

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TEK VE TEKRARLANAN DOZLARDA PENTİLENTETRAZOL
(PTZ) UYGULANMASIYLA OLUŞTURULAN KONVULSİV
NÖBETLERİN EPİLEPTİK AKTİVİTE, KAN-BEYİN BARIYERİ
VE BAZI BİYOKİMYASAL PARAMETRELER ÜZERİNE ETKİSİ**

Deniz ÖZTÜRK ŞAHİN

79802

Kocaeli Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
FİZYOLOJİ Programı İçin Öngördüğü
BİLİM UZMANLIĞI TEZİ
olarak hazırlanmıştır.

KOCAELİ

1998

**TC. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

T.C
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TEK VE TEKRARLANAN DOZLARDA PENTİLENTETRAZOL
(PTZ) UYGULANMASIYLA OLUŞTURULAN KONVÜLSİV
NÖBETLERİN EPİLEPTİK AKTİVİTE, KAN-BEYİN BARIYERİ VE
BAZI BİYOKİMYASAL PARAMETRELER ÜZERİNE ETKİSİ

Deniz ÖZTÜRK ŞAHİN

Kocaeli Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
FİZYOLOJİ Programı İçin Öngördüğü
BİLİM UZMANLIĞI TEZİ
olarak hazırlanmıştır.

Danışman: Doç. Dr. Nurbay ATEŞ

Bu tez çalışması, Kocaeli Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından 1997 yılında
desteklenmiştir. (Proje No:40)

KOCAELİ
1998

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

İşbu çalışma, jürimiz tarafından Fizyoloji Anabilim Dalında BİLİM UZMANLIĞI TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan Doç. Dr. Nurbay ATEŞ



Üye Yrd. Doç. Dr. Faruk ERDEN



Üye Yrd. Doç. Dr. Gül İLBAY

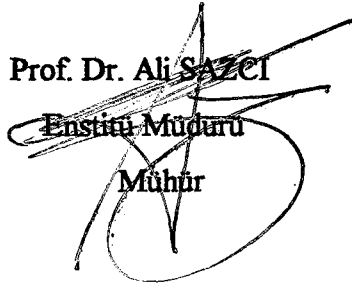


ONAY

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylıyorum.

2.11/1998

Prof. Dr. Ali SAZCI
Enstitü Müdürü
Mühür



ÖZET

Bu çalışmada, Wistar albino erkek sıçanlara, tek ve gūnaşırı tekrarlanan Pentilentetrazol (PTZ) enjeksiyonları ile deneysel jeneralize tonik-klonik epilepsi oluşturuldu. Epileptik nōbet aktivitesi özellikleri, makro molekūllere karşı kan-beyin bariyeri (KBB) geçirgenliği ve beyin dokusunda, birçok enzimin yapısında yer alan demir, bakır, çinko dūzeyleri ile periferdeki metabolik değişiklikleri gōrmek için serumda bazı biyokimyasal parametreler incelendi..

KBB geçirgenlięindeki deęişiklikler, Evans Blue (EB) verilerek arařtırıldı. Tek doz PTZ'nin i.v uygulandıęı tūm sıçanlarda epileptik nōbet aktivitesi sonucunda beyinde özellikle preoptik alan, kaudat nūkleus, putamen, talamus, hipotalamus, orta beyin ve kollikulus superior bōlgelerinde bilateral EB sızıntısı olduęu gōrūldū. Buna karşı PTZ'nin gūnaşırı i.p olarak uygulanımını izleyerek verilen 6. i.v doza baęlı nōbetlerde yedi sıçanın yalnızca üçünde sınırlı bōlgede KBB açılımı gōzlendi. Tekrarlanan PTZ dozları epileptik nōbet aktivitesinin tonik ve klonik komponentlerinde önemli deęişiklikler ortaya çıkardı. Birinci i.p enjeksiyondan sonra oluşan tonik aktivite, nōbet sūresinin %94'ūnū oluştururken, 5. enjeksiyondan sonra %37'ye dūřtūęū, buna karşı vahři kořu ile birlikte ekstremiteletin klonik kasılmaları ilk nōbetin %6'sını oluştururken 5. enjeksiyondan sonra %63 oranında yer tutuęu saptandı.

Tekrarlanan PTZ enjeksiyonları sonucu geçirilen nōbetlerin beyinde, demir ve bakır dūzeylerini anlamlı olarak dūřürdūęū bulundu. Çinko dūzeylerinde anlamlı bir fark bulunmadı. Nōbetlerin yol açtıęı metabolizma artışı sonucu olarak serumda, kalsiyum, fosfor, glukoz, trigliserit ve ūrik asit dūzeylerinde anlamlı yükselmeler olduęu saptandı.

Bu çalışmada, tek doz PTZ ile oluşturulan epileptik nōbetler KBB geçirgenlięini önemli derecede arttırırken, tekrarlanan PTZ uygulamasıyla oluşturulan nōbetlerde hem nōbet řiddetinin azalması, hem de KBB bozukluęunun daha az oranda meydana gelmesi PTZ'ye karşı bir toleransın geliřebileceęini dūřündürmektedir. Tekrarlanan nōbetler sonucu beyinde eser element dūzeylerinde gōzlenen dūřūř ise geçirilen epileptik nōbetler sonucu nōronal dejenerasyona karşı koruma mekanizmalarının önemli derecede etkilenebileceęini dūřündürmektedir.

Anahtar Sōzcūkler: Epileptik nōbetler, eser elementler, kan-beyin bariyeri, pentilentetrazol

ABSTRACT

In this study, generalized tonic-clonic seizures were induced experimentally in the male Wistar albino rats by injections of single dose and repeated doses of Pentilylenetetrazole (PTZ). The changes in convulsive activity, blood-brain barrier (BBB) permeability to macromolecules and, in the brain tissues the levels of iron, copper, zinc which played a role in various antioxidant systems were investigated. Additionally biochemical parameters which indicate peripheral metabolic changes due to epileptic seizures were determined.

BBB permeability was investigated by Evans Blue (EB). Single dose intravenöz (i.v) PTZ administration caused bilateral EB leakage in the brain areas including preoptic area, nucleus caudatus, putamen, thalamus, hypothalamus, midbrain, and the superior colliculus in all rats. On the other hand, epileptic activity performed by 6. i.v dose of PTZ following alternate day i.p PTZ caused BBB breakdown in only 3 out of 7 rats and this breakdown was slight and confined only to a few brain areas. The administration of 55 mg/kg PTZ induced generalize tonic-clonic convulsions in all rat. However, there were significant differences in the tonic and clonic components of convulsive activity during the course of repeated seizures. While the tonic activity was longer in duration than clonic activity at first seizure, the picture was reversed at last seizures.

It was found that iron and copper levels in the brain were significantly low after the seizures caused by alternate day PTZ injections. As a consequence of seizures, several metabolic changes including significantly higher levels of calcium, phosphor, glucose, trigliserid, üric acid in serum were observed.

In this study, the results related to seizure activity and BBB permeability suggested that a tolerance could occur to PTZ after repeated seizures. The decreased levels of trace elements in the brain seen after repeated seizures also suggested that defence mechanisms which were involved in neuronal degeneration were affected seriously.

Key words: Blood-brain barrier, epileptic seizure, pentilylenetetrazole, trace elements.

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tezimin hazırlanması ve eğitimim sırasında gösterdikleri yakın ilgi ve desteklerinden dolayı danışmanım ve Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Doç. Dr. Nurbay ATEŞ'e en içten teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Çalışmalar sırasında her zaman bana destek olarak en az benim kadar emek veren sevgili Yrd. Doç. Dr. Gül İLBAY'a, yüksek lisansa başladığım ilk günden beri her konuda çok yakın dostluğunu benden esirgemeyen sevgili arkadaşım Dr. Ayşe Balcı KARSON'a, çalışmaların çeşitli aşamalarında başvurduğumda her zaman elinden gelen yardımı yapan sevgili Yrd. Doç. Dr. Nilüfer ESEN'e en içten teşekkürlerimi sunarım.

Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Biofizik Anabilim Dalında çalışma yapmama olanak sağlayan Sayın Prof. Dr. Bora BARUTÇU'ya ve eser elementlerin ölçüm işlemleri sırasında bana yol göstererek yakından ilgilenen Sayın Dr. Yunus KARAKOÇ'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xi
1. GİRİŞ VE GENEL BİLGİ.....	1
1.1. Epilepsi.....	1
1.2. Deneysel Epilepsi Modelleri.....	4
1.3. Pentilentetrazol.....	6
1.4. Kan- Beyin Bariyeri.....	7
1.5. Epileptik Konvulsiyonlar ve Kan-Beyin Bariyeri.....	8
1.6. Eser Elementler.....	11
1.6.1. Çinko.....	12
1.6.2. Bakır.....	13
1.6.3. Demir.....	14
2. AMAÇ VE KAPSAM BÖLÜMÜ.....	18
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	21
3.1. Çalışma ve Yöntemle İlgili Özellikler.....	26
4. BULGULAR.....	28
4.1. Epileptik Nöbet Aktivitesi.....	28
4.2. Kan-Beyin Bariyeri Geçirgenliği.....	31
4.3. Beyinde Eser Element Miktarları ve Serum Parametreleri Bulguları.....	39
5. TARTIŞMA.....	50
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER BÖLÜMÜ.....	56
KAYNAKLAR DİZİNİ	
ÖZGEÇMİŞ	

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

KBB	: Kan -Beyin Bariyeri
EB	: Evans Blue
PTZ	: Pentilentetrazol
EPSP	: Eksitatör Post Sinaptik Potansiyel
PDS	: Paroksizmal Depolarizasyon Şifti
ILAE	: Uluslararası Epilepsi Derneği
MSS	: Merkezi Sinir Sistemi
GABA	: Gama Amino Bütirik Asit
ES	: Elektroşok
RF	: Retiküler Formasyon
SOD	: Süperoksid Dismutaz
DBM	: Dopamin Beta Monooksijenaz
NE	: Norepinefrin
DA	: Dopamin
O ₂ •	: Oksijen Radikali
HO•	: Hidroksil Radikali
Fe	: Demir
Zn	: Çinko
Cu	: Bakır
Na	: Sodyum
K	: Potasyum
Ca	: Kalsiyum
P	: Fosfor
Cl	: Klorür
a.a	: Aminoasit
i.p	: İntraperitoneal
i.v	: İntravenöz

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.6.3.1. Nörotransmitter homeostazisinde eser elementlerin rolü.....	16
Şekil 1.6.3.2. Beyindeki oksijen metabolizmasında eser elementlerin rolü.....	17
Şekil 3.1.1. Demir, bakır ve çinko tayininden önce çizdirilen kalibrasyon grafikleri.....	27
Şekil 4.1.1. Günaşırı beş kez uygulanan PTZ dozlarıyla oluşturulan jeneralize tonik-klonik nöbet süreleri nöbet süreleri.....	29
Şekil 4.1.2. PTZ'nin birinci ve beşinci enjeksiyonlarında tonik aktivitenin ve vahşi koşu ile birlikte klonik kasılmaların nöbet süresine oranları.....	30
Şekil 4.2.1. Tek ve tekrarlanan PTZ dozlarıyla oluşan kan-beyin bariyeri bozukluğunun % dağılım frekansı.....	33
Şekil 4.2.2. Tek (A) ve tekrarlanan (B) PTZ dozlarının verilmesi ile oluşan KBB bozulmasının görüldüğü çeşitli alanlar..	34
Şekil 4.2.3. Tek doz PTZ'nin verildiği grupta, hemisferlerin ve serebellumun üstten görülen EB sızıntıları (A); preoptik alanda EB geçişinin görüldüğü beyin alttan görünümü (B); KBB bozulması görülen çeşitli alanlar (C).....	36
Şekil 4.2.4. Tek doz PTZ'nin verildiği grupta EB geçişinin gözlemlendiği alanlar, kaudat nükleus (A); kaudat-putamen, talamus, hipotalamus, optik kiazma (B); talamus, hipotalamus (C); ortabeyin ve periaquaduktal alan (D).....	37
Şekil 4.2.5. Tekrarlanan dozlarda PTZ'nin uygulandığı grupta, daha az bölgede ve düşük şiddette KBB bozulması görülen çeşitli alanlar.....	38
Şekil 4.3.1. Beyin dokusunda ölçülen çinko düzeyleri.....	40
Şekil 4.3.2. Beyin dokusunda ölçülen bakır düzeyleri.....	41
Şekil 4.3.3. Beyin dokusunda ölçülen demir düzeyleri.....	42
Şekil 4.3.4. Serumda ölçülen sodyum düzeyleri.....	45
Şekil 4.3.5. Serumda ölçülen potasyum düzeyleri.....	45
Şekil 4.3.6. Serumda ölçülen kalsiyum düzeyleri.....	46
Şekil 4.3.7. Serumda ölçülen fosfor düzeyleri.....	46
Şekil 4.3.8. Serumda ölçülen klorür düzeyleri.....	47

Şekil 4.3.9. Serumda ölçülen glukoz düzeyleri.....	47
Şekil 4.3.10. Serumda ölçülen total protein düzeyleri.....	48
Şekil 4.3.11. Serumda ölçülen albümin düzeyleri.....	48
Şekil 4.3.12. Serumda ölçülen trigliserid düzeyleri.....	49
Şekil 4.3.13. Serumda ölçülen ürik asid düzeyleri.....	49



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.2.1. Tek doz ve tekrarlanan PTZ dozları sonrası nöbet sıklığı, süresi ve KBB bozulması.....	32
Çizelge 4.3.1. Tüm deney gruplarında beyin dokusu eser element düzeyleri.....	39
Çizelge 4.3.2. Tüm deney gruplarında serum biyokimyasal parametreleri.....	44



1. GİRİŞ VE GENEL BİLGİ

Epilepsi dünyadaki bütün ırklarda % 0.4- 0.5 civarında görülen ve kronik gelişim gösteren bir hastalıktır.

Epilepsinin fizyopatolojisini anlamaya yönelik ilk çabalar, nöbetlerin klinik özelliklerinin gözlenmesiyle başlamıştır. 1870 yılında Hughling Jackson epilepsi nöbetlerini, “sinir dokusunun” kas dokusu üzerine zaman zaman, aşırı ve düzensiz deşarjlar gösteren bir semptom olarak tanımlamıştır. 1929 yılında Hass Berger’in beynin aksiyon akımlarını kaydetmesinden sonra, epilepsi fizyopatolojisine ilişkin araştırmalar yeni bir boyut kazanmıştır.

Deneysel epilepsi araştırmalarında yeni nörofizyolojik, nörokimyasal ve nörofarmakolojik çalışmalar çözüm üretici yaklaşımlar ortaya çıkarmıştır. Ancak epileptik deşarjların başlamasına yol açan etkenler, bu deşarjların hangi yollar aracılığı ile yayıldığı ve sonlandırılmasında etkili faktörler gibi bazı temel sorunlara henüz doyurucu açıklamalar getirilmemiştir (Başoğlu, 1988).

1.1 Epilepsi

Epilepsi nöbetleri; MSS’deki nöronların genetik, metabolik veya toksik nedenlere yada değişik türde lezyonlara bağlı olarak ortaya çıkan aşırı uyarılabilirlik (hipereksitabilite) durumunun bir sonucudur. Bunun yanısıra vücut ısısının yükselmesi (febril konvülsiyon), ışık (daha çok miyoklonik nöbetlerde görülen fotosensitife) ve ses (odiyojenik nöbetler) gibi uyarılar nöronlarda aşırı duyarlılık artışına yol açabilirler.

Epilepsi nöbetlerini oluşturan (epileptojenik) nöronlar normal nöronlara göre daha sık deşarj olurlar. Bu deşarjlar “burst” adı verilen kümeler oluşturur. Bu kümeler, EEG kayıtlarına “spike” biçiminde yansır. Epileptojenik nöronların böyle zaman zaman aşırı uyarılma durumuna geçerek normal nöronlara kıyasla daha yüksek

frekans ve amplitütde eksitator post sinaptik potansiyel (EPSP) oluşturmalarına paroksizmal depolarizasyon şifti (PDS) adı verilir.

Paroksizmal depolarizasyon şifti, epilepsiye genetik yatkınlığı olan kişilerde henüz tam bilinmeyen nedenlerin etkisiyle meydana gelebildiği gibi metabolik ve toksik nedenlere bağlı olarak veya beynin anatomik bütünlüğünü bozan çeşitli lezyonlar sonucunda da oluşabilir.

Sinir sisteminde aşırı uyarılma (hipereksitasyon) durumunu koruyucu bir mekanizma olarak eksitasyondan sonra inhibisyonun izlenmesi genel bir kuraldır. Çeşitli nöromediyator sistemleri, nöromediyator reseptörünün pre veya postsinaptik membranda kenetlendiği iyon kanallarının açılıp kapanma frekansını değiştirmek suretiyle eksitabiliteyi değiştirirler. Eksitabilitenin ayarlanmasında önemli rol oynayan üç nöromodülatör sistemin; GABAerjik ve adenzinerjik inhibitör sistem ve glutamerjik eksitator sistem olduğu kabul edilmektedir. Bunun yanısıra, dopaminerjik, noradrenerjik, serotanerjik, kolinerjik ve enkefalinerjik sistemlerin de beynin çeşitli bölgelerinde eksitabilite düzeylerinin ayarlanmasına katkılarının olduğunu gösteren kanıtlar elde edilmiştir. Nöronlarda meydana gelen eksitasyon ve onu izleyen inhibisyon olaylarının şiddet ve süreleri ile etkili oldukları anatomik alanlar epileptik nöbetin klinik tablosunu belirler (Kayaalp, 1995).

