

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**PENİSİLİN MODELİ DENEYSEL EPİLEPSİDE LEPTİN VE
GHRELİNİN ETKİLERİ: ELEKTROFİZYOLOJİK BİR
ÇALIŞMA**

DOKTORA TEZİ

Dr. Ali ASLAN

Samsun
Ağustos-2008

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**PENİSİLİN MODELİ DENEYSEL EPİLEPSİDE LEPTİN VE
GHRELİNİN ETKİLERİ: ELEKTROFİZYOLOJİK BİR
ÇALIŞMA**

DOKTORA TEZİ

Dr. Ali ASLAN

Danışman: Prof. Dr. Erdal AĞAR

Samsun
Ağustos-2008

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Bu çalışma jürimiz tarafından fizyoloji programında doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof.Dr. Cafer MARANGOZ Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Üye: Prof.Dr. Erdal AĞAR Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Üye: Prof.Dr. Niyazi TAŞÇI Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Üye: Doç.Dr. Mustafa AYYILDIZ Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Üye: Doç.Dr. Abdülkerim Kasım BALTACI Selçuk Üniversitesi

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurul'unca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Süleyman ÇELİK
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Bu deneysel çalışmanın her aşamasında sabırla bana yol gösteren ve yardım eden tez danışmanım Prof. Dr. Erdal AĞAR' a, Doktora eğitimim süresince tecrübeleri ve fikirleri ile bana destek olan Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Cafer MARANGOZ' a ve Doç. Dr. Mustafa AYYILDIZ' a ve benim için iyi bir öğrenme ortamı oluşmasındaki katkılarından dolayı Anabilim Dalımızın diğer Ğretim yeleri Prof. Dr. Niyazi TAŐCI' ya ve Prof. Dr. Faruk BAĞIRICI' ya çok teşekkür ederim. Ayrıca, alışmamızda kullandığımız leptin ve ghrelini temin eden Doç. Dr. Ayla Güven' e de teşekkür ederim. Tez çalışmalarımda büyük katkıları olan Yrd. Doç. Dr. Mehmet YILDIRIM' a ve Dr. Fatih SEFİL' e teşekkür ederim.

Son olarak bu büyük heyecanı benimle paylaşan sevgili eşim Bahar ASLAN' a teşekkür ederim.

ÖZET
PENİSİLİN MODELİ DENEYSEL EPİLEPSİDE LEPTİN VE GHRELİN' İN
ETKİLERİ: ELEKTROFİZYOLOJİK BİR ÇALIŞMA

Ali ASLAN, Doktora Tezi

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Samsun, Ağustos 2008

Epilepsi, oldukça sık olarak gözlenen nörolojik bir hastalıktır ve spontan tekrarlayan nöbetlerle karakterizedir. Nitrik Oksit (NO)' in epilepsi üzerine etkileri bilinmektedir. Leptin ve ghrelin hormonlarının da epilepsi üzerine etkili oldukları tespit edilmiştir. Leptin ve ghrelinin NO sistemiyle etkileşim içerisinde olduğu da bilinmektedir. Ancak epileptiform aktivite üzerine leptin ve ghrelinin etkisinde NO sisteminin rolü bilinmemektedir.

Bu amaçla, 102 adet adet dişi Wistar sıçan, ürethan anestezisi altında sol somatomotor korteksleri açılıp korteks yüzeyine kayıt elektrotları yerleştirildikten sonra dijital kayıt düzeneğine bağlandı. Çalışmada; Penisilin, Penisilin + L-Arjinin, Penisilin + D-Arjinin, Penisilin + L-NAME, Penisilin + D-NAME, Penisilin + 7-NI, Penisilin + Leptin, Penisilin + L-Arjinin + Leptin, Penisilin + L-NAME + Leptin, Penisilin + 7-NI + Leptin, Penisilin + Ghrelin (0.5 µg), Penisilin + Ghrelin (1 µg), Penisilin + Ghrelin (2 µg), Penisilin + L-Arjinin + Ghrelin, Penisilin + L-NAME + Ghrelin, Penisilin + 7-NI + Ghrelin grupları oluşturularak epileptiform aktivite üzerine etkileri ve etkileşimleri incelendi.

Elde edilen verilere göre, L-Arjinin ve 7-NI' nın antikonvulsan, L-NAME' in prokonvulsan bir etki gösterdiği, D-Arjinin ve D-NAME' in ise epileptiform aktivite üzerine etkisiz olduğu gözlemlendi. Ayrıca, leptinin prokonvulsan etkisi; L-NAME ile devam etse de anlamlı bulunmazken, L-Arjinin ve 7-NI ile antikonvulsan bir hal aldı. Ghrelinin antikonvulsan bir etki gösterdiği; bu etkinin L-Arjinin ve 7-NI ile daha da arttığı; L-NAME ile bu antikonvulsan etkinin kaybolduğu gözlemlendi.

Penisilin modeli deneysel epilepside leptin ve ghrelinin NO sistemiyle etkileşimini inceleyen herhangi bir yayın bulunmadığı dikkate alınır, bu alanda bir ilk olan çalışmamızdan elde edilen deney sonuçlarına göre, penisilin ile oluşturulan epileptiform aktivite üzerine leptinin prokonvulsan, ghrelinin ise antikonvulsan etkisinde NO sisteminin rolü olduğu anlaşılmaktadır.

ABSTRACT
EFFECTS OF LEPTIN AND GHRELIN ON PENICILLIN-INDUCED
EXPERIMENTAL EPILEPSY: AN ELECTROPHYSIOLOGIC STUDY

Ali ASLAN, PhD Thesis

Ondokuz Mayıs University Samsun, Haziran 2008

Epilepsy is a common neurological disorder and characterized with spontaneous, recurrent seizures. The effects of nitric oxide (NO) on the epilepsy is known. It was determined that leptin and ghrelin hormones had influenced on the epilepsy. It was also known that these hormones and NO system interact each other but the role of NO system on the effect of leptin and ghrelin in the penicillin-induced epileptiform activity is not known.

For this reason, female Wistar rats (n=102) which were anesthetized with urethane, their cortex were opened, recording electrodes were put on the left somatomotor cortex and connected to the digital recording system. These rats divided into Penicillin, Penicillin+L-Arginine, Penicillin+D-Arginine, Penicillin+L-NAME, Penicillin+D-NAME, Penicillin+7-NI, Penicillin+Leptin, Penicillin+L-Arginine+Leptin, Penicillin+L-NAME+Leptin, Penicillin+7-NI+Leptin, Penicillin+Ghrelin (0.5 µg), Penicillin+Ghrelin (1 µg), Penicillin+Ghrelin (2 µg), Penicillin+L-Arginine+Ghrelin, Penicillin+L-NAME+Ghrelin, Penicillin+7-NI+Ghrelin treated groups.

The results of experiments showed that L-Arginine and 7-NI had an anticonvulsant effect, L-NAME had a proconvulsant effect. D-Arginine and D-NAME did not affect on epileptiform activity. While the proconvulsive effects of leptin were not occurred significantly with L-NAME treatment, it was turned to anticonvulsant effect with L-Arginine or 7-NI treatment. Ghrelin showed an anticonvulsant effect and these effects were enhanced by L-Arginine and 7-NI treatment. In addition, these anticonvulsive effects of ghrelin were removed by L-NAME treatment.

There are no studies about the interaction of ghrelin and leptin with NO system in penicillin-induced experimental epilepsy. Therefore, the present study showed that NO system influenced the proconvulsive effects of leptin and the anticonvulsive effect of ghrelin on the penicillin-induced epileptiform activity for the first time.

SİMGELER ve KISALTMALAR

- AgRP: Agouti İlişkili Protein
- AMPA: α -Amino-3-Hidroksi-5-Metil-4-İsoksazol Proprionik Asid
- ACTH: Adenokortikotropik Hormon
- aCSF: Yapay Serebrospinal Sıvı (=Artificial Cerebrospinal Fluid)
- BK: Ca^{+2} ile aktive olan K^{+}
- cGMP: Siklik Guanozin Monofosfat
- CRH: Kortikotropin Salgılatıcı Hormon
- DMSO: Dimetil Sülfoksit
- D-NAME: NG-Nitro-D-Arjinin Metil Ester Hidroklorit
- ECoG: Elektrokortikogram
- EDRF: Endotel Kaynaklı Gevşetici Faktör (= Endotel Derived Relaxing Factor)
- EEG: Elektroensefalogram
- eNOS: Endotelial Nitrik Oksit Sentaz
- GABA: γ -Aminobutirik Asit
- GABA-T: γ -Aminobutirik Asit Transaminaz
- GAD: Glutamik Asit Dekarboksilaz
- GAERS: Strasburg' dan Genetik Absans Epilepsili Sıçan
- GH: Büyüme Hormonu (= Growth hormon)
- GHRH: Büyüme Hormonu Serbestletici Hormon
- GHS: Büyüme Hormonu Salgılatıcı Faktör
- GTP: Guanozin Trifosfat
- FAD: Flavin Adenin Dinükleotid
- FMN: Flavin Adenin Mononükleotid
- İc: intrakortikal
- İcv: Beyin ventrikülleri içine (İntroserebroventriküler)
- IL: İnterlökin
- ILAE: Uluslararası Epilepsi İle Savaş Derneği
- iNOS: İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
- İp: Periton içine (İntraperitoneal)
- IU: İnternal Ünit (= International Unit)

JAK: Janus Kinaz

LEPR: Leptin Reseptörü

L-NAME: NG-Nitro-L- Arjinin Metil Ester

L-NMMA: LG-Monometil-L-Arjinin

LTD: Uzun Dönem Depresyon

LTP: Uzun Dönem Potansiyasyon

MDF: Makrofaj Farklılaştırıcı Faktör

μ g: Mikrogram

μ l: Mikrolitre

MSS: Merkezi Sinir Sistemi

MTLE: Mezial Temporal Lob Epilepsisi

μ V: Mikro Volt

ng: Nanogram

NMDA: N-metil-D-aspartik asit

NO: Nitrik Oksit

NOS: Nitrik Oksit Sentaz

NOx: NO Metabolitleri

NPY: Nöropeptid Y

PB: Fenobarbütön

PI: Fosfo İnozitol

PTZ: Pentilentetrazol

SF: Serum Fizyolojik

STAT: Sinyal Dönüştürücü ve Transkripsiyon Aktivatörleri (=Signal Transducer and Activators of Transcription)

TGF-b: Transforming Büyüme Faktör-b

THB: Tetrahidrobiopterin

TNF- α : Tümör Nekroze Edici Faktör- α

7-NI: 7-Nitroindazol

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	V
ÖZET	VI
SİMGELER ve KISALTMALAR	VIII
İÇİNDEKİLER	X
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	8
2.1. Epilepsi	8
2.1.1. Epilepsi Nedir ?	8
2.1.2. Uluslararası Sınıflandırma	10
2.1.3. EEG ve Çözümlemesi	11
2.1.4. Deneysel Epilepsi Modelleri.....	15
2.2. Nitrik Oksit	20
2.2.1. Nitrik Oksitin Biyosentezi	20
2.2.2. Sinir Sisteminde Nitrik Oksitin Etkileri.....	22
2.2.3. Nitrik Oksit ve Epilepsi	24
2.3. Leptin	25
2.3.1. Leptin Reseptörleri (OB-R)	26
2.3.2. Dolaşımdaki leptin düzeyini etkileyen faktörler.....	27
2.3.3. Leptinin Sistemik Etkileri	28
2.3.4. Leptinin Etki Mekanizması.....	28
2.3.5. Leptin ve NO	29
2.3.6. Leptin ve Epilepsi	30
2.4. Ghrelin	31
2.4.1. Dolaşımdaki Ghrelin Düzeyini Etkileyen Faktörler	31
2.4.2. Ghrelinin Sistemik Etkileri	32
2.4.3. Ghrelinin Etki Mekanizması.....	34
2.4.4. Ghrelin ve NO	34
2.4.5. Ghrelin ve Epilepsi.....	34
3. MATERYAL ve METOD	35
3.1. Deney Hayvanları	35
3.2. Kimyasal Maddeler ve Uygulanış Şekilleri	35
3.2.1. Penisilin G Potasyum (C ₁₆ H ₁₇ KN ₂ O ₄ S).....	35
3.2.2. L-Arjinin:	35

3.2.3. D-Arjinin:.....	35
3.2.4. L-NAME (N ^G -nitro-L- arjinin metil ester) :	35
3.2.5. D-NAME (N ^G -nitro-D-arjinin metil ester):	36
3.2.6. 7-NI (7-nitroindazol):	36
3.2.7. Leptin:.....	36
3.2.8. Ghrelin:	36
3.3. Deney Grupları	36
3.4. Cerrahi İşlem.....	38
3.5. Elektrofizyolojik Kayıtlar	39
3.6. İstatistiksel Analiz.....	39
4. BULGULAR.....	41
4.1. Penisilin Kaynaklı Epileptiform Aktivitenin İncelemesi.....	41
4.2. Kullanılan Maddelerin Epileptiform Aktivite Üzerine Etkileri.....	41
4.2.1. Nitrik Oksitin Spike Frekansına Etkisi	41
4.2.2. Leptinin Spike Frekansına Etkisi	46
4.2.3. Leptin-Nitrik Oksit Etkileşiminin Spike Frekansına Etkisi	46
4.2.4. Ghrelinin Spike Frekansına Etkisi	50
4.2.5. Ghrelin ve Nitrik Oksit Etkileşiminin Spike Frekansına Etkisi.....	53
5. TARTIŞMA	57
5.1. Epilepsi, Penisilin Kaynaklı Epileptiform Aktivite, Leptin, Ghrelin ve Nitrik Oksit Sistemi.....	57
5.2. Nitrik Oksitin Epilepsiye Etkisi	58
5.2.1. L-Arjinin ve D-Arjininin Epilepsiye Etkisi	58
5.2.2. L-NAME ve D-NAME' in Epilepsiye Etkisi	60
5.2.3. 7-NI' nin Epilepsiye Etkisi	63
5.3. Leptin ve Ghrelinin Epileptiform Aktiviteye Etkisi ve Bu Etkide NO Sisteminin Rolü.....	65
5.3.1. Leptinin Epileptiform Aktiviteye Etkisi	66
5.3.2. Leptin-NO Etkileşimi	68
5.3.3. Ghrelinin Epileptiform Aktiviteye Etkisi	71
5.3.4. Ghrelin-NO Etkileşimi.....	73
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	76
7. KAYNAKLAR	77
8. ÖZGEÇMİŞ	100

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Epilepsi, oldukça sık olarak gözlenen nörolojik bir hastalıktır ve popülasyonun %1-%3' ünü etkiler. Hastalık, erkek ve kadınlarda ırk ayrımı olmaksızın eşit olarak görülmektedir. Epilepsi nöbetleri her yaşta ortaya çıkabilir ama sıklıkla bebek ve çocuklar ile yaşlılar etkilenir. Spontan tekrarlayan nöbetlerle karakterizedir ve popülasyonun %10' u hayatları boyunca en az 1 nöbet yaşarlar (Hauser ve ark., 1996; Shneker ve Fountain, 2003). Nöbet ve epilepsi terimleri birbirleriyle karıştırılmamalıdır. Epilepsi bir hastalıkken nöbet bir semptomdur. Nöbetler ya provoke ya da spontandır. Spontan nöbetler, epilepsi de olduğu gibi, dirençli beyin hasarı sebebiyle ortaya çıkar. Epilepsiyi hazırlayıcı faktör olan yapısal beyin hasarları; konjenital (heterotopi, kortikal dispilazi), dejeneratif (Alzheimer), enfeksiyon (menenjit, ensefalit, beyin apsisi), travma, vasküler (vasküler malformasyon, inme, subaraknoid kanama) sebeplidir. Provoke nöbetlerin genel sebepleri ise; metabolik anormallikler (hipoglisemi ve hiperglisemi, hiponatremi, hipokalsemi), alkol yoksunluğu, akut nörolojik durumlar (enfeksiyon, inme, kafa travması), yasa dışı ilaç kullanılması ve yoksunluğu, nöbet eşişini düşüren ilaç kullanımı (teofilin, trisiklik antidepresan) ile çocuklarda yüksek ateştir (Shneker ve Fountain, 2003). Bu bilgilere rağmen, epilepsi hastalığının yarıdan fazlasının nedeni bilinmemektedir ve halihazırda kullanılan tedavilerle semptomların giderilmesinden öteye geçilememektedir (Shin ve McNamara, 1994). Bu nedenle epilepsinin temel mekanizmasının açığa çıkarılması son derece önem kazanmaktadır.

Epilepsi üzerine yapılan araştırmaların sınırlılığı ve zorluğu araştırmacıları epileptik hayvan modellerine yönlendirmiştir. Bu modellerden en yaygın kullanılanlardan birisi de penisilin modelidir (Fisher, 1989; Marangoz, 1997). Yapısal olarak bikukuline benzeyen ve GABA sistemiyle etkileşerek epileptik aktivite oluşmasını sağlayan penisilin bu etkisini hem sistemik hem de lokal olarak göstermektedir (Walden ve ark., 1992; Marangoz, 1997).

Epilepsinin oluşmasında bir çok nörotransmitter maddenin yer aldığı bilinmektedir. Nitrik oksitin (NO) gaz halinde bir nörotransmitter olduğu anlaşıldıktan sonra fizyolojik ve epilepsi gibi patofizyolojik pek çok olayın mekanizmasının aydınlığa kavuşturulmasında önemli bir ajan haline gelmiştir (Vincent, 1994; Marangoz ve ark., 1994; Marangoz, 1996).

Epileptiform aktivite esnasında NO metabolit miktarında artış olduğu ve deneysel epilepsi modellerinin pek çoğunun oluşumunda NO' nun rol oynadığı gösterilmiştir (Lerner-Natoli ve ark., 1994; Takei ve ark., 1999; Han ve ark., 2000; De Sarro ve ark., 2000; Leite ve ark., 2002). NO' nun epilepside bir şekilde yer aldığı kesin olmakla birlikte, etkisinin prokonvulsan mı antikonvulsan mı olduğu halen tartışmalıdır. Bu durum, NO sistemi ve epilepsi ile ilgili çalışmaların sonuçlarındaki çelişkilere kaynaklanmaktadır (Marangoz, 1996; Del-Bel ve ark., 1997).

Epilepsi ve endokrin sistem arasındaki ilişki yıllardır araştırmacıların ilgisini çekmektedir (Gallagher ve ark., 1984; Holmes, 1991). Bir çok epileptik nöbetin, sirkadiyen olarak salınan hormonların sekresyonundaki belirgin değişikliklerle ilişkili olduğu bilinmektedir. Örneğin, primer veya sekonder jeneralize nöbetlerden sonra serum prolaktin, noradrenalin, vazopressin ve oksitosin düzeylerinde artış olduğu gösterilmiştir (Meierkord ve ark. 1994). Epilepsi hastalarında, seks hormonlarının dengesindeki değişiklikler de dikkat çekicidir (El-Khayat ve ark., 2003; Herzog ve ark., 2003). Reprodüktif endokrin sistemde olası bir fonksiyon bozukluğunun neden olduğu gonadal sekresyonun hipotalamohipofizer regülasyonundaki değişiklikler, temporalimbik bölgede dirençli ve tekrarlayan epileptiform deşarjlara sebep olmaktadır (Herzog ve ark., 1989; Bilo ve ark., 1991).

Epileptik nöbetlerle hipotalamohipofizer adrenokortikal sistem arasında bir ilişkinin olduğu bilinmektedir (Zobel ve ark. 2004). Epilepsi ve endokrin fonksiyon arasındaki diğer bir bağlantının delili de büyüme hormonu (GH) replasman tedavisi yapılan hastalarda yan etki olarak epileptik nöbet görüldüğünün bildirilmesidir (Clayton ve Cowell, 2000). GH replasman tedavisi yapılan hastalar üzerinde 10 yıl süren bir çalışmanın verilerine göre hastaların % 0.49' unda yan etki olarak epilepsi görülmüştür (Wilton, 1999).

Nörotransmitter ve nöroendokrin sisteme ait hormonların epilepsi ile ilişkilerinin bu şekilde açığa çıkması, epilepsi tedavisinde alternatif arayışlar içerisinde olan bazı araştırmacıları, leptin ve ghrelin gibi multi-sistemik etkileri olan ve beyindeki merkezleri etkileyerek yeme davranışını düzenleyen bu hormonlara yöneltmiştir (Shanley ve ark., 2002a; 2002b; Ayyıldız ve ark., 2006a; Berilgen ve ark., 2006; Obay ve ark., 2007). Yeme davranışı üzerine NO sisteminin etkili olduğunu bildiren çalışmalar (Morley ve Flood, 1991; Calapai ve ark, 1992) ve bu hormonların NO

üzerine etkileri de bu çalışmalarda önem kazanmıştır (Calapai ve ark., 1999; Gaskin ve ark., 2004). Ancak bu hormonların epilepsi üzerine etkilerinde NO sistemini kullanıp kullanmadıkları henüz gizemini korumaktadır.

Leptin esas olarak adipoz dokuda sentezlenip kana salınan ve metabolik etkilerinin çoğunu merkezi sinir sisteminde (MSS) ve akciğer, böbrek, karaciğer, pankreas, adrenal bezler, overler, hematopoietik hücreler gibi periferik dokularda bulunan spesifik reseptörlerle etkileşerek gösteren peptid yapıda bir hormon olarak tanımlanmıştır (Hatemi, 1997; Auwerx ve Staels, 1998; Wallace, 2000; Sivitz ve ark., 2002). Leptin reseptör mRNA' sı hem insan hem de kemirgen hipotalamusunda yüksek düzeylerde eksprese edilmektedir (Schwartz ve ark., 1996; Savioz ve ark., 1997; Hakansson ve ark., 1998; Elmquist ve ark., 1998;). Ayrıca, hipokampus, beyin sapı, serebellum, amigdala ve substansia nigra gibi ekstra hipotalamik beyin bölgelerinde de eksprese edildiği görülmüştür (Mercer ve ark., 1996; Hakansson ve ark., 1998; Elmquist ve ark., 1998; Grill ve ark., 2002; Figlewicz ve ark., 2003). Primer hipokampal kültürlerde aksonlarda ve somatodentritik bölgelerde leptin reseptör immünreaktivitesi bulunmuştur. Aynı zamanda hipokampal sinapslarda da yüksek düzeylerde eksprese edilir ve beynin bu bölgesinde leptinin sinaptik işlevi modüle ettiği gösterilmiştir (Shanley ve ark., 2002a).

Leptin ya kan beyin bariyerini geçmesini sağlayan doyurulabilir bir transport sistemi olan reseptör aracılı transsitozis (Banks ve ark., 1996) ile ya da serebrosipinal sıvı ile taşınarak beyne girer (Shwartz ve ark., 1996). Bu da yüksek düzeylerde leptin reseptörü eksprese eden koroid pleksus aracılığıyla gerçekleşmektedir (Bjorbaek, 1998). Bununla birlikte, leptin merkezi sinir sistemi içinde de yapıyor olabilir. Bunun delili leptin mRNA ve immün reaktivitesinin beyinde yaygın olarak eksprese edilmesidir (Morash, 1999; Ur ve ark., 2002).

Önceki çalışmalarda, leptinin glukozaya duyarlı hipotalamik nöronları (Spanswick ve ark., 1997) ve nükleus traktus solitariusdaki nöronları (Williams ve Smitt, 2006) ATP' ye duyarlı K⁺ kanallarını aktive ederek inhibe ettiği gösterilmiştir. Benzer şekilde leptin sıçan hipokampal nöronlarını K⁺ iletimini artırarak da inhibe eder. Bu nedenle leptinle indüklenen hiperpolarizasyon ve artmış K⁺ iletimi Ca⁺² ve voltaj bağımlı K⁺ kanal blokörü olan TEA ile inhibe edilirken sulfonilüre ve tolbutamid ile inhibe edilemez (Shanley ve ark., 2002a). Tek kanal kayıtlarında leptinin karibdotoksin duyarlı

K^+ kanalının aktivitesini, Ca^{+2} ile aktive olan K^+ (BK) kanallarının aktivasyonu ile uyumlu olarak, artırdığı görülmüştür (Shanley ve ark., 2002a). Leptinin BK kanal aktivitesini modüle edebilmesi PI3 kinaz bağımlı bir mekanizmayla mümkündür. Hipokampal nöronlarda BK kanal aktivasyonu sonucu hızlı sonraki hiperpolarizasyon gelişir ki bu aksiyon potansiyellerinin repolarizasyonundan sorumludur. Bundan dolayı BK kanallarının aksiyon potansiyel ateşleme oranları ve birst ateşleme paternlerini belirlemede anahtar bir rol oynadığı düşünülmektedir. Buna dayanarak BK kanalının leptin ile aktivasyonunun hipokampal eksitabiliteyi düzenlediği söylenebilir. Gerçekte epileptiform benzeri aktivitenin Mg^{+2} içermeyen kültür modellerinde, leptin uygulaması hücre içi Ca^{+2} düzeylerindeki global artışı ani ve geri dönüşümlü bir şekilde hafifletmiştir (Shanley ve ark., 2002b). Aksine, leptin kontrollerde bazal Ca^+ düzeylerini değiştirememiştir (Harvey ve ark., 2007a).

Bunun ötesinde leptinin eksitabiliteyi modüle etme yeteneği hipokampüsle sınırlı değildir. Hipotalamik Nöropeptit-Y (NPY)/Agouti ilişkili protein (AgRP) nöronlarının ateşleme sıklığını da belirgin olarak etkilemiştir. Böylece dolaşımdaki leptin düzeylerini azaltan açlık NPY nöronlarının spike sıklığını artırırken aç hayvanlarda hipotalamusa direkt verilen leptin spike sıklığını azaltmıştır (Takahashi ve Cone, 2005). Tam aksine, leptinin somatomotor kortekste penisilinle uyarılmış epileptik deşarjların sıklığını artırdığı da bildirilmiştir ki bu leptinin beynin ilgili bölgesinde prokonvulsan bir aktiviteye sahip olabileceğini göstermektedir (Ayyıldız ve ark., 2006a). Metabolik düzensizliklerin epileptik nöbetlerin sıklığını ve şiddetini etkileyebileceği önerilmektedir (Harvey, 2007a).

Leptin aynı zamanda eksitator sinaptik iletinin gücünü belirgin olarak değiştirir. Bu nedenle Mg^{+2} ' un ortamdaki uzaklaştırılması veya γ -Aminobütirik Asit-A (GABA-A) reseptörlerinin blokajını takiben hipokampal uzun dönem depresyonunun (LTD) yeni bir formunu indüklemiştir (Durakoğlugil ve ark., 2005). Bu, leptinin fizyolojik koşullardaki ($1 \text{ mM } Mg^{+2}$) etkilerine ters bir durumdur. Şöyleki, leptin hipokampal uzun dönem potansiyasyonu (LTP), N-Metil-D-Aspartik Asit (NMDA) reseptör fonksiyonunu kolaylaştırarak indüklemektedir (Shanley ve ark., 2001).

Kısaca leptin hipokampusta nöronal eksitabilitenin potent bir regülatörüdür. Bunu BK kanallarının PI3 kinaz aracılığıyla aktivasyonunu içeren bir süreç aracılığıyla epileptiform benzeri aktiviteyi inhibe ederek yapmaktadır (Shanley ve ark., 2002a,b).

Artmış eksitabilite durumunda leptin, aynı zamanda eksitator sinaptik gücün uzun dönem inhibisyonunu tetikler ki bu süreç PI3 kinaz ile negatif regüledir (Durakoğlugil ve ark., 2005). Leptinin hem sinaptik hem de sinaptik olmayan mekanizmalarla hipokampal nöronların eksitabilitesini belirgin bir şekilde değiştirebilme yeteneği, bu hormonun hipokampal hipereksitabiliteyi düzenlemedeki rolüne dair önemli bir işaret olabilir (Harvey, 2007).

Leptin ile NO sistemi arasındaki ilişkiyi açığa çıkaran çalışmalar ile leptinin etki mekanizması da incelenmiştir. Yapılan bir çalışmada obez zucker diyabetik ratlardaki NO aşırı üretiminin leptin ile azaltıldığı görülmüştür (Wang ve ark., 1998). İntraserebroventriküler (icv) leptin enjeksiyonu da diensefalik nitrik oksit sentaz (NOS) aktivitesini inhibe etmiştir (Calapai ve ark., 1998a). Yine Calapai ve ark., (1998b) L-Arjinin-NO yolağının leptinin yeme davranışı üzerine etkisine aracılık ettiğini ve beyin serotonin döngüsü üzerine leptin etkisinin nNOS aktivitesi gerektirdiğini gösterdiler. Ancak tüm bu bilinenlere rağmen leptinin epilepsiye olan etkisinde NO' nun rolü bilinmemektedir.

Yeni bulunmuş (1999) 28 amino asit içeren lipopeptid yapıda bir hormon olan ghrelin, esas olarak midenin oksinrik mukozasında yer alan endokrin fonksiyonlara sahip X/A hücreleri tarafından üretilir (Date ve ark., 2000; Bowers, 2001). Bağırsak, böbrek, plasenta, pankreas, kalp, gonadlar, tükürük bezi, tiroid bezi, immün sistem, merkezi sinir sistemi, hipofiz ve hipotalamus tarafından da bir miktar üretilip dolaşıma verilmektedir (Korbonits ve ark., 2001; Gualillo ve ark., 2001; Kojima ve Kangawa, 2005). Enerji homeostazisi üzerine etkileri, üretim yerinden bağımsız olup santral sinir sisteminde hipotalamus düzeyinde ortaya çıkmaktadır (Uluç ve ark., 2005). Ghrelin kuvvetli bir büyüme hormonu stimülatörüdür ve leptinin etkisine ters bir şekilde iştahı açar ve beslenmeyi stimüle eder, yani oreksijeniktir.

Ghrelin reseptörleri beynin hipotalamik nukleus, hipokampus, substantia nigra, ventral tegmental bölge, dorsal ve median rafe çekirdeği gibi bölgelerinde bulunmaktadır (Shintani ve ark., 2001). Ghrelin mRNA ekspresyonunun beynin (Ariyasu ve ark., 2001) pek çok bölümünde gösterilmiş olması, onun birçok biyolojik aktivitede düzenleyici rol oynayan bir peptid olduğunu düşündürmektedir (Bilgin, 2006). Ghrelin hipotalamusta lateral, arkuat, ventromedial, dorsomedial ve paraventriküler hipotalamik çekirdekler arasında bulunan bir takım nöronlardan da

salınır. Hipotalamustaki bu bölge, suprakiazmatik nukleusdan gelen uzantılarla içiçe girer (Horvath ve ark., 2001). Liflerin bu şekilde karışmasının ghrelinin sirkadiyen ritminden sorumlu olduğunu düşündürmektedir (Bilgin, 2006). Açlık, ghrelin düzeyini yükseltir. Yemek saatinden hemen önce ve gece yarısı ghrelin düzeyi yükselir. Bu yükseklik besin alımından 60-120 dakika sonra düşer (Korbonits ve ark., 2004).

Farelerde yapılan çalışmalarda insan ghrelinini kandan beyne ve beyinden kana taşıyabilen doyurulabilir bir sistem olduğu görülmüştür. Fare ghrelini ise beyinden kana taşınabilirken kandan beyne minimal geçebilir (Banks ve ark., 2002).

Ghrelin hormonunu; açlık, düşük vücut kitle indeksi, leptin, GHRH (büyüme hormonu serbestletici hormon), tiroid hormonları, testosteron ve parasempatik aktivite upregüle ederken; besin alımı, yüksek vücut kitle indeksi, glukoz, insülin, somatostatin, GH, GHS (büyüme hormonu salgılatıcı faktör), ghrelin ve ürokortin 1 downregüle eder (Bilgin, 2006).

Ghrelinin oluşturduğu güçlü beslenme uyarısının kısmen arkuat nükleus aracılı ve büyük ölçüde NPY ve AgRP ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Cummings ve ark., 2001). Erken hipotalamus gelişmesinde bir defekt sonucu olduğu düşünülen ve Prader Willi sendromu olarak adlandırılan pediyatrik obezite durumunda yüksek ghrelin düzeyleri görülmektedir. Bu çok nadir görülen sendrom, hipotoni, çocukluk çağında hiperfaji, obezite, hipogonadizm, mental gerilik ve kısa boyla karakterizedir (Gültekin ve ark., 2004). Ghrelinin bu belirtilerden sorumlu olup olmadığı kesinlik kazanmasa da ghrelin seviyelerindeki bu artış dikkat çekicidir. Berilgen ve ark. epilepsi hastalarında, ortalama serum ghrelin düzeylerinin kontrol grubundan belirgin olarak yüksek olduğunu buldular ve ghrelinin nöbet aktivitesinin oluşmasında bir etken olabileceğini önerdiler (Berilgen ve ark., 2006). Obay ve ark. ise ghrelinin sıçanlarda oluşturulan pentilen tetrazol (PTZ) indüklemeli nöbetleri, doza bağımlı olarak, belirgin bir şekilde önlediğini fakat nöbet yoğunluğunu tamamen bitirmediğini buldular ve ghrelinin antiepileptik bir ilaç olarak kullanılabileceğini önerdiler (Obay ve ark., 2007).

NO' nun besin alımının önemli bir düzenleyicisi olduğu bilinmektedir. İcv ghrelin uygulaması hipotalamustaki NOS seviyelerini artırmaktadır. Ghrelinin gıda alımını artırıcı etkisinin NG-Nitro-L-Arjinin Metil Ester (L-NAME) uygulanımı ile inhibe olduğu gözlenmiştir (Gaskin ve ark., 2004). Bu durum ghrelinin, en azından bir kısım etkilerini, NO üzerinden gerçekleştirdiğini düşündürmektedir. Ghrelinin tek

başına penisilin modeli deneysel epilepsideki rolü bilinmemektedir. Ayrıca, ghrelinin epilepsiye olan etkisinde NO' nun rolü de bilinmemektedir.

Literatürden bilindiği kadarıyla leptin-NO, ghrelin ve ghrelin-NO sisteminin penisilin modeli deneysel epilepsideki rolüne ait herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu yüzden sunulan çalışmanın amacı leptin ve ghrelinin hem tek başlarına hem de NO sistemiyle etkileşerek penisilinle oluşturulan epileptiform aktiviteyi nasıl etkilediklerini tespit etmektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Epilepsi

2.1.1. Epilepsi Nedir ?

Epilepsi iki Yunanca kelimededen oluşmaktadır. Epi: üstünde, üstünden, lepsi: tutmak, tutup sarsmak. Epilepsinin kelime anlamı ise yakalamak, birden tutulmaktır.

Epilepsi, oldukça sık gözlenen ve dünya nüfusunun %1 ile %3' ünü etkileyen nörolojik bir hastalıktır (Shneker ve Fountain, 2003). Epilepsi hastalarında nöbetin tekrarlama insidansı yılda yaklaşık % 65' dir. Ancak, aile öyküsü olmayan, elektroensefalografi (EEG)' si normal idiyopatik epilepsili hastalarda bu insidans % 24' e düşer (Goldman ve Bennet., 2000).

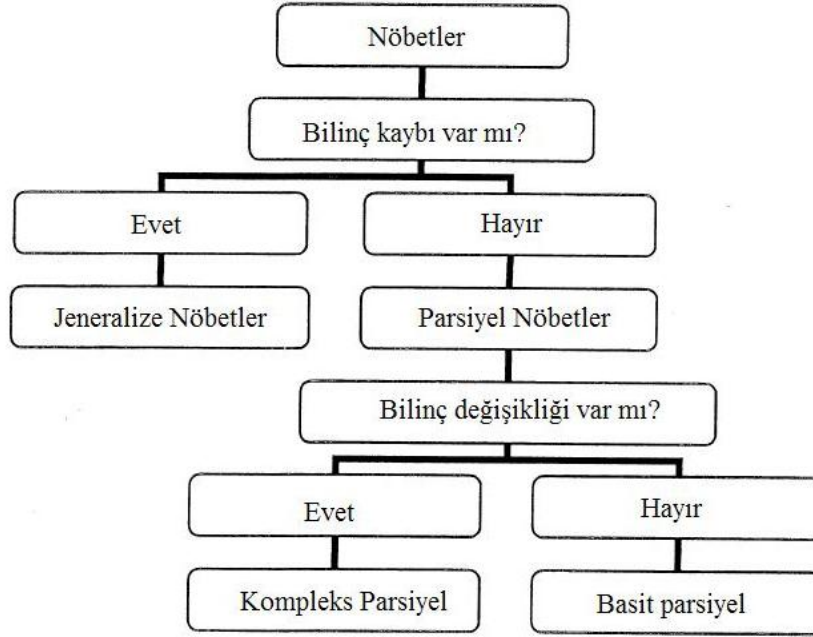
Epileptik nöbet, beyinde bir nöron grubunun aşırı deşarjı, elektrofizyolojik anormalliği sonucunda oluşan bir klinik görünümdür. Bu klinik tablo bilinç düzeyinde değişiklik, motor, duysal, otonomik veya psişik olayları içeren ani ve geçici anormal fenomenleri kapsar. Epilepsi, primer olarak beynin bilinen hiçbir hasarı veya risk faktörü olmadan ortaya çıkabildiği gibi, altta yatan başka nörolojik, sistemik, metabolik, toksik veya travmatik nedenlere sekonder olarak meydana gelebilir (Erbayat-Altay ve Bilir, 1999).

Epilepsi hastalarının yaklaşık olarak %30' u uygun antiepileptik tedaviye rağmen nöbet geçirmeye devam eder (Cockerell ve ark., 1995). Yapısal bir lezyona bağlı olan nöbetlerin kontrolü, lezyon saptanmayanlarla kıyaslandığında daha zordur. Hastaların yaklaşık % 60-70' inde tek ilaç kullanımı ile uzun dönem iyileşme sağlanabilirken, bazı hastalarda ise tüm tedavilere rağmen nöbetler devam etmektedir (Cockerell ve ark., 1995; Kwan ve Brodie, 2000).

Klinik bilgiler ve EEG değişikliklerine göre epilepsiler basitçe jeneralize nöbetler (tonik klonik, miyoklonik, absans gibi), parsiyel nöbetler (basit parsiyel, kompleks parsiyel gibi) ve sınıflandırılmayan nöbetler (uykuda oluşan bazı tonik klonik nöbetler gibi) olarak ayrılır (Erbayat-Altay ve Bilir, 1999).

Akut bir atak geçiren hastada, görünen klinik tablonun nöbet olduğundan emin olmak ve iyi bir ayırıcı tanı yapmak gereklidir. Ayrıca bu nöbetin psikojenik veya anoksik nedenle oluşabileceği de hatırlanmalı ve ekarte edilmelidir. Eğer bu tablo bir epileptik nöbetse, febril nöbet olabilir ve rekürrens riski vardır; ya da izole tek nöbettir

ve bir daha hiç tekrarlamayacaktır. Diğer olasılık metabolik, MSS enfeksiyonu, travması gibi akut semptomatik nedenlerle gelişmiştir ve altta yatan nedenin bulunması acil yaklaşım için çok önemlidir. Bir diğer olasılık ise, rekürren nöbetlerin gözlendiği epilepsi hastalığının nöbetlerinden biri olmasıdır (Saltık, 2001). Bu durumda epileptik nöbet tipinin belirlenmesi önemlidir.



Şekil 1. Nöbet sınıflandırma algoritması (Shneker and Fountain, 2003)

Ancak epilepsi nöbetlerinin çok değişik çeşitleri mevcuttur. Kırkın üzerinde nöbet tipi tanımlanmıştır. Herkes tarafından epilepsi veya sara dendiği zaman anlaşılan ve iyi bilinen tonik-klonik nöbetin yanısıra başkalarının hiç farketmeyeceği kadar hafif nöbet çeşitleri de vardır. Tanımlanmış bu mevcut nöbet tiplerine rağmen herkesin geçirdiği nöbet kendine özgü bazı farklılıklar gösterebilir. Bu durumlar bazı hastalarda epilepsi tanısının konulmasını güçleştirir ve çok çeşitli karışıklıklara neden olur. Ne yazık ki pek çok hastaya tanı konulamaz ve kendilerindeki problemin ne olduğunun açıklığa kavuşması yıllar alabilir. Bazı kişilerde ise başka bir bozukluğun yol açtığı belirtiler yanlış olarak epilepsi tanısı alabilir. Gelişen tanı yöntemleri yanlış tanıları giderek azaltmaktadır. Yeni yapılan sınıflandırmalar ile farklı nöbet isimlerinin ortaya konması konunun daha karmaşık hale gelmesine neden olmuştur. Bu nedenle aynı nöbet farklı isimlerle adlandırılabilir.

