol. Pharm. Bull.*, 22 (1999), pp. 1177–1179
- Abreu RV, Silva-Oliveira EM, Dutra Moraes MF ve diğ. Chronic coffee and caffeine ingestion effects on the cognitive function and antioxidant system of rat brains. *Pharmacology Biochemistry and Behavior.* Volume 99, Issue 4, October 2011, Pages 659–664
- Ahmadirad N, Shojaei A, Javan M. ve diğ. Effect of minocycline on pentylenetetrazol-induced chemical kindled seizures in mice. *Neurol Sci.* 2014 Apr;35(4):571-6.
- Almeida CG, de Mendonça A, Cunha RA ve diğ. Adenosine promotes neuronal recovery from reactive oxygen species induced lesion in rat hippocampal slices. *Neurosci Lett*, 339 (2003), pp. 127–130
- Arisi GM. Nervous and immune systems signals and connections: cytokines in hippocampus physiology and pathology. *Epilepsy Behav.* 2014 Sep;38:43-7.
- Aoyama K , Matsumura N, Watabe M ve diğ. Caffeine and uric acid mediate glutathione synthesis for neuroprotection. *Neuroscience.* Volume 181, 5 May 2011, Pages 206–215
- Auchampach JA, Jin X, Wan TC ve diğ. Canine mast cell adenosine receptors: cloning and expression of the A3 receptor and evidence that degranulation is mediated by the A2B receptor. *Mol Pharmacol.* 1997 Nov;52(5):846-60.
- Balosso S , Ravizza T , Aronicab E ve diğ. The dual role of TNF- α and its receptors in seizures. *Exp. Neurol.* 2013, 247, pp. 267–271
- Balosso S, Ravizza T, Perego C ve diğ. Tumor necrosis factor-alpha inhibits seizures in mice via p75 receptors. *Ann Neurol.* 2005 Jun;57(6):804-12.
- Bankstahl M, Bankstahl JP, Bloms-Funke P ve diğ. Striking differences in proconvulsant-induced alterations of seizure threshold in two rat models. *Neurotoxicology.* 2012 Jan;33(1):127-37.
- Barres BA. The mystery and magic of glia: a perspective on their roles in health and disease. *Neuron.* 2008 Nov 6;60(3):430-40.
- Bauer S, Kerr BJ, Patterson PH. The neuropoietic cytokine family in development plasticity, disease and injury. *Nat. Rev. Neurosci.*, 8, 2007, pp. 221–232
- Beckman JS, Ye YZ, Anderson PG ve diğ. Extensive nitration of protein tyrosines in human atherosclerosis detected by immunohistochemistry. *Biol Chem Hoppe Seyler* 1994;375:81-8
- Benington JH, Kodali SK, Heller HC. Stimulation of A1 adenosine receptors mimics the electroencephalographic effects of sleep deprivation. *Brain Res.* 1995 Sep 18;692(1-2):79-85.

- Bikjdaouene L, Escames G, León J ve diğ. Changes in brain amino acids and nitric oxide after melatonin administration in rats with pentylentetrazole-induced seizures. *Journal of Pineal Research*. Volume 35, Issue 1, pages 54–60, August 2003
- Bobrowski K. Free radicals in chemistry, biology and medicine: contribution of radiation chemistry. *Nukleonika*, 2005, 50, S67-S76.
- Boison D. Adenosine dysfunction in epilepsy. *Glia*. 2012 Aug;60(8):1234-43.
- Boison D, Aronica E. Comorbidities in Neurology: Is adenosine the common link? *Neuropharmacology*. 2015 Oct;97:18-34.
- Boison D, Huber A, Padrun V ve diğ. Seizure suppression by adenosine-releasing cells is independent of seizure frequency. *Epilepsia*. 2002 Aug; 43(8):788-96.
- Bora İ, Yeni SN ve Gürses C. Epilepsi. *Nobel tıp kitabevleri*. 2008
- Borycz J, Pereira MF, Melani A ve diğ. Differential glutamate-dependent and glutamate-independent adenosine A1 receptor-mediated modulation of dopamine release in different striatal compartments. *J Neurochem*. 2007 Apr;101(2):355-63. Epub 2007 Jan 24.
- Böning A, Rohrbach S, Kohlhepp L ve diğ. Differences in ischemic damage between young and old hearts-- Effects of blood cardioplegia. *Exp Gerontol*. 2015 Jul;67:3-8.
- Brundege JM, Dunwiddie TV. Modulation of excitatory synaptic transmission by adenosine released from single hippocampal pyramidal neurons. *J Neurosci*. 1996 Sep 15;16(18):5603-12.
- Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol*. 1978;52:302-10.
- Butt MS, Sultan MT. Coffee and its consumption: benefits and risks. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2011. 51(4):363-73.
- Calkins CM, Bensard DD, Heimbach JK. ve diğ. L-arginine attenuates lipopolysaccharide induced lung chemokine production. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol*. 2001;280(3):L400-408.
- Chavez-Valdez R, Wills-Karp M, Ahlawat R ve diğ. Caffeine modulates TNF-alpha production by cord blood monocytes: the role of adenosine receptors. *Pediatr Res*. 2009 Feb;65(2):203-8.
- Chen JF, Huang Z, Ma J ve diğ. A(2A) adenosine receptor deficiency attenuates brain injury induced by transient focal ischemia in mice. *J Neurosci*. 1999 Nov 1;19(21):9192-200.
- Choi J, Koh S. Role of brain inflammation in epileptogenesis. *Yonsei Med J*. 2008 Feb 29;49(1):1-18.
- Choi J, Nordli DR Jr, Alden TD. ve diğ. Cellular injury and neuroinflammation in children with chronic intractable epilepsy. *J Neuroinflammation*. 2009 Dec 19;6:38.
- Ciğer A. Erişkinlerde Epilepsi. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji ders notları. 2002; 5:115-118.
- Commins SP, Borish L, Steinke JW. Immunologic messenger molecules: cytokines, interferons, and chemokines. *J Allergy Clin Immunol*. 2010 Feb;125(2 Suppl 2):S53-72.
- Corda MG, Orlandi M, Lecca D ve diğ. Decrease in GABAergic function induced by pentylentetrazol kindling in rats: antagonism by MK-801. *J Pharmacol Exp Ther*. 1992 Aug;262(2):792-800.
- Chowdhury B, Bhattamisra SK, Das MC. Anti-convulsant action and amelioration of oxidative stress by Glycyrrhiza glabra root extract in pentylentetrazole- induced seizure in albino rats *Indian journal of Pharmacology* . Year : 2013 ,Volume : 45, Issue : 1, Page : 40-43

