

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**DENEYSEL EPİLEPSİDE NİTRERJİK VE PURİNERJİK
SİSTEMLERİN ETKİLEŞİMİ**

DOKTORA TEZİ

Mehmet YILDIRIM

Samsun
Eylül - 2005

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**DENEYSEL EPİLEPSİDE NİTRERJİK VE PURİNERJİK
SİSTEMLERİN ETKİLEŞİMİ**

DOKTORA TEZİ

Mehmet YILDIRIM

Danışman: Prof. Dr. Cafer MARANGOZ

Samsun
Eylül - 2005

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

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

Başkan : Prof. Dr. Cafer MARANGOZ
(Ünvanı, Adı, Soyadı)

Ondokuz Mayıs Üniversitesi
(Üniversite)

Üye : Prof. Dr. Erdal AĞAR
(Ünvanı, Adı, Soyadı)

Ondokuz Mayıs Üniversitesi
(Üniversite)

Üye : Prof. Dr. Niyazi TAŞCI
(Ünvanı, Adı, Soyadı)

Ondokuz Mayıs Üniversitesi
(Üniversite)

Üye : Prof. Dr. Süleyman KAPLAN
(Ünvanı, Adı, Soyadı)

Ondokuz Mayıs Üniversitesi
(Üniversite)

Üye : Doç. Dr. Ahmet AYAR
(Ünvanı, Adı, Soyadı)

Fırat Üniversitesi
(Üniversite)

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulu'nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Süleyman ÇELİK
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Doktora çalışmalarım boyunca bilimsel bakış açısıyla daima örnek olan, tecrübe ve yardımlarını esirgemeyen, değerli hocam, danışmanım, Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Cafer MARANGOZ'a teşekkür ederim.

Bilimsel tecrübe ve yardımlarını esirgemeyen, tezin incelenme ve düzeltilmesinde büyük katkıları olan ve tüm akademik yaşamımda desteklerini hissettiğim hocalarım Sayın Prof. Dr. Erdal AĞAR ve Sayın Doç. Dr. Mustafa AYYILDIZ'a; elektrofizyolojik çalışmaların temellerini bana öğreten ve hiçbir zaman bilgisini paylaşmaktan kaçınmayan Sayın Dr. Sinan CANAN'a; hocalarım Sayın Prof. Dr. Niyazi TAŞÇI ve Sayın Doç. Dr. Faruk BAĞRICI'ya; dostlukları ve yardımları için Sayın Yrd. Doç. Dr. Şerif DEMİR ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Seyit ANKARALI'ya; tezin incelenme ve düzeltilmesinde değerli katkılarından dolayı Sayın Prof. Dr. Süleyman KAPLAN ve Sayın Doç. Dr. Ahmet AYAR hocalarıma; doktora ve uzmanlık eğitimi almakta olan araştırma görevlisi arkadaşlarıma; akademik çalışmalarım ve doktora eğitimim boyunca gösterdiği özveriden ve desteklerinden dolayı eşim Havva YILDIRIM'a şükranlarımı sunarım.

Bu çalışmayı T.389'nolu proje olarak destekleyen Ondokuz Mayıs Üniversitesi Araştırma Fonu yetkililerine de teşekkür ederim.

ÖZET**DENEYSEL EPİLEPSİDE NİTRERJİK VE PURİNERJİK SİSTEMLERİN
ETKİLEŞİMİ****Mehmet YILDIRIM, Doktora Tezi****Ondokuz Mayıs Üniversitesi Samsun, Eylül 2005**

Nitrik oksit (NO) ve adenzinin birçok fizyolojik süreci düzenledikleri, ayrıca epilepsi gibi patolojik olaylara karıştıkları bilinmektedir. Bu çalışmanın amacı penisilin neden olduğu epileptik aktivitede NO ve adenzinin etkileşimlerini araştırmaktır. Deneşlerde kullanılan erkek Wistar sıçanlar (n=69) üretan (1.2 g/kg) ile anestezi altına alındıktan sonra, epileptik aktivite elektrofizyolojik veri kazanım sistemi kullanılarak kaydedildi. Hayvanlar rastgele bir düşende 10 gruba ayrıldıktan sonra % 0.9 NaCl, sodyum nitropurusid (SNP; 50 µg, i.c.v.), Nω-nitro-L-arjinin metil ester (L-NAME; 100 µg i.c.v.), adenzin (100 µg, i.c.), teofilin (100 µg, i.c.v.) veya bu maddelerin kombinasyonları enjekte edildi.

Elde edilen bulgulara göre: (1) NO donörü SNP ve adenzinin penisilinle oluşturulan epileptiform aktiviteyi azalttıkları; (2) Adenzin reseptör antagonisti teofilin epileptiform aktivitede önemli bir artışa yol açarken, nitrik oksit sentaz (NOS) inhibitörü L-NAME'nin epileptiform aktiviteyi kısmen yükselttiği; (3) Adenzinin inhibitör etkisinin, adenzinden önce verilen L-NAME tarafından önlendiği; (4) Teofilinin eksitatör etkisinin ise daha sonra uygulanan SNP tarafından engellendiği saptandı.

Bu sonuçlar NO ve adenzinin penisilinle oluşturulan epileptiform aktiviteyi azalttıklarını göstermekte ve adenzinin antiepileptik etkisine NO bağımlı bir mekanizmanın aracılık edebileceğini düşündürmektedir.

ABSTRACT**INTERACTION BETWEEN NITRERGIC AND PURINERGIC SYSTEMS IN
THE EXPERIMENTAL EPILEPSY****Mehmet YILDIRIM, PhD. Thesis****University of Ondokuz Mayıs Samsun, September 2005**

Nitric oxide (NO) and adenosine have been known to regulate many physiological processes and also involve in the pathological events such as epilepsy. The aim of this study was to investigate the interaction between NO and adenosine on penicilin-induced the epileptic activity. Male Wistar rats (n=69) were anesthetized with urethane (1.2 g/kg), and epileptiform activity was recorded by using the electrophysiologic data acquisition system. Animals were randomly divided into 10 groups for injections % 0.9 NaCl, sodium nitroprusside (SNP; 50 µg, i.c.v.), N ω -nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME; 100 µg i.c.v.), adenosine (100 µg, i.c.), theophylline (100 µg, i.c.v.) or these substances combinations.

The results can be summarized as follows: (1) NO donor SNP and adenosine decreased penicilin-induced epileptiform activity; (2) Adenosine receptor antagonist theophylline increased epileptiform activity whereas the nitric oxide synthase (NOS) inhibitor L-NAME partially raised; (3) Inhibitory effect of adenosine was prevented pretreatment L-NAME before adenosine administrated; (4) Excitatory effect of theophylline was prevented treatment with SNP.

These results suggest that NO and adenosine were decreased penicillin-induced epileptiform activity. It can be thought that adenosine have antiepileptic effects which are mediated by NO dependent mechanism.

SİMGELER ve KISALTMALAR

ACh: Asetilkolin

ADAC: Adenosin amin konsener

ADP: Adenozin monofosfat

ADK: Adenozin kinaz

AMPA: Alfa-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolpropiyonat

ATP: Adenozin trifosfat

cAMP: siklik adenozin monofosfat

CCPA: 2-kloro-N6-siklopentiladenozin

CGS 21680: 2-(4-(2-karboksietil)-fenil-amino)-5'-N-etilkarboksamidoadenozin

cGMP: Siklik guanozin monofosfat

CPCA: 5'-(N-siklopropil)-karboksiamido-adenozin

CT: Bilgisayarlı tomografi

DMSO: Dimetilsülfoksit

DMPX: 3,7-dimetil-1-propargilksantin

DPEA: Difeniletiladenozin

ECoG: Elektrokortikogram

EEG: Elektroensefalogram

eNOS: Entotelyal nitrik oksit sentaz

EPSP: Eksitator postsinaptik potansiyel

GABA: Gama aminobutirik asit

GABA_A: Gama aminobutirik asitin A reseptörü

GPCR: G-Proteinine bağlı reseptör

2-HE-NECA: 2-heksinil-5'-N-etil-karboksiamido-adenozin

5-HT: 5-hidroksitriptamin

i.c. : İntrakortikal

i.c.v. : İntraserebroventriküler

i.p. : İntraperitoneal

ILAE: Uluslararası Epilepsiyle Mücadele Birliği

iNOS: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz

IPSP: İnhibitör postsinaptik potansiyel

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

- L-NMMA: *NG*-monometil-L-arjinin
LTD: Uzun süreli depresyon
LTP: Uzun süreli potansiyasyon
MRI: Manyetik rezonans görüntüleme
MSS: Merkezi sinir sistemi
NADPH: Nikotinamid-adenin dinükleotid fosfat
7-NI: 7-nitroindazol
NMDA: N-metil D-aspartat
NNA: N- ω -nitro-L-arjinin
NO: Nitrik oksit
NO₂⁻: Nitrit
NO₃⁻: Nitrat
nNOS: Nöronal nitrik oksit sentaz
NOS: Nitrik oksit sentaz
NRG: *NG*-L-arjinin
NTS: Nükleus traktus solitarius
ONOO⁻: Peroksinitrit radikali
PLED: Peryodik lateralize epileptiform deşarj
PTZ: Pentilentetrazol
SEM: Ortalama standart hata
sGC: Çözünür guanilil siklaz
SNAP: *S*-nitroso-*N*-asetilpenisilamin
SNP: Sodyum nitropurusid
TTX: Tetrodotoksin

İÇİNDEKİLER

ÖZET	IV
ABSTRACT	V
SİMGELER ve KISALTMALAR	VI
İÇİNDEKİLER	VIII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	13
2.1. Beyin Korteksi	13
2.1. 1. Beyin Korteksinin Tabakaları	13
I. Tabaka: Moleküler Tabaka	14
II. Tabaka: Dış Granüler Hücre Tabakası	14
III. Tabaka: Dış Piramidal Hücre Tabakası	14
IV. Tabaka: İç Granüler Hücre Tabakası	15
V. Tabaka: İç Piramidal Hücre Tabakası	16
VI. Tabaka: İğsi (Fusiform) Hücre Tabakası	17
2.2. Elektroensefalogram (EEG)	17
2.2.1. EEG'nin Kaynağı	17
2.2.2. EEG'nin Kaydedilmesi	20
2.2.3. EEG'nin Değerlendirilmesi	21
2.2.4. EEG'nin Klinikte Kullanımı	22
2.2.5. Frekanslarına Göre EEG Dalgaları	22
2.3. Epilepsi	26
2.3.1. Nöbetler ve Epilepsinin Tanımlanması	26
2.3.2. Nöbetler ve Epilepsinin Sebepleri	27
2.3.3. Nöbet ve Epilepsinin Sınıflandırılması	28
I- ILAE'ye Göre Epileptik Nöbetlerin Sınıflandırılması	28
a) Basit Parsiyel Nöbetler	29
b) Kompleks Parsiyel Nöbetler	30
c) Jeneralize Nöbetler	30
II- ILEA'ya Göre Epilepsi ve Epilepsi Sendromlarının Sınıflandırılması	34
a) İdiyopatik Epilepsiler	34
b) Semptomatik Epilepsiler	34

c) Kriptojenik Epilepsiler	34
2.3.5. Deneysel Epilepsi Modelleri	35
2.3.6. Epilepside EEG'nin Kullanımı	38
2.4. Nitrik Oksit	40
2.4.1. Nitrik Oksitin Sentezi	40
2.4.2. Nöronal Uyarılabilirlik ve Ateşleme Üzerine NO'nun Etkisi	41
2.4.3. LTP, LTD ve Öğrenmede NO'nun Rolü	43
2.4.4. Nörotransmitter Salınımı Üzerine NO'nun Etkisi	45
a) Asetilkolin (ACh)	45
b) Eksitator ve İnhibitör Amino Asitler	46
c) Katekolaminler	47
d) Histamin	47
e) Serotonin	48
f) Adenozin	48
2.4.5. Nitrik Oksit ve Epilepsi	48
2.5. Adenozin	50
2.5.1. Adenozin Reseptörleri	52
2.5.2. Hücresel Seviyede Adenozinin Etkileri	55
2.5.3. Adenozin Seviyesinin Düzenlenmesi	55
I- Ekstrasellüler Adenozinin Düzenlenmesi	55
a) Bir Adenozin Kaynağı Olarak Adenin Nükleotidlerinin Ekstrasellüler Çevrimleri.....	55
b) Kolaylaştırılmış Difüzyon Taşıyıcıları Yoluyla Adenozinin Salınması ...	57
c) Ekstrasellüler Alanlardan Adenozinin Uzaklaştırılması	57
II- İntrasellüler Adenozinin Düzenlenmesi	58
2.5.4. Beyinde Adenozin Salgılatan Fizyolojik Uyarılar	58
2.5.5. Adenozinin Fizyolojik Etkileri	58
I- Normal Fizyolojide Adenozinin Rolü	58
a) Uyku ve Uyanmanın Düzenlenmesi	58
b) Retrograd Sinaptik Bir Haberci Olarak Adenozin	59
II- Patolojik Şartlarda Adenozinin Rolü	59
a) Uykunun Düzenlenmesi ve Uyanmanın Düzeyi	59

b) Anksiyete	60
c) İdrak ve Hafıza	61
d) Nöron Koruyucu Etkisi	61
e) Alzheimer Hastalığı	62
f) Parkinson Hastalığı	63
h) Huntington Hastalığı	63
i) Şizofreni	64
i) İlaç Alışkanlığı	64
j) Ağrı	64
2.5.6. Adenozinin Epilepside Rolü	64
3. MATERYAL VE METOD	67
3.1. Deney Hayvanları	67
3.2. Kimyasal Maddeler ve Uygulanış Şekilleri	67
3.3. Deney Grupları	69
3.4. Cerrahi İşlem	71
3.5. Elektrofizyolojik Kayıtlar	72
3.6. İstatistiksel Analiz	73
4. BULGULAR	75
4.1. Grupların Epileptiform Aktivite Latensi Açısından Karşılaştırılması	75
4.2. Grupların Spike Frekansı Açısından Karşılaştırılması	75
4.2.1. Penisilin Verilmesinden Sonraki İlk 30 Dakikalık Bölümün Spike Frekansı Açısından Karşılaştırılması	75
4.2.2. Nitrik Oksitin Spike Frekansına Etkisi	77
4.2.3. Adenozinin Spike Frekansına Etkisi	77
4.2.4. Nitrik Oksit ve Adenozin Etkileşiminin Spike Frekansına Etkisi	81
a) NO'nun eksikliğinde adenozinin rolü	81
b) Adenozinin etkisizliğinde NO'nun rolü	84
c) Adenozin ve NO'nun birlikte etkileri	84
d) Adenozin ve NO antagonizmasının etkileri.....	86
4.3. Grupların Spike Amplitüdü Açısından Karşılaştırılması	86
4.3.1. Penisilin Verilmesinden Sonraki İlk 30 Dakikalık Bölümün Spike Amplitüdü Açısından Karşılaştırılması	86

4.3.2. Nitrik Oksitin Spike Amplitüdüne Etkisi	87
4.3.3. Adenozinin Spike Amplitüdüne Etkisi	87
4.3.4. Nitrik Oksit ve Adenozin Etkileşiminin Spike Amplitüdüne Etkisi	90
a) NO'nun eksikliğinde adenozinin rolü	90
b) Adenozinin etkisizliğinde NO'nun rolü	90
c) Adenozin ve NO'nun birlikte etkileri	92
d) Adenozin ve NO antagonizmasının etkileri	92
5. TARTIŞMA	94
5.1. Nitrik Oksitin Epilepsiye Etkisi	94
5.2. Adenozinin Epilepsiye Etkisi	101
5.3. Deneysel Epilepside Nitrik Oksit ve Adenozin Etkileşimi	105
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	110
KAYNAKLAR	111
ÖZGEÇMİŞ	133

1. GİRİŞ

Epilepsi toplumun %1-3'ünü etkileyen ve yaklaşık % 10'unun da yaşamlarının bazı dönemlerinde bir veya daha fazla nöbete yol açan, kronik özelliğe sahip, yaygın bir nörolojik hastalıktır (Hauser ve ark., 1996). Nöbetler ve epilepsi antik çağlardan beri bilinmektedir. O dönemlerde hastalar, nöbet durumları için, şu anda inme, felç, baygınlık ve katapleksi olarak bilinen hastalıkların bir “*saldırı*” sı (seized) olduğunu söylüyorlardı. Epilepsili hastalar toplumdan dışlanıyor ve “epilepsi kolonileri” oluşuyordu (Shneker ve Fountain, 2003). Epilepsinin modern anlamda anlaşılması, hastalıktan dolayı dışlanmaların azalmasına ve Dünya Sağlık Örgütü'nün epilepsili hastalar için başlattığı “*gölgelerden dışarı*” kampanyasının ilerlemesine yol açtı (De Boer, 2002).

Epilepsi ile nöbet kavramları zaman zaman yanlış bir şekilde birbirlerinin yerlerine kullanılsalar da aslında farklı durumları ifade etmektedirler. Epilepsi provoke edilmemiş ve spontane olarak tekrarlayan nöbetlerle karakterize bir hastalıktır. Nöbet ise beyinde anormal, istemsiz ve ritmik nöronal deşarjlar sonucunda meydana gelen ve zaman sınırlaması olan paroksizmal olaylardır. Nöbetler genellikle 5 dakikadan daha kısa sürmektedirler. Epilepsiden “*nöbet hastalığı*” olarak bahsedilmesine rağmen nöbetlerden epilepsi olarak bahsedilmesi doğru değildir. Nöbet ve epilepsi arasındaki farkı bir benzetme ile tanımlayabiliriz. Solunumla vücuda alınmış bir iritanın geçici olarak varlığı neticesinde normal solunum sisteminde öksürüğün başlatılabilmesi bir nöbetin provoke edilmesine benzemektedir. Kronik obstrüktif solunum hastalıklarının neticesinde öksürük için ısrarcı bir meyil epilepsiye benzetilebilir (Shneker ve Fountain, 2003).

Epidemiyolojik çalışmalardan elde edilen bulgular, beyin travmaları, merkezi sinir sistemi (MSS) enfeksiyonu, beynin damarsal hastalığı, beyin tümörleri, dejeneratif MSS hastalıkları, bedensel ve zihinsel gelişim bozuklukları ve febril konvulsiyon gibi durumların epilepsi insidansını arttırdığını göstermiştir. Bununla birlikte epileptik olguların % 70'inde sebep tespit edilememektedir (Annegers, 1994).

Epilepsinin elektrofizyolojik temelleri ve diğer özellikleri hakkında akla gelen sorulara cevap aramak ve daha etkili antiepileptik ilaçlar geliştirmek için deneysel modeller üzerinde çalışılır. Çünkü normal şartlar altında insan beyninde hücre içi

kayıtlar, mikrokimyasal analizler ve anatomik iz sürme işlemlerini yapmak, en azından tıbbi etik açıdan mümkün değildir (Marangoz, 1997).

Epilepsiyle ilgili çalışmalarda elektroensefalogram (EEG) ve elektrokortikogram (ECoG) en çok kullanılan metottur. Beyin dalgaları eksitator ve inhibitör postsinaptik potansiyellerin (EPSP ve IPSP) cebirsel toplamı sonucu arta kalan sinaptik aktivitenin senkronizasyonu yoluyla oluşur ve yüzeydeki kaydedici elektrot yardımıyla yazdırılır. Korteks yüzeyine yakın nöronal yapıların EPSP'leri EEG dalgalarının negatif kısımlarını; derin kortikal yapıların IPSP'leri de EEG dalgalarının pozitif kısımlarını oluştururlar. Ayrıca, yüzeysel IPSP'ler EEG dalgalarının pozitif kısımlarının, derinlerdeki EPSP'ler ise negatif kısımlarının oluşumuna katkıda bulunur. Temel araştırmalara göre, kısa süreli olan aksiyon potansiyellerinin EEG'ye direkt katkısı çok azdır. (Creutzfeldt ve ark., 1966).

Epileptik deşarjlar EEG'nin aşırı senkronizasyonunu ifade eder. EEG epileptik nöbetin imzası sayılır. Absans nöbetlerde EEG'de saniyede 3-4 ritmik diken-dalga kompleksi görülür. Jeneralize tonik-klonik nöbetlerde (grand mal) diken-dalga kompleksine rastlanmaz. Bir nöbete girilirken EEG'deki ilk değişiklik, düşük amplitütlü desenkronize dalgalar olabilir (Fisch ve Pedley, 1987). Tonik-klonik nöbette bunu saniyede 15-25 frekanslı keskin dalgalar izler. Nöbetten sonra EEG düzleşir ve kontroldekinden daha yavaş dalgalar görülür. Nöbet karşılığı olarak iktus (ictus) da kullanılır. Bu nedenle, nöbet sonrasına postiktal periyot, nöbetler arası zamana da interiktal periyot denir. İnteriktal dönemde EEG normal olabileceği gibi davranışı etkilemeyecek ölçüde çok kısa süreli deşarjlar da görülebilir. İnteriktal deşarjlar epilepsinin beyindeki kaynağı hakkında bilgi verir. Epilepsinin deneysel modellerinden elde edilen kayıtlar genellikle interiktal epilepsideki benzerdir. Ancak, davranış desteklemediği sürece, EEG'deki diken benzeri dalgaların epilepsiyi gösterdiğini söylemek mümkün değildir. Diğer taraftan, interiktal dönemde EEG'de dikenlerin olmaması epilepsi olmadığı anlamına gelmez (Fisher, 1989; Marangoz, 1997).

Beynin değişik bölgelerinde zaman zaman ortaya çıkan patolojik özellikteki biyoelektrik aktivitelerin epilepsi nöbetlerine neden olduğunu göz önüne aldığımızda, beynin biyoelektrik faaliyetini ve meydana gelen değişimleri bize gösteren EEG'nin epilepside vazgeçilmez bir araştırma yöntemi olduğu söylenebilir. EEG'nin epilepside yardımcı olduğu en önemli durum epilepsinin tanısı ve sınıflandırmadaki yerini

belirlemedeki katkısı olmakla beraber EEG bulgularının epilepside tedaviye başlama, tedaviyi izleme ve sonlandırmada da dikkate alınması gerektiğini vurgulamak uygun olacaktır.

Nitrik oksit (NO) memelilerde nöron, endotel ve makrofaj gibi farklı hücre tiplerinde nitrik oksit sentaz (NOS) olarak adlandırılan 3 izoenzim ailesi tarafından sentezlenmektedir. Nöronlarda bulunan nöronal nitrik oksit sentaz (nNOS) yapısal olarak üretilir ve aktivitesi Ca^{+2} tarafından düzenlenir. Diğer bir yapısal ve Ca^{+2} 'a bağımlı NOS tipi olan endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) damarların endotel hücrelerinde bulunmaktadır (Prast ve Philippu, 2001). Ayrıca makrofajlar, indüklenebilen, Ca^{+2} 'dan bağımsız ve sitokinlerin etkisiyle üretilen bir NOS tipini yani indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) enzimini içermektedir (Förstermann ve Kleinert, 1995; Mayer ve Andrew, 1998). Hipokampus ve diğer beyin bölgelerinin nöronları ayrıca nNOS'un yanında eNOS'da içermektedir (Dinerman ve ark., 1994). Bu üç izoenzimin hepsi moleküler oksijen ve nikotinamid-adenin dinükleotid fosfat'ı (NADPH) ko-substrat gibi kullanarak L-arjininden NO üretirler (Mayer ve ark., 1991; Lohse ve ark., 1998).

Nöronlarda NO'nun sentezi glutamat reseptörlerinin, tercihen N-metil D-aspartat (NMDA) reseptörünün aktivasyonu sonucu hücre içerisine Ca^{+2} girişiyle uyarılır (Garthwaite ve ark., 1989a, b). NO öncelikle hücrelerarası bir haberci olarak işlev görmektedir. Şaşırtıcı bir şekilde 0.3–0.4 mm'lik mesafelere ulaşarak, hızlı ve etkili biçimde NO duyarlı hedef hücrelere yayılmaktadır (Wood ve Garthwaite, 1994). Böylece, NO üreten hücrelerin birçok dokuda çok az miktarda bulunmalarına rağmen NO üretimi oldukça geniş alanlardaki nöronları etkileyebilmektedir. NO'nun seçiciliği, NO'nun hedef hücresi olan belirli hücrelerdeki hücre bileşenlerinin NO'ya duyarlı özellikleriyle başarılmaktadır. Anlaşıldığı kadarıyla NO'nun etkisinin çoğunluğu siklik guanozin monofosfat (cGMP) aracılığıyla gerçekleştirilmektedir. NMDA veya NMDA olmayan reseptör antagonistlerinin farelere uygulanması sonucunda beyinde cGMP seviyesi artmış ve bu süreç NOS inhibitörleriyle engellenmiştir (Wood ve ark., 1990). Farklı beyin bölgelerinde ekstrasellüler alana cGMP'nin akışı NOS inhibitörlerine duyarlıdır. En azından bazı beyin bölgelerinde cGMP'nin tonik sentezini sağlamak için bazal bir NO üretimi vardır (Vallebuona ve Raiteri, 1993; Fedele ve Raiteri, 1996). cGMP'nin dışarı akışı, eksitator amino asitleri kullanan nöronları içeren yolların

elektiriksel uyarımında olduğu gibi kainat, alfa-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolpropiyonat (AMPA) ve NMDA reseptörlerinin aktivasyonuyla oldukça artmaktadır. Bu artış NOS inhibitörleri ve çözünür guanilil siklaz (sGC) inhibitörleri tarafından önlenir (Luo ve ark., 1994; Consolo ve ark., 1999). Bu veriler eksitatör transmitter iletiminin uyarılmasıyla NO sentezinin teşvik edileceğini ve sGC aktivasyonuyla cGMP sentezinin artacağını göstermektedir.

NO'nun nöronal bir haberci olarak keşfedilmesinden bu tarafa onun nöronal fonksiyonları düzenleme şekli yoğun araştırma konusu olmuştur. NO birkaç yol aracılığıyla sinyal iletimiyle ilişkili fonksiyonlar açısından nöronlarda değişikliklere neden olur. Uyarılabilirlik üzerine NO'nun etkisinin çoğunluğu cGMP'ye bağlıdır. sGC'nin aktivasyonunun cGMP oluşumu ve cGMP bağımlı protein kinaz aktivasyonunu artırdığı ileri sürülmüştür (Wang ve Robinson, 1997; Smolenski ve ark., 1998). NO tarafından nöronal cGMP sentezinin uyarılması çeşitli hücrel elemanların fonksiyonlarını düzenler. Nöronun tipi ve onun MSS'de yerleşimine bağılı olarak farklı "NO-cGMP devresi" sayesinde hücrel fonksiyonların NO'nun etkisi aracılığıyla gerçekleştiği bulunmuştur. Örneğin çeşitli iyon kanalları cGMP ve protein kinaz aracılığıyla NO tarafından düzenlenir. NO aracılığıyla cGMP sentezi serebellumdaki gama aminobutirik asitin A reseptörlerinin (GABA_A) ve beyin sapı, serebellum ile retinanın horizontal hücrelerindeki AMPA reseptörlerinin fonksiyonlarını azaltır (Zarri ve ark., 1994; Dev ve Morris, 1994).

NO'nun ayrıca cGMP'ye bağılı yoldan başka, cGMP'den bağımsız bir yoldan nöronal fonksiyonları düzenlediği düşünülmektedir. İkinci mekanizma NO tarafından reseptörlerin düzenlenmesi ve onun toksik etkileriyle ilgilidir. NO'nun cGMP'den bağımsız mekanizması nitrosilasyona yol açan proteinler ile doğrudan reaksiyonunu ve peroksinitrit oluşturmak üzere süperoksit ile NO'nun reaksiyonunu kapsar. Bu yolun bazı hedefleri henüz tanımlanmamıştır fakat hedefler arasında duyarlı bazı ekstra proteinler olabilir. Kortikal nöronlardaki NO kısa bir süre için uyarılabilirliği artırarak cGMP'den bağımsız gama aminobutirik asit (GABA) aracılıklı Cl⁻ akımını azaltır. (Robello ve ark., 1996). Ayrıca NO sıçanların önbeyin dilimlerinde AMPA'nın bağlanmasını artırır (Dev ve Morris, 1994). Bu mekanizmaların yukarıda bahsedilen serebellar dilimlerde cGMP'nin NO tarafından GABA_A ve AMPA reseptörlerine bağımlı modülasyonundan farklı olduğu açıktır. Böylece çeşitli beyin bölgelerinde aynı

reseptörler farklı mekanizmalar yoluyla NO tarafından düzenlenebilir. NO ayrıca NMDA reseptör fonksiyonunu engeller. NO bir redoks düzenleyici bölgenin oksidasyonunu sağlayarak veya henüz tanımlanmamış başka bir mekanizmayla intraselüler Ca^{+2} artışını ve NMDA reseptörü aracılıklı akımı azaltır (Hoyt ve ark., 1992; Lei ve ark., 1992; Manzoni ve ark., 1992).

NO'nun epilepsiyle olan ilişkisi bu güne kadar farklı deneysel epilepsi modelleri kullanılarak araştırılmıştır. Bu çalışmalardan elde edilen bulgulardan bir kısmı NO'nun antikonvulsan özelliğe sahip bir madde olduğunu diğer bir kısmı ise prokonvulsan olabileceğini ileri sürmüştür. Örneğin konvülsiyon oluşturmak için kullanılan NMDA'dan önce NO'nun ön maddesi olan L-arjinin uygulandığında NMDA'nın epileptojenik özelliğinin arttığı görülmüştür. L-arjininle birlikte genel bir NOS inhibitörü olan N ω -Nitro-L-Arjinin Metil Ester (L-NAME) uygulandığında L-arjinin epileptojenik özelliği önlenmiştir (Mollace ve ark., 1991). Sıçanlarda kainik asitin subkonvülsif dozundan önce NOS inhibitörü N- ω -nitro-L-arjinin (NNA) 50 mg/kg dozda intraperitoneal (i.p.) uygulandığında epileptik nöbetlerin ortaya çıktığı görülmüştür. Fakat bu çalışmada NNA'nın pilokarpin, pikrotoksin, bikukulin ve pentilentetrazol (PTZ) modellerinde etkili olmadığı bulunmuştur (Penix ve ark., 1994). Farklı bir çalışmada farelerde kokain kullanılarak oluşturulan nöbetlerden önce NOS inhibitörleri N- ω -nitro-L-arjinin metil ester (L-NAME; 100 mg/kg, i.p.) ve NG-L-arjinin (NRG; 25 mg/kg, i.p.) uygulandığında konvülsiyonların önlendiği görülmüştür (Itzhak, 1994). Sıçanlarda yapılan bir çalışmada, lityum klorürden önce güçlü bir asetilkolinesteraz inhibitörü olan takrin'in (5 mg/kg, i.p.) verilmesiyle ortaya çıkan nöbetlerin L-NAME tarafından önlendiği bildirilmiştir (Bageetta ve ark., 1992). Farelerde siyanürle oluşturulan tonik epilepsi modelinde NOS inhibitörü NNA (300 mg/kg, i.p.) uygulanmasından sonra nöbet eşiğinin yükseldiği ve dolayısıyla NO'nun prokonvulsan bir etki gösterdiği saptanmıştır (Yamamoto, 1995).

Yukarıda ifade edilen çalışmaların yanı sıra NO'nun antikonvulsan özellikte bir madde olduğunu bildiren yayınların miktarı da oldukça fazladır. Kainik asit kullanılarak oluşturulan nöbetlerde NO prekürsörü L-arjininin (150-600 mg/kg, i.p.) nöbet eşiğini yükselttiği, inaktif izomeri olan D-arjininin antikonvulsif bir etki göstermediği saptanmıştır. NOS inhibitörleri L-NAME ve NG-monometil-L-arjinin (L-NMMA)'nın (3-30 mg/kg, i.p.) ise kainik asitin neden olduğu nöbetin eşiğini

düşürdükleri görülmüştür (Przegalinski ve ark., 1994). Tutuşma modeli kullanılarak yapılan çalışmalarda da NO'nun endojen bir antikonvulsan olabileceği ileri sürülmüştür. Sıçanda NOS inhibitörü L-NG-nitro arjininin tutuşma modelinin başlangıcında kolaylaştırıcı bir etki sergilediği fakat tutuşma başladıktan sonra etkili olmadığı bildirilmiştir (Rondoin ve ark., 1992). Başka bir çalışmada sıçan hipokampusundan elde edilen dilimler üzerinde in vitro tutuşma modeli oluşturularak NO'nun etkisi araştırılmıştır. Deneyden 1 saat önce 100 µM metil-L-arjinin (NOS inhibitörü) uygulandığında hipokampusun CA1 ve CA3 bölgelerinde interiktal benzeri bört aktivitesinin arttığı, dolayısıyla tutuşmanın kolaylaştırıldığı saptanmıştır (Grooms ve ark., 1994). Deneysel epilepsi çalışmalarında bikukulin ile provoke edilen nöbetlerde oldukça yaygın kullanılmaktadır. Bikukulinin kullanıldığı bir çalışmada nöbet aktivitesi boyunca NOS inhibisyonunun nöbet süresini iki katına çıkardığı görülmüştür (Wang ve ark., 1994; Theard ve ark., 1995). Farklı bir çalışmada sıçanlarda lityum-pilokarpın ile oluşturulan nöbetlerde pilokapinden 30 dk önce uygulanan L-arjinin (300 mg/kg) status epileptikus yüzdesini azalttığı gösterilmiştir. L-arjininin tüm dozlarının olmasa da bazı dozlarının nöbet aktivitesini önleyebileceği fakat devam eden nöbet aktivitesine L-arjininin etki etmediği bildirilmiştir (Noyan ve Gulec, 2000). NO'nun antiepileptik özelliği yapılan klinik bir çalışmada da vurgulanmıştır. Epileptik çocuklara valproik asit ve karbamazepin uygulandıktan sonra, NO metabolitleri olan serum nitrit ve nitrat seviyelerine bakılmış. Her iki antiepileptik maddenin serum nitrit ve nitrat seviyelerini kontrol grubuna göre yüksek olduğu bulunmuştur. Elde edilen bulgulara dayanarak bu iki maddenin antiepileptik etkilerini NO aracılığıyla yapabilecekleri ileri sürülmüştür (Karabiber ve ark., 2004).

Görüldüğü üzere NO'nun epilepsi çalışmalarında dual bir etkisi söz konusudur. NO'nun dokudaki konsantrasyonu, onun fizikokimyasal redoks safhası, nöronal olarak sentezlenme durumunun her bir etkinin göreceli olarak baskınlığının ortaya çıkmasına neden olduğu ileri sürülmüştür (Del-Bel ve ark., 1997).

Purinerjik sistemin bir üyesi olan adenozin, özellikle kalp ve beyin gibi uyarılabilir dokularda birçok fizyolojik olayı düzenler. Adenozinin etkilerinin birçoğu, ya uyarılabilir dokuların aktivitesini azaltmak (örneğin kalp atımını yavaşlatmak gibi) veya metabolik substratların iletimini artırmak şeklinde gerçekleşmektedir (örneğin vazodilatasyona neden olmak). Adenozinin bir hücre içi haberci olarak farklı roller

oynadığı açıktır (Dunwiddie ve Masino, 2001). Dünyada psikoaktif ilaç olarak yaygın bir şekilde kullanılan kafeinin farmakolojik etkileri bir adenosin reseptör antagonistinin etkileri olarak nitelenebilir (Fredholm ve ark. 1999).

Her yerde-her zaman mevcut olduğu söylenen adenosin, tüm hücrelerde bulunmakta ve görünüşe göre nöron ve glialar dahil tüm hücrelerden salınmaktadır. Adenosin gerçekten de sinir sistemindeki hücrelerin homeostasisinde çok önemli bir madde olarak tanınmaktadır. 1980'lerin başında Newby tarafından "misillemeyle ilgili metabolit" olarak, diğer bir araştırmacıya göre ise "bir yaşam sinyali" olarak adlandırıldı (Newby, 1981; Engler, 1991).

Adenosin reseptörleri yoğun olarak çalışılmıştır. Bu güne kadar dört farklı adenosin reseptörü insanında içinde bulunduğu farklı türlerde klonlanmıştır (Olah ve Stiles 1995). Diğer adenosin reseptörlerini tanımlamak için sarf edilen yoğun çabalar başarısız olduğu için gelecekte ilave reseptörlerin tanımlanabileceği imkânsız görünmektedir. Adenosin reseptörlerinin tamamı membranı 7 kez kateden, G proteinine bağlı reseptörlerdir. Bu reseptörler P1 (adenozine seçici) / P2 (adenozin trifosfata - ATP'ye seçici) terminolojisinde P1 reseptörleri olarak bilinir (Burnstock, 1978). P1 reseptörleri G proteinine bağlı reseptör (GPCR) familyasına aittirler. Bu reseptörlerin tamamı insanında içinde bulunduğu birkaç memeli türünde klonlanmış ve tanımlanmıştır (Fredholm ve ark., 2001). Adenosinin nöromodülatör rolüne, fizyolojik açıdan önemli olan yüksek afiniteli A₁ ile A_{2A} reseptörleri ve patolojik şartlarla ilgili olduğu bilinen düşük afiniteli A_{2B} reseptörlerinin aktivasyonu aracılık eder. İnsanda A₃ reseptörü de yüksek afinitelidir fakat çoğu dokuda düşük yoğunlukta bulunmaktadır (Ribeiro ve ark., 2003).

Patofizyolojik olaylarda adenosin için önerilen rollerden birisi onun endojen bir antikonvulsan olmasıdır (Dragunow, 1986). Epilepsinin deneysel modellerinde adenosinin antikonvulsan etki sergilemesi onun inhibitör nöromodülatör rolüyle uyumlu bir sonuçtur (Dunwiddie, 1999). Adenosin reseptör agonistlerinin dışarıdan uygulanması nöbet aktivitesini azaltırken adenosin reseptör antagonistleri prokonvulsan etki göstermektedir. Nöbet aktivitesi sırasında endojen adenosin seviyesi önemli derecede arttığı için adenosinin bir "endojen antikonvulsan" gibi fonksiyon gösterdiği ileri sürülmüştür (Dragunow, 1988). Bununla birlikte ne knock-out farelerde A₁ reseptörünün eksikliği nede kafein gibi antagonistler tarafından adenosin reseptörlerinin

antagonize edilmesi doğrudan nöbetlere yol açmamıştır. Çok yüksek konsantrasyondaki kafein konvülsiyona neden olabilir fakat bu adenozin reseptör antagonizmasının muhtemel ilişkisinden ziyade orayı etkileyen konsantrasyondan dolayı meydana gelmektedir (Boison, 2005).

Adenozinin antikonvulsan etkilerinin başlıca A_1 reseptörleri aracılığıyla gerçekleşmesine rağmen bazı beyin bölgelerinde A_{2A} reseptörlerinin de bu olaya karışabileceği saptanmıştır. DBA/2 ırkı farelerdeki audiyojenik nöbetler A_1 ve A_{2A} reseptör agonistlerinin her ikisi tarafından engellenmiş ve her bir reseptör alt tipine selektif antagonistler tarafından nöbetler arttırılmıştır (De Sarro ve ark. 1999).

A_1 reseptörü için seçici olan antagonistlerin konvülsiyonları şiddetlendirdiği, 2-kloro-N6-siklopentiladenozin (CCPA) gibi A_1 reseptörü için selektif agonistlerin ise farklı epilepsi modellerinde nöbet aktivitesini baskıladığı gösterilmiştir (Monopoli ve ark., 1994; Huber ve ark., 2002; Etherington ve Frenguelli, 2004). Çeşitli modellerdeki etkilerine rağmen, A_1 reseptör agonistlerinin sistemik olarak uygulanmaları durumunda yoğun periferik (başlıca kardiyovasküler) etkilere neden olacakları göz önüne alındığında, bu maddelerin potansiyel bir anti-epileptik ajan olamayacakları bildirilmiştir (Monopoli ve ark., 1994). A_1 reseptörlerinin yanı sıra, nöbetlerin baskılanmasında A_{2A} reseptör aktivasyonunun potansiyeli de araştırılmıştır. Adenozin A_{2A} reseptör agonistleri 2-(4-(2-karboksietil)-fenil-amino)-5'-N-etilkarboksamidoadenozin (CGS 21680) ve 5'-(N-siklopropil)-karboksiamido-adenozin (CPCA) bikukulin ve pentilentetrazol ile oluşturulan nöbetleri antagonize etmede yetersiz kalırken, bir A_{2A} reseptör antagonisti olan ZM 241385 epileptiform aktivitenin süresini kısaltmıştır (Zhang ve ark., 1994; Malhotra ve Gupta, 1997; Etherington ve Frenguelli, 2004). Bununla birlikte A_{2A} reseptör agonistleri CPCA, 2-heksinil-5'-N-etil-karboksiamido-adenozin (2-HE-NECA) ve CGS 21680 genetik olarak epilepsiye yatkın sıçan ve farelerin beyin sapında gerçekleşen nöbetleri etkili biçimde önledikleri görülmüştür (De Sarro ve ark., 1999; Huber ve ark., 2002). Bu verilere göre A_{2A} reseptörlerinin nöbet aktivitesi üzerindeki etkisinin farklı beyin bölgelerine göre değişebileceği ifade edilmiştir (Boison, 2005).

Adenozin reseptör agonistlerinin sedasyon gibi MSS ile ilişkili yan etkilerinin yanında belirgin periferik yan etkilerinden dolayı antikonvulsan ilaç olarak kullanımlarındaki sınırlamalar genellikle vurgulanmaktadır. Bu kısıtlamalardan kaçınmak için endojen adenozinin konsantrasyonunu artıran bileşiklerin, özellikle

adenozin kinaz (ADK) inhibitörlerinin kullanılması önerilmektedir. Bu bileşikler adenozin seviyesi düşük olan diğer beyin bölgelerinde nöbetlerin neden olduğu ekstrasellüler adenozinde artışı kolaylaştırmaktadır. Adenozinin antiepileptik özellikleri çoğunlukla hipokampustaki sinaptik ileti üzerine adenozin A₁ reseptörlerinin iyi bilinen inhibitör etkilerinden kaynaklanmaktadır (McGaraughty ve ark., 2001; Ribeiro ve ark., 2003).

Adenozinin antiepileptik özelliğe sahip bir madde ve MSS'de genellikle inhibitör etkiler gösteren bir nöromodülatör olduğu artık herkes tarafından kabul edilen gerçeklerdir. Bununla birlikte adenozin henüz epilepsinin tedavisinde kullanılan antiepileptik bir ilaç olma potansiyelinden öte, yani epilepsi tedavisinde aktif olarak kullanım aşamasına ulaşmamıştır. Bu duruma ilişkin bir çok sebep ileri sürülmüştür. Özellikle kardiyovasküler sistem üzerine olan inhibitör yan etkileri ve sedasyon gibi MSS'yi doğrudan ilgilendiren olumsuz durumlara yol açması adenozinin antiepileptik ilaç olarak kullanımını kısıtlayan en önemli nedenler arasında yer almaktadır.

Adenozin ve NO'nun etkileşimi özellikle kardiyovasküler ve gastrointestinal sistemler üzerinde araştırılmıştır. Domuz koroner arterinden elde edilen endotelial hücre kültüründe bu etkileşim çalışılmıştır. Adenozin reseptör agonistleri CGS-21680 ve NECA'nın etkilerinin domuz koroner arterinde kısmen endotelial kaynaklı NO'ya bağımlı bir mekanizmayla gerçekleştiği bildirilmiştir (Abebe ve ark., 1995). Yine aynı kültürde yapılan başka bir çalışmada adenozin agonistlerinin NO üretimi aracılığıyla cGMP'yi arttırdığı ve bu etkiye adenozin A_{2A} ve A_{2B} reseptörlerinin aracılık ettiği gösterilmiştir. Bu çalışmanın adenozin A_{2B} reseptörü ile NO üretimi arasındaki bağlantısı için doğrudan ortaya konulan ilk kanıt olduğu bildirilmiştir (Olanrewaju ve Mustafa, 2000). Sıçanlarda yapılan farklı bir çalışmada nükleus traktus solitari (NTS) içerisine adenozin mikroenjeksiyonunun baskılanmaya ve bradikardik etkilere neden olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada önceden adenozin reseptör antagonisti DPSPX ve NO sentaz inhibitörleri L-NMMA veya L-NAME uygulanmasının, adenozinin NTS içerisine enjeksiyonu sonrasında kardiyovasküler sistem üzerine gösterdiği baskılayıcı ve bradikardik etkilerinin azalmasına neden olduğu bulunmuştur. NTS içerisine L-arjinin uygulandığında kan basıncı ve kalp atımının azaldığı ve önceden yapılan spesifik adenozin reseptör antagonisti DPSPX enjeksiyonunun bu etkileri azalttığı görülmüştür. Bu sonuçlara göre kardiyovasküler sistemin MSS tarafından düzenlenmesinde adenozin

ve NO'nun resiprokal bir mekanizma yoluyla etkileşebilecekleri ileri sürülmüştür (Lo ve ark., 1998). Domuzlarda yapılan başka bir etkileşim çalışmasında adenozinin neden olduğu koroner mikrovasküler dilatasyona özellikle A_{2A} reseptörlerinin aracılık ettiği gösterilmiştir. Bu reseptör aktivasyonunun endotelial NO'nun salındığı ve düz kas hücrelerindeki K_{ATP} kanallarının açılmasıyla yoluyla vazodilatasyona neden olduğu bulunmuştur (Hein ve ark., 1999).

Adenozin ve NO etkileşiminin daha çok periferik doku ve sistemlerde çalışıldığı görülmektedir. MSS'de her iki maddenin etkileşimine dair birkaç çalışma bulunmakla birlikte bir deneysel epilepsi modelinde adenozin ve NO'nun etkilerini birlikte konu alan herhangi bir araştırmanın yapılmadığı görüldü. Sıçan hiokampal dilimleri üzerinde yapılan bir çalışmada NO donörleri *S*-nitroso-*N*-asetilpenisilamin (SNAP) ve sodyum nitropurusid'in (SNP) doza bağımlı bir şekilde purinlerin salınımını artırdıkları bildirilmiştir (Fallahi ve ark., 1996). SNAP ve diğer NO donörleri birkaç yoldan purinlerin salınımlarını uyarabilirler. NO'nun guanilil siklazı stimüle ettiği ve hücre içi cGMP miktarını artırdığı bilinmektedir. Bu durum sinir sonlanmalarından salınan nöroaktif maddelerin ve aynı zamanda purinlerinde miktarlarını değiştirebilir (Garthwaite, 1991). SNAP'ın serebral kortikal nöronlardan nörotransmitter salınımını uyarma yeteneği serbest oksijen radikalleriyle, muhtemelen peroksinitrit anyonunun oluşumuyla ilişkili olan süperoksit dismutaz tarafından bloklanmaktadır (Ohkuma et al., 1995). Peroksinitrit birçok hücrel bileşenle etkileşerek sonunda NO aracılığıyla purin salınımının artmasına yol açabilir. Bir NO donörünün uygulanmasının ardından aşırı miktarda adenozin artışı, hücrelerden adenin nükleotidlerinin salınımından veya hücre içinde miktarı artan adenozinin ekstrasellüler alana taşınmasından kaynaklanabilir. Sıçandan elde edilen hipkampal dilimler üzerinde yapılan bir çalışmada, NO'nun peroksinitriti oluşturmak için süperoksitle etkileştiği daha sonrada hipokampal dilimlerden adenozin ve adenin nükleotidlerinin salınımını artırdığı gösterilmiştir. (Broad ve ark., 2000).

NO ve adenozinin ilişkisi uyku oluşumunda da araştırılmıştır. NOS inhibitörleri kullanılarak yapılan birkaç çalışmada tavşan ve sıçanda NO enzim aktivitesinin bloklanmasıyla uykunun engellendiği saptanmıştır (Kapas ve ark., 1994; Burlet ve ark., 1999). Mikrodiyaliz teknikleri kullanılarak yapılan çalışmalarda uyanıklık safhası boyunca kedilerin bazal ön beyinde adenozinin biriktiği, uyku

yoksunluğuyla birlikte bu miktarın arttığı ve hayvanların uyumasına müsaade edilmesiyle neticesinde azaldığı görülmüştür. Bazal ön beyine yerleştirilen diyaliz probu vasıtasıyla adenzin uptake inhibitörünün infüzyonu neticesinde uykuda bir artış olduğu saptanmıştır (Porkka-Heiskanen ve ark., 1997). Her iki molekülünde uyku ile ilişkisini araştıran bir çalışmada Sprague Dawley sıçan embriyosuna ait ön beyinden elde edilen nöron kültürü üzerinde bu iki madde arasındaki etkileşim incelenmiştir. Bu çalışmadan elde edilen bulgulara göre NO'nun ekstraselüler adenzin miktarında bir artışa neden olduğu ve farklı NO donörlerinin de benzer etkiler gösterdikleri bildirilmiştir. Ayrıca ortama verilen NO temizleyicilerin (NO'yu uzaklaştıran maddeler) adenzindeki artışı blokladıklarında gösterilmiştir (Rosenberg ve ark., 2000).

Sıçanlarda yapılan farklı bir çalışmada, hipokampusun 0.5 mM SNP ile perfüzyonu süresince nöbetlerin geliştiği ve SNP'nin ekstrasellüler adenzin miktarında bir artışa yol açtığı bulunmuştur. Adenzin, glutamatın salınımını presinaptik olarak bloklayan ve A₁ reseptörü aracılığıyla hipokampal CA₁ bölgesindeki piramidal hücreleri postsinaptik olarak hiperpolarize eden bir nöromodülatördür. Bu fonksiyonla bağlantılı olarak adenzinin epileptik aktiviteye karşı koruyucu bir yanıt olarak salındığı ifade edilmektedir. Sıçan hipokampusunun CA₁ bölgesinde bulunan piramidal nöronlarda gerçekleşen adenzin salınımındaki artışın, NO'nun kendisi ve kısmen de süperoksit radikaliyle birlikte oluşturduğu peroksinitrit tarafından tetiklendiği ve bu artışın SNP'nin neden olduğu nöbetle yakından ilişkili olduğu bildirilmiştir (Kaku ve ark., 2001).

Bu iki nöroaktif maddeden her birinin epilepsiyle olan ilişkisi ayrı ayrı çalışılmış ve oldukça önemli bulgulara ulaşılmıştır. Fakat epilepsiyle yakından ilişkili olan bu iki nöromodülatör/nörotransmitter maddenin epilepsi üzerine birlikte ne gibi bir etkilere sahip oldukları henüz bilinmemektedir. Epileptiform aktivitenin oluşmasında, sürdürülmesinde ve durmasında bu iki maddenin her biri nasıl bir rol oynamaktadır? Sinerjistik mi? Hangisi diğerinin etkisini potansiyalize etmekte veya önlemektedir? Bu nedenle her iki sistemin epilepsideki ortak yeri ile ilgili, literatürde henüz yanıtlanmamış bu tür sorulara bir cevap niteliği taşıyabilecek olan bu çalışma planlandı. Nitretilik sistemin etkisini araştırmak için bir NO donörü olan SNP ve NOS inhibitörü olarak da L-NAME, adenzinerjistik sistemle ilgili agonist olarak adenzin ve antagonist olarak da teofilin kullanıldı.

Sunulan çalışmada amaç, Wistar sıçanda penisilinle oluşturulan deneysel epilepsi modelinde endojen adenzin ve bazı araştırcılara göre antikonvulsan diğerlerine göre prokonvulsan olan endojen nitrik oksit sisteminin nasıl etkileştiklerini ve bu etkileşme sürecinde her birine düşen rolün ne olduğunu araştırmaktı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Beyin Korteksi

İnsanı diğer omurgalı canlılardan ayıran en önemli yapısal özelliklerden bir tanesi olan geniş beyin korteksi (neokorteks), insana ait düşünme, karar verme, planlama, hafıza gibi yüksek beyin faaliyetleri bakımından da insanı fonksiyonel açıdan diğer memelilerden üstün kılmaktadır. Ayrıca beyin korteksi, duyu informasyonlarını alıp analiz eden, hareketlerin yapılmasını planlayıp yöneten ve homeostatik dengenin korunması için gerekli olayları düzenleyen en önemli merkezdir. Altı tabakadan oluşan neokorteks omurgalıların kurbağa ve sürüngen gibi aşağı formlarında hatta kuşlarda bile gelişmemiştir (Shepherd, 1974). Neokorteksin gelişmesi primatlarda iyice ilerlemiş ve insanda en üst düzeye ulaşmıştır. Memelilerin hepsinde beyin korteksi 2 mm kalınlığında bir hücre tabakası içermektedir. Genel olarak 6 tabakaya ayrılmakla birlikte birçok bölgede tabaka sayısı daha fazladır. Her milimetreküplük hacim yaklaşık 50.000 nöron içermektedir. Beyin korteksindeki hücrelerin tabakalar şeklindeki organizasyonlarına ait ilk çalışmalar 20. yüzyılın başlarına rastlamakta ve sitoarşitektonik olarak bilinmektedir (Shepherd, 1998).

