

T. C.
İSTANBUL BİLİM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

KAİNİK ASİT UYGULAMASI İLE OLUŞTURULAN
TEMPORAL LOB EPİLEPSİSİNDE NÖROPEPTİD-Y VE
LEPTİN GENLERİNİN TRANSKRİPSİYON ANALİZİ

Biyolog İlknur TİMAÇ

YÜKSEK LİSANS TEZİ



İSTANBUL, 2013

T. C.
İSTANBUL BİLİM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

KAİNİK ASİT UYGULAMASI İLE OLUŞTURULAN
TEMPORAL LOB EPİLEPSİSİNDE NÖROPEPTİD-Y VE
LEPTİN GENLERİNİN TRANSKRİPSİYON ANALİZİ

Biyolog İlknur TİMAÇ

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Demet AKIN

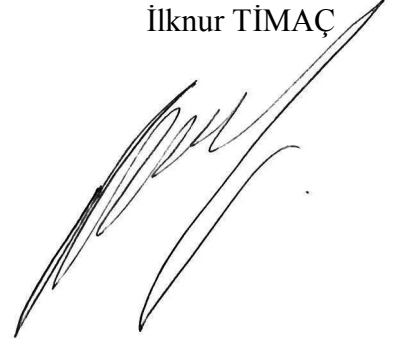
YÜKSEK LİSANS TEZİ

İSTANBUL, 2013

BEYAN

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

İlknur TİMAÇ



İÇİNDEKİLER

Sayfa No

| | |
|--|----|
| 1. ÖZET | 1 |
| 2. SUMMARY | 2 |
| 3. GİRİŞ VE AMAÇ | 3 |
| 4. GENEL BİLGİLER..... | 4 |
| 4.1. EPİLEPSİ | 4 |
| 4.1.1. Epilepsi Nedir?..... | 4 |
| 4.1.2. Epilepsinin Fizyopatolojisi..... | 4 |
| 4.1.2.1. Temporal Lob Epilepsisi | 5 |
| 4.1.3. Epilepsinin Etiyolojisi | 7 |
| 4.1.4. Uluslararası (ILAE) Sınıflandırılması | 7 |
| 4.1.5. Deneysel Epilepsi Modelleri | 9 |
| 4.1.5. Kainik Asit Modeli..... | 11 |
| 4.2. BEYİN KORTEKSİ..... | 13 |
| 4.2.1 Beyin Korteksindeki Hücre Özellikleri..... | 13 |
| 4.2.1. Beyin Korteksinde Bulunan Hücre Grupları | 13 |
| 4.3. HİPOKAMPUS..... | 15 |
| 4.3.1. Hipokampus'un Anatomisi | 15 |
| 4.3.2. Hipokampus'un Histolojisi | 15 |
| 4.3.2.1. Stratum Poliforme | 16 |
| 4.3.2.2. Stratum Piramidale | 16 |
| 4.3.2.3. Stratum Molekölare..... | 17 |
| 4.3.2.4. Hipokampal Yollar | 17 |
| 4.3.2.5. İç Bağlantılar | 17 |
| 4.3.2.6. Dış Bağlantılar..... | 18 |
| 4.3.2.7. Kortekse Ait Bağlantılar..... | 18 |
| 4.3.3. Hipokampus'un Fonksiyonları | 18 |
| 4.4. Nöropeptid Y (NPY) | 22 |
| 4.4.1. Nöropeptid Y ' nin (NPY) Tanımı | 22 |
| 4.4.2. Nöropeptid Y ' nin (NPY) Yapısı Ve Biyosentezi..... | 23 |
| 4.4.3. Nöropeptid Y ' nin (NPY) Lokalizasyonu | 23 |

| | |
|---|----|
| 4.4.4. NPY Reseptörleri ve Farmakolojik Olarak Sınıflandırılması | 24 |
| 4.4.4.1. Y1 Reseptörü..... | 26 |
| 4.4.4.2. Y2 Reseptörü..... | 27 |
| 4.4.4.3. Y3 Reseptörü..... | 27 |
| 4.4.4.4. Y4 Reseptörü..... | 28 |
| 4.4.4.5. Y5 Reseptörü..... | 28 |
| 4.4.4.6 Y6 Reseptörü..... | 28 |
| 4.4.5. NPY ve Epilepsi | 29 |
| 4.4.6. NPY' nin Prokonvülsan Etkisi | 30 |
| 4.4.7. Epilepsi Modelleri ve NPY | 30 |
| 4.4.7.1. İn Vitro Epilepsi Modelleri | 30 |
| 4.4.7.2. İn Vivo Epilepsi Modelleri..... | 32 |
| 4.4.8. NPY' nin Antiepileptik Özelliği | 32 |
| 4.5. LEPTİN | 34 |
| 4.5.1. Leptin'in Tanımı | 34 |
| 4.5.2. Leptin Reseptörleri..... | 35 |
| 4.5.3. Leptin'nin Etki Mekanizması..... | 36 |
| 4.5.4. Leptin ve Epilepsi..... | 36 |
| 5. MATERYAL VE METOD | 38 |
| 5.1. MATERYAL VE LABORATUVAR EKİPMANLARI..... | 38 |
| 5.1.1 Cihazlar | 37 |
| 5.1.2. Kimyasallar | 38 |
| 5.1.3. Kullanılan Kitler..... | 39 |
| 5.1.4. Çözeltilerin Bileşenleri ve Hazırlanışı | 39 |
| 5.1.4.1. Kainik Asit Hazırlanması | 39 |
| 5.2. ÇALIŞMA GRUBU | 39 |
| 5.3. KULLANILAN İNCELEME YÖNTEMLERİ..... | 40 |
| 5.3.1. Kainik Asit Enjeksiyonu Uygulaması | 40 |
| 5.3.2. Beyin Dokusunun Çıkarılma ve Saklama Koşulları | 40 |
| 5.3.3. Dokudan RNA izolasyonu | 40 |
| 5.3.4. cDNA Sentezi..... | 41 |
| 5.3.5. cDNA Miktarının Ölçülmesi..... | 41 |
| 5.3.6. Hedef Genlerin Q RT- PCR (Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu) ile çoğaltılması | 41 |

| | |
|--------------------------------------|----|
| 5.3.7. İstatiksel Değerlendirme..... | 42 |
| 6. BULGULAR..... | 43 |
| 7. TARTIŞMA | 45 |
| 8.SONUÇ | 48 |
| 9.TEŞEKKÜR..... | 49 |
| 10.KAYNAKLAR..... | 50 |

SİMGE VE KISALTMALAR

| | |
|------------------------|--|
| AChE | : Asetilkolinesteraz |
| ACTB | : Beta-Actin |
| AqRP | : Hipotalamik Nöropeptit-Y/ Aqoutr |
| AMPA | : α -amino-3-hidroksi-5-metil-4 izoksazol-propionat |
| ARC | : Arkuat nükleus |
| ATP | : Adenozintrifosfat |
| BDNF | : Beyin kaynaklı nörotrofik faktör |
| BF | : Bazal önbeyin |
| BK | : Ca ile aktive olan K |
| Ca⁺⁺ | : Kalsiyum |
| CCK | : Kolesistokin |
| cDNA | : Tamamlayıcı DNA |
| C-terminal | : Karboksil ucu |
| C° | : Santigrat |
| c-fos | : Hücresel onkojenik gen |
| cm² | : Santimetre kare |
| cm³ | : Santimetre küp |
| CPON | : NPY' nin C-terminal peptiti |
| CRH | : Kortikotropin salgılatıcı hormon |
| DEPC | : Diethylpyrocarbonate |
| Dh₂O | : Su |
| dk | : Dakika |
| DNA | : Deoksiribonükleikasit |
| EEG | : Elektroensefalografi |
| ERK | : Ekstrasellüler regüle edici kinaz |
| GABA | : Gama amino butirik asit |
| Gi/Go | : İnhibe edici G proteini |
| gr | : Gram |
| GTP | : Guanozin trifosfat |
| IP3 | : İnozitol trifosfat |
| ILAE | : Uluslararası epilepsi ile savaşıma derneği |
| i.p | : İntraperitoneal |

| | |
|----------------------|--|
| K⁺ | : Potasyum |
| JAK2 | : Janus protein kinaz 2 |
| kg | : Kilogram |
| LTP | : Long term potentiation |
| LH | : Lateral hipotalamik nükleus |
| MAPK | : Mitojen aktive edici protein |
| Mg | : Magnezyum |
| MeA | : Mediyal amigdala |
| mRNA | : Mesajcı ribonükleik asit |
| ml | : Mililitre |
| mm | : Milimetre |
| mg | : Miligram |
| MSS | : Merkezi sinir sistemi |
| NE | : Nöroepinefrin |
| NIS | : Nükleus traktus solitarus |
| NMDA | : N-metil-D-aspartik asit |
| NPY | : Nöropeptit Y |
| Ob | : Obez Geni |
| Ob-R-S | : Obez geni kısa formu |
| Ob-R-L | : Obez geniz uzun formu |
| PUN | : Paraventriküler |
| PP | : Pankreatik polipeptit |
| pmol | : Pikomolar |
| PYY | : Peptit YY |
| PTZ | : Pentilentetrazol |
| PBS | : Phosphate-buffered saline |
| rpm | : Revolutions per minute |
| S-hücreleri | : Slow-wave-active hücreler |
| STAT | : Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörleri |
| TLE | : Temporal lob epilepsisi |
| Q RT-PCR | : Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu |
| VIP | : Vazoaktif İntestinal Polipeptid |
| α | : Alfa |
| μl | : Mikrolitre |

İşµg : Mikrogram
µM : Mikromolar

Bezmialem Vakıf Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 25.05.2012 tarih ve 2012/345 numaralı karar ile onaylanmıştır.

Araştırma Projesi No: TBG/692011

1. ÖZET

Epileptik nöbet esnasında eksitasyon ve inhibisyon arasındaki denge eksitasyon tarafına kaymaktadır ve tüm bunlar esnasında birçok nörotransmitter madde salınmaktadır. Bu nörotransmitter maddelerin bir bölümü eksitasyonu artırırken bir bölümü ise eksitasyonu azaltmaktadır. Nöropeptit Y (NPY) ve leptin eksitasyonu azaltan maddelerden bazılarıdır. Şimdiye kadar epilepsi hayvan modellerinde yapılan birçok çalışma NPY'nin ve leptinin nöbetleri baskılama rolünü güçlü bir şekilde desteklemektedir. Aynı zamanda bu bulgular epilepsi oluşmasında NPY'nin ya da leptinin inhibitör etkisinin ortadan kalkmasının rolü olup olmayacağını da düşündürmektedir.

Bu çalışmanın amacı kainik asit ile oluşturulan temporal lob epilepsisi deney modelinde, NPY ve leptin genlerinin transkripsiyon analizlerinin yapılması ve nöbetlerinin oluşmasında ya da engellemesindeki rollerinin araştırılmasıdır.

Deneyleerde 3–4 aylık, 230–270 gr ağırlığındaki, erkek wistar cinsi sıçanlar kullanıldı. Kontrol ve kainik asit uygulanmış hayvanların beyin korteks ve hipokampus bölgelerinden elde edilen doku örneklerinde leptin ve NPY gen transkripsiyon analizi yapıldı.

Kainik asit uygulamasından sonra 4. saat ve 24. saatte çıkarılan beyin hipokampus ve korteks bölgelerinde leptin mRNA düzeylerinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında belirgin olarak artmış olduğu gözlenmiştir. Gruplar arasındaki fark Student-T testi ile istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve kontrol grubu ile kainik asit uygulamasından sonraki 4.saat ve 24.saat grubu arasında istatistiksel olarak fark bulunmuştur ($p < 0.05$). Kainik asit uygulamasından sonra 4. saat ve 24. saatte çıkarılan beyin hipokampus ve korteks bölgelerinde NPY mRNA düzeylerinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında azalmış olduğu gözlenmiştir. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Bu çalışmada azalmış NPY ve artmış leptin düzeylerinin bulunması leptinin kainik asitle oluşturulan nöbet sonrasında koruyucu bir mekanizma oluşturabileceğini düşündürmektedir.

2. SUMMARY

Excitation side of the balance between excitation and inhibition during epileptic seizures is shifting and many neurotransmitter released during all of this. This is a part of the neurotransmitter substances is a part of increasing the excitation reduces the excitation. Neuropeptide Y (NPY) and leptin are some substances that reduce excitation. So far, many studies in animal models of epilepsy seizures NPY and leptin strongly supports the role of inhibition. So far, many studies in animal models of epilepsy seizures NPY and leptin strongly supports the role of suppression. At the same time the inhibitory effect of leptin on these findings, epilepsy, or the disappearance of the role of NPY in the formation and suggest there would be.

The aim of this study was to test temporal lobe epilepsy induced by kainic acid model, NPY and leptin gene transcription analysis, NPY and leptin gene transcription analysis, and to investigate the role of seizures in the formation and blocking.

In the experiments of 3-4 months, weighing 230-270 g, male Wistar rats were used. And kainic acid applied to the control animals, the brain's cortex and hippocampus regions of leptin and NPY gene transcription in tissue samples obtained from the analysis was performed.

Kainic acid application after 4. hours and 24. in parts of the brain hippocampus and cortex of leptin mRNA extracted per levels, compared with the control group, it was observed that significantly increased. What is the difference between a Student-T test groups are statistically evaluated and kainic acid with the application of the control group for the next 4 hours and 24 hours a group of statistical the difference was found ($p < 0.05$). Kainic acid application after 4. hours and 24. extracted from the brain hippocampus and cortex parts per hour NPY mRNA levels has been observed in comparison to the control group is reduced. This difference is statistically significant.

In this study, the increased presence of leptin levels of NPY and leptin kainic reduced acid can create a protective mechanism in the wake of the seizure of the created.

3. GİRİŞ VE AMAÇ

Epilepsi, % 1 prevalansa sahip olduğu tahmin edilen, dünyada en yaygın görülen ciddi nörolojik bir durumdur. Günümüzde epilepsinin, hem sebeplerine hem de tedavisine yönelik çok sayıda araştırma yapılmış, bu araştırmaların birçoğunda deneysel epilepsi modelleri üzerinde durulmuştur. Deneysel epilepsi modelleri, epilepsinin mekanizmalarını ortaya koymak, tedavisine ışık tutmak, kullanılan epileptik ilaçlar geliştirmek ve birçok epileptik nöbetlerin temelinde yatan patolojik olayları belirlemek açısından çok önemlidir. Bu modellerden birtaneside kompleks parsiyel epilepsi modeli olan kainik asit modelidir. Kainik asit enjeksiyonu, temporal lob epilepsisindeki hipereksitabilitenin altında yatan mekanizmaları araştırmak açısından oldukça uygun bir model olma özelliğini taşımaktadır.

Bu çalışmada, temporal lob epilepsi deney modelinde nöbetlerin oluşmasında rol oynayan mekanizmaların NPY ve leptin ile ilişkisi araştırılacaktır. Santral sinir sisteminde birçok hastalığın patogenezinde giderek daha fazla önem kazanmakta olan NPY ve leptinin, insanda antiepileptik tedavideki yerinin saptanması hedeflenmiştir. Bu amaçla epileptik olmayan kontrol ve kainik asit ile oluşturulan temporal lob epilepsili sıçanlarda NPY ve leptin gen transkript analizlerinin yapılması planlanmıştır

4. GENEL BİLGİLER

4.1. EPİLEPSİ

4.1.1. Epilepsi Nedir?

Epilepsi çok yaygın görülen nörolojik bir hastalık olup, santral sinir sisteminde yer alan nöronların, ani, anormal deşarjları sonucu ortaya çıkar. Spontan tekrarlayan nöbetlerle karakterizedir ve popülasyonun %10'u hayatları boyunca en az bir kez epilepsi nöbeti yaşarlar (1).

Genel olarak popülasyonda görülme sıklığı %5–10 arasındadır. Beyinde büyük bir nöron topluluğunun birlikte ve anormal biçimde deşarj yapmaya başlayınca epileptik nöbetler görülür. Anormal nöron deşarjlarının sebepleri arasında travma, inme, kanama, oksijen yetmemesi, masküler farmosyonlar, enfeksiyon ve metabolik bozukluklar sayılabilir (2). Anormal epileptik deşarjın ortaya çıktığı nöronlar, yayıldığı anatomik yollar ve bölgeler nöbetin klinik görünümünü belirler. Klinik görünümde çeşitli tablolar gözlenir. Örneğin; Bir fonksiyonun istemsiz olarak durması (absans nöbetlerde görüldüğü gibi) veya bir fonksiyonun istemsiz olarak ortaya çıkması (fokal motor epilepside olduğu gibi) şeklinde olabilir. Epileptik deşarj korteksteki veya subkortikal yapılardaki belirli bölgelerde kalırsa buna fokal deşarj, bu deşarj sonucu ortaya çıkan klinik tabloya ise fokal epilepsi denir. Epileptik deşarjlar bir bölgede sınırlı kalacağı gibi transkortikal, transkallosal ve talamoretiküler yollarla beynin değişik bölgelerine yayılabilirler (3).

4.1.2. Epilepsi Fizyopatolojisi

Epileptik nöbetlerin fizyopatolojisi her zaman tam olarak bilinmemektedir. Bunun yanı sıra tüm epilepsi nöbetlerinde aynı fizyopatoloji görülmez (3). Epilepsiye neden olan nöronlar için epileptik nöron veya epileptojenik fokus terimi kullanılmaktadır. Epilepsili kişilerin beyinlerinde genellikle hipokampus piramidal hücrelerin CA1 nöronları ve CA2,

CA4 nöronları ‘pacemaker’ merkezler olabileceği kabul edilmektedir (4). Genellikle yapılan araştırmalar hipokampal kesitlerin bu bölgelerinde yapılmıştır.

Ultrastrüktüel çalışmalarda ise, epileptik nöronların dendritik çıkıntılarında (spine) azalma olduğu (dendritik deafferentasyon), epileptojenik fokusta yeni sinapslar oluştuğu, astrositlerin artmasıyla gliosis oluştuğu gösterilmiştir. Epiloptojenik odada yer alan gliozisli hücrelerin, hücre dışı K^+ iyonlarını tamponlama kabiliyetleri bozulduğundan, hücre dışına K^+ iyon artışına yol açarak, nöronların uyarılabilme eşiğinin düşmesine ve dolayısıyla epilepsi nöbetlerinin oluşmasına yol açarlar.

Kısaca epilepsi fizyopatolojisinde üç mekanizma çok önemlidir.

- Glia fonksiyonunun bozulması,
- GABA olmak üzere inhibitör aminoasitlerde azalma,
- Glutamat gibi aminoasitlerin artması.

Tüm bu mekanizmalar sonucunda nöronların membran potansiyelleri bozular ve bunun sonucunda nöronlarda deşarj ve eksitasyon eşiği düşmektedir (3).

4.1.2.1. Temporal Lob Epilepsisi

Temporal lob epilepsisi (TLE), en yaygın ve ilaç tedavisine en dirençli olan yetişkin fokal epilepsi türüdür. Tüm epilepsiler içinde temporal lob epilepsilerinin görülme sıklığı %30–35’ ler civarındadır. Bunlarında 2/3’ ü mesial temporal lobtadır (5).

Temporal lob nöbetlerinin nedenleri arasında hipokampal skleroz ilk sıradadır. Bunun dışında bu bölgenin benign ve malign tümörleri, viral parazitlik veya diğer enfeksiyöz nedenler, serebrovasküler hastalıklar, kortikal gelişimsel malformasyonlar, travma ve diğer yaralanmalar nedenler arasında sayılabilir.

Temporal lob epilepsilerinde tipik olarak otomatizma ile birlikte kompleks parsiyel nöbetler sıktır. Bu tablo geç çocukluk ve erken erişkin dönemde sıktır. Yaklaşık %50 hastada tek taraflı veya bilateral sekonder jeneralize tonik, klonik veya tonik-klonik nöbetler görülebilir (6).

1989 yılı itibariyle temporal lob eplepsileri 2 grup altında toplanmıştır.

I- Mesial Temporal Epilepsi: Epileptojenitesi çok yüksek olan hipokampus, amigdala ve diğer limbik yapılardan kaynaklanır. Yetişkin çağının en yaygın formudur. Hipokampal skleroz sıktır (7-8).