2.1.2. Uluslararası Sınıflandırma

Epilepsi bugüne kadar çok çeşitli şekillerde sınıflandırılmıştır. En son kabul gören sınıflandırma 1989 yılında Uluslararası Epilepsi İle Savaş Derneği (ILAE) tarafından Joseph Rogers' in başkanlığında toplanan komisyon tarafından yapılmıştır. 1981 ve 1989 sınıflandırmaları birbirini tamamlayıcı iki sınıflandırmadır. Bu sınıflandırmalar halen güncel olarak kullanılmaktadır.

Tablo 1. Epilepsilerin ve epileptik sendromların uluslararası sınıflaması (ILAE, 1989)

I. Lokalizasyona bağlı (fokal, lokal, parsiyel) epilepsiler ve sendromlar

1.1. İdyopatik (Başlangıcı yaşa bağlı)

- Sentrotemporal dikenli selim çocukluk çağı epilepsisi
- Oksipital paroksizmlili çocukluk çağı epilepsisi
- Primer okuma epilepsisi

1.2. Semptomatik

- Temporal lob epilepsisi
- Frontal lob epilepsisi
- Parietal lob epilepsisi
- Oksipital lob epilepsisi
- Çocukluk çağının kronik ilerleyici parsiyel epilepsisi
- Spesifik faktörlerle uyarılan nöbetlerle karakterize sendromlar

1.3. Kriptojenik

II. Jeneralize epilepsiler ve sendromlar

2.1. İdyopatik

- Selim ailesel yenidoğan konvulsiyonları
- Selim yenidoğan konvulsiyonları
- Süt çocukluğunun selim miyoklonik epilepsisi
- Çocukluk çağı absans epilepsisi
- Jüvenil absans epilepsisi
- Jüvenil miyoklonik epilepsi
- Uyanırken gelen grand mal nöbetli epilepsi
- Diğer jeneralize idyopatik epilepsiler

- Belirli aktivasyon yöntemleriyle uyarılan epilepsiler

2.2. *Kriptojenik veya semptomatik*

- West sendromu
- Lennox-Gastaut sendromu
- Miyoklonik astatik nöbetli epilepsi
- Miyoklonik absanslı epilepsi

2.3. *Semptomatik*

2.3.1. *Nonspesifik etyoloji*

- Erken miyoklonik ensefalopati
- Erken infantil epileptik ensefalopati ile birlikte supresyon burstleri
- Diğer semptomatik jeneralize epilepsiler

2.3.2. *Spesifik sendromlar*

III. Fokal veya jeneralize oldukları belirlenemeyen epilepsiler

3.1. *Jeneralize ve fokal konvülsiyonlu epilepsiler*

- Yenidoğan konvülsiyonları
- Süt çocuğunun ağır miyoklonik epilepsisi
- Yavaş dalga uykusu sırasında devamlı diken-dalgalı epilepsi
- Edinsel epileptik afazi
- Diğer belirlenemeyen epilepsiler

3.2. *Net jeneralize veya fokal konvülsiyon özelliği olmayanlar*

IV. Özel sendromlar

4.1. *Duruma bağlı nöbetler*

- Febril konvülsiyonlar
- İzole nöbet veya izole status epileptikus
- Akut metabolik veya toksik nedenlere bağlı nöbetler

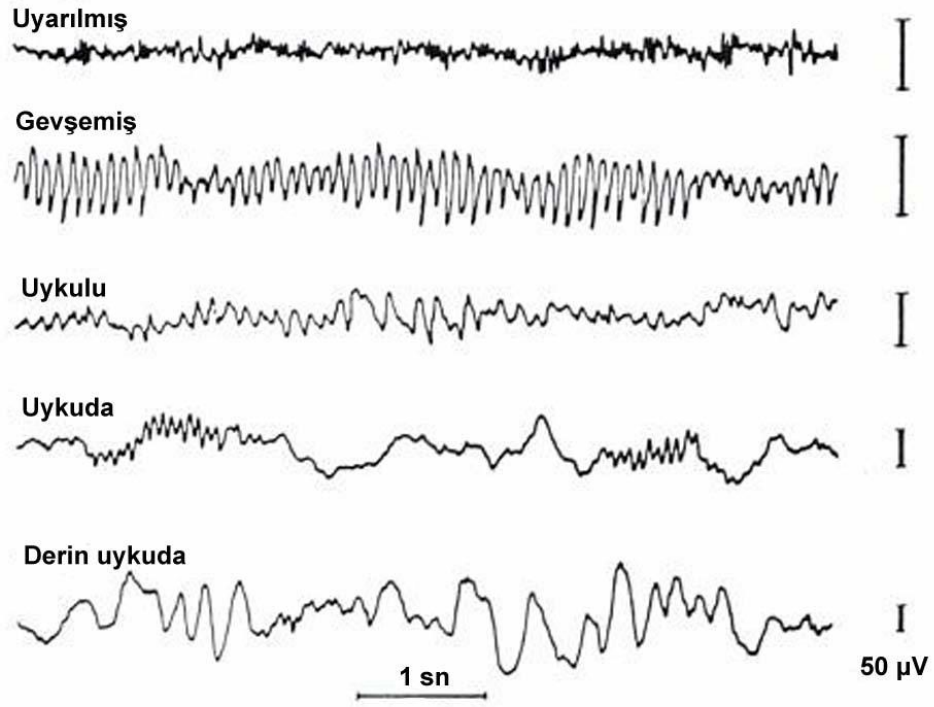
2.1.3. EEG ve Çözümlemesi

1875 yılında Caton tavşanlar üzerinde yaptığı bir çalışmayla beynin spontan ve sürekli bir aktivite gösterdiğini keşfetti (Caton, 1875). İnsan beyninden ilk elektriksel aktiviteyi yazdıran Hans Berger bu kaydı elektroensafalogram (EEG) olarak adlandırdı ve bazı hastalıklarda EEG' nin değiştiğini ileri sürdü (Berger, 1929).

Beyin korteksindeki nöron topluluklarının davranışlarını kaydedip gözlemek için mikro ya da makro elektrotlar kullanılır. Mikroelektrotlar ile tek hücre cevapları kaydedilirken kalabalık hücre gruplarının toplam aktivitesi makro elektrotlarla kaydedilir. Beyin korteksinin yüzeyinden makroelektrotlarla alınan kayıtlara elektrokortikogram (ECoG) denir. Kafatasının üzerinden, saçlı deriden kaydedilen beyin dalgalarına da EEG adı verilir. EEG pek çok fizyolojik ve epilepsi gibi patolojik olay üzerinde araştırma yapmak için kullanılır (Marangoz, 2001).

EEG dalgalarının oluşumunda aksiyon potansiyellerinin yeri olsa da derin anestezide ve hipoksizde aksiyon potansiyellerinin kaybolup yavaş EEG potansiyellerinin devam etmesi bu etkinin az olduğunu göstermektedir. EEG oluşumunda asıl etkinin, büyük çoğunluğunu dikine olarak yerleşmiş bulunan piramidal hücrelerin aynı anda aktive edilmeleri sonucu görülen postsinaptik potansiyeller olduğu bilinmektedir. Bu potansiyellerin cebirsel toplamı sonucunda EEG potansiyeli ortaya çıkar. Kaba potansiyellerin gerçek şekli ve biçimi postsinaptik potansiyellerin yerine ve şekline bağlıdır. Hücre içinde kaydedilen potansiyeller milivoltajla ifade edilecek biçimde büyük, hücre dışından kaydedilen potansiyeller ise mikro voltajla ifade edilecek şekilde küçüktür. Hücre içinden kaydedilecek uyarıcı postsinaptik potansiyelin 5 mV olduğu kabul edilirse hücre dışından kaydedilecek sinyalin yüksekliği de 2.5 mikrovolt kadar olacaktır (Kandel ve ark., 2000). İnsanlarda saçlı deriden kaydedilen EEG tamamen ağrısız ve zararsız bir yöntemdir. EEG kaydında çok küçük olarak kaydedilebilen elektriksel potansiyeller amplifikatörlerle güçlendirilir (Öge, 2004).

EEG' nin değerlendirilmesinde ise önce bazal aktivite değerlendirilir. Bu aktivite yaşa, uyanıklık durumuna, açlık-tokluk gibi fizyolojik durumlara göre farklılık gösterir. EEG bulgularına göre nöbet tipi ve epilepsi sendromu gruplanabilir. Ancak normal bir EEG' nin epilepsi tanısını dışlamaya yetmeyeceği unutulmamalıdır.



Şekil 2. Farklı durumlar süresince elde edilen EEG kayıtları (Andreassi, 2000)

EEG dalgalarının hem frekansı hem de yüksekliği oldukça karmaşık bir yapıdadır ve çeşitli şartlarda değişebilir de normal bir insanda saçlı deriden kaydedilen potansiyellerin frekansı genel olarak 1 ile 30 Hz; yükseklikleri ise 20-100 mikrovolt kadardır. Bununla birlikte EEG dalgaları frekanslarına göre beş büyük gruba ayrılmaktadır (Miller ve ark., 1992; Timofeeva ve Gordon, 2001) (Tablo 2).

Tablo 2. Beyinden kaydedilen EEG' lerde ortaya çıkan temel 5 dalga bandı

Dalga Adı	Frekansı (Hz)
Delta	0.5-4
Teta	4-8
Alfa	8-13
Beta	14-30
<i>Gama</i>	30-50

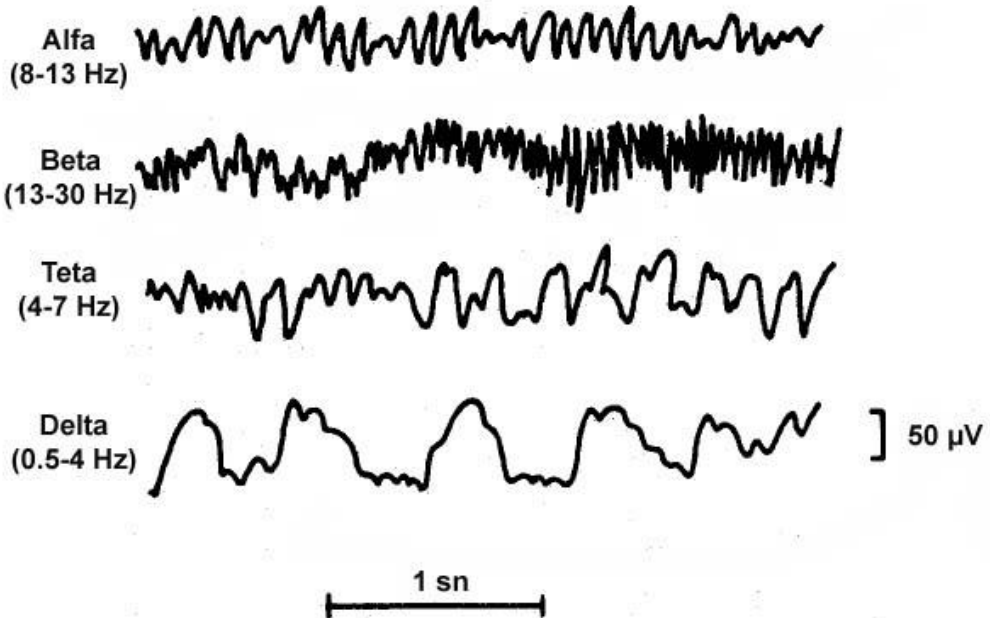
a) Delta ve Teta dalgaları

Normal erişkinlerde uykunun çeşitli safhalarında görülen yüksek genlikli dalgalardır. Teta dalgası hipokampus aktivitesi ile de yakından ilişkilidir ve singulat korteks ve septum gibi diğer bazı beyin bölgelerinden de kaydedilmiştir.

Teta dalgalarının, yavaş (kolinerjik veya atropine duyarlı; 4-7 Hz) teta ve hızlı (atropine dirençli; 7-9 Hz) teta olmak üzere iki bileşeni bulunduğu bildirilmiştir (Timofeeva ve Gordon, 2001). Bu farmakolojik farklılıklar, bu dalgaların oluşumunda farklı nöronal yolların etkili olduklarını göstermektedir. Özellikle çocukların pariyetal ve temporal bölgelerinde gözlenmekle birlikte bazı erişkinlerde duygusal stresler sırasında ortaya çıkabilir. Yaratıcılık ve öğrenmede gözlendiği gibi birçok beyin hastalıklarında da oluşabilir (Guyton, 2001).

Hipokampus ve singulat kortekste daha fazla gözlenen yavaş teta aktivitesinin (Keita ve ark., 2000) medial septum ve Broca diagonal bandında bulunan kolinerjik liflerle yönetildiği düşünülmektedir (Timofeeva ve Gordon, 2001).

Delta dalgaları; EEG' nin sıklığı saniyede 3,5' den az olan tüm dalgalarını içerir. Çok derin uykuda çocuklukta ve ciddi organik beyin hastalıklarında ortaya çıkar (Guyton, 2001).



Şekil 3. EEG' yi oluşturan çeşitli beyin dalgaları

b) Alfa dalgaları

Bazı hastalıklarda EEG' nin değiştiğini gösteren Hans Berger' in isminden dolayı Berger ritmi olarak da adlandırılan dalgalardır. Normal bir insanda, sessiz ve sakin bir odada gözler kapalı, zihnen ve bedenen tam istirahatte iken kaydedilir. Parietal ve özellikle oksipital bölgede daha belirgindir ve derin uykuda kaybolur.

Alfa dalgaları; saniyede 8-13 Hz frekansında, gerilimleri 50 mikro volt (μV) civarında olan ritmik dalgalardır. Görme korteksinde alfa dalgaları IV. ve V. tabakadaki piramidal nöronlar tarafından meydana getirilir (Timofeeva ve Gordon, 2001). Alfa dalgaları beyin sapı aktive edici sistemini de içeren diffüz talamo-kortikal sistemdeki spontan negatif feedback salınımlarının sonucu oluşur (Guyton, 2001).

c) Beta dalgası

Beta dalgası 14-30 Hz frekansında, yaklaşık 2-20 μV amplitüde sahip düzensiz bir dalgadır. Normal olarak insanda pariyetal ve frontal bölgede daha belirgindir. Uyanıklar ve aşırı zihin aktivitesi olduğunda daha yoğundur. Beta ritmi EEG' nin en k genlikli ve yüksek frekanslı dalgalarıdır (Schmidt, 1989; Ferri ve ark., 2001). Ayrıca bu dalgalar, uyku halinde azalma ve zihinsel rahatlık halinin bozulması durumlarında da ortaya çıkar.

d) Gama dalgası

30 Hz üzerinde yer alan dalgalar genellikle gama aktivitesi olarak adlandırılır. Özellikle insanda yapılan deneyler, 40 Hz' lik aktivitenin bilişsel işlevlerde ve duyuşsal bilginin entegrasyonunda önemli olduğunu ortaya koymuştur. Üst düzey zihinsel faaliyetlere eşlik eden gama salınımları hayvanlarda da gözlenmektedir (Başar ve ark. 2001).

Deney hayvanlarında bu dalgaların dikkat, dikkate bağlı hareketsizlik, odaklı uyanıklık, duyuşsal algılama ve paradoksik uyku ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Ferri ve ark., 2001). Anestezi altındaki hayvanlarda bu dalgalar büyük oranda ortadan kaybolmaktadır (Nayak ve ark., 1994). Genel olarak gama ritminin bazal nbeyin kolinerjik yolakları ve beyin sapı-talamokortikal kolinerjik yolakları ile düzenlendiği kabul edilmektedir (Timofeeva ve Gordon, 2001).

2.1.4. Deneysel Epilepsi Modelleri

Epilepsinin fizyolojik temellerini aydınlatmak ve daha etkili tedavi yolları keşfetmek için hayvanlar üzerinde oluşturulan deneysel modeller kullanılmıştır.

Deneysel bir epilepsi modelinde aranması gereken özellikler şunlardır (Lösher ve Schmidt, 1994):

- 1- Spontan olarak tekrarlayan nöbetleri olmalıdır.
- 2- Nöbetler insan epilepsisindekine benzemelidir.
- 3- Modeldeki EEG' nin biçimi ilgili epilepsi çeşidindekine benzemelidir.
- 4- Nöbetlerin frekansı, ilaçların etkisini akut veya kronik olarak test etmeye yetecek ölçüde olmalıdır.
- 5- Antiepileptik ilaçların farmakokinetiği insandakine benzer olmalıdır.
- 6- Antiepileptiklerin etkili oldukları plazma ve beyin seviyeleri, insanda ilgili nöbeti önleyen seviye kadar olmalıdır.

Epilepsi çalışmalarında çok sayıda deneysel model kullanılmaktadır. Bunun sebepleri; modeli oluşturacak klinik nöbetlerin çeşitliliği, modellerin klinik epilepsiyle tamamen aynı olmaması, çeşitli modellerden elde edilen sonuçların karşılaştırılarak test edilmesi ve geliştirilen yeni metodlara ve yeni şartlara daha uygun yeni modeller oluşturulması gerekliliğidir (Lösher ve Schmidt, 1994). Bu kriterlerin hepsini karşılayan tek bir model şimdilik bilinmemektedir. Bazı araştırmacılar deneysel modelleri insandaki nöbetlere göre değil de modelin oluşturulmasına göre sınıflandırırlar (Biziere ve Chambon, 1987).

Deney hayvanlarında makro elektrotlarla kaydedilen epileptik deşarjlar yapı itibariyle insan beynindeki epilepsi odağından kaydedilenlerle oldukça benzerdir. Çeşitli dozlarda pek çok kemokonvulsif ajanlarla (pentilenetrazol, bikukulin, pikrotoksin, penisilin vb.), elektro şoklarla, ses ve ışık gibi uyaranlarla veya genetik olarak epilepsiye yatkın hayvanlar kullanılarak epileptik modeller meydana getirilmektedir. Epileptik hastalarda daha yaygın olarak görüldüğünden ve deney hayvanlarında meydana getirilmesi kolay olduğundan fokal epilepsi daha çok araştırılmıştır. Deney hayvanlarında konvulsan bir maddeyi korteksin yüzeyine tatbik ederek epileptik bir odak meydana getirilebilir. Bu maksatla çok kullanılan maddelerden biri kristalize penisilindir (Marangoz, 1997; Engel, 2006).

Yapısal olarak bikukuline benzeyen ve GABA sistemiyle etkileşerek epileptik aktivite oluşmasını sağlayan penisilin bu etkisini hem sistemik hem de lokal olarak göstermektedir (Martin 1991, Walden ve ark., 1992; Marangoz, 1997). Penisilin

konvulsan özelliği ilk kez Walker ve Johnson tarafından gözlenmiştir (Walker ve Johnson, 1945). Anestezili hayvanın korteksine penisilin uygulandığında epileptik aktivite gözlenmektedir (Hill ve ark , 1973). De Deyn ve arkadaşlarının sıçan, tavşan ve kediler üzerinde yaptıkları çalışmalarda, korteks yüzeyine penisilin ile ıslatılan bir kurutma kağıdı koyduklarında akut fokal epilepsidekine benzer bir ECoG kaydı elde etmişlerdir (De Deyn ve ark., 1992). Doku kültürüne ve hipokampus dilimlerine düşük doz penisilin verildiğinde, GABA tarafından oluşturulan postsinaptik inhibisyonun selektif olarak bloklandığı, yüksek dozda ise bu blokajın spesifik olmadığı tespit edilmiştir (MacDonald ve Barker, 1977; Dingledine ve Gjerstad, 1980). Akut penisilin modeli hem ucuz hem de kolay oluşturulan bir modeldir. Yüksek doz sistemik penisilinle oluşturulan çok odaklı model de yaygın modellerden birisidir. Özellikle kedide sistemik penisilinle oluşturulan EEG modeli, klinik modele oldukça benzemektedir (Prince ve Farrel, 1969). Kedide sistemik olarak verilen yüksek doz penisilin, jeneralize, bilateral, senkronize diken-dalga modelinin belirmesine yol açar ve bu epileptiform aktivite 3-5 saat devam eder (Gloor, 1984).

Tablo 3. Deneysel hayvan modelleri (Sarkisian, 2001)

Nöbet Tipi	Nöbetin İndüklenme Şekli
<u>Parsiyel</u>	<p>Basit Parsiyel</p> <p>İnhibitör amino asit blokerlerinin fokal veya topikal uygulanması (Penisilin, Bikukulin, Pikrotoksin, Striknin)</p> <p>Kotrikal olarak uygulanan metaller (Aliminyum (aliminyum jel), Kobalt, Çinko, Demir)</p> <p>Akut fokal elektriksel uyaran</p> <p>Eksitator ajanların fokal veya topikal uygulanması</p> <p>Glutamat agonistleri Kainat, Domoik asit, Kuisqulat, NMDA</p> <p>Asetilkolin agonistleri Pilokarpin, Soman</p> <p>GABA geri çekilmesi</p> <p>Kafatası yüzeyini dondurarak lezyon oluşturma</p> <p>Kompleks Parsiyel</p> <p>Tetanoz toksini</p> <p>Kainik asitin sistemik/intrahipokampal enjeksiyonu</p> <p>Sistemik quiskualik asit, Sistemik domoik asit</p> <p>Pilokarpin veya somanın sistemik uygulanması</p> <p>Fırtınalar alanı (Area tempesta) enjeksiyonları</p> <p>Tutuşma</p> <p>Parsiyel nöbetleri gösteren diğer genetik modeller</p> <p>Otx -/- fare, Transgenik "spazmodik" fare</p> <p>Ihara mutant sıçan</p>

<p>Jeneralize (tonik, tonik-klonik, absans modeller)</p> <p>Maksimal elektroşok</p> <p>Kimyasal konvulsanlar</p> <p>Glutamat agonistleri (maksimal dozlarda)</p> <p>Domoik asit, NMDA, Quiskualik asit, Kainik asit</p> <p>GABA antagonistleri (maksimal dozlarda)</p> <p>PTZ, Bikukulin, Pikrotoksin</p> <p>Glutamik asit dekarboksilaz (GAD) inhibitörleri</p> <p>Thiosemikarbazit, 3-Merkaptoproprionik asit,</p> <p>Allilglisin</p> <p>Diğer ajanlar</p> <p>Flurotil, Quabain (Na⁺/K⁺ ATPaz inhibitörü),</p> <p>Risinin, 4-Deoksi pridoksin, Teofilin, Striknin</p> <p>Genetik modeller</p> <p>Fare (weaver ve diğer mutant ırklar)</p> <p>Sıçanlar</p> <p>GEPRs, NODA, Yassı kafa (fh/fh)</p> <p>Çeşitli hayvanlar</p> <p>Drosophila mutantları, Monogolian gerbil</p> <p>Epileptik köpekler</p> <p>Absans modeller</p> <p>Talamik stimülasyon, Sistemik düşük doz PTZ</p> <p>Kedilerde penisilinin sistemik enjeksiyonu</p> <p>γ-Hidroksibütirat, İntraserebroventriküler opiatlar</p> <p>CO₂ geri çekilme nöbetleri,</p> <p>Genetik modeller</p> <p>Strasbourg'dan absans sıçanlar (GAERS)</p> <p>WAG/Rij sıçanlar, Spontan epileptik sıçanlar</p> <p>Stargazer fare, Sendeleyen fare, Uyuşuk fare</p> <p>Yavaş-dalga epilepsili fare, Mocha fare, Ducky fare</p>

Deneysel epilepside akut ve kronik modeller tanımlanmıştır. Lokalize akut epileptik nöbetler fokal elektriksel stimülasyonlar veya strikнин, bikukulin ve penisilin gibi konvulsanların uygulanmasıyla oluşturulur. Bu teknikler normal beyinlerde akut epileptik aktiviteleri provake ederek epileptik aktivitenin ve bu aktivitenin sonlanmasının önemli nöronal temellerini araştırmamıza izin verir. Bu çalışmalar nöbet aktivitesinin hücresel temelleriyle ilgili, inhibisyon kaybı veya eksitatör sinaptik aktivitedeki artış ve ekstraselüler çevredeki değişiklikler gibi nöronların esas özelliklerindeki değişiklikleri içeren pek çok hipotezin gelişmesine olanak sağlamıştır. Bu çalışmalar nöbetin sonlanmasıyla ilgili enerji boşalımı, desenkronizasyon ve depolarizasyon bloğu ve adenosin gibi antinöbet maddelerin serbestlenmesi teorilerinin gelişmesine de katkıda bulunmuştur (Engel, 2006).

Nörobilimciler, nöbetler ve nöbetler arası süreçte meydana gelen epileptojenik anormallikleri incelemek için kronik epilepsi modellerini kullanmışlardır. Kronik hayvan modelleri araştırma alanını genişletecek potansiyel önemi olan, eksitotoksisite ve yeni sinaptik oluşum, değişen voltaj kapılı kanal fonksiyonları, yeni reseptör ve

reseptör bileşikleri ile astrosit aktivasyonunu içeren mekanizmaların ortaya çıkmasında kullanılmıştır. Bir çok kronik epilepsi modeli insanlarda oldukça sık görülen mezial temporal lob epilepsisini (MTLE) araştırmak için kullanılmıştır. MTLE' li pek çok hasta, sebebi bilinmeyen yapısal bir bozukluğa bağlı olan hipokampal sklerozis nedeniyle bu hastalığa yakalanır. Bu bölgedeki diğer pek çok lezyon, tümör, malformasyonlar ve enfeksiyonlar da MTLE' ye sebep olabilir. Bu hastalığın araştırıldığı amigdallerdeki kindling ile laboratuvar koşullarında yapılan limbik epileptojenezis genellikle spontan nöbetlerle sonuçlanmaz. MTLE' nin kronik modelleri olan, kainik asit ve pilokarpin gibi eksitotoksik ajanların sistemik veya intrahipokampal uygulanımı ile fokal elektriksel stimülasyon, status epileptikus oluşumunu güçlendirir. Kronik neokortikal modeller; dondurularak oluşturulan lezyonlar; kısmi izole kortikal kalın dilim; alüminyum, kobalt, tungstik asit, ferrik klorid gibi metallerin uygulanımı; tetanus toksini; ve antimonosiyalogangioslid antikorumları aracılığıyla oluşturulur. Genetik temelli epilepsiler de, Strasburg' dan genetik absans epilepsili sıçan modeli (GAERS) gibi, hayvanlarda modellenmiştir. Bu modellerdeki çalışmalar, pek çok epileptojenik mekanizmanın, voltaj kapılı kanal anormallikleri veya delesyonları, atipik nöronal-gliyal etkileşimler ve enerji metabolizmasındaki anormallikler gibi, açığa çıkmasını sağlamıştır (Engel, 2006).

Pek çok insanın epileptik koşulları etyolojik olarak değerlendirildiğinde bunların bir kısmının tedaviye dirençli multifaktöryel tipte olduğu saptanmıştır. Bu tip epilepsi genellikle hem genetik predispozisyon hemde spesifik bir durumun bir arada olması ile gelişir. Örneğin aile hikayesi ve 5 yaşından önce febril bir konvülziyon hikayesi birlikteliği multifaktöryel epilepsidir. Epilepsileri tanımlamayı sağlayacak genler bulunup multifaktöryel hayvan modelleri oluşturularak farklı etyolojik koşullardaki etkileşimlerin de çalışılabileceği belirtilmiştir (Engel, 2006).

Bu deneysel epilepsi modelleriyle yapılan çalışmalar sonucunda birbiriyle çelişen sonuçlar gözlenenebilir. Bu çelişkili sonuçların muhtemel sebeplerini şöyle sıralayabiliriz; (Marangoz, 1997).

1. Epilepsi modelinin farklı olması.
2. Çalışılan beyin bölgesinin farklı olması.

3. İlgili maddelerin veriliş yollarının farklı olması.
4. Uygulanan dozların farklı olması.
5. Mikro çevreye bağlı olan farklı redoks durumu.
6. Deney metodundaki diğer farklılıklar.

2.2. Nitrik Oksit

Furchgott ve Zawadzki, 1980 yılında, asetil kolin uyarısıyla endotel hücrelerince yapılan damar düz kasını gevşetici bir madde bildirdiler. Bu maddeye endotel kaynaklı gevşetici faktör (EDRF: Endotel Derived Relaxing Factor) adı verildi. 1987 yılında Palmer ve arkadaşları EDRF' nin bilinen biyolojik etkilerinde nitrik oksit (NO) adlı bir gazın sorumlu olduğunu buldular (Furchgott ve Zawadzki, 1980; Palmer ve ark., 1987). NO' nun hem fizyolojik, hem de sitotoksik ajan olarak memeli hücrelerinde sentezlenebileceğinin anlaşılmasından sonra, NO birçok fizyolojik ve patolojik mekanizmaların aydınlatılmasında ilgi odağı haline gelmiştir (Lincoln ve ark., 1997; Moncada ve ark., 1991; Moncada, 1992a, 1992b).

NO, renksiz, yağda ve suda çözünebilen bir serbest radikal olup fizyolojik haberci olarak tanımlanan gaz tabiatında bir moleküldür. Havada bulunan NO, hızlı bir şekilde, O₂ ile oksitlenerek, dokular için oldukça zararlı bir molekül olan nitrojen dioksite dönüşür. NO, yüksüz olması sebebiyle hücreden hücreye kolaylıkla geçer. Diğer serbest radikallerden farklı olarak düşük konsantrasyonlarda çok önemli fizyolojik işlevlerde rol alır (Lowenstein ve ark., 1994; Davies ve ark., 1995).

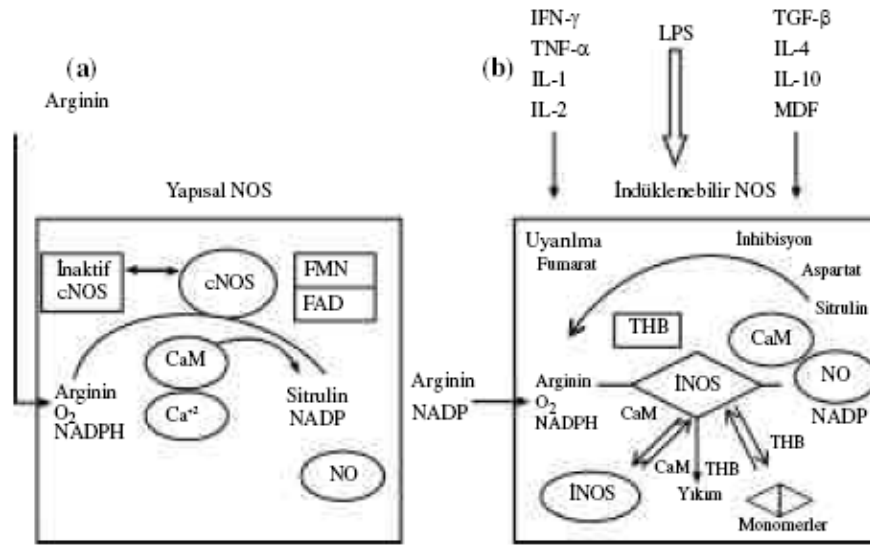
NO, yüksek bir affiniteyle hemoglobine bağlanır. Ancak, okside hemoglobin NO' yu kısa bir sürede nitrate oksitleyerek inaktif hale getirir. Bu nedenle dolaşımdaki oksihemoglobin NO için kuvvetli bir inhibitördür (Moncada ve ark., 1991). NO' nun yarılanma ömrü 2-30 sn kadardır (Star, 1993).

2.2.1. Nitrik Oksitin Biosentezi

NO, L-Arjininden sitrüllin oluşumu sırasında, L-Arjininin guanidin nitrojen grubunun hidroksilasyonu ile oluşan ara üründür. Bu reaksiyon nöron, endotel ve makrofaj gibi farklı hücre tiplerinde nitrik oksit sentaz (NOS) olarak adlandırılan 2 izoenzim ailesi tarafından sentezlenmektedir. Yapısal olarak üretilen iki NOS enziminden nNOS nöronlarda bulunur ve aktivitesi Ca²⁺ tarafından düzenlenir. Diğer yapısal NOS enzimi, eNOS ise damarların endotelial hücrelerinde bulunur ve Ca²⁺ a bağımlı bir NOS tipidir (Sarela ve Mathie, 1996; Prast ve Philippu, 2001). Yapısal

NOS, damar endoteli, idrar yolu dokuları, periferik ve MSS gibi farklı dokularda inaktif halde bulunur. Hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonu arttığında Ca^{+2} kalmodulin ile birleşerek NOS enzimini aktive eder ve L-Arjininden NO sentezlenir. Sentez süresi çok kısa olduğundan sentezlenen NO miktarı da azdır (Palmer ve ark., 1988; Lowenstein ve ark., 1994; Andersson ve Perssou, 1994).

Ayrıca makrofajlarda (monosit, nötrofil, hepatosit) ve damar endotel hücrelerinde Ca^{+2} ' dan bağımsız ve sitokinlerin etkisiyle üretilebilen indüklenebilir, iNOS bulunmaktadır. Bu enzim, yapısal NOS enziminden farklı olarak hücre içinde bulunmaz (Lowenstein ve ark., 1994; Förstermann ve Kleinert, 1995; Sarela ve Mathie, 1996; Mayer ve Andrew, 1998). NO, tiol grupları ile reaksiyona girerek depolanır (Davies ve ark., 1995; MacMicking ve Xie, 1997). Fizyolojik koşullarda NO konsantrasyonları 100-500 nM düzeyindedir. Endotoksin, γ -interferon, IL-1, TNF- α gibi ajanların etkisiyle iNOS' un düzeyleri yaklaşık 10 kat artar (Eiserich ve ark., 1998). Bu şekilde bakteri, parazit, tümör hücreleri gibi hücrelerde sitostatik ve/veya sitotoksik etki meydana getirirler (Cendan ve ark., 1996). Nitrik oksit sentezini etkileyen faktörler şekil 4' te gösterilmiştir.



Şekil 4. Nitrik oksit sentezi ve etkileyen etkenler. Nitrik oksit sentezi, yapısal (cNOS) ve indüklenebilir (iNOS) nitrik oksit sentaz (NOS) enzimleri ile katalize edilir. (a) cNOS humoral, kimyasal ve mekanik olarak uyarılır ve Ca^{+2} ile kalmodüline (CaM) bağımlıdır. Flavin adenin dinükleotid (FAD), flavin adenin mononükleotid (FMN) ve tetrahidrobiopterin (THB) kofaktörleridir. (b) iNOS sentezi endotoksin, γ -interferon, interlökin (IL)-1, IL-2 ve tümör nekroze edici faktör-a (TNF-a) ile uyarılırken, glukokortikoidler, transforming büyüme faktör-b (TGF-b), makrofaj farklılaştırıcı faktör (MDF), IL-4 ve IL-10 ile inhibe edilir (Davies ve ark., 1995; Kuyumcu ve ark., 2004)

NO, hücre içi etkilerini demir ve/veya sülfür içeren proteinlere bağlanarak gösterir (Ignaro, 1990). NO sentezi, nöronlarda glutamat reseptörlerinin, özellikle NMDA reseptörünün aktivasyonu ile, hücre içersine Ca^{+2} girişiyle, uyarılır (Garthwaite ve ark., 1989). NO, pankreasın asiner hücrelerinde Guanozin 3.5-Siklik Monofosfat (cGMP) sentezini de düzenler (Gukovskaya ve Pandol, 1994). Aynı zamanda, özellikle nöronlarda ve damar düz kas hücre membranında bulunan guanilat siklazı da aktive eder. Guanilat siklaz ise GTP' den cGMP oluşumunu artırır. Bu şekilde NO, cGMP aracılığıyla damar dilatasyonu ve sinir iletisi gibi fonksiyonları yerine getirmektedir (Snyder, 1992). Makrofaj sitotoksitesisi için L-Arjinin gerektiğini (D-Arjinin değil) ve sitrüllinin, L-Arjininden nitrit senteziyle birlikte oluştuğunu ve bu sentezin L-Arjinin analogu olan LG-Monometil-L-Arjinin (L-NMMA) ile inhibe edildiği bulundu (Hibbs ve ark., 1987). Ardından arjininin, nitrit ve nitratların sentezi için esansiyel amino asit olduğu anlaşıldı (Marletta, 1989) Sonuç olarak; nitrit ve nitratlar, NO' nun oksijenle reaksiyonunun kararlı son ürünleridir ve asidifikasyonla NO salgılayabilirler (Lincoln ve ark., 1997).

NO, MSS' de sinir iletimi, hafıza, denge, koku alma; periferik sinir sisteminde de vazodilatasyon, solunum, genitoüriner ve mide-barsak fonksiyonlarının düzenlenmesi gibi çok önemli fonksiyonlara aracılık eden bir nörotransmitterdir (Dawson ve ark., 1992; Tottrup ve ark., 1992). Dolaşım sisteminde trombosit agregasyonunun ve adezyonunun engellenmesi, kalp kasılmasının düzenlenmesi gibi fonksiyonlara da katılmaktadır. NO, bu fonksiyonları cGMP aracılığıyla yapmaktadır (Lowenstein ve ark., 1994; Loscalzo ve Welch, 1995).

2.2.2. Sinir Sisteminde Nitrik Oksitin Etkileri

1989 yılında kolinerjik olmayan sinirlerde elektriksel uyarımın NOS aktivasyonuna sebep olduğu ve NO' nun inhibitör cevabı düzenlediği kanıtlandı (Gillespie ve ark., 1989). 1970' lerde beyinde eksitator yolların uyarılmasının cGMP seviyelerinde artışa sebep olduğu gösterilmişti (Lincoln ve ark., 1997). 1982' de Deguchi ve Yoshioka cGMP oluşumu için arjinin varlığının şart olduğunu keşfettiler (Deguchi ve Yoshioka, 1982). 1980' lerden önce Garthwait, cGMP sentezinin, NMDA reseptörlerinin eksitator transmitter glutamat ile uyarılmasından sonra oluştuğunu gösterdi (Garthwaite, 1991). Böylece, nöronal uyarılabilirlik üzerine NO' nun etkisinin

çoğunlukla cGMP' ye bağlı olduğu (Bowman ve Drummond, 1984) ve NO' nun hücreler arası ve hücre içi haberleşmede rol oynadığı bildirildi (Lincoln ve ark., 1997). NMDA veya NMDA olmayan reseptör antagonistlerinin farelere uygulanması sonucunda beyinde cGMP seviyesi artmış ve bu artış NOS inhibitörleriyle engellenmiştir (Wood ve ark., 1990). cGMP' nin dışarı akışı eksitator amino asitleri kullanan nöronları içeren yolların elektriksel uyarımında olduğu gibi kainat, α -Amino-3-Hidroksi-5-Metil-4-İsoksazol Propionik Asid (AMPA) ve NMDA reseptörlerinin aktivasyonu oldukça artmaktadır. Bu artış NOS inhibitörleri tarafından önlenir (Luo ve ark., 1994; Consolo ve ark., 1999). NO' nun beyindeki ekspresyonu ile ilgili çalışmalarda, sıçan beyin korteksinde NOS aktivitesinin çok yaygın bir dağılım gösterdiği saptanmıştır (Valtschanoff ve ark., 1993).

Lokus serulousta (Pineda ve ark., 1996) ve hipokampal nöronlardaki voltaj bağımlı Ca^{+2} dışarıya akımı NO aracılıdır (Erdemli ve Krnjevic, 1995). NO aracılığıyla cGMP sentezi serebellumdaki GABA_A reseptörlerinin (Zarri ve ark., 1994) ve beyin sapı, serebellum ile retinanın horizontal hücrelerindeki AMPA reseptörlerinin fonksiyonlarını azaltır (Dev ve Morris, 1994). NO' nun serebellumda cGMP sentezi yoluyla (Boxall ve Garthwaite, 1996) LTD oluşumuna karıştığı da gözlenmiştir (Crepel ve Jaillard, 1990). nNOS özellikle MSS' de; nörotoksisite, nöronkoruyuculuk, LTP ve LTD' yi içeren sinaptik plastisite, öğrenme ve ağrı gibi duysal davranışların düzenlenmesinde rol alır. NO' nun bu etkileriyle ilgili çelişkili sonuçlar bildirilmiştir ve bu durum muhtemelen, hem nitrik oksit in etki mekanizmasına, hem de deneysel modellere ve şartlara bağlıdır (Marangoz, 1996; Lincoln ve ark., 1997).