Nöbetlerin sınıflandırılmasına 1969 yılında uluslararası bir nitelik kazandırıldı. Uluslararası Epilepsi Derneğinin Terminoloji Komisyonu (ILAE 1989) tarafından kabul edilen son şekli (Dreifuss, 1990);

Epilepsilerin ve Epileptik Sendromların Uluslararası Sınıflandırması

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

1.1. İdiopatik (yaşa bağlı başlangıç)

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

1.2. Semptomatik

- Temporal lob epilepsisi
- Frontal lob epilepsisi
- Parietal lob epilepsisi
- Oksipital lob epilepsisi
- Çocukluk çağının kronik progresif epilepsia parsiyalis kontinuası
- Spesifik faktörlerle uyarılan nöbetlerle karakterize sendromlar

1.3. Kriptojenik

2. Jeneralize epilepsiler ve sendromlar

2.1. İdiopatik (yaşa bağlı başlangıç)

- Selim ailesel yenidoğan konvulsiyonları
- Selim yenidoğan konvulsiyonları
- Süt çocuğunun selim myoklonik epilepsisi
- Çocukluk çağı absans epilepsi (piknolepsi)
- Uyanırken gelen grand mal nöbetli epilepsi
- Diğer jeneralize idiyopatik epilepsiler
- Belirli aktivasyon yöntemleriyle uyarılan epilepsiler

2.2. Kriptojenik yada semptomatik

- West sendromu (infantil spazmlar)
- Lennox-Gastaut sendromu
- Myoklonik astatik nöbetli epilepsi
- Myoklonik absanslı epilepsi

2.3. Semptomatik

2.3.1. Nonspesifik etyoloji

- Erken myoklonik epilepsi
- Supresyon burst'ü erken infantil epileptik ensefalopati
- Diğer semptomatik epilepsiler

2.3.2. Spesifik sendromlar

3. Belirlenemeyen epilepsiler

3.1. Fokal veya jeneralize oldukları belirlenemeyen epilepsiler

- Yenidoğan konvülsiyonları
- Süt çocuğunun ağır miyoklonik epilepsisi
- Yavaş dalga uyku sırasında devamlı diken dalga epilepsiler
- Edinsel epileptik afazi (Landau-Kleffner sendromu)
- Diğer belirlenemeyen epilepsiler

3.2. Net jeneralize veya fokal konvülsiyon özelliği olmayanlar

4. Özel sendromlar

4.1. Duruma bağlı nöbetler

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

1.2 Deneysel Epilepsi Modelleri

Epilepside nöbet tipi ve süresi tedavi seçiminde önemli yer tutmaktadır. Bu nedenle en uygun deneysel epilepsi modelini seçmek önemlidir.

İnsandaki epilepsi türlerine, nöbetlerin şekli ve EEG' nin görünümü bakımından benzerlik gösteren önemli deneysel hayvan modelleri arasında şunlar sayılabilir:

1. Grand Mal Modelleri

Sıçanlarda maksimum pentilentetrazol nöbetleri

Sıçanlarda odijojenik nöbetler

Sıçanlarda maksimum elektroşok nöbetleri

Sıçanlarda fluorotil nöbetleri

Kedi omuriliğinde post-tetanik potansiyasyon (PTP) testi.

Penisilin, alumina kremi, kobalt ve dondurma tekniğini serebral kortekse uygulama

2. Petit Mal Modelleri

Farede pentilentetrazol testi.

Kedi yavrusunda fossa intermedia'nın elektrikle uyarılması.

Kedi yavrularında intralaminar talamik nükleuslara ve retiküler formasyona alumina kremi uygulama.

Genetik absans epilepsili sıçan modelleri

3. Myoklonik Epilepsi Modelleri

Senegal babunu (papio papio) da foto miyoklonus

Fokal aliminyum kremi uygulama

4. Fokal Motor ve Psikomotor Epilepsi Modelleri

Serebral kortekste motor alanlarda, amigdaloit nükleusta veya hipokampüste aliminyum kremi, kobalt penisilin yerleştirme veya dondurma tekniği gibi yöntemlerle epileptojenik odak oluşturma

Elektrikle fokal stimulyasyon

5. Kindling Modeli

Kompleks parsiyel epilepsi modeli olarak kullanılmaktadır. Eşik altı subkonvülf dozlarda, belli aralıklarla ve belli süre uygulanan elektrikselle yada kimyasal uyarın sonucu beyin fonksiyonlarında sürekli bir değişme meydana gelişini olarak tanımlanmaktadır.

Epileptik nöbetler MSS nöron gruplarında meydana gelen hipereksitabilitenin bir sonucudur. Antiepileptik ilaçlar, nöronların bu aşırı duyarlılığını önler, yani inhibitör etkiye sahiptirler. İlaçlar, inhibe edici etkilerini bazen birbirine benzeyen bazen de farklı mekanizmalarla gösterirler. Bu mekanizmaları açıklamak amacıyla yapılan deneysel çalışmalardan sağlanan bilgiler daha çok deneysel hayvan modelleriyle elde edilmesine rağmen antiepileptik etki mekanizmaları henüz kesin ve doyurucu biçimde aydınlatılamamıştır. Bu durumda epilepsi hastasını tedavi eden hekim, çoğu zaman neden ileri geldiğini bilmediği nöronal hipereksitabiliteyi, antiepileptik ilaçların, neden ileri geldiğini kesin olarak bilmediği inhibitör etkileriyle baskı altında tutmaya çalışır.

Epileptik nöbetleri oluşturan değişik mekanizmaların anlaşılması, bu mekanizmaları spesifik biçimde önleyen tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi için umut kapısı açacaktır.

Yakın geçmişte benzodiazepin reseptörlerinin, endojen nöropeptitlerin ve eksitator aminoasit (a.a) antagonistlerinin bulunuşu; nöbetlerin oluşum mekanizmalarının açıklanmasında ve epileptik nöbetlerin endojen maddelerle tedavisinde umut verici olanaklar sağlamıştır (Dener, 1995).

1. 3. Pentilentetrazol (PTZ)

(=6, 7, 8, 9 Tetrahidro-5H-Tetrazol{1,5-a}azepine; α,β - clopentamethyl; 1,5-pentamethylene; 6,7,8,9 Tetrahidro-5 azetpotetrazole)

PTZ, deneysel epilepsi modelleri oluşturmak amacıyla sıklıkla kullanılan sistemik konvulsif bir ajandır, özellikle beyin sapı yapılarını uyarmaktadır. (Fischer, 1989). Doza ve verilış tarzına bağılı olarak klonik yada tonik-klonik konvulsiyonlar oluşturur (Fisher, 1989; Goldman et el.,1992). Yüksek dozda verildiğinde omuriliğı de uyarmaktadır.

PTZ'un 50-80 mg/kg tek bir dozunun uygulanmasını takiben; myoklonik jerkler, myoklonuslar, tonik ekstansiyon ve fleksiyonlar, tonik-klonik konvulsiyonlar ortaya çıkmaktadır (Mares and Schichkerova, 1980).

PTZ, merkezi sinir sistemini uyarıcı etkisini, GABA_A / Benzodiazepin (Bz) reseptör kompleksine " pikrotoksin bağlanma yeri " üzerinden (GABA_A/ Bz. reseptör kompleksi üzerinde barbitüratların selektif olarak bağlandıkları yüksek afiniteli bağlanma yerine, barbitürat antagonisti pikrotoksinin selektif olarak ve barbitüratlarla kompetitif inhibisyona girerek bağlandığı için ve ayrıca işaretlemelerde H3 Pikrotoksin kullanıldığı için pikrotoksin bağlanma yeri denilir) bağlanarak gösterir. Ve etkisini Klor (Cl) kanallarının açılmasını engelleyerek gösterir (Pitkanen, 1987).

1.4 Kan- Beyin Bariyeri

Beyin kapiller endotel hücrelerinin, periferik kapillerlerden farklı yapısına, "kan-beyin bariyeri" denilmektedir. Kan-beyin bariyeri ile ilgili ilk araştırma 1882 yılında Paul Erlich tarafından yapılmıştır. Erlich, tavşanlara intravenöz olarak verdiği vital boyanın tüm organları boyadığı halde, beyni boyamadığını görmüştür. İntravenöz olarak verilen boya hemen kan proteinlerine, özellikle albümine bağlanmakta ve albümin-protein kompleksi meydana getirmektedir. Krogh'un 1946 yılında, KBB'ni beyin lipid membranı olarak tanımlamasının ardından (Öztaş, 1984), Bennet ve arkadaşları (1959), vertebral kan kapillerlerini sınıflandırmışlar ve beyin kapiller endotelinin farklı yapısını ortaya koymuşlardır (Cornford ve Oldendorf, 1986).

Bu konuda en önemli ultrastrüktürel araştırma ise 1967 yılında Karnovsky tarafından gerçekleştirilmiş. Ve yapılan diğer çalışmalarla birlikte kan-beyin bariyerinin beyin kapillerlerini oluşturan endotel hücrelerinin farklı yapısını ortaya koymuşlardır (Öztaş, 1984).

KBB'nin yapısal özellikleri (Cornford ve Oldendorf, 1986);

*Beyin kapillerlerini oluşturan endotel hücreleri arasında "tight-junction" (zonula occludens) olarak adlandırılan sıkı bağlantılar bulunur. Böylece bazal membran kesintisiz devam eder.

*Birçok kapillerlerde ortak olan fenestrasyon KBB kapillerlerinde gözlenmez

*Çok sayıda ve büyük hacimli mitokondri KBB endotelinde görülür.

*Pinositoz çok az görülür, artmış pinositik aktivite kapillerlerde cAMP konsantrasyonlarında artmayla korelasyon gösterir.

*Beyin kapiller duvarlarının büyük elektriksel direnci vardır, düşük iyon geçirgenliği ve iyon diffüzyon direnciyle özel bir epiteldir.

*Beyin kapillerlerinin luminal ve antiluminal yüzeylerin yapısal ve fonksiyonel farklılıkları vardır.

*Histokimyasal çalışmalarla KBB kapillerlerine özelleşmiş enzimler olduğu bulunmuştur. Bunlar; alkalın fosfataz, pseudo-kolin esteraz, aromatik L aminoasit dekarboksilaz, gama-glutamyltrans peptidaz. Bu enzimler yapısal olarak korunamayan bariyer bölgelerinde, nörotransmitterlerin ve yağda eriyen bazı maddelerin beyine geçmesine engel olur.

*Memelilerin beyin kapillerlerinin etrafı perisitlerle çevrilmiştir. Perisitler antiluminal yüzeyle sıkı ilişkiindedir. KBB'nin bozulması durumunda perisitler defansta ilk savunma hattını oluştururlar.

*Astrosit ayak oluşumları KBB fonksiyonuna katılmaz. Bu glial ayak oluşumları, bariyer tipi kapillerlerin biçimlenmesini indükler.

Farklı fizyolojik koşullarda, KBB'nin rolü kandaki madde değişimlerinden nöronları korumaktır. Kanda bulunan hormonlar, nörotransmitterler, amino asitler (a.a) ve iyonlar çeşitli fizyolojik koşullarda dalgalanma gösterirler. Eğer nöronlar bu değişikliklere maruz kalırsa kontrol edilemeyen MSS hastalıkları ortaya çıkabilir.

Merkezi sinir sisteminde KBB'den başka kan-serebrospinal sıvı bariyeri bulunmaktadır. Bu bariyer birçok özellik yönünden KBB'ne benzemektedir. Bu sayede kan ile serebrospinal sıvı arasındaki madde değişimleri kontrol altında tutulur.

Beyinde KBB'nin bulunmadığı bölgeler de vardır; hipotalamusun bazı alanları, pineal bez, area postrema ve nörohipofiz, kana EB veya Trypan Blue (TB) gibi vital boyalar verince maviye boyanır. Bu bölgeler vücut sıvılarındaki osmolalite ve glikoz konsantrasyonları değişikliklerine cevap veren duysal reseptörler içerdiklerinden diffüzyonun kolay gerçekleşmesinde önem taşır.

Genellikle kan-serebrospinal sıvı bariyeri ve KBB'i su, CO₂, yağda eriyen alkol ve çoğu anesteziğe karşı geçirgendir. Na⁺, K⁺, Cl⁻ gibi elektrolitlere daha az geçirgendir. Plazma proteinleri ve lipidler gibi büyük organik moleküllere ise hiç geçirgen değildir.

Kan-beyin bariyerine etki eden çok çeşitli faktörler vardır. Bunları şöyle sıralayabiliriz (Öztaş, 1984):

- a) Hipertansiyon
- b) Konvulsiyonlar
- c) Hipoksi ve iskemi
- d) X- ışınları
- e) Tümörler
- f) Hiperkapni
- g) Yaşlılık
- h) Hipertonik eriyikler

1.5. Epileptik Konvulsiyonlar ve Kan-Beyin Bariyeri

Çeşitli hayvan modellerinde, ilaçlar veya elektriksel stimülasyonlar konvulsiyonları oluşturmak amacıyla kullanılmaktadır. Bu çalışmalarda PTZ, dexamethasone, penisilin, bikükulin, methoxy pridoxine, methionine sulfoksime, kainik asit gibi çeşitli ajanlar kullanılmaktadır (Nitsch and Klatzo, 1983; Ziylan ve Ateş, 1989)

Elektriksel yada kimyasal yolla oluşturulan epileptik nöbetler de vital boyalar (EB, TB gibi) veya radyoaktif maddeler kullanılarak KBB geçirgenliğinde önemli değişikliklerin ortaya çıktığı gösterilmiştir.

Kullanılan ilaç yada uygulanan yöntemle bağlı olarak beynin çeşitli bölgelerinde KBB geçirgenliğinde artma bildirilmiştir (Nitch and Klatzo, 1983). Örneğin;

GABA reseptör blokeri olan bikükulin, spesifik olarak pallidum bölgesi içine boya girmesine neden olur.

GABA sentez inhibitörü methoxy pridoxine, hipokampusta KBB fonksiyonlarında bozulmalar oluşturur. Mamiller body kapillerlerinin de bu konvulsiyonda primer olarak bozulduğu bildirilmiştir. Kainik asit ise neokortikal beyin kapillerlerinde yaygın bir EB geçişine neden olmaktadır.

Pentilenetetrazol nöbetlerinin, primer etkilerinin hipotalamus, serebellum ve preoptik alanlarda olduğu belirtilmektedir.

Petito ve Levy (1980), elektroşok (ES) ile oluşturuldukları nöbetlerde birçok bölgede artmış pinozik aktivitenin varlığını göstermişlerdir.

Browning ve arkadaşları (1981) tarafından, jeneralize nöbetlerin tonik komponentinin oluşumunda orta beyin retiküler formasyonunun (RF) ve/veya serebellumun kritik rolü olduğu bildirilmiştir. Bu temel üzerinde yapılan bir çalışmada maksimal PTZ ve maksimal elektroşokla oluşturulan nöbetlerin tonik komponentlerinin ortabeyin retiküler formasyon yapılarıyla belirgin olarak ilişkili olduğu, minimal ES ve PTZ tarafından oluşturulan klonik nöbet aktivitesinin bu yapılardan etkilenmediği gösterilmiştir (Browning, 1985). Bununla birlikte PTZ ve ES'la oluşturulan klonik aktivitenin ön beyin yapılarından kaynaklandığı öne sürülmüştür. McCaugran ve Maneto (1982), ontojenik gelişim basamaklarında tek yada tekrarlayan PTZ uygulaması sonucu gelişen tonik ve klonik nöbetlerin farklı nöronal yapılardan kaynaklandığı belirtmişlerdir.

Nöbetler ile birlikte yoğun serebral aktivite geliştiği bilinmektedir. Çoğu hayvan ve insan çalışmaları nöbetler sırasında glikoz ve oksijen tüketiminin iki yada üç kat arttığını serebral kan akımının ise bölgesel olarak 1.5-9 kat arttığını göstermiştir (Bolwing, 1988).

Epileptik nöbetlerde bariyer değişiklikleri geçicidir ve değişikliğin derecesi ilgili beyin bölgelerindeki nöronal aktiviteyle ilişkili kan akımı, kan basıncı (Petito et al., 1977) ve vazodilatasyon (Bradbury, 1979) gibi faktörlerle etkilenebilir. Plazma proteinlerine geçirgenliğin geçici artışının ilaçla oluşturulan nöbetlerin kesilmesinden sonra bir saat içinde normal fonksiyonuna döndüğü gösterilmiştir (Lorenzo, 1972).

Epileptik nöbetler sırasında KBB geçirgenliğinde görülen bölgesel değişiklikler nöronal aktivite artmasının yanısıra akut hipertansiyonla da ilişkili olabilir. Belirli beyin bölgelerinde kan akımı otoregülasyonun kaybı sonucu, o bölgelerdeki serebral damarlarda aşırı bir vazodilatasyon gözlenmektedir (Suzuki, 1984).

Konvulsiyonlar sırasında yukarıda açıklandığı şekilde KBB geçirgenliğinin değişmesinde artmış kan basıncının rolü olduğu ancak, artmış nöronal aktivite ve başka faktörlerin de işe karıştığı ileri sürülmektedir. Konvulsif maddenin beyin spesifik bölgelerinde hiperaktiviteye neden olacağı ve serebral damarlardan serbestlenen birtakım nörotransmitterler nedeniyle lokal kan akımının etkileneceği ve serbestlenen vazoaaktif cAMP aracılığıyla transsellüler pinositozun oluşumuna karışabileceği Petito ve arkadaşları tarafından (1977) gösterilmiştir.

Normalde kan akımı serebral arterlerin direnç ve çaplarındaki otoregülatör ayarlamalarla 60-160 mm Hg arasında sistemik kan basıncından bağımsız tutulurlar (Ziylan, 1989; Ateş ve ark., 1993). Bu otoregülasyon otonom sinirlerin yanı sıra serebral damarlarda bulunan histamin, asetilkolin, adrenalin, noradrenalin gibi nörotransmitterler tarafından sağlanır (Nitch and Klatzo, 1983).

Bazı araştırmacılar (Häggendal and Johanson, 1972; Rapport, 1976) KBB' nin geçirgenlik artışını, kapillerlerin dilatasyonuna neden olan artmış intraluminal basınç nedeniyle endotelial hücrelerin arasındaki tigh junctionların açılmasıyla yada endotelial hücrelerin pinositik aktivitesinin artışıyla açıklamaktadırlar (Johansson et al., 1974; Johansson, 1976; Westergaard et al., 1977).

1.6. Eser Elementler

Ekolojik açıdan hava, su, toprak, bitki, hayvan ve insan birbirleriyle devamlı etkileşim halindedir ve organizma zaman içerisinde çevrenin etkisiyle şekillenir ve gelişir.

Canlılarda hücrenin proliferasyon, replikasyon ve farklılaşması için aminoasitler, glukoz, yağ asitleri, mineraller ve vitaminlere gereksinimleri vardır. İnsan vücudunun normal fonksiyonları ve gelişimi için gerekli olan 25 element vardır. Bu gruptan olan eser elementler enzim sistemlerinin ve özel taşıyıcı proteinlerin yapısında bulunur. Çoğunlukla eser element grubundan olan metal iyonları enzimlerin yapısına

girerek veya aktifleşmesini sağlayarak vücut işlevlerinde önemli rol oynar. Eser elementler; bakır, çinko, demir, mangan, selenyum, kobalt, iyot, molibden, flor, krom'dur.