II- Lateral (Neokortikal) Temporal Epilepsi: Genellikle tümör, skar dokusu, vasküler malformasyon, konjenital kistler, displaziler gibi spesifik lezyonlarla karakterizedir. Neokortikal yapılardan kaynaklanan deşajlar, mezial yapılara yayılmaya büyük eğilim gösterdiğinden dolayı bu grup nöbetlerin klinik olarak ayrımı mesial temporal yapılardan kaynaklanan nöbetlerden çok daha güçtür (7).

TLE'de en önemli sorulardan bir tanesi, nöbetin nereden başladığı sorusudur. Çoğu araştırmacı nöbet başlangıç yerinin hipokampus olduğunu düşünmektedir. Temporal lobektomi yapılan hastalarla ilgili çalışmalarda, postoperatif dönemde önemli derecede nöbet azalması olduğunu göstermektedir. Hipokampal rezeksiyon yapılan hastalar ile yapılmayanlarla karşılaştırılınca, hipokampal rezeksiyon yapılan hastaların nöbet sıklığında daha fazla azalma olduğu gözlemlenmektedir. Hatta cerrahi işlemin sonrası nöbetleri devam eden çoğu vakada yeni bir cerrahi operasyonla, kalan hipokampus dokusu alınarak tedavi sağlanmıştır. Yapılan tüm çalışmalar, hipokampusun nöbet deşarjlarını başlatan nöronları içerdiğini düşündürmektedir (9).

TLE'nin hayvan modelleri ise iki majör gruba ayrılmaktadır (10).

I- Eksitotoksik bileşimlerin (kainik asit, pilokarpin) uygulanması ile indüklenen status epileptikus'u takiben gelişen spontan epilepsi durumudur.

II- Kindling ile indüklenmiş temporal lob epilepsisi olarak belirtilen elektrikle uyarılmış kronik tekrarlayan nöbetlerdir.

Kainik asit uygulaması ile oluşturulan temporal lob epilepsisi modeli için status epileptikus sırasındaki konvülsif nöbetlerin en az 3 saat boyunca saatte en az 10 kere görülmesi gerekmektedir (11). Görülen nöbetlerin sıklığı ve şiddeti, kainik asidin uygulama yolu ve dozu ile ilişkilidir. Status epileptikus'dan sonra günler veya haftalarca süren latent dönemi takiben hayvanlarda spontan konvülsif veya konvülsif olmayan epileptik nöbetler gelişmektedir. Latent dönemin süresi, geçirilen status epileptikus'un süresi ve şiddeti ile orantılıdır.

Temporal lob epilepsisinin kainik asit modelinde status epileptikus'un hipokampusta oluşturduğu nörofizyolojik ve nöropatolojik değişiklikler, insandaki ilaç tedavisine dirençli temporal lob epilepsisine benzer hatta daha ağır olmaktadır (12). Status epileptikus'dan

sonra hipokampal piramidal nöronlarda ve dentat girusun hilar polimorfik nöronlarında belirgin hasar ve gliosis ve bu nöron kaybının arkasından, mossy lifleri yolağının, dentat girusun iç moleküler tabakasına doğru filizlenmesi görülmektedir (13).

Literatürlerdeki veriler ışığında, kainik asit modelinin, ilaç tedavisine dirençli olan temporal lob epilepsisinin altında yatan nöronal mekanizmaların ve epileptogenez sürecinin araştırılması için uygun bir yöntem olduğu düşünülmektedir.

4.1.3. Epilepsinin Etiyolojisi

Epilepsiler etiyolojik yönden üç grupta incelenir;

. **İdiyopatik Epilepsiler:** Mevcut araştırma yöntemleriyle altta yatan bir nedenin gösterilemediği durumlar olarak kabul edilmektedir. Çocukluk veya genç erişkinlik döneminde başlarlar. Bu türdeki hastaların nörolojik ve mental muayeneleri normaldir. Bu hastaların karakterize bir EEG görünümleri vardır.

. **Kriptojenik Epilepsiler:** Bu gruptaki hastalar, idiyopatik epilepsi kriterlerine uymazlar. Semptomatik gibi görünen, fakat etiyolojik nedeni ortaya konulamayan epilepsilerdir.

. **Semptomatik Epilepsiler:** Bu epilepsi türü ya doğum sırasında ya da yaşantının herhangi bir döneminde beyinde ortaya çıkan bir anormalliğin sonucunda meydana gelir. Bu anormalliğin sonucu olarak epilepsiden başka sorunlar da ortaya çıkabilir. EEG incelemeleri anormalliği ortaya çıkarabilir. Bu tip epilepside ilaç tedavisinin yanıtı kişiden kişiye değişmektedir.

4.1.4. Uluslararası (ILEA) Sınıflandırması

Epilepsi, çok çeşitli şekillerde sınıflandırılmıştır. En son kabul gören sınıflandırma 1989 yılında Uluslararası Epilepsiyle Savaş Derneği (ILAE) tarafından Joseph Rogers' in başkanlığı altında toplanan komisyon tarafından yapılmıştır. 1981 ve 1989 yıllarında yapılan sınıflandırmalar birbirini tamamlayıcı iki sınıflandırmadır. Bu sınıflandırmalar günümüzde halen güncel olarak kullanılmaktadır.

Tablo 1: Epilepsilerin ve epileptik sendromların uluslar arası sınıflandırılması (ILAE 1989)

| |
|--|
| I- Parsiyel (fokal) nöbetler |
| A. Basit parsiyel nöbetler (bilinç durumu bozulmaksızın) |
| 1. Motor semptomlu (hareketlerle ilişkili bulgular söz konusudur) |
| 2. Somatosensoryel veya özel duysal semptomlu |
| 3. Otonomik semptomlu |
| 4. Psişik semptomlu |
| B. Kompleks parsiyel nöbetler (bilinç bozukluğu ile giden) |
| 1. Basit parsiyel başlangıcı izleyen bilinç bozukluğu |
| ○ Basit parsiyel başlangıcı izleyen bilinç bozukluğu |
| ○ Otomatizmlerle giden |
| 2. Bilinç durumunun başlangıçtan itibaren bozulması |
| ○ Sadece bilinç bozukluğu ile giden |
| ○ Otomatizmlerle giden |
| C. Sekonder jeneralize nöbete dönüşen parsiyel nöbetler |
| 1. Basit parsiyel nöbetin (A) jeneralize nöbete dönüşmesi |
| 2. Kompleks parsiyel nöbetin (B) jeneralize nöbete dönüşmesi |
| 3. Basit parsiyel nöbetin kompleks parsiyel nöbete dönüşmesi ve ardından jeneralize nöbete dönüşmesi |
| II- Jeneralize nöbetler (konvülfif veya konvülfif olmayan) |
| 1. Absans nöbetleri (dalma nöbetleri) |
| ○ Tipik Absans nöbetleri |
| ○ Atipik absans |
| 2. Miyoklonik nöbetler |
| 3. Klonik nöbetler |
| 4. Tonik nöbetler |

| |
|---|
| 5. Tonik-klonik nöbetler |
| 6. Atonik nöbetler (astatik) (ani düşme nöbetleri) |
| III- Sınıflandırılmayan epileptik nöbetler Yeterli bilgi olmayışı nedeni ile yukarıdaki kategorilere dahil edilemeyen nöbetlerdir. Çiğneme, ritmik göz hareketleri gibi bazı yenidoğan dönemi nöbetleri bunlardandır. |
| 1. Parsiyel: Kısmi, bütünü bir bölümü |
| 2. Somato: Vücut; sensoryel = duyu ile ilişkili |
| 3. Otonomik: İstem dışı hareketlerle ilişkili örneğin kalp hızı, terleme gibi |
| 4. Psişik: Hem akli hem de beyni etkileyen |
| 5. Otomatizm; kişinin kontrolü altında olmayan yarı amaçlı hareketler. Örneğin yalanma, yutkunma hareketleri, elbiseleri çekiştirme ve sarhoş gibi yürüme şeklinde hareketler. |
| 6. Sekonder jeneralize: Sınırlı bir bölgeden başlayıp yaygın hale dönüşen (genelde tonik-klonik nöbet oluşur) |

4.1.5. Deneysel Epilepsi Modelleri

Epilepsi hastalığının altında yatan mekanizmaların açıklanması, yeni antiepileptiklerin test edilmesi, uygun diagnostik yaklaşımların ve tedavi modalitelerinin geliştirilmesi ya da epilepsinin yol açtığı sorunların giderilmesi amacıyla yeni yaklaşımların ortaya konmasında çeşitli deneysel modeller kullanılmaktadır. Bu tip çalışmaların birkaç önemli nedeni vardır: (I) Modeli oluşturacak klinik nöbetler çeşitlidir. (II) Modellerin hiçbirisi klinik epilepsiyle aynı değildir. (III) Çeşitli modellerden elde edilen sonuçların karşılaştırılarak test edilmesi gerekir. (IV) Geliştirilen yeni metodlara ve yeni şartlara daha uygun yeni modeller oluşturulmaktadır (14).

İdeal bir epilepsi modeli aşağıdaki özelliklere sahip değildir.

- 1- Spontan olarak tekrarlayan nöbetler olmalıdır.
- 2- Nöbetler insan epilepsisine benzemelidir.
- 3- Modeldeki EEG' nin biçimi ile ilgili epilepsideki EEG biçimine benzemelidir.

4- Nöbetlerin frekansı, ilaçların etkisini akut veya kronik olarak test etmeye yetecek ölçüde değildir.

5- Antiepileptik ilaçların farmakokinetiği insandakine benzer olmalıdır.

6- Antiepileptiklerin etkili oldukları plazma ve beyin seviyeleri, insanda ilgili nöbeti önleyen seviye kadar değildir.

Bu kriterlerin tümünü karşılayan tek bir model şimdilik bilinmemektedir. Bazı araştırmacılar deneysel modelleri insandaki nöbetlere göre değil de modelin oluşturulmasına göre sınıflandırır (15). Bu sınıflandırmaya göre deneysel modeller 3 gruba ayrılmaktadır:

1-Konvülsan kimyasal madde veya elektrik uyarılarıyla oluşturulan modeller,

2-Refleks epilepsi modelleri (ses ve ışık gibi uyarımlarla başlatılan modellerdir),

3-İdiopatik modeller.

Deneysel epilepsi modellerinin insanlardaki nöbet oluşumlarına göre sınıflandırılması aşağıdaki gibidir.

Tablo 2: Deneysel Epilepsi Modellerinin Sınıflandırılması

| |
|--|
| Basit Parsiyel (Akut) |
| • Topikal konvülsanlar (Penisilin, bikukulin vb.) |
| • Akut elektriksel uyarı |
| • GABA-kesilmesi |
| • Neokorteks dilimleri |
| Basit Parsiyel (kronik) |
| • Kortekse metal verilmesi (Alüminyum hidroksit, kobalt, çinko, demir vb.) |
| • Kriyojenik hasar |
| • Gangliosit antikoru verilmesi |
| • Sistemik fokal epileptogenez |
| Jeneralize tonik-klonik |
| • Genetik (Işığa duyarlı babunlarda ve farelerde sesle oluşturulan nöbetler, Paytak ve El fareler, sıçan, gerbil ve drozofila) |
| • Maksimal elektrik şoku |

| |
|---|
| • Kimyasal elektrik şoku (Pentilentetrazol, penisilin vb.) |
| • Metabolik düzensizlik (hipoksi, hiperglisemi, hiperbarik oksijen, hiperkarbi, üremi, yüksek temperatür, ilaç kesilmesi) |
| Kompleks parsiyel |
| • Kainik asit, tetanoz toksini |
| • Fırtınalar (Tutuşma; trigger) alanına injeksiyon |
| • Tutuşma |
| • Beyin dilimleri |
| Jeneralize absans |
| • Talamus'un uyarılması |
| • Bilateral odak |
| • Sistemik penisilin |
| • Gama hidroksi bütirat |
| • I.V. opiat uygulanması |
| Status epileptikus |
| • Lityum-pilokarpin |
| • Kobalt-hemosistein |
| • Rekürrent uyarılma |

4.1.5.1. Kainik Asit Modeli

Glutamat, aspartat, quisqualat, ibotenat, domoat, kainat ve benzeri doğal aminoasitler beyine verildiklerinde konvulsiyonlara neden olurlar. Erişkin hayvanlarda glutamat kan beyin engelinden geçemezken, onun etkili analogu olan ve Japon su yosunundan elde edilen kainik asit sistemik uygulama sonucu kan beyin engelinden geçerek konvulsüyonlara ve beyinde nöron ölümüne yol açar (16). Konvulsüyonlar günlerce sürebilir.

Kainik asit sıçanda beyin ventriküllerine verildiğinde epileptik nöbetlere ve hipokampus'ta hücre ölüme sebep olur (16–17). Bu model, insan mesial temporal lob epilepsisindeki klinik değişikliklere yakın benzerlik gösterir. Medikal tedaviye yanıt

vermeyen TLE' li hastalardan alınan cerrahi materyalde, hipokampal CA1, CA3 ve CA4 bölgelerinde nöron kaybı ve reaktif gliozis olduğu gözlenmiştir (18). Benzer bir lezyon ve glial yanıt ise, sıçanlarda intraperitoneal, intraserebroventriküler ve intrahipokampal kainik asit uygulamasından sonrada görülmüştür (19). Yapılan bir başka çalışmada ise CA3 primidal nöronların ve CA4 komissürel asosiasyonel liflerin kainik asit ile hasara uğratılmasından 1–3 ay sonra, ipsilateral dentat girusun iç moleküler tabakasında çinko yönünden zengin terminallerin işaretlenmesinde artış gözlenmiştir (20).

Anestezişiz sıçanlarda kainik asitin amigdallere verilmesiyle fokal status epileptikus modeli oluştuğu bildirilmiştir (21). Epileptik nöbetlerin şiddeti ile verilen kainik asit dozu arasındada bir ilişki bulunmuştur. Örneğin; 0,4 ug gibi düşük bir doz, amigdal kaynaklı parsiyel fokal nöbetlere sebep olurken; 1,6 ug yüksek doz ikincil jeneralize status epileptikusa sebep olup, sonucundada hayvanın ölümüne neden olmaktadır. Bu aşamada diazepam verilip, hayvanların ölümünü önlemiştir (21–22).

Sıçanda kainik asitle epileptiform aktivite oluşturmak için gereken intravenöz eşik doz 4mg/kg iken, nöronal hasar için gereken eşik doz 7 mg/kg olarak belirlenmiştir (23).

Benzodiazepinler, barbituratlar ve aminooksiasetik asit gibi eksitatör aminoasit antagonistleri, sıçan ve farelerde kainik asitle oluşturulan epileptiform aktiviteyi önlemektedir (16). Bu üç grup maddenin GABA' nın etkisini arttırdığı bilinmektedir. Kainik asidin GABA üzerinden prokonvulsif etki gösterdiğini ileri sürenler bu bulguya dayanırken; diğer çalışmalar GABA sisteminin, kainik asidin konvülsan etkisini izah etmede pek önemli olmadığı göstermektedir (16). Örneğin GABA' nın etkisini artıran valproik asit beyne verilen glutamatın etkisini önlerken, kainik asidin konvulsif etkisini önlemediği görülmüştür (20).

Bizim çalışmamızdaki kainik asit verilen hayvanlardan elde edilen davranış tablosu ve yapılan çalışmalar ile elde edilen sonuçlarla, sıçanda hipokampus ve korteksin kainik asitle tahrip edilmesi yoluyla, temporal lob epilepsisine ait bir modelin oluştuğunu göstermektedir.

4.2. BEYİN KORTEKSİ

4.2.1. Beyin Korteksindeki Hücrelerin Özellikleri

İnsanda beyin korteksinin yüzeyi 2.500 cm^2 , kalınlığı 2–4 mm ve hacmi 600 cm^3 kadardır. Beyin korteksinde 10 milyardan fazla nöron olduğu sanılmaktadır. Bu sayıya glia hücreleri dahil değildir. Beyin korteksinin hücreleri tabakalar teşkil edecek şekilde dağılmışlardır. Araştırmacılar beyin korteksini tabaka sayısına ve embriyolojik orijinine göre üç bölgeye ayırmışlardır.

1-Arşikorteks

2- Paleokorteks

3- Neokorteks

Arşikorteks ile paleokorteksin ikisine birden allokorteks denir. İnsanda allokorteks bütün beyin hacminin ancak % 10' u ile ilgilidir. Filogenetik bakımdan en eski olduğu kabul edilen arşikorteks (hipokampus) ile paleokorteks üçer tabakadan meydana gelmiştir. Bir memeli beynine dışarıdan bakıldığında görülen korteks bölgelerine neokorteks denir. Genel olarak altı tabakadan meydana gelmiş olan neokorteksin iç organizasyonu diğer iki kortekstekinden daha karmaşıktır. Presantral girusta bulunan motor alanlarda IV. tabaka gelişmemiştir. Bundan dolayı söz konusu bu bölgeye agranüler korteks denir (24).

4.2.1. Beyin Korteksinde Bulunan Hücre Grupları

Beyin korteksinde bulunan hücre gövdelerinin yapı ve şekline, dentritlerinin uzunluk ve dağılımına ve aksonlarının dallanma ve sonlanmalarına göre çok çeşitli hücreler bulunmaktadır. Bunların hepsini yıldızlı hücreler (astrozitler) ve piramidal hücreler olarak iki büyük sınıfa ayırmak mümkündür.

Piramidal hücrelerdeki hücre gövdesi piramit şeklindedir. Piramidin tepe kısmı korteks yüzeyine, tabanı ise alta doğru yerleşmiştir. Piramidal nöronlar uyarıcı hücrelerdir. Motor korteksin V. tabakasında bulunan piramidal hücrelerin aksonları beyin sapına ve omuriliğe uzanır. Korteksin II. ve III. tabakalarında bulunan daha küçük piramidal nöronların aksonları ise korteksin diğer bölgelerine giderler (24).

Piramidal hücrelerde tipik bir dendrit organizasyonu görülür. Dendritler yatay ve dikey olmak üzere iki çeşittir. Yatay dendritler tabana bağlı köşelerden çıkar; hücreden ayrıldıktan sonra dallanırlar. Dikey dendritler ise hücrenin tepesinden çıkarak korteksin en üst tabakasına kadar uzanır ve yüzeye paralel dallar verir. Dikey dendrit ile ondan ayrılan dalların üzerinde diken (spine) denen çok sayıda postsinaptik çıkıntılar bulunur. Piramidal hücrelerin özel organizasyonu sayesinde çeşitli kaynaklardan beyin korteksine gelen girişler dendrit ağacının ayrı bölgelerine dağılır ve integre edilir. Ayrıca, dendritlerde sinaptik akımları artıran yükseltici bölgeler uzaklarda bulunan sinapsların daha etkili olmalarını sağlarlar. Piramidal hücrelerin aminoasit transmitterlerden glutamik asit veya aspartik asidi serbestleştirerek etki ettikleri düşünülmektedir. (24).

Yıldız hücreleri, gövdeleri yuvarlak veya oval olan nöronlardır. Aksonları korteksi terk etmez, yakın çevrede bulunan nöronlarda sonlanır. Ara nöron olan yıldız hücreleri kortekste ki kolonların içinde gerekli olan bağlantıların kurulmasını sağlar. Yıldız hücrelerinin, dendritleri dikine uzanan önemli bir çeşidi vardır. Bu hücreler doğrudan doğruya talamustaki nöronlardan bilgi olarak bu bilgiyi diğer ara nöronlara veya piramidal hücrelere dağıtırlar. Görme korteksinde bulunan ve dikenli yıldız hücreleri denen nöronlar bu sınıftandırlar. Yıldız hücreleri çok çeşitlilik gösterdiği için salgılanan transmitterler de çok çeşitlidir. Aksonları dikine uzanan bir grup yıldız hücrelerinde ya Vazoaktif İntestinal Polipeptid (VIP) veya kolesistokinin (CCK) bulunur. Her iki peptid kortekste ki nöronlarda uyarıcı etki göstermektedir. O halde bu peptitleri ihtiva eden yıldız hücreleri uyarıcı ara nöronlardır (22). Bazı yıldız hücrelerinde akson korteksin tabanına paralel olarak uzanır. Bu grubun en tipik örneği sepet hücreleridir. Sepet hücreleri postsinaptik hücreyi kuşatıp içlerine alacak biçimde bir sinaps yaptıkları için böyle adlandırılmışlardır. Sepet hücrelerinin akson terminallerinde bol miktarda glutamik asit dekarboksilaz enziminin bulunduğu tespit edilmiştir. Bu enzim inhibitör bir aminoasit transmitter olan GABA'nın sentezini katalizler. Bu durumda, sepet hücreleri duraklatıcı ara nöronlardandır. Bu hücrelerin çevre inhibisyonu meydana getirerek belli bir kolondaki hücreyi, diğer kolonlarda bulunan hücrelerin etkilerinden koruduğu, izole ettiği ve böylece kolonlara gerektiğinde bağımsız çalışma imkanı sağladığı düşünülmektedir (24).

