



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**PENİSİLİN İLE OLUŞTURULAN DENEYSEL  
EPİLEPTİFORM AKTİVİTE ÜZERİNE  
NÖROPEPTİT-S'NİN ETKİSİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Çiğdem ÇİÇEKLI**

**Samsun  
Ekim-2018**





ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**PENİSİLİN İLE OLUŞTURULAN DENEYSEL  
EPİLEPTİFORM AKTİVİTE ÜZERİNE  
NÖROPEPTİT-S'NİN ETKİSİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Çiğdem ÇİÇEKLi**

**Danışman  
Prof. Dr. Erdal AĞAR**

**Samsun  
Ekim-2018**

T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Çiğdem ÇİÇEKLİ tarafından Prof. Dr. Erdal AĞAR Danışmanlığında hazırlanan  
“Penisilin İle Oluşturulan Deneysel Epileptiform Aktivite Üzerine Nöropeptit-S'nin Etkisi”  
başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından 12/10/2018 tarihinde yapılan sınav ile Fizyoloji  
Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Erdal AĞAR, Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Mustafa AYYILDIZ, Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Niyazi TAŞCI, Ordu Üniversitesi

ONAY

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri  
tarafından uygun görülmüştür.

.... / .... /2018

Prof. Dr. Ahmet Uzun  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim süresince, tezimin planlanması ve yürütülmesinde yardım ve desteğini gördüğüm, bilgilendirme ve yönlendirmeleriyle çalışmamı bilimsel temeller ışığında şekillendiren değerli hocam Prof. Dr. Erdal Ağar'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Mesleki ve bilimsel açıdan ilgi ve hoşgörülerini her an hissettiren, bilgi ve deneyimlerinden yararlanma imkanı sunan değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Niyazi Taşçı'ya, Sayın Prof. Dr. Cafer Marangoz'a, Sayın Prof. Dr. Mustafa Ayyıldız'a, Sayın Prof. Dr. Ayhan Bozkurt'a, Sayın Doç. Dr. Aydın HİM'e, Dr. Öğretim Üyesi Gökhan Arslan'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Anabilim dalı içerisinde her konuda desteklerini ve dostluklarını esirgemeyen değerli çalışma arkadaşlarım Dr. Elif Şen'e, Dr. Fırat Ayçık'a, Dr. Sinem Tosun'a, Dr. E. Soner Tiryaki'ye, Dr. İsa Yeşilyurt'a, doktora ögr. Süleyman Emre Kocacan'a, doktora ögr. F. Banu Şen'e, doktora ögr. Özge Darakçı'ya, doktora ögr. Ali Zaher Kamel Al Khaleel'e, doktora ögr. Lubna Adil Kamil Kamil'e, doktora ögr. Ayşegül Yıldız'a, anabilim dalı sekreterimiz Ayşe Köse'ye teşekkür ederim.

Yaşamım boyunca maddi ve manevi her zaman yanımda olan sevgili babam Recep Ergün'e, annem Mevlüde Ergün'e, kardeşlerim Emre ve Samet Ergün'e, özverisiyle her an yanımda olan çok değerli eşim Mustafa Nusret Çiçekli'ye ve hayatımı anlamlandıran şüphesiz enerji ve neşe kaynağım canım oğlum Mustafa Mirza Çiçekli'ye çok teşekkür ediyorum.

Bu çalışma, Ondokuz Mayıs Üniversitesi tarafından PYO.TIP.1904.17.001 proje numarası ile desteklenmiştir.

## ÖZET

### PENİSİLİN İLE OLUŞTURULAN DENEYSEL EPİLEPTİFORM AKTİVİTE ÜZERİNE NÖROPEPTİT-S'NİN ETKİSİ

**Amaç:** Epilepsi, tekrarlayan nöbetlerle karakterize nörolojik bir hastalıktır. Nöropeptit-S (NPS) güçlü farmakolojik etkileri olan düzenleyici bir peptittir. NPS'nin, anksiyeteye bağlı stresi azalttığı, dopamin düzeyini artırdığı, hafıza bozukluğunu iyileştirdiği ve nörotoksinlerin sebep olduğu hücre kaybını tersine çevirdiği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Sunulan çalışma ile NPS'nin penisilin ile oluşturulan epileptiform aktivite üzerine olan etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

**Materyal ve Metot:** Sunulan çalışmada, OMÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (2016/54) tarafından onaylanan ortalama 180-240 g ağırlığında 84 adet erişkin erkek Wistar sıçan kullanıldı. Epileptik aktivite, sıçanlara üretan anestezisi altında 500 IU Penisilin-G'nin intrakortikal (i.k.) yolla verilmesiyle oluşturuldu. NPS'nin 0,025-1 nmol arasındaki 8 farklı dozu intraserebroventriküler (i.s.v.) yolla verildi. NPS'nin kronik etkisini araştırmak için ise kanül yerleştirilen hayvanlara bir hafta boyunca 1 nmol (i.s.v.) NPS uygulandı. Elde edilen elektrokortikografik verilerin istatistiki değerlendirmesi SPSS 17 kullanılarak ANOVA ve Mann Withney-U testleri ile değerlendirildi.

**Bulgular:** Elde edilen elektrofizyolojik kayıtların değerlendirilmesi sonucunda NPS doz gruplarında, spike frekansları ve amplitüd değerleri bakımından kontrol grubuna göre anlamlı bir fark bulunmadı ( $p>0,05$ ). Kronik olarak NPS uygulanması da epileptiform aktivitenin spike frekansı ve amplitüd değerlerini etkilemedi ( $p>0,05$ ).

**Sonuç:** Sunulan çalışmada, NPS'nin penisilin ile oluşturulan epileptiform aktivite üzerine etkisinin olmadığı sonucuna varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Epilepsi; Erkek Rat; Nöropeptit-S; Penisilin

**Çiğdem ÇİÇEKLİ, Yüksek Lisans Tezi**  
**Ondokuz Mayıs Üniversitesi - Samsun, Ekim-2018**

## ABSTRACT

### EFFECT OF NEUROPEPTIDE-S ON PENICILLIN-INDUCED EXPERIMENTAL EPILEPTIFORM ACTIVITY

**Aim:** Epilepsy is a neurological disorder characterized by recurrent seizures. Many factors play a role in epilepsy such as neuropeptides, neurotransmitters and receptors. Neuropeptide-S (NPS) is a regulatory peptide with potent pharmacological effects. NPS reduces stress due to anxiety, increases dopamine levels, improves memory impairment and reverses neuronal loss caused by neurotoxins. In the present study, we aimed to investigate the effect of NPS on penicillin-induced epileptiform activity.

**Material and Method:** Adult Male Wistar rats (n=84) weighing 180-240 g were used. Rats were anesthetized with urethane and epileptiform activity was generated by intracortical injection of 500 IU penicillin-G. NPS was administered i.c.v. at eight different doses varies among 0.025-1 nmol. To create chronic effect of NPS, the dose of 1 nmol (i.c.v.) was administered with a cannula every day for seven days. Statistical comparisons were performed by ANOVA and Mann Withney-U tests using SPSS 17.

**Results:** All dose of NPS did not alter either mean frequency or amplitude of penicillin-induced epileptiform activity compared to control group ( $p>0.05$ ). Chronically administration of NPS also did not affect the mean frequency and amplitude of epileptiform activity ( $p>0.05$ ).

**Conclusion:** NPS had no effect on epileptic activity at least, on the penicillin-induced epileptiform activity.

**Key Words:** Epilepsy; Male Rat; Neuropeptide-S; Penicillin

Çiğdem ÇİÇEKLİ, Master Thesis

Ondokuz Mayıs University- Samsun, October-2018

## SİMGE VE KISALTMALAR

6-OHDA:	6-hidroksidopamin
AMPA:	$\alpha$ -amino-3-hidroksi- 5metil-4 izoazolepropionik asit
ANOVA:	Tek yönlü varyans analizi
AP:	Aksiyon potansiyeli
BLA:	Bazolateral amigdala
Ca <sup>+2</sup> :	Kalsiyum iyonu
cAMP:	Siklik adenozin monofosfat
Cl <sup>-</sup> :	Klor iyonu
Cm:	Santimetre
CT:	Bilgisayarlı tomografi
Cys:	Sitozin
Dk:	Dakika
DNA:	Deoksiribonükleik asit
EAAT:	Eksitator aminoasit transporter
ECoG:	Elektrokortikografi
EEG:	Elektroensefalografi
EPN:	Endopiriform çekirdek
EPSP:	Eksitator postsinaptik potansiyel
ER:	Endoplazmik retikulum
g:	Gram
GABA:	Gama amino butirik asit
GABA <sub>A</sub> :	Gama aminobutirik asitin A reseptörü
GABA <sub>B</sub> :	Gama aminobutirik asitin B reseptörü
GHB:	Gama-Hidroksi Bütirat
Gln:	Glutamin
Glu:	Glutamat
Gly:	Glisin
GPCR:	G-protein-bağlı reseptör
Hz:	Hertz
ILAE:	Uluslararası Epilepsiyle Mücadele Birliği



IPSP:	İnhibitör postsinaptik potansiyel
IU:	Uluslararası birim
i.k.:	İntrakortikal
i.m.:	İntramüsküler
i.p.:	İntraperitoneal
i.s.v.:	İntraserebroventriküler
i.v.:	İntravenöz
K <sup>+</sup> :	Potasyum iyonu
kg:	Kilogram
LA:	Lokomotor aktivite
LC:	Locus coeruleus
L-DOPA:	Levodopa
LPB:	Lateral parabrşiyal çekirdek
MES:	Maksimal elektroşok modeli
mg:	Miligram
mGluR:	Metabotropik glutamat reseptörleri
ml:	Mililitre
mm:	Milimetre
mPFC:	Medial prefrontal korteks
MPTP:	Nörotoksin 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin
MR:	Manyetik rezonans
MRI:	Manyetik rezonans görüntüleme
mRNA:	Mesajcı RNA
MSS:	Merkezi sinir sistemi
Na <sup>+</sup> :	Sodyum iyonu
nmol:	nanomol
NMDA:	N-metil-D aspartat
NPS:	Nöropeptit-S
NPSR:	Nöropeptit-S reseptör geni
PC:	Piriform korteks
PDS:	Paroksizmal depolarizasyon şifti
PTZ:	Pentilentetrazol

PWT:	Peptit kaynak teknolojisi
SAR:	Tek örnek rejeneratif doz protokolü
SEM:	Standart hata
SF:	Serum fizyolojik
SHA 66:	3-Okso-1,1-difenil-tetrahidro-oksazolo[3,4-a] pirazin-7 karboksilik asit benzilamid
SHA 68:	3-okso-1,1-difenil-tetrahidro-oksazolo[3,4-a]pirazin-7-karboksilik asit 4-floro-benzilamid
sn:	Saniye
SPSS:	Statistical Package for Social Sciences
VGLUT:	ATP-bağımlı veziküler glutamat taşıyıcıları
VTA:	Ventral tegmental alan
$\mu$ l:	Mikrolitre
$\mu$ m:	Mikrometre
$\mu$ V:	Mikrovolt

## İÇİNDEKİLER

<b>ÖZET</b> .....	iv
<b>ABSTRACT</b> .....	v
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR</b> .....	vi
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	ix
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	5
2.1. Beyin Kabuğu (Korteks) .....	5
2.1.1. Beyin Korteksindeki Hücre Tipleri .....	5
2.1.2. Beyin Korteksinin Tabakaları .....	7
2.2. Nöbet .....	10
2.3. Epilepsi .....	11
2.3.1. Epileptik Nöbetlerin Sınıflandırılması .....	12
2.3.2. Epilepsinin Patofizyoloji .....	17
2.3.3. Epilepsinin Tanısı ve Tedavisi .....	20
2.3.4. Deneysel Epilepsi Modelleri .....	23
2.4. Nöropeptit-S (NPS) .....	27
2.4.1. NPS Agonistleri .....	31
2.4.2. NPS Antagonistleri .....	33
<b>3. MATERYAL VE METOT</b> .....	35
3.1. Materyal .....	35
3.1.1. Deney Hayvanları .....	35
3.1.2. Kimyasal Maddeler ve Uygulanış Şekilleri .....	35
3.1.3. Penisilin Epilepsi Modelinde NPS Doz Çalışmasının Cerrahi İşlemleri .....	36
3.1.4. Kronik Doz Uygulaması için Elektrot ve Kanül Yerleştirilmesi .....	38
3.2. Metot .....	39
3.2.1. Deney Grupları .....	39
3.2.2. Elektrofizyolojik Kayıtların Alınması ve Değerlendirilmesi .....	40
3.2.3. İstatistiksel Değerlendirme .....	43
<b>4. BULGULAR</b> .....	43

4.1. Penisilinle Oluşturulan Epileptiform Aktivite.....	43
4.2. Farklı Dozlarda Uygulanan NPS'nin Epileptiform Aktiviteye Etkisi .....	45
4.3. Kronik Olarak Uygulanan 1 nmol NPS'nin Epileptiform Aktivitenin Spike Frekansı ve Amplitüdüne Etkisi .....	55
<b>5. TARTIşMA .....</b>	<b>60</b>
5.1. Penisilinle Oluşturulan Epileptiform Aktivite.....	60
5.2. NPS'nin Epileptiform Aktiviteye Etkisi .....	62
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER .....</b>	<b>67</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>69</b>
<b>EKLER.....</b>	<b>78</b>
<b>ÖZGEÇMİş .....</b>	<b>79</b>

## 1. GİRİŞ

Epilepsi, normal beyin fonksiyonlarının geçici, tekrarlanan ve kendi kendine devam eden, beynin bir alanında veya genellikle beynin her bölgesinde aynı anda hipersenkronize olarak aktivasyonu gerçekleştiren nörolojik bir bozukluktur (Dichter ve Ayala, 1987). Epilepsinin etiolojisinde kafa travmaları, kafa içi lezyonlar, merkezi sinir sisteminin enfeksiyöz ve dejeneratif hastalıkları, metabolik bozukluklar (hipoglisemi, hipokalsemi vs) ve endokrin bozukluklar sayılabilir. Dahası epilepsi ile depresyon ve bilişsel bozukluk gibi sekonder komplikasyonlar da sıklıkla ilişkilidir. Epileptik nöbeti tedavi etmek için kullanılan antiepileptik ilaçlar, epilepsi hastalarında, bu psikiyatrik komorbiditeleri ortaya çıkarabilir. Bu sebeplerden dolayı, epileptik nöbeti ve bunun eşlik eden komorbiditelerini önleyen, yeni bir farmakoterapiye ihtiyaç duyulmaktadır (Sendrowski ve Sobaniec, 2013; Gan J ve ark., 2015).

Epileptik nöbetlerin oluşumunda nöronal uyarılabilirlikte artış görülmektedir (Engelborgsh ve ark., 2000). Nöronlardaki artmış uyarılabilirliğin sebebi glutamat başta olmak üzere eksitator nörotransmitterlerin artışı ile dengenin eksitasyon yönünde değişmesi sonucu olabilmektedir (Iannotti ve ark., 2014). Ayrıca glutamat reseptörünün öğrenme ve bellek için de kritik öneme sahip olduğu bildirilmiştir (Jensen, 2011). Nöronlardaki artmış uyarılabilirliğin bir diğer sebebi ise gama amino butirik asit (GABA) ve benzer inhibitör nörotransmitterlerin azalması sonucu yine dengenin eksitasyon yönünde değişmesidir. Bu dengenin neden bozulduğunu yani epilepsi etyolojisinde rol oynayan hücrel ve moleküler mekanizmaları araştıran çok sayıda çalışma olmasına rağmen, halen daha belirsizlikler bulunmaktadır (Iannotti ve ark., 2014). Bu nedenle epilepsinin moleküler mekanizmalarının aydınlatılması ve yeni ilaçlar geliştirilmesi için çeşitli deneysel epilepsi modelleri kullanılmaktadır (Engel ve Schwartzkroin, 2006).

Basit parsiyel epilepsinin akut modellerinden biri olan penisilin modeli epilepsi, en sık kullanılan epilepsi modellerinden birisidir (Marangoz, 1997). Penisilin fokal veya jeneralize epileptik nöbetler oluşturan konvülsan etkili kimyasal bir maddedir. Penisilin ile oluşturulan epilepsi modeli, epilepsinin nöronal mekanizmasını çözümlenmeye yaramakta ve epileptiform aktivitenin yayılmasının analizi için imkan tanımaktadır. Epileptiform aktivite oluşturmak için penisilin kortekse verilmektedir veya sistemik yoldan uygulanmaktadır. Deneysel penisilin epilepsi modelinde, GABA aracılı inhibisyon ve glutamata bağlı eksitasyon sonucu fokal olarak başlayıp, jeneralize nöbetle

devam eden epileptiform aktivite oluşmaktadır. Penisilin modeli epilepsi fokal başlayıp yayılarak jeneralize nöbete dönüşmesi nedeniyle klinikteki grand mal epilepsiyeye benzemektedir (Aygün, 2017). Uyarılmış epileptik odaklarda spontan interiktal deşarjlar kaydedilir, ilk önce sinaptik girişlerde başlatılır, senkron haline geldikten sonra ve yüzeyden kaydedilen interiktal elektrokortikogram (ECoG) spike (diken) dalgalarını oluştururlar (Purpura ve ark., 1972; Fisher, 1989; Lindsay ve ark., 1997; Schwartzkroin ve Mody, 1997). Böylece deneysel penisilin epilepsi modeli klinik epilepsi vakalarıyla aynı olmamakla birlikte, temel mekanizma açısından benzerlikler göstermektedir (Walden ve ark., 1992).

Her yıl 125000 yeni epilepsi vakası teşhisi konmaktadır, ancak hastaların sadece % 70'i halen mevcut olan antiepileptik ilaçlarla etkili bir şekilde tedavi edilmektedir (Kwan ve Brodie, 2007). Önemli sayıda hasta için, günümüzde kullanılan farmakoterapiler, semptomları kontrol etmek için etkili değildir. Bunun ışığında, daha etkili ilaçlara önemli derecede ihtiyaç duyulmaktadır (Kwan ve Brodie, 2007). Nöropeptitler genellikle fizyolojik koşullar altında sessiz olan ve normal nörotransmisyon üzerinde çok az etki gösteren nöronal uyarılabilirliğin güçlü modülatörleridir. Bununla birlikte, aşırı yüksek nöronal ateşleme koşulları altında (yani, epileptik nöbetler) nöropeptidler serbest bırakılır ve nörotransmisyon üzerine modülatör etkiler uygular (Hokfelt ve ark., 2000).

Nöropeptitler nöronlar tarafından üretilen, salınan ve iletişim için kullanılan küçük protein benzeri moleküllerdir. Böylece, nöropeptitler, beyinde birçok fizyolojik fonksiyonla uğraşan sinyalleme moleküllerinin en çeşitli sınıfıdır. Yaklaşık 70 gen, memeli genomunda, nöropeptit öncüllerini kodlayarak ve çok sayıda biyoaktif nöropeptite ayrılabilir (Burbach, 2011).

NPS, N-terminal ucunda bulunan serin kalıntısı sebebiyle bu isimde adlandırılmış olup, NPS dizileri, genomik seviyede bulunduğu tüm türler boyunca korunmuştur. NPS bir orphan G-protein bağlı reseptörün bir ligandı olarak izole edilmiştir ve ilk olarak 2004 yılında bir patentte açıklanmıştır (Xu ve ark., 2004). Diğer nöropeptitlere benzer şekilde, NPS, muhtemelen proteolitik bölünme için işlem alanları olarak işlev görecektir olgunlaşmamış peptitten önce bir çift bazik amino asit tortusu içeren bir öncü protein tarafından kodlanmaktadır. NPS peptiti, öncü proteinin C-terminal ucunda bulunur ve NPS prekürsörü en az üç eksone ayrılmakla birlikte insanın 10. kromozomu üzerinde yer

almaktadır. NPS'nin ana yapısı, evrim boyunca iyi korunmuştur. Bu koruma derecesi, biyolojik aktivite için N-terminal parçasının öneminin göstergesidir (Reinscheid, 2007).

Sıçanlarda, NPS mesajcı RNA (mRNA) esas olarak beyinde ifade edilmektedir. Locus coeruleus ve Barrington'un beyin sapındaki (pons) çekirdeği arasında yer alan bir hücre kümesi, NPS öncül mRNA'nın yüksek ekspresyon seviyelerini göstermektedir. Önceden tanımlanamayan bu hücre grubu, ponsdaki yeni bir çekirdeği tanımlar ve NPS'nin ekspresyonu ponsun birkaç alanında bulunan bazı hücrelerde gerçekleşir (Adori ve ark., 2015). Sıçanlarda yapılan nöroanatomik analizler sonucunda NPS, Locus coeruleus (LC), Trigeminal çekirdek ve Lateral parabrakiyal çekirdekte ekspresse edilmektedir (Si ve ark., 2010). LC; anksiyete, stres ve uyarılmanın merkezi olduğu bilinir ve bu alanın öğrenme ve hafızada da etkisi olduğu vurgulanmaktadır (Weiss ve ark., 1994; Tanaka ve ark., 2000; Aston-Jones, 2005). Genel olarak, NPS öncülünün ifadesi beyinde oldukça kısıtlıdır (Liu ve ark., 2011). NPS öncüsünü ekspresse eden periferel bölgeler arasında tiroid, meme bezi, tükürük bezi ve testis gibi çoğunlukla endokrin dokular bulunmaktadır (Reinscheid, 2009). Ancak Nöropeptit-S reseptör geni (NPSR) ise beyin birçok alanında, çok daha yaygın olarak ekspresse edildiği bildirilmiştir (Adori ve ark., 2015). Korteks, talamus, subiculum, hipotalamus, amigdala, ventral tegmental alan ve olfaktör çekirdek bu alanlara dahildir (Xu ve ark., 2007; Si ve ark., 2010).

Çeşitli davranış testleri ile yapılan araştırmada, NPS'nin anksiyolitik benzeri etkisi olduğu gösterilmiştir (Leonard ve ark., 2008). Diğer bazı çalışmalarda; NPS'nin santral uygulanması, farelerde anksiyete davranışlarına bağlı stresi azaltmaktadır (Okamura ve Reinscheid, 2007; Rizzi ve ark., 2008). Ayrıca NPSR reseptörlerinden yoksun farelerde anksiyete benzeri davranışların arttığı da görülmüştür (Duangdao ve ark., 2009). NPS'nin amigdala içine uygulanması, anksiyolitik etkilere yol açmakta (Jüngling ve ark., 2008), korku durumunu ise bloklamaktadır (Fendt ve ark., 2010). Yapılan bir araştırmada NPS'nin farelerde lokomotor aktiviteyi arttırdığı bulunmuştur (Xu ve ark., 2004). Sıçanlardan alınan EEG kaydı sonuçlarına göre, NPS enjeksiyonundan yaklaşık bir saat sonra uyku evreleri baskılanarak uyanıklığın arttığı bildirilmiştir (Roth ve ark., 2006; Smith ve ark., 2006; Rizzi ve ark., 2008).

(Adori ve ark., 2016) çalışmasında NPSR'nin beyindeki dopaminerjik çekirdeklere ekspresse edildiği gösterilmiştir. Bilindiği gibi dopamin ve parkinson hastalığı arasında yakın bir ilişki vardır (Metzel ve ark., 1970). Ayrıca dopaminerjik

nörotoksin 6-OHDA'nin (6-hidroksidopamin) i.s.v. olarak enjeksiyonu ile motor eksiklikler oluşturulmuş ve NPS'nin etkileri araştırılmıştır. NPS, nöroprotektif etki göstererek 6-OHDA nörotoksininin geliştirdiği motor hasarları tersine çevirmektedir (Didonet ve ark., 2014).

Literatürde NPS'nin nöroprotektif etkiye sahip olduğundan bahsedilmiş ancak penisilin modeli epileptiform aktivite ile ilişkisini gösteren bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Sunulan çalışma ile sıçanlarda NPS'nin farklı dozlarının ve ilk defa penisilinle oluşturulan epileptiform aktiviteye olan etkisi araştırıldı. Ayrıca en yüksek doz olan 1 nmol NPS'nin kronik uygulanmasının etkisi araştırıldı.





## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Beyin Kabuğu (Korteks)

Neokorteks olarak da isimlendirilen beyin korteksi, beynin en dış kısmını saran, genellikle 3-6 hücre tabakasından oluşmuş olup beyni çevreleyen özelleşmiş ince bir tabakadır. Beynin herhangi bir yerinden koronal kesit alındığında, kalınlığı yaklaşık 1-5 mm arasında olabilen bu tabakaya beynin gri maddesi de denir. Korteks toplamda ortalama  $10^{10}$  sinir hücresi (nöron) içerir ve nöronların gövdeleri bu korteks alanı içinde yer alır. Korteksin altında ise beyaz cevher (substantia alba) bulunur. Burası nöronların uzantıları olan aksonların bulunduğu kısımdır (Vuckovic ve ark. 2002). Beyin korteksi, en dıştan içe doğru incelendiğinde genellikle 3-6 hücre tabakasından oluşan özelleşmiş bir yapıdır. Bu alan sinir sisteminin en büyük bölümüdür (Schmidt, 1989). İnsan beynini, diğer omurgalıların beyninden ayıran en önemli fark korteks yüzey alanının çok geniş olmasıdır. Beyin korteksi; hareketlerin yönetilmesi, duyuların algılanması, analizi ve yorumu, düşünme ve düşüncenin şekillendirilmesi, iç dengenin korunması (homeostazis), hafızanın oluşumu, verilerin değerlendirilerek planlama ve karar verilmesi, ifade kabiliyeti, şuur gibi yüksek beyin faaliyetleri olan, insanı fonksiyonel açıdan diğer memelilerden üstün kılan en üst kontrol noktasıdır (Purves ve ark., 2001; Ropper ve Brown, 2006).

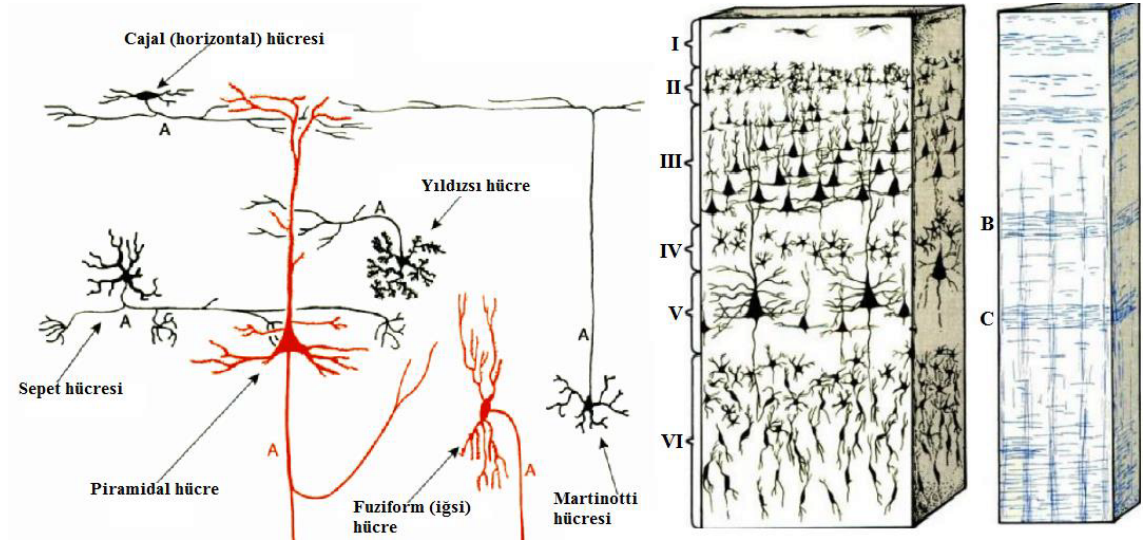
#### 2.1.1. Beyin Korteksindeki Hücre Tipleri

Beyin kabuğundaki hücre gövdelerinin şekilsel özelliklerine, dendritlerin uzunluk dağılımları ile akson dallanma ve sonlanma bölgelerine göre birçok kez sınıflandırılmıştır (Colonnier, 1968; Barr ve Kiernan, 1988). Sıklıkla kullanılan sınıflandırmaya göre beyin korteksi; yıldızlı (granüler) hücreler, iğsi (fusiform) hücreler, Martinotti hücreleri, Cajal'in horizontal hücreleri ve piramidal hücreleri içermektedir.

##### Yıldızlı Hücreler

Küçük gövdeli, çok kutuplu (multipolar) hücrelerdir. Dendritler hücreden ayrılır ayrılmaz dallanma yaparlar. Dendritler yaklaşık 3-5  $\mu\text{m}$  kalınlığındadır. Dendritik dallanmaları 200-400  $\mu\text{m}$  çaplı bir dağılım gösterirler. Hücre aksonu genellikle büyük bir dendritten çıkarak komşu hücre gövdeleri ve yüzeysel dendrit tabakalarında sonlanır (Şekil 1). Bu hücrelerin bazıları eksitator, bazıları ise inhibitör etki gösterir. Eksitator olan hücrelerin aksonları genellikle piramidal hücrelerin tepe dendritlerine paralel ve çok

sayıda sinaps yaparak ilerlerken korteks yüzeyine dik bir seyir izlerler. Eksitator olanlar transmitter olarak daha çok nöropeptidleri (kolesistokinin, vazointestinal peptid) kullanırken, inhibitör olanlar GABA salgırlar (Barr ve Kiernan, 1988).



**Şekil 1.** Serebral korteksin hücreleri ve tabakaları (A: Akson, B: Baillarger'ın dış bantı, C: Baillarger'ın iç bantı.) (Esas hücreler kırmızı renkle, ara nöronlar siyah renkle gösterilmiştir) (Goldman ve Bennet, 2000).

### **İğsi (Fusiform) Hücreler**

Hücre gövdeleri iğ şeklinde olan bu hücrelerin iki sivri ucundan birer dendrit çıkar ve bunlar dallanırlar (Şekil 1). Aksonlarının bir kısmı yüzeysel tabakalarda sonlanırlar. Geri kalan büyük çoğunluğu ise geriye doğru dönen (recurrent) dallar oluşturduktan sonra beyin korteksinin dışına çıkarlar (Barr ve Kiernan, 1988).