- Cunha RA, Milusheva E, Vizi ES ve diğ. Excitatory and inhibitory effects of A1 and A2A adenosine receptor activation on the electrically evoked [3H] acetylcholine release from different areas of the rat hippocampus. *J Neurochem*. 1994 Jul;63(1):207-14.
- De Sarro G, De Sarro A, Di Paola ED ve diğ. Effects of adenosine receptor agonists and antagonists on audiogenic seizure-sensible DBA/2 mice. *Eur J Pharmacol*. 1999 Apr 29;371(2-3):137-45.
- De Luca G, Di Giorgio RM, Macaione S, ve diğ. Amino acid levels in some brain areas of inducible nitric oxide synthase knock out mouse (iNOS^{-/-}) before and after pentylenetetrazole kindling. *Pharmacol Biochem Behav*. 2006 Dec;85(4):804-12. Epub 2007 Jan 16.
- De Sarro G, Russo E, Ferreri G, ve diğ. Seizure susceptibility to various convulsant stimuli of knockout interleukin-6 mice. *Pharmacol Biochem Behav*. 2004 Apr;77(4):761-6.
- De Simoni MG, Perego C, Ravizza T ve diğ. Inflammatory cytokines and related genes are induced in the rat hippocampus by limbic status epilepticus. *Eur J Neurosci*. 2000 Jul;12(7):2623-33.
- De Souza Bernardino TC, Teixeira AL, Miranda AS. ve diğ. Wistar Audiogenic Rats (WAR) exhibit altered levels of cytokines and brain-derived neurotrophic factor following audiogenic seizures. *Neurosci Lett*. 2015 Jun 15;597:154-8.
- De Vasconcelos AP, Gizard F, Marescaux C ve diğ. Role of nitric oxide in pentylenetetrazol-induced seizures: age-dependent effects in the immature rat. *Epilepsia*. 2000 Apr;41(4):363-71.
- De Vries EE, van den Munckhof B, Braun KP ve diğ. Inflammatory mediators in human epilepsy: A systematic review and meta-analysis. *Neurosci Biobehav Rev*. 2016 Feb 11;63:177-190.
- Delgado-Escueta AV, Ward AA Jr, Woodbury DM ve diğ. New wave of research in the epilepsies. *dv Neurol*. 1986;44:3-55.
- Devi PU, Pillai KK, Vohora D. Modulation of pentylenetetrazole-induced seizures and oxidative stress parameters by sodium valproate in the absence and presence of N-acetylcysteine *Fundamental & Clinical Pharmacology* Volume 20, Issue 3, pages 247–253, June 2006
- Dillioglulugil MO, Kir HM, Demir C ve diğ. Effect of pentylenetetrazole and sound stimulation induced single and repeated convulsive seizures on the MDA, GSH and NO levels, and SOD activities in rat liver and kidney tissues. *Brain Research Bulletin* Volume 83, Issue 6, 20 November 2010, Pages 356–359
- Dragunow M. Purinergic mechanisms in epilepsy. *Prog Neurobiol*. 1988;31(2):85-108.
- Dreifuss FE, Bancaud J, Henriksen O ve diğ. Proposal for the revised clinical and electroencephalographic classification of epileptic seizures. *Epilepsia*, 1981. 22, 489-501.
- Dringen R. Metabolism and functions of glutathione in brain. *Prog Neurobiol*, 62,2000, pp. 649–671
- Dunwiddie TV, Masino SA. The role and regulation of adenosine in the central nervous system. *Annu Rev Neurosci*. 2001;24:31-55.
- Dunwiddie TV, Hoffer BJ. Adenine nucleotides and synaptic transmission in the in vitro rat hippocampus. *Br J Pharmacol*. 1980 May;69(1):59-68.
- Ebadi M, Sharma SK. Peroxynitrite and Mitochondrial Dysfunction in the Pathogenesis of Parkinson's Disease. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2003, s. 5(3): 319-335.
- Effects of Caffeine on the Nervous System. <http://faculty.washington.edu/chudler/caff.html>
<http://science.howstuffworks.com/caffeine4.htm>
- Ellman GL. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Bio chem Biophys* 1959; 82: 70-77.