4.3. HİPOKAMPUS (Ammon Boynuzu)

Hipokampus (Ammon Boynuzu), koronal kesitlerde denizatına benzediğinden dolayı bu terimle adlandırılmıştır. Ayrıca koçboynuzuna benzediği için "Cornu Ammonis" de denir. Hipokampus, beyin hemisferlerinin içine doğru çıkıntılar yapar ve CA1, CA2, CA3, CA4 olmak üzere değişik bölgelere ayrılmıştır (6).

Hipokampusun ventriküllere bakan yüzü alveus olarak da adlandırılmaktadır (25). Alveus aferent ve eferent liflerin bir subependimal kılıfıdır. Fimbriya ve fornikte sonlanan miyelinli liflerden oluşan bir topluluktur (6).

4.3.1. Hipokampus'un Anatomisi

Hipokampus, hipokampal fissurun derinleşerek inferior boynuzla invajine olmasıyla meydana gelmiştir. Fissürün dudakları ise girus dentatusu ve parahipokampal girusu oluşturur. Hipokampal kavisin değişik bölgeleri aynı ölçüde gelişmez (25). Hipokampal bölge (26) olarak da adlandırılan "hipokampal formasyon" (27), subikulum, hipokampus, girus dentatus gibi yapılardan meydana gelmiştir. Sıçan ve tavşanda hipokampus dorsal ve ventral olmak üzere iki kısımdan meydana gelmiştir. Dorsal hipokampus yanlardan lateral ventriküllerle çevrelenmiştir. Rostralden kaudale doğru gidildikçe iki hipokampus birleşir. Memelilerde hipokampus yapısal organizasyon açısından birbirine benzerdir. İnsanda hipokampal formasyonun en büyük kısmını hipokampus oluşturur.

4.3.2. Hipokampus'un Histolojisi

Hipokampus esas olarak 3 tabakadan oluşmaktadır. Hipokampusun bu üç esas tabakası alveustan içe doğru şu şekilde sıralanmaktadır.

1. Stratum poliforme
2. Stratum piramidale
3. Stratum molekölare

Esas tabakalardaki hücrelerin dendrit ve aksonlarının farklı şekilde düzenlenmesiyle birçok sekonder tabaka da oluşmuştur (25). Bu tabakalar, ventrikülün yüzeyini döşeyen ependim hücrelerinin hemen altında alveustan içe doğru şöyle sıralanır:

1. Stratum oriens
2. Stratum pyramidale
3. Stratum radiatum
4. Stratum lakunosum
5. Stratum molekulare

4.3.2.1. Stratum Poliforme

Bu tabaka hipokampusun en dış tabakası olup, stratum oriens olarakta adlandırılır. Alveusla stratum pyramidale arasında yer alır. Stratum poliforme tabakasında primidal hücreler bulunmaz. Bu tabaka mikroskobik görünüm itibariyle izokorteksin VI. tabakasını andırır. Stratum poliforme'nin dış zonundaki nöronların aksonları moleküler tabakaya ulaşır. İç zon nöronların bazıları alveusa diğerleri ise bu tabakadan dallanır veya primidal tabakaya geçerler (28).

4.3.2.2. Stratum Pyramidale

Bu tabakada çok sayıda piramidal hücreler ve golgi II tip hücreler bulunur. Stratum piramidal hücrelerin bazal ve apikal dendritleri komşu tabakalara, aksonları ise stratum oriens'ten geçerek alveusa girerler. Hipokampus'un sepet hücreleri çoğunlukla stratum oriens ve stratum pyramidale arasındaki geçiş zonunda bulunurlar. Bu hücrelerin aksonları alveusa geçmez. Fakat aksi yönde ilerleyerek piramidal hücre gövdelerinin çevresinde yoğun pleksus yaptıktan sonra stratum radiatum'a geçerler. Piramidal hücre aksonları geriye dönebilen kollateraller verebilirler. Bunların çoğu stratum radiatum'a girerler. Diğerleri ise stratum oriens'e geçerek forniks yoluyla hipokampus'u terkederler (25).

4.3.2.3. Stratum Molekulare

Çok az sayıda nöron içeren bu tabaka, stratum radiatum, stratum ömolekulare, stratum lakunozum olmak üzere 3 alt tabakaya ayrılır.

Stratum radiatum, geniş bir ağ yapısında olup piramidal tabakanın sınırından ışınal olarak uzanan dallara sahiptir. Stratum ömolekulare ve stratum lakunozum ise bazen diğer tabakalardan gelen zengin bir lif ağı içeren tek bir lamina olarak da kabul edilmektedir. Hipokampus, entorhinal alandan gelen önemli aferent lifler stratum lakunozum molekulare'de sonlanmaktadır (25).

4.3.2.4. Hipokampal Yollar

Hipokampal eferent liflerinin büyük bir kısmını piramidal hücreler oluşturmaktadır. Hipokampus'un aferentleri ise parahipokampal giristan ve daha çok entorhinal alandan gelmektedir. Afferent lifler perforant veya alveolar yollar ile hipokampus'a ulaşmaktadır. Entorhinal korteksten alveolar yolla gelen lifler hipokampus'un CA1 kısmına ve subikulum'un iç tabakasına, perforant yolla entorhinal alanın lateral bölgesinden gelen lifler ise girus dentatus'a ve CA4 hariç tüm hipokampus'a dağılmaktadır (25).

4.3.2.5. İç bağlantılar

Hipokampal devrenin birinci basamağını girus dentatus oluşturur. Bilgi subikulum ve dentat girus arasında yarık gibi görünen yerden atlayarak hipokampus'a girer. Bu yol ikisi arasında boşluğu perfore etmesinden (delmesinden) dolayı perforant yol olarak isimlendirilir (29). Bu yola ait bir kısım uzantılar hipokampal fissürü takip ederek yine moleküler tabakada sonlanmaktadır. Büyük bir kısmı ise CA1 ve CA3' ün stratum lakunozum molekularesinden geçerler (30).

Girus dentatus hücreleri hipokampus dışına uzantı göndermezler. Girus dentatusun granüler hücrelerinin lifleri (yosunsu lifler), girus dentatusun polimorfik tabakasında ve hipokampusun CA3 bölgesi piramidal hücrelerinin proksimal dendritleri üzerinde sinaps yaparlar (31). Girus dentatusun derin ve polimorfik tabakasında karşı tarafa uzanan assosiasyon lifleri vardır.

Forniks, subikulum ve hipokampusun büyük piramidal hücrelerinden gelen aksonlardan ibarettir. Hipokampusun ana eferent lif sistemini oluşturan bu bantta hem projeksiyon hem de komissural lifler bulunur (32–33).

4.3.2.6. Dış bağlantılar

Hipokampusun dış bağlantılarını genellikle "Papez devresi" ifade eder. Papez (1937) hipokampusu, çeşitli kortikal bölgelerden duyuşal bilginin kabul edildiği alan olarak kabul etmiştir. Forniks büyük ölçüde hipokampustan çıkan ana yolu oluşturur. Subikulum, entorhinal alan, perirhinal korteks, parahipokampal alan gibi bölgelere hatta orbitofrontal kortekse lifler gönderir. Hipokampal yapı ayrıca amigdalooid ve striatuma etki etmektedir (34).

4.3.2.7. Kortekse ait bağlantılar

Birçok dejenerasyon metoduyla sıçanda yapılan çalışmalarda, hipokampustan izokortekse direkt olan bağlantılar gösterilmiştir. Retrograd taşınma teknikleri kullanılarak yapılan başka çalışmalarda ise, perirhinal korteks (alan 35 ve 36), singulat korteks, insular korteks, ve parahipokampal girusun korteksle direkt bağlantılı olduğu gösterilmiştir (34).

4.3.3. Hipokampus'un Fonksiyonları

Hipokampus'un gerek anatomisi, gerekse histolojisi hakkında çok şey bilinmesine rağmen, hipokampus'un beyinde birçok bölge ile bağlantılı olması nedeniyle hipokampusun yapısı tam olarak anlaşılammıştır (26).

Önceleri hipokampus'un koku duyusu ile ilgili olduğu düşünülüyordu. Fakat koku duyusu alınan yolların veya bulbus olfaktoriusun gelişmediği bazı insanlarda hipokampus'un normal gelişimini tamamladığı gösterilmiştir. Fakat indirekt yollardan bulbus olfaktoriusun hipokampusla ilişkili olduğunu gösteren deliller vardır (25).

Hipokampus'un fonksiyonuyla ilgili bilgilerin birçoğu histokimyasal çalışmalar sonucunda sağlanmıştır. Asetilkolinesteraz (AChE) girus dentatusun hilusundaki hücre gövdelerinde bulunur ve piramidal hücre tabakasına dağılım göstermektedir (35–36–37). 1953' de Jansen anestezişiz kedilerde, hipokampus'un uyarılmasıyla dikkatli bakış ve arayış hareketleri gözlemlenmiştir. Kedilerin dış uyarılara karşı tepkileri azalmış, yüzlerinde görülen şaşkınlık ifadesi dikkat olarak değerlendirilmiş ve dikkatleri çevredeki herhangi bir şeye fikse olmuştur.

Bilinci yerinde olan kedilerin hipokampus'unda meydana getirilen lokal lezyonlar veya lokal uyarılar sonucunda psikomotor epilepside gözlenen davranış değişikliklerine benzemektedir. Bu hayvanlar anormal horlama, pupillar dilatasyon ve anormal korku belirtileri gösterirler. Hipokampus'tan yayılan epileptiform aktivite limbik lobun diğer kısımlarına ve en sonunda da izokortekse yayıldığı görülmüştür (38). Hipokampus'un EEG dalgaları ritmik sinüzoidal tipteki teta dalgalarıdır. Bu durum hipokampus'un spontan aktivitesini ve bilincin değişik devrelerle ilişkili olduğunu göstermektedir. Korteksin desenkronize durumlarında hipokampus senkronizasyon göstermekte ve teta dalgaları oluşmaktadır. Teta dalgalarının sadece dikkat ve uyanıklık ile değil, aynı zamanda birçok fizyolojik fonksiyonla da ilgili olduğu tespit edilmiştir (38). Hipokampus'un birçok fonksiyonla ilişkisi vardır. Bunlardan birisi hafıza özellikle kısa süreli hafızadır. Kısa süreli hafıza, yeni bilgilerin depolanma kapasitesini ifade etmektedir. Canlıda bu özelliğın bozulması, önceden edinilmiş bilgileri etkilememektedir (25). 1950' li yılların başında insanda temporal lobun medial parçalarının iki taraflı çıkarılmasından sonra belirgin bir şekilde hafıza kaybının olduğu görülmüştür.

Cluver-Bucy Sendromu da denilen bu tabloya ilişkin belirtilerden bir kısmı veya tamamı, temporal lob ameliyatları geçiren kişiler hakkında rapor edilmiştir. Bu belirtiler genel olarak şu şekildedir (39) :

1. Korku duygusu kaybolur.
2. Görülen objelere anlam verememe durumu görülür.
3. Beslenme alışkanlıklarında değişiklikler görülür. Yiyecekleri uzun süre yoklayıp kontrol ettikten sonra yer ve yiyecek olmayan cisimleri de yemeye çalışabilir.
4. Hiperseksüalite gelişir. Cins, tür, canlı, cansız ayırımı gözetmeksizin, sıklıkla seksüel aktiviteye yönelir.

Bu hastalar yeni şeyleri hafızalarında tutamamakta yeni beceriler elde edemedikleri görülmüştür. Şayet hipokampus'un tek tarafı sağlam bırakılacak olursa, herhangi ciddi bir fizyolojik bozukluğun meydana gelmediği gözlenmiştir (40). Hipokampal lezyonlarda, hafıza kaybından başka durumlar da görülür. Yeni ezberlenen şeylerin pekiştirilmesi veya bunları ifade etme, hipokampusun fonksiyonuna bağlanmaktadır (25–26). Hipokampus ve girus dentatusun iki taraflı lezyonunun uzun süreli hafızayı etkilememesinin sebebi uzun süreli hafızanın tüm serebral kortekste yerleşik olmasından kaynaklıdır. Yakın hafıza kaybının derecesi lezyon alanıyla doğru orantılıdır. Temporal lobun ön bölgesindeki iki taraflı lezyonlar hafızaya zarar vermektedir. Yaşlılığın sebep olduğu hafıza bozukluklarında, hipokampus'ta önemli miktarda hücre kaybı olduğu gözlenmiştir. Fakat hücre kaybından başka nedenlerle de hafıza kaybı görülebilir (25). Maymunlarda hipokampus ve amigdaloid'in iki taraflı çıkarılmasından sonra yapılan deneysel çalışmalarda, duyma ve görmeye bağlı hafızanın bozulduğu gösterilmiştir. Ayrıca dokunma duyusunun algılanmasında da bozulmalar görülmüştür (38). Hipokampus'un davranışsal olarak, çevrenin önemli özelliklerini ihtiva eden bir iç "kognitif harita" ya sahip olduğu hipotez olarak belirtilmiştir (41). Literatürden çıkarılan sonuçlara göre, hafızaya alma ve öğrenme beynin birçok bölgesindeki nöron topluluklarını içine alan yaygın bir işlemle yapılmaktadır. Hafızayla ilgili problemlerin çözümü için yaygın nöronal şebekelerin özelliklerinin anlaşılması ve bu maksatla, yeni biyofizik ve biyokimyasal metodların uygulanması gerekir (25).

Araştırmacılar uzun ve kısa süreli hafıza ve öğrenmenin sinapslardaki morfolojik veya fonksiyonel değişikliklerle ilgili olabileceğini ileri sürmektedirler. Kısa süreli tekrarlayan uyaranlarla forniks veya entorhinal alanın aferent aksonları stimüle edildiğinde hipokampus veya girus dentatusun granüler hücrelerinin cevabında artış görülmüştür (42).

Hipokampal formasyondan gelen ve aferentlerin çoğunu içeren forniksin kesilmesi hafıza kaybı oluşturmada yetersiz kalmaktadır. İnsan veya maymunda her iki forniks kesildikten sonra da önemli bir hafıza kaybı görülmemiştir (39).

Hipokampus'un, özellikle LTP (Long Term Potentiation) ve seçici iskemi duyarlılığı gibi konularda, memelilerde oldukça dikkat çeken bir yapıdır. LTP, ilk kez hipokampusta ortaya çıkarılan ve özellikle glutamat kullanan sinapslarda gözlenen, uzun süreli bir sinaptik ilişki türüdür. Bu uzun süreli sinaptik deşarj, öğrenmenin temel modeli olarak oldukça geniş bir araştırma konusudur (43).

Glutamat kullanan sinapslarla ilişkili olan iskemiye seçici duyarlılık da hipokampus için oldukça karakteristik bir durumdur. Özellikle memeli hipokampusunda bulunan CA1 piramidal hücre tabakasının, iskemiye takip eden reperfüzyon döneminde gecikmiş iskemik cevap sonucu seçici olarak hasara uğradığı bilinmektedir (44).

Yakın bir zamana kadar, hipokampus'taki hücre sayısının yaşlanma sürecinde, önemli ölçüde azaldığı ve bunun da yaşlılıkta görülen bunamanın sebep olabileceği düşünülmekteydi. Fakat son zamanlarda yapılan çalışmalar sonucunda, hipokampus'taki hücre kaybı ile yaşlanma arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulunmadığı anlaşılmış, yalnızca, Alzheimer hastalığına yakalanmış insanların hipokampal CA1, CA2 ve CA3 alanlarına ait piramidal hücre sayısında bir azalma tesbit edilmiştir (45).

GABA'erjik inhibitör ara nöronların ölümü, inhibisyonda azalmaya sebep olmaktadır. Bu durumda hipokampus'un esas nöron topluluklarında özelliklede CA3 alanında bulunan piramidal ve dentat granül hücrelerinde patolojik hipereksitabiliteye yol açmaktadır (46).

Sloiter yaptığı bir çalışmada, mevcut en kuvvetli fikrin aksini iddia ederek GABA immünoreaktif nöronlarının, hipokampus'taki diğer nöronlara göre nöbetlerin sebep olduğu hücre ölümüne karşı daha dirençli olduklarını göstermiştir (47). Hipokampus'ta nöbetlere bağlı olarak oluşan hücre ölümlerinin altında yatan moleküler mekanizmada, glutamat reseptör alt tipi NMDA ve intrasellüler haberleşme ile nöron ölümüne sebep olan eksitotoksik mekanizma en kuvvetli muhtemel mekanizma olmakla birlikte, yine de nöron ölümü tam olarak aydınlatılamamıştır. Nöbetler, çoğu hipokampal nöronda c-fos (hücre sel onkojenik gen) gibi bir erken genin ekspresyonuna sebep olur ve c-fos tekrarlayan şiddetli nöbetlerle, ölmek üzere olan bazı hipokampal nöronlarda gecikmeli olarak uyarılır. Bu son görüş, gen ekspresyonunun nöron ölümüne katkıda bulunabileceğini ileri sürmektedir (48).

4.4. NÖROPEPTİD Y (NPY)

4.4.1. NPY'nin Tanımı

NPY, ilk defa 1982 yılında domuz beyininden Tatamoto ve Mutt tarafından izole edilmiştir (49).

NPY'nin birçok fizyopatolojik durumlarla ilgili olduğu görülmüştür. İlk çalışmalar NPY'nin feokromasitoma için bir tümör faktörü olduğu ile ilgiliydi. Aynı zamanda NPY'nin merkezi olarak enjekte edildiğinde uzun süreli bir vazokonstriktör olduğu ve yeme davranışına sebep olduğu gösterilmiştir. Daha sonra NPY'nin peptid analogları ile yapılan farmakolojik deneylerde bu peptidin iki reseptörünün olduğu keşfedilmiştir. Sonradan ise NPY reseptörlerinin 6 tane olduğu anlaşılmış ve bu reseptörler birçok hastalığın fizyopatolojisinin araştırılmasında örneğin; yeme hastalıkları, metabolik hastalıklar, nöbet, anksiyete, hipertansiyon, konjestif kalp yetmezliği ve akciğer hastalıkları çalışmalarda kolaylaştırıcı bir role sahip olduğu görülmüştür.

NPY, yapıcı ve immünolojik olarak pankreatik polipeptide benzer ve 36 aminoasit'ten oluşur (50). Peptit YY (PYY), Pankreatik Polipeptid (PP) ve Neuropeptid Y, pankreatik polipeptid ailesine aittir (51–52–53).

NPY memeli merkezi sinir sisteminde geniş bir alanda dağılım gösterir ve üretilir. GABAerjik internöronlarda ekspresse edilir ve depolanır. Sinir terminallerinin merkezi kısımlarında yoğunlukta bulunur (54). NPY birçok farklı nörotransmitterle birlikte bulunur. Nöronal eksitabilitede kritik inhibitör düzenleyicidir.

Beynin ve vücudun farklı yerlerinde bulunan salgı hücrelerindeki nöronlar tarafından üretilir. Beyinde çok sayıda fizyolojik olaya katılır. Örneğin; enerji dengesinin düzenlenmesinde, hafıza, öğrenme ve epilepsi de rolü vardır. Ayrıca, uyku-uyanıklık siklusunun düzenlenmesi, günlük sirkadiyen ritm (55), kan basıncının düzenlenmesi (56) ve beslenme gibi birçok fizyolojik fonksiyon için gereklidir.

NPY anksiyete, yeme bozuklukları, huntington hastalığı, Alzheimer, Parkinson, epilepsi ve çeşitli nöbetlerin patogeneze karışır (57). Basit NPY nöronları kolinerjik kortikopedal nöronlar tarafından innerve edilir (58). NPY içeren terminaller kolinerjik nöronlarla simetrik sinapslar yaparlar ve inhibisyon yapıyor muş gibi varsayılabirler (58).

NPY'nin 6 adet G proteine bağlı reseptörü bulunur. Bu reseptörler Adenilat Siklazı inhibe ederler ve intrasellüler kalsiyum seviyesini düzenlerler.

NPY birçok hipotalamik nöropeptidin sekresyonunu modüle eder, kortikotropik aksı stimüle eder ve gonadotropik ve somatotropik aks üzerinde inhibe edici bir etkisi vardır. Mood (ruhsal) hastalıklarının fizyopatolojisinde önemli rolü vardır (57).