İnsanda beyin korteksinin alanı 2.000-2.200 cm², hacmi ise ortalama 600 cm³'tür (Schmidt, 1989; Zilles, 1990). Korteksin her noktası diğer bir kortikal kısımdan veya subkortikal yapılardan lifler alır ve onlara lifler verir. Korteksteki nöronların aksonları ak maddeye geçerek aynı hemisferin değişik kısımlarına veya omurilik gibi çok daha uzakta bulunan korteks altı yapılara kadar uzayabilirler. Kortekste bulunan bazı nöronlar korteksin dışına akson göndermezler. Yani korteksteki nöronlar anatomik ve histolojik yönden farklılık gösterirler. Yapı ve şekil ayrılığına rağmen dağılımlarında düzenlilik görülür. Bundan dolayı korteks pia yüzeyinden alta doğru farklı tabakalara ayrılır. Bu tabakaları insan fetüsünde yedinci aydan itibaren ayırt etmek mümkündür (Barr ve Kiernan, 1988; Schmidt, 1989).

2.1. 1. Beyin Korteksinin Tabakaları

Beyin korteksi hücre tabakaları şeklinde organize olmuştur. Kortikal tabakaların sayısı ve onların fonksiyonel özellikleri korteksin her yerinde değişmektedir. Neokorteksin en tipik şeklinde, korteksin dış yüzeyinden (pia mater) ak maddeye doğru sıralanan 6 tabaka bulunmaktadır (Shepherd, 1998). Bu tabakaların bazıları alt tabakalara da bölünmektedir. Kalınlığı beynin farklı bölgelerinde 1.3

mm'den 4.5 mm'ye kadar değişiklik göstermektedir (Barr ve Kiernan 1988; Schmidt, 1989). Korteksi oluşturan altı tabaka intrauterin hayatın yaklaşık yedinci ayından itibaren ayırt edilebilir ve pia materden alta doğru şu şekilde sıralanırlar (şekil 1) (Barr ve Kiernan, 1988).

I. Tabaka: Moleküler Tabaka

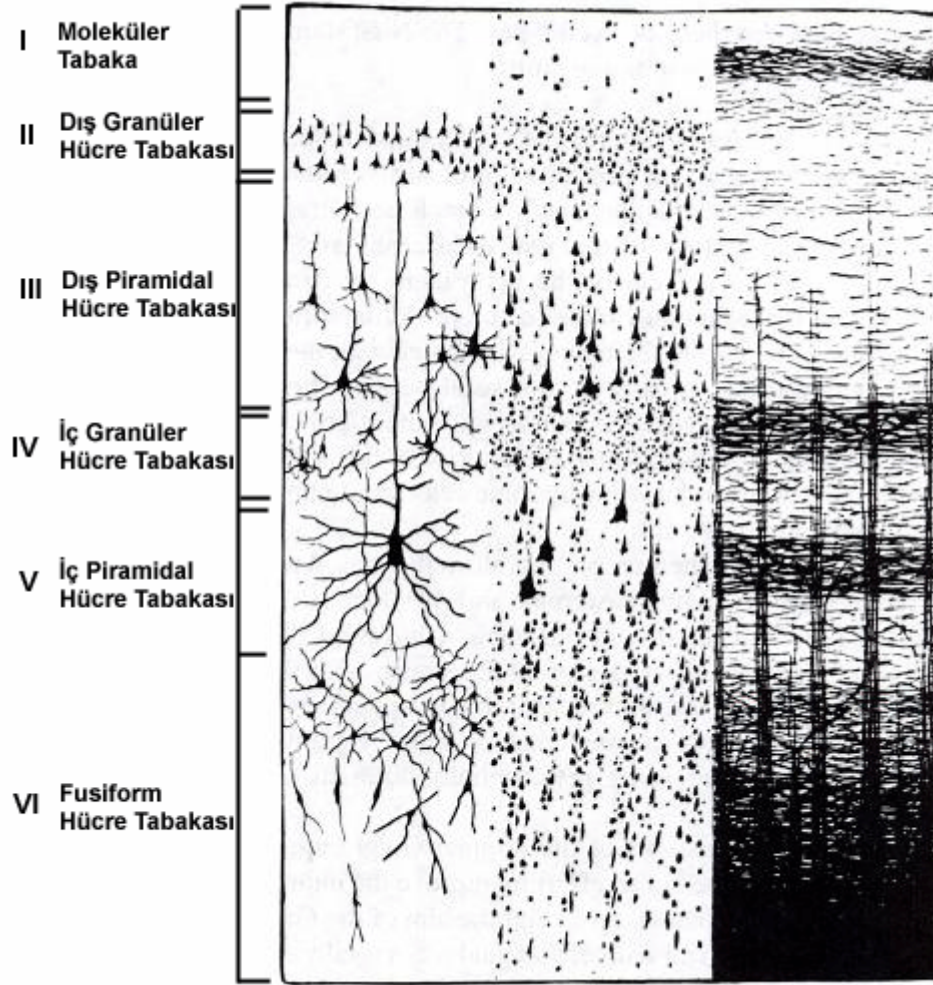
Pia materin hemen altından başlayan bu tabaka yaklaşık 250 µm kalınlığındadır. Hücreleri küçük ve hücre yoğunluğu diğer tabakalara göre daha azdır. II., III. ve IV. tabakalarda bulunan piramidal hücrelerin dikey dendritlerinin son kısımları ve bir kısım akson uçları bu tabakada sonlanmaktadır. Akson ve dendritler arasında seyrek halde Cajal'ın horizontal hücreleri ve dağınık bir şekilde yıldız hücreleri bulunmaktadır. Moleküler tabaka esas itibariyle korteksin sinaptik bir alanıdır (Barr ve Kiernan, 1988; Schmidt, 1989; şekil 1).

II. Tabaka: Dış Granüler Hücre Tabakası

Moleküler tabakayla karşılaştırıldığında bu tabakadaki hücreler daha büyük ve daha yoğundur. Hücrelerin şekli piramide benzediği için bu tabakaya küçük piramidal hücre tabakası da denir. Bu tabakada ayrıca yıldız hücreleri de bulunmaktadır. Buradan çıkan dikey dendritler moleküler tabakada sonlanmaktadır. Aksonlar hücrenin tabanından çıkarak V. ve VI. tabakalarda sonlanır. Fakat az da olsa bazı aksonlar ak maddeye ulaşabilmektedir. IV. tabakada bulunan granüler ve bazı piramidal hücrelerin aksonları ile rekurrent kollateraller ve asosiyasyon lifleri de bu tabakada sonlanırlar (Barr ve Kiernan, 1988; şekil 1).

III. Tabaka: Dış Piramidal Hücre Tabakası

Dış granüler tabakadan ayırt edilmesi zor olmakla birlikte bu tabakadaki piramidal hücrelerin daha büyük olması en önemli ayırt edici özellik olarak kabul edilmektedir. Hücrelerin tepesi korteksin yüzeyine doğrudur. Dikey dendritler I. tabakanın sinaptik alanlarına giderken yatay dendritler ise bu tabaka içerisinde uzanırlar. Bu tabakanın alt kısmındaki hücreler talamustan gelen spesifik aferentleri alırlar. Alt tabakalardan gelen bazı aksonlar bu tabakada sinaps yaparlar. III. tabakadan ayrılan eferentlerin bir kısmı V. ve VI. tabakalarda sonlanırken diğer bir kısmı subkortikal yapılara veya diğer kortikal bölgelere kadar uzanırlar (Schmidt, 1989; şekil 1).



Şekil 1. Golgi, Nissl ve Weigert metodlarıyla boyanmış kortikal dilimler (Gray, 1954)

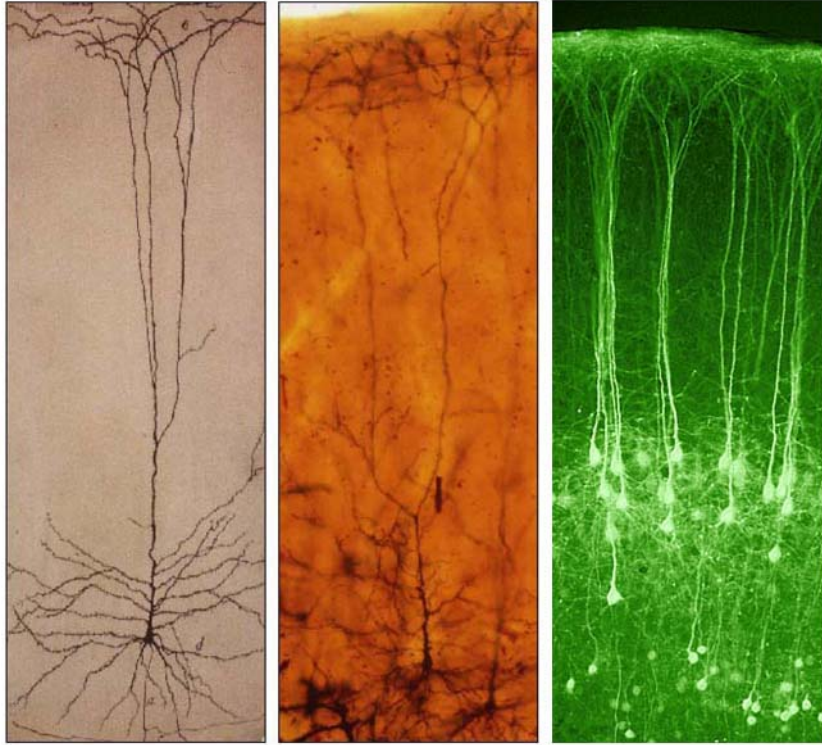
IV. Tabaka: İç Granüler Hücre Tabakası

Bu tabakada granüler hücreler adı verilen küçük, yoğun paketlenmiş multipolar hücreler bulunmaktadır. Aksonları kısa ve genellikle kortekste sonlanmaktadır. Yukarıya doğru uzanan aksonlar II. ve I. tabakada sonlanırken aşağıya doğru giden aksonlar ise V. ve VI. tabakalarda sonlanırlar. Dendritleri ise aynı tabakada dallanırlar. Spesifik talamo-kortikal aferentlerden birçoğu granüler hücrelerin dendritleri ile sinaptik bağlantı yaparlar. Bu tabakada bulunan diğer bir hücre tipi yıldızsı (stellate) hücredir. Yıldızsı hücrelerin dendritleri aynı tabakada dallanma gösterirken aksonları ise III. tabakaya çıkmaktadır. Bu hücelere ait kısa aksonlar V. ve VI. tabakalardaki hücrelerden gelen ve IV. tabaka içinden geçen dendritler ile sinaps yapmaktadır Korteksteki ana aferent tabaka bu tabakadır. Granüler hücre tabakası

korteksin bazı bölgelerinde iyi gelişmediğinden bu bölgeye agranüler korteks adı verilmiştir (Schmidt, 1989; Şekil 1).

V. Tabaka: İç Piramidal Hücre Tabakası

Betz'in dev piramidal hücreleri gibi en büyük piramidal hücreler bu tabakada bulunduğu için dev piramidal hücre tabakası adını almıştır. Fakat bu tabakadaki hücrelerin tamamı büyük değildir. Büyük piramidal hücrelerin dikey dendritleri I. tabakaya kadar uzayarak orada geniş bir dallanma gösterirler. Bu hücrelerin tabanından çıkan eferent akson ya korteks altı merkezlere uzanır (projeksiyon) ya da aynı veya diğer yarıküredeki korteks merkezlerine gider (asosiyasyon ve komisural uzantılar). Omuriliğe inen liflerin büyük çoğunluğu bu tabakadan kaynaklanmaktadır (Coulter ve ark., 1976; Rapisarda ve ark., 1985). Bu aksonların oluşturduğu rekurrent kollateraller geriye doğru dönerek III., II. ve I. tabakalarda sonlanırlar. V. ve VI. tabakalar korteksin ana eferentlerini oluşturmaktadır. Piramidal yolu oluşturan aksonların hücreleri daha çok bu iki tabakada bulunur (Asanuma, 1973). Bu tabakada yıldız ve Martinotti hücreleri de yer almaktadır (Barr ve Kiernan, 1988; Şekil 1; Şekil 2).



Şekil 2. İlk resim 1899 yayınlanmış Cajal'a ait çizimlerden bir tanesidir. Bu çizim bir çocuğun postsantral girusunda Golgi-impregnasyon metoduyla elde edilen bir piramidal nöronu göstermektedir. Ortadaki görüntü yine bir çocuğun postsantral girusundan elde edilen Cajal Müzesinde bulunan ve Cajal'ın preparatlarından birine ait mikroskopik fotoğraf görüntüsü. Sağdaki ise gelişmiş boyama ve antikor teknikleriyle elde edilen piramidal nöron görüntüsü (Cajal, 1899)

VI. Tabaka: İğsi (Fusiform) Hücre Tabakası

İğ şekline sahip hücrelerin dendritleri, hücrenin bir veya iki ucundan çıkar ve hücreyi terk ettikten sonra dallanırlar. Bu dendritler genelde V. tabakayı geçmezler. Bazen, içlerinden birisi hiç dallanmadan I. tabakaya kadar uzanır. Akson çoğunlukla korteksi terk eder ve korteksten ayrılmadan önce rekurrent kollateraller verir. (Schmidt, 1989; Şekil 1).

V. ve VI. Tabakalar hem filogenetik açıdan hem de ontogenetik bakımdan diğer yüzeyel tabakalara göre daha eskidirler. (Barr ve Kiernan, 1988). Aksonları kortekste dallanan kısa aksonlu nöronlar, kortikal tabakaların her birinde bulunan en yoğun hücre tipidir (Mountcastle ve Poggio, 1974).

2.2. Elektroensefalogram (EEG)

1875 yılında Caton tarafından tavşan beyinde yapılan çalışmalar ile beyin spontan ve sürekli bir aktivite gösterdiği keşfedildi.

İnsan beyinde elektriksel alanla ilgili ilk kayıtlar 1924 yılında Hans Berger tarafından gerçekleştirildi. O bu kaydı EEG olarak adlandırdı ve bazı hastalıklarda EEG'nin değiştiğini ileri sürdü (Berger, 1929).

Beyin korteksi görevlerini ihtiva ettiği çok sayıda hücre sayesinde yerine getirmektedir. Nöron topluluklarının davranışlarını kaydedip gözlemek için ya mikro veya makro elektrotlar kullanılır. Mikroelektrotlar ile tek hücre cevapları kaydedilir. Zor ama zaman alıcı olan bu metot daha çok deney hayvanlarına uygulanır. Kalabalık hücre gruplarının toplam aktivitesi makro elektrotlarla kaydedilir. Bir cerrahi operasyon esnasında beyin korteksinin yüzeyinden makroelektrotlarla alınan kayıtlara ECoG denir. Kafatasının üzerinden, saçlı deriden kaydedilen beyin dalgalarına da EEG adı verilir. Büyük hücre gruplarının aktivitesini kaydederek insanda uyku-uyanıklık, rüya gibi fizyolojik ve epilepsi gibi fizyopatolojik olaylar üzerinde araştırmalar yapılabilir. Ayrıca, elde edilen kayıtlar nörolojik hastalıkların teşhisinde kullanılabilir.

2.2.1. EEG'nin Kaynağı

Önceleri EEG dalgalarının korteksteeki nöronların aksiyon potansiyellerinin toplamı olduğu sanılmıştı. Daha sonra, derin anestezide ve hipoksida aksiyon potansiyellerinin kaybolduğu fakat yavaş EEG potansiyellerinin devam ettiği görüldü. EEG dalgalarının teşekkülüne aksiyon potansiyellerinin de katkısı vardır fakat bu çok azdır. Saçlı deriden kaydedilen kaba potansiyellerin büyük çoğunluğunu dikine olarak

yerleşmiş bulunan piramidal hücrelerin aynı anda aktive edilmeleri (senkronizasyon) sonucu görülen postsinaptik potansiyeller meydana getirmektedir. Bu potansiyeller ortaya çıkıp cebirsel toplama tabii tutulurken hücre dışı alandan geçen akım EEG potansiyellerini doğurur. Yukarıda belirtildiği gibi, kaba potansiyellerin gerçek şekli ve biçimi postsinaptik potansiyellerin yerine ve şekline bağlıdır. Kaba potansiyellerin nöronal temellerini anlamak için hem anatomik yollar hem de hücre dışı akım hakkında bilgi sahibi olmak gerekir.

Beyin korteksindeki piramidal hücreler birbirine paralel olarak bulunurlar ve dendritleri korteks yüzeyine dik olarak uzanır. Bundan dolayı, bu dendritler üzerinde meydana gelecek bir sinaptik potansiyel pek azalma göstermez. Çünkü kaynak ve giriş bölgeleri de korteks yüzeyine dik olarak yerleşmişlerdir. Halbuki glia hücreleri böyle bir yerleşim şekline sahip değildir. Bu yüzden de glia hücrelerinin EEG'ye katkısı, muhtemelen önemli değildir. Glia hücrelerinin K^+ tamponlama görevi iyi olmazsa epileptiform aktivite belirir.

Beyin korteksinden alınan makroelektrot kayıtları ile elektrokardiyogram esasta birbirine benzemektedir. Her iki durumda belli hücre topluluklarının elektriksel cevapları, aktivite kaynağından uzak bir yerden yazdırılmaktadır. Yine her iki durumda elde edilen kayıtlar hacim iletimi teorisiyle izah edilir. Bu teori, çeşitli şartlar altında sinir hücrelerinde meydana gelen ve hücre dışı alana yayılan iyon akımıyla uğraşır.

Başın derisinden EEG olarak kaydedilen potansiyel değişimlerini, kaydedici elektrodun altında bulunan binlerce hücre meydana getirmektedir. Elde edilen potansiyelleri binlerce hücreye ait iyon akımının cebirsel toplamı olarak görülebilir. Ekstraselüler alandaki dirence karşı gerçekleşen net iyon akımını voltaj cinsinden kaydedilebilir.

EEG dallarının nasıl meydana geldiklerini izah etmek için şu üç işlem üzerinde durmak gerekir:

1. Aktif nöron topluluğu içinde bulunan tek bir nöronun hücre içi cevabını incelemek
2. Bir nöronun ve ona komşu olan nöronların cevabını hücre dışı mikroelektrotla tespit etmek
3. Kafatasına yerleştirilen makro elektrotla bütün hücre topluluğunun ortak ve toplam cevabını incelemek

Hücre dışı (ekstraselüler) potansiyelleri inceleyip anlamak için, önce çok küçük olan hücre dışı direnç ele alınır. Hücre dışı kayıta, kaydedilen voltajı sadece hücre dışı direnç etkilemektedir. Belli bir akım (I_{EPSP}) membranın direncine (R_m) karşı aktığında bunun membran potansiyelinde meydana getireceği değişiklik (V_m) aynı akımın hücre dışı ortamdaki dirence karşı akmasıyla membran potansiyelinde meydana getireceği değişiklikten çok daha fazladır. Yani membrandan içeri doğru geçen bir akım membran potansiyelini daha fazla değiştirir. İşte, hücre içinde kaydedilen potansiyellerin milivoltajla ifade edilecek biçimde büyük, hücre dışından kaydedilen potansiyellerin ise mikro voltajla ifade edilecek şekilde küçük olmasının bir sebebi budur. Ohm kanunu kullanılarak hücre içinden ve hücre dışından kaydedilen potansiyeller arasındaki voltaj frekansı hesap edilebilir. Uyarıcı postsinaptik potansiyelin doğurduğu akım devrenin her tarafında, yani membranda ve hücre dışı ortamda aynıdır. O halde, hücre içinden yazdırılan uyarıcı postsinaptik potansiyelin 5mV olduğu kabul edilirse o zaman hücrenin hemen dışından kaydedilecek hücre dışı sinyalin yüksekliği 2.5 mikrovolt kadar olacaktır (Kandel ve ark. 2000).

Hücre dışı elektrodun yazdığı bir sinyal, esas olarak elektroda en yakın olan nöronlara aittir. Uzak nöronların bu potansiyele katkısı çok azdır. Elektrot, aktivitenin meydana geldiği odaktan uzaklaştırıldıkça kaydedilen potansiyelin yüksekliği azalır. Yükseklikteki azalma uzaklığın kareköküyle orantılıdır. Hücre dışından kaydedilen potansiyellerin daha küçük olmasının bir sebebi, hücre dışı ortamdaki direncin düşük olmasıdır. İkinci sebebi ise, elektrotun hücreden uzaklaşmasıyla, potansiyel yüksekliğinin hızlı bir şekilde düşmesidir.

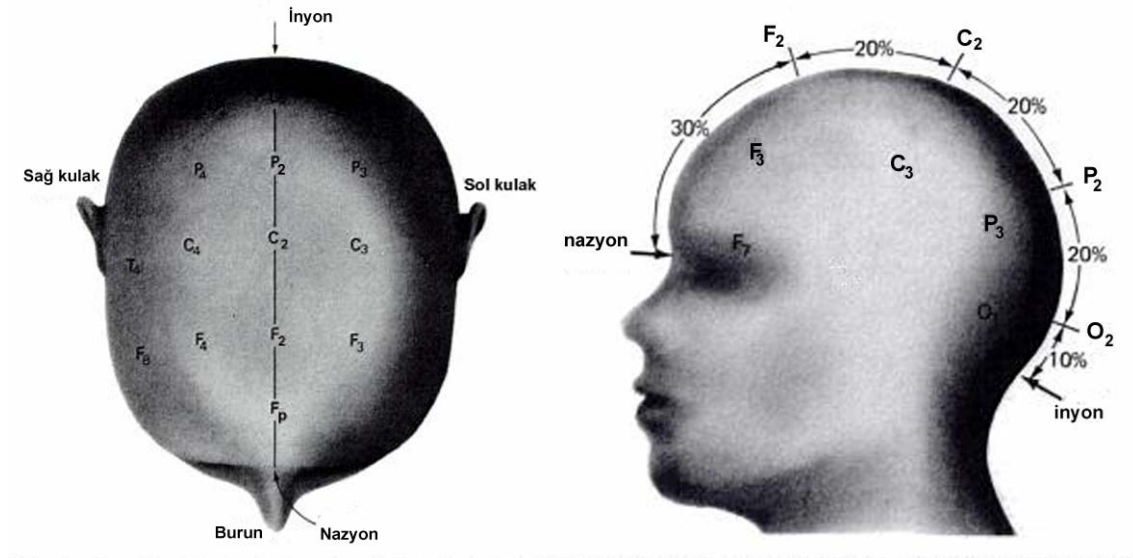
Ekstraselüler potansiyellerin küçük olması, aktif nöronlardan uzakta olan makro elektrotlarla kayıt alınırken ciddi bir probleme yol açar. O da makro elektrotlarla tek nöron aktivitesinin yazdırılamamasıdır. Bununla birlikte, saçlı deriden alınan kayıtlar büyük nöron topluluklarına ait aktivitenin cebirsel toplamını ifade etmektedir. Talamustan kortekse giren bilgi, kortekste bulunan binlerce nöronun aynı anda (senkron) aktivite göstermesine sebep olur. Bu durum başlangıçta uyarıcı sinapsların bulunduğu derin tabakalarda giriş, yüzey tabakalarında ise kaynak odaklarını meydana getirir. Yani kaynak saçlı derideki kaydedici elektrotlara daha yakındır. Fakat, daha sonra giriş ile kaynağın durumu ve yeri değişir. Hücre dışı kayıtlarda pozitif potansiyeli alta doğru sapsmış olarak göstermek gelenek haline gelmiştir. Bundan dolayı korteksin

derin tabakalarındaki uyarıcı postsinaptik potansiyelleri EEG kayıtlarında aşağı doğru sapsmış olarak görmekteyiz. Bunun aksine, hücre içi kayıtlarda pozitif potansiyeller üste doğru sapan dalgalardır. Uyarıcı sinaps korteksin yüzey tabakalarında bulunduğu anda elde edilen elektrik sinyalinin şekli farklı olur. Zıt taraftaki korteksten korpus kallozum yoluyla gelen aksonlar II. ve III. tabakalarda sonlanır. Burada giriş kaydedici elektroda yakındır ve potansiyel yukarı doğru sapma göstermiştir (Kandel ve ark., 2000).

2.2.2. EEG'nin Kaydedilmesi

EEG tamamen ağrısız ve zararsız bir inceleme yöntemidir. Saçlı deriden kaydedilen potansiyellerin çoğu piramidal hücrelerdeki toplam sinaptik potansiyellerin ekstrasellüler akımlarla ilişkisinin sonucudur. Normalde çok zayıf olan bu elektriksel potansiyeller saçlı deri üzerine yerleştirilen elektrodlarla kaydedilir ve amfikatörlerle güçlendirilir. Elektrodların yerleştirileceği noktalar *uluslararası 10-20 sistemine* göre belirlenir. Bu noktaların tümünden alınan kayıtlar *montaj* adı verilen bağlantılarla değerlendirilir. Eski tip EEG aletlerinde o andaki kayıt kağıda yapılır ve parametreleri sonradan değiştirilemez. Oysa şimdi kullanılan dijital EEG cihazlarının en önemli avantajı kayıt yapılan montajdan daha sonra diğer montajlara geçilebilmesi, amplitüd ve diğer parametrelerin her olgu için ve her bulgu için yeniden ayarlanarak en sağlıklı bilginin sağlanabilmesidir (Öge, 2004; Şekil 3).

EEG'den uykunun çeşitli safhalarını birbirinden ayırmada ve epilepsi gibi nörolojik ve nöropsikolojik hastalıkları teşhis etmede faydalanılır. EEG'yi kaydetmek için iki tip elektrot kullanılır. Bunlardan biri aktif elektrottur ve kayıt alınacak aktif alana yerleştirilir. Diğer elektrot aktif elektrottan uzak bir bölgeye, potansiyeli sıfır olarak kabul edilen bir alana konur. Bu elektroda referans veya indifferent elektrot denir. Klinikte EEG kaydı yapılırken beynin çeşitli yerlerine çok sayıda aktif elektrot yerleştirilir. Bütün kayıtlarda ya bir aktif elektrot ile bir referans elektrot arasındaki potansiyel farkı ölçülür (monopolar kayıt); veya iki aktif elektrodun arasındaki potansiyel farkı yazdırılır (bipolar kayıt). Kaydedici elektrotlar genellikle belli bir şemaya göre frontal, parietal, oksipital ve temporal lobların üzerinde kafatasına yerleştirilir. Özel durumlarda nazofaringeal veya sfenoidal elektrotlar kullanılarak medyal temporal lobdaki aktivitenin kaydı kolaylaştırılır. Bu işlem, özellikle epileptik nöbetlerin limbik sistemle ilgili olduğu tahmin edilen durumlarda çok önemlidir. Çünkü teşhis ihtimalini artırır (Kandel ve ark., 2000; Şekil 3).



Şekil 3. Beyin aktivitesi ve performan arasındaki ilişkiyi çalışan araştırmacıların kullandıkları 10-20 sistemine ait saçlı deri lokalizasyonlarının yukarıdan ve sol taraftan görünümü (Andreassi, 2000)

2.2.3. EEG'nin Değerlendirilmesi

EEG bulgularının değerlendirilebilmesi için öncelikle normal EEG özelliklerinin çok iyi bilinmesi gereklidir. Her EEG çekiminde önce temel aktivite değerlendirilir. Normal temel aktivite yaşla, uyanıklık durumuyla, açlık gibi bazı fizyolojik durumlarla çok belirgin farklılıklar gösterir. Üç aylık bir bebek için normal sayılan aktivite 3 yaşında bir çocuk için patolojiktir. Ya da derin uykuda olan bir erişkinin EEG aktivitesi aynı kişi uyanıkken görüldüğünde ciddi bir patolojik bulgu anlamına gelebilir.

EEG de beyin hemisferleri arasında simetri vardır, bu nedenle iki yarıkürenin kıyaslanması önemlidir. Bunun dışında EEG değerlendirilirken en önemli sorun parazitlerin ayırdedilebilmesidir. Artefaktlar EEG kaydında yer alan, ancak beyinden kaynaklanmayan (göz hareketleri, hareket ve kas artefaktı, elektrod kayması, terleme gibi) çeşitli mekanik-elektriksel potansiyellerin sonucudur. Deneyimli bir kişinin hemen tanıyabileceği bazı artefaktlar kolayca patolojik beyin aktiviteleri sanılabilir.

EEG çekimi sırasında hastanın kullandığı ilaçlar ve varsa metabolik problemleri mutlaka kaydedilmelidir. Çünkü bazı ilaçların ve metabolik durumların EEG üzerindeki etkileri belirgindir. Ayrıca epileptik hastanın nöbeti ile EEG çekimi arasındaki süre, yani EEG'nin postiktal veya interiktal dönemde yapılıp yapılmadığı bazı bulguların yorumu açısından önem taşır.

2.2.4. EEG'nin Klinikte Kullanımı

Epileptik hastalarda, karakteristik epileptiform EEG bulguları ile klinik tanı doğrulanabilir. EEG bulgularına göre nöbet tipi ve epilepsi sendromu gruplanabilir. Ancak normal bir EEG'nin epilepsi tanısını dışlamaya yetmeyeceği unutulmamalıdır. İlk rutin EEG ile epileptiklerin ancak % 30-50'sinde tipik patolojik bulgu görülürken, 3. EEG ve belli provokasyon yöntemleri ile patolojik bulgu oranı %60-90'a yükselir.

İlk epilepsi nöbetini geçirmiş olan bir hastada tedaviye başlama kararında veya tedavi sonlandırılması planlanan olgularda EEG tek başına karar verdimese de çok yararlı bilgiler sağlar. Nöbet kaydı yapılarak yalancı nöbetlerin ayrımı sağlanır. Ayrıca ilaç tedavisine dirençli hastaların epilepsi cerrahisi için hazırlanmalarının temeli uzun süreli EEG incelemesi ile nöbetlerin odağının belirlenmesi ile olur. Epilepsi bölümünde çeşitli epileptik sendromların spesifik EEG bulguları üzerinde durulmuştur. Epileptik olguların nöbetsiz aile bireyleri incelendiğinde tipik epileptiform bulgulara rastlanabilmektedir. Nonkonvülf status epileptikus tanısı için EEG vazgeçilmez ve kesin tanı koyduran bir yöntemdir.

EEG'nin ana kullanım alanı epilepsi hastalarını değerlendirmek olmakla birlikte, çok önemli ve vazgeçilmez olduğu diğer bir hasta grubu acil poliklinikte ensefalit veya ensefalopati olasılığı üzerinde durulan olgulardır. Burada EEG psikiyatrik bir davranış değişikliğini ensefalite bağlı bir tabloda kolayca ayırır. Bazı EEG bulguları, örneğin periyodik lateralize epileptiform deşarjlar (PLED), klinik bulgularla biraraya getirilerek Herpes simpleks ensefaliti gibi çok hızla tanı konup tedavi edilmesi gereken tablolarda tanıya varmada büyük değer taşır. PLED bulgusu genellikle akut ve haraplayıcı bir beyin lezyonunu yansıtır ve nöbetlerle önemli oranda ilişkilidir. İntoksikasyonlar ve metabolik olaylarda EEG, beyin fonksiyonlarındaki bozukluğun saptanması ve ağırlığı konusunda ve ayrıca izleme süresinde yardımcıdır. Metabolik ensafalopatiler benzer nonspesifik yavaşlama bulguları verirlerse de karaciğer ensefalopatisi büyük ölçüde anlamlı bir tanı değeri olan tipik bir EEG bulgusu (trifazik dalgalar) verir. Bazen trifazik dalgalar diğer toksik-metabolik ensefalopatilere de eşlik edebilmektedir (Öge, 2004).

2.2.5. Frekanslarına Göre EEG Dalgaları

EEG çeşitli frekanslarda ve amplitüdlere potansiyeller gösterir. Normal bir insanda saçlı deriden kaydedilen potansiyellerin frekansı genel olarak 1 ile 30 Hz;

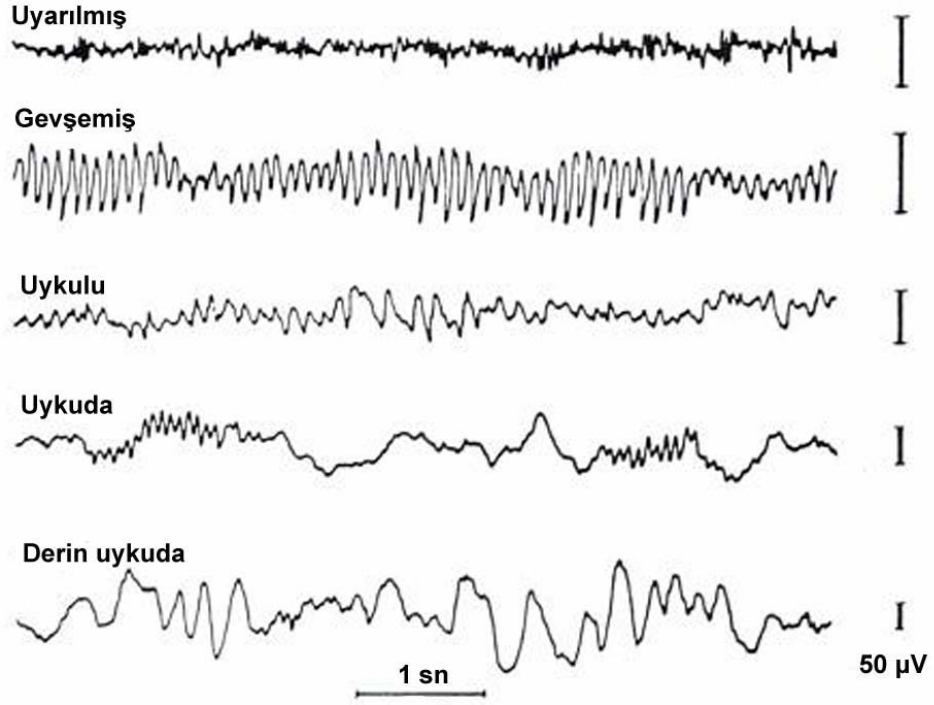
yükseklikleri ise 20-100 mikrovolt kadardır. Kafatası ve deri EEG dalgalarının yüksekliğini azaltıcı bir etki gösterir. EEG dalgalarının hem frekansı hem de yüksekliği oldukça karmaşık bir yapı gösterir ve çeşitli şartlarda değişebilir. Temel aktivite yaşa göre değişmekle birlikte normal bir erişkinde uyanık ve gözler kapalıyken pariyeto-okspital bölgelerde 8-12 Hz frekansında bir aktivite görülür, bu aktivite *alfa aktivitesi* olarak isimlendirilir. Alfa aktivitesi gözler açılınca kaybolur ya da baskılanır. *Beta aktivitesi* 13-30 Hz frekansında frontal ve santral bölgelerde belirgin olan bir ritmdir. Yüksek amplitüdü beta aktivitesi sedatif-hipnotik bir ilacın kullanıldığını düşündürür.

Normal uyku sırasında EEG'de 5 ayrı dönem izlenir. Birinci dönem uyku-uyanıklık arası geçiş dönemidir, alfa ritmi kaybolurken yerini düşük voltajlı yavaş aktivitelere bırakır ardından verteks bölgesinde yüksek amplitüdü keskin dalgalar belirir. Deneyimsiz bir göz uyanıklık sırasında oluştuğunu sanarak bu dönemi patolojik olarak yorumlayabilir. İkinci dönemin işareti frontosantral yerleşimli 12-14 Hz sinüzoidal yapıdaki uyku iğleridir. Üçüncü ve dördüncü dönemler yavaş dalgalı uyku olarak anılır, yüksek amplitüdü, yaygın ve düzensiz yavaş dalgardan oluşur. REM (rapid eye movement = hızlı göz hareketleri) dönemi ise düşük voltajlı, değişken frekanslı bir aktivitedir ve rüyaların görüldüğü ve hızlı göz hareketlerinin ve kaslarda atoninin kaydedildiği dönemdir. REM uyku başlangıcından sonra yaklaşık 90 dakika sonra belirlediği için gündüz yapılan kısa süreli uyku incelemelerinde genellikle görülmez (Şekil 4).

EEG de rastlanabilecek patolojik bulgular nonspesifik yavaş dalgalar ve epileptiform aktivite olarak iki ana gruba ayrılır. Yavaş dalga aktivitesi teta (4-7 Hz) ve delta (0.5-4 Hz) olarak gruplanır. Görülen yavaş dalganın lokalizasyonu önemlidir. Sıklığı, amplitüdü, varsa ilişkili olduğu diğer faktörler kaydedilir.

Epileptiform anomaliler diken ve keskin dalgadır. Yavaş dalga ve epileptiform anomali birlikte bulunabilir. Ancak tipik epileptiform EEG anomalilerinin normal kişilerde de (normal çocuklarda % 1.5-5 oranında) görülebildiği bilinmektedir. Tam tersine, epileptik bir hastanın EEG incelemesinde sadece yavaş dalgalar görülebilir, hatta inceleme tamamen normal olabilir. Bu açıdan EEG değerlendiren hekim, klinisyeni bir tanıya yönlendirmekten kaçınmalıdır (Öge, 2004).

Berger çalışmalarında iki temel beyin dalgası çeşidini tanımladı. Büyük ve daha yavaş dalgaları alfa, daha küçük ve daha hızlı dalgaları beta dalgası olarak



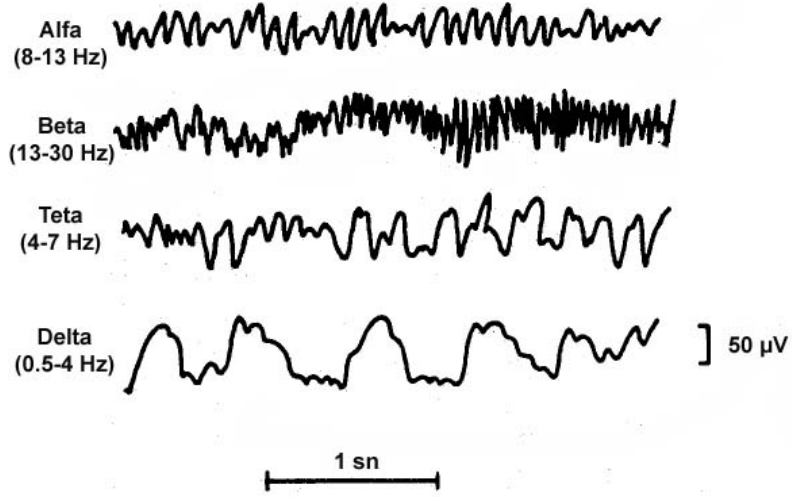
Şekil 4. Farklı durumlar süresince elde edilen EEG kayıtları (Andreassi, 2000)

adlandırdı. Daha sonra araştırmacılar diğer beyin dalgası tiplerini tanımladılar. Bu beyin dalgaları Yunan alfabesi kullanılarak gama, delta, teta, kapp, lamda ve mü olarak tanımlandı. Sonradan tanımlanan bu dalgaların meydana gelişindeki şartların tutarlılığı açısından en güvenilir olanları delta ve teta dalgalarıdır. Çok düşük frekanslı ve yüksek amplitüdü olan delta dalgası 1937 yılında Walter tarafından adlandırılmıştır. Teta terimi ise saniyede 3-7 arasında bir frekansa sahip dalgayı tanımlamak için ilk kez 1953 yılında yine Walter tarafından kullanıldı (Andreassi, 2000; Kandel ve ark., 2000).

Frekans ve amplitüdlere göre beyin dalgaları şu şekilde sınıflandırılmaktadır.

a) Alfa Dalgaları: Alfa dalgası saniyede 8-13 Hz frekansında, 20-60 μ V yüksekliğinde ritmik osilasyondur. Bazı hastalıklarda EEG'nin değiştiğini gösteren Hans BERGER'in adına izafeten alfa dalgalarına Berger ritmi de denir. Normal bir fertte, sessiz ve sakin bir odada gözler kapalı, zihnen ve bedenen tam istirahat ederken kaydedilir. Parietal ve özellikle oksipital bölgede daha belirgindir. Uykuda kaybolur. Dominant hemisferde dalga yüksekliği daha fazladır. Görme korteksinde alfa dalgaları IV. ve V. tabakadaki piramidal nöronlar tarafından meydana getirilir. Deneysel sonuçlara göre, görme korteksinden yazdırılan alfa dalgalarının oluşmasına talamus nukleusları katkıda bulunur. Ancak, alfa ritminin kortekse yayılmasında korteks içi

bağlantılar rol oynar. Gözler açıldığında, duyuşal uyarılar alındığında veya zihin bir problemle meşgul olduğunda alfa ritmi kaybolur. Onun yerine düzensiz, daha düşük voltajlı ve yüksek frekanslı bir aktivite görülür. Bu olaya alfa blokajı veya desenkronizasyon denir. Alfa blokajı süresince ilgili nöronlar senkron deşarj yapmazlar (Şekil 5).



Şekil 5. EEG'yi oluşturan çeşitli beyin dalgaları

b) Beta Dalgaları: Beta dalgası 14-30 Hz frekansında, yaklaşık 2-20 µV amplitüde sahip düzensiz bir dalgadır. Normal olarak frontal bölgede daha belirgindir. Mental veya zihinsel aktiviteye sahip bir kişide görülür. Beta ritmi EEG'nin en küçük, fakat en yüksek frekanslı dalgalarıdır. Kaynağı kortektir. Beynin hasara uğrayan bölgelerinde azalır veya tamamen kaybolur (Şekil 5).

c) Teta Dalgaları: Teta dalgası frekansı 4-7 Hz, yüksekliği 20-100 µV olan beyin ritminin nisbeten daha az ortak tipidir. Yetişkinlerden ziyade daha çok çocuklarda görülen bir dalgadır. Uyanıkken sağlıklı erişkinde görülmez. Çocuklarda görülmesi normaldir. Fokal korteks altı lezyonların varlığında, metabolik ensefalopatide, orta düzlemin derinliklerinde lezyon olduğunda ve sıklıkla hidrosefalide görülürler. Ayrıca, uyuklama, sevinç ve keder gibi durumlarda genç erişkinlerde teta dalgaları yazdırılabilir (Şekil 5).

d) Delta Dalgaları: Düşük frekanslı yüksek amplitüdü dalgalarıdır. Delta dalgaları 0.5-3.5 Hz ve 20-200 µV aralığındaki dalgalarıdır. Yani EEG'nin frekansı en düşük amplitüdü en yüksek dalgalarıdır. Bu dalgalar normal insanda sadece derin uyku

süresince görülürler. Korteks altı lezyonların varlığında, yaygın lezyonlar olduğunda, metabolik ensefalide ve hidrosefalide görülür. Eğer uyanık bir insanda meydana gelirse tümör gibi beyin anormalliklerine işaret eder. Yeni doğan çocuklarda (bir yaşına kadar) ve uykunun 3., 4., safhalarında dominant ritimdir. Erişkinde frontal bölgede, çocuklarda ise oksipital bölgede daha belirgindir (Şekil 5).

e) Kappa Dalgaları: Düşünmeyle bağlantılı 10 Hz civarında frekansa sahip dalgadır. 1948 yılında keşfedilmiştir. Çalışma yapılan kişilerin % 30'unda meydana geldiği bildirilmiştir.

f) Lamda Dalgaları: Lamda dalgaları 1951-1952 yıllarında insanda keşfedilen dalgalardır. Görme korteksinden kaydedilen bu dalga, kişinin görme alanında bazı nesnelere ait görüntülerin kaydırılması sonucunda ortaya çıkan bir çeşit görsel yanıt olarak ifade edilmiştir. Uyarana yanıt olarak 250 ms süren 20-50 μ V civarında üçgen şeklinde dalgalardır.

g) Mü Dalgaları: 1952 yılında tanımlanan mü ritmi keskin pike sahip, negatif pozisyona dönmüş dalgalardır. Populasyonun %7'sinde normal EEG'de görülmekte ve Rolando yarığının üzerinden kaydedilebilmektedir. Genellikle 8-13 Hz aralığında alfa bandı içerisinde fakat alfadan bağımsız, gözler açıldığında bloklanmayan fakat hareket edildiğinde veya hareket planlandığında bloklanan bir dalgadır.

h) Gama Dalgaları: 1981 yılında insandan kaydedilmiştir. Gama dalgası duyuşsal uyarana karşı meydana gelen ritmik aktivite olarak tanımlanabilir (Andreassi, 2000).

2.3. Epilepsi

Epilepsi toplumun %1-3'ünü etkileyen ve yaklaşık % 10'unun da yaşamlarının bazı dönemlerinde bir veya daha fazla nöbete yol açan, kronik özelliğe sahip, yaygın nörolojik bir hastalıktır (Hauser ve ark. 1996). Nöbetler ve epilepsi antik çağlardan beri bilinmektedir. O dönemlerde hastalar nöbeti aniden başlayan çeşitli hastalıkların "saldırı" sı (seized) olarak tanımlıyorlardı (De Boer, 2002).

2.3.1. Nöbetler ve Epilepsinin Tanımlanması

a) Nöbetler: Nöbetler, beyinde anormal, istemsiz ve ritmik nöronal deşarjlar sonucunda ortaya çıkan zaman sınırlaması olan paroksizmal olaylardır. Refleks epilepsinin nadir durumu hariç, nöbetler tahmin edilemez ve uygunsuz, utandırıcı ve hatta tehlikeli zamanlarda meydana gelebilir. Bu tahmin edilemezlik birçok hasta için

epilepsinin çok üzücü yönünü teşkil eder. Nöbetler istemsiz olaylardır. Hastalar genellikle nöbetlerin başlangıç ve bitişlerini kontrol edemezler. Nöbetler genellikle 5 dakikadan daha kısa sürmektedirler. Bununla birlikte çoğu hasta veya hasta yakını konvülsif hareketlerinin duygusallığına kapıldıkları için nöbetlerin süresini olduğundan daha fazla görürler (Shneker ve Fountain, 2003).

b) Epilepsi: Epilepsi provoke edilmemiş spontane olarak tekrarlayan nöbetlerle karakterize bir hastalıktır. Nöbetler ve epilepsi farklı bozukluklardır ve terminolojik açıdan alternatif olarak kullanılamazlar. Epilepsi için “nöbet hastalığı” olarak bahsedilmesine rağmen nöbetlerden epilepsi olarak bahsedilmesi doğru değildir. Nöbetler semptomdur oysa epilepsi tekrarlayan nöbetlerle karakterize bir hastalıktır. Nöbetler, epilepsinin nöbet karakterine sürekli meyleden hastalıkların sonucu olabilirken aynı zamanda hipoglisemi, hiponatremi ve normal beyinde farklı bakımlardan nöbetleri provoke edebilen diğer koşullarda olduğu gibi beyin metabolizmasındaki geçici değişikliklerden de kaynaklanabilir. Bu ayrımın önemi öksürük belirtilerinin benzerlikleriyle ifade edilebilir. Solunumla vücuda alınmış bir iritanın geçici olarak varlığı neticesinde normal solunum sisteminde öksürüğün başlatılabilmesi bir nöbetin provoke edilmesine benzemektedir. Kronik obstrüktif solunum hastalıklarının neticesinde öksürük için ısrarcı bir meyil epilepsiye benzemektedir (Shneker ve Fountain, 2003).

Epileptik sendromlar nöbetlerin tipi, nöbetlerin başlangıcındaki yaş, ailesel geçmişin dahil olduğu birçok faktör ve sağlık muayenesi, iktal-interiktal EEG ve nörolojik görüntüleme bulgularınca tanımlanmaktadır (Shneker ve Fountain, 2003).

2.3.2. Nöbetler ve Epilepsinin Sebepleri

a) Nöbetler: Kompleks parsiyel nöbetler genellikle tüm yaş gruplarında en yaygın nöbet tipidir. Jeneralize nöbetler çocuklarda, parsiyel nöbetler ise yetişkinlerde daha çok görülür. Parsiyel nöbetlerin oluş sıklığı çocukluktan 65 yaşına kadar her 100.000 kişilik popülasyonun 20 kişisinde sabit kalmaktadır.

Nöbetler ya spontane oluşur yada provoke edilir. Provoke edilmemiş nöbetler süregen beyin hastalığında yani epilepside meydana gelir. Provoke edilen nöbetler ise sağlıklı beyinde belirli faktörler örneğin akut metabolik işlemler, akut nörolojik hasar, ilaçlar ve aşırı fizyolojik şartlar tarafından tetiklenir (Shneker ve Fountain, 2003; Tablo 1).

Tablo 1. Proveke edilebilen nöbetlerin genel sebepleri (Shneker and Fountain, 2003)

-
- Metabolik anormallikler
 - Hipoglisemi ve Hiperglisemi
 - Hiponatremi
 - Hipokalsemi
 - Alkol geriçekilmesi
 - Akut nörolojik hasar
 - Enfeksiyon (menenjit, ensefalit)
 - İnme (iskemik, hemorajik)
 - Kafa travması
 - Yasadışı madde zehirlenmesi ve geriçekilmesi
 - Nöbet eşiğini düşüren ilaçlar
 - Teofilin
 - Trisiklik antidepresan
 - Çocuklarda yüksek ateş
-

b) Epilepsi: Yapıları (makroskobik veya mikroskobik) veya serebral nöron fonksiyonlarını değiştiren herhangi bir sebep epilepsi için yatkınlığa neden olabilir. Epilepsinin yaygınlığı, herhangi bir zamanda tüm epilepsi nedenleri toplandığında popülasyonudaki her 1000 kişinin 5-9'u civarındadır. Popülasyon temelli çalışmalarda epilepsinin nedenlerinden % 68'i bilinmeyen "uzak semptomatik nedenler" iken, % 31'inde daha önceki beyin hasarıdır. Epilepsiye hazırladığı farz edilen uzak semptomatik nedenler arasında hastaların % 13.2'sinde serebrovasküler hastalıklar, % 5.5'inde gelişimsel gecikmeler, % 4.1'inde kafa travması, % 3.6'sında beyin tümörü, % 2.6'sında enfeksiyon, % 1.8'inde işlem ve % 5'inde diğer sebepler sayılmıştır (Hauser ve ark., 1991; Annegers ve ark., 1996).

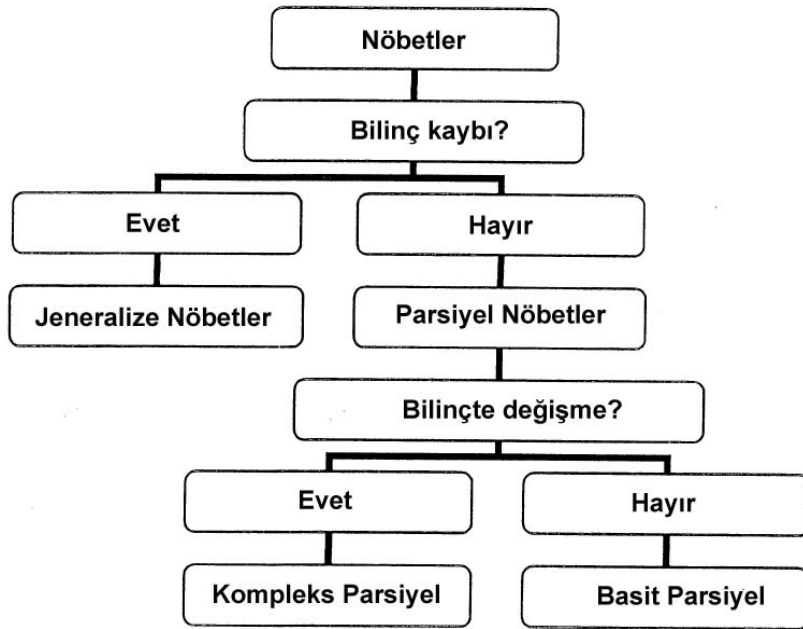
2.3.3. Nöbet ve Epilepsinin Sınıflandırılması

Özellikle 1934'de insan EEG'sinin ilk kayıtlarından sonra nöbet ve epilepsi sendromlarının sınıflandırılması için oldukça gayret sarf edilmiştir. Nöbetler geleneksel olarak grand mal veya petit mal nöbetler şeklinde kategorize edilmekle birlikte bu terminoloji tam değildir. Sınıflandırma 1981'de *Uluslararası Epilepsiyle Mücadele Birliği*'nin (ILAE) *Epileptik Nöbetlerin Sınıflandırılması* ve 1989'da ILAE'nin *Epilepsi ve Epileptik Sendromların Sınıflandırılması*'ni benimsemesiyle standart hale gelmiştir (Dreifuss ve ark., 1981; Commission, 1989).

I- ILAE'ye Göre Epileptik Nöbetlerin Sınıflandırılması

Nöbetler temelde parsiyel ve jeneralize sınıflarına ayrılmaktadır. Her nöbet tipinin farklı semptomları olması ve farklı tedavilere yanıt vermesi nedeniyle bu ayırım

önem arz etmektedir. Nöbetler esas olarak nöbet esnasında gözlenen semptomlara göre sınıflandırılır. Bu yüzden sınıflandırma için, birkaç durumda interiktal EEG bulgularına ait bilgilere gerek duyulmasına rağmen (geniş kapsamlı test sonuçlarından ziyade) gözlemcinin tanımlamaları temel alınabilir. Jeneralize nöbetlerde, korteksin tümünün olaya karışması nedeniyle nöbetin başlangıcında bilinç tamamen kaybolur. Parsiyel nöbetler sınırlı beyin bölgelerinde başladığı için bilinç tamamen kaybolmaz. Bundan dolayı bir nöbetin başlangıcında bilincin korunup korunmadığı nöbetin sınıflandırılmasında ilk başlangıç noktasıdır. Parsiyel nöbetler ikinci derecede jeneralize olabilir (Shneker ve Fountain, 2003; Şekil 6).