- El Yacoubi M, Ledent C, Ménard JF ve diğ. The stimulant effects of caffeine on locomotor behaviour in mice are mediated through its blockade of adenosine A(2A) receptors. *Br J Pharmacol.* 2000 Apr;129(7):1465-73.
- Feoktistov I, Biaggioni I. Adenosine A2B receptors. 1997. *Pharm. Rev.* 49:381–402
- Fischer R, Maier O, Siegemund M ve diğ. A TNF receptor 2 selective agonist rescues human neurons from oxidative stress-induced cell death. *PLoS One.* 2011;6(11):e27621.
- Forsgren L, Hauser WA, Olafsson E ve diğ. Mortality of epilepsy in developed countries: a review. *Epilepsia.* 2005;46 Suppl 11:18-27.
- Fredholm BB, Dunwiddie TV. How does adenosine inhibit transmitter release? *Trends Pharmacol Sci.* 1988 Apr;9(4):130-4.
- Fredholm BB, IJzerman AP, Jacobson KA ve diğ. International Union of Pharmacology. XXV. Nomenclature and classification of adenosine receptors. *Pharmacol Rev.* 2001 Dec;53(4):527-52.
- Friedman A, Heinemann U. Role of Blood-Brain Barrier Dysfunction in Epileptogenesis. In: Noebels JL, Avoli M, Rogawski MA, Olsen RW, Delgado-Escueta AV, editors. *Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies* [Internet]. 4th edition. Bethesda (MD): *National Center for Biotechnology Information* (US); 2012.
- Fuxe K, Ferré S, Genedani S ve diğ. Adenosine receptor-dopamine receptor interactions in the basal ganglia and their relevance for brain function. *Physiol Behav.* 2007 Sep 10;92(1-2):210-7.
- Gadient RA, Otten U. Interleukin-6 (IL-6) – a molecule with both beneficial and destructive potentials. *Prog. Neurobiol.* 52 (1997), pp. 109–140
- Gao HM, Hong JS, Zhang W, Liu B. Synergistic dopaminergic neurotoxicity of the pesticide rotenone and inflammogen lipopolysaccharide: relevance to the etiology of Parkinson's disease. *J Neurosci.* 2003, s. 23:1228 –1236.
- Germé K, Faure JB, Koning E, Nehlig A. Effect of caffeine and adenosine receptor ligands on the expression of spike-and-wave discharges in Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg (GAERS). *Epilepsy Res.* 2015 Feb;110:105-14.
- Giblin KA, Blumenfeld H. Is epilepsy a preventable disorder? New evidence from animal models. *Neuroscientist.* 2010 Jun;16(3):253-75.
- Glass M, Faull RL, Bullock JY ve diğ. Loss of A1 adenosine receptors in human temporal lobe epilepsy. *Brain Res.* 1996 Feb 26;710(1-2):56-68.
- Gouder N, Fritschy JM, Boison D. Seizure suppression by adenosine A1 receptor activation in a Mouse model of pharmacoresistant epilepsy. *Epilepsia.* 2003 Jul;44(7):877-85.
- Gouder N, Scheurer L, Fritschy JM ve diğ. Overexpression of adenosine kinase in epileptic hippocampus contributes to epileptogenesis. *J Neurosci.* 2004 Jan 21;24(3):692-701.
- Griffith JW, Sokol CL, Luster AD. Chemokines and chemokine receptors: positioning cells for host defense and immunity. *Annu Rev Immunol.* 2014;32:659-702.
- Guillet R, Dunham L. Neonatal caffeine exposure and seizure susceptibility in adult rats. *Epilepsia* 1995;36:743–9.
- Guillet R. Neonatal caffeine exposure alters seizure susceptibility in rats in an age-related manner. *Dev Brain Res* 1995;89:124–8.
- Györfy B, Kovács Z, Gulyássy P ve diğ. Brain protein expression changes in WAG/Rij rats, a genetic rat model of absence epilepsy after peripherallipopolysaccharide treatment. *Brain Behav Immun.* 2014 ;35:86-95