4.4.2. NPY 'nin Yapısı ve Biyosentezi

NPY 36 aminoasitten oluşan bir peptiddir ve ilk defa domuz beynin' den izole edilerek keşfedilmiştir (49). NPY ailesinin diğer peptidleri gibi peptid YY (PPY), Pankreatik Polipeptid (PP) ve NPY üç boyutlu yapıya sahiptir. Bu 3 boyutlu yapı saç tokasına benzer yapı gösterir buda tip 2 beta dönüşü ile poliprolin benzeri tip 2 heliks ve (1 den 9' a kadar olan parça) amphiphilic (amfifil) α -heliks (14 den 30 a kadar olan parça) karakterize edilmiştir. Böylece peptidlerin N- ve C-terminal sonlarının yakınlaşmasına öncülük eder (59–60). İnsanda NPY geni 7. kromozomun 7p15.1. lokusunda bulunur. 4 ekzondan oluşur. İlk kodlama çevrilmemiş bölümdür (5'-UTR). İkinci kodlanan ekzon sinyal peptidi ve olgunlaşmış NPY dizininin ana bölümüdür. Üçüncü ekzon tirozin NPY'nin tirozin³⁶, Glisin³⁷ amid donor kısmı, dibazik K³⁸-R³⁹ kısmını ayırmak için prohormon dönüştürücü kullanılır ve NPY'nin C-terminal peptidinin (CPON) ana parçasını içerir. Dördüncü ekzon kodlaması ise CPON'nin sonunu oluşturur ve 3'- UTR'dir.

NPY, sıçan beyninde paraventriküler nükleus ve arkuat nükleusta (ARC) yüksek miktarda bulunur. Fosfolipaz C γ , brain-derived neurotrophic faktör (BDNF) tarafından NPY ekspirasyonunun yerine getirilmesine aracılık eder (61). NPY mRNA ekspirasyonu glukokortikoidler tarafından da up-regüle olur (62).

4.4.3. NPY'nin Lokalizasyonu

MSS'de NPY'nin en zengin kaynağı hipotalamus'tur (63). Kısmi olarak ise paraventriküler nükleus, arkuat nükleus, suprakiazmatik nükleus, median eminens ve dorsomedial nükleus'ta bulunur (64–65–66).

NPY bazal önbeyin'de (BF) de bulunur ve bu alanda kortikal aktivasyonun düzenlenmesinde önemli role sahiptir (67–68). BF kolinerjik ve non-kolinerjik heterojen nöron popülasyonunu içerir.

Beyinde bulunan NPY nörepinefrin, GABA ve somatostatinle birlikte agouti-related protein içeren nöronlarda bulunur (69). NPY, önbeyin nöronlarında ise GABA ile birlikte bulunur (70). Basit NPY nöronları birkaç kolinerjik kortikopedal nöronlarda innerve edilir (71-72). Anestezili ratlarda, BF nöronlarının alt popülasyonu olan S hücreleri de (slow – wave –active hücreler) NPY içerirler (67).

NPY pozitif S-hücreleri GABA ile birlikte lokalizedir. S nöronlarının aktivasyonu ile salınan maddeler sadece nöropeptidlerdir (73). Anatomik verilere göre NPY kolinerjik hücrelerle iletişim içindedir fakat bu innervasyonun kaynağı bilinmemektedir. Fakat kökenini kısmi olarak lokal nöronlardan alır (71). Lokal NPY içeren hücreler kapsamlı akson kolaterallerine sahiptir. Bazıları da kolinerjik nöronlarla innerve edilirler (73). Hipokampal oluşumlarda, NPY sinir hücre gövdesi ve terminallerinde bulunur (74) ve bu yapılarda NPY reseptörleri yüksek yoğunlukta bulunmaktadır (75).

Periferde ise, NPY sempatik sinir sisteminde yoğun olarak bulunur ve nörepinefrin (NE) ile birlikte salınarak, depo edilir. Ayrıca parasempatik nöronların alt popülasyonlarında da ekspresse edilir. Periferde, adrenal medulla NPY kaynağıdır (76). Yapılan bir çalışmada deksametazonla tedavi edilen sıçanların pankreaslarının endokrin kısmında NPY ekspresse edildiği gösterilmiştir (77).

NPY sinir hücresi dışındaki diğer hücrelerde ekspresse edilmektedir. Örneğin; sıçanlarda megakaryositlerde NPY geninin ekspresse edilmekte olduğu görülmüştür (78). NPY ayrıca birçok organdaki nonsinaptik nöronlarda bulunur örneğin; gastrointestinal traktüste, tükrük bezinde, tiroid bezinde, pankreasta, ürogenital sistemde, kalpte, dalakta, kan damarlarının endotel hücrelerinde ve karaciğerde bulunur (79).

4.4.4. NPY Reseptörleri ve Farmakolojik Sınıflandırılması

NPY'nin G proteinine bağlı altı tane reseptörü vardır. Tüm bu reseptörler Gi proteinine bağlanıp adenil siklazı inhibe ederler (51–55–80). Bu reseptörler fizyolojik işlevleri yürütür.

NPY reseptörlerinden ilk keşfedilen Y1 reseptörüdür ve post-sinaptik reseptör özelliğindedir. Y2 reseptörü pre-sinaptik reseptör özelliğine sahiptir. Y3 reseptörü NPY tarafından tercih edilen bir reseptördür. Y4 reseptörü ilk bulunduğu PP reseptörü olarak biliniyordu, fakat daha sonraları NPY reseptörü olduğu anlaşıldı. Y5 reseptörü yeme davranışı ile ilgili olan reseptördür. Y6 reseptörü birçok memelide bulunur fakat sadece fare ve tavşanda fonksiyoneldir (81).

Rat merkezi sinir sisteminde Y1 ve Y2 reseptörleri baskın olarak, Y4 ve Y5 reseptörlerinden fazladır (82–83).

[Leu³¹,Pro³⁴]-NPY selektif Y1 reseptör agonistidir. [Leu³¹,Pro³⁴]-NPY non-Y2 agonistidir. Buna zıt olarak BIBP3226 (N2-(diphenylacetyl)-n-[(4-hydroxyphenyl)methyl]-D- arjinin amide) selektif ve spesifik Y1 reseptör antagonistidir (82–84).

NPY_{3–36} selektif Y2 reseptör agonistidir, bazı aktivitelerde Y5 reseptörlerine de etki ederken Y1 reseptörleri üzerinde hiç bir etkiye sahip değildir (83–84). Yapılan çalışmalarda NPY'nin iskemi fizyopatolojisinde role sahip olduğu ileri sürülmüştür. Eksitotoksik yaralanmalardan sonra NPY'nin para-lezyonel korteks etrafında arttığı gözlenmiştir (85).

Y1 reseptörü, Y2 reseptörü ve Y5 reseptörü seçici olarak NPY ve PYY ye bağlanır. PP' ye ise Y4 reseptörü ile seçici olarak bağlanır (86–87–88).

Tablo 3: NPY reseptörleri ve fiyolojik rolleri

| Fizyolojik Roller | NPY Reseptöleri |
|---|------------------------|
| Ağrı duyarlılığı | Y1,Y2 |
| Anjiyogenez | Y1,Y2 |
| Anksiyete | Y1,Y2,Y5 |
| Besin alımı | Y1,Y2,Y4,Y5 |
| Depresyon | Y1,Y2 |
| Etanol tüketimi | Y1 |
| GI motilitesinin düzenlenmesi | Y2,Y4 |
| Kan basıncının düzenlenmesi | Y1,Y2 |
| Kemik oluşumunun hipotalamik düzenlenmesi | Y2 |
| LH sekresyonu | Y1 |
| Nöbet düzenlenmesi | Y1,Y2,Y5 |

4.4.4.1. Y1 Reseptörü

NPY 'nin ilk rapor edilen reseptörüdür. İnsan, fare (54–55), kobay, domuz, köpek ve maymundan Y1 reseptör cDNA'sı izole edilmiştir. Sıçan beyinde Y1 reseptörünün mRNA'sı ile Y1 reseptör proteini birbirine çok yakındır. Serebral kortekste, talamusta, beyin sapında yoğun olarak rastlanır.

Y1 reseptörü temel olarak kan damarlarında, merkezi sinir sisteminde (ön talamus, serebral korteks, medial genikulate) ve amigdala'da bulunur. Reseptör otoradyografi yöntemi kullanılarak da Y1R bağlama kısmı serebral korteks, olfaktor nükleus, dentate girus, talamus, septum, serebellum ve paraventriküler (PVN) ve dorsomedial hipotalamik nükleuslarda belirlenmiştir (89). Y1R mRNA'sının büyük miktarı pozitif nöronlarında, kısmi olarak talamusta, limbik sistemde (hipokampus, amigdala ve stria terminallis'in bed nükleusunda) ve hipotalamusta (medial preoptik alanda, PVN, dorsomedial, ventromedial ve ARC'de) bulunduğu rat ve farede spesifik cDNA kullanılarak ve in situ hibridizasyon teknikleriyle belirlenmiştir (90). Y1R temel olarak postsinaptik olarak lokalizedir (91). Y1R varlığında nükleus accumbens nöronlarında, mediyal amigdalada (MeA) ve rat hipokampusundaki NPY–IR' si tanımlanarak Y1R'nin ayrıca presinaptik reseptör olarak etki ettiği ileri sürülmüştür (92). Y1, dentat girusun granül hücre ve dentritlerinde bol miktarda bulunur (93). Y1 reseptörlerinin mRNA' sını granül hücrelerinde yoğun miktarda bulunurken piramidal hücrelerde ise düşük miktardadır (94).

Memelilerde ve diğer canlılarda Y1R, transmembran bölgesinde gösterilmiştir. Filogenetik olarak da yüksek oranda korunmuştur (95). Y1R bağlandığında adenilat siklazı inhibe eder. Pertussis toksinine duyarlı GTP bağlama proteini Gi/Go'nun aktivasyonu ile ve intrasellüler depodan Ca⁺²,un mobilizasyonunu sağlar (96). Ayrıca Y1R, ekstrasellüler regüle edici kinazın (ERK) fosforilasyonu yoluyla mitojen aktive edici protein kinaz (MAPK) yolunu inhibe eder. Bu etkilerin PI3-kinaza bağlı olduğu gösterilmiştir (97–98).

Beyinde, Y1R NPY'nin etkisine aracılık etmektedir. Bunlar anksiyolitik etki ve stres cevaplarında (99), etanol içme davranışı (100), besin alımının stimülasyonunda (101–102) ve nöroendokrin aksınların aktivasyonunda (103), vazokonstriksiyon (104) üzerinde olan etkileridir. Y1R'nin nöbete sebep olduğunu gösteren farklı kanıtlar vardır (103–105–106).

4.4.4.2. Y2 Reseptörü

Y2 reseptörü hipokampus, talamus, hipotalamus ve beyin sapında olmak üzere beynin çeşitli bölgelerinde bulunmaktadır. Periferik sinir sisteminde sempatik, parasempatik ve sensoryal nöronlarda yer alır (53).

Y2 reseptörü merkezi ve periferik sinir sisteminde, bağırsaklarda ve kan damarlarında ekspresse edilir (87).

Y2 reseptörü, Y1 reseptörüne zıt olarak N-terminal kısmına bağlanmak istemez, fakat bağlandığı zaman ise daha güçlü etkilere sahiptir, birçok parça oluşur (yani NPY₂₋₃₆, NPY₃₋₃₆, NPY₁₃₋₃₆, NPY₁₈₋₃₆ ve NPY₂₂₋₃₆). Diğer taraftan C-terminal kısmındaki peptidler çok önemlidir. [Pro³⁴]NPY Y2 reseptörü için Y1 reseptöründen daha az afiniteye sahiptir (107). Y2 reseptörü için güçlü agonist TASP-V dir (108). Bir molekülü iki C-terminal fragmanından oluşur ve NPY₂₁₋₃₆ ile döngüsel bir kalıp oluşturur (109). Y2 reseptörü Y1 reseptörü ile tamamen zıttır ve temelde pre-sinaptik reseptördür (84).

Y2 reseptörü hipokampusta temel olarak stratum oriens ile CA1 ve CA3' ün radiatumunda bulunur (93) ve sinaptik terminallerin sırasıyla Schaffer kollateralinde ve mossy fiberlerinde bulunur (110–111). Y2 reseptör mRNA'sı CA3 piramidal hücrelerinde ve granül hücrelerinde bulunmaktadır (112). Ayrıca Y2 reseptörü insan astrositoma hücre hattında 1N319' de ekspresse edilmektedir.

4.4.4.3. Y3 Reseptörü

Y3 reseptörünün alt tipi insan adrenal medullasında, nükleus traktus solitarusunda, sıçan kardiyak membranında, öküz kromafin hücrelerinde bulunur (113). NPY'nin sebep olduğu katekolaminlerin sekresyonuna aracılık eder (76).

Rat NTS'sindeki NPY reseptörleri Y3 reseptörleri olarak sınıflandırılır. Benzer olarak, NPY, [Pro³⁴]NPY ve NPY₁₃₋₃₆ öküz kromafin hücrelerine bağlanırken, PYY ve 125I-NPY bu hücrelere bağlanmıştır ve bu hücrelerdeki NPY reseptörleri Y3 alt tipinin üyesidir (114). Y3 reseptörleri kalpte, NTS ve kromafin hücrelerde pertussis toksine duyarlı G protein aracılığı ile adenilat siklazla bağlanmış olduğu gösterilmiştir (115).

4.4.4.4. Y4 Reseptörü

Y4 reseptörü bütün vücutta geniş bir dağılıma sahiptir hem beyinde hemde periferde bulunur. Örneğin; hipotalamus, hipokampus, çizgili kas, tiroid bezi, adrenal medulla, kalp, prostat, mide, ince bağırsak, kolon, pankreas, korteks ve nazal mukoza (82–84), merkezi sinir sisteminde, serebellumda, medulla ve spiral kordda bulunur (60). Y4 reseptörü, çeşitli boyutlulardaki memeli NPY ailesinin üç üyesine bağlanır. İnsandaki Y4 reseptörünün en iyi afinitesi PP' ye karşıdır ve bundan dolayı PP' nin endojen reseptörü olabileceği düşünülmektedir (53–80–84). PP pankreasın ekzokrin sekresyonunu inhibe eder (116), safra kesesinin gevşemesini sağlar (117) ve LH sekresyonunu stimule eder (118). Y1 antagonisti olan GW1229, güçlü bir Y4 agonistidir.

4.4.4.5. Y5 Reseptörü

Bu reseptör hipotalamusta lokalizedir ve iştahı stimule eder (84–86–119). Sıçanlarda yüksek oranda beyin ve testiste yer alırken, bu dağılım insanlarda da benzerdir (53).

Y5 reseptörü, Y4 reseptör agonisti olan [Leu³¹, Pro³⁴]NPY, Y2 reseptör agonisti olan NPY₂₋₃₆ ve NPY₃₋₃₆ ve PP ile bağlanır (120). Y5 reseptörünün selektif agonisti Beck-Sickinger ve ark. (2000) tarafından bulunan [Ala³¹,Aib³²]-NPY'dir ve ratlarda besin alımını stimule ettiği görülmüştür. Y5 reseptörünün ilk olarak yeni geliştirilmiş nonpeptid antagonisti CGP71683A, kullanılarak bulunmuştur. Bu antagonist, NPY'nin sebep olduğu besin alımındaki artışta Y5 reseptörünün rolünün araştırılmasında da ayrıca faydalı olmuştur (121). Ancak yapılan başka çalışmada bu antagonistin Y5 reseptörüne bağlı yan etkiler göstermiş olduğu bulunmuştur (122). Diğer bir antagonist ise L-152,804 olup, besin alımının düzenlenmesinde NPY Y5 reseptörünün rolünün araştırılmasında faydalı olduğu gösterilmiştir (102).

4.4.4.6. Y6 Reseptörü

Y6 reseptörü farede, tavşanda, maymundada ve insan dokularında bulunduğu, Y2, Y4, Y5, reseptörleri ile benzer olduğu rapor edilmiştir. İnsan Y6 reseptörü cDNA'sının

expresyonu başarısızdır, tam olarak translate edilemez ve fonksiyonel reseptör oluşturamaz.

4.4.5. NPY ve Epilepsi

Epilepsi ile ilgili son yıllarda yapılan birçok çalışmada nöbet aktivitesinin düzenlenmesinde NPY'nin rolü olduğu görülmüştür. NPY ve pre-pro NPY mRNA seviyesi, akut nöbet sonrası bazı kortikal nöronlarda ve limbik alanlarda kısmi olarak da, frontal, piriform ve entorhinal korteks, amigdala ve hipokampusta artmış olduğu saptanmıştır (123).

Hipokampusta NPY, GABA internöronlarında eksprese edilir ve ayrıca bu nöronlar somatostatin de içerirler. Hipokampusta, hem bu internöronlarda inhibitör hemde eksitator granül hücrelerinde ve mossy fiberlerde NPY seviyesi artar (123). Peptid ekspresyonundaki değişiklikler NPY reseptör alt tiplerinde değişiklik ile birlikte olur ve böylece artan NPY' nin serbest bırakılması sırasında NPY aracılı nörotransmisyonun epileptik dokuda değişmiş olduğu düşünülmektedir (124).

İnsan ve kemirgen hipokampus kesitlerinde NPY eksitator nörotransmisyonu inhibe etmekte ve glutamat salınımını azaltmaktadır (125).

Transgenik sıçanlarda NPY'nin aşırı ekspresyonu vardır. Özellikle hipokampusun CA1 alanında epileptogeneze karşı direncin olmaması olayı düşük bir ihtimaldir ki kainatın sebep olduğu EEG nöbetlerin süresini ve sayısını anlamlı şekilde düşürdüğü gösterilmiştir (106).

Nöbet ve NPY' nin ekspresyonunun artması birbirleriyle ilişkilidir. NPY' nin çok fazla merkezi ve periferik etkisinin olmasının nedeni de farklı reseptörlere sahiptir. Bu reseptörlerde değişen ortamlara (örneğin nöbet esnasında) uyum sağlamak için adaptif değişiklikler gerçekleşir (126). NPY' nin reseptör yoğunluğu ve afinitesindeki değişiklik epileptik dokuda, nöbetin ilerlemesi ve gelişmesiyle ilgili olabilir. Y2 reseptörleri, presinaptik inhibisyona ve GABA salınımına ayrı ayrı sinir terminallerinde aracılık ederler (127).

Bazı hayvan modellerinde Y1 reseptörü ve Y5 reseptörünün seviyesi düşerken Y2 reseptörünün seviyesi arttığı gözlemlenmiştir (128). Ayrıca, temporal lob epilepsisi bulunan hastalardan elde edilen hipokampal örnekler kontrollerle karşılaştırıldığında Y2

reseptör bağlayabilme yeteneği artarken Y1 reseptör bağlayabilme yeteneğinin azaldığı görülmüştür.

Rat hipokampusunda, jeneralize nöbetler sonrasında Y1 ve Y2 reseptörleri zıt olarak değişikliğe maruz kalır. Spesifik olarak Y1 reseptör yoğunluğu granül hücre dentritlerinde azalır ve Y2 reseptör yoğunluğu ise mossy fiberlerde artmaktadır (106).

4.4.6. NPY'nin Prokonvülsan Etkisi

Normal ratlarda ve epileptik hastaların beyinlerinde NPY' nin inhibitör rolü güçlü delillerle kanıtlanmasına rağmen yeni farmakolojik kanıtlarda kemirgen modellerinden olan limbik nöbetlerde NPY'nin tamamıyla antikonvülsan etkiye sahip olmadığı ileri sürülmüştür (123). Hipokampusta nöbetleri takiben salınan NPY, prokonvülsan etkiye sahiptir ve Y1 reseptörleri aracılığı ile dentate girusun moleküler katmanlarındaki granül hücrelerinin dentritlerinde lokalizedir (93).