NO' nun ayrıca cGMP' ye bağlı yoldan başka, ikinci bir mekanizmayla nitrosilasyona yol açan proteinler ile doğrudan reaksiyonunu ve peroksinitrit oluşumu sebebiyle süperoksit ile NO' nun reaksiyonunu kapsar. Kortikal nöronlardaki NO kısa bir süre için uyarılabilirliği artırarak cGMP' den bağımsız GABA aracılıklı Cl⁻ akımını azaltır (Robello ve ark., 1996). Böylece çeşitli beyin bölgelerinde aynı reseptörler farklı mekanizmalar yoluyla NO tarafından düzenlenebilir.

NO' nun ayrıca; besin alımı, öğün sayısı ve süresi gibi beslenme davranışları üzerine de etkileri olduğu gösterilmiştir. Sağlıklı kemirgenlerde, uzun süre NO sentezi inhibe edildiğinde anoreksiya gelişmiştir. Bu hayvanlara L-Arjinin verildiğinde iştah ve

besin alımı artmıştır. NO' nun iştah artırıcı bu etkisi hipotalamus üzerinden olabilir (Janero, 2001).

2.2.3. Nitrik Oksit ve Epilepsi

Gaz halinde bir nörotransmitter olan NO sinaptik iletiyi 4 temel yoldan artırıyor olabilir (Marangoz, 1996):

1. Hücre içi cGMP seviyesini artırarak hücrenin uyarılabilirliğini etkilemek
2. Kalsiyum iyon dengesinde değişiklikler yapmak
3. Protein fosforilasyonuna neden olarak hücre aktivitesinde değişiklikler yapmak
4. G proteinlerini ribozile ederek aktivitelerini etkilemek

NO muhtemelen, lokal sinirsel devrelerin glutamat ve diğer uyarıcı sinir ileti maddelerini salgılama yönünde uyararak, genel bir uyarıcı etkiye neden olmaktadır. Diğer taraftan elde edilen deneysel kanıtlar, NO' nun bir geri bildirim yoluyla NMDA reseptörlerinde duyarsızlığa ve inhibitör transmitter salgısına yol açabileceğini de düşündürmektedir (Marangoz, 1996).

Nitrik oksitin moleküler yapısı içinde bulunduğu mikroçevrenin durumu ile yakında ilişkilidir (Celabrase ve ark., 2000). Ortamın fizikokimyasal özelliklerine göre farklı özellikler alabilen NO molekülü genellikle üç farklı yükseltgenme-indirgenme (redox) durumunda bulunabilir:

- a. Azot monoksit
- b. Nitrik oksit
- c. Nitrosonium iyonu

NO, bu üç farklı moleküler durumu ile farklı tepkimelere girer ve farklı fizyolojik ve fizyopatolojik süreçlerde rol oynayabilir. Örneğin indirgenmiş haldeki formu NO⁻, süperoksit radikalleri ile tepkime vererek peroksinitrit oluşumuna neden olur. Son derece aktif bir radikal olan bu ürünün tetikleyeceği tepkimeler sonucunda ise sinir hücrelerinde ölüm ortaya çıkabilir (Marangoz, 1996). NO' nun kaynak formu ise bu tip bir etki göstermez. Halbuki okside formu olan NO⁺, NMDA reseptörlerinin thiol grupları ile tepkimeye girerek hücre içine kalsiyum akışını durdurur ve böylece sinaptik iletiyi engeller (Lipton ve ark., 1993). Böylece NO inhibitör bir etki ortaya koymuş olur. Dolayısıyla, epilepsi, nörotoksisite ve öğrenme çalışmaları gibi bir çok farklı alanda NO' nun farklı etkilerinin çelişkili sonuçlardan yola çıkılarak rapor edilmesinin ardında,

bu farklı moleküler durumlar ve bunların zıt etkilerinin de rol oynadığı bir mekanizmanın varlığını düşünmek mümkündür (Lipton, 1993; Marangoz, 1996).

NO ve oksijen, sulu ortamlarda kolaylıkla nitrit (NO_2^-) ve nitrat (NO_3^-) gibi biyolojik olarak aktif olmayan anyonları meydana getirebilir (Vincent, 1994). Oksijenle NO arasındaki tepkimeler çok hızlı ve kolay gerçekleştiğinden, NO'nun yarı ömrü ancak saniyeler kadardır (Marangoz, 1996). NO, süperoksit anyonu ile de tepkime vererek peroksinitrit radikalinin (ONOO^-) oluşumuna neden olur. Diğer taraftan NO, hemoglobin gibi demir içeren moleküllerle de ilişkiye geçerek hızla aktivitesini yitirir.

NO deneylerinde NO miktarını düzenleyen birçok madde keşfedilmiştir ve bunlar farmakolojik çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. En sık kullanılan NO miktarını artırıcı madde bir prekürsör olan L-Arjinindir. Bunun yanında buldukları ortamlarda NO vericisi olan maddeler de NO kaynağı olarak kullanılmaktadır. NOS inhibitörleri, NO toplayıcıları, süperoksit anyon inhibitörleri, süperoksit anyon üreticileri, süperoksit dismutaz inhibitörleri, guanilat siklaz inhibitörleri, fosfodiesteraz inhibitörleri ve cGMP analogları diğer NO miktarı düzenleyici farmakolojik madde gruplarıdır (Lincoln ve ark., 1997).

NO'nun deneysel epilepsilerdeki rolünü belirlemek amacıyla bir çok çalışma yapılmıştır ve halen de bu çalışmalara yenileri eklenmektedir. Şu ana kadar elde edilen sonuçların bir kısmı NO'nun endojen bir prokonvulsan madde olduğunu gösterirken, diğer bir kısmı ise antikonvulsan özellikler gösterdiğini düşündürmektedirler.

2.3. Leptin

Leptin ilk kez 1994 yılında Friedman ve arkadaşları tarafından tanımlanan 167 amino asitli bir proteindir. Kelime anlamı olarak leptin; Yunanca ince, zayıf anlamına gelen leptos kelimesinden türetilmiştir. Başlıca etkisi iştahı azaltmak olan ve bu nedenle anoreksijenik bir hormon olarak tanımlanan leptin sitokin benzeri bir molekül olup 16 kilodalton ağırlığındadır (Zhang ve ark., 1994). İnsanlarda 7. kromozomun uzun kolunda bulunan (7q31) ob/ob geni'nde kodlanan leptin hipotalamik-hipofizer eksenleri düzenleyen bir hormondur ve ilk defa ob/ob mutant farelerde bir mutajenik gen ürünü olarak belirlenmiştir (Campfield ve ark., 1994; Friedman, 1997; Tritos ve Mantzoros, 1997). Leptin reseptörü (LEPR) ise sitokin reseptör ailesinin bir üyesidir. Kromozom 1'de (1p31) lokalizedir. Ob gen defekti olan ob/ob tipi farelerde, leptinin yeterince üretilmemesi nedeniyle ve LEPR mutasyona uğramış fa/fa farelerde yağ depolanması

fazladır. Db/db tipi farelerde ise hücre yüzeyinde bulunan leptin reseptörlerinden birindeki defekttten dolayı leptinin etkisine karşı bir direnç geliştiği ve bu nedenle leptin seviyesinin bu farelerde yüksek olmasına rağmen kilo kaybının görülmediği anlaşılmıştır (Chen ve ark., 1996; Gülle ve Karaöz, 2000; Chiu ve ark., 2004).

Leptin reseptör mRNA' sı hem insan hem de kemirgen hipotalamusunda yüksek düzeylerde eksprese edilmektedir (Schwartz ve ark., 1996; Savioz ve ark., 1997; Hakansson ve ark., 1998; Elmquist ve ark., 1998;). Leptin reseptörlerinin serebellum, beyin korteksi, hipokampus, talamus, koroid pleksus, leptomeninks, beyin sapı, amigdala ve substansia nigra gibi ekstra hipotalamik beyin bölgelerinde de eksprese edildiği görülmüştür (Mercer ve ark., 1996; Steiner, 1996; Hakansson ve ark., 1998; Elmquist ve ark., 1998; Friedman, 1998; Grill ve ark., 2002; Figlewicz ve ark., 2003). Primer hipokampal kültürlerde aksonlarda ve somatodentritik bölgelerde leptin reseptör immünreaktivitesi bulunmuştur. Aynı zamanda hipokampal sinapslarda da yüksek düzeylerde eksprese edilmiş ve beynin bu bölgesinde leptinin sinaptik işlevi modüle ettiği gösterilmiştir (Shanley ve ark., 2002a).

2.3.1. Leptin Reseptörleri (OB-R)

Leptin, spesifik leptin reseptör izoformlarını aktive ederek etkisini gösterir. İki ayrı formda leptin reseptörü izole edilmiştir. Uzun formdaki reseptörlerinin, yiyecek alımını ve enerji metabolizmasını düzenleyen, hipotalamusda yerleştiği ve bu reseptörün birincil olarak leptin sinyalizasyonunda etkili olduğu düşünülmektedir. Uzun reseptör izoformu leptin sinyalizasyonu için mutlaka gereklidir (Bailey ve Turner, 1996; Blum, 1997). Kısa reseptör izoformunda reseptörün hidrofobik transmembran kısmı bulunmaz. Bu izoform muhtemelen leptin reseptörünün çözülebilir bir formudur. Ekspresyonu beynin koroid pleksus ve leptomeninks gibi alanlarında çok fazladır. Burada leptinin kan-beyin veya kan-serebrospinal sıvı bariyerinden alınmasına yardımcı olurlar (Blum, 1997; Considine ve Caro, 1997).

Esas olarak adipoz dokuda sentezlenen leptinin bir miktar plasenta, gastrik epitel, iskelet kası, hipofiz ve meme bezi tarafından da salgılandığı gösterilmiştir (Sinha, 1997; Hoggard ve ark., 1997). Leptin metabolik etkilerinin çoğunu merkezi sinir sisteminde ve akciğer, böbrek, karaciğer, pankreas, adrenal bezler, overler, hematopoietik hücreler gibi periferik dokularda bulunan spesifik reseptörlerle

etkileşerek gösterir (Hatemi, 1997; Auwerx ve Staels, 1998; Christos ve Mantzoros, 1999; Wallace, 2000; Sivitz ve ark., 2002).

2.3.2. Dolaşımdaki leptin düzeyini etkileyen faktörler

Leptinin dolaşımdaki yarı ömrü yaklaşık 30 dakikadır ve pulsatil olarak yemeklerden 2-3 saat sonra salgılanır. Diüurnal bir ritmi vardır ve dolaşımdaki en yüksek düzeylere gece saat 00:00-04:00' da ulaşırken, öğleden sonra en düşük düzeylere iner (Miell ve ark., 1996; Boden ve ark., 1996; Wallace, 2000). Serum leptin düzeyleri kadınlarda yağ dokusu fazlalığı ve ciltaltı/visseral yağ oranının daha fazla olması nedeniyle kadınlarda erkeklere oranla daha yüksektir (Ostlund ve ark., 1996). Leptin dolaşımında hem serbest hem de proteinlere bağlı olarak bulunur. Dolaşımdaki leptin oranı açlık ve tokluk gibi fizyolojik durumlardan bağımsızdır. Ancak bağlayıcı proteinler ve serbest leptin arasında, metabolik olaylardan etkilenen, dinamik bir dengeden söz edilebilir. Zayıf kişilerde leptinin büyük kısmının bağlı, obezlerde ise serbest formda olduğu bildirilmiştir (Sinha ve ark., 1996). Yağ dokusundan başka, leptin düzeyini belirleyen pek çok faktör bulunmaktadır (Cusin ve ark., 1995; Trayhurn ve ark., 1995; Sliker ve ark., 1996; Florkowski ve ark., 1996; Rentsch ve Chiesi, 1996; Escobar-Morreale ve ark., 1997; Donahoo ve ark., 1997; Blum, 1997; Gualillo ve ark., 1999; Ergün, 1999; Scriba ve ark., 2000).

Tablo 4. Leptin üretimini artıran ve azaltan faktörler

Artıranlar	Azaltanlar
Besin alımı	Açlık
Glukokortikoidler	Katekolaminler
İnsülin	Androjenler
Endotoksin, TNF α , IL-1	Soğuğa maruziyet
Böbrek fonksiyon bozukluğu	cAMP
Kısa dönem Somatotropin	Uzun dönem Somatotropin
Ateş	Tiroid hormonları
Prolaktin	Serbest yağ asitleri

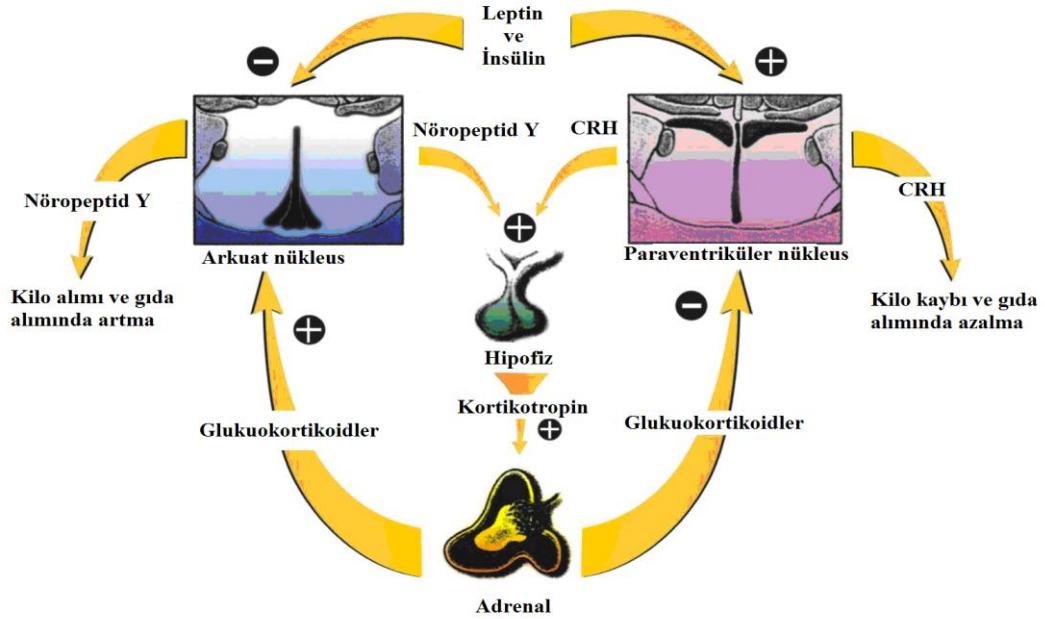
2.3.3. Leptinin Sistemik Etkileri

Leptinin vücuttaki başlıca rolü; beyinde, özellikle hipotalamus üzerine etki ederek gıda alımını ve enerji metabolizmasını düzenlemek ve obezite gelişmesini engellemektir (Pellemounter ve ark., 1995). Ayrıca, metabolizmanın düzenlenmesi (Kamohara ve ark., 1997), cinsel gelişim (Magni ve ark., 1997), üreme (Chehab ve ark., 1996), hematopoez (Bennet ve ark., 1996), immünite (Lord ve ark., 1998), gastrointestinal fonksiyonların düzenlenmesi (Bado ve ark., 1998), sempatik sinir sistemi aktivasyonu (Pellemounter ve ark., 1995), anjiyogenez (Bouloumic ve ark., 1998) ve osteogenezisde (Iwaniec ve ark., 1998) çok önemli rolleri olduğunu saptanmıştır.

2.3.4. Leptinin Etki Mekanizması

Reseptör leptin sinyalini janus protein tirozin kinaz 2 (JAK proteinleri) ile sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörlerine (Signal transducer and activators of transcription = STAT) iletir. Leptinin reseptörüne bağlanması hem reseptörde hem de reseptörle ilişkili janus kinazlarda (JAK) farklılaşmayı indükler. Bu olay reseptörün sitoplazmik kısımlarındaki tirozin (Y) bölgelerinin fosforilasyonunu sağlar ve STAT proteinleri için fosfotirozin bağlanma yerleri oluşturulur. Bu şekilde STAT proteinleri hem reseptöre hem de dimer oluşturmak üzere başka bir STAT proteinine bağlanır. Fosforilasyondan sonra bu STAT proteinlerindeki tirozin bölgeleri reseptörden ve dimerlerden ayrılır ve böylece transkripsiyonel düzenleyicileri (STAT proteinleri) aktive olur. Nukleusa taşındıktan sonra bunlar STAT' a yanıt veren moleküllere ve DNA' ya bağlanırlar ve yanıtlayıcı hedef genlerin transkripsiyonunu uyarırlar (Abraham ve ark., 1999).

Hipotalamusta leptin bağlanması ve JAK/STAT yolunun aktivasyonu ile nöropeptid Y (NPY) hormonu regüle edilir (Considine ve Caro, 1997; Harvey ve ark., 1997; Tritos ve Mantzoros, 1997). Leptin hipotalamik reseptörleri üzerinden gıda alımının en güçlü uyarıcısı olan NPY' nin salınımını inhibe eder. Böylece iştahın azalmasına, sempatik sinir sisteminin aktive olmasına ve enerji harcanmasında artışa neden olur (Schwartz ve Seeley, 1997). Leptin ve insülin arkuat nükleustan salgılanan çok kuvvetli bir iştah uyarıcısı olan NPY' yi baskılayarak gıda alımına engel olmakla birlikte paraventricüler nükleustan kortikotropin salgılatıcı hormon (CRH) salınımını da uyararak yine gıda alımına engel olur (Schwartz ve Seeley, 1997) (Şekil 5).



Şekil 5. Leptin ve insülinin, nöropeptid Y ve kortikotropin salgılatıcı hormon ile hipotalamo-hipofizer-adrenal aksı uyarması (Schwartz ve Seeley, 1997)

2.3.5. Leptin ve NO

Leptin esas etkisini, NPY düzeylerini azaltarak, besin alımı üzerinde gösterir (Calapai ve ark., 1992). Ancak, NPY bulunmayan (-/-) farelere leptin uygulanmasıyla besin alımı, vücut ağırlığı ve yağ kitlesinin azaldığı ve bu farelerin, 48 saat yiyecekten yoksun bırakılmaları durumunda kontrol grubundaki (+/+) duruma benzer şekilde, kilo alımı ve yeme davranışı gözlemlendiği bildirildi (Erickson ve ark., 1996). Bu durum NPY'nin, leptinin besin alımı üzerindeki etkisine aracılık eden tek nörotransmitter olmadığını gösterir (Calapai ve ark., 1998). Bu sebeple, leptinin beyindeki etkisinde görev alan NO'nun, besin alımını kontrol eden diğer nörotransmitter olabileceği düşünülmüştür (Squadrito ve ark., 1994). MSS' de leptin ve NO arasındaki ilişkiyi açığa çıkarmak için yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre ise leptin, sıçanlarda hipotalamik ve pituitar düzeyde NO serbestlenmesini stimüle eden bir etki göstermektedir (Yu ve ark., 1997). NO'nun, pituitar hormonlar (Yu ve ark., 1997), lipoliz (Fruhbeck ve Gomez-Ambrosi, 2001; Mastronardi ve ark., 2002), miyokardiyal kontraktilite (Nickola ve ark.,

2000) ve eritrosit membranlarının akışkanlığı (Tsuda ve ark., 2002) üzerine leptin etkisine katılabilir (Calapai ve ark., 1998).

2.3.6. Leptin ve Epilepsi

Leptinin epileptiform aktivite üzerine antikonvulsan (Shanley ve ark., 2002a; 2002b) bir etkisinin olduğunu bildiren çalışmalar çoğunlukta olsa da penisilin modeli deneysel epilepsi modelinde yapılan bir çalışmada olduğu gibi doza bağımlı olarak prokonvulsan (Ayyıldız ve ark., 2006a) etkilerinin de olduğu bildirilmiştir.

Leptinin karibdotoksin duyarlı K^+ kanalının aktivitesini, Ca^{+2} ile aktive olan K^+ (BK) kanallarının aktivasyonu ile uyumlu olarak, artırdığı görülmüştür (Shanley ve ark., 2002a). Leptin BK kanal aktivitesini PI3 kinaz bağımlı bir mekanizmayla modüle edebilir. Hipokampal nöronlarda BK kanal aktivasyonu sonucu hızlı sonraki hiperpolarizasyon gelişir ve bu aksiyon potansiyellerinin repolarizasyonundan sorumludur. Bundan dolayı BK kanallarının aksiyon potansiyel ateşleme oranları ve birst ateşleme paternlerini belirlemede anahtar bir rol oynadığı düşünülmektedir. Bundan yola çıkarak BK kanalının leptin ile aktivasyonunun hipokampal eksitabiliteyi düzenlediği söylenebilir. Epileptiform benzeri aktivitenin Mg^{+2} içermeyen kültür modellerinde, leptin uygulaması, hücre içi Ca^{+2} düzeylerindeki genel artışı ani ve geri dönüşümlü bir şekilde hafifletmiştir (Shanley ve ark., 2002b). Bunun tersine leptin kontrollerde bazal Ca^+ düzeylerini değiştirememiştir (Harvey ve ark., 2007). Yine benzer bir çalışmada akut hipokampal dilimler Mg^+ içermeyen ortamlara alınmış ve sonrasında leptin uygulanmasıyla interiktal boşalmaların sıklığı azalmıştır (Shanley ve ark., 2002a). Leptinin eksitabiliteyi modüle etme yeteneği hipokampüsle de sınırlı değildir. Hipotalamik Nöropeptit-Y/Agouti ilişkili protein (AgRP) nöronlarının ateşleme sıklığını da belirgin olarak etkilemiştir. Böylece dolaşımdaki leptin düzeylerini azaltan açlık NPY nöronlarının spike sıklığını artırırken aç hayvanlarda hipotalamusa direkt verilen leptin spike sıklığını azaltmıştır (Takahashi ve Cone, 2005). Tam aksine, leptinin somatomotor kortekste penisilinle uyarılmış epileptik deşarjların sıklığını artırdığı da bildirilmiştir ki bu leptinin beyin ilgili bölgesinde prokonvulsan bir aktiviteye sahip olabileceğini göstermektedir (Ayyıldız ve ark., 2006a). Metabolik düzensizliklerin epileptik nöbetlerin sıklığını ve şiddetini etkileyebileceği önerilmektedir (Harvey, 2007).

Leptinin hem sinaptik hem de sinaptik olmayan mekanizmalarla hipokampal

nöronların eksitabilitesini belirgin bir şekilde değiştirebilme yeteneği, bu hormonun hipokampal hiperekstabilitiyi düzenlemedeki rolüne bir işaret olabilir (Harvey, 2007).

2.4. Ghrelin

İlk olarak 1999 yılında Kojima ve arkadaşları tarafından keşfedilen ghrelin temel olarak mide fundusundan salınan 28 amino asitlik lipopeptid yapıda bir hormondur ve büyüme hormonu salgılatıcı özelliği olduğu belirtilmiştir. Ghrelin ismi, gelişim anlamına gelen “ghre” ile salgılatma anlamına gelen “relin” sözcükleri birleştirilerek türetilmiştir (Kojima ve ark., 1999; Aydın ve ark., 2006a). Bu hormon mideden başka hipotalamus, hipofiz, tükrük bezi, tiroid bezi, ince barsak, böbrekler, kalp, pankreas, MSS, akciğer, plasenta, gonadlar, immün sistem, meme ve dişlerde de sentezlenmektedir (Kojima ve Kangawa, 2005; Aydın ve ark., 2006a; Aydın ve ark., 2006a; Aydın ve ark., 2006b; Kierson ve ark., 2006; Aydın ve ark., 2007). Ghrelinin mRNA’ sı pek çok doku da tespit edilmiştir (Gnanapavan ve ark., 2002). Lateral hipotalamus, arkuat nükleus, ventromediyal nükleus, dorsomediyal nükleus, paraventriküler nükleus ve üçüncü ventrikülün ependimal tabakasındaki çekirdekler arası boşlukta ghrelin ekspresyonu mevcuttur (Mitchell ve ark., 2006). Hipotalamustaki bölgeler, suprakiazmatik nükleusdan gelen uzantılarla içiçedir (Horvath ve ark., 2001). Liflerin bu şekilde karışmasının ghrelinin sirkadyen ritminden sorumlu olduğu düşünülür (Bilgin, 2006). Ayrıca hipotalamusun dışında yer alan stria terminalis, amigdala, talamus ve habenulanın nükleusunda da ghrelin ekspresyonu bulunmaktadır (Olszewski; 2003; Carlini ve ark., 2004; Aydın ve ark., 2007).

Ghrelin; hipofiz adenomları (Korbonit ve ark., 2001), nöroendokrin tümörler (Raffel, 2005; Arnaldi ve ark., 2003), tiroid ve medullar tiroid karsinomları (Morpurgo ve ark., 2005), pankreas endokrin tümörleri (Duxbury ve ark., 2003) ve akciğer tümörleri gibi patolojik dokularda da tanımlanmıştır (Ghe ve ark., 2002; Shimizu ve ark., 2003; Aydın ve ark., 2007).

2.4.1. Dolaşımdaki Ghrelin Düzeyini Etkileyen Faktörler

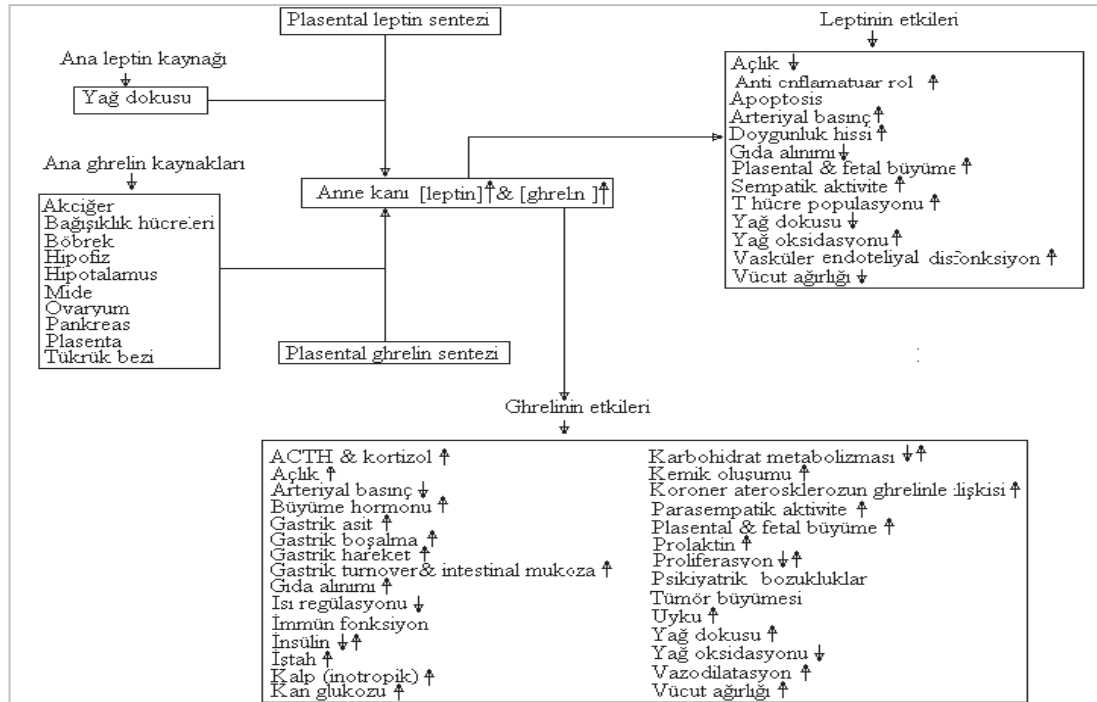
Gastrik ghrelin sekresyonu lokal veya merkezi uyarım ile düzenlenebilir. Bu da mekanik uyarı, mide lümenindeki sindirim ürünlerinin hareketi, sistemik dolaşımdaki maddeler ve merkezi sinir sisteminden gelen uyarıları kapsar (Bilgin, 2006).

Özellikle midede bulunan ghrelin pozitif hücreler kapillerlere yakın yerleşimlidir ve oksinirik bez lümeni ile irtibatı yoktur. Bu da salınımın gastrointestinal kanala değil, gastrik damarlara olduğunu göstermektedir. Böylece ghrelin hormonu tüm vücudu dolaşır (Hosoda ve ark., 2000; Bilgin, 2006).

Ghrelinin yarı ömrü 60 dakikadan kısadır çünkü plazma esterazı tarafından kolayca yıkılır ve des-oktanil-ghrelina dönüşür ki bu molekül inaktiftir (Ariyasu ve ark., 2001; Tolle, 2002). Plazma konsantrasyonu 200-600 ng/L' dir. Fakat %80' i biyolojik aktiviteden yoksun olan deamide ghrelindir (Bilgin, 2006). Ghrelin düzeyleri insanlarda her öğün öncesi yükselip, öğünden 90 dakika sonra en düşük düzeylerine inmektedir. Ghrelin hiperglisemiye uyarırken, insülin düzeylerini azaltmakta, hiperglisemi ve insülin ise ghrelin düzeylerini azaltmaktadır (Broglia ve ark., 2001; Shiiya ve ark., 2002; Saad ve ark., 2002; Yiş ve ark., 2005). Açlık ghrelin düzeyleri ise anoreksia nervozada artmış olup, obezitede azalmıştır (Yiş ve ark., 2005).

2.4.2. Ghrelinin Sistemik Etkileri

Ghrelinin; GH, adrenokortikotropik hormon (ACTH) ve prolaktin salınımı, beslenme, gastrik asit sekresyonu, gastrik motilite ve hücre proliferasyonu gibi birçok farklı sistemi etkilediği bilinmektedir. Ghrelinin başlıca etkileri Şekil 6' da özetlenmiştir (Aydın, 2007).



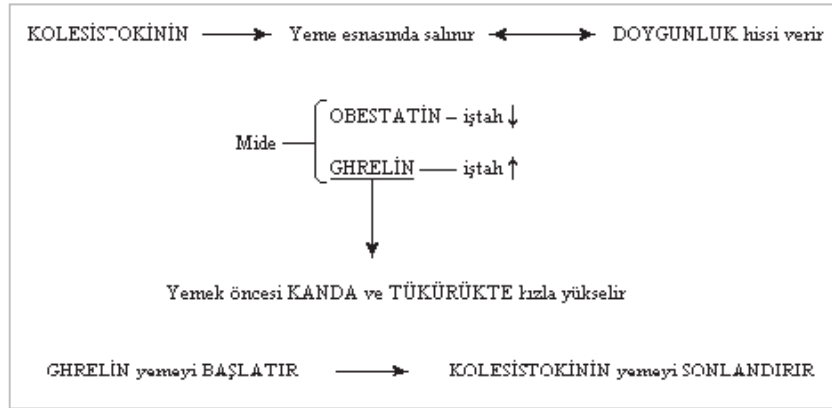
Şekil 6. Ghrelin ve leptinin sentez yerleri ile biyokimyasal ve fizyolojik etkileri

Ghrelinin büyüme, iştah, yağ birikimi ve glukoneogenezisi artırması gibi etkileri ile beyin ve periferik dokularda enerjinin harcanması ve depolanmasında görevli olan ve en son keşfedilen anabolik hormon olarak kabul edilmektedir (Aydın, 2007). Ghrelinin iştah üzerine olan etkilerini 3 yolla gösterdiği kabul edilmektedir (Aydın, 2007).

1. Ghrelinin, midede sentezlenerek kan dolaşımı ile arkuat nükleusa ve beyinin diğer bölümlerine kan-beyin bariyerini aktif transport ile geçerek ulaşmakta ve iştahı etkilemektedir.

2. Periferik olarak sentezlenen ghrelin, vagal afferent sinir uçlarını uyarmakta, bu da GHS-R ekspresyonuna neden olarak vagal bağlantısı olan nükleus solitarius yoluyla hipotalamusu uyarmaktadır.

3. Ghrelin, hipotalamusta lokal olarak sentezlenmekte ve direkt olarak arkuat nükleusdaki NPY/AGRP ve diğer hücreleri uyarmaktadır.



Şekil 7. Ghrelinin iştah üzerine olan etkileri (Aydın, 2007)

Ghrelinin, genellikle leptinin etkilerine zıt metabolik etkilerinin olduğu, iştahı açarak besin alımını artırdığı, ancak bunu yaparken karbonhidrat kullanımını artırıp, yağ kullanımını azalttığı bilinmektedir. Karbonhidrat ve yağdan zengin bir öğünden sonra ghrelin düzeyinde azalma olurken, protein alımı ile arttığı belirtilmektedir. Ghrelin bu şekilde enerji kazanılması ve sürdürülmesini sağlar (Vallejo ve ark., 2004). Şişman kişilerde aşırı beslenmeye cevaben ghrelin seviyesi azalır. Obez hastalardaki mide bağlama operasyonlarını takiben dolaşımdaki ghrelin seviyelerinde değişme olduğu ve ardından iştahın azaldığı gösterilmiştir (Gale ve ark., 2003). Erken hipotalamus gelişmesinde bir defekt sonucu olduğu düşünülen Prader Willi sendromunda yüksek ghrelin düzeyleri ile birlikte pediyatrik obezite görülmektedir. Bu çok nadir görülen sendrom, hipotoni, çocukluk çağında hiperfaji, obezite, hipogonadizm, mental gerilik ve kısa boyla karakterizedir (Gültekin ve ark., 2004).

2.4.3. Ghrelinin Etki Mekanizması

Ghrelinin icv olarak enjeksiyonu sonrasında nöronal aktiviteyi gösteren ve erken bir proto-onkogen olan c-fosun NPY ve AgRP hücrelerinin bulunduğu mediyal arkuat çekirdekte aktivitesinin arttığı ve böylece NPY mRNA miktarının arttığı gözlenmiştir. Ghrelinin merkezi sinir sisteminde iştah artırıcı etkilerini esas olarak bu iki sistem üzerinden yaptığı düşünülmektedir (Hewson ve Dickson, 2000, Horvath ve ark., 2001). NPY, Y1 reseptör antagonistleri ile birlikte verilen ghrelinin iştahı artırmaması bu görüşü desteklese de NPY' den yoksun (-/-) farelerde ghrelinin iştah üzerinde düzenleyici etkilerinin devam etmesi, ghrelinin enerji dengeleri üzerine etkilerinin düzenlenmesinde başka sistemlerin de anahtar rol alabileceğini düşündürmektedir (Tschöp ve ark., 2000).

2.4.4. Ghrelin ve NO

İcv ghrelin uygulaması hipotalamusdaki NOS seviyelerini artırır. Ghrelinin besin alımını artırıcı etkisinin L-NAME uygulanımı ile inhibe olması, ghrelinin en azından bir kısım etkilerini NO üzerinden gerçekleştirdiğini düşündürmektedir (Gaskin ve ark., 2004; Bilgin, 2006).

2.4.5. Ghrelin ve Epilepsi

Ghrelin NPY' yi ve beyindeki GABA-erjik aktiviteyi artırır (Cowley ve ark., 2003). MSS' de en çok bulunan peptidlerden biri olan nöronal eksitabilitenin inhibisyonunu sağlayan önemli bir düzenleyici molekül olan NPY; epilepsi, uyku, obezite, öğrenme ve hafıza gibi çeşitli fizyolojik ve patolojik yollarla ilgilidir (Sajdyk ve ark., 2004). Yapılan in vivo ve in vitro çalışmalar sonucunda NPY' nin endojen bir antikonvulsan ve antiepileptik bir ajan olabileceği bulunmuştur (Stroud ve ark., 2005).

Ghrelinin epilepsi üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada Obay ve ark., sıçanlarda PTZ ile indüklenen nöbetlerin ghrelin uygulanımıyla doza bağımlı olarak baskılandığını buldular (Obay ve ark., 2007). Yaptıkları başka bir çalışmada ise epilepsinin patogenezinde rol oynayan oksidatif stresdeki artışın ghrelin uygulanımı ile azaldığını, antioksidan enzim aktivitelerindeki azalmanın ise önlendiğini ve böylece nöbet boyunca beyindeki nöronal ölümün azalabileceğini gösterdiler (Obay ve ark., 2008).

3. MATERYAL ve METOD

3.1. Deneysel Hayvanları

Deneysel hayvanlar, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi ve Cerrahi Araştırma Merkezi'nden temin edilen 102 adet, 200 ± 15 gr ağırlığında Wistar cinsi, dişi sıçanlar kullanıldı. Hayvanlar bu merkezde alabildikleri kadar yem ve su ile 12-14 haftalık oluncaya kadar yetiştirildiler. Deneysel araştırma standartlarına uymayan sıçanlar çalışma dışında bırakıldılar. Çalışmaya Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hayvan Etik Kurulu onay verdikten sonra başlandı (DHEK/2005-066).

3.2. Kimyasal Maddeler ve Uygulanış Şekilleri

Penisilin dışındaki tüm kimyasal maddeler Sigma®'dan temin edildi.

Her grup için, son maddelerin verilmesini takiben 180 dakika kayıt alındı. Enjeksiyon hacmi tüm ip uygulamalarda 1 ml idi.

3.2.1. Penisilin G Potasyum ($C_{16}H_{17}KN_2O_4S$)

Penisilin G Potasyum 1 milyon ünite kullanıldı (çözücü: distile su). Epileptiform aktivite oluşturmak üzere 500 ünite (IU) doz ve 2,5 µl hacimde intrakortikal (ic) yoldan uygulandı (Penisilin infüzyon hızı: 0,5 µl/dk).

3.2.2. L-Arjinin:

NO öncülü olan L-Arjinin, 1000 mg/kg dozda intraperitoneal (ip) uygulandı (çözücü: serum fizyolojik (SF)).

3.2.3. D-Arjinin:

L-Arjininin inaktif stereoizomeri olan D-Arjinin, 1000 mg/kg dozda ip uygulandı (çözücü: SF).

3.2.4. L-NAME (N^G -nitro-L- arjinin metil ester) :

NOS enzimlerinin tamamını etkileyerek NO üretimini bloklayan nonspesifik bir antagonist olan L-NAME, 60 mg/kg, ip uygulandı (çözücü: SF).

3.2.5. D-NAME (N^G-nitro-D-arjinin metil ester):

L-NAME' in inaktif enantiomeri olan D-NAME, 60 mg/kg, ip uygulandı (çözücü: SF).

3.2.6. 7-NI (7-nitroindazol):

Nöronal nitrik oksit sentaz (nNOS)' ın spesifik inhibitörü olan 7-NI 40 mg/kg, ip uygulandı [çözücü: dimetilsülfoksit (DMSO) / SF, hacim oranı 3:7 olacak şekilde (Boşnak ve ark., 2007)].

3.2.7. Leptin:

Sitokinlere benzeyen ve 167 aminoasit içeren protein yapıda bir hormon olan leptin 1 mikrogram/mikrolitre ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$) dozda, icv olarak uygulandı [çözücü: yapay serebrospinal sıvı (artificial cerebrospinal fluid= aCSF). 1 mM aCSF içerisinde: NaCl, 124; KCl, 5; KH_2PO_4 , 1.2; CaCl_2 , 1.2; MgSO_4 , 1.3; NaHCO_3 , 26; glukoz, 10; HEPES, 10; pH 7.4, O₂ ve CO₂ saturasyonları sırasıyla 95% ve 5% olacak şekilde)].

3.2.8. Ghrelin:

28 amino asitli lipofilik bir peptid olan ghrelin 1 $\mu\text{g}/1\mu\text{l}$ dozda, icv olarak uygulandı (çözücü: aCSF).