KBB'ini oluşturan serebral endotelial hücreler ve kan-serebrospinal sıvı bariyerinde koroid plexus, MSS de homeostazisi enerji-bağımlı transport mekanizmalarının devamlılığıyla sağlar (Bradbury, 1979). Beyindeki hipoksik olaylar bu transport işlemlerini değiştirebilir ve bu dokuda enzimatik ve metabolik aktiviteler de belirgin değişikliklere yol açabilir. (Harik et al., 1982; Adam et al., 1987). Beynin normal fonksiyonlarını sürdürebilmesi için sürekli oksijene gereksimin vardır. Bunun yanı sıra oksijen metabolizması sürekli reaktif türler üretir, eğer elimine edilmezse genel belirti olarak endotelial hasarlı doku patolojisinin çeşitli formlarına neden olabilir (Kontos, 1985; Gyrglewski et al., 1987).

Beyinde birçok koruyucu sistem, oksijen derivesi serbest radikallerin birikimine engel olur. Serbest radikallerin zararlarından dokuyu koruyucu enzimler;

- katalaz
- glutatyon peroksidaz
- superoksid dismutaz (SOD)'dır.

Seruloplasmin ve metallothionein de serbest radikallerin etkisinden hücreyi koruyan proteinlerdir. Eser elementlerden Cu, Mn, Se ve Zn koruyucu enzimlerin önemli parçalarıdır (Acarsoy, 1998). Bu metaller elektron alıp vererek serbest radikallerin ortadan kaldırılmasına katılırlar. Bu nedenle koruyucu enzimlerin aktivitesi, eser elementlerin etkileriyle kontrol edilebilir (Tayarani, 1989).

6. 1. Çinko

Çinko major metabolik olaylarda, protein, karbonhidrat, enerji, nükleik asit, lipid ve hem sentezinde, gen ekspresyonu, doku sentezi ve embriyogenezisde rol alır.

Birçok farklı eser element gibi , çinko da MSS'inde çeşitli kantitatif değerlerde bulunur. Çinko dağılımı yaş, tür ve çevre gibi birçok faktör tarafından etkilenir. Çoğu eser element gibi gri maddeden zengin bölgelerde beyaz maddeye kıyasla çinko düzeyleri daha yüksektir. Hipokampusta en fazla olarak bulunur. Histokimyasal ve atomik absorsiyon spektrofotometrik yöntemlerle çinkonun yosunsu (mossy fibber) liflerde daha zengin bulunduğu gösterilmiştir (Crawford, 1983; Prohaska, 1987'den). Hipokampal dilimlerden çeşitli uyarılarla çinkonun salındığını gösterilmiştir (Howell et al., 1984; Prohaska, 1987'den).

İnsan ve sıçan beyinde çinko konsantrasyonu benzerlik gösterir. Bu özellikle demire ve bakıra göre zıt bir durumdur. Aynı şekilde tavşan, domuz, inek gibi farklı türlerde çinko konsantrasyonları insanlara yakın değerlerde bulunur.

Çinkonun, GABA homeostazisine karıştığı düşünülmektedir. Çinko artışının GABA'nın reseptörlerine bağlanmasını ve glutamat dekarboksilaz aktivitesini inhibe edebileceği bildirilmiştir (Ebadi et al., 1984). Ayrıca çinko ile nörotransmitter düzeyleri arasında ilişkinin açığa çıkarılması ile ilgili bir çalışmada çinko eksikliğinin hipokampustaki glutamat ve aspartat bağlanmasında değişiklik yapmadığı gösterilmiştir (Slevin, 1985).

1.6. 2. Bakır

Bakır beyinde yüksek düzeylerde bulunur. Genel olarak, bakır düzeyleri gri maddede, beyaz maddenin iki yada üç misli olmaktadır. Bu farklılık, protein dağılımını ve konsantrasyonunu yansıtmaktadır. Bakır, lokus serulous ve substansia nigra gibi belirli bölgelerde yüksek düzeydedir. Rat beyinde bakır en yüksek düzeyde hipotalamusta bulunur. Yetişkin rat beyindeki bakır düzeyi, insan beyinde bulunanın yaklaşık 1.5 katıdır. İnsan beyindeki ortalama miktarı 0.1 μmol dür (6.354 $\mu\text{gr}/\text{gr}$) (Bonilla et al., 1984; Prohaska, 1987'den).

Nöronal bakır, düşük molekül ağırlıklı ligandlarla birlikte -havuz oluşturarak- bulunmaktadır. Eğer ligand uygun ise etkili biyolojik aktivite ortaya çıkabilir. Örneğin, bir bakır kompleksinin antikonvulsan aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Sorenson et al.,1979; Prohaska, 1987'den). Bakırın yüksek konsantrasyonları, presinaptik terminallerden dopamin, norepinefrin ve serotonin geri alımı ve salınımını etkilediği çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (Komulainen and Tuomisto, 1981; Prohaska, 1987'den).

Dopamin β -monooksijenazın; SOD ve sitokrom oksidazın aksine beyin minör bir bakır proteini olduğu ve noradrenerjik nöronların hücre gövdelerinde, norepinefrin (NE) granüllerinin yakınında bulunduğu gösterilmiştir. Bu spesifik dağılım DBM'yi CuZn-SOD ve sitokrom oksidazdan farklı kılar. DBM beyin sapı, locus ceruleus ve posterior hipotalamusda yüksek düzeylerde bulunmaktadır.

Bakır, CuZn-SOD daki rolüyle demiyelinizasyona karşı korucu etki gösterebilir. Myelindeki lipidler, hidroksil radikali (HO•) gibi oksijen radikallerinin artmış oluşumlarıyla peroksidasyona maruz kalırsa demiyelinizasyonu ateşleyebilir. Bakırın miyelinizasyondaki rolü tam olarak bilinmemektedir. Ancak, büyüme ve gelişim sırasında özellikle beyin gelişiminde bakıra gereksinimin arttığı bilinmektedir.

1.6. 3. Demir

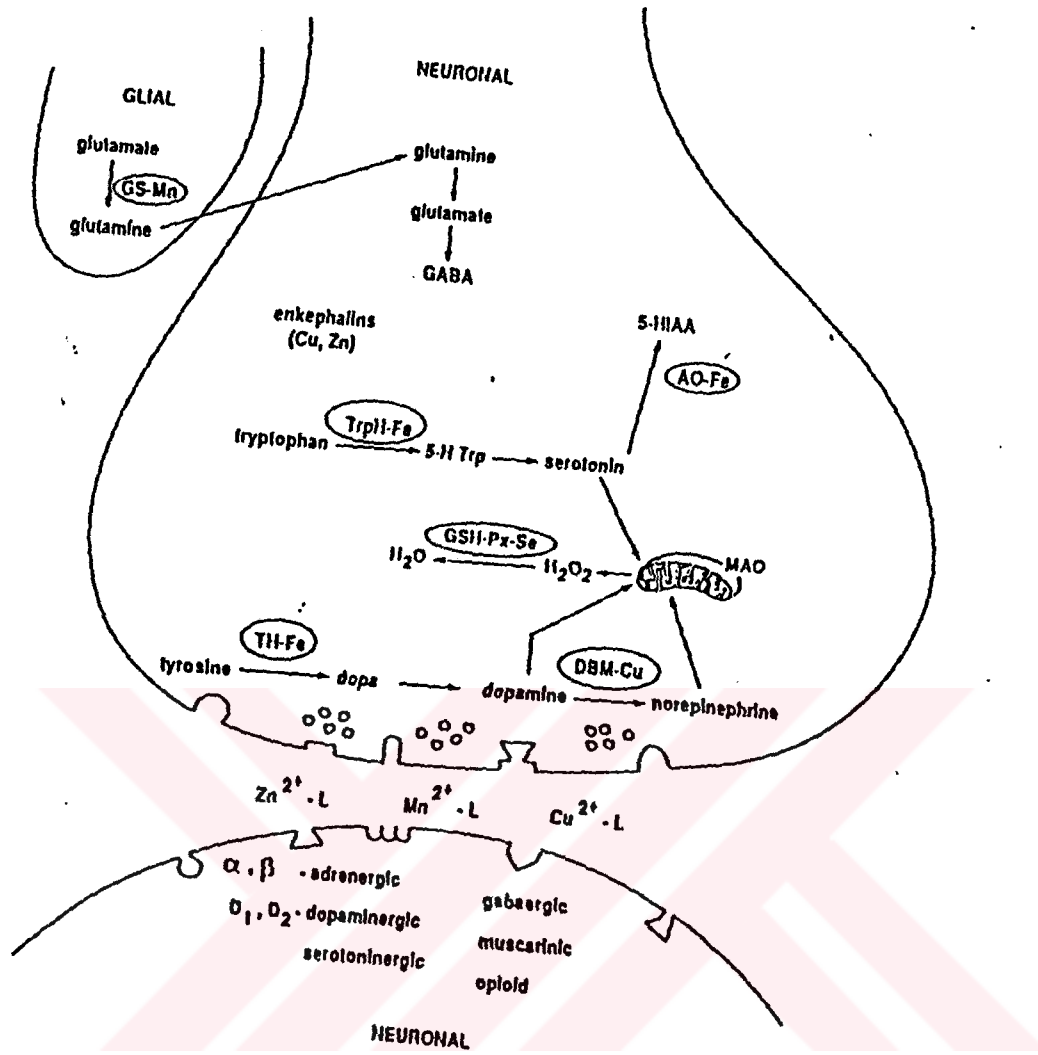
Demir ve bakır yaşam için gerekli metabolik proseslerin çoğunda yer alır. Demir, hem ve non-hem içeren proteinler, oksidatif metabolizma ve DNA sentezinde yer alan enzimler de dahil olmak üzere tümü için gereklidir (Crowe and Morgan, 1996). Beyin gelişimi sırasında demir eksikliğinin ortaya çıkması, kognitif davranışlar üzerine uzun süreli ve zararlı etkilere yolaçabilir. Bu durum serebral fonksiyonlarda demirin önemini vurgulamaktadır. Demir, bakıra benzer olarak beyinde beyaz maddeye kıyasla gri maddede fazla olarak dağılmıştır. İnsan beyinde özellikle pallidum, putamen ve substansia nigra yüksek düzeylerde bulunmuştur.

Hücre kültürü çalışmalarında, nöronal hücrelerin transferrin-aracılı bir mekanizma ile demiri aldıkları gözlemlenmiştir (Crowe and Morgan, 1996). Nöronal hücrelerde demir proteinle bağlı olarak bulunur. Bu protein-bağlı demir, havuzlarda ferritin olarak depo şeklinde veya fonksiyonel enzimlerin yapısında bulunabilir.

Beyin demir konsantrasyonu birçok faktör tarafından etkilenir. Bunlar, gelişim esnasında demirin ortamda bulunması, yaş, tür gibi faktörlerdir. İnsan beyindeki demir miktarının, kemirgenlerden ve evcil hayvanlardan daha fazla olduğu gösterilmiştir (Kofoid, 1970).

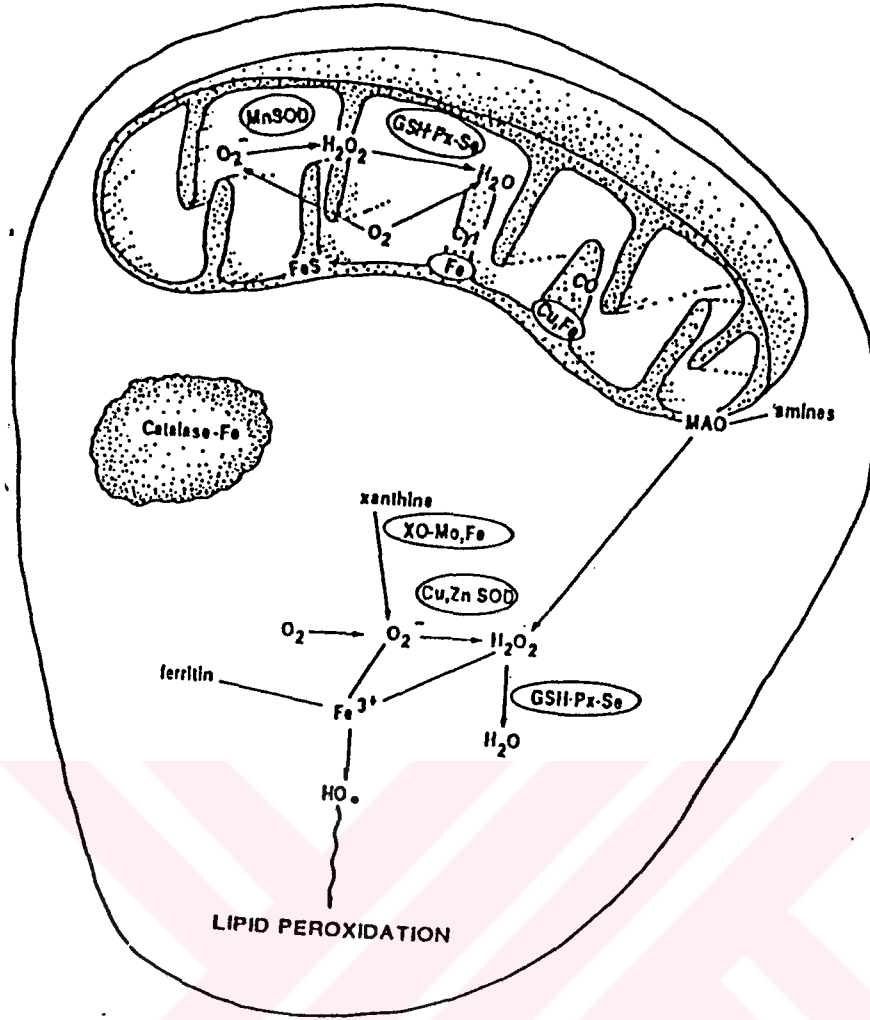
Youdim ve arkadaşlarının demirin (1980,1983), dopamin (DA) ve serotonin'in postsinaptik bağlanmalarındaki fonksiyonunu araştıran çalışmalarında; demir eksikliğinde, D2 -dopaminerjik reseptör bağlayan bölgelerde bir azalma gözlenirken α - veya β -adrenerjik, muskarinerjik, serotoninerjik, GABAerjik veya D1-dopaminerjik sistemlerde farklılığın olmadığı gösterilmiştir.

Demir, bakır ve diğer eser elementler gibi nörotransmitter homeostazisinde kullanılır ve enerji metabolizmasındaki birçok enzimin yapısında yer alır (Şekil 1.6.3.1). Beyin eser metallerinin hem lipid peroksidasyonuna karşı koruyucu olduğu hem de lipid peroksidasyonu üretimine karıştığı gösterilmiştir (Şekil 1.6.3.2).



Şekil 1.6.3.1. Nörotransmitter homeostazisinde eser elementlerin rolü. (Prohaska, 1987)

Glutamin sentetaz (GS), triptofan 5-hidroksilaz (TrpH), aldehid oksidaz (AO), glutatyon peroxidaz (GSH-Px), tirozin 3-hidroksilaz (TH) ve dopamin β -monooksijenaz (DBM) da dahil olmak üzere birçok enzim bağlı-metal içerir. Birçok çalışmada, pre- ve post sinaptik reseptörler ve eser element ligandlarının (L) etkileşimleri yönlendirdiği görülmektedir. MAO, monoamine oksidaz A ve B; GABA, γ -aminobütirik asit; 5-H Trp, 5- hidroksitriptofan; 5-HIAA, 5-hidroksiindolasetik asit.



Şekil 1.6.3.2. Beyindeki oksijen metabolizmasında eser elementlerin rolü (Prohaska, 1987).

Metal-bağlı enzimler hücre-içi organellerde birçok reaksiyon da yer alırlar. Peroksizomlarda katalaz içeren bu proteinler; mitokondride; Mn-bağlı süper oksitdismutaz (Mn-SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), sitokrom-c oksidaz (CO), sitokromlar b,c1 ve c (Cyt) ve non-hem demir proteinler (FeS), sitoplazmada; GSH-Px, CuZn-bağlı süperoksitdismutaz (CuZn-SOD) ve ksantin oksidaz (XO)'dur. Hidrojenperoksit (H₂O₂), O₂-• ve serbest demir düzeylerinin kontrolü, hidroksi radikalleri (HO•) oluşumunu ve onu takip eden lipid peroksidasyonunu önlemede monoamino oksidaz (MAO) A ve B önemlidir.

2. AMAÇ VE KAPSAM BÖLÜMÜ

Deneysel epileptik nöbet oluşturmak için, çeşitli hayvan modellerinde, Pentylenetetrazole (Lorenzo et al., 1975), Bicuculline (BC), elektriksel stimülasyon (Westergaard et al., 1977) gibi pek çok yöntem kullanılmıştır. Epilepside, medulla spinalisle iletilen deşarjlar tüm vücutta tonik-klonik konvulsiyonlara neden olur. Nöbetin sonuna doğru, tonik-klonik konvulsiyon denilen, ardarda gelen tonik ve spazm tarzında kas kasılmaları ortaya çıkar. Sıklıkla kişi dilini ısırır yada bazen siyanoza yol açacak şekilde solunum güçlüğü çeker. Bu konvulsantların uygulanması, neokorteks, olfaktor bölgeler, talamus ve hipotalamusu çeşitli derecelerde etkileyerek, beyin parankimasında proteinlerin extravazasyonuna neden olur. Oluşturulan epileptik konvulsiyonların insan epileptik nöbetlerine çok benzemesi nedeniyle pirimer jeneralize nöbetlerin oluşturulmasında PTZ en çok kullanılan ajanlardan biridir (Miller, 1987; Ziylan and Ateş, 1989; Öztaş ve Kaya, 1990; Ateş ve ark., 1992; Veliskova, 1996; Fischer, 1989). PTZ ' un etki mekanizmasının, direkt eksitatör etkisinin yanısıra GABA_A reseptör blokajı ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir (Ziylan ve Ateş, 1989). PTZ' un 50-80 mg/kg tek bir dozunun uygulanmasını takiben myoklonik jerkler, myoklonuslar, tonik ekstansiyon ve fleksiyonlar, tonik-klonik konvulsiyonlar ortaya çıkmaktadır (Mares and Schichkerova, 1980). Meydana gelen jeneralize tonik-klonik nöbetlerin serebrovasküler geçirgenliği arttırdığı ve normalde beyine geçemeyen makromoleküllerin hasarlanan KBB bölgelerinden geçişinin sağlandığı pek çok araştırmacı tarafından gösterilmiştir. Bu araştırmaların çoğunda epileptik nöbet nedeniyle KBB' nin bozulduğunu göstermek için kanda albümine bağlanarak taşınan EB kullanılmıştır (Nitsch and Klatzo, 1983; Öztaş ve Sandalcı, 1984; Ziylan ve Ateş, 1989).

Klinik uygulamalarda en önemli sorunlardan biri kronik nöbet aktivitesinin serebrovasküler geçirgenliği nasıl etkilediği ve anti-epileptik tedavinin bu uzun süreçteki etkisinin nasıl geliştiğidir (Reynolds, 1988).