### **Martinotti Hücreleri**

Serebral korteksin tüm tabakalarında bulunan, kısa çok sayıda yan dal veren aksonlara sahip küçük multipolar hücrelerdir. Bu hücrelerin aksonlarının doğrudan korteks yüzeyine doğru yönelmiş olması en önemli özellikleridir (Şekil 1) (Barr ve Kiernan, 1988).

### **Cajal'ın Horizontal hücreleri**

1981 yılında tavşan marjinal zonunda tanımlanan bu bipolar hücre beyin korteksinin en dış ve yüzeysel tabakasında bulunur. Her bir uçtan çıkan dendrit ve aksonları da aynı tabaka içerisinde korteks yüzeyine paralel olarak uzanır ve piramidal hücrelerin dendritleri ile bağlantı kurar (Şekil 1) (Barr ve Kiernan, 1988).

## **Piramidal Hücreler**

Beyin korteksinde en yaygın hücre tipidir. Piramidal hücreler, bir piramidi andıran hücre gövdeleri nedeniyle bu şekilde adlandırılmıştır. Bu hücreler moleküler tabakanın (tabaka I) dışında korteksin tüm tabakalarında bulunur, özellikle II, III ve V. tabakalarda daha yaygındır (Şekil 1). Piramidal hücreler büyüklüklerine göre büyük, orta ve küçük olarak üç gruba ayrılırken, aksonlarının hedeflerine göre de asosiyasyon ve projeksiyon hücreleri olarak adlandırılırlar. Piramidin tepe kısmı korteksin dış yüzeyine bakar ve bu kısımdan dendritler çıkar. Dendritler yatay veya dikey olarak seyredebilir. Piramidal hücrelerin taban kısmı ise korteks tabanına doğrudur ve bu kısımdan hücrenin aksonu çıkar. Akson beyin ve omuriliğin farklı bölgelerine uzanabilir (Goldman ve Bennet, 2000). Akson çapları genellikle hücre gövdesi ile orantılıdır ve 1µm'den 20µm'ye kadar değişebilir (Verhaart, 1970). Substantia alba'da miyelinle örtülen aksonlar korteksin efferent liflerini oluştururlar. Bunlar:

- a. Projeksiyon lifleri (subkortikal alanlara uzanır)
- b. Assosiyasyon lifleri (çeşitli korteks alanları arasında bağlantı kurar)
  - Kısa assosiyasyon lifleri; aynı lop içinde, komşu girusları bağlar.
  - Uzun assosiyasyon lifleri; çeşitli beyin loplarını bağlar.

## **Sepet Hücreleri**

Beyin korteksi, serebellumun moleküler tabakası ve hipokampusta bulunan inhibitör GABAerjik aranéronlardır (Şekil 1) (Barr ve Kiernan, 1988).

### **2.1.2. Beyin Korteksinin Tabakaları**

Korteks, filogenetik olarak arkikorteks, paleokorteks ve neokorteks olmak üzere 3 kısımdan oluşur. Memelilerdeki beyin kabuğunun %90'ı "yeni kabuk" anlamına gelen "neokorteks" şeklindedir. Paleokorteks, telensefalonun bazal kısmının bazı sınırlı bölümlerini kaplar. Arkikorteks olarak bilinen "eski kabuk" ise memeli beyinde hipokampus bölgesinin yapısına verilen isimdir (Andrew, 1991).

Memeli neokorteksinde korteksin dış yüzeyinden (pia materden) ak maddeye kadar 6 tabaka vardır (Şekil 1) (Barr ve Kiernan, 1988; Ayyıldız, 1994). Beyin bölgeleri arasında bazı farklar bulunsa da genelde bu altı tabakalı yapı tüm beyin korteksi boyunca korunmaktadır. Beyin korteksinin kalınlığı farklı bölgelerde 1,3 ile 4,5 mm arasında değişebilmektedir (Şekil 2) (Barr ve Kiernan, 1988; Schmidt, 1989). Beyin korteksi tabakaları, pia materden aşağıya doğru şu şekilde sıralanır:

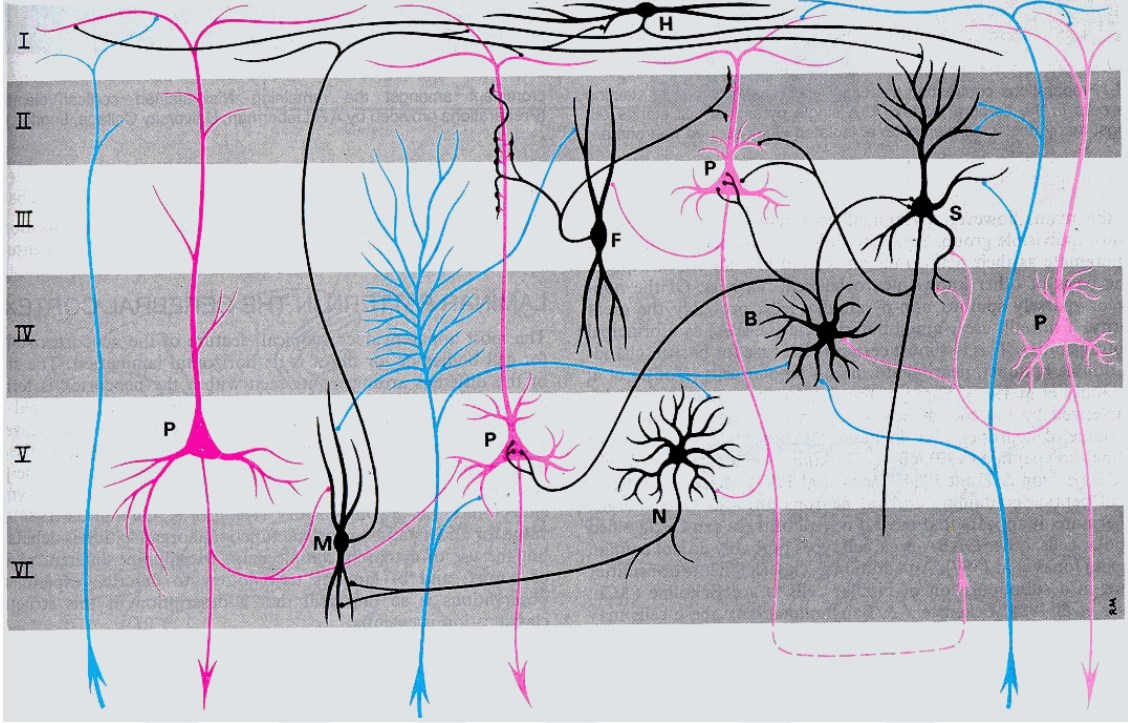
**I. Moleküler Tabaka:** Pia mater'in hemen altından başlayan bu tabakanın ortalama kalınlığı 250 µm kadardır. Hücreleri küçüktür ve diğer tabakalara göre daha seyrek dağılımlı bir düzende yerleşim gösterir. Piramidal hücrelerin dikey dendritleri ve bazı akson uçları bu tabakada sonlanır. Cajal'ın horizontal hücreleri ve dağınık yıldız hücreleri de nadiren bu tabakada bulunabilir (Şekil 2). Bu tabaka esas olarak korteksin sinaptik bir alanıdır (Marangoz, 1978; Barr ve Kiernan, 1988; Schmidt, 1989; Ayyıldız,1994).

**II. Dış Granüler Tabaka:** Moleküler tabakaya kıyasla daha kalın bir tabakadır. Hücrelerin tipi piramidal olduğundan bu tabakaya 'küçük piramidal hücre tabakası' da denir. Yıldız hücrelerinin çoğunluğu da bu tabakadadır (Şekil 2). Bu bölgeden çıkan dikey dendritler moleküler tabakada sonlanırlar. Aksonlar hücrelerin taban bölümlerinden çıkarak genellikle V. ve VI. tabakalarda sonlanırlar. Az da olsa bazı aksonlar beyin korteksini terk ederek ak maddeye geçebilirler.

**III. Dış Piramidal Tabaka:** Dış granüler tabakanın devamı niteliğinde olduğundan ayırt edilmesi zordur. Dış piramidal ve dış granüler tabakalar arasındaki en önemli ayırt edici özellik bu tabakadaki piramidal hücrelerin daha büyük çaplı olmasıdır (Şekil 2). Hücrelerin tepe kısımları beyin kabuğu yüzeyine doğru yönelmiştir. Tepe (apikal) dendritleri, I. tabakanın sinaptik alanlarına doğru yönelirler. Yatay dendritler aynı tabaka içinde kolonlar arasında bir uzanırlar. Tabakanın alt kısmındaki hücreler talamustan gelen spesifik girişleri alırlar. Alt tabakalardan gelen bazı aksonlar da bu tabakada sinaps yaparlar. III. tabakadan çıkan götürücü liflerin bir kısmı V. ve VI. tabakalarda sonlanırken, diğer lifler korteks altı yapılara ve diğer beyin korteksi alanlarına kadar uzanmaktadır (Barr ve Kiernan, 1988).

**IV. İç Granüler Tabaka:** Granüler hücreler olarak adlandırılan; aksonları kısa ve büyük bir yoğunlukla beyin kabuğu içinde sonlanan, küçük çaplı ve yoğun olarak paketlenmiş çok kutuplu hücrelerden oluşur. Üst kısımlara giden aksonlar I ve II. tabakalarda, alt kısımlara giden aksonlar V. ve VI. tabakalarda sonlanırlar (Şekil 2). Dendritleri aynı tabakada dallanarak dağılır. Spesifik talamo-kortikal aferentlerin çoğunluğu granüler hücrelerin dendritleri ile sinaps yapar. Bu tabakada bulunan bir diğer hücre tipi yıldız hücrelerdir. Yıldız (satellite) hücrelerin dendritleri aynı tabaka içinde dallanma gösterir. Yıldız hücrelerin kısa olan aksonları ise V ve VI. tabakalardaki hücrelerin bu tabakaya uzattığı dendritlerle sinaps yapar. İç granüler tabaka, IV. tabakadır

ve bu tabaka beyin korteksteki ana aferentleri alan esas bölgedir. IV. tabaka, beyin korteksinin bazı bölgelerinde iyi gelişmediğinden bu bölgelere “agranüler korteks” adı verilmektedir (Barr ve Kiernan, 1988).



**Şekil 2.** Beyin korteksinin tabakaları ve kortekste bulunan neokortikal nöronlar. Aferent lifler (mavi), Nöronlar (siyah), Piramidal hücreler (pembe). I. Moleküler tabaka, II. Dış granüler tabaka, III. Dış piramidal tabaka, IV. İç granüler tabaka, V. İç (dev) piramidal hücre tabakası, Horizontal hücre (H), Yıldızsı hücre (S), İğsi hücre (F), Sepet hücresi (B), Piramidal hücre (P) (Gray’s anatomy, 2005).

**V. İç (Dev) Piramidal Hücre Tabakası:** Bu tabakada Betz’in dev piramidal hücreleri de dahil büyük piramidal hücre grupları bulunduğundan, bu bölge ‘dev piramidal hücre tabakası’ adıyla anılır (Şekil 2). Yalnız tabaka içindeki tüm hücreler büyük değildir. Büyük piramidal hücrelerin dendritik dalları I. tabakaya kadar yükselir ve orada geniş bir dallanma gösterir (Barr ve Kiernan, 1988). Hücrelerin tabanından çıkan uzun eferent akson ya korteks altı merkezlere uzanır ya da aynı ve karşı beyin kabuğunda bulunan asosiasyon ve komisural merkezlere gider. Omuriliğe inen liflerin çoğunluğu bu tabaka kaynaklıdır ve büyük bir bölümü de medulladaki piramis bölgesinden geçer (Coulter ve ark., 1976; Miller ve ark., 1983). Bu aksonların oluşturduğu rekürrent kollateral lifler geriye doğru dönüp III., II. ve I. tabakalarda sonlanırlar. V ve VI. tabakalar korteksin ana çıkış tabakalarıdır. Piramidal yolu oluşturan aksonların hücre gövdeleri

daha çok bu tabakada bulunur. Bu tabakada ayrıca yıldız ve Martinotti hücreleri de bulunmaktadır (Barr ve Kiernan, 1988).

**VI. İğsi (Fusiform) Hücre Tabakası:** Hücreler iğ şeklidir ve dendritleri hücrenin bir veya her iki ucundan çıkıp, hücreyi terk ettikten sonra dallanırlar. Bazıları hiç dallanmadan birinci tabakaya kadar uzanır ve genelde V. tabakayı geçmez. Akson çoğunlukla korteksi terk eder ve ayrılmadan önce dönücü yan dallar (recurrent collaterals) verir. Bu tabakanın içte kalan kısmı ak madde ile kaynaşmış durumdadır (Marangoz, 1978). Kortikal tabakaların her birinde bulunan en yaygın hücre tipi aksonları kortekste dallanan kısa aksonlu nöronlardır (Şekil 2). Bu kısa aksonlu hücrelerin uzun aksonlu hücrelere oranla sayıları beyin korteksinin gelişimiyle doğru orantılı olarak artmış ve insan beyninde maksimum miktara ulaşmıştır. Kısa aksonlu hücrelerin başlıcaları Golgi Tip-II, Martinotti ve I. tabakada bulunan Cajal'in horizontal hücreleridir (Mountcastle ve Poggio, 1974).

## **2.2. Nöbet**

Beyin, milyarlarca sinir hücresi, hücrelerin uzantıları ve sinir hücrelerini destekleyen glial dokularından oluşmuştur. Sinir hücreleri elektriksel akımlarla çalışırlar. Her bir sinir hücresi elektrik akımı oluşturma ve diğer hücrelere iletme yeteneğine sahiptir.

Epileptik nöbet (iktus), beyinde bir grup nöronun ani, beklenmedik ve geçici bir şekilde elektriksel deşarjlara yol açmasından kaynaklanır. Sonuçta klinik olarak bilinç, psişik, motor, duyuşsal ve otonom belirtileri ortaya çıkar. Nöbet sonrası döneme postiktal periyod, nöbetler arası zamana da interiktal periyod denir. Nöbet, hastanın hayatı boyunca tek nöbet olarak kalabileceği gibi, zaman içinde tekrarlayabilir (Okan, 2004). Refleks epilepsi olayları hariç, nöbetler önceden tahmin edilemez. Epileptik nöbetler istem dışı olaylardır, hastalar nöbetin başlangıcını ve bitişini kontrol edemezler. Nöbetler genellikle kısa olup, 5 dakikadan daha az sürerler ve müdahalesiz sona erer. Status epileptikus, nöbetler sona ermeyince oluşur ve hayatı tehdit eden bir durumdur. Nöbetin davranış olarak dışa vurum şekli etkilenen beyin dokusunun yerine ve genişliğine göre değişmektedir (Kandel ve Jessel, 2000).

### 2.3. Epilepsi

Epilepsi, spontan ve tekrarlanan nöbetlerle karakterize kronik nörolojik bir hastalıktır. Bu hastalık eski çağlardan beri insanoğlu tarafından bilinmektedir. Epilepsinin araştırmaları ve tedavisi 1850'lerden günümüze kadar gelişimini sürdürmüştür.

Hastalığın prevalansı, toplumda yaklaşık olarak % 0,4-1 oranında görülmektedir (Bell ve Sander, 2001). Epilepsi insidansı çocukluk, ergenlik çağı ve yaşlılıkta en yüksektir. Erişkinlerde ise beyin damar hastalıklarından sonra en sık rastlanan ikinci hastalıktır (Balogh ve ark., 2004).

Epilepsi, provoke edilmemiş spontan olarak tekrarlayan nöbet oluşumlarıyla karakterize bir hastalıktır (Yeni ve Karaağaç, 2005). Nöbetler ise beyinde anormal, istemsiz ve ritmik nöronal deşarjlar sonucu ortaya çıkan ani ve geçici krizler halinde gelen olaylardır. Epilepsi için “nöbet hastalığı” olarak bahsedilmesine rağmen nöbetlerden epilepsi olarak bahsedilmesi doğru değildir. Nöbetler bir semptomdur; epilepsi ise, tekrarlayan nöbetlerle karakterize bir hastalıktır. Nöbetler, aynı zamanda, hipoglisemi, hiponatremi ve normal beyin metabolizmasındaki geçici değişikliklerden de kaynaklanabilir.

Epilepsi tanısının konulabilmesi için epileptik nöbetlerin tekrarlaması ve uzun süre devam etmesi gerekmektedir. Kafa travmaları, inme, beyindeki hemorajiler, menenjit, ansefalit, abse gibi merkezi sinir sistemini etkileyen bazı enfeksiyonlar, beyin damarlarındaki bazı yapısal bozukluklar, genetik unsurlar, tümörler ve doğum travmaları belli başlı epilepsi nedenleri arasında yer almaktadır. Hemen hemen vakaların % 70'inde altta yatan neden bulunamamaktadır (Bruton, 1988; Ettinger, 1994; Engel ve ark., 2008).

Uygulanan tedaviler semptomları gidermeye yönelik olup, hastaların yaklaşık %30'unda epileptik nöbetler ilaçlarla kontrol altına alınamamaktadır. Epilepsinin çoğu zaman belirsiz olan doğası, hastaların pek çoğunda duyumotor, bilişsel, psikolojik, psikiyatrik ve sosyal bozuklukların yanı sıra yaşam kalitesinin bozulmasına ve erken ölüm riskinin artmasına sebep olmaktadır (Fisher ve ark., 2005).

### 2.3.1. Epileptik Nöbetlerin Sınıflandırılması

Günümüzde en geçerli sınıflandırma, Uluslararası Epilepsiyle Mücadele Birliğinin (ILAE) epileptik nöbetlerin klinik ve elektroensefalografik sınıflamasıdır (Tablo 1).

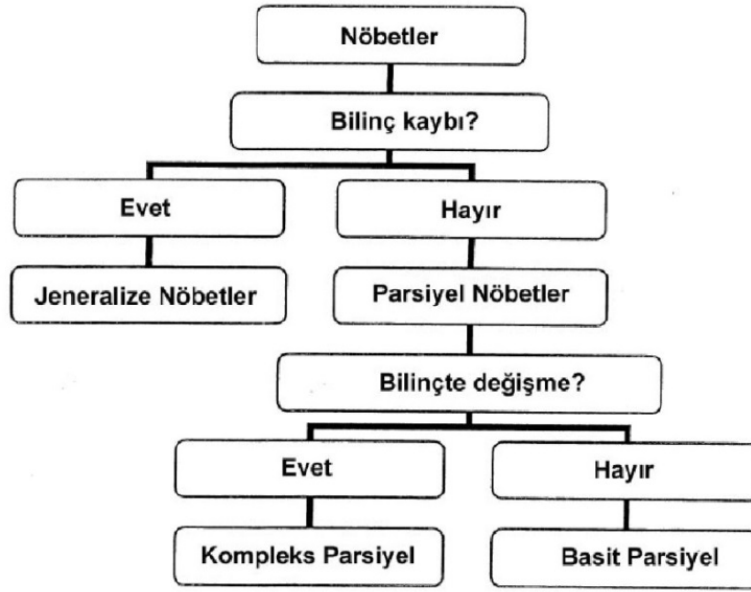
**Tablo 1.** Uluslararası Epilepsiyle Mücadele Birliğinin (ILAE) epileptik nöbetlerin klinik ve elektroensefalografik sınıflaması

<b>ILAE'ye Göre Epileptik Nöbetlerin Sınıflandırılması (2010)</b>
<b>Parsiyel (Fokal) Nöbetler</b>
Basit parsiyel nöbetler
Kompleks parsiyel nöbetler
Sekonder Jeneralize Nöbete Dönüşen Parsiyel Nöbetler
<b>Jeneralize Nöbetler</b>
Absans nöbetler (Petit-mal)
Miyoklonik nöbetler
Klonik nöbetler
Tonik nöbetler
Tonik-klonik nöbetler (Grand-mal)
Atonik nöbetler (astatik)
Tanımlanamayan nöbetler
<b>ILAE'ya göre Epilepsilerin ve Epileptik Sendromların Uluslararası Sınıflandırılması (ILAE, 1989)</b>
<b>İdiyopatik Epilepsiler</b>
<b>Semptomatik Epilepsiler</b>
<b>Kriptojenik Epilepsiler</b>

### ILAE'ye Göre Epileptik Nöbetlerin Sınıflandırılması

Nöbetler nöbet esnasında görülen semptomlara göre sınıflandırılır ve temelde parsiyel ve jeneralize olmak üzere iki sınıfa ayrılmaktadır. Jeneralize nöbetlerde, korteksin tamamının olaya dahil olması sebebiyle, nöbetin başlangıcında tamamen bilinç kaybı olur. Parsiyel nöbetler, sınırlı olarak beyinin bazı bölgelerinde başladığı için, bilinç tamamen kaybolmaz. Bu sebeple bir nöbetin başlangıcında bilincin korunup korunmadığı nöbetin sınıflandırılmasında ilk başlangıç noktası olarak kabul edilmektedir (Şekil 3) (Shneker and Fountain, 2003).





Şekil 3. Nöbet sınıflandırma algoritması (Shneker and Fountain, 2003).

### Parsiyel (fokal) nöbetler

‘Nöbet odağı’ adı verilen beynin belli bir bölgesinden kaynaklandığı için tam bir bilinç kaybı görülmez. Fakat bazen, jeneralize olarak yayılabilir ve sonuçta beynin karşı hemisferi de etkilenebilir. Epileptik aktivite, karşı hemisfere yayılırsa şuur kaybı görülür (Bora, 2002). Parsiyel nöbetler üçe ayrılır:

**Basit parsiyel nöbetler:** Beyinde belirli ufak bir bölgede meydana gelmesi sebebiyle bu tip nöbetlerde bilinç durumu bozulmaz. Hastaların bir nöbeti önceden hissetme deneyimi olarak tanımladıkları aura, sadece bir basit parsiyel nöbettir. Auranın ortak belirtileri arasında komik hisler, epigastrik duyular, durulanma, temizlenme, çarpıntı, bulantı veya baş dönmesi ve temporal loptan kaynaklanan tanımlanamayan viseral septomlar sayılabilir (Shneker ve Fountain, 2003). Basit parsiyel nöbetler eşlik eden semptomlara göre şu şekilde sınıflandırılabilir:

- Motor semptomlu
- Somatosensoryal veya özel duyusal semptomlu
- Otonomik semptomlu
- Psişik semptomlu

**Kompleks parsiyel nöbetler:** Bu nöbetlerde hastanın bilincinde değişiklikler oluşur ancak hasta bilincini kaybetmez. Kompleks parsiyel nöbetler beynin herhangi bir bölgesinde, ancak çoğunlukla frontal lobu takip eden temporal loba oluşmaktadır. Bu nöbetler tüm yaş gruplarında görülebilir ve toplumda oldukça yaygındır (Shneker ve Fountain, 2003).

#### **Sekonder Jeneralize Nöbete Dönüşen Parsiyel Nöbetler**

- Basit parsiyel nöbet ve kompleks parsiyel nöbet, jeneralize nöbete dönüşebilir.
- Önce basit parsiyel nöbet kompleks parsiyel nöbete ve devamında jeneralize nöbete dönüşebilir.

#### **Jeneralize Nöbetler**

Epileptik deşarjlar beynin her tarafında aynı anda başlamaktadır. Nöbetin başlangıcından itibaren her iki beyin hemisferi de etkilenmiştir, sıklıkla tonik-klonik konvulsiyonlarla karakterize nöbetlerdir. Bilinci devam ettiren kortikal nöronlar normal fonksiyonlarını yerine getiremedikleri için, bilinç kaybı meydana gelir. ILAE'nın sınıflandırmasında birkaç jeneralize nöbet tipi tanımlanmıştır:

**Absans nöbetler (Petit-mal):** Bu nöbetler kısa süreli (1-10 sn) ve geçici jeneralize nöbetlerdir. Nöbet başladığında, kişinin ifadesinde veya hareketlerinde bir boşluk görülür ve hasta çoğu zaman bu boşluğun farkında olmaz. Atipik absans nöbetleri, absans nöbetlerine göre daha uzun sürede sonlanır ve azalmış tonik aktivite ile birlikte gerçekleşir. Absans nöbetler, nöbet süresince jeneralize özellikte iyi biçimlenmiş yüksek amplitüdü 3 Hz spike dalga deşarjları içererek, kolayca tanınabilen EEG özellikleri oluşturmaktadır.

**Miyoklonik nöbetler:** Bu nöbetler epileptik deşarjlar şeklinde gerçekleşen miyoklonik jerklerdir (Gurnett ve Dodson, 2009). Jerk, merkezi sinir sisteminin birçok alanından kaynaklanabilen ani, kısa, istemsiz bir harekettir. Nöbetler vücudun herhangi bir bölümünü etkilemekle birlikte, çoğunlukla farkedilen bilateral el veya kol kasılmalarıdır.

**Klonik nöbetler:** Bu nöbetler jeneralize tonik-klonik nöbetlerin sadece klonik fazından oluşur. Tekrar eden ritmik jerkler olarak karakterize edilir.

**Tonik nöbetler:** Bu nöbetler jeneralize tonik-klonik nöbetlerin sadece tonik fazından oluşur. Tipik olarak midriyazis ve yukarı ya da yana doğru göz kayması ile birlikte dir. Sert, musküler spazmlar 30 saniye veya daha az sürer (Gurnett ve Dodson, 2009).

**Tonik-klonik nöbetler (Grand-mal):** Grand-mal epilepsi nöbetleri, ani bilinç kaybı ve kas kasılması sonucu düşme ve travma ile birlikte görülebilmektedir. Tonik fazda önce aksiyal fleksiyon, ardından ekstansiyon olur. Sonrasında, jeneralize olan jerklerle klonik nöbet başlar. Bu safhada düzensiz respirasyon ve bol miktarda tükürük salgılanması görülür. Dilin ısırılması ve idrarın tutulamaması yaygın durumlardır. Bu nöbetler 2-3 dakika sürer ve ardından en az birkaç dakika daha konfüzyon veya tamamen yanıtızlığın olduğu bir periyot görülür.

**Atonik nöbetler (astatik):** Nöbet başlağında kas tonusu aniden kaybolur ve kişi zemine kontürolsüz düşer veya yığılır. Bunlara ‘yığılma atakları’ denir. Postural tonusun azalması ya da kaybolması, bilinç kaybı ile birlikte görülür.

**İnfantil spazm:** Küçük çocuklarda görülür. Gövdenin ileri doğru fleksiyonu ve her iki kolun ekstansiyonu gibi belirtileri bulunmaktadır (Shneker ve Fountain, 2003).

#### **Sınıflandırılmayan Epileptik Nöbetler**

Çoğulukla nöbetin başlangıcında olağandışı bir ses, olağandışı bir koku ya da ani ruh hali değişimleri oluşur ve genellikle irritabilite ve disfori görülür. Bu tarz nöbetlerde, nöbetin kaynaklandığı yerde veya çevresinde paroksizmal nöronal bir ateşleme ile aura adı verilen kısa bir duyum oluşur. Aura, nöbetin hastanın hatırladığı tek bölümü olabilir. Sonrasında iktal dönem oluşur ve bu dönem nöbet anını ifade eder. İktal dönem, nöbetin özel türüyle ilgili olarak anormal EEG yapılarıyla ortaya çıkar. Hemen nöbetin devamında postiktal dönem başlar. İnteriktal dönem ise nöbetler arasındaki zamandır. İnteriktal dönemde hastalarda nöbet oluşmaz, ancak EEG’de yine de bir miktar paroksizmal aktivite görülebilir.

Epileptik tek nöbet aktivitesinin 30 dakikadan daha uzun sürmesi veya iki ve daha fazla nöbetin aralarında hasta bilinci açılmadan seriler halinde gelmesine “status epileptikus” denir. Yüksek oranda morbidite ve mortaliteye sahiptir. Konvülfif status epileptikusta, tonik, klonik veya miyoklonik şekilde sınıflandırılan statusun nöbetin tipine göre kasılmalara ilave olarak taşikardi, midriyazis, hiperpne ve hipersekresyon gibi

önemli otonomik belirtiler oluşur. Nöbet devam ederse hastada ateş, hipotansiyon, asidoz ve solunum depresyonu da görülebilir (Okan, 2004).

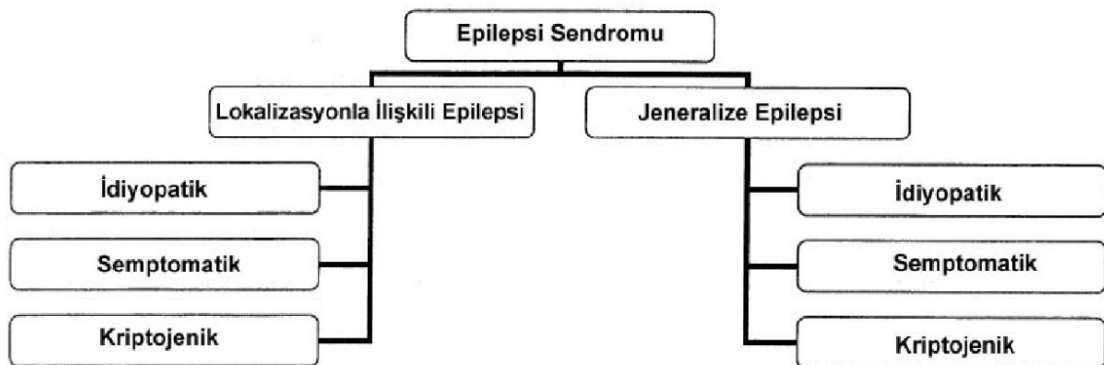
### **ILAE'ya göre Epilepsilerin ve Epileptik Sendromların Uluslararası Sınıflandırılması (ILAE, 1989)**

ILAE sisteminde epilepsinin sınıflandırılması lezyonun konumu (lokal veya genel) ve şüphelenilen neden (idiyopatik, semptomatik veya kriptojenik) olmak üzere iki ayırt edici özelliğe bağlıdır (Şekil 4) (Commission, 1989).

**İdiyopatik Epilepsiler:** Bu epilepsilerin sebepleri bilinmediği için idiyopatik olarak adlandırılırlar. Bu tür epilepsiler genellikle kalıtsaldır ve nöronal ileti anormalliğinin bir sonucu olarak meydana geldiği düşünülmektedir.