3.3. Deney Grupları

Epilepsi oluşturmak amacıyla penisilin verildi. NO sisteminin epileptiform aktiviteye olan etkilerini araştırmak için L-Arjinin, D-Arjinin, L-NAME, D-NAME, 7-NI kullanıldı. Ayrıca multisistemik etkileri olan leptin ve ghrelinin penisilinle oluşturulan epilepsiye ve NO ilişkili ajanlarla etkileşimine bakmak için ek gruplar düzenlendi. Gruplar aşağıda görüldüğü şekildedir.

1. Bazal aktivite: Herhangi bir madde uygulaması yapılmadan 180 dakika süre ile ECOG kaydı alındı [n = 6]
2. Penisilin (Kontrol) grubu: Penisilin G (500 IU/2.5 μl , ic) uygulandıktan 30 dakika sonra aCSF (1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, icv) enjekte edildi [n=6].

3. NO grubu: Penisilin G (500 IU/2.5 µl, ic) verildikten 30 dakika sonra NO ilişkili ajanlar aşağıda belirtilen dozlarda (ip) enjekte edildi [n=30].

- a. Penisilin G + L-Arjinin (1000 mg/kg, ip) [n=6].
- b. Penisilin G + D-Arjinin (1000 mg/kg, ip) [n=6].
- c. Penisilin G + L-NAME (60 mg/kg, ip) [n=6].
- d. Penisilin G + D-NAME (60 mg/kg, ip) [n=6].
- e. Penisilin G + 7-NI (40 mg/kg ip) [n=6].

4. Leptin grubu: Penisilin G (500 IU/2.5 µl, ic) uygulandıktan 30 dakika sonra leptin (1 µg/1 µl, icv) enjeksiyonu yapıldı [n=6].

5. Leptin-NO etkileşim grupları: Penisilin G (500 IU/2.5 µl, ic) uygulandıktan 30 dakika sonra NO ilişkili ajanlar yukarıda belirtilen dozlarda ip olarak enjekte edildi. Bu enjeksiyondan 30 dakika sonra da leptinin etkin dozu (1 µg/µl, icv) verildi [n=18].

- a. Penisilin G + L-Arjinin + Leptin [n=6].
- b. Penisilin G + L-NAME + Leptin [n=6].
- c. Penisilin G + 7-NI + Leptin [n=6].

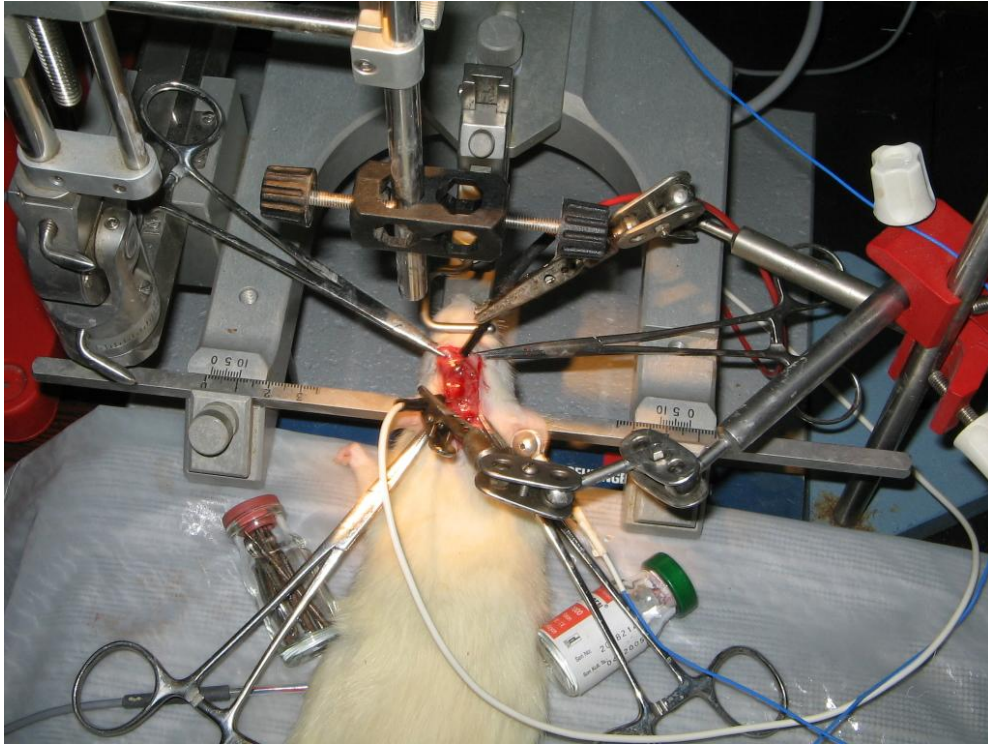
6. Ghrelin grupları: Penisilin G (500 IU/2.5 µl, ic) uygulandıktan 30 dakika sonra, literatür bilgisine uygun olarak, belirtilen dozlarda ghrelin, icv yoldan uygulandı ve etkin doz tespit edildi. Deney sonuçlarına göre ghrelinin 1 µg/1 µl (icv) dozunun en etkili doz olduğu bulundu. Etkileşim çalışmalarında bu doz kullanıldı [n=18].

- a. Penisilin G + Ghrelin (0.5 µg/0.5 µl, icv) [n=6].
- b. Penisilin G + Ghrelin (1 µg/1 µl, icv) [n=6].
- c. Penisilin G + Ghrelin (2 µg/2 µl, icv) [n=6].

7. Ghrelin-NO etkileşim grupları: Penisilin G (500 IU/2.5 µl, ic) uygulandıktan 30 dakika sonra NO ilişkili ajanlar yukarıda belirtilen dozlarda, ip olarak enjekte edildi.

Bu enjeksiyondan 30 dakika sonra da ghrelinin etkin dozu (1 μ g/1 μ l, icv) verildi [n=18].

- a. Penisilin + L-Arjinin + Ghrelin [n=6].
- b. Penisilin + L-NAME + Ghrelin [n=6].
- c. Penisilin + 7-NI + Ghrelin [n=6].



Şekil 8. Sol somatomotor korteks yüzeyine kayıt elektrotları yerleştirilmiş sıçanın kayıt anından bir görüntü

3.4. Cerrahi İşlem

Cerrahi işlemin yapılmasından 12 saat önce aç bırakılan sıçanlara 1,2 gr/kg üretan ip yoldan verilerek anestezide alındılar. Sıçanın başının üst kısmındaki tüyler temizlendi, ardından operasyon masasına sabitlendi. Hayvanın kafa derisi rostro-kaudal doğrultuda, ortalama 3 cm uzunluğundaki bir kesi ile açıldı. Yumuşak dokuda meydana gelebilecek kanamalar elektrokoter vasıtasıyla önlemlendi. Sol somatomotor korteks üzerindeki yumuşak doku uzaklaştırılıp kafatası bir tur motoruyla inceltilerek kafatası kemiği dikkatlice kaldırıldı. Bu işlem sırasında kemik dokuda meydana gelebilecek

kanamalar bonewax (kemik mumu) ile engellendi. Sürtünmeden kaynaklanan ısınmayı önlemek maksadıyla zaman zaman kafatası üzerine serum fizyolojik emdirilmiş spanç ile tampon yapıldı. Kafatası kemiği tamamen uzaklaştırıldıktan sonra dura mater dikkatlice kaldırıldı.

3.5. Elektrofizyolojik Kayıtlar

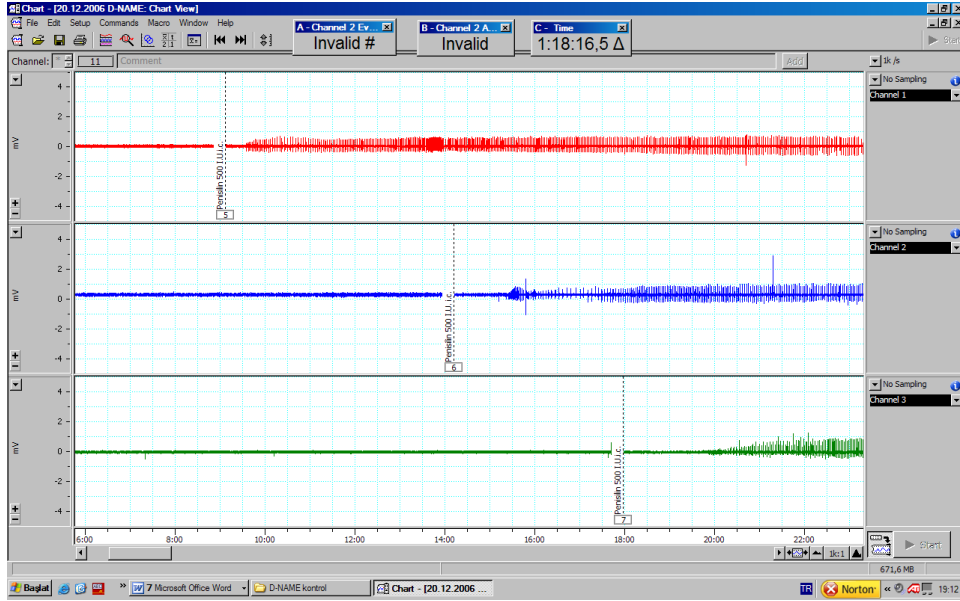
Sıçanlar operasyon sonrasında stereotaksik cihaza yerleştirildi. Beyin ve diğer dokulardan sıvı kaybının önlenip, ısının muhafaza edilmesi ve artefakt kaydının önlenmesi amacıyla hayvanın kafa derisi 4 köşeden cerrahi ipliklerle tutturularak 37 °C' lik sıvı vazelin havuzu oluşturuldu. Rektal proba bağlı bir homeotermik battaniye (Harvard Instrument) yardımıyla hayvanların vücut ısıları monitörize edildi ve deney boyunca 37 °C' de sabitlendi. Elektrofizyolojik kayıt için 2 adet Ag/AgCl top elektrot ve topraklama amacıyla 1 adet Ag/AgCl klemp elektrot kullanıldı. Top elektrotlardan pozitif olanı bregmanın önüne, negatif olanı ise bregmanın birkaç mm arkasına, toprak elektrot ise kayıt jeli sürülerek sağ kulağa yerleştirildi (Ayyıldız ve ark., 2006b). Elektrotlar ile alınan aktivite BioAmp (AD Instruments, Avustralya) arabiriminde yükseltılarak PowerLab 4/SP (AD Instruments, Avustralya) veri kazanım ünitesine aktarıldı. PowerLab ile korteksten elde edilen analog sinyaller sayısal hale dönüştürüldü. Sonra bir USB kablosu yardımıyla bilgisayara nakledildi. Beyin aktivitesi Chart v5.1 (AD Instruments, Avustralya) yazılımı ile anında görüntülendi ve deney sonrası analiz için bilgisayara kaydedildi

Beyine yapılan tüm intrakortikal enjeksiyonlar, Bregma noktasından 3 mm lateral, 2 mm posteriyor ve 2 mm derinliğe bir Hamilton mikroenjektörüyle yapıldı. İcv enjeksiyonlar ise Bregma noktasından 1.5 mm lateral, 0.8 mm posteriyor ve 3.6 mm derine uygulandı. icv enjeksiyonlarda kısmi BOS çıkışı gözlemlendi. İntrakortikal enjeksiyonlarda ise enjektör ucunun damarı zedelememesine dikkat edildi.

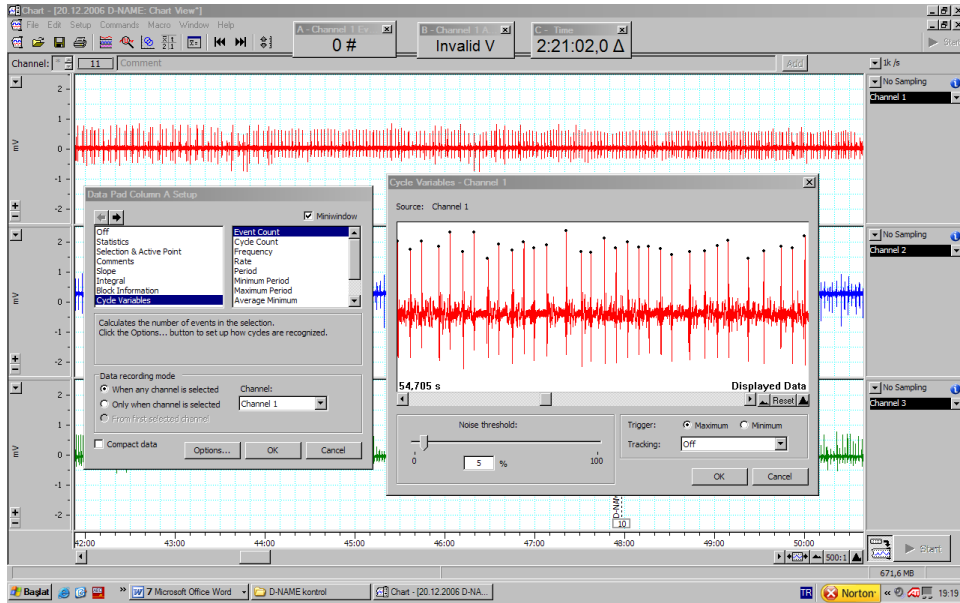
3.6. İstatistiksel Analiz

Kaydedilen elektrofizyolojik veriler Chart v5.1 (AD Instruments, Avustralya) yazılımı ve bu yazılımın makro özellikleri sayesinde birer dakikalık dilimlere ayrıldı. Dakika başına düşen spike sayısı ve spikelerin ortalama amplitüdüleri (peak-to-peak) bu yazılımın özellikleri sayesinde otomatik olarak hesaplatıldı. Her hayvan için kayıt işlemi tekrarlandı. Elektrofizyolojik kayıtların tamamı rakamsal verilere

dönüştürüldükten sonra bu veriler SPSS v12.0 yazılımı kullanılarak istatistiksel açıdan değerlendirildi. Elde ettiğimiz veriler normal dağılıma uyduğu için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanıldı. Aynı zamanda grup varyanslarının homojenliği analiz edildi ve homojen oldukları saptandı. Gruplar arasındaki farklılığı saptamak için bir Post Hoc testi olan Tukey kullanıldı. Grafik ve metin içerisinde kullanılan deney gruplarına ait değerler ortalama \pm standart hata (SEM) olarak ifade edildi.



Şekil 9. Chart v5.1 kayıt programı aracılığıyla anestezi altındaki hayvanlardan elde edilen bazal aktivite ve ardından penisilin ile oluşturulan epileptik aktivite kaydından bir görüntü



Şekil 10. Epileptik aktivitenin spike frekansı ve amplitüd değerlerinin hesaplanmasında kullanılan kayıt programının işlem pencerelerinden bir görüntü

4. BULGULAR

4.1. Penisilin Kaynaklı Epileptiform Aktivitenin İncelemesi

Sunulan çalışmada penisilin dışında tek başına uygulanan diğer maddelerin bazal aktivite üzerine belirgin ve tekrarlanabilir bir etkisinin olmadığı tespit edildi.

Penisilin, ECoG kayıtlarında belirgin epileptik aktiviteye neden olmaktadır. Penisilin korteks içine verilmesinden 2-6 dakika sonra, ECoG kayıtlarında, diken ve diken-dalgalar görülmeye başladı. Bu aktivite, verilen doz için, 300 dakikadan daha uzun sürdü.

Penisilin enjeksiyonundan hemen sonra, ortalama 2-6 dakika süren, bazal aktiviteye göre daha düşük genlikte dalgaların görüldüğü sessiz dönem oluştu. Bu dönemin sonunda ise genellikle belirgin bir geçiş dönemi olmadan, ani diken dalgalar ile epileptik süreç başladı. Epileptik aktivite kararlı düzeye yaklaşık 30 dakika içinde ulaştı.

4.2. Kullanılan Maddelerin Epileptiform Aktivite Üzerine Etkileri

4.2.1. Nitrik Oksitin Spike Frekansına Etkisi

NO' nun spike frekansına etkisini görmek amacıyla penisilin (500 IU, ic) enjeksiyonundan 30 dakika sonra L-Arjinin (1000 mg/kg, ip), D-Arjinin (1000 mg/kg, ip), L-NAME (60 mg/kg, ip), D-NAME (60 mg/kg, ip) ve 7-NI (40 mg/kg, ip) farklı deney grupları oluşturularak uygulandı.

L-Arjininin Etkisi

NO öncülü olan L-Arjinin (1000 mg/kg, ip), penisilin enjeksiyonundan 30 dakika sonra verildi. L-Arjinin uygulanmasından 70 dakika sonra spike frekansı ($12,5 \pm 1,87$ spike/dk) kontrol (penisilin) grubuna ($29,53 \pm 1,90$ spike/dk) göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldı ($p < 0,05$). Bu azalma deneyin sonuna kadar sürdü. Spike amplitüdü açısından ise kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu ($p > 0,05$). (Tablo 5 ve 6; Şekil 10 ve 11)

D-Arjininin Etkisi

L-Arjininin inaktif izomeri olan D-Arjinin (1000 mg/kg, ip) kontrol (penisilin) grubuna göre spike frekansı ve amplitüdü bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık oluşturmadı ($p > 0,05$). (Tablo 5 ve 6; Şekil 10 ve 11)

L-NAME' in Etkisi

Non-spesifik bir NOS inhibitörü olan L-NAME (60 mg/kg, ip) penisilin enjeksiyonundan 30 dakika sonra verildi. L-NAME verilmesi sonrasında elde edilen spike değerlerinin kontrol (penisilin) grubuna ($28,8 \pm 4,65$ spike/dk) göre 30. dakikadan itibaren istatistiksel açıdan anlamlı bir şekilde arttığı ($46,16 \pm 5,71$ spike/dk) ve deneyin sonuna kadar devam ettiği görüldü ($p < 0,05$). Spike frekansı 50, 60 ve 70. dakikalarda (sırasıyla, Penisilin + L-NAME grubunda, $54,23 \pm 6,54$; $57,33 \pm 6,82$; $56,22 \pm 8,74$ spike/dk; Kontrol (penisilin) grubunda, $29,74 \pm 2,91$; $30,2 \pm 2,03$; $29,53 \pm 1,9$ spike/dk) daha da arttı ($p < 0,01$). Spike amplitüdü açısından kontrol (penisilin) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığa rastlanmadı ($p > 0,05$). (Tablo 5 ve 6; Şekil 10 ve 11)

D-NAME' in Etkisi

L-NAME' in inaktif enantiomeri olan D-NAME (60 mg/kg, ip) kontrol (penisilin) grubuna göre spike frekansı ve amplitüdü üzerine artma ya da azalma yönünde bir etki göstermedi ($p > 0,05$). (Tablo 5 ve 6; Şekil 10 ve 11)

7-NI' nin Etkisi

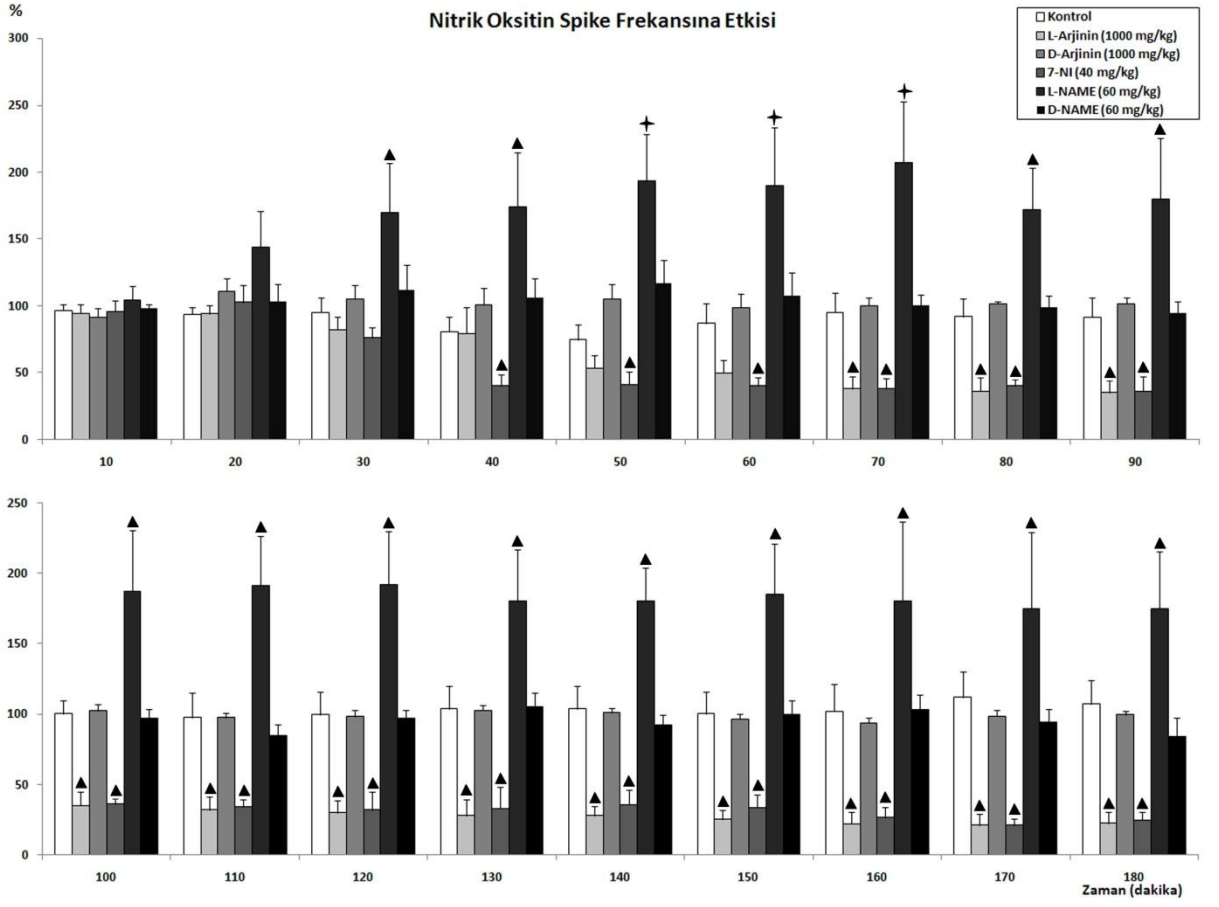
Penisilin enjeksiyonundan 30 dakika sonra uygulanan nöronal NOS' un spesifik bir inhibitörü olan 7-NI (40 mg/kg, ip) verilmesinin 40. dakikasından itibaren spike frekansını kontrol (penisilin) grubuna ($29,27 \pm 3,78$ spike/dk) göre istatistiksel olarak anlamlı bir düzeyde azalttı ($19,55 \pm 1,13$ spike/dk, $p < 0,05$) ve deneyin sonuna kadar devam etti. Spike amplitüdü açısından ise kontrol (penisilin) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığa rastlanmadı ($p > 0,05$). (Tablo 5 ve 6; Şekil 10 ve 11)

Tablo 5. Sıçanlarda penisilinle oluşturulan epileptiform aktivitenin ortalama spike frekansı üzerine NO agonist ve antagonistlerinin 30., 60., 90., 120., 150. ve 180. dakikalardaki etkileri ((Ortalama \pm S.E) * p <0.05, ** p<0.01, *** p<0.001)

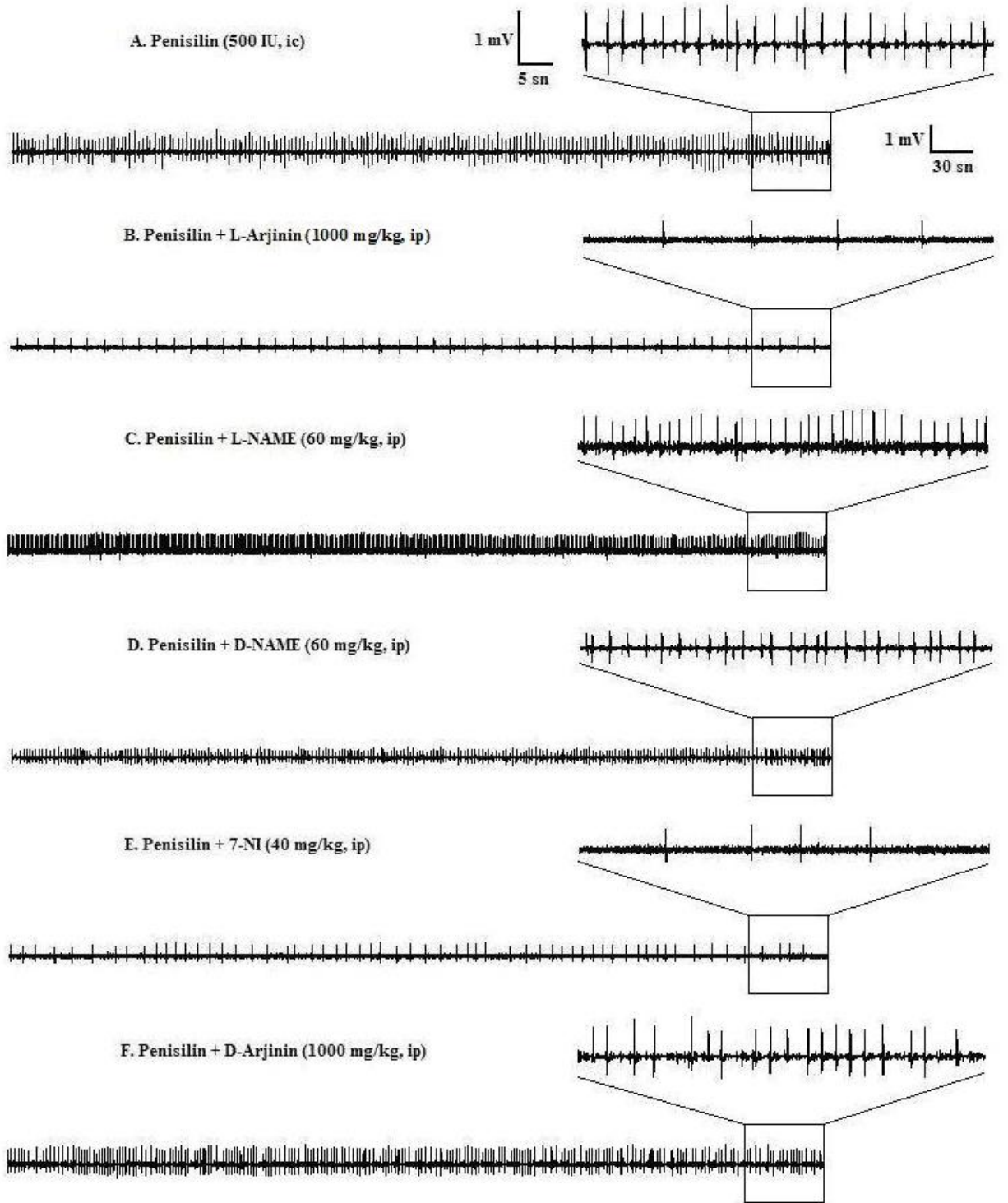
Gruplar	30 dakika aralıklı ortalama spike frekansı (spike/dakika)					
	30. dk	60. dk	90. dk	120. dk	150. dk	180. dk
Kontrol (penisilin)	28,80 \pm 4,65	30,20 \pm 2,03	28,20 \pm 1,55	31,61 \pm 4,60	27,40 \pm 0,75	34,42 \pm 1,02
Penisilin+L-Arjinin	22,50 \pm 0,84	15,50 \pm 2,50	11,66 \pm 2,09*	13,83 \pm 2,60*	10,16 \pm 1,37*	7,33 \pm 0,55*
Penisilin+L-NAME	46,16 \pm 5,71*	57,33 \pm 6,82**	54,00 \pm 12,06*	57,83 \pm 8,79*	61,16 \pm 11,07*	50,50 \pm 12,52*
Penisilin+D-NAME	25,16 \pm 1,75	24,50 \pm 2,45	26,00 \pm 2,09	26,33 \pm 1,83	29,16 \pm 2,73	27,16 \pm 2,02
Penisilin+7-NI	22,50 \pm 1,25	13,66 \pm 1,02*	10,50 \pm 1,31*	9,50 \pm 0,56*	9,83 \pm 2,77*	6,50 \pm 1,47*
Penisilin+D-Arjinin	31,33 \pm 3,20	30,16 \pm 2,24	30,83 \pm 1,84	29,4 \pm 3,15	29,2 \pm 1,27	30 \pm 1,52

Tablo 6. Sıçanlarda penisilinle oluşturulan epileptiform aktivitenin ortalama spike amplitüd değerleri üzerine NO agonist ve antagonistlerinin 30., 60., 90., 120., 150. ve 180. dakikalardaki etkileri ((Ortalama \pm S.E) * p <0.05, ** p<0.01, *** p<0.001)

Gruplar	30 dakika aralıklı amplitüd düzeyi (μ V)					
	30. dk	60. dk	90. dk	120. dk	150. dk	180. dk
Kontrol (penisilin)	940 \pm 178	880 \pm 166	900 \pm 177	880 \pm 127	920 \pm 157	900 \pm 139
Penisilin+L-Arjinin	950 \pm 111	933 \pm 98	950 \pm 95	867 \pm 98	967 \pm 108	967 \pm 128
Penisilin+L-NAME	850 \pm 42	867 \pm 95	933 \pm 130	1000 \pm 93	883 \pm 79	817 \pm 47
Penisilin+D-NAME	1067 \pm 42	883 \pm 177	883 \pm 30	883 \pm 30	850 \pm 56	800 \pm 50
Penisilin+7-NI	983 \pm 16	917 \pm 16	850 \pm 34	933 \pm 21	767 \pm 21	750 \pm 22
Penisilin+D-Arjinin	1055 \pm 34	1167 \pm 154	1333 \pm 204	980 \pm 67	820 \pm 58	760 \pm 37



Şekil 11. Nitrik Oksitin spike frekansına etkisi (▲ = p<0.05; ✦ = p<0.01; ★ = p<0.001)



Şekil 12. Kontrol (Penisilin 500 IU, ic) **B**) penisilin + L-Arjinin (1000 mg/kg, ip) **C**) penisilin + L-NAME (60 mg/kg, ip) **D**) penisilin + D-NAME (60 mg/kg, ip) **E**) penisilin + 7-NI (40 mg/kg, ip) **F**) penisilin + D-Arjinin (1000 mg/kg, ip) gruplarında, penisilinle oluşturulan epileptiform aktiviteden elde edilen 110 ve 120. dakikalar arasındaki ECoG kayıtlarından örnekler. 7-NI ve L-Arjinin kontrol grubuna göre epileptiform aktivitenin frekansını anlamlı derecede azaltırken L-NAME artırdı. D-NAME ve D-Arjinin gruplarında ise spike frekansı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi (Bar 1 mV, 30 saniye; Bar 1 mV, 5 saniye)

4.2.2. Leptinin Spike Frekansına Etkisi

Penisilin enjeksiyonundan 30 dakika sonra leptinin etkin dozu (1 µg, icv) uygulandı. 90. dakikadan itibaren spike frekansları ($33,02 \pm 7,33$ spike/dk) kontrol (penisilin) grubuna ($28,2 \pm 1,55$ spike/dk) göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttı ($p < 0,05$). 150. ve 160. dakikalarda (sırasıyla, Penisilin + Leptin grubunda, $43,63 \pm 5,16$; $46,17 \pm 5,69$ spike/dk; Kontrol (penisilin) grubunda, $27,4 \pm 0,75$; $29,74 \pm 0,84$ spike/dk) daha da artan spike frekanslarının 130., 140., 170. ve 180. dakikalarda (sırasıyla, Penisilin + Leptin grubunda, $41,91 \pm 6,01$; $42,77 \pm 4,88$; $48,73 \pm 6,23$; $51,27 \pm 6,76$ spike/dk; Kontrol (penisilin) grubunda, $30,2 \pm 3,32$; $28,79 \pm 2,04$; $32,08 \pm 0,93$; $34,42 \pm 1,02$ spike/dk) en yüksek değerlere ulaştığı görüldü ($p < 0,001$). Spike amplitüdü açısından kontrol (penisilin) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığa rastlanmadı ($p > 0,05$).

4.2.3. Leptin-Nitrik Oksit Etkileşiminin Spike Frekansına Etkisi

Penisilin enjeksiyonundan 30 dakika sonra, leptinden ise 30 dakika önce, L-Arjinin (1000 mg/kg, ip), L-NAME (60 mg/kg, ip) veya 7-NI (40 mg/kg, ip) verilerek leptin-NO sisteminin epileptiform aktivite üzerine etkileşimi araştırıldı.

Leptin ile L-Arjinin Etkileşimi

L-Arjinin ile leptin etkileşimini araştırmak için penisilin enjeksiyonundan 30 dakika sonra L-Arjinin (1000 mg/kg, ip) uygulandı. L-Arjininden 30 dakika sonra da leptin (1 µg, icv) verildi. L-Arjinin uygulanmasından sonraki 70. dakikadan itibaren spike frekansında ($18,06 \pm 3,35$ spike/dk) kontrol (penisilin) grubuna ($29,53 \pm 1,9$ spike/dk) göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma tespit edildi ($p < 0,05$). Spike frekansındaki bu azalma, 100-130. dakikalar arasında (sırasıyla, Penisilin + L-Arjinin + Leptin grubunda, $10,89 \pm 2,15$; $9,62 \pm 1,85$; $8,33 \pm 1,54$; $7,89 \pm 1,59$ spike/dk; Kontrol (penisilin) grubunda, $29,34 \pm 2,57$; $30,48 \pm 3,59$; $31,61 \pm 4,6$; $30,2 \pm 3,32$) daha da arttı ($p < 0,01$). Spike amplitüdülerinde ise kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi ($p > 0,05$). (Tablo 7 ve 8; Şekil 12 ve 13)

Leptin ile L-NAME Etkileşimi

Leptin ile L-NAME etkileşimini araştırmak için penisilin enjeksiyonundan 30 dakika sonra L-NAME (60 mg/kg, ip) uygulandı. L-NAME uygulamasından 30 dakika sonra da leptin (1 µg, icv) verildi. 30. dakikadan itibaren spike frekansında kontrol

(penisilin) grubuna ($28,8 \pm 4,65$ spike/dk) göre bir artış gözlenirse de ($35,00 \pm 4,41$ spike/dk) bu değerler istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Spike amplitüdü açısından da kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi ($p > 0,05$). (Tablo 7 ve 8; Şekil 12 ve 13)

Leptin ile 7-NI Etkileşimi

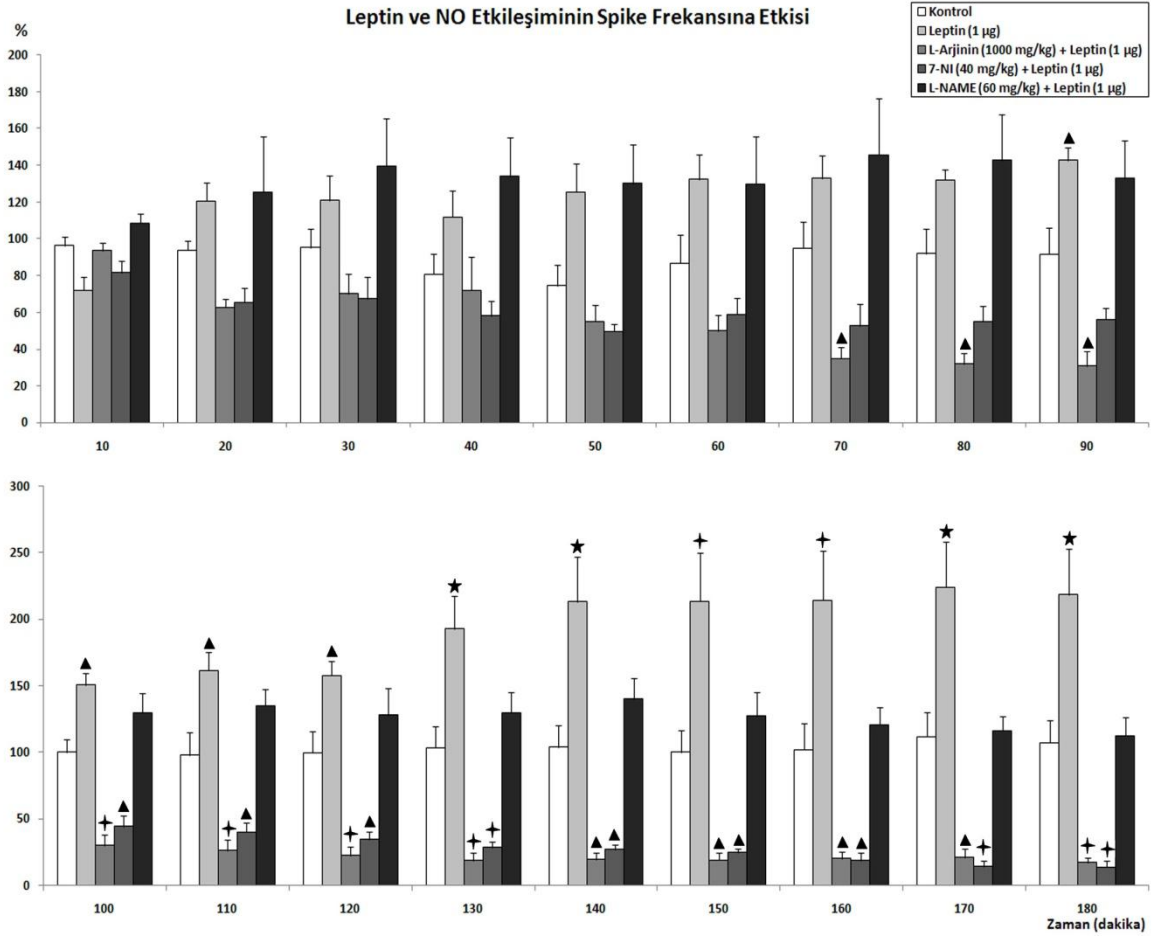
Leptin ile 7-NI etkileşimini araştırmak için penisilin enjeksiyonundan 30 dakika sonra 7-NI (40 mg/kg, ip) uygulandı. 7-NI uygulamasından 30 dakika sonra leptin (1 µg, icv) verildi. 100. dakikadan itibaren spike frekansında ($16,55 \pm 1,96$ spike/dk) kontrol (penisilin) grubuna ($29,34 \pm 2,57$ spike/dk) göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma tespit edildi ($p < 0,05$). Spike frekansındaki azalma 130., 170. ve 180. dakikalarda (sırasıyla, Penisilin + 7-NI + Leptin grubunda, $10,67 \pm 2,01$; $4,99 \pm 1,56$; $3,33 \pm 1,81$ spike/dk; Kontrol (penisilin) grubunda, $30,2 \pm 3,32$; $32,08 \pm 0,93$; $34,42 \pm 1,02$ spike/dk) daha da arttı ($p < 0,01$). Spike amplitüdü açısından kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi ($p > 0,05$). (Tablo 7 ve 8; Şekil 12 ve 13)

Tablo 7. Sıçanlarda penisilinle oluşturulan epileptiform aktivitenin ortalama spike frekansı üzerine leptin ve leptin-NO etkileşiminin 30., 60., 90., 120., 150. ve 180. dakikalardaki etkileri ((Ortalama \pm S.E) * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$)