- Hartree EF. Determination of protein: A modification of the lowry method that gives a linear photometric response. *Analytical Biochemistry* Volume 48, Issue 2, August 1972, Pages 422-427
- Hirano T, Nakajima K, Hibi M. Signaling mechanisms through gp130: a model of the cytokine system. *Cytokine Growth Factor Rev.* 8 (1997), pp. 241–252
- Hollins C, Stone TW. Adenosine inhibition of gamma-aminobutyric acid release from slices of rat cerebral cortex. *Br J Pharmacol.* 1980 May;69(1):107-12.
- Holloway WR. Caffeine: effects of acute and chronic exposure on the behavior of neonatal rats. *Neurobehav Toxicol Teratol* 1982;4:21–32.
- Homayoun H, Khavandgar S, Dehpour AR. Anticonvulsant effects of cyclosporin A on pentylentetrazole-induced seizure and kindling: modulation by nitric oxidergic system. *Brain Res.* 2002 Jun 7;939(1-2):1-10.
- Hughes RN, Beveridge IJ. Sex and age-dependent effects of prenatal exposure caffeine on open field behavior, emergence latency and adrenal weights in rats. *Life Sci* 1990;47:2075–88.
- Huston JP, Haas HL, Boix F ve diğ. Extracellular adenosine levels in neostriatum and hippocampus during rest and activity periods of rats. *Neuroscience.* 1996 Jul;73(1):99-107.
- Ilbay G, Sahin D, Karson A, Ates N. Effects of adenosine administration on spike-wave discharge frequency in genetically epileptic rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2001 Aug;28(8):643-6.
- Itoh K, Watanabe M, Yoshikawa K, ve diğ. Magnetic resonance and biochemical studies during pentylentetrazole-kindling development: the relationship between nitric oxide, neuronal nitric oxide synthase and seizures. *Neuroscience.* 2004; 129(3) :757-66.
- Kebir H, Kreymborg K, Ifergan I. ve diğ. Human TH17 lymphocytes promote blood-brain barrier disruption and central nervous system inflammation. *Nat Med.* 2007 Oct; 13 (10) :1173-5.
- Khoshdel A, Kheiri S, Habibian R ve diğ. Lack of association between TNF- α gene polymorphisms at position -308 A, -850T and risk of simple febrile convulsion in pediatric patients. *Adv Biomed Res.* 2012; 1: 85.
- Klotz KN, Quitterer U, Englert M. Effector coupling of human A3 adenosine receptors (Abstract).2000/*Drug Dev Res* 50:80.
- Koca, H.B. 2007. Koroner Arter Hastalarında Lipit Ve Protein Oksidasyonu Ile Selenyum İçeren Antioksidanların Düzeyi. Kocatepe Üniversitesi Yüksek Lisans Tezi..
- Kocsis JD, Eng DL, Bhisitkul RB. Adenosine selectively blocks parallel-fiber-mediated synaptic potentials in rat cerebellar cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1984 Oct;81(20):6531-4.
- Kołosowska K, Maciejak P, Szyndler J, ve diğ. The role of interleukin-1 β in the pentylentetrazole-induced kindling of seizures, in the rat hippocampus. *Eur J Pharmacol.* 2014 May 15;731:31-7.
- Kovács Z, Slézia A, Bali ZK. ve diğ. Uridine modulates neuronal activity and inhibits spike-wave discharges of absence epileptic Long Evans and Wistar Albino Glaxo/Rijswijk rats. *Brain Res Bull.* 2013 Aug;97:16-23.
- Kukkonen JP, Näsman J, Akerman KE ve diğ. Modelling of promiscuous receptor-Gi/Gs-protein coupling and effector response. *Trends Pharmacol Sci.* 2001 Dec;22(12):616-22.
- Ledent C, Vaugeois JM, Schiffmann SN ve diğ. Aggressiveness, hypoalgesia and high blood pressure in mice lacking the adenosine A2a receptor. *Nature.* 1997 Aug 14; 388 (6643):674-8.
- Lehtimäki KA, Peltola J, Koskikallio E ve diğ. Expression of cytokines and cytokine receptors in the rat brain after kainic acid-induced seizures. *Brain Res Mol Brain Res.* 2003 Feb 20;110(2):253-60.
- Lin AS, Uhde TW, Slate SO ve diğ. Effects of intravenous caffeine administered to healthy males during sleep. *Depress Anxiety.* 1997;5(1):21-8.