**Semptomatik Epilepsiler:** Malformasyon, tümör ve travma gibi yapısal hastalıklar, genellikle nöronal görüntülemeye kolaylıkla anlaşılır. Yapısal anomali olmaz ve gerçekleşen semptomatik epilepsi örneklerine, perinatal anoksi, metabolik anomaliler (örneğin amino asidopati, depolama hastalığı) ve kromozomal defektler dahil olmaktadır.

**Kriptojenik Epilepsiler:** Yapısal bir temele sahip olan ancak kanıtlanabilir bir sebebi olmayan epilepsidir. Bazı durumlarda yapısal bir beyin bozukluğu, mental retardasyon veya hemiparezis gibi nörolojik belirtilerinin bulunması nedeniyle kolayca anlaşılabilir. Bilgisayarlı tomografi (CT) taramalarında saptanamayan lezyonlar yüksek çözünürlüklü manyetik rezonans görüntüleme (MRI) taramalarıyla tespit edilebildiğinden, birçok kriptojenik epilepsi türü, semptomatik epilepsi içerisine dahil olmuştur (Shneker ve Fountain, 2003).



Şekil 4. Epilepsi sendromlarına ait algoritma (Shneker ve Fountain, 2003).

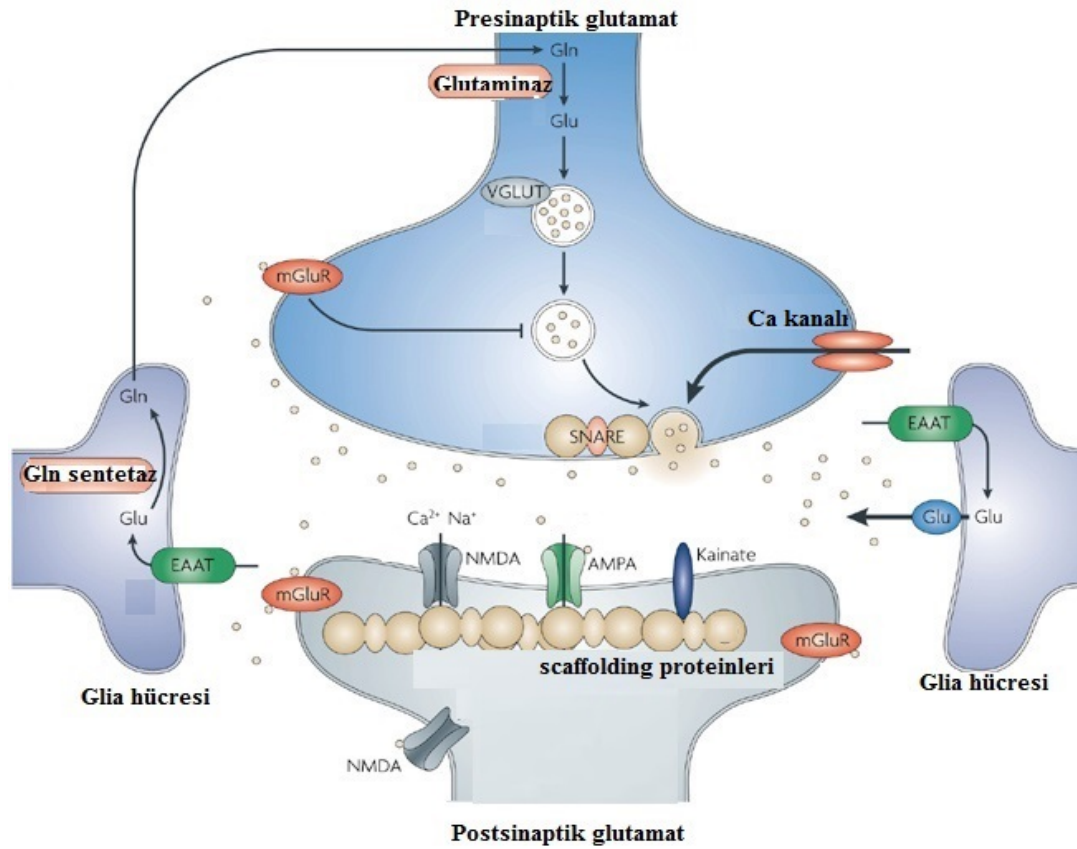
### 2.3.2. Epilepsinin Patofizyolojisi

Epileptogenez sağlıklı bir beynin epileptik olmasına kadar uzanan süreçtir (Giblin ve ark., 2010). Epileptogenezden sorumlu hücrel mekanizmalar tam olarak bilinmemektedir. Bütün epilepsi nöbetlerinin gelişmesinde aynı mekanizma sorumlu olmamakla birlikte, hepsinde artmış nöronal uyarılabilirlik ve senkronizasyon gibi ortak karakteristik özellikler bulunmaktadır. Epileptik nöbetleri başlatan moleküler mekanizmalar arasında, voltaja bağlı sodyum ( $\text{Na}^+$ ) kanalları, kalsiyum ( $\text{Ca}^{+2}$ ) kanalları gibi iyonik iletide bir bozukluğa yol açabilecek intrinsik nöronal membran ve moleküler kanal değişiklikleri yer alır. GABA gibi inhibitör nörotransmitterlerde yetersizliğe ya da glutamat gibi eksitator nörotransmitterlerde fazlalığa yol açacak anormal nörotransmitter sentezi de bu mekanizmalardandır. Nöronların ve glial hücrelerin elektron alışverişi, repolarizasyonlarını düzenleyen genetik faktörler ve hücre içi enzim yetersizliği, epileptik nöbete sebep olan odaklardaki pacemaker hücrelerin varlığı epileptogenez patofizyolojisinde etkilidir (Zaidel ve ark., 1993).

**GABA:** Merkezi sinir sisteminin (MSS) temel inhibitör nörotransmitteridir. Bu inhibitör etkisini presinaptik ve postsinaptik nöronal plazma membranındaki  $\text{GABA}_A$  ve  $\text{GABA}_B$  spesifik reseptörleri aracılığıyla gerçekleştirir.  $\text{GABA}_A$  reseptörleri pentamerik yapıda olup çeşitli alt birimlerin alt tiplerinden ( $\alpha 1$ - $\alpha 6$ ,  $\beta 1$ - $\beta 3$ ,  $\gamma 1$ - $\gamma 3$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\pi$ ,  $\theta$  ve  $\rho 1$ - $\rho 3$ ) oluşmaktadır (Kang J-Q, 2009). GABA'nın  $\text{GABA}_A$  reseptörüne bağlanmasıyla iyon kanalları açılır, klor ( $\text{Cl}^-$ ) hücre içerisine girer ve presinaptik inhibisyon başlar. GABA'nın  $\text{GABA}_B$  reseptörüne bağlanması ile potasyum ( $\text{K}^+$ ) akımı artar, kalsiyum ( $\text{Ca}^{+2}$ ) akımı azalır ve postsinaptik inhibisyon başlar (Wallace ve ark., 2003). Sonuçta GABAerjik inhibitör postsinaptik potansiyel (IPSP) oluşumu sağlanmış olur. Beynin serebellum, hipokampus, talamus gibi belirli bölgelerinde GABA çok az konsantrasyonlarda olsa bile  $\text{GABA}_A$  reseptör aracılığıyla membran iletiminin anında başlamasını sağlayabilir (Belelli ve ark., 2005; Cope ve ark., 2005; Jia ve ark., 2005). Substantia nigra'da GABA metabolizmasındaki azalmanın status epilepticus oluşumuna neden olduğu ve GABA agonistlerinin antiepileptik etki gösterdiği yapılan birçok araştırmada kanıtlanmıştır (Wasterlain ve ark., 1993).

**Glutamat:** Glutamat, memeli beynindeki en önemli eksitator nörotransmitterlerden biridir ve serebral uyarıcı iletimin % 75'inden sorumludur

(Fonnum, 1984; Moldrich ve ark., 2003). Glutamaterjik sinir ucunda, glutaminaz enziminin yardımıyla glutaminin hidrolize olur ve glutamat oluşur. Glutamatın az bir kısmı ise sitrik asit döngüsünün bir ara ürünü olan oksoglutaratın transaminasyonu ile sentezlenir. ATP-bağımlı veziküler glutamat taşıyıcıları (VGLUT) tarafından degridasyona uğramadan sinaptik veziküllerin içine taşınır. Kalsiyuma bağımlı olarak ekzositozla sinaptik aralığa salıverilir. Nörotransmitter molekülleri sinaptik vezikülde sitoplazmik yoğunluğun yaklaşık 10 katı konsantrasyonda bulunur. Sinir ucu membranından sinaps aralığına salıverilen glutamata içeri pompalayan yüksek afiniteli bir geri alım mekanizması (glutamat transportörü-EAAT) bulunur. Sinaptik aralığa salınan glutamat molekülleri postsinaptik reseptörlerine bağlanarak spinal motor nöronları depolarize ederler (Şekil 5) (Sadock ve ark., 2003; Sanacora ve ark., 2008).



**Şekil 5:** Glutamaterjik nörotransmisyon (Gln: Glutamin, Glu: Glutamat, EAAT: Eksitator aminoasit transporter, VGLUT: Veziküler glutamat transporter, mGluR: Metabotropik glutamat reseptörleri) (Sanacora ve ark., 2008)

Glutamat reseptörleri, iyonotropik ve metabotropik reseptörler olarak sınıflandırılır. Glutamat iyonotropik reseptörleri üzerinden, N-metil-D-aspartat (NMDA),  $\alpha$ -amino-3-hidroksi-5metil-4-izoazolepropionik asit (AMPA), kainate üzerinden sodyum ( $\text{Na}^+$ ) ve kalsiyum ( $\text{Ca}^{+2}$ ) kanallarını modüle ederek hızlı sinaptik ileti oluşturur. Metabotropik reseptörler ile de inositol ve siklik adenozin monofosfat (cAMP) ikincil habercileri üzerinden yavaş sinaptik ileti oluşur (Reem Al Qdah, 2009). Hem iyonotropik hem de metabotropik postsinaptik glutamat reseptörlerinin aktivasyonunun konvulsiyonlara sebep olduğu bildirilmiştir (Reem Al Qdah, 2009).

Birçok epilepsi hayvan modelinde postsinaptik glutamaterjik reseptörlerin uyarılması hipereksitabilite oluşturmaktadır. Sonuçta beyin dokusundaki nöbet aktivitesinin sürdürülmesi ve sonlandırılmasında GABA ve glutamat sistemlerinin önemli rol oynadığı bildirilmiştir (Wasterlain ve ark., 1993; Moldrich ve ark., 2003).

**İyon Kanalları:**  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{+2}$  veya  $\text{Cl}^-$  iyonlarının selektif geçişini sağlayan özelleşmiş membran proteinlerine iyon kanalları denir. Bu kanallar aksonal iletimden sorumlu aksiyon potansiyeli (AP) oluşumunu ve hücrelerarası sinyal iletiminden sorumlu sinaptik transmisyonu sağlayarak MSS'de uyarılabilirliğin temelini oluştururlar. Aksiyon potansiyelinin başlatılmasında voltaj kapılı  $\text{Na}^+$  kanalları önemlidir.  $\text{Ca}^{+2}$  kanalları nörotransmitter salınımı ve depolarizasyonun başlatılmasında rol alır.  $\text{K}^+$  kanalları ile AP sonlandırılır ve refrakter periyodun devamından,  $\text{Cl}^-$  kanalları da hiperpolarizasyondan ve istirahat membran potansiyelinin tekrar oluşumundan sorumludur. Bu kanallarda yapısal ya da aktivite ile ilgili defektlerin oluşumu beynin uyarılabilirliğini önemli ölçüde değiştirebilir ve sonuçta oluşan anormal iletimler epileptik nöbet oluşumlarına sebep olabilirler (Tablo 2).

**Tablo 2.** Normalde ve epileptik durumda iyon kanallarının rolleri (Reem Al Qdah, 2009)

Kanal veya reseptör	Nöronal fonksiyonu	Epilepsideki olası rolü
Voltaj kapılı Na <sup>+</sup> kanalı	EPSP, AP başlaması	Tekrarlanan AP ateşlemesi
Voltaj kapılı K <sup>+</sup> kanalı	AP durması	Anormal AP, repolarizasyon
Ca <sup>+2</sup> bağımlı K <sup>+</sup> kanalı	AP takiben refrakter periyod	Ateşlemenin tekrarlamasını sınırlandırır
Voltaj kapılı Ca <sup>+2</sup> kanalı	Transmitter salınımı: Dentritten somayadepolarizasyonun taşınması	Aşırı transmitter salınımı: patofizyolojik intrasellüler süreci aktive eder
Non-NMDA reseptör (AMPA)	Hızlı EPSP	Paroksizmal depolarizasyon şiftini (PDS) başlatır
NMDA reseptör	Uzun süreli, yavaş EPSP	PDS'yi devam ettirir: patofizyolojik süreçte Ca <sup>+2</sup> aktive eder
GABA <sub>A</sub> reseptörü	IPS	Uyarımı sınırlandırır
GABA <sub>B</sub> reseptörü	Uzamış IPSP	Uyarımı sınırlandırır
Na <sup>+</sup> - K <sup>+</sup> Pompası	İyonik dengenin sağlanması	K <sup>+</sup> indüklenen depolarizasyonu önler

### 2.3.3. Epilepsinin Tanısı ve Tedavisi

Epilepsi hastalığının tanısı için nöbetin gözlenmesi ve bu gözlemlerin hekime doğru bir biçimde aktarılması çok önemli bir konudur. Epilepsi tanısı ve değerlendirilmesinde hastanın perinatal öyküsü, gelişme basamakları, kafa travması, MSS infeksiyonu, ailede epilepsinin ve diğer sık görülen hastalıkların ayrıntılı bir şekilde sorgulanmasının önemi büyüktür. Epilepsi tanısı koymak için klinik bilgilere ek olarak en önemli yardımcı tanı yöntemi Elektroensefalografi (EEG) ve Manyetik rezonans (MR) tetkikleridir. Nöbet atakları görülen her hastada EEG çekilmelidir. İlk tanı konulurken ilk bir hafta içinde, diğer durumlarda ise EEG isteminden en geç dört hafta içinde EEG kaydı alınıp yorumlanmalıdır. EEG'de gözlemlenen hem iktal hemde interiktal anormallikler, epileptik nöbetlerin ayırıcı tanısında kullanılır (Baykan ve ark., 2004).

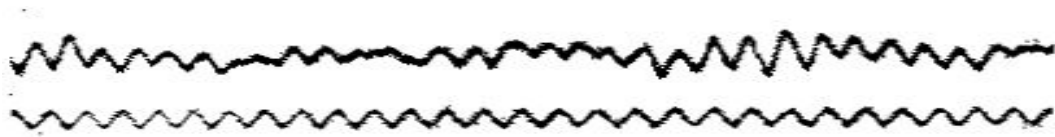
Epilepsi tedavisinde tanının doğru bir şekilde konulmasından sonraki ilk basamak ilaç gereksiniminin belirlenmesidir. Epilepsi hastalığı tedavisinde nöbetleri durdurmaya yönelik ilaçların planlı kullanımı çok önemli bir noktadır. Uygun ilaçlar seçildiğinde ve uygun dozlarda alındığında hastaların % 70-75'inde nöbetlerin



engellendiği görülmektedir. Fakat bu ilaç nöbetleri yeterince kontrol altına alamıyorsa, o zaman ilaç değişimi yapılabilir veya ikinci bir ilaç eklenebilir. Epilepsili hasta ilacını kullanarak yaşamını aktif olarak sürdürebilir. Eğer tedavi ile nöbetler bir kaç yıl görülmezse, doktor kontrolünde ilaçların azaltılıp sonrasında kesilmesi denenebilir. İlaçlar ile kontrol altına alınamayan nöbetlerde cerrahi işlem de uygulanabilmektedir. Epilepsi cerrahisi sadece bazı epilepsi türlerinde yapılabilir. Nöroloji uzmanı epilepsinin kaynaklandığı beyin alanını net bir şekilde tesbit edebilirse ve bu alan sınırlı ve konuşma, işitme gibi önemli beyin alanlarına çok yakın veya doğrudan o bölgede değilse hasta cerrahi aday olabilir (Arslan G., 2014).

### **Elektroensefalografi (EEG) ve Elektrokortikografi (ECoG)**

EEG, kortikal nöronlardaki çok sayıda eksitatör ve inhibitör sinaptik potansiyelin toplamı anlamına gelen spontan elektriksel aktivitelerin saçlı deriden kaydedilmesi olayıdır. Elektrotların korteksin pia yüzüne konulmasıyla elde edilen kayıtlara ise ECoG denir. ECoG verilerinin özellikleri (kortikal EEG) genellikle EEG ile benzer olsa da ECoG verileri daha yüksek frekansları içermektedir. ECoG sinyallerinin genlikleri  $-100 \mu V$  ile  $+100 \mu V$  arasında değişir. Bu ölçümler EEG ile ölçülen değerlerden 5-10 kat daha fazladır. (Baret ve ark., 2011). 1929 yılında Alman psikiyatrist Hans Berger, ilk sistematik insan EEG verilerini tanımlamış ve seri halinde sunmuştur (Şekil 6).



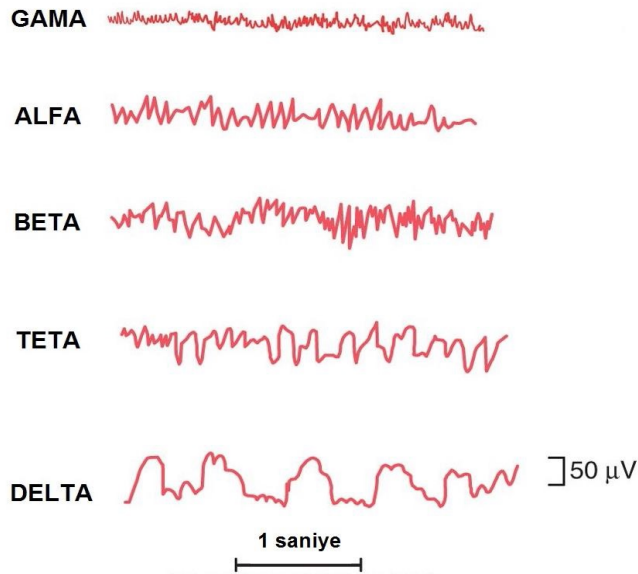
**Şekil 6.** İlk EEG kaydı grafiği, Hans Berger-1924. (Tudor ve ark., 2005)

Beyin dalgaları, EPSP ve IPSP'lerin cebirsel toplamı sonucu artı kalan sinaptik aktivitenin senkronizasyonu yoluyla oluşur ve kaydedici elektrot yardımıyla yüzeyden yazdırılır. Korteks yüzeyine yakın nöronal yapıların EPSP'leri EEG dalgalarının negatif kısımlarını, derin kortikal yapıların IPSP'leri ise EEG dalgalarının pozitif kısımlarını oluşturur. Ayrıca, yüzeyel IPSP'ler EEG dalgalarının pozitif kısımlarının, derindekiler ise negatif kısımlarının oluşumuna katkıda bulunur (Creutzfeldt ve ark., 1966).

EEG tanının desteklenmesi, sınıflanması, fokal beyin lezyonunun araştırılması ve epilepsi hastalarının izlenmesi amaçlarına hizmet etmektedir. Ancak tek başına EEG bulgusu epilepsi hastalığında tanı koymak için yeterli değildir. EEG'leri değerlendiren kişinin bu konudaki bilgi ve tecrübesi büyük önem taşımaktadır.

### Elektroensefalografide Beyin Dalgaları

EEG, beynin elektriksel aktivitesinin kaydı olarak tanımlanabilir. Normal bir insan beyninde EEG kaydı yapıldığında potansiyellerin frekansı genellikle 1 ile 30 Hz; yükseklikleri ise 20-100  $\mu$ V civarındadır. EEG dalgalarının hem frekansı hem de amplitüdü karmaşıktır ve çeşitli şartlarda değişebilmektedir. Bununla birlikte deri ve kafatası da, EEG dalgalarının amplitüdünü azaltıcı bir etki göstermektedir. Beyin aktivitesi arttıkça dalgaların amplitüdü azalır, frekansı artar. Bununla birlikte EEG dalgaları frekanslarına göre beş gruba ayrılmaktadır (Şekil 7) (Schmidt, 1989; Miller ve ark., 1992; Timofeeva ve Gordon, 2001).



Şekil 7. EEG dalgaları (Hall, 2011).

**Delta Dalgası:** Teta dalgalarına göre yüksek amplitüdü ve düşük frekanslıdır. Saniyede frekansı maksimum 4 olabilir (Tablo 3). Bu dalgalar yetişkinlerde beyin frontal lobunda, çocuklarda korteksin posterior bölgesinde gözlemlenir. Erişkinde derin uykuda yani uykunun 3 ve 4. evrelerinde ortaya çıkar. Ayrıca eğer uyanık bir yetişkinde meydana gelirse beyin hasarları sonucunda ortaya çıkmaktadır.

**Tablo 3:** Beyinden kaydedilen EEG dalgaları ve dalga frekanslar

<b>Dalga</b>	<b>Frekans (Hz)</b>
Gama	30-50
Alfa	14-30
Beta	8-13
Teta	4-7
Delta	0.5-4

**Teta Dalgası:** Saniyede 4-7 arası frekansa sahip dalgalardır (Tablo 3). Çocukluk çağında ve erişkinlikte uyuşukluk halindeyken, uykunun ise 1. ve 2. evresinde görülür. Yetişkinlerde uyanırken görülmesi patolojik bir durumdur.

**Beta Dalgaları:** Frekansı saniyede 8-13 arasındadır (Tablo 3). Normalde insanda frontal bölgede daha belirgindir. Uyanırken oluşur ve beynin aktif olduğunu gösterir. Özellikle uyaranlar ve aşırı zihin aktivitesi olduğunda daha yoğundur. Ayrıca bu dalgalar, uykusuzluk halinde ve zihinsel rahatlık halinin bozulması durumlarında da ortaya çıkabilir.

**Alfa Dalgası:** Alfa dalgası 14-30 Hz frekansında olan dalgadır (Tablo 3). İstirahat durumundayken görülür. Ritmik düzenli senkronize bir dalgadır. Bu istirahattaki kişi aniden gözlerini açarsa frekans artar ve amplitüd düşer, ritm bozulur ve buna alfa blokaj denir. Ayrıca bu dalgalar uyku esnasında kaybolmaktadır.

**Gama Dalgası:** 30 Hz ve üzeri dalgalar bu adı almaktadır. Somatosensoryel kortekste gözlemlenirler. Ses, görme gibi farklı duyuların birlikte algılandığı ve bilgilerin kısa süreli hafızaya atıldığı durumlarda görülür. Sağlıklı ve iyi düşünen bir bellek için, 40 Hz gama beyin dalgaları gerekir (Başar ve ark., 2001).

#### **2.3.4. Deneysel Epilepsi Modelleri**

Epilepsinin elektrofizyolojik temellerini yorumlamak ve daha etkili antiepileptik ilaçlar geliştirmek için deneysel modeller üzerinde yoğun olarak çalışılmaktadır. İnsan beyinde hücre içi kayıtlar, mikrokimyasal analiz işlemleri yapmak tıbbi etik açıdan mümkün olmadığı için epilepsi hastalığının mekanizmasını aydınlatmak ve tedavi yöntemleri geliştirmek amacıyla çeşitli hayvan epilepsi modelleri geliştirilmiştir (Marangoz, 1997).

İdeal bir deneysel epilepsi modeli aşağıdaki özelliklere sahip olmalıdır (Lösher ve Schmidt, 1994):

- Spontan olarak tekrarlayan nöbetleri olmalıdır.
- Nöbetler insanda oluşan epilepsi nöbetlerine benzer olmalıdır.
- Epilepsi modelindeki EEG kayıtları, ilgili epilepsi çeşidindeki benzemelidir.
- İlaçların etkisini, akut veya kronik olarak test edebilmek için nöbetlerin frekansı yeterli ölçüde olmalıdır.
- Antiepileptik ilaçların farmakokinetiği insandakine benzemelidir.
- Antiepileptiklerin, etkili oldukları plazma ve beyin seviyeleri, insanda ilgili nöbeti önleyecek şekilde olmalıdır (Marangoz, 1997).

İyi karakterize edilmiş deneysel hayvan modelleri epileptogenezisin altında yatan hücrel ve moleküler değişikliklerin açığa çıkarılmasında hem normal hem de anormal beyin fonksiyonunun temel nöronal mekanizmaları araştırmada, bu hastalığa yeni ve alternatif tedavi edici yaklaşımların belirlenmesinde ve daha etkili ilaçlar geliştirilmesi amacıyla, çok çeşitli deneysel epilepsi modelleri kullanılmaktadır (Engel ve ark., 2006). Elliden fazla nöbet modeli bulunur ancak asıl kullanılan nöbet modellerini şöyle sınıflandırılabilir:

#### **Basit Parsiyel Epilepsinin Akut Modelleri**

Bu gruptaki modellerin, insanda travmatik durumlar veya hematom sonucu görülen epileptik deşarjlarla aynı temel mekanizmaya sahip olduğu kabul edilmektedir.

- Yüzeysel konvülzan uygulamaları: İnhibitör amino asit blokerlerinin lokal olarak uygulanmasıyla elde edilen bir epilepsi modelidir. Penisilin, bikukulin, pikrotoksin, striknin, kolinerjik ve antikolinerjik maddeler akut fokal epilepsi oluşturmak için kullanılan ajanlar arasındadır.
- Akut odaksal elektriksel uyarı
- GABA'nın baskılanması
- Neokorteks ve hipokampus dilimleri

### **Basit Parsiyel Epilepsinin Kronik Modelleri**

- Kortekse metal uygulanması: Alüminyum, kobalt, nikel, krom, kalay, tungsten, bizmut, kadmiyum, titanyum, demir, civa, vanadyum, tantal, berilyum, kurşun ve çinko, basit parsiyel kronik epilepsi oluşturmak için beyne yüzeysel uygulanan kimyasal maddelerdir.
- Sıcaklık modeli
- Beynin belli bir bölgesi soğutularak fokal epilepsi oluşturulabilmektedir.
- Sistemik fokal model: Beyin dokusunun bir bölümüne ışınlam verilmesi yoluyla oluşturulabilir.

### **Kompleks Parsiyel Epilepsi Modelleri**

Kompleks parsiyel nöbetler genel olarak amigdala, hipokampus, temporal lob gibi yapıları kapsayan limbik lobdan kaynaklanır.

- Kainik asit modeli
- Tetanoz toksini modeli
- Tutuşma (kindling) modeli
- Prepriform korteks modeli: Bu bölgeye “Fırtınalar alanı” da denilmektedir. Alana bikukulin, kainik asit, glutamat, aspartat ve NMDA verilmesiyle çift taraflı klonik motor nöbetler oluşturulur.
- Beyin dilimleri modeli

### **Petit Mal Epilepsi Modelleri**

- Talamusun uyarılması modeli
- Absans modellerinden düşük doz pentilentetrazol
- Sistemik penisilin modeli
- Gama-Hidroksi Bütirat (GHB) modeli
- Opioid peptid modeli
- Genetik model: Wistar ve Sprague-Dawley sıçanlarının sayıca %30 kadarı kendiliğinden epilepsi nöbetleri geçirmeye genetik yatkınlık göstermektedir.

## **Grand Mal (Jeneralize Tonik Klonik) Epilepsi Modelleri**

‘‘Büyük nöbet’’ şeklinde adlandırılan bu epilepsi modelinde, EEG frekansı 10 Hz kadar olan, aynı ana rastlayan bilateral ritmik deşarjlar ve miyoklonik kasılmalar gözlenir.

- Genetik Modeller: Işığa duyarlı babun modeli, farelerde sesle oluşturulan epilepsi modeli, paytak fare modeli, epileptik fare (E1) modeli, genetik olarak epilepsiye yatkın sıçan modeli, tek gen mutasyonları ile oluşturulan fare modelleri
- Maksimal elektroşok (MES) modeli
- Sistemik konvulsanlarla oluşturulan modeller: Pentilentetrazol, penisilin, begmerid, bikukulin, pikrotoksin, homosistin ve eksitatör amino asitler verilerek oluşturulur.
- Metabolik bozukluklar sonucu oluşan epilepsi modelleri: Hipoksi, hipoglisemi, üremi, ilaç kesilmesi ve yüksek sıcaklık gibi durumlarda meydana gelen epileptik nöbetlerdir.

## **Status Epileptikus Modelleri**

- Lityum pilokarpin modeli
- Kobalt homosistin modeli
- Elektriksel modeller

Bazı konvulsan maddeler birden fazla epilepsi modeli oluşturabilmektedir. Bununla birlikte, modeller üzerinde yapılan çalışmaların ancak o modeli ilgilendiren temel mekanizmaları aydınlayabileceği bilinmelidir. Ayrıca, epilepsi modellerini değerlendirirken, modellerin, insanlarda ortaya çıkan klinik epilepsilerin aynısı olmadığı da göz önünde bulundurulmalıdır (Marangoz, 1997).