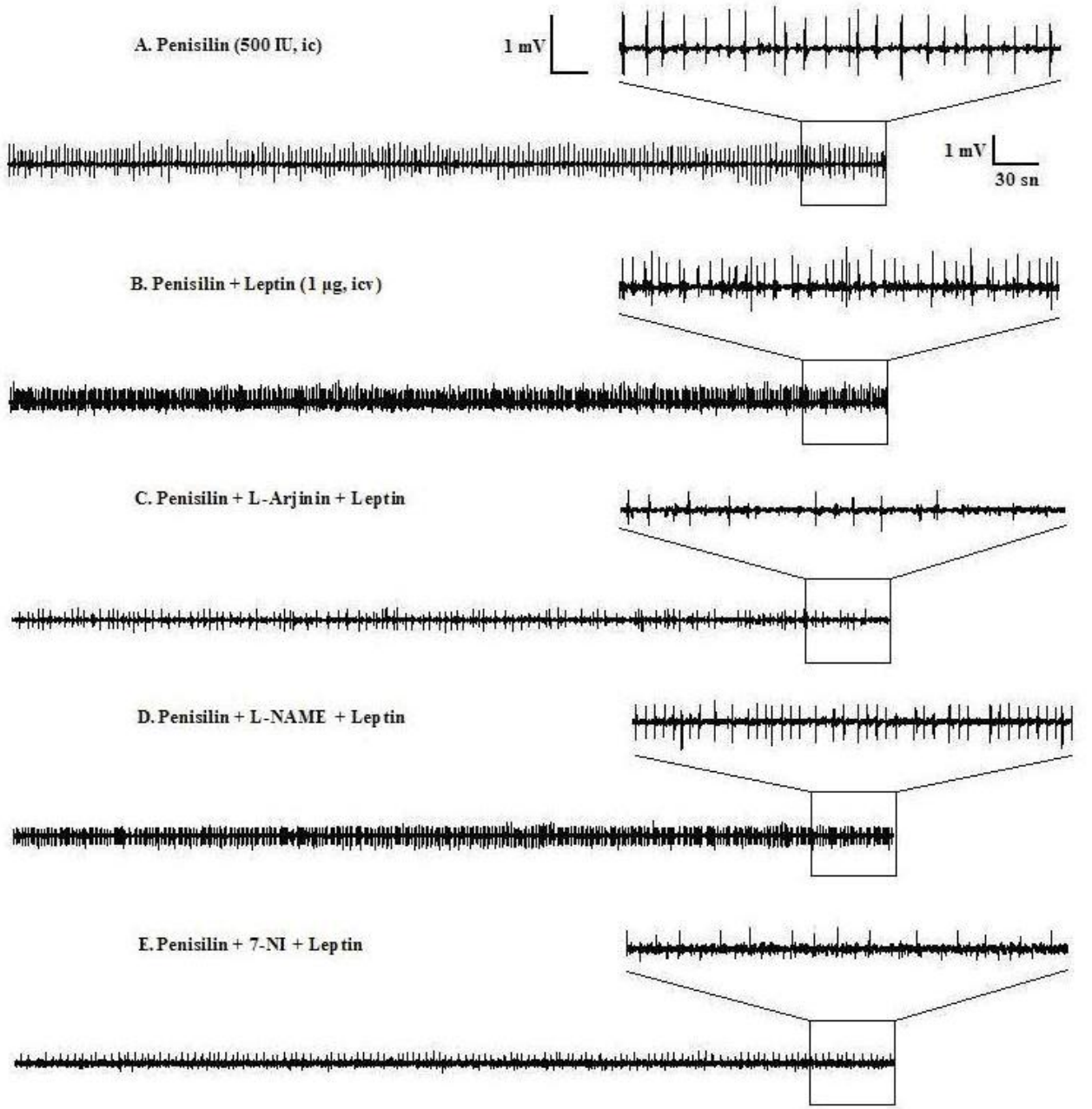
Gruplar	30 dakika aralıklı ortalama spike frekansı (spike/dakika)					
	30. dk	60. dk	90. dk	120. dk	150. dk	180. dk
Kontrol (penisilin)	28,80 \pm 4,65	30,20 \pm 2,03	28,20 \pm 1,55	31,61 \pm 4,60	27,40 \pm 0,75	34,42 \pm 1,02
Penisilin + Leptin	27,08 \pm 4,26	31,22 \pm 3,57	33,02 \pm 7,33*	41,05 \pm 4,31*	43,63 \pm 5,16**	51,27 \pm 6,76***
Penisilin + L-Arjinin+ Leptin	28,33 \pm 2,95	21,00 \pm 3,79	12,16 \pm 2,45*	8,33 \pm 1,54**	7,00 \pm 1,69*	4,66 \pm 2,15**
Penisilin + L-NAME+ Leptin	35,00 \pm 4,41	32,50 \pm 4,31	36,00 \pm 7,09	41,16 \pm 5,16	36,33 \pm 5,84	35,66 \pm 6,09
Penisilin + 7-NI+Leptin	28,50 \pm 0,95	19,16 \pm 0,79	18,66 \pm 1,70	12,33 \pm 2,48*	8,33 \pm 1,05*	3,33 \pm 1,81**

Tablo 8. Sıçanlarda penisilinle oluşturulan epileptiform aktivitenin ortalama spike amplitüd değerleri üzerine leptin ve leptin-NO etkileşiminin 30., 60., 90., 120., 150. ve 180. dakikalardaki etkileri ((Ortalama \pm S.E) * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$)

Gruplar	30 dakika aralıklı amplitüd düzeyi (μ V)					
	30. dk	60. dk	90. dk	120. dk	150. dk	180. dk
Kontrol (penisilin)	940 \pm 178	880 \pm 166	900 \pm 177	880 \pm 127	920 \pm 157	900 \pm 139
Penisilin + Leptin	800 \pm 85	900 \pm 118	850 \pm 84	817 \pm 65	833 \pm 71	783 \pm 60
Penisilin + L-Arjinin + Leptin	1033 \pm 71	883 \pm 60	783 \pm 54	767 \pm 61	750 \pm 67	767 \pm 175
Penisilin + L-NAME+ Leptin	1100 \pm 131	983 \pm 94	850 \pm 42	800 \pm 51	833 \pm 33	833 \pm 33
Penisilin + 7-NI+Leptin	900 \pm 68	850 \pm 42	883 \pm 70	783 \pm 54	850 \pm 102	1033 \pm 231



Şekil 13. Leptinin ve Leptin-Nitrik Oksit etkileşiminin spike frekansına etkisi (▲ = $p < 0.05$; † = $p < 0.01$; ★ = $p < 0.001$)



Şekil 14. **A)** Kontrol (Penisilin 500 IU, ic) **B)** penisilin + leptin (1 μ g, icv) **C)** penisilin + L-Arjinin (1000 mg/kg, ip) + leptin (1 μ g, icv) **D)** penisilin + L-NAME (60 mg/kg, ip) + leptin (1 μ g, icv) **E)** penisilin + 7-NI (40 mg/kg, ip) + leptin (1 μ g, icv) gruplarında, penisilinle oluşturulan epileptiform aktiviteden elde edilen 110 ve 120. dakikalar arasındaki ECoG kayıtlarından örnekler. Leptin epileptiform aktivitenin spike freansını kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artırdı. 7-NI + Leptin ve L-Arjinin+ Leptin ise kontrol grubuna göre epileptiform aktivitenin spike frekansını anlamlı derecede azaltırken L-NAME + Leptinin spike frekansını artırıcı etkisi kontrol grubuna göre anlamlı bulunmadı (Bar 1 mV, 30 saniye; Bar 1 mV, 5 saniye)

4.2.4. Ghrelinin Spike Frekansına Etkisi

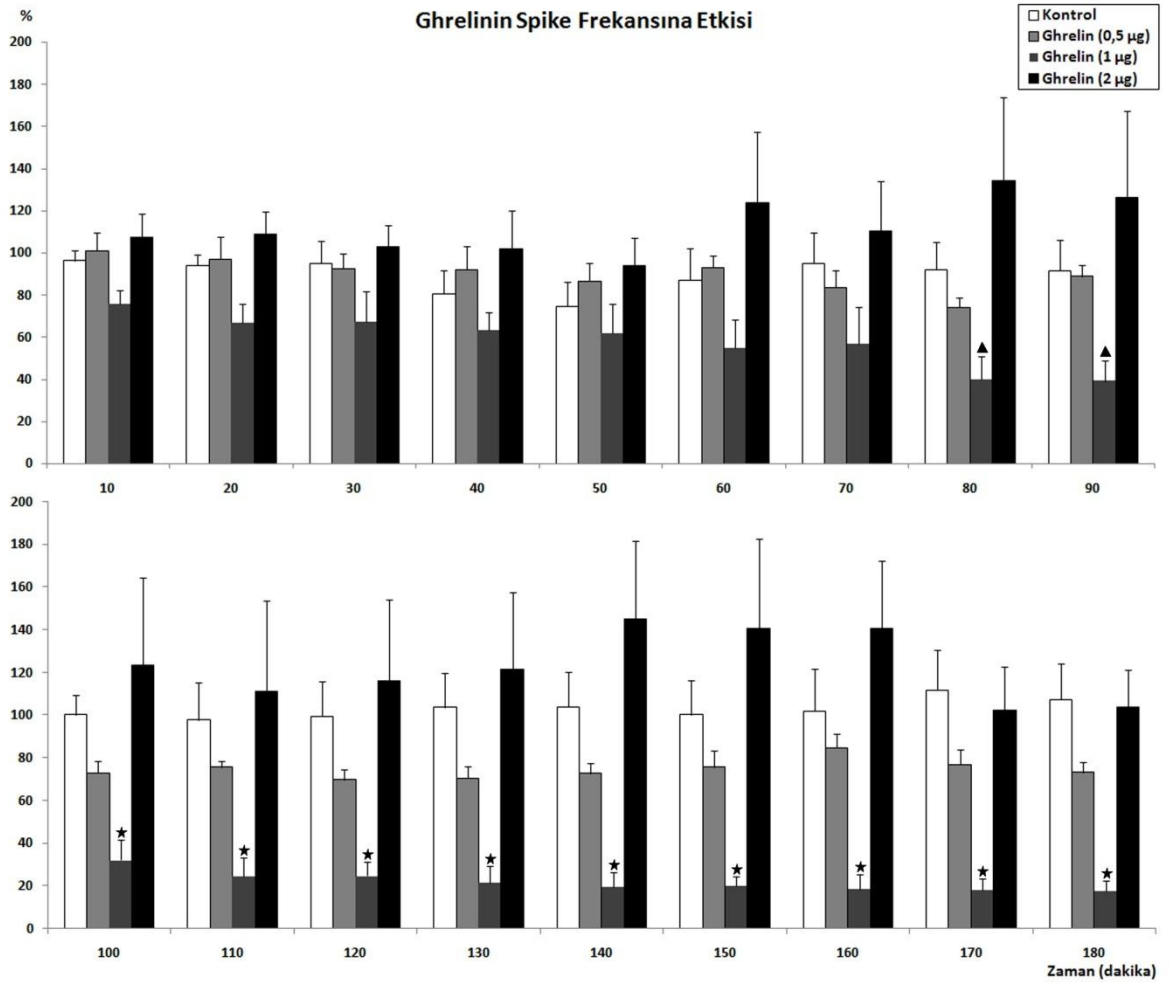
Epileptiform aktivite üzerine etkisini araştırmak için ghrelin, penisilin enjeksiyonundan 30 dakika sonra icv olarak, 0,5-1 ve 2 µg dozlarda uygulandı. 0,5 µg ghrelin uygulanan grupta spike frekansında özellikle 100. dakikadan itibaren ($21,61 \pm 1,53$ spike/dk) bir azalma gözlenirse de istatistiksel olarak kontrol grubuna ($29,34 \pm 2,57$ spike/dk) göre anlamlı bulunmadı. 2 µg ghrelin uygulanan grupta, özellikle 60. dakikadan itibaren spike frekansında bir artış gözlendi ($37,16 \pm 2,72$ spike/dk) ancak kontrol grubuna ($30,2 \pm 2,03$ spike/dk) göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Ghrelinin 1 µg uygulandığı grupta ise 80. dakikadan itibaren spike frekansında ($14,38 \pm 1,63$ spike/dk) kontrol grubuna ($28,86 \pm 1,71$ spike/dk) göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlendi ($p < 0,05$). Bu azalma 100. dakikadan itibaren ($11,33 \pm 1,94$ spike/dk) kontrol grubuna ($29,34 \pm 2,57$ spike/dk) göre daha da arttı ($p < 0,01$). Spike amplitüdüleri açısından ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığa rastlanmadı ($p > 0,05$).

Tablo 9. Sıçanlarda penisilinle oluşturulan epileptiform aktivitenin ortalama spike frekansı üzerine farklı ghrelin dozlarının 30., 60., 90., 120., 150., ve 180. dakikalardaki etkileri ((Ortalama \pm S.E) * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$)

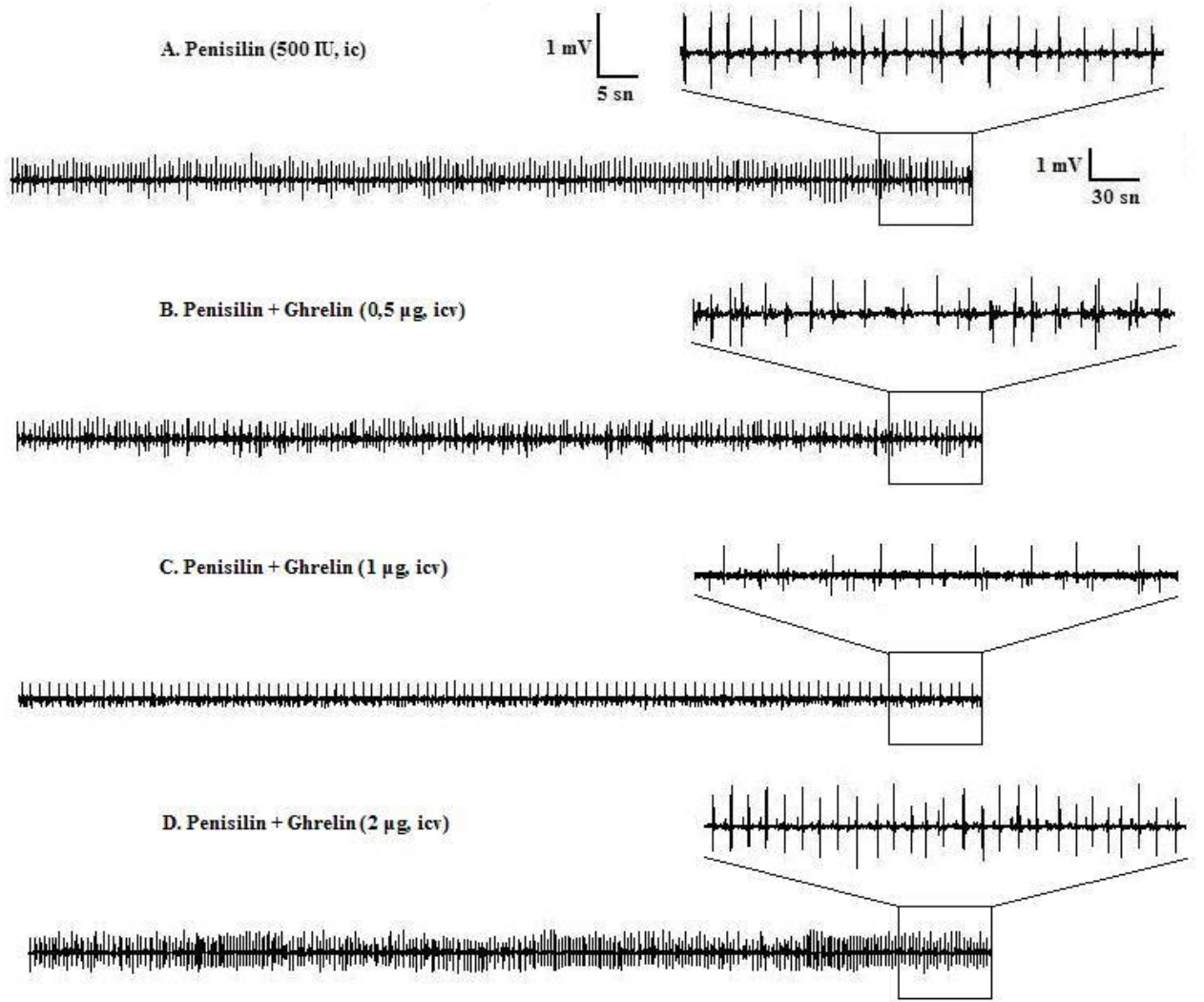
Gruplar	30 dakika aralıklı ortalama spike frekansı (spike/dakika)					
	30. dk	60. dk	90. dk	120. dk	150. dk	180. dk
Kontrol (penisilin)	28,80 \pm 4,65	30,20 \pm 2,03	28,20 \pm 1,55	31,61 \pm 4,60	27,40 \pm 0,75	34,42 \pm 1,02
Penisilin + Ghrelin(0,5 µg)	23,50 \pm 1,70	24,33 \pm 1,64	23,33 \pm 1,74	18,16 \pm 1,10	19,00 \pm 2,09	17,83 \pm 1,24
Penisilin + Ghrelin (1 µg)	22,16 \pm 2,32	17,50 \pm 2,52	12,83 \pm 1,85*	8,33 \pm 2,12***	7,50 \pm 1,87***	6,83 \pm 1,64***
Penisilin + ghrelin (2 µg)	35,00 \pm 3,55	37,16 \pm 2,72	35,83 \pm 3,68	31,66 \pm 2,21	34,00 \pm 2,98	29,16 \pm 2,82

Tablo 10. Sıçanlarda penisilinle oluşturulan epileptiform aktivitenin ortalama spike amplitüd değerleri üzerine farklı ghrelin dozlarının 30., 60., 90., 120., 150. ve 180. dakikalardaki etkileri ((Ortalama \pm S.E) * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$)

Gruplar	30 dakika aralıklı amplitüd düzeyi (μ V)					
	30. dk	60. dk	90. dk	120. dk	150. dk	180. dk
Kontrol (penisilin)	940 \pm 178	880 \pm 166	900 \pm 177	880 \pm 127	920 \pm 157	900 \pm 139
Penisilin + Ghrelin(0,5 μ g)	967 \pm 33	917 \pm 16	933 \pm 21	933 \pm 33	817 \pm 40	833 \pm 33
Penisilin + Ghrelin (1 μ g)	967 \pm 80	767 \pm 33	767 \pm 33	783 \pm 40	783 \pm 74	767 \pm 71
Penisilin + Ghrelin (2 μ g)	1100 \pm 100	1100 \pm 103	1133 \pm 143	1067 \pm 196	1033 \pm 209	817 \pm 166



Şekil 15. Farklı ghrelin dozlarının spike frekansına etkileri (▲ = $p < 0.05$; ✦ = $p < 0.01$; ★ = $p < 0.001$)



Şekil 16. A) Kontrol (Penisilin 500 IU, icv) B) penisilin + ghrelin (0,5 µg, icv) C) penisilin + ghrelin (1µg, icv) D) penisilin + ghrelin (2 µg, icv) gruplarında, penisilinle oluşturulan epileptiform aktiviteden elde edilen 110 ve 120. dakikalar arasındaki ECoG kayıtlarından örnekler. Ghrelinin 2 µg uygulandığı grupta epileptiform aktivitenin spike freansı artsa da kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Ghrelinin 0,5 ve 1 µg uygulandığı gruplarda ise kontrol grubuna göre epileptiform aktivitenin spike frekansında bir azalma gözlemlendi. Ancak 0,5 µg ghrelin uygulanan gruptaki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken 1 µg ghrelin uygulanan gruptaki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Bar 1 mV, 30 saniye; Bar 1 mV, 5 saniye)

4.2.5. Ghrelin ve Nitrik Oksit Etkileşiminin Spike Frekansına Etkisi

Ghrelinin NO sistemi ile etkileşimini araştırmak üzere penisilin enjeksiyonundan 30 dakika sonra, L-Arjinin (1000 mg/kg, ip), L-NAME (60 mg/kg, ip) veya 7-NI (40 mg/kg, ip) uygulandı. Bu uygulamadan 30 dakika sonra da ghrelinin etkin dozu (1 µg, icv) verilerek 180 dakika kayıt alındı.

Ghrelin ile L-Arjinin Etkileşimi

Ghrelin ile L-Arjinin etkileşimini araştırmak üzere, önce penisilin enjeksiyonu yapıldı. 30 dakika sonra ise L-Arjinin (1000 mg/kg, ip) verildi. Bu uygulamadan 30 dakika sonra ghrelinin etkin dozu (1 µg, icv) verildi. 70. dakikadan itibaren spike frekansında ($11,99 \pm 1,97$ spike/dk) kontrol (penisilin) grubuna ($29,53 \pm 1,9$ spike/dk) göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlendi ($p < 0,05$). Bu azalma 80. dakikadan itibaren (Penisilin + Ghrelin + L-Arjinin grubunda, $9,88 \pm 2,17$ spike/dk; Kontrol (penisilin) grubunda, $28,86 \pm 1,71$ spike/dk) daha da arttı ($p < 0,01$). Spike amplitüdü açısından kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlemlenmedi ($p > 0,05$). (tablo: 11, 12 ; Şekil: 16, 17)

Ghrelin ile L-NAME Etkileşimi

Ghrelin ile L-NAME etkileşimini araştırmak üzere, penisilin enjeksiyonundan 30 dakika sonra L-NAME (60 mg/kg, ip) uygulandı. Bu uygulamadan 30 dakika sonra ise ghrelin (1 µg, icv) verildi. 90. dakikadan ($24,50 \pm 1,58$ spike/dk) başlamak üzere spike frekansında kontrol (penisilin) grubuna ($28,2 \pm 1,55$ spike/dk) göre bir azalma gözlemlense de istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Spike amplitüdü açısından da kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlemlenmedi ($p > 0,05$). (tablo: 11, 12 ; Şekil: 16, 17)

Ghrelin ile 7-NI Etkileşimi

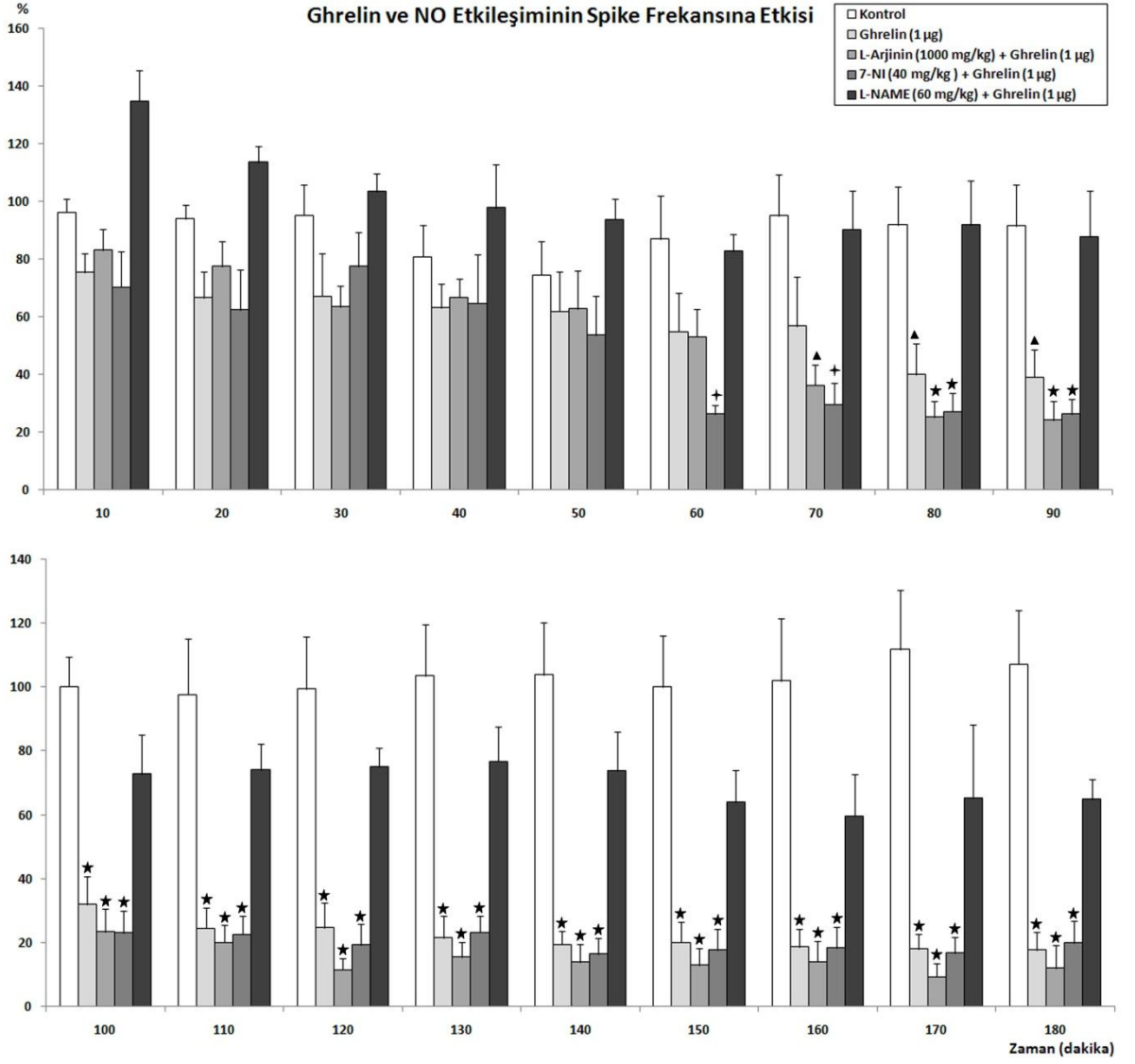
Ghrelin ile 7-NI etkileşimini araştırmak üzere, penisilinden 30 dakika sonra 7-NI (40 mg/kg, ip) verildi. Bu uygulamadan 30 dakika sonra da ghrelin (1 µg, icv) verildi. 60. dakikadan itibaren ($9,50 \pm 2,77$ spike/dk) spike frekansında kontrol (penisilin) grubuna ($30,2 \pm 2,03$ spike/dk) göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptandı ($p < 0,01$). Spike frekansındaki bu azalma 80. dakikadan itibaren (Penisilin + Ghrelin + 7-NI grubunda, $8,60 \pm 1,88$ spike/dk; Kontrol (penisilin) grubunda, $28,86 \pm 1,71$ spike/dk) daha da arttı ($p < 0,001$). Spike amplitüdü açısından kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmedi ($p > 0,05$). (Tablo: 11, 12 ; Şekil: 16, 17)

Tablo 11. Sıçanlarda penisilinle oluşturulan epileptiform aktivitenin ortalama spike frekansı üzerine leptin ve leptin-NO etkileşiminin 30., 60., 90., 120., 150. ve 180. dakikalardaki etkileri ((Ortalama \pm S.E) * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$)

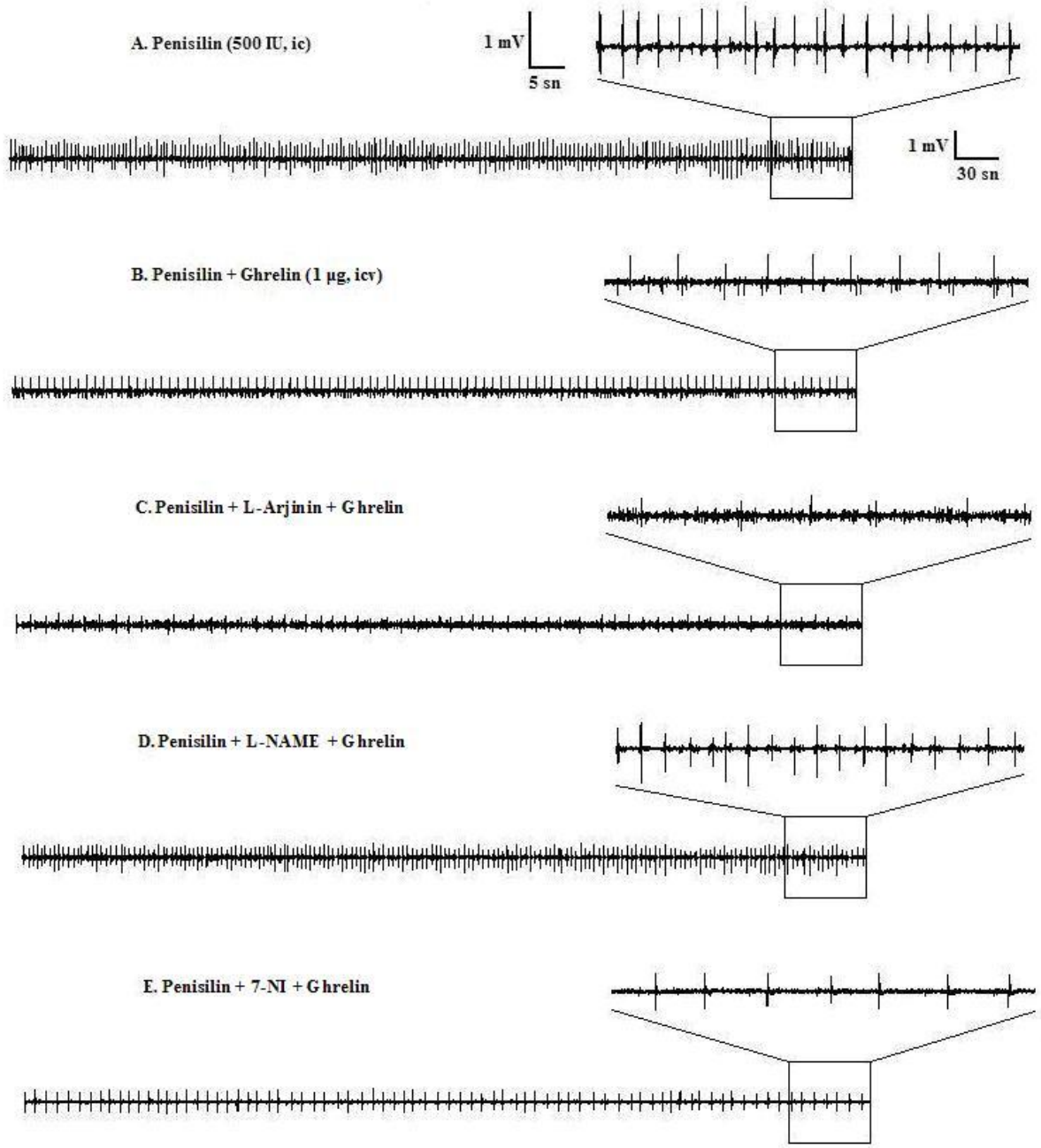
Gruplar	30 dakika aralıklı ortalama spike frekansı (spike/dakika)					
	30. dk	60. dk	90. dk	120. dk	150. dk	180. dk
Kontrol (penisilin)	28,80 \pm 4,65	30,20 \pm 2,03	28,20 \pm 1,55	31,61 \pm 4,60	27,40 \pm 0,75	34,42 \pm 1,02
Penisilin + ghrelin	22,16 \pm 2,32	17,50 \pm 2,52	12,83 \pm 1,85*	8,33 \pm 2,12***	7,50 \pm 1,87***	6,83 \pm 1,64***
Penisilin+L-Arjinin+ghrelin	18,00 \pm 3,01	14,00 \pm 1,77	7,66 \pm 2,37***	3,50 \pm 1,17***	4,83 \pm 1,83***	3,16 \pm 1,55***
Penisilin+L-NAME+ghrelin	35,16 \pm 1,85	28,16 \pm 2,27	24,50 \pm 1,58	21,00 \pm 1,69	18,83 \pm 1,53	14,00 \pm 2,52
Penisilin+7-NI+ghrelin	21,83 \pm 0,94	9,50 \pm 2,77**	8,16 \pm 1,44***	8,33 \pm 3,88***	7,33 \pm 4,13***	7,33 \pm 3,49***

Tablo 12. Sıçanlarda penisilinle oluşturulan epileptiform aktivitenin ortalama spike amplitüd değerleri üzerine leptin ve leptin-NO etkileşiminin 30., 60., 90., 120., 150. ve 180. dakikalardaki etkileri ((Ortalama \pm S.E) * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$)

Gruplar	30 dakika aralıklı amplitüd düzeyi (μ V)					
	30. dk	60. dk	90. dk	120. dk	150. dk	180. dk
Kontrol (penisilin)	940 \pm 178	880 \pm 166	900 \pm 177	880 \pm 127	920 \pm 157	900 \pm 139
Penisilin + ghrelin	967 \pm 80	767 \pm 33	767 \pm 33	783 \pm 40	783 \pm 74	767 \pm 71
Penisilin+L-Arjinin+ghrelin	900 \pm 57	867 \pm 76	820 \pm 151	925 \pm 212	825 \pm 192	833 \pm 193
Penisilin+L-NAME+ghrelin	867 \pm 71	867 \pm 102	850 \pm 56	967 \pm 71	933 \pm 95	783 \pm 60
Penisilin+7-NI+ghrelin	1017 \pm 54	883 \pm 79	783 \pm 79	833 \pm 55	750 \pm 167	750 \pm 171



Şekil 17. Ghrelin ve Ghrelin-Nitrik Oksit etkileşiminin spike frekansına etkisi. (▲ = $p < 0.05$; † = $p < 0.01$; ★ = $p < 0.001$)



Şekil 18. **A)** Kontrol (Penisilin 500 IU, ic) **B)** Penisilin + Ghrelin (1 μ g, icv) **C)** Penisilin + L-Arjinin (1000 mg/kg, ip) + Ghrelin (1 μ g, icv) **D)** Penisilin + L-NAME (60 mg/kg, ip) + Ghrelin (1 μ g, icv) **E)** Penisilin + 7-NI (40 mg/kg, ip) + Ghrelin (1 μ g, icv) gruplarında, penisilinle oluşturulan epileptiform aktiviteden elde edilen 110 ve 120. dakikalar arasındaki ECoG kayıtlarından örnekler. Ghrelin epileptiform aktivitenin spike freansını kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalttı. 7-NI + Ghrelin ve L-Arjinin+ Ghrelin gruplarında ise Ghrelinin spike frekansını azaltan etkisi daha da arttı ve bu azalma kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu. L-NAME + Ghrelin grubunda spike frekansını kontrol grubuna göre azaldı ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Bar 1 mV, 30 saniye; Bar 1 mV, 5 saniye)

5. TARTIŞMA

Sunulan çalışmada NO (L-Arjinin, D-Arjinin, L-NAME, D-NAME, 7-NI), leptin ve ghrelinin penisilinle oluşturulan epileptiform aktiviteye etkileri ve bu aktivite üzerine leptin ve ghrelinin NO ile etkileşimleri incelendi. Deney hayvanlarına NO öncülü L-Arjinin (1000 mg/kg, ip), L-Arjininin inaktif stereoizomeri D-Arjinin (1000 mg/kg, ip), spesifik olmayan NOS inhibitörü L-NAME (60 mg/kg, ip), L-NAME' in inaktif izomeri D-NAME (60 mg/kg, ip) ve nNOS' un spesifik inhibitörü olan 7-NI (40 mg/kg, ip) literatüre uygun olarak uygulandı. Leptinin 1 µg' lık etkin dozu ile NO' nun etkileşimi araştırıldı. NO sistemiyle etkileşimini incelemeyden önce penisilin modeli deneysel epilepsi modelinde ghrelinin etkin dozu araştırıldı. Bunun için 0.5, 1 ve 2 µg dozlarında ghrelin icv olarak uygulandı. Etkin doz (1 µg ghrelin) ile NO agonist ve antagonistleri verilerek etkileşimleri incelendi.

5.1. Epilepsi, Penisilin Kaynaklı Epileptiform Aktivite, Leptin, Ghrelin ve Nitrik Oksit Sistemi

Epilepsinin elektrofizyolojik temellerini tam anlamıyla çözebilmek ve daha etkili antiepileptik ilaçlar geliştirmek için deneysel modeller üzerinde çalışılmaktadır. Deney hayvanlarından elektrotlarla kaydedilen epileptik deşarjlar yapı itibariyle insan beyindeki epilepsi odağından kaydedilenlerle oldukça benzerdir. Çeşitli dozlarda pek çok kemokonvulsif ajan (pentilentetrazol, bikukulin, pikrotoksin, penisilin vb.), elektro şok, ses ve ışık gibi uyaranlarla veya genetik olarak epilepsiye yatkın hayvanlar kullanılarak epileptik modeller meydana getirilmektedir. Deney hayvanlarında konvulsan bir maddeyi kortekse uygulayarak epileptik bir odak meydana getirilebilir. Bu maksatla çok kullanılan maddelerden biri kristalize penisilindir (Fisher, 1989; Marangoz, 1997). Yapısal olarak bikukuline benzeyen ve GABA sistemiyle etkileşerek epileptik aktivite oluşmasını sağlayan penisilin bu etkisini hem sistemik hem de lokal olarak göstermektedir (Martin 1991, Walden ve ark., 1992).

500 IU kortikal penisilin enjeksiyonunun bilateral diken-dalga bileşkeleri ile kendini gösteren bir epileptiform ECoG aktivitesi oluşturduğu bilinmektedir (Marangoz ve ark., 1994; Ayyıldız, 2006). Çalışmamızda da penisilin (ic) enjeksiyonundan 2-6 dakika sonra bazal aktivite kaydı değişerek ilk epileptik diken dalga aktiviteleri görülmeye başladı. Penisilin enjeksiyonu ile epilepsi latensi açısından tüm gruplar

arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi ($p>0.05$). Gözlenen bu epileptiform aktivite artarak 30 dakika içinde kararlı hale geldi ve 300 dakikadan uzun sürdü. Penisilin verilmesinden sonraki bu ilk 30 dakikalık bölümde spike frekansı ve spike amplitüdü açısından deney grupları arasında anlamlı bir farklılığın olmadığı saptandı ($p>0.05$) Dolayısıyla ilk madde enjeksiyonları bu 30 dakikanın sonunda yapıldı.

Penisilin modeli deneysel epilepside daha önce defalarca çalışılan ve epileptiform aktivite üzerine etkisi kanıtlanmış, ancak prokonvulsan mı, antikonvulsan mı olduğu halen tartışma konusu olan NO sistemi ile yine penisilin modeli deneysel epilepside, merkezi sinir sistemini etkileyerek gıda alımını ve enerji metabolizmasını düzenleyen iki hormondan, prokonvulsan etkisi kanıtlanmış leptin ve pentilentetrazol ile indüklenen epilepsi modelinde antikonvulsan etkilerinin olduğu belirtilen ghrelinin etkileşim içinde olup olmadıkları araştırıldı.

5.2. Nitrik Oksitin Epilepsiye Etkisi

NO, gaz halinde bir nörotransmitter olduğu anlaşıldıktan sonra deneysel epilepsinin değişik modellerinde çalışılan ve farklı etkilere sahip olduğu bildirilen bir ajandır (Vincent, 1994; Marangoz ve ark., 1994; Marangoz, 1996).

NO metabolitlerinin miktarında, epileptiform aktivitenin oluşumu sırasında, artış olduğu ve deneysel epilepsi modellerinin pek çoğunun oluşumunda NO' nun rolü bulunduğu gösterilmiştir (Lerner-Natoli ve ark., 1994; Takei ve ark., 1999; Han ve ark., 2000; De Sarro ve ark., 2000; Leite ve ark., 2002). NO' nun epilepside bir şekilde yer aldığı kesin olmakla birlikte, etkisinin prokonvulsan mı yoksa antikonvulsan mı olduğu halen tartışmalıdır. Bu durum, NO sistemi ve epilepsi ile ilgili çalışmaların sonuçlarındaki çelişkilerden kaynaklanmaktadır (Marangoz, 1996; Del-Bel ve ark., 1997). Aynı zamanda bu çelişkili durumun epilepsi modeline, verilen maddelere ve doza bağlı olarak ortaya çıkabileceği bildirilmiştir (Del-Bel ve ark., 1997).

5.2.1. L-Arjinin ve D-Arjininin Epilepsiye Etkisi

Sunulan çalışmada L-Arjinin (1000 mg/kg, ip), penisilin ile oluşturulan deneysel epilepsi modelinde 70. dakikadan itibaren epileptiform aktivitenin spike frekansını (kontrol grubuna göre) azaltarak antikonvulsan bir etki göstermiştir. D-Arjinin ise

epileptiform aktivitenin spike frekansı üzerine kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı bir etki göstermedi.

NO öncülü olan L-Arjinin tüm NOS izoenzimleri için substrattır ve NOS enzimi varlığında, L-Arjininden L-Sitrülin oluşurken NO açığa çıkar (Lincoln ve ark., 1997; Palmer ve ark., 1988). L-Arjininin sıçanların lateral ventriküllerine enjeksiyonuyla ECoG kayıtlarında yüksek voltajlı ve eş zamanlı dalgalar görüldüğü bildirilmiştir. NMDA' nın subkonvulsif dozundan önce L-Arjinin verilmesinin ECoG' da epileptiform aktivite başlattığı gösterilmiştir. L-Arjininle beraber bir NOS inhibitörü olan N-Nitro-L-Arjinin uygulanmasının ise epileptiform aktiviteyi önlediği belirtilmiştir. Bu çalışmada L-Arjininin gösterdiği prokonvulsan etkinin NO üretimindeki artışla gerçekleştiği düşünülmüştür (Mollace ve ark., 1991).