Epilepsilerin bazı formlarında aktif oksijen metabolitlerinin artması veya antioksidan koruyucu mekanizmaların aktivitesinin azalmasının tekrarlayan nöbetlerin riskini arttırabileceği Willmore ve Rubin (1981), tarafından yapılan bir çalışmada öne sürülmüştür.

Artan serbest radikaller lipid peroksidasyonuna neden olarak nöronal dejenerasyon meydana getirebilir, dolayısıyla epilepsinin gelişiminde bir rol oynayabilir (Abbott et al., 1990; Jesberger and Richardson, 1991). Beyinde bu reaktif türlerin etkilerinden koruyucu birçok sistem vardır; SOD, glutatyon peroksidaz ve katalaz enzimleri serbest radikallerin oluşumu ve yıkılımı arasındaki dengeyi korur. Bu enzimlerin bazıları bakır ve çinko, bazıları manganaz, bir kısmı da demir içerir. Bu metaller elektron alıp vererek serbest radikallerin ortadan kaldırılmasına katılırlar. Bu nedenle koruyucu enzimlerin aktivitesi, eser elementlerin etkileriyle kontrol edilebilir (Tayarani, 1989).

Eser element düzeylerindeki değişikliğin primer olarak epilepsiye mi yoksa anti epileptik ilaçların eser elementlerin kinetiği üzerine yaptığı etkilere mi bağlı olduğu tartışmalıdır.

Epileptik nöbetlerin merkezi etkilerinin yanısıra, periferik etkilerinin de olduğu gösterilmiştir. Nöbetle birlikte ortaya çıkan fizyolojik değişikliklerin iki yolla meydana geldiği düşünülmektedir; nöbetin motor komponentinin ortaya çıkardığı değişiklikler (vücut ısısında artma, PH ve kan gazları değişiklikleri), ile otonomik ve endokrin değişikliklerdir. Otonomik ve endokrin değişiklikler, kısmen motor aktivite tarafından etkilenmiş olsalar bile, primer olarak hipotalamus ve diğer kontrol merkezlerini etkileyen nöronal eksitasyonun direkt etkisiyle meydana gelir (Meldrum, 1988). Nöbetler sırasında meydana gelen metabolik değişiklikleri araştırmak amacıyla serumda glukoz, lipid, çeşitli hormon ve elektrolit düzeylerine bakılmıştır (Papavasiliou and Miller, 1983).

Tez çalışmamda epilepsi ile ilgili metinde bahsi geçen çalışmalar gözönüne alınarak, tek doz PTZ nöbetlerini (akut nöbet), tekrarlanan PTZ (kronik nöbet) nöbetleriyle karşılaştırarak konvülsiyonların beyinde ortaya çıkardığı değişiklikleri açıklamaya çalıştık.

Bu çalışmada; tek doz ve tekrarlanan dozlarda PTZ nöbetleri oluşturarak geçirilen bir nöbetin sonraki nöbetleri nasıl etkileyebileceğini, konvulsif nöbet aktivitesinin süresini ve şeklini, nöbetle ilişkili olarak kan-beyin bariyerinde meydana

gelen bölgesel açılmaları değerlendirerek MSS'nin PTZ'e duyarlılığında değişiklik olup olmadığını araştırdık.

Aynı zamanda PTZ ile oluşturduğumuz tekrarlanan nöbetlerin beyinde artmış metabolik aktiviteyle ilişkili antioksidan sistemlerde rol alan enzimlerin fonksiyonlarına karışan bakır, demir ve çinko düzeylerindeki etkilerini sıçanların beyin dokularındaki konsantrasyonlarını ölçerek incelemeyi amaçladık. Nöbetlerin periferdeki etkilerini incelemek amacıyla da serum da total protein, albümin, ürik asit, elektrolitler (Na^{+2} , K^{+2} , Cl^{-2} , Ca^{+2} , P^{+2}), trigliserid ve glukoz düzeylerini ölçtük.



3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamızda 20-24 haftalık (350-400gr) Wistar albino türü, erkek sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar kafeslerde dörtlü olarak, 12 saat aydınlık /12 saat karanlık ortamında kalacak şekilde düzenlendiler. Standart sıçan yemi ve çeşme suyunu ad libitum olarak alan hayvanlar önce iki ana gruba ayrıldı. Bu iki ana grup kendi içinde dört alt gruba ayrıldı.

Grup 1: PTZ ile jeneralize tonik-klonik nöbet oluşturularak KBB ve nöbet aktivitesinin değerlendirildiği gruplar:

Grup 1A : Tek doz PTZ'nin uygulandığı grup (n= 7)

Grup 1B : Kontrol grubu (tek doz serum fizyolojik verilen grup) (n= 7)

Grup 1C : Tekrarlanan PTZ dozlarının uygulandığı grup (n= 7)

Grup 1D : Tekrarlanan dozlarda serum fizyolojik verilen grup (n= 7)

Grup 2: PTZ ile oluşturulan jeneralize tonik-klonik nöbetten sonra beyin dokusunda eser element tayini ve serumda biyokimyasal parametrelerinin incelendiği gruplar:

Grup 2A : Tek doz PTZ'nin uygulandığı grup (n= 9)

Grup 2B : Kontrol grubu (naif grup) (n= 9)

Grup 2C : Tekrarlanan PTZ dozlarının uygulandığı grup (n= 9)

Grup 2D : Tekrarlanan dozlarda serum fizyolojik verilen grup (n= 9)

Kullanılan kimyasal maddeler:

Pentilentetrazol (PTZ)- Sigma, St. Louis, MO.USA

Evans Blue (EB) - Sigma, St. Louis, MO.USA

Grup 1: PTZ ile jeneralize nöbet oluşturularak KBB ve nöbet aktivitesinin değerlendirildiği gruplar:

Grup 1A : Tek doz PTZ'nin uygulandığı grup ; deney grubundaki sıçanların femoral venlerine, eter anestezisi altında, içi heparinli serum fizyolojik (SF) ile doldurulmuş kanül yerleştirildi. Kanül subkutan ilerletilerek diğer ucu boyuna yakın yerden çıkartılarak sabit hale getirildi. Yaklaşık iki saat hayvanın kendine gelmesi beklendikten sonra, taze olarak hazırlanmış, SF'de çözdürülmüş %2'lik 3 ml/kg Evans Blue (EB) i.v. olarak enjekte edildi. Beş dakikalık süreyi takiben deri ve mukozaların boyanması gözlendikten sonra, SF'de çözdürülmüş 55 mg/kg PTZ i.v. olarak enjekte edildi ve hayvanlar yaklaşık 30 dakika boyunca epileptik aktivite açısından gözlendi. Daha sonra hafif eter anestezisi altında torakotomi yapılarak sol kalpten SF ile 10-15 dakika perfüzyon yapılarak kurban edilen hayvanların beyinleri çıkartıldı ve 24 saat formalin içinde fikse edildi. Fiksasyon sonunda 2-3 mm'lik koronal beyin kesitlerinde EB geçişi ve dağılımı makroskopik olarak değerlendirildi. KBB geçirgenliği, EB varlığına göre anatomik beyin bölgelerinde stereotaksik atlas yardımıyla saptandı ve değerlendirmeler "yok (0)", "hafif mavi(+)", "koyu mavi (++)" şeklinde yapıldı. (McCaughran and Manetto, 1982; Ziylan ve ark, 1992). Epileptik nöbet aktivitesi ise nöbet sıklığı, konvulsiyon süresi ve % de mortalite şeklinde değerlendirildi.

Grup 1B : Kontrol grubundaki sıçanların femoral venlerine, hafif eter anestezisi altında, içi heparinli SF ile doldurulmuş kanül yerleştirildi. Kanül subkutan ilerletilerek diğer ucu boyuna yakın yerden çıkartılarak sabit hale getirildi. Yaklaşık iki saat hayvanın kendine gelmesi beklendikten sonra, taze olarak hazırlanmış, SF'de çözdürülmüş %2'lik 3 ml/kg Evans Blue (EB) i.v. olarak enjekte edildi. Beş dakikalık süreyi takiben deri ve mukozaların boyanması gözlendikten sonra, 1 ml/ kg %0.9'luk NaCl enjekte edildi. Hayvanlara yaklaşık 30 dakika boyunca izlendikten sonra yukarıda ki işlemler aynen uygulandı. Beyin dokuları çıkartılarak 24 saat formalin içinde fikse edildi.

Grup 1C : Tekrarlanan PTZ dozlarının uygulandığı grup; deney grubundaki sıçanlara g naşırını toplam beş kez 55 mg/kg dozunda periton içine (i.p) PTZ enjeksiyonu yapıldı (McCaughran and Manetto, 1982). Her seferinde SF içerisinde çözdürülmüş PTZ taze olarak hazırlandı. PTZ enjeksiyonundan hemen sonra sıçanlar pleksiglas gözlem kafesine konuldu ve 30 dakika boyunca nöbet aktivitesi gözlendi. 6. enjeksiyondan önce hayvanlar eter anestezişine alınarak femoral venlerine, içi heparinli SF ile doldurulmuş kanül yerleştirildi. Kanülün diğer ucu boyuna yakın yerden çıkartılarak sabit hale getirildi. Yaklaşık iki saat hayvanın kendine gelmesi beklendikten sonra, taze olarak hazırlanmış, SF’de çözdürülmüş %2’lik 3 ml/kg Evans Blue (EB) i.v. olarak enjekte edildi. Beş dakikalık süreyi takiben deri ve mukozalarda boyanma gözlendikten sonra, aynı miktarda %0.9’luk NaCl enjekte edildi. Hayvanlar yaklaşık 30 dakika boyunca izlendikten sonra sonra Grup 1A yapılan işlemler aynen uygulandı. EB geçişi ve dağılımları makroskobik olarak değerlendirildi. KBB geçirgenliği, EB varlığına göre anatomik beyin bölgelerinde stereotaksik atlas yardımıyla saptandı ve değerlendirmeler “yok (0)”, “hafif mavi(+)”, “koyu mavi (++)” şeklinde tapıldı (McCaughran and Manetto, 1982; Ziylan ve ark, 1992). Epileptik nöbet aktivitesi ise nöbet sıklığı, konvulsiyon süresi ve % de mortalite şeklinde değerlendirildi.

Grup 1D : Tekrarlanan dozlarda serum fizyolojik verilen grup; sıçanlara g naşırını toplam beş kez i.p. SF aynı miktarda uygulandı ve 30 dakika boyunca gözledi. Altıncı enjeksiyondan önce hayvanlar eter anestezişine alınarak femoral venlerine, içi heparinli SF ile doldurulmuş kanül yerleştirildi. Kanülün diğer ucu boyuna yakın yerden çıkartılarak sabit hale getirildi. Yaklaşık iki saat hayvanın kendine gelmesi beklendikten sonra, taze olarak hazırlanmış, SF’de çözdürülmüş %2’lik 3 ml/kg EB i.v. olarak enjekte edildi. Beş dakikalık süreyi takiben deri ve mukozalarda boyanma gözlendikten sonra, aynı miktarda %0.9’luk NaCl enjekte edildi. Hayvanlar yaklaşık 30 dakika boyunca izlendikten sonra yukarıdaki işlemler aynen uygulandı.

Grup 2: PTZ ile oluşturulan jeneralize nöbetten sonra beyin dokusunda eser element düzeyinin ve serumda biyokimyasal parametrelerin incelendiği gruplar:

Grup 2A : Tek doz PTZ'nin uygulandığı grup; deney grubunda ki sıçanlara 55 mg/kg dozunda i.p. PTZ enjeksiyonu yapıldı. Enjeksiyondan hemen sonra sıçanlar pleksiglas gözlem kafesine konuldu ve 30 dakika boyunca nöbet aktivitesi gözlemlendi. Daha sonra eter anestezisi altında sıçanlara torakotomi yapılarak kalpten kan numuneleri alındı, sakrifiye edilen hayvanların beyinleri çıkartıldı. Serebellum ayrıldıktan sonra yaş ağırlıkları alınarak dibi konik dereceli cam tüplere konularak ağızları parafilm ile kapatılıp derin dondurucuda -20°C de Fe, Cu, Zn ölçümleri yapılmak üzere biriktirildi. Alınan kan örneklerinden serum elde edilerek glukoz, total protein, albümin, trigliserit, sodyum, potasyum, kalsiyum, fosfor, klorür, ürik asit parametrelerine bakıldı.

Grup 2B : Kontrol grubu olarak alınan sıçanlara eter anestezisi altında torakotomi yapılarak kalpten kan örnekleri alındı, sakrifiye edilen hayvanların beyinleri çıkartıldı. Serebellum ayrıldıktan sonra yaş ağırlıkları alınarak dibi konik dereceli cam tüplere konularak ağızları parafilm ile kapatılıp derin dondurucuda -20°C de Fe, Cu, Zn ölçümleri yapılmak üzere biriktirildi. Alınan kan örneklerinden serum elde edilerek glukoz, total protein, albümin, trigliserit, sodyum, potasyum, kalsiyum, fosfor, klorür, ürik asit parametrelerine bakıldı.

Grup 2C : Tekrarlanan PTZ dozlarının uygulandığı grup; deney grubunda ki sıçanlara gūnaşırı toplam altı kez 55 mg/kg dozunda i.p. PTZ enjeksiyonu yapıldı (McCaughran and Manetto, 1982). Her seferinde SF içerisinde çözdürülmüş PTZ taze olarak hazırlandı. PTZ enjeksiyonundan hemen sonra sıçanlar pleksiglas gözlem kafesine konuldu ve her seferinde 30 dakika boyunca nöbet aktivitesi gözlemlendi. Son enjeksiyon da 30 dakika gözlemlendikten sonra sıçanlara eter anestezisinin anestezisi altında torakotomi yapılarak kalpten kan numuneleri alındı, sakrifiye edilen hayvanların beyinleri çıkartıldı. Serebellum ayrıldıktan sonra yaş ağırlıkları alınarak dibi konik

dereceli cam tüplere konularak ağızları parafilm ile kapatılıp derin dondurucuda -20°C de Fe, Cu, Zn ölçümleri yapılmak üzere biriktirildi. Alınan kan örneklerinden serum elde edilerek glukoz, total protein, albümin, trigliserit, sodyum, potasyum, kalsiyum, fosfor, klorür, ürik asit parametrelerine bakıldı.

Grup 2D : Tekrarlanan dozlarda serum fizyolojik verilen grup; sıçanlara gūnaşını toplam altı kez 1 ml/kg dozunda i.p. SF enjeksiyonu yapıldı. Her seferinde 30 dakika boyunca gözlemlendi. Son enjeksiyon da 30 dakika gözlemlendikten sonra sıçanlara eter anestezi altında torakotomi yapılarak kalpten enjektörle kan örnekleri alındı, sakrifiye edilen hayvanların beyinleri çıkartıldı. Serebellum ayrıldıktan sonra yaş ağırlıkları alınarak dibi konik dereceli cam tüplere konularak ağızları parafilmle kapatılıp derin dondurucuda -20°C de Fe, Cu, Zn ölçümleri yapılmak üzere biriktirildi. Alınan kan örneklerinden serum elde edilerek glukoz, total protein, albümin, trigliserit, sodyum, potasyum, kalsiyum, fosfor, klorür, ürik asit parametrelerine bakıldı.

Deneyisel çalışmalar, sabah saat 9-11 arasında yapılmıştır.

Tüm veriler Ort \pm SH (standart hata) olarak ifade edildi.

Nöbet süresi ve konvülsiyon şeklinin değerlendirilmesinde Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi ve Mann-Whitney U testi kullanıldı. P<0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Eser elementlerin ve biyokimyasal parametrelerin değerlendirilmesinde tek-yönlü ANOVA testi posthoc testlerden Newman-Keuls Multiple Comparison uygulandı. Anlamlı bulunan gruplarda P<0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3.1. Çalışma ve Yöntemle İlgili Özellikler

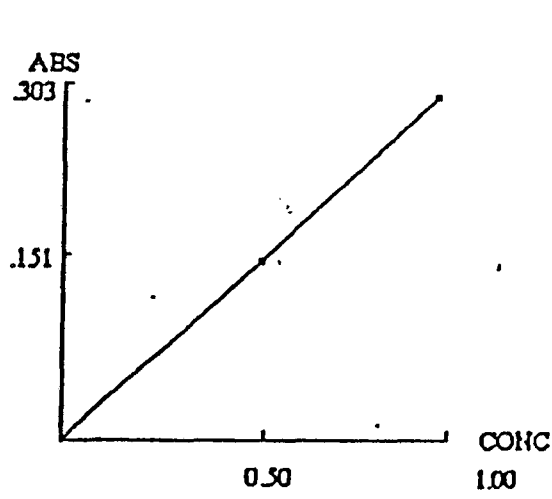
Tezimize ile ilgili bütün deneysel aşamalar ve materyallerin toplanması Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji A.B.D. da Fizyoloji Laboratuvarında Mart-Ekim 1997 tarihlerinde yapılmıştır.

Tez çalışmasının etik kurul onay raporu alınmıştır.

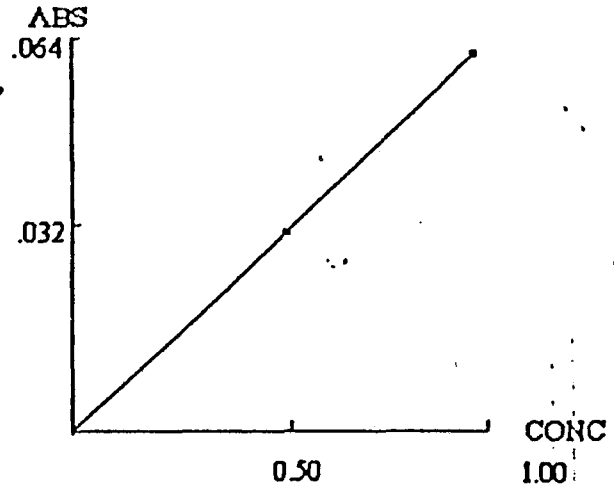
Biyokimyasal parametreler; Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya A.B.D. ile görüşülerek, Araştırma ve Uygulama Hastanesi Biyokimya Laboratuvarında OPERA (Bayer) otoanalizör cihazında ölçüldü.

Eser element ölçümlerinin yapılabilmesi için Cerrahpaşa Tıp Fak. Biofizik A.B.D. ile görüşülerek izin alındı. Anabilim Dalında bulunan AA-680 Shimadzu Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresinde ölçümler yapıldı.