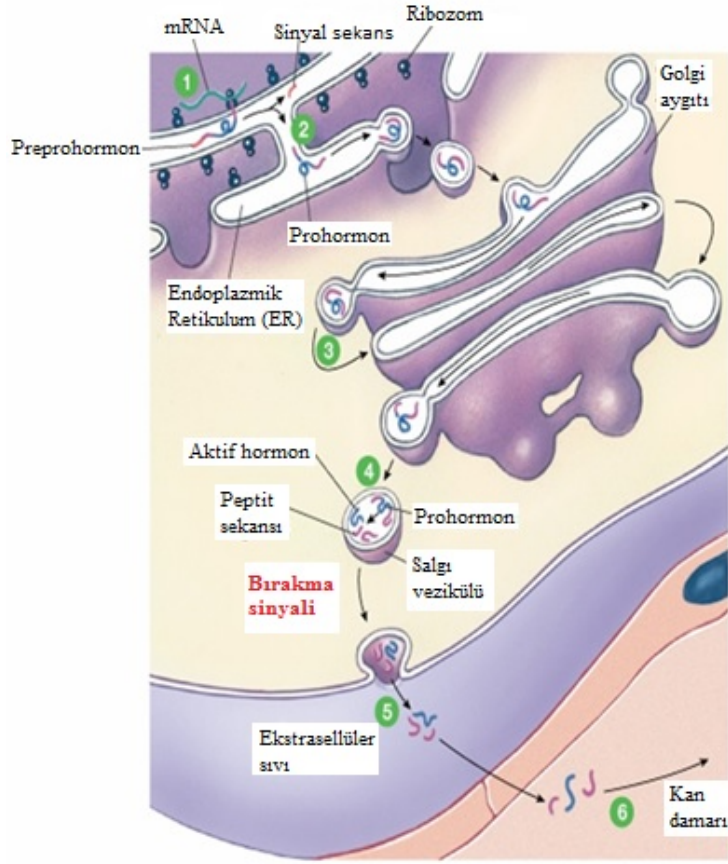
## 2.4. NÖROPEPTİT-S (NPS)

Son yıllarda başka iletişim moleküllerinin de varlığını keşfedilerek nöronlarda elektrik uyarısının ve beyin kontrolünün yalnızca nörotransmitterler yoluyla gerçekleşmediği anlaşılmıştır. En önemli gelişmelerden biri, “nöropeptit” denen moleküllerin keşfidir. Araştırmacılar tarafından ilk olarak beyin hücrelerinin yüzeyinde morfin benzeri moleküllerin bağlandığı bölgeler bulunmuştur ve bunlara opiat almaçları adı verilmiştir. Morfin gibi kuvvetli ağrı kesiciler, bu opiat reseptörlere tutunarak etkilerini göstermektedir. Daha sonra yapılan araştırmalar beynin içerisinde morfin benzeri maddelerin salgılandığını göstermiştir ve uzun aminoasit zincirlerinden oluşan bu büyük protein moleküllerine nöropeptit denilmiştir (Lloyd, 2012). İnsan genomu, nöropeptitlerin öncüllerini kodlayan yaklaşık 90 gen içerir. Günümüzde yaklaşık 100 farklı peptitin memeli beynindeki farklı nöron popülasyonları tarafından salındığı bilinmektedir (Van Den Pol, 2012).

MSS'deki nöromediyatörler kimyasal yapılarına göre; amin yapılı nöromediyatörler, amino asit nöromediyatörler ve peptit nöromediyatörler (nöropeptitler) olarak üç grupta toplanırlar. Ayrıca MSS'de nöromodülatör etkinlik gösteren adenozerjik, nitreerjik ve nörosteroid sistemler de vardır (Lloyd, 2012).

Nöropeptitler nöronlar tarafından iletişim için kullanılan küçük protein benzeri moleküller olan peptitlerdir. Beynin aktivitesini etkileyen sinyal molekülleri olarak görev yaparlar. Ağrı duymama, ödüllendirme, besin alımı, metabolizma, üreme, sosyal davranışlar, öğrenme ve hafıza gibi çeşitli beyin işlevlerinde farklı nöropeptitler görev alır.

Nöropeptitler büyük ölçüde nöromodülatör, nörohormon ve bu işlevleri yanında lokal olarak nörotransmitter olarak da çalışırlar. Peptitler sinir hücresinin içinde, DNA tarafından taşınan kalıtsal bilgi ile yapılırlar. Bu yapım olayı, sinir terminalinde birtakım enzimlerin kimyasal maddelere etkisi ile yapılan diğer biyojenik amin ve aminoasit nörotransmitterlerinkinden oldukça farklıdır (Şekil 8) (Camargo ve ark., 2012). Peptitlerin işlevi peptidazla sonlandırılmaktadır. Ayrıca aynı nöronda peptitler ve nörotransmitterler aynı anda bulunabilmektedir.



**Şekil 8.** Nöropeptitlerin sentezi- Çekirdekte ribozomlar aracılığı ile preprohormon olarak üretilir. ER'da translasyonla prohormona dönüştürülür öncül maddeler olarak üretilir. Paketlenmek üzere golgi aygıtına gönderilir. Büyük veziküllerde biyoaktif peptitleri parçalayan enzimlerle birlikte depolanır (Camargo ve ark., 2012).

Nöropeptitler sentez edildikten sonra sinir hücresi aksonları boyunca ilerleyip akson terminalinde depo edilirler. Kalsiyum kullanan mekanizmalarla açığa çıkarılırlar ve peptitler için özel olan reseptörlere tutunurlar. Peptit reseptörleri biyojenik aminlerin reseptörleri gibi davranırlar. Peptitler, diğer sinir hücresinin uyarılması ile görevini bitirerek reseptörlerinden ayrılır ve sinaps aralığında yıkıma uğrarlar. Şimdiye kadar tespit edilen nöroaktif peptitlerin sayısı yüzden fazladır. MSS'de belki de üç yüzden fazla peptit olabileceği varsayılmaktadır. Nöropeptitler beynin tümünde yer almakla birlikte en fazla limbik sistemde yer alırlar.



- Nöropeptitlerin nörotransmitterlerden farkları;
- Daha büyük molekülüdür.
  - Sentezlendikten sonra sinaptik uca yavaş ulaşır.
  - Presinaptik uca geri alınmazlar.
  - Çok düşük konsantrasyonlarda etkilerini gösterebilirler ve bu etki uzun sürer.
  - Uzak mesafelere taşınabilirler.
  - Peptidazlarla parçalanırlar.

NPS, N-terminal ucunda bulunan serin kalıntısı sebebiyle bu isimlendirmeyi almıştır. İlk olarak 2004 yılında keşfedilmiştir (Xu ve ark., 2004). NPS dizileri genomik seviyede tüm türler boyunca korunmuştur. Şimdiye kadar, NPS'yi kodlayan DNA dizileri, balık dışındaki birkaç omurgalı türünde bulunmuştur. NPS prekürsörü en az üç eksone ayrılır ve insanın 10. kromozomu üzerinde bulunur (Reinscheid, 2009).

Fare beyinde, NPS ifade eden nöronlar ponsda iki alanda bulunur. Bunlardan biri, LC ve Barrington çekirdeği arasında, 4. ventriküle yakın konumlandırılır ve ikincisi, lateral parabrakiyal çekirdek ve kölliker fuse çekirdeği arasında yer alır (Clark ve ark., 2011). Ponsda, NPS eksprese eden nöronların çoğunluğu glutamat, asetilkolin veya kortikotropin salgılama faktörü gibi diğer uyarıcılar ile birlikte eksprese eder (Xu ve ark., 2007). İmmünohistokimyasal ve in-situ hibridizasyon çalışmaları, korku ve anksiyete (örn., Amigdala), öğrenme ve hafıza (örn., Amigdala ve subikulum), uyarılma ve stres yanıtları ile ilgili bir dizi beyin bölgesinde NPS-pozitif liflerin ve NPSR mRNA ekspresyonunun yoğun projeksiyonlarını ortaya çıkarmıştır. NPS'nin modülatör etkilerine aracılık etmekte olduğu düşünülen anterior paraventriküler talamik çekirdek buna bir örnektir (Clark ve ark. 2011). Bununla uyumlu olarak, farelerde kısa süreli yüzme stresi ve uzamış kısıtlama stresinin, ponsda NPS eksprese eden genleri aktive ettiği gösterilmiştir (Liu ve ark., 2011).

NPS, 20 aminoasitli bir peptittir (Reinscheid ve ark., 2005). Aslında G-protein bağlı reseptör (GPCR) olan GPR154, NPS reseptörü olarak adlandırılmış ve NPSR olarak kısaltılmıştır. NPSR, GPCR ailesinin diğer üyelerine düşük homoloji gösterir. NPSR reseptörü beyin birçok alanında, çok daha yaygın olarak eksprese edilir (Adori ve ark.,

2015). Korteks, talamus, subiculum, hipotalamus, amigdala, ventral tegmental alan ve olfaktor çekirdek bu alanlara dahildir (Si ve ark., 2010; Xu ve ark., 2007).

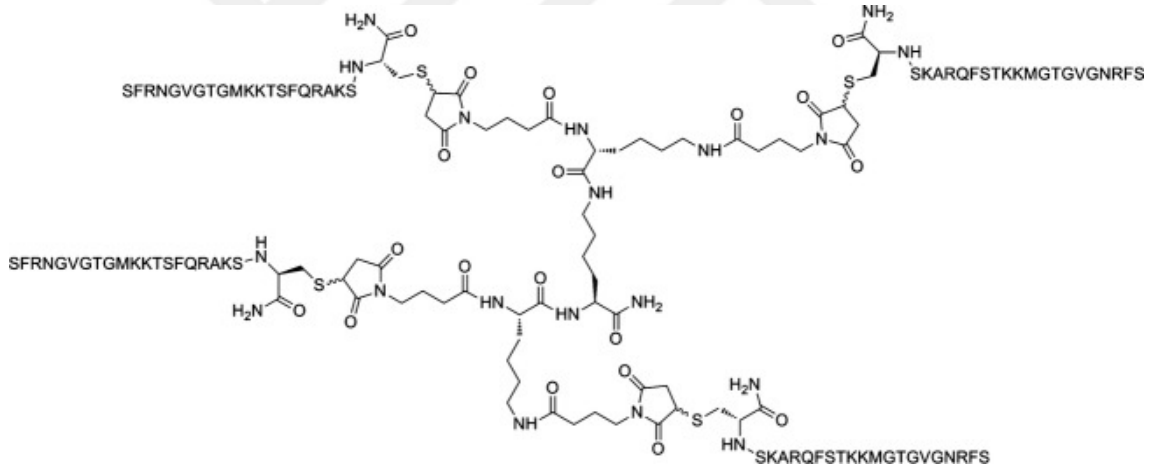
NPS, özellikle güçlü bir endojen anksiyolitik faktör olarak düşünüldüğünde, çok yönlü bir düzenleyici aktiviteye sahiptir. Biriken veriler, nöroleptiklerin çeşitli beyin yapılarında peptidik sinyalleri etkilediğini düşündürmektedir ve insan ve memeli beyninin bazı bölgelerinde yaygın olarak üretilen NPS'nin kaygı ve iştahı bastırdığını, uyanıklığı ve hiperaktiviteyi indüklediğini göstermektedir. (Leonard ve ark., 2008; Xu ve ark., 2004). Aynı zamanda, mezolimbik yolakda dopamin seviyesini önemli ölçüde arttırdığı gösterilmiştir (Mochizuki ve ark., 2010).

SHA 68, selektif NPSR antagonistidir (Okamura ve ark., 2008). Anksiyete benzeri davranışlar oluşturup, korku durumunu tetiklemiştir (Jüngling ve ark., 2008). Ayrıca NPSR reseptörlerinden yoksun farelerde de anksiyete benzeri davranışların arttığı görülmüştür (Duangdao ve ark., 2009). NPS'nin amigdala içine uygulanması ise, anksiyolitik etkileri oluşturmada (Jüngling ve ark., 2008), korku durumunu ise bloklamaktadır (Fendt ve ark., 2010). Buna ilaveten NPS'nin endopiriform çekirdeğe lokal enjeksiyonu da korku durumunu zayıflatmıştır (Meis ve ark., 2008). Sıçanlardan kaydedilen EEG sonuçlarına göre NPS, uykunun tüm aşamalarını baskılayarak uyanıklığa neden olmuştur ve ayrıca NPS doz bağımlı olarak ekstraselüler dopamin düzeyini arttırmıştır (Si ve ark., 2010).

Farelerde NPS'nin merkezi uygulaması, öğrenmeyi ve uyarılmayı artırır (Xu ve ark., 2004; Okamura ve ark., 2011) Ayrıca, NPS medial prefrontal kortekste dopamin salınımını uyarır (Jarry ve ark., 2010) ve NPS'nin lokal intra-VTA mikroenjeksiyonları, beyin ödül merkezi olan accumbens çekirdekte dopamin salınımını artırır. Hiperlokomosyon ve anksiyolitik benzeri etkiler NPS uygulamasından hemen sonra görülür. Bu bellek artırıcı etkiler uygulamadan birkaç gün sonra gözlemlenebilir. Ayrıca, NPS egzersiz seansı tamamlandıktan 1 saat kadar sonra uygulandığında hafıza gelişimini desteklemektedir (Xu ve ark., 2004).

### 2.4.1. NPS agonistleri

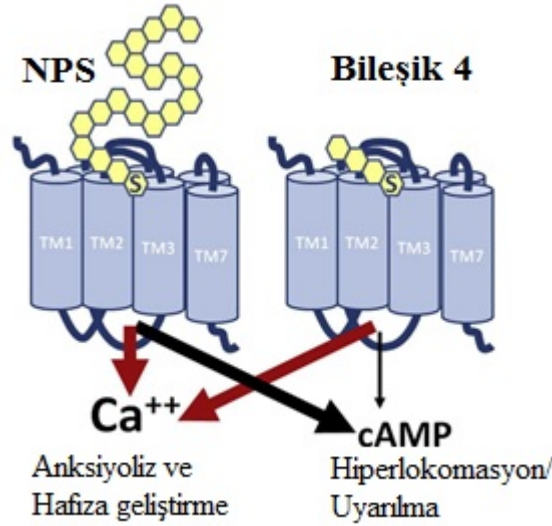
(Ruzza ve ark., 2015) yaptığı bir çalışmada, peptit kaynak teknolojisi (PWT) ile bir NPS türevi sentezlenmiştir ve farmakolojik olarak karakterize edilmiştir (Şekil 9). PWT, yüksek verim, saflık ve tekrarlanabilirlik ile çok dallı peptitlerin sentezine izin veren yeni bir kimyasal stratejidir. Önceki yapı aktivitesi çalışmaları NPS'nin N-terminal bölgesinin biyoaktivite için çok önemli bir rol oynadığını gösterdiği için (Bernier ve ark. 2006; Roth ve ark. 2006), Cys kalıntısı NPS'nin C ucunda eklenmiştir ve [Cys21] NPS, PWT1-NPS'nin oluşturulması için kullanılmıştır. PWT1-NPS'nin *in vitro* aktivitesi, bir kalsiyum mobilizasyon deneyinde incelenmiştir. *In vivo* olarak, PWT1-NPS lokomotor aktivitede (LA) ve doğru refleks testlerinin geri kazanılmasında araştırılmıştır. Kalsiyum mobilizasyon çalışmalarında, PWT1-NPS'nin, fare NPS reseptörüne NPS'den üç kat daha güçlü bir şekilde agonist olarak davrandığı görülmüştür (Ruzza ve ark., 2015).



Şekil 9. PWT1-NPS kimyasal formülü (Ruzza C ve ark., 2015).

Ayrıca NPS antagonistlerinden peptidik NPSR antagonisti [tBu-D-Gly]-NPS (Guerrini ve ark. 2009) ve nonpeptidik NPSR antagonisti SHA-68 (3-okso-1,1-difenil-tetrahidro-oksazolo [3,4-a] pirazin-7-karboksilik asit 4-floro-benzilamid) (Okamura ve ark. 2008), NPS ve PWT1-NPS'nin uyarıcı etkilerini aynı şekilde inhibe ettiği bildirilmiştir (Ruzza ve ark., 2015). NPSR antagonistlerinin gelecekteki çalışmalarda kullanılması, hangi biyolojik fonksiyonların NPS/NPSR sistemi tarafından kontrol edildiğini ve seçici NPSR ligandlarının terapötik potansiyelinin tanımlanması için büyük önem taşımaktadır.

Küçük moleküllü NPSR agonistlerinin tanımlanmasının zor olması sebebiyle, temel araştırmaların çoğu, endojen NPS peptidinin yapı ve aktivite ilişkilerini anlama üzerine odaklanmıştır (Clark ve ark., 2017). hNPSR-107I varyantında NPS'nin minimal aktif alanının, 1'den 4'e kadar olan alandaki amino asitleri olduğunu göstermektedir (Bernier ve ark., 2006). NPS'nin bu kesilmiş formu, tam bir agonisttir. SAR (Tek örnek rejeneratif doz protokolü) çalışmaları ile yapılan araştırmada kesilmiş peptitlerin, tam uzunluklu peptitlere benzer bir şekilde hNPSR-107I varyantı ile etkileşime girebileceğini göstermektedir. Agonist bileşik-4, NPS'e benzer anksiyolitik benzeri etkiler ve öğrenme etkileri üretir. Bununla birlikte, lokomotor aktivitede NPS ile aynı derecede artış sağlayamaz. Davranış test verilerinin de sonuçları göz önüne alınarak, Agonist bileşik-4'ün uyarılma özelliklerinin esas olarak cAMP'de NPSR aracılı artışların eşzamanlı aktivasyonunu gerektirirken, NPS'nin reseptör aracılı kalsiyum artışlarına bağımlı olduğu düşünülmektedir (Şekil 10). Bu bulgular, NPSR aktivasyonunun hiperlokomotor etkilerinin anksiyolitik benzeri etkilerden ayrılabilir olduğu fikrini daha da desteklemektedir. Ayrıca bileşik-4, kalsiyum mobilizasyonuna meyilli olduğundan, anksiyolitik benzeri etkilerin kalsiyumdaki NPSR aracılı artışlara bağlı olduğu varsayılmaktadır (Clark ve ark., 2017).

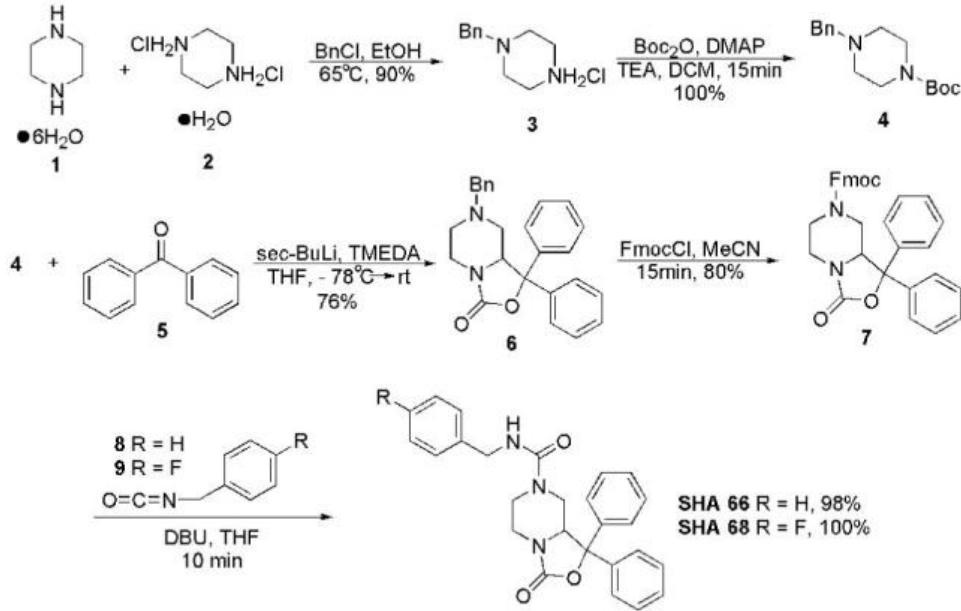


**Şekil 10.** NPS ve agonist bileşik-4'ün farklı davranışsal etkiler oluşturduğunu gösteren mekanizma (Clark ve ark., 2017).

### 2.4.2. NPS Antagonistleri

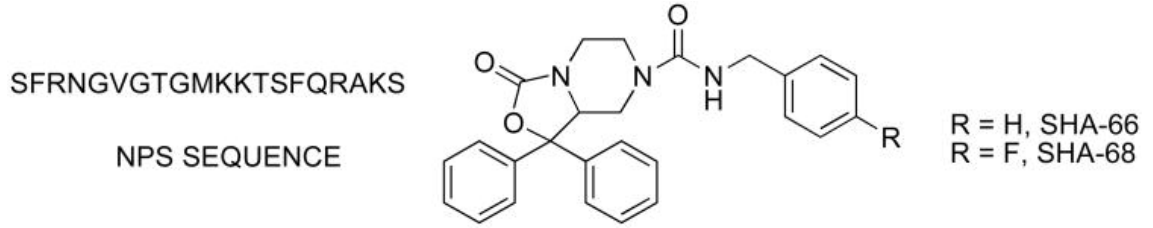
NPS/NPSR sistemi tarafından kontrol edilen biyolojik fonksiyonları anlamak için güçlü NPSR seçici antagonistler gereklidir. Peptit antagonistleri, Gly'nin doğal peptit sekansı içinde bir D-amino asit ile değiştirilmesiyle yakın zamanlarda keşfedilmiştir. Bu gibi bileşiklerin örnekleri, [D-Cys (tBu)] NPS, [D-Val] NPS ve daha yakın zamanda [tBu-D-Gly] NPS'dır (Camarda ve ark., 2009; Guerrini ve ark., 2009). NPSR ile etkileşime girebilen peptit olmayan moleküllerin ilk örneği bir grup araştırmacı tarafından patent literatüründe bildirilmiştir. Patentte tarif edilen farklı moleküller arasında, SHA-68 farmakolojik olarak karakterize edilmiştir.

NPS antagonistleri ile ilgili bir araştırmada, Piperazin türevleri olan SHA-66 (3-Okso-1,1-difenil-tetrahidro-oksazolo [3,4-a] pirazin-7-karboksilik asit benzilamid) ve SHA-68, ticari olarak temin edilebilen Piperazin heksahidrat-1'den, sırasıyla % 54 ve % 55 verimle beş adımda sentezlenmiştir (Şekil 11). SHA 66 ve SHA 68'in *in vitro* olarak NPSR'de güçlü antagonistler olduğu ve *in vivo* SHA 68'in, ilk olarak NPS'nin lokomotor aktiviteyi uyarıcı etkisine karşı etki gösterdiği bildirilmiştir (Okamura ve ark., 2006).



Şekil 11. SHA-66 ve SHA-68'in kimyasal sentezi (Okamura ve ark., 2006).

SHA-68'in farmakolojik profili *in vitro* ve *in vivo* olarak araştırılmış ve peptit olmayan molekül SHA-68'in seçici bir NPSR antagonisti olarak görev yaptığını gösterilmiştir (Okamura ve ark., 2006).



Şekil 12. NPS ve NPS antagonistleri (Okamura ve ark., 2006).

### 3. MATERYAL VE METOT

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Deney Hayvanları

OMÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan onayı alınan (2016/54) çalışmamızda deneylerde, 180-240 gr. ağırlığında, 10-12 haftalık, 84 adet yetişkin Wistar Albino cinsi erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar OMÜ Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden temin edildi. Merkezde hayvanlar doğal aydınlık-karanlık döngüsünde 12-16 haftalık oluncaya kadar yem ve su kısıtlaması olmaksızın yetiştirildi.

##### 3.1.2. Kimyasal Maddeler ve Uygulanış Şekilleri

Epileptiform aktivite 500 IU Penisilin-G'nin intrakortikal (i.k.) olarak 2,5µl hacimde verilmesiyle oluşturuldu. Epileptiform aktivite oluştuktan 30 dakika sonra belirtilen gruplar üzerinden sıçanlara, NPS'nin 0,025 nmol, 0,05 nmol, 0,1 nmol, 0,2 nmol, 0,4 nmol, 0,6 nmol, 0,8 nmol ve 1 nmol dozları i.s.v. olarak uygulandı. Bir grup hayvana ise kronik olarak 7 gün boyunca kanül yardımıyla NPS verildi ve 8. gün 500 IU Penisilin-G (i.k.) enjeksiyonundan 30 dk. sonra tekrar 1 nmol NPS uygulaması yapıldı.

NPS, CPCscientific'den diğer tüm kimyasal maddeler Sigma®'dan temin edildi.

##### **Penisilin-G Potasyum:**

Moleküler formülü: C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>KN<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S

Moleküler ağırlığı: 372,48 g/mol

Uygulanma şekli: Deneyden hemen önce 67 mg penisilin-G potasyum 0,5 ml distile suda 200 Uluslararası Birim (IU)/µl olacak şekilde çözüldü. Oluşan çözeltiden Hamilton mikroenjektör ile çekilen 2,5 µl hacimdeki (500 IU) penisilin-G potasyum epileptiform aktivite oluşturmak için beyin korteksine verildi. Kortekste bregmadan 3 mm lateral, 2 mm posteriyor ve 2 mm ventral koordinatlarda olacak şekilde i.k. yolla enjekte edildi.

##### **Nöropeptit-S:**

Moleküler formülü: C<sub>95</sub>H<sub>160</sub>N<sub>34</sub>O<sub>27</sub>

Moleküler ağırlığı: 2210,53 g/mol

Uygulanma şekli: Penisilin enjeksiyonundan 30 dk. sonra Hamilton mikroenjektörü ile 2 µl hacim içerisinde ilgili dozlarda i.s.v. yolla verildi ve çözücü olarak salin kullanıldı.

### 3.1.3. Penisilin Epilepsi Modelinde NPS Doz Çalışmasının Cerrahi İşlemleri

Çalışma, Etik kurul onayı alındıktan sonra Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde gerçekleştirildi. Sıçanlar operasyondan 1 gün önce aç bırakıldı. Anestezi, deneyden hemen önce hazırlanan üretanın (%25'lik solusyon) 1,25 g/kg dozda intraperitoneal (i.p.) yoldan uygulanmasıyla oluşturuldu. Anestezili sıçanlar stereotaksik alete yerleştirilip sabitlendi. Spontan solunuma bırakılan hayvanların kafa derisi kılları tıraş edildi ve deri rostro-kaudal doğrultuda ortalama 3 cm uzunluğunda bir insüzyonla açıldı. Somatomotor korteks üzerindeki yumuşak doku uzaklaştırıldıktan sonra varsa küçük kanamalar kemik mumu yardımıyla durduruldu. Bregma noktası (frontal kemik ile pariyetal kemiklerin birleşme noktası) belirlendi. Stereotaksik cihaz ile bregma referans alınarak 0,2 mm çapında 4 adet delik mikrodirel yardımıyla açıldı (Şekil 13-A).

**1. Delik:** Bregmanın 4 mm rostrali, orta çizginin 3 mm sol laterali (Pozitif elektrot)

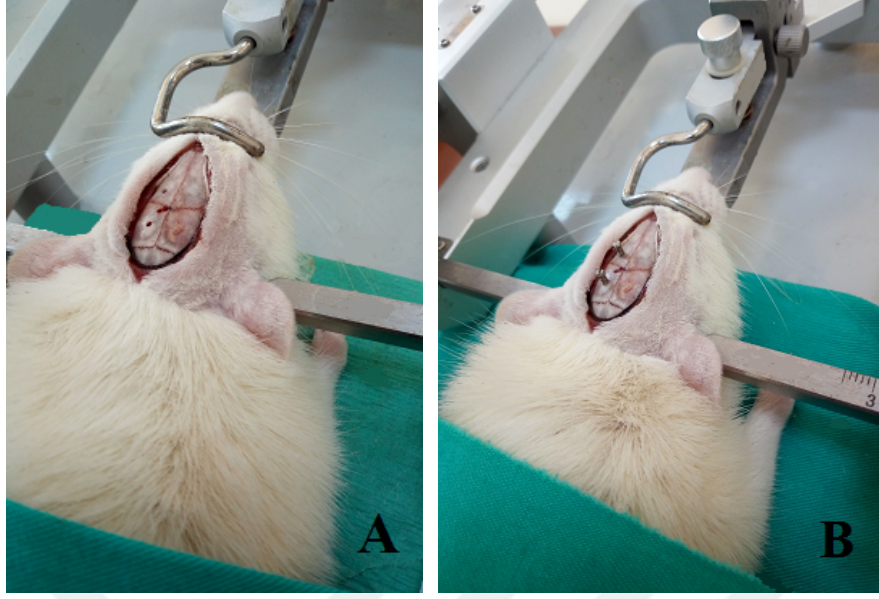
**2. Delik:** Bregmanın 4 mm kaudali, orta çizginin 3 mm sol laterali (Negatif elektrot)

Açılan 1. ve 2. deliklere özel yapım paslanmaz çelik vidalar yerleştirildi (Şekil 13-B). Vidalar vertikal yönde 1 mm derine ilerletildikten sonra vidalara bakır teller sarılarak Powerlab veri kazanım sistemine bağlandı. Toprak elektrot ekartasyon için kullanılan mosquitoya sarıldı.

**3. Delik:** Bregmanın 2 mm lateral ve 2 mm rostralinde açıldı. Açılan delikten Hamilton mikroenjektörü ile kafatası kemiğinden itibaren 3,2 mm derinliğe i.k. olarak penisilin enjeksiyonu yapıldı (Şekil 13-C).

**4. Delik:** Bregmanın 1,1 mm lateral ve 1,5 mm rostralinde açıldı. Bu delikten de Hamilton mikroenjektörü aracılığıyla kafatası kemiğinden itibaren 4,2 mm derinliğe i.s.v. olarak belirtilen dozlarda NPS uygulandı.





**Şekil 13. A.** Sıçan kafatası kemiği üzerindeki tendon ve fasyalar uzaklaştırıldıktan sonra alınan görüntü. **B.** İlgili koordinatlara vidaların yerleşimi



**Şekil 13. C.** Sıçan kafatası kemiği üzerindeki vidalara elektrot bağlantısı ve Hamilton mikroyenjektör ile intrakortikal enjeksiyonun yapılması

### 3.1.4. Kronik Doz Uygulaması İçin Elektrot ve Kanül Yerleştirilmesi

Operasyondan 1 gün önce aç bırakılan sıçanlar, 90 mg/kg ketamin ve 10 mg/kg ksilazin ile anestezide alındı ve stereotaksi cihazına yerleştirildi. Kafa derisi yaklaşık 3 cm uzunluğunda bir insizyonla rostro-kaudal doğrultuda açıldı. Kemik doku üzerindeki yumuşak doku temizlendikten sonra referans noktası olan bregma saptandı. Drill yardımıyla, 1 mm genişliğinde kafatasının 4 ayrı noktasına delik açıldı. Ardından deliklerden 3 tanesine elektrokortikogram kaydı için, beyin zarlarına temas edecek şekilde paslanmaz çelik vida yerleştirildi. Yerleştirilen 3 vida (pozitif, negatif ve toprak elektrodu), 3 adet 0,5 mm kalınlığındaki kablo ile hayvanın hareketlerini kısıtlayamayacak küçük bir jak çıkışına bağlandıktan sonra vidalar ve i.s.v. kanül sıçanın kafasına dental akrilik ile sabitlenip, kurumaya bırakıldı (Şekil 14-A). Bu işlemden sonra enfeksiyonu önlemek için hayvana 3 gün boyunca günde 2 kez i.p. yolla 50 mg/kg ampisid enjekte edildi. Cerrahi işlemden sonra hayvan 1 hafta dinlenmeye bırakıldı ve sonraki 7 gün boyunca hergün 2 µl hacimde 1 nmol NPS enjeksiyonu yapıldı. 8. gün hayvanlar ürethan anestezisi altına alındı ve ardından cerrahi işlem ile yerleştirilen jak çıkışına, jak girişi takıldı (Şekil 14-B) ve bu giriş PowerLab veri kazanım sistemine bağlandı. Bu şekilde beyinden ECoG kaydı elde edildi ve elde edilen bu kayıtlar offline olarak analiz edildi.