Y1 selektif antagonisti BIBP3226' dır. Bu maddenin nanomolar miktarlarda intrahipokampal enjeksiyonu ile kainik asitle oluşturulan EEG nöbetlerini anlamlı derecede azaltmıştır. Bu antikonvülsan etki Y1 reseptör agonisti [Leu³¹,Pro³⁴] NPY tarafından tersine çevrilir (105). Bu durum nöbete sebep olmazken wet dog shakes'e sebep olur ve bu davranışlar da dentate girusdaki granül hücrelerinin aktivasyonu ile ilgilidir. Bu mekanizma henüz kesin değildir, çünkü Y1 reseptörü granül hücrelerinde yoğun bir dağılıma sahiptir ve Ca⁺² akımının baskılanmasına aracılık ettiği gösterilmiştir. Y1 reseptörlerinin epileptik dokudaki aktivasyonu Ca⁺² ya bağlı K⁺ akımının inhibisyonu sonucunda eksitabilitenin artmasıyla gerçekleşir. Bu eksitasyon yolu çoğu normal DRG hücrelerinde anlamlı değildir. Bu anatomik olarak duyu hücrelerinde önemli hale gelmektedir epileptik odaktaki granül hücrelerinin özelliklerindeki benzer değişiklik oranları artmaktadır (129).

4.4.7. Epilepsi Modelleri ve NPY

4.4.7.1. İn Vitro Epilepsi Modelleri

NPY'nin, birkaç in vitro epilepsi modellerinde nöbetleri inhibe ettiği gözlemlenmiştir. İn vitro yapılan ilk çalışmalarda NPY fragmanlarının hipokampal CA1

alanında NPY'nin presinaptik etkisinde Y2 reseptörünün tam etkili olduğu ileri sürülmüştür (130).

Elektriksel stimülasyonun sebep olduğu nöbet benzeri davranışlar NPY ve ilgili peptidlerle tamamıyla inhibe edilir. Bu da Y2 reseptörlerinin nöbet sırasındaki davranışları ile ilişkilidir. İki NPY reseptörü Y2 ve Y5 hipokampustaki epileptiform aktiviteyi baskılar. Hipokampusta hem Y2 hemde Y5 presinaptik reseptörlerin bağlanmasıyla, Ca^{+2} akımının modülasyonu yoluyla NPY glutamat salınımını inhibe eder (131).

Frontal neokorteks kesitlerinde $O-Mg^{+2}$ solüsyonunun neden olduğu nöbet aktivitesine karşı NPY test edilmiş ve sonucunda, NPY'nin nöbet aktivitesini baskıladığı görülmüştür (132).

Elektrofizyolojik ve farmakolojik çalışmalarda, NPY'nin nöbet aktivitesine ve eksitator sinaptik transmisyonun modülasyonuna etkili olduğu açıklanmıştır. Sıçan hipokampal kesitlerindeki piramidal hücrelerde glutamat salınımının inhibisyonuna NPY'nin Y2 reseptörleri predominant olarak etkilidir. Bu inhibisyon presinaptik sinir terminallerine Ca^{+2} akışını azaltılması ile sağlanır (111).

NPY, hipokampustaki sinaptik inhibisyonunda etkili olmamasından dolayı, hipokampal glutamat salınımındaki etkisi selektiftir (133).

İntrasellüler kayıtlarda alınan verilere göre sıçanlarda NPY'nin dentate girusun granül hücrelerindeki sinaptik eksitasyon üzerinde etkiye sahip olmadığı ileri sürülmüştür (111). Fakat bu hücrelerin sinaptik eksitasyonlarını inhibe ettiği, insan epileptik hipokampusundan alınan hücrelerde gösterilmiştir.

Rat granül hücrelerinde yapılan bazı çalışmalarda da NPY'nin direkt olarak postsinaptik eksitator etkiye sahip olduğu ileri sürülmüştür (111). NPY'nin Y1 reseptörü soma ve granül hücrelerinin hipokampal kesitlerinde N-tipi kalsiyum kanalları yoluyla Ca^{+2} akışını inhibe eder (129).

Tüm bu modellerde reseptörler için bazı düzenleyici mekanizmalar mevcuttur. Örneğin; bütün mutant farelerin hipokampal alanlarında Y1 reseptör bağlama bölümleri düşüktür. Fakat bu in-situ hibridizasyon tekniği ile anlamlı bir şekilde açıklanamamıştır. Y1 down-regülasyonu post-transkripsiyonal olarak gerçekleşir. $O-Mg^{+2}$ modelinde in vitro elektrotlardan alınan kayıtlarda, Y2 -/- farelerde Y5 reseptörünün bağlayabilme kapasitesi dorsal hipokampusta azalırken ventral hipokampusta ise böyle olmadığı gösterilmiştir. Buna benzer yöntemlerle Y1, Y5 reseptörlerinin down-regülasyonu gösterilmiştir. Ayrıca

Y5 reseptörünün bağlanabilme yeteneğinin uzun süreli azaldığına nöbetlerin sebep olduğu da gösterilmiştir.

4.4.7.2. İn Vivo Epilepsi Modelleri

Birkaç in vivo epilepsi modelinde NPY'nin antiepileptik etkisi kanıtlanmaya çalışılmıştır. Kainik asitin sistemik uygulamasının sebep olduğu motor ve EEG nöbetler üzerine NPY'nin intraserebroventriküler enjeksiyonlarının Y5 reseptörü aracılığı ile antikonvülsan etkiye aracılık ettiği görülmektedir (134).

NPY'nin hipokampus içine infüzyonu sıçanlarda kindling mekanizmasının oluşmasını geciktirdiği görülmüştür. Ayrıca anti-NPY antikorları ile de aynı şekilde tutuşma mekanizması gecikmiştir (135).

İN vivo şartlarda NPY uygulanması farelerdeki nöbete karşı olan hassasiyeti azalttığı görülmüştür (136). Bununla birlikte birkaç farklı in vivo sonuçlar, epilepsi modellerinde NPY'nin antiepileptogenetik ve antiaksiyatör olarak etkili olduğunu desteklemektedir.

4.4.8. NPY'nin Antiepileptik Özelliği

NPY'nin hipokampustaki temel rolü nöronal eksitabiliteyi modüle ederek eksitatör sinaptik geçişi ve glutamat salınımını inhibe etmektir (137). Elektrofizyolojik çalışmalarda da NPY'nin kortikal glutamat transmisyonunu inhibe ederek presinaptik inhibisyonu sağladığı gösterilmiştir (132).

Epileptiform aktivitenin in vitro modellerinde yapılan birçok çalışmada NPY'nin antiepileptik etkisi tekrar tekrar bulunmuştur. Pikrotoksinin varlığında elektrik stimülasyonunun sebep olduğu deşarjlarda CA1 hücre gövdesi katmanında NPY'nin deşarj sayısını düşürmüştür (138).

NPY'nin antikonvülsan etkisine Y2 ve Y5 reseptörleri aracılık eder. NPY'nin Y2 ile birlikte peptid fragmanı olduğu ve deşarjların inhibisyonuna sebep olduğu, buna karşılık Y1 reseptör aktivasyonunda ise deşarjların inhibisyonuna sebep olmadığı anlaşılmıştır (139). Hipokampal kesitlerde de NPY'nin Y2 reseptörünün presinaptik aktivasyonu ile glutamat salınımı baskılandığı görülmüştür (136). Elektrofizyolojik çalışmalarla Y2 reseptörlerinin akson terminallerinde bulunduğu gösterilmiştir. Bunlar nörotransmitterlerin

salınımının inhibisyonunda etkilidir. Bu inhibisyonu da voltaj bağılı Ca^{+2} kanallarının aktivasyonunun modülasyonu sağlar (127).

Y2 reseptör aktivasyonunun epileptiform aktiviteyi birçok epilepsi modelinde inhibe ettiği gösterilmiştir. Y2 reseptöründen yoksun farelerde intrahipokampal kainik asit uygulanması sonucunda artan bir epileptik aktivite görülmüştür. Bu sonuçla da Y2 reseptörünün NPY'nin antikonvülsan etkisine aracılık ettiğini söylemek mümkün olmuştur (129–140). Kainik asitin sebep olduğu nöbetlerde konvülsan enjeksiyondan 4 ile 6 saat sonra hızlı şekilde hipokampusun CA1 bölgesinde, Y2 reseptörlerindeki afinite artar. Kainat enjeksiyonundan 24 saat sonra Y2 reseptör mRNA'sı belirgin şekilde granül hücrelerinde artar ve mossy fiberlerindeki 3–10 gün sonraki Y2 reseptör ekspirasyonuna öncülük eder (112).

Y5 reseptör proteini hipokampusta çok az miktarda görülür (89–119–137). Y5 reseptörünün antikonvülsan mekanizmaya ektrahipokampal reseptör olarak de aracılık ettiği belirtmiştir (141). Kainatın sebep olduğu nöbetlerde Y5 reseptörleri antikonvülsan etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (141). Selektif Y1 reseptör antagonistinin ise buna zıt olarak kainik asitin sebep olduğu nöbetleri inhibe eder ve sıçanlarda kindling epileptogenezi geciktirir (105). Ayrıca Y5 reseptöründen yoksun fareler de nöbetlerden çok fazla etkilenirler (141).

Diğer çalışmalarda Y5 reseptör alt tipi NPY'nin antikonvülsan özelliğine aracılık ettiği gösterilmiş, kainik asitle oluşturulan nöbetlerde de NPY agonistleri inhibe edildiği görülmüştür. Bu NPY agonistlerinin farmakolojik profili Y5 reseptörüne benzerlik göstermektedir (142).

Bu sonuçlara göre, Y5 reseptörünün kısmi olarak NPY'nin antiepileptik aktivitesine aracılık ettiği ileri sürülmekte olup, limbik nöbetlerde Y5 reseptörünün modülasyon rolünü üstlendiğini kanıtlamaktadır. Y5 reseptörü normal hipokampal fonksiyon için etki göstermez. Limbik alanlarda, NPY'nin inhibitör etkisi vardır. NPY, Sıçanlarda kainatın sebep olduğu EEG nöbetleri azaltır. Bu antikonvülsan etki Y1/Y5 agonisti [Leu^{31},Pro^{34}] NPY tarafından geri döndürülür (142). Sürekli nöbetlerde örneğin status epileptikus'da rat beyninde kainik asitin ya da elektrik stimülasyonunun sebep olduğu limbik alanlardaki nöbetlerde, NPY'nin ekspirasyonun artmakta olduğu görülmüştür (143).

NPY geninin silinmesi ile yapılan genetik çalışmalarda ise NPY'nin epilepsideki koruyucu rolünü desteklemiştir.

Sistemik kainik asit ve pentilentetrazol enjeksiyonu sonrasında NPY'den yoksun farelerin nöbetten etkilenmesi ve ölüm oranının arttığını göstermişlerdir (144). Bunlara ters olarak NPY'nin aşırı ekspresse olduğu transgenik ratlarda, in vivo rat hipokampusuna gen transferi yapıldığında NPY'nin ve mRNA'sının aşırı ekspirasyonu belirgin şekilde artar. Kainik asitin sebep olduğu nöbetlerde ise bu modelin güçlü bir antikonvülsan ve antiepileptik olduğu görülmüştür (145).

Kronik epileptik modellerde NPY sisteminin plastik değişikliği kanıtlanmıştır (153). Bu etkinin mekanizması iki şekilde gerçekleşir: birincisi; GABA-erjik internöronlarda NPY'nin overekspirasyonu gözlemlenir ve dentate granül hücrelerinde ve mossy fiberlerde novo sentezi görülür (146). İkincisi epileptik hipokampus'ta NPY reseptörlerinin değişmesi gerçekleşir.

Yeni yapılan çalışmalarda önceki çalışmalarda olduğu gibi NPY sisteminin endojen antikonvülsan etkisinin olduğu gösterilmiştir (147). İn vivo nöbetlerde NPY ve Y2 seviyesi up-regüle olur (94). Hipokampus'ta NPY'nin artmasıyla nöbet eşikdeğeri de artar ve böylelikle epileptogenez gecikir, sonuçta da daha az ve kısa tutuşma nöbetleri oluşur (106–145). NPY'den yoksun farelerde bazen yumuşak ve spontan nöbetler gelişir ve konvülsan ajanlardan çok fazla etkilenen bu hayvanlarda motor nöbetler meydana gelir (136–144). Temporal lob epilepsisi olan hastalarda Y2 reseptör seviyesinin arttığı görülmüştür (147).

4.5. LEPTİN

4.5.1. Leptin'in Tanımı

Leptin obez (ob) geni ürünü olup, 167 aminoasitten oluşan proteindir. Molekül ağırlığı 16kDa' dur. Leptin OB geni tarafından kodlanır (148). OB geni sıçanlarda 6 nolu kromozamda, insanda 7 nolu kromozomun uzun kolunda yer almaktadır (149). Leptin esas olarak adipoz dokuda sentezlenip, kana salınan ve metabolik etkilerinin çoğunu merkezi sinir sisteminde, akciğer, böbrek, karaciğer, pankreas, adrenal bezler, overler, hematopoietik hücreler gibi periferik dokularda bulunan spesifik reseptörlerle etkileşerek gösteren, peptid yapıda bir hormon olarak tanımlanmıştır (150). Leptin'in vücuttaki rolü gıda alınımını ve enerji metobolizmasını düzenlemek ve obezite gelişmesini engellemektir.

Leptin reseptör mRNA'sı insanda ve kemirgen hipotalamusunda yüksek düzeylerde eksprese edilmektedir (151). Ayrıca, hipokampus, beyin sapı, serebellum, amigdala ve substansia nigra gibi ekstra hipotalamik beyin bölgelerinde de eksprese edildiği bilinmektedir (152).

Leptinin etkili faktörlerden biriside NPY sentezini inhibe etmesidir. Ayrıca plasentada, midenin epitelyum hücrelerinde, iskelet kası hipofiz ve meme bezinde sentezlenir. Leptin hipotalamustaki santral devreleri etkileyerek gıda alınımını baskılar ve enerji tüketiminin arttırmaktadır (152).

Leptinin atılımı böbrekler yoluyla olur. Adipoz dokuda leptin sekresyonunu, obezite, insülin, glukokortikoidler, akut enfeksiyon, proinflamator sitokinler artırır. İskelet kasında leptin sekresyonunu, glukoz, glukozamin, lipidler artırır. Plasentada leptin sekresyonunu, insülin, glukokortikoidler, hipoksi artırır. Midede leptin sekresyonunu, beslenme, kolesistokinin artırır.

4.5.2. Leptin Reseptörleri (OB-R)

1995 yılında Tartaglia ve ark. leptin reseptörlerinin yapısını ve yerleşimini tanımlamışlardır. Leptin reseptörleri ilk defa fare koroid pleksusundan klonlanmıştır. Tek zincirli polipeptid olan leptinin N-terminal bölgesi reseptöre bağlanmada ve biyolojik aktiviteden sorumludur. Leptin reseptörü TİP1 sitokin reseptörü ailesinin bir üyesidir (153).

Leptin reseptörleri hücre içi bölümün uzunluğuna göre çeşitli formlarda bulunmaktadır. Tüm leptin reseptörleri aynı genin varyantlarıdır. Vücutta ob-Ra, ob-Rb, ob-Rc, ob-Rd, ob-Re, ob-Rf olmak üzere 6 adet leptin reseptörü tanımlanmıştır. Ob-Ra varyantı leptinin kan beyin bariyerinin aşılmasından, Ob-Rc ve Ob-Rd varyantları dolaşımdaki leptinin temizlenmesinden sorumludur. Ob-Re varyantı ise intraselüler olmadığı için leptinin perifer taşınmasında görev alan çözülebilir bir transport proteini olduğu kabul edilmektedir (154). Ob-Rf varyantı ise leptinin eksprese olduğu dalak ve timus gibi dokularda immun regülasyonu gerçekleştirmektedir. Bu altı leptin reseptörleri esas olarak 2 ana şekilde görülmektedir. Ön planda koroid pleksus ve leptomeninkslerde eksprese edilen kısa formu Ob-R-S' dir. Bu form leptinin kan-beyin veya kan-

serebrospinal sıvı bariyerinden alınmasına yardımcı olur. Ob-R-S'nin varyantları Ob-Ra, Ob-Rc, Ob-Rd, Ob-Re, Ob-Rf' dir. Uzun form leptin reseptörleri ise Ob-R-L' dir ve bu uzun form leptin restörü hipotalamusta bol miktarda bulunur. Ob-Rb varyantıda çoğunlukla Ob-R-L olarak bilinmektedir. Bu form leptin sinyalizasyonu için mutlaka gerekli bir reseptördür (155-156).

4.5.3. Leptinin Etki Mekanizması

Reseptör, leptin sinyalini janus protein tirozin kinaz 2 (JAK proteinleri) ile sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörlerine (Signal transducer and activators of transcription = STAT) iletir. Leptinin reseptörüne bağlanması hem reseptörde hem de reseptörle ilişkili janus kinazlarda (JAK) farklılaşmayı indükler. Bu olay reseptörün sitoplazmik kısımlarındaki tirozin bölgelerinin fosforilasyonunu sağlar ve STAT proteinleri için fosfotirozin bağlanma yerleri oluşturulur. Bu şekilde STAT proteinleri hem reseptöre hem de dimer oluşturmak üzere başka bir STAT proteinine bağlanır. Fosforilasyondan sonra bu STAT proteinlerindeki tirozin bölgeleri reseptörden ve dimerlerden ayrılır ve transkripsiyonel düzenleyicileri (STAT proteinleri) aktive olur. Bunlar nükleusa taşındıktan sonra DNA'ya ve STAT'a yanıt veren moleküllere bağlanarak yanıtlayıcı hedef genlerin transkripsiyonunu uyarırlar (157).

Leptin hipotalamik reseptörleri üzerinden gıda alımının en güçlü uyarıcısı olan NPY'nin salınımını inhibe eder. Bu durum, sempatik ve sinir sisteminin aktive olmasına, iştahın azalmasına, enerji harcanmasında artışa neden olur. Leptin ve insülin arkuat nükleustan salgılanan çok kuvvetli bir iştah uyarıcısı olan NPY'yi baskılayarak gıda alımına engel olmakla birlikte paraventriküler nükleustan kortikotropin salgılatıcı hormon (CRH) salınımını da uyararak yine gıda alımına engel olmaktadır (158).

4.5.4. Leptin ve Epilepsi

Leptinin epileptiform aktivite üzerine antikonvülsan bir etkisinin olduğunu bildiren çalışmalar çoğunlukta. Leptinin karibdotoksin duyarlı K⁺ kanalının aktivitesini, Ca⁺² ile aktive olan K⁺ (BK) kanallarının aktivasyonu ile uyumlu olarak, artırdığı görülmüştür (159). Leptin BK kanal aktivitesini PI3 kinaz bağımlı bir mekanizmayla modüle edebilir.

Hipokampal nöronlarda BK kanal aktivasyonu sonrasında hiperpolarizasyon gelişir ve bu aksiyon potansiyellerinin repolarizasyonundan sorumludur. Bundan dolayı BK kanallarının aksiyon potansiyel ateşleme oranları ve ateşleme paternlerini belirlemede anahtar bir rol oynadığı düşünülmektedir. Bundan yola çıkarak BK kanalının leptin ile aktivasyonunun hipokampal eksitabiliteyi düzenlediği söylenebilir. Epileptiform benzeri aktivitenin Mg^{+2} içermeyen kültür modellerinde, leptin uygulaması, hücre içi Ca^{+2} düzeylerindeki genel artışı ani ve geri dönüşümlü bir şekilde hafifletmiştir (160). Bunun tersine leptin kontrollerde bazal Ca^{+2} düzeylerini değiştirememiştir (161). Buna benzer başka bir çalışmada hipokampal dilimler Mg^{+2} içermeyen ortamlara alınmış ve sonrasında leptin uygulanmasıyla interiktal boşalmaların sıklığı azalmıştır (159). Leptinin eksitabiliteyi modüle etme yeteneği hipokampusla de sınırlı değildir. Hipotalamik Nöropeptit-Y/Agouti ilişkili protein (AgRP) nöronlarının ateşleme sıklığını da belirgin olarak etkilemiştir. Böylece dolaşımdaki leptin düzeylerini azaltan açlık NPY nöronları spike sıklığını artırırken, aç hayvanlarda hipotalamusa direkt verilen leptin spike sıklığını azaltmıştır (162).