Şekil 6. Nöbet sınıflandırma algoritması (Shneker and Fountain, 2003)

a) Basit Parsiyel Nöbetler: Basit parsiyel nöbetler beyinin küçük ve ayrık bir bölgesinde başladığı için bilincin değişimiyle bağlantılı değildir. Frontal lobun sağ tarafında özellikle motor kortekste meydana gelen nöbetler klonik el hareketlerine neden olur. Oksipital lobun özellikle görme korteksinde meydana gelen nöbetler parlak renk ve şekil gibi başlıca görsel fenomenlere sebep olur. Temporal lobun unkusunda (çengeline) meydana gelen (ve önceden çengelsi nöbet olarak adlandırılan) nöbet durumu, genellikle yanmış kauçuk gibi nafoş bir koku tarzında olfaktor duyarlılığa neden olur. Hastaların bir nöbeti önceden hissetme deneyimi olarak tanımladıkları aura sadece bir basit parsiyel nöbettir. Nicel olarak auranın birçok ortak belirtisi komik

hisler, epigastrik duyular, durulanma, temizlenme, çarpıntı, bulantı veya baş dönmesi ve temporal lobtan kaynaklanan tanımlanamayan visseral septomların da dahil olduğu otonomik bir durumdur (Shneker ve Fountain, 2003; Tablo 2).

b) Kompleks Parsiyel Nöbetler: Kompleks parsiyel nöbetler bilincin değişmesi fakat kaybolmamasıyla karakterizedir. Hastalar uyanık ve boş bir hareketsizlik durumunda fakat eksternal uyaranlara yanıt verememektedirler. Bu bazen dikkati dağılmamış hareketsizlik olabilir. Kompleks parsiyel nöbetler beynin herhangi bir bölgesinde ama genellikle frontal lobu takibeden temporal lobta oluşmaktadır. Bu nöbetlere otomatizm yani tekrarlanan maksatsız hareketler eşlik edebilir. Tipik oral otomatizm dudak şapırdatma, çiğneme, yutma ve yutkunmayı içermektedir. Tipik el otomatizmleri ise el burkma, okşama, ovalama veya sıkmayı ve elbiseler ile yatak örtüsünü elle hareket ettirmeyi kapsar. Kompleks parsiyel nöbetler tüm yaş gruplarında oldukça yaygın nöbet tipidir. Böyle nöbetler önceden psikomotor veya temporal lobe nöbetleri olarak adlandırılıyordu (Shneker ve Fountain, 2003; Tablo 2 ve 3).

Tablo 2. Parsiyel ve jeneralize nöbetlerin ayırt edici karakteristikleri (Shneker ve Fountain, 2003)

	Parsiyel Nöbetler	Jeneralize Nöbetler
Bilinç	Kompleks parsiyel nöbetlerde değişir Basit parsiyel nöbetlerde normaldir	Kaybedilir
Fokal nörolojik semptomlar veya nöbet süresi veya sonrasında belirtiler	Yaygın	Yok
İnteriktal EEG bulguları	Normal veya fokal epileptiform deşarj	Normal veya jeneralize epileptiform deşarj
İktal EEG bulguları	Fokal fakat jeneralize olabilir	Jeneralize

c) Jeneralize Nöbetler: Aynı anda baştan sona tüm kortekste başlayan jeneralize nöbetlerde, bilinci devam ettiren kortikal nöronlar normal fonksiyonlarını yerine getiremedikleri için bilinç kaybı meydana gelir. Bazı jeneralize nöbetlerde, örneğin miyoklonik nöbetlerde herhangi bir bilinç kaybı olup-olmadığını saptamak zordur. Bununla birlikte bir nöbet süresince elde edilen EEG jeneralize nöbetlerin doğrulanmasına katkı sağlayabilir. ILEA'nın sınıflandırmasında birkaç jeneralize nöbet tipi tanımlanmıştır (Tablo 2).

1- Jeneralize Tonik-Klonik Nöbetler: Tüm vücudun katılaştığı tonik bir fazla başlayan ardından tekrarlanan kasılmaların olduğu klonik bir fazı içeren grand mal nöbetlerdir. Eğer hasta ayaktayken meydana gelirse, korunma olmaksızın bir düşüşe neden olur. Dilin ısırılması ve idrarın tutulamaması jeneralize tonik-klonik nöbetlerle yaygın durumlardır. Bu nöbetler 2-3 dk sürer ve ardından en az birkaç dk daha konfüzyon veya tamamen yanıtsızlığın olduğu bir periyot görülür. Bazı hastalar jeneralize tonik-klonik nöbetlerden sonra saatlerce uyuyabilirler fakat uygun bir şekilde uyarılırlarsa 10 ila 30 dk içerisinde uyanırlar (Şekil 7).

2- Tonik Nöbetler: Bu nöbetler jeneralize tonik-klonik nöbetlerin sadece tonik fazından oluşur.

3- Klonik Nöbetler: Bu nöbetler jeneralize tonik-klonik nöbetlerin sadece klonik fazından oluşur.

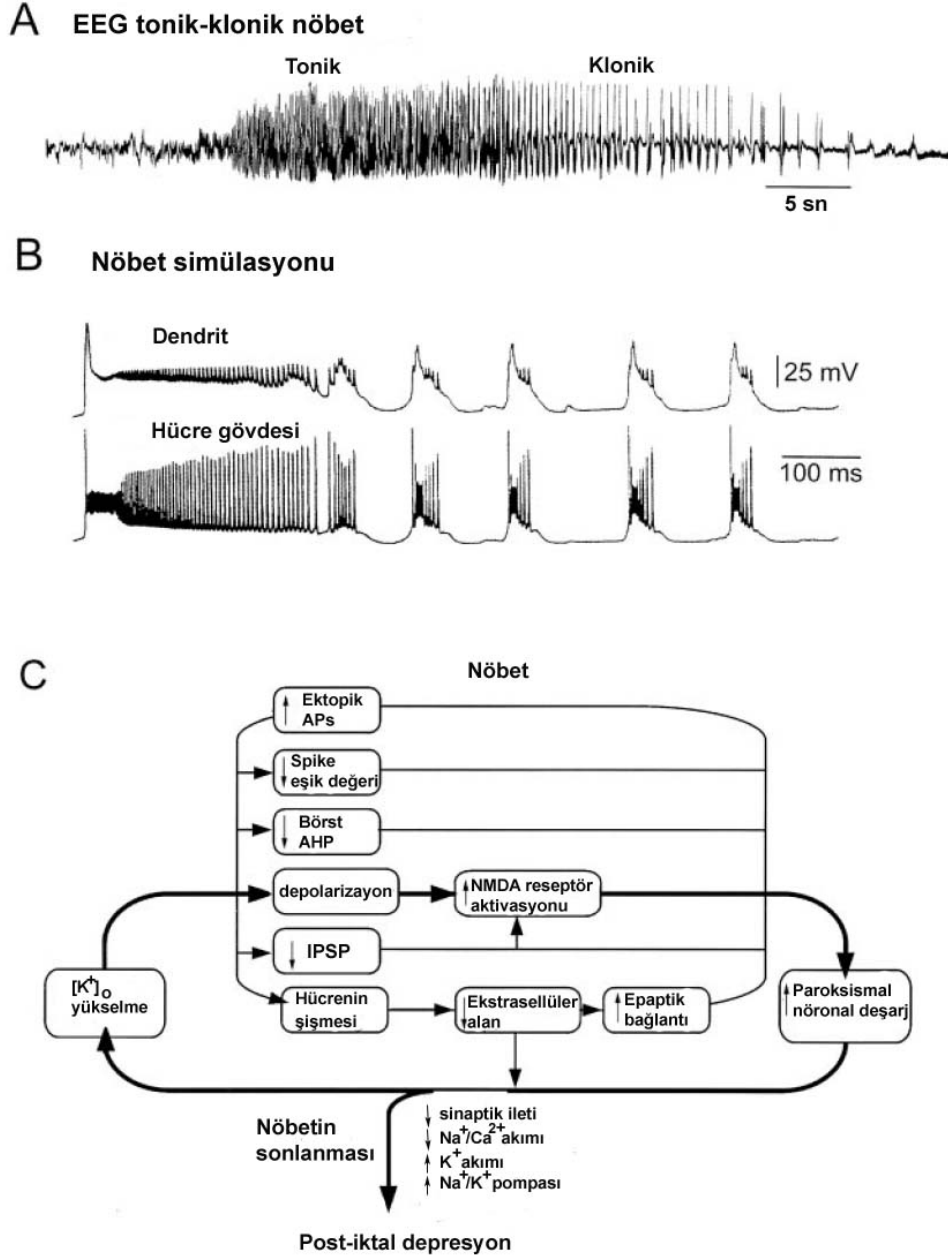
4- Miyoklonik Nöbetler: Miyoklonik nöbetler kısaca anlık kas sarsıdır. Bu nöbetler vücudun herhangi bir bölümünü etkilemekle birlikte bilateral el veya kol sarsıları çok yaygın bir işarettir. Kortikal, subkortikal veya omurilik yapılarından kaynaklanmayan tüm miyoklonik hareketler nöbet değildir. Sadece kortikal miyoklonik hareketler nöbet sayılır.

5- Absans Nöbetler: Kısa süreli (1-10 sn) hareketsiz veya yanıtsız kalma durumları, petid mal nöbetleri göstermektedir. Absans nöbetler, nöbet süresince ve nöbetler arasında jeneralize özellikle iyi biçimlenmiş yüksek amplitüdü 3 Hz spike-dalga deşarjları içeriğinden dolayı kolayca tanımlanabilen EEG özellikleri oluşturmaktadır. Bu nöbetler yanıtsız kalma durumu açısından kompleks parsiyel nöbetlere benzerler fakat meydana geldikleri klinik durum açısından çoğu kez ayırt edilebilirler. Ayrıca bazı klinik özellikler kompleks parsiyel nöbetlerden absans nöbetlerini ayırmada yardımcı olur (Şekil 8 ve 9; Tablo 3).

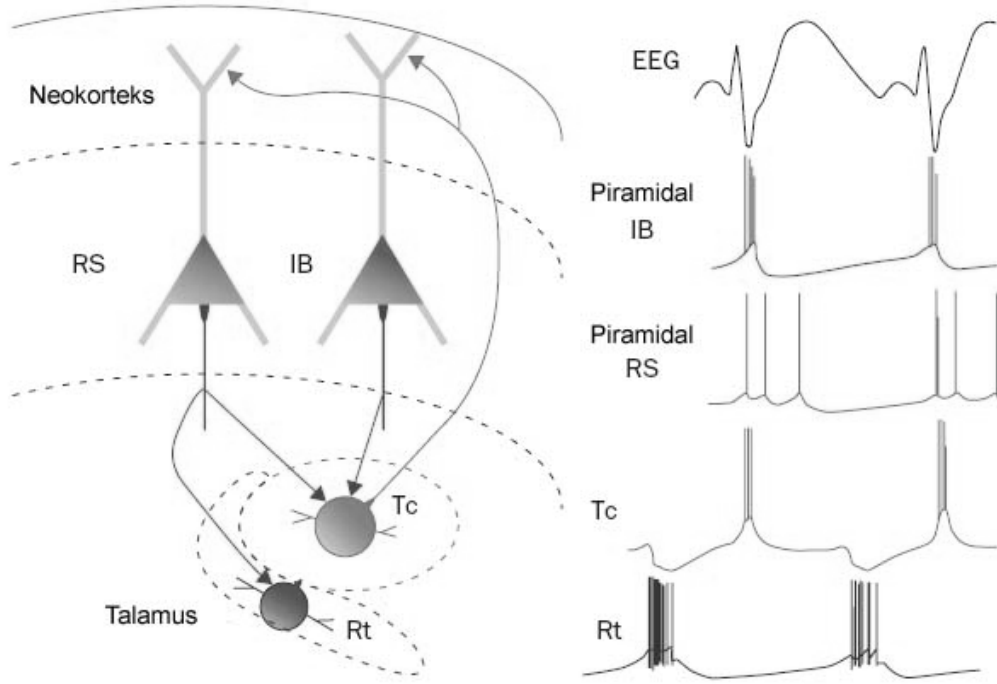
6- Atipik Absans Nöbetler: Atipik absans nöbetlerin iktal semptomları absans nöbetlere benzemekle birlikte daha uzun sürmekte ve daha fazla motor ilişki içermektedir. Atipik absans nöbetler çoğunlukla şiddetli epilepsi durumlarındaki diğer nöbet tipleriyle ilişkilidir.

7- Atonik Nöbetler: Kas tonusunun ani kaybı ve akabinde zemine kontrolsüz bir şekilde düşme veya yığılma atonik nöbetlerin göstergesidir. Bunlardan düşme (yığılma) atakları olarak da bahsedilir.

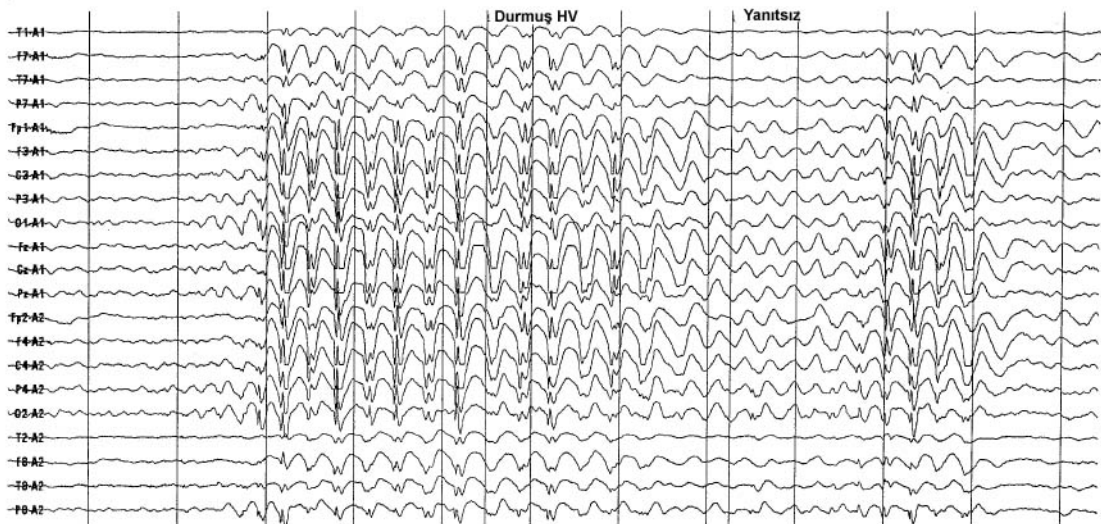
8- İnfantil Spazmlar: Gövdenin ileri doğru fleksiyonu ve her iki kolun ekstensiyonu infenitil spazmların belirtileridir. Bazen bu nöbetlerden selam nöbetleri veya iri çakı nöbetleri olarak da bahsedilir. Adındanda anlaşılacağı gibi küçük çocuklarda meydana gelir (Shneker ve Fountain, 2003).



Şekil 7. Tonik-klonik nöbetin muhtemel mekanizması A) Bir tonik-klonik nöbet geçiren hastadan bir EEG kaydı B) GABA_A reseptör blokajının neden olduğu hipokampal piramidal nöron ağında stimüle edilmiş tonik-klonik nöbet C) Nöbetin oluşumunda [K⁺]_o düzenlenmesi ve geribildirim mekanizmasının önemi. [K⁺]_o artış ilk olarak ektopik aksiyon potansiyellerinin artması, aksiyon potansiyeli eşik seviyesinin azalması ve after-hiperpolarizasyon amplitüdündeki azalmanında dahil olduğu çok sayıda mekanizma aracılığıyla epileptiform aktivite oluşumunu artırır (McCormick and Contreras, 2001)



Şekil 8. Absans epilepsinin patofizyolojisi. Retiküler talamik (Rt) nöronlardaki düşük eşikli kalsiyum akımındaki bir artış, talamokortikal (Tc) nöronlardaki ritmik postsinaptik potansiyelleri (alttan ikinci trase) oluşturan belirgin börtst-hiperpolarizasyon dizilerine (en alttaki trase) sebep olur. Membranın hiperpolarizasyonu Tc nöronlardaki aktivite için düşük eşikli kalsiyum akımını mümkün kılar ve böylece geri tepmeli bir aksiyon potansiyeli börtstünün sürdürülmesini sağlar. Tc nöronların eksitator çıkışı düzenli spike oluşturma (RS) ve doğal ateşleme (IB) davranışında bulunan piramidal nöronları uyarmak ve onların ritmik çıkışlarının Tc ve Rt nöronları için geriye aktarılmasını sağlamak için kortekse uzanmaktadır. Kortikal nöronların senkron deşarjları spike ve dalga olarak EEG skalp elektrotları tarafından görülmektedir (en üstteki trase) (Avanzini and Franceschetti, 2003)



Şekil 9. Hiperventilasyon ve davranış arrestiyile bağlantılı olarak meydana gelen 3 Hz spike-dalga aktivitesine sahip jeneralize tipik bir absans nöbeti (Shneker ve Fountain, 2003)

Tablo 3. Absans ve kompleks parsiyel nöbetleri ayırt etme kriterleri (Shneker ve Fountain, 2003)

	Absans nöbetler	Kompleks parsiyel nöbetler
Hastanın yaşı	Çocuk, nadiren yetişkin	Tüm yaşlar
Nöbet süresi	Birkaç sn	30-50 sn
Otomatizm	Nöbet uzamazsa yaygın değil	Yaygın
Postiktal konfüzyon	Mevcut değil	Mevcut
Nöbet sıklığı	Günde 100'e kadar	Genelde haftalık-aylık

II- ILEA'ya Göre Epilepsi ve Epilepsi Sendromlarının Sınıflandırılması

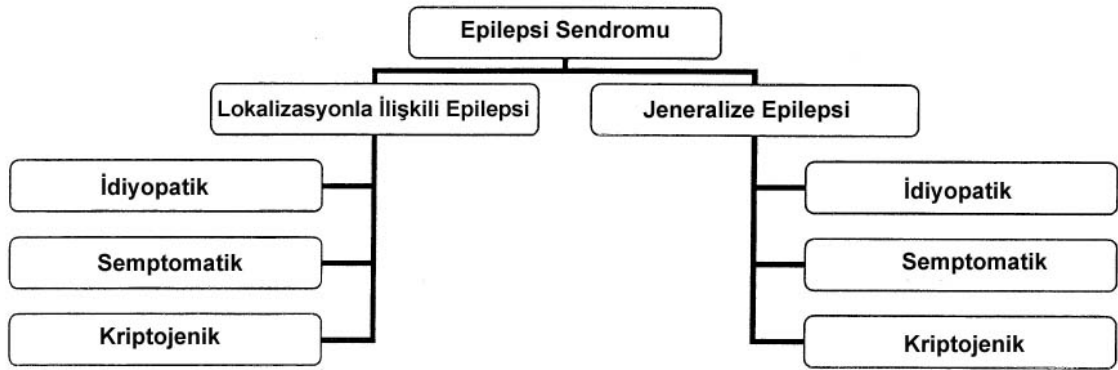
ILEA sisteminde epilepsinin sınıflandırılması lezyonun konumu (lokal veya genel) ve şüphelenilen neden (idiyopatik, semptomatik veya kriptojenik) olmak üzere iki ayırt edici özelliğe bağlıdır (Commission, 1989). Lokal epilepsi fokal bir hastalık nedeniyle oluşurken jeneralize epilepsi tüm beyni etkileyen bir hastalık nedeniyle oluşur. Tümör veya malformasyon gibi belirli bir yapısal lezyon, mikroskobik veya nöronal ileti bozukluğu da epilepsiye neden olabilir (Şekil 10).

a) İdiyopatik Epilepsiler: İdiyopatik epilepsiler genellikle kalıtsaldır ve yapısal bir anormallik olmaksızın nöronal ileti anormalliğinin bir sonucu olarak meydana geldiği varsayılmaktadır. Bu epilepsilerin nedenleri bilinmediği için idiyopatik olarak adlandırılırlar. Bununla birlikte moleküler biyoloji ve genetik alanlarındaki son gelişmeler çoğu idiyopatik epilepsinin genetik olarak belirli nöronal ileti kusurlarından kaynaklanacağını göstermiştir. Dolayısı ile bu epilepsiler daha fazla idiyopatik olarak kalamazlar.

b) Semptomatik Epilepsiler: Semptomatik epilepsi, bilinen yapısal bir hastalık veya bilinen nedenden dolayı meydana gelir. Epilepsi hastalığın bir semptomu yani belirtisidir. Malformasyon, tümör ve travma gibi yapısal hastalıklar genellikle nöronal görüntülemeyle kolaylıkla anlaşılırlar. Yapısal anomali olmaksızın gerçekleşen semptomatik epilepsi örneklerine perinatal anoksi, metabolik anomaliler (örn. amino asidopati, depolama hastalığı) ve kromozomal defektler dahil olmaktadır.

c) Kriptojenik Epilepsiler: Kriptojenik epilepsi yapısal bir temele sahip olduğu varsayılan fakat kanıtlanabilir yapısal bozukluk bulunamayan ve sebebi bilinmeyen epilepsidir. Bazı durumlarda yapısal bir beyin bozukluğu, mental retardasyon veya hemiparezis gibi nörolojik belirtilerinin bulunması nedeniyle kolayca

anlaşılır. Kriptojenik epilepsilerin tamamı olmasa da çoğunluğu sadece modern teşhis araçlarıyla saptanamayan bozuklukların olduğu semptomatik epilepsilerdir. Bilgisayarlı tomografi (CT) taramalarında saptanamayan lezyonlar yüksek çözünürlüklü manyetik rezonans görüntüleme (MRI) taramalarıyla tespit edilebildiğinden, MRI görüntülemesindeki gelişmeler şu anda teşhisi yapılan birçok kriptojenik epilepsiyi semptomatik epilepsi içerisine kaydırmıştır (Shneker ve Fountain, 2003).



Şekil 10. Epilepsi sendromlarına ait algoritma (Shneker ve Fountain, 2003)

2.3.5. Deneysel Epilepsi Modelleri

Epilepsinin elektrofizyolojik temelleri ve diğer özellikleri hakkında akla gelen sorulara cevap aramak ve daha etkili antiepileptik ilaçlar geliştirmek için deneysel modeller üzerinde çalışılır. Çünkü intakt insan beyninde hücre içi kayıtlar, mikrokimyasal analizler ve anatomik iz sürme işlemlerini yapmak, en azından tıbbi etik açıdan mümkün değildir (Marangoz, 1997).

İdeal bir epilepsi modeli aşağıdaki özelliklere sahip olmalıdır (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.

Bu kriterlerin tümünü karşılayan tek bir model şimdilik bilinmemektedir. Bazı araştırmacılar deneysel modelleri insandaki nöbetlere göre değil de modelin oluşturulmasına göre sınıflandırır (Biziere ve Chambon, 1987). Bu sınıflandırmaya göre deneysel modeller 3 gruba ayrılmaktadır:

- 1- Konvulsan kimyasal madde veya elektrik uyarlarıyla oluşturulan modeller.
- 2- Refleks epilepsi modelleri. Ses ve ışık gibi uyarılarla başlatılan modellerdir.
- 3- İdiopatik modeller. Genetik olarak epilepsiye meyilli hayvanlarda hem davranış hem de EEG bakımından insandaki idiyopatik epilepsiye benzer bir tablo oluşturulabilir.

Hastalarda daha yaygın olarak görüldüğü ve deney hayvanlarında meydana getirilmesi kolay olduğu için 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. Deney hayvanlarında makro elektrotlarla kaydedilen epileptik deşarjlar yapı itibariyle insan beynindeki epilepsi odağından kaydedilenlerle aynıdır.

Korteksin nöronları arasında bulunan uyarıcı bağlantılar bir epileptik odaktaki hücrelerin aynı anda (senkron) deşarj yapmalarına sebep olur. İnteriktal spike çok sayıda nöronun senkron aktivite gösterdiği anlamına gelir. Korteksin yüzeyinden büyük bir spikenin yazdırılması için binlerce nöronun aynı anda deşarj yapması gerekir. Nöron topluluklarını senkron deşarja zorlayan nedir? Korteksin içindeki inhibitör devreler güçlü olduğundan nöron topluluğundaki hücreler arasında gayet sınırlı bir haberleşme olabilir. O halde, postsinaptik inhibisyonda azalma görülünce hücreler senkron deşarj yapabilir (Tablo 4).

Normalde, sinaptik inhibisyon epileptiform aktivitenin yayılmasını engeller. Böylece, interiktal deşarjlar ve fokal nöbetler çoğu zaman sınırlı kalır ve bütün beyin korteksine yayılamazlar. Çünkü depolarizasyon şiftlerini takiben nöronların uyarılabilirliğini azaltan bir hiperpolarizasyon dönemi görülür. Epileptiform aktivitenin yayılmasını önleyen mekanizmalardan biri, beyin korteksinde çok güçlü ve uzun süreli sinaptik inhibisyonların olmasıdır. İkinci önemli bir mekanizma da hem voltaja duyarlı hem de Ca^{2+} 'a bağımlı K^+ kanallarının açılması ve böylece sonraki hiperpolarizasyonun meydana gelmesidir (Marangoz, 1997; Kandel ve ark., 2000).

Tablo 4. Parsiyel ve jenarilize nöbetler için hayvan modelleri (Sarkisian, 2001).

Nöbet Tipi	Nöbetin İndüklenme Şekli
Parsiyel	<p>Basit Parsiyel</p> <p>İnhibitör amino asit blokerlerinin fokal veya topikal uyg. (Penisilin, Bikukulin, Pikrotoksin, Striknin)</p> <p>Kotrikal olarak uygulanan metallar (Aliminyum (aliminyum jel), Kobalt, Çinko, Demir)</p> <p>Akut fokal elektriksel uyarın</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>Fıtınalar 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>
Generalize (tonik, tonik-klonik, absans modeller)	<p>Maksimal elektroşok (MES)</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>Pentilentetrazol(PTZ), Bikukulin, Pikrotoksin</p> <p>Glutamik asit dekarboksilaz (GAD) inhibitörleri</p> <p>Thiosemikarbazit, 3-Merkaptopropionik asit, Allilglisin</p> <p>Diğer ajanlar</p> <p>Flurotil, Quabain (Na⁺/K⁺ ATPaz inhibitörü), 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 (SER)</p> <p>Stargazer fare, Sendeleyen fare, Uyuşuk fare</p> <p>Yavaş-dalga epilepsili fare, Mocha fare, Ducky fare</p>

2.3.6. Epilepside EEG'nin Kullanımı

Epilepsiyle ilgili çalışmalarda EEG ve ECoG en çok kullanılan metottur. Temel araştırmalara göre, kısa süreli olan aksiyon potansiyellerinin EEG'ye direkt katkısı çok azdır. Beyin dalgaları EPSP ve IPSP'lerin cebirsel toplamı sonucu arta kalan sinaptik aktivitenin senkronizasyonu yoluyla oluşur ve yüzeydeki kaydedici elektrot yardımıyla yazdırılır. Korteks yüzeyine yakın nöronal yapıların EPSP'leri EEG dalgalarının negatif kısımlarını; derin kortikal yapıların IPSP'leri de EEG dalgalarının pozitif kısımlarını oluştururlar. Ayrıca, yüzeysel IPSP'ler EEG dalgalarının pozitif kısımlarının, derindekiler ise negatif kısımlarının oluşumuna katkıda bulunur (Creutzfeldt ve ark., 1966).

Epileptik deşarjlar EEG'nin aşırı senkronizasyonunu ifade eder. EEG epileptik nöbetin imzası sayılır. Absans nöbetlerde EEG'de saniyede 3-4 ritmik diken-dalga kompleksi görülür. Jeneralize tonik-klonik nöbetlerde (grand mal) diken-dalga kompleksine rastlanmaz. Bir nöbete girilirken EEG'deki ilk değişiklik, düşük amplitütlü desenkronize dalgalar olabilir (Fisch and Pedley, 1987). Tonik-klonik nöbette bunu saniyede 15-25 frekanslı keskin dalgalar izler. Nöbetten sonra EEG düzleşir ve kontroldekinden daha yavaş dalgalar görülür. Nöbet karşılığı olarak iktus (ictus) da kullanılır. Bu nedenle, nöbet sonrasına postiktal periyot; nöbetler arası zamana da interiktal periyot denir. İnteriktal dönemde EEG normal olabileceği gibi davranışı etkilemeyecek ölçüde çok kısa süreli deşarjlar da görülebilir. İnteriktal deşarjlar epilepsinin beyindeki kaynağı hakkında bilgi verir. Epilepsinin deneysel modellerinden elde edilen kayıtlar genellikle interiktal epilepsidekine benzemektedir. Ancak, davranış desteklemediği sürece, EEG'deki diken benzeri dalgaların epilepsiyi gösterdiğini söylemek mümkün değildir. Diğer taraftan, interiktal dönemde EEG'de dikenlerin olmaması epilepsi olmadığı anlamına gelmez (Fisher, 1989; Marangoz, 1997).

Beynin değişik bölgelerinde zaman zaman ortaya çıkan patolojik özellikteki biyoelektrik aktivitelerin epilepsi nöbetlerine neden olduğunu göz önüne aldığımızda beyin biyoelektrik faaliyetini ve meydana gelen değişimleri bize gösteren EEG'nin epilepside vazgeçilmez bir araştırma yöntemi olduğunu söyleyebiliriz. Ancak her yardımcı muayene yöntemi için geçerli olan kuralları hatırladığımızda hastanın değerlendirilmesinde klinik özelliklerin esas olduğunu, EEG bulgularının klinikle

birlikte değerlendirilmesi gerektiğini, tedavide esas olanın hasta olduğunu unutmamak gerekmektedir.

EEG'nin epilepside yardımcı olduğu en önemli durum epilepsinin tanısı ve sınıflandırmadaki yerini belirlemedeki katkısı olmakla beraber EEG bulgularının epilepside tedaviye başlama, tedaviyi izleme ve sonlandırmada da dikkate alınması gerektiğini vurgulamak uygun olacaktır.

Yaklaşık 20 dakika süreli hiperventilasyon ve fotik stimülasyon gibi aktivasyon yöntemlerinin de uygulandığı rutin EEG tetkikinde tek tetkikle epilepsi hastalarının yaklaşık %50'sinde, tekrarlanan tetkiklerde % 80-85'inde, uyku aktivasyonu uygulamasında ise %90-95'inde epilepsiye özgü patolojik aktiviteler saptanabilmektedir.

EEG'nin bilgi aktarma özelliğini kısıtlayan iki önemli nokta zamansal ve alansal faktörlerden kaynaklanmaktadır. Kayıt süresindeki kısıtlılık ve saçlı deriden yapılan sınırlı bölgelerin biyoelektrik aktivitelerini yansıtan kayıt sistemleri yeterli bilgi elde etmeyi sınırlamaktadır. Ancak günümüzde videomonitorizasyon sistemleri, telemetrik kayıtlar ve uyku EEG tetkikleri ile zamansal, gerek kafatası üzerine elektrod yerleştirme sistemlerindeki değişim ve gelişmeler gerekse kafa içi (nazofarengal, sfenoidal, foramen ovale veya kortikal) elektrod uygulamaları ile alansal kısıtlamalar büyük ölçüde giderilmeye çalışılmaktadır.

Epilepside EEG bulgularını değerlendirirken epilepsilerde görülen biyoelektrik patolojilerin sadece epilepsilere özgü olmadığını, beyni etkileyen çeşitli patolojilerin seyri sırasında da ortaya çıkabileceğini, ayrıca normal kişilerde düşük oranda da olsa (yaklaşık %2) benzer bulgulara rastlanabileceğini gözönünde tutmak gerekir (Göksan, 1998).

Epilepsi ile İlişkili Biyoelektrik Patolojiler (Epileptojenik epileptiform aktiviteler)

- **Diken (spike) aktivitesi:** 20-70 milisaniye süreli (14-50 Hz frekanslı) aktivitedir. Genellikle arkasında yavaş dalga aktivitesi ile birlikte görülür (Diken-yavaş dalga).

- **Keskin dalga (sharp) aktivitesi:** 70-200 milisaniye süreli (5-14 Hz frekanslı) aktivitedir. Genellikle arkasında yavaş dalga aktivitesi görülür (Keskin-yavaş dalga).

• **Çoklu diken aktivitesi (polyspike):** İki veya daha fazla diken aktivitesinden oluşur ve takiben yavaş dalga aktivitesi görülür. Buna göre epilepsiler için karakteristik olan bu aktiviteleri şu şekilde sıralamak mümkündür:

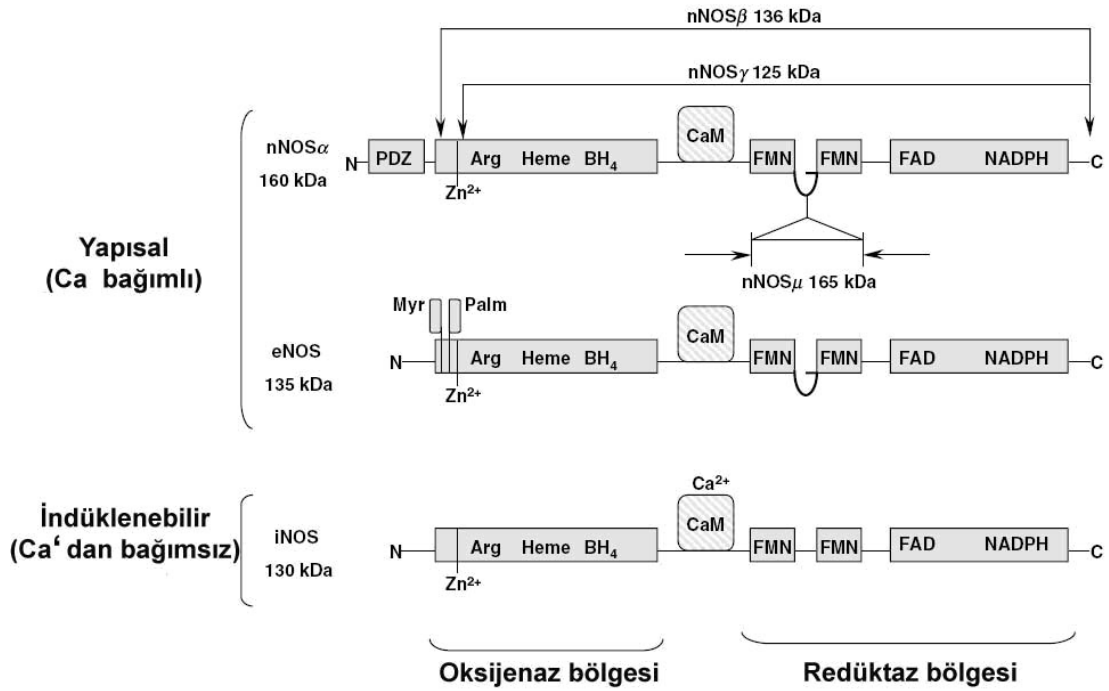
- diken (spike)
- keskin dalga (sharp)
- diken-yavaş dalga (spike and wave)
- keskin-yavaş dalga (sharp and wave)
- çoklu diken-yavaş dalga (polyspike and wave)

Bu aktivitelerin oluşturduğu deşarjların lokal (fokal) veya jeneralize olmasına ve morfolojik özelliklerine göre farklı epilepsi tiplerinin tanısı ve sınıflandırmadaki yerini belirlemek mümkün olmaktadır (Göksan, 1998).

2.4. Nitrik Oksit

2.4.1. Nitrik Oksitin Sentezi

Nitrik oksit memelilerde nöron, endotel ve makrofaj gibi farklı hücre tiplerinde NOS olarak adlandırılan 3 izoenzim ailesi tarafından sentezlenmektedir. Nöronlarda bulunan nNOS yapısal olarak üretilir ve aktivitesi Ca^{+2} tarafından düzenlenir. Diğer bir yapısal ve Ca^{+2} 'a bağımlı NOS tipi (eNOS) damarların endotelyal hücrelerinde bulunmaktadır (Prast ve Philippu, 2001). Ayrıca makrofajlar indüklenebilen, Ca^{+2} 'dan bağımsız ve sitokinler etkisiyle üretilebilen bir NOS (iNOS) içermektedir (Şekil 11) (Förstermann ve Kleinert, 1995; Mayer ve Andrew, 1998). Hipokampus ve diğer beyin bölgelerinin nöronları ayrıca eNOS içermektedir (Dinerman ve ark., 1994). Bu üç izoenzimin hepsi moleküler oksijen ve NADPH'yı ko-substrat gibi kullanarak L- arjinininden NO üretirler (Mayer ve ark., 1991; Lohse ve ark., 1998; Şekil 12). Nöronlarda NO'nun sentezi glutamat reseptörlerinin, tercihen NMDA reseptörünün aktivasyonu sonucu hücre içine Ca^{+2} girişiyle uyarılır (Garthwaite ve ark., 1989a, b). NO öncelikle hücrelerarası bir haberci olarak işlev görmektedir. Şaşırtıcı bir şekilde 0.3–0.4 mm'lik mesafelere ulaşarak, hızlı ve etkili biçimde NO duyarlı hedef hücrelere yayılmaktadır (Wood ve Garthwaite, 1994). Böylece, NO üreten hücrelerin birçok dokuda çok az miktarda bulunmalarına rağmen NO üretimi oldukça geniş alanlardaki nöronları etkileyebilmektedir. NO'nun seçiciliği, NO'nun hedef hücresi olan belirli hücrelerdeki hücre bileşenlerinin NO'ya duyarlı özellikleriyle başarılmaktadır. Anlaşılan NO'nun etkisinin çoğu cGMP aracılığıyla gerçekleştirilmektedir.



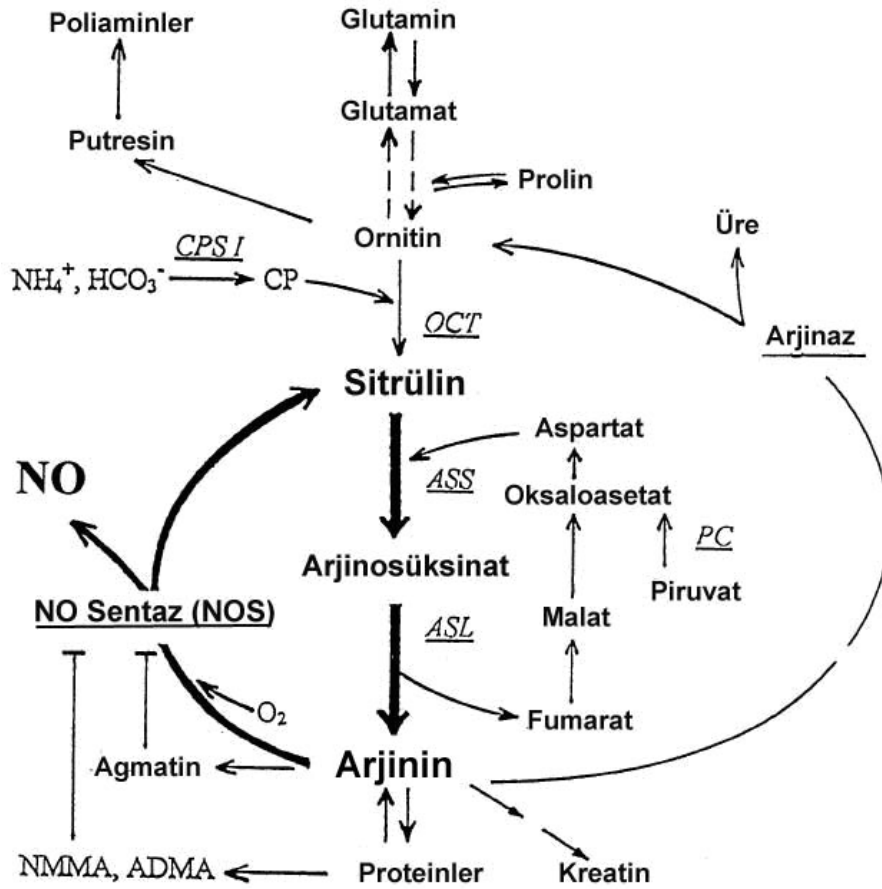
Şekil 11. NOS enzimlerinin yapısal alt birimleri. Kalmodulin (CaM) kofaktör ve substrat bağlanma bölgesidir. Myr → Miristolasyon; Palm → palmitolasyon; Arg → L-arjinin; BH₄ → tetrahydrobiopiterin; FAD → flavin adenin dinükleotid; FMN → flavin mononükleotid; NADPH → nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (Mungrue ve ark., 2003)

NMDA veya NMDA olmayan reseptör antagonistlerinin farelere uygulanması sonucunda beyinde cGMP seviyesi artmış ve bu süreç NOS inhibitörleriyle engellenmiştir (Wood ve ark., 1990). Farklı beyin bölgelerinde ekstrasellüler alana cGMP'nin akışı NOS inhibitörlerine duyarlıdır. En azından bazı beyin bölgelerinde cGMP'nin tonik sentezini sağlamak için bazal bir NO üretimi vardır (Vallebuona ve Raiteri, 1993; Fedele ve Raiteri, 1996). cGMP'nin dışarı akışı eksitator amino asitleri kullanan nöronları içeren yolların elektriksel uyarımında olduğu gibi kainat, AMPA ve NMDA reseptörlerinin aktivasyonu ile oldukça artmaktadır. Bu artış NOS inhibitörleri ve sGC inhibitörleri tarafından önlenir (Luo ve ark., 1994; Consolo ve ark., 1999). Bu veriler eksitator transmitter iletiminin uyarılmasıyla NO sentezinin teşvik edileceğini ve sGC aktivasyonu ile cGMP sentezinin artacağını göstermektedir.

2.4.2. Nöronal Uyarılabilirlik ve Ateşleme Üzerine NO'nun etkisi

NO'nun nöronal bir haberci olarak keşfedilmesinden sonra nöronal fonksiyonları düzenleme şekli yoğun araştırma konusu olmuştur. NO birkaç yol aracılığıyla sinyal iletimiyle ilişkili fonksiyonlar açısından nöronlarda değişikliklere neden olur. Uyarılabilirlik üzerine NO'nun etkisinin çoğunluğu cGMP'ye bağlıdır

(Tablo). sGC'nin aktivasyonunun cGMP oluşumu ve cGMP bağımlı protein kinaz aktivasyonunu artırdığı ileri sürülmüştür (Wang ve Robinson, 1997; Smolenski ve ark., 1998). NO tarafından nöronal cGMP sentezinin uyarılması çeşitli hücrel elemanların fonksiyonlarını düzenler. Nöronun tipi ve onun MSS'de yerleşimine bağlı olarak farklı "NO-cGMP devresi" hücrel fonksiyonların NO'nun etkisinin aracılığıyla gerçekleştiği bulunmuştur. Örneğin çeşitli iyon kanalları cGMP ve protein kinaz aracılığıyla NO tarafından düzenlenir. Lokus serulousta seçici olmayan bir katyon kanalının içeriye iletkenliğinde olduğu gibi (Pineda ve ark., 1996) hipokampal nöronlarda voltaja bağımlı I_K (Ca) dışarıya akımında NO anahtar fonksiyon üstlenmektedir (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).



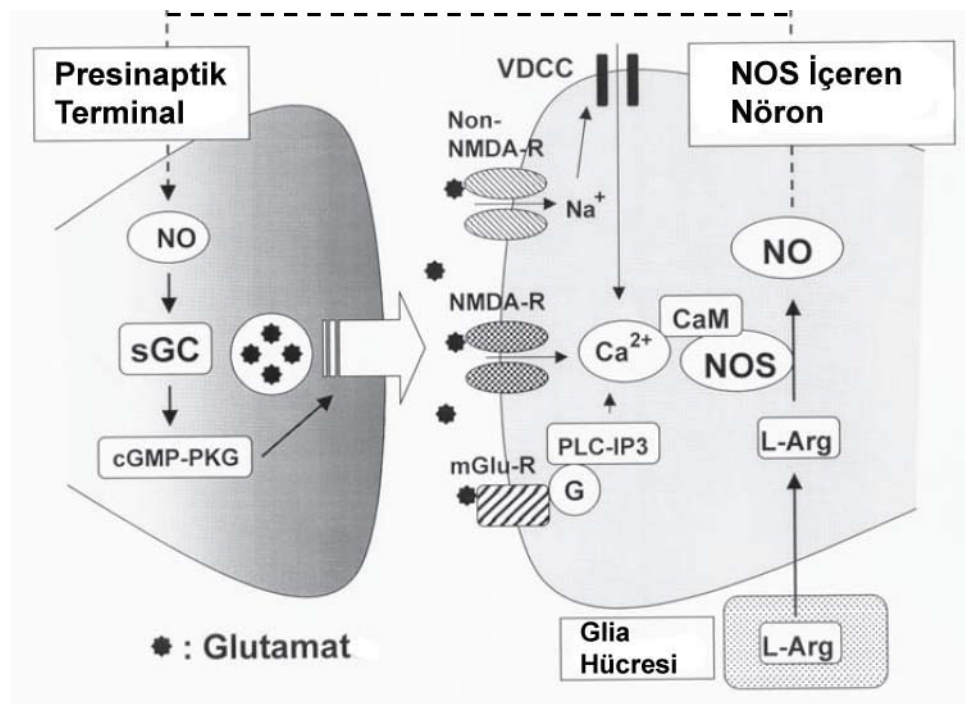
Şekil 12. NO üretimi ve L-arginin metabolizması (Wiesinger, 2001)

NO'nun ayrıca cGMP'ye bağılı yoldan başka, cGMP'den bağımsız olarak nöronal fonksiyonları düzenlediğı düşünölmektedir. İkinci mekanizma NO tarafından reseptörlerin düzenlenmesi ve onun toksik etkileriyle ilgilidir. NO'nun cGMP'den bağımsız mekanizması 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). Ayrıca NO sıçanların önbeyin dilimlerinde AMPA'nın bağlanmasını artırır (Dev ve Morris, 1994). Bu mekanizmaların yukarıda bahsedilen serebellar dilimlerde cGMP'nin NO tarafından GABA_A ve AMPA reseptörlerine bağımlı modölyasyonundan farklı olduğı açıktır. Böylece çeşitli beyin bölgelerinde aynı reseptörler farklı mekanizmalar yoluyla NO tarafından düzenlenebilir. NO ayrıca NMDA reseptör fonksiyonunu engeller. NO bir redoks düzenleyici bölgenin oksidasyonunu sağlayarak (Lei ve ark.,1992) veya henüz tanımlanmamış başka bir mekanizmayla (Hoyt ve ark., 1992) intraselöler Ca⁺² artışını ve NMDA reseptörü aracılıklı akımı azaltır (Manzoni ve ark., 1992).

2.4.3. LTP, LTD ve Öğrenmede NO'nun Rolü

Uzun süreli potansiyasyon (LTP) ve uzun süreli depresyon (LTD) aktiviteye bağımlı olarak sinapslarda modifiye edilmiş faydalı iletimin şekilleridir. Nöronal plastisitenin bu şekli ilk defa hipokampusta gösterilmiştir (Lomo, 1966). Bu arada çeşitli beyin bölgelerinde de meydana geldiğinin keşfedilmesiyle MSS'de yaygın bir olgu haline gelmiştir. Beyin dokularında NO sentezinin keşfedilmesinden hemen sonra presinaptik hücrede sinaptik geçişe etkisi ve sinaptik plastisiteye katkısından dolayı NO'nun retrograt bir haberci gibi rol oynadığı ileri süröldü (Prast ve Philippu, 2001). NOS inhibitörleriyle veya nNOS ve eNOS eksik mutant farelerde (Son ve ark., 1996) hipokampal LTP'nin engellenmesi (Böhme ve ark., 1991; O'Dell ve ark., 1991) veya kısmi blokajının (Gribkoff ve Lum-Ragan, 1992) sonucunda elde edilen bulgular bu hipotezle uyumlu bulunmuştur. Postsinaptik hücrelere NOS enjeksiyonuyla LTP'nin inhibisyonu başarılırken, presinaptik hücrelerde böyle bir durum gerçekleşmemiştir (O'Dell ve ark., 1991; Schuman ve Madison, 1991). LTP ayrıca ekstraselöler alanlardaki NO'yu absorbe eden hemoglobin ve oksimiyoglobin tarafından da bozulmuştur (O'Dell ve ark., 1991; Schuman ve Madison, 1991). Bu kesin bulgular, tekrarlanan uyarıların sonucunda postsinaptik hücrede sentezlenen NO'nun,

ekstraselüler alan boyunca ilerlediği ve sonuçta presinaptik hücrede cGMP oluşumuna neden olduğu, yani LTP oluşumuna yol açan hücresel fonksiyonları düzenlediğini göstermektedir (Prast ve Philippu, 2001). NO hipokampusun dışında kognitif, emosyonel ve/veya davranışsal fonksiyonlarda anahtar rol üstlenen birkaç diğer beyin bölgesinde de aktiviteye bağımlı sinaptik plastisiteye katılmaktadır. İşitme korteksinin 5. tabakası (Wakatsuki ve ark., 1998) ve medial amigdalooid nükleusta (Shindou ve ark., 1993) NOS inhibitörleriyle LTP'nin bloklandığı ve NO donörleriyle LTP'nin kolaylaştırıldığı gözlenmiştir (Calabresi ve ark., 1999).



Şekil 13. LTP'de NO'nun rolü ve beyinde NO sentezinin düzenlenmesi. L-Arjinin glia hücrelerinde depolanır. NO L-arjininden nNOS ve/veya eNOS vasıtası ile nöronlarda sentezlenir. LTP'de tetanik stimülasyon postsinaptik NMDA ve/veya voltaja-bağımlı kalsiyum kanalları (VDCC) yoluyla içeriye Ca^{2+} akışına neden olur. Böylece postsinaptik hücrede NOS aktive edilir. NO daha sonra ekstraselüler alanı geçerek presinaptik terminale geçerek sGC ve cGMP'ye-bağımlı protein kinazı aktive ederek aktiviteye bağımlı bir şekilde nörotransmitter salınımının uzun süreli olarak artışına neden olur (Riedel and Platt, 2004)

Ayrıca serebellumda NO'nun cGMP sentezi yoluyla (Boxall ve Garthwaite, 1996) LTD oluşumuna karıştığı gözlenmiştir (Crepel ve Jaillard, 1990). Bununla birlikte bazı sonuçlar serebellar veya hipokampal sinaptik plastisitede NO'nun rolünü doğrulamamaktadır. Birkaç yazar serebellar LTD (Glaum ve ark., 1992; Hemart ve ark.,

1995) veya hipokampal LTP üzerine NOS inhibitörlerinin etki etmediklerini bildirmişlerdir (Bannerman ve ark., 1994; Cummings ve ark., 1994).

Aktiviteye bağımlı sinaptik plastisiteye karışan bir retrograd transmitterin bloklanması öğrenmeyi etkilemesi beklenilebilir. Gerçekten NOS inhibitörleri çeşitli öğrenme işlemlerinde deney hayvanlarının yeteneklerini azalmaktadır. NO-cGMP sisteminin manüple edilmesi yeni doğan sıçanlarda kokusal çağrışimli öğrenmeyi (Samama ve Boehm, 1999), kokusal sosyal etkileşimli bir işlemde tanıma işlemini (Böhme ve ark., 1993), sakınma davranışını öğrenmeyi (Hölscher ve Rose, 1992; Bernabeuet ve ark., 1995; Kopf ve Baratti, 1996; Teledgy ve Kokavszky, 1997; Yıldırım ve Marangoz, 2004), mekansal öğrenmeyi (Chapman ve ark., 1992; Yamada ve ark., 1995; Toyoda ve ark., 1996), işleyen hafıza temelli objeleri öğrenmeyi (Cobb ve ark., 1995; Prickaerts ve ark., 1997) ve yeni bir çevreye alışmayı (Yamada ve ark., 1995) etkilemektedir. Bu deney düzeneklerinde NOS inhibitörlerinin etkinliğinden dolayı NO'nun uzun süreli hafızanın çeşitli tiplerinin oluşumuna karıştığı ileri sürülmüştür. Bu işlemlerde NO tercihen hafızanın kazanılmasını etkilemektedir. Ayrıca sakınma davranışını öğrenme veya mekansal bir yeniliğe maruz bırakılma süresince hipokampus, kaudat putamen ve somatosensoriyal kortekste NOS immünoreaktivitesi oldukça artmıştır (Papa ve ark., 1994; Bernabeu ark., 1995). Bu bulgular, hafızanın kazanılmasında NOS aktivitesinin yeniden düzenlenmesinin gerekli olabileceğini göstermektedir. NO ve cGMP hipokampus, serebral korteks, amigdala, striatum ve serebellumu da içeren çeşitli beyin bölgelerinde aktiviteye bağımlı sinaptik plastisite için ya gereklidir veya kolaylaştırıcı bir rol üstlenmektedir. nNOS ve en azından hipokampus ve somatosensoriyal kortekste eNOS NO'nun bu fonksiyonuna karışmaktadır. NO, LTP'nin indüksiyonunu etkilemektedir (Şekil 13).

2.4.4. Nörotransmitter Salınımı Üzerine NO'nun Etkisi

a) Asetilkolin (ACh): Nörotransmitter salınımı üzerine NO donör veya NOS inhibitörlerinin etkilerini çalışmak NO'nun önemi için alışlagelmiş bir yaklaşımdır. In vitro deneyler beyin dilimlerinde, sinaptosomlarda, nöron kültüründe veya izole organlarda gerçekleştirilirken in vivo çalışmalar için mikrodializ ve açma-kapama süperfüzyon tekniği yaygın olarak kullanılmıştır (Prast ve Philippu, 2001). Açma-kapama veya mikrodializ teknikleri kullanılarak in vivo şartlar altında NOS inhibitörlerinin bazal ön beyinde (Prast ve Philippu, 1992) ve nükleus akumbensde

(Prast ve ark., 1995; 1998) asetilkolin salınımını azalttığı gösterilmiştir. Bu bulgularda bazal ön beyin ve ventral striatumda kolinerjik iletimin endojen NO salınımıyla tonik olarak düzenlendiği ileri sürülmektedir. Beklendiği gibi DEA/NO, SNAP ve linsidomin gibi NO donörleri bazal önbeyin (Prast ve Philippu 1992), nükleus akumbens (Prast ve ark., 1995) ve dorsal striatumda asetilkolin salınımını arttırmıştır. Bu bileşenlerin salgılatıcı etkileri hemoglobin ve tetrodotoksin (TTX) tarafından bozulmaktadır (Guevara-Guzman ve ark., 1994; Prast ve ark., 1995). Daha sonraki bulgular NO'nun, aksiyon potansiyeline bağımlı asetilkolin salınımını artırdığını bildirmektedir.