- Linden J, Thai T, Figler H ve diğ. Characterization of human A(2B) adenosine receptors: radioligand binding, western blotting, and coupling toG(q) in human embryonic kidney 293 cells and HMC-1 mast cells. *Mol Pharmacol*. 1999 Oct;56(4):705-13.
- Löscher W. Critical review of current animal models of seizures and epilepsy used in the discovery and development of new antiepileptic drugs. *Seizure*. 2011 Jun;20(5):359-68.
- MacDonald RL, Skerritt JH, Werz MA. Adenosine agonists reduce voltage-dependent calcium conductance of mouse sensory neurones in cell culture. *J Physiol*. 1986 Jan; 370 : 75-90.
- Marston HM, Finlayson K, Maemoto T ve diğ. Pharmacological characterization of a simple behavioral response mediated selectively by central adenosine A1 receptors, using in vivo and in vitro techniques. *J Pharmacol Exp Ther*. 1998 Jun;285(3):1023-30.
- Medina A, Nicholas DJ. Interference by reduced pyridine nucleotides in the diazotization of nitrite. *Biochim Biophys Acta* 1957;23(2):440-2
- Michell-Robinson MA, Touil H, Healy LM ve diğ. Roles of microglia in brain development, tissue maintenance and repair. *Brain*. 2015 May;138(Pt 5):1138-59.
- Miura T, Tsuchida A. Adenosine and preconditioning revisited. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 1999 Feb;26(2):92-9.
- Moia LJ, Matsui H, de Barros GA ve diğ. Immunosuppressants and calcineurin inhibitors, cyclosporin A and FK506, reversibly inhibit epileptogenesis in amygdaloid kindled rat. *Brain Res.*, 648 (1994), pp. 337–341
- Murray TF, Franklin PH, Zhang G ve diğ. A1 adenosine receptors express seizure-suppressant activity in the rat prepiriform cortex. *Epilepsy Res Suppl*. 1992;8:255-61.
- Nehlig A, Daval JL, Debry G. Caffeine and the central nervous system: mechanisms of action, biochemical metabolic and psychostimulant effects. *Brain Res Rev* 1992;17:139–70.
- Newell EA, Exo JL, Verrier JD ve diğ. 2',3'-cAMP, 3'-AMP, 2'-AMP and adenosine inhibit TNF- α and CXCL10 production from activated primary murinemic microglia via A2A receptors. *Brain Res*. 2015 Jan 12;1594:27-35.
- Obay BD, Taşdemir E, Tümer C ve diğ. Dose dependent effects of ghrelin on pentylentetrazole-induced oxidative stress in a rat seizure model. *Peptides*, Volume 29, Issue 3, March 2008, Pages 448–455
- Ochiishi T, Takita M, Ikemoto M ve diğ. Immunohistochemical analysis on the role of adenosine A1 receptors in epilepsy. *Neuroreport*. 1999 Nov 26;10(17):3535-41.
- Olah ME, Stiles GL. Adenosine receptor subtypes: characterization and therapeutic regulation. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 1995;35:581-606.
- Omran A, Peng J, Zhang C ve diğ. Interleukin-1 β and microRNA-146a in an immature rat model and children with mesial temporal lobe epilepsy. *Epilepsia*. 2012 Jul;53(7):1215-24.
- Ongini E. SCH 58261: a selective A2A adenosine receptor antagonist. *Drug. Dev. Res*. 1997. 42:63–70
- Patsoukis N, Zervoudakis G, Panagopoulos NT ve diğ. Thiol redox state (TRS) and oxidative stress in the mouse hippocampus after pentylentetrazol-induced epileptic seizure. *Neurosci. Lett.*, 357 (2) (2004), pp. 83–86
- Pfizenmaier K, Wajant H, Grell M. Tumor necrosis factors in 1996. *Cytokine Growth Factor Rev*. 1996. , 7:271-277.
- Peltola J, Hurme M, Miettinen A ve diğ. Elevated levels of interleukin-6 may occur in cerebrospinal fluid from patients with recent epileptic seizures. *Epilepsy Res*. 1998;31:129–133.

- Peltola J, Palmio J, Korhonen L ve diğ. Interleukin-6 and interleukin-1 receptor antagonist in cerebrospinal fluid from patients with recent tonic-clonic seizures. *Epilepsy Res.* 2000 Oct;41(3):205-11.
- Peschon JJ, Torrance DS, Stocking KL ve diğ. TNF receptor-deficient mice reveal divergent roles for p55 and p75 in several models of inflammation. *J Immunol.* 1998 Jan 15;160(2):943-52.
- Perígolo-Vicente R, Ritt K, Gonçalves-de-Albuquerque CF ve diğ. IL-6, A1 and A2aR: a crosstalk that modulates BDNF and induces neuroprotection. *Biochem Biophys Res Commun.* 2014 Jul 11;449(4):477-82.
- Philbert MA, Beiswanger CM, Waters DK ve diğ. Cellular and regional distribution of reduced glutathione in the nervous system of the rat: histochemical localization by mercury orange and o-phthaldialdehyde-induced histofluorescence. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 107 (1991), pp. 215–227
- Plata-Salaman CR, Ilyin SE, Turrin NP ve diğ. Kindling modulates the IL-1 β system, TNF- α , TGF- β 1, and neuropeptide mRNAs in specific brain regions. *Mol Brain Res*, 2000, 75, pp. 248–258
- Porkka-Heiskanen T. Adenosine in sleep and wakefulness. *Ann Med.* 1999 Apr;31 (2) : 125-9.
- Porkka-Heiskanen T, Strecker RE, Thakkar M ve diğ. Adenosine: a mediator of the sleep-inducing effects of prolonged wakefulness. *Science.* 1997 May 23;276(5316):1265-8.
- Portas CM, Thakkar M, Rainnie DG ve diğ. Role of adenosine in behavioral state modulation: a microdialysis study in the freely moving cat. *Neuroscience.* 1997 Jul;79(1):225-35.
- Rakhade SN, Jensen FE. Epileptogenesis in the immature brain: emerging mechanisms. *Nat Rev Neurol.* 2009 Jul;5(7):380-91.
- Rao RS, Medhi B, Saikia UN ve diğ. Experimentally induced various inflammatory models and seizure: understanding the role of cytokine in rat. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2008 Oct; 18(10):760-7.
- Rao RS, Prakash A, Medhi B. Role of different cytokines and seizure susceptibility: a new dimension towards epilepsy research. *Indian J Exp Biol.* 2009 Aug;47(8):625-34.
- Raps SP, Lai JCK, Hertz L ve diğ. Glutathione is present in high concentrations in cultured astrocytes but not in cultured neurons. *Brain Res*, 493 (1989), pp. 398–401
- Ravizza T, Kostoula C, Vezzani A. Immunity activation in brain cells in epilepsy: mechanistic insights and pathological consequences. *Neuropediatrics.* 2013 Dec;44 (6): 330-5.
- Ravizza T, Lucas SM, Balosso S ve diğ. Inactivation of caspase-1 in rodent brain: a novel anticonvulsive strategy. *Epilepsia.* 2006 Jul;47(7):1160-8.
- Riazi K, Galic MA, Kuzmiski JB ve diğ. Microglial activation and TNF α production mediate altered CNS excitability following peripheral inflammation. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2008 Nov 4;105(44):17151-6.
- Ribeiro JA, Sebastião AM, de Mendonça A. Adenosine receptors in the nervous system: pathophysiological implications. *Prog Neurobiol.* 2002 Dec;68(6):377-92.
- Ritchie PK, Spagnolo BL, Krzymowski DK ve diğ. Adenosine increases interleukin-6 release and decreases tumour necrosis factor release from rat adrenal zona glomerulosa cells, ovarian cells, anterior pituitary cells and peritoneal macrophages. *Cytokine*, 9 (2009), pp. 187–189
- Rothwell NJ. Interleukin-1 and neurodegeneration. *Neuroscientist* 4:195–201 (1998).
- Rundfeldt C, Koch R, Richter A ve diğ. Dose-dependent anticonvulsant and proconvulsant effects of nitric oxide synthase inhibitors on seizure threshold in a cortical stimulation model in rats. *Eur J Pharmacol.* 1995 Feb 14;274(1-3):73-81.
- Safarzadeh E, Jadidi-Niaragh F, Motallebnezhad M ve diğ. The role of adenosine and adenosine receptors in the immunopathogenesis of multiple sclerosis. *Inflamm Res.* 2016, Pp:1-10