Metabolik düzensizliklerin epileptik nöbetlerin sıklığını ve şiddetini etkileyebileceği önerilmektedir (161). Bununla birlikte, leptinin epileptiform aktivite üzerine antikonvülsan (159–160) ve prokonvülsan (163) etkilerinin olduğunu bildiren çalışmalar bulunmaktadır. Xu ve ark. (2008) kemirgenler üzerinde yapmış oldukları çalışmada, leptinin antikonvülsan etkisini ya kortekse direkt enjeksiyonu ya da intranasal uygulananımla test ettiler. Kemirgenlerde 4-aminopiridin neokortikal enjeksiyonuyla indüklenen fokal nöbet süresinin leptin enjeksiyonuyla kısaldığı ve şiddetinin azaldığını buldular. Hayvanlarda, intranasal leptin uygulananının beyin ve serum leptin düzeylerini artırdığını ve PTZ-indüklü jeneralize konvulsif nöbetleri geciktirdiğini bulmuşlardır. Aynı zamanda altta yatan mekanizmanın aydınlatılmasında önemli olan, leptinin hipokampal dilimlerde iyonotropik AMPA glutamat reseptör–aracılı sinaptik iletiyi inhibe ettiğini bulmuşlardır (164). Yine yapılan başka bir çalışmada epileptik çocuklarda valproat kullanımı sırasında oluşan kilo alımıyla, düşük glukoz ve yüksek insülin, kortizol, leptin ve NPY düzeylerinin ilişkili olabileceği belirttiler.

5. MATERYAL VE METOD

5.1. MATERYAL VE LABORATUVAR EKİPMANLARI

5.1.1. Cihazlar

| | |
|--------------------------------|-------------------------------------|
| Santrifüjler | Beofuge Pico HERAUS-Sorua Super T21 |
| Vorteks | Thermolyne Maxi Mix II |
| Pipetler | Rainin |
| Homojenizatör | İKA TIOB |
| Florometre | Qubit 2.0 Fluorometer |
| PCR | BİO RAD T-100 Thermal CycleR |
| Real Time PCR | BİORAD CFX96 |
| Buzdolapları (-20, -80, +4) | Vestel, Sanyo, Arçelik |

5.1.2. Kimyasallar

| | |
|-----------------------------|--|
| Kainik Asit | Sigma, St Louis, MO, USA; 10 mg/kg |
| Diazem | Deva; 10mg |
| Trizol | Tri Pure Isolation Reagent (cat no: 11667) |
| Kloroform | Carlo-Eba (cat no:334353) |
| İzopropil | Merck (cat no: K21407095-502) |
| Etanol | Merck (cat no: 603-001-00-X) |
| Diethy Pyrocarbonate (DEPC) | Santa Cruz Biotechnology (cat no: 202574) |
| PBS TABLET | Zymed |
| 3N NaOH | Merck |
| SDS | SIGMA L4390 |

5.1.3. Kullanılan Kitler

- Total RNA izolasyonu için: Tri Pure Isolation Reagent (cat no: 11667)
- cDNA sentezi için: Roche Transcriptor High Fidelity cDNA Synthesis Kit (cat no: 05.091.284.001)
- Q RT-PCR: Biorad Sso Fast Exo Gren Supermix (cat no:172–5200)

5.1.4. Çözeltilerin ve Bileşenlerin Hazırlanması

5.1.4.1. Kainik Asit Hazırlanması

10mg/kg kainik asit, 6990ul serum fizyolojik ile sulandırıldı. 10ul, 3N NaOH eklenerek PH 7. 2 olarak ayarlandı. Böylelikle kainik asit nöronal hasar oluşturmak için 7mg/kg olarak elde edildi.

5.2. Çalışma Grubu

Çalışmada, 3–4 aylık, 230–290 gr ağırlığında kontrol Wistar cinsi erkek sıçanlar kullanıldı. Deney grupları, kontrol (n=6), kainik asit enjeksiyonu verilip status epileptikus geliştikten sonraki 4.saat (n=6), kainik asit enjeksiyonu verilip status epileptikus geliştikten sonraki 24.saat (n=6) olacak şekilde oluşturulmuştur. Çalışmada kullanılacak olan Wistar sıçanlar T.C. Sağlık Bakanlığı Bezmialem Vakıf Üniversitesi Hayvan Laboratuvarından temin edilmiştir. Wistar cinsi erkek sıçanlar deneyler süresince 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık döngüsü bulunan sıcaklık kontrollü ($21\pm 1^{\circ}\text{C}$) deney hayvanı ünitesinde standart sıçan yem ve su alımları serbest bırakılarak barındırılmıştır. Bezmialem Vakıf Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 25.05.2012 tarih ve 2012/345 numaralı karar ile onaylanmıştır.

5.3. Kullanılan İnceleme Yöntemleri

5.3.1. Kainik Asit Enjeksiyon Uygulaması

Erkek 3–4 aylık Wistar sıçanlara nöronal hasar oluşturmak için intraperitoneal olarak kainik asit enjekte edilir (7mg/kg). Kainik asit çözülmesi için kullanılan serum fizyolojiktan aynı miktarda kontrol grubunada intraperitoneal olarak enjekte edilir. Hayvanlarda status epileptikus geliştikten sonraki 4. saat ve 24. saat sonunda hayvanlar dekapite edilerek öldürüldü.

5.3.2. Beyin Dokusu Çıkarımı Ve Saklanması

Üç grup hayvanın beyinleri çıkarıldı. Beyin dokusundan korteks ve hipokampus bölgeleri oksijenlendirilmiş serum fizyolojik içinde hızla izole edildi ve -80°C ' de donduruldu.

5.3.3. Dokudan RNA İzolasyonu

Dokulara 1ml Trizol eklenerek, 5 dk oda sıcaklığında bekletildi. Sonrasında homejenizatör ile dokularla trizolün homojenizasyonu sağlandı.

Homejenizatör ucu her örnek öncesinde ve sonrasında DEPC (Diethylpyrocarbonate) ile oluşturulan 5' li yıkama seti ile temizlendi;

I- dH₂O+DEPC

II- %1 SDS+ DEPC

III- dH₂O+DEPC

IV- %70 Etanol+ DEPC

V- dH₂O+ DEPC

Homojenizasyon sonrasında her bir örneğe 200ul kloroform eklendi. Ve 2–3 dk oda sıcaklığında bekletildikten sonra 12000rpm, $+4^{\circ}\text{C}$ ' de 15 dk santrifüj işlemi gerçekleştirildi. Santrifüj sonrasında her örneğin üst kısmındaki aqua faz, birebir yeniden numaralandırılan ependorflara aktarıldı ve her bir örneğe 500ul izopropil eklendi. 10 dk oda sıcaklığında bekletilen örnekler 12000rpm, $+4^{\circ}\text{C}$ ' de 10 dk tekrar santrifüjlendi. Santrifüj

sonrasında izopropil pelete çapraz kısımdan alınarak dikkatlice uzaklaştırıldı. Sonrasında 1ml, %75' lik etanol eklenerek vortekslenen tüm örnekler 7500rpm, +4⁰C'de 5 dk santrifüjlendi. Santrifüj sonrasında etanol yine pelete çapraz kısmından alınarak dikkatlice uzaklaştırıldı. Kuru RNA'lar çalışma öncesinde 30ul steril distile su ile çözüldü.

5.3.4. cDNA Sentezi

Roche Transcriptor High Fidelity c-DNA synthesis kiti ile BİORAD T-100 Thermal Cycler cihazı kullanılarak c-DNA elde edildi.

11.4 ul RNA örnekleri birebir numaralandırılmış tüplere aktarıldı ve her birinin üzerine 1ul Oligo-p(Dt)18 eklendi. Daha sonra örnekler thermal cycler cihazında 65⁰C' de 10 dk inkube edildikten hemen sonra buz üstüne alınarak hazırlanan mix dağıtıldı ve tekrar thermal cycler cihazında 55⁰C' de 30dk, 85⁰C' de 5dk inkube edildi.

5.3.5. cDNA Miktarlarının Ölçülmesi

İzole edilen cDNA'nın konsantrasyonu ve saflığı Qubit 2.0 fluorometer ile ölçüldü. Öncelikle çalışma solüsyonu hazırlandı. Bunun için;

Örnek sayısı X 1ul Qubit reagent + Örnek sayısı X 199ul Qubit buffer. Hazırlanan bu çalışma solüsyonundan standartlar hazırlandı. Standartlar (S1 ve S2); 190ul çalışma solüsyonu+10 ul stok standart solüsyonu ile hazırlandı. Örnekler için ise; Her bir ölçümde 198ul çalışma solüsyonu ile 2 ul cDNA kullanıldı. cDNA örneklerinin ölçülen stok konsantrasyonları 20.3 ug/ml-29.6ug/ml aralıklar arasında ölçüldü.

5.3.6. Hedef genlerin Q RT-PCR (Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu) ile çoğaltılması

Hasta ve normal kontrollere ait tüm cDNA'lar kontrol amaçlı olarak housekeeping bir gen olan Beta-Actin (ACTB) ile amplifiye edildi. Aynı zamanda da hedef genler (NPY ve leptin) ise hedef genlere ait primer ve probalar dizaynedilerek Biorad So Fast Exo Green Super Mix kullanarak amplifiye edildi.

Tablo 4: NPY Q-RT PCR Koşulları

| Döngü sayısı | Derece | Süre | Evre |
|--------------|--------|-------|-------------------------|
| 30 | 94 °C | 10 sn | Başlangıç denatürasyonu |
| | 55 °C | 30 sn | Uzama |
| | 72 °C | 30 sn | Sonlanma |

Tablo 5: LEPTİN Q-RT PCR Koşulları

| Döngü sayısı | Derece | Süre | Evre |
|--------------|--------|-------|-------------------------|
| 30 | 94 °C | 30 sn | Başlangıç denatürasyonu |
| | 55 °C | 30 sn | Uzama |
| | 72 °C | 1 dk | Sonlanma |

5.3.7. İstatistiksel Değerlendirme

Bulguların istatistiksel değerlendirilmesi Graph Pad Prizm programı kullanılarak yapılmıştır. Gruplar birbirleri ile Student-t testi kullanılarak karşılaştırılmıştır ve $p < 0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

6. BULGULAR

Gen transkripsiyon analizi:

Beyin hipokampus ve korteks bölgelerinde mRNA ekstraksiyonu yapılmış ve cDNA hazırlanarak NPY ve leptin gen transkripsiyon analizleri yapılmıştır.

1. Kainik asit uygulamasından sonra 4. saat ve 24. saatte çıkarılan beyin hipokampus bölgelerinde leptin mRNA düzeylerinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında belirgin olarak artmış olduğu gözlenmiştir (Tablo 6). Gruplar arasındaki fark Student-T testi ile istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve kontrol grubu ile kainik asit uygulamasından sonraki 4.saat ve 24.saat grubu arasında istatistiksel olarak fark bulunmuştur ($p < 0.05$).

| Hipokampus | Kontrol | 4.saat | 24.saat |
|------------|----------|---------|----------|
| Leptin | 1,762519 | 2,12979 | 2,208206 |

Tablo 6: Kontrol ve kainik asit uygulanmış olan beyin hipokampus bölgelerindeki leptin mRNA ekspresyonları. Değerler kontrol gen aktin mRNA sonuçlarına göre normalize edilmiştir.

3. Kainik asit uygulamasından sonra 4. Saat ve 24. Saatte çıkarılan beyin korteks bölgelerinde leptin mRNA düzeylerinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında belirgin olarak artmış olduğu gözlenmiştir. Gruplar arasındaki fark Student-T testi ile istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve kontrol grubu ile kainik asit uygulamasından sonraki 4.saat ve 24.saat grubu arasında istatistiksel olarak fark bulunmuştur ($p < 0.05$).

| Kortex | Kontrol | 4.saat | 24.saat |
|--------|---------|---------|---------|
| Leptin | 1,68827 | 1,96071 | 1,9984 |

Tablo 7: Kontrol ve kainik asit uygulanmış olan beyin korteks bölgelerindeki leptin mRNA ekspresyonları. Değerler kontrol gen aktin mRNA sonuçlarına göre normalize edilmiştir.

3. Kainik asit uygulamasından sonra 4. Saat ve 24. Saatte çıkarılan beyin hipokampus bölgelerinde NPY mRNA düzeylerinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında azalmış olduğu gözlenmiştir. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Tablo 8).

| Hipokampus | Kontrol | 4.saat | 24.saat |
|------------|---------|----------|---------|
| NPY | 1,28148 | 1,209624 | 1,06019 |

Tablo 8: Kontrol ve kainik asit uygulanmış olan beyin hipokampus bölgelerindeki NPY mRNA ekspresyonları. Değerler kontrol gen aktin mRNA sonuçlarına göre normalize edilmiştir.

4. Kainik asit uygulamasından sonra 4. Saat ve 24. Saatte çıkarılan beyin korteks bölgelerinde NPY mRNA düzeylerinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında azalmış olduğu gözlenmiştir. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. (Tablo 9).

| Kortex | Kontrol | 4.saat | 24.saat |
|--------|----------|----------|----------|
| NPY | 1,232662 | 1,149712 | 1,038617 |

Tablo 9: Kontrol ve kainik asit uygulanmış olan beyin korteks bölgelerindeki NPY mRNA ekspresyonları. Değerler kontrol gen aktin mRNA sonuçlarına göre normalize edilmiştir.

7. TARTIŞMA

Epilepsinin elektrofizyolojik temelleri ve diğer özellikleri hakkında bilgi edinmek ve daha etkili antiepileptik ilaçlar geliştirmek için deneysel modeller üzerinde çalışılmıştır. NPY ve leptin ile ilgili yapılan çalışmaların birçoğunda, NPY ve Leptin'in antiepileptik olduğu ileri sürülmüştür.

Smialowska ve ark (1996) pikrotoksinle oluşturdukları deneysel epilepside 0.1 -0.5 µM NPY verdiklerinde hipokampal kesitlerde NPY'nin epileptiform aktiviteyi inhibe ettiğini göstermişlerdir. Aynı araştırmacılar hipokampal CA1 ve CA3 piramidal hücrelerinde Y2 reseptör agonistleri (NPY₁₃₋₃₆) kullandıklarında NPY'nin etkisine benzer sonuçlar ortaya çıktığını bulmuşlardır.

Kainik asitle oluşturulan epilepside immunhistokimyasal çalışmalarda granül hücrelerinde Y2 mRNA seviyesinin arttığı ve Y2 reseptörünün dentate girusun hilusunda ve CA1'de artarken Y1 reseptörünün seviyesinin azaldığı gösterilmiştir. Kofler ve ark. (1997), kainik asitle oluşturulan limbik nöbetlerin sonrasında NPY üretiminin hipokampal granül hücrelerinde arttığını, ayrıca bu nöronlarda Y1 reseptörünün de arttığını göstermişlerdir. Kainik asitin sebep olduğu nöbetlerden 6 saat sonra Y1 reseptör mRNA seviyesi granül hücrelerinde % 80 düşerken CA2 piramidal hücrelerde % 75 arttığını göstermişlerdir. Sonuç olarak da kainik asitin sebep olduğu epilepside hipokampal alanlarda Y1 reseptörlerinin down regülasyona uğradığı gösterilmiştir. Gall ve ark. (1990), kainik asitin sebep olduğu nöbetlerden 10 saat sonrasında spontan NPY gen ekspresyonunun olduğunu CA1 piramidal nöronlarında gözlemlemişlerdir. Woldbye ve ark. (2005)'da in vivo kainik asit modelinde, lateral ventrikül içine yapılan NPY enjeksiyonuyla motor nöbet aktivitesinin baskılandığını göstermişlerdir. Aynı çalışma grubu NPY'nin nanomolar miktarlarda intraserebroventriküler uygulanmasının hipokampusta deşarj süresini kısalttığını da göstermişlerdir. Aynı çalışma grubunun kainik asitin sistemik uygulamasıyla meydana gelen motor ve EEG nöbetleri üzerine NPY'nin intraserebroventriküler enjeksiyonlarının Y5 reseptörü aracılığı ile antikonvülsan etkiye aracılık ettiğini bulmuşlardır. Vezzani ve ark. (1999a), elektriksel stimülasyonun sebep olduğu iktal (nöbet) benzeri davranışların NPY ve ilgili peptidlerle tamamıyla inhibe edildiğini ve bu inhibisyonun da Y2 reseptörlerinin nöbet sırasındaki davranışları ile ilişkili

olduğunu göstermişlerdir. Çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre NPY de GABA inhibitör mekanizması gibi epilepsiyi engellemektedir. Çünkü NPY reseptörlerinin epilepside etkili oldukları *invivo*, *invitro* ve genetik çalışmalarla kanıtlanmıştır. Ancak elde edilen sonuçlara bakıldığında NPY'nin reseptörleri arasında epilepside oynadıkları rol açısından farklılıklar dikkati çekmektedir.

Leptin, hipotalamusun spesifik bölgelerine sinyaller göndererek enerji homeostazisini kontrol eder. Son yıllarda yapılan araştırmalar leptinin farede beyinde yaygın olarak dağıldığını göstermenin yanı sıra, beyinde çok çeşitli işlevlerde rol oynadığı da göstermiştir (166). Primer hipokampal kültürlerdeki aksonlarda ve somatodentritik bölgelerde leptin reseptör immun reaktivitesinin arttığı bulunmuştur. Aynı zamanda hipokampal sinapslarda da yüksek düzeylerde eksprese edilen leptinin beyin bu bölgesinde sinaptik işlevi modüle ettiği gösterilmiştir (159). Nöronal eksitabilitedeki leptin kökenli değişikliklerin besin alımının düzenlenmesinde, ödül davranışlarda ve antikonvülsan etkilerde rolü olduğu ileri sürülmüştür (166).

Shanley ve ark., leptinin enerji dengesini hipotalamik olarak kontrol ettiğini ileri sürmüşlerdir (159-160). Leptin bazı beyin bölgelerinde potasyum kanal trafiğini düzenleyerek nöronal eksitabiliteyi düzenler. Leptinin glukoza duyarlı hipotalamik nöronları (167) ve nükleus traktus solitariusdaki nöronları (168) ATP' ye duyarlı K^+ kanallarını aktive ederek inhibe ettiği gösterilmiştir. Benzer şekilde leptin sıçan hipokampal nöronlarını K^+ iletimini artırarak da inhibe eder. Leptinin, nöronal eksitabiliteyi düzenlemede önemli olabilecek bir yolla, BK kanallarını aktive ederek hipokampal nöronları inhibe ettiği gösterilmiştir (169). Leptinin BK kanal aktivitesini modüle edebilmesi PI3 kinaz bağımlı bir mekanizmayla mümkündür.

Xu ve ark. (2008), kemirgenler üzerinde yapmış oldukları çalışmada, leptinin antikonvülsan etkisini ya kortekse direkt enjeksiyonu ya da intranasal uygulananıyla test etmişlerdir. Kemirgenlerde 4-aminopiridin neokortikal enjeksiyonuyla indüklenen fokal nöbet süresinin leptin enjeksiyonuyla kısaldığını ve şiddetinin azaldığını bulmuşlardır. Hayvanlarda, intranasal leptin uygulanmasının beyin ve serum leptin düzeylerini artırdığını ve PTZ-ile oluşturulan jeneralize konvülsif nöbetleri geciktirdiğini göstermişlerdir. Aynı zamanda altta yatan mekanizmanın aydınlatılmasında önemli olan, leptinin hipokampal dilimlerde iyonotropik AMPA glutamat reseptör–aracılı sinaptik iletiyi inhibe ettiğini göstermişlerdir (164). Xu ve arkadaşlarının buldukları ve leptin düzeylerinin ketojenik bir

diyetin tüketimi boyunca artabildiğinin gösterildiği çalışmalar (170) göz önüne alındığında, leptinin tetiklediği sinyalin, ketojenik diyetin nöbetlerin baskılanmasında bilinen yararlı etkisinde, rolü olabileceği de düşünülebilir (171).

Erbayat-Altay ve ark. (2008), leptinin beyin eksitabilitesi üzerine net etkisini anlamak için kronik leptin yoksunluğunun PTZ ile indüklenmiş epileptiform aktivite üzerine etkilerini incelemişlerdir. EEG kayıtları kullanılarak yapılan bu çalışmaya göre, leptinden yoksun ob/ob fareler, kontrol farelerle kıyaslandığında, submaksimal PTZ dozlarında, jeneralize klonik ve klonik-tonik nöbetlere yakalanma ve ölüm olasılıklarının daha yüksek olduğunu ve kronik leptin yoksunluğunun nöbet oluşumunu artırdığını bulmuşlardır (171).

Leptin, antiepileptik etkileri birçok çalışmada gösterilmiştir (131–141-142). GABA ve glutamat ile etkileşim içerisinde olduğu bilinen NPY' nin düzeylerini azaltmaktadır. Bu durumda, aslında leptinin prokonvülsan etki göstermesi beklenir. Ancak leptinin epileptiform aktivite üzerine antikonvülsan etkisinin gözlemlendiği çalışmalar çoğunluktadır. Bu bulgular leptinin bu etkide yalnızca NPY üzerindeki etkisinin rol oynamadığı, yanı sıra farklı sinyal iletim mekanizmaları aracılığı ile antiepileptik etki gösterebileceğini düşündürmektedir.