Mikroenjeksiyon ile prepiriform kortekse NMDA veya kainik asit verilmesinden sonra oluşan epileptiform aktiviteyi L-Arjinin artırırken, L-Arjininle birlikte spesifik olmayan bir NOS inhibitörü olan L-NAME' in uygulanması ile L-Arjininin bu etkisi ortadan kalkmıştır (De Sarro ve ark., 1993). NO' nun kainik asit kaynaklı nöbetlerde rolünün incelendiği bir çalışmada, kainik asit verilen sıçanlarda NO üretiminin arttığı bildirilmiştir (Mülsch ve ark., 1994).

L-Arjininin yukarıda belirtilen, prokonvulsan etkilerinin gösterildiği çalışmaların yanında, nöbetleri baskıladığını belirten çalışmalar da vardır. L-Arjininin antikonvulsan etkisinin görüldüğü böyle bir çalışmada, farelerde lateral ventriküle NMDA uygulanması epileptiform aktiviteye sebep olmakta, NO sisteminin baskılanması veya metilen mavisi uygulanması ise oluşan epileptiform aktiviteyi artırmaktadır. Ayrıca, NMDA ile birlikte L-Arjinin veya cGMP verilmesi, epileptiform aktivitede azalmaya neden olmaktadır (Buisson ve ark., 1993). NO için benzer bir antikonvulsan etki de kainik asit modeli deneysel epilepside gözlenmiştir. Konvulsiyonları oluşturmak için gereken kainik asit miktarı, L-Arjinin verilmesi ile yükseltilirken, D-Arjinin aynı etkiyi göstermemektedir. (Przegalinski ve ark., 1994).

NO, talamokortikal sinir hücrelerinde kendiliğinden olan aktiviteyi baskılamaktadır (Pape ve Mager, 1992). NO' nun bu baskılayıcı etkisinin absans epilepsisi için önemli olduğu düşünülmüştür (Buisson ve ark., 1993; Przewlocka ve ark., 1996).

NO'yu artıran L-Arjinin dozunun sistemik uygulananın, beyinde GABA'yı metabolize eden enzim olan gama-aminobütirik asid transaminaz (GABA-T) enzimini inhibe ederek antikonvulsan etkileri kanıtlanmış inhibitör bir transmitter olan GABA konsantrasyonunu artırdığı gözlenmiştir (Jayakumar et al., 1999; Paul and Jayakumar, 2000). Bununla birlikte, pikrotoksinle indüklenen konvulsiyonlara L-Arjinin etkisini araştırmak için yapılan bir çalışmada pikrotoksinin 5, 30 ve 60 dakika önce uygulanan 1000 mg/kg (ip) L-Arjininin konvulsiyonları baskıladığı ancak bu etkinin 500 mg/kg (ip) L-Arjininde gözlenmediği saptanmıştır. Yine beyindeki NO ve GABA konsantrasyonlarının, pikrotoksinin 5, 30 ve 60 dakika önce uygulanan 1000 mg/kg L-Arjinin ile arttığı ancak bu artışın 500 mg/kg L-Arjininde gözlenmediği saptanmıştır. L-Arjininin daha yüksek dozunun (2000 mg/kg), uygulanmasından 30 dakika sonra ise L-Arjininin 1000 mg/kg dozuna göre antikonvulsan ve NO-GABA artış etkisi daha az bulunmuştur. Ancak, 60 dakika sonra hem NO hemde GABA konsantrasyonları azalarak pikrotoksinle oluşturulan konvulsiyonların sıklığı artmış ve bu etki L-NAME uygulanmasıyla tersine dönmüştür. Buradan hareketle, sistemik olarak uygulanan L-Arjinininden sentezlenen NO beyindeki GABA konsantrasyonunu artırarak konvulsiyonları inhibe etmektedir. L-Arjininin antikonvulsan veya konvulsan etkileri, doza ve uygulama zamanına bağlı olarak, beyindeki GABA ve NO konsantrasyonlarını değiştirmesiyle oluşur (Paul ve Subramanian, 2002). Anestezi altındaki sıçanlarda bikukulinin beyin korteksine uygulanmasıyla oluşturulan fokal epilepsi modelinde NO'nun antikonvulsif bir etki gösterdiği bildirilmiştir (Pereira de Vasconcelos ve ark., 1995).

Elde edilen veriler, L-Arjininin antikonvulsan etkisinin gösterildiği ve D-Arjininin epileptiform aktivite üzerine etkisiz olduğunu belirten çalışmalarla uyumludur.

5.2.2. L-NAME ve D-NAME' in Epilepsiye Etkisi

Sunulan çalışmada spesifik olmayan bir NOS inhibitörü olan L-NAME (60 mg/kg, ip) penisilin ile oluşturulan deneysel epilepsi modelinde 30. dakikadan itibaren epileptiform aktivitenin spike frekansını kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artırarak prokonvulsan bir etki göstermiştir. L-NAME' in inaktif enantiomeri olan D-NAME (60 mg/kg, ip) ise spike frekansı ve amplitüdü açısından kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık oluşturmamıştır.

Prepiriform kortekse uygulanan NMDA veya kainik asit sonrasında oluşan epileptiform aktiviteyi L-Arjinin artırırken, L-Arjininle birlikte genel bir NOS inhibitörü olan L-NAME verilmesi, L-Arjininin bu etkisini ortadan kaldırmıştır (De Sarro ve ark., 1993). Farelerde yapılan bir çalışmada PTZ ile oluşturulan nöbetlerde bir Delta-Opioid-Agonisti olan SNC80' in nöbet eşliğini azalttığı saptanmıştır. SNC80' in prokonvulsan etkisini L-NAME (3-20 mg/kg, ip) önlemiştir (Khavandgar ve ark., 2002).

Sıçan hipokampal dilimlerinde düşük Mg^{+2} nedenli epileptiform aktivite ile NO ilişkisini inceleyen bir çalışmada, L-NAME' in düşük Mg^{+2} nedenli nöbetleri tamamen baskıladığı ve NO donörü S-Nitroso-N-Asetilpenisilamin uygulandığında ise NO miktarının arttığı ve nöbetlerin tekrar başladığı saptanmıştır (Schuchmann, 2002).

Hipokampal dilimlere penisilin uygulanmasıyla oluşturulan epilepside ise hipokampusun CA1 bölgesindeki nöronlardan NO salınımının arttığı ve penisilin etkisinin 7-NI ve L-NAME ile kısmen tersine çevrildiği görülmüştür. Bu çalışmaya göre NO' nun konvulsiyonu artırıcı etkisinin NOS inhibitörleriyle engellenebileceği ileri sürülmüştür (Lu ve ark., 1998).

Farelere kokain (günde 45 mg/kg/gün, ip) verilmesine bağlı olarak epileptik nöbetlerin oluştuğu bildirilmiştir. Kokainden önce NOS inhibitörleri L-NAME (100 mg/kg, ip) ve NG-L-Arjinin (25 mg/kg/gün, ip) verilmesi, kokaine bağlı konvulsiyonları önlemiştir (Itzhak, 1994). Kokain (4 mg/kg/dk, iv) uygulanmasının anestezili sıçanlarda epileptiform aktiviteye neden olduğu ve kokainden 30 dakika önce L-NAME (2 mg/kg/dk) verilmesinin bu aktiviteyi önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir (Heavner ve ark., 1995).

Sıçanlara lityum klorürden önce verilen ve güçlü bir asetilkolinesteraz inhibitörü olan takrin (5 mg/kg, ip) tarafından oluşturulan epileptiform nöbetlerin L-NAME tarafından baskılandığı gösterilmiştir (Bagetta ve ark., 1992). L-NAME verilmesi, pentilentetrazol (PTZ) ile oluşturulan nöbetlerde görülen miyoklonik kasılmaları, klonik nöbetleri ve tonik jeneralize ekstensiyonları baskılamaktadır (Osonoe ve ark., 1994). Sıçanlarda sesle oluşturulan epilepside, önceden verilen L-NAME' in epilepsiyi önemli derecede baskılandığı gözlenmiştir (Bagetta ve ark., 1993).

Fujisaki ve arkadaşlarının (2002) yapmış oldukları bir çalışmaya göre; siklosporin A (200 mg/kg, ip), farelerde bikukulinin (25 pmol) icv enjeksiyonuyla indüklenen

konvulsiyonların yoğunluğunu belirgin olarak artırmıştır. Bu etki L-NAME (10 mg/kg, ip) tarafından bloklanırken D-NAME' in (10 mg/kg, ip) etkisiz kaldığı gözlenmiştir.

Farelerde oluşturulan PTZ-indüklü nöbetlerde diazepam ve klonazepamın antikonvulsan etkileri, L-NAME uygulanımıyla artar. L-NAME' in bu etkisi L-Arjinin tarafından tersine çevrilirken D-Arjinin etkisiz kalır. Guanilat siklaz inhibitörü olan metilen mavisi de PTZ indüklü nöbetlerde diazepam ve klonazepamın koruyucu etkisini artırmıştır (Talarek ve Fidecka, 2003).

L-NAME' in prokonvulsan etkisinin bildirildiği çalışmalar da vardır. Bu çalışmalardan birinde, L-NAME' in penisilin ile indüklenen epileptiform aktivitenin frekans ve amplitüd değerlerini enjeksiyonun hemen sonrasında kısa süreli olarak artırdığı gösterilmiştir (Marangoz ve Bağırıcı, 2001). Farklı bir çalışmada L-NAME' in (50 mg/kg) tek başına konvulsiyona neden olmadığı fakat NO ve NOS aktivitesini azaltarak pikrotoksin nedenli konvulsiyonları güçlendirdiği bildirilmiştir (Jayakumar ve ark., 1999).

L-NAME' in bazı araştırmacılar tarafından beyindeki GABA ve NO etkileşimini göstermek için kullanılmış olması önemlidir (Paul and Jayakumar, 2000). Pikrotoksin indüklü nöbetlerde L-NAME uygulanımı, L-Arjininin (1000 mg/kg, ip) antikonvulsan ve NO-GABA artışını sağlayan etkisini önlemiştir (Paul ve Subramanian, 2002).

Bununla birlikte, L-NAME' in sıçanlarda pikrotoksinle oluşturulan nöbetleri engellemediği de bildirilmiştir (Paul, 2003). Başka bir çalışmada ise L-NAME' in (50 mg/kg, ip) dişi wistar sıçanlarda PTZ-indüklü (80 mg/kg, ip) nöbetlerin yoğunluğunu, frekansını ve süresini artırırken latensini anlamlı bir şekilde kısalttığı gözlendi (Üzüm ve ark., 2005). Uyanık sıçanlarda kainik asitten 30 dakika önce L-NAME (10 mg/kg, ip) verilmesi epileptik nöbetlerin kontrollere göre 10 dakika daha erken başlamasına neden olmaktadır (Rigaud-Monnet ve ark., 1994).

Absans epilepsisi deneylerinde sıklıkla kullanılan WAG/Rij ırkındaki hayvanlardan kaydedilen epileptiform aktiviteyi, L-NAME (7.5-60 mg/kg, ip) uygulanması artırırken nöbet sürelerini etkilemez (Przewlocka ve ark., 1996).

L-NAME' in epileptik etkisi, diğer pek çok madde de olabileceği gibi; dozuna, veriliş yoluna, kullanılan hayvanın türüne ve verilme miktarına göre farklı etkiler yapabilmektedir; örneğin L-NAME, kainat kaynaklı nöbetler üzerinde artırıcı etki

yaparken, pikrotoksin nöbetlerinde latensin uzamasına neden olmaktadır (Kirkby ve ark., 1996).

Ancak bu dozda, bu modelde (penisilin modeli deneysel epilepsi) ve kullanılan dişi Wistar sıçanlarda, L-NAME uygulamasının epileptiform aktivitenin başlamasını kolaylaştırıp, spike frekansını artırarak prokonvulsan bir etki yaptığı söylenebilir. L-NAME' in inaktif izomeri olan D-NAME' in epileptik aktivite üzerine artırıcı veya azaltıcı etkisinin olduğunu belirten bir çalışma bulunmamaktadır.

5.2.3. 7-NI' nın Epilepsiye Etkisi

Sunulan çalışmada nNOS' un kuvvetli bir inhibitörü olan 7-NI (40 mg/kg, ip), penisilin ile oluşturulan deneysel epilepsi modelinde 40. dakikadan itibaren epileptiform aktivitenin spike frekansını kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde azaltarak antikonvulsan bir etki göstermiştir.

Rajasekaran ve ark., (2003) fenobarbiton (PB)' nin sıçanlarda pikrotoksin-indüklü konvulsiyonlar üzerine antikonvulsan etkilerinde nNOS' un rolünü araştırmak için yaptıkları çalışmada, 7-NI' nin 25 ve 50 mg/kg dozlarının etkilerini incelediler. Bu çalışmayla, sıçanlarda, 7-NI' nin pikrotoksin indüklü konvulsiyonları inhibe ettiği gözlemlendi. Ayrıca, PB' nin pikrotoksin-indüklü konvulsiyonlar üzerine koruyucu etkisinin 7-NI aracılığıyla potansiyelize edildiği saptandı. Ancak, PB ve 7-NI' nin antikonvulsan etkilerinin nNOS aktivitesi ve NO konsantrasyonu üzerine yapmış oldukları değişikliklerle korelasyon içerisinde olmadığı anlaşıldı. PB' nin pikrotoksin-indüklü konvulsiyonlar üzerine koruyucu etkisinin 7-NI aracılığıyla artması, nNOS aktivitesindeki azalmanın PB' nin antikonvulsan etkilerinden sorumlu olduğu sonucunu akla getirmektedir (Rajasekaran ve ark.,2003). Ancak, düşük dozlarda uygulanan 7-NI' nin (25 ve 50 mg/kg) beyinde, NOS aktivitesini ve NO konsantrasyonunu azaltmadan deneysel olarak indüklenen konvulsiyonları inhibe ettiği (Rundfeldt ve ark., 1995; Paul, 2003; Paul ve Ekambaram, 2003) ve bu koruyucu etkinin PB ile daha da arttığı gözlemlendi (Paul, 2003; Paul ve Ekambaram, 2003). Böylece, NOS inhibitörlerinin antikonvulsan etkilerinde nonspesifik bir mekanizmanın rol aldığını ve bu antikonvulsan etkinin PB ile arttığını önerdiler. Bu bağlamda, Rajasekaran ve ark., (2003), 7-NI ve PB' nin pikrotoksin-indüklü konvulsiyonları beyinde nNOS aktivitesini azaltmaktan başka bir yolla inhibe edebileceğini gösterdiler.

Pikrotoksin-indüklü epilepsi modelinde yapılan diğer bir çalışmaya göre, sıçanlara 7-NI (50, 100, 150 ve 200 mg/kg) farklı dozlarda uygulandı. 7-NI' nin bu dozlarıyla oluşan değişikliklerin, beyinde, NOS aktivitesi ve NO konsantrasyonu üzerine etkileri incelendi. 7-NI' nin etkileri, 30 dakika önce uygulanan L-Arjinin (500 ve 1000 mg/kg) ile hayvanlarda test edildi. 7-NI' nin, 50 ve 100 mg/kg dozlarının beyinde NOS aktivitesi ve NO konsantrasyonunda belirgin bir değişiklik yapmadığı gözlemlendi. Bununla birlikte, pikrotoksinin konvulsan etkisi bu hayvanlarda doz-bağımlı bir şekilde inhibe edildi. Yüksek doz 7-NI (150 ve 200 mg/kg) uygulanan hayvanlarda NOS aktivitesinde ve NO konsantrasyonundaki zamana bağlı azalmayla pikrotoksin-indüklü konvulsiyonlarda artış gözlemlendi. L-Arjininin yüksek dozu NO konsantrasyonunu artırarak pikrotoksin-indüklü konvulsiyonları inhibe etti. L-Arjininin her iki dozunda 7-NI' nin (50 ve 100 mg/kg) dozlarının konvulsiyonları inhibe etmesini önledi. Yüksek doz 7-NI' nin (150 ve 200 mg/kg) etkileri NO artışıyla etkili bir şekilde önlemlendi. Elde edilen bu sonuçlardan yola çıkarak, 7-NI' nin düşük (50 ve 100 mg/kg) dozlarının nonspesifik bir mekanizmayla konvulsiyonları azaltırken 7-NI' nin (150 ve 200 mg/kg) daha yüksek dozlarının NOS' u inhibe ederek prokonvulsan etki gösterdiğini buldular. Bu durum aynı zamanda 7-NI' nin epileptiform aktivite üzerine etkisinin doza bağımlı olarak değiştiğini göstermektedir. Bununla birlikte, 7-NI' nin koruyucu ve prokonvulsan doz sınırının birbirine oldukça yakın olduğu da anlaşılmaktadır. Bu nedenle 7-NI' nin antiepileptik bir ajan olarak klinik kullanımda yerinin olmayacağı yine bu çalışmada bildirilmiştir (Paul ve Ekambaram, 2004).

Kainik asit (10 mg/kg, sc) verilen sıçanlarda NO üretiminin amigdala ve temporal kortekste 6 kat, diğer korteks bölgelerinde ise daha yavaş olmak üzere yaklaşık 12 kat artış gösterdiği bildirilmiştir. Kainik asitten önce 7-NI ve diazepam verilmesi, kainik asitin oluşturduğu epileptiform aktiviteyi azaltmıştır. Bu NO artışının, NO' nun prokonvulsan etkisinden kaynaklandığı düşünülse de, NO artışının bir savunma mekanizması olarak da ortaya çıkmış olabileceği belirtilmiştir (Mülsch ve ark., 1994). 7-NI' nin kainat kaynaklı nöbetler üzerinde artırıcı bir etki yaptığı, pikrotoksin nöbetlerinde ise latensin artmasına neden olduğunu bildiren çalışmalar da vardır (Kirkby ve ark., 1996).

7-NI' nin, farelerde, elektroşok ve PTZ indüklü nöbetlerde diazepam ve klonazepamın antikonvulsan etkilerini artırdığı gözlemlenmiştir (Talarek ve Fidecka, 2003).

Hipokampal dilimlere penisilin uygulanmasıyla oluşturulan epilepside ise hipokampusun CA1 bölgesindeki nöronlardan NO salınımının arttığı ve penisilin etkisinin 7-NI ve L-NAME ile kısmen tersine çevrildiği görülmüştür. Bu çalışmaya göre NO' nun konvulsiyonu artırıcı etkisinin NOS inhibitörleriyle engellenebileceği ileri sürülmüştür (Lu ve ark., 1998).

Piridoksin hidrokloridin antiepileptik aktivitesi üzerine NO sisteminin etkisinin araştırıldığı başka bir çalışmada NOS inhibisyonu etkileşimini incelemek için; 7-NI, L-NAME ve L-Arjinin kullanılmıştır. Çalışma sonucunda penisilinle oluşturulan epileptiform aktiviteye; L-NAME' in herhangi bir etkisi olmazken, 7-NI ve L-Arjinin epileptik aktivitenin spike frekansını azaltmıştır. Piridoksin ve NO sistemi etkileşimi deneylerinde ise; penisilin ile oluşturulan epileptiform aktiviteye piridoksinin antiepileptik etkisini L-NAME geri çevirirken, 7-NI ve L-Arjinin etkilememiştir (Boşnak ve ark., 2007).

7-NI (Paul and Ekambaram, 2003, 2004) ve nonselektif NOS inhibitörlerinin (Rundfeldt et al., 1995) aynı konvulsiyon modelinde gösterdikleri antikonvulsan ve prokonvulsan etkilerinin doz-bağımlı bir olay olduğu bildirilmiştir.

NO sisteminin epilepsi üzerine etkilerinin incelendiği bu çalışmalar sonucunda, uygulanan bir maddenin prokonvulsan veya antikonvulsan etkisinin olabileceği ve bu etkinin uygulanan maddenin dozuna ve deneysel epilepsi modelinin farklılığına göre değişebileceği anlaşılmaktadır. Ancak, sunulan çalışmada; L-NAME, D-NAME, L-Arjinin, D-Arjinin ve 7-NI' nin epilepsi üzerine etkilerinin daha önce yapılan çalışmalarla çoğunlukla paralellik gösterdiği görülmektedir.

5.3. Leptin ve Ghrelinin Epileptiform Aktiviteye Etkisi ve Bu Etkide NO Sisteminin Rolü

Sinir sistemindeki nöronal yapılardan aynı anda çok sayıda nöroaktif madde salınarak hedef hücreyi etkilemektedir. Bu nöroaktif madde aynı zamanda diğer birinin salınmasını değiştirmekte ve bu şekilde fizyolojik yanıtlar ortaya çıkmaktadır. Bir sistemi oluşturan yapıların birbirinden bağımsız olduğunu veya aralarında fonksiyonel bir ilişki olamayacağını ileri sürmek nasıl mümkün görünmüyorsa, leptin, ghrelin ve NO gibi MSS' de ki birçok fizyolojik ve fizyopatolojik olayda rol oynayan nöroaktif maddelerin de birbirleriyle ilişkilerinin olamayacağını düşünmek mümkün değildir. Bu maddelerin ilişkisini ortaya koymada en iyi yollardan birisi de deneysel modeller

üzerinde yapılan etkileşim çalışmalarıdır. Bu amaçla, son zamanlarda yapılan bazı çalışmalarda, yeme davranışı üzerine etki eden leptin ve ghrelinin epileptiform aktivite üzerine de etkili oldukları tespit edilmiştir (Shanley ve ark., 2002a; 2002b; Ayyıldız ve ark., 2006a; Berilgen ve ark., 2006; Obay ve ark., 2007). Yeme davranışı üzerine NO sisteminin de etkili olduğunu bildiren çalışmalar vardır (Morley ve Flood, 1991; Calapai ve ark., 1992). Üstelik leptin ve ghrelinin NO sistemiyle etkileşim içerisinde olduğu da bilinmektedir (Calapai ve ark., 1999; Gaskin ve ark., 2004). Bu etkileşimlerin bilinmesi, epilepsi mekanizmasının aydınlatılmasına ve yeni antiepileptik ajanların üretilmesine katkıda bulunacaktır.

5.3.1. Leptinin Epileptiform Aktiviteye Etkisi

Sunulan çalışmada, leptin (1 µg, icv) penisilin modeli deneysel epilepside, epileptiform aktivitenin spike frekansını 90. dakikadan itibaren kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artırarak prokonvulsan bir etki göstermiştir.

Leptin, hipotalamusun spesifik bölgelerine sinyaller göndererek enerji homeostazisini kontrol eder. Son yıllarda yapılan araştırmalar leptinin MSS' de yaygın olarak dağıldığını göstermenin yanında, beyinde çok çeşitli görevler yaptığını da göstermiştir (Harvey, 2007b). Primer hipokampal kültürlerdeki aksonlarda ve somatodentritik bölgelerde leptin reseptör immünreaktivitesi bulunmuştur. Aynı zamanda hipokampal sinapslarda da yüksek düzeylerde eksprese edilen leptinin beyin bu bölgesinde sinaptik işlevi modüle ettiği gösterilmiştir (Shanley ve ark., 2002a). Nöronal eksitabilededeki leptin kökenli değişikliklerin besin alımı, ödül davranışları ve antikonvulsan etkilerde rolü olduğu ileri sürülmüştür (Harvey, 2007b).

Shanley ve ark., leptinin enerji dengesini hipotalamik olarak kontrolünden başka, MSS' deki rolüne dair yeni bulgular buldular (Shanley ve ark., 2001; 2002a). Leptin bazı beyin bölgelerinde potasyum kanal trafiğini düzenleyerek nöronal eksitabilededi düzenler. Leptinin glukoza duyarlı hipotalamik nöronları (Spanswick ve ark., 1997) ve nükleus traktus solitariusdaki nöronları (Williams ve Smitt, 2006) ATP' ye duyarlı K⁺ kanallarını aktive ederek inhibe ettiği gösterilmiştir. Benzer şekilde leptin sıçan hipokampal nöronlarını K⁺ iletimini artırarak da inhibe eder. Leptinin, nöronal eksitabilededi düzenlemede önemli olabilecek bir yolla, BK kanallarını aktive ederek hipokampal nöronları inhibe ettiği gösterilmiştir (Shanley ve ark., 2001). Leptinin BK kanal aktivitesini modüle edebilmesi PI3 kinaz bağımlı bir mekanizmayla mümkündür.

Hipokampal nöronlarda BK kanal aktivasyonu sonucu hızlı sonraki hiperpolarizasyon gelişir ve bu aksiyon potansiyellerinin repolarizasyonundan sorumludur. Buna dayanarak BK kanallarının leptin ile aktivasyonunun hipokampal eksitabiliteyi düzenlediği söylenebilir (Shanley ve ark., 2002a). Leptinin sıçan hipokampal nöronlarındaki epileptiform benzeri aktiviteyi PI3-Kinaz aracılı BK kanal aktivitesi ile inhibe ettiği bulunmuştur (Shanley ve ark., 2001). Leptinin hem sinaptik hem de sinaptik olmayan mekanizmalarla hipokampal nöronların eksitabilitesini belirgin bir şekilde değiştirebildiği ve bu şekilde hipokampal hipereksitabiliteyi düzenlemede rolü olabileceği belirtilmiştir (Harvey, 2007b).

Valproik asitle tedavi gören ve obezite gelişen epilepsi hastalarında kilo almayanlara göre; dolaşımdaki leptin ve insülin düzeylerinin belirgin olarak yüksek, ghrelin ve adiponektin düzeylerinin ise belirgin olarak düşük saptanması (Greco ve ark., 2005) epilepsi veya antiepileptik tedavi ile leptin ve ghrelin hormon düzeylerinin değişebileceğini göstermektedir.

Aydın ve ark. (2005), epileptik çocuklarda valproat kullanımı sırasında oluşan kilo alımıyla, düşük glukoz ve yüksek insülin, kortizol, leptin ve NPY düzeylerinin ilişkili olabileceği belirttiler. Bununla birlikte, leptinin epileptiform aktivite üzerine antikonvulsan (Shanley ve ark., 2002a; 2002b) ve prokonvulsan (Ayyıldız ve ark., 2006a) etkilerinin olduğunu bildiren çalışmalar vardır.

Xu ve ark. (2008) kemirgenler üzerinde yapmış oldukları bir çalışmada, leptinin antikonvulsan etkisini ya kortekse direkt enjeksiyonu ya da intranazal uygulananıyla test ettiler. Kemirgenlerde 4-aminopiridinin neokortikal enjeksiyonuyla indüklenen fokal nöbetlerin süresinin leptin enjeksiyonuyla kısaldığı ve şiddetinin azaldığını buldular. Hayvanlarda, intranazal leptin uygulananın beyin ve serum leptin düzeylerini artırdığını ve PTZ-indüklü jeneralize konvulsif nöbetleri geciktirdiğini buldular. Aynı zamanda altta yatan mekanizmanın aydınlatılmasında önemli olan, leptinin hipokampal dilimlerde iyonotropik AMPA glutamat reseptör–aracılı sinaptik iletiyi inhibe ettiğini buldular (Xu ve ark., 2008). Xu ve arkadaşlarının buldukları ve leptin düzeylerinin ketojenik bir diyetin tüketimi boyunca artabildiğinin gösterildiği çalışmalar (Thio ve ark., 2006) göz önüne alındığında, leptinin tetiklediği sinyalin, ketojenik diyetin nöbetlerin baskılanmasında bilinen yararlı etkisinde, rolü olabileceği de düşünülebilir (Murphy, 2005).

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

Ayyıldız ve ark. (2006) penisilin ile indüklenen deneysel epilepsi modelinde, sıçanlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada leptinin doza bağımlı etkisini incelediler. Bu çalışmaya göre epileptiform aktivite oluşturmak amacıyla uygulanan penisilin enjeksiyonundan 30 dakika sonra leptin, icv yoldan farklı miktarlarda (1, 2 veya 10 µg) enjekte edildi. 1 ve 2 µg dozlarda uygulanan leptin, epileptiform aktivitenin ortalama spike frekansını, enjeksiyondan 50, 100, 150 dakika sonra belirgin olarak artırdı. En iyi etki 90. dakikadan sonra başladı ve yaklaşık 200 dakika sonra sonlandı. Bu durumun, leptinin gen ekspresyonu ya da iyon kanallarını direkt aktive etmeyle açıklanamayan yavaş etkisine işaret edebileceğini düşündüler. Penisilinle indüklenen epileptiform aktivitenin frekansını değiştiren en etkin doz leptinin 1 µg, icv enjeksiyonuydu. 10 µg leptin deney boyunca epileptiform aktivitenin frekansını değiştirmede. Leptinin 1, 2 ve 10 µg dozları tüm deney gruplarında epileptiform aktivitenin spike amplitüdünü değiştirmede. Leptinin (1, 2 veya 10µg) tek başına uygulanması penisilin uygulanmayan kontrol hayvanlarında belirgin bir aktivite değişikliğine yol açmadı. İn vivo çalışmalardaki uygun feedback sisteminin, kompensatuar mekanizmaların ve leptin uygulamasına sekonder cevabın in vitro çalışmalarda görülmemesi önemlidir.

Penisilin ile indüklenmiş deneysel epilepsi modeliyle Ayyıldız ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmanın sonuçları sunulan çalışmanın verileri ile uyumludur.

5.3.2. Leptin-NO Etkileşimi

Sunulan çalışmada, penisilin modeli deneysel epilepside, Penisilin + L-Arjinin (1000 mg/kg, ip) + leptin (1 µg, icv) grubunda epileptiform aktivitenin spike frekansı 70. dakikadan itibaren kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldı. Penisilin + L-NAME (60 mg/kg, ip) + leptin (1 µg, icv) uygulanan deney grubunda 30. dakikadan itibaren spike frekansında kontrol grubuna göre bir artış gözlemlense de bu değerler istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Penisilin + 7-NI (40

mg/kg, ip) + leptin (1 µg, icv) grubunda 100. dakikadan itibaren spike frekansında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma tespit edildi. Leptin ile NO' nun etkileşiminin araştırıldığı bu deney gruplarında spike amplitüdü açısından kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi.

Leptin esas etkisini, NPY düzeylerini azaltarak, besin alımı üzerinde gösterir (Calapai ve ark., 1992). Ancak, NPY bulunmayan (-/-) farelere leptin uygulanmasıyla besin alımı, vücut ağırlığı ve yağ kitlesinin azaldığı ve bu farelerin, 48 saat yiyecekten yoksun bırakılmaları durumunda kontrol grubundaki (+/+) duruma benzer şekilde, kilo alımı ve yeme davranışı gözlemlendiği bildirildi (Erickson ve ark., 1996). Bu durum NPY' nin, leptinin besin alımı üzerindeki etkisine aracılık eden tek nörotransmitter olmadığını gösterir (Calapai ve ark., 1998). Bu sebeple, leptinin beyindeki etkisinde görev alan NO' nun, besin alımını kontrol eden diğer nörotransmitter olabileceği düşünülmüştür (Squadrito ve ark., 1994). NPY mRNA ve NOS sıçan hipotalamusundaki nöronlarda birlikte bulunur (Whale ve ark., 1993). L-Arjinin/NO yolağının, NPY sekresyonu üzerine, leptin-aracılı etkide, bir rolü olabileceği de ileri sürülmüştür (Calapai ve ark., 1998). Daha sonra, NPY' nin Y1 reseptörünün aktivasyonu ile NO' nun aşırı üretimine sebep olduğu da bildirilmiştir (Chen ve Cheung., 2005). NOS inhibitörleri, hem obez hem de zayıf sıçanlarda, anorektik bir etki göstererek kilo alımını azaltırlar (Squadrito ve ark., 1993). Bununla birlikte, hem leptin hem de NO hipotalamik yolla etkilerini göstermektedirler (Calapai ve ark., 1994; Elmquist ve ark., 1997). MSS' de leptin ve NO arasındaki ilişkiyi açığa çıkarmak için yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre leptin, sıçanlarda hipotalamik ve hipofizer düzeyde NO serbestlenmesini stimüle eden bir etki göstermektedir (Yu ve ark., 1997).

Leptin reseptörlerinin endotelial hücrelerde eksprese edilmelerine rağmen (Bouloumie ve ark., 1998), NO üretimine etkisi tartışmalıdır. İnvitro çalışmalarda leptin endotelial NO üretimini stimüle eder (Winters ve ark., 2000; Vecchione ve ark., 2002) ve NO aracılı vasorelaksasyonu indükler (Lembo ve ark., 2000; Kimura ve ark., 2000).

İnvivo çalışmaların sonuçları daha az açıktır (Calapai ve ark., 1998). Bazı yazarlar, leptin indüklü vasodilatasyonda NO' nun rolü olduğunu söylerken (Fruhbeck, 1999), bazıları aksini söylemektedir (Lembo ve ark., 2000; Mitchell, 2001; Jalali ve ark., 2001). Anestezi altındaki Wistar sıçanlara iv leptin uyguladığının serum NO konsantrasyonlarını doza bağımlı olarak anlamlı bir şekilde artırdığı saptanmıştır

(Fruhbeck, 1999). Bundan başka, NO aşırı üretiminin obez zucker diyabetik ratların hücre kültürlerinde leptin tarafından azaltıldığı da saptanmıştır (Wang ve ark., 1998).

Bazı araştırmacılar NO' nun, in vivo üretimi üzerine leptin etkisini direkt olarak göstermişlerdir (Calapai ve ark., 1998). Fruhbeck (1999), Fruhbeck ve Gomez-Ambrosi (2001) ile Mastronardi ve ark. (2002) leptin uygulanmasını takiben NO metabolitleri (NOx); nitritler ve nitratlar' ın plazma konsantrasyonlarının arttığını gözlemlediler. Ancak, NO' nun kaynağı net olarak anlaşılamamıştır (Calapai ve ark., 1998). Endotelial hücrelerden ayrı olarak leptin, NO sentezini adipositler (Mastronardi ve ark., 2002), makrofajlar (Raso, 2002) ve MSS (Yu ve ark., 1997) gibi dokularda da stimüle edebilir.

Bununla birlikte, NO; hipofizer hormonlar (Yu ve ark., 1997), lipoliz (Fruhbeck ve Gomez-Ambrosi, 2001; Mastronardi ve ark., 2002), miyokardiyal kontraktilite (Nickola ve ark., 2000) ve eritrosit membranlarının akışkanlığı (Tsuda ve ark., 2002) üzerine leptin etkisine katılabilir.

Shiuchi ve ark. (2001), periferel dokulardan glukoz metabolizmasına bradikinin ve NO' nun leptin-aracılı olası etkilerini incelediler. Bu çalışmaya göre, hipotalamusun ventromedial bölgesine leptin (200 pg/fare) enjeksiyonu, iskelet kasları ve kahverengi yağ dokusunda glukoz alımını artırırken beyaz yağ dokusunda bu artış gözlenmedi. Bradikininin B2 reseptör antagonisti olan Hoe140 ve non-spesifik bir NOS inhibitörü olan L-NAME, iskelet kaslarında leptin-aracılı glukoz alımını inhibe ederken adipoz dokuda bu inhibisyon gözlenmedi. Elde edilen sonuçlara göre, leptinin, bradikinin ve/veya NO sistemini artırmasının iskelet kaslarındaki glukoz aşırı alımının artmasında kısmen de olsa payı olduğu belirtildi.

Leptin (ip) enjeksiyonu, aferent duysal sinirler üzerindeki indirekt rolüyle de NO üretimini etkileyebilir (Brzozowski ve ark., 1999; 2001). İp leptin uygulanımı NO metabolitleri ve cGMP' nin plazma konsantrasyonunu ve üriner atılımını artırır (Beltowski ve ark., 2002). İcv leptin uygulanımı ise sistemik leptin uygulanımı ile kıyaslandığında daha potent bir etki gösterir (Calapai ve ark., 1998). Bunun sebebi, leptinin major etkisini MSS de göstermesi olabilir (Schwartz ve ark., 1996).

Farelere, 1 ve 2 µg dozlarda icv yoldan uygulanan leptinin kilo alımını doza bağımlı bir şekilde düşürdüğü, eş zamanlı olarak, NOS için substrat olan temel amino asit, L-Arjinin (D- Arjinin değil) uygulanması ile bu etkinin antagonize edildiği

gözlenmiştir (Calapai ve ark., 1998a). Nöronal NOS aktivitesinin inhibisyonu besin alımını azaltmaktadır (Morley ve Flood, 1991). Leptinin anorektik etkisini açıklamada da benzer bir mekanizmadan söz edilebilir. Santral leptin uygulanımı diensefalik nöronal NOS aktivitesini azaltır. Bu veriler birlikte ele alındığında beyin L-Arjinin/NO yolağı farelerde kilo alımı ve yeme davranışı üzerine leptinin santral etkisinde görev yapıyor olabilir (Calapai ve ark., 1998b). Diğer bir ifadeyle, leptin ve NOS antagonistlerinin paylaştığı bir etki olarak kilo alımını azaltmaları gösterilebilir (Squadrito ve ark., 1993).

Besin tüketimini ayarlama mekanizmalarında leptin ve NO arasındaki bu etkileşim (Calapai ve ark., 1998), epilepsi üzerine leptinin etkisinde, yine epilepsi üzerine etkisi daha önce araştırılan, NO' nun rolünün olabileceği düşüncesini güçlendirmektedir. Daha önceki çalışmalar da leptinin, MSS' deki etkilerini, NPY ve NO düzeylerini değiştirerek gösterebileceği de belirtilmiştir (Calapai ve ark., 1999; Tu ve ark., 2005).

Uygulanan bir maddenin epileptik etkisinin; veriliş yoluna, kullanılan hayvanın türüne ve dozuna göre değiştiği daha önce ifade edilmişti. Sunulan çalışmada, L-Arjinin ve 7-NI, leptinin prokonvulsan etkisini kontrol (penisilin) grubuna göre oldukça azaltmaktadır. L-NAME ise leptinin prokonvulsan etkisini kontrol (penisilin) grubuna yaklaştırmaktadır. Leptinin NO konsantrasyonlarını değiştirdiği bilinmektedir. NO agonist ve antagonistlerinin leptin ile etkileşimlerinin çalışıldığı bu gruplarda değişen NO konsantrasyonunun epileptiform aktivitenin spike frekansını değiştirdiği düşünülebilir.

5.3.3. Ghrelinin Epileptiform Aktiviteye Etkisi

Sunulan çalışmada, penisilin modeli deneysel epilepside, ghrelinin 0,5-1 ve 2 µg dozlarının spike frekansına etkisi araştırıldı. 0,5 µg, icv ghrelin uygulanan grupta epileptiform aktivitenin spike frekansında bir miktar azalma gözlense de istatistiksel olarak kontrol grubuna göre anlamlı bulunmadı. 2 µg (icv) ghrelin uygulanan grupta epileptiform aktivitenin spike frekansında bir miktar artış gözlense de kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Ghrelinin 1 µg (icv) uygulandığı grupta ise 80. dakikadan itibaren spike frekansında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlendi. Spike amplitüdüleri açısından ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığa rastlanmadı.

Ghrelin reseptörleri beyinde; hipotalamik nukleusta, hipokampusta, substantia nigra, ventral tegmental bölgede, dorsal ve median rafe çekirdeğinde bulunmaktadır (Shintani ve ark., 2001). Ghrelin mRNA ekspresyonunun beyin pek çok bölümünde gösterilmiş olması (Ariyasu ve ark., 2001), onun birçok biyolojik aktivitede düzenleyici rol oynayan bir peptid olduğunu düşündürmektedir. Ghrelin hipotalamusta lateral, arkuat, ventromedial, dorsomedial ve paraventriküler hipotalamik çekirdekler arasında bulunan bir takım nöronlardan da salınır. Farelerde yapılan çalışmalarda insan ghrelinini kandan beyne ve beyinden kana taşıyabilen doyurulabilir bir sistem olduğu görülmüştür (Banks ve ark., 2002).