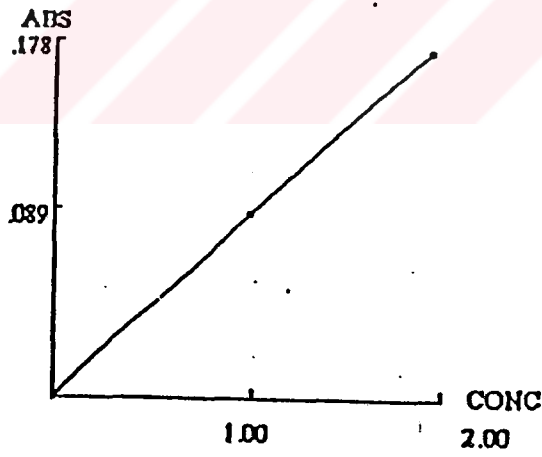
Eser element ölçümleri için Titrisol 1000±0.002 gr. (Merck) standart stok solüsyonundan çinko için 0.5 ve 1, bakır ve demir için 1 ve 2 µg/ml'lik standart çözeltiler hazırlandı. Blank olarak bidistile su kullanıldı. Alette her elemente ait özel dalga boyunda ışık veren HCL (Hallow Cathod Lamp) lambaları ile yine her elemente uygun hava-asetilen gaz karışımı, slit aralığı, HCL ve BGC (Back Ground Correction) modları seçildi. Bu şartlarda blank ve standart çözeltiler alete verilerek kalibrasyon grafikleri çizdirildi (Şekil 3.1.1.). Alınan doku örnekleri yaş ağırlık olarak tartılıp dereceli santrifüj tüpleri içerisine yerleştirildi. Üzerlerine 1ml derişik nitrik asit ilave edilip total hacmin yarısı kalıncaya kadar 100°C de çeker ocaktaki etüvde bekletildi. Örnekler etüvden çıkarılıp soğumaları beklendi ve üzerlerine 1 ml derişik perklorik asit ilave edilerek tekrar etüve konuldu. Yine total hacmin yarısı kalıncaya kadar etüvde bekletildi. Bu işlemden sonra etüvden çıkarılan örneklerin üzerine bidistile su ilave edilerek toplam hacim 1 ml'ye tamamlandı ve böylece alette ölçülebilir hale getirildi.



Şekil-1: Çinko kalibrasyon grafiği



Şekil-2: Bakır kalibrasyon grafiği



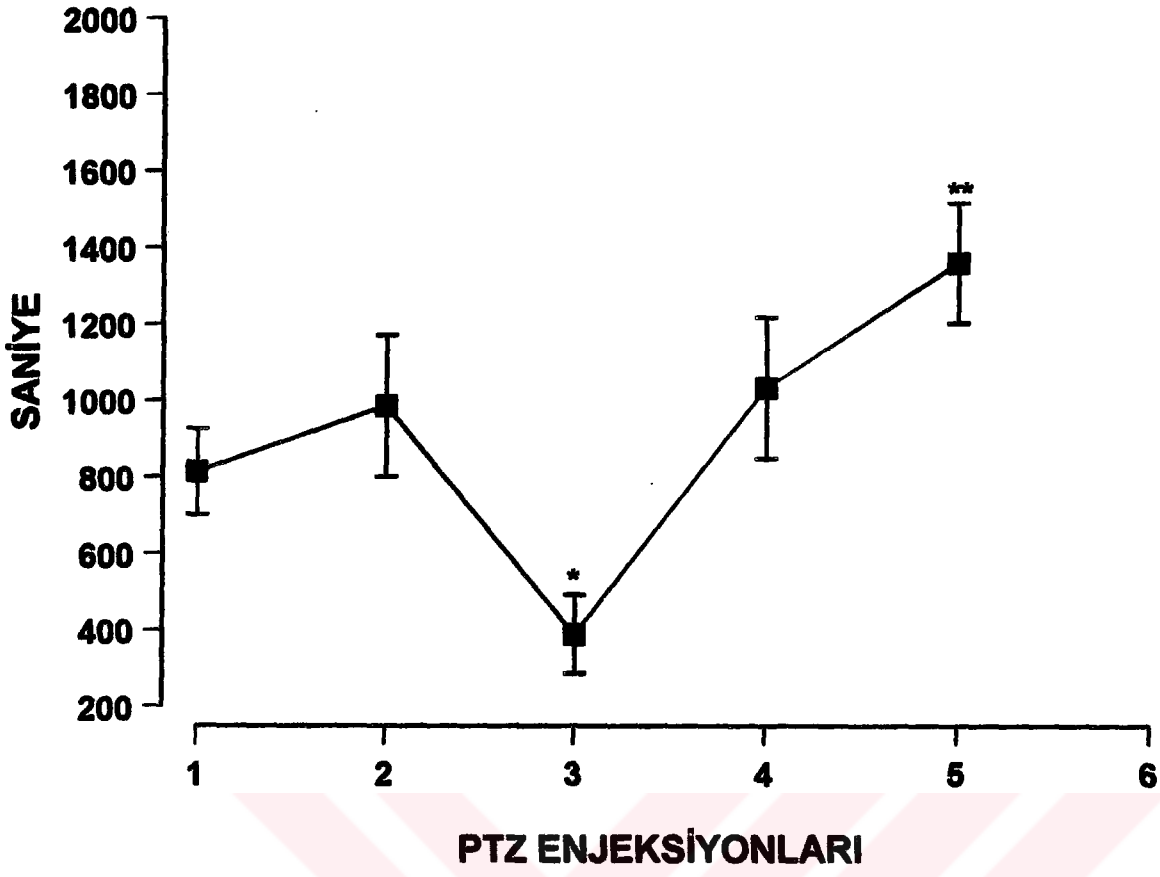
Şekil-3: Demir kalibrasyon grafiği

Şekil 3.1.1. Eser element düzeyleri için cihazda çizdirilen kalibrasyon grafikleri.

4. BULGULAR

4.1. Epiletik Nöbet Aktivitesi:

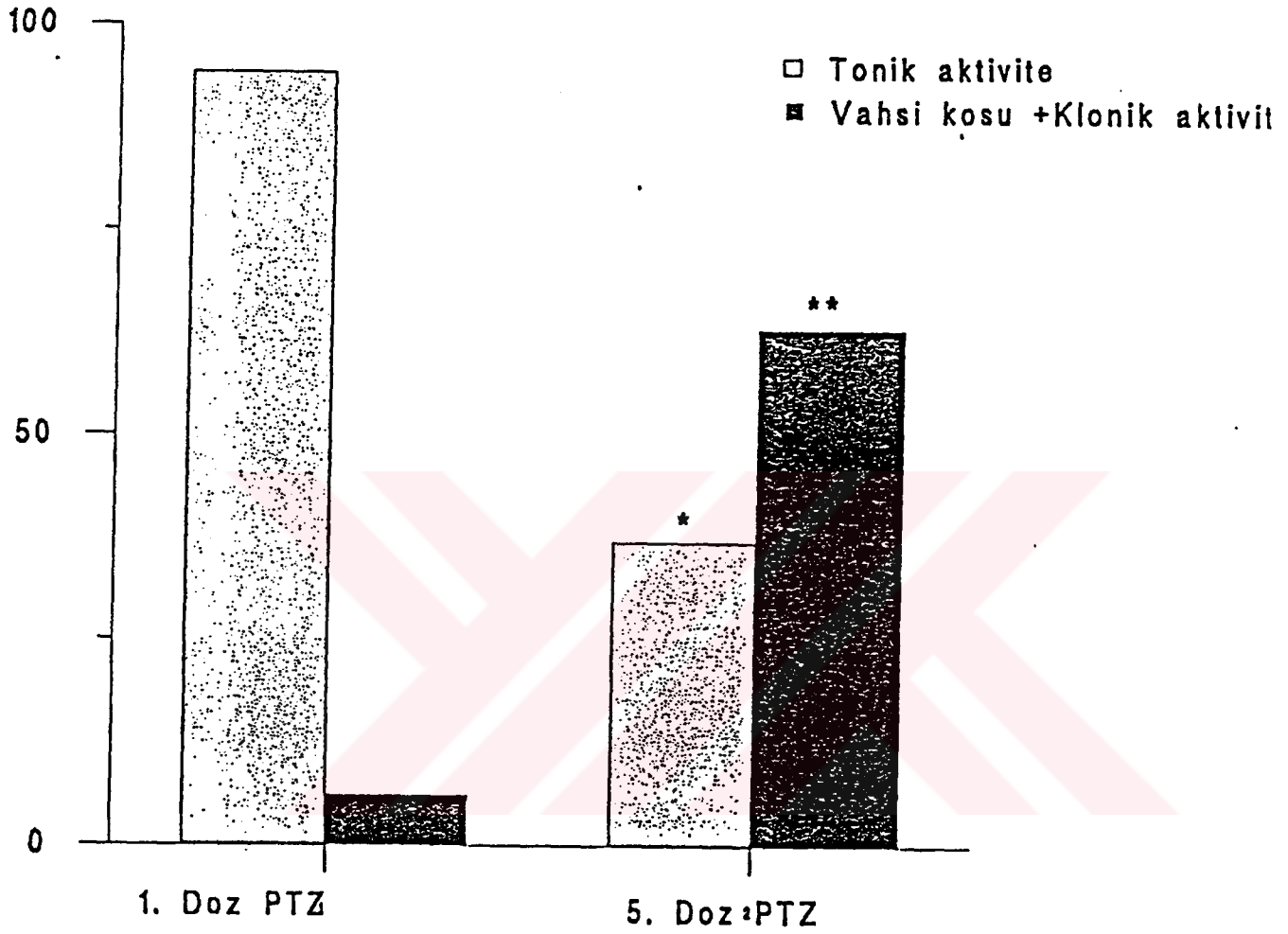
55 mg/kg PTZ enjeksiyonu tüm hayvanlarda yaklaşık 6-23 dakika süreli jeneralize tonik-klonik nöbetlere yol açtı. Jeneralize nöbetler, fasiyel ve ön üye kaslarının klonuslarına eşlik eden klonik nöbetleri takiben başlayıp baş, boyun, kuyruk ekstansiyonu, tonik fleksiyon-ekstansiyon ile birlikte doğrulma refleksinin kaybı, vahşi koşu ve takiben uzamış klonuslarla tamamlandı. Tek doz 55 mg/kg i.v. PTZ enjeksiyonunu takiben oluşan tonik-klonik nöbetin yaklaşık 737 ± 90 saniye sürdüğü belirlendi. Tek ve tekrarlanan dozların nöbet süresine etkisini gösterebilmek amacıyla tekrarlanan enjeksiyonların 6. dozu i.v. olarak uygulandı. Ve altıncı enjeksiyon sonucunda ortalama nöbet süresi yaklaşık 439 ± 49 saniye olarak bulundu (Çizelge 4.2.1.). Tek ve tekrarlanan nöbet süreleri karşılaştırıldığında nöbetler arasında anlamlı bir fark olduğu görüldü. Tekrarlanan enjeksiyonlara bağlı olarak nöbetin tonik-klonik komponentlerinde ve süresinde önemli değişiklikler saptandı (Şekil 4.1.2.). 1. i.p PTZ enjeksiyonu sonrası toplam tonik-klonik nöbet süresi ortalama 815 ± 113 , 2. enjeksiyon sonrası sonrası 986 ± 185 , 3. enjeksiyon sonrası 389 ± 103 , 4. enjeksiyon sonrası 1034 ± 185 , 5. enjeksiyon sonrası 1361 ± 157 saniye olarak bulundu (Şekil 4.1.1.) Toplam nöbet süresi ilk nöbete oranla 3. enjeksiyondan sonra anlamlı olarak azalmış, 5. enjeksiyonda sonra ise anlamlı olarak artmıştır. Toplam nöbet süresinde artmanın gözlemlendiği 5. enjeksiyondan sonra gözlenen nöbet komponentleri ayrı ayrı değerlendirildi ve Şekil 4.1.2'de görüldüğü gibi 1. enjeksiyondan sonra oluşan tonik aktivite, nöbet süresinin %94'ünü oluştururken bu oranın 5. enjeksiyondan sonra %37'ye düştüğü bulundu. Vahşi koşu ile birlikte ekstremitelerin klonik kasılmaları ilk nöbetin %6'sını oluştururken 5. enjeksiyon sonucu oluşan nöbette %63 oranında yer tutmuştur. İlk enjeksiyon sonrası mortalite oranı %28.5, ikinci enjeksiyon sonrası %30 idi.



Şekil 4.1.1. Günaşırı beş kez uygulanan PTZ dozlarıyla oluşturulan jeneralize tonik-klonik nöbet süreleri. Veriler Ort.± SH olarak gösterildi. Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi.

* $p < 0.05$ tüm PTZ dozlarına göre.

** $p < 0.05$ ilk doz PTZ'ye göre.



Şekil 4.1.2. PTZ'nin birinci ve beşinci enjeksiyonlarında tonik aktivitenin ve vahşi koşu ile birlikte klonik kasılmaların nöbet süresine oranları. Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi.

* $p < 0.05$ birinci doz PTZ'e göre

** $p < 0.05$ birinci doz PTZ'e göre

4.2. Kan-Beyin Bariyeri Geçirgenliği :

Serum fizyolojik verilen kontrol (Grup 1B ve 1D) gruplarındaki hayvanların beyinlerinde EB geçişi gözlenmedi. Tek ve tekrarlanan PTZ dozlarının verildiği gruplarda ise kan-beyin bariyerinin açıldığını gösteren EB geçişi, bilateral ve anatomik olarak sınırlı beyin bölgelerinde farklı dağılım göstermekteydi (Şekil 4.2.1. ve Şekil 4.2.2.). Tek doz PTZ'nin verildiği grupta kan-beyin bariyeri hasarına bağlı 1+ ve/veya 2+ şiddetindeki EB geçişleri tüm hayvanlarda görüldü (Şekil 4.2.3). En yoğun olarak preoptik alan, kaudat nükleus, putamen, talamus, hipotalamus, ortabeyin, kolikulus süperiorda gözlendi (Şekil 4.2.4.). Serebellum, kolikulus inferior, substansia nigra ve ponsta da yaygın EB boyanması saptandı (Şekil 4.2.3.).

Tekrarlanan dozlarda PTZ uygulanmasını izleyerek EB verilen grupta ise kan-beyin bariyeri bozulması daha az oranda saptandı (Şekil 4.2.1). Bu grupta çalışılan hayvanların dördünün beyinlerinde herhangi bir bariyer açılımı saptanamadı (Çizelge 4.2.1).

Bariyer bozulması saptanan diğer hayvanlar ise EB geçişi kaudat nükleus, hipotalamus, talamus, kolikulus inferior ve superior, ortabeyin, serebellum, substansia nigra, ponsta ve sadece 1+ derecesinde oldukça hafif gözlendi (Şekil 4.2.5). Akut grupla karşılaştırıldığında bu grubun kan-beyin bariyeri bozulmasının daha az ve bozulma şiddetinin de daha hafif olduğu ortaya çıkmaktadır (Şekil 4.2.2).

Çizelge 4.2.1. Tek doz ve tekrarlanan PTZ dozları sonrası nöbet sıklığı, süresi ve KBB bozulması

Veriler Ort.± SH olarak gösterildi. Mann-Whitney U testi uygulandı.

^a Değerler nöbet geçiren sıçan sayısını göstermektedir.

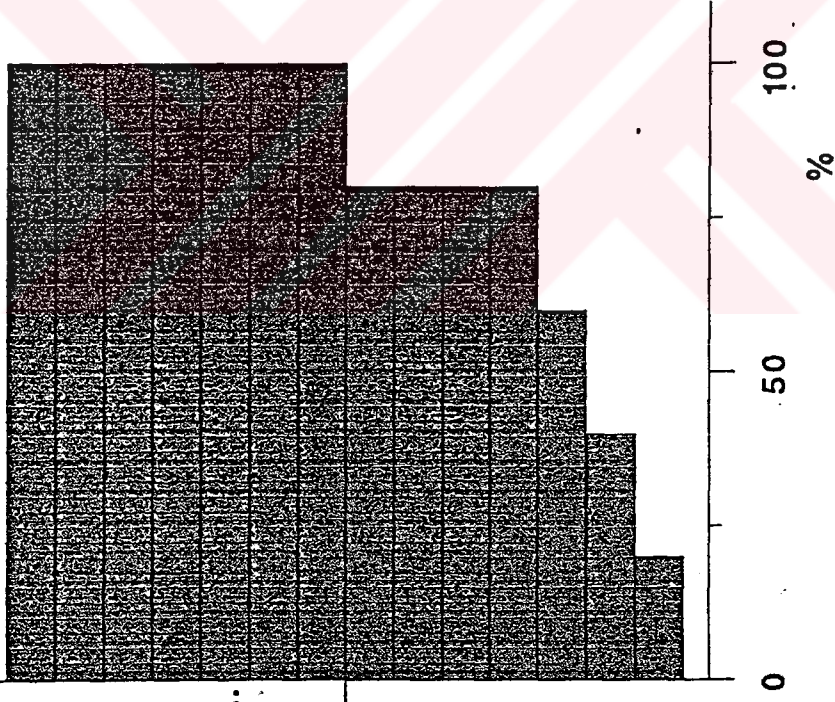
^b Makroskobik Evans Blue ektravazasyonu görülen sıçan sayısı.