Şekil 14. A-B. Kronik doz uygulaması için sıçan kafatasına elektrot ve kanül yerleşiminin gösterimi

## 3.2. Metot

### 3.2.1. Deney Grupları

Deney grupları aşağıdaki şekilde oluşturuldu.

#### A. Penisilin epilepsi modeli deney grupları

- 1. Herhangi bir madde uygulanmayan grup:** Herhangi bir madde uygulanmadan 3 saat boyunca ECoG kaydı alındı (n=7).
- 2. Sham grubu:** 2,5 µl SF i.k. yolla penisilin enjeksiyonlarının yapıldığı koordinatlar üzerinden sol somatomotor kortekse uygulandı ve 3 saat boyunca ECoG kaydı alındı (n=7).
- 3. Penisilin (500 IU) grubu:** 500 IU penisilin i.k. yolla uygulandı ve 3 saat boyunca ECoG kaydı alındı (n=7).
- 4. Penisilin (500 IU) + Nöropeptit-S (0,025 nmol) grubu:** 500 IU penisilin i.k. yolla uygulandıktan 30 dk. sonra NPS'nin 0,025 nmol dozu i.s.v. yolla uygulandı ve üç saat boyunca ECoG kaydı alındı (n=7).
- 5. Penisilin (500 IU) + Nöropeptit-S (0,05 nmol) grubu:** 500 IU penisilin i.k. yolla uygulandıktan 30 dk. sonra NPS'nin 0,05 nmol dozu i.s.v. yolla uygulandı ve üç saat boyunca ECoG kaydı alındı (n=7).
- 6. Penisilin (500 IU) + Nöropeptit-S (0,1 nmol) grubu:** 500 IU penisilin i.k. yolla uygulandıktan 30 dk. sonra NPS'nin 0,1 nmol dozu i.s.v. yolla uygulandı ve üç saat boyunca ECoG kaydı alındı (n=7).
- 7. Penisilin (500 IU) + Nöropeptit-S (0,2 nmol) grubu:** 500 IU penisilin i.k. yolla uygulandıktan 30 dk. sonra NPS'nin 0,2 nmol dozu i.s.v. yolla uygulandı ve üç saat boyunca ECoG kaydı alındı (n=7).
- 8. Penisilin (500 IU) + Nöropeptit-S (0,4 nmol) grubu:** 500 IU penisilin i.k. yolla uygulandıktan 30 dk. sonra NPS'nin 0,4 nmol dozu i.s.v. yolla uygulandı ve üç saat boyunca ECoG kaydı alındı (n=7).
- 9. Penisilin (500 IU) + Nöropeptit-S (0,6 nmol) grubu:** 500 IU penisilin i.k. yolla uygulandıktan 30 dk. sonra NPS'nin 0,6 nmol dozu i.s.v. yolla uygulandı ve üç saat boyunca ECoG kaydı alındı (n=7).
- 10. Penisilin (500 IU) + Nöropeptit-S (0,8 nmol) grubu:** 500 IU penisilin i.k. yolla uygulandıktan 30 dk. sonra NPS'nin 0,8 nmol dozu i.s.v. yolla uygulandı ve üç saat boyunca ECoG kaydı alındı (n=7).

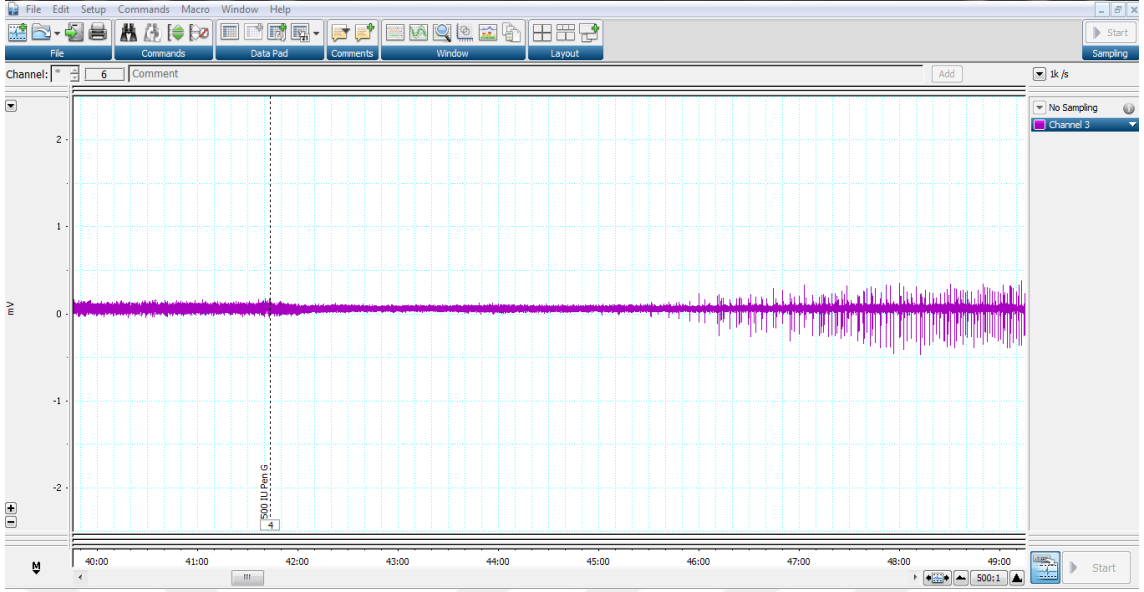
**11. Penisilin (500 IU) + Nöropeptit-S (1 nmol) grubu:** 500 IU penisilin i.k. yolla uygulandıktan 30 dk. sonra NPS 1 nmol dozu i.s.v. yolla uygulandı ve üç saat boyunca ECoG kaydı alındı (n=7).

### **B. Kronik olarak Nöropeptit-S uygulanması**

**1. Penisilin (500 IU) + Nöropeptit-S (1 nmol) grubu:** Kanül yardımıyla hayvana 7 gün boyunca 1 nmol dozunda NPS uygulandı. 8. Gün 500 IU penisilin i.k. yolla uygulandıktan 30 dk. sonra NPS'nin 1 nmol dozu i.s.v. yolla uygulandı ve üç saat boyunca ECoG kaydı alındı (n=7).

### **3.2.2. Elektrofizyolojik Kayıtların Alınması ve Değerlendirilmesi**

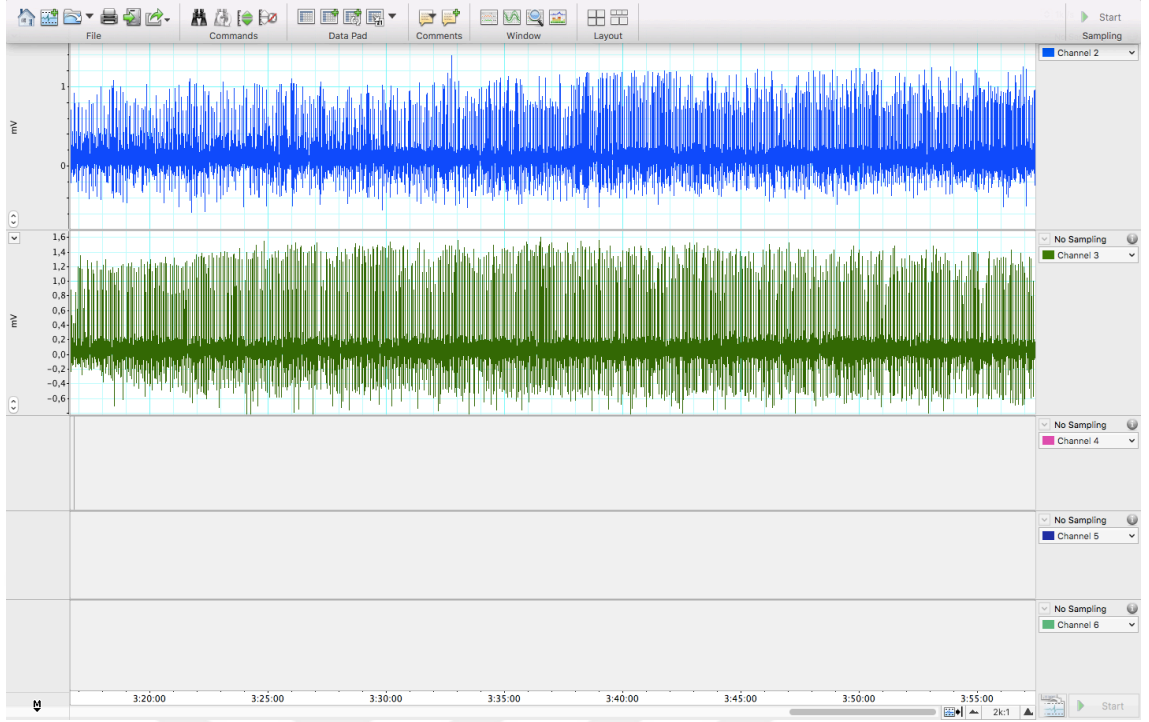
Deneylerde kullanılan tüm sıçanların 5 dakikalık bazal aktivite kayıtları alındı ve sonrasında i.k. penisilin-G potasyum (500 IU, 2,5 µl) enjeksiyonu yapıldı. 2-5 dk. içinde ECoG'da epileptiform aktivite oluştu (Şekil 15). Alınan ECoG kayıtları online olarak PowerLab veri kazanım sistemi ile bilgisayara kaydedildi ve depolandı (Şekil 16). Deneyler sonucunda elde edilen epileptiform aktivite offline olarak spike frekansı ve amplitüdü açısından analiz edildi. ECoG kayıtları Chart v7.0.3 (ADInstruments, Avustralya) yazılımı ve bu yazılımın makro özellikleri sayesinde birer dakikalık bölümlere ayrıldı (Şekil 17). Her dakika başına düşen spike sayısı ve spikelerin ortalama amplitüdü bu yazılımın özellikleri sayesinde otomatik olarak hesaplatıldı (Şekil 18). Deneyde kullanılan tüm hayvanlardan elde edilen kayıtlar için bu hesaplama ayrı ayrı yapıldı.



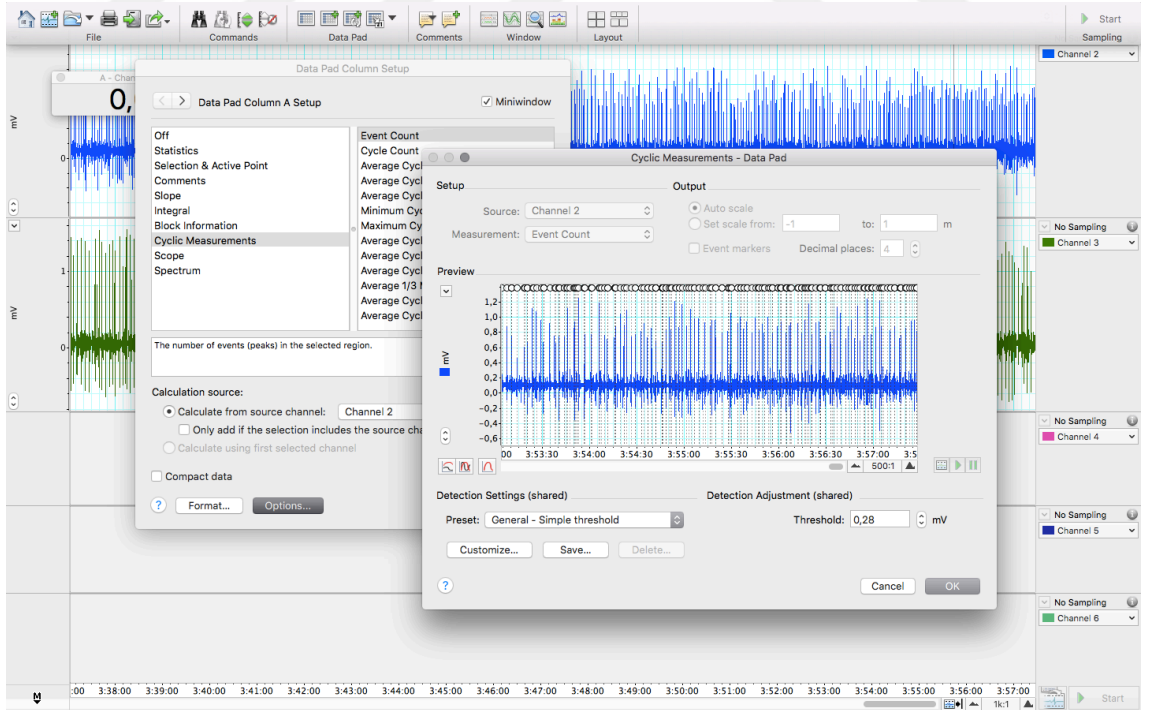
Şekil 15. Penisilin-G enjeksiyonundan ortalama 2-5 dk. sonrasında epileptik aktivite oluşumunu gösteren kayıt görüntü



Şekil 16. 16 kanallı Powerlab veri kazanım sistemi ve bağlantıları



Şekil 17. ECoG kayıtlarının elde edildiği paket program ve kayıt anından bir görüntü



Şekil 18. Spike frekansı ve amplitüd değerlerinin hesaplanması

### 3.2.3. İstatistiksel Değerlendirme

Kaydedilen elektrofizyolojik verilerin tümü sayısal değerlere çevrildi ve sonrasında SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 17,0 yazılımı ile istatistiksel açıdan değerlendirildi. Bağımsız iki grubun değerleri arasındaki farkın ortaya konması için, normal dağılıma uyan (Shapiro-Wilk test) verilerin karşılaştırılmasında Independent-Samples T-Test kullanıldı. Çoklu karşılaştırmalarda ise, elde edilen verilerin normal dağılıma (Shapiro-Wilk test) uyduğu tespit edildikten sonra tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanıldı. Gruplar arası farklılıkların tespit edilmesi amacıyla Post-Hoc Tukey testi uygulandı (One-Way Anova Post-Hoc Tukey Test). Metin ve grafiklerde kullanılan deney gruplarına ait değerler ortalama  $\pm$  standart hata (SEM) olarak ifade edildi. Testlerden elde edilen sonuçlara göre p değeri 0,05'in altında olan farklılıklar anlamlı kabul edildi.

## 4. BULGULAR

Sunulan çalışmada NPS'nin, penisilinle oluşturulan epileptiform aktivite üzerine etkisi araştırıldı.

Farklı dozlarda uygulanan NPS'nin epileptiform aktiviteye etkisini araştırmak için spike frekansı ve spike amplitüd değerleri her bir doz için ayrı ayrı hesaplanıp ortalama  $\pm$  standart hata (SEM) değerleri tespit edilerek istatistiksel analize tabi tutuldu.

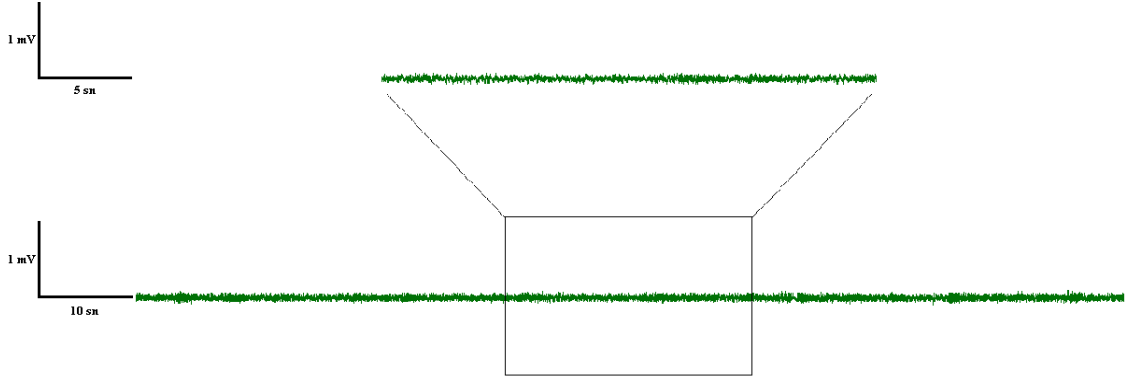
### 4.1. Penisilinle Oluşturulan Epileptiform Aktivite

Deney gruplarında yer alan hayvanların bazal aktivite kayıtlarında spontan spike oluşmadığı görüldü (Şekil 19-A). Epileptiform aktivite oluşturmak için 500 IU penisilin, 2,5  $\mu$ l hacimde i.k. yolla uygulandı. Penisilin uygulamasının ardından 2-5 dk. içerisinde spike ve spike dalga kompleksleri gözlemlendi ve aktivite 3 saat kadar devam etti (Şekil 19-B) ve 3 saat boyunca ECoG kaydı alındı.

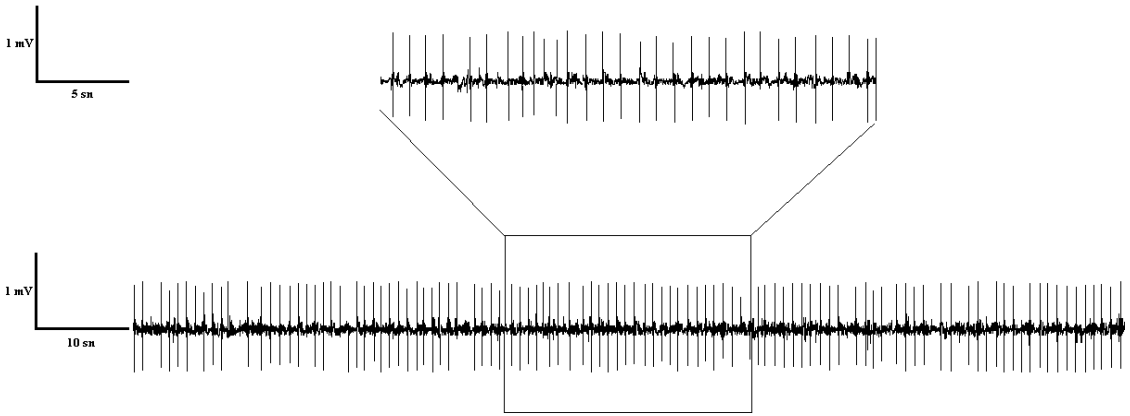
Kontrol grubunun spike frekansı ortalama değerleri  $64,4 \pm 5,5$  spike/dk ve amplitüd ortalama değerleri  $996 \pm 84$   $\mu$ V idi. Kontrol ve deney gruplarından elde edilen spike frekans değerleri Tablo 4'te, amplitüd değerleri ise Tablo 5'te görülmektedir.

Analizler sonucunda bütün gruplar kontrol grubuyla karşılaştırıldığında yüzde spike frekans ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ( $p > 0,05$ ) (Şekil 21-22). Yine amplitüd değeri yüzde ortalamaları bakımından da gruplar arasında anlamlı bir farkın olmadığı görüldü ( $p > 0,05$ ) (Şekil 23-24).

A) Bazal Aktivite



B) Kontrol Grubu (Penisilin 500 IU, i.k.)



**Şekil 19.** ECoG kayıtları **A.** Beyine herhangi bir madde enjeksiyonu yapılmadan alınan bazal aktivite kaydı  
**B.** Kontrol grubu penisilin (500 IU, i.k.) enjeksiyonundan sonra oluşan bilateral spikelar ve spike dalga kompleksleri ile karakterize epileptiform aktivite



#### 4.2. Farklı Dozlarda Uygulanan NPS'nin Epileptiform Aktiviteye Etkisi

Penisilin-G (500 IU, i.k.) enjeksiyonundan 30 dakika sonra NPS'nin 0,025 nmol-1 nmol arasındaki tüm dozları i.s.v. yolla uygulandı ve epileptiform aktivite üzerine etkisi incelendi (Şekil 20).

NPS dozlarının araştırılmasında 0,025 nmol NPS dozunun ortalama spike frekansı  $64 \pm 9,2$ , 0,05 nmol NPS dozunun ortalama spike frekansı  $59,8 \pm 5,2$ , 0,1 nmol NPS dozunun ortalama spike frekansı  $67,8 \pm 7,6$ , 0,2 nmol NPS dozunun ortalama spike frekansı  $55,5 \pm 7,6$ , 0,4 nmol NPS dozunun ortalama spike frekansı  $58,9 \pm 8$ , 0,6 nmol NPS dozunun ortalama spike frekansı  $70,1 \pm 10,4$ , 0,8 nmol NPS dozunun ortalama spike frekansı  $63,7 \pm 7,4$ , 1 nmol NPS dozunun ortalama spike frekansı  $60,7 \pm 6$  spike/dk'dır (Tablo 4).

Amplitüd değeri ortalamaları ise 0,025 nmol NPS amplitüd ortalaması  $922 \pm 77$   $\mu\text{V}$ , 0,05 nmol NPS amplitüd ortalaması  $939 \pm 85$   $\mu\text{V}$ , 0,1 nmol NPS amplitüd ortalaması  $978 \pm 238$   $\mu\text{V}$ , 0,2 nmol NPS amplitüd ortalaması  $915 \pm 115$   $\mu\text{V}$ , 0,4 nmol NPS amplitüd ortalaması  $1022 \pm 184$   $\mu\text{V}$ , 0,6 nmol NPS amplitüd ortalaması  $1033 \pm 93$   $\mu\text{V}$ , 0,8 nmol NPS amplitüd ortalaması  $953 \pm 103$   $\mu\text{V}$ , 1 nmol NPS amplitüd ortalaması  $909 \pm 89$   $\mu\text{V}$ 'dur (Tablo 5).

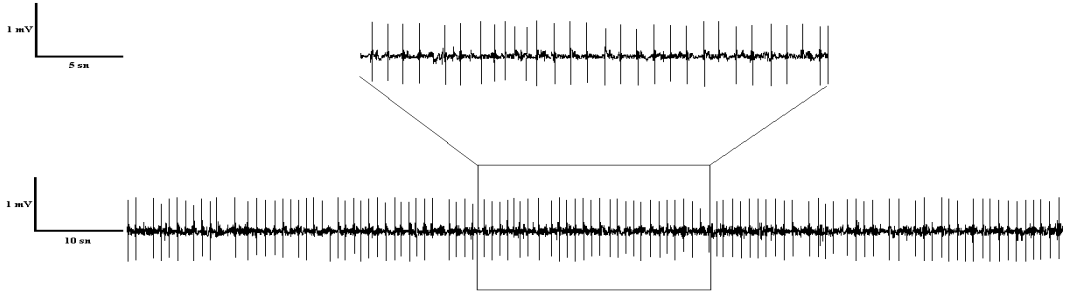
**Tablo 4.** Kontrol (penisilin, 500 IU) ve NPS doz gruplarından elde edilen spike frekanslarının her 10 dakika ortalama değerleri

Zaman (dk)	Kontrol (Spike/dk)	NPS (0,025 nmol) (Spike/dk)	NPS (0,05 nmol) (Spike/dk)	NPS (0,1 nmol) (Spike/dk)	NPS (0,2 nmol) (Spike/dk)	NPS (0,4 nmol) (Spike/dk)	NPS (0,6 nmol) (Spike/dk)	NPS (0,8 nmol) (Spike/dk)	NPS (1 nmol) (Spike/dk)
0-10. dk	65,9±5,2	70,3±9,6	65,4±3,5	73±4,6	70,1±5,4	76,5±12,8	76±9,5	75,9±7,8	72,4±7
10-20. dk	67,1±4,4	76,3±6,6	60,1±3,2	60,6±6,2	60±9,2	64,1±7,4	77,3±10,1	73±7,6	69,4±6,2
20-30. dk	66,3±6,6	73,2±8,0	67±5,5	81,2±12,9	55,3±6,1	60,8±6,9	74,6±10	73,2±5,2	65,6±5,4
30-40.dk	65,9±3,6	73,6±8,3	57,1±6,7	82,3±13,6	56,4±7,1	58,3±8,3	73,4±11,3	72,7±7,4	64,2±4,9
40-50. dk	66,1±4,9	75,1±7,7	57,3±6,5	74,2±9,2	55,5±7,7	55±7,6	70,9±11	70,1±6,9	63,9±5,2
50-60.dk	71,4±8,9	72,1±7	62,3±5,7	75,5±7,6	59,8±12,7	59±7,8	76,4±13	67,8±8,8	64,5±5,5
60-70. dk	70,9±5,4	73,6±6,1	61,3±7	74,8±8,2	67,1±13,6	66±7	74,1±12,7	62,3±7,3	67,1±5,5
70-80.dk	69,6±4,6	71,1±6,3	59,2±7	78±10,4	61,7±6,8	65,9±7,2	73±13	60,9±7,2	62,2±6
80-90. dk	64,7±6	63,6±9,8	58,8±3,8	69,7±7,1	56,8±6,1	56,1±6,6	73,5±11,2	58±6,4	61,6±5,7
90-100.dk	65,5±7,2	61,5±10,3	60,2±3,8	64,3±4	56,6±6,2	60,5±5,6	74,6±10,9	60,3±7	61,7±5,2
100-110. dk	66,9±6,4	61,5±12,7	59,7±4,2	59,2±5,6	56,5±5,9	57,3±5,4	72,8±11,4	60,6±6,4	59,2±6,4
110-120.dk	64,3±6	58,6±12	58,2±3,8	58,6±7,8	54,9±6,3	56,2±4,4	71,4±11,3	61,4±5,7	57,3±5,4
120-130.dk	65,2±6,9	63,8±9,8	60,2±5,4	59±3,7	54,6±6,1	55,8±5,6	72,9±8,9	63,4±5,9	55,7±6,4
130-140.dk	62,7±5,2	58±11,5	63,5±6,2	57,6±5	52,5±8,1	55,8±5,8	72±7,7	62,9±6,9	57,4±5,9
140-150.dk	58,4±4,5	51,8±11,1	61,8±6,3	53,5±8,9	49,2±7,1	60,3±9,5	65,7±7,2	62±6,3	56,6±6,7
150-160.dk	58,6±4,1	55,5±10,3	59,1±6,7	52,6±6	48,6±6,1	56,8±8,7	63,3±10,9	60,2±8,9	54,4±7,5
160-170.dk	54,7±5,5	53,2±12	56,7±5,5	51,1±6,9	47,1±6,9	53,6±10,4	62,8±10,2	55,3±6,6	51,4±7,3
170-180.dk	55±4,3	52,9±9,5	56,3±4,4	52±9,8	46,2±8,5	51,5±12,4	55,5±8,5	55,5±5,1	50,9±5,7

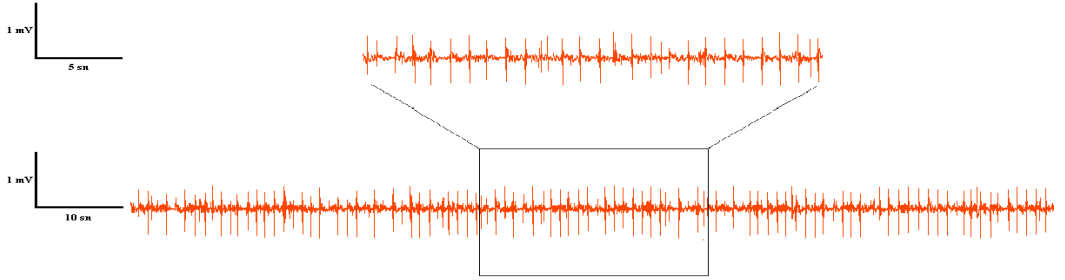
**Tablo 5.** Kontrol (penisilin, 500 IU) ve NPS doz gruplarından elde edilen amplitüd değerlerinin her 10 dakika ortalama değerleri

Zaman (dk)	SPİKE AMLİTÜD (µV)								
	Kontrol	NPS (0,025 nmol)	NPS (0,05 nmol)	NPS (0,1 nmol)	NPS (0,2 nmol)	NPS (0,4 nmol)	NPS (0,6 nmol)	NPS (0,8 nmol)	NPS (1 nmol)
0-10. dk	1102±90	1040±28	1071±51	1051±178	1121±210	1247±302	1135±124	1049±94	1006±98
10-20. dk	1107±89	1029±83	1059±118	1069±231	1075±193	1252±270	1153±134	1118±150	1048±121
20-30. dk	1116±93	1018±45	1077±95	1082±294	1011±190	1201±285	1236±142	1194±169	1071±134
30-40. dk	1092±94	1008±31	992±87	1040±251	1003±153	1135±229	1196±101	1107±106	1041±129
40-50. dk	1073±78	1004±74	962±87	1020±232	968±111	1087±202	1163±89	1055±131	992±118
50-60. dk	1051±91	975±90	961±91	1068±217	948±105	1005±174	1109±82	1073±149	961±115
60-70. dk	1051±75	977±120	951±78	1044±212	945±89	1116±211	1125±89	1020±92	973±116
70-80. dk	1027±81	962±111	946±86	1029±120	946±84	1132±222	1122±102	989±121	959±105
80-90. dk	1018±80	962±57	950±80	1001±289	937±90	1081±190	1073±80	956±107	938±97
90-100. dk	1000±82	964±78	958±73	1009±241	926±95	1024±180	1044±82	994±107	892±103
100-110. dk	991±93	929±106	903±52	998±215	902±85	1003±180	1009±74	941±96	908±65
110-120. dk	939±84	895±134	876±48	920±297	891±91	994±169	999±71	898±94	862±85
120-130. dk	963±84	908±100	868±81	918±304	884±101	956±163	962±98	895±104	866±52
130-140. dk	950±92	899±129	855±113	909±275	864±98	897±157	972±102	886±99	855±57
140-150. dk	919±84	872±55	877±104	892±265	862±94	874±137	954±84	876±98	841±43
150-160. dk	863±78	796±44	902±85	857±245	794±98	906±112	913±64	798±64	792±81
160-170. dk	840±79	784±49	901±90	901±230	785±98	881±108	847±82	764±58	770±63
170-180. dk	840±81	775±73	894±98	911±220	771±101	836±106	824±73	755±44	762±68

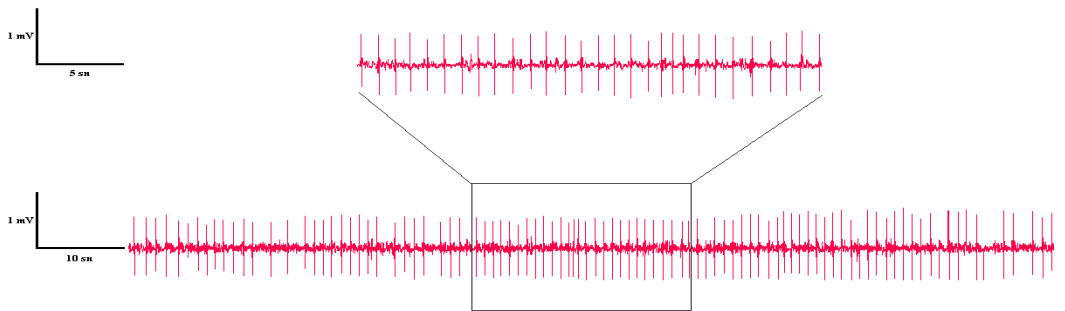
A) Kontrol Grubu (Penisilin 500 IU, i.k.)