- Sarkisian MR. Overview of the Current Animal Models for Human Seizure and Epileptic Disorders. *Epilepsy Behav.* 2001 Jun;2(3):201-216.
- Sayyah M, Javad-Pour M, Ghazi-Khansari M. The bacterial endotoxin lipopolysaccharide enhances seizure susceptibility in mice: involvement of proinflammatory factors: nitric oxide and prostaglandins. *J. neuroscience.* 2003.08.043
- Scanziani M, Capogna M, Gähwiler BH ve diğ. Presynaptic inhibition of miniature excitatory synaptic currents by baclofen and adenosine in the hippocampus. *Neuron.* 1992 Nov;9(5):919-27.
- Schobitz B, De Kloet ER, Sutanto W ve diğ. Cellular localization of interleukin-6 mRNA and interleukin-6 receptor mRNA in rat brain. *Eur. J. Neurosci.* 5 (1993), pp. 1426–1435
- Schwaninger M, Neher M, Viegas E ve diğ. Stimulation of interleukin-6 secretion and gene transcription in primary astrocytes by adenosine. *J. Neurochem.*, 69 (1997), pp. 1145–1150.
- Sejima H, Ito M, Kishi K ve diğ. Regional excitatory and inhibitory amino acid concentrations in pentylenetetrazol kindling and kindled rat brain. *Brain Dev.* 19 (3) (1997), pp. 171–175
- Seyhan N, Canseven AG. In vivo effects of ELF MFs on collagen synthesis, free radical processes, natural antioxidant system, respiratory burst system, immune system activities, and electrolytes in the skin, plasma, spleen, lung, kidney, and brain tissues. *Electromagn Biol. Med.*, 25 (4) (2006), pp. 291–305
- Shandra AA, Godlevsky LS, Vastyanov RS ve diğ. et al. The role of TNF-alpha in amygdala kindled rats. *Neurosci. Res.* 42 (2002), pp. 147–153
- Sinha S, Patil SA, Jayalekshmy V ve diğ. Do cytokines have any role in epilepsy? *Epilepsy Res.* 2008 Dec;82(2-3):171-6.
- Singh A, Kumar G, Naidu PS ve diğ. Protective effect of FK506 (tacrolimus) in pentylenetetrazol-induced kindling in mice. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2003, 75, pp. 853–860.
- Smith RP, Louis CA, Kruszyna R ve diğ.. Acute neurotoxicity of sodium azide and nitric oxide. *Fundam Appl Toxicol.* 1991 Jul;17(1):120-7.
- Sonar S, Lal G. Role of tumor necrosis factor superfamily in neuroinflammation and autoimmunity. *Front. Immunol.* 2015, 6, p. 364
- Souza MA, Mota BC, Gerbatin RR ve diğ. Antioxidant activity elicited by low dose of caffeine attenuates pentylenetetrazol-induced seizures and oxidativ damage in rats. *Neurochem Int.* 2013 May; 62(6):821-30.
- Suzuki K, Omura S, Ohashi Y ve diğ. FK506 facilitates chemical kindling induced by pentylenetetrazole in rats. *Epilepsy Res.*, 46 (2001), pp. 279–282.
- Seeman P, Kapur S. Schizophrenia: more dopamine, more D2 receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000 Jul 5;97(14):7673-5.
- Szybala C, Pritchard EM, Lusardi TA ve diğ. Antiepileptic effects of silk-polymer based adenosine release in kindled rats. *Exp Neurol.* 2009 Sep;219(1):126-35.
- Tilek GN. Epilepside uzun latanslı refleksler ve kortikal gecikme zamanı / Long latency reflexes and cortical relay time in epilepsy. Tıpta uzmanlık tezi. Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2014.
- Thakur S, Du J, Hourani S ve diğ. Inactivation of adenosine A_{2A} receptor attenuates basal and angiotensin II-induced ROS production by Nox2 in endothelial cells. *J Biol Chem.* 285 (2010), pp. 40104–40113
- Trussell LO, Jackson MB. Adenosine-activated potassium conductance in cultured striatal neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1985 Jul;82(14):4857-61.