Değerler ort.±SE olarak gösterilmiştir. *p<0.05 (Tek enjeksiyona göre)

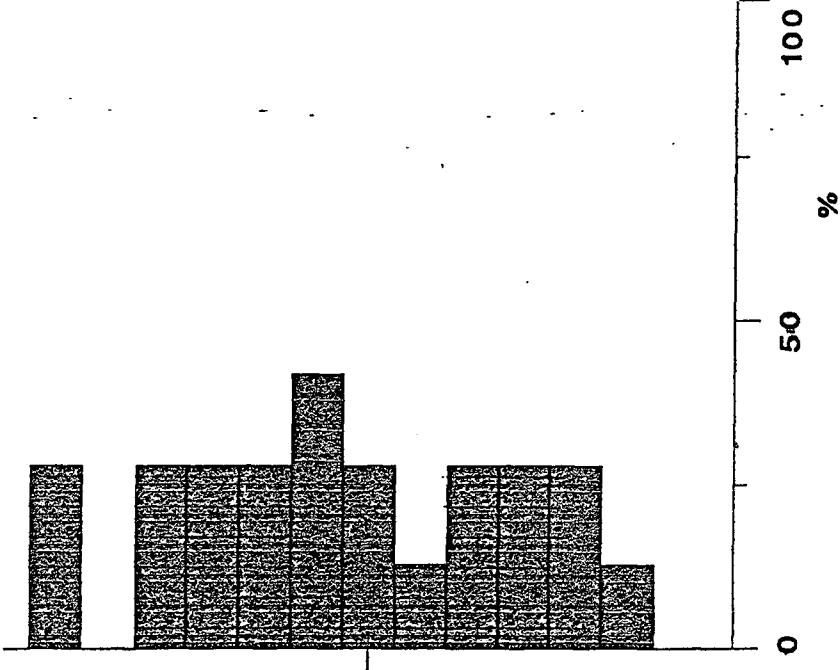
Grup (n= 7)	Tonik-klonik ^a nöbet	Nöbet Süresi (saniye)	KBB bozulumu ^b
Tek doz SF	7/0	-	7/0
Tekrar. doz SF	7/0	-	7/0
Tek doz PTZ	7/7	737±90	7/7
Tekrar.6.doz PTZ	7/7	439±49*	7/3

Tek doz P T Z

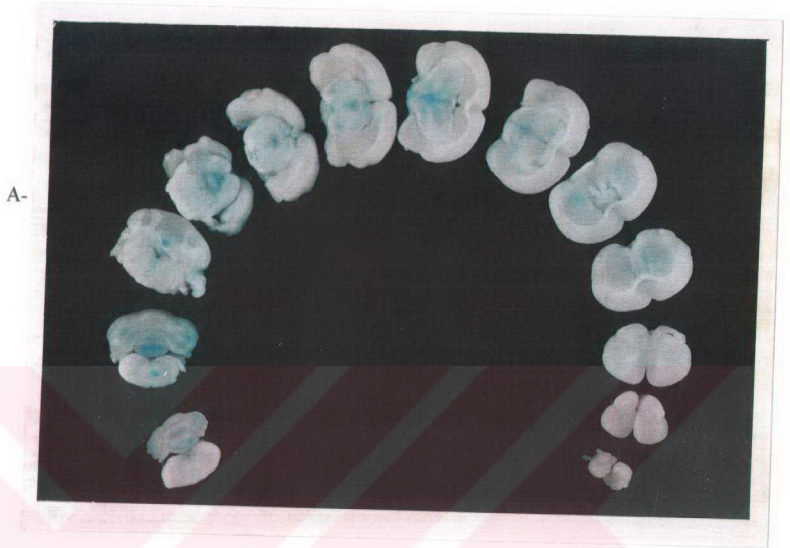
Nükleus Kaudatus.....
Putamen.....
Hipotalamus.....
Talamus.....
Preoptik Alan.....
Ortabeyin.....
Supérieur kollikulus.....
Inferior Kollikulus.....
Serebellum.....
Substantia nigra.....
Pons.....
Periaqueductal alan.....
Korteks.....
Hipokampus.....



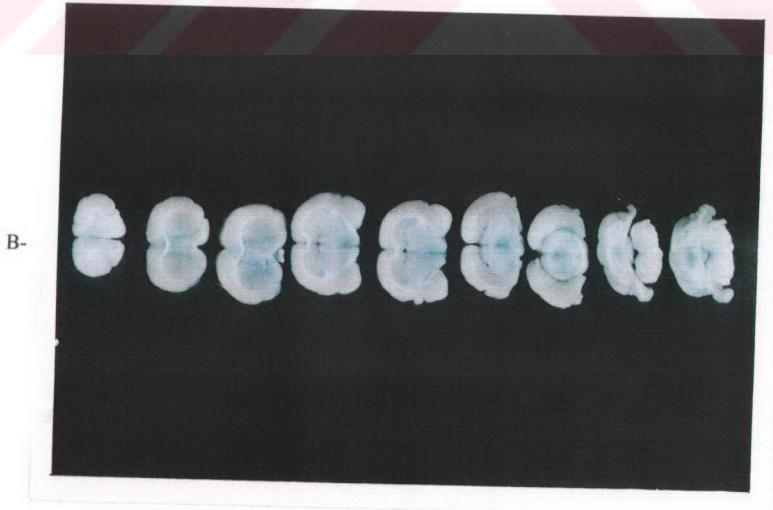
Tekrarlanan doz P T Z



Şekil 4.2.1. Tek ve tekrarlanan PTZ dozlarıyla meydana gelen kan-beyin bariyeri bozukluğunun % dağılım frekansı.

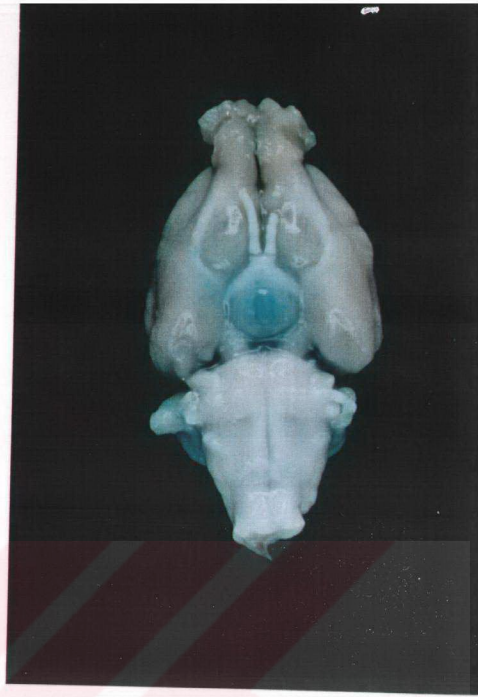


Şekil 4.2.2. Tek (A) ve tekrarlanan (B) PTZ dozlarının uygulanması ile oluşan KBB bozulmasının gözlemlendiği çeşitli alanlar.



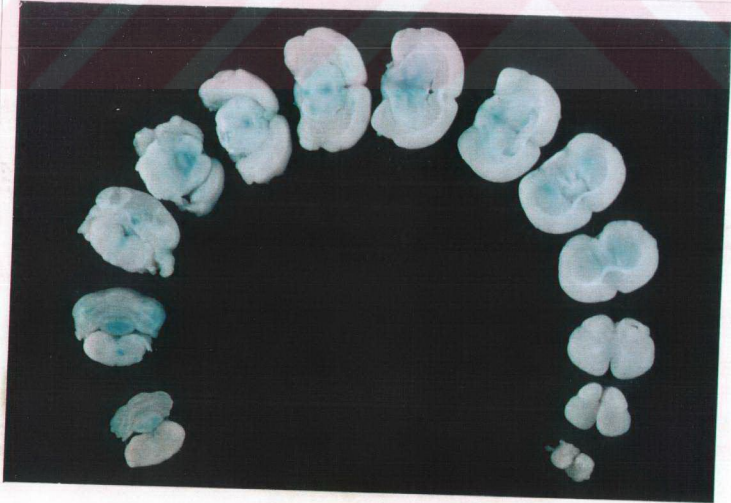


A



B

Şekil 4.2.3. Tek doz PTZ'nin uygulandığı grupta, yaygın EB geçişinin izlendiği tüm beyinin üstten (A), alttan (B) görünümü ve KBB bozulmasının izlendiği çeşitli alanlar (C).



C

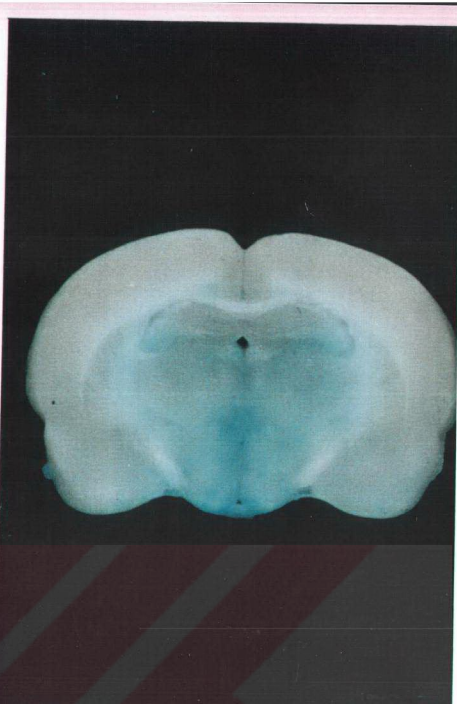
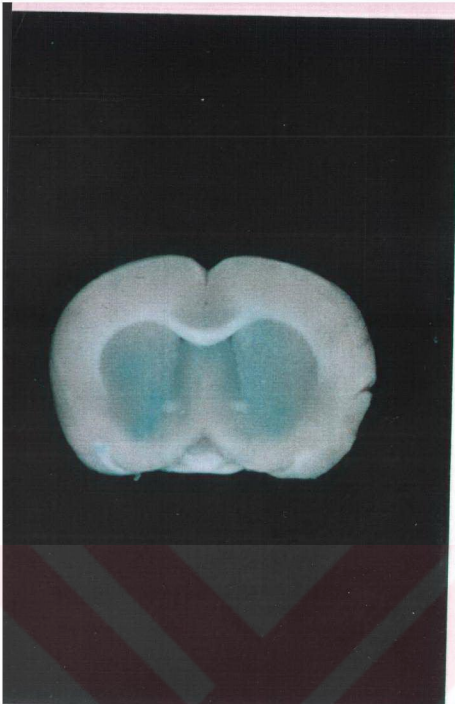
Şekil 4.2.4. Tek doz PTZ'nin verildiği grupta EB geçişinin gözleendiği alanlar,
(şekil arka sayfada yer almaktadır.)

A- Kaudat nükleus

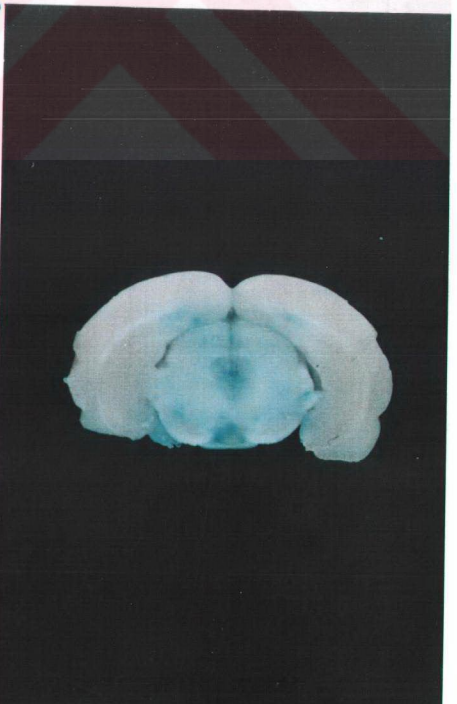
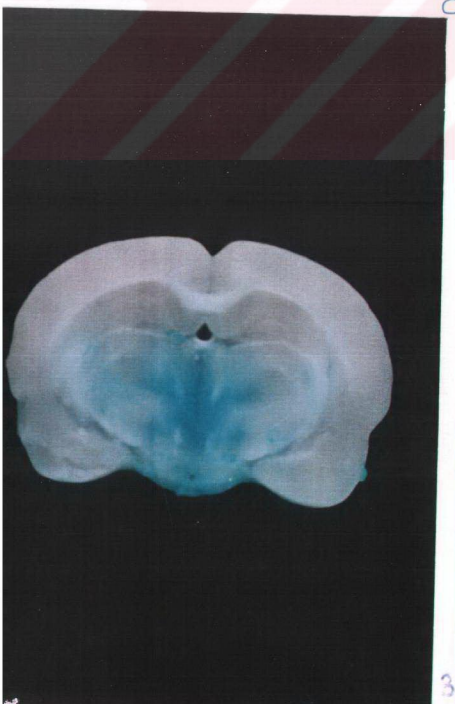
B- Kaudat- putamen, talamus, hipotalamus,optik kiazma

C- Talamus, hipotalamus

D- Orta beyin , periakvaduktal alan



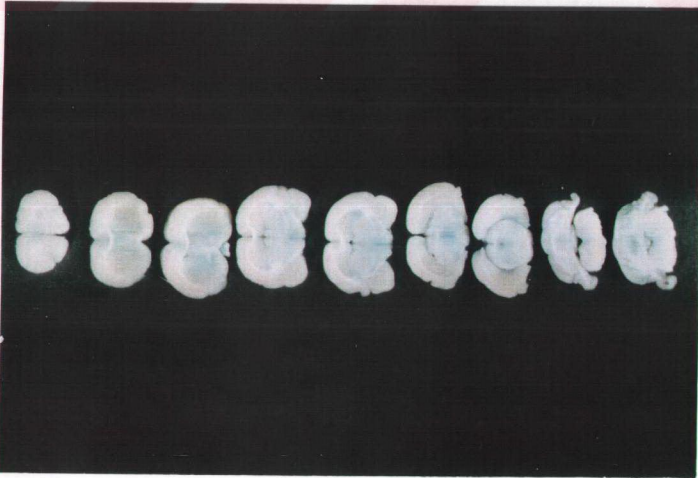
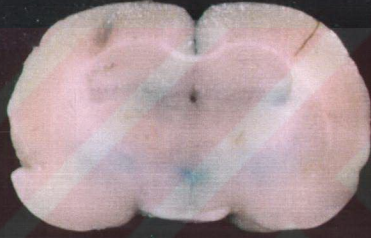
A B
C D

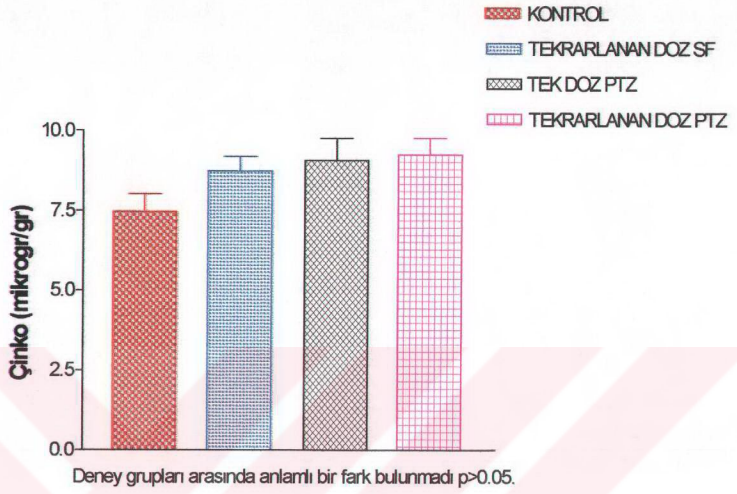




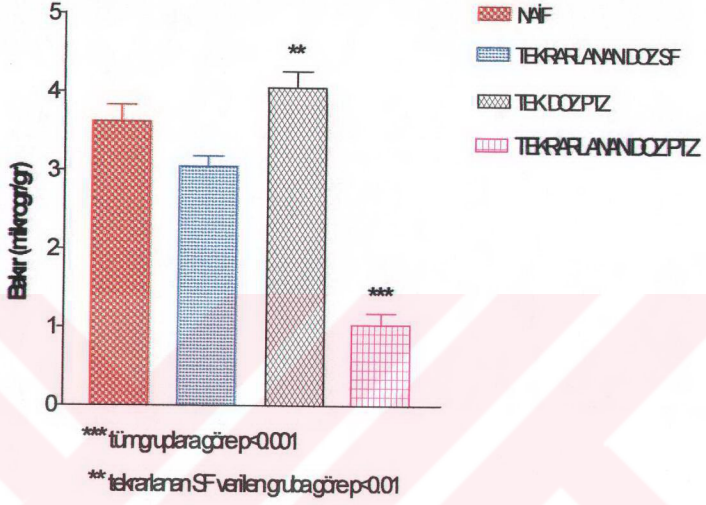
Şekil 4.2.5.

tekrarlanan dozlarda PTZ'nin uygulandığı grupta KBB bozukluğunun daha az bölgede ve düşük şiddette gözlemlendiği çeşitli alanlar.

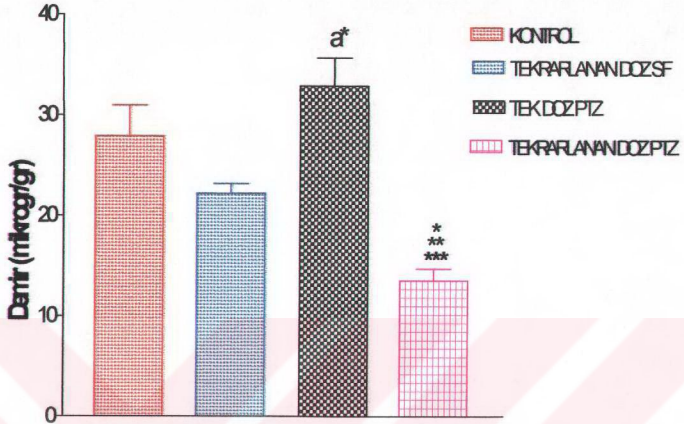




Resim 4.3.1. Beyin dokusunda ölçülen çinko düzeyleri



Şekil 4.32 Beyin dokusunda ölçülen btkir düzeyleri



***tekrarlanPIZguburagöre p<0.001

**kontrdguburagöre p<0.01

*tekrarlanSFguburagöre p<0.05

a*tekrarlanSFguburagöre p<0.05

Çizelge 4.3.3 Beyin dokusunda danır düzeyleri

4.3. Beyinde Eser Element Miktarları ve Serum Parametreleri Bulguları:

PTZ'nin 55 mg/kg tek ve tekrarlanan dozlarda uygulanımı sonucu ortaya çıkan jeneralize tonik-klonik nöbetlerin beyin dokusunda varolan eser element düzeyleri üzerinde değişikliklere neden olduğu görülmüştür.

Çinko; konvulsiyon gruplarında, PTZ uygulanan gruplarda -özellikle tekrarlanan dozlarda daha fazla olmak üzere- kontrol ve SF uygulanan gruplara göre hafif bir yükselme olduğu saptandı. Fakat bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını gördü (Çizelge 4.3.1., Şekil 4.3.1.).

Bakır; tekrarlanan PTZ dozlarının uygulandığı grup tüm gruplara göre anlamlı azalma gösterdi. Tek doz PTZ grubu ve tekrarlanan SF uygulanan gruplar arasında anlamlı bir fark gösterdi (Çizelge 4.3.1., Şekil 4.3.2.).

Demir; tekrarlanan PTZ dozlarının uygulandığı grup tüm gruplara göre anlamlı olarak azalmış bulundu. Tek doz PTZ uygulanan grup, tekrarlanan SF uygulanan gruba ve tekrarlanan PTZ uygulanan gruba göre anlamlı olarak yüksek bulundu (Çizelge 4.3.1., Şekil 4.3.3.).

Çizelge 4.3.1 Tek doz ve tekrarlanan PTZ dozları sonrası eser element düzeyleri

Değerler ort.±SE olarak gösterilmiştir

^ap<0.001 tüm gruplara göre, ^bp<0.01 tekrarlanan doz SF grubuna göre

^cp<0.001 tekdoz PTZ göre, ^dp<0.01 kontrole göre, ^ep<0.05 tekrarlanan SF grubuna göre.