Özet olarak NO eksitatör ve inhibitör aminoasitlerin oranlarını değiştirmek suretiyle ventral striatumda ACh salınımını dolaylı olarak düzenler. Nöronal hücre kültürlerinde geniş ekstrasellüler alandan dolayı NO tarafından salınan çeşitli nörotransmitterler arasında etkileşim mümkün olmamaktadır. Böylece serebrokortikal nöron kültüründe ACh'ın NO tarafından salınımı (Ohkuma ve ark., 1995), NO'nun serebral kortekste kolinerjik iletiyi doğrudan düzenlediğini göstermektedir.

b) Eksitatör ve İnhibitör Amino Asitler: Glutamat salınımı üzerine NO donörlerinin etkisinin doku NO seviyesi üzerine bağlı olduğu gösterilmiştir. Düşük konsantrasyonlarda SNAP hipokampusta glutamat salınımını azaltırken daha yüksek SNAP konsantrasyonu kullanıldığı zaman glutamat çıkışı artmıştır (Segieth ve ark., 1995). Yüksek konsantrasyonları zıt etki gösterirken düşük hidroksilamin konsantrasyonu hipokampal sinaptozomlardan glutamat salınımını azaltmaktadır (Sequeira ve ark., 1997). Hidroksilamin tarafından glutamat salınımının azaltılması, mitokondriyal solunumun inhibisyonu ve ATP/adenozin monofosfat (ADP) oranındaki azalmayla bağlantılı olduğu için ekzositotik işlemin inhibisyonuna bağlanmaktadır (Sequeira ve ark., 1997). Ayrıca medyal ve dorsal striatumda (NMDA reseptörlerinin uyarılmasıyla oluşan endojen NO salınımının glutamat ve aspartat salınımını azalttığı için) NO'nun glutamat ve aspartatın salınımını azalttığı görülmüştür (Kendrick ve ark., 1996).

cGMP glutamat salınımının düzenlenmesine karışıyor görünmektedir. Hipokampal ve serebrokortikal sinir terminallerinde düşük NO konsantrasyonuna cevaben ekzositotik glutamat salınımındaki baskılanmaya, cGMP seviyesindeki yükselme eşlik etmekte ve cGMP fosfodiesteraz inhibisyonu ve cGMP analogları tarafından taklit edilmektedir. Bundan dolayı eksitatör amino asit salınımının

düzenlenmesinde NO'nun rolü, NO'nun o andaki endojen konsantrasyonu üzerine bağlıdır. Glutamaterjik nöronlarda NO'nun etkisinin iletilmesi taşıyıcı veya mitokondri-bağımlı mekanizmalardan ziyade cGMP aracılığıyla olabilir (Prast ve Philippu, 2001).

Ayrıca inhibitör amino asitlerin salınımı da NO tarafından düzenlenmektedir. NO donörleri serebrokortikal nöronlar (Ohkuma ve ark., 1996) ve bazal ön beyinde (Casamenti ve ark., 1999) olduğu gibi striatum (Guevara-Guzman ve ark., 1994) ve hipokampusta da (Segovia ve ark., 1994) GABA salınımını artırmaktadır. Glutamatın salınımına benzer şekilde GABA'nın salınımında bifazik olarak NO konsantrasyonuna bağlıdır. L-NAME'in düşük konsantrasyonu hipokampusta dışarıya GABA akışını artırırken SNP'nin düşük konsantrasyonu ise inhibe etmektedir. Aksine NO donörünün yüksek konsantrasyonu dışarıya GABA akışını artırmaktadır.

c) Katekolaminler: Yapılan çalışmalarda in vivo ortamda veya striatal dilimlerde dopamin salınımını SNP ve L-arjininin artırdığı bulundu (Zhu and Luo, 1992). SNP tarafından salgılanan dopaminin TTX-duyarlılığından dolayı nöronal orjinli olduğu saptandı (Nakahara ve ark., 1994). L-NAME'in lokal uygulamasının striatumdan dopaminin salınımını etkilemediği oysa sistemik uygulanmasında dopamin salınımının azaldığı görüldü (Kiss ve ark., 1999). Diğer taraftan striatumda selektif nNOS inhibitörü 7-nitroindazol (7-NI)'ün ile hücre dışına dopamin akışını artırması; endojen nöronal NO'nun dopamin salınımını engellediğini göstermektedir (Silva ve ark., 1998).

NO prekürsörü olan L-arjininle yapılan çalışmalar zıt sonuçlar ortaya koymuştur. Birçok durumda bu amino asitin dopamin salınımını artırdığı bulunmuştur (Zhu ve Luo, 1992). Etkisi 7-NI tarafından önlenebilen NOS substratı L-arjininin dopamin salınımını artırması önemli bir durumdur. Diğer taraftan L-arjininin dopamin salınımını bifazik olarak etkilediği bulunmuştur. L-arjininin düşük konsantrasyonlarında dopamin salınımında kısa süreli bir azalma olurken; yüksek konsantrasyonlarda salınımında bir artış saptanmıştır. In vitro ortamda SNP-nedenli dopamin salınımı NMDA reseptör blokerleri dizosilpin (MK-801 olarakta bilinir) ve AP5 tarafından büyük oranda engellendiği için NO tarafından dopamin salınımına NMDA reseptörlerinin aracılık ettiği görülmektedir (Prast ve Philippu, 2001).

d) Histamin: Anteriyör hipotalamus NOS içeren nöronlar gibi (Vincent ve Kimura, 1992) yüksek yoğunlukta histaminerjik nöron terminallerine de sahiptir

(Wilcox ve Seybold, 1982; Steinbusch ve ark., 1986). Anteriyor hipotalamik alanın linsidomin ile perfüze edilmesi histamin oranında belirgin ve güçlü bir azalmaya neden olmaktadır.

e) Serotonin: Medyal preoptik alan (Lorrain ve Hull, 1993) ve striatumda (Guevara-Guzman ve ark., 1994) serotonin salınımı L-arjinin ve NO donörleri tarafından artırılmıştır. En son çalışmalar NO donörlerinin serotonin salınımını bifazik olarak etkilediklerini bildirmektedir. Linsidomin, DEA/NO, SNAP, SNOG veya SNP'nin düşük konsantrasyonlarıyla hipotalamik perfüzyon serotonin salınımını azaltırken, yüksek konsantrasyonları monoamin salınımını artırmaktadır (Prast ve Philippu, 2001).

f) Adenozin: NO tarafından adenozin salınımının düzenlenmesine ilişkin bilgi daha azdır. Hipokampal dilimlerde NO donörleri doza bağımlı bir şekilde adenozin salınımını canlandırmaktadır (Fallahi ve ark., 1996). Bununla birlikte ne SNP nede L-arjininin kortikal dilimlerden adenozin salınımını değiştirmedeği görülmüştür (Craig ve White, 1993). In vivo şartlar altında DEA/NO ventral striatumda ekstrasellüler adenozin konsantrasyonunu artırmaktadır. L-NAME'in ekstrasellüler adenozini azalttığı için endojen NO'nun adenozin salınımını düzenlediği ileri sürülmüştür (Fischer ve ark., 1995). Adenozin salınımı ayrıca NMDA tarafından arttırılmaktadır. NO tarafından adenozin salınımının uyarılması eksitatör nöronal iletinin zararlı etkilerini sınırlandırmaya yardımcı olmak amacıyla nöroprotektif bir mekanizmayı temsil edebilir (Prast ve Philippu, 2001).

2.4.5. Nitrik Oksit ve Epilepsi

Nitrik oksit sinaptik iletiyi 4 temel mekanizma yoluyla artırıyor olabilir (Garthwaite, 1991; Marangoz, 1996):

1. Hücre içi cGMP seviyesini artırmak suretiyle 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 devreleri glutamat ve diğer uyarıcı sinir ileti maddelerini salgılama yönünde etkileyerek genel uyarıcı bir etkiye neden olmaktadır.

Diğer taraftan elde edilen deneysel kanıtlar, NO'nun bir geribildirim yoluyla NMDA reseptörlerinde duyarsızlığa ve inhibitör transmitter salınmasına neden olabileceğini de düşündürmektedir (Marangoz, 1996).

Nitrik oksitin moleküler yapısı içinde bulunduğu mikroçevrenin durumu ile yakında ilişkilidir. Ortamın fizikokimyasal özelliklerine göre farklı özellikler alabilen NO molekülü genellikle üç farklı yükseltgenme-indirgenme (redox) durumunda bulunabilir (Lipton ve ark., 1993):

- a.) Azot monoksit veya kaynak form (NO)
- b.) Nitrik oksit veya redükte form (NO⁻)
- c.) Nitrosonium iyonu veya okside form (NO⁺)

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 tiyol 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 birçok 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 ve ark., 1993; Marangoz, 1996).

NO ve oksijen sulu ortamlarda kolaylıkla nitrit (NO₂⁻) ve nitrat (NO₃⁻) gibi biyolojik olarak aktif olmayan anyonları meydana getirebilir. 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.

Şu ana kadar elde edilen sonuçların bir kısmı NO'nun endojen bir prokonvulsan madde olduğuna işaret ederken, diğer bir kısmı ise bu kimyasalın antikonvulsan özellikler gösterdiğini ifade etmektedir.

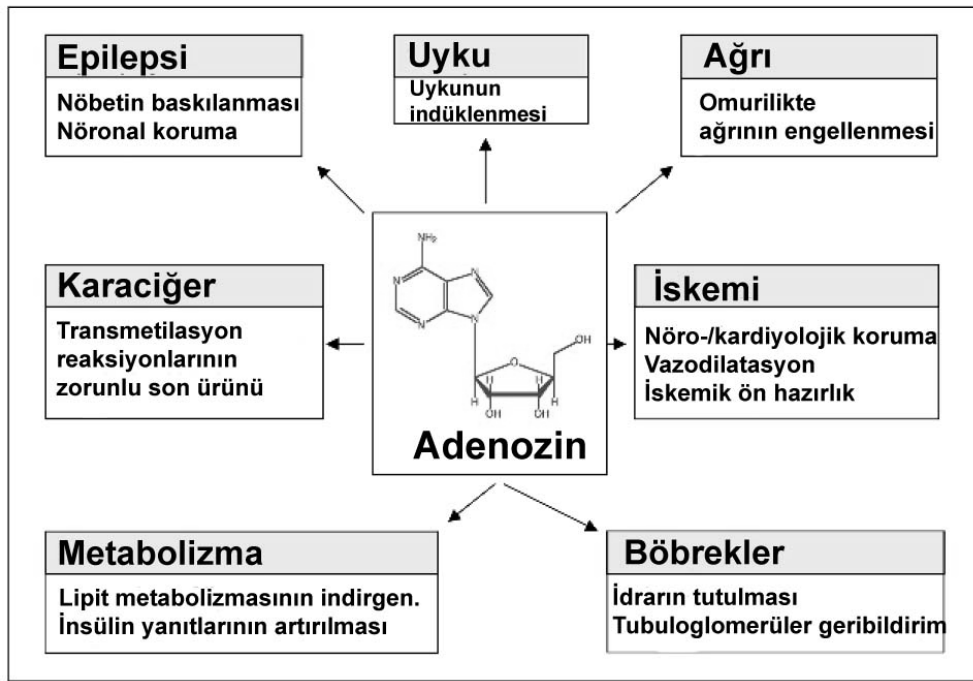
2.5. Adenozin

Purinler ve purin nükleotidleri tüm canlı hücrelerin temel yapıtaşlarıdır. Adenin nükleik asitlerin bir bileşeni iken ATP, hemen hemen tüm hücreler için bir enerji kaynağı olarak kullanılır. Muhtemelen purinlerin her yerde bulunmalarının doğal sonucu, onların enerji metabolizması ve bilginin genetik olarak iletilmesiyle ilişkili aktivitelerinden farklı bir şekilde intraselüler ve ekstraselüler sinyal iletimi gibi rollerde önemli bir molekül olmalarını sağladı (Dunwiddie ve Masino, 2001). ATP ekstraselüler reseptörlerin iki genel sınıfı olan iyonotropik P2X ve metabotropik P2Y reseptörleriyle (Ralevic ve Burnstock 1998) ve hücre içi aktivitelerin düzenlenmesinde anahtar bir rol oynayan intraselüler haberci siklik adenozin monofosfat (cAMP) ile etkileşir. Üçüncü bir purinerjik haberci olan adenozin özellikle kalp ve beyin gibi uyarılabilir dokularda birçok fizyolojik olayın düzenlenmesinde rol oynar. Adenozinin etkilerinin birçoğu, ya uyarılabilir dokuların aktivitesini azaltmak (örneğin kalp atımını yavaşlatmak gibi) veya metabolik substratların iletimini artırmak şeklindedir (örneğin vazodilatasyona neden olmak). Bununla birlikte adenozin için bu şekilde bütünsel bir rol onun etkilerinin çoğunu açıklamada yetersizdir. Adenozinin bir hücre içi haberci olarak farklı rollerde görev aldığı açıktır (Dunwiddie ve Masino, 2001). Dünyada psikoaktif ilaç olarak yaygın bir şekilde kullanılan kafeinin farmakolojik etkileri bir adenozin reseptör antagonistinin etkileri olarak nitelenebilir (Fredholm ve ark. 1999).

Her yerde-her zaman mevcut olduğu söylenen adenozin, tüm hücrelerde bulunmakta ve görünüşe göre nöron ve glialar dahil tüm hücrelerden salınmaktadır. Adenozin gerçekten de sinir sistemindeki hücrelerin homeostasisinde çok önemli bir madde olarak tanınmaktadır. 1980'lerin başında Newby tarafından "misillemeyle ilgili metabolit" olarak, diğer bir araştırmacıya göre ise "bir yaşam sinyali" olarak adlandırıldı (Newby, 1981; Engler, 1991).

ATP bazı beyin bölgelerinde bir nörotransmitter olarak görev yapmaktadır (Edwards ve ark., 1992; Mori ve ark., 2002). Adenozin ise bir nükleosit taşıyıcısı aracılığıyla sitoplazmadan ekstraselüler alana salınmaktadır. Sinaptik veziküllerde biriktirilmediği için klasik bir nörotransmitter gibi ne depolanmakta nede salınmaktadır. Adenozin taşıyıcıları adenozin geri alınımına aracılık ederler (Ribeiro ve ark., 2003). Taşınma yönü membranın her iki yanındaki konsantrasyon gradiyentine bağlı olarak gerçekleşir (Gu ve ark., 1995). Adenozin ekzositotik olarak salınmadığı ve bir

nörotransmitter olmadığı halde sinaptik iletiyi etkileyen ekstrasellüler bir sinyal molekülü gibi davranır. Örneğin presinaptik olarak transmitter salınımını engellemek veya kolaylaştırmak ve postsinaptik olarak nöronları hiperpolarize veya depolarize etmek suretiyle ve/veya glia hücreleri üzerine sinaptik olmayan etkileriyle, hücresel düzeyde sinir sisteminin aktivitesini düzenler. Bu özelliğinden dolayı adenozin nöromodülatörler grubuna dahil edilmektedir. Aynı sinapsta adenozin benzer reseptörler (A_1) aracılığıyla pre- ve postsinaptik inhibitör etkilerin her ikisine de neden olabilir (Ribeiro ve ark., 2003).



Şekil 14. Adenozinin çeşitli fizyolojik fonksiyonlarda rolleri (Boison, 2005)

Adenozin kendi reseptörleri ve diğer nörotransmitter-nöromodülatörlerin reseptörleri arasında oldukça karmaşık bir şekilde karşılıklı etkileşime neden olan bir ortak maddedir. Bu etkileşimlere katılarak hassas bir şekilde rol oynadığı için “iyi bir ayarlayıcı” olarak nitelendirilmiştir (Sebastiao and Ribeiro, 2000). Adenozinin kendisi bir nörotransmitter olmadığı halde A_1 reseptörünü aktive ederek ve ana inhibitör nörotransmitter olan GABA ile işbirliği yaparak glutamatın aracılık ettiği uyarılabilirliği azaltmaktadır. Bundan dolayı merkezi sinir sisteminde glutamaterjik sinaptik iletinin

kontrolünde adenozin ve GABA anahtar molekülleri oluştururlar (Ribeiro ve ark., 2003; Şekil 14).

2.5.1. Adenozin Reseptörleri

Adenozin reseptörleri yoğun olarak çalışılmıştır. Bu güne kadar dört farklı adenozin reseptörü (insanın da içinde bulunduğu farklı türlerde) klonlanmıştır (Tablo 1) (Olah ve Stiles 1995). Diğer adenozin reseptörlerini tanımlamak için sarf edilen yoğun çabalar başarısız olduğu için gelecekte ilave reseptörlerin tanımlanabileceği imkânsız görünmektedir. Adenozin reseptörlerinin tamamı membranı 7 kez kateden, G-proteinine kenetli reseptörlerdir. Bu reseptörler P1 (adenozine seçici)/P2 (ATP'ye seçici) terminolojisinde P1 reseptörleri olarak bilinir (Burnstock, 1978). G proteinine bağlı reseptör (GPCR) familyasına aittirler. Bunların hepsi insanın da içinde bulunduğu birkaç memeli türünde klonlanmış ve tanımlanmıştır (Fredholm ve ark., 2001). Adenozinin nöromodülatör rolüne, fizyolojik açıdan önemli olan yüksek afiniteli A_1 ile A_{2A} reseptörleri ve patolojik şartlarla ilgili olduğu bilinen düşük afiniteli A_{2B} reseptörlerinin aktivasyonu aracılık eder. İnsanda A_3 reseptörü de yüksek afinitelidir fakat çoğu dokuda düşük yoğunlukta bulunmaktadır (Ribeiro ve ark., 2003).

A_1 reseptörü beyinde oldukça fazla bulunmaktadır. Beyin korteksi, serebellum, hipokampus ve omuriliğin dorsal boynuzunda aşırı miktarda üretilmektedir. Bu reseptör her ikisi de nöronal aktiviteyi inhibe eden K^+ kanallarının aktivasyonu ve Ca^{2+} kanallarının inhibisyonu ile ilişkilidir (Trussell ve Jackson 1985). A_{2A} reseptörü beyin sadece birkaç bölgesinde yüksek seviyede üretilmektedir. Bu reseptör özellikle adenilil siklazın aktivasyonu ile bağlantılıdır. A_{2A} reseptörü striato-pallidal GABAerjik nöronlarda ve olfaktor bulbusta yüksek oranda, beyinin diğer bölgelerinde düşük oranda üretilmektedirler (Sebastiao ve Ribeiro, 1996).

A_1 reseptörüne nazaran A_{2B} beyinde düşük seviyede ekspresyona sahiptir (Dixon ve ark., 1996). Görünüşe göre A_3 insan serebellumu ve hipokampusunda orta düzeyde, beyinin diğer bölgelerinde düşük düzeyde ekspresyona sahiptir (Fredholm ve ark., 2001). Proteinkinaz-C'ye bağımlı bir mekanizma yoluyla A_1 ve metabotropik glutamat reseptörlerinden ayrıldığı bildirilmiştir (Dunwiddie ve ark 1997). Bundan dolayı onun fonksiyonlarından bir tanesi diğer reseptörlerin aktivitelerini düzenlemek olabilir (Tablo 5 ve Şekil 15).

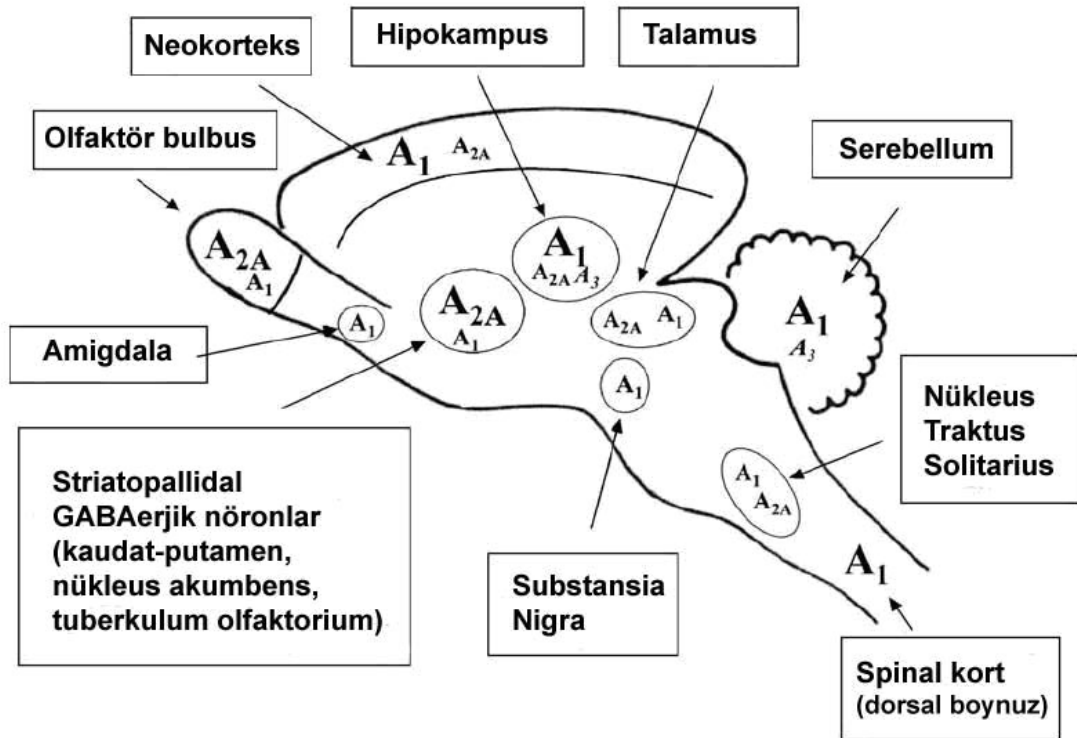
Tablo 5. MSS'de adenozin reseptörlerinin dağılımı ve fonksiyonları (Dunwiddie ve Masino, 2001; Fredholm ve ark., 2001'den değiştirilerek)

	A ₁	A _{2A}	A _{2B}	A ₃
İkincil Habercisi	G _i , G _o	G _s , G _{olf}	G _s	G _i , G _q
Adenozine Afinitesi	70 nM	150 nM	5100 nM	6500 nM
Selektif Agonisti	CPA, CCPA, CHA, R-PIA	CGS 21680, 2-HE-NECA	Yok	2-CI-IB-MECA
Selektif Antagonisti	DPCPX, CPT	SCH 58261, KF 17837, KW6002, ZM 241385, CSC	Yok	MRS 1220, MRE 3008F20
MSS'de Dağılımı	Serebral korteks, hipokampus, striatum, talamus, serebellum, omurilik	Striatum, Akumbens, olfaktör tuberkül, globus pallidus, serebral korteks, hipokampus,	n. Düşük seviyelerde beyin, hipokampus, talamus, hiotalamus, striatum	Düşük seviyelerde beyin, hipokampus, talamus, serebral korteks, serebellum
Sinyal İletimi	Adenilat siklazı inhibe ederek, Ca ²⁺ kanallarını inhibe (N-, P-, Q-tipi) ederek, GIRK'leri aktive ederek, PLC'yi aktive ederek	Adenilat siklazı aktive ederek, Ca ⁺⁺ kanallarını inhibe ederek	Adenilat siklazı aktive ederek, PLC'yi aktive ederek	Adenilat siklazı inhibe ederek, PLC'yi aktive ederek, İntasellüler Ca ²⁺ artırarak
Etkileri	Nöronların hiperpolarizasyonu, Sinaptik iletinin baskılanması, Presinaptik inhibisyon, iskemik önkoşullama	Bazal ganglionlarda duyuusal motor iletişimin düzenlenmesi, Duyusal sinir aktivasyonu, iskemik hasara karşı koruyuculuk	Beyin kesitlerinde cAMP'yi artırır Ca ²⁺ kanallarının modülasyonu	Önkoşullama
Başlıca Tedavi Edici Potansiyeli	Aktivasyon: Nöbetlerin baskılanması, Nöronal koruma, Spinal analjezi	İnhibisyon: Parkinson hastalığı, Aktivasyon: Anti-inflamatuvar etki	İnhibisyon: Antiastmatik	İnhibisyon: Anti-inflamatuvar etki

Farklı tipte K⁺ ve Ca²⁺ kanallarının da dahil olduğu iyon kanalları doğrudan veya dolaylı olarak (ikinci haberciler aracılığıyla) adenozin reseptörlerini kontrol eder. Örneğin A₁ reseptörü voltaja bağlı ve PTX-duyarlı bir yol aracılığıyla N-tipi kanaldan Ca²⁺ akımını engeller (Park ve ark., 2001). A₂ reseptörleri birkaç hücrede kısmen adenilat siklaz sinyali yolunun aktivasyonu ile bağlantılı olarak hücre içi Ca²⁺u artırır (Gubitzi ve ark., 1996) Bununla birlikte A₂ reseptör aktivasyonu semender retinasındaki çubuk fotoreseptörlerinde L-tipi kanal aracılığıyla hücre içine Ca²⁺ akışını engeller. Bu

etki ayrıca protein kinaz A aktivasyonuna da bağlıdır (Stella ve ark., 2002). A_2 reseptörleri ayrıca siklik AMP'ye bağlı bir mekanizma aracılığıyla voltaj-bağımlı Na^+ kanallarını inhibe edebilir (Ribeiro ve Sebastião, 1987; Tablo 5).

Esasen adenozin reseptörleri her yerde buldukları için farmakolojik açıdan adenozin reseptörleriyle etkileşen dokuya has ilaçları geliştirmede oldukça zorlanılmıştır. Örneğin A_1 için oldukça seçici agonist veya antagonistler olmasına rağmen, A_1 reseptörünün nöronal aktiviteyi baskıladığı gibi kalp atım oranını da yavaşlattığı görülmektedir (Dunwiddie ve Masino, 2001). Endojen adenozin tarafından aktive edilen A_1 ve A_{2A} reseptörlerinin her ikisi aynı sinir terminalinde birlikte bulunmaktadır (Correia-de-Sá ve ark., 1991). Ekstrasellüler kaynaklı adenozin tercihli aktivasyonla reseptör tiplerini belirliyor görünmektedir. Adenin nükleotitlerinden serbestlenerek oluşan adenozin A_{2A} reseptörlerini, serbest adenozin ise A_1 reseptörlerini tercihli olarak etkilemektedir (Cunha ve ark., 1996). Adenozin reseptörleri ayrıca otonom veya somatik sinir sistemi elemanında da bulunur (Şekil 15).



Şekil 15. MSS'nin belirli bölgelerinde adenozin reseptörlerinin dağılımı. Ekspresyonu yüksek seviyede olanlar büyük harflerle gösterilmiştir (Ribeiro ve ark., 2003)

2.5.2. Hücresel Seviyede Adenozinin Etkileri

Hücre ortamındaki fizyolojik şartlarda adenozin çok sayıda etkiye sahiptir. Adenozinin nöromodülatör olabileceği fakat tek başına nöronal iletiyi sağlayamayacağı düşünülmektedir. Adenozin ne klasik olarak Ca'a bağımlı bir şekilde salınmakta ne de veziküllerde depolanmaktadır. Adenozinin sinapslarda primer bir transmitter olduğuna dair kanıt bulunmamaktadır. Bununla birlikte A₁ reseptörü glutamat, GABA, asetilkolin, norepinefrin, 5-hidroksitriptamin, dopamin ve diğer transmitterler dahil hemen hemen her klasik nörotransmitterin salınımının inhibe edilmesiyle bağlantılıdır (Dunwiddie ve Masino, 2001). En önemli inhibitör etkiler genellikle eksitator glutamaterjik sistem üzerindedir (Dunwiddie ve Hoffer, 1980). Neredeyse tüm beyin bölgelerinde adenozin reseptör aktivasyonunun net etkisiyle uyarılabilirlik azaltıldığı için inhibitör sistemlerin engelleyici düzenlenmesi (GABA gibi) daha az sıklıkla gözlenmiştir. Transmitter salınımının inhibitör düzenleme mekanizması geniş ölçüde çalışılmıştır. Bu halen tartışılan bir konu olmasına rağmen sinir sonlarında Ca²⁺ kanallarının G-proteinine bağlı inhibisyonunu düşündürdüğü görülmektedir. Ayrıca adenozin reseptörleri, nörotransmitter salınımının inhibisyonundan daha az olmakla birlikte nörotransmitter salınımını artırabilir. A₁ reseptörlerinin diğer bir önemli etkisi, içeriden düzenlenen K⁺ kanallarının G-proteinine bağlı aktivasyonuna aracılık ederek, istirahat membran potansiyelinin hiperpolarizasyonuna neden olmasıdır (Dunwiddie ve Masino, 2001).

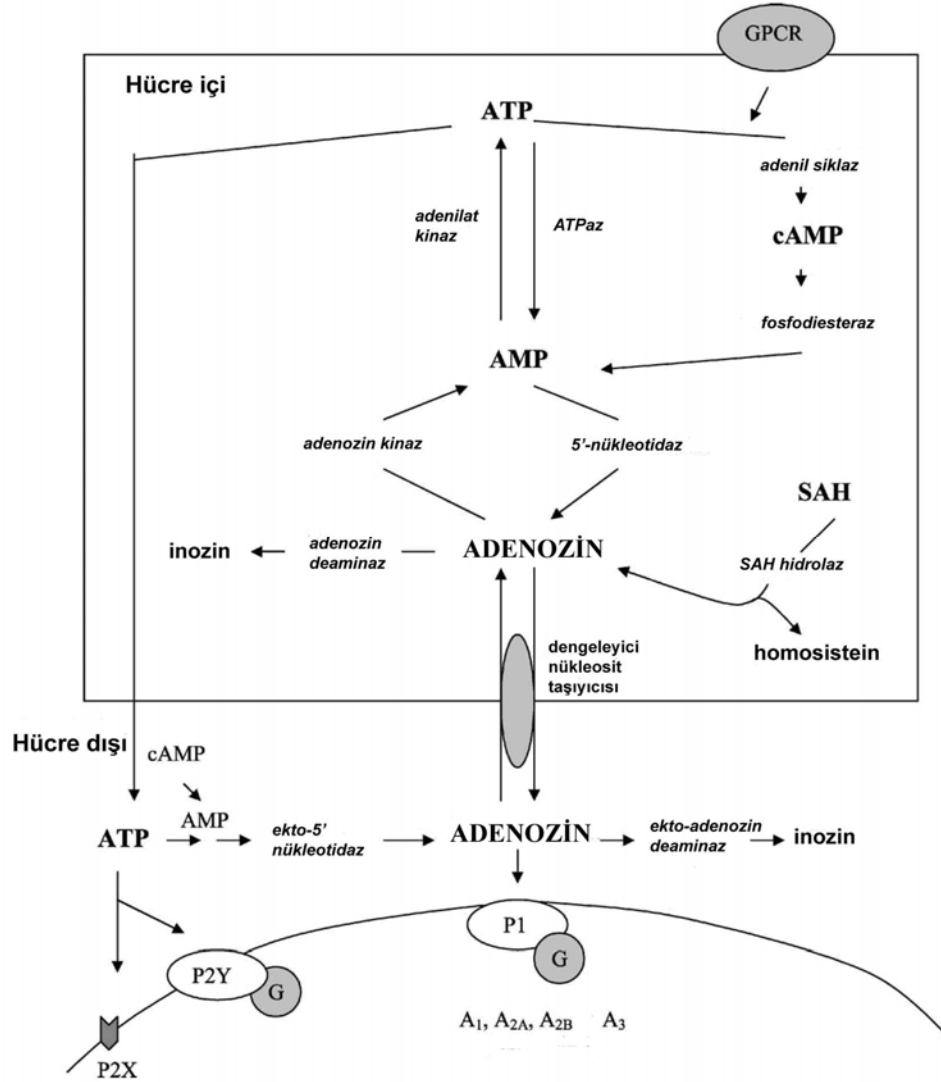
2.5.3. Adenozin Seviyesinin Düzenlenmesi

I- Ekstrasellüler Adenozinin Düzenlenmesi

Ekstrasellüler adenozinin iki kaynağı vardır. Bunlardan bir tanesi kolaylaştırılmış difüzyonla adenozin salınımı, diğeri ise bir seri ektoenzim aracılığıyla adenin nükleotitlerinden adenozine ekstrasellüler bir dönüşümün sağlanmasıdır (Deckert ve ark., 1988; Zimmermann ve Braun, 1999). Birçok sistemde ekstrasellüler bazal adenozin konsantrasyonu yüksek afiniteli adenozin reseptörlerinin (A₁ ve A_{2A}) tonik olarak önemli miktarda aktivasyonu için yeterlidir.

a) Bir Adenozin Kaynağı Olarak Adenin Nükleotidlerinin Ekstrasellüler Çevrimleri: Beynin ekstrasellüler alanlarında adenozini mevcut kılan iki temel mekanizma vardır. Bunlardan bir tanesi ekto-nükleotidazlar tarafından adenin nükleotidlerinin defosforilasyonu diğeri ise taşıyıcılar aracılığıyla hücrelerden adenozin salınımıdır. Bunlardan birincisi ekto-nükleotidaz ve ekto-fosfodiesterazlara bağımlıdır.

Ektonükleotidazların çok sayıda çeşidi bulunmaktadır. Bu ekto-enzimler beyinde yüksek oranda eksprese edilirler. Son çalışmalarda birçok nükleotidin (cAMP hariç) bir saniyeden daha kısa bir zaman diliminde adenozeine çevrildiği bildirilmiştir (Dunwiddie ve ark 1997). Hatta “stabil” ATP analogları bu nükleotidazlar için substrat olabilir. Ayrıca bu nükleotidazların presinaptik inhibitör A_1 reseptörleriyle fiziksel yakınlıklarını gösteren kanıtlar bulunmaktadır (Şekil 16).



Şekil 16. Adenozin oluşumu ve metabolizması için intra- ve ekstrasellüler yollar. Hücre içerisinde adenozin ATP, cAMP veya SAH'dan oluşurken hücre dışında nükleosit taşıyıcıları aracılığıyla salınır veya ATP ile cAMP metabolizması yoluyla oluşur (Sawynok and Liu, 2003)

Ekstrasellüler alana salındıkları bilinen adenin nükleotidleri için çok sayıda mekanizma bulunmaktadır. ATP asetilkolin, dopamin, 5-hidroksitriptamin (5-HT) ve norepinefrin gibi transmitterler ile birlikte bulunmakta ve elektriksel uyarılmalarda birlikte salınmaktadır. Daha sonra ATP, adenozeine hidrolize olmaktadır. Birçok

sistemde cAMP probenesite-duyarlı bir taşıyıcıyla ekstrasellüler alana salınır. Bu şekilde salınan cAMP ekstrasellüler adenozinde büyük miktarda artışa neden olmak için yeterlidir (Dunwiddie ve Masino, 2001; Şekil 16).

b) Kolaylaştırılmış Difüzyon Taşıyıcıları Yoluyla Adenozinin Salınması:

Ekstrasellüler alandaki adenzin seviyesini düzenleyen diğer bir mekanizma kolaylaştırılmış difüzyonla nükleosit taşıyıcıları aracılığıyla gerçekleşir. Pasif olan bu taşıyıcılar ATP'ye bağımlı değildir ve adenozini iyonik gradiyentle taşır. Kolaylaştırılmış difüzyonla adenzin taşınması dengeli ve çift yönlüdür. Hücre membranının her iki yanında adenozini dengeler. Hücre içi veya dışının her ikisine adenozinin net taşınması, membranın her iki tarafındaki adenozinin konsantrasyon gradiyentine bağlıdır. Hücre içindeki ADK'ın nisbeten yüksek aktivitesinden dolayı, normalde hücre içerisinde adenzin konsantrasyonu düşük olduğu için bu taşıyıcılar aracılığıyla net akış içeriye doğru gerçekleşir. Bununla birlikte intrasellüler adenzin konsantrasyonunun arttığı koşullar altında bu taşıyıcılar adenozini salgılayabilir. Adenzin taşınmasının inhibisyonu adenzin salınması ve alınmasının her ikisini de engelleyebilir (Gu ve ark., 1995). Taşınma inhibitörleri genellikle ekstrasellüler adenzin seviyesinde bir artışa neden olur. Bu taşıyıcılardan bazıları klonlanmıştır. Fakat bu taşıyıcılara selektif farmakolojik araçların eksikliğinden dolayı bunların ekstrasellüler adenzin konsantrasyonunun düzenlenmesindeki önemleri nispeten bilinmemektedir (Dunwiddie ve Masino, 2001). Yoğun bir adenzin salınımına yol açan hipoksik ve iskemik şartlarda sitoplazmik adenzinde göze çarpan bir artış olmaktadır (Parkinson ve ark., 2002; Şekil 16).

c) Ekstrasellüler Alanlardan Adenozinin Uzaklaştırılması:

Ekstrasellüler alandaki adenozinin uzaklaştırılmasından sorumlu mekanizmalar tam olarak anlaşılammakla birlikte kolaylaştırılmış difüzyon veya aktif taşıma yoluyla adenozinin hücre içerisine taşınması temel mekanizma olarak görülmektedir. Ekstrasellüler adenozinin inaktivasyonu için alternatif bir yol, adenozinin adenozin deaminaz tarafından inozine metabolik olarak dönüştürülmesidir. Bazal koşullar veya beyin doku dilimlerinden adenozin salınımının uyarıldığı durumların her ikisinde adenozin genellikle toplam purin akışının % 10'unu kapsarken inozin, hipoksantin ve ksantin gibi adenozin metabolitlerinin artakaldığı görülmektedir (Pedata ve ark 1990). Adenzin deaminazın adenozinin ekstrasellüler alanlardan uzaklaştırılmasında nisbeten önemli

olduğu ima edilse de bu doğru değildir. Adenozin deaminaz inhibitörleri ekstrasellüler adenozin konsantrasyonu üzerine çok az etkili veya etkisiz iken, adenozin alımı inhibitörleri adenozin konsantrasyonunu büyük oranda artırmıştır (Dunwiddie ve Diao, 1994; Şekil 16).

II- İntrasellüler Adenozinin Düzenlenmesi

İntrasellüler adenozin konsantrasyonunun düzenlenmesi, dengeleyici taşıyıcıların bulunmasından dolayı ekstrasellüler adenozin düzenlenmesi için önemlidir. Bu kontrol iki yolla gerçekleşir. İlki eğer adenozinin intrasellüler (tek l olmalı) konsantrasyonu yükselirse, nükleotidazlar tarafından ekstrasellüler olarak oluşturulan adenozini tutan bu taşıyıcıların yetenekleri kaybolur. İkinci olarak eğer intrasellüler adenozin konsantrasyonu ekstrasellülerleri geçecek şekilde daha fazla artarsa adenozinin doğrudan akımı gerçekleşir (Dunwiddie ve Masino, 2001; Şekil 16).

2.5.4. Beyinde Adenozin Salgılatan Fizyolojik Uyarılar

Hücrel mekanizmaları çoğu kez iyice anlayamamış çok sayıda unsur ekstrasellüler adenozin seviyesini artırabilir. İntrasellüler adenin nükleotidi ve adenozin metabolizmasında görev alan anahtar enzimlerin (sitozolik 5'-nükleotidaz-I ve ADK ayrıca S-adenosilhomosistein hidrolaz ve adenozin deaminaz) aktivitelerinin düzenlenmesi, beyindeki ekstrasellüler adenozin seviyesini yükselten farklı uyarıcı mekanizmalar için temel teşkil eder (Dunwiddie ve Masino, 2001).

Adenozin salgılatan uyarılar arasında büyük farklılıkların olmasına rağmen bazı ortak unsurların olduğu da görülmektedir. İntrasellüler ATP konsantrasyonunun yüksek olmasından dolayı (genellikle 3 mM oranında hesaplanmaktadır) ATP'nin %1'inin adenozine çevrilmesi intrasellüler adenozinde yaklaşık 100 kat bir artışa ve ekstrasellüler konsantrasyonunda benzer bir artışa neden olur. Bununla birlikte ATP seviyesinin korunduğu şartlar altında da adenozinin salınabildiğine ilişkin kanıtlar bulunmaktadır (Doolette, 1997). Benzer şekilde ADK'nın inhibisyonu ATP seviyesi üzerine çok az etkilere sahipken adenozin salınımını büyük oranda artırmaktadır (Brundege ve Dunwiddie 1998).

2.5.5. Adenozinin Fizyolojik Etkileri

I- Normal Fizyolojide Adenozinin Rolü

a) Uyku ve Uyanmanın Düzenlenmesi: Kafein gibi adenozin reseptör antagonistlerinin uykusuzluğun arttırılması ve uykunun bozulmasındaki etkinliğine

dayanılarak uykuda adenozinin bir rol üstlendiği ileri sürülmüştür. Bu hipotezi destekleyen kanıtlar genellikle iki kategoride toplanmıştır. Birincisi mikrodializ kullanılarak kedinin bazal ön beyinde endojen adenozinin doğrudan ölçülmesine dayanmaktadır. Kedilerde uzun süren uykusuzluk boyunca adenozin seviyesinin gittikçe arttığı ve yeniden uykuya müsaade edilmesinin ardından azaldığı gösterilmiştir (Porkka-Heiskanen ve ark. 1997, Porkka-Heiskanen 1999). Davranış durumu ve endojen adenozin arasındaki benzer bir ilişkinin hipokampusta olduğu fakat talamusta olmadığı görülmüştür. İkinci olarak adenozin reseptörlerinin karışıkları farmakolojik işlemlerde genellikle agonistler uykuyu artırırken antagonistlerin uykuyu azalttıkları gösterilmiştir (Dunwiddie ve Masino, 2001).

b) Retrograd Sinaptik Bir Haberci Olarak Adenozin: Klasik bir nörotransmitter olarak görülmemesine rağmen adenozinin retrograd bir sinaptik haberci olarak işlev gördüğüne dair bazı kanıtlar bulunmaktadır. Eğer tek bir nöron patch pipeti yardımıyla adenozinle doldurulursa hücreden dışarı akan adenozin o hücrenin sinaptik girişlerini anlamlı bir şekilde önlemede yeterli olurken diğer komşu hücrelerle olan sinaptik bağlantılarını etkilememiştir (Brundege ve Dunwiddie, 1996).

II- Patolojik Şartlarda Adenozinin Rolü

Eksrasellüler adenozin seviyesi inhibitör A₁ reseptörlerinin tonik olarak aktivasyonu için genellikle yeterlidir. Seçici olmayan bir adenozin reseptör antagonisti olan kafeinin eksitatör etkileri (dünyada oldukça yaygın kullanılan psikoaktif ajan) bu inhibisyonun antagonize edilmesiyle açıklanır. Bağımlılığa neden olan bir antagonist olmasına rağmen enteresan bir şekilde kafeinin bağımlılık yaratan birçok ilacın aksine reseptör antagonistleri mevcuttur veya biriken endojen ligantlardaki (örn. morfin, eroin, kokain, amfetamin, nikotin, marijuana), artış yoluyla işler (Daly ve Fredholm, 1998). Bununla birlikte son zamanlarda ifade edildiği gibi çoğu nörotransmitterlerin reseptörlerinin aksine patolojik öneme sahip antagonistlerden birinin adenozin reseptör antagonizmasında olduğu gibi mental fonksiyon ve performansta görünüşe göre ilerlemeye neden olması oldukça şaşırtıcıdır. Adenozin görünüşe bakılırsa sinir sisteminin patolojisinde önemli birçok fonksiyona karışmaktadır (Dunwiddie ve Masino, 2001).

a) Uykunun Düzenlenmesi ve Uyanmanın Düzeyi: Adenozin uzun süreli uyanıklık periyodu boyunca birikerek ve uyku süresince azalarak doğal bir uykuya

teşvik edici ajan gibi etki gösterir (Benington ve ark., 1995). Adenozinin davranış halini manüple etmek suretiyle sirkadiyan saatin yeniden ayarlanmasına karıştığı ileri sürülmüştür (Antle ve ark., 2001). Gerçekten suprakiazmatik nükleusun adenozin A₁ reseptörleri aydınlığa göre sirkadiyen saatin yanıtlarını düzenler (Elliott ve ark., 2001). Adenozinin uykuya neden olan özellikleri onun A₁ reseptörü aracılığıyla gerçekleştirdiği inhibitör etkileriyle aynı hizadadır. Bununla birlikte özellikle uyku ve uyanmaya karışan bazal önbeyin nükleusları üzerindeki etkileri önemli görünmektedir (Porkka-Heiskanen, 1999). Fetal koyunlarda adenozin REM-benzeri davranışları engellediği için uyku safhası üzerine adenozinin etkisi doğum öncesinde şimdiden kanıtlanmıştır (Koos ve ark., 2001). Sağlıklı insanlarda kafein uyku tembelliği, her zaman olabilen kognitif performans bozukluğu, sarhoşluk ve kesintili veya kısa süreli uyku periyotlarından aniden uyandıktan hemen sonra tekrar uykuya meyil durumlarındaki psikomotor dikkat eksikliğini önler (van Dongen ve ark., 2001). Böylece uykuya teşvik edici unsur olarak A₁ reseptör agonistleri ve uyandırıcı stimülatör olarak adenozin reseptör antagonistlerinin ve adenozinle ilişkili bileşiklerin potansiyel rolleri vardır (Ribeiro ve ark., 2003).

Adenozin reseptör agonistleri bradikardi ve hipotansiyon dahil in vivo yan etkiler gösterebilirler (Barraco ve ark., 1984) Bundan dolayı endojen adenozin seviyesini dolaylı olarak düzenleyen maddelerin kullanımı adenozin reseptör agonistlerinin kullanımına tercih edilebileceği sıklıkla ifade edilmektedir. İnsandan elde edilen ilk veriler adenozin alım inhibitörü mioflazinin bir uyku artırıcı olarak etkili olduğu ve iyi tolere edilebildiği ileri sürülmüştür (Hoppenbrouwers ve Bussche, 1989).

b) Anksiyete: Kemirgen hayvanlarda oluşturulan anksiyete modellerinde adenozin A₁ reseptör agonistleri anksiyolitik etkilere sahipken, kafein ve selektif adenozin A₁ reseptör antagonisti siklopentilteofilinin anksiyojenik özellikler gösterdiği bulunmuştur (Jain ve ark., 1995). Anksiyete ile adenozin A₁ reseptörünün bağlantısı, bu reseptörler için knock out olan farelerde, anksiyete ile bağlantılı davranışlarda artış görüldüğünü bildiren çalışmadan elde edilen bulgular tarafından doğrulanmıştır (Johansson ve ark., 2001).

İlginçtir ki anksiyete hastalığının ciddi bir şekli olan panik bozukluktan muzdarip hastaların özellikle kafeinin küçük miktarlarına duyarlı oldukları görülmektedir (Boulenger ve ark., 1984). Bu gözlemler adenozin A₁ reseptörü

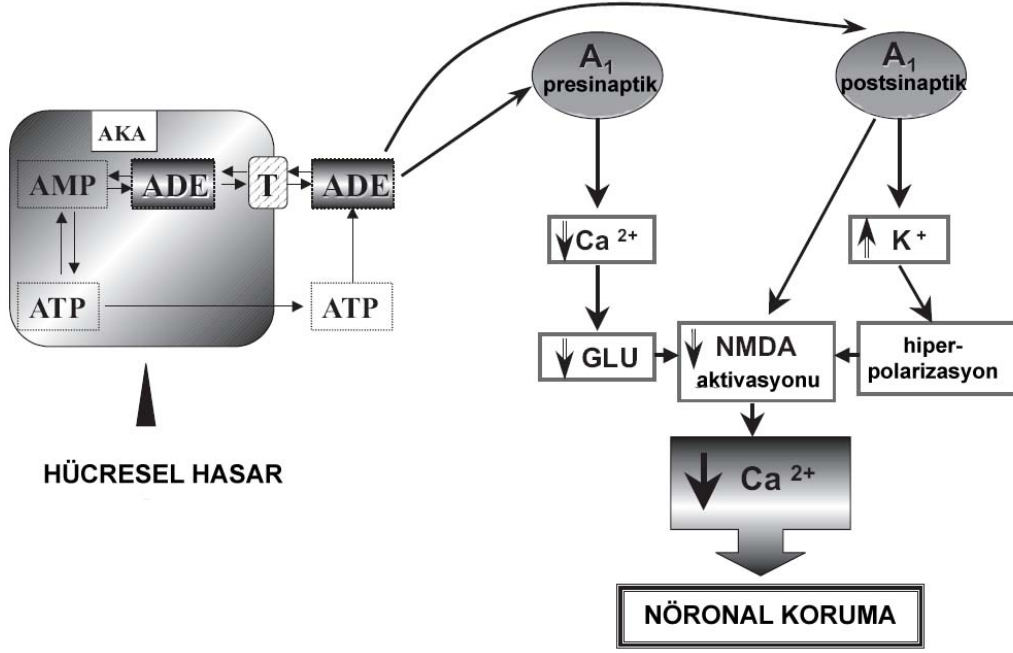
aracılığıyla gerçekleşen etkileri kolaylaştıran ilaçların anksiyetenin tedavisinde etkili olabileceğini bildiren görüşlerle uyumludur (Ribeiro ve ark., 2003).

c) İdrak ve Hafıza: Endojen adenzin, A₁ reseptör aktivasyonu yoluyla LTP ve LTD gibi uzun süreli sinaptik plastisite olaylarını düzenlediği ve depotansiyalize ettiği bildirilmiştir (de Mendonça ve Ribeiro, 1994; de Mendonça ve ark., 1997). Sinaptik plastisitenin farklı beyinlerde öğrenme ve hafıza için temel olduğunu bildiren görüşle uyumlu olacak şekilde, adenzin çeşitli öğrenme ve hafıza olaylarında davranışları paralel biçimde düzenlemiş ve A₁ reseptör antagonistleri hafıza bozukluklarının tedavisi için önerilmiştir (de Mendonça ve Ribeiro, 2001). Kafeinin kognitif etkileri çoğunlukla, hipokampus ve korteks gibi başlıca idrak oluşumuna karışan beyin bölgelerindeki adenzin A₁ reseptörünü antagonize etme özelliğinden kaynaklanmaktadır. Ayrıca bilgi işleme ve performans üzerine kafeinin pozitif etkileri duyuşal-motor geçit ve uyanıklığın artırılması gibi rutin davranışların geliştirilmesiyle bağlantılı olabileceği ayrıntılı bir şekilde tartışılmıştır (Fredholm ve ark., 1999). Bu yorum, son zamanlarda sıçanların uyuklama saatlerinde yapılan bir çalışmada adenzin reseptör antagonisti teofilinin sadece aydınlık dönem boyunca spasyal hafıza performansını artırdığını bildiren gözlemce desteklenmiştir (Hauber ve Bareiß, 2001). Kafein veya teofilinin hafızayı geliştirmek amacıyla kullanım durumundan bağımsız olarak, birkaç fincan kahve veya çaydan sonra çoğumuzun hissettiği, üzerinde küçük miktarda şüphe duyulan faydalı etkiler bu psikaktif maddelerin adenzin reseptörleri üzerine etkilerinden dolaydır (Ribeiro ve ark., 2003).

d) Nöron Koruyucu Etkisi: Yaygın olarak adenzin için kabul edilen nöron koruyucu role rağmen adenzin, belirli koşullar altında (umulmadık bir biçimde) nöronal hasar ve ölüme katkı sağlayan zıt etkilere de sahip olabilir. Adenzin reseptörlerinin farklı alt tiplerinin aktivasyonu, bu reseptörler arasındaki etkileşimler, nöronal veya glial hücrelerdeki farklı etkiler ve uygulanan adenosinerjik bileşiklerin farklı zamanlardaki etkileri bu dualitenin sebebi olabilir. Eğer bu görüşler kabul edilirse adenzin tedavi edici ve nöron koruyucu yaklaşımlar için önemli bir hedef olarak kalmalıdır (de Mendonça ve ark., 2000).

Artan seviyelerdeki glutamat ve sonrasındaki NMDA reseptör aktivasyonu iskemik veya hipoksik bir olaydan sonra meydana gelen nöronal hasardan sorumludur. Adenzin A₁ reseptörleri, sinaptik seviyelerde yerleşerek presinaptik olarak

glutamaterjik nöron terminallerinden glutamat salınımını etkili biçimde inhibe etmek ve postsinaptik olarak hipokampal piramidal nöronlarda NMDA reseptör aktivitesini baskılamak suretiyle nöron koruyucu özellik bakımından ortaya koyduğu iki anahtar etkiye sahiptir (de Mendonça ve ark., 1995; Şekil 17).