B) Penisilin + NPS (0,025 nmol, i.s.v.)

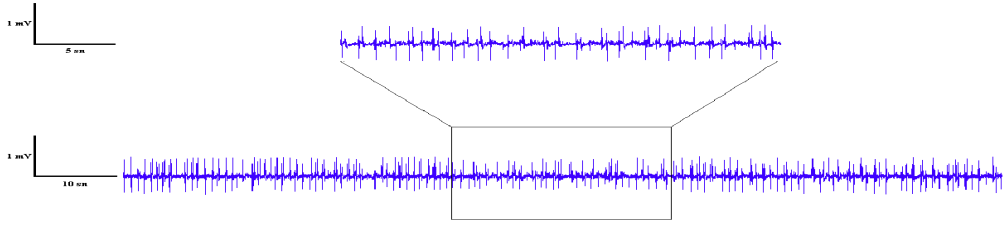


C) Penisilin + NPS (0,05 nmol, i.s.v.)

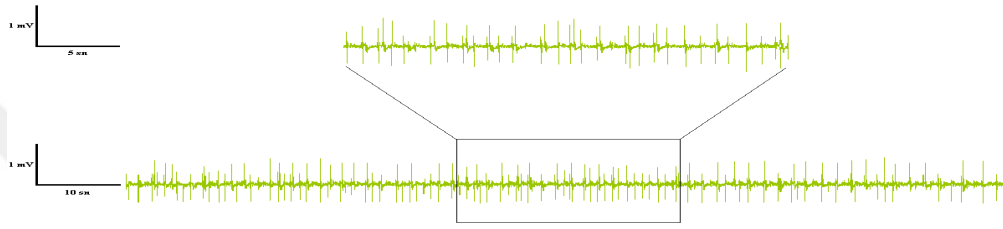


Şekil 20. Kontrol grubu ve NPS'nin 0,025 nmol ve 1 nmol arası dozların ECoG kayıt görüntüleri

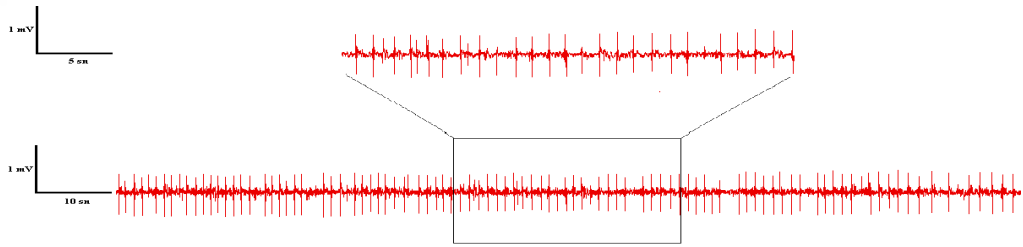
D) Penisilin + NPS (0,1 nmol, i.s.v.)



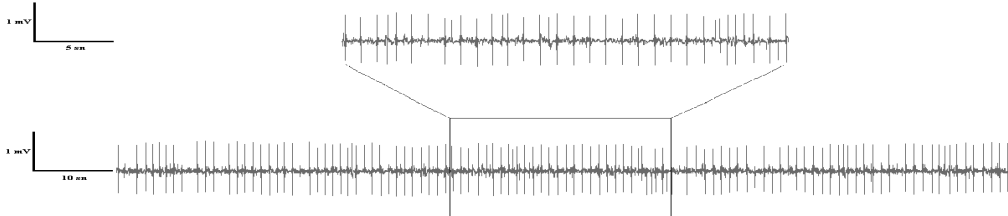
E) Penisilin + NPS (0,2 nmol, i.s.v.)



F) Penisilin + NPS (0,4 nmol, i.s.v.)

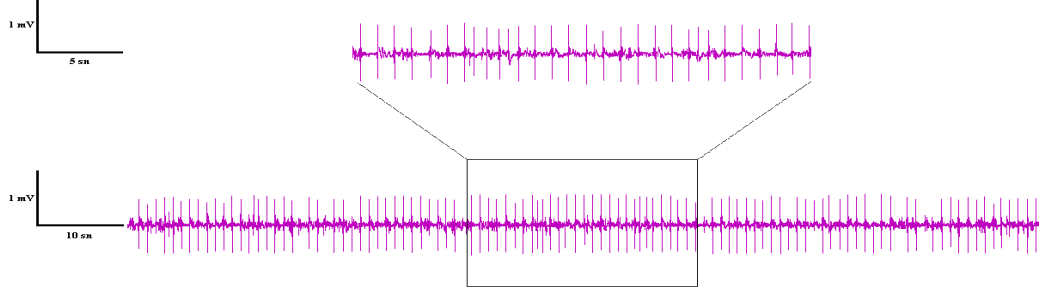


G) Penisilin + NPS (0,6 nmol, i.s.v.)

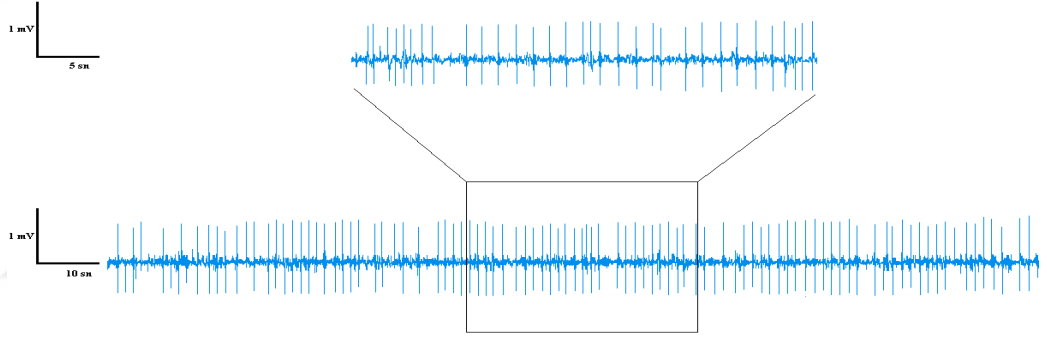


Şekil 20. (devamı) Kontrol grubu ve NPS'nin 0,025 nmol ve 1 nmol arası dozların ECoG kayıt görüntüleri

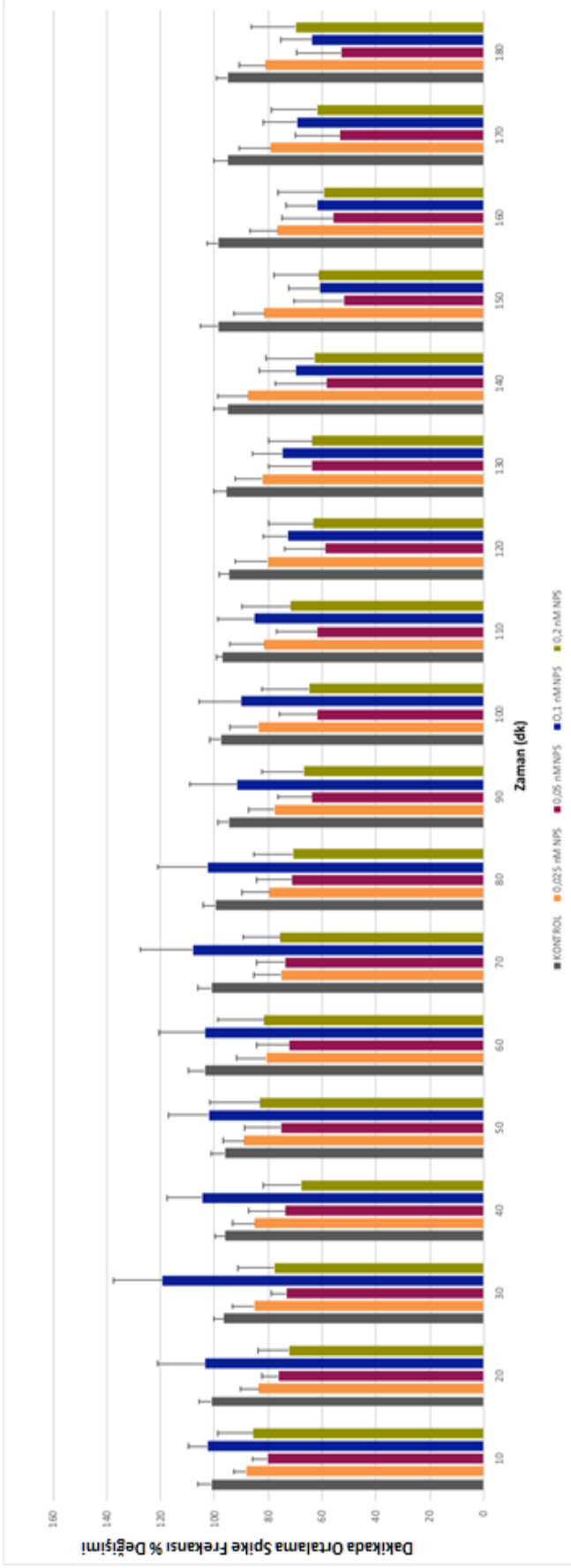
H) Penisilin + NPS (0,8 nmol, i.s.v.)



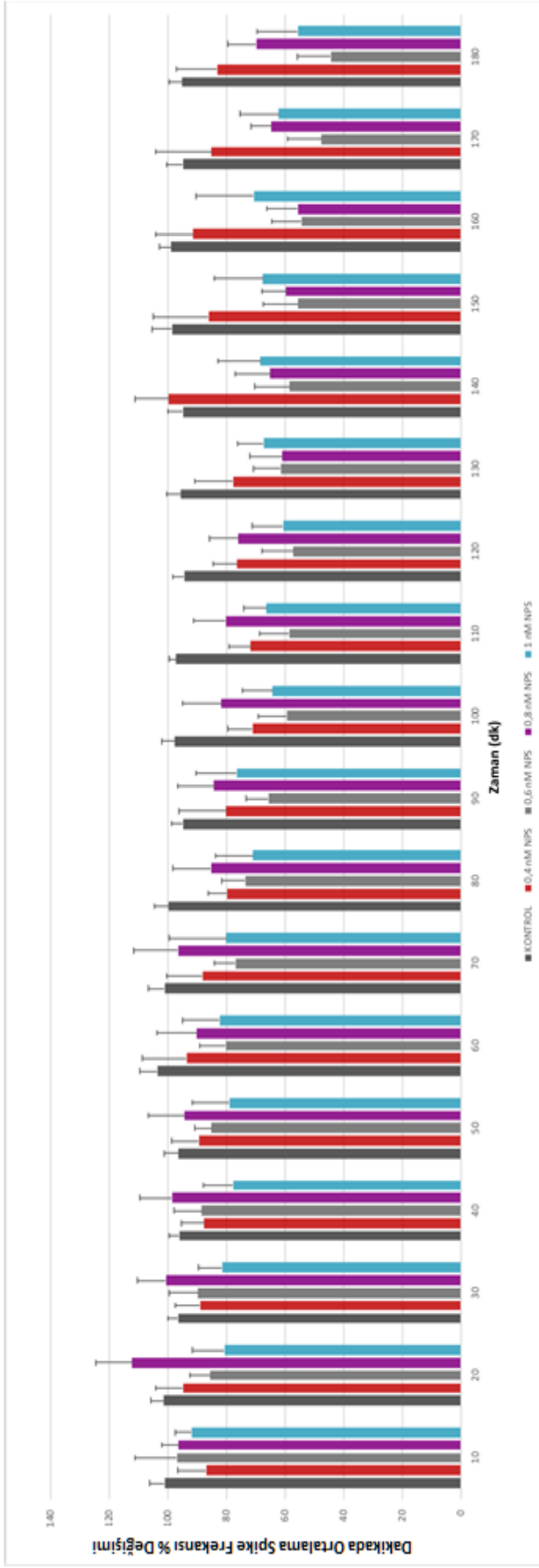
I) Penisilin + NPS (1 nmol, i.s.v.)



Şekil 20. (devamı) Kontrol grubu ve NPS'nin 0,025 nmol ve 1 nmol arası dozların ECoG kayıt görüntüleri

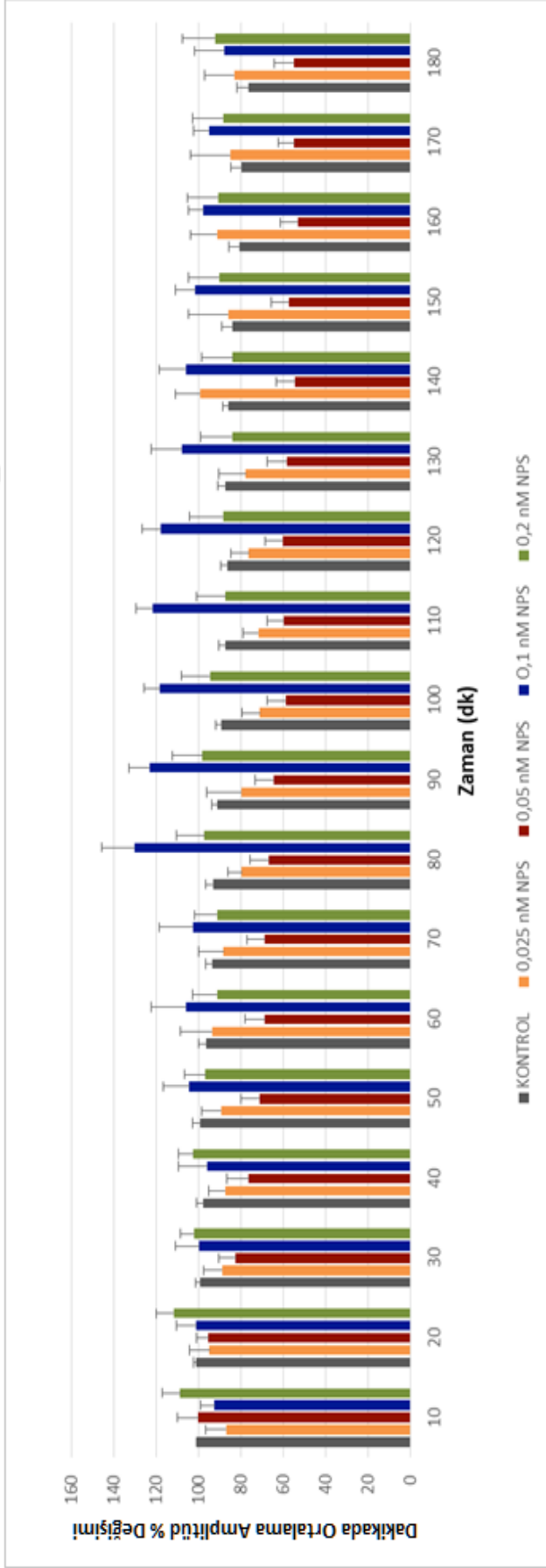


**Şekil 21.** Kontrol (penisilin 500 IU) ve NPS (0,025 nmol), NPS (0,05 nmol), NPS (0,1 nmol), NPS (0,2 nmol) gruplarının spike frekans değerlerinin yüzde değişimi (spike yüzde değişimi  $\pm$  SEM). Kontrol grubu ile NPS (0,025 nmol), NPS (0,05 nmol), NPS (0,1 nmol), NPS (0,2 nmol) doz grupları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ( $p>0,05$ ).

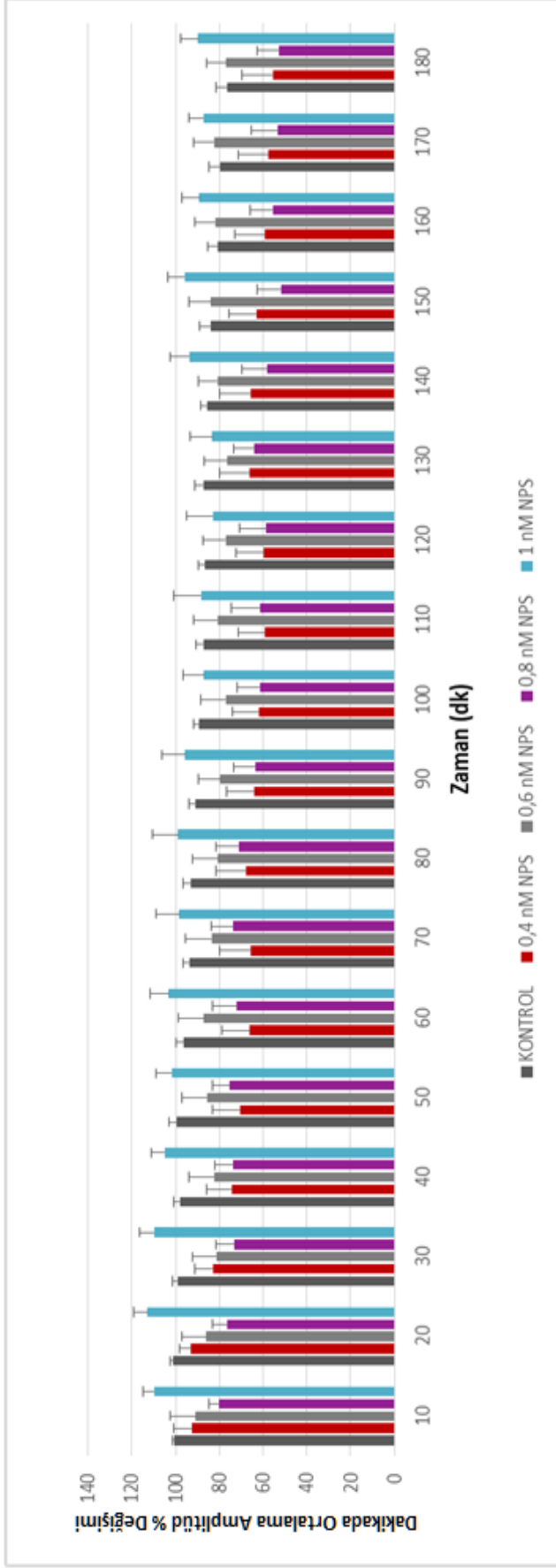


**Şekil 22.** Kontrol (penisilin 500 IU) ve NPS (0,4 nmol), NPS (0,6 nmol), NPS (0,8 nmol), NPS (1 nmol) gruplarının spike frekans değerlerinin yüzde değişimi (spike yüzde değişimi  $\pm$  SEM). Kontrol grubu ile NPS (0,4 nmol), NPS (0,6 nmol), NPS (0,8 nmol), NPS (1 nmol) doz grupları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ( $p>0,05$ ).





**Şekil 23.** Kontrol (penisilin 500 IU) ve NPS (0,025 nM), NPS (0,05 nM), NPS (0,1 nM), NPS (0,2 nM) gruplarının spike amplitüd değerlerinin yüzde değişimleri (amplitüd yüzde değişimi  $\pm$  SEM). Kontrol grubu ile NPS (0,025 nM), NPS (0,05 nM), NPS (0,1 nM), NPS (0,2 nM) doz grupları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ( $p>0,05$ ).



**Şekil 24.** Kontrol (penisilin 500 IU), NPS (0,4 nmol), NPS (0,6 nmol), NPS (0,8 nmol), NPS (1 nmol) gruplarının spike amplitüd değerlerinin yüzde değişimleri (amplitüd yüzde değişimi  $\pm$  SEM). Kontrol grubu ile NPS (0,4 nmol), NPS (0,6 nmol), NPS (0,8 nmol), NPS (1 nmol) doz grupları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ( $p > 0,05$ ).

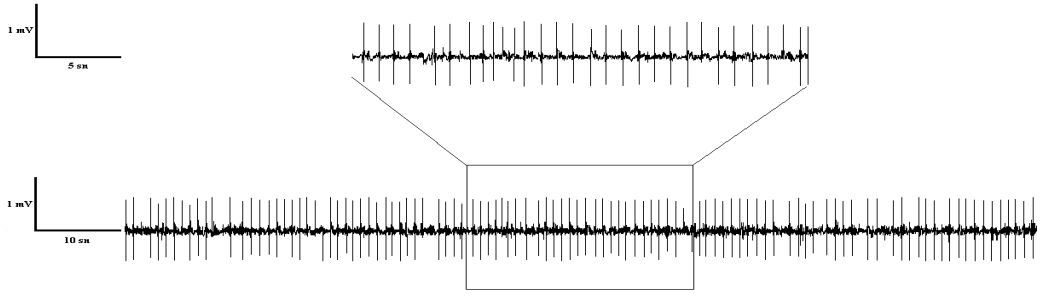
### 4.3. Kronik Olarak Uygulanan 1 nmol NPS'nin Epileptiform Aktivitenin Spike Frekansı ve Amplitüdüne Etkisi

Sunulan çalışmada akut dönem için araştırılan dozlar arasında etkin doz tespiti yapılamamıştır. En yüksek doz olan 1 nmol NPS dozu kontrol grubu ile kıyaslanarak araştırılmıştır (Şekil 25).

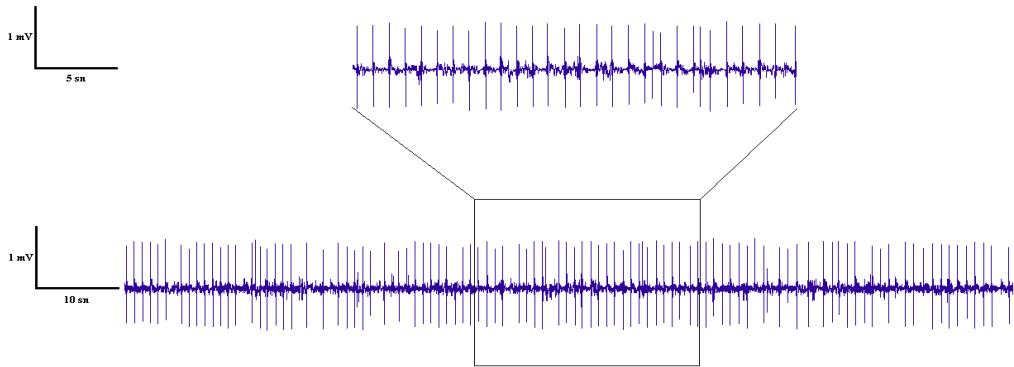
Yapılan analizde 1 nmol NPS dozunun ortalama spike frekansının  $64,4 \pm 5,6$  spike/dk, amplitüdünün ise ortalama  $1048 \pm 166 \mu V$  olduğu saptandı (Tablo 6-7) (Şekil 26-27).

Kronik NPS grubu ile kontrol grubunun spike frekansı ve amplitüdü arasında istatistiki olarak herhangi bir fark bulunamadı ( $p > 0,05$ ).

#### A) Kontrol Grubu (Penisilin 500 IU, i.k.)



#### B) Penisilin + Kronik NPS (1 nmol, i.s.v.)



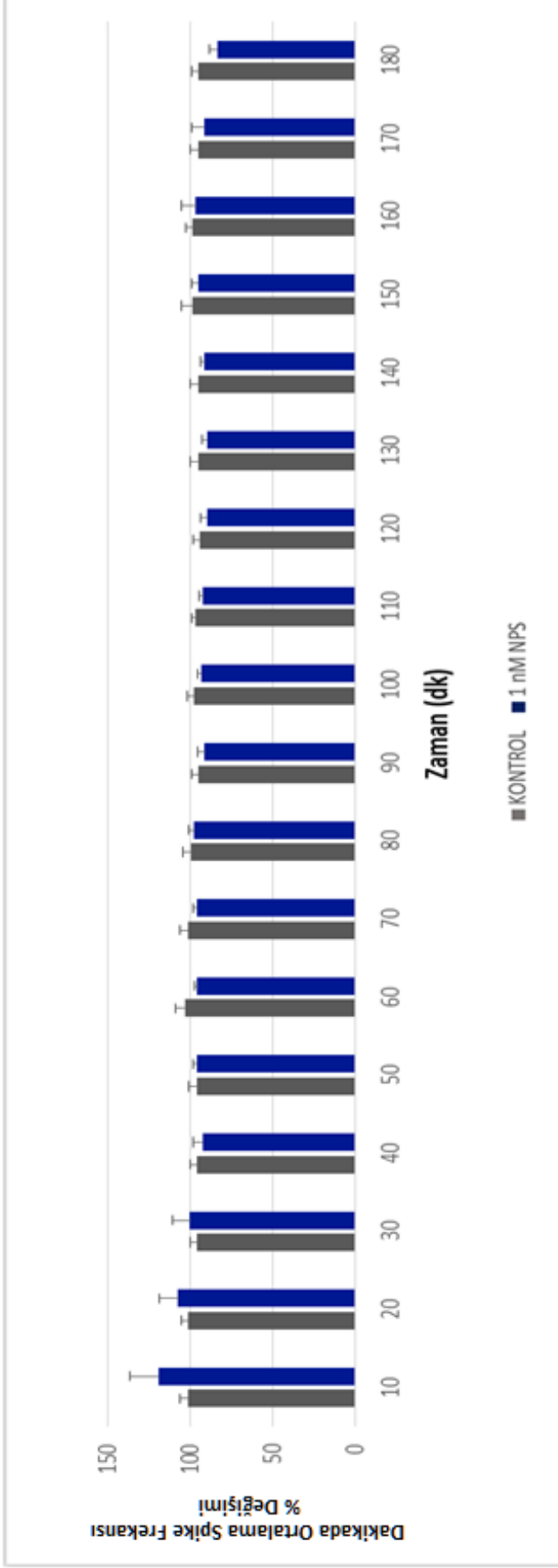
**Şekil 25.** ECoG kayıtları **A.** Kontrol grubunda görülen epileptiform aktivite **B.** Kronik olarak NPS (1 nmol) uygulaması ardından alınan kayıt görüntüsü

**Tablo 6.** Kontrol (penisilin, 500 IU) ve NPS'nin kronik uygulanan 1 nmol doz grubundan elde edilen spike frekanslarının her 10 dakika ortalama değerleri (ortalama spike sayısı  $\pm$  SEM)

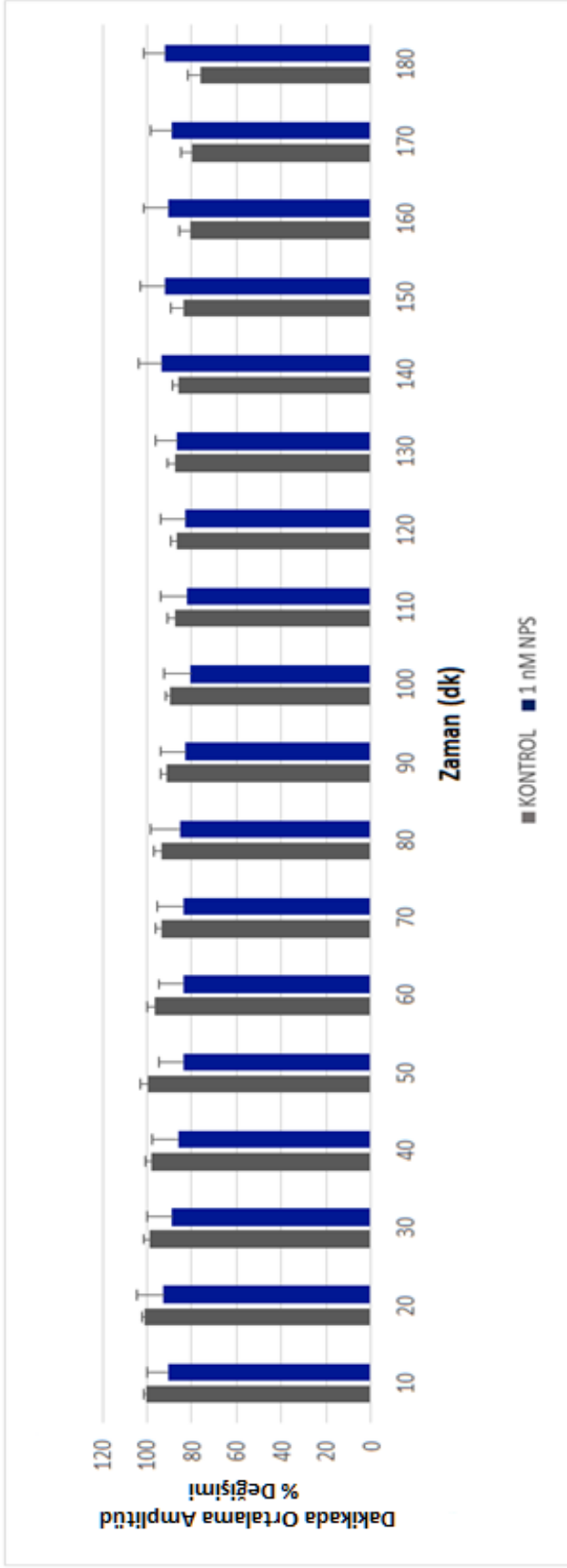
<b>Zaman (dk)</b>	<b>Kontrol (Spike/dk)</b>	<b>NPS (1 nmol-Kronik) (Spike/dk)</b>
0-10. dk	65,9 $\pm$ 5,2	69,6 $\pm$ 6,8
10-20. dk	67,1 $\pm$ 4,4	74,3 $\pm$ 5,4
20-30. dk	76,3 $\pm$ 6,6	70,3 $\pm$ 4,5
30-40.dk	65,9 $\pm$ 3,6	63,1 $\pm$ 4,4
40-50. dk	66,1 $\pm$ 4,9	62,4 $\pm$ 5,5
50-60.dk	71,4 $\pm$ 8,9	63,4 $\pm$ 7
60-70. dk	70,9 $\pm$ 5,4	67,2 $\pm$ 5,4
70-80.dk	69,6 $\pm$ 4,6	66,8 $\pm$ 5,7
80-90. dk	64,7 $\pm$ 6	66 $\pm$ 5,1
90-100.dk	69,5 $\pm$ 7,2	69,9 $\pm$ 5,2
100-110. dk	66,9 $\pm$ 6,4	63,5 $\pm$ 6,4
110-120.dk	64,3 $\pm$ 6	66 $\pm$ 6,9
120-130.dk	65,2 $\pm$ 6,9	62,8 $\pm$ 5,4
130-140.dk	62,7 $\pm$ 5,2	61,8 $\pm$ 5,6
140-150.dk	58,4 $\pm$ 4,5	61,1 $\pm$ 6,2
150-160.dk	58,6 $\pm$ 4,1	57,7 $\pm$ 5,8
160-170.dk	54,7 $\pm$ 5,5	57,9 $\pm$ 5,5
170-180.dk	55 $\pm$ 4,3	60,8 $\pm$ 5

**Tablo 7.** Kontrol (penisilin, 500 IU) ve NPS'nin kronik uygulanan 1 nmol doz grubundan elde edilen amplitüd değerlerinin her 10 dakika ortalama değerleri (ortalama spike amplitüdü  $\pm$  SEM)

<b>Zaman (dk)</b>	<b>SPIKE AMLİTÜD (<math>\mu</math>V)</b>	
	<b>Kontrol</b>	<b>NPS (1 nmol-Kronik)</b>
0-10. dk	1102 $\pm$ 90	1146 $\pm$ 127
10-20. dk	1107 $\pm$ 89	1153 $\pm$ 130
20-30. dk	1116 $\pm$ 93	1178 $\pm$ 114
30-40.dk	1092 $\pm$ 94	1148 $\pm$ 104
40-50. dk	1073 $\pm$ 78	1179 $\pm$ 90
50-60.dk	1091 $\pm$ 91	1191 $\pm$ 144
60-70. dk	1051 $\pm$ 75	1144 $\pm$ 175
70-80.dk	1027 $\pm$ 81	1075 $\pm$ 108
80-90. dk	1018 $\pm$ 80	1008 $\pm$ 94
90-100.dk	1000 $\pm$ 82	1007 $\pm$ 107
100-110. dk	991 $\pm$ 93	1019 $\pm$ 102
110-120.dk	939 $\pm$ 84	985 $\pm$ 138
120-130.dk	963 $\pm$ 84	1024 $\pm$ 190
130-140.dk	950 $\pm$ 92	1022 $\pm$ 248
140-150.dk	919 $\pm$ 84	1006 $\pm$ 249
150-160.dk	863 $\pm$ 78	966 $\pm$ 275
160-170.dk	840 $\pm$ 79	897 $\pm$ 269
170-180.dk	840 $\pm$ 81	890 $\pm$ 264



**Şekil 26.** Kontrol (penisilin 500 IU) ve NPS (Kronik-1 mmol) gruplarının spike frekans değerlerinin yüzde değişimi (spike yüzde değişimi  $\pm$  SEM). Kontrol grubu ile NPS (Kronik-1 mmol) doz grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ( $p > 0,05$ ).