- Tütüncüoğlu S, Kütükçüler N, Kepe L. ve diğ. Proinflammatory cytokines, prostaglandins and zinc in febrile convulsions. *Pediatr Int*. 2001 Jun;43(3):235-9.
- Uludag IF, Bilgin S, Zorlu Y ve diğ. Interleukin-6, interleukin-1 beta and interleukin-1 receptor antagonist levels in epileptic seizures. *Seizure*. 2013 Jul;22(6):457-61.
- Urade Y, Eguchi N, Qu WM ve diğ. Sleep regulation in adenosine A2A receptor-deficient mice. *Neurology*. 2003 Dec 9;61:S94-6.
- Vezzani A, Conti M, De Luigi A ve diğ. Interleukin-1beta immunoreactivity and microglia are enhanced in the rat hippocampus by focal kainate application: functional evidence for enhancement of electrographic seizures. *J Neurosci*. 1999 Jun 15;19(12):5054-65.
- Vezzani A, Granata T. Brain inflammation in epilepsy: experimental and clinical evidence. *Epilepsia*. 2005 Nov;46(11):1724-43.
- Vezzani A, Moneta D, Conti M ve diğ. Powerful anticonvulsant action of IL-1 receptor antagonist on intracerebral injection and astrocytic overexpression in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000 Oct 10;97(21):11534-9.
- Vezzani A, Moneta D, Richichi C ve diğ. Functional role of inflammatory cytokines and antiinflammatory molecules in seizures and epileptogenesis. *Epilepsia*. 2002;43 Suppl 5:30-5.
- Vezzani A, Viviani B. Neuromodulatory properties of inflammatory cytokines and their impact on neuronal excitability. *Neuropharmacology*. 2015 Sep;96(Pt A):70-82.
- Yuhás Y, Shulman L, Weizman A ve diğ. Involvement of tumor necrosis factor alpha and interleukin-1beta in enhancement of pentylenetetrazole-induced seizures caused by *Shigella dysenteriae*. *Infect Immun*. 1999 Mar;67(3):1455-60.
- Zhang G, Franklin PH, Murray TF. Activation of adenosine A1 receptors underlies anticonvulsant effect of CGS21680. *Eur J Pharmacol*. 1994 Apr 1;255(1-3):239-43.
- Wang S, Cheng Q, Malik S ve diğ. Interleukin-1beta inhibits gamma-aminobutyric acid type A (GABA(A)) receptor current in cultured hippocampal neurons. *J Pharmacol Exp Ther*. 2000 Feb;292(2):497-504.
- Wiebe S, Camfield P, Jetté N ve diğ. Epidemiology of epilepsy: prevalence, impact, comorbidity and disparities. *Can J Neurol Sci*. 2009/ 36 Suppl 2, S7 - 16.
- Williams JL, Holman DW, Klein RS. Chemokines in the balance: maintenance of homeostasis and protection at CNS barriers. *Front Cell Neurosci*. 2014 May 28;8:154.
- Willoughby JO, Mackenzie L, Medvedev A ve diğ. Generalized convulsive epilepsy: possible mechanisms. *J Clin Neurosci*. 1999 May;6(3):189-194.
- World Of Caffeine/online/Caffeine & Neurotransmitters/ <http://worldofcaffeine.com/caffeine-and-neurotransmitters/>
- Wu LG, Saggau P. Presynaptic inhibition of elicited neurotransmitter release. *Trends Neurosci*. 1997 May;20(5):204-12.

ÖZGEÇMİŞ

1. Bireysel Bilgiler

Adı Soyadı : Fazilet DEDE
Doğum yeri ve tarihi : Rize/ 02.05.1991
Uyruğu : T.C.
Medeni Durumu : Bekar
Çalıştığı kurum : Kocaeli Üniversitesi
İletişim Adresi ve telefonu : Kocaeli Üniversitesi Tıp Fak. Fizyoloji ABD / 5070855238

2. Eğitimi

1998-2005 /Atatürk İlk-Orta Öğretim okulu
2005-2009/ Şavşat Çok Programlı Lisesi
2009-2013/ Atatürk Üniversitesi/ Fen Fakültesi/ Moleküler Biyoloji ve Genetik
Yabancı dili : İngilizce

3. Unvanları

Araştırma görevlisi

4. Mesleki Deneyimi

2014'den beri Kocaeli Üniversitesi Fizyoloji ABD'da Araştırma görevlisi

5. Görev aldığı projeler

PTZ ile induklenen konvulsif epilepside adenosin sitokin ilişkisi

6. Posterler

Dede F, Karadenizli S, Ozsoy OD, Eraldemir FC, Ateş N. The effects of adenosinergic system modulation on TNF- α and IL-1 β levels in the brain after PTZ-induced convulsive seizure . Neurizons – ‘Speak your mind’. 31st of May – 3rd of June 2016 at the Max Planck Institute for Biophysical chemistry in Göttingen, Germany. Neurizons booklet, pp:77, 2016.

Dede F, Karadenizli S, Ateş N. Adenosinerjik sistem modülasyonunun konvulsif nöbet üzerine etkisi ve sitokinlerle ilişkisi. 14. Ulusal Sinirbilim Kongresi, 26-29 Mayıs 2016 Ankara Üniversitesi/Ankara/ Türkiye. Anatomy 2016; 10(suppl 1): S1-S85, S56.