8. SONUÇ

Kainik asitin sebep olduğu nöbetlerde dışarıdan NPY verilmesinin güçlü bir antikonvülsan ve antiepileptik olduğu görülmüştür (145). Dolayısıyla bizim modelimizde 4. saat ve 24. saatlerde NPY seviyesi azalmış olması bu modelde koruyucu olarak artış olmadığını düşündürmektedir. Diğer yandan NPY' nin endojen antagonisti olan leptinin belirgin olarak artışı bu modelde leptinin antikonvülsan olarak etki gösterebileceğini düşündürmektedir.

İleride yapılacak olan çalışmalarda kainik asit ile oluşturulan epilepsi modelinin leptinin intraserebraventriküler olarak verilmesinin antikonvülsan etki oluşturup oluşturmayacağını araştırılması planlanmaktadır.

9. TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım süresince her türlü desteği, güleryüzü, yardımı ve anlayışı gösteren çok değerli sevgili danışman hocam Sayın Doç. Dr. Demet AKIN ve manevi desteğini benden biran olsun eksik etmeyen, yakın bir dönemde acı kaybı ile derin üzüntü duyduğum Sayın Merhum Prof.Dr. Tuncay ALTUĞ hocalarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Deneysel çalışmalarım sırasında önerilerini, yardım ve desteklerini esirgemeyen tüm özverisi ile güleryüzlü katkılarından dolayı sevgili hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Şule ÖZDAŞ' a çok teşekkür ederim.

Hasta ve kontrol örneklerinin oluşturulması sırasında yardımcı olan Uzm. Dr. Öznur İnan ve Tüm Bezmialam Vakıf Üniversitesi Araştırma merkezi çalışanlarına saygılarımla teşekkürlerimi sunarım. Tez süresi boyunca özverisi ve manevi katkılarından dolayı Sayın Yrd. Doç Dr. Veysel HANÇER'e teşekkürlerimi sunarım. Laboratuvarını kullanmama izin veren ve değerli görüşleriyle çalışmalarına bilimsel katkıda bulunan Marmara Üniversitesi Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji A.D. Öğretim üyesi Prof.Dr. Filiz ONAT'a saygılarımla teşekkürlerimi sunarım. Her türlü yardımları için Marmara Üniversitesi Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji A.D. Doktora öğrencisi Sayın Sema KETENCİ' ye saygılarımla teşekkürlerimi sunarım. Her türlü yardımımıza koşan Enstitü Sekreterimiz İlknur KARAOSMANOĞLU'na teşekkürlerimi sunarım.

Maddi ve manevi desteğiyle bugünlere gelmemi sağlayan, sonsuz anlayışı ve özverisi için sevgili annem Ayça GOCA' ya ve anneannem Merhume Meryem ERKAN' a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Bilimsel yardımları, emekleri ve en başta dostukları için sevgili arkadaşlarım Aslıhan Seda DAĞDEMİR, Sinem MUCUK ve Tuba ÜNSAL'a; sabrını ve desteğini hiçbirzaman eksik etmeyen ve sonsuz anlayışı için sevgili nişanlım Ümit UYSALTÜRK'e teşekkürlerimi sunarım.

10. KAYNAKLAR

1. Vezzani A, Sperk G. Overexpression of NPY and Y2 receptors in epileptic brain tissue: an endogenous neuroprotective mechanism in temporal lobe epilepsy? *Neuropeptides*. 2004, 38: 245–252.
2. Fisher RS. Animal models of the epilepsies. *Brain Res Rev*. 1989, 14: 245–278.
3. Ciğer A. Erişkinlerde Epilepsi. *Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji ders notları*. 2002; 5: 115–118.
4. Zaidel DW, Esiri M, Oxbury JM. Regional differentiation of cell densities in the left and right hippocampi of epileptic patients. *J Neurol*. 1993.
5. Mahern GW, BabbTL, Pretorivs JK, Melendez M, Levegue MF. The pathophysiologic relationships between lesion pathology, intracranial EEG onsets and hippocampal neuron losses in temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res*. 1995, 21.133–47
6. Cohen DH, Sherman SM. The neurons system. In Berne RM, Levy MN (ed) *Physiology*. 1983. Elmquist JK, Ahima RS, Maratos-Flier E, Flier JS & Saper CB. Leptin activates neurons in ventrobasal hypothalamus and brainstem. *Elmquist JK, Bjorbaek, Endocrinology*, 1997,138, 839- 842.
7. Bilir E. Temporal lob epilepsisi. GÜTF Nöroloji ABD seminerleri. 1997.
8. Braedley WG, Daroff RB, Fenichel GM, Marsden CD: *Neurology in clinical practice: The Epilepsies*. Third edition. Butterworth-Heineman 225 Wildwood Avenue 2000.
9. Marongoz C. Deneysel epilepsi modelleri. *O.M.Ü Tıp dergisi*. 1997, 14: 147–186
10. Snell Richard. *The reticular formation and the limbic system: Clinical neuroanatomy for medical students*. Üçüncü baskı. Richard Snell (ed) Little, Brown and Company, Boston. 1992.
11. Dudek FE, Clark S, Williams PA, Grabenstatter HL. Kainate-induced status epileptikus: a chronic model of acquired epilepsy. In *Models of seizures and epilepsy*. (Pitkanen A, Schwartzkroin PA, Moshe SL, ed), USA: *Elsevier Academic Pres*. 2006, pp 415–432.
12. Morimoto K, Fahnestock M, Racine R. Kindling and status epileptikus models of epilepsy: rewiring the brain. *Prog Neurobiol*. 2004: 73, 1–60.

13. Sutula T, Cavazos J, Golarai G. Alteration of long-lasting structural and functional effects of kainic acid in the hippocampus by brief treatment with phenobarbital. *J Neurosci.* 1992; 12, 4173–87.
14. Löscher W, Schmidt D. Strategies in antiepileptic drug development: is rational drug design superior to random screening and structural variation? *Epilepsy Res.* 1994, 17: 95–134.
15. Biziere K, Chambon JP. Animal models of epilepsy and experimental seizures. *Rav Neural (Paris).* 1987, 143: 329–340.
16. Faingol CL. Seizures induced by convulsant drugs. In Jobe JP and Laird II HE (Eds) Neurotransmitters and Epilepsy. Clifton. *The Humana Pres.* 1987; 215–276.
17. Ribak CE. Epilepsy and cortex: anatomy In: Peters A (Ed). Cerebral Cortex. Vol. 9. *New York, Plenum.* 1991, 427–483.
18. Babb TL, Brown WJ. Pathological findings in epilepsy. In: Engel J Jr, editor. Surgical treatment of epilepsies. *New York: Raven Pres.* 1987, p. 511–40.
19. Nadler JV, Peryy BW and Cotman CW. Intraventricular kainic acid preferentially destroys hippocampal pyramidal cells. *Nature.* 1978, 271:676–677.
20. Sundstrom LE, Mitchell J, Wheal HV. Bilateral reorganisation of mossy fibres in the rat hippocampus after a unilateral intracerebroventricular kainic acid injection. *Brain Res.* 1993, 609:321–6.
21. Ben-Ari Y, Lagowskaj, Tremblay E, et al. A new model of focal status epilepticus: intraamygdaloid application of kainic acid elicits repetitive secondarily generalized convulsive seizures. *Brain Res.* 1979, 163:176–179.
22. De Deyn PP, D’Hooge R, Marescau B et al. Chemical models of epilepsy with some reference to their applicability in the development of anticonvulsants. *Epilepsy Res.* 1992, 12: 87–110.
23. Lothman EW, Collins RC. Kainic acid induced limbic seizures: metabolic, behavioral, electroencephalographic and neuropathological correlates. *Brain Res.* 1981, 218–318.
24. Marangoz C. Sinir fizyolojisi giriş-I: Beyin korteksi. EEG ve Epilepsi. Samsun, 19 Mayıs Üniversitesi Matbaası baskısı, sa: 120–131, 2001.
25. Carpenter M B, Sutin J. Human Neuroanatomy. Maryland, Williams & Wilkins Pres, 1983. (8th ed).

26. Nolte, J. The Human Brain, An intraduction to its functional anatomy. St. Louis, Toronto, C.V. Mosby Company. (2nd ed). 1988.
27. Demeter S, Rosene DL, Van Hoesen GW. Interhemispheric pathways of the hippocampal formation, presubiculum and entorhinal and posterior parahippocampal cortices in the Rhesusmonkey: The structure and organisation of the hippocampal comissures. *J Comp Neurol*. 1985; 223: 30–47.
28. Totterdell S, Hayes L. Non-pyramidal hippocampal projection neurons: a light and electron microscopic study. *Journal of Neurocytology*.1987, 16(4): 477–485.
29. Witter MP, Van Hoesen GW, Amaral DG. Topographical organisation of the entorhinal projection to the dentate gyrus of the monkey. *J Neurosci*.1989, 9: 216–228.
30. Steward O, Scoville SA. Cells of origin of entorhinal cortical afferents to the hippocampus and fascia dentata of the rat. *J Comp Neurol*. 1976, 169: 347–370.
31. Gaorskjaer FB. The hippocampal mossy fiber system of the rat studied with retrograde tracing techniques. Correlation between topographic organisation and neurogenetic gradients. *J Comp Neurol*. 1981, 203:717–735.
32. Meibach RC, Siegel A. The origin of fornix fibers which project to the mammillary bodies in the rat; A horseradish peroxidase study. *Brain Res*. 1975, 88: 508–512.
33. Rosene DL, Van Hoesen GW. Hippocampal efferent reach widespread areas of cerebral cortex and amygdala in the rhesus monkey. *Science*. 1967, 198:315–317.
34. Amaral DG, Insausti R. Hippocampal formation. In: Paxinos G (ed.) The Human Nervous System.(2nd ed).San Diego, California, Academic Press, Inc,1990.
35. Lewis PR, Shute CCD, Silver A. Confirmation of cholin acetilase analyses of massive cholinergic innervation to the rat hippocampus. *J Physiol* 1967; 191: 215–224.
36. Mellegren SI, Harkmark W, Srebro B. Some enzyme histochemical characteristics of the human hippocampus. *Cell Tissue Res*. 1977, 181:459–471.
37. Dajas F, Silveira R, Echague A. Microden sitometry of acetylcholinesterase in subfields of the hippocampal pyramidal layer and fascia dentata. *Acta Anat*. 1979, 103: 344–350.
38. Kelly JP and Dodd J. Anatomical Organization of the nervous system In: Kandel ER, Schwartz JH and Jessel TM. (Eds.), Principles of Neural Sciences., Third Ed., New York, Amsterdam, Elsevier Science publishing, 1991 ; 273 – 282.
39. Moss M, Mahut H, Zola MS. Concurrent discrimination learning of monkeys after

hippocampal, entorhinal, or fornix lesions. *J Neurosci.*1981, 1: 227–240.

40. Penfield W, Milner B. Memory deficit produced by bilateral lesions in the hippocampal zone. *Arch Neurol Psychiatry* 1958, 79: 475–497.

41. O'keefe J, Conway DH. Hippocampal place units in the Freely moving rat. In: Why they fire where they fire? *Exp Brain Res.*1978, 31: 573–590.

42. Bliss T, Lomo T. Long lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anesthetized rabbit following stimulation of the perforant pathways. *J Physiol* 1973; 232: 331- 356.

43. Wieraszko A, Ball GF. Long-term potentiation in the avian hippocampus does not require activation of the N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor. *Synapse.* 1993, 13: 173–178.

44. Cizkova D, Vonicky I, Gottlieb M, Marsala J. Ischemic damage in the hippocampus: A silver impregnation and immunocytochemical study in the rat. *Archives Italiennes de Biologie.* 1996. 134: 279–290.

45. Selkoe DJ. Physiological production of the beta-amyloid protein and the mechanism of Alzheimer's disease. *Trends Neurosci.* 1993, 16 : 403-409.

46. Serrano CP, Sanches AJC, Garcia GT. Mesial temporal sclerosis (I): Histological data, physiopathological hypothesis and etiological factors. *Rev Neurol.* 1997, 25–140: 584–589.

47. Sloviter RS. Decreased hippocampal inhibition and a selective loss of interneurons in experimental epilepsy. *Science.* 1987, 235: 73–76.

48. Smeyne RJ, Vendell M, Hayward M. Continuous c-fos expression precedes programmed cell death in vivo. *Nature.* 1993, 363:166–169.

49. Tatemoto K, Carlquist M, Mutt V. Neuropeptide Y: a novel brain peptide with structural similarities to peptide YY and pancreatic polypeptide. *Nature* 1982; 296: 659–60.

50. Kayaalp O. *Tıbbi Farmakoloji*, Ankara, Hacettepe Taş, 2000.

51. Aramakı VB, Stanley BG and Ashe JH. Neuropeptide Y receptor agonists: Multiple effects on spontaneous activity in the paraventricular hypothalamus. *Peptides.*1996, 17(8):1349–57.

52. O'Shea D, et al: Neuropeptide Y induced feeding in the rat is mediated by a novel receptor. *Endocrinology* 138(1):196.

53. Gehlert DR: Role of hypothalamic neuropeptide Y in feeding, and obesity. *Neuropeptides.*1999,33(5):329–338.

54. Hokfelt T. Neuropeptides in perspective: the last ten years. *Neuron*.1991, 7:867:879.
55. Yannielli PC, Harrington ME. Neuropeptide Y in the mammalian circadian system: effects on light-induced circadian responses. *Peptides*. 2001, 22: 547–556.
56. Hu Y, Dunbar JC. Intracerebroventricular administration of NPY increases sympathetic tone selectively in vascular beds. *Brain Res Bull*. 1997, 44: 97–103.
57. Chen SH, Cheung RTF. Neuropeptide Y and its receptor analogs differentially modulate the immunoreactivity for neuronal or endothelial nitric oxide synthase in the rat brain following focal ischemia with reperfusion. *Journal of Biomedical science*. 2005, 12: 267–278.
58. Toth A, Zaborszky L, Detari L. EEG effect of basal forebrain neuropeptide Y administration urethane anesthetized rats. *Brain Res Bull*. 2005, 66: 37–42.
59. Blundell TL, Pitts JE, Tickle IJ, Wood SP, Wu CW. X- ray analysis(1,4a resolution) of avian pancreatic polypeptide: Small globular protein hormone. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1981,78:4175–9.
60. Cerda-Reverter JM, Larhammar D. Neuropeptide Y family of peptides; structure anatomical expression, function and molecular evolution. *Biochem cell Biol*. 2000,78:371–92.
61. Williams AG, Hargreovers AC, Gunn-Moore FJ, Tavore JM. Stimulation of neuropeptide Y gene exspression by brain derived neurotrophic factor requires both the phospholipase Chammo and sch binding sites on its receptor, TrkB. *Biochem*.1998,333:505–9.
62. Higuchi H,Yong HY, Sobol SL. Rat neuropeptide Y precursor gene ekspression mRNA structure, tissue distrubition and regulation by glucocorticoids, cyclic AMP and phorbol ester. *J Biol Chem*. 1988, 263: 6288–95.
63. Balasubramaniam AA. Neuropeptide Y family of hormones: receptor subtypes and Antagonists. *Peptides*.1997, 18: 445–457.
64. Gayle D, Ilyin SE, Plata-Salman CR.Cnetral nervous system IL-1 beta system and neuropeptide Y mRNA s during IL-1 beta –induced anorexia in rats.*Brain Res.Bull*. 1997, 443: 11–317.
65. Gritti I, Mainville L, Mancina M, Jones BE. GABAergic and other non-cholinergic basal forebrain neurons, together with cholinergic neurons, project to the mesocortex and isocortex in the rat. *J. Comp. Neuro*. 1997, 383:163–177.

66. Colmers WF, Bahh BE. Neuropeptide Y and Epilepsy. *Epilepsy current*. 2003, 3: 53-58.
67. Detari L, Rasmusson DD, Semba K. Phasic relationship between the activity of basal forebrain neurons and cortical EEG in urethane-anesthetized rat. *Brain Res*. 1997, 759: 112–121.
68. Smialowska M, Bijak M, Sopala M, Tokarski K. Inhibitory effect of NPY on the picrotoxin-induced activity in the hippocampus: a behavioural and electrophysiological study. *Neuropeptides*. 1996, 30: 7–12.
69. Kask A, Nguyen HP, Pabst R, von HS. Neuropeptide Y Y1 receptor-mediated anxiolysis in the dorsocaudal lateral septum: functional antagonism of corticotropin-releasing hormone-induced anxiety. *Neuroscience*. 2001, 104: 799–806.
70. Aoki C, Pickel V. Neuropeptide Y in the cerebral cortex and the caudate-putamen nuclei: ultrastructural basis for interactions with GABAergic and non-GABAergic neurons. *J. Neurosci*. 1989, 9: 4333–4354.
71. Zaborszky L, Duque A. Local synaptic connections of basal forebrain neurons. *Behav. Brain Res*. 2000, 115:143–158.
72. Tamiya R, Hanada M, Inagaki S, Takagi H. Synaptic relation between neuropeptide Y axons and cholinergic neurons in the rat diagonal band of Broca. *Neurosci. Lett*. 1991, 122: 64–66.
73. Duque A, Balatoni B, Detari L, Zaborszky L. EEG correlation of the discharge properties of identified neurons in the basal forebrain. *J. Neurophysiol*. 2000, 84: 1627–1635.
74. Stroud LM, O'Brien TJ, Jupp B, Wallengren C, Moris MJ. Neuropeptide Y suppresses absence seizures in a genetic rat model. *Brain Res*. 2005, 1033: 151–156.
75. Arabadzisz D, Antal K, Parpan F, Emri Z, Frisetschky JM. Epileptogenesis and chronic seizures in a mouse model of temporal lobe epilepsy are associated with distinct EEG patterns and selective neurochemical alterations in the contralateral hippocampus. *Exper Neurol*. 2005, 194: 76–90.
76. Cavadas C, Silva AP, Mosimán F, Cotrim MD, Fontes Riberio CA, Brunner HR. NPY regulates catecholamine secretion from adrenal chromaffin cells. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001, 86: 5956–63.

77. Myersen U, Ahren B, Slundler F. Neuropeptide Y is expressed in subpopulations of insulin- and non-insulin-producing islet cells in rat after dexamethasone treatment: a combined immunocytochemical and in situ hybridisation study. *Regul Pept.* 1995;60: 19–31.
78. Ericson A, Schalling M, McIntyre KR, Lundberg JM, Larhammar D, Seroogy K. Detection of neuropeptide Y and its mRNA in megakaryocytes: enhanced levels in certain autoimmune mice. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1987, 84: 5585–9.
79. Strand FL. Neuropeptides: regulators of physiological processes. London: Charles F. Stevens; 1999.
80. Polidori C, et al: Neuropeptide Y receptor(s) mediating feeding in the rat: characterization with antagonists. *Peptides.* 2000, 21: 29–35.
81. Starback P, Wraith A, Eriksson H, Larhammar D. Neuropeptide Y receptor gene *y6*: multiple deaths or resurrections? *Biochem Biophys Res Commun.* 2000, 277:264–9.
82. Lundell I, Blomqvist AG, Berglund MM, Schober DA, Johnson D, Stantnick MA, Gadski R A, Gehlert D R and Larhammar D., Cloning of human receptor of the NPY receptor family with high affinity for pancreatic polypeptide and peptide YY. *J. Biol. Chem.* 1995, 270: 29123–29128.
83. Shaw JL, Gackenheimer SL and Gehlert DR. Functional autoradiography of neuropeptide Y Y1 and Y2 receptor subtypes in rat brain using agonist stimulated [³⁵S]GTP γ S binding. *J. Chem. Neuroanat.* 2003, 26: 179–193.
84. Michel MC, Beck-Sickinger AG, Cox H, Doods HN, Herzog H, Larhammar D, Quirion R, Schwartz T, Westfall T. XVI International Union of Pharmacology recommendations for the nomenclature of neuropeptide Y, peptide YY and pancreatic polypeptide receptors. *Pharmacol Rev.* 1998, 50: 143–150.
85. Cheung RT, Cechetto DF. Neuropeptide changes following excitotoxic lesion of the insular cortex in rats. *J. Comp. Neurol.* 1995;362: 535–550.
86. Lundell I, Blomqvist AG, Berglund MM, Schober DA, Johnson D, Stantnick MA, et al. Cloning of a human receptor of the NPY receptor family with high affinity for pancreatic polypeptide and peptide YY. *J Biol Chem* 1995;270:29123–8.
87. Rose PM, Fernandes P, Lynch JS, Frazier ST, Fisher SM, Kodukula K. Cloning and functional expression of a cDNA encoding a human type 2 neuropeptide Y receptor. *J Biol Chem.* 1995, 270: 22661–4.