Valproik asitle tedavi gören ve obezite gelişen epilepsi hastalarında kilo almayanlara göre; dolaşımdaki ghrelin düzeyleri belirgin olarak düşük bulunmuştur (Greco ve ark., 2005). Berilgen ve ark., epilepsi hastalarında, ortalama serum ghrelin düzeylerinin kontrol grubundan belirgin olarak yüksek olduğunu buldular ve ghrelinin nöbet aktivitesinin oluşmasında bir etken olabileceğini önerdiler (Berilgen ve ark., 2006).

Ghrelinin, penisilin modeli deneysel epilepsideki etkilerini inceleyen bir çalışma yoktur. Ancak yakın zamanda yapılan ve ghrelinin epilepsi üzerine etkilerinin incelendiği tek çalışmada Obay ve ark., sıçanlarda PTZ ile indüklenen nöbetlerin ghrelin uygulananımla doza bağımlı olarak baskılandığını buldular. Yapılan bu çalışmaya göre, epileptik nöbetleri oluşturmak üzere uygulanan PTZ (50 mg/kg, ip) enjeksiyonundan 30 dakika önce ghrelin 20, 40, 60 ve 80 mg/kg dozlarında, ip yoldan verildi. PTZ (50 mg/kg, ip) enjeksiyonuyla indüklenen nöbetler kontrol grubunu oluşturdu. PTZ enjeksiyonundan sonra, latensler: birincil miyoklonik jerk, jeneralize klonik nöbetler ve tonik jeneralize ekstensiyon olmak üzere 3 bileşene ayrıldı. Ghrelin uygulananımla doza bağımlı olarak, nöbet sırasında gözlenen bu 3 karakteristik davranış değişikliği belirgin olarak gecikti ve tonik jeneralize nöbet süresi azaldı. Ghrelinin maksimum etkisi ise 80 mg/kg dozunda gözlendi (Obay ve ark., 2007).

Yine Obay ve ark. (2008), epilepsi patogenezinde rol oynayan oksidatif stresdeki artışın ghrelin uygulananımı ile azaldığını, antioksidan enzim aktivitelerindeki azalmanın ise önlendiğini ve böylece nöbet boyunca beyindeki nöronal ölümün azalabileceğini gösterdiler.

Sunulan çalışmada, penisilin modeli deneysel epilepside ghrelinin (1 µg, icv) nöbetleri, daha önce PTZ ile indüklenen epilepsi modelinde yapılan çalışmayla uyumlu bir şekilde, doza bağımlı olarak antiepileptik bir etki ile baskıladığını ancak sonlandırmadığı gözlenmiştir. Penisilin modeli deneysel epilepside antioksidanların epilepsiyi önlediği bilinmektedir (Ayyıldız ve ark., 2006a; 2006b). Bu sebeple, ghrelin belkide penisilin modelindeki azaltıcı etkisini, Obay ve arkadaşlarının (2008) çalışmasındaki gibi oksidan sistemi etkileyerek de gösteriyor olabilir.

5.3.4. Ghrelin-NO Etkileşimi

Sunulan çalışmada, penisilin modeli deneysel epilepside, Penisilin + L-Arjinin (1000 mg/kg, ip) + ghrelin (1 µg, icv) deney grubunda 70. dakikadan itibaren kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlendi. Penisilin + L-NAME (60 mg/kg, ip) + ghrelin (1 µg, icv) grubunda spike frekansı ve amplitüdü açısından kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlemlenmedi. Penisilin + 7-NI (40 mg/kg, ip) + ghrelin (1 µg, icv) deney grubunda ise 60. dakikadan itibaren kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptandı. Ghrelin ile NO' nun etkileşiminin araştırıldığı bu deney gruplarında spike amplitüdü açısından kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlemlenmedi.

Ghrelinin NO sistemi ile etkileşiminin incelendiği birçok çalışma bulunmaktadır. Ancak, ghrelinin antikonvulsan aktivitesinde NO sistemi ile etkileşiminin incelendiği bir çalışma bulunmamaktadır.

Ghrelinin NPY ve GABA aktivitelerini artırarak antiepileptik bir etki oluşturabileceği ve vagal sinir uyarımının epileptik nöbetler üzerine etkisinde rol alabileceği yapılan çalışmalar sonucu destek bulsa da (Handforth ve ark., 1998; Ben-Menachem ve ark., 1999; Date ve ark., 2002; Cowley ve ark., 2003), ghrelinin epileptiform aktivite üzerine etkisinde, başka mekanizmaların da söz konusu olabileceği dile getirilmiştir (Obay ve ark., 2007).

İcv ghrelin uygulaması hipotalamustaki NOS seviyelerini artırır. Ghrelinin gıda alımını artırıcı etkisinin L-NAME uygulanımı ile inhibe olduğu gözlenmiştir (Gaskin ve ark., 2004). Bu durum, ghrelinin en azından bir kısım etkilerini NO üzerinden gerçekleştirdiğini düşündürmektedir (Bilgin ve ark., 2006).

Riediger ve ark., (2006) NO' nun, arkuat nükleusda, ghrelin ile aktive olan nöronları direkt olarak inhibe ettiğini buldular. Başka bir çalışmada, ghrelinin farklı

deneysel koşullar altında in vitro LH salgısını sürekli olarak uyardığı ve LH sekresyonu üzerine ghrelinin bu uyarıcı etkisinin NO varlığını gerektirdiğini buldular (Fernández-Fernández ve ark., 2007).

Bu çalışmayla, ghrelin ve NO etkileşiminin epileptiform aktivite üzerine etkisini açığa çıkararak epilepsi mekanizmasındaki yerini aydınlatmaya çalıştık.

Deneysel olarak epilepsi oluşturmak amacıyla uygulanan penisilin, bikukuline benzer bir etkiyle, GABA sisteminin etkisini baskılayıp beynin inhibisyon dengesini bozarak epileptiform aktivite oluşumuna neden olduğu öne sürülmüştür (Martin, 1991; Marangoz ve ark., 1994).

NO' nun glutamat ve GABA salınımı üzerine etkili olduğu bilinmektedir (Segovia ve ark., 1994; Segieth ve ark., 1995; Semba ve ark., 1995; Ohkuma ve ark., 1996; Casamenti ve ark., 1999). Glutamat salınımı üzerine NO donörlerinin etkisinin incelendiği bir çalışmada; düşük konsantrasyonlarda SNAP' in hipokampusta glutamat salınımını azalttığı, yüksek konsantrasyonlarda ise salınımını artırdığı gözlenmiştir (Segieth ve ark., 1995). GABA salınımı üzerine NO etkisinin incelendiği bir çalışmada ise L-NAME' in düşük konsantrasyonu hipokampusta GABA salınımını artırırken SNP' nin düşük konsantrasyonu inhibe etmiştir. Aksine SNP' nin yüksek konsantrasyonu GABA salınımını artırmaktadır (Segovia ve ark., 1994). NO' nun glutamat ya da GABA düzeylerini etkilediği ve bu etkisinin doza bağımlı olduğu anlaşılmaktadır (Segieth ve ark., 1995; Sequeira ve ark., 1997; Prast ve Philippu, 2001).

Ghrelin ve leptin arasında vücuttaki işlevleri açısından metabolik bir antagonizma bulunmaktadır (Bilgin ve ark., 2006). İcv ghrelin uygulamasının hipotalamusdaki NOS seviyelerini artırdığı gözlenmiştir (Gaskin ve ark., 2004). Ghrelinin NPY ve GABA aktivitelerini artırarak antiepileptik bir etki oluşturabileceği de gösterilmiştir (Cowley ve ark., 2003).

NPY, beyindeki GABA ve somatostatinle aynı nöronlarda birlikte bulunur. NPY' nin GABA ile birlikte aynı nöronlarda bulunması konvulsiyon ve epileptik nöbetlerle ilişkili olabileceğini akla getirmiştir (Furtinger ve ark., 2001). Ardından GABA ve NPY arasındaki etkileşim kanıtlanmış ve nöronal eksitabilitenin düzenlenmesinde önemli olduğu saptanmıştır (Zhang ve Wang., 2005). Colmer ve ark., (1987) spesifik olarak glutamata duyarlı nöronların NPY ile baskılandığını buldular. Bijak (1999) ise NPY' nin kortekste glutamatın aşırı salınımını baskıladığını gösterdi.

İnhibitör bir nörotransmitter olan GABA' nın azalması ya da glutamatın aşırı salınması da epileptik nöronlar üzerindeki sinaptik inhibisyonun kalkmasına ve eksitasyonun artmasına sebep olarak epileptiform aktivitenin oluşmasına kolaylık sağlamaktadır (Marangoz, 1996; Cığır, 2002). Tüm bu bilinenler NPY' nin epileptiform aktiviteyi önlediğinin gösterildiği çalışmalarla uyumludur (Marsh ve ark., 1999; Ho ve ark., 2000; Silva ve ark., 2002).

Sonuç olarak, leptinin epileptiform aktiviteyi baskıladığının gösterildiği pek çok çalışma vardır (Shanley ve ark., 2001; 2002a; 2002b; Murphy, 2005; Xu ve ark., 2008; Erbayat-Altay ve ark., 2008). Ancak, GABA sisteminin etkisini baskıladığı ifade edilen penisilin (Marangoz, 1997) ile indüklenen epileptiform aktiviteyi artırmıştır (Ayyıldız ve ark., 2006a).

Leptin, antiepileptik etkileri gösterilmiş olup (Marsh ve ark., 1999; Ho ve ark., 2000; Silva ve ark., 2002) GABA ve glutamat ile etkileşim içerisinde olduğu bilinen (Zhang ve Wang., 2005) NPY' nin düzeylerini azaltmaktadır (Calapai ve ark., 1992). Bu durumda, aslında leptinin prokonvulsan etki göstermesi beklenir. Ancak leptinin epileptiform aktivite üzerine antikonvulsan etkisinin gözlemlendiği çalışmalar çoğunluktadır. Dolayısıyla, bu etkide yalnızca NPY' yi kullanmadığı ortadadır. NPY' nin NO düzeylerini artırdığı bilinmektedir (Chen ve Cheung, 2005). Ortamda NPY' nin azalması NO miktarını da azaltmalıdır. Bununla birlikte, leptinin NO düzeyleri üzerine etkisi tartışmalıdır (Bouloumie ve ark., 1998). Leptinin, (ghrelinin etkisine ters bir şekilde) NO miktarını azalttığı gözlemlendiği çalışmalar (Wang ve ark., 1998; Calapai ve ark., 1998) dikkate alındığında durum daha karışık bir hal almaktadır.

Ghrelinin NPY ve GABA aktivitelerini artırdığı bilinmektedir (Cowley ve ark., 2003). Bu durumda ghrelinin penisilin ile indüklenen deneysel epilepsi modelinde azalan GABA miktarını NPY aracılı ve/veya direkt etkiyle artırarak antiepileptik etki göstermesi beklenebilir. Ancak ghrelinin NOS seviyelerini artırdığı da gözlenmiştir (Gaskin ve ark., 2004). Penisilin, leptin-ghrelin, NPY ve NO ile GABA-glutamat sistemi arasındaki bu girift ilişki sonucunda epileptiform aktivitede doza bağımlı olarak artma ya da azalma gözlenebilir.

Yaptığımız çalışma sonucu elde ettiğimiz veriler, leptin ve ghrelinin NO sistemini kısmen kullandığı ya da GABA-glutamat sistemini doza bağımlı bir şekilde etkileyerek epileptiform aktiviteyi değiştirebileceğini düşündürmektedir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

- D-NAME ve D-Arjininin; penisilin ile oluşturulan deneysel epilepsi modelinde, epileptiform aktivite üzerine etkileri, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.
- L-Arjinin ve 7-NI; penisilin ile oluşturulan deneysel epilepsi modelinde epileptiform aktiviteyi anlamlı olarak azalttılar.
- L-NAME; penisilin ile oluşturulan deneysel epilepsi modelinde epileptiform aktiviteyi kontrol grubuna göre anlamlı olarak artırdı.
- Leptin; penisilin ile oluşturulan deneysel epilepsi modelinde epileptiform aktiviteyi kontrol grubuna göre anlamlı olarak artırdı.
- Ghrelin; penisilin ile oluşturulan deneysel epilepsi modelinde epileptiform aktiviteyi kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalttı.
- L-Arjinin ve 7-NI; leptinin penisilin ile oluşturulan deneysel epilepsi modelinde epileptiform aktiviteyi artırıcı etkisini inhibe ederek kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde azalttılar.
- L-NAME; leptinin penisilin ile oluşturulan deneysel epilepsi modelinde epileptiform aktiviteyi artırıcı etkisini kısmen azalttı ancak bu etki kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.
- L-Arjinin ve 7-NI; ghrelinin penisilin ile oluşturulan deneysel epilepsi modelinde epileptiform aktiviteyi azaltıcı etkisini güçlendirdi.
- L-NAME; ghrelinin penisilin ile oluşturulan deneysel epilepsi modelinde epileptiform aktiviteyi azaltıcı etkisini kısmen inhibe etse de kontrol grubuna göre bir azalma gözlemlendi. Ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Literatürde, leptin ve ghrelinin penisilinle indüklenen deneysel epilepsi modelinde, NO sistemiyle etkileşiminin incelendiği çalışmalar mevcut değildir. Ayrıca ghrelinin penisilin modeli deneysel epilepsideki etkilerinin incelendiği bir çalışma da yoktur. Bu nedenle sunulan çalışma pek çok yönden bir ilk olma özelliği taşımaktadır. Mevcut literatür verilerine göre, leptin ve ghrelinin epileptiform aktivite üzerine etkilerinin ve etki mekanizmalarının tam olarak açıklığa kavuşturulamadığı görülmektedir. Bu nedenle, leptin ve ghrelinin farklı teknik ve etkileşimlerle yapılacak çalışmalar sonucunda etki mekanizmalarının aydınlığa kavuşturulması gerekmektedir. Böylece, epilepsi tedavisine yönelik yeni açılımlar ortaya çıkabilir.

7. KAYNAKLAR

- Abraham, M.R., Al-Sharafi, B.A., Saavedra, G., Khardori, R. (1999) Fasting serum insulin concentrations are associated with QTc duration independent of serum leptin percent body fat and BMI. *Diabetes Care*, **22**:1917-1918.
- Altay E.E., Bilir, E. (1999) Demans ve Epilepsi. *Demans Dizisi*, **4**:116-128.
- Andersson, K.E., Persson, K. (1994) Nitric oxide synthase and nitric oxide-mediated effects in lower urinary tract smooth muscle. *World J. Urol.*, **12** (5): 274-80.
- Andreassi, J.L. (2000). *Psychophysiology Human Behavior and Physiological Response. Fourth Ed.*, Lawrence Erlbaum Associates.
- Ariyasu, H., Takaya, K., Tagami, T., Ogawa, Y., Hosoda, K., Akamizu, T. et al. (2001) Stomach is a major source of circulating ghrelin and feeding state determines plasma ghrelin-like immuno reactivity levels in humans. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism.*; **86**: 4753- 4758.
- Arnaldi, G., Mancini, T., Kola, B., Appolloni, G., Freddi, S., Concettoni, C., Bearzi, I., Masini, A., Boscaro, M., Mantero, F. (2003) Cyclical Cushing's syndrome in a patient with a bronchial neuroendocrine tumor (typical carcinoid) expressing ghrelin and growth hormone secretagogue receptors. *J. Clin. Endocrinol Metab.* **88** (12): 5834-5840.
- Auwerx, J., Staels, B. (1998) Leptin. *Lancet*, 351: 737.
- Aydın, K., Serdaroglu, A., Okuyaz, C., Bideci, A., Gucuyener, K. (2005) Serum insulin, leptin, and neuropeptide y levels in epileptic children treated with valproate. *J. Child. Neurol.*, **20**(10):848-51.
- Aydın, S., Ozkan, Y., Caylak, E., Aydın, S. (2006a) Ghrelin and its biochemical functions. *Turkiye Klinikleri. J. Med. Sci.*, **26**: 272-283.
- Aydın, S., Ozercan, İ.H., Dagli, F, Aydın, S., Kumru, S., Kilic, N., Sahin, İ., Ozercan, M.R. (2007) Ghrelin is present in human teeth. *J. Biochem Mol. Biol.*
- Aydın, S., Ozkan, Y., Kumru, S. (2006b) Ghrelin is present in human colostrum, transitional and mature milk. *Peptides*. **27**: 878-882.
- Ayyıldız, M., Yıldırım, M., Açar, E., Baltacı, A.K. (2006a) The effect of leptin on penicillin induced epileptiform activity in rats. *Brain Res. Bull.*, **30**: 374-378.
- Ayyıldız, M., Yıldırım, M., Açar, E. (2006b). The involvement of nitric oxide in the anticonvulsant effects of alpha-tocopherol on penicillin-induced epileptiform activity in rats. *Epilepsy Res.*, **73**: 166-172.

- Ayyıldız, M., Coskun, S., Yıldırım, M., Agar, E. (2007) The effects of ascorbic acid on penicillin-induced epileptiform activity in rats. *Epilepsia*, **48(7)**:1388-95.
- Bado, A., Levasseur, S., Le Marchand-Brustel, Y., Lewin, M.J.M. (1998) The stomach is a source of leptin. *Nature*, **394**: 790-3.
- Bagetta, G., Iannone, M., Scorsa, A.M., Nistico, G. (1992). Tacrine induced seizures and brain damage in LiCl-treated rats can be prevented by N-omega-nitro-L-arginine methyl ester. *Eur. J. Pharmacol.* **213**, 301-304.
- Bagetta, G., Iannone, M., Del Duca, C., Nistico, G. (1993) Inhibition by N omega-nitro-L-arginine methyl ester of the electrocortical arousal response in rats. *Br. J. Pharmacol.*, **108(4)**, 858-60.
- Bailey, J.C., Turner, R.C. (1996) Metformin. *N Engl J Med*, **334(9)**: 574-579.
- Banks, W.A., Kastin, A.J., Huang, W., Jaspan, J.B., Maness, L.M. (1996) Leptin enters the brain by a saturable system independent of insulin. *Peptides*, **17**: 305-11.
- Banks, W.A., Tschöp, M., Robinson, S.M., Heiman, M.L. (2002) Extent and direction of ghrelin transport across the blood–brain barrier is determined by its unique primary structure. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*; **302**: 822–827.
- Baylis C, Vallance P. (1998) Measurement of nitrite and nitrate levels in plasma and urine-what does this measure tell us about the activity of the endogenous nitric oxide system? *Curr. Opin. Nephrol Hypertens*; **7**:59– 62.
- Başar, E., Schürman, M., Demiralp, T., Başar-Eroğlu, C., Ademoğlu, A. (2001) Eventrelated oscillations are “real brain responses”-Wavelet analysis and new strategies. *Int. J. Psychophysiol.*, **39**, 91–127.
- Beltowski, J., Wo'jcicka, G., Borkowska, E. (2002) Human leptin stimulates systemic nitric oxide production in the rat. *Obes Res.*, **10**: 939– 46.
- Ben-Menachem, E., Hellstrom, K., Waldton, C., Augustinsson, L.E. (1999) Evaluation of refractory epilepsy treated with vagus nevre stimulation for up to 5 years. *Neurology*; **52**: 265-7.
- Bennet, B.D., Solar, G.P., Yuan, J.O., Thomas, G.R. (1996) A role for leptin and its cognate receptor in haematopoiesis. *Curr. Biol.*, **6**:1170- 80.
- Berilgen, M.S., Mungen, B., Üstündağ, B., Demir, C. (2006) Serum ghrelin levels are enhanced in patients with epilepsy. *Seizure*, **15**: 106–11.
- Bilgin, H.M. (2006) Ghrelin; Gündemdeki Hormon. *Dicle Tıp Dergisi*, **33(4)**: 268-272.

- Bijak, M. (1999) Neuropeptide Y suppresses epileptiform activity in rat frontal cortex and hippocampus in vitro via different NPY receptor subtypes. *Neurosci Lett.*; **268**: 115-118.
- Bilo, L., Meo, R., Valentino, R., Buscaino, G.A., Striano, S., Nappi, C. (1991) Abnormal pattern of luteinizing hormone pulsatility in women with epilepsy. *Fertil Steril*, **55**: 705-11.
- Biziere, K., and Chambon, J.P. (1987) Animal models of epilepsy and experimental seizures. *Rev.Neural*. **143**, 329-340.
- Bjorbaek, C., Elmquist, J.K., Michl, P., Ahima, R.S., van Bueren, A., McCall, A.L., Flier, J.S. (1998) Expression of leptin receptor isoforms in rat brain microvessels. *Endocrinology*, **139**: 3485-91.
- Blum, W.F. (1997) Leptin:the voice of the adipose tissue. *Horm Res*, **48**:2-8.
- Boden, G., Chen, X., Mozzoli ,M., Ryan, I. (1996) Effect of fasting on serum leptin in normal human subjects. *J. Clin. Endocrinol Metab.*, **81**: 3419-23.
- Boşnak, M., Ayyildiz, M., Yildirim, M, Agar, E. (2007) The role of nitric oxide in the anticonvulsant effects of pyridoxine on penicillin-induced epileptiform activity in rats. *Epilepsy Research.*, **76**, 49-59.
- Boxall, A.R., Garthwaite, J., (1996). Long-term depression in rat cerebellum requires both NO synthase and NO-sensitive guanylyl cyclase. *Eur. J. Neurosci*. **8**, 2209-2212.
- Bowers, C.Y. (2001) Unnatural growth hormone-releasing peptide begets natural ghrelin. *J. Clin. Endocrinol Metab.*, **86**: 1464-1469.
- Bowman, A., Drummond, A.H. (1984) Cyclic GMP mediates neurogenic relaxation in the bovine retractor penis muscle. *British Journal of Pharmacology*, **81**, 665-74.
- Bouloumie, A., Drexler, H.C., Lafontan, M., Busse, R. (1998) Leptin, the product of Ob gene, promotes angiogenesis. *Circ. Res.*, **83**:1059–66.
- Boxall, A.R., Garthwaite, J., (1996). Long-term depression in rat cerebellum requires both NO synthase and NO-sensitive guanylyl cyclase. *Eur. J. Neurosci*. **8**: 2209-2212.
- Broglio F, Arvat E, Benso A, et al. (2001) Ghrelin, natural GH secretagogue produced by the stomach, induces hyperglycemia and reduces insulin secretion in humans. *J. Clin. Endocrinol Metab*; **86**: 5083-5086.
- Brzozowski, T., Konturek, P.C., Konturek, S.J., Pajdo, R., Duda, A., Pierzchalski, P., et al. (1999) Leptin in gastroprotection induced by cholecystokinin or by a meal.

- Role of vagal and sensory nerves and nitric oxide. *Eur. J. Pharmacol*, **374**: 263-6.
- Brzozowski, T., Konturek, P.C., Pajdo, R., Kwiecien, S., Ptak, A., Sliwowski, Z. et al. (2001) Brain-gut axis in gastroprotection by leptin and cholecystokinin against ischemia-reperfusion induced gastric lesions. *J. Physiol Pharmacol*, **52**:583-602.
- Buisson, A., Lakhmeche, N., Verrecchia, C., Plotkine, M., Boulu, R.G. (1993) Nitric oxide: an endogenous anticonvulsant substance. *Neuroreport*, **4(4)**, 444-6.
- Calapai, G., Corica, F., Allegra, A., Corsonello, A., Sautebin, L., De Gregorio, T., Di Rosa, M., Costantino, G., Buemi, M. ve Caputi, A.P. (1998) Effects of intracerebroventricular leptin administration on food intake, body weight gain and diencephalic nitric oxide synthase activity in the Mouse. *British Journal of Pharmacology*, **125**, 798- 802.
- Calapai, G., Squadrito, F., Altavilla, D., Zingarelli, B., Campo, G.M., Cilia, M. & Caputi, A.P. (1992). Evidence that nitric oxide modulates drinking behaviour. *Neuropharmacol.*, **31**, 761 - 764.
- Calapai, G., Mazzaglia, G., Cilia, M., Zingarelli, B., Squadrito, F. & Caputi, A.P. (1994). Mediation by nitric oxide formation in the preoptic area of endotoxin and tumor necrosis factor-induced inhibition of water intake in the rat. *Br. J. Pharmacol.*, **111**; 1328- 1332.
- Calapai, G., Corina, F., Corsonello, A., Sautebib, L., Di Rosa, M., Campo, G.M., et al. (1999) Leptin increases serotonin turnover by inhibition of brain nitric oxide synthesis, *J. Clin. Invest.*, **104**, 975–982.
- Campfield LA, Smith FJ, Guisez Y, Devos R, Burn P. (1995) Recombinant mouse ob protein: evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks. *Science*, **269**: 546 -9.
- Carlini, V.P., Varas, M.M., Cragnolini, A.B., Schioth, H.B., Scimonelli, T.N., de Barioglio, S.R. (2004) Differential role of the hippocampus, amygdala and dorsal raphe nucleus in regulating feeding, memory, and anxiety-like behavioral responses to ghrelin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **313 (3)**: 635-641.
- Casamenti, F., Prosperi, C., Scali, C., Giovannelli, L., Colivicchi, M.A., Sausone-Pellegrini, M.S., Pepeu, G., (1999). Interleukin-1 beta activates forebrain glial cells and increases nitric oxide production and cortical glutamate and GABA release invivo: implications for Alzheimer's disease. *Neuroscience*, **91**, 831-842.
- Cendan, J.C., Topping, D.L., Pruitt, J., Snowdy, J., Copeland, E.M., Lind, D.S. (1996) Inflammatory mediators stimulate arginine transport and arginine-derived nitric oxide production in a murine breast cancer line. *J. Surg. Res.*, **60(2)**: 248-88.

- Chehab, F.F., Lim, M.E., Lu, R. (1996) Correction of the sterility defect in homozygous obese female mice by treatment with the human recombinant leptin. *Nat. Genet.*, **12**: 318- 20.
- Chen, H., Charlat, O., Tartaglia, L.A., Woolf, E.A., Weng, X., Ellis, S.J., Lakey, N.D., Culpepper, J., Moore, K.J., Breitbart, R.E., Duyk, G.M., Teper, R.I., Morgenstern J.P. (1996) Evidence that the diabetes gene encodes the leptin receptor: Identification of a mutation in the leptin receptor gene in db/db mice. *Cell*, **84**:491-495.
- Chen, S.H., Cheung, R.T.F. (2005) Neuropeptide Y and its receptor analogs differentially modulate the immunoreactivity for neuronal or endothelial nitric oxide synthase in the rat brain following focal ischemia with reperfusion. *Journal of Biomedical science*; **12**: 267-278.
- Chiu, K.C., Chu, A., Chuang, L.M., Saad, M.F. (2004) Association of leptin receptor polymorphism with insulin resistance. *Eur. J. Endocrinol.*, **150**: 725-729.
- Christos, S., Mantzoros, M.D. (1999) The role of leptin in human obesity and disease: A review of current evidence. *Ann Intern Med*, **130**: 671.
- Ciğer, A. (2002) Erişkinlerde Epilepsi. *Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji ders notları*; **5**: 115-118.
- Clayton, P.E., Cowell, C.T. (2000) Safety issues in children and adolescents during growth hormone therapy: a review. *Growth Horm IGF Res.*, **10**:306-17.
- Cockerell, O.C., Johnson, A.L., Sander, J.W.A.S., Hart, Y.M., Shorvon, S.D. (1995) Remission of epilepsy: results from the National General Practice Study of Epilepsy. *Lancet*, **346**:140-44.
- Colmers, W.F., Pronchuc, N., Torok-Both, C., Ho, M., Aronyk, K., McKean, J., Snyder, T., Sinclair, D.B., Javidan, M., Beck-Sickinger, A.G. (1997) Neuropeptide Y2 and other receptors inhibit synaptic excitation in epileptic human brain. *Epilepsia*; **38**:8-12.
- Considine, R.V., Caro, J.F. (1997) Leptin and the regulation of body weight. *Int J Biochem Cell Biol*, **29**: 1255-1272.
- Consolo, S., Casseti, A., Ubaldi, M.C. (1999). The parafascicular thalamic nucleus but not the prefrontal cortex facilitates the nitric oxide:cyclic GMP pathway in rat striatum. *Neuroscience* **91**: 51–58.
- Cowley, M.A., Smith, R.G., Diano, S., Tschop, M., Pronchuk, N., Grove, K.L., et al. (2003) The distribution and mechanism of action of ghrelin in the CNS demonstrates a novel hypothalamic circuit regulating energy homeostasis. *Neuron*; **37**(4):649–61.

- Crepel, F., Jaillard, D., (1990). Protein kinases, nitric oxide and long-term depression of synapses in the cerebellum. *NeuroReport* **1**: 133–136.
- Cummings, E., Purnell, J.Q., Frayo S.R., et al. (2001) Apreprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. *Diabetes*, **50**: 1714-1719.
- Cusin, I., Sainsbury, A., Doyle, P., Rohner-Jeanrenaud, F., Jeanrenaud, B. (1995) The ob gene and insulin, a relationship leading to clues to the understanding of obesity. *Diabetes*, **44**: 1467-70.
- Date, Y., Kojima, M., Hosoda, H., et al. (2000) Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rats and humans. *Endocrinology*, **141**: 4255-4261.
- Date, Y., Murakami, N., Toshinai, K., Matsukura, S., Niiijima, A., Matsuo, H., et al. (2002) The role of the gastric afferent vagal nerve in ghrelin-induced feeding and growth hormone secretion in rats. *Gastroenterology*; **123**(4):1120–8.
- Dawson, T.M., Dawson, V.L., Snyder S.H. (1992) A novel neuronal messenger molecule in brain the free radical, nitric oxide. *Ann. Neurol.*, **32**: 297- 311.
- Davies, M.G., Fulton, G.J., Hagen, P.O. (1995) Clinical biology of nitric oxide. *Br. J. Surg.*, **82**:1598-610.
- De Deyn, P.P., D’Hooge, R., Marescau, B. et al. (1992) Chemical models of epilepsy with some reference to their applicability in the development of anticonvulsants. *Epilepsy Res.*, **12**: 87-110.
- Del-Bel, E.A., Oliveira, P.R., Oliveira, J.A.C., Mishra, P.K., Jobe, P.C., Garcia-Cairasco, N. (1997) Anticonvulsant and proconvulsant roles of nitric oxide in experimental epilepsy models. *Med. Biol. Res.*, **30**: 971-979.
- Deguchi, T. Yoshioka, M. (1982) L-Arginine identified as an endogenous activator for soluble guanylate cyclase from neuroblastoma cells. *Journal of Biological Chemistry*, **257**, 10147-51.
- De Sarro, G., Di Paola, E. D., De Sarro, A. & Vidal, M.J. (1993). L-arginine potentiates excitatory amino acid-induced seizures elicited in the deep prepiriform cortex. *Eur. J. Pharmacol*, **230**: 151-158.
- De Sarro, G., Gareri, P., Falconi, U., Sarro, A.D. (2000) 7-nitroindazole potentiates the antiseizure activity of some anticonvulsants in DBA/2 mice. *European Journal of Pharmacology*, **394**: 275-288.

- Dev, K.K., Morris, B.J., (1994). Modulation of α -amino-3-hydroxy-5- methylisoxazole-4-propionic acid (AMPA) binding sites by nitric oxide. *J. Neurochem.* **63**, 946–952.
- Dingledine, R., Gjerstad, L. (1980) Reduced inhibition during epileptiform activity in the in vitro hippocampal slice. *J. Physiol (Lond)*; **305**: 297-313.
- Donahoo, W.T., Jensen, D.R., Yost, T.J., Eckel, R.H. (1997) Isoproterenol and somatostatin decrease plasma leptin in humans: a novel mechanism regulating leptin secretion. *J. Clin. Endocrinol Metab.*, **82**: 4139- 43.
- Durakoglugil, M., Irving, A.J., Harvey, J. (2005) Leptin induces a novel form of NMDA receptor-dependent long-term depression. *J. Neurochem.*, **95(2)**:396-405.
- Duxbury, M.S., Waseem, T., Ito, H., Robinson, M.K., Zinner, M.J., Ashley, S.W., Whang, E.E. (2003) Ghrelin promotes pancreatic adenocarcinoma cellular proliferation and invasiveness. *Biochem Biophys Res Commun.* **309 (2)**: 464-468.
- El-Khayat, H.A., Shatla H.M., Ali G.K., Abdulgani M.O., Tomoum H.Y., Attya H.A. (2003) Physical and hormonal profile of male sexual development in epilepsy. *Epilepsia*, **44**: 447-52.
- Eiserich, J.P., Patel, R.P., O’Donnell, V.B. (1998) Pathophysiology of nitric oxide and related species: free radical reactions and modification of biomolecules. *Mol Aspects Med*; **19**: 221-357.
- Elmqvist, J.K., Ahima, R.S., Maratos-Flier, E., Flier, J.S. & Saper, C.B. (1997). Leptin activates neurons in ventrobasal hypothalamus and brainstem. *Endocrinology*, **138**, 839- 842.
- Elmqvist, J.K., Bjorbaek, C., Ahima, R.S., Flier, J.S., Saper, C.B. (1998) Distributions of leptin receptor mRNA isoforms in the rat brain. *J. Comp. Neurol.*, **395**: 537-47.
- Erbayat-Altay, E., Yamada, K.A., Wong, M., Thio, L.L. (2008) Increased severity of pentylenetetrazol induced seizures in leptin deficient ob/ob mice. *Neuroscience Letters*, **433**: 82–86.
- Erdemli, G., Krnjevic, K., (1995). Nitric oxide tonically depresses a voltage- and Ca-dependent outward current in hippocampal slices. *Neurosci. Lett.* **201**, 57-60.
- Ergün, A. (1999) Leptin (Ob protein). *T. Klin. tip bilimleri*, **19**:130-136.
- Erickson, J.C., Hollopeter, G. & Palmiter, R.D. (1996). Attenuation of the obesity syndrome of ob/ob mice by the loss of neuropeptide Y. *Science*, **274**, 1704-1707.

- Engel, J.R. and Schwartzkroin, P.A. What Should Be Modeled? (2006) *Models of Seizures and Epilepsy*, **1**; 1-14.
- Escobar-Morreale, H.F., Escobar del Rey, F., Morreale de Escobar, G. (1997) Thyroid hormones influence serum leptin concentrations in the rat. *Endocrinology*, **138**: 4485-8.
- Fernández-Fernández, R., Tena-Sempere, M., Roa, J., Castellano, J.M., Navarro, V.M., Aguilar, E., Pinilla, L. (2007) Direct stimulatory effect of ghrelin on pituitary release of LH through a nitric oxide-dependent mechanism that is modulated by estrogen. *Reproduction.*; **133(6)**:1223-32.
- Ferri, R., Cosentino, F. I.I., Elia, M., Musumeci, S.A, Marinig, R., Bergonzi, P. (2001) Relationship between delta, sigma, beta and gamma EEG bands at REM sleep onset and REM sleep end. *Clinical. Neurophysiology.*, **112**, 2046–2052.
- Figlewicz, D.P., Evans, S.B., Murphy, J., Hoen, M., Baskin, D.G. (2003) Expression of receptors for insulin and leptin in the ventral tegmental area/substantia nigra (VTA/SN) of the rat. *Brain Res.*, **964**: 107-15.
- Fisher, R.S. Animal models of epilepsies. (1989) *Brain Res. Rev.*, **14**: 245-278.
- Florkowski, C.M., Collier, G.R., Zimmet, P.Z., Livesey, J.H., Espiner, E.A., Donald, R.A. (1996) Low-dose growth hormone replacement lowers plasma leptin and fat stores without affecting body mass index in adults with growth hormone deficiency. *Clin. Endocrinol*, **45**: 769-73.
- Förstermann, U., Kleinert, H., (1995). Nitric oxide synthase: expression and expressional control of the three isoforms. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **352**, 351-364.
- Friedman JM. (1997) Role of leptin and its receptors in the control of body weight. In: (Blum WF, Kiess W & Rascher W eds.) *Leptin-the voice of adipose tissue*. Johann Ambrosius Barth Verlag, Germany, 3-22.
- Friedman, J.M. (1998) Leptin, leptin receptors, and the control of body weight. *Nutrition*, **56**:38-46.
- Fruhbeck, G. (1999) Pivotal role of nitric oxide in the control of blood pressure after leptin administration. *Diabetes*; **48**:903– 8.
- Fruhbeck, G., Gomez-Ambrosi, J. (2001) Modulation of the leptin-induced white adipose tissue lipolysis by nitric oxide. *Cell Signal*, **13**: 827– 33.
- Fujisaki, Y., Yamauchi, A., Dohgu, S., Sunada, K., Yamaguchi, C., Oishi, R., Kataoka, Y. (2002) Cyclosporine A-increased nitric oxide production in the rat dorsal hippocampus mediates convulsions. *Life Sciences*, **72**: 549–556.

- Furchgott R.F., Zawadzki J.V. (1980) The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*; **288**: 373-6.
- Furtinger, S., Pirker, S., Czech, T., Baumgartner, C., Ransmayer, G., Sperk, G. (2001) Plasticity of Y1 and Y2 receptors and neuropeptide Y fibers in patients with temporal lobe epilepsy. *J. Neurosci*; **21**:5804-5812.
- Gale, S.M., Castracane, D., Mantzoros, C.S. (2003) Ghrelin and the regulation of energy homeostasis. *Clinical Laboratory International*, **27**: 12-14.
- Gallagher, B.B., Murvin, A., Flanigin, H.F., King, D.W., Luney, D. (1984) Pituitary and adrenal function in epileptic patients. *Epilepsia*; **25**: 683-9.
- Garthwaite, J. (1991) Glutamate, nitric oxide and cell-cell signaling in the nervous system. *Trends Neurosci.*, **14**, 60-67.
- Garthwaite, J., Garthwaite, G., Palmer, R.M.J., Moncada, S., (1989). NMDA receptor activation induces nitric oxide synthesis from arginine in rat brain slices. *Eur. J. Pharmacol.* **172**, 413–416.
- Gaskin, F.S., Farr, S.A., Banks, W.A., Kumar, V.B., Morley, J.E. (2004) Ghrelin-induced feeding is dependent on nitric oxide. *Peptides*; **24**: 913- 918.
- Ghe, C., Cassoni, P., Catapano, F., Marrocco, T., Deghenghi, R., Ghigo, E., Muccioli, G., Papotti, M. (2002) The antiproliferative effect of synthetic peptidyl GH secretagogues in human CALU-1 lung carcinoma cells. *Endocrinology*. **143** (2): 484-491.
- Gillespie, J.S., Liu, X.R. Martin W. (1989) The effects of L-arginine and NG-monomethyl L-arginine on the response of the rat anococcygeus muscle to NANC nerve stimulation. *British Journal of Pharmacology*; **98**, 1080-2.
- Gloor, P. (1984) Electrophysiology of generalized epilepsy. *London Academic Press*, 107-136.
- Gnanapavan, S., Kola, B., Bustin, S.A., Morris, D.G., McGee, P., Fairclough, P., Bhattacharya, S., Carpenter, R., Grossman, A.B., Korbonits, M. (2002) The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GHS-R, in humans. *Clin. Endocrinol Metab.*, **87**: 2988-2991.
- Goldman, L., Bennet, J.C. (2000) *The textbook of Medicine*. **21. Edition**. W.B. Saunders Company. Philadelphia.
- Greco, R., Latini, G., Chiarelli, F., Iannetti, P., Verrotti, A. (2005) Leptin, ghrelin, and adiponectin in epileptic patients treated with valproic acid. *Neurology*. **13**; **65(11)**: 1808-9.