Şekil 17. Adenozin A₁ reseptör agonistinin nöroprotektif etkisinden sorumlu muhtemel mekanizmanın şematik gösterimi. ADE (adenozin), AKA (adenozin kinaz), GLU (glutamat), T (çift yönlü nükleotit taşıyıcısı). Hücre hasarından sonra adenozinin ekstrasellüler seviyesi intrasellüler adenozin salınımı ve/veya ATP'nin hızlı bir şekilde ektonükleotidazlar tarafından adenozine yıkılması ile artar. Ekstrasellüler alanda adenozinin mevcudiyetiyle adenozin presinaptik terminaldeki A₁ reseptörünü etkileyerek voltaja-bağımlı kalsiyum kanallarından kalsiyumun akışını ve böylece glutamatın salınımını azaltır. Diğer taraftan adenozin postsinaptik membrandaki A₁ reseptörleri üzerinden K⁺ kanallarını aktive ederek postsinaptik nöronların hiperpolarizasyonuna ve NMDA reseptör aktivasyonunun doğrudan inhibisyonuna yol açmaktadır (Wardas, 2002)

e) Alzheimer Hastalığı: Akut kafein alımının dikkat ve kognitif işlev üzerine olan faydalı etkileri önceden beri bilinmektedir. Yaşam boyunca kronik kafein alımı yaşlanmaya bağlı kognitif bozukluktan koruyabilir (Ribeiro ve ark., 2003). Yaşamları boyunca oldukça fazla miktarda kahve içen yaşlı kadınların hafıza ve diğer kognitif test performansları içmeyenlerden daha iyidir (Johnson-Kozlow ve ark., 2002). Bir çalışmada özellikle kronik kahve alımı hakkındaki sorundan ve demansın çoğunun ortak şekli olan Alzheimer hastalığından koruyup korumadığından bahsedilmektedir. Aynı çalışmada önceden tanı konulmuş Alzheimer hastalarının 20 yılda farklı seviyelerde

kafein tüketip tüketmediklerini zihinsel açıdan sağlıklı kontrollerle yaş ve cinsiyet eşleştirmesiyle karşılaştıran ve değerlendiren bir vaka-kontrol çalışmasıdır. Kafein alımı Alzheimer hastalığıyla ters ilişkilidir. Bu ilişki alışkanlık ve tıbbi hastalıklarla ilişkili birkaç muhtemel şaşırtıcı değişkenle açıklanamaz. Kronik kahve alımının Alzheimer hastalığı üzerinde varsayılan bu koruyucu etkisi bu hastalığın tedavisi veya önlenmesi için yeni ilaçların geliştirilmesine sebep olabilir (Maia ve de Mendonça, 2002; Ribeiro ve ark., 2003).

f) Parkinson Hastalığı: Sık sık ifade edildiği gibi A_{2A} antagonistleri Parkinson hastalığının tedavisinde büyük potansiyele sahiptir ve şu sıralar klinik denemelere başlanmıştır (Morelli ve Pinna, 2001; Schwarzschild ve ark., 2002). İlk olarak sıçanda gözlenen aynı zamanda insanda da tanımlanan striatumda A_{2A} ve D_2 reseptörleri arasındaki resiprokal antagonistik ilişki ve ko-lokalizasyon bu süreçte anahtar bir bulgudur. A_{2A} reseptör antagonizması yalnızca sıçanlarda Parkinson benzeri kas rijiditesini azaltmaz aynı zamanda L-DOPA'nın etkinliğini artırır (Wardas ve ark., 2001; Ribeiro ve ark., 2003). Böylece Parkinson hastalığında L-DOPA tedavisindeki yan etkileri ve taşıfilaksiyi en aza indirmek veya geciktirmek için L-DOPA'nın daha düşük dozlarının kullanımı sağlanabilir. D_2 antagonistinin ve ayrıca D_1 reseptör blokajının neden olduğu katalepsi, A_{2A} antagonistleri ve selektif olmayan adenosin antagonisti teofilin tarafından geri döndürülebilir (Hauber ve ark., 2001; Ribeiro ve ark., 2003).

h) Huntington Hastalığı: Bir adenosin A_1 reseptör agonisti olan adenosin amin konsener (ADAC), mitokondriyal toksin 3-nitropropiyonik (3-NP) uygulanmasıyla oluşturulan Huntington hastalığının bir sıçan modelinde oluşturulan distonide olduğu gibi striatal lezyonları da hafifletmiştir (Blum ve ark., 2002). Adenosin A_{2A} reseptör antagonisti SCH 58261, bir eksitotoksin olan quinolinik asitin striatuma enjekte edilmesiyle oluşturulan Huntington hastalığının başka bir deneysel modelinde striatal hücre kaybını ve motor değişiklikleri azaltmıştır (Popoli ve ark., 2002). Diğer bir kısmen selektif adenosin A_{2A} reseptör antagonisti olan 3,7-dimetil-1-propargilksantin (DMPX), aynı deneysel modelde elektroensefelografik değişiklikleri önlemiştir (Reggio ve ark., 1999). Sonuç olarak adenosin A_1 reseptör agonisti ve A_{2A} reseptör antagonistinin her ikisi de Huntington hastalığının kemirgenlerdeki modellerinde etkili görünmektedir (Ribeiro ve ark., 2003).

i) Şizofreni: Anti-psikotik ilaçların etkisi ile bazal gangliyonların ilişkisi ve bu alanlardaki adenozin A_{2A} reseptörlerinin oldukça yoğun bulunması, A_{2A} reseptörleri için selektif adenozin reseptör agonistleri üzerine ilk çalışmaları tetiklemiştir. Bir adenozin analogu difeniletiladenozin (DPEA, ayrıca CI-936 olarak bilinir) umut verici görünmekle birlikte prelinik toksisite çalışmalarında bu bileşiğin bazı laboratuvar hayvanlarında ciddi boyutlarda yan etkilere neden olduğu gösterilmiştir (Macallum ve ark., 1991).

i) İlaç Alışkanlığı: Bu günlerde adenozinin madde bağımlılığı ve geri çekilme sendromuyla ilişkili olduğu ve adenozin sinyal yolunun bağımlılığın tedavisinde yeni bir hedef olabileceği ileri sürülmektedir. Örneğin adenozin uptake'inin kokain geri çekilme durumundan sonra artmış olduğu ve adenozinin in vitro morfin geri-çekilmesini azalttığı görülmüştür (Capasso ve Loizzo, 2001).

Kafein tüketimi ve opiat alışkanlığı arasındaki ilişki bundan yaklaşık 20 yıl önce sıçanlarda morfin benzeri geri-çekilme davranışına neden olan metilksantinlerin temelleri üzerinde ileri sürülmüştür (Collier ve ark., 1981). Fakat bu etki fosfodiesteraz inhibisyonuyla ilişkili olduğu ve bu yüzden ksantinlerin dozlarının adenozin reseptörlerini inhibe etmek için gerekli olandan daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Ribeiro ve ark., 2003).

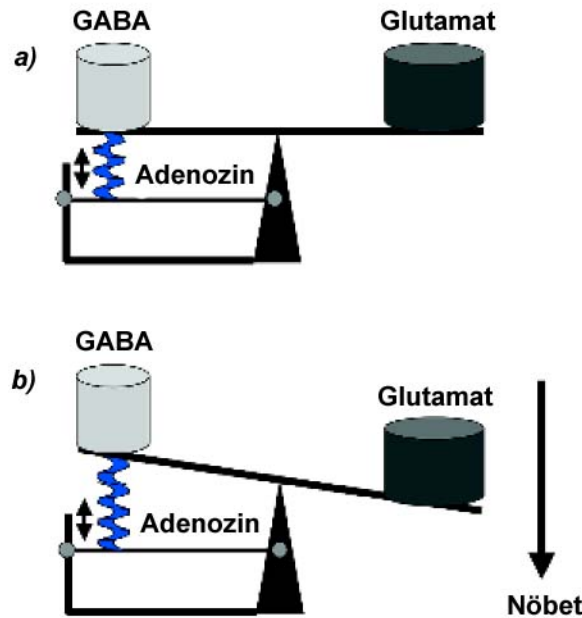
j) Ağrı: Omurilikte adenozin A₁ reseptör aktivasyonu ağrı iletisi, inflamatuvar ve nöropatik ağrı testlerinde ağrı kesici özellikler göstermiştir. Bundan dolayı analjezik etkilere sahip ilaçların geliştirilmesinde ekstrasellüler adenozin seviyesinin etkisine karşı ilgide bir artış olmuştur. (Sawynok, 1998; Ribeiro ve ark., 2003).

2.5.6. Adenozinin Epilepside Rolü

Adenozin için önerilen ilk patofizyolojik rollerden birisi de bir endojen antikonvulsan olmasıdır (Dragunow, 1986). Epilepsinin deneysel modellerinde adenozinin antikonvulsan bir etki sergilemesi onun inhibitör bir nöromodülatör rolüyle tutarlıdır (Dunwiddie, 1999). Adenozin reseptör agonistlerinin dışarıdan uygulanması nöbet aktivitesini azaltırken adenozin reseptör antagonistleri prokonvulsan etkilere sahiptir. Nöbet aktivitesi sırasında endojen adenozin seviyesi önemli derecede arttığı için adenozinin bir "endojen antikonvulsan" gibi fonksiyon gösterdiği ileri sürülmüştür (Dragunow, 1988). Bununla birlikte ne knock-out farelerde A₁ reseptörünün eksikliği ne de kafein gibi antagonistler tarafından adenozin reseptörlerinin antagonize edilmesi

doğrudan nöbetlere yol açmamıştır. Çok yüksek konsantrasyondaki kafein konvülsiyona neden olabilir fakat bu adenosin reseptör antagonizmasının muhtemel ilişkisinden ziyade orayı etkileyen konsantrasyondan dolayı meydana gelir (Şekil 18).

Adenosinin antikonvulsan etkilerinin başlıca A_1 reseptörleri aracılığıyla gerçekleşmesine rağmen beyinin bazı bölgelerinde A_{2A} reseptörlerinin de bu olaya karışabildiği saptanmıştır. DBA/2 ırkı farelerdeki odijojenik nöbetler A_1 ve A_{2A} reseptör agonistlerinin her ikisi tarafından engellenmiş ve her bir reseptör alt tipine selektif antagonistler tarafından nöbetler arttırılmıştır (De Sarro ve ark. 1999)



Şekil 18. Adenosinin nöromodülasyonu için bir model. Ekstiyatör iletimin artması (glutamat), inhibitör iletim bozukluğu (GABA) veya her ikisinin kombinasyonu gibi merkezi nörotransmitter sistemlerindeki anormallikler nöbet duyarlılığının artmasına neden olabilir. Normal şartlarda beyin adenosinin inhibitör tonlaması altında tutulmaktadır. Adenosinin bu etkisi, nörotransmitter sistemlerindeki bir dengesizliğin neden olduğu dengenin aşağıya doğru sapsına karşı koyan bir yay gerilimi ile temsil edilebilir a) Eğer yay gerilimi azalırsa b) belirli bir yük girişi dengenin daha güçlü bir biçimde sapsına neden olacak (örn. membranın depolarizasyonu) ve bu durum nöbet aktivitesine katkı sağlayabilecektir (Boison, 2005)

Adenosin reseptör agonistlerinin sedasyon benzeri merkezi yan etkilerinin yanında belirgin periferik yan etkilerinden dolayı antikonvulsan ilaç olarak kullanımlarındaki sınırlamalar ayrıca vurgulanmaktadır. Bu kısıtlamalardan kaçınmak için endojen adenosin konsantrasyonunu artıran bileşiklerin özellikle ADK inhibitörlerinin kullanılması önerilmektedir. Bu bileşikler adenosin seviyesi düşük olan diğer beyin bölgelerinde nöbetlerin neden olduğu ekstrasellüler adenzinde artışı

kolaylaştırmaktadır. Adenozinin antiepileptik özellikleri çoğunlukla hipokampustaki sinaptik ileti üzerine adenozin A₁ reseptörlerinin iyi bilinen inhibitör etkilerinden kaynaklanmaktadır (McGaraughty ve ark., 2001; Ribeiro ve ark., 2003).

İnsan ve sıçanlara ait epileptik dokularda A₁ reseptörlerinde kronik bir azalma bulunmuştur. Adenozinin önemli antikonvulsan etkilerine rağmen kalp atımı, kan basıncı ve vücut sıcaklığındaki azalmayı da kapsayan periferik etkilerinden dolayı adenozin agonistlerinin epilepsinin tedavisinde klinik açıdan faydalı bir şekilde kullanılmayacağı bildirilmiştir (Dunwiddie, 1999).

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Deney Hayvanları

Deneylerde, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi ve Cerrahi Araştırma Merkezi'nden temin edilen 69 adet, 230 ± 44 g ağırlığında Wistar cinsi, erkek sıçan kullanıldı. Bu merkezde hayvanlar yem ve su kısıtlaması olmaksızın 10-12 haftalık oluncaya kadar yetiştirildiler. Hayvanlar deneysel çalışmalardan yaklaşık 2 hafta önce araştırma merkezinden alınıp gruplara ayrılarak kontrol altında tutuldular. Deneysel araştırma standartlarına uymayan sıçanlar çalışma dışında bırakıldılar.

3.2. Kimyasal Maddeler ve Uygulanış Şekilleri

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

Penisilin G Potasyum :

Moleküler formülü : $C_{16}H_{17}KN_2O_4S$

Moleküler ağırlığı : 372.48 g/mol

Sinonim : 4-Tia-1-azabisiklo (3.2.0)heptan-2-karboksilik asit, 3,3-dimetil-7-okso-6-(2-fenilasetamid)-, monopotasyum tuzu; Benzilpenisilinin asid potasyum tuzu; Benzilpenisilin potasyum; Benzilpenisilin potasyum tuzu.

Etki mekanizması : Mikroorganizmalara karşı aktif üreme devrelerinde bakterisid etkilidir. Hücre duvarı mukopeptidinin biyosentezini inhibe etmek suretiyle etkisini gösterir. Epileptiform aktiviteyi başlatma etkisi, yapısal olarak bikukuline benzerliğinden kaynaklanmaktadır. GABA reseptörleri üzerindeki bikukulinin bağlanma bölgesine tutunan penisilin bu reseptörleri inhibe etmek suretiyle eksitabiliteyi artırmakta ve epileptiform aktiviteye neden olmaktadır.

Uygulanma şekli : Epileptiform aktivite oluşturmak üzere 200 ünite (IU) doz ve 1 µl hacimde intrakortikal (i.c.) yoldan uygulandı. Sol kortekse, Bregma'dan 3 mm lateral, 2 mm posteriyor ve 2 mm ventral koordinata Hamilton mikroenjeksiyonu kullanılarak verildi.

Adenozin :

Moleküler formülü : $C_{10}H_{13}N_5O_4$

Moleküler ağırlığı : 267.2 g/mol

Sinonim : Adenin-9-β-D-ribofuranosid, Adenin ribosid, 9-β-D-Ribofuranosiladenin

Etki mekanizması : A_1 , A_{2A} , A_{2B} ve A_3 reseptörleri üzerine etkilidir.

Uygulanma şekli : Epileptiform aktivite başladıktan 30 dk sonra i.c. (fokal) olarak uygulandı. Adenozin % 20'lik dimetilsülfoksit (DMSO)'da çözüldükten sonra 5 µl hacimde epileptik aktivitenin başlatıldığı korteks bölgesine lokal olarak enjekte edildi.

Teofilin :

Moleküler formülü : $C_7H_8N_4O_2$

Moleküler ağırlığı : 180.2 g/mol

Sinonim : 1,3-Dimetilksantin

Etki mekanizması : Teofilin, kafein ve teobromin metil içeren ksantinlerdir. Ksantin yapısal olarak ürik asitle ilişkilidir. Teofilin ve kafein merkezi sinir sisteminin kuvvetli stimülanlarıdır. Bununla birlikte teofilin MSS'nin kafein dozlarından daha etkili ve tehlikeli bir şekilde uyarılmasına neden olur. Metilksantinler başlıca karaciğerdeki metabolik faaliyetlerle elemine edilirler. Adenosinerjik sistem açısından teofilin nonspesifik bir adenozin reseptör antagonistidir.

Uygulanma şekli : Teofilin epileptiform aktivite başladıktan 30 dk sonra distile suda çözülerek hayvan başına 100 µg dozlarda ve 5 µl hacimde intraserebroventriküler (i.c.v.) olarak uygulandı.

Sodyum Nitropurisiid (SNP) :

Moleküler formülü : $Na_2Fe(CN)_5NO \cdot 2H_2O$

Moleküler ağırlığı : 298 g/mol

Sinonim : Sodyum Nitroferrisyaniid Dihidrat; Niprid Dihidrat; Sodyum Nitropurisiat Dihidrat; Sodyum Nitrosilpentakyanoferat Sodyum.

Etki mekanizması : SNP kısa süreli etkiye sahip, demir nitrosilli hipotansif bir ajandır. Ven ve arterlerin her ikisi üzerine doğrudan etki gösteren SNP periferal vazodilatasyona ve periferik direncin azalmasına neden olur. SNP hızlı bir şekilde kan basıncını düşürür ve endotelyumdan bağımsız bir şekilde vasküler düz kasların gevşemesine neden olur. Bu etkiler SNP'den NO salınımıyla gerçekleşmektedir. NO başlıca fotokimyasal reaksiyonlar neticesinde ana solüsyondan ayrılarak veya mikrozom gibi biyolojik organallerde, tiyollerinde dahil olduğu çeşitli indirgeyici metabolitler tarafından SNP'den salınır.

Uygulanma şekli : Epileptik aktivite başladıktan yaklaşık 30 dk sonra distile suda çözülerek 5 µl hacim içerisinde hayvan başına 50 µg dozda i.c.v. olarak uygulandı.

L-NAME :

Moleküler formülü : C₇H₁₅N₅O₄· HCl

Moleküler ağırlığı : 269.69 g/mol

Sinonim : N_ω-nitro-L-arjinin metil ester hidroklorid

Etki mekanizması : L-NAME, NO üretimini engelleyen bir arjinin analogudur. NOS enzimlerinin tamamını etkileyerek NO üretimini bloklayan nonspesifik bir antagonisttir.

Uygulanma şekli : L-NAME distile suda çözülerek epileptiform aktivite başladıktan 30 dk sonra hayvan başına 100 µg doz ve 5 µl hacimde i.c.v olarak uygulandı.

3.3. Deney Grupları

Nitrerjik sistem ile purinerjik sistemlerin etkileşimini araştırmak için penisilin modeli deneysel epilepside öncelikle her iki sistemin etkisi ayrı ayrı incelendi daha sonra bu iki sisteme ait kimyasallar birlikte kullanıldı. Bu amaçla aşağıdaki deney grupları oluşturuldu:

1. Kontrol grubu: [n = 9] 200 IU penisilin uygulandıktan 30 dk sonra 5 µl serum fizyolojik i.c.v olarak verildi.

2. %20'lik DMSO grubu: [n = 6] 200 IU penisilin uygulandıktan 30 dk sonra 5 µl hacimde i.c. yoldan verilerek 60 dk kayıt alındı.

3. Adenozin grubu : [n = 9] 200 IU penisilin uygulandıktan 30 dk sonra 100 µg adenozin % 20 DMSO'da çözülerek 5 µl hacimde i.c. yoldan epilepsi odağına enjekte edildi.

4. Teofilin grubu: [n = 7] 200 IU penisilin uygulandıktan 30 dk sonra 100 µg teofilin serum fizyolojikte çözülerek 5 µl hacimde i.c.v. yoldan verildi.

5. SNP grubu: [n = 7] 200 IU penisilin uygulandıktan 30 dk sonra 50 µg SNP serum fizyolojikte çözülerek 5 µl hacimde i.c.v. olarak enjekte edildi.

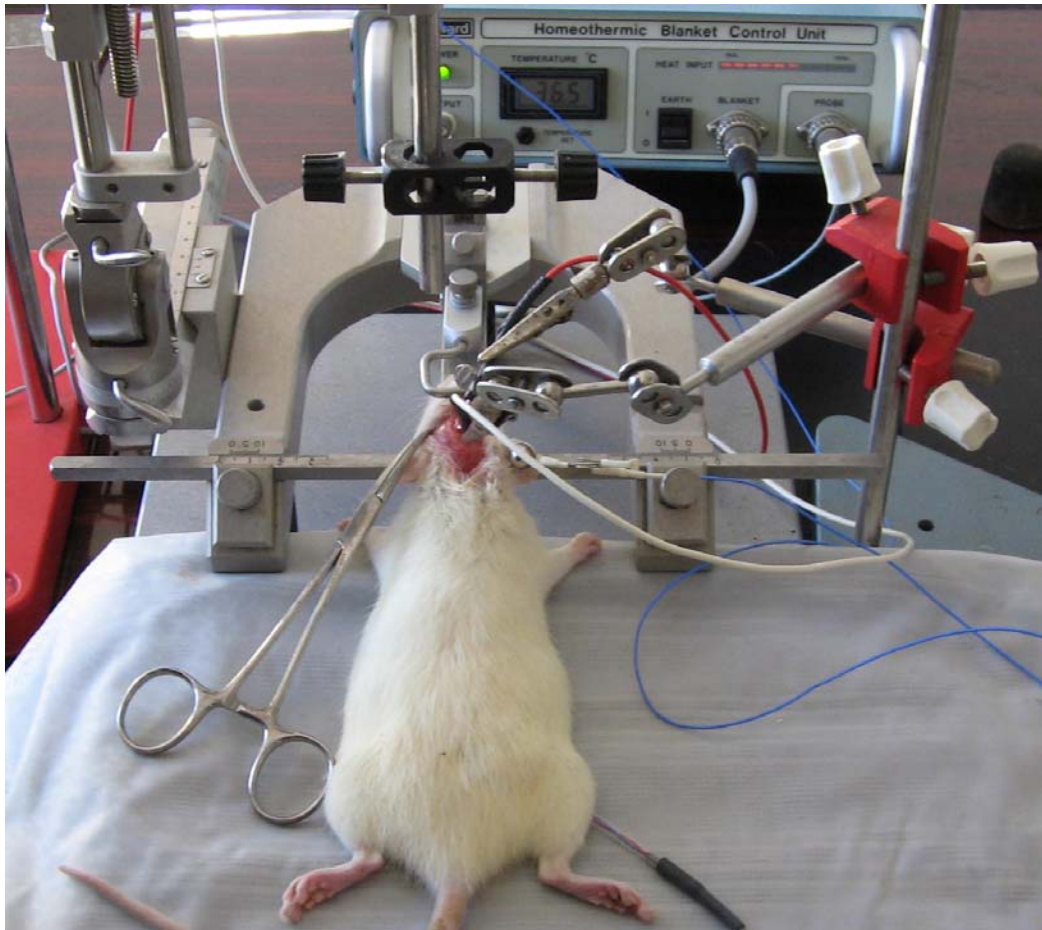
6. L-NAME grubu: [n = 7] 200 IU penisilin uygulandıktan 30 dk sonra 100 µg L-NAME serum fizyolojikte çözüldükten sonra 5 µl hacimde i.c.v. olarak verildi.

7. Adenozin + SNP grubu: [n = 6] 200 IU penisilin uygulandıktan 30 dk sonra % 20'lik DMSO'da çözülmüş 100 µg adenozin fokal olarak kortekse, hemen sonra da 50 µg SNP i.c.v. yoldan uygulandı.

8. L-NAME + Adenozin grubu: [n = 6] Epileptiform aktivite başladıktan 30 dk sonra 100 µg L-NAME i.c.v. yoldan verilerek NO üretimi blokladı. Uygulamadan 10 dk sonra % 20'lik DMSO'da çözülmüş 100 µg adenozin fokal olarak kortekse uygulandı.

9. Teofilin + SNP grubu: [n = 6] Epileptiform aktivite başladıktan 30 dk sonra 100 µg teofilin i.c.v. yoldan verilerek adenozin reseptörleri inhibe edildi. Uygulamadan 10 dk sonra 50 µg SNP i.c.v. olarak enjekte edildi.

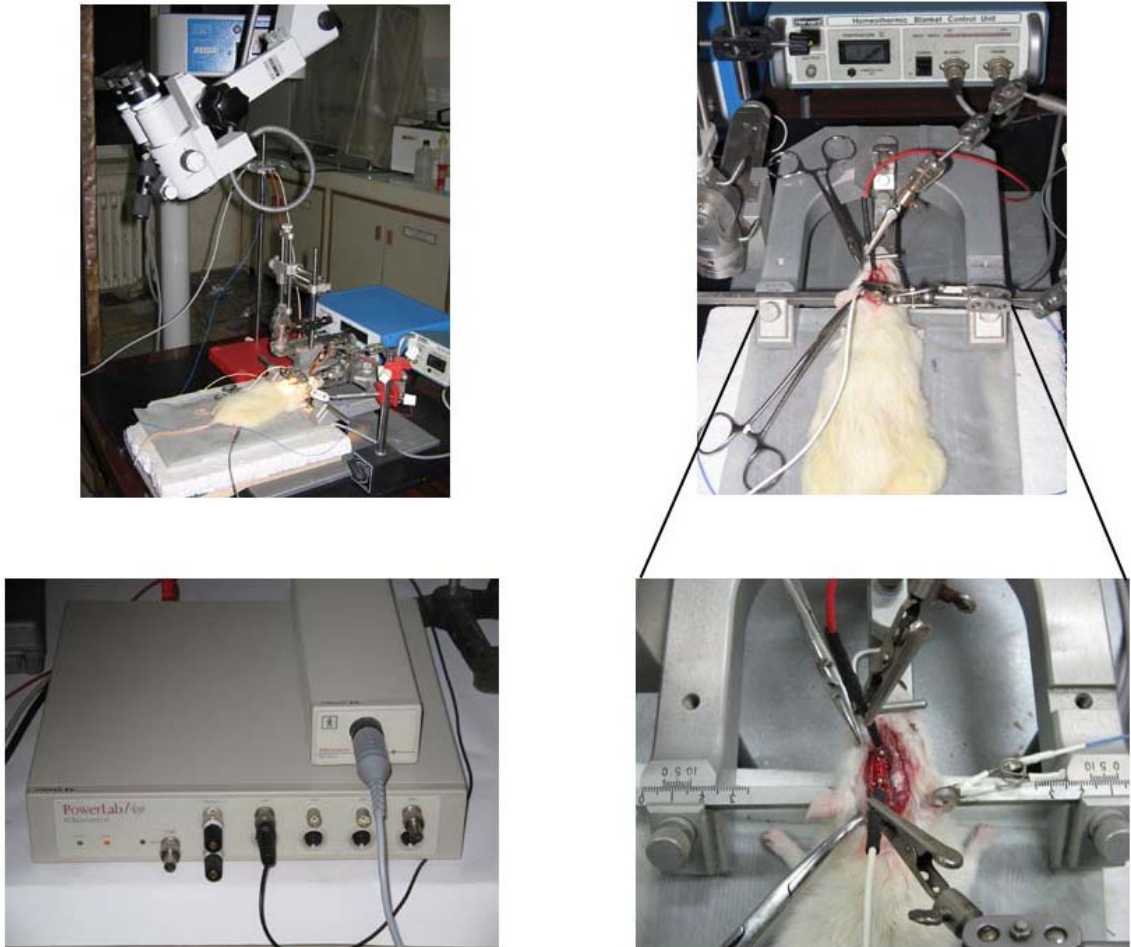
10. Teofilin + L-NAME grubu: [n = 6] Epileptiform aktivite başladıktan 30 dk sonra 100 µg teofilin ve 100 µg L-NAME aynı anda i.c.v. yoldan verildi.



Şekil 19. Sol somatomotor korteksi açılmış ve korteks yüzeyine kayıt elektrotları yerleştirilmiş sıçanın kayıt anından bir görüntü

3.4. Cerrahi İşlem

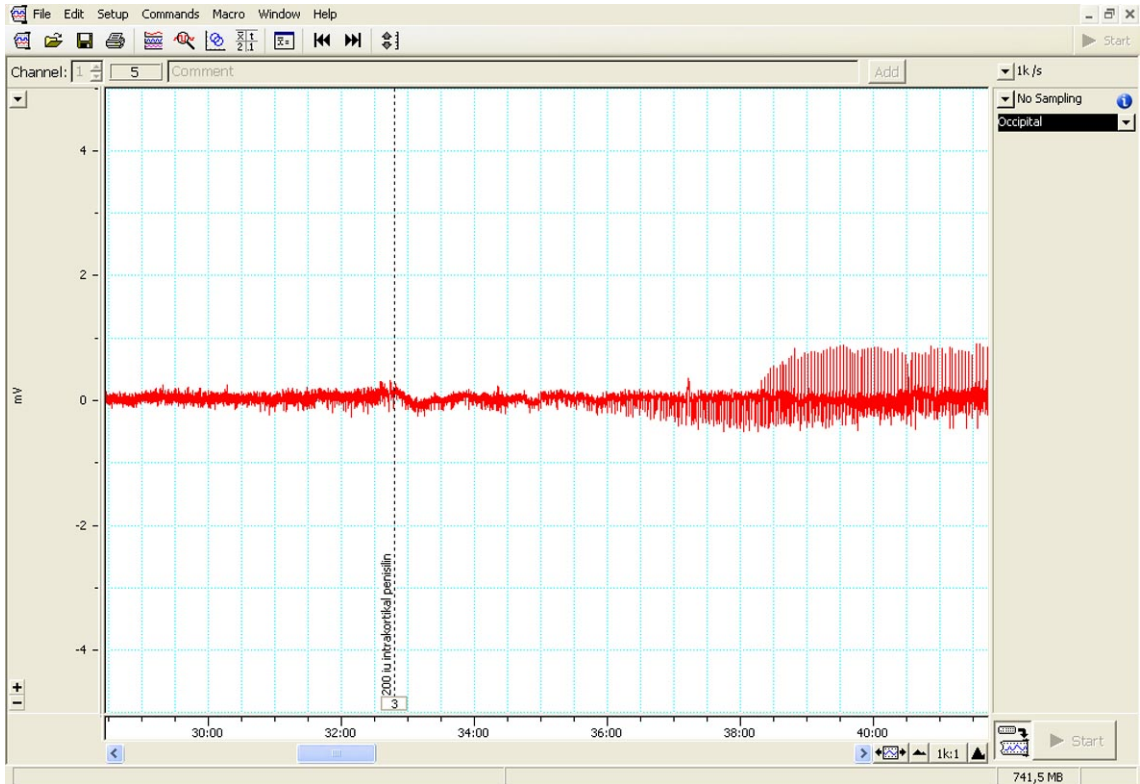
Operasyondan 1 gün önce aç bırakılan sıçanlar deney öncesinde 1.2 g/kg üreten intraperitoneal (i.p.) yoldan verilerek anestezide alındılar. Sıçanın başının üst kısmındaki tüyler temizlendikten sonra operasyon masasına sabitlendi. Hayvanın kafa derisi rostro-kaudal doğrultuda, ortalama 3 cm uzunluğundaki bir kesi ile açıldı. Yumuşak dokuda meydana gelebilecek kanamalar elektrokoter vasıtasıyla önlemlendi. Sol somatomotor korteks üzerindeki yumuşak doku uzaklaştırıldıktan sonra kafatası bir tur motoruyla inceltilerek kafatası kemiği dikkatlice kaldırıldı. Bu işlem sırasında kemik dokuda meydana gelebilecek kanamalar bonewax (kemik mumu) ile engellendi. Ayrıca sürtünmeden kaynaklanan ısınmayı önlemek amacıyla zaman zaman kafatası üzerine serum fizyolojik emdirilmiş spanç ile tampon yapıldı. Kafatası kemiği tamamen uzaklaştırıldıktan sonra dura mater dikkatlice kaldırıldı.



Şekil 20. Elektrofizyolojik kayıt sistemi ve yapılan işlemlere ait bazı görüntüler.

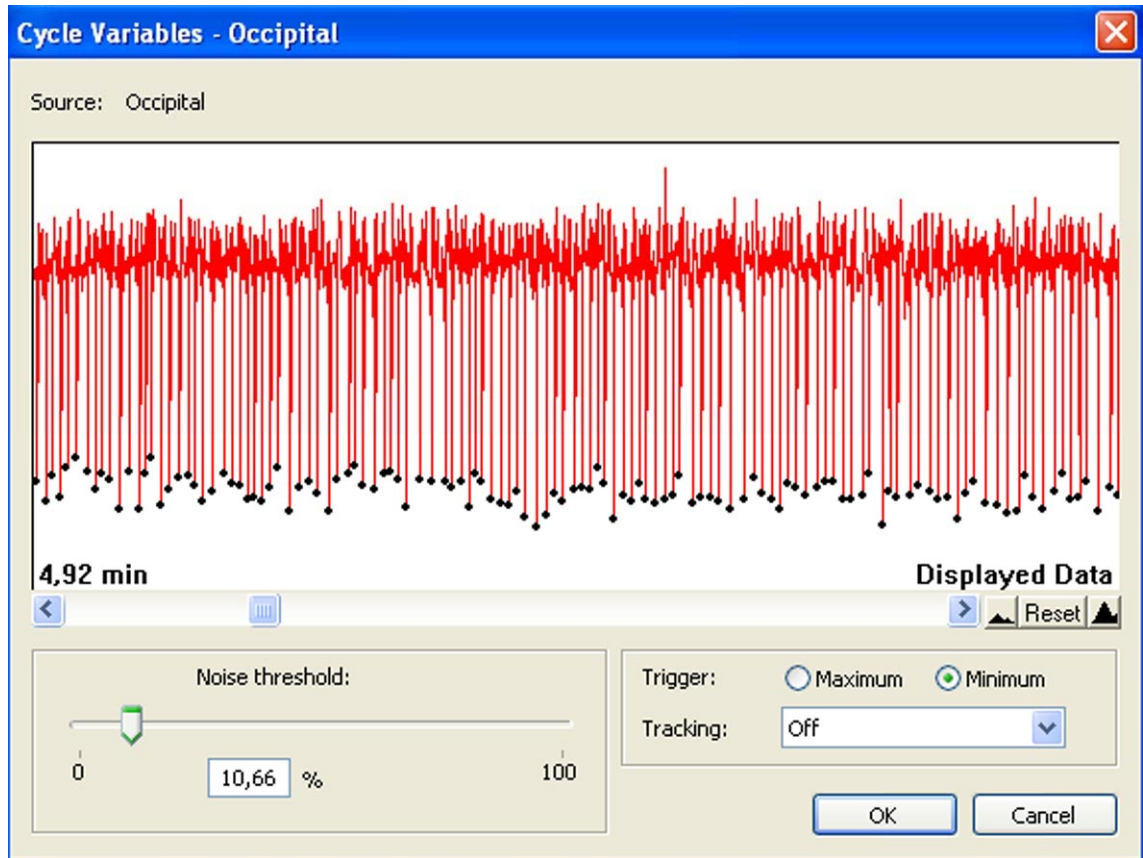
3.5. Elektrofizyolojik Kayıtlar

Operasyon sonrası sıçanlar stereotaksik cihaza sabitlendi. Beyin ve diğer dokulardan sıvı kaybının önlenmesi, ısının muhafaza edilmesi ve artefaktların 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, USA) 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. Elektrotlar ile alınan aktivite BioAmp (ADInstruments, Australia) arabiriminde yükseltılarak PowerLab 4/SP (ADInstruments, Australia) veri kayıt sistemine aktarıldı. PowerLab ile korteksten elde edilen analog sinyaller sayısal hale dönüştürüldükten sonra bir USB kablosu yardımıyla bilgisayara nakledildi. Beyin aktivitesi Chart v5.1 (ADInstruments, Australia) yazılımı ile anında görüntülendi ve deney sonrası analiz için bilgisayarda saklandı (Şekil 19, 20 ve 21).



Şekil 21. Epileptik aktivite kaydında kullanılan paket program ve kayıt anından bir görüntü

Beyine yapılan tüm intrakortikal enjeksiyonlar, Bregma noktasından 3 mm lateral, 2 mm posteriyor ve 2 mm ventrale bir Hamilton mikroenjektörü aracılığıyla gerçekleştirildi. İntraserebroventriküler enjeksiyonlar ise Bregma noktasından 1.5 mm lateral, 0.8 mm posteriyor ve 3.6 mm ventrale uygulandı. İntraserebroventriküler enjeksiyonlarda kısmi BOS çıkışı gözlemlendi. İntrakortikal enjeksiyonlarda ise enjektör ucunun damarı zedelememesine dikkat edildi.



Şekil 22. Epileptik aktiviteye ait spike frekansı ve amplitüdün hesaplanmasında kullanılan kayıt programının işlem penceresinden bir görüntü. Üç kısmında nokta bulunan diken dalgalar hesaplamaya dahil edilecekleri göstermektedir

3.6. İstatistiksel Analiz

Elde edilen elektrofizyolojik kayıt Chart v5.1 (ADInstruments, Avustralya) yazılımı ve bu yazılımın makro özellikleri sayesinde birer dakikalık dilimlere ayrıldı. Her bir dakika başına düşen spike sayısı ve spike'ların ortalama amplitüdlere (peak-to-peak) bu yazılımın özellikleri sayesinde otomatik olarak hesaplatıldı (Şekil 22). Her bir hayvandan elde edilen kayıtlar için bu işlemler tekrarlandı. Tüm elektrofizyolojik

kayıtlar 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 edilerek homojen olmadıkları saptandı. Yapılan varyans analizi sonucunda gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark saptandığı ve grup varyanslarının heterojen oldukları görüldüğü için farkın nereden kaynaklandığını saptamak maksadıyla bir Post Hoc testi olan Tamhane kullanıldı. Grafik ve metin içerisinde kullanılan deney gruplarına ait değerler ortalama \pm standart hata (SEM) olarak ifade edildi. Testlerden elde edilen sonuçlara göre p değeri 0.05'in altında olan farklılıklar anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Grupların Epileptiform Aktivite Latensi Açısından Karşılaştırılması

Tüm gruplarda ilgili madde veya maddelerin enjeksiyonu intrakortikal penisilin uygulamasından yaklaşık 30 dk sonra yapıldı. Bu bakımdan maddelerin epileptiform aktivitenin başlamasına kadar geçen süreye yani latense herhangi bir etkilerinin olması beklenemez. Yine de deneye başlama koşulları açısından gruplar arasında herhangi bir farklılığın bulunup bulunmadığı değerlendirildi. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda gruplar arasında latens bakımından anlamlı bir farklılığın bulunmadığı saptandı ($p>0.05$). Grupların latens değerleri ortalama \pm SEM olarak tabloda görülmektedir (Tablo 6).

Tablo 6. Penisilin enjeksiyonundan itibaren ilk spike oluşumuna kadar geçen sürenin (latens) gruplara göre ortalama \pm standart hata değerleri. Latens değerleri bakımından gruplar arasında istatistiksel açıdan bir farklılık bulunmadığı görüldü ($p>0.05$)

Gruplar	Latens (sn)
Kontrol	199,5 \pm 20.8
Adenozin	212.3 \pm 25
Teofilin	220.5 \pm 21.5
SNP	221.4 \pm 29.8
L-NAME	207.5 \pm 35.2
L-NAME+Adenozin	231 \pm 25.6
Adenozin+SNP	198.6 \pm 35
Teofilin+L-NAME	242 \pm 28.0
Teofilin+SNP	226.6 \pm 28.1
<i>Ortalama</i>	<i>217 \pm9</i>

4.2. Grupların Spike Frekansı Açısından Karşılaştırılması

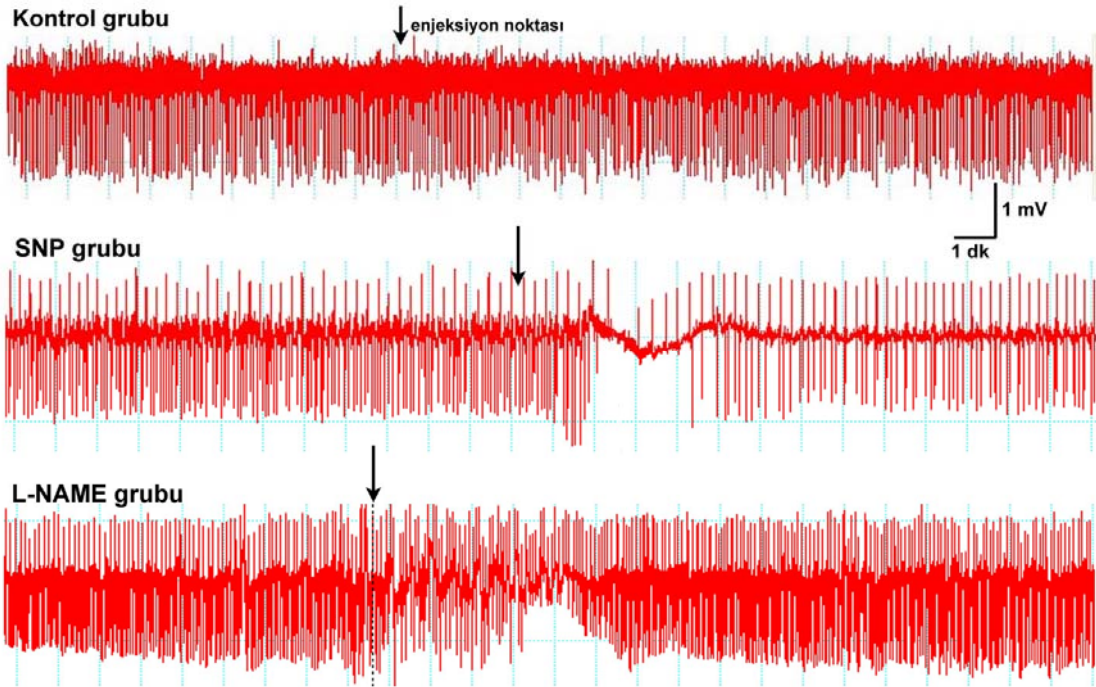
4.2.1. Penisilin Verilmesinden Sonraki İlk 30 Dakikalık Bölümün Spike Frekansı Açısından Karşılaştırılması

Penisilin enjeksiyonundan ortalama 217 \pm 9 sn sonra ECoG aktivitesinde epileptik dikenlerin oluşmaya başladığı görüldü. Yaklaşık 30 dk içerisinde bu dikenlerin frekans ve amplitüd açısından kararlı bir seviyeye ulaştıkları saptandı. Penisilin enjeksiyonundan ilgili maddelerin verildikleri döneme kadar geçen 30 dk boyunca

epileptik diken sıklığı açısından yapılan değerlendirmede gruplar arasında anlamlı bir farklılığın olmadığı görüldü ($p>0.05$; Tablo 7).

Tablo 7. Penisilin enjeksiyonu ile maddelerin uygulanması arasında kalan 20., 25. ve 30. dakikalara ait ortalama spike değerleri. Bu dakikalarda gruplar arasında spike sayısı açısından anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p>0.05$)

Gruplar	20. dk	25. dk	30. dk
Kontrol	28 ± 3	23.5 ± 2	24.2 ± 1
Adenozin	26.4 ± 3	26.7 ± 4	24.5 ± 3
Teofilin	22 ± 2	30.2 ± 4	25.1 ± 2
SNP	22.5 ± 2	23.1 ± 0	23.5 ± 2
L-NAME	25.8 ± 2	25 ± 1	24.9 ± 1
L-NAME+Adenozin	25.5 ± 1	25.6 ± 1	25.8 ± 1
Adenozin+SNP	25.7 ± 2	25.1 ± 2	24.7 ± 1
Teofilin+L-NAME	27.4 ± 2	27.8 ± 2	27.2 ± 2
Teofilin+SNP	27.4 ± 1	28 ± 2	28.1 ± 2



Şekil 23. NO'nun etkisini araştırmak için kullanılan maddelerin uygulanma öncesi ve sonrasında kaydedilen epileptiform aktivitelere ait orijinal kayıtlardan birer örnek.

4.2.2. Nitrik Oksitin Spike Frekansına Etkisi

NO'nun spike frekansına etkisini görmek amacıyla penisilinin intrakortikal enjeksiyonundan 30 dk sonra 50 µg SNP ve 100 µg L-NAME distile suda çözülerek 5 µl hacimde icv olarak uygulandı (Şekil 23).

SNP'nin Etkisi: NO donörü SNP'nin epileptiform aktivite üzerine etkisini araştırmak için her bir hayvana 50 µg doz olacak şekilde toplam 7 sıçana, penisilinden 30 dk sonra i.c.v. yoldan SNP enjeksiyonu yapıldı. Enjeksiyonu sonrasında kontrol grubuyla karşılaştırıldığında spike frekansının ilk 5 dk içerisinde anlamlı düzeyde azaldığı görüldü ($p < 0,01$). Spike frekansındaki bu azalmanın ilk 5 dakikalık bölümdeki kadar olmasa da 15., 20., 25. ve 55. dk'larda $p < 0,05$ düzeyinde, 40. ve 60. dk'larda $p < 0,01$ ve 45. dk'da $p < 0,001$ düzeyinde anlamlı olacak şekilde devam ettiği saptandı (Şekil 24).

L-NAME'in Etkisi: Non-spesifik bir NOS inhibitörü olan L-NAME'in epilepsi üzerindeki etkisini değerlendirmek için, 7 hayvandan oluşan farklı bir deney grubuna penisilin enjeksiyonundan 30 dk sonra i.c.v. olarak L-NAME (100 µg/hayvan başına) verildi. L-NAME sonrasında elde edilen spike değerlerinin kontrol grubuna göre hafif yükselmiş olduğu görülsede 10. ve 50. dk'lar hariç değerlendirilen diğer zaman dilimlerinde istatistiksel açıdan anlamlı bir artış saptanmadı. Sadece enjeksiyondan sonraki 10. ve 50. dk'da L-NAME uygulanan gruptaki spike sayısının kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde arttığı görüldü ($p < 0,05$ ve $p < 0,01$; Şekil 24).

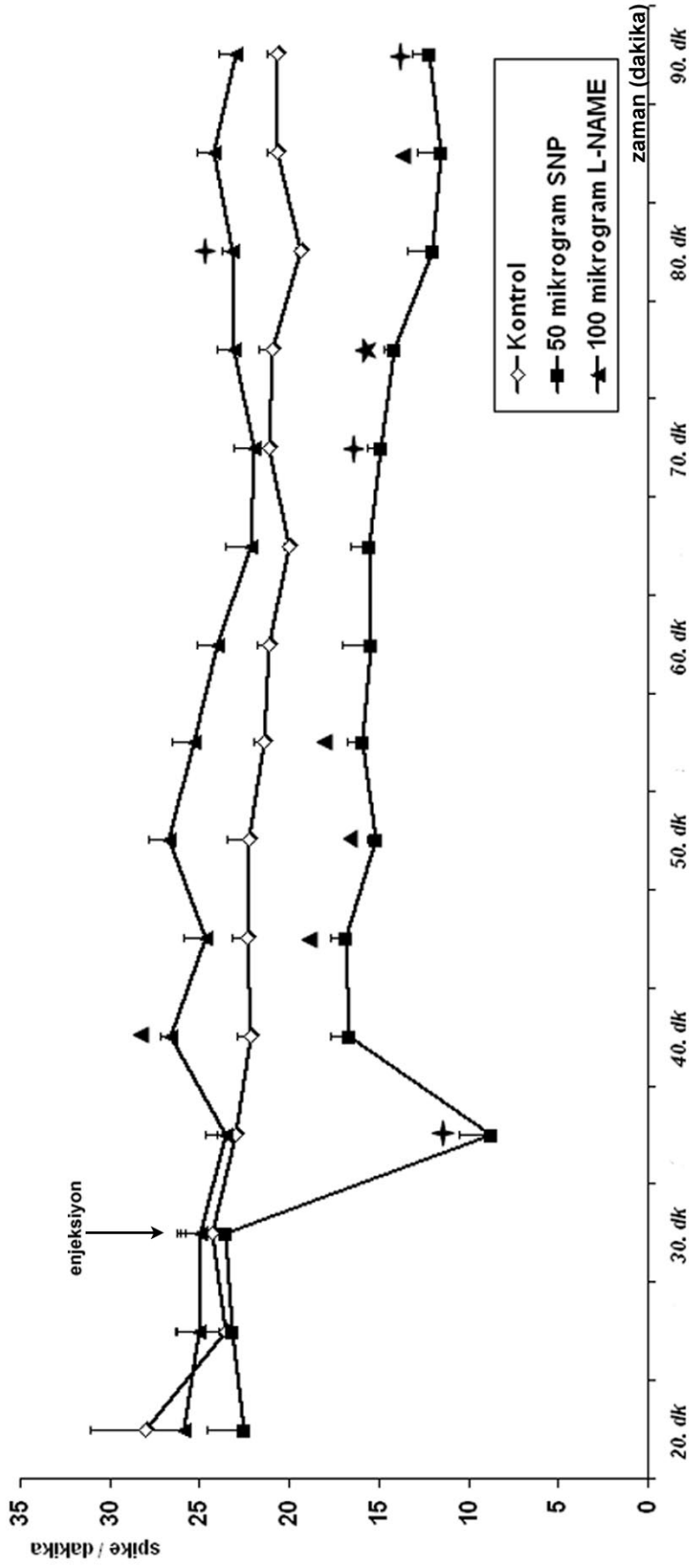
Bu verilere göre ekzojen NO uygulamasının spike frekansını azalttığı fakat endojen NO üretim blokajının uzun süreli bir artışa neden olmadığı bulundu.

4.2.3. Adenozinin Spike Frekansına Etkisi

Adenozinin spike frekansına etkisini görmek amacıyla penisilinin intrakortikal enjeksiyonundan 30 dk sonra % 20'lik DMSO'da çözülmüş 100 µg adenozin 5 µl'de intrakortikal olarak uygulandı. Non-spesifik bir adenozin reseptör antagonisti olan teofilin ise serum fizyolojikte çözüldükten sonra 100 µg doz ve 5 µl hacimde icv olarak verildi (Şekil 25).

Adenozini çözmek için kullandığımız % 20'lik DMSO'nun epileptik aktiviteye herhangi bir etkisinin olup-olmadığını değerlendirmek amacıyla oluşturduğumuz % 20'lik DMSO grubunda, spike frekansının kontrol grubu değerlerinden istatistiksel açıdan farklı olmadığı görüldü ($p > 0,05$). Deney gruplarından elde edilen

Nitrik Oksitin Spike Frekansına Etkisi

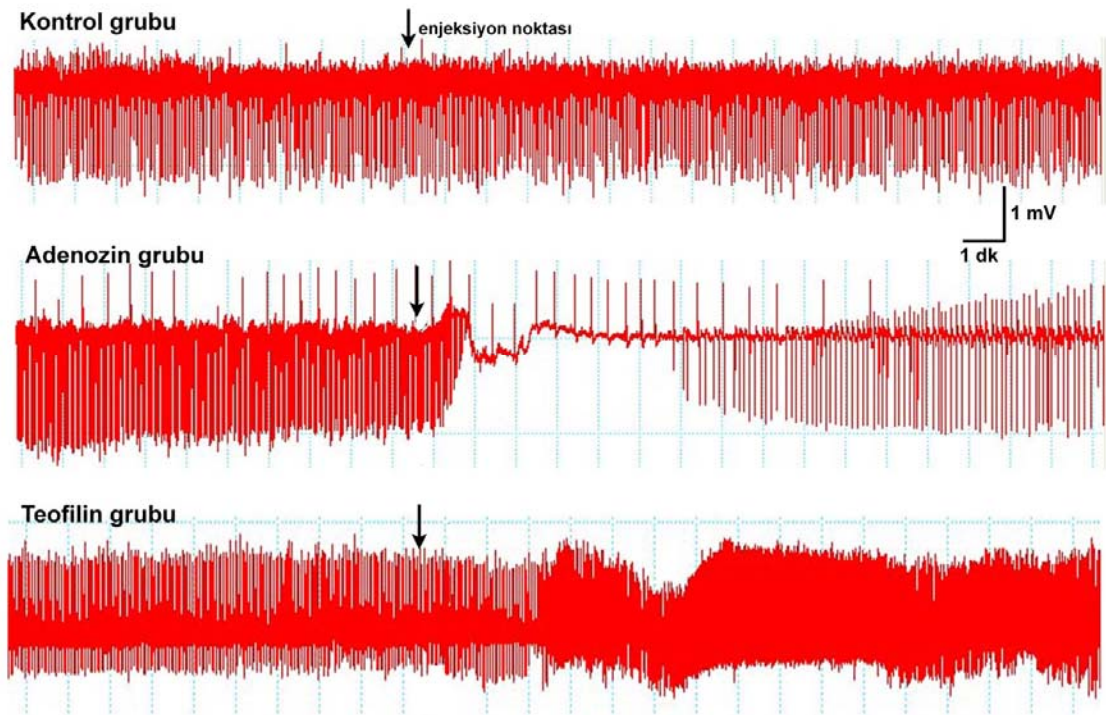


Şekil 24. NO donörü ve NOS inhibitörü L-NAME'in spike frekansına etkisi. (▲ = $p < 0.05$; † = $p < 0.01$; ★ = $p < 0.001$)

bulguları sade ve anlaşılır biçimde sunmak amacıyla DMSO grubuna ait veriler metin ve grafik içerisinde verilmedi.