**Şekil 27.** Kontrol (penisilin 500 IU) ve NPS (Kronik-1 nmol) gruplarının spike amplitüd değerlerinin yüzde değişimleri (amplitüd yüzde değişimi  $\pm$  SEM). Kontrol grubu ile NPS (Kronik-1 nmol) doz grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ( $p > 0,05$ ).

## 5. TARTIŞMA

Sunulan çalışmada, NPS'nin penisilinle oluşturulan epileptiform aktiviteye etkisi araştırıldı. Anestezi altındaki sıçanlara penisilin enjeksiyonundan 30 dk. sonra etkin doz araştırması için NPS'nin 8 farklı dozu ayrı gruplara uygulandı ve uygulanan dozların herhangi bir etki göstermediği tespit edildi. Ayrıca bir grup hayvanda NPS'nin en yüksek dozu olan 1 nmol dozu bir hafta süre ile uygulandı. Spike frekansı ve amplitüdünde bir değişiklik oluşturmadığı görüldü. Bu zamana kadar yapılan çalışmalarda NPS'nin penisilin model epileptiform aktivite üzerine olan etkisi henüz çalışılmamıştır. Sunulan çalışmada NPS'nin penisilin ile oluşturulan epileptiform aktivite üzerine olan etkisi elektrofizyolojik ECoG analizleri ile değerlendirildi.

### 5.1. Penisilinle Oluşturulan Epileptiform Aktivite

Epilepsi, çeşitli patolojik durumlar sonucunda bozulmuş beyin fonksiyonlarının semptomlar şeklinde yansımadır (Engel ve Pedley, 2008). Bu nörolojik bozukluk, beyinde normalde var olan elektriğin, aşırı ve kontrolsüz yayılımı sonucu oluşmaktadır. Her sinir hücresi, kendiliğinden belli bir frekansta veya diğer hücrelerden aldığı uyarıların cebirsel toplamına göre elektriksel boşalmalar oluşturur. Fakat bazen bu durum bozulur ve büyük bir nöron topluluğu eşzamanlı olarak (senkron) ve anormal biçimde deşarj oluşturmaya başlar. Bu anormal deşarjla birlikte epileptik nöbetler ortaya çıkar (Arslan G., 2014). Günümüzdeki epilepsi tedavi protokolleri daha çok bulguları gidermeye yöneliktir ve henüz kompleks parsiyel epilepsili hastalarının yaklaşık olarak yarısında epileptik nöbetler kontrol edilememektedir (Shin ve McNamara, 1994).

Epilepsi çalışmalarında çok fazla deneysel model kullanılmaktadır. Bunlar arasında, konvulsan ajanlarla (pentilentetrazol, bikukulin, pikrotoksin, penisilin gibi) kimyasal olarak oluşturulan, elektriksel uyarımlarla oluşturulan ve genetik olarak epilepsiye yatkın hayvan türleriyle oluşturulan modeller oldukça sık kullanılmaktadır (Marangoz, 1997). Birçok araştırmacı tarafından penisilin epileptik aktiviteye neden olduğu bildirilmiştir (Domann ve ark., 1989; Sullivan ve Osorio, 1991; Ayyıldız ve ark., 2006). Penisilin, beyinde bulunan en önemli inhibitör sistemlerden GABA sistemini bloklamakta ve eksitasyon-inhibisyon arasındaki dengeyi bozarak epileptik nöbet oluşumuna yol açmaktadır (Walden ve ark., 1992). Penisilin modeli deneysel epilepside,



piramidal hücrelerdeki paroksizmal depolarizasyon değişikliklerine, GABA<sub>A</sub> ve GABA<sub>B</sub>'ye bağımlı potansiyeller ile hücre içi kalsiyumla aktiflenen potasyum iyonlarının katkıda bulunduğu ileri sürülmektedir (Dichter ve Ayala, 1987; Domann ve ark., 1989). Fazla miktarda kalsiyum iyonlarının hücre içine akışı, epileptiform aktivite esnasında hemen her zaman gözlenen bir durumdur (Speckman ve Walden, 1993). Konvülsif olaylar esnasında hücre içine kalsiyum akışının arttığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Heinemann ve ark., 1985; Meldrum ve ark., 1985). Kalsiyum akımı, nöbet aktivitesiyle birlikte oluşan senkron eksitator potansiyeller ile ilişkilidir (Fischer ve Kittner, 1998).

Penisilin'in uygulanma şekilleri, elde edilmek istenen nöbet modeline göre değişiklik göstermektedir. İntraperitoneal (i.p.), intramusküler (i.m.), intravenöz (i.v.), intraserebroventriküler (i.s.v.) veya intrakortikal (i.k.) olmak üzere çeşitli enjeksiyon türleri literatürde yer almaktadır. Penisilin'in (500 IU) i.k. yolla somatomotor kortekse uygulanmasının kortikal nöronlarda diken ve diken-dalga kompleksleri ile kendini gösteren bir epileptiform ECoG aktiviteye yol açtığı gösterilmiştir (Arslan ve ark. 2017). Epileptiform aktivitenin ortalama 4 saat kadar devam ettiği, kararlı frekans ve amplitüd düzeyine ise 30 dk. içinde ulaşıldığı belirtilmiştir (Ayyıldız ve ark., 2006; Kozan ve ark., 2006; Ayyıldız ve ark., 2007). Laboratuvarımızda yapılan çalışmalarda da, 500 IU penisilin (i.k.) enjeksiyonunu takiben 2-5 dk. içerisinde epileptik deşarjların başladığı, epileptik aktivitenin 20-30 dk'da kararlı duruma ulaştığı ve istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş olmadan spike aktivitesinin 3 saatten fazla devam ettiği tespit edilmiştir (Ayyıldız ve ark., 2006; Alıcı SK., 2014; Arslan G., 2014).

Sunulan çalışmada; deney hayvanlarına penisilin (500 IU, 2,5 µl) i.k. yolla uygulandı ve penisilin enjeksiyonundan sonra 2-5 dakika içinde epileptik spikeler ve spike-dalga kompleksleri görülmeye başlandı. Epileptiform aktivite 30 dk. içinde kararlı hale geldi ve 3 saatten fazla sürdü. Penisilinden sonra NPS enjeksiyonu 30. dakikada yapıldı. Sunulan çalışmada penisilin'in i.k. enjeksiyonuyla oluşturulan epileptiform aktivitenin özellikleri literatürdeki bilgilerle uyumluydu.

## 5.2. NPS'nin Epileptiform Aktiviteye Etkisi

Son yıllarda yapılan araştırmalarda nöron koruyucu ajanlara karşı ilgi artmış olup birçok nöropeptitin nöroprotektif etkisinin olduğu gösterilmiştir (Lokanathan ve ark., 2016). Epilepsi hastalığına yönelik çalışmalarda ise nöropeptitler büyük önem kazanmıştır. NPS, beyinde sentezlenen 20 amino asitlik doğrusal bir polipeptittir ve reseptörünü (NPSR) seçici olarak aktive ederek çeşitli biyolojik fonksiyonları düzenler. NPS reseptörünün aktivasyonu, artan uyarılma ve uyanıklık, azalan endişe ve gıda alımının bastırılmasını sağlar. NPSR genindeki polimorfizmlerin artan astım riski ile de ilişkili olduğundan bahsedilmiştir (Reinscheid, 2007).

NPS, biyolojik olarak aktif peptitler arasında en genç üyelerden biri olup güçlü farmakolojik etkileri olan düzenleyici bir nöropeptittir. Bu nedenle, fizyolojik fonksiyonlarının tanımı ve patolojik koşullardaki durumu ile ilgili araştırmalar hala devam etmektedir. Güçlü farmakolojik etkilerine rağmen beyinde en az bulunan bir nöropeptit olduğuna bildirilmiştir (Liu ve ark., 2011). NPS ve reseptörü NPSR1 esas olarak beyinde ifade edilir. Kemirgenlerde, NPS prekürsör ekspresyonu, noradrenerjik LC ve çevresinde, en ilgi çekici bir şekilde birkaç pons çekirdeği ile sınırlandırılır. LC'nin anksiyete, stres ve uyarılmanın merkezi olduğuna bilinir. Ayrıca bu alanın öğrenme ve hafızada da etkisi vardır (Weiss ve ark., 1994; Tanaka ve ark., 2000; Aston-Jones, 2005). NPSR1 transkriptleri, korteks, amigdala, talamus, hipotalamus ve subikulumda çok daha yaygın olarak ifade edilir (Xu ve ark., 2007; Si ve ark., 2010). Klinik öncesi araştırmalar, NPS'nin uyarılma durumlarının, keşif ve endişe benzeri davranışları, öğrenmeyi ve hafızayı, ilaç ödülünü, beslenme davranışını ve duyuşsal motor geçişini düzenleyebileceğini düşündürmektedir. İnsan NPSR1 reseptörünün NPS'ye duyarlılığını değiştiren fonksiyonel bir polimorfizm, panik ve korku ile ilişkilendirilmiştir. Bu erken sonuçlar, NPS sisteminin çeşitli beyin hastalıklarının tedavisi için yenilikçi bir ilaç hedefi olabileceğini göstermektedir (Bernier ve ark. 2006; Roth ve ark., 2006; Reinscheid ve ark., 2007).

(Xu ve ark., 2004) yaptığı bir çalışmaya göre NPS farelerde lokomotor aktiviteyi arttırmaktadır. Ayrıca sıçanlardan alınan EEG kaydı sonuçlarına göre, NPS enjeksiyonundan yaklaşık bir saat sonra uyku evreleri baskılanarak uyanıklık artmıştır (Roth ve ark., 2006; Smith ve ark., 2006; Rizzi ve ark., 2008). NPS / NPSR1'in uyku ve uyarılma üzerindeki etkisinin altında yatan fonksiyonel mekanizma iyi anlaşılmamakla birlikte, genellikle uyku ve uyanıklığın en az iki antagonize beyin sistemi tarafından düzenlendiği düşünülmektedir; uyarılma ve uyku teşvik sistemi. Uyarılma sistemi esas olarak ponsdan ve lateral hipotalamustan köken alır ve sistem kortikal aktiviteyi modüle ettiği düşünülen ön beyin ve korteksi innerve eder (Saper ve ark., 2005). Lateral hipotalamusta güçlü NPSR1 mRNA ekspresyonu saptanmıştır (Xu ve ark., 2007). Yapılan bir çalışma ile, NPS uygulamasının ilgili histaminerjik ve oreksinerjik bölgelerinde hipotalamik ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir (Zhao ve ark., 2012). Dolayısıyla, NPS'nin uyarılma destekleyici etkisinin, histamin ve oreksin salınımına kısmen aracılık ettiği önerilmiştir. Histaminerjik nöronlar uyanıklık sırasında normalde yüksek aktivite gösterirler ve uyku sırasında inaktiftirler (Brown ve ark., 2012). Oreksin ise NPS'ye benzer, uyandırıcı etkisi olan bir nöropeptittir (Sutcliffe ve ark., 2002).

Aydınlık karanlık testi, Plus maze gibi davranış testleri ile farelerde yapılan bir araştırmanın sonucuna göre, NPS'nin anksiyolitik benzeri etkisi olduğu gözlenmiştir (Leonard ve ark., 2008). Aynı zamanda NPSR reseptörlerinden yoksun farelerde anksiyete benzeri davranışların arttığı da görülmüştür (Duangdao ve ark., 2009). Yine bu dönemde yapılan diğer çalışmalar; NPS'nin farelere santral uygulanması ile anksiyete davranışlarına bağlı stresi azalttığı gösterilmiştir (Okamura ve ark., 2007; Rizzi ve ark., 2008). NPS'nin amigdala içine uygulanması ise, anksiyolitik etkileri oluşturmaktadır (Jüngling ve ark., 2008), korku durumunu ise bloklamaktadır (Fendt ve ark., 2010). Buna ilaveten NPS'nin endopiriform çekirdeğe lokal enjeksiyonu da korku durumunu zayıflatmıştır (Meis ve ark., 2008). SHA 68, selektif NPSR antagonistidir ve anksiyete benzeri davranışlar oluşturup, korku durumunu tetiklemiştir (Jüngling ve ark., 2008; Okamura ve ark., 2008). Meis ve arkadaşları endopiriform çekirdek (EPN) aracılığıyla fare bazolateral amigdala (BLA) nöral aktiviteyi şekillendiren yeni, NPS-duyarlı bir devreden bahsetmişlerdir (Meis ve ark., 2008). EPN, olfaktör korteksin bir parçası olarak kabul edilir ve piriform korteks (PC) ile yakından ilişkilidir. Aslında, NPS reseptörleri, PC'nin alt katmanlarında da ifade edilir, bu da EPN/PC alanının NPS'ye duyarlı

fonksiyonel bir birim oluşturabileceğini gösterir (Fu ve ark., 2004). Dahası, EPN epileptojenik özelliklerdeki rolü ile iyi bilinir ve PC'deki tutuşma model epileptiform potansiyellerinin EPN'den kaynaklandığı gösterilmiştir (Hoffman ve ark., 1996; demir ve ark., 1999). Bu yapıdaki düşük nöbet eşiği muhtemelen intrinsik membran özelliklerinin, rejeneratif pozitif geri bildirim ve eşzamanlı iyon akımına neden olan intranükleer bağlantıların birleşiminden kaynaklanmaktadır (Banks ve ark., 1996; Behan ve ark., 1999; Brevi ve ark., 2001). NPS'nin EPN nöronlarının %20'sinde hücre içi akımı aktive ettiği ve bu şekilde glutamaterjik uyarımı arttırdığı gösterilmiştir. EPN'ni uyarılması ise BLA nöronlarında GABAerjik inhibisyondan sorumludur (Meis ve ark., 2008). Ayrıca, EPN'nin, LC bölgesindeki yeni keşfedilen NPS-pozitif hücrelerden NPS innervasyonunu alabileceği de düşünülmelidir (Xu ve ark., 2007). LC bölgesindeki NPS eksprese eden nöronların gerçekten de EPN'ye yansıtıp yansıtmadığı ve noradrenerjik muadillerine benzer fonksiyonel özellikler gösterip göstermediği araştırılmaya devam etse de BLA'da inhibisyon artışlarının LC üzerinden *in vivo* olarak kaydedilmesi dikkat çekicidir. Sonuç olarak, bu çalışma EPN aracılığıyla BLA'da nöral aktiviteyi kontrol eden yeni bir NPS duyarlı yolağı açıklamaktadır (Meis ve ark., 2008).

(Si ve ark., 2010) araştırmalarında sıçanlara *in vivo* mikrodiyaliz yöntemi ile medial prefrontal kortekste (mPFC) dopamin ve serotonin salınımına NPS'nin etkisi incelenerek, NPS'nin doz bağımlı olarak ekstraselüler dopamin düzeyini arttırdığı, buna karşılık serotenerjik nörotransmisyon üzerine bir etkisinin bulunmadığı anlaşılmıştır. Katekolaminerjik nörotransmisyonlar mPFC'deki önemli beyin fonksiyonlarını içerir ve mPFC'den dopamin salınmasının, anksiyete düzeylerinin düzenlenmesi ve korku azalması ile ilişkili olduğu bulunmuştur (Lauzon ve ark., 2009; Laviolette ve ark., 2005; Pezze ve ark., 2003). Sonuç olarak NPS'nin dopaminerjik aktive üzerine etkisinin olduğu ve anksiyete benzeri davranışlar, korku ve hafızanın işlevsel alanının mPFC'de olduğu söylenmiştir (Si ve ark., 2010). Daha sonra yapılan bir araştırmada; farelerde NPS ve dopamin ilişkisi araştırılmıştır. Bilindiği gibi dopamin ve parkinson hastalığı arasında yakın bir ilişki vardır (Metzel ve ark., 1970). 2015 yılında Adori ve arkadaşları, NPSR'nin beyin dopaminerjik nükleuslarda ekspresse edildiğini göstermişlerdir. Bu çalışmada, farelerde rotarod testi ile alakalı i.s.v. dopaminerjik nörotoksin 6-OHDA enjeksiyonu ile motor eksiklikler oluşturulmuş ve NPS'nin etkileri araştırılmıştır. 6-OHDA enjeksiyonu, substantia nigra ve ventral tegmental alandaki pozitif hücrelerde motor hasarların yanı sıra

tirozin hidroksilaz düzeyini önemli bir şekilde azaltmıştır. L-DOPA'ya benzer bir şekilde i.s.v. NPS enjeksiyonu, 6-OHDA nörotoksininin geliştirdiği motor hasarları tersine çevirmektedir (Adori ve ark., 2015).

Kronik santral ekzojen NPS'nin fare deneysel Parkinson hastalığı modeline bağlı olarak azalan nigral dopaminerjik hücre popülasyonu ve bozulan motor fonksiyonlar üzerine etkisi incelenmiştir (Bülbül ve ark., 2016). Santral ekzojen NPS'nin MPTP nörotoksinine bağlı bozulan lokomasyonu ve tirozin hidroksilaz pozitif hücre kaybını düzeltici etkilerini substantia nigrada bulunan NPSR aracılığıyla gösterebileceği sonucuna varılmıştır. Sonuçta santral NPSR agonizmasının parkinson hastalığının klinik tedavisinde yeni yaklaşımlara katkı sağlayabileceği düşünülmektedir (Bülbül ve ark., 2016).

Bir başka çalışmada ise, i.s.v. NPS enjeksiyonundan sonra öğrenme ve bellek üzerindeki etkileri belirlemek için su labirenti testi kullanılmış ve NPS'nin öğrenme ve hafızada iyileştirici rolü olabileceğinden bahsedilmiştir. Aynı çalışmada NMDA reseptör antagonisti uygulamasının ardından NPS uygulanmasının antagonist tarafından indüklenen hafıza bozukluğunu iyileştirdiği gösterilmiştir (Han ve ark., 2009).

NPS ile ilgili çalışmalar arasında, kemirgenlerde santral NPS uygulanması hiperlokomasyonu arttırmakta ve besin alımını inhibe etmektedir (Peng ve ark., 2010; Smith ve ark., 2006) ve anksiyolitik ve panikolitik etkileri artırabilmektedir (Cao ve ark., 2011; Wegener ve ark., 2012).

Epilepsi ile ilgili bir araştırma, pentilentetrazol (PTZ) ile oluşturulan tutuşma modelinde NPS'nin jeneralize epilepsi üzerine etkisinde, beyindeki makromoleküllerde oluşturduğu değişiklikleri ve oksidatif hasarı değerlendirmeyi amaçlanmıştır. Çalışma ile farelerde i.s.v. olarak NPS'nin 0,01, 0,1 ve 1 nmol dozları, nöbet skoru ve konvülsif davranış açısından incelenmiş olup, mevcut bulgular davranışsal açıdan sadece 1 nmol NPS dozunun enjeksiyonu sonrasında PTZ'nin tekrarlı uygulanmasıyla indüklenen nöbetlerin sıklığını değiştirmeden oluşum süresinde artış olduğu bildirilmiştir. Ayrıca biyokimyasal analizler NPS'nin hipokampus ve serebral kortekste proteinler ve lipitlerde PTZ kaynaklı oluşan oksidatif hasarı azalttığını ortaya koymuştur (Ramos ve ark., 2012).

Sunulan çalışmada, farklı olarak bir fokal epilepsi modeli olan penisilin model epileptiform aktiviteye NPS'nin etkisi ECoG kayıtları ile değerlendirilmiştir ve

verilerimiz NPS'nin 0,025-1 nmol arası dozlarının spike aktivitesini azaltacak düzeyde GABAerjik aktivite göstermediğini düşündürmektedir.

Bu bulgular ışığında NPS'nin epileptiform aktiviteye olan etkisi sunulan çalışmayla elektrofizyolojik olarak gösterilmiştir. Penisilin enjeksiyonundan 30 dakika sonra i.s.v. olarak uygulanan NPS doz gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak spike frekansında ve amplitüd değerlerinde anlamlı bir değişiklik görülmedi ( $p>0,05$ ). En yüksek doz olan 1 nmol dozu 7 gün boyunca uygulandı ve 8. gün anestezi altındaki sıçana penisilin enjeksiyonundan sonra bir doz daha NPS uygulanarak kayıt alındı. Kronik olarak uygulanan 1 nmol NPS doz grubu da kontrol grubuna göre spike frekansında ve amplitüd değerinde anlamlı bir değişiklik oluşturmadı ( $p>0,05$ ).

Literatürde NPS'nin nörolojik hastalıklarda koruyucu etkisi olduğu gösterilmesine rağmen epileptiform aktiviteye herhangi bir etkisinin olmadığı görüldü.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Penisilin (500 IU, i.k.) enjeksiyonundan sonra 2-5 dakika içinde epileptik spikelar ve spike-dalga kompleksleri görülmeye başlandı. Epileptiform aktivite 30 dk. içinde kararlı hale geldi ve 180 dk'lık kayıt boyunca devam etti.
2. Penisilin enjeksiyonundan 30 dk. sonra, 0,025 nmol (i.s.v.) NPS toplam 7 sıçana, 2 µl hacimde uygulandı. Elde edilen elektrofizyolojik kayıtlar kontrol grubunun verileri ile spike frekansları ve amplitüdüleri bakımından karşılaştırıldığında, spike frekansı ve amplitüd değerlerinde anlamlı bir değişiklik görülmedi ( $p>0,05$ ).
3. Penisilin enjeksiyonundan 30 dk. sonra, 0,05 nmol (i.s.v.) NPS toplam 7 sıçana, 2 µl hacimde uygulandı. Elde edilen elektrofizyolojik kayıtlar kontrol grubunun verileri ile spike frekansları ve amplitüdüleri bakımından karşılaştırıldığında, spike frekansı ve amplitüd değerlerinde anlamlı bir değişiklik görülmedi ( $p>0,05$ ).
4. Penisilin enjeksiyonundan 30 dk. sonra, 0,1 nmol (i.s.v.) NPS toplam 7 sıçana, 2 µl hacimde uygulandı. Elde edilen elektrofizyolojik kayıtlar kontrol grubunun verileri ile spike frekansları ve amplitüdüleri bakımından karşılaştırıldığında, spike frekansı ve amplitüd değerlerinde anlamlı bir değişiklik görülmedi ( $p>0,05$ ).
5. Penisilin enjeksiyonundan 30 dk. sonra, 0,2 nmol (i.s.v.) NPS toplam 7 sıçana, 2 µl hacimde uygulandı. Elde edilen elektrofizyolojik kayıtlar kontrol grubunun verileri ile spike frekansları ve amplitüdüleri bakımından karşılaştırıldığında, spike frekansı ve amplitüd değerlerinde anlamlı bir değişiklik görülmedi ( $p>0,05$ ).
6. Penisilin enjeksiyonundan 30 dk. sonra, 0,4 nmol (i.s.v.) NPS toplam 7 sıçana, 2 µl hacimde uygulandı. Elde edilen elektrofizyolojik kayıtlar kontrol grubunun verileri ile spike frekansları ve amplitüdüleri bakımından karşılaştırıldığında, spike frekansı ve amplitüd değerlerinde anlamlı bir değişiklik görülmedi ( $p>0,05$ ).
7. Penisilin enjeksiyonundan 30 dk. sonra, 0,6 nmol (i.s.v.) NPS toplam 7 sıçana, 2 µl hacimde uygulandı. Elde edilen elektrofizyolojik kayıtlar kontrol grubunun verileri ile spike frekansları ve amplitüdüleri bakımından karşılaştırıldığında, spike frekansı ve amplitüd değerlerinde anlamlı bir değişiklik görülmedi ( $p>0,05$ ).
8. Penisilin enjeksiyonundan 30 dk. sonra, 0,8 nmol (i.s.v.) NPS toplam 7 sıçana, 2 µl hacimde uygulandı. Elde edilen elektrofizyolojik kayıtlar kontrol grubunun verileri ile spike frekansları ve amplitüdüleri bakımından karşılaştırıldığında, spike frekansı ve amplitüd değerlerinde anlamlı bir değişiklik görülmedi ( $p>0,05$ ).

9. Penisilin enjeksiyonundan 30 dk. sonra, 1 nmol (i.s.v.) NPS toplam 7 sıçana, 2 µl hacimde uygulandı. Elde edilen elektrofizyolojik kayıtlar kontrol grubunun verileri ile spike frekansları ve amplitüdüleri bakımından karşılaştırıldığında, spike frekansı ve amplitüd değerlerinde anlamlı bir değişiklik görülmedi ( $p>0,05$ ).

Çeşitli nörolojik hastalıklarda koruyucu etkisi olan NPS'nin, penisilin modeli epileptiform aktivitede etki oluşturmadığı anlaşılmıştır. Epilepside etkileri olan sistemik maddelerin (Kanabinoid, Kalsiyum kanalları gibi) agonist ve antagonistlerinin NPS ile ilişkileri ileri çalışmaların konusudur.





## KAYNAKLAR

- Adori C, Barde S, Bogdanovic N, Uhlén M, Reinscheid RR, Kovacs GG, Hökfelt T. Neuropeptide S- and Neuropeptide S receptor-expressing neuron populations in the human pons. *Front Neuroanat* 2015; 25:9:126.
- Adori C, Barde S, Vas S, Ebner K, Su J, Svensson C, Mathé AA, Singewald N, Reinscheid RR, Uhlén M, Kultima K, Bagdy G, Hökfelt T. Exploring the role of neuropeptide S in the regulation of arousal: a functional anatomical study. *Brain Struct Funct* 2016;221(7):3521-46.
- Alicı SK. NMDA ve Kanabinoid Reseptör Sistemleri Arasındaki İlişkide T- Tipi Kalsiyum Kanal Blokerlerinin Rolü. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Samsun, Tıpta Uzmanlık Tezi*, 2014; 65-84.
- Arslan G, Alici SK, Ayyıldız M, Agar E. Interaction between urethane and cannabinoid CB1 receptor agonist and antagonist in penicillin-induced epileptiform activity. *Acta Neurobiol Exp* 2017;77(2):128-136.
- Arslan G. Penisilinle Oluşturulan Epileptiform Aktivite Üzerine Ghrelinin Gösterdiği İnhibitör Etkide Kanabinoid CB1 Reseptörünün Rolü. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Samsun, Tıpta Uzmanlık Tezi*, 2013;55-62.
- Aston-Jones G. Brain structures and receptors involved in alertness. *Sleep Med* 2005;6: 3–7.
- Aygün H. Sıçanlarda penisilinle oluşturulan epileptiform aktivite üzerine hemopressinin rolü. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Samsun*, 2017
- Ayyıldız M, Yıldırım M, Agar E. The involvement of nitric oxide in the anticonvulsant effects of alpha-tocopherol on penicillin-induced epileptiform activity in rats. *Epilepsy Res* 2007; 73:166–172.
- Ayyıldız M. Albino Tavşanlarda Kortikospinal Nöronların Organizasyonu. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Samsun, Doktora Tezi*, 1994.
- Ayyıldız M, Yıldırım M, Agar E, Baltacı AK. The effect of leptin on penicillin induced epileptiform activity in the rats. *Brain Research Bulletin* 2006;68 (5): 374-37.
- Balogh B, Molnar E, Jakus R, Quate L, Olverman HJ, Kelly PAT, Kantor S, Bagdy G. Effects of a single dose of 3,4 Methylenedioxyamphetamine ocircadian patterns, motor activity and sleep indrug-naive rats and rats previously exposed to MDMA. *Psychopharmacology* 2004; 173:296-309.
- Banks MI, Haberly LB, Jackson MB. Layer-specific properties of the transient K current (IA) in piriform cortex. *J Neurosci* 1996; 16:3862–3876.
- Baret KE, Barman SM, Boitano S, Brooks HL. *Ganong'un Tıbbi Fizyolojisi*. 23.Baskı. İstanbul, Nobel Tıp Kitapevleri Yayınları. 2011; 420-826.
- Barr ML, Kiernan JA. *The Human Nervous System*, 5/E. Philadelphia, Lippincott Company. 1988; 224-230.
- Başar E, Schürman M, Demiralp T, Başar-Eroğlu C, Ademoglu A. Event-related oscillations are “real brain responses”-Wavelet analysis and new strategies. *Int J Psychophysiol* 2001;39: 91-127.