T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU



PROJE NO: 2015 /24	ARAŞTIRMANIN ADI	Konvulsif ve Non-Konvulsif Epileptik Nöbet Patogenezinde Adenozin-Sitokin İlişkisi
	SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI KURUMU	Prof. Dr. Nurbay ATEŞ/KOÜ Tıp Fak Fizyoloji Anabilim Dalı
BAŞVURU BİLGİLERİ	YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR	Arş. Gör. Dr. Fazilet DEDE, Yard. Doç. Dr. F. Ceyla ERALDEMİR, Arş. Gör. Sabriye KARADENİZLİ, Arş. Gör. Sertan ARIKAN, Arş. Gör. Özgür Doğa ÖZSOY

DEĞERLENDİRİLEN BELGE	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ ve EKLERİ	x
--------------------------	----------------------------------	---

KARAR BİLGİLERİ	Yukarıda başvuru bilgileri bulunan araştırma projesi Kocaeli Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesine dayanarak gerekece, amaç, yaklaşım ve yöntemler açısından incelenmiş olup, araştırmanın yürütülmesinin etik açıdan uygun olduğu kararına varılmıştır.
KARAR NO: KOÜ HADYEK 7/1-2015	KARAR TARİHİ: 09.07.2015

ETİK KURUL ÜYELERİ			
UNVANI/ADI SOYADI ETİK KURUL GÖREVİ	BİRİMİ	TOPLANTIYA KATILMA	KARARA KATILMA İMZA
Prof. Dr. Hüsnü EFENDİ Başkan	Kocaeli Üniversitesi (KOÜ) Tıp Fakültesi Nöroloji AD	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Doç. Dr. Mine ŞEHİRALTI Başkan Vekili, Raportör	KOU Tıp Fakültesi Tıp Tarihi ve Deontoloji AD	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Prof. Dr. Tijen UTKAN Üye	KOU Deney Hayvanları Araştırma Birimi, Tıp Fakültesi Farmakoloji AD	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Doç. Dr. Ülkem CİLASUN Üye	KOU Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi AD	<input type="checkbox"/> Katıldı <input checked="" type="checkbox"/> Katılmadı	
Yrd. Doç. Dr. Fevzi UÇKAN Üye	KOU Fen-Edebiyat Fakültesi Genel Biyoloji AD	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Prof. Dr. Güner ULAK Üye	KOU Tıp Fakültesi Farmakoloji AD	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Prof. Dr. Zafer CANTÜRK Üye	KOU Tıp Fakültesi Genel Cerrahi AD	<input type="checkbox"/> Katıldı <input checked="" type="checkbox"/> Katılmadı	
Prof. Dr. Melda YARDIMOĞLU YILMAZ Üye	KOU Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Yrd. Doç. Dr. Murat KASAP Üye	KOU Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Veteriner Hekim Cüneyt Özer Üye	KOU Deney Hayvanları Araştırma Birimi	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Veteriner Hekim Akın Ziya ÜNAL Üye	Hayvan Hakları Derneği Veterinerler Odası	<input type="checkbox"/> Katıldı <input checked="" type="checkbox"/> Katılmadı	
Asiye ASLAN Üye	Emekli Öğretmen	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	

Kocaeli Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Sekreterliği, Umuttepe Yerleşkesi, Eski İstanbul Yolu 10.km, 41380 Umuttepe / İZMİT
Tel: 0 262 303 70 15; - Faks: 0 262 303 70 03

Tez, aşağıdaki denetimler yapılarak tamamlanmıştır.

- Kapak ve iç kapak sayfalarında BİLİM UZMANLIĞI ya da DOKTORA şeklinde elde edilen unvanlar yazıldı (Kapak sayfasına danışman adı yazılmamalıdır).
- Kapak sayfasına mezun olunan PROGRAMIN (Anabilim dalının değil) adı yazıldı.
- Tez kapağı sırt kısmına kılavuzda belirtilen çizimde (yazının yönüne dikkat!) ad, program,yıl yazıldı.
- Onay sayfası uygun çizimde hazırlandı (kazanılan unvanlar BİLİM UZMANLIĞI ya da DOKTORA olmalıdır) imzalatıldı (Enstitü Müdürü'nün imzası da gereklidir, imzaların aynı renk kalemle atılmasına dikkat edilmelidir).
- Dizinler kılavuzda belirtildiği gibi sıralandı.
- Ön sayfalara i, ii, iii şeklinde Roma rakamları konuldu.
- Sayfa numaraları kılavuzda belirtildiği şekilde konuldu.
- Sayfa düzeni kılavuzda belirtildiği şekilde yapıldı.
- Ana metin yazı boyutu 12 olacak biçimde basıldı.
- Dipnot yazı boyutu 10 olacak şekilde basıldı.
- Ana metin satır aralığı 1.5 olacak şekilde yazıldı.
- Kaynaklar abecesel sıralamaya göre yazıldı.
- Kaynak gösterme ilkelerine ve yazım kurallarına uyuldu.
- Ekler kılavuzda belirtildiği gibi verildi.

17.5.2016

Danışman

İmza

Prof. Dr. Nurbay Ateş