- 88.** Gerald C, Walker M W, Cristone L, Gustafson EL, Batzl-Hartmann C, Smith KE. A receptor subtype involved in neuropeptide Y –induced food intake. *Nature*. 1996, 382:168–71.
- 89.** Dumont Y, Jacques D, Bouchard P, Quirion R. Species differences in the expression and distribution of the neuropeptide Y Y1, Y2, Y4, and Y5 receptors in rodents, guinea pig, and primates brains. *J Comp Neurol*. 1998, 402: 372–84.
- 90.** Kishi T, Aschkenasi CJ, Choi BJ, Lopez ME, Lee CE, Liu H, et al. Neuropeptide Y Y1 receptor mRNA in rodent brain: distribution and colocalization with melanocortin–4 receptor. *J Comp Neurol*. 2005, 482: 217–43.
- 91.** Caberlotto L, Fuxe K, Hurd YL. Characterization of NPY mRNA-expressing cells in the human brain: co-localization with Y2 but not Y1 mRNA in the cerebral cortex, hippocampus, amygdala, and striatum. *J Chem Neuroanat*. 2000, 20: 327–37.
- 92.** St-Pierre JA, Nouel D, Dumont Y, Beaudet A, Quirion R. Association of neuropeptide Y Y1 receptors with glutamate-positive and NPY-positive neurons in rat hippocampal cultures. *Eur J Neurosci*. 2000, 12: 1319–30.
- 93.** Dumont Y, Martel JC, Fournier A, St-Pierre S, Quirion R. Neuropeptide Y and neuropeptide Y receptor subtypes in brain and peripheral tissue. *Prog Neurobiol*. 1992, 8: 125–67.
- 94.** Gobbi M, Gariboldi M, Piwko C, Hoyer D, Sperk G, Vezzani A. Distinct changes in peptide YY binding to, and mRNA levels of Y1 and Y2 receptors in the rat hippocampus associated with kindling epileptogenesis. *J Neurochem*. 1998, 70: 1615–1622.
- 95.** Larhammar D, Salaneck E. Molecular evolution of NPY receptor subtypes. *Neuropeptides*. 2004, 38: 141–51.
- 96.** Herzog H, Hort YJ, Ball HJ, Hayes G, Shine J, Selbie LA. Cloned human neuropeptide Y receptor couples to two different second messenger systems. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1992, 89: 5794–8.
- 97.** Nie M, Selbie LA. Neuropeptide Y Y1 and Y2 receptor-mediated stimulation of mitogen-activated protein kinase activity. *Regul Pept*. 1998, 75- 76: 207– 13.
- 98.** Mannon PJ, Mele JM. Peptide YY Y1 receptor activates mitogen-activated protein kinase and proliferation in gut epithelial cells via the epidermal growth factor receptor. *Biochem J*. 2000, 350(Pt 3):655–61.

- 99.** Sajdyk TJ, Shekhar A, Gehlert DR. Interactions between NPY and CRF in the amygdala to regulate emotionality. *Neuropeptides*. 2004, 38: 225–34.
- 100.** Sparta DR, Fee JR, Hayes DM, Knapp DJ, MacNeil DJ, Thiele TE. Peripheral and central administration of a selective neuropeptide Y₁ receptor antagonist suppresses ethanol intake by C57BL/6J mice. *Alcohol Clin Exp Res*. 2004, 28: 1324–30.
- 101.** Kask A, Rago L, Harro J. Evidence for involvement of neuropeptide Y receptors in the regulation of food intake: studies with Y₁-selective antagonist BIBP3226. *Br J Pharmacol*. 1998, 124: 1507–15.
- 102.** Kanatani A, Ishihara A, Iwaasa H, Nakamura K, Okamoto O, Hidaka M. L-152, 804: orally active and selective neuropeptide Y₅ receptor antagonist. *Biochem Biophys Res Commun*. 2000, 272: 169–73.
- 103.** Klara SP, Fuentes M, Fournier A, Parker SL, Crowley WR. Involvement of the Y₁ receptor subtype in the regulation of luteinizing hormone secretion by neuropeptide Y in rats. *Endocrinology*. 1992, 130: 3323–30.
- 104.** Wahlestedt C, Hakanson R. Effects of neuropeptide Y (NPY) at the synaptic neuroeffector junction. Can pre- and postjunctional receptors be distinguished? *Med Biol*. 1986, 64: 85–8.
- 105.** Gariboldi M, Conti M, Cavaleri D, Samanin R, Vezzani A. Anticonvulsant properties of BIBP3226, a non-peptide selective antagonist at neuropeptide Y₁ receptors. *Eur J Neurosci*. 1998, 10: 757–9.
- 106.** Vezzani A, Michalkiewicz M, Michalkiewicz T, Moneta D, Ravizza T, Richichi C, Aliprandi M, Mule F, Pirona L, Gobbi M, Schwarzer C, Sperk G. Seizure susceptibility and epileptogenesis are decreased in transgenic rats overexpressing neuropeptide Y. *Neuroscience* 2002, 110: 237–243.
- 107.** Rist B, Zerbe O, Ingenhoven N, Scapozza L, Peers C, Vaughan PF. Modified, cyclic dodecapeptide analog of neuropeptide Y is the smallest full agonist at the human Y₂ receptor. *FEBS Lett*. 1996, 394: 169–73.
- 108.** Malis DD, Grouzmann E, Morel DR, Mutter M, Lacroix JS. Influence of TASP-V, a novel neuropeptide Y/NPY Y₂ agonist, on nasal and bronchial responses evoked by histamine in anesthetized pigs and in humans. *Br J Pharmacol*. 1999, 126: 989–96.

- 109.** Grouzman E, Buclin T, Matie M, Canizzaro C, Dorner B, Razaname A. Characterization of selective antagonist of neuropeptide Y at the Y2 receptor. Synthesis and pharmacological evaluation of a Y2 antagonist. *J Biol Chem.* 1997, 272: 7699–709.
- 110.** Colmers WF, Bleakman D. Effects of neuropeptide Y on electrical properties of neurons. *Trends Neurosci.* 1994, 17: 373–379.
- 111.** Qian J, WF, Saggau P. Inhibition of synaptic transmission by neuropeptide Y in rat hippocampal area CA1: modulation of presynaptic Ca²⁺ entry. *J Neurosci.* 1997, 17: 8169–8177.
- 112.** Schwarzer C, Sperk G. Glutamate-stimulated neuropeptide Y mRNA expression in the rat dentate gyrus: a prominent role of metabotropic glutamate receptors. *Hippocampus* 8, 274–288. 1998.
- 113.** Lee CC, Miller RJ. Is there really an NPY Y3 receptor? *Regul Pept.* 1998, 75/76: 71–8
- 114.** Wahlestedt C, Regunathan S, Reis DJ. Identification of cultured cells selectively expressing Y1-, Y2- or Y3 – type receptors for neuropeptide Y /peptide YY. *Life Sci.* 1992, 50: PL12.
- 115.** Harfstrand A, Fredholm B, Fuxe K. Inhibitory effects of neuropeptide Y on cyclic AMP accumulation in slices of the nucleus tractus solitarius region of the rat. *Neurosci. Lett.* 1987, 74: 237–242.
- 116.** Schwartz TW. Pancreatic polypeptide: a hormone under vagal control. *Gastroenterology.* 85: 1411–25. 1983.
- 117.** Ledebøer M, Masclee AA, Biemond I, Lamers CB. Gallbladder nutrition. *Am J Gastroenterol.* 1997, 92: 2274–9.
- 118.** Jain MR, Pu S, Kalra PS, Kalra SP. Evidence that stimulation of two modalities of pituitary luteinizing hormone release in ovarian steroid- primed ovariectomized rats may involve neuropeptide Y Y1 and Y4 receptors. *Endocrinology.* 1999, 140: 5171–7.
- 119.** Widdowson PS. Regionally-selective down regulation of NPY receptor subtypes in obese Zucker rat. Relationship to the Y5 ‘feeding’ receptor. *Brain Res.* 1997, 758: 17–25.
- 120.** Browsky B, Walker MW, Bard J, Weinshank RL, Laz TM, Vaysse P. Molecular biology and pharmacology of multiple NPY Y5 receptor species homologs. *Regul Pept.* 1998, 76: 45–53.

- 121.** Criscione L, Rigollier P, Batzl-Hartmann C, Rüeiger H, Stricker –Krongrad A, Wyss P. Food intake in free-feeding and energy-deprived lean rats is mediated the neuropeptide Y5 receptor. *J Clin Invest.* 1998, 102: 2136–45.
- 122.** Della Zuana O, Sadlo M, Germain M, Feletou M, Charmorro S, Tisserand F. Reduced food intake in response to CGP71683A may be due to mechanisms other than NPY Y5 receptor blockade. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2001, 25: 84–94.
- 123.** Vezzani A, Sperk G, Colmers WF. Neuropeptide Y: emerging evidence for a functional role in seizure modulation. *Trends Neurosci.* 1999a, 22: 25–30.
- 124.** Noe MF, Sorensan AT, Kokaia M, Vezzani A. Gene therapy of focal onset epilepsy using adeno-associated virus vector-mediated overexpression of neuropeptide Y161. *Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies.* 2012: 40: 3–4
- 125.** Reibel S, Nadi S, Benmaamar R, Larnet Y, Carnahan J, Marescaux C. Neuropeptide Y and epilepsy: varying effects according to seizure type and receptor activation. *Peptides.* 2001, 22: 529–39.
- 126.** Stroud L M, O'Brien T J, Jupp B, Wallengren C, Morris M. Neuropeptide Y suppresses absence seizures in a genetic rat model. *Brain Research.* 2005, 1033:151– 156
- 127.** Sun QQ, Huguenard JR, Prince DA. Neuropeptide Y receptors differentially modulate Gprotein- activated inwardly rectifying K⁺ channels and high-voltage-activated Ca²⁺ channels in rat thalamic neurons, *J. Physiol.* 2001, 531: 67– 79.
- 128.** Bregola G, Dumont Y, Fournier A, Zucchini S, Quirion R., Simonato M.. Decreased levels of neuropeptide Y5 receptor binding sites in two experimental models of epilepsy. *Neuroscience.* 2000, 98, 697–703.
- 129.** McQuiston AR, Petrozzino JJ, Connor JA, Colmers WF. Neuropeptide Y1 receptors inhibit Ntype calcium currents and reduce transient calcium increases in rat dentate granule cells. *J. Neurosci.* 1996, 16: 1422–1429
- 130.** Colmers WF, Kalpstein GJ, Fournier A, St-Pierre S, Treherne KA. Presynaptic inhibition by neuropeptide Y in rat hippocampal slice in vitro is mediated by a Y2 receptor. *Br J Pharmacol.* 1991, 102: 41- 44.
- 131.** Silva AP, Cavadas C, Grouzmann E. Neuropeptide Y and its receptors as potential therapeutic drug targets. *Clinica Chimica Acta* 326. 2002, 3–25.
- 132.** Bijak M. Neuropeptide Y reduces epileptiform discharges and excitatory synaptic transmission in rat frontal cortex in vitro. *Neuroscience.* 2000, 96(3): 487–94.

- 133.** Klapstein GJ, Colmers WF. Neuropeptide Y suppresses epileptiform activity in rat hippocampus in vitro. *J Neurophysiol.* 1997, 78: 1651–1661.
- 134.** Woldbye DPD, Nanobashvili A, Sørensen AT, Husum H, Bolwig TG, Sørensen G, Ernfors P, Kokaia M. Differential suppression of seizures via Y2 and Y5 neuropeptide Y receptors. *Neurobiology of Disease.* 2005, 20: 760 – 772.
- 135.** Reibel S, Larmet Y, Le BT, Carnahan J, Marescaux C, Depaulis A. Brain-derived neurotrophic factor delays hippocampal kindling in the rat. *Neuroscience.* 2000, 100: 777–788.
- 136.** Erickson JC, Clegg KE, Palmiter RD. Sensitivity to leptin and susceptibility to seizures of mice lacking neuropeptide Y. *Nature.* 1996, 381:415–21.
- 137.** Colmers WF, Lukowiak K, Pittman QJ. Neuropeptide Y action in the rat hippocampal slices: site and mechanism of presynaptic inhibition. *J Neurosci.* 1988, 8: 3827–3837.
- 138.** Bijak M, Smialowska M. The effects of neuropeptide Y on evoked potentials in the CA1 region and the dentate gyrus of the hippocampal slice. *Pol.J .Pharmacol.* 1995, 47:333-338.
- 139.** Smialowska M, Bijak M, Sopala M, Tokarski K. Inhibitory effect of NPY on the picrotoxin-induced activity in the hippocampus: a behavioural and electrophysiological study. *Neuropeptides.* 1996, 30: 7–12.
- 140.** Klapstein GJ, Colmers WF. Neuropeptide Y suppresses epileptiform activity in rat hippocampus in vitro. *J Neurophysiol.* 1997, 78: 1651–1661.
- 141.** Marsh DJ, Baraban SC, Hollopeter G, Palmiter RD. Role of the Y5 neuropeptide Y receptor in limbic seizures. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1999, 96: 13518–23.
- 142.** Ho MW, Beck-Sickinger AG, Colmers WF. Neuropeptide Y5 receptors reduce synaptic excitation in proximal subiculum, but not epileptiform activity in rat hippocampal slices. *J Neurophysiol.* 2000, 83: 723–34.
- 143.** Zachrisson O, Mathe AA, Stenfors C, Lindfors N. Limbic effects of repeated electroconvulsive stimulation on neuropeptide Y and somatostatin mRNA expression in the rat brain. *Brain Res. Mol.* 1995, 71–85.
- 144.** Baraban SC, Hollopeter G, Erickson JC, Schwartzkroin PA, Palmiter RD. Knock-out mice reveal a critical antiepileptic role for neuropeptide Y. *J. Neurosci.* 1997, 17: 8927–8936.

- 145.** Richichi C, Lin EJ, Stefanin D, Colella D, Ravizza T, Grignaschi, G, Veglianesi P, Sperk G, During MJ, Vezzani A. Anticonvulsant and antiepileptogenic effects mediated by adeno-associated virus vector neuropeptide γ expression in the rat hippocampus. *J. Neurosci.* 2004, 24: 3051–3059.
- 146.** Schwarzer C, Sperk G. Hippocampal granule cells express glutamic acid decarboxylase-67 after limbic seizures in the rat. *Neuroscience.* 1995, 69: 831–845.
- 147.** Fürtinger S, Pirker S, Czech T, Baumgartner C, Ransmayr G, Sperk G. Plasticity of Y1 and Y2 receptors and neuropeptide Y fibers in patients with temporal lobe epilepsy. *J. Neurosci.* 2001, 21: 5804–5812.
- 148.** Koebnick C, Kelly L A , Lane C J , Roberts C K , Shaibi G Q , Toledo-Corral , Davis J N , Weigensberg M J and Goran MI. Combined association of maternal and paternal family history of diabetes with plasma leptin and adiponectin in overweight Hispanic children. *J BiolChem.* 1998, 273 (52): 35245–35249
- 149.** Mix H, Widjojo A, Jandl O, Cornberg M, Kaul A, Goke M, Beil W, Kuske M, Brabant G, Manns M and Wagner S. Expression of leptin and leptin receptor isoforms in the human stomach. *J BiolChem.* 1996, 271(8): 3971- 3974
- 150.** Sivitz WI, Wayson SM, Bayless M L, Larson, LF, Sinkey, C. Leptin and body fat in type II diabetes and monodrug therapy. *J. Clinic. Endoc. and Metab.* 2002, 88(4): 1543–1553.
- 151.** Elmquist JK, Ahima RS, Maratos-Flier E, Flier JS & Saper CB. Leptin activates neurons in ventrobasal hypothalamus and brainstem. *Elmquist JK, Bjorbaek, Endocrinology*, 1997,138, 839-842.
- 152.** Figlewicz DP, Evans SB, Murphy J, Hoen, M, Baskin, DG. Expression of receptors for insulin and leptin in the ventral tegmental area/substantia nigra (VTA/SN) of the rat. *Brain Res.* 2003,964: 107–115.
- 153.** Tartaglia CA, Demski M, Weng X, Deng NH, Culpepper J, Devos R, et al. Identification and expression of cloning of a leptin receptor. *OB-R.Cell.* 1995, 83: 1263–1271.
- 154.** Lahlov N, Issad T, Lebouc Y, Carel JC, Camoin L, Rager M, Girord T. Mutations in the human leptin and leptin receptor genes as models of serum leptin receptor regulation. *Diabetes.* 2002, 51: 1980–1985.
- 155.** Bailey JC, Turner RC. Metformin. *N Engl J Med.* 1996, 334(9): 574–579.

- 156.** Blum WF. Leptin: the voice of the adipose tissue. *Horm Res*, 1997, 48: 2–8.
- 157.** Abraham MR, Al-Sharafi BA, Saavedra G, Khardori R. Fasting serum insulin concentrations are associated with QTc duration independent of serum leptin percent body fat and BMI. *Diabetes Care*. 1999, 22: 1917–1918.
- 158.** Schwartz MW, Seeley RJ. Neuroendocrine responses to starvation and weight loss. *N. Engl. J. Med.* 1997, 336: 1802–1811.
- 159.** Shanley LJ, O'Malley D, Irwing AJ, Ashford ML, Harvey J. Leptin inhibits epileptiform-like activity in rat hippocampal neurones via PI 3-kinase- driven activation of BK channels. *J. Physiol.* 2002a, 545: 933–44.
- 160.** Shanley LJ, Irwing AJ, Rae MG, Ashford ML, Harvey J. Leptin inhibits rat hippocampal neurones via activation of large conductance calcium- activated K⁺ channels. *Nat. Neurosci.*, 2002b, 5: 299-300.
- 161.** Harvey J. Leptin: a diverse regulator of neuronal function. *J Neurochem.* 2007a, 100(2) 307–13.
- 162.** Takahashi KA, Cone RD. Fasting induces a large, leptin-dependent increase in the intrinsic action potential frequency of orexigenic arcuate nucleus neuropeptide Y/Agouti-related protein neurons. *Endocrinology*. 2005, 146: 1043–1047.
- 163.** Ayyıldız M, Yıldırım M, Açar E., Baltacı AK. The effect of leptin on penicilin induced epileptiform activity in rats. *Brain Res. Bull.* 2006a, 30: 374–378.
- 164.** Xu, L, et al. Leptin inhibits 4-aminopyridine- and pentylenetetrazole-induced seizures and AMPAR-mediated synaptic transmission in rodents. *J. Clin. Invest.* 2008, 118:272–280.
- 165.** Rodi D, Mazzuferi M, Bregola G, Dumont Y, Fournier A, Quirion R, Simonato M. Changes in NPY-Mediated Modulation of hippocampal [3H]D-Aspartate outflow in the kindling model of epilepsy. *Synapse*. 2003, 49: 16- 124.
- 166.** Harvey, J. Leptin regulation of neuronal excitability and cognitive function. *Current Opinion in Pharmacology*. 2007b, 7: 643–647.
- 167.** Spanswick, D, Smith M.A, Groppi V.E, Logan SD, Ashford ML. Leptin inhibits hypothalamic neurons by activation of ATP-sensitive potassium channels. *Nature*. 1997, 390: 521–5.
- 168.** Williams KW, Smitt BN. Rapid inhibition of neural excitability in the nucleus tractus solitarius by leptin: implications for ingestive behaviour. *J. Physiol.* 2006, 101–113.

- 169.** Shanley LJ, Irwing AJ, Harvey J. Leptin enhances NMDA receptor function and modulates hippocampal synaptic plasticity. *J. Neurosci.* 2001, 21: RC 186.
- 170.** Murphy, P. Use of the ketogenic diet as a treatment for epilepsy refractory to drug treatment. *Expert Rev. Neurother.* 2005, 5: 769–775.
- 171.** Erbayat-Altay E, Yamada KA, Wong M, Thio LL. Increased severity of pentylentetrazol induced seizures in leptin deficient ob/ob mice. *Neuroscience Letters.* 2008, 433: 82–86.