	Kontrol (Naif) Grubu	Tekrar. Doz SF Verilen Grup	Tekrar.DoizPTZ Verilen Grup	Tek Doz PTZ Verilen Grup
Çinko (µg/g)	7.46±0.6	8.73±0.45	9.24±0.5	9.1±0.7
Bakır (µg/g)	3.62±0.2	3.05±0.1	1.03±0.1 ^a	4.05±0.2 ^b
Demir (µg/g)	27.9±3.1	22.2±0.9	13.5±1.2 ^{c,d,e}	32.9±2.8

Jeneralize Tonik-Klonik Nöbetler Sonunda Ortaya Çıkan Periferik Değişikliklerin İncelendiği Serumda Biyokimyasal Parametreler :

Sodyum; tekrarlanan SF uygulaması yapılan grupta sodyum değerlerinde hafif bir azalma, tekrarlanan PTZ uygulanan grupta ise hafif bir artma olduğu gözlenmiş fakat istatistiksel anlamlı değildir (Şekil 4.3.4.).

Potasyum; konvulsiyonların görüldüğü PTZ uygulanan gruplarda hafif bir yükselme görülmekte ancak istatistiksel farklılık bulunmamaktadır (Şekil 4.3.5).

Kalsiyum; tek doz PTZ uygulanan grupta hafif artma bulundu. Fakat istatistiksel olarak anlamsızdır. Tekrarlanan PTZ nöbetlerinden sonra kalsiyum değerlerinde kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir yükselme olduğu bulunmuştur (Şekil 4.3.6).

Fosfor; tamamen kalsiyum ile paralellik göstermektedir (Şekil 4.3.7).

Klorür; deney grupları arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir (Şekil 4.3.8).

Glukoz; nöbet geçiren PTZ gruplarında kontrol ve SF gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu bulunmuştur (Şekil 4.3.9).

Total protein; düzeylerinde gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir (Şekil 4.3.10).

Albümin; düzeylerinde de anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir (Şekil 4.3.11.).

Trigliserid; nöbet geçiren PTZ grupları ve tekrarlayan SF verilen grupta, kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı fark bulunmuştur (Şekil 4.3.12).

Ürik asit; tekrarlanan PTZ grubunda, kontrol ve SF verilen gruplara göre anlamlı farklılık bulunmuştur (Şekil 4.3.13).

Bu veriler Çizelge 4.3.2. de özetlenmiştir.

Çizelge 4.3.2. Tek doz ve tekrarlanan PTZ dozları sonrası serumda ölçülen biyokimyasal parametreler

Sıçanların tespit edilmiş biyokimyasal değerleri (Harknes,1989).

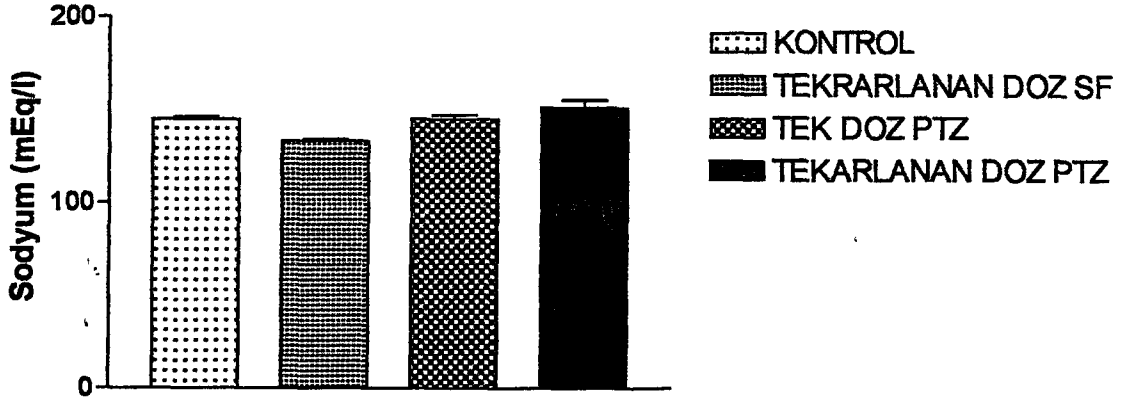
^ap<0.01 kontrol ve tekrarlanan SF gruplarına göre.

^bp<0.05 tekrarlanan SF göre, ^cp<0.01 kontrol grubuna göre.

^{d,e}p < 0.001 kontrol ve tekrarlanan SF gruplarına göre.

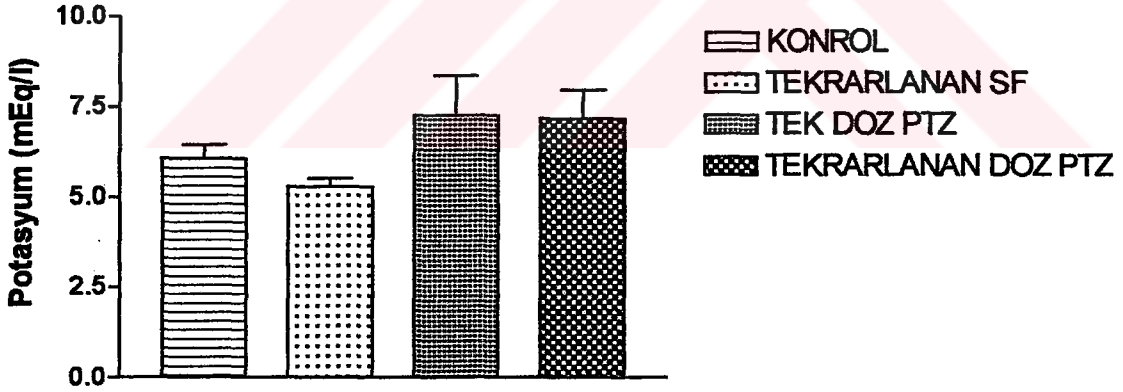
^fp<0.01 kontrol grubuna göre, ^gp<0.01 kontrol ve tekrarlanan SF grubuna göre

	Rat Kontrol	Naif Grup	Tekrarlanan SF dozları	Tekrarlanan PTZ dozları	Tek doz PTZ
Sodyum (mEq/l)	147 140-156	144.8±1.4	133.2±1.1	151.4±4.1	145.2±2.2
Potasyum (mEq/l)	6.2 5.4-7	6.1± 0.4	5.3± 0.2	7.2± 0.8	7.3 ±1.1
Klorür (mEq/l)	102 100-110	104± 1.2	98.2± 0.4	103.9± 2.1	99.8± 1.2
Kalsiyum (mEq/l)	11.5 5-14	9.8± 0.2	10± 0.1	12.7± 0.6 ^a	11.4± 0.7
Fosfor (mg/dl)	7.9 3 -11	6.4± 0.3 a	6.1± 0.2 b	24.3± 4.5 ^{b,c}	16.9± 4.7
Glukoz (mg/dl)	75 50-135	141.9± 6	123.6± 10.3	250.8± 17 ^d	258 ±13.9 ^e
Total protein (g/dl)	7.6 4.7-8.2	6.6± 0.2	6.6± 0.1	7.2 ± 0.4	6.8± 0.2
Albümin (g/dl)	3.7 2.7-5.1	3.3± 0.1	2.7 ±0.1	3.1± 0.1	2.9 ±0.1
Trigliserit (mg/dl)	26-145	75.6 ±7.3	133 ±17.8 ^f	131.7± 12.2 ^f	113.7 ±5.8 ^f
Ürik asit (mg/dl)	-	1.1± 0.1	0.9± 0.1	3.5± 0.9 ^g	2.2± 0.4



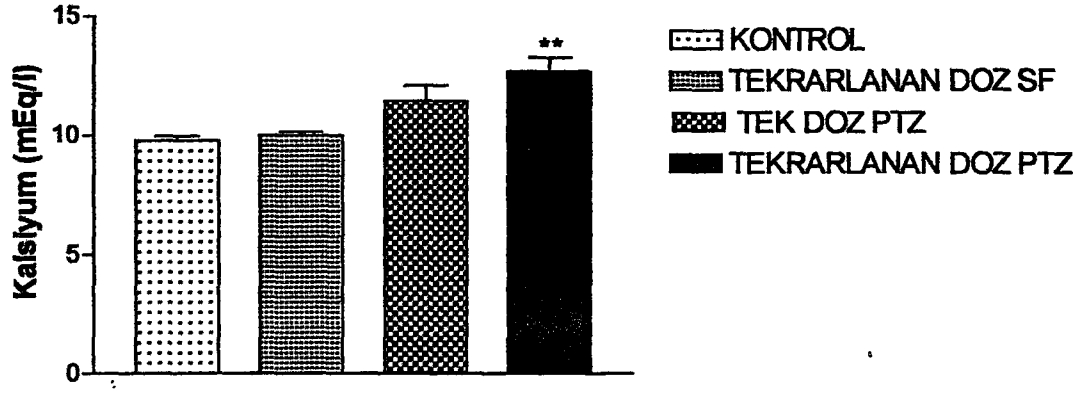
Deney grupları arasında anlamlı bir fark bulunmadı.

Şekil 4.3.4. Serumda ölçülen sodyum düzeyleri



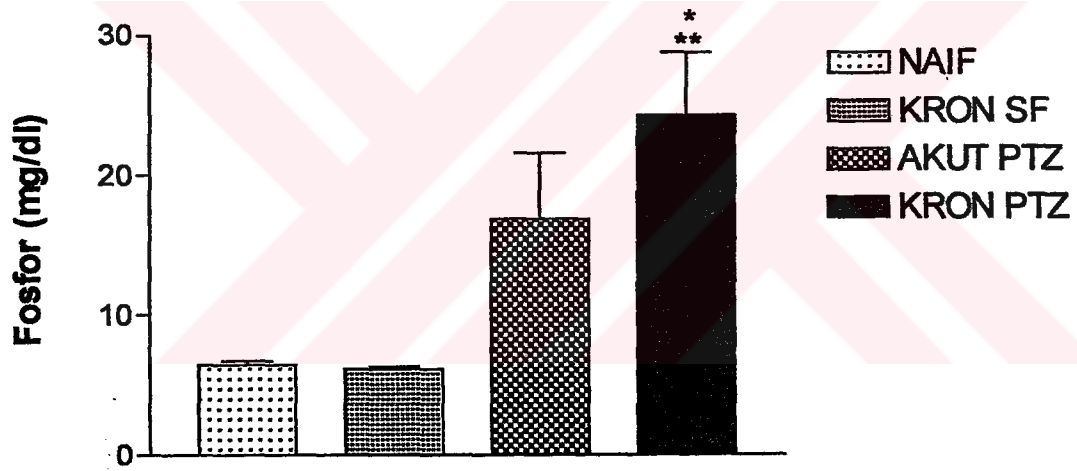
Deney grupları arasında anlamlı fark bulunmadı.

Şekil 4.3.5. Serumda ölçülen potasyum düzeyleri.



** Kontrol ve tekrarlanan doz SF gruplarına göre anlamlı $p < 0.01$

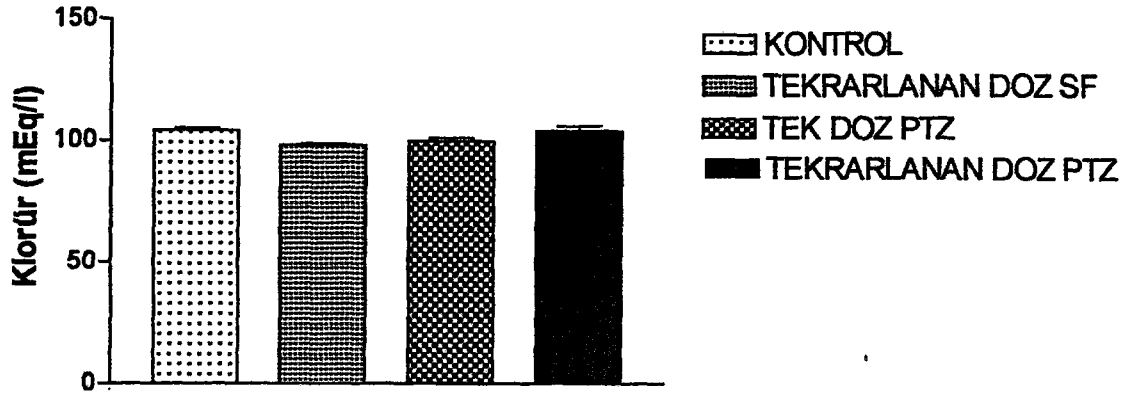
Şekil 4.3.6. Serumda ölçülen sodyum düzeyleri.



** Tekrarlanan doz SF grubuna göre anlamlı $p < 0.05$

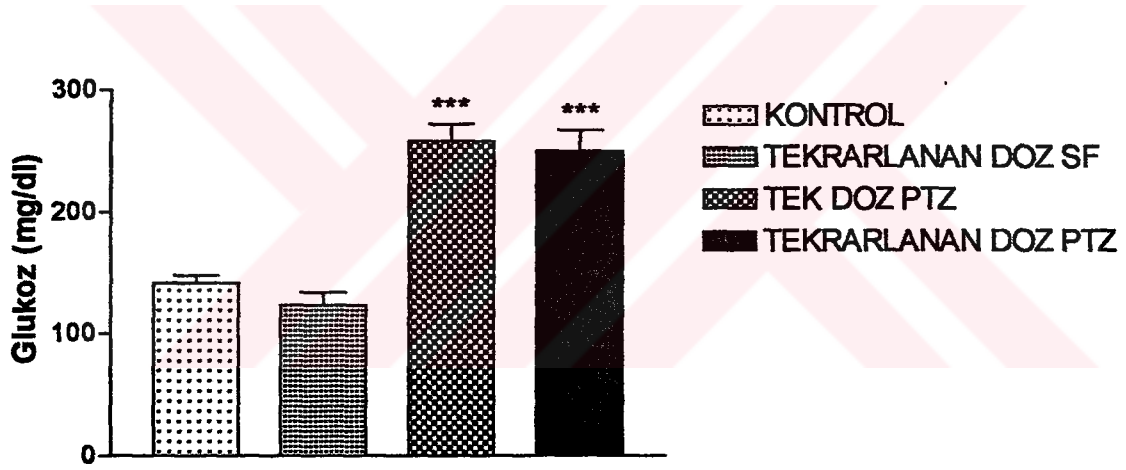
* Kontrol grubuna göre anlamlı $p < 0.01$

Şekil 4.3.7. Serumda ölçülen fosfor düzeyleri.



Deney grupları arasında anlamlı bir fark bulunmadı.

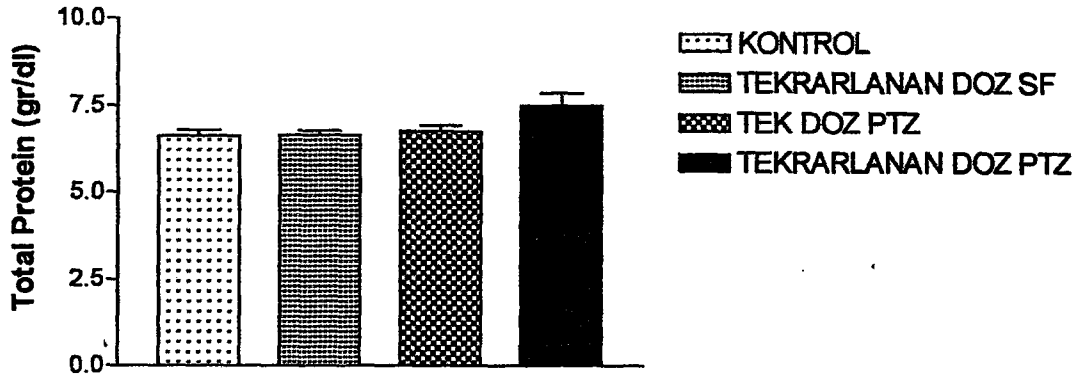
Şekil 4.3.8. Serumda ölçülen klorür düzeyleri



*** Kontrol ve tekrarlanan doz SF gruplarına göre anlamlı $p < 0.001$

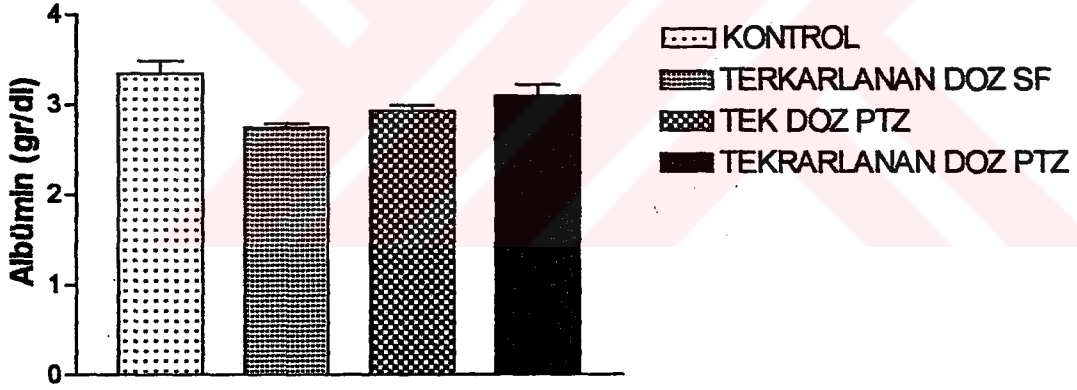
Şekil 4.3.9. Serumda ölçülen glukoz düzeyleri

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**



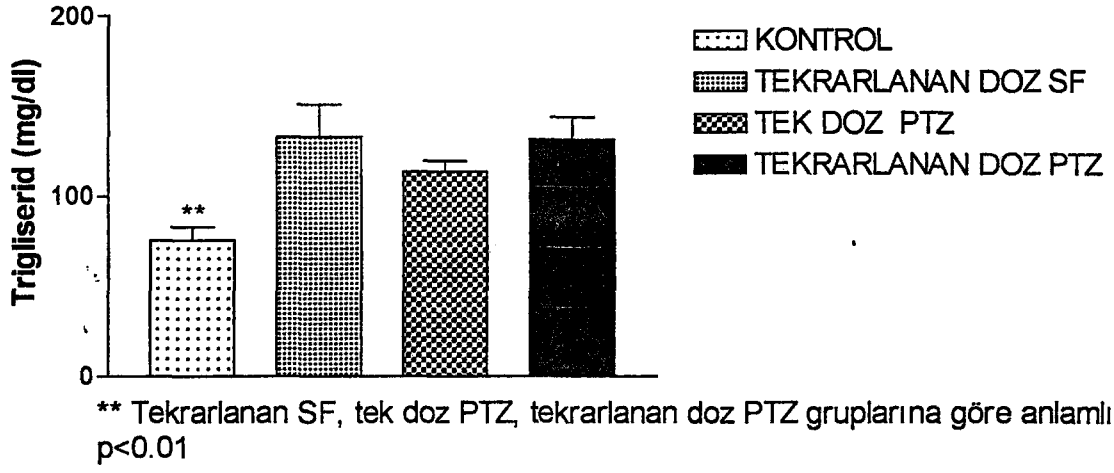
Deney grupları arasında anlamlı bir fark bulunmadı.