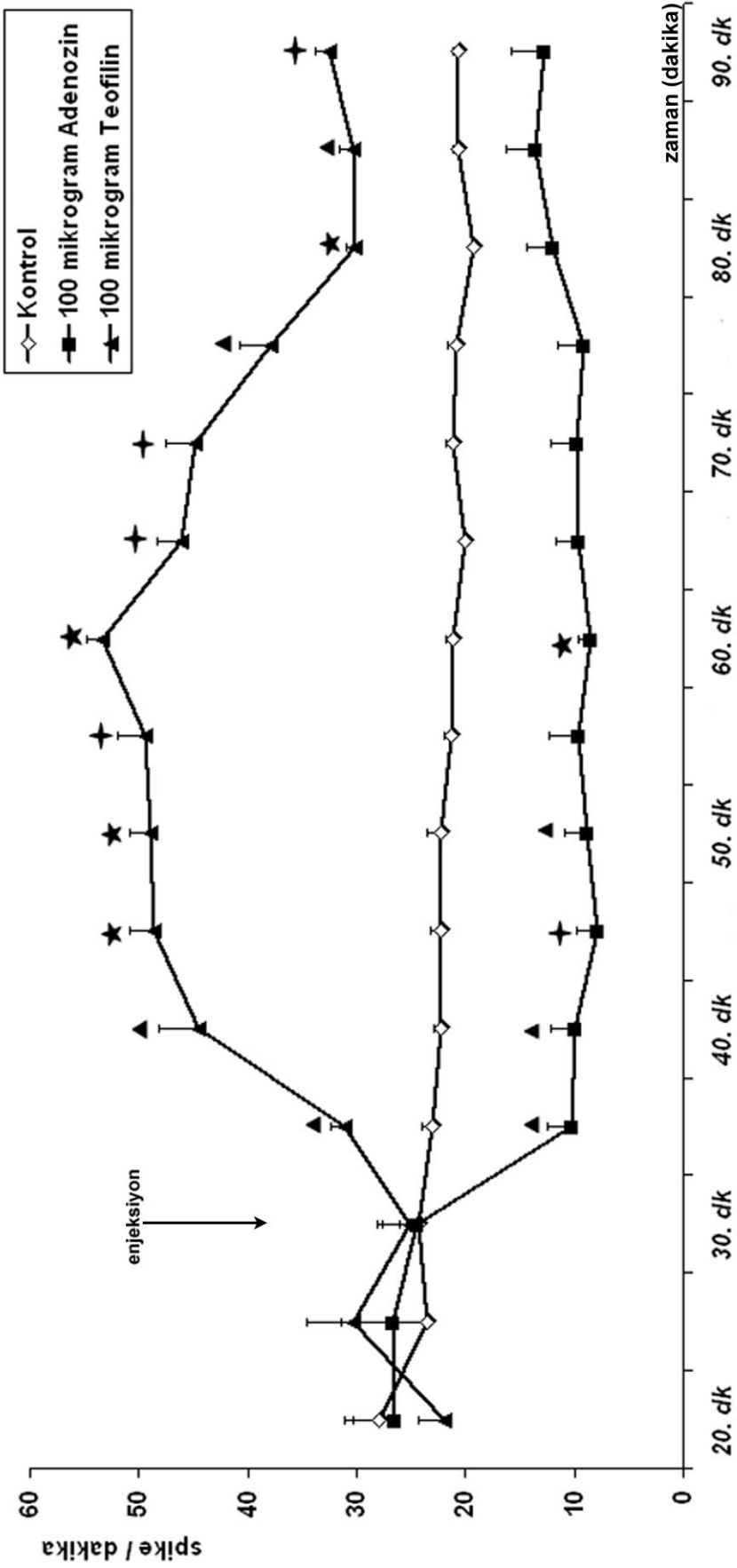
Adenozinin Etkisi: Adenozin etkisini araştırmak için farklı bir deney grubuna (n=9) % 20'lik DMSO'da çözülmüş 100 µg (her bir hayvana) adenozin 5 µl hacimde intrakortikal olarak uygulandı. Adenozin grubunda madde enjeksiyonundan önceki 30. dk'da $24,5\pm 3$ olan spike sayısının adenozin uygulandıktan sonraki 5. dk'da $10,2\pm 2$ düzeyine indiği saptandı. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı bulunan azalmanın adenozin enjeksiyonu sonrasındaki ilk 30 dk boyunca sürdüğü görüldü ($p<0,05$ ve $p<0,01$). Adenozin enjeksiyonu sonrasında ortaya çıkan azalmanın deneyin geri kalan bölümlerinde kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan farklı olmadığı saptandı (Şekil 26).

Teofilinin Etkisi: Yedi hayvandan oluşan bir deney grubuna penisilin verildikten 30 dk sonra teofilin uygulandı. Tüm P1 sınıfı reseptörlere (A_1 , A_{2A} , A_{2B} ve A_3) tutunarak adenozinin bu reseptörleri etkilemesini önleyen teofilin 100 µg dozda i.c.v. olarak verildi. Teofilin spike sayısını $24,1\pm 2$ düzeyinden enjeksiyon sonrasındaki 5. dk'da $31,1\pm 1$, 15. dk'da $48,6\pm 2$ ve 30. dk'da $53,3\pm 1$ seviyelerine yükselttiği görüldü.



Şekil 25. Adenozinin etkisini araştırmak için kullandığımız maddelerin uygulanma öncesi ve sonrasında kaydedilen epileptiform aktivitelere ait orijinal kayıtlardan birer örnek.

Adenozinin Spike Frekansına Etkisi



Şekil 26. Adenozin ve adenozin reseptör antagonisti teofilinin spike frekansına etkisi (▲ = $p < 0.05$; † = $p < 0.01$; ★ = $p < 0.001$)

Teofilin uygulanan grupta spike frekansının ilk 30 dk boyunca giderek arttığı, deneyin geri kalan bölümlerinde ise bu ivmenin durduğu kısmen de azaldığı görüldü. Kontrol grubundan elde edilen spike değerleriyle teofilin grubunun spike değerleri karşılaştırıldığında, enjeksiyonun hemen ardından deneyin sonuna kadar tüm kayıt süresi boyunca istatistiksel açıdan farklı düzeylerde olmak üzere teofilin grubuna ait spike sayısının anlamlı olarak arttığı bulundu ($p<0,05$; $p<0,01$ ve $p<0,001$) (Şekil 26).

Bu maddelerin uygulanmasından sonra spike frekansındaki değişimler değerlendirildiğinde ekzojen adenozinin verilmesinin spike frekansını azalttığı, teofilin verilen grupta ise spike frekansının artırdığı görüldü. Özetle ekzojen adenozin uygulanmasıyla epileptiform aktivitenin azaldığı, endojen adenozinin etkinliği önlendiğinde ise epileptik aktivitenin oldukça güçlendiği saptandı (Şekil 26).

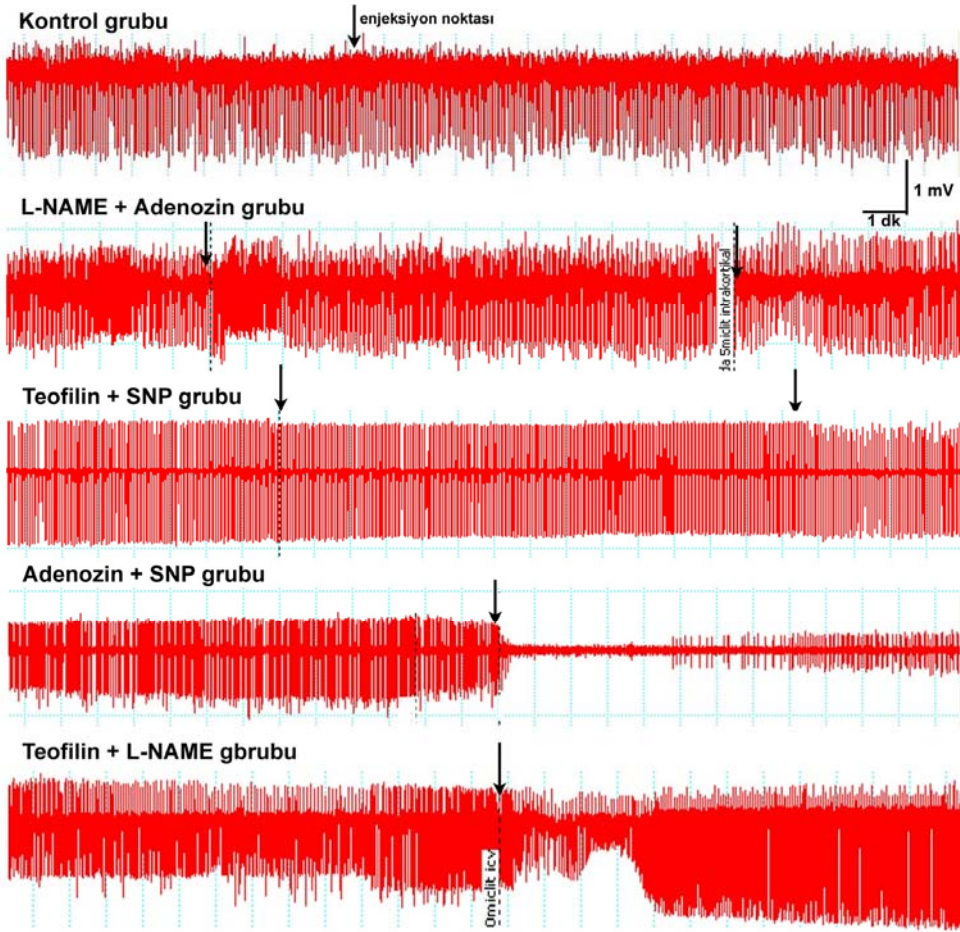
4.2.4. Nitrik Oksit ve Adenozin Etkileşiminin Spike Frekansına Etkisi

NO ve adenozinin etkileşimlerini araştırmak maksadıyla her iki maddeye ait agonist ve antagonistler tek başlarına uygulanıp elde edilen bulgular yukarıda sıralanmıştı. Bu iki agonist ve antagonistin birlikte uygulanmasında şu şekilde bir metod seçildi (Şekil 27):

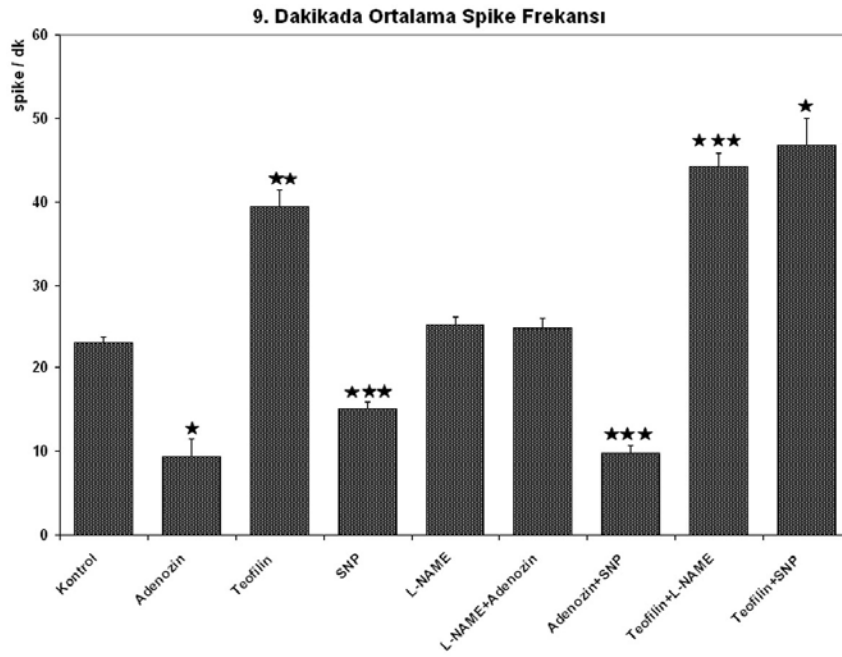
a) NO'nun eksikliğinde adenozinin rolü: Bu durumu araştırmak için oluşturulan deney grubuna ($n=6$) öncelikle 100 μg L-NAME 5 μl hacimde icv olarak uygulandı. Bir NOS inhibitörü olan L-NAME'in etkisini göstermesi ve ortamda NO üretimini bloklaması için 10 dk beklemeden sonra % 20'lik DMSO'da çözülmüş 100 μg adenozin intrakortikal yoldan verildi.

Bu deney grubunda L-NAME enjeksiyonu öncesinde 25.5 ± 1 olan spike sayısının L-NAME uygulandıktan sonraki 9. dk'da 24.8 ± 1 , 18. dk'da yani ortama adenozin verildikten 8 dk sonra 23 ± 1 ve 36. dk'da ise (adenozinden 26 dk sonra) 20.6 ± 1 olduğu görüldü.

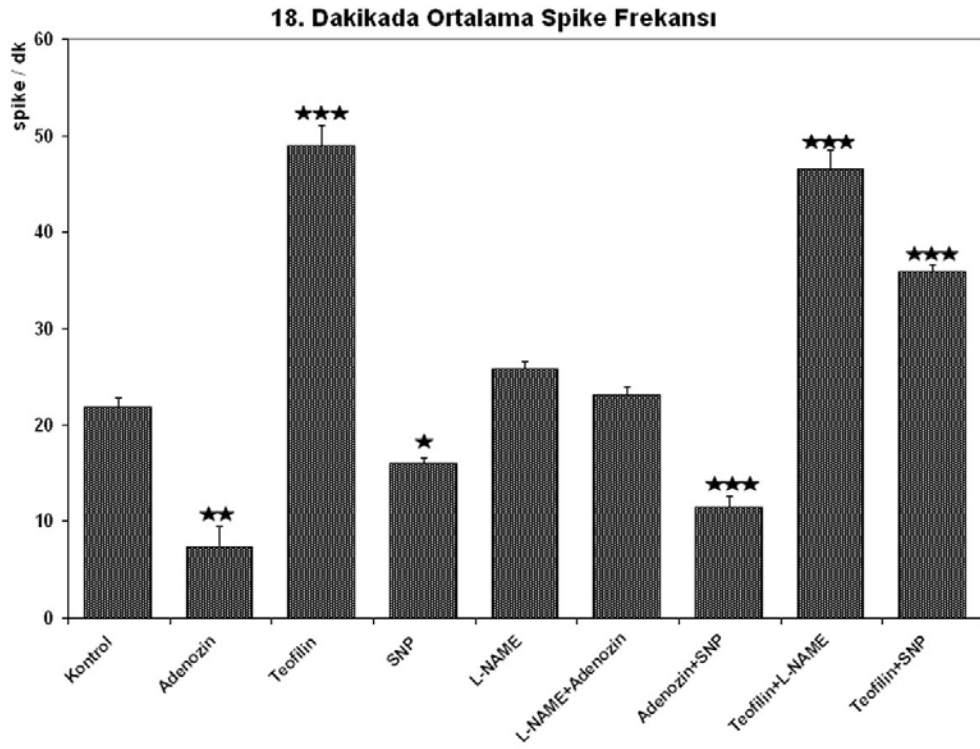
Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında L-NAME+adenozin grubunda deney boyunca spike sayısı açısından anlamlı bir farklılığın bulunmadığı saptandı. L-NAME'in tek başına verildiği grup açısından da yine bir farklılık bulunmadı. Fakat sadece adenozinin uygulanan grup açısından L-NAME+adenozin grubunda spike sayısının yüksek olduğu görüldü. 9. ve 18. dk'larda $p<0.01$ düzeyinde, 36. dk'da ise $p<0.05$ düzeyinde bir farklılık saptandı (Şekil 28, 29 ve 30).



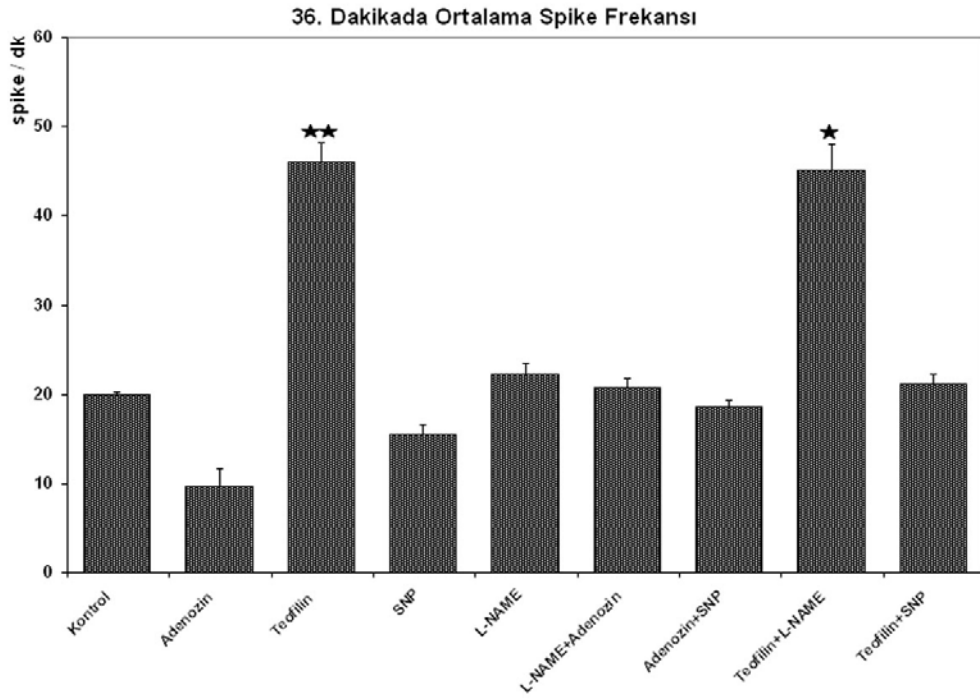
Şekil 27. NO ve adenozinin etkileşimlerini araştırmak için kullandığımız maddelerin uygulanma öncesi ve sonrasında kaydedilen epileptiform aktivitelere ait birer örnek



Şekil 28. Epileptiform aktivitenin 9. dakikasında tüm gruplara ait spike frekansı değerleri (* = $p < 0.05$; ** = $p < 0.01$; *** = $p < 0.001$)



Şekil 29. Epileptiform aktivitenin 18. dakikasında tüm gruplara ait spike frekansı değerleri (★ = $p < 0.05$; ★★ = $p < 0.01$; ★★★ = $p < 0.001$)



Şekil 30. Epileptiform aktivitenin 36. dakikasında tüm gruplara ait spike frekansı değerleri (★ = $p < 0.05$; ★★ = $p < 0.01$; ★★★ = $p < 0.001$)

L-NAME+adenozin kombinasyonu uygulanan gruptaki spike frekansı değerlerinin kontrol grubu değerlerine yakın çıkması ve adenozinin tek başına verilmesiyle ortaya çıkan baskılanmanın bu grupta görülmemesi, adenozinin spike sayısı açısından gösterdiği inhibitör etkide NO'nun rolü olabileceğini düşündürmektedir (Şekil 31).

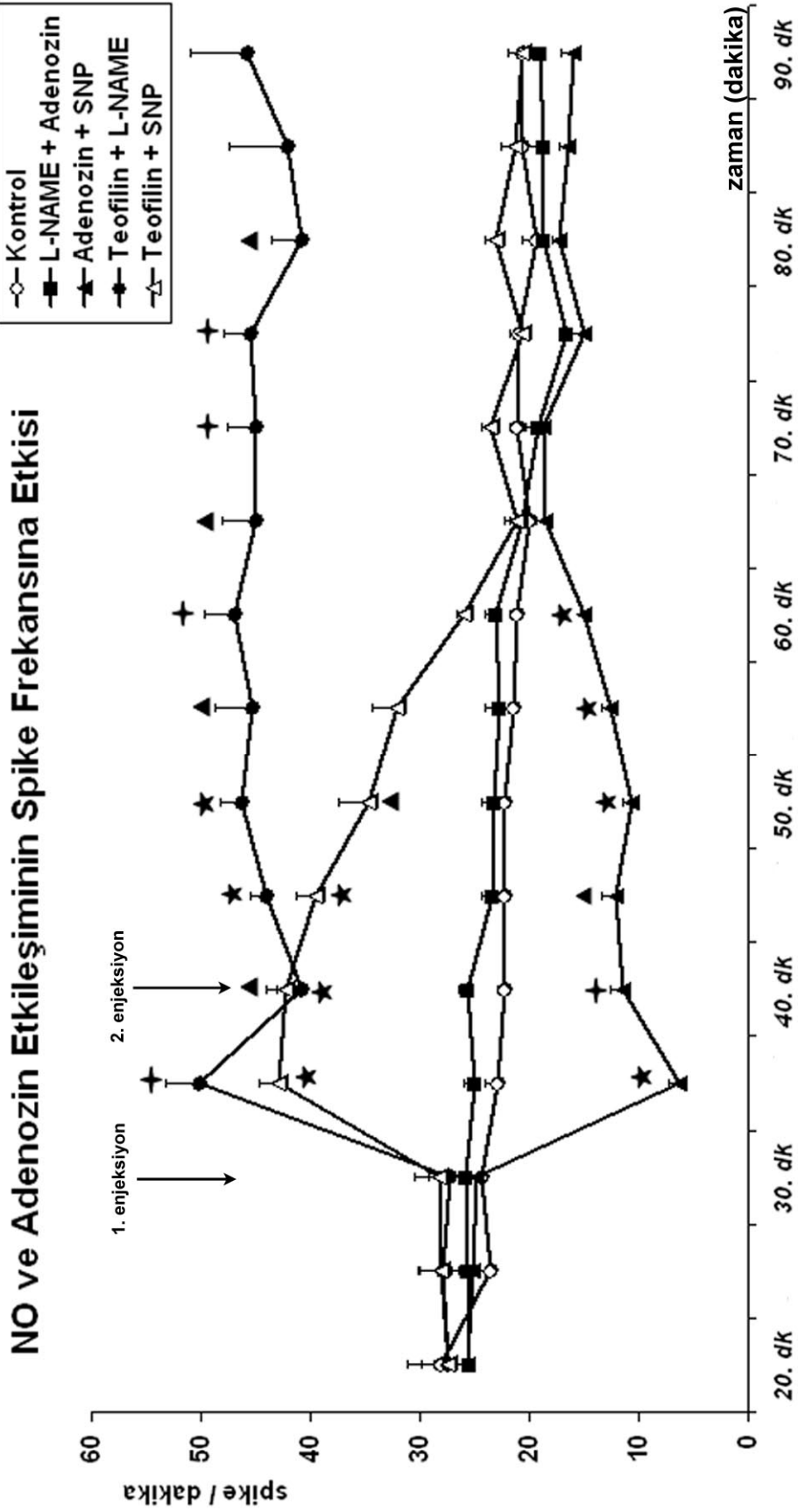
b) Adenozinin etkisizliğinde NO'nun rolü: Bu maksatla oluşturulan deney grubuna (n=6) öncelikle 100 µg teofilin 5 µl hacimde i.c.v. olarak uygulandı. Spesifik olmayan bir adenozin reseptör antagonisti teofilinin etkisini göstermesi ve adenozinin etkisini önlemesi için 10 dk beklemeden sonra bir NO donörü olan SNP 50 µg dozda i.c.v. olarak verildi.

Teofilin enjeksiyonu öncesinde 28 ± 2 olan spike değeri teofilin verildikten 9 dk sonra 46.7 ± 3 , 18 dk sonra (SNP'den 8 dk sonra) 35.9 ± 1 ve 36 dk sonra (SNP'den 26 dk sonra) 21.1 ± 1 olarak bulundu.

Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında teofilin+SNP grubunda spike frekansının teofilin uygulamasıyla arttığı ($p < 0.001$), anlamlı düzeydeki bu artışın SNP enjeksiyonuyla giderek normale indiği ve ilk 30 dk'nın sonunda kontrol grubundaki spike frekansı düzeylerine ulaştığı görülmektedir. Yalnızca teofilin uygulanan grupla karşılaştırıldığında her iki grupta da teofilin enjeksiyonundan 18. dk'ya kadar (SNP enjeksiyonundan 8 dk sonra) bir farklılığın olmadığı, 18. dk'dan itibaren teofilin+SNP grubunda spike değerinin teofilin grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı bir şekilde azalarak ($p < 0.05$ ve $p < 0.01$) kontrol grubu değerine ulaştığı ve bu farkın deney boyunca sürdüğü saptandı (Şekil 28, 29 ve 30).

Teofilin+SNP grubunda spike değerinin teofilin enjeksiyonuyla önce arttığı, SNP enjeksiyonundan sonra 20 dk içerisinde kontrol grubu değerlerine indiği görüldü. Bu değişim bizlere endojen adenozinin inhibitör etkisinin bloklanmasından kaynaklanan bir eksitasyonun NO'nun etkisiyle tersine çevrildiği ve bu gruptaki spike sayısının kontrol değerlerine geri döndüğünü ifade etmektedir. Oysa yalnızca teofilin uygulanan grupta saptanan spike değerindeki anlamlı artışın deney boyunca sürdüğü saptanmıştı (Şekil 31).

c) Adenozin ve NO'nun birlikte etkileri: Adenozin ve NO'nun aynı ortamda birlikte artışlarından kaynaklanacak etkileri görmek maksadıyla oluşturulan deney



Şekil 31. NO ve adenozin etkileşiminin spike frekansına etkisi
 (▲ = $p < 0.05$; † = $p < 0.01$; ★ = $p < 0.001$)

grubuna (n=6) penisilin enjeksiyonundan 30 dk sonra 100 µg adenozin (i.c.) ve 50 µg SNP (icv) birlikte uygulandılar.

Bu adenozin+SNP kombinasyonunun enjeksiyonundan önce 24.7±1 olan spike sayısı enjeksiyondan sonraki 9. dk'da 9.7±1, 18. dk'da 11.5±1 ve 36. dk'da 18.5±3 değerlerine ulaştığı görüldü (Şekil 28, 29 ve 30).

Her iki maddenin de aynı anda uygulanması ilk dk'lardan itibaren kontrol grubuna göre spike sayısını 30 dk boyunca istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde azalttığı bulundu (p<0.001, p<0.01, p<0.05). Deneyin geri kalan bölümünde kontrol grubu ile adenozin+SNP grubu arasında farklılık saptanmadı. L-NAME+adenozin uygulanan gruptan elde edilen spike değerleriyle karşılaştırıldığında yine ilk 30 dk'lık bölümde p<0.001 düzeyinde anlamlı bir farklılığın olduğu saptandı. Bununla birlikte sadece adenozin uygulanan gruba ve sadece SNP uygulanan gruba göre tüm kayıt boyunca anlamlı bir farklılık saptanmadı (Şekil 31).

d) Adenozin ve NO antagonizmasının etkileri: Bu maksatla adenozin reseptör antagonisti teofilin (100 µg, icv) ve NOS inhibitörü L-NAME (100 µg, icv) penisilin enjeksiyonundan 30 dk sonra birlikte uygulandılar.

Teofilin+L-NAME grubunda (n=6) uygulama öncesinde 27.2±2 olan spike değerinin sonrasındaki 9. dk'da 44.2±2, 18. dk'da 46.5±2 ve 36. dk'da 45±3 seviyelerine ulaştığı görüldü (Şekil 28, 29 ve 30).

Her iki sistemin aynı anda antagonize edilmesiyle birlikte spike sayısının ilk dk'lardan itibaren hızla yükseldiği ve deney boyunca devam ettiği saptandı. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında spike sayısındaki bu artışın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu bulundu (p<0.001, p<0.01, p<0.05; Şekil 31). Sadece teofilin uygulanan grup açısından bir farklılık bulunmazken, L-NAME'in tek başına uygulandığı grup açısından kontrol grubu düzeyinde bir anlamlı fark saptandı (p<0.001, p<0.01, p<0.05).

4.3. Grupların Spike Amplitüdü Açısından Karşılaştırılması

4.3.1. Penisilin Verilmesinden Sonraki İlk 30 Dakikalık Bölümün Spike Amplitüdü Açısından Karşılaştırılması

Penisilin enjeksiyonundan ilgili maddelerin verildikleri döneme kadar geçen yaklaşık 30 dk süre boyunca epileptik diken amplitüdü açısından yapılan değerlendirmede gruplar arasında anlamlı bir farklılığın olmadığı görüldü (p>0.05; Tablo 8).

Tablo 8. Penisilin enjeksiyonu ile maddelerin uygulanması arasında kalan 20., 25. ve 30. dakikalara ait ortalama spike amplitüdüleri (mV). Bu dakikalarda gruplar arasında spike amplitüdüleri açısından anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p>0.05$)

Gruplar	20. dk	25. dk	30. dk
Kontrol	1.4 ±0.2	1.6 ±0.3	1.5 ±0.3
Adenozin	1.6 ±0.2	1.4 ±0.2	1.4 ±0.2
Teofilin	2.0 ±0.2	1.8 ±0.1	1.9 ±0.1
SNP	1.8 ±0.2	1.8 ±0.2	1.8 ±0.2
L-NAME	1.8 ±0.2	2.0 ±0.2	2.0 ±0.2
L-NAME+Adenozin	1.8 ±0.2	1.7 ±0.2	1.7 ±0.2
Adenozin+SNP	1.4 ±0.1	1.4 ±0.1	1.4 ±0.1
Teofilin+L-NAME	1.4 ±0.1	1.5 ±0.1	1.6 ±0.2
Teofilin+SNP	1.9 ±0.5	2.0 ±0.5	2.1 ±0.6

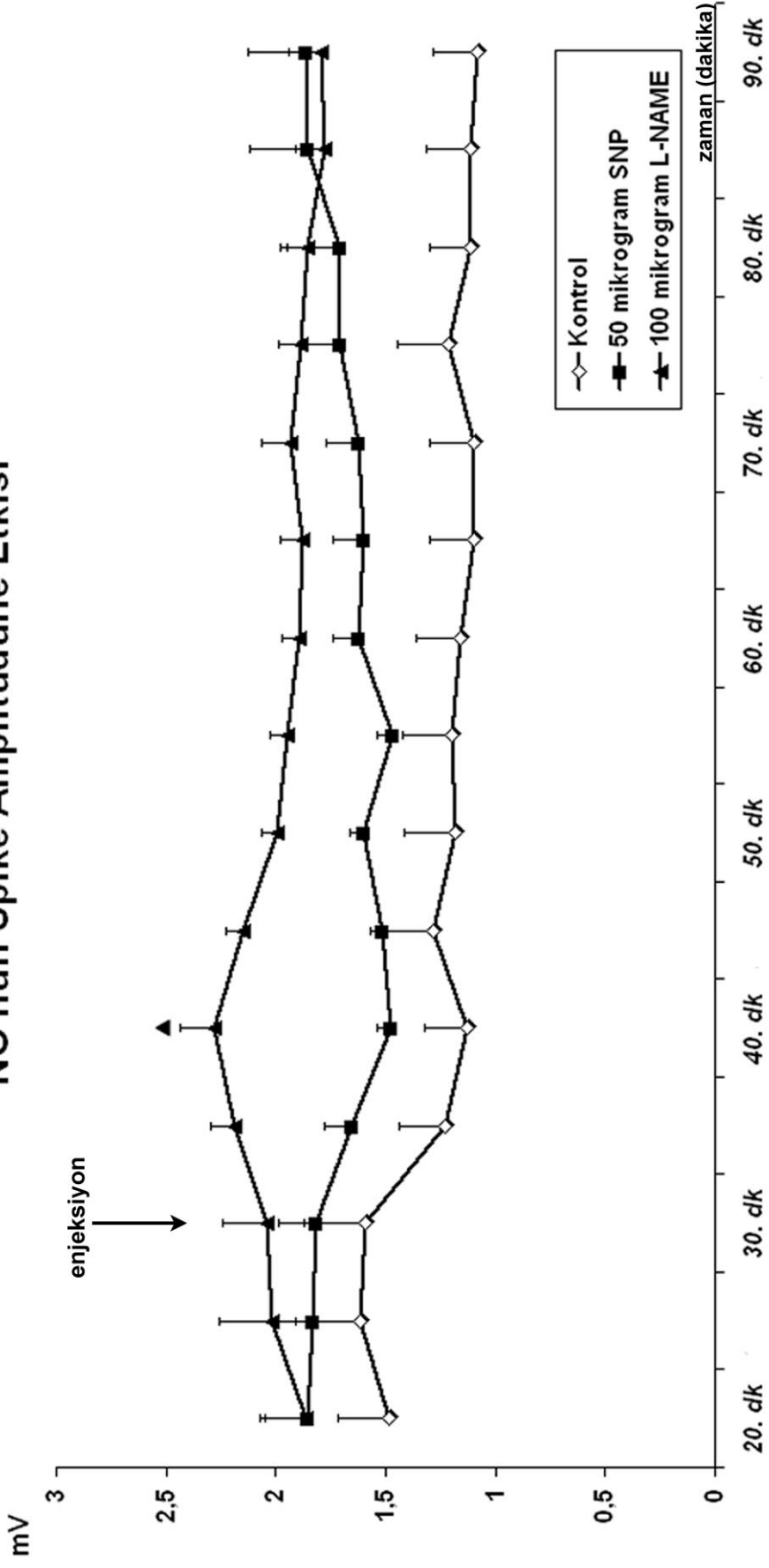
4.3.2. Nitrik Oksitin Spike Amplitüdüne Etkisi

L-NAME uygulandıktan 9 dk sonra bu grupta spike genliğinin bir miktar arttığı ve bu etkinin 3-4 dk sürdüğü görüldü. Enjeksiyon öncesinde 2 ± 0.2 mV olan amplitüdün 9. dk'da 2.3 ± 0.2 mV'a ulaştığı bulundu. Kontrol grubuyla kıyaslandığında birkaç dk süren bu artışın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu saptandı ($p<0.05$). SNP uygulanan grupta ise spike genliği açısından kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık bulunmadı (Şekil 32).

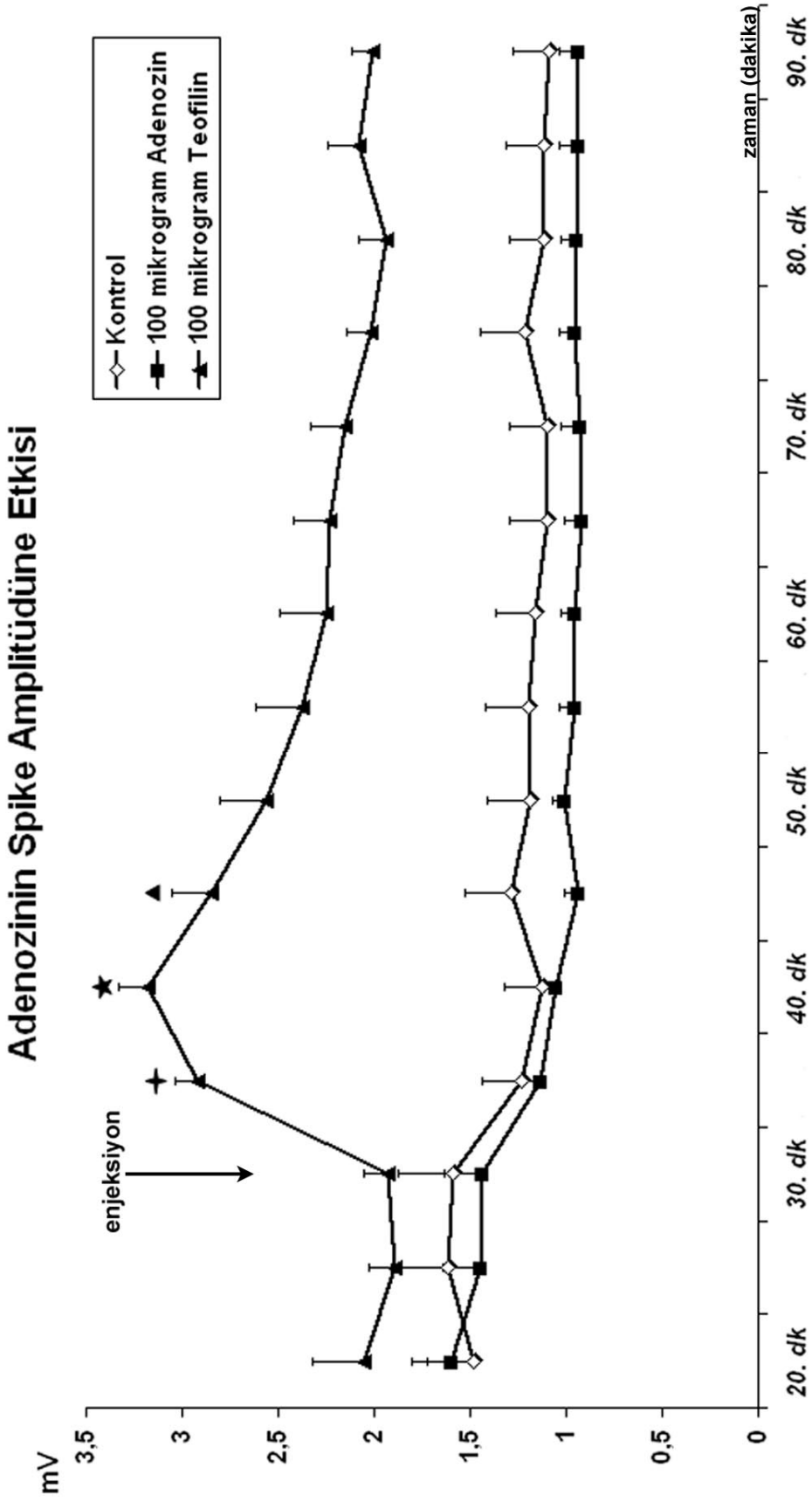
4.3.3. Adenozinin Spike Amplitüdüne Etkisi

Teofilin uygulanan grupta bu maddenin enjeksiyonundan 3 dk sonra spike genliğinde bir artışın olduğu görüldü. Enjeksiyon öncesinde 1.9 ± 0.1 mV olan değer enjeksiyon sonrası 3. dk'da 2.7 ± 0.1 mV, 6. dk'da 3.1 ± 0.1 mV, 9. dk'da 3.1 ± 0.1 mV ve 12. dk'da 3.1 ± 0.2 mV olduğu bulundu. Teofilin grubu amplitüd değerlerindeki artışın spike frekansı artışına paralel olduğu görüldü. Kontrol grubundan elde edilen spike amplitüdü değerleriyle kıyaslandığında teofilin enjeksiyonu sonrasında 3. dk ile 15. dk'lar arasındaki amplitüd değerlerindeki artışın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu saptandı ($p<0.001$, $p<0.01$, $p<0.05$). Deneyin geri kalan bölümünde amplitüd değerlerinin kontrol grubundan yüksek olduğu fakat bu farkın anlamlı olmadığı görüldü. Adenozin uygulanan grupta ise enjeksiyon sonrasında spike amplitüdü açısından bir farklılığa rastlanmadı ($p>0.05$; Şekil 33).

NO'nun Spike Amplitüdüne Etkisi



Şekil 32. NO donörü ve NOS inhibitörü L-NAME'in spike amplitüdüne etkisi (▲ = $p < 0.05$; ◆ = $p < 0.01$; ★ = $p < 0.001$)



Şekil 33. Adenozin ve adenozin reseptör antagonisti teofilinin spike amplitüdüne etkisi (\blacktriangle = $p < 0.05$; \blackstar = $p < 0.01$; \star = $p < 0.001$)

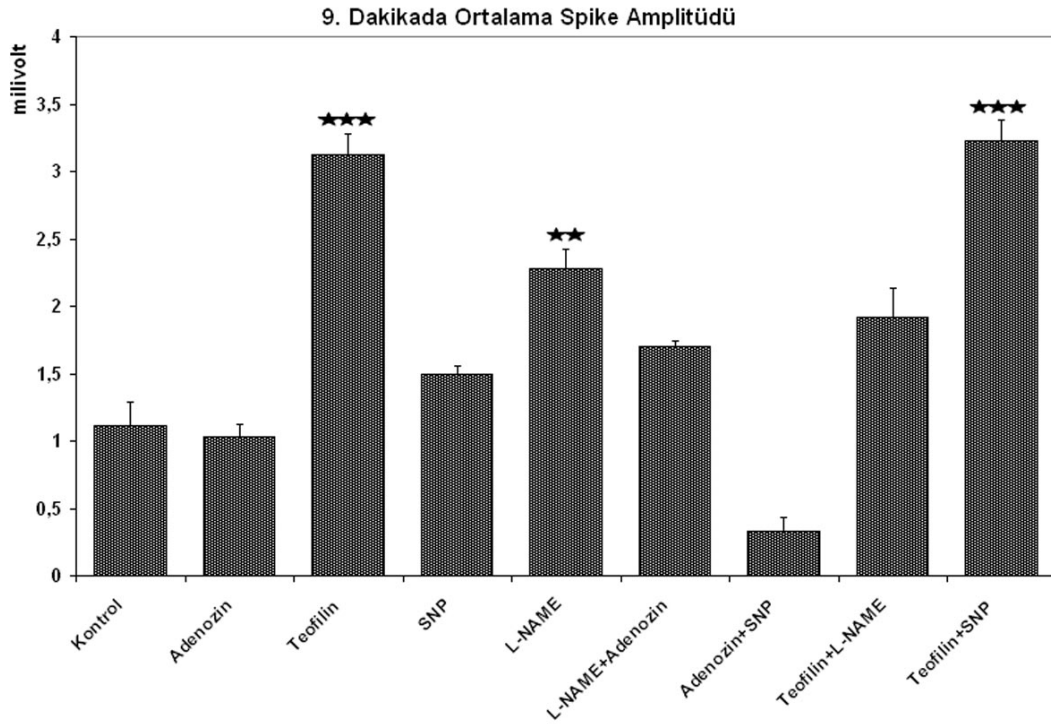
4.3.4. Nitrik Oksit ve Adenozin Etkileşiminin Spike Amplitüdüne Etkisi

a) NO'nun eksikliğinde adenozinin rolü: L-NAME + adenozin uygulanan grupta L-NAME enjeksiyonu öncesinde $1.7 \pm 0,2$ mV olan amplitüd değerinin L-NAME'den 9 dk sonra 1.7 mV olduğu adenozin enjeksiyonuyla birlikte 18. dk'da 1.6 mV, 36. dk'da ise 1.3 mV olduğu görüldü.

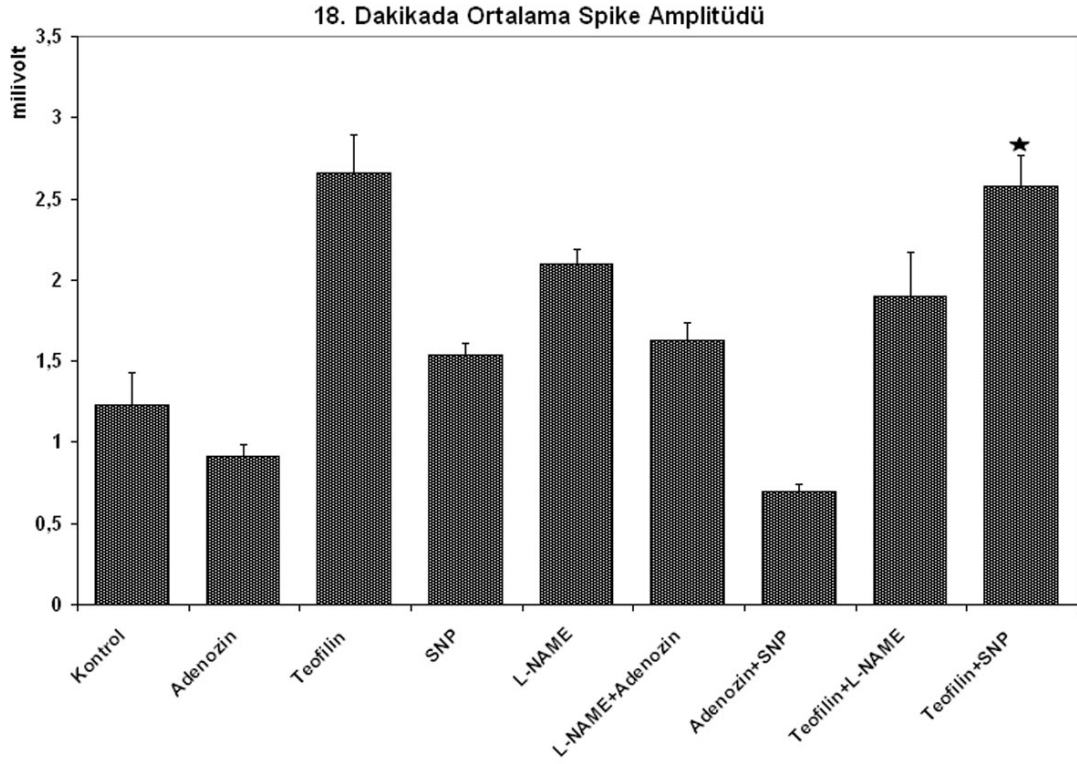
Bu gruptan elde edilen amplitüd değerleri kontrol grubu değerleriyle kıyaslandığında anlamlı bir farklılığın bulunmadığı saptandı ($p > 0.05$). Bununla birlikte yalnızca adenozin uygulanan gruba göre amplitüd değerlerinin 18. dk'da yüksek olduğu ($p < 0.05$), L-NAME grubuna göre ise 36. dk azalmış olduğu görüldü ($p < 0.05$; Şekil 34, 35 ve 36).

Bu grubun amplitüd değerlerinin sadece adenozin ve sadece L-NAME uygulanan grup değerlerinin arasında bulunması deney koşullarının objektifliği açısından önemli bir bulgudur.

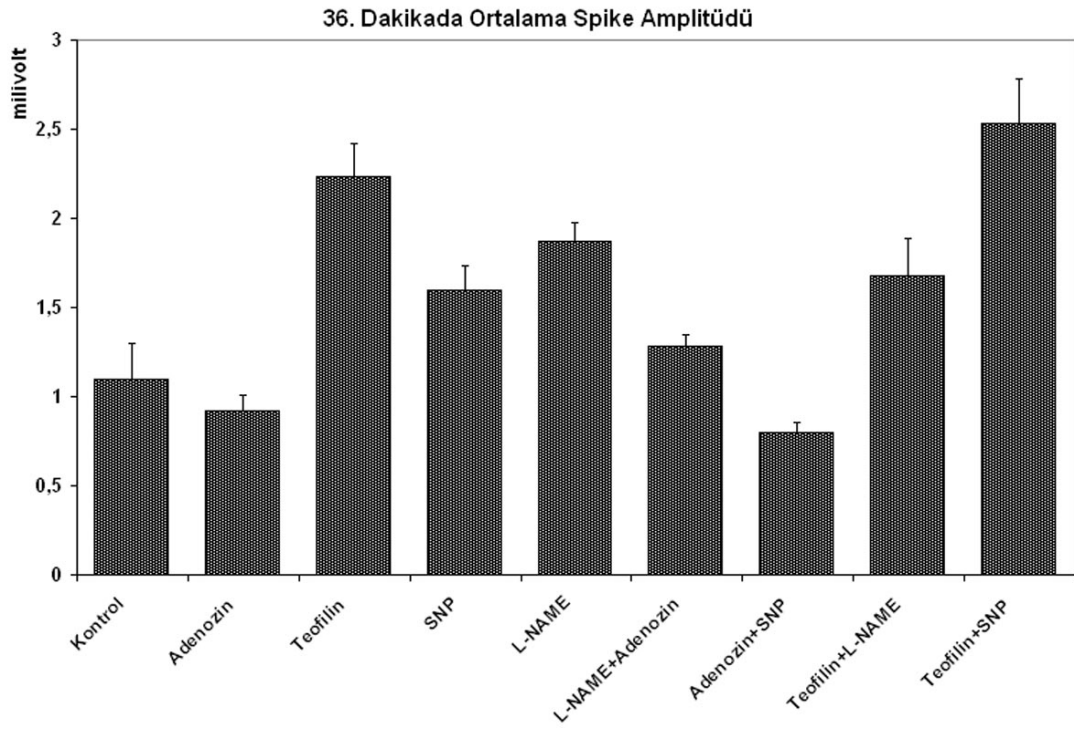
b) Adenozinin etkisizliğinde NO'nun rolü: Teofilin+SNP uygulanan grupta teofilin enjeksiyonu öncesinde $2,1 \pm 0,6$ mV olan değer teofilinden 9 dk sonra 3.2 ± 0.1 mV, 18 dk sonra (SNP'den 8 dk sonra) 2.5 ± 0.2 mV, 36 dk sonra 2.5 ± 0.2 mV olduğu görüldü.



Şekil 34. Epileptiform aktivitenin 9. dakikasında tüm gruplara ait spike amplitüdü (★ = $p < 0.05$; ★★ = $p < 0.01$; ★★★ = $p < 0.001$)



Şekil 35. Epileptiform aktivitenin 18. dakikasında tüm gruplara ait spike amplitüdü (★ = $p < 0.05$; ★★ = $p < 0.01$; ★★★ = $p < 0.001$)



Şekil 36. Epileptiform aktivitenin 36. dakikasında tüm gruplara ait spike amplitüdü (★ = $p < 0.05$; ★★ = $p < 0.01$; ★★★ = $p < 0.001$)

Teofilin enjeksiyonundan sonraki ilk dk'dan itibaren spike amplitüdünün arttığı, yaklaşık 5 dk sonra maksimum değere ulaştığı ve bir miktar düşerek deneyin geri kalan bölümünde kontrolün üstünde bir seviyede ilerlediği saptandı. Bu artışın 1. dk'dan 25. dk'ya kadar olan bölümde kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan farklı düzeylerde anlamlı olduğu bulundu ($p<0.001$, $p<0.01$, $p<0.05$). Yalnızca teofilin uygulanan grup açısından bir farklılık saptanmazken ($p>0.05$), SNP uygulanan gruba göre 9. ve 18. dk'larda amplitüd değerinin istatistiksel açıdan anlamlı olarak yükseldiği görüldü ($p<0.05$; Şekil 34, 35 ve 36).

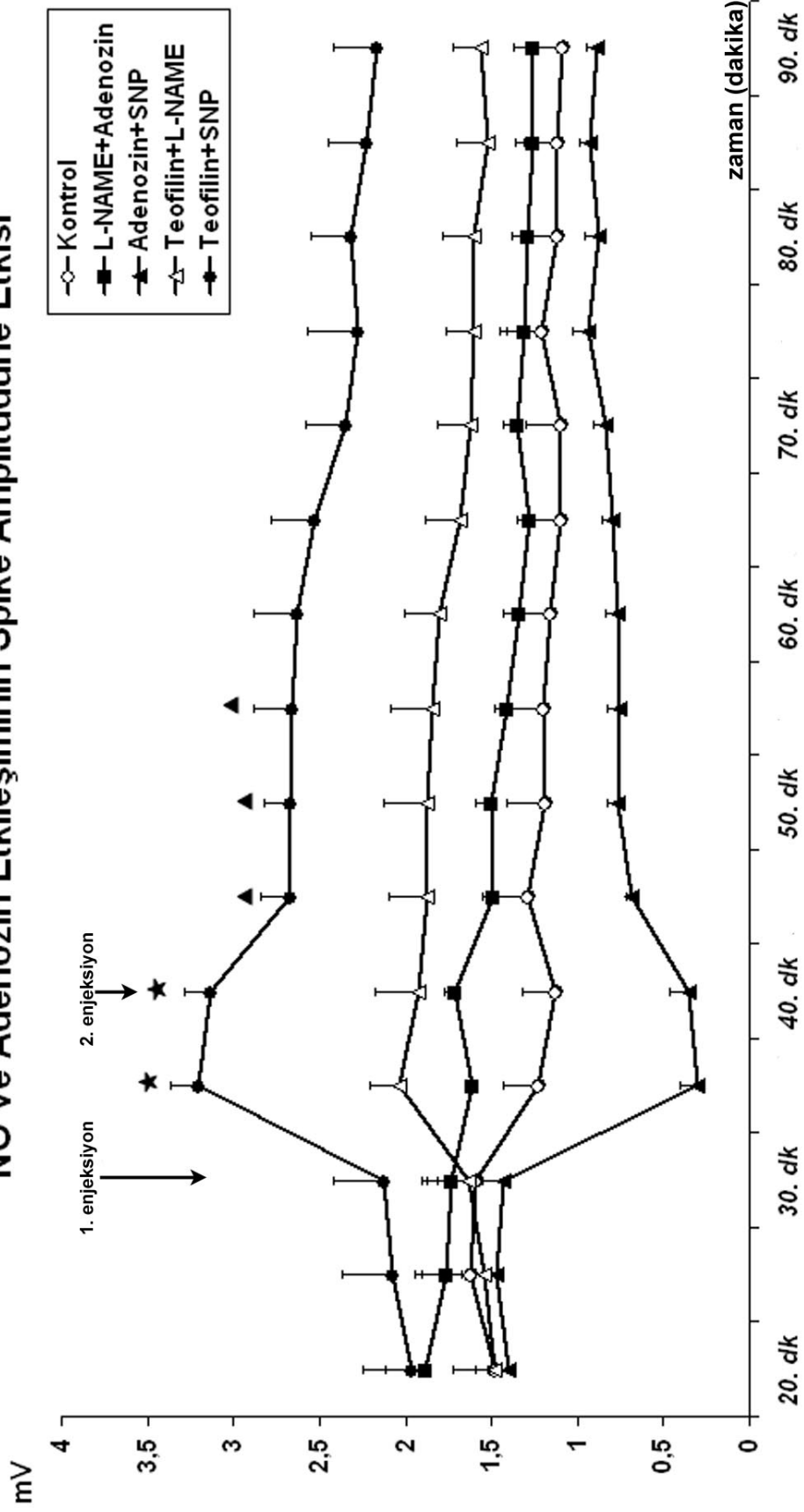
c) Adenozin ve NO'nun birlikte etkileri: Adenozin+SNP uygulanan grupta amplitüdün enjeksiyon öncesinde $1,4 \pm 0,1$ mV olduğu enjeksiyondan sonraki 9. dk'da 0.3 mV, 18 dk'da 0.7 mV ve 36. dk'da 0.8 mV olduğu saptandı.