- Grill, H.J., Schwartz, M.W., Kaplan, J.M., Foxhall, J.S., Breininger, J, Baskin, DG. (2002) Evidence that the caudal brainstem is a target for the inhibitory effect of leptin on food intake. *Endocrinology*, **143**: 239-46.
- Gualillo, O., Caminos, J., Blanco, M., et al. (2001) Ghrelin, a novel placental-derived hormone. *Endocrinology*, **142**: 788-794.
- Gualillo, O., Lago, F., García, M., Menéndez, C., Señarís, R., Casanueva, F.F., Diéguez, C. (1999) Prolactin stimulates leptin secretion by rat white adipose tissue. *Endocrinology*, **140**: 5149- 53.
- Gukovskaya, A., Pandol, S. (1994) Nitric oxide production regulates cGMP formation and calcium influx in pancreatic acinar cells. *Am J Physiol*; **266(3 Pt 1)**: G350-6.
- Guyton, A.C. (2001) *Textbook of Medical Physiology*, **10. Ed.**, Saunders Comp. London.
- Gülle, K., Karaöz, E. (2000) Leptinler. *T. Klin. Tıp Bilimleri*, **20**:112-121.
- Gültekin, H., Şahin, S., Budak, N. (2004) Beslenme davranışı: Farmakolojik hedef moleküller. *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, **13(1)**: 77-87.
- Hakansson, M.L., Brown, H., Ghilardi, N., Skoda, R.C., Meister, B. (1998) Leptin receptor immunoreactivity in chemically defined target neurons of the hypothalamus. *J. Neurosci.*, **18**: 559-72.
- Handforth, A., DeGiorgio, C.M., Schachter, S.C., Uthman, B.M., Naritoku, D.K., Tecoma, E.S., et al. (1998) Vagus nevre stimulation therapy for partial onset seizures. A randomised activecontrol trial. *Neurology*; **51**:48-55.
- Han, D., Yamada, K., Senzaki, K., Xiong, H., Nawa, H., Nebeshima, T. (2000) Involvement of nitric oxide in pentylenetetrazole-induced kindling in rats. *Journal of Neurochemistry*, **74**: 792-798.
- Harvey, J. (2007a) Leptin: a diverse regulator of neuronal function. *J Neurochem*, **100(2)**: 307-13.
- Harvey, J. (2007b) Leptin regulation of neuronal excitability and cognitive function. *Current Opinion in Pharmacology*, **7**: 643–647.
- Harvey, J., Mc Kenna, F., Herson, P.S., Spanswick, D., Ashford, L.J. (1997) Leptin activates ATP-sensitive potassium channels in the rat insulin-secreting cell line, *CRI-G1*. *J. Physiol.*, **504**: 527-535.
- Hatemi, H. (1997) Leptin ve vücut ağırlığı kontrolü. *Endokrinolojide Yönelişler*, **6**: 169.
- Hauser, W.A, Annegers, J.F., Rocca, W.A. (1996) Descriptive epidemiology of epilepsy. *Mayo Clin. Proc.*, **71**: 578-86.

- Heavner, J.E., Shi, B., Pitkanen, M. (1995). Effects of nitric oxide synthesis inhibition with or without nitric oxide inhalation on responses to systemic cocaine administration in rats. *Life Sci.*, **57(7)**, 715-28.
- Herberg, L.J., Grottick, A., Rose, I.C. (1995) Nitric oxide synthesis, epileptic seizures and kindling. *Psychopharmacology (Berl)*, **119(1)**, 115-23.
- Herzog, A.G., Coleman, A.E., Jacobs, A.R., Klein, P., Friedman, M.N., Drislane, F.W., et al. (2003) Interictal EEG discharges, reproductive hormones, and menstrual disorders in epilepsy. *Ann Neurol.*, **54**: 625-37.
- Herzog, A.G. (1989) A hypothesis to integrate partial seizures of temporal lobe origin and reproductive endocrine disorders. *Epilepsy Res.*, **3**: 151-9.
- Hewson, A.K., Dickson, S.L. (2000) Systemic administration of ghrelin induces Fos and Egr-1 proteins in the hypothalamic arcuate nucleus of fasted and fed rats, *J Neuroendocrinol*; **12**: 1047-1049.
- Hibbs, J.B., Taintor, R.R. Vavrin, Z. (1987) Macrophage cytotoxicity: role for L-arginine deiminase and imino nitrogen oxidation to nitrite. *Science*, **235**, 475-6.
- Hill, R.G., Simmonds, M.A., Straughn, D.W. (1973) A comparative study of some convulsant substances as gamma-aminobutyric acid antagonist in the feline cerebral cortex. *Br. J. Pharmacol*; **49**: 37-51.
- Hoggard, N., Hunter, L., Duncan, J.S., Williams, L.M., Trayhurn, P., Mercer, J.G. (1997) Leptin and leptin receptor mRNA and protein expression in the murine fetus and placenta. *Proc Natl Acad Sci*, **94**: 11073-8.
- Holmes, G.L. (1991) Effect of non-sex hormones on neuronal excitability, seizures, and the electroencephalogram. *Epilepsia*, **32(6)**: S11-8.
- Ho, M.W., Beck-Sickinge, A.G., Colmers, W.F. (2000) Neuropeptide Y5 receptors reduce synaptic excitation in proximal subiculum, but not epileptiform activity in rat hippocampal slices. *J. Neurophysiol*; **83**:723-34.
- Horvath, T.L., Diano, S., Sotonyi, P., Heiman, M., Tschop, M. (2001) Ghrelin and the regulation of energy balance- a hypothalamic perspective (Review). *Endocrinology*, **142**: 4163- 4169.
- Hosoda H, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K. (2000) Purification and characterization of rat des-Gln14-ghrelin, a second endogenous ligand for the growth hormone secretagogue receptor. *J. Biol. Chem.*, **275**: 1995-2000.
- Ignaro, L.J. (1990) Nitric oxide. A novel signal transduction mechanism for transcellular communication. *Hypertension*, **16(5)**: 477-83.

- Itzhak, Y. (1994) Blockade of sensitization to the toxic effects of cocaine in mice by nitric oxide synthase inhibitors. *Pharmacol Toxicol.* **74**, 162-166.
- Iwaniec, U.T., Heaney, R.P., Cullen, D.M., Yee, J.A. (1998) Leptin increases the number of mineralized bone nodules in vitro. *J. Bone Miner Res.*, **13**: 2-12.
- Jalali, A., Morgan, D.A., Sivitz, W.I., Correia, M.L., Mark, A.L., Haynes, W.G. (2001) Does leptin cause functional peripheral sympatholysis? *Am. J. Hypertens.*, **14**:615-8.
- Janero, D.R. (2001) Nutritional aspects of nitric oxide: human health implications and therapeutic opportunities. *Nutrition*, **17**:896-903.
- Jayakumar, A.R., Sujatha, R., Paul, V., Puviarasan, K., Jayakumar, R. (1999). Involvement of nitric oxide and nitric oxide synthase activity in anticonvulsive action. *Brain Res. Bull.* **48**, 387-394.
- Kamohara, S., Burcelin, R., Halas, J.L., Friedman, J.M., Charron, M.J. (1997) Acute stimulation of glucose metabolism in mice by leptin treatment. *Nature*; **389**: 374-77.
- Kandel, E.R., Schwartz, J.H., and Jessell, T.M. (2000). *Principles of Neural Science. Fourth Ed.*, McGraw-Hill Companies, New York.
- Keita, M.S., Frankel-Kohn, L., Bertrand, N., Lecanu, L., Monmaur, P. (2000). Acetylcholine release in the hippocampus of the urethane anaesthetized rat positively correlates with both theta frequency and relative power in theta band. *Brain Research.*, **887**, 323–334.
- Khavandgar, S., Homayoun, H., Dehpour, A.R. (2002). The role of nitric oxide in the proconvulsant effect of delta-opioid agonist SNC80 in mice. *Neurosci Lett.* **329**, 237-239.
- Kierson, J.A., Dimatteo, D.M., Locke, R.G., Mackley, A.B., Spear, M.L. (2006) Grelin and cholecystinin in term and preterm human breast milk. *Acta Paediatr.* **95**: 991-995.
- Kimura, K., Tsuda, K., Baba, A., Kawabe, T., Boh-oka, S., Ibata, M., et al. (2000) Involvement of nitric oxide in endothelium-dependent arterial relaxation by leptin. *Biochem Biophys Res. Commun*, **273**:745– 9.
- Korbonit, M., Bustin, S.A., Kojima, M., Jordan, S., Adams, E.F., Lowe, D.G., Kangawa, K., Grossmann, A.B. (2001) The expression of the growth hormone secretagogue receptor ligand grelin in normal and abnormal human pituitary and other neuroendocrine tumors. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **86** (2): 881-887.
- Korbonits, M., Kojima, M., Kangawa, K., Grossman, A.B. (2001) Presence of ghrelin in normal and adenomatous human pituitary. *Endocrine*, **14**: 101-104.

- Kojima, M., Hosoda, H., Date, Y., Nakazato, M., Matsuo, H., Kangawa, K. (1999) Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature*, **402**: 656-660.
- Kojima, M., Kangawa, K. (2005) Ghrelin: structure and function. *Physiol Rev.* **85**: 495-522.
- Kuyumcu, A., Düzgün, A.P., Özmen, M.M., Besler, H.T. (2004) Travma ve enfeksiyonda nitrik oksidin rolü. *Ulus. Travma Derg.*; **10(3)**:149-159.
- Kwan, P., Brodie, M.J. (2000) Early identification of refractory epilepsy. *N. Engl. J. Med.*, **342**:314–19.
- Leite, J.P., Chimelli, L., Terra-Bustamante, V.C., Costa, E.T., Assirati, J.A., de Nucci, G., Martins, A.R. (2002) Loss and sprouting of nitric oxide synthase neurons in the human epileptic hippocampus. *Epilepsia*, **43**: 235-242.
- Lembo, G., Vecchione, C., Fratta, L., Marino, G., Trimarco, V., D'Amati, G., et al. (2000) Leptin induces direct vasodilation through distinct endothelial mechanisms. *Diabetes*, **49**:293-7.
- Lerner-Natoli, M., de Bock, F., Bockaert, J., Rondouin, G. (1994) NADPH diaphorase-positive cells in the brain after status epilepticus. *Neuroreport*, **5**: 2633-2637.
- Lincoln J, Hoyle C, Burnstock G. (1997) Nitric oxide in health and disease. *Cambridge University Press, Cambridge*.
- Lord, G.M., Matarese, G., Howard, J.K., Baker, R.J., Bloom, S.R., Lechler, R.I. (1998) Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression. *Nature*, **394**: 897-901.
- Loscalzo, J., Welch, G. (1995) Nitric oxide and its role in the cardiovascular system. *Prog. Cardiovasc. Dis.*, **38(2)**: 87-104.
- Lowenstein, L.J., Dinerman, J.L., Soyder, S.H. (1994) Nitric oxide: A physiologic messenger. *Ann. Intern. Med.*, **120**: 227-37.
- Löshner, W., Schmidt, D. (1994) Strategies in antiepileptic drug development: is rational drug design superior to random screening and structural variation? *Epilepsy Res.*, **17**: 95-134.
- Luo, D., Leung, E., Vincent, S.R., (1994). Nitric oxide-dependent efflux of cGMP in rat cerebellar cortex: an in vivo microdialysis study. *J. Neurosci.* **14**, 263–271.

- Lu, W., Chen, G., Cheng, J.S. (1998). Effect of nitric oxide release on epileptiform discharge in CA1 area of hippocampal slices. *Sheng Li Xue Bao.* **50**: 507-513.
- MacDonald, R.L., Barker, J.L. (1977) Pentilenetetrazole and penicilin are selective antagonists of GABA mediated postsynaptic inhibition cultured mammalian neurons. *Nature*; 267-721.
- MacMicking, J., Xie, Q.W. (1997) Nathan C. Nitric oxide and macrophage function. *Annu Rev. Immunol*; **15**: 323-50.
- Magni, P., Vettor, R., Pagano, C., Calcagno, A., Beretta, E., Messi, E., Zanisi, M., Martini, L., Motta, M. (1999) Expression of a leptin receptor in immortalized gonadotropin- releasing hormone- secreting neurons. *Endocrinology*, **140**:158-5.
- Marangoz, C. (1996) Nitrik oksit ve deneysel epilepsi. *O.M.Ü. Tıp Dergisi*, **13**: 165-183.
- Marangoz, C. Deneysel epilepsi modelleri. (1997) *O.M.Ü. Tıp Dergisi*, **14(3)**: 147-186.
- Marangoz, C. Sinir fizyolojisine giriş-I. (2001) Beyin korteksi. EEG ve Epilepsi. *Samsun: 19 Mayıs Üniversitesi Matbaası baskısı*,: sa: 130-131.
- Marangoz, C., Ayyıldız, M., Açar, E. (1994) Evidence that sodium nitroprusside possesses anticonvulsant effects mediated through nitric oxide. *NeuroReport*, **5**: 2454-2456.
- Marangoz, C., Bağırıcı, F. (2001). Proconvulsant effects of central and peripheral administration of L-NAME on penicillin-induced epilepsy in rats. *Neurosci Res. Commun*, **28**: 107 – 114.
- Marletta, M.A. (1989) Nitric oxide: biosynthesis and biological significance. *Trends in Biochemical Sciences*, **14**, 488-92.
- Marsh, D.J., Baraban, S.C., Hollopeter, G., Palmiter, R.D. (1999) Role of the Y5 neuropeptide Y receptor in limbic seizures. *Proc Natl Acad Sci USA*; **96**:13518-23.
- Martin, J.H. (1991) The collective electrical behavior of cortical neurons: The electroencephalogram and the mechanisms of epilepsy. *Elsevier Science Publishing*, 777-791.
- Mastronardi, C.A., Yu, W.H., McCann, S.M. (2002) Resting and circadian release of nitric oxide is controlled by leptin in male rats. *Proc. Natl. Acad Sci USA*, **99**:5721-6.
- Matsuda K, Teragawa H, Fukuda Y, Nakagawa K, Higashi Y, Chayama K. (2003) Leptin causes nitric-oxide independent coronary artery vasodilation in humans. *Hypertens Res.*, **26**:147–52.

- Mayer, B., Andrew, P., (1998). Nitric oxide synthases: catalytic function and progress towards selective inhibition. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **358**, 127-133.
- Meierkord, H., Shorvon, S., Lightman, S.L. (1994) Plasma concentrations of prolactin, noradrenaline, vasopressin and oxytocin during and after a prolonged epileptic seizure. *Acta Neurol Scand*, **90**: 73-7.
- Mercer, J.G., Hoggard, N., Williams, L.M., Lawrence, C.B., Hannah, L.T., Trayhurn, P. (1996) Localization of leptin receptor mRNA and the long form splice variant (Ob-Rb) in Mouse hypothalamus and adjacent brain regions by in situ hybridization. *FEBS Lett.*, **387**: 113-6.
- Miell, J.P., Englaro, P., Blum, W.F. (1996) Dexamethasone induces an acute and sustained rise in circulating leptin levels in normal human subjects. *Horm. Metab. Res.*, **28**:704-707.
- Miller, J.W., Snyder, A.Z., Coben, L.A., Prensky, A.L. (1992). Clinical electroencephalography and related techniques. In: *Clinical Neurology*, Ed, Joynt, R.J. Lippincott, Philadelphia, **Vol. 1, Sect. 5**.
- Mitchell, J.L., Morgan, D.A., Correia, M.L., Mark, A.L., Sivitz, W.I., Haynes, W.G. (2001) Does leptin stimulate nitric oxide to oppose the effects of sympathetic activation? *Hypertension*, **38**:1081-6.
- Mitchell, S.E., Nogueiras, R., Rance, K., Rayner, D.V., Wood, S., Dieguez, C., Williams, L.M. (2006) Circulating hormones and hypothalamic energy balance: regulatory gene expression in the Lou/C and Wistar rats. *J. Endocrinol.* **190 (3)**: 571-579.
- Mollace, V., Bagetta, G., Nistico, G. (1991) Evidence that L-arginine possesses proconvulsant effects mediated through nitric oxide. *Neuroreport.*, **2(5)**: 269-72.
- Moncada, S., Palmer, R.M.J., Higgs, A. (1991) Physiology, patophysiology, and Pharmacology. *Pharmacology Reviews*, **9**: 109-37.
- Morash, B., Li, A., Murphy, P.R., Wilkinson, M., Ur, E. (1999) Leptin gene expression in the brain and pituitary gland. *Endocrinology*, **140**: 5995-8.
- Morley, J.E. ve Flood, J.F. (1991). Evidence that nitric oxide modulates food intake in mice. *Life Sci.*, **49**, 707 -711.
- Morpurgo, P.S., Cappiello, V., Verga, U., Vicentini, L., Vaghi, I., Lauri, E., Nebuloni, M., Beck-Peccoz, P., Spada, A. (2005) Ghrelin in human medullary thyroid carcinomas. *Clin. Endocrinol (Oxf)*. **63 (4)**: 437-441.

- Murphy, P. (2005). Use of the ketogenic diet as a treatment for epilepsy refractory to drug treatment. *Expert Rev. Neurother.* **5**:769–775.
- Mülsch A., Busse R., Mordvintcev P.I., Vanin A.F., Nielsen E.O., Scheel-Kruger J., Olesen S.P. (1994) Nitric oxide promotes seizure activity in kainate-treated rats. *Neuroreport.* **5**(17), 2325-2328.
- Nakagawa K, Higashi Y, Sasaki S, Oshima T, Matsuura H, Chayama K. (2002) Leptin causes vasodilation in humans. *Hypertens Res*; **25**: 161– 5.
- Nayak, A., Roy, R.J., Sharma, A. (1994). Time-frequency spectral representation of the EEG as an aid in the detection of depth of anesthesia. *Annals of Biomedical Engineering*, **22**, 501-513.
- Nickola, M.W., Wold, L.E., Colligan, P.B., Wang, G.J., Samson, W.K., Ren, J. (2000) Leptin attenuates cardiac contraction in rat ventricular myocytes. *Role No Hypertens*, **36**: 501-5.
- Obay, B.D., Tasdemir, E., Tümer, C., Bilgin, H.M., Sermet, A. (2007) Antiepileptic effects of ghrelin on pentylene-tetrazole-induced seizures in rats. *Peptides*, **28**: 1214-9.
- Obay, B.D., Taşdemir, E., Tümer, C., Bilgin, H.M., Atmaca, M. (2008) Dose dependent effects of ghrelin on pentylene-tetrazole-induced oxidative stress in a rat seizure model *Peptides* doi: **10.1016/j.**
- Ohkuma, S., Katsura, M., Guo, J.L., Narihara, H., Hasegawa, T., Kuriyama, K., (1996). Role of peroxynitrite in [3H] gamma-aminobutyric acid release evoked by nitric oxide and its mechanism. *Eur. J. Pharmacol.* **301**, 179-188.
- Olszewski, P.K., Li, D., Grace, M.K., Billington, C.J., Kotz, C.M., Levine, A.S. (2003) Neural basis of orexigenic effects of grelin acting within lateral hypothalamus. *Peptides.* **24** (4): 597-602.
- Osonoe, K., Mori, N., Suzuki, K., Osonoe, M. (1994) Antiepileptic effects of inhibitors of nitric oxide synthase examined in pentylene-tetrazol-induced seizures in rats. *Brain Res.*, **663**(2), 338-40.
- Ostlund, R.E., Yang, J.W., Klein, S., Gingerich, R. (1996) Relation between plasma leptin concentration and body fat, gender, diet, age and metabolic covariates. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*; **81**: 3909-13.
- Öge, A.E. (2004). *Nöroloji.* **1.** baskı. Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti. İstanbul.
- Palmer, R.M.J., Ashton, D.S. and Moncada, S. (1988) Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature*; **333**: 664-6.

- Palmer, R.M.J., Ferrige, A.G. and Moncada, S. (1987) Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature*, **327**: 524-6.
- Pape, H.C., Mager, R. (1992) Nitric oxide controls oscillatory activity in thalamocortical neurons. *Neuron*, **9**(3), 441-8.
- Paul, V. (2003). The effect of N-nitro-L-arginine methyl ester posttreatment on the anticonvulsant effect of phenobarbitone and diazepam on picrotoxin-induced convulsions in rats. *Pharmacol Biochem Behav.* **74**, 789-794.
- Paul, V., Ekambaram, P. (2003). Effect of 7-nitroindazole alone and in combination with phenobarbitone and diazepam on picrotoxin-induced convulsions in rats. *Indian J.Physiol Pharmacol.* **47**, 400-406.
- Paul, V., Ekambaram, P. (2004) Demonstrating the dose- and time-related effects of 7-nitroindazole on picrotoxin-induced convulsions, memory formation, brain nitric oxide synthase activity and nitric oxide concentration in rats. *Pharmacol Biochem Behav.*, **77**:1-8.
- Paul, V., Jayakumar, A.R. (2000) A role of nitric oxide as an inhibitor of gamma-aminobutyric acid transaminase in rat brain. *Brain Res. Bull.*, **5**:43-6.
- Paul, V., Subramanian, E.H. (2002) Evidence for an involvement of nitric oxide and gamma aminobutyric acid in the anticonvulsant action of l-arginine on picrotoxin-induced convulsions in rats. *Pharmacol Biochem. Behav.*, **72**:515-9.
- Pelleymounter, M.A., Cullen, M.J., Baker, M.B., Hecht, R., Winters, D., Boone T., Collins, F. (1995) Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. *Science*, **269**: 540-3.
- Pineda, J., Kogan, J.H., Aghajanian, G.K., (1996). Nitric oxide and carbon monoxide activate locus coeruleus neurons through a cGMP-dependent protein kinase: involvement of a nonselective cationic channel. *J. Neurosci.* **16**, 1389-1399.
- Prast, H., Philippu, A. (2001). Nitric oxide as modulator of neuronal function. *Progress in Neurobiology*, **64**, 51-68.
- Prince, D.A., Farrel, D. (1969) "Centrencephalic" spike-wave discharges following parenteral penicilin injection in the rat. *Neurology*, **19**: 309-310.
- Przegalinski, E., Baran, L., Siwanowicz, J. (1994) The role of nitric oxide in the kainate-induced seizures in mice. *Neurosci Lett.*, **170**(1), 74-6.
- Przewlocka, B., Turchan, J., Machelska, H., Labuz, D., Lason, W. (1996) Nitric oxide synthase inhibitor L-NAME prevents amphetamine-induced prodynorphin gene expression in the rat. *Prog. Neuropsychopharmacol Biol. Psychiatry.* **20**(7), 1229-37.

- Raffel, A, Krausch, M, Cupisti, K, Gerharz, CD, Eisenberger, CF, Knoefel, WT. (2005) Ghrelin expression in neuroendocrine tumours of the gastrointestinal tract with multiple endocrine neoplasia type 1. *Horm. Metab. Res.*, **37 (10)**: 653-655.
- Rajasekaran, K., Jayakumar, R., Venkatachalam, K. (2003). Increased neuronal nitric oxide synthase (nNOS) activity triggers picrotoxin-induced seizures in rats and evidence for participation of nNOS mechanism in the action of antiepileptic drugs. *Brain Res.* **979**, 85-97.
- Raso, G.M., Pacilio, M., Esposito, E., Coppola, A., Di Carlo, R., Meli, R. (2002) Leptin potentiates IFN-gamma-induced expression of nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 in murine macrophage J774A.1. *Br. J. Pharmacol.*, **137**:799– 804.
- Rentsch, J., Chiesi, M. (1996) Regulation of ob gene mRNA levels in cultured adipocytes. *FEBS Lett.*, **379**: 55-9.
- Riediger, T., Giannini, P., Erguven, E., Lutz, T. (2006) Nitric oxide directly inhibits ghrelin-activated neurons of the arcuate nucleus. *Brainresearch.*, **1125**; 37-45.
- Rigaud-Monnet, A.S., Pinard, E., Borredon, J., Seylaz, J. (1994) Blockade of nitric oxide synthesis inhibits hippocampal hyperemia in kainic acid-induced seizures. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* **14(4)**, 581-90.
- Robello, M., Amico, C., Bucossi, G., Cupello, A., Rapallino, M.V., Thellung, S., (1996). Nitric oxide and GABAA receptor function in the rat cerebral cortex and cerebellar granule cells. *Neuroscience*, **74**, 99-105.
- Rundfeldt, C., Kock, R., Richter, A., Mevissen, M., Gerecke, U., Loscher, W. (1995) Dose-dependent anticonvulsant and proconvulsant effects of nitric oxide synthase inhibitors on seizure threshold in a cortical stimulation model in rats. *Eur. J. Pharmacol.*, **274**:73-81.
- Saad, M.F., Bernaba, B., Hwu, C.M., et al. (2002) Insulin regulates plasma ghrelin concentration. *J. Clin. Endocrinol Metab.*, **87**: 3997-4000.
- Sajdyk, T.J., Shekhar, A., Gehlert, D.R. (2004) Interaction between NPY and CRF in the amygdala regulate emotionality. *Neuropeptides*, **38(4)**: 225-34.
- Sarella, A.I., Mathie, R.T. (1996) The role of nitric oxide in surgical practice. *Surgery*; **14**: 154-6.
- Sarkisian, M.R. (2001). Overview of the Current Animal Models for Human Seizure and Epileptic Disorders. *Epilepsy & Behavior*, **2**, 201-216.
- Savioz, A., Charnay, Y., Huguenin, C., Graviou, C, Greggio, B., Bouras, C. (1997) Expression of leptin receptor mRNA (long form splice variant) in the human cerebellum. *Neuroreport*, **8**: 3123-6.

- Schmidt, R.F. (1989). Integrative functions of the central nervous system. *In: Human physiology. 2nd Ed.* Eds, Schmidt, R.F., Thews, G., Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 124-165.
- Schuchmann, S., Albrecht, D., Heinemann, U., von Bohlen Halbach, O. (2002). Nitric oxide modulates low-Mg²⁺-induced epileptiform activity in rat hippocampal-entorhinal cortex slices. *Neurobiol Dis.* **11**, 96-105.
- Scriba, D., Aprath-Husmann, I., Blum, W.F., Hauner, H. (2000) Catecholamines suppress leptin release from in vitro differentiated subcutaneous human adipocytes in primary culture via β 1- and β 2-adrenergic receptors. *Eur. J. Endocrinol*, **143**:439-45.
- Schwartz, M.W., Peskind, E., Raskind, M., Boyko, E.J., Porte, D. Jr. (1996) Cerebrospinal fluid leptin levels: relationship to plasma levels and to adiposity in humans. *Nat. Med.*,; **2**: 589-93.
- Schwartz, M.W., Seeley, R.J., Campfield, L.A., Burn, P., Baskin, D.G. (1996) Identification of targets of leptin action in rat hypothalamus. *J. Clin. Invest.*, 1101-6.
- Schwartz, M.W., Seeley, R.J. (1997) Neuroendocrine responses to starvation and weight loss. *N. Engl. J. Med.*, **336**: 1802-1811.
- Segieth, J., Getting, S.J., Biggs, C.S., Whitton, P.S., (1995). Nitric oxide regulates excitatory amino acid release in a biphasic manner in freely moving rats. *Neurosci. Lett.* **200**, 101–104.
- Segovia, G., Porras, A., Mora, F., (1994). Effects of a nitric oxide donor on glutamate and GABA release in striatum and hippocampus of the conscious rat. *NeuroReport* **5**, 1937–1940.
- Sequeira, S.M., Ambrosio, A.F., Malva, J.O., Carvalho, A.P., Carvalho, C.M., (1997). Modulation of glutamate release from rat hippocampal synaptosomes by nitric oxide. *Nitric Oxide* **1**, 315-329.
- Semba, J., Sakai, M., Miyoshi, R., Kito, S. (1995) NG-monomethyl-L-arginine, an inhibitor of nitric oxide synthase, increases extracellular GABA in the striatum of the freely moving rat. *Neuroreport*, **6(10)**, 1426-8.
- Shanley, L.J., Irwing, A.J., Harvey, J. (2001) Leptin enhances NMDA receptor function and modulates hippocampal synaptic plasticity. *J. Neurosci*, **21**: RC 186.
- Shanley, L.J., O'Malley, D., Irwing, A.J., Ashford, M.L., Harvey, J. (2002a) Leptin inhibits epileptiform-like activity in rat hippocampal neurones via PI 3-kinase-driven activation of BK channels. *J. Physiol.*, **545**: 933-44.
- Shanley, L.J., Irwing, A.J., Rae, M.G., Ashford, M.L., Harvey, J. (2002b) Leptin inhibits rat hippocampal neurones via activation of large conductance calcium-activated K⁺ channels. *Nat. Neurosci.*, **5**: 299-300.

- Shiia, T., Nakazato, M., Mizuta, M., et al. (2002) Plasma ghrelin levels in lean and obese humans and the effect of glucose on ghrelin secretion. *J. Clin. Endocrinol Metab.*; **87**: 240-244.
- Shimizu, Y., Nagaya, N., Isobe, T., Imazu, M., Okumura, H., Hosoda, H., Kojima, M., Kangawa, K., Kohno, N. (2003) Increased plasma ghrelin level in lung cancer cachexia. *Clin. Cancer Res.* **9** (2): 774-778.
- Shin, C., McNamara, J.O. (1994) Mechanism of epilepsy. *Annual Review of Medicine*, **45**: 379- 389.
- Shintani, M., Ogawa, Y., Ebihara, K. (2001) Ghrelin, an endogenous growth hormone secretagogue is a novel orexigenic peptide that antagonizes leptin action through the activation of hypothalamic neuropeptide Y/Y1 receptor pathway. *Diabetes*, **50**: 227-232.
- Shiuchi, T., Nakagami, H., Iwai, M., Takeda, Y., CUI, T.X., Chen, R., Minokoshi, Y., Horiuchi, M. (2001) Involvement of Bradykinin and Nitric Oxide in Leptin-Mediated Glucose Uptake in Skeletal Muscle. *Endocrinology*, **142**: 608–612.
- Shneker, B.F., Fountain, N.B. (2003) Epilepsy. *Dis Mon*, **49**: 426-78.
- Silva, A.P., Cavadas, C., Grouzmann, E. (2002) Neuropeptide Y and its receptors as potential therapeutic drug targets. *Clinica Chimica Acta.* **326**: 3-25.
- Sinha, M.K. (1997) Human leptin: the hormone of adipose tissue. *Eur. JEndocrinol.*, **136**:461-4.
- Sinha, M.K., Opentanova, I., Ohannesian, J.P., Becker, W., Bowsher, R.R., Stephens, T.W., Caro, F. (1996) Evidence of free and bound leptin in human circulation. *J. Clin. Invest.*, **98**: 1277-1282.
- Sivitz, W.I., Wayson, S.M., Bayless, M.L., Larson, L.F., Sinkey, C. (2002) Leptin and body fat in type II diabetes and monodrug therapy. *J. Clinic. Endoc. and Metab.*, **88**(4): 1543-1553.
- Slieker, L.J., Sloop, K.W., Surface, P.L., Kriauciunas, A., LaQuier, F., Manetta, J., Bue-Valleskey, J., Stephens, T.W. (1996) Regulation of expression of ob mRNA and protein by glucocorticoids and cAMP. *J. Biol. Chem.*, **271**: 5301-4.
- Spanswick, D., Smith, M.A., Groppi, V.E., Logan, S.D., Ashford, M.L. (1997) Leptin inhibits hypothalamic neurons by activation of ATP-sensitive potassium channels. *Nature*, **390**: 521-5.
- Squadrito, F., Calapai, G., Altavilla, D., Cucinotta, D., Zingarelli, B., Arcoraci, V., Campo, G.M. & Caputi, A.P. (1994). Central serotonergic system involvement in the anorexia induced by NG-nitro-L-arginine, an inhibitor of nitric oxide synthase. *Eur. J. Pharmacol.*, **255**, 51-55.

- Squadrito, F., Calapai, G., Cucinotta, D., Altavilla, D., Zingarelli, B., Ioculano, M., Urna, G., Sardella, A., Campo, G.M. & Caputi, A.P. (1993). Anorectic activity of NG- nitro-L-arginine, an inhibitor of brain nitric oxide synthase, in obese Zucker rats. *Eur. J. Pharmacol.*, **230**, 125-128.
- Star, R.A. (1993) Nitric oxide. *Ann. J. Med. Sci.*, **306(5)**: 348-58.
- Steiner, R.A. (1996) Lords and ladies leapin' on leptin (editorial). *Endocrinology*, **137**:4533-4535.
- Stroud, L.M., O'Brien, T.J., Jupp, B., Wallengren, C., Morris, M.J. (2005) Neuropeptide Y suppresses absence seizures in a genetic rat model. *Brain Res.*, **1033**: 151-6.
- Snyder, S.H. (1992) Nitric oxide: First in a new class of neurotransmitters. *Science*, **257**: 494-6.
- Takahashi, K.A., Cone, R.D. (2005) Fasting induces a large, leptin-dependent increase in the intrinsic action potential frequency of orexigenic arcuate nucleus neuropeptide Y/Agouti-related protein neurons. *Endocrinology*, **146**: 1043-1047.
- Takei, Y., Sachio, T., Ohyu, J., Takami, T., Miyajima, T., Hoshika, A. (1999) Effects of nitric oxide synthase inhibition on the cerebral circulation and brain damage during kainic acid-induced seizures in newborn rats. *Brain & Development*, **21**: 253-259.
- Talarek, S., Fidecka, S. (2003) Role of nitric oxide in anticonvulsant effects of benzodiazepines in mice. *Pol. J. Pharmacol.*, **55**, 181-191.
- Timofeeva, O.A., Gordon, C.J. (2001). Changes in EEG power spectra and behavioral states in rats exposed to acetylcholinesterase inhibitor chlorpyrifos and muscarinic agonist oxotremorine. *Brain Research*, **893**, 165-177.
- Tolle, V., Bassant, M.H., Zizzari, P. (2002) Ultradian rhythmicity of ghrelin secretion in relation GH, feeding behaviour and sleep-wake patterns in rats. *Endocrinology*, **143**: 1353 -1361.
- Tottrup, A., Glavíhd, E.B., Svane, D. (1992) Involvement of the L-Arginine-nitric oxide pathway in internal anal sphincter relaxation. *Gastroenterology*, **102**: 409-15.
- Trayhurn, P., Duncan, J.S., Rayner, D.V. (1995) Acute cold-induced suppression of ob (obese) gene expression in white adipose tissue of mice: mediation by the sympathetic system. *Biochem. J.*, **311**: 729-33.
- Tritos, N.A., Mantzoros, C.S. (1997) Leptin; its role in obesity and beyond. *Diabetologia*, **40**: 1371-1379.
- Tschöp, M., Smiley, D., Heiman, M.L. (2000) Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature*; **407**: 908-913.

- Tsuda, K., Kimura, K., Nishio, I. (2002) Leptin improves membrane fluidity of erythrocytes in humans via a nitric oxide-dependent mechanism-an electron paramagnetic resonance investigation. *Biochem Biophys Res Commun*, **297**: 672-81.
- Tu, B., Timofeeva, O., Jiao, Y., Nadler, V. (2005) Spontaneous release of Neuropeptide Y tonically inhibits recurrent mossy fiber synaptic transmission in epileptic brain. *J. Neurosci.*, **25**,1718–1729.
- Ur, E., Wilkinson, D.A., Morash, B.A., Wilkinson, M. (2002) Leptin immunoreactivity is localized to neurons in rat brain. *Neuroendocrinol.*; **75**: 264-72.
- Uzum, G., Akgün-Dar, K., Bahçekapılı, N., Diler, A.S., Ziylan Y.Z. (2005) Nitric oxide involvement in seizures elicited by pentylentetrazol and sex dependence. *Intern. J. Neuroscience*, **115**:1502–1514.
- Vallejo, C., Gomez, G., Chacatas, C. and et al. (2004) Enriched protein diet-modified ghrelin expression and secretion in rats. *Regulatory Peptides*; **121**:1-3, 113-119.
- Valtschanoff, J.G., Weinberg, R.J., Kharazia, V.N., Nakane, M., Schmidt, H.W. (1993) Neurons in rat hippocampus that synthesize nitric oxide. *J. Comp. Neurol.*, **331**: 111-21.
- Vecchione, C., Maffei, A., Colella, S., Aretini, A., Poulet, R., Frati, G., et al. (2002) Leptin effect on endothelial nitric oxide is mediated through Aktendothelial nitric oxide synthase phosphorylation pathway. *Diabetes*, **51**:168-73.
- Vincent, SR. (1994) Nitric oxide: a radical neurotransmitter in the central nervous system. *Progress in Neurobiology*, **42**: 129-60.
- Walden, J., Straub, H., Speckmann, E.J. (1992) Epileptogenesis: Contributions of calcium ions and antiepileptic calcium antagonists. *Acta Neurologica Scandinavica*, **150**: 41-46.
- Walker, A.E., Johnson, H.C. (1945) Convulsive factor in commercial penicilin. *Arch. Surg.*, **50**: 69-73.
- Wallace, A.M. (2000) Measurement of leptin and leptin binding in the human circulation. *Ann. Clin. Biochem.*, **37**:244-252.
- Wang, M.Y., Koyama, K., Shimabukuro, M., Newgard, C.B. & Unger, R.H. (1998). OB-Rb gene transfer to leptin-resistant islets reverses diabetogenic phenotype. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **95**, 714- 718.
- Whale, P., Muller, T.H. & Swandulla, D. (1993). Characterization of neurochemical phenotypes in cultured hypothalamic neurons with immunohistochemistry and in situ hybridization. *Brain Res.*, **611**, 37-45.

- Williams, K.W., Smitt, B.N. (2006) Rapid inhibition of neural excitability in the nucleus tractus solitarii by leptin: implications for ingestive behaviour. *J. Physiol.*, 101-113.
- Wilton, P. (1999) Adverse events during GH treatment: 10 years experience in KIGS, a pharmacoepidemiological survey. In: Ranke MB, Wilton P, editors. Progress in Growth Hormone Therapy-10 years of KIGS. *Ja Barh Verlag*, 349-364.
- Winters B, Mo Z, Brooks-Asplund E, Kim S, Shoukas A, Li D, et al. (2000) Reduction of obesity, as induced by leptin, reverses endothelial dysfunction in obese (Lep(ob)) mice. *J. Appl. Physiol.*; **89**: 2382-90.
- Wood, P.L., Emmett, M.R., Rao, T.S., Cler, J., Mick, S., Lyengar, S., (1990). Nitric oxide mediates N-methyl-D-aspartate-, quisqualate and kainate-dependent increases in cerebellar cyclic GMP in vivo. *J. Neurochem.* **55**, 346-348.
- Xu, L., et al. (2008) Leptin inhibits 4-aminopyridine- and pentylenetetrazole-induced seizures and AMPAR-mediated synaptic transmission in rodents. *J. Clin. Invest.* **118**:272–280.
- Yiş, U., Öztürk, Y., Büyükgebiz, B. (2005) Ghrelin: enerji metabolizmasının düzenlenmesinde yeni bir hormon. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*; **48**: 196-201.
- Yu, W.H., Walczewska, A., Karanth, S., McCann, S.M. (1997) Nitric oxide mediates leptin-induced luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) and LHRH and leptin-induced LH release from the pituitary gland. *Endocrinology*; **138**: 5055-8.
- Zarri, I., Bucossi, G., Cupello, A., Rapallino, M.V., Robello, M., (1994). Modulation by nitric oxide of rat brain GABAA receptors. *Neurosci. Lett.* **180**, 239–242.
- Zhang, Y., Proenca, R., Maffel, M., Barone, M., Leopold, L., Friedman, J.M. (1994) Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*; **372**: 425-432.
- Zhang, L.P., Wang, L. (2005) Changes of brain neuropeptide Y and its receptors in rats with flurazepam tolerance and dependence. *Acta Pharmacol Sin.*, **26**: 1290–6.
- Zobel, A., Wellmer, J., Schulze-Rauschenbach, S., Pfeiffer, U., Schnell, S., Elger, C., et al. (2004) Impairment of inhibitory control of the hypothalamic pituitary adrenocortical system in epilepsy. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.*, **254**: 303-11.

8. ÖZGEÇMİŞ

1976 yılında Malatya ili Akçadağ ilçesinde doğdum. İlkokulu Sümer İlkokulunda, ortaokulu Sümer Ortaokulunda, liseyi ise Malatya Lisesi'nde bitirdim. 1993 yılında üniversite sınavı sonucunda İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesini kazandım ve 2001 yılında fakülteden mezun oldum. Mezuniyetin ardından Ardahan İli Çıldır İlçesi Sağlık Merkezinde 1.5 yıl görev yaptım. Daha sonra Samsun Merkez 112 Acil Sağlık Hizmetlerinde çalışmaya başladım. 2002 yılı Şubat ayında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Ana Bilim Dalında Doktora eğitimine başladım.

Evliyim ve halen Samsun' da ikamet etmekteyim.