- Baykan B, Gürses C, Gökyiğit A. Epilepsi. Öge AE. Editör, İstanbul, Nobel Tıp Kitapevleri Yayınları, Birinci baskı. 2004;279-308.
- Behan M, Haberly LB. Intrinsic and efferent connections of the endopiriform nucleus in rat. *J Comp Neurol* 1999; 408:532–548.
- Belelli D, Peden DR, Rosahl TW, Wafford KA, Lambert JJ. Extrasynaptic GABAA receptors of thalamocortical neurons: a molecular target for hypnotics. *Journal of Neurosci* 2005; 25(50):11513-11520.
- Bell GS, Sander JW. The epidemiology of epilepsy: the size of the problem. *Seizure* 2001;16: 165–170.
- Bernier V, Stocco R, Bogusky MJ, Joyce JG, Parachoniak C, Grenier K, Arget M, Mathieu MC, O'Neill GP, Slipetz D, Crackower MA, Tan CM, Therien AG. Structure-function relationships in the neuropeptide S receptor: molecular consequences of the asthma-associated mutation N107I. *J Biol Chem* 2006; 281:24704– 24712.
- Bora İ. Klinik nöroloji. İstanbul, Nobel&Güneş Kitabevleri, Birinci baskı, 2002; 131–158.
- Brevi S, de Curtis M, Magistretti J. Pharmacological and biophysical characterization of voltage-gated calcium currents in the endopiriform nucleus of the guinea pig. *J Neurophysiol* 2001; 85:2076–2087.
- Brown RE, Basheer R, McKenna JT, Strecker RE, McCarley RW. Control of Sleep and Wakefulness. *Physiol Rev* 2012; 92(3):1087–1187.
- Bruton CJ. The neuropathology of temporal lobe epilepsy. New York: Oxford UP.1988.
- Burbach JP. What are neuropeptides? *Methods Mol Biol* 2011; 789:1-36.
- Bülbül M, Agar A, Sinen O, Uysal VN, Özsoy Ö, Parlak H, Özkan A, Birsen İ, Akkoyunlu G. The Protective Effect of Central Exogenous Neuropeptide-S on Parkinson's Disease. *Turkish Society of Physiological Sciences 42nd National Physiology Congress abstract book, Düzce, 2016; 71.*
- Camarda V, Rizzi A, Ruzza C, Zucchini S, Marzola G, Marzola E, Guerrini R, Salvadori S, Reinscheid RK, Regoli D, Calo G. *In vitro* and *in vivo* pharmacological characterization of the neuropeptide s receptor antagonist [D-Cys (<sup>t</sup>Bu)<sup>5</sup>] neuropeptide S. *J Pharmacol Exp Ther* 2009;328: 549–555.
- Camargo CM, Fernandes BL, Cruz L. "Bioactive Peptides Produced by Limited Proteolysis." In Devi L, Fricker LD. *Colloquium Series on Neuropeptides* 2012; 978-1-61504-521-14.
- Cao J, DeLecea L, Ikemoto S. Intraventricular administration of neuropeptide S has reward-like effects. *Eur J Pharmacol* 2011; 658,16–21.
- Clark SD, Kenakin TP, Gertz S, Hassler C, Gay EA, Langston TL, Reinscheid RK, Runyon SP. Identification of the first biased NPS receptor agonist that retains anxiolytic and memory promoting effects with reduced levels of locomotor stimulation. *Neuropharmacology* 2017; 15:118:69-78.
- Clark, SD, Duangdao DM, Schulz S, Zhang L, Liu X, Xu YL, Reinscheid RK. Anatomical characterization of the neuropeptide S system in the mouse brain by in situ hybridization and immunohistochemistry. *J Comp Neurol* 2011; 519:1867–1893.

- Colonnier M. Synaptic patterns on different cell types in the different laminae of the cat visual cortex. An electron microscope study. *Brain Res* 1968; 9(2):268-287.
- Commission of Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy. Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes. *Epilepsia* 1989; 30(4):389-99.
- Cope DW, Hughes SW, Crunelli V. GABAA receptor mediated tonic inhibition in thalamic neurons. *J Neurosci* 2005; 50:11553-11563.
- Coulter JD, Ewing LK, Carter CM. Origin of primary sensory motor cortical projections to lumbar spinal cord of the cat and monkey. *Brain Res* 1976; 103:366-372.
- Creutzfeldt, O, Watanabe S, Lux HD. Relations between EEG-phenomena and potentials of single cortical cells. I. Evoked responses after thalamic and epicortical stimulation. II. Spontaneous and convulsoid activity. *Electroencephalogram Neurophysiol* 1966; 20:1-37.
- Demir R, Haberly LB, Jackson MB. Sustained and accelerating activity at two discrete sites generate epileptiform discharges in slices of piriform cortex. *J Neurosci* 1999; 19:1294–1306.
- Dichter MA, Ayala GF. Cellular mechanism of epilepsy: A status report. *Science*. 1987; 237:157-164.
- Didonet JJ, Cavalcante JC, Souza Lde S, Costa MS, André E, Soares-Rachetti Vde P, Guerrini R, Calo' G, Gavioli EC. Neuropeptide S counteracts 6-OHDA-induced motor deficits in mice. *Behav Brain Res* 2014; 1:266:29-36
- Domann R, Dorn T, Witte OW. Calcium-dependent potassium current following penicillin-induced epileptiform discharges in the hippocampal slice. *Exp Brain Res* 1989; 78,646–648.
- Duangdao DM, Clark SD, Okamura N, Reinscheid RK. Behavioral phenotyping of neuropeptide S receptor knockout mice. *Behav Brain Res* 2009; 205:1–9.
- Engel J, Pedley TA. What Is Epilepsy? In: *Epilepsy A Comprehensive Textbook*, Second Edition. 2008; 1:1-13.
- Engel JJ, Schwartzkroin PA. What Should Be Modeled? In: Pitkanen A, Schwartzkroin PA, Moshe SL, editors. *Models of Seizures and Epilepsy*. San Diego, Elsevier Academic Press. 2006; 1-14.
- Engelborghs S, D'Hooge R, De Deny PP. Pathophysiology of epilepsy. *Acta Neurol Belg* 2000; 100(4):201-213.
- Ettinger AB. Structural causes of epilepsy. *Neurologie Clinics* 1994; 12:41-56.
- Fendt M, Imobersteg S, Bürki H, McAllister KH, Sailer AW. Intra-amygdala injections of neuropeptide S block fear-potentiated startle. *Neurosci Lett* 2010; 474:154–157.
- Fischer W, Kittner H. Influence of ethanol on pentylentetrazol-induced kindling in rats. *J Neural Transm* 1998; 105:1129-1142.
- Fisher RS, van Emde Boas W, Blume W, Elger C, Genton P, Lee P, Engel J Jr. Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). *Epilepsia* 2005; 46:470-472.
- Fisher RS. Animal Models of the Epilepsies. *Brain Res Rev* 1989; 14:245-278.
- Fonnum F. Glutamate: a neurotransmitter in mammalian brain. *J Neurochem* 1984; 42:1-11.

- Fu W, Sugai T, Yoshimura H, Onoda N. Convergence of olfactory and gustatory connections onto the endopiriform nucleus in the rat. *Neuroscience* 2004; 126:1033–1041.
- Gan J, Qu Y, Li J, Zhao F, Mu D. An evaluation of the links between micro RNA, autophagy, and epilepsy. *Rev Neurosci* 2015; 26(2):225–237.
- Giblin KA, Blumenfeld H. Is epilepsy a preventable disorder? New evidence from animal models. *The Neuroscientist* 2010; 16(3):253-75.
- Goldman L, Bennet JC. *The textbook of Medicine*. 21.Edition. Philadelphia, W.B. Saunders Company. 2000; 45-66.
- Grays anatomy. *The Anatomical Basis of Clinical Practise*. Susan Stanring. 40th edition, 2005.
- Guerrini R, Camarda V, Trapella C, Calo G, Rizzi A, Ruzza C, et al. Further studies at neuropeptide s position 5: discovery of novel neuropeptide S receptor antagonists. *J Med Chem* 2009a; 52:4068–4071.
- Guerrini R, Camarda V, Trapella C, Calo G, Rizzi A, Ruzza C, Fiorini S, Marzola E, Reinscheid RK, Regoli D, Salvadori S. Synthesis and biological activity of human neuropeptide S analogues modified in position 5: identification of potent and pure neuropeptide S receptor antagonists. *J Med Chem* 2009b; 52:524–529.
- Gurnett CA, Dodson WE. *Definitions and classification of epilepsy*. United Kindom, 2009; 1:1-20.
- Hall JE. *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology*. 12/E, Philadelphia, Saunders Elsevier 2011; 723.
- Han RW, Yin XQ, Chang M, Peng YL, Li W, Wang R. Neuropeptide S facilitates spatial memory and mitigates spatial memory impairment induced by N-methyl-D-aspartate receptor antagonist in mice. *Neurosci Lett* 2009; 455:74-77.
- Heinemann U, Konnerth A, Pumain R, Wadman W. Extracellular calcium and potassium concentration changes in chronic epileptic brain tissue. *Advances in neurology* 1985; 44:641-661.
- Hoffman WH, Haberly LB. Kindling-induced epileptiform potentials in piriform cortex slices originate in the underlying endopiriform nucleus. *J Neurophysiol* 1996; 76:1430–1438.
- Iannotti FA, Hill CL, Leo A, Alhusaini A, Soubrane C, Mazzarella E, Russo E, Whalley BJ, Di Marzo V, Stephens GJ. Nonpsychotropic plant cannabinoids, cannabidivarin (CBDV) and cannabidiol (CBD), activate and desensitize transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) channels *in vitro*: Potential for the treatment of neuronal hyperexcitability. *ACS Chem Neurosci* 2014; 5(11):1131-1141.
- Jarry M, Diallo M, Lecointre C, Desrues L, Tokay T, Chatenet D, Leprince J, Rossi O, Vaudry H, Tonon MC, Prezeau L, Castel H, Gandolfo P. The vasoactive peptides urotensin II and urotensin II-related peptide regulate astrocyte activity through common and distinct mechanisms: involvement in cell proliferation. *Biochem J* 2010; 428:113–124.
- Jensen FE. Epilepsy as a spectrum disorder: Implications from novel clinical and basic neuroscience. *Epilepsia* 2011; 52(1):1-6.
- Jia F, Pignataro L, Schofield CM, Yue M, Harrison NL, Goldstein PA. An extrasynaptic GABA<sub>A</sub> receptor mediates tonic inhibition in thalamic VB neurons. *J Neurophysiol* 2005; 94:4491-4501.

- Jüngling K, Seidenbecher T, Sosulina L, Lesting J, Sangha S, Clark SD, Okamura N, Duangdao DM, Xu YL, Reinscheid RK, Pape HC. Neuropeptide S-mediated control of fear expression and extinction: role of intercalated GABAergic neurons in the amygdala. *Neuron* 2008; 59:298–310.
- Kandel, ER, Schwartz JH, Jessel TM. *Principles of Neural Science*, 4/E, McGraw-Hill, New York, 2000.
- Kang J-Q, Macdonald RL. Making sense of nonsense GABA A receptor mutations associated with genetic epilepsies. *Trends in molecular medicine* 2009; 15(9):430-8.
- Kozan R, Ayyildiz M, Yildirim M and Agar E. The effects of ethanol intake and withdrawal on penicillin-induced epileptiform activity in rats. *Brain Research Bulletin* 2006; 71(1-3): 111-115.
- Lauzon NM, Bishop SF, Laviolette SR. Dopamine D1 versus D4 receptors differentially modulate the encoding of salient versus nonsalient emotional information in the medial prefrontal cortex. *J Neurosci* 2009; 29:4836–4845.
- Laviolette SR, Lipski WJ, Grace AA. A subpopulation of neurons in the medial prefrontal cortex encodes emotional learning with burst and frequency codes through a dopamine D4 receptor- dependent basolateral amygdala input. *J Neurosci* 2005; 25:6066–6075.
- Leonard SK, Dwyer JM, Sukoff Rizzo SJ, Platt B, Logue SF, Neal SJ, Malberg JE, Beyer CE, Schechter LE, Rosenzweig-Lipson S, Ring RH. Pharmacology of neuropeptide S in mice: therapeutic relevance to anxiety disorders. *Psychopharmacology* 2008; 197:601–11.
- Lindsay KW, Bone I, Callender R. *Neurology and Neurosurgery Illustrated*, Third edition, Edinburgh, London, Philadelphia, Churchill Livingstone 1997; 92-97.
- Liu X, Zeng J, Zhou A, Theodorsson E, Fahrenkrug J, Reinscheid RK. Molecular fingerprint of neuropeptide S-producing neurons in the mouse brain. *J Comp Neurol* 2011; 519:1847–1866.
- Lloyd D. *Neuropeptides and Other Bioactive Peptides: From Discovery to Function*. Colloquium Series on Neuropeptides 2012;122.
- Lokanathan Y, Omar N, Puzi NNA, Saim A, Idrus RH. Recent updates in neuroprotective and neuroregenerative potential of *Centella asiatica*. *Malays J Med Sci* 2016; 23(1):4-12.
- Löshner 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.
- Marangoz C. Beyin korteksinde bulunan piramidal nöron tipleri ve bunların deşarj şekli ile elektrokortikogram arasındaki ilişki. Atatürk Üniversitesi, Erzurum, Doktora tezi, 1978.
- Marangoz C. Deneysel epilepsi modelleri. *O.M.Ü. Tıp Dergisi*. 1997; 14:147-186.
- Meis S, Bergado-Acosta JR, Yanagawa Y, Obata K, Stork O, Munsch T. Identification of a neuropeptide S responsive circuitry shaping amygdala activity via the endopiriform nucleus. *PLoS One* 2008; 3:e2695.
- Meldrum B. Cell damage in epilepsy and the role of calcium in cytotoxicity. *Advances in neurology* 1985; 44:849-855.
- Metzel E, Weitbrecht WU. Dopa resorption and dopamin estimation in blood of patients with Parkinson's disease. *Arch Psychiatr Nervenkr* 1974; 219(3):231-7.

- Miller J, Snyder A, Coben L, Joynt RJ. Clinical electroencephalography and related techniques. In: Clinical neurology. Philadelphia: Lippincott, 1992.
- Miller LL, Branconnier RJ. Cannabis: Effects on memory and the cholinergic limbic system. *Psychol Bull* 1983; 93:441–456.
- Mochizuki T, Kim J, Sasaki K. Microinjection of neuropeptide S into the rat ventral tegmental area induces hyperactivity and increases extracellular levels of dopamine metabolites in the nucleus accumbens shell. *Peptides* 2010; 31:926–931.
- Moldrich RX, Chapman AG, De Sarro G, Meldrum BS. Glutamate metabotropic receptors as targets for drug therapy in epilepsy. *European journal of pharmacology* 2003; 476(1):3-16.
- Mountcastle VB, Poggio GF. Structural organization and general physiology of thalamotellencephalic systems. In: *Medical Physiology*, Ed, Mountcastle, V.B. Mosby Comp 1974; 227-253.
- Okamura N, Garau C, Duangdao DM, Clark SD, Jüngling K, Pape HC, Reinscheid RK. Neuropeptide S enhances memory during the consolidation phase and interacts with noradrenergic systems in the brain. *Neuropsychopharmacology* 2011; 36: 744–752.
- Okamura N, Habay SA, Zeng J, Chamberlin AR, Reinscheid RK. Synthesis and pharmacological *in vitro* and *in vivo* profile of 3-oxo-1,1-diphenyl-tetrahydro-oxazolo[3,4-a] pyrazine-7-carboxylic acid 4-fluoro-benzylamide (SHA 68), a selective antagonist of the neuropeptide S receptor. *J Pharmacol Exp Ther* 2008; 325:893–901.
- Okamura N, Reinscheid RK. Neuropeptide S: a novel modulator of stress and arousal. *Stress* 2007; 10:221-226.
- Okan M. Status Epileptikus. *Güncel Pediatri* 2004; 172:116-119.
- Peng YL, Han RW, Chang M, Zhang L, Zhang RS, Li W, Han YF, Wang R. Central Neuropeptide S inhibits food intake in mice through activation of Neuropeptide S receptor. *Peptides* 2010; 31:2259–2263.
- Pezze MA, Bast T, Feldon J. Significance of dopamine transmission in the rat medial prefrontal cortex for conditioned fear. *Cereb Cortex* 2003; 13:371–380.
- Purpura DP, Penry JK, Tower DB, Woodbury DM, Walter RD. *Experimental Models of Epilepsy, A Manual for the laboratory worker*. 1st Edition, New York, Raven Press 1972; 39-87.
- Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D. *Neuroscience*, 2nd edition, Sunderland, Sinauer Associates 200.
- Ramos SF, Mendonça BP, Leffa DD, Pacheco R, Damiani AP, Hainzenreder G, Petronilho F, Dal-Pizzol F, Guerrini R, Calo G, Gavioli EC, Boeck CR, de Andrade VM. Effect of Neuropeptide S Seizures and Oxidative Damage Induced by Pentylentetrazole in mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 2012; 103:2:197-203.
- Reem Al Qdah S. Pathophysiology of epilepsy. *Physiology* 2009; 5:20-24.
- Reinscheid RK, Xu YL. Neuropeptide S and its receptor: a newly orphanized G protein-coupled receptor system. *Neuroscientist* 2005a; 11:532–538.
- Reinscheid RK, Xu, YL. Neuropeptide S as a novel arousal promoting peptide transmitter. *FEBS J* 2005b; 272:5689–5693.

- Reinscheid RK. Neuropeptide S, in Encyclopedia of Neuroscience, Encyclopedia of Neuroscience, Academic Press, 2009; 817-819.
- Reinscheid RK. Phylogenetic appearance of neuropeptide S precursor proteins in tetrapods. *Peptides* 2007; 28:830–7.
- Rizzi A, Vergura R, Marzola G, Ruzza C, Guerrini R, Salvadori S, Regoli D, Calo G. Neuropeptide S is a stimulatory anxiolytic agent: a behavioural study in mice. *Br J Pharmacol* 2008; 154:471–479.
- Ropper AH, Brown RH. Nörolojik Tanı için Özel Teknikler. Emre M. editör, Adams and Victor's Principle of Neurology (çeviri)'de, Sekizinci Baskı. 2006; 11-34.
- Roth AL, Marzola E, Rizzi A, Arduin M, Trapella C, Corti C, Vergura R, Martinelli P, Salvadori S, Regoli D, Corsi M, Cavanni P, Calo G, Guerrini R. Structure-activity studies on neuropeptide S: identification of the amino acid residues crucial for receptor activation. *J Biol Chem* 2006; 281:20809–20816.
- Ruzza C, Rizzi A, Malfacini D, Pulga A, Pacifico S, Salvadori S, Trapella C, Rainer K, Reinscheid, Calo G, Guerrini R. *In vitro* and *in vivo* pharmacological characterization of a neuropeptide S tetrabrached derivative. *Pharma Res Per* 2015; 3(1).
- Sadock BJ, Sadock VA, Aydin H, Bozkurt A. Kaplan & Sadock's comprehensive textbook of psychiatry. Ankara, Günes Kitabevi, 2007.
- Sanacora G, Zarate CA, Krystal JH, Manji HK. Targeting the glutamatergic system to develop novel, improved therapeutics for mood disorders. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2008; 7(5):426-37.
- Saper CB, Scammell TE, Lu J. Hypothalamic regulation of sleep and circadian rhythms. *Nature* 2005; 437(7063):1257–1263.
- Schmidt RF. Integrative functions of the central nervous system. In: *Human Physiology*. Second Ed., Berlin, Heidelberg, Springer Verlag 1989; 124-165.
- Schwartzkroin PA, Mody I. Acute Seizures Models (Intact Animals), in *Epilepsy: A Comprehensive Textbook*, Pedley TA, editor, Philadelphia, Lippincott Raven Publishers. 1997; 397-403.
- Sendrowski K, Sobaniec W. Hippocampus, hippocampal sclerosis and epilepsy. *Pharmacol Rep* 2013; 65(3):555–565.
- Shin C, McNamara JO. Mechanism of epilepsy. *Annu Rev Med* 1994; 45:379-389.
- Shneker BF, Fountain NB. Epilepsy. *Dis Mon* 2003; 49:426-748.
- Si W, Aluisio L, Okamura N, Clark SD, Fraser I, Sutton SW, Bonaventure P, Reinscheid RK. Neuropeptide S stimulates dopaminergic neurotransmission in the medial prefrontal cortex. *J Neurochem* 2010; 115(2):475-82.
- Smith KL, Patterson M, Dhillon WS, Patel SR, Semjonous NM, Gardiner JV, Ghatei MA, Bloom SR. Neuropeptide S stimulates the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and inhibits food intake. *Endocrinology* 2006; 147:3510–3518.
- Speckmann EJ, Walden J. Antiepileptic effects of organic calcium channel blockers in animal experiments. In: *Epilepsy: Models, mechanisms and concepts*. Ed, Schwartzkroin PA, Cambridge University Press, 1993; 462-486.

- Sullivan HC, Osorio I. Aggravation of penicillin-induced epilepsy in rats with locus ceruleus lesions. *Epilepsia* 1991; 32:591-6.
- Sutcliffe JG, De Lecea L. The hypocretins: setting the arousal threshold. *Nat Rev Neurosci* 2002; 3(5):339-349.
- Tanaka M, Yoshida M, Emoto H, Ishii H. Noradrenaline systems in the hypothalamus, amygdala and locus coeruleus are involved in the provocation of anxiety: basic studies. *Eur J Pharmacol* 2000; 405:397-406.
- Timofeeva OA, Gordon CJ. Changes in EEG power spectra and behavioral states in rats exposed to the acetylcholinesterase inhibitor chlorpyrifos and muscarinic agonist oxotremorine. *Brain research* 2001; 893(1):165-77.
- Tudor M, Tudor L, Tudor KI. "[Hans Berger (1873-1941)-the history of electroencephalography]". *Acta Med Croatica* 2005; 59:307-13.
- Van den Pol AN. "Neuropeptide transmission in brain circuits." *Neuron* 2012; 76(1):98-115.
- Verhaart WJC. The pyramidal tract in the primates. In: *The primate brain advances in primatology*, Editors, Noback, CR, Montagna W. Appleton, New York, 1970; 83-108.
- Vuckovic A, Radivojevic V, Chen AC, Popovic D. Automatic recognition of alertness and drowsiness from EEG by an artificial neural network. *Med Eng Phys* 2002; 24(5):349-360.
- Walden J, Straub H, Speckmann EJ. Epileptogenesis: Contributions of calcium ions and antiepileptic calcium antagonists. *Acta Neurologica Scandinavica* 1992; 150:41-46.
- Wallace MJ, Blair RE, Falenski KW, Martin BR, DeLorenzo RJ. The endogenous cannabinoid system regulates seizure frequency and duration in a model of temporal lobe epilepsy. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapy* 2003; 307(1):129-137.
- Wasterlain CG, Fujikawa DG, Penix L, Sankar R. Pathophysiological mechanisms of brain damage from status epilepticus. *Epilepsia* 1993; 1:37-53.
- Wegener G, Finger BC, Elfving B, Keller K, Liebenberg N, Fischer CW, Singewald N, Slattery DA, Neumann ID, Mathe AA. Neuropeptide S alters anxiety, but not depression-like behaviour in Flinders Sensitive Line rats: a genetic animal model of depression. *Int J Neuropsychopharmacol* 2012; 15:375-387.
- Weiss JM, Stout JC, Aaron MF, Quan N, Owens MJ, Butler PD, Nemeroff CB. Depression and anxiety: role of the locus coeruleus and corticotropin-releasing factor. *Brain Res Bull* 1994; 35:561-572.
- Xu YL, Gall CM, Jackson VR, Civelli O, Reinscheid RK. Distribution of neuropeptide S receptor mRNA and neurochemical characteristics of neuropeptide S-expressing neurons in the rat brain. *J Comp Neurol* 2007; 500:84-102.
- Xu YL, Reinscheid RK, Huitron-Resendiz S, Clark SD, Wang Z, Lin SH, Brucher FA, Zeng J, Ly NK, Henriksen SJ, de Lecea L, Civelli O. Neuropeptide S: a neuropeptide promoting arousal and anxiolytic-like effects. *Neuron* 2004; 43:487-497.
- Yeni N, Naci Karaağaç N. Epilepsiler. *Nörolog olmayanlar için nöroloji sempozyum dizisi* 2005; 42:159-175.
- Zaidel DW, Esiri MM, Oxbury JM. Regional differentiation of cell densities in the left and right hippocampi of epileptic patients. *Journal of neurology* 1993; 240(5):322-5.



Zhao P, Shao YF, Zhang M, Fan K, Kong XP, Wang R, Hou YP. Neuropeptide S promotes wakefulness through activation of the posterior hypothalamic histaminergic and orexinergic neurons. *Neuroscience* 2012; 207:218–226.





GİZLİ  
T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu



Sayı : 68489742-604.01-E.25471  
Konu : HADYEK Kurul Kararı

14/11/2016

PROF.DR. ERDAL AĞAR  
Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı

Karar No: 2		Karar Tarihi: 26.10.2016		
PROJE BAŞLIĞI: <b>Penisilin ile oluşturulan deneysel epileptiform aktivite üzerine nöropeptid-S in etkisi</b>				
YÜRÜTÜCÜ: Prof. Dr. Erdal AĞAR		TC NO: 37372329118		
E-POSTA: eragar@omu.edu.tr		MOBİL TEL NO:		
KURUM: Tıp Fakültesi		İÇ HAT TEL NO: 1800		
<b>ARAŞTIRICILAR: (Yürütücü dışındakiler)</b>				
SIRA	ÜNVAN	ADI SOYADI	TC NO	KURUMU
1	Prof. Dr.	Mustafa AYYILDIZ	11190068466	TF Fizyoloji AD
2	Araş.Gör	Çiğdem ERGÜN ÇİÇEKLI		TF Fizyoloji AD

- Yukarıda tanımlanan çalışmayı; belirtilen araştırmacılar ile gerçekleştireceğini, ekip dışında başka kişileri HADYEK ten izin almadan iştirak ettirmeyeceğini, çalışmanın başından sonuna kadar başkaları ile paylaşmayacağını ve yayın haline dönüştüğünde belirtilen katkı sırasına göre yayınlayacağını,
- Üniversitemiz WEB sayfasında güncel hali yayınlanan, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesine uygun olarak çalışacağını,
- Onay alınmış Projede belirtilen Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası olan kişilerin haricinde başkalarına Deney/Yaban hayvanlarında herhangi bir işlem yaptırmayacağını,
- Proje sürecinde işlemlerde ve çalışma ekibinde yapılacak değişiklikler için OMU-EBYS sistemi üzerinden HADYEK'e izin başvurusunda bulunacağını ve onay gelinceye kadar çalışmalarını durduracağını,
- Proje onay tarihinden itibaren her 6(altı) ay sonrasında OMU-EBYS sistemi üzerinden HADYEK'e gelişim raporu vereceğini,
- Proje bitim tarihini müteakiben 3 ay içerisinde çalışma sonucunu OMU-EBYS sistemi üzerinden HADYEK'e bildireceğini,
- Bu Proje süresince, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesinde yer alan etik ilkelerle uyuşmayan veya beklenmeyen ters bir etki veya olay olduğunda derhal Yerel Etik Kurul'a bildireceğini Kabul ve taahhüt eden kimlik ve iletişim bilgileri yukarıda yazılı yürütücünün Araştırma Projesi, Etik Kurul Üyeleri tarafından OMU HADYEK yönergesi kapsamında Etik İlkelerle Uygun bulunmuştur.

**e-İmzalıdır**

Prof. Dr. FeriŒat KOLBAKIR  
HADYEK

Adres: Ondokuz Mayıs Üniversitesi Rektörlüğü  
Telefon: 0362 312 19 19 Faks: 0362 457 60 91

Elektronik Ağ: <http://www.omu.edu.tr/>

Kep Adresi: [omu@hs01.kep.tr](mailto:omu@hs01.kep.tr)

FeriŒat KOLBAKIR

5070 sayılı Elektronik İmza Kanunu'na uygun olarak Güvenli Elektronik İmza ile üretilmiştir.  
Evrak teyidi <https://ebysorgu.omu.edu.tr> adresinden 83LD-EGMH-8016 kodu ile yapılabilir.

1 / 2

## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Çiğdem ÇİÇEKLİ

Doğum Yeri: SAMSUN

Doğum Tarihi: 15/01/1991

Medeni Hali: Evli

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl):

-Erciyes Üniversitesi, Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, 2013

-Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı, 2013-

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl: -

E-posta: cigdemcicekli@icloud.com