Bu gruptaki amplitüd değerlerinin kontrol grubu değerlerine göre azalmış olduğu görülse de aradaki farklılık istatistiksel açıdan anlamlı bulunmadı ($p>0.05$). Sadece adenozin uygulanan grupla karşılaştırıldığında 9. dk'da adenozin+SNP istatistiksel açıdan anlamlı bir azalmanın olduğu saptandı ($p<0.05$). SNP grubu açısından bakıldığında 9., 18. ve 36. dk'larda ki azalmanın anlamlı olduğu görüldü ($p<0.01$; Şekil 34, 35 ve 36).

d) Adenozin ve NO antagonizmasının etkileri: Teofilin+L-NAME grubunda enjeksiyon öncesinde $1,6 \pm 0,2$ mV olan amplitüd değerinin enjeksiyondan sonraki 9. dk'da $1.9 \pm 0,2$ mV, 18. dk'da $1.9 \pm 0,2$ mV ve 36. dk'da $1.6 \pm 0,2$ mV olduğu saptandı.

Kontrol grubu değerlerine göre bu grupta hafif bir yükselmenin olduğu görülse de bu farklılık istatistiksel açıdan anlamlı bulunmadı. Gerek teofilin gerekse L-NAME grubuyla mukayese edildiğinde yine bir farklılık saptanmadı ($p>0.05$; Şekil 34, 35 ve 36).

NO ve Adenozin Etkileşiminin Spike Amplitüdüne Etkisi



Şekil 37. NO ve adenozin etkileşiminin spike amplitüdüne etkisi
 (▲ = $p < 0.05$; ★ = $p < 0.01$; ★ = $p < 0.001$)

5. TARTIŞMA

Epilepsi provoke edilmemiş ve spontan olarak tekrarlayan nöbetlerle karakterize nörolojik bir hastalıktır (Shneker ve Fountain, 2003). Toplumun yaklaşık %1-3'ünü etkilemesi ve tedaviye alınan hastaların yaklaşık % 30-40 kadarında tam anlamıyla bir nöbet kontrolü sağlanamaması epilepsinin önemini ve bu konuda yapılan deneysel çalışmaları arttırmıştır (Hauser ve ark. 1996). Epilepsinin elektrofizyolojik temelleri ile diğer özellikleri hakkında akla gelen sorulara cevap aramak ve daha etkili antiepileptik ilaçlar geliştirmek için deneysel modeller üzerinde çalışılmaktadır (Marangoz, 1997). Hayvanlarda deneysel epilepsi modellerini oluşturmak için konvulsan kimyasal maddeler, elektrik, ses ve ışık gibi uyaranlar kullanılabildiği gibi genetik olarak epilepsiye meyilli hayvanlardan da faydalanılmaktadır.

Sunulan çalışmada, penisilinle oluşturulan deneysel epilepsi modeli kullanılarak NO ve adozinin etkileşimleri araştırıldı. Bu modelde öncelikle nitretrjik ve adozinerjik sistemlerin epileptiform aktivite üzerindeki etkileri ayrı ayrı inceledikten sonra her iki sistem bir arada değerlendirildi.

Penisilin verilmesinden sonraki ilk 30 dakikalık bölüme ait spike frekansı ve spike amplitüdü açısından deney grupları arasında anlamlı bir farklılığın bulunmadığı saptandı ($p>0.05$). Ayrıca adozini çözmek için kullandığımız %20'lik DMSO'nun etkisini görmek amacıyla oluşturduğumuz deney grubundan elde edilen epileptiform aktivite değerlerinin kontrol grubu değerlerinden farklı olmadığı bulundu ($p>0.05$). Penisilin enjeksiyonu ile ilk epileptik aktivitenin ortaya çıktığı süreyi ifade eden epilepsi latensi açısından da tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın olmadığı görüldü ($p>0.05$).

Deney sonucunda elde edilen bulgular nitrik oksit ve adozinin epilepsiyle ilişkisi açısından ayrı ayrı incelendikten sonra bu iki maddenin birlikte epilepsiye etkisi ve etkileşimleri literatür ışığında değerlendirilecektir.

5.1. Nitrik Oksitin Epilepsiye Etkisi

Bir gaz molekülü olan NO, sinir, sindirim, immün, kardiyovasküler ve ürogenital sistemlerde bulunan çok önemli düzenleyici bir molekül, ikinci haberci ve transmitterdir. Normal fizyolojik fonksiyonlar yanında septik şok, hipertansiyon, inme, epilepsi ve diğer nörodejeneratif hastalıklar gibi patofizyolojik durumlarla da yakından ilgilidir (Marangoz, 1996). Keşfedildiği günden bu güne kadar NO'nun epilepsiyle

ilişkisi farklı deneysel modeller kullanılarak aydınlatılmaya çalışılmıştır. Elde edilen bulgulara göre araştırmacıların bir kısmı NO'nun endojen prokonvulsan bir madde olduğunu ileri sürerken, önemli bir kesimde antikonvulsan etkilere sahip olduğunu ifade etmektedirler (Buisson ve ark., 1993; Przegalinski ve ark., 1996; Khavandgar ve ark., 2002; Paul ve Subramanian, 2002; Paul, 2003).

Farklı deneysel epilepsi modelleri kullanılarak yapılan çok sayıda çalışmada NO'nun antikonvulsan etkilere sahip bir madde olduğu bildirilmektedir:

Farelerde yapılan iki farklı çalışmada NMDA ile oluşturulan nöbetlerin, NOS inhibitörlerinin verilmesiyle birlikte arttığı görülmüştür (Buisson ve ark., 1993; Przegalinski ve ark., 1996). Diğer bir çalışmada farelerde insülin ile oluşturulan akut hipogliseminin neden olduğu nöbetlerde, L-arjinin (150, 500 ve 750 mg/kg) doza bağımlı biçimde koruyucu bir etki gösterdiği saptanmıştır. NOS inhibitörü L-NMMA'nın (50 ve 100 mg/kg) ise insülinin subkonvülsif dozlarını kuvvetlendirdiği bulunmuştur (Bhargava ve Balakrishnan, 1999). Yine fareler üzerinde yapılan bir çalışmada PTZ nedenli konvülsiyonların klonik fazına karşı etosüksimidin oluşturduğu koruyucu etkinin L-NNA'nın (bir NOS inhibitörü) 40 mg/kg dozu ile bozulduğu saptanmıştır. Fakat L-NNA'nın (40 mg/kg) diazepam, fenobarbital ve valproatın koruyuculuğuna karşı etkisiz olduğu gösterilmiştir. Ayrıca L-NNA nedenli etosüksimitin antikonvulsan aktivitesindeki azalmanın L-arjinin (500 mg/kg) tarafından tersine çevrildiği bildirilmiştir (Czuczwar ve ark., 1999).

Sıçanlar üzerinde yapılan çalışmalarda da NO'nun antikonvulsan özelliğe sahip olduğu ifade edilmiştir. Pikrotoksinle oluşturulan konvülsiyonda (5 mg/kg) pikrotoksinin NOS aktivitesi ve NO konsantrasyonunu azalttığı, L-arjininin ise (2000 mg/kg) NO konsantrasyonu ve NOS aktivitesini artırarak nöbetleri baskıladığı saptanmıştır. Yine aynı çalışmada tek başına uygulanan diazepamın (2 mg/kg) NO ve NOS aktivitesinde bir artışa neden olmadığı, L-arjinin ile birlikte diazepam kullanıldığında ise tek başına L-arjinin uygulandığı duruma kıyasla NO ve NOS aktivitesini daha fazla artırdığı ve nöbetleri tamamen baskıladığı saptanmıştır. L-NAME'in (50 mg/kg) ise tek başına konvülsiyona neden olmadığı fakat NO ve NOS aktivitesini azaltarak pikrotoksin nedenli konvülsiyonları güçlendirdiği bildirilmiştir. Özetle diazepam ve L-arjininin birlikte kullanılmasının NO konsantrasyonu ve NOS aktivitesini artırarak konvülsiyonları baskıladığı ifade edilmiştir (Jayakumar ve ark.,

1999). Yine pikrotoksin kullanılarak yapılan farklı bir çalışmada, sıçanlara deneyden 5, 30 veya 60 dk önce sistemik olarak 1000 mg/kg L-arjinin uygulanması neticesinde NO üretiminindeki artışın beyinde GABA miktarını artırarak konvülsiyonları engellediği gösterilmiştir. Bununla birlikte L-arjinin 2000 mg/kg gibi yüksek dozlarda deneyden 60 dk önce uygulandığında doza ve zamana bağlı olarak olayı tersine çevirdiği ifade edilmiştir (Paul ve Subramanian, 2002). Bir başka çalışmada ise 100 veya 200 mg/kg 7-NI sıçanlarda pikrotoksin nedenli konvülsiyonda tek başına veya fenobarbiton ve diazepam ile kombinasyon halinde kullanılmıştır. Ayrıca 7-NI'yi test etmek için 1000 mg/kg L-arjinin 30 dk önceden uygulanmıştır. Aynı çalışmada 100 mg/kg dozdaki 7-NI'nin NOS aktivitesi veya NO konsantrasyonunu değiştirmede fakat pikrotoksin nedenli konvülsiyon üzerine NO'dan bağımsız bir mekanizmayla antikonvulsan bir etki göstererek nöbetleri önlediği bildirilmiştir. Bununla birlikte 7-NI'nin 200 mg/kg dozunun NOS aktivitesini önlemediği ve pikrotoksinin konvulsan etkisini artırdığı, ayrıca fenobarbiton ve diazepamın antikonvulsan etkilerini önlediği saptanmıştır. 7-NI'nin prokonvulsan etkisi L-arjinin uygulanmasıyla tersine çevrildiği bildirilmiştir. Aynı çalışmada NO'nun bir antikonvulsan olabileceği ve epilepsiyi önlemede 7-NI'nin tek başına veya diğer antikonvulsanlar ile birlikte kullanılamayacağı ifade edilmiştir (Paul ve Ekambaram, 2003). Yine 7-NI'nin epileptik nöbet üzerine etkisini araştıran başka bir çalışmada, sıçanlarda kullanılan 50 ve 100 mg/kg 7-NI'nin NOS aktivitesi ve NO seviyesinde herhangi bir değişiklik yapmadan doza bağımlı bir şekilde pikrotoksin nedenli nöbetleri önlediği ve 150-200 mg/kg dozlarının ise NOS aktivitesini ve NO konsantrasyonunu inhibe ederek pikrotoksin nedenli nöbeti artırdı ve hafıza bozukluğuna neden olduğu gösterilmiştir. Yüksek dozda kullanılan L-arjininin ise NO miktarını artırdığı ve nöbetleri önlediği saptanmıştır. Aynı çalışmada 7-NI'nin antikonvulsan bir madde olarak klinikte kullanılamayacağı bildirilmektedir (Vanaja ve Ekambaram, 2004). Non-spesifik bir NOS inhibitörü olan L-NAME'nin sıçanlarda pikrotoksinle oluşturulan nöbetleri engellemediği, bir NO prekürsörü olan L-arjinin ise fenobarbiton ve diazepam gibi antiepileptik ilaçların koruyucu etkilerini kuvvetlendirdiği saptanmıştır. Ayrıca bir antiepileptik ilaç olan fenobarbitonun, L-NAME uygulanmış hayvanlarda pikrotoksin nedenli nöbetleri engelleyemediği gösterilmiştir. Bildirilen sonuçlara göre non-spesifik NOS inhibitörünün, antiepileptik ilaçların beyinde GABA aktivitesini güçlendirerek gösterdikleri antikonvulsan

etkilerinde bir bozulmaya neden olduğu bildirilmiştir (Paul, 2003). Penisilin modeli deneysel epilepsi çalışmalarından elde edilen sonuçlarda NO'nun antikonvulsan olduğu yönündeki görüşleri desteklemektedir. Anestezili sıçanlarda korteks içine verilen 400-500 ünite penisilinle oluşturulan epileptiform aktiviteyi, NO donörü SNP'nin (5-20 nM, 5µl) önemli ölçüde baskıladığı, guanilat siklaz (veya NO) inhibitörü olan metilen mavisi (20 nM, 5 µl) ve NO tutucusu olan hemoglobinin SNP'nin bu etkisini önlediği daha önceki bir çalışmada saptanmıştı (Marangoz ve ark., 1994). Wistar sıçanlarda penisilin (3 million IU/kg, i.p.) kullanılarak oluşturulan epileptik aktivitede, L-arjinin (300 µg/2 µl, i.c.v.) ve SNP'nin (100 µg/2 µl, i.c.v.) epileptik aktiviteyi baskıladığı, penisilinden 30 dk önce uygulanan 7-NI'nin ise (60 mg/kg, i.p.) epileptik aktivitenin latensini anlamlı olarak azalttığı gösterilmişti (Marangoz ve Bagirici, 2001).

Sunulan çalışmada NO'nun epilepsiye etkisini araştırmak için penisilinle oluşturulan deneysel epilepsi modeli kullanıldı. Bu modelde NO'nun etkinliğini değerlendirmek amacıyla NO donörü SNP (50 µg) ve NOS inhibitörü L-NAME (100 µg) ayrı ayrı deney gruplarına i.c.v. olarak verildi. NO donörü SNP'nin enjeksiyonu sonrasında elde edilen veriler kontrol grubu değerleriyle karşılaştırıldığında spike frekansının ilk 5 dk içerisinde anlamlı düzeyde azaldığı görüldü. Deneyin geri kalan bölümlerinde de spike frekansının istatistiksel açıdan farklı düzeylerde anlamlı şekilde azalmış olduğu bulundu. Spike amplitüdü açısından kontrol grubu değerlerine göre anlamlı bir farklılığa rastlanmadı.

Non-spesifik bir NOS inhibitörü olan L-NAME'in icv enjeksiyonu sonrasında elde edilen spike frekansının kontrol grubuna göre bir miktar yükseldiği ve L-NAME'in neden olduğu spike frekansındaki artışın 10. ve 50. dakikalarda kontrol grubuna göre anlamlı olduğu bulundu. Spike değerlerindeki artışa paralel olarak, L-NAME enjeksiyonundan 10 dk sonra bu gruptan elde edilen amplitüd değerlerinin kontrol grubu değerlerine göre istatistiksel bakımdan anlamlı olacak şekilde artmış olduğu saptandı.

Bu verilere göre ekzojen NO uygulamasının, spike frekansını deney boyunca azalttığı fakat amplitüdde bir değişime neden olmadığı gözlemlendi. Endojen NO üretimindeki blokajın ise tam tersine spike frekansını ve amplitüdünü ilk 10 dk'lık bölümde yükselttiği saptandı. Elde edilen bu bulgulara göre NO miktarındaki artışın

epileptiform aktiviteyi zayıflattığı, azalmanın ise uzun süreli olmasa da epileptik aktivite değerlerinde bir yükselmeye neden olduğu görüldü.

SNP'nin kortikal penisilin kaynaklı epilepsideki antikonvulsan etkisi daha önce yapılmış olan çalışmalarla ortaya konmuştu (Marangoz ve ark., 1994; Marangoz ve Bagirici, 2001; Canan, 2004). Sunulan çalışma SNP'nin (50 µg, i.c.v.) veriliş yolu, dozu ve analizi yapılan kayıt süresi bakımından daha önce SNP'nin antikonvulsan etkisini bildiren çalışmalardan ayrılmaktadır. NO prekürsörü olan ve ortamda NO konsantrasyonunu artıran L-arjininin de farklı deneysel epilepsi modellerinde nöbetleri baskıladığı veya hafiflettiği bildirilmiştir (Bhargava ve Balakrishnan, 1999; Paul ve Subramanian, 2002; Vanaja ve Ekambaram, 2004). Non-spesifik NOS inhibitörü L-NAME, epilepsi çalışmalarında NO'nun etkinliğini değerlendirmede en fazla kullanılan maddelerden birisidir. Bu çalışmada L-NAME'in enjeksiyonundan sonraki 10 dk içerisinde spike frekansı ve amplitüdünü artırdığı fakat 60 dk'lık kayıt süresinin tamamında bu etkinliği devam ettiremediği saptanmıştı. Penisilin modeli deneysel epilepside L-NAME'in etkisini araştıran diğer çalışmalarda da L-NAME'in epileptiform aktivitenin frekans ve amplitüd değerlerini enjeksiyonun hemen sonrasında kısa süreli olarak artırdığı gösterilmiştir (Marangoz ve Bagirici, 2001; Canan, 2004). Daha önce yapılan farklı bir çalışmada L-NAME'in (50 mg/kg) tek başına konvülsiyona neden olmadığı, fakat NO ve NOS aktivitesini azaltarak pikrotoksin nedenli konvülsiyonları güçlendirdiği bildirilmiştir (Jayakumar ve ark., 1999). Ayrıca farklı NOS inhibitörleri ve NO konsantrasyonunu artıran maddeler kullanılarak yapılan çalışmalardan elde edilen NO'nun antikonvulsan bir özellik taşıdığı yönündeki sonuçlar, sunulan çalışmadan elde edilen bulgular tarafından desteklenmektedir (Czuczwar ve ark., 1999; Paul, 2003; Paul ve Ekambaram, 2003; Vanaja ve Ekambaram, 2004).

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar çok sayıda bilimsel yayın bulgusunu desteklemekle birlikte, NO'nun prokonvulsan bir madde olduğunu iddia eden çalışmaların sayısı da azımsanmayacak miktardadır. NO'nun prokonvulsan etkilere sahip olduğu fare veya sıçan kullanılarak yapılan in vivo çalışmalarda veya doku dilimleri üzerinde yapılan in vitro çalışmalarda gösterilmiştir. Bu çalışmalardan bir tanesinde farelerde PTZ ile oluşturulan nöbetleri NOS inhibitörü agmatinin doza bağımlı bir şekilde azalttığı belirtilmiştir (Demehri ve ark., 2003). Yine farelerde

yapılan farklı bir çalışmada PTZ ile oluşturulan nöbetlerde bir delta-opioid-agonisti olan SNC80'in nöbet eşliğini azalttığı saptanmıştır. SNC80'in prokonvulsan etkisi genel bir NOS inhibitörü olan L-NAME (3-20 mg/kg, i.p.) tarafından önlenirken, iNOS inhibitörü aminoguanidinin (50 ve 100 mg/kg, i.p.) SNC80'in prokonvulsan etkisini önlemede yetersiz kaldığı bildirilmiştir. Diğer taraftan NO prekürsörü L-arjininin (30 ve 60 mg/kg, i.p.) SNC80'in daha düşük dozlarının prokonvulsan etkilerini güçlendirdiği görülmüştür (Khavandgar ve ark., 2002).

NO'nun prokonvulsan etkilere sahip olduğu sıçanlarda yapılan çalışmalarda da gösterilmiştir. Genel bir NOS inhibitörü olan L-NNA'nın (10 mg/kg) PTZ ile oluşturulan klonik konvülsiyonların başlangıcını geciktirdiği saptanmıştır (Bashkatova ve ark., 2000). Diğer bir çalışmada nNOS için spesifik olan 7-NI'nin pikrotoksinle oluşturulan epilepside antiepileptik ilaçların etkilerini kuvvetlendirdiği ve elde edilen bulgular ışığında NO'nun nöbetlerin tetiklenmesinde bir rol üstlenebileceği ileri sürülmüştür (Rajasekaran, 2003). Wistar sıçanların beyin korteksinde elektron paramanyetik rezonans (EPR) spektroskopisi yoluyla yapılan NO ölçümünde, PTZ nedenli epileptiform aktivite boyunca NO miktarının 5 kat arttığı saptanmıştır (Bashkatova, 2003).

Yapılan in vitro çalışmalarda da NO'nun prokonvulsan olduğuna dair kanıtlar bulunmuştur. Sıçan hipokampal dilimlerinde düşük Mg^{2+} nedenli epileptiform aktivite süresince NO üretimi ve katkısını değerlendiren bir çalışmada, L-NAME'in (200 microM) düşük Mg^{2+} nedenli nöbetleri tamamen baskıladı ve NO donörü S-nitroso-N-asetilpenisilamin (200 μ M) uygulandığında ise NO miktarının arttığı ve nöbetleri tekrar başladığı saptanmış (Schuchmann, 2002). Hipokampal dilimlere penisilin uygulanmasıyla oluşturulan bir epilepsi modelinde 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 konvülsiyonu artırıcı etkisinin NOS inhibitörleriyle engellenebileceği ileri sürülmüştür (Lu ve ark., 1998).

Sunulan bu çalışmadan elde edilen bulgular NO'nun antikonvulsan olduğunu ifade eden literatür bilgileriyle uyumlu görünmektedir. Fakat NO'nun prokonvulsan bir madde olduğunu bildiren çalışmaların varlığı göz önüne alındığında, çelişkili gibi görünen her iki sonucu, sebepleri ve etki mekanizmalarıyla birlikte değerlendirmek uygun olacaktır. Çelişkili sonuçların muhtemel sebeplerini şu şekilde sıralayabiliriz:

- Epilepsi modelinin farklı olması
- Çalışılan beyin bölgesinin farklı olması
- NO sistemiyle ilgili maddelerin veriliş yollarının farklı olması
- Uygulanan dozların farklı olması
- NO sistemini etkileyen diğer maddeler
- Mikroçevreye bağlı olan farklı redoks durumu
- Deney metodundaki diğer farklılıklar (Marangoz, 1996).

NO'nun dual etkisini açıklamada yardımcı olabilecek en geçerli mekanizmalardan birisi, NO'nun farklı oksidasyon-redüksiyon durumlarında bulunabilen bir molekül olmasıdır. NO mikroçevrenin fizikokimyasal yapısına bağlı olarak şu üç farklı oksidasyon-redüksiyon durumunda bulunabilir (Lipton ve ark., 1993).

1. Azot monoksit veya kaynak form (NO)
2. Nitrik oksit veya redükte form (NO[·])
3. Nitrosonium iyonu veya okside form (NO⁺)

NO'nun redükte formunun süperoksit radikaliyle reaksiyona girerek peroksi nitrit oluşturduğu ve sonuçta nörotoksositeye sebep olduğu bildirilmiştir. Halbuki, NO tek başına bu etkiyi göstermeyebilir. Diğer taraftan okside formu NMDA reseptörünün üzerindeki tiol gruplarıyla reaksiyona girerek hücre içine kalsiyum girişini durdurur ve böylece sinaptik iletiyi önler (Lipton ve ark., 1993).

Deney koşullarının basitleştirilmesi ve uygulanan kimyasalların diğer sistemlerden etkilenmemesi bakımından, tek bir nöron veya kültür ortamındaki nöron grupları üzerinde yapılacak elektrofizyolojik ve elektrokimyasal (örneğin NO seviyesinin ölçümü) çalışmalar, epilepsinin fizyopatolojisinde NO'nun yeri ve etki mekanizmasının aydınlatılmasında ve ayrıca çelişkili gibi görünen sonuçların nedenlerinin anlaşılmasında yardımcı olabilir.

5.2. Adenozinin Epilepsiye Etkisi

Adenozin 1980'lerin başında Newby tarafından "misillemeyle ilgili metabolit" olarak, diğer bir araştırmacı tarafından da "bir yaşam sinyali" olarak adlandırıldı (Newby, 1981; Engler, 1991). Adenozinin MSS'de inhibitör etkilere sahip bir nöromodülatör olduğu uzun zamandan beri bilinmektedir (Newby, 1981). Genel olarak inhibitör etkilere sahip olması epilepsi çalışmalarında adenozine olan ilgiyi artırmıştır. Bu güne

kadar adenozinin epilepsiye etkisini konu alan çok sayıda deneysel ve klinik çalışma yapılmıştır. Sağlıklı insan beyininde nöbet gelişiminin ve yayılmasının endojen adenozinin (25-250 nM) tonik antikonvulsan etkisiyle önlenilebileceği bildirilmiştir (Dunwiddie ve Masino 2001; Fredholm ve ark., 2001). Ayrıca epileptik nöbet veya oksijen stresi gibi metabolik stres durumları boyunca ekstraselüler adenzin konsantrasyonunun mikromolar seviyelere doğru hızla bir şekilde gerçekleşen yükselmesinin adenozinin tüm reseptör alt tiplerini aktive edebileceği saptanmıştır (Berman ve ark., 2000). Klinik bir çalışmada hipokampuslarına mikrodiyaliz probu yerleştirilmiş ve kontrol edilmesi zor kompleks parsiyel epilepsiden muzdarip hastalarda, epileptik aktivite boyunca ekstraselüler adenozinin 6-31 kat arttığı gösterilmiştir (During ve Spencer 1992). Adenzin miktarındaki nöbete bağlı bu artışın, devam eden nöbet aktivitesini sonlandırmak için yeterli olabileceği ileri sürülmüştür (Boison, 2005).

Epilepsi durumunda adenozinin doğrudan ölçülmesi veya kullanılmasının yanında epilepsi ile adenzin reseptörlerinin ilişkisi de oldukça fazla araştırılan konulardan birisidir. Birkaç çalışmada epileptik hastalardan ve epilepsi oluşturulmuş kemirgenlerden elde edilen beyin dokularının her ikisinde de adenzin A₁ reseptörlerinin yoğunluğunda değişiklikler gözlenmiştir (Ekonomou ve ark., 2000; Vanore ve ark., 2001). Kimyasal maddelerle nöbetlerin akut olarak indüksiyonu sonucunda hipokampal ve kortikal bölgelerdeki A₁ reseptörlerinde azalma olduğu gösterilmiştir (Vanore ve ark., 2001). Diğer bir çalışmada kainik asit nedenli kronik limbik nöbetlerin ardından hipokampal piramidal hücrelerin ilerleyici dejenerasyonuna paralel olarak A₁ reseptörlerinin yoğunluğunda zamana bağlı bir azalma olduğu saptanmıştır (Ekonomou ve ark., 2000). Son zamanlarda yapılan farklı bir çalışmada tutuşma modeli uygulanmış sıçanların hipokampuslarında A₁ reseptörlerinin aracılık ettiği presinaptik modülatör sistemde bir baskılanma tanımlanmıştır (Rebola ve ark., 2003). Adenzin yanıtındaki bu baskılanmanın, A₁ reseptörlerinin yoğunluğundaki azalma ve daha düşük bazal adenzin seviyesine yol açan metabolik değişikliklerden dolayı gerçekleştiği ileri sürülmüştür (Boison, 2005). Hayvan çalışmalarından elde edilen bulgular, kompleks parsiyel epilepsiden muzdarip hastalara ait hipokampusların tüm tabakalarında gözlenen A₁ reseptör kaybı bulgularıyla uyumlu görünmektedir (Glass ve ark., 1996). Elde edilen bu sonuçlar ışığında, tekrarlayan nöbetlerin A₁

reseptör yoğunluğunda uzun süreli olarak bir azalmaya neden olduğundan söz edilmektedir (Boison, 2005).

Son yıllarda nöbetlerin görüldüğü hastalıkların tedavisinde adenozinin ilaç olarak kullanımını destekleyen çok sayıda veri elde edilmiştir. Farmakolojik olarak A_1 reseptörü üzerine etki eden adenozin ve analoglarının nöronal aktivite üzerine kuvvetli inhibitör etkilere sahip olduğu bildirilmiştir (Dunwiddie ve Masino, 2001). A_1 reseptörü için seçici olan antagonistlerin konvülsiyonları şiddetlendirdiği, 2-kloro-N6-siklopentiladenozin (CCPA) gibi A_1 reseptörü için selektif agonistlerin ise çeşitli epilepsi modellerinde nöbet aktivitesini baskıladığı gösterilmiştir (Monopoli ve ark., 1994; Huber ve ark., 2002; Etherington ve Frenguelli, 2004). Çeşitli modellerdeki etkilerine rağmen A_1 reseptör agonistlerinin, sistemik olarak uygulandıkları zaman yoğun periferik (başlıca kardiyovasküler) yan etkilere neden olmalarından dolayı potansiyel antiepileptik bir ajan olarak kullanılamayacakları bildirilmiştir (Monopoli ve ark., 1994). A_1 reseptörlerinin yanısıra, nöbetlerin baskılanmasında A_{2A} reseptör aktivasyonunun potansiyeli de araştırılmıştır. Adenozin A_{2A} reseptör agonistleri CGS 21680 ve CPCA bikukulin ve pentilentetrazol ile oluşturulan nöbetleri antagonize etmede yetersiz kalırken, bir A_{2A} reseptör antagonisti olan ZM 241385 epileptiform aktivitenin süresini kısaltmıştır (Zhang ve ark., 1994; Malhotra ve Gupta, 1997; Etherington ve Frenguelli, 2004). Bununla birlikte A_{2A} reseptör agonistleri CPCA, 2-HE-NECA ve CGS 21680'in genetik olarak epilepsiye yatkın sıçan ve farelerin beyin sapında gerçekleşen nöbetleri etkili biçimde önledikleri görülmüştür (De Sarro ve ark., 1999; Huber ve ark., 2002). Bu verilere göre A_{2A} reseptörlerinin nöbet aktivitesi üzerindeki etkisinin farklı beyin bölgelerine göre değişebileceği ifade edilmiştir (Boison, 2005).

ADK'nın farmakolojik olarak inhibe edilmesinin de epileptik nöbetlerin önlenmesinde verimli bir araç olabileceği bildirilmiştir (Kowaluk ve Jarvis, 2000; Gouder ve ark., 2004). Diğer taraftan ADK inhibitörlerinin sistemik olarak uygulanmasının sedasyon ve kardiyovasküler fonksiyonlarda bir azalmaya neden olabileceği ifade edilmiştir (Wiesner ve ark., 1999; Gouder ve ark., 2004). ADK enzimi bakımından eksik (knockout) farelerin üretilmesi, normal karaciğer metabolizması için ADK'nın önemini ortaya çıkarmıştır (Boison ve ark., 2002). Bir taraftan bu enzim adenin nükleotid havuzunun yeniden dolması için gerekli iken, diğer taraftan % 85'i

karaciğerde meydana gelen tüm transmetilasyon reaksiyonlarının zorunlu bir ürünü olan adenzinin salınması (veya temizlenmesi) için kullanılmaktadır. ADK eksikliğinin, öldürücü bir hastalık olan mikroveziküler hepatik steatoz'a neden olduğu için, ADK inhibitörlerinin sistemik kullanımının muhtemel bir tedavi seçeneği olamayacağı ifade edilmiştir (Boison ve ark., 2002).

Adenzinin inhibitör bir madde olduğu ve genel olarak epilepsiyi baskıladığı veya azalttığı konusunda araştırmacılar arasında bir görüş birliği bulunmaktadır. Bu güne kadar adenzinin etkinliği farklı deneysel epilepsi modelleri kullanılarak değerlendirilmiş olsa da penisilin modeli deneysel epilepside adenzinin etkisi henüz bilinmemektedir. Sunulan çalışmada penisilinle oluşturulan deneysel epilepsi modelini kullanarak araştırdığımız konulardan birisi de epileptiform aktivite üzerine adenzinin etkisidir. Bu maksatla oluşturduğumuz deney gruplarından birine adenzin (100 µg), diğerine ise spesifik olmayan bir adenzin reseptör antagonisti olan teofilin (100 µg) uygulandı. Deneylerde uygulanan 100 µg (i.c.v.) adenzin ilk 5 dk içerisinde etkisini göstererek, spike sayısını 24.5 ± 3 /dk'dan 10.2 ± 2 /dk düzeyine düşürdü. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, adenzin enjeksiyonu sonrasındaki ilk 30 dk boyunca spike sayısının istatistiksel açıdan anlamlı olarak azaldığı saptandı (farklı zaman dilimlerinde anlamlılık değişmektedir. Spike amplitüdü açısından adenzin enjeksiyonu sonrasında kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık saptanmadı.

Adenzin reseptör antagonisti teofilini 100 µg dozda i.c.v. olarak uyguladığımızda, enjeksiyonun hemen ardından deneyin sonuna kadar tüm kayıt süresi boyunca spike sayısının kontrol grubuna göre artmış olduğu görüldü (farklı zaman dilimlerinde anlamlılık değişmektedir). Ayrıca teofilin enjeksiyonu sonrasında spike amplitüdünün de yükseldiği ve enjeksiyon sonrasındaki 3. - 15. dk'lar arasındaki amplitüd değerlerindeki artış istatistiksel açıdan anlamlı olduğu saptandı. Deneyin geri kalan bölümünde amplitüd değerlerinin kontrol grubundan yüksek olduğu fakat bu farkın istatistiksel açıdan anlamlı olmadığı bulundu.

Deneylerden elde edilen bulgular ışığında ekzojen adenzin uygulanmasının spike frekansını azalttığı, teofilinin neden olduğu adenzin reseptörler blokajının ise hem spike frekansını hem de spike amplitüdünü artırdığı görüldü.

Sunulan bu çalışmayla ilk defa bu modelde adenzinin etkinliği denenmiş ve epileptiform aktiviteyi önemli derecede azalttığı saptanmıştır. Kardiyovasküler yan

etkiler adenozinin sistemik olarak uygulanmasının önünde bir engel teşkil eden en önemli sınırlayıcı unsurlardan birisidir (Olsson ve Pearson, 1990). Sunulan çalışmada adenzin intrakortikal yoldan uygulanarak sistemik yan etkilerin önlenmesi amaçlanmıştır. Bununla birlikte adenozinin intrakortikal yoldan kullanılmış olduğu çalışmaları da bulunmaktadır (Anschel ve ar., 2004). Anschel ve meslektaşlarının yaptıkları çalışmada adenzin % 75’lik DMSO’da çözülerek uygulanmıştır (Anschel ve ar., 2004). DMSO’nun muhtemel etki veya yan etkilerinin azaltılması maksadıyla sunulan çalışmada % 20’lik DMSO kullanılmıştır. Yine diğeri çalışmada toplam spike değerlendirilirken bu çalışmada her bir dk başına spike ve amplitüdün zamana bağılı değışimi incelenmiş ve bir anlamda “maddelerin etkinliklerinde zamanla nasıl bir değışim oluyor?” sorusuna da cevap aranmıştır.

Deneylerde kullandığımız teofilinin konvulsan ve prokonvulsan etkilere sahip olduğu bilinmektedir (Glenn ve ark., 1995; Shannon ve Maher, 1995; Gupta ve Malhotra, 1997). Anestezi altında kedilere kortikal penisilin verilerek oluşturulan nöbetlerde teofilinin interiktal deşarjların süresini uzattığı görülmüştür (Eldridge ve ark., 1989). Sıçanlarda yapılan farklı bir çalışmada PTZ ile oluşturulan nöbetler üzerine antiepileptik ilaçların sergiledikleri koruyucu etkilerin teofilinin (50 mg/kg, i.p.) tarafından önlediğı bildirilmiştir (Gupta ve Malhotra, 1997). Fakat sıçanlarda penisilinle oluşturulan epileptiform aktiviteye teofilinin etkisini değerlendiren herhangi bir çalışmaya rastlanmadı. Sunulan çalışma ile penisilinın sebep olduğu epileptiform aktivitede spike ve amplitüd değerleri üzerinde teofilinin etkisi ilk defa incelenmiştir.

Adenozinin epilepsiyle olan ilişkisini araştıran çalışmalardan elde edilen bulgular ışığında, adenozinin antikonvulsan özelliğe sahip inhibitör bir nöromodülatör olduğu ve bu etkisini muhtemelen A₁ reseptörü üzerinden gerçekleştirdiğini tahmin edebiliriz. Adenzin veya teofilin uyguladığımız deney gruplarında, adenzin reseptör antagonizmasının devam eden epileptik aktiviteyi artırdığı, adenzin miktarındaki artışın ise epileptik aktivitede bir azalmaya neden olduğu görüldü. Elde ettiğimiz bulgular andenozinin antikonvulsan özelliğe sahip bir madde olduğunu belirten literatür bilgileriyle örtüşmektedir (Eldridge ve ark., 1989; Anschel ve ar., 2004).

5.3. Deneysel Epilepside Nitrik Oksit ve Adenzin Etkileşimi

Biyolojik sistemlerde aynı anda çok sayıda madde üretilmekte, salınmakta ve metabolik olarak yıkılmaktadır. Nöronal yapılarda da bir hücreden sadece tek bir

nörotransmitter/nöromodülatör salınmayıp aynı anda çok sayıda nöroaktif madde salınmakta veya hedef hücreyi etkilemektedir. Aynı zamanda nöroaktif bir madde diğer birinin salınmasını artırmakta veya azaltmaktadır. Canlı bir sistemde (veya yapıda) ifade edilen bu olayların tamamının bir bileşkesi fizyolojik yanıtları ortaya çıkarmaktadır. Bir sistemi oluşturan yapıların birbirinden bağımsız olduğunu veya aralarında fonksiyonel bir ilişki olamayacağı ileri sürmek nasıl mümkün görünmüyorsa, aynı hücreden salınan veya aynı hücreyi etkileyen iki nöroaktif maddenin birbirleriyle ilişkilerinin olamayacağını iddia etmek de mümkün değildir. İki maddenin ilişkisini ortaya koymanın en iyi yollarından birisi deneysel modeller üzerinde yapılan etkileşim çalışmalarıdır.

NO ve adenzin MSS'deki birçok fizyolojik ve fizyopatolojik olayda rol oynayan ve aynı sinir hücrelerinde bulunabilen iki nöroaktif maddedir. Bu iki maddenin etkileşimleri özellikle periferik doku ve sistemlerde araştırılmıştır. Domuz koroner arterinden elde edilen endotelial hücre kültüründe (PCAEC) yapılan bir çalışmada adenzin agonistlerinin nitrit üretimini artırdığı bulunmuştur (Olanrewaju ve ark., 2000). Aynı laboratuvarında yapılan farklı bir çalışmada adenzin agonistlerinin, PCAEC'de NO üretimi aracılığıyla cGMP'yi artırdığı ve bu etkiye adenzin A_{2A} ve A_{2B} reseptörlerinin aracılık ettiği gösterilmiştir. Elde edilen bulguların adenzin A_{2B} reseptörü ile NO üretimi arasındaki bağlantısı için ilk doğrudan kanıt olduğu ifade edilmiştir (Hammed ve ark., 2000). Kardiyovasküler sistemle ilgili farklı bir çalışmada, nükleus traktus solitarius (NTS) içerisine yapılan adenzin mikroenjeksiyonunun kardiyovasküler sistemde baskılanmaya ve bradikardik etkilere neden olduğu gösterilmiştir. Önceden adenzin reseptör antagonisti DPSPX ve NO sentaz inhibitörleri L-NMMA veya L-NAME'nin enjekte edilmesi adenzinin NTS'ye enjeksiyonu sonrasında ortaya çıkan kardiyovasküler etkileri azaltmıştır. Bu sonuçlara göre sıçan NTS'sinde adenzin tarafından adenzin reseptörlerinin aktivasyonuna NO'nun aracılık edebileceği ileri sürülmüştür (Lo ve ark., 1998). Domuzlarda yapılan farklı bir çalışmada adenzinin neden olduğu koroner mikrovasküler dilatasyona özellikle A_{2A} reseptörlerinin aracılık ettiği bulunmuştur. Bu reseptörlerinin aktivasyonunun endotelial NO'nun salınması ve düz kas hücrelerindeki K_{ATP} kanallarının açılmasıyla vazodilatasyona neden olduğu görülmüştür (Hein ve ark., 1999).

NO ile adenozinin etkileşimi periferik dokuların yanı sıra MSS ve nöronlar üzerinde de araştırılmıştır. NO donörleri SNAP ve SNP'nin doza bağımlı bir şekilde purinlerin salınımını uyarabileceği bildirilmiştir (Fallahi ve ark., 1996). SNAP ve diğer NO donörleri birkaç yoldan purinlerin salınımlarını uyarabilir. NO'nun guanilil siklazı stimüle ettiği ve hücre içi cGMP miktarını artırdığı bilinmektedir. Bu durum sinir sonlanmalarından salınan nöroaktif maddelerin miktarlarını değiştirebilir (Garthwaite, 1991). SNAP'ın serebral kortikal nöronlardan nörotransmitter salınımını uyarma yeteneği serbest oksijen radikalleriyle, muhtemelen peroksinitrit anyonunun oluşumuyla ilişkili olan süperoksit dismutaz tarafından bloklanmaktadır (Ohkuma et al., 1995). Peroksinitrit birçok hücrenel bileşenle etkileşerek sonunda NO aracılığıyla purin salınımının artmasına yol açabilir. Bir NO donörünün uygulanmasının ardından adenozinin aşırı miktarda artışı, hücrelerden adenin nükleotidlerinin salınımından veya adenozinin intrasellüler ortamda artışı takiben ekstrasellüler alana taşınması durumlarından kaynaklanabilir. Sıçan hipokampal dilimlerde yapılan bir çalışmada, NO'nun peroksinitriti oluşturmak için süperoksitle etkileştiği sonradan da hipokampal dilimlerden adenzin ve adenin nükleotidlerinin salınımını artırdığı gösterilmiştir. (Broad ve ark., 2000).

NO ve adenozinin ilişkisi uyku oluşumunda da araştırılmıştır. NOS inhibitörleri kullanılarak yapılan birkaç çalışmada tavşan ve sıçanda NO enzim aktivitesinin bloklanmasıyla uykunun engellendiği saptanmıştır (Kapas ve ark., 1994; Burlet ve ark., 1999).

Sıçanlarda yapılan bir çalışmada, hipokampusun 0.5 mM SNP ile perfüzyonu süresince nöbet geliştiği ve ekstrasellüler adenzin salınımında bir artışın olduğu gösterilmiştir (Kaku ve ark., 2001). Adenzin, glutamatın salınımını presinaptik olarak bloklayan ve adenzin A₁ reseptörü aracılığıyla hipokampal CA₁ bölgesindeki piramidal hücreleri postsinaptik olarak hiperpolarize eden bir nöromodulatördür. Bu fonksiyon kapsamında adenzin miktarındaki artışın epileptik aktivite karşısında koruyucu bir yanıt olduğu ifade edilmektedir. Sonuç olarak bu çalışmada sıçan hipokampusunun CA₁ bölgesindeki piramidal nöronlarda gerçekleşen adenzin salınımındaki artışın, NO'nun kendisi ve kısmen de süperoksit radikaliyle birlikte oluşturduğu peroksinitrit tarafından tetiklenen SNP nedenli nöbet oluşumuyla yakından ilgili olduğu bildirilmiştir (Kaku ve ark., 2001).

NO ve adenzinin epilepside etkileşimlerini araştıran herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Sunulan alışma ile bir deneysel epilepsi modelinde NO ve adenzinin etkileşimi ilk defa incelenmiştir. Bu maksatla oluşturulan deney gruplarına bu iki sisteme ait agonist ve antagonistler bir arada uygulanarak epileptiform aktivitedeki değişimler araştırılmıştır.

NO eksikliğinde adenzinin rolünün değerlendirildiği L-NAME+adenzin grubunda; spike frekansı açısından kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılığın olmadığı görüldü. L-NAME enjeksiyonundan 10 dk sonra uygulanan adenzinin inhibitör bir etki göstermediği saptandı (sadece adenzin uygulanan gruba göre). Oysa adenzin tek başına uygulandığında spike sayısında önemli miktarda azalmaya neden olmuştu. L-NAME+adenzin grubundan elde edilen amplitüd değerlerinin yine kontrol grubundan elde edilen amplitüd değerinden farklı olmadığı görüldü. Bununla birlikte yalnızca adenzin uygulanan gruba göre amplitüd değerlerinin 18. dk'da arttığı, L-NAME grubuna göre ise 36. dk azaldığı saptandı. Adenzinin tek başına verilmesiyle ortaya çıkan baskılanmanın L-NAME tarafından önlenmesi, adenzinin epileptiform aktivite üzerindeki inhibitör etkisine NO'nun aracılık edebileceğini düşündürmektedir.

Adenzin reseptör blokajında NO artışının değerlendirildiği teofilin+SNP grubunda; spike frekansının teofilin enjeksiyonu ile birlikte istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde arttığı, SNP enjeksiyonundan sonra ise bu artışın 20 dk içerisinde kontrol grubu değerlerine indiği görüldü. Yine amplitüd açısından da aynı değişimlerin olduğu, teofilin enjeksiyonu ile önce amplitüdün arttığı, SNP enjeksiyonundan 15 dk sonra kontrol değerlerine indiği saptandı. Bu sonuçlar adenzin reseptör blokajının epileptik aktivitede bir artışa neden olduğu, ortama NO salan SNP verildiğinde bu artışın önlenildiği ve epileptik aktivitenin kontrol grubu düzeyine gerilediğini göstermektedir. Oysa yalnızca teofilin uygulanan grupta saptanan spike değerindeki anlamlı artışın deney boyunca sürdüğü, SNP uygulanan grupta ise teofilinin tam tersine kontrol grubuna göre anlamlı bir azalmanın olduğu saptanmıştı.

Adenzin ve NO miktarındaki artışın değerlendirildiği adenzin+SNP grubunda; ilk dk'lardan itibaren spike sayısının yaklaşık 30 dk boyunca kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde azaldığı saptandı. Deneyin geri kalan son 30 dk'daki fark anlamlı bulunmadı. Bu grubu L-NAME+adenzin uygulanan deney grubuyla karşılaştırdığımızda yine ilk 30 dk'lık bölümde anlamlı bir azalmanın olduğu

görüldü. Fakat sadece adenozin uygulanan veya sadece SNP uygulanan gruplara göre tüm kayıt boyunca anlamlı bir farklılık saptanmadı. Bu gruptan elde edilen amplitüd değerlerinin kontrol grubu değerlerine göre azalmış olduğu görülse de aradaki farklılık istatistiksel açıdan anlamlı bulunmadı.

Adenozin ve NO antagonizmasının etkilerinin değerlendirildiği teofilin+L-NAME grubunda; spike sayısının ilk dakikalardan itibaren kontrol grubuna göre hızla yükseldiği ve aradaki bu farkın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu saptandı. Amplitüd açısından kontrol grubu değerlerine göre bu grupta hafif bir yükselmenin olduğu görülse de bu farklılık istatistiksel açıdan anlamlı bulunmadı. Tek başına teofilin veya L-NAME uygulanması sonrasında ortaya çıkan amplitüddeki artışın bu iki maddenin birlikte uygulanmasında görülmemesi araştırılması ve yeni bulgular ışığında yorumlanması gereken bir konudur.

Tüm deney gruplarından elde edilen bulgular birarada değerlendirilirse:

Ortamda NO üretimi bloklandığı zaman adenozinin tek başına sergilemiş olduğu inhibitör yanıtın görülmemesi, adenozinin epileptiform aktivite üzerindeki inhibitör etkisine NO'nun aracılık edebileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte adenozin reseptör blokajının epileptik aktivitede bir artışa neden olduğu, ortama NO salan SNP verildiği zaman bu artışın önlendiği ve epileptik aktivitenin kontrol grubu düzeyine gerilediği görülmüştür. Oysa yalnızca teofilin uygulanan grupta epileptiform aktivitenin deney boyunca kontrol grubu değerlerinden daha şiddetli olduğu, SNP uygulanan grupta ise teofilinin tam tersine kontrol grubuna göre anlamlı bir azalmanın olduğu saptanmıştı. Bulgular adenozinin etkisine NO'nun aracılık edebileceği fikrini desteklemektedir. Adenozin ve NO'nun birlikte artışından veya her ikisinin etkisinin aynı anda önlenmesinden sonra ortaya çıkan epileptiform aktivite seyrinin, adenozinin (veya SNP'nin) ve teofilinin tek başına gösterdiği etkiden farklı olmaması, her iki molekülün birbirinin etkisini güçlendirmedeği ve etkinin sadece maddelerin bağımsız etkilerinin bir toplamı şeklinde olduğunu göstermektedir.

MSS fonksiyonlarıyla ilişki çalışmalarda daha çok NO'nun endojen adenozin salınımını artırdığı bildirilirken, kardiyovasküler sistem üzerinde yapılan çalışmalarda adenozinin etkisine NO'nun aracılık ettiği ifade edilmektedir (Fallahi ve ark., 1996; Broad ve ark., 2000; Hammed ve ark., 2000; Olanrewaju ve ark., 2000). Deneyler sonucunda elde edilen bulgular NO ve adenozinin kardiyovasküler sistemdeki

etkileşimlerini yani adenzinin NO üzerinden etkinlik gösterdiği yönündeki literatür bilgilerini desteklemektedir (Hammed ve ark., 2000; Olanrewaju ve ark., 2000). Sıçan NTS'sinde adenzinin kendi reseptörlerini aktive etmesinde NO'nun aracılık edebileceğinin ifade edilmesi ve bu sonuçların nöronal yapılardan elde edilmiş olması bulgularımızın desteklediği literatür içerisinde bu çalışmanın ayrı bir önem taşımasına neden olmaktadır (Lo ve ark., 1998).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sunulan çalışmadan elde edilen bulguların tamamı şu şekilde özetlenebilir:

Wistar sıçanlar üzerinde yapılan penisilin modeli deneysel epilepside;

- NO ve adenzin antikonvulsan özellik taşımaktadırlar

-Adenzinin antikonvulsan etkisinin NO aracılığıyla gerçekleştiği düşünülmektedir

- Adenzin reseptör blokajında ortaya çıkan epileptik aktivite artışı, ortama NO verilmesiyle birlikte normal seviyelere inmektedir

- Adenzin ve NO'nun birlikte artışından veya her ikisinin etkisinin aynı anda önlenmesinden sonra ortaya çıkan epileptiform aktivite seyrinin, adenzinin (veya SNP'nin) ve teofilinin tek başına gösterdiği etkiden farklı olmaması, her iki molekülün birbirinin etkisini güçlendirmedeği ve etkinin sadece maddelerin bağımsız etkilerinin bir toplamı şeklinde olduğunu göstermektedir.

Epilepside NO ve adenzinin etkileşimini inceleyen herhangi bir deneysel ve klinik araştırmanın yapılmadığı dikkate alınır, adenzinin antikonvulsan etkisinin NO bağımlı bir mekanizma üzerinden gerçekleştiği ilk defa bu tez çalışmasında gösterilmiştir. Elde edilen bulguların geliştirilmesi ve epilepside NO ile adenzin arasındaki ilişkinin tam anlamıyla aydınlığa kavuşturulabilmesi için farklı deneysel epilepsi modelleri kullanılarak her iki sistemin bir arada incelenmesi ve epilepsi çalışmalarının yanı sıra epileptiform aktivite sırasında bu iki maddenin sekresyonlarının ölçülebileceği mikrodializ ve nörokimyasal metodları da içeren çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

- Abebe, W., Hussain, T., Olanrewaju, H.A., Mustafa, S.J., (1995). Role of nitric oxide in adenosine receptor-mediated relaxation of porcine coronary artery. *Am. J. Physiol.* **269**, 1672-1678.
- Andreassi, J.L. (2000). *Psychophysiology Human Behavior and Physiological Response. Fourth Ed.*, Lawrence Erlbaum Associates.
- Annegers, J.F. (1994). Epidemiology and genetics of epilepsy. *Neurologic Clinics.* **12**, 15-29.
- Annegers J.F., Rocca, W.A, Hauser, W.A. (1996). Causes of epilepsy: contributions of the Rochester epidemiology project. *Mayo Clin Proc*, **71**, 570-5.
- Antle, M.C., Steen, N.M., Mistlberger, R.E., (2001). Adenosine and caffeine modulate circadian rhythms in the Syrian hamster. *NeuroReport* **12**, 2901–2905.
- Asanuma, H. (1973). Cerebral Cortical control of movement. *Physiologist*, **16**, 143-166.
- Avanzini, G. and Franceschetti, S. (2003). Cellular biology of epileptogenesis. *THE LANCET Neurology*, **2**, 33-42.
- 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.
- Bannerman, D.M., Chapman, P.F., Kelly, P.A., Butcher, S.P., Morris, R.G., (1994). Inhibition of nitric oxide synthase does not impair spatial learning. *J. Neurosci.* **14**, 7404–7414.
- Barr, M.L. ve Kiernan, J.A. (1988). *The Human Nervous System. Fifth Ed.* Lippincott Company, Philadelphia, 224-230.
- Barraco, R.A., Aggarwal, A.K., Phillis, J.W., Moron, M.A., Wu, P.H., (1984). Dissociation of the locomotor and hypotensive effects of adenosine analogues in the rat. *Neurosci. Lett.* **48**, 139–144.
- Bashkatova, V., Narkevich, V., Vitskova, G., Vanin, A. (2003). The influence of anticonvulsant and antioxidant drugs on nitric oxide level and lipid peroxidation in the rat brain during penthylenetetrazole-induced epileptiform model seizures. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* **27**, 487-492.
- Bashkatova, V., Vitskova, G., Narkevich, V., Vanin, A., Mikoyan, V., Rayevsky, K. (2000). Nitric oxide content measured by ESR-spectroscopy in the rat brain is increased during penthylenetetrazole-induced seizures. *J Mol Neurosci.* **14**, 183-190.

- Benington, J.H., Kodali, S.K., Heller, H.C., (1995). Stimulation of A₁ adenosine receptors mimics the electroencephalographic effects of sleep deprivation. *Brain Res.* **692**, 79–85.
- Berger, H. (1929). Über das Elektroenkephalogram des Menschen. *Arch. f. Psychiat.* **87**: 527-70
- Bernabeu, R., de Stein, M.L., Fin, C., Izquierdo, I., Medina, J.H., (1995). Role of hippocampal NO in the acquisition and consolidation of inhibitory avoidance learning. *NeuroReport* **6**, 1498–1500.
- Berman, R.F., Fredholm, B.B., Aden, U., O'Connor, W.T. (2000). Evidence for increased dorsal hippocampal adenosine release and metabolism during pharmacologically induced seizures in rats. *Brain Res.* **872**, 44–53.
- Bhargava, V.K., Balakrishnan, S. (1999). Role of nitric oxide on insulin induced seizures in mice. *Indian J Physiol Pharmacol.* **43**, 373-377.
- Biziere, K., and Chambon, J.P. (1987). Animal models of epilepsy and experimental seizures. *Rev. Neural.* **143**, 329-340.
- Blum, D., Gall, D., Galas, M.C., d'Alcantara, P., Bantubungi, K., Schiffmann, S.N., (2002). The adenosine A1 receptor agonist adenosine amine congener exerts a neuroprotective effect against the development of striatal lesions and motor impairments in the 3-nitropropionic acid model of neurotoxicity. *J. Neurosci.* **22**, 9122–9133.
- Boison, D. (2005). Adenosine and Epilepsy: From Therapeutic Rationale to New Therapeutic Strategies. *The Neuroscientist*, **11**, 25-36.
- Boison, D., Scheurer, L., Zumsteg, V., Rüllicke, T., Litynski, P., Fowler, B., and others. (2002). Neonatal hepatic steatosis by disruption of the adenosine kinase gene. *Proc Natl Acad Sci U S A* **99**, 6985–6990.
- Boulenger, J.-P., Uhde, T.W., Wolff, E.A., Post, R.M., (1984). Increased sensitivity to caffeine in patients with panic disorders. *Arch. Genet. Psychiatr.* **41**, 1067–1071.
- 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.
- Böhme, G.A., Bon, C., Stutzmann, J.M., Doble, A., Blanchard, J.C., (1991). Possible involvement of nitric oxide in long-term potentiation. *Eur. J. Pharmacol.* **199**, 379–381.
- Böhme, G.A., Bon, C., Lemaire, M., Reibaud, M., Piot, O., Stutzmann, J.M., Doble, A., Blanchard, J.C., (1993). Altered synaptic plasticity and memory formation in nitric oxide synthase inhibitor- treated rats. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **90**, 9191–9194.

- Broad, R.M., Fallahi, N., Fredholm, B.B. (2000). Nitric oxide interacts with oxygen free radicals to evoke the release of adenosine and adenine nucleotides from rat hippocampal slices *Journal of the Autonomic Nervous System* **81**, 82–86.
- Brundege, J.M., Dunwiddie, T.V. (1996). Modulation of excitatory synaptic transmission by adenosine released from single hippocampal pyramidal neurons. *J Neurosci.* **16**, 5603-5612.
- Brundege, J.M., Dunwiddie, T.V. (1998). Metabolic regulation of endogenous adenosine release from single neurons. *Neuroreport.* **9**, 3007-3011.
- Buisson, A., Lackmeche, N., Verrecia, C., Plotkine, M., Bolou, R.G. (1993). Nitric oxide: an endogenous anticonvulsant substance. *NeuroReport*, **4**, 444–446.
- Burnstock, G., (1978). A basis for distinguishing two types of purinergic receptor. In: *Cell Membrane Receptors for Drugs and Hormones: A Multidisciplinary Approach*. Straub, R.W., Bollis, L. (Eds.), Raven Press, New York, 107–118.
- Burlet, S., Leger, L., Cespeglio, R. (1999). Nitric oxide and sleep in the rat: a puzzling relationship. *Neuroscience* **92**, 627– 639.
- Cajal, S.R. (1899). Estudios sobre la corteza cerebral humana. II: Estructura de la corteza motriz del hombre y mamíferos superiores. *Revista Trimestral Micrográfica*, **4**, 117-200.
- Calabresi, P., Gubellini, P., Centonze, D., Sancenario, G., Morello, M., Giorgi, M., Pisani, A., Bernardi, G., (1999). A critical role of the nitric oxide: cGMP pathway in corticostriatal long-term depression. *J. Neurosci.* **19**, 2489–2499.
- Capasso, A., Loizzo, A., (2001). Purinoreceptors are involved in the control of acute morphine withdrawal. *Life Sci.* **69**, 2179–2188.
- 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 in-vivo: implications for Alzheimer's disease. *Neuroscience* **91**, 831–842.
- Chapman, P.F., Atkins, C.M., Allen, M.T., Haley, J.E., Steinmetz, J.E., (1992). Inhibition of nitric oxide synthesis impairs two different forms of learning. *NeuroReport* **3**, 567–570.
- Cobb, B.L., Pyan, K.L., Frei, M.R., Guel-Gomez, V., Mickley, G.A., (1995). Chronic administration of L-NAME in drinking water alters working memory in rats. *Brain Res. Bull.* **38**, 203–207.

- Collier, H.O., Cuthbert, N.J., Francis, D.L., (1981). Character and meaning of quasi-morphine withdrawal phenomena elicited by methylxanthines. *Fed. Proc.* **40**, 1513–1518.
- Colonnier, M. (1966). The Structural Design of the Neocortex. In: *The brain and conscious experience*. Eccles, J.C. (Ed.), Springer Verlag.
- Commission of Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy. (1989). Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes. *Epilepsia*, **30**, 389-99.
- Consolo, S., Casseti, A., Uboldi, 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.
- Correia-de-Sá, P., Sebastião, A.M., Ribeiro, J.A., (1991). Inhibitory and excitatory effects of adenosine receptor agonists on evoked transmitter release from phrenic nerve endings of the rat. *Br. J. Pharmacol.* **103**, 1614–1620.
- Coulter, J.D., Ewing, L.K. and Carter, C.M. (1976). Origin of primary sensorimotor cortical projections to lumbar spinal cord of the cat and monkey. *Brain Res.* **103**, 366-372
- Craig, C.G., White, T.D., (1993). NMDA-evoked adenosine release from rat cortex does not require the intermediate formation of nitric oxide. *Neurosci. Lett.* **158**, 167–169.
- Crepel, F., Jaillard, D., (1990). Protein kinases, nitric oxide and long-term depression of synapses in the cerebellum. *NeuroReport* **1**, 133–136.
- Creutzfeldt, O., Watanabe, S., Lux, H.D. (1966). Relations between EEG-phenomena and potentials of single cortical cells. I. Evoked responses after thalamic and epicortical stimulation. II. Spontaneous and convulsoid activity. *Electroencephalic Neurophysiol*; **20**, 1-37.
- Cummings, J.A., Nicola, S.M., Malenka, R.C., (1994). Induction in the rat hippocampus of long-term potentiation (LTP) and long-term depression (LTD) in the presence of a nitric oxide synthase inhibitor. *Neurosci. Lett.* **176**, 110–114.
- Cunha, R.A., Correia-de-Sá, P., Sebastião, A.M., Ribeiro, J.A., (1996). Preferential activation of excitatory adenosine receptors at rat hippocampal and neuromuscular synapses by adenosine formed from adenine nucleotides. *Br. J. Pharmacol.* **119**, 253–260.
- Czuczwar, S.J., Tutka, P., Klonowski, P., Kleinrok, Z. (1999). N(G)-nitro-L-arginine impairs the anticonvulsive action of ethosuximide against pentylenetetrazol. *Eur J Pharmacol.* **366**, 137-142.

- Çalış, Ü. (2004). Antiepileptik İlaçlar. In: *Farmasötik Kimya*. Akgün,H., Balkan, A., Bilgin, A.A., Çalış, Ü., Gökhan, N., Dalkara, S., Erdoğan, H., Demir Erol, D., Ertan, M., Özkanlı, F., Palaska, E., Saraç, S., Şafak, C., Tozkoparan, B., **2. Baskı**, Hacettepe Üniversitesi, Ankara.
- De Boer, HM. (2002). “Out of the shadows:” a global campaign against epilepsy. *Epilepsia*, **43**(suppl 6):7-8.
- Deckert, J., Morgan, P.F., Marangos, P.J., (1988). Adenosine uptake site heterogeneity in the mammalian CNS? Uptake inhibitors as probes and potential neuropharmaceuticals. *Life Sci.* **42**, 1331–1345.
- 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. *Braz J Med Biol Res.* **30**, 971-979.
- Demehri, S., Homayoun, H., Honar, H., Riazi, K., Vafaie, K., Roushanzamir, F., Dehpour, A.R. (2003). Agmatine exerts anticonvulsant effect in mice: modulation by alpha 2-adrenoceptors and nitric oxide. *Neuropharmacology.* **45**, 534-542.
- De Sarro, G., De Sarro, A., Di Paola, E.D., Bertorelli, R. (1999). Effects of adenosine receptor agonists and antagonists on audiogenic seizure-sensible DBA/2 mice. *Eur J Pharmacol.* **371**, 137-145.
- de Mendonça, A., Almeida, T., Bashir, Z.I., (1997). Endogenous adenosine attenuates long-term depression and depotentiation in the CA1 region of the rat hippocampus. *Neuropharmacology* **36**, 161–167.
- de Mendonça, A., Ribeiro, J.A., (1994). Endogenous adenosine modulates long-term potentiation in the hippocampus. *Neuroscience* **62**, 385–390.
- de Mendonça, A., Ribeiro, J.A., (2001). Adenosine and synaptic plasticity. *Drug Dev. Res.* **52**, 283–290.
- de Mendonça, A., Sebastião, A.M., Ribeiro, J.A., (1995). Inhibition of NMDA receptor-mediated currents in isolated rat hippocampal neurons by adenosine A1 receptor activation. *NeuroReport* **6**, 1097–1100.
- de Mendonça, A., Sebastião, A.M., Ribeiro, J.A., (2000). Adenosine: does it have a neuroprotective role after all? *Brain Res. Rev.* **33**, 258–274.
- Dev, K.K., Morris, B.J., (1994). Modulation of a-amino-3-hydroxy-5- methylisoxazole-4-propionic acid (AMPA) binding sites by nitric oxide. *J. Neurochem.* **63**, 946–952.
- Dinerman, J.L., Dawson, T.M., Schell, M.J., Snowman, A., Snyder, S.H., (1994). Endothelial nitric oxide synthase localized to hippocampal pyramidal cells: implications for synaptic plasticity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **91**, 4214–4218.

- Dixon, A.K., Gubitz, A.K., Sirinathsinghji, D.J., Richardson, P.J., Freeman, T.C., (1996). Tissue distribution of adenosine receptor mRNAs in the rat. *Br. J. Pharmacol.* **118**, 1461–1468.
- Doody, R.S., Stevens, J.C., Beck, C., (2001). Practice parameter: management of dementia (an evidence-based review). Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology* **56**, 1154–1166.
- Doolette, D.J. (1997). Mechanism of adenosine accumulation in the hippocampal slice during energy deprivation. *Neurochem Int.* **30**, 211–223.
- Doyle, C., Ho¨ Ischer, C., Rowan, M.J., Anwyl, R., (1996). The selective neuronal NO synthase inhibitor 7-nitroindazole blocks both longterm potentiation and depotentiation of field EPSPs in rat hippocampal CA1 in vivo. *J. Neurosci.* **16**, 418–424.
- Dragunow, M., (1986). Adenosine: the brain's natural anticonvulsivant? *Trends Pharmacol. Sci.* **7**, 128–130.
- Dragunow M. (1988). Purinergic mechanisms in epilepsy. *Prog Neurobiol.* **31**, 85–108.
- Dreifuss F.E., Bancaud J., Henriksen O., Rubio-Donnadieu F., Seino M., Penry J.K. (1981). Proposal for the revised clinical and electroencephalographic classification of epileptic seizures. *Epilepsia*, **22**, 489–501.
- Dunwiddie, T.V. (1999). Adenosine and suppression of seizures. *Adv Neurol.* **79**, 1001–1010.
- Dunwiddie, T.V., Hoffer, B.J. (1980). Adenine nucleotides and synaptic transmission in the in vitro rat hippocampus. *Br J Pharmacol.* **69**, 59–68.
- Dunwiddie, T.V., Diao, L. (1994). Extracellular adenosine concentrations in hippocampal brain slices and the tonic inhibitory modulation of evoked excitatory responses. *J Pharmacol Exp Ther.* **268**, 537–545
- Dunwiddie, TV., Diao L., Kim, H.O., Jiang, J.L., Jacobson, K.A. (1997). Activation of hippocampal adenosine A3 receptors produces a desensitization of A1 receptor-mediated responses in rat hippocampus. *J Neurosci.* **17**, 607–614.
- Dunwiddie, T.V., Masino, S.A., (2001). The role and regulation of adenosine in the central nervous system. *Ann. Rev. Neurosci.* **24**, 31–55.
- During, M.J., Spencer, D.D. (1992). Adenosine: a potential mediator of seizure arrest and postictal refractoriness. *Ann Neurol* **32**, 618–624
- Edwards, F.A., Gibb, A.J., Colquhoun, D., (1992). ATP receptor-mediated fast synaptic currents in the central nervous system. *Nature* **359**, 144–147.

- eFelipe and Jones, *Cajal on the Cerebral Cortex*. Oxford University Press, New York. 1988
- Ekonomou, A., Sperk, G., Kostopoulos, G., Angelatou, F. (2000). Reduction of A1 adenosine receptors in rat hippocampus after kainic acid-induced limbic seizures. *Neurosci Lett.* **284**, 49–52.
- Eldridge, F.L., Paydarfar, D., Scott, S.C., Dowell, R.T. (1989). Role of endogenous adenosine in recurrent generalized seizures. *Exp Neurol.* **103**, 179–185.
- Elliott, K.J., Todd-Weber, E., Rea, M.A., (2001). Adenosine A₁ receptors regulate the response of the hamster circadian clock to light. *Eur. J. Pharmacol.* **414**, 45–53.
- Engler, R.L., (1991). Adenosine, the signal of life? *Circulation* **84**, 951–954.
- Erdemli, G., Krnjevic, K., (1995). Nitric oxide tonically depresses a voltage- and Ca-dependent outward current in hippocampal slices. *Neurosci. Lett.* **201**, 57–60.
- Etherington, L.A., Frenguelli, B.G. (2004). Endogenous adenosine modulates epileptiform activity in rat hippocampus in a receptor subtype-dependent manner. *Eur J Neurosci* **19**, 2539–25350.
- Fallahi, N., Broad, R.M., Jin, S., Fredholm, B.B., (1996). Release of adenosine from rat hippocampal slices by nitric oxide donors. *J. Neurochem.* **67**, 186–193.
- Fedele, E., Raiteri, M., (1996). Desensitization of AMPA receptors and AMPA-NMDA receptor interaction: an in vivo cGMP microdialysis study in rat cerebellum. *Br. J. Pharmacol.* **117**, 1133–1138.
- Feoktistov I, Biaggioni, I. (1997). Adenosine A_{2B} receptors. *Pharmacol Rev.* **49 (4)**, 381-402.
- Fisher, R.S. (1989). Animal models of the epilepsies. *Brain Res Rev.* **14**, 245-278.
- Fisch, B.J. and Pedley, T.A. (1987). Generalized tonic-clonic epilepsies. In: Lüders, H. and Lesser, R.P. (Eds). *Epilepsy: Electroclinical Syndromes*. New York, Springer,; 151-185.
- Fischer, H., Prast, H., Philippu, A., (1995). Adenosine release in the ventral striatum of the rat is modulated by endogenous nitric oxide. *Eur. J. Pharmacol.* **275**, R5–R6.
- Fountain, N. (2002). *Manual of antiepileptic drug therapy*. University of Virginia, Charlottesville (VA) USA.
- Förstermann, U., Kleinert, H., (1995). Nitric oxide synthase: expression and expressional control of the three isoforms. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **352**, 351–364.

- Fredholm, B.B., Bätig, K., Holmén, J., Nehlig, A., Zvartau, E.E., (1999). Actions of caffeine in the brain with special reference to factors that contribute to its widespread use. *Pharmacol. Rev.* **51**, 83–133.
- Fredholm, B.B., Ijzerman, A.P., Jacobson, K.A., Klotz, K.-N., Linden, J., (2001). International Union of Pharmacology. XXV. Nomenclature and classification of adenosine receptors. *Pharmacol. Rev.* **53**, 527–552.
- Garthwaite, J., Garthwaite, G., Palmer, R.M.J., Moncada, S., (1989a). NMDA receptor activation induces nitric oxide synthesis from arginine in rat brain slices. *Eur. J. Pharmacol.* **172**, 413–416.
- Garthwaite, J., Southam, E., Anderton, M., (1989b). A kainate receptor linked to nitric oxide synthesis from arginine. *J. Neurochem.* **53**, 1952–1954.
- Garthwaite, J. (1991). Glutamate, nitric oxide and cell-cell signalling in the nervous system. *Trends Neurosci.* **14**, 60-67.
- Glass, M., Faul, R.L., Bullock, J.Y., Jansen, K., Mee, E.W., Walker, E.B., and others. (1996). Loss of A1 adenosine receptors in human temporal lobe epilepsy. *Brain Res* **710**, 56–68.
- Glaum, S.R., Slater, N.T., Rossi, D.J., Miller, R.J., (1992). Role of metabotropic glutamate (ACPD) receptors at the parallel fibre-Purkinje cell synapse. *J. Neurophysiol.* **68**, 1453–1462.
- Glenn, G.M., Krober, M.S., Kelly, P., McCarty, J., Weir, M. (1995). Pyridoxine as therapy in theophylline-induced seizures. *Vet Hum Toxicol.* **37**, 342-345.
- Gouder, N., Scheurer, L., Fritschy, J.M., Boison, D. (2004). Overexpression of adenosine kinase in epileptic hippocampus contributes to epileptogenesis. *J Neurosci* **24**, 692–701.
- Göksan, B. (1998). Epilepside tanı yöntemleri. *İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri (Epilepsilerde Tanı ve Tedavi Sempozyumu)* İstanbul, s. 39-50.
- Gray, H. (1954). *Anatomy of the Human Body*. 26th ed.
- Gribkoff, V.K., Lum-Ragan, J.T., (1992). Evidence for nitric oxide synthase inhibitor-sensitive and insensitive hippocampal synaptic potentiation. *J. Neurophysiol.* **68**, 639–642.
- Grooms, S.Y., and Jones, L.S. (1994). Hippocampal in vitro kindling is not blocked by nitric oxide synthase inhibitors. *NeuroReport.* **5**, 1102-1104.

- Gu, J.G., Foga, I.O., Parkinson, F.E., Geiger, J.D., (1995). Involvement of bidirectional adenosine transporters in the release of 1-[3H]adenosine from rat brain synaptosomal preparations. *J. Neurochem.* **64**, 2105–2110.
- Gubitz, A.K., Widdowson, L., Kurokawa, M., Kirkpatrick, K.A., Richardson, P.J., (1996). Dual signalling by the adenosine A_{2A} receptor involves activation of both N- and P-type calcium channels by different G proteins and protein kinases in the same striatal nerve terminals. *J. Neurochem.* **67**, 374–381.
- Guevara-Guzman, R., Emson, P.C., Kendrick, K.M., (1994). Modulation of in vivo striatal transmitter release by nitric oxide and cyclic GMP. *J. Neurochem.* **62**, 807–810.
- Gupta, Y.K., Malhotra, J. (1997). Effect of theophylline on diazepam and sodium valproate protection in pentylenetetrazole - kindled seizures in rats. *Indian J Physiol Pharmacol.* **41**, 280-284.
- Gray, E.G. (1959). Axo-somatic and axo-dendritic synapses of the cerebral cortex : An electron-microscope study. *J. Anat.*, **93**, 420-433.
- Hauber, W., Bareiß, A., (2001). Facilitative effects of an adenosine A₁/A₂ receptor blockade on spatial memory performance of rats: selective enhancement of reference memory retention during the light period. *Behav. Brain Res.* **118**, 43–52.
- Hauber, W., Neuscheler, P., Nagel, J., Muller, C.E., (2001). Catalepsy induced by a blockade of dopamine D₁ or D₂ receptors was reversed by a concomitant blockade of adenosine A_{2A} receptors in the caudate-putamen of rats. *J. Neurosci.* **14**, 1287–1293.
- Haul, S., Godecke, A., Schrader, J., Haas, H.L., Luhmann, H.J., (1999). Impairment of neocortical long-term potentiation in mice deficient of endothelial nitric oxide synthase. *J. Neurophysiol.* **81**, 494–497.
- Hauser WA, Annegers JF, Kurland LT. (1991). The prevalence of epilepsy in Rochester, Minnesota: 1940-1980. *Epilepsia*, **32**, 429-45.
- Hauser, W.A., Annegers, JF., Rocca, W.A. (1996). Descriptive epidemiology of epilepsy: contributions of population-based studies from Rochester, Minnesota. *Mayo Clin Proc.* **71**:578-86.
- Hein, T.W., Belardinelli, L., Kuo, L. (1999). Adenosine A_{2A} Receptors Mediate Coronary Microvascular Dilation to Adenosine: Role of Nitric Oxide and ATP-Sensitive Potassium Channels. *J Pharmacol Exp Ther.* **291**, 655–664.
- Hemart, N., Daniel, H., Jaillard, D., Crepel, F., (1995). Receptors and second messengers involved in long-term depression in rat cerebellar slices in vitro: a reappraisal. *Eur. J. Neurosci.* **7**, 45–53.

- Hoppenbrouwers, M.-L., Bussche, G.V., (1989). Mioflazine, a nucleoside transport inhibitor is it effective as a sleep promoter in humans? In: *Slow Wave Sleep: Pathophysiological and Functional Aspects*. Wauquier, A., et al. (Eds.), Raven Press, New York, pp. 301–309.
- Hoyt, K.R., Tang, L.H., Aizenman, E., Reynolds, I.J., (1992). Nitric oxide modulates NMDA-induced increases in extracellular Ca^{2+} in cultured rat forebrain neurons. *Brain Res.* **592**, 310–316.
- Hölscher, C., Rose, S.P., (1992). An inhibitor of nitric oxide synthesis prevents memory formation in the chick. *Neurosci. Lett.* **145**, 165–167.
- Huber, A., Güttinger, M., Möhler, H., Boison, D. (2002). Seizure suppression by adenosine A2A receptor activation in a rat model of audiogenic brainstem epilepsy. *Neurosci Lett* **329**, 289–292.
- Itzhak, Y., Blockade of sensitization to the toxic effects of cocaine in mice by nitric oxide synthase inhibitors. *Pharmacol Toxicol.* **74**, 162-166.
- Jabbur, S.J., Towe, A.L. (1961). Analysis of the antidromic cortical response following stimulation of the medullary pyramids. *J. Physiol. (Lond.)*, **155**, 148-160.
- Jain, N., Kemp, N., Adeyemo, O., Buchanan, P., Stone, T.W., (1995). Anxiolytic activity of adenosine receptor activation in mice. *Br. J. Pharmacol.* **116**, 2127–2133.
- 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.
- Johansson, B., Halldner, L., Dunwiddie, T.V., Masino, S.A., Poelchen, W., Gimenez-Llort, L., Escorihuela, R.M., Fernandez-Teruel, A., Wiesenfeld-Hallin, Z., Xu, X.J., Hardemark, A., Betsholtz, C., Herlenius, E., Fredholm, B.B., (2001). Hyperalgesia, anxiety, and decreased hypoxic neuroprotection in mice lacking the adenosine A₁ receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **98**, 9407–9412.
- Johnson-Kozlow, M., Kritz-Silverstein, D., Barrett-Connor, E., Morton, D., (2002). Coffee consumption and cognitive function among older adults. *Am. J. Epidemiol.* **156**, 842–850.
- Kaku, T., Jiang, M.H., Hada, J., Morimoto, K., Hayashi, Y. (2001). Sodium nitroprusside-induced seizures and adenosine release in rat hippocampus. *Eur J Pharmacol.* **413**, 199-205.
- Kaneko, K., Itoh, K., Berline, L.J., Miyasaka, K., Fujii, H. (2002). Consequences of nitric oxide generation in epileptic-seizure rodent models as studied by in vivo EPR. *Magn Reson Med.* 48(6):1051-1056.

- Kandel, E.R., Schwartz, J.H., and Jessell, T.M. (1991). *Principles of Neural Science. Third Ed.*, Elsevier Science Publishing, New York.
- Kandel, E.R., Schwartz, J.H., and Jessell, T.M. (2000). *Principles of Neural Science. Fourth Ed.*, McGraw-Hill Companies, New York.
- Kantor, D.B., Lanzrein, M., Stary, S.J., Sandoval, G.M., Smith, W.B., Sullivan, B.M., Davidson, N., Schuman, E.M., (1996). A role for endothelial NO synthase in LTP revealed by adenovirus-mediated inhibition and rescue. *Science* **274**, 1744–1748.
- Kapas, L., Fang, J., Krueger, J.M. (1994). Inhibition of nitric oxide synthesis inhibits rat sleep. *Brain Res* **664**, 189–196.
- Karabiber, H., Yakinci, C., Durmaz, Y., Temel, I., Mehmet, N. (2004). Serum nitrite and nitrate levels in epileptic children using valproic acid or carbamazepine. *Brain Dev.* **26**, 15-18.
- Kelly, J.P. and Dodd, J. (1991). Anatomical Organization of the Nervous System. In: *Principles of Neural Sciences*. Kandel, E.R., Schwartz, J.H. and Jessell, T.M., (Eds.), **Third Ed.**, New York, Elsevier Science Publishing, 273-282.
- Kendrick, K.M., Guevara-Guzman, R., de la Riva, C., Christensen, J., Ostergaard, K., Emson, P.C., (1996). NMDA and kainate-evoked release of nitric oxide and classical transmitters in the rat striatum: in vivo evidence that nitric oxide may play a neuroprotective role. *Eur. J. Neurosci.* **8**, 2619–2634.
- 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.
- Kirkby, R.D., Carroll, D.M., Grossman, A.B., Subramaniam, S. (1996). Factors determining proconvulsant and anticonvulsant effects of inhibitors of nitric oxide synthase in rodents. *Epilepsy Res.* **24**, 91–100.
- Kleppisch, T., Pfeifer, A., Klatt, P., Ruth, P., Montkowski, A., Fassler, R., Hofman, F., (1999). Long-term potentiation in the hippocampal CA1 region of mice lacking cGMP-dependent kinases is normal and susceptible to inhibition of nitric oxide synthase. *J. Neurosci.* **19**, 48–55.
- Koos, B.J., Maeda, T., Jan, C., (2001). Adenosine A₁ and A_{2A} receptors modulate sleep state and breathing in fetal sheep. *J. Appl. Physiol.* **91**, 343–350.
- Kopf, S.R., Baratti, C.M., (1996). Enhancement of the post-training cholinergic tone antagonizes the impairment of retention induced by a nitric oxide synthase inhibitor in mice. *Neurobiol. Learn. Mem.* **65**, 207–212.
- Kowaluk, E.A., Jarvis, M.F. (2000). Therapeutic potential of adenosine kinase inhibitors. *Expert Opin Investig Drugs* **9**, 551–564.

- Lance, J.W., Manning, R.L. (1954). Origin of the pyramidal tract in the cat. *J. Physiol.*, **124**, 385-399.
- Lawrence, A.J., Jarrott, B., (1993). Nitric oxide increases interstitial excitatory amino acid release in the rat dorsomedial medulla oblongata. *Neurosci. Lett.* **151**, 126-129.
- Lei, S.Z., Pan, Z.H., Aggarwal, S.K., Chen, H.S.V., Hartman, J., Sucher, N.J., Lipton, S.A., (1992). Effect of nitric oxide production on the redox modulatory site of the NMDA receptor-channel complex. *Neuron* **8**, 1087-1099.
- Leonard, T.O., Lydic, R., (1995). Nitric oxide synthase inhibition decreases pontine acetylcholine release. *NeuroReport* **6**, 1525-1529.
- Leonard, T.O., Lydic, R., (1997). Pontine nitric oxide modulates acetylcholine release, rapid eye movement sleep generation, and respiratory rate. *J. Neurosci.* **17**, 774-785.
- Linden, J., (2001). Molecular approach to adenosine receptors: receptor-mediated mechanisms of tissue protection. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **41**, 775-787.
- Lipton, S.A., Choi, Y.B., Pan, Z.H., Lei, S.Z., Stamler, J.S. (1993). A redox-based nitric oxide pathway and neurodestructive effects of nitric oxide and related nitroso-compounds. *Nature*, **364**, 626-632.
- Lo, W.C., Jan, C.R., Wu, S.N., Tseng, C.J. (1998). Cardiovascular Effects of Nitric Oxide and Adenosine in the Nucleus Tractus Solitarii of Rats. *Hypertension.* **32**, 1034-1038.
- Lohse, M.J., Förstermann, U., Schmidt, H.H.H.W., (1998). Pharmacology of NO: cGMP signal transduction. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **358**, 111-112.
- Lomo, T., (1966). Frequency potentiation of excitatory synaptic activity in the dentate area of the hippocampal formation. *Acta Physiol. Scand.* **68** (Suppl. 277), 128.
- 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.
- Lorrain, D.S., Hull, E.M., (1993). Nitric oxide increases dopamine and serotonin release in the medial preoptic area. *NeuroReport* **5**, 87-89.
- Löscher, 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.
- 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.

- Macallum, G.E., Walker, R.M., Barsoum, N.J., Smith, G.S., (1991). Preclinical toxicity studies of an adenosine agonist, *N*-(2,2- diphenylethyl)adenosine. *Toxicology* **68**, 21–35.
- Markram, H., Toledo-Rodriguez, M., Wang, Y.,, Gupta, A., Silberberg, G., and Wu, C. (2004). Interneurons of the Neocortical Inhibitory System. *Nature Reviews Neuroscience*, **5**, 793-807.
- Maia, L., de Mendonça, A., (2002). Does caffeine intake protect from Alzheimer's disease? *Eur. J. Neurol.* **9**, 1–6.
- Malhotra, J., Gupta, Y.K. (1997). Effect of adenosine receptor modulation on pentylentetrazole-induced seizures in rats. *Br J Pharmacol* **120**, 282–288.
- Manzoni, O., Prezeau, L., Marin, P., Deshager, S., Bockaert, J., Fagni, L., (1992). Nitric oxide-induced blockade of NMDA receptors. *Neuron* **8**, 653–662.
- Marangoz, C. (1996). Nitrik oksit ve deneysel epilepsi. *O.M.Ü. Tıp Dergisi*, **13**, 165-183.
- Marangoz, C. (1997). Deneysel epilepsi modelleri. *O.M.Ü. Tıp Dergisi* **14**, 147-186.
- Marangoz, C., Ayyıldız, M., Ağar, E. (1994). Evidence that sodium nitroprusside possesses anticonvulsant effects mediated through nitric oxide. *NeuroReport*. **5**, 2454-2456.
- Marangoz, C., Bagirici, F. (2001). Effects of L-arginine on penicillin-induced epileptiform activity in rats. *Jpn J Pharmacol.* **86**, 297-301.
- Martin, J.H., Jessell, T.M., (1991). Anatomy of the somatic sensory system. In: *Principles of Neural Science*. Kandel, E.R., Schwartz, J.H. and Jessell, T.M. **Third Ed.**, Amsterdam, Elsevier Science Publishing, New York, 353-366.
- Mayer, B., John, M., Heinzl, B., Werner, E.R., Wachter, H., Schultz, G., Boehme, E., (1991). Brain nitric oxide is a multi-functional oxido-reductase. *FEBS Lett.* **288**, 187–191.
- Mayer, B., Andrew, P., (1998). Nitric oxide synthases: catalytic function and progress towards selective inhibition. Naunyn-Schmiedeberg's *Arch. Pharmacol.* **358**, 127–133.
- McCormick, D.A. and Contreras, D. (2001). On the Cellular and Network Bases of Epileptic Seizures. *Annu. Rev. Physiol.* **63**, 815–846.
- McGaraughty, S., Cowart, M., Jarvis, M.F., (2001). Recent developments in the discovery of novel adenosine kinase inhibitors: mechanism of action and therapeutic potential. *CNS Drug Rev.* **7**, 415–432.

- Milatovic, D., Gupta, R.C., Dettbarn, W.D. (2002). Involvement of nitric oxide in kainic acid-induced excitotoxicity in rat brain. *Brain Res.* **957**, 330-337.
- Mollace, V., Bagetta, G., Nistico, G. (1991). Evidence that L-arginine possesses proconvulsant effects mediated through nitric oxide. *NeuroReport.* **2**, 269-272.
- Monopoli, A., Conti, A., Dionisotti, S., Casati, C., Camaioni, E., Cristalli, G., and others. (1994). Pharmacology of the highly selective A1 adenosine receptor agonist 2-chloro-N6-cyclopentyladenosine. *Arzneimittelforschung* **44**, 1305–1312.
- Mountcastle, V.B., Poggio, G.F. (1974). Structural organization and general physiology of thalamotelencephalic systems. In: *Medical Physiology*, V.B. (Ed.), Mosby Comp., Mountcastle, 227-253.
- Morelli, M., Pinna, A., (2001). Interaction between dopamine and adenosine A_{2A} receptors as a basis for the treatment of Parkinson's disease. *Neurol. Sci.* **22**, 71–72.
- Mori, M., Heuss, C., Gähwiler, B.H., Gerber, U., (2002). Fast synaptic transmission mediated by P2X receptors in CA3 pyramidal cells of rat hippocampal slices. *J. Physiol.* **535**, 115–123.
- Mulsch, A., Schray-Utz, B., Mordvinteev, 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**, 2325-2328.
- Mungrue, I.N., Bredt, D.S., Stewart, D.J. and Husain, M. (2003). From molecules to mammals: what's NOS got to do with it? *Acta Physiol Scand*, **179**, 123–135.
- Newby, A.C., (1981). Adenosine as a retaliatory metabolite. *Trends Biol. Sci.* **9**, 42–44.
- Noyan B, Gulec G. (2000). Effects of L-arginine on prevention and treatment of lithium-pilocarpine-induced status epilepticus. *Physiol Res.* **49**, 379-85.
- O'Dell, T.J., Hawkins, R.D., Kandel, E.R., Arancio, O., (1991). Tests of the roles of two diffusible substances in long-term potentiation: evidence for nitric oxide as a possible early retrograde messenger. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **88**, 11285–11289.
- O'Dell, T.J., Huang, P.L., Dawson, T.M., Dinerman, J.L., Snyder, S.H., Kandel, E.R., Fishman, M.C., (1994). Endothelial NOS and the blockade of LTP by NOS inhibitors in mice lacking neuronal NOS. *Science* **265**, 542–546
- Ohkuma, S., Katsura, M., Guo, J.L., Hasegawa, T., Kuriyama, K., (1995). Involvement of peroxynitrite in *N*-methyl-D-aspartate- and sodium nitroprusside-induced release of acetylcholine from Mouse cerebral cortical neurons. *Brain Res. Mol. Brain Res.* **31**, 185–193.

- 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.
- Olah, M.E., Stiles, G.L. (1995). Adenosine receptor subtypes: characterization and therapeutic regulation. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* **35**, 581-606.
- Olanrewaju, H.A., Qin, W., Feoktistov, I., Scemama, J.L., Mustafa, S.J., (2000). Adenosine A2A and A2B receptors in cultured human and porcine coronary artery endothelial cells. *Am. J. Physiol.* **279**, 650– 656.
- Olanrewaju, H.A., Mustafa, S.J. (2000). Adenosine A2A and A2B receptors mediated nitric oxide production in coronary artery endothelial cells. *Gen Pharmacol.* **35**, 171-177.
- Öge, A.E. (2004). *Nöroloji*. **1. baskı**. Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti. İstanbul.
- Papa, M., Pellicano, M.P., Sadile, A.G., (1994). Nitric oxide and long-term habituation to novelty in the rat. *Ann. New York Acad. Sci.* **738**, 316–324.
- Park, K.S., Jeong, S.W., Cha, S.K., Lee, B.S., Kong, I.D., Ikeda, S.R., Lee, J.W., (2001). Modulation of N-type Ca²⁺ currents by A1-adenosine receptor activation in male rat pelvic ganglion neurons. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **299**, 501–508.
- Parkinson, F.E., Sinclair, C.J., Othman, T., Haughey, N.J., Geiger, J.D., (2002). Differences between rat primary cortical neurons and astrocytes in purine release evoked by ischemic conditions. *Neuropharmacology* **43**, 836–846.
- 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., 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**, 515-519.
- Pedata, F., Pazzagli, M., Tilli, S., Pepeu, G. (1990). Regional differences in the electrically stimulated release of endogenous and radioactive adenosine and purine derivatives from rat brain slices. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* **342**, 447-453.
- Penix, L.R.P., Davies, W., Subramaniam, S. (1994). Inhibition of NO synthase increases the severity of kainic acid-induced seizures in rodents. *Epilepsy Res.* **18**, 177-184.

- Peters, A. (1987). Number of neurons and synapses in the primary visual cortex. In: *Cerebral Cortex*. Jones, E. And Peters, A. New York: Plenum Pres, pp. 267-294.
- Philippu, A., Prast, H., Singewald, N., (1997). Modulation of the neurotransmitter release in the brain by amino acids. *Pharmacol. Toxicol.* **80** (Suppl. 1), 9.
- 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.
- Popoli, P., Pintor, A., Domenici, M.R., Frank, C., Tebano, M.T., Pezzola, A., Scarchilli, L., Quarta, D., Reggio, R., Malchiodi-Albedi, F., Falchi, M., Massotti, M., (2002). Blockade of striatal adenosine A_{2A} receptor reduces, through a presynaptic mechanism, quinolinic acid-induced excitotoxicity: possible relevance to neuroprotective interventions in neurodegenerative diseases of the striatum. *J. Neurosci.* **22**, 1967–1975.
- Porkka-Heiskanen, T. (1999). Adenosine in sleep and wakefulness. *Ann Med.* **31**, 125-129. Review.
- Porkka-Heiskanen, T., Strecker, R.E., Thakkar, M., Bjorkum, A.A., Greene, R.W., McCarley, R.W. (1997). Adenosine: a mediator of the sleep-inducing effects of prolonged wakefulness. *Science.* **276**, 1265-1268.
- Prast, H., Philippu, A., (1992). Nitric oxide releases acetylcholine in the basal forebrain. *Eur. J. Pharmacol.* **216**, 139–140.
- Prast, H., Fischer, H., Werner, E., Werner-Felmayer, G., Philippu, A., (1995). Nitric oxide modulates the release of acetylcholine in the ventral striatum of the freely moving rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **352**, 67–72.
- Prast, H., Tran, M.H., Fischer, H., Philippu, A., (1998). Nitric oxide-induced release of acetylcholine in the nucleus accumbens: role of cyclic GMP, glutamate and GABA. *J. Neurochem.* **71**, 266–273.
- Prast, H., Philippu, A. (2001). Nitric oxide as modulator of neuronal function. *Progress in Neurobiology*, **64**, 51–68.
- Prickaerts, J., Steinbusch, H.W., Smits, J.F., de Vente, J., (1997). Possible role of nitric oxide-cyclic GMP pathway in object recognition memory: effects of 7-nitroindazole and zaprinast. *Eur. J. Pharmacol.* **337**, 125–136.
- Przegalinski, E., Baran, L., Siwanowicz, J. (1994). The role of nitric oxide in the kainate-induced seizures in mice. *Neurosci. Lett.* **170**, 74-76.
- Przegalinski, E., Baran, L., Siwanowicz, J. (1996). The role of nitric oxide in chemically- and electrically-induced seizures in mice. *Neurosci. Lett.* **217**, 145–148.

- Rajasekaran, K., Reddy, P.L., Paul, V. (2001). Effect of systemically administered nitric oxide donor, sodium nitroprusside on picrotoxin-induced convulsions in rats. *Indian J Physiol Pharmacol.* **45**, 95-100.
- 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.
- Ralevic, V., Burnstock, G. (1998). Receptors for purines and pyrimidines. *Pharmacol Rev.* **50**, 413-92.
- Rapisarda, C., Simonelli, G. and Monti, S. (1985). Cells of origin and topographic organization of corticospinal neurones in the guinea pig by the retrograde HRP method. *Brain Res.*, **334**, 85-96.
- Rebola, N., Coelho, J.E., Costenla, A.R., Lopes, L.V., Parada, A., Oliveira, C.R., and others. (2003). Decrease of adenosine A1 receptor density and of adenosine neuromodulation in the hippocampus of kindled rats. *Eur J Neurosci.* **18**, 820–828.
- Reggio, R., Pèzzola, A., Popoli, P., (1999). The intrastriatal injection of an adenosine A2 receptor antagonist prevents frontal cortex EEG abnormalities in a rat model of Huntington's disease. *Brain Res.* **831**, 315–318.
- Ribeiro, J.A., Sebastião, A.M., (1987). Adenosine, cyclic AMP and nerve conduction. In: *Topics and Perspectives in Adenosine Research*. Gerlach, E., Becker, B.F. (Eds.), Springer, Berlin, 559–573.
- Ribeiro, J.A., Sebastião, A.M., de Mendonça, A. (2003). Adenosine receptors in the nervous system: pathophysiological implications. *Prog Neurobiol.* **68**, 377-392.
- Riedel, G. and Platt, B. (2004). From Messengers to Molecules: Memories are Made of These. *Kluwer Academic & Landes Bioscience*.
- Rigaud-Monet, A.S., Heron, A., Seylaz, J., Pinard, E. (1995). Effect of inhibiting NO synthesis on hippocampal extracellular glutamate concentration in seizures induced by kainic acid. *Brain Res.* **673**, 297-303.
- 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.
- Rosenberg, P.A., Li, Y., Le, M., Zhang, Y. (2000). Nitric oxide-stimulated increase in extracellular adenosine accumulation in rat forebrain neurons in culture is associated with ATP hydrolysis and inhibition of adenosine kinase activity. *J Neurosci.* **20**, 6294-62301.

- Rogawski, M.A. and Löscher, W. (2004). The Neurobiology of Antiepileptic Drugs. *Nature Neuroscience Reviews*, **5**, 553-564.
- Rondoin, G., Lerner-Natoli, M., Manzoni, O., Lafon-Cazal, M., Bockaert, J. (1992). A nitric oxide (NO) synthase inhibitor accelerates amygdala kindling. *NeuroReport*. **3**, 805-808.
- Samama, B., Boehm, N., (1999). Inhibition of nitric oxide synthase impairs early olfactory associative learning in newborn rats. *Neurobiol. Learn. Mem.* **71**, 219–231.
- Sarkisian, M.R. (2001). Overview of the Current Animal Models for Human Seizure and Epileptic Disorders *Epilepsy & Behavior* **2**, 201–216.
- Sawynok, J., (1998). Adenosine receptor activation and nociception. *Eur. J. Pharmacol.* **347**, 1–11.
- Sawynok, J. and Liu, X.J. (2003). Adenosine in the spinal cord and periphery: release and regulation of pain. *Progress in Neurobiology*, **69**, 313–340.
- Schmidt, R.F. (1989). Integrative functions of the central nervous system. In : *Human Physiology*. Schmidt R.F., Thews G. **Second Ed.**, Heidelberg, Springer Verlag, Berlin 124-165.
- Schuman, E.M., Madison, D.V., (1991). A requirement for the intercellular messenger nitric oxide in long-term potentiation. *Science* **254**, 503–1506.
- 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.
- Schwarzschild, M.A., Chen, J.F., Ascherio, A., (2002). Caffeinated clues and the promise of adenosine A_{2A} antagonists in PD. *Neurology* **58**, 1154–1160.
- Sebastião, A.M., Ribeiro, J.A., (1996). Adenosine A₂ receptor-mediated excitatory actions on the nervous system. *Prog. Neurobiol.* **48**, 167–189.
- Sebastião, A.M., Ribeiro, J.A., (2000). Fine-tuning neuromodulation by adenosine. *Trends Pharmacol. Sci.* **21**, 341–346.
- 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.
- Shannon, M., Maher, T. (1995). Anticonvulsant effects of intracerebroventricular adenocard in theophylline-induced seizures. *Ann Emerg Med.* **26**, 65-68.
- Shepherd, G.M.(1974).*The Synaptic Organization of the Brain*, **First Ed.** Oxford University Press, London, pp: 288–328.
- Shepherd, G.M. (1998). *The Synaptic Organization of the Brain*, **Fourth Ed.** Oxford University Press, New York, pp: 459.
- Shindou, T., Watanabe, S., Yamamoto, K., Nakanishi, H., (1993). NMDA receptor-dependent formation of long-term potentiation in the rat medial amygdala neuron in an in vitro slice preparation. *Brain Res. Bull.* **31**, 667–672.
- Shneker, B.F., and Fountain, N.B. (2003). Epilepsy. *Dis Mon.* **49**, 426-478.
- Sholl, D.A. (1956). *The organization of the Cerebral Cortex*. Chapman and Hall, Ltd.
- Smolenski, A., Burckhardt, A.M., Eigenthaler, M., Butt, E., Gambaryan, S., Lohmann, S., Walter, U., (1998). Functional analysis of cGMP-dependent protein kinases I and II as mediators of NO:cGMP effects. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **358**, 134–139.
- Shneker, B.F. and Fountain, N.B. (2003). Epilepsy. *Dis Mon.* **49**, 426-478.
- Son, H., Hawkins, R.D., Martin, K., Kiebler, M., Huang, P.L., Fishman, M.C., Kandel, E.R., (1996). Long-term potentiation is reduced in mice that are doubly mutant in endothelial and neuronal nitric oxide synthase. *Cell* **87**, 1015–1023.
- Steinbusch, H.W.M., Sauren, Y., Groenenwegen, H., Watanabe, T., Mulder, A.H., (1986). Histaminergic projections from the premammillary and posterior hypothalamic region to the caudateputamen complex in the rat. *Brain Res.* **368**, 389–393.
- Stella, S.L., Bryson, E.J., Thoreson, W.B., (2002). A₂ adenosine receptors inhibit calcium influx through L-type calcium channels in rod photoreceptors of the salamander retina. *J. Neurophysiol.* **87**, 351–360.
- Stone, T.W. (1972). Cortical responses to pyramidal tract stimulation in the rat. *Exp. Neurol.* **35**, 492-502.
- Takahashi, K. (1965). Slow and fast groups of pyramidal tract cells and their respective membrane properties. *J. Neurophysiol.*, **28**, 908-924.

- Teledgy, G., Kokavszky, R., (1997). The role of nitric oxide in passive avoidance learning. *Neuropharmacology* **36**, 1583–1587.
- Theard, M.A., Baughman, V.L., Wang, Q., Pelligrino, D.A., Albrecht, R.F. (1995). The role of nitric oxide in modulating brain activity and blood flow during seizure. *NeuroReport*. **6**, 921-924.
- Toledo-Rodriguez, M., Gupta, A., Wang, Y., Wu, C. & Markram, H. (2002). In: *The Handbook of Brain Theory and Neural Networks*. ed. Arbib, M., MIT Press, Boston, Massachusetts, 719–725
- Toyoda, M., Saito, H., Matsuki, N., (1996). Nitric oxide but not carbon monoxide is involved in spatial learning of mice. *Jpn. J. Pharmacol.* **71**, 205–211.
- Trussell, L.O., Jackson, M.B. (1985). Adenosine-activated potassium conductance in cultured striatal neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **82 (14)**, 4857-61.
- Zilles, K. (1990). Cortex, In : *The Human Nervous System, First Ed.*, San Diego, Academic Press, Inc., 757-802.
- Vallebuona, F., Raiteri, M., (1993). Monitoring of cGMP during cerebellar microdialysis in freely moving rats as an index of nitric oxide synthase activity. *Neuroscience* **57**, 577–585.
- Vanaja, P., 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.
- Vanore, G., Giraldez, L., Rodriguez de Lores Arnaiz, G., Girardi, E. (2001). Seizure activity produces differential changes in adenosine A1 receptors within rat hippocampus. *Neurochem Res.* **26**, 225–230.
- van Dongen, H.P., Price, N.J., Mullington, J.M., Szuba, M.P., Kapoor, S.C., Dinges, D.F., (2001). Caffeine eliminates psychomotor vigilance deficits from sleep inertia. *Sleep* **24**, 813–819.
- Vianna, E.P., Ferreira, A.T., Dona, F., Cavalheiro, E.A., da Silva Fernandes, M.J. (2005). Modulation of seizures and synaptic plasticity by adenosinergic receptors in an experimental model of temporal lobe epilepsy induced by pilocarpine in rats. *Epilepsia.* **5**, 166-173.
- Vincent, S.R., Kimura, H., (1992). Histochemical mapping of nitric oxide synthase in the rat brain. *Neuroscience* **46**, 55–784.
- Wakatsuki, H., Gomi, H., Kudoh, M., Kimura, S., Takahashi, K., Takeda, M., Shibuki, K., (1998). Layer-specific NO dependence of long-term potentiation and biased NO release in layer V in the rat auditory cortex. *J. Physiol. Lond.* **513**, 71–81.

- Wang, Q., Theard, M.A., Pelligrino, D.A., Baughman, V.L., Hoffman, W.E., Albrecht, R.F., Cwik, M., Paulson, O.B., Lassen, N.A. (1994). Nitric oxide (NO) is an endogenous anticonvulsant but not a mediator of the increase in cerebral blood flow accompanying bicuculline-induced seizure in rats. *Brain Res.* **658**, 192-198.
- Wang, X., Robinson, P.J., (1997). Cyclic GMP-dependent protein kinase and cellular signalling in the nervous system. *J. Neurochem.* **68**, 443–456.
- Wardas, J. (2002). Neuroprotective Role of Adenosine in the CNS. *Pol. J. Pharmacol.* **54**, 313–326.
- Wardas, J., Konieczny, J., Lorenc-Koci, E., (2001). SCH 58261, an A_{2A} adenosine receptor antagonist, counteracts Parkinsonian-like muscle rigidity in rats. *Synapse* **41**, 160–171.
- Wiesner, J.B., Ugarkar, B.G., Castellino, A.J., Barankiewicz, J., Dumas, D.P., Gruber, H.E., and others. (1999). Adenosine kinase inhibitors as a novel approach to anticonvulsant therapy. *J Pharmacol Exp Ther* **289**, 1669–1677.
- Wiesinger, H. (2001). Arginine metabolism and the synthesis of nitric oxide in the nervous system. *Progress in Neurobiology*, **64**, 365–391.
- Wilcox, B.J., Seybold, V.S., (1982). Localization of neuronal histamine in rat brain. *Neurosci. Lett.* **29**, 105–110.
- 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.
- Wood, P.L., Garthwaite, J., (1994). Models for the diffusional spread of nitric oxide: implications for neuronal nitric oxide signalling and its pharmacological properties. *Neuropharmacology* **33**, 235–1244.
- Wulfert, E., Margineanu, D.G., (1996). Effects of in situ manipulation of nitric oxide on rat hippocampal CA3 neurone excitability. *NeuroReport* **7**, 2737–2742.
- Yamada, K., Noda, Y., Nakayama, S., Komori, Y., Sugihara, H., Hasegawa, T., Nabeshima, T., (1995). Role of nitric oxide in learning and memory and in monoamine metabolism in the rat brain. *Br. J. Pharmacol.* **115**, 52–858.
- Yamamoto, H. (1995). A hypothesis for cyanide-induced tonic seizures with supporting evidence. *Toxicology.* **95**, 19-26.
- 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, G., Franklin, P.H., Murray, T.F. (1994) Activation of adenosine A1- receptors underlies anticonvulsant effect of CGS21680. *Eur J Pharmacol* **255**, 239–243.
- Zhu, X.Z., Luo, L.G., (1992). Effect of nitroprusside (nitric oxide) on endogenous dopamine release from rat striatal slices. *J. Neurochem.* **59**, 32–935.
- Zimmermann, H., Braun, N., (1999). Ecto-nucleotidases molecular structures, catalytic properties, and functional roles in the nervous system. *Prog. Brain Res.* **120**, 371–385.

ÖZGEÇMİŞ

1975 yılında Sivas'ta doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Sivas'ın Şarkışla ilçesinde tamamladım. Ondokuz Mayıs Üniversitesi (O.M.Ü.) Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümüne 1992 yılında kaydoldum ve 1996 yılında mezun oldum. Aynı yıl O.M.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisansa başladım. Bir yıl kayıt dondurduktan sonra, 1997 yılında Sağlık Bilimleri Enstitüsü hazırlık programı olan Tıp Fakültesi Dönem II. derslerini ve ardından da 1998 yılında yüksek lisans derslerini aldım. 2000 yılında "Nitrik Oksit Sentaz (NOS) İnhibitörlerinin Sıçanda Pasif Sakınma Şeklindeki Öğrenme Davranışına Etkisi" başlıklı tez çalışmasını tamamlayarak Fizyoloji Bilim Uzmanı ünvanını aldım. Aynı yıl O.M.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün açmış olduğu doktora sınavını kazanarak, O.M.Ü. Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda doktora eğitimime başladım. 2005 yılında "Deneysel Epilepside Nitrejik ve Purinerjik Sistemlerin Etkileşimi" başlıklı doktora tezimi tamamladım.

Doktora eğitimim sırasında ve yüksek lisans döneminde pasif sakınma davranışının öğrenilmesi, maternal agresyon, erkek sıçanlarda agresif davranış, sıçan beyni kullanılarak preparat hazırlanması, stereolojik methodla nöron sayımı, odiojenik epilepsi, penisilin modeli deneysel epilepsi, elektrofizyolojik veri kazanım sistemleri yardımıyla anestezi altındaki sıçanlarda ECoG kaydı, kafatasına elektrot yerleştirilmiş serbestçe hareket eden sıçanlarda ECoG kaydı ve sıçanlarda sinir ileti hızının ölçülmesi konularında çalışmalar ve deneysel araştırmalar yaptım.

Yabancı dilim İngilizce'dir. Evli ve ikisi kız biri erkek olmak üzere üç çocuk sahibiyim.