Şekil 4.3.10. Serumda ölçülen total protein düzeyleri

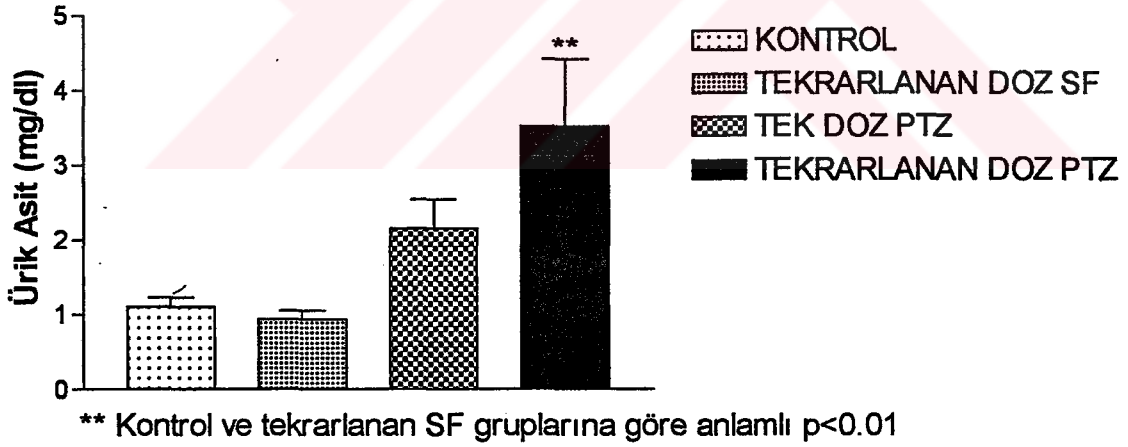


Deney grupları arasında anlamlı bir fark bulunmadı.

Şekil 4.3.11. Serumda ölçülen albumin düzeyleri



Şekil 4.3.12. Serumda ölçülen trigliserid düzeyleri.



Şekil 4.3.13. Serumda ölçülen ürik asit düzeyleri.

5. TARTIŞMA

PTZ, bicuculine yada elektriksel uyarılar ile konvulsiyonlar sırasında kan-beyin bariyeri geçirgeliğinin arttığı pekçok çalışmada rapor edilmiştir (Üzüm ve Ateş, 1993; Ziyilan ve Ateş, 1989; Miller et al.,1987).

Çalışmamızda 55mg/kg PTZ'un tek doz uygulanması ile tüm hayvanlarda jeneralize tonik-klonik nöbetlerin geliştiği ve buna bağlı olarak serebrovasküler geçirgenliğin arttığı gösterilmiştir.

Sonuçlarımız ilk iki enjeksiyon sonucu oluşan nöbetlerde statusa bağlı olarak ölümlerin oluştuğunu, sonraki nöbetlerde ise jeneralize tonik-klonik nöbetlerin statusa girilmeden sonlandığını göstermektedir. Çalışmamızda; konvulsiyon süresinin özellikle 3. doz PTZ nöbetinden sonra belirgin olarak azaldığı, 5. doz PTZ nöbetinden sonra ise nöbet süresi artmakla birlikte nöbet şeklinin değiştiği saptanmıştır. Toplam konvulsiyon süresinin arttığı 5. doz PTZ nöbetlerinde, doğrulma refleksinin kaybıyla birlikte gözlenen tonik-klonik konvulsif aktivite yerine vahşi koşu ve uzamış klonusların eşlik ettiği klonik nitelik baskın hale gelmiştir. Bu sonuçlar ilk iki PTZ enjeksiyonu sonucunda PTZ'e karşı duyarlılığın azaldığı, sonraki enjeksiyonlarda nöbet süresinde artış gözlenmesine rağmen nöbetin daha hafif bir tarzda (klonik) seyrettiği ve bu nedenle ölüme yol açmadığı tespit edilmiştir. Tek doz PTZ'nin i.v uygulandığı grupta bariyer değişikliklerinin yanısıra ölçülen nöbet (ağırlıklı olarak tonik komponent gözlendi) süresi yaklaşık 737 ± 90 saniye bulunmuştur. Tekrarlanan dozlardan sonra oluşan nöbetlerin bariyerle ilişkili olarak nöbet süresine etkisini görebilmek amacıyla tekrarlayan enjeksiyonların 6. dozu i.v. olarak uygulanmıştır. Ve 6. enjeksiyon sonucunda ortalama nöbet süresi yaklaşık 439 ± 49 saniye (ağırlıklı olarak tonik komponent gözlendi) olarak bulunmuştur. Tek (1. i.v doz) ve tekrarlanan (6. i.v doz) nöbet (ağırlıklı olarak tonik aktivitenin yertutuğu gözlenen) süreleri arasında anlamlı bir azalma olduğu gözlenmiştir.

Nöbet aktivitesindeki bu bulgulara paralel olarak tek doz i.v PTZ uygulanması preoptik alan, kaudat nükleus, putamen, talamus, hipotalamus, ortabeyin, pons gibi pek çok beyin sapı ve diğer bazı diensefalon yapılarında bariyer harabiyetine yol açarken, tekrarlanan enjeksiyonların 6. i.v dozundan sonra oluşan nöbette yalnızca bazı hayvanlarda hipotalamus, talamus, kollikulus inferior ve superior, kaudat nükleus, ortabeyin, serebellum, substansia nigra gibi bölgelerde oldukça hafif oranda harabiyete yolaçmıştır. Konvulsiyonlar sırasında artan nöronal aktivasyona bağlı olarak eksitator ve inhibitör nörotransmitter salınımındaki aşırı artış serebral metabolizmada bir artışa yolaçar. Bu artış konvulsiyonlar sırasında sempatik sinirlerin vazokonstriktör cevabını azaltarak kan-beyin bariyeri üzerindeki potansiyel koruyucu etkisini maskeler (Nitsch and Klatzo, 1983).

Konvulsif nöbetlerde gözlenen serebrovasküler geçirgenlik artışının daha çok nöronal hiperaktivite ile ilişkili olduğu daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir (Ateş ve ark., 1992). PTZ ile oluşturulan tonik-klonik nöbetlerin beyin sapı yapılarıyla yakından ilişkili olduğu da belirtilmektedir (Veliskova et al., 1996). Sonuçlarımız bu bulgularla uyum halindedir. Jeneralize nöbetlerin tonik ve klonik komponentlerinin farklı beyin yapılarında gözlenen hiperaktiviteyle ilişkili olduğu Miller ve ark. (1987), tarafından rapor edilmiştir. Bu çalışmalarda klonik nöbetlerin daha çok ön beyin yapılarıyla ilişkili, tonik komponentin önde olduğu tonik-klonik nöbetlerin ise beyin sapı yapılarıyla ilişkili olduğu belirtilmektedir.

Klonik PTZ nöbetlerinin, insan myoklonik nöbetleri için, tonik-klonik nöbetlerin ise jeneralize tonik-klonik nöbetler için bir model olduğunu gözönüne alırsak tekrarlanan enjeksiyonlara bağlı olarak gözlenen klonik aktivite artışını nöbet şiddetinde bir azalma olarak değerlendirebilir (Veliskova et al., 1996). Bu değerlendirme şöyle açıklanabilir; PTZ, özellikle GABA reseptör kompleksindeki benzodiazepin bağlanma alanlarını bloklayarak etki gösterdiği (Brabcova, 1993) ve tekrarlanan PTZ enjeksiyonları sonucu benzodiazepin reseptör sayısında artış olduğu da rapor edilmiştir (Paredes et al., 1989; Lal et al., 1981). Aynı zamanda tek bir doz

PTZ enjeksiyonu eksitator aminoasitlerin aktivasyonuna yol açarken (Hantraye et al.,1987), PTZ'un yüksek ve tekrarlanan dozlarda uygulanmasının beyin endojen inhibitör nöral sistemlerin harekete geçmesine yol açtığı ve bu etkinin PTZ'un jeneralize konvulsif etkisine karşılık geldiği belirtilmektedir(Goldman et al., 1992; Paredes et al.,1989; Hantraye et al., 1987). Bu değerlendirmeyi kanıtlayacak önemli bir bulgu; merkezi sinir sistemindeki en önemli inhibitör sistemlerden biri olan adenezinin ve bazı diğer nöroprotektif ajanların PTZ nöbetleri sonucu konsantrasyonlarının arttığına gösterilmesidir (Levin and Bleck, 1981). Nöbetlerin tekrarlamaıyla oluşan bu artış, en azından bazı beyin bölgelerinin aktivasyonunu azaltarak nöbet şiddetinde ve buna bağlı olarak nöbet şeklinde bir değişikliğe yol açabilir (Goldman et al., 1992).

Sonuç olarak, çalışmamızda özellikle tek ve tekrarlanan PTZ uygulamalarının gerek nöbet süresi gerekse etkilenen beyin bölgelerinin de farklı olduğu net olarak gösterilmiştir. Bu farklılıklar iki mekanizmayla açıklanabilir. Birincisi, tolerans gelişimi kan-beyin bariyeri geçirgenliğindeki geçici değişiklikler ve tekrarlanan enjeksiyonlar sonucu ilacın biyoyararlanımındaki farklılıkların oluşumu ile açıklanabilir (Reynolds, 1982). İkincisi, beyindeki inhibitör sistemlerin harekete geçmesi ve tekrarlanan konvulsiyonlara yanıt veren beyin bölgelerindeki farklı aktivasyon düzeyiyle açıklanabilir.

Ayrıca çalışmamızda deneysel jeneralize tonik-klonik epileptik nöbetin beyindeki biyokimyasal basamaklara etkisini görmek amacıyla demir, bakır, çinko düzeyleri ölçülmüştür.

Aşırı beyin aktivitesi sırasında, nöronal metabolizma artışı olduğu bilinmektedir. Epileptik nöbetlerde sıçan beyinlerinde gerek oksijen tüketiminde gerekse glukoz tüketiminde artma olduğu bilinmektedir (Chapman et al.,1975; Meldrum'dan, 1988). Enerji tüketiminde ani ve uzun süreli bir artış bu basamaklarda yeralan metallerin etki mekanizmalarında bozulmalara yol açabilir (Papavasiliou and Miller, 1983).

Demir düzeyinin, tekrarlanan nöbetlerin oluşturulduğu grupta diğer tüm gruplara göre anlamlı olarak azalmış olduğu görüldü. Ortaya çıkan bu sonucun, daha önce farklı araştırmacılar tarafından yapılan benzer çalışmalarla da uyumlu olduğu görülmüştür. Carl ve arkadaşlarının (1990) yaptığı bir çalışmada konvülsiyon geçiren sıçanların beyinlerin de demirinin düşük düzeylerde olması beklenen bir sonuç olarak bildirilmektedir. Diğer dokular gibi beyin hem-içeren proteinleri birçoğunu içerir. Solunum zincirinde yer alan sitokromlarda bulunan demir, oksidasyon-redüksiyon olaylarındaki rolüyle oksidatif metabolizmada yer alır, $\text{Sit c}(\text{Fe}^{+3}) \rightarrow \text{O}_2 + \text{Sit c}(\text{Fe}^{+2})$ (Prohaska, 1987). Oksijenin, temel kullanımının olduğu hücresel solunum mekanizmaları sonucunda hücreler enerjiyi ATP olarak üretebilirler. Nöronal hasarı ve lipid peroksidasyonunu önlemede serbest demir düzeyleri veya ferritin depolarının önemli olduğu bildirilmiştir (Prohaska, 1987). Beyinde bulunan oksidatif metabolizmada bir bozulma nöronal fonksiyonlar üzerinde ciddi bir etkiye sahip olabilir.

Bakır, tekrarlanan nöbet aktivitesi gösteren gruptaki sıçanların beyinlerinde düşük olarak bulunmuştur. Bakırın bilinen iki önemli fonksiyonu vardır. Birincisi, bakır NE (DBM)'nin sentezinde katekolamin metabolizmasında ve belki de sinapslara bakır akışı ve nörocuprein katabolizmasının etkilenmesinde rol alır. İkincisi, oksidatif fosforilasyon (sitokrom oksidaz) da elektron transferini kolaylaştırmasıdır. Bunun yanı sıra hidrojen peroksit (CuZn-SOD aracılığıyla) ve $\text{O}_2 \cdot$ düzeylerinin düzenlenmesinde oksijen metabolizmasında rol alır. Bakır içeriği ve SOD aktivitesi arasında pozitif bir korelasyon olduğu birçok araştırmacı tarafından gösterilmiştir (Bohnenkamp and Weser, 1977; Bettger et al., 1978; Mylorie et al., 1986; Cloez et al., 1989; Tayarani et al., 1989). Bakır konsantrasyonu ve SOD aktivitesi aralarındaki pozitif korelasyonun beyin kapillerleri, serebrum ve serebellumda tamamen aynı modeli takip ettiği bildirilmiştir (Tayarani et al., 1989). Bu bilgiler gözönüne alınarak, bizim çalışmamızda görülen, tekrarlayan nöbetlerle birlikte beyin bakır konsantrasyonundaki azalmanın, SOD aktivitesinde azalmaya paralel olarak ortaya çıkabileceğini düşünebiliriz. Epileptojenik odakta, serbest radikallerdeki artma, glutatyon düzeylerinde bir azalma

ve buna bağlı olarak n6ronal dejenerasyona yol açan membran lipid peroksidasyonunun arttığı g6sterilmiştir (Willmore and Rubin, 1981).

Çinko d6zeyleri istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık g6stermemiştir. Ancak n6bet geçirtilen gruplarda demir ve bakıra ters olarak hafif bir y6kselme olduğu bulunmuştur. Bu bulgularımız ES'la oluşturulan akut ve kronik jeneralize n6betler de çinko d6zeyinde hafif bir y6kselme g6r6lmesine rağmen çinkonun beyinde gelişen n6bet aktivitesinden etkilenmediği sonucu ile uyumludur (Papavaşilious ve Miller, 1983).

Tek doz PTZ uygulanan grupta epileptik aktiviteden sonra kontrol grubuna g6re demir ve bakır d6zeylerinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir y6kselme g6zlendi. Bu sonuç ilk n6bet de daha şiddetli olduğu g6zlenen serebral vazodilatasyon nedeniyle KBB'indeki bozulmanın beyine kontros6z madde geçişini arttırması ile olduğunu d6ř6nmekteyiz.

Yapılan alışmalar beyin kapillerleri ve koroid pleksusun peroksid-detoksifiye eden enzimleri içerdiğini g6stermiştir, bunun yanında KBB'nin ve kan-CSF bariyerinin de reaktif oksijen t6rlerinin zararlı etkilerine karşı korunmada eser elementleri içerdiği g6sterilmiştir. Bu bağlamda koruyucu enzim aktiviteleri eser elementlerin kendilerine 6zg6 aktiviteleriyle ilişkili olarak kontrol edilebilir (Tayarani et al., 1989).

Jeneralize tonik-klonik n6betlerin çoğunda sempatik ve parasempatik cevapların ortaya çıktığı g6r6l6r. İki sistem birbirine zıt etkili olduğunda predominat sistem ortaya çıkar. N6betle birlikte ortaya çıkan fizyolojik değişiklikler primer olarak hipotalamus ve diğer kontrol mekezleri tarafından etkilenir.

Sistemik değişiklikler n6bet aktivitesinin ilk otuz dakikası içinde gelişmekte ve 6zellikle beyin hasarıyla paralel gitmektedir.

Sodyum, potasyum ve klor d6zeylerinde n6bet oluşturulan gruplarla kontrol ve SF grupları arasında anlamlı bir fark g6zlenmemiştir. Bu sonuç bize n6betlerin bu parametreleri pirimer olarak etkilemediğini d6ř6nd6rm6ştir.

Total protein ve alb6min d6zeylerinde de, konvulsiyon geçiren gruplarla, kontrol ve SF grupları arasında anlamlı bir farklılık g6zlenmemektedir. N6betin

Total protein ve albümin düzeylerinde de, konvulsiyon geçiren gruplarla, kontrol ve SF grupları arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemektedir. Nöbetin proteinler üzerine direk bir etkisi bizim uyguladığımız süreçte görülmemektedir.

Kalsiyum ve fosfor düzeyleri paralel olarak, tek ve tekrarlanan nöbet geçiren gruplarda kontrol ve SF gruplarına göre anlamlı olarak yüksek olduğu bulunmuştur. Nöbetler sırasında metabolizma artışına bağlı olarak serbestlendiğini düşünmekteyiz. Kalsiyumun %99'u kemik dokusunda bulunmakta ve fosforun da %85'i kemik dokusunda hidroksipatit kristalleri şeklinde kalsiyuma bağlı bulunması sonuçlarımızda görülen paralellığı desteklemektedir (Özgünen ve Üstdal, 1997).

Ürik asit, konvulsiyon geçiren gruplarda kontrol ve SF gruplarına göre yüksek bulundu. Endotelde konsantre olmuş ksantin oksidaz sistemiyle hipoksantinden, ürik asit ve $O_2 \cdot + H_2O_2$ oluştuğu bildirilmiştir. Bu durum bize nöbetlerin etkisiyle periferde de süperoksit anyon radikal oluşumunun artmış olabileceğini düşündürdü. Hücre katabolizmasında çok fazla artış olması durumunda da fosfor düzeylerinin arttığı bilinmektedir (Kumral ve Kumral, 1993).

Glukoz düzeylerinde konvulsiyon geçiren gruplarda anlamlı bir artma olduğu bulunmuştur. PTZ ile oluşturduğumuz nöbetlerin gerek beyinde gerekse periferik sistemde uyardığı sempatik aktivite, adrenalin ve glukagon salınımı aracılığı ile kan glukoz düzeyini yükselttiğini söyleyebiliriz (Lamprecht et al., 1974; Meldrum'dan, 1988).

Trigliserid epileptik nöbet geçiren gruplarda ve tekrarlanan SF uygulanan grupta kontrol gruplarına göre yüksek bulunmuştur. Trigliserid metabolizması üzerine etkide hormonların ilk sırayı aldığı bilinmektedir. Trigliserid düzeyi artışına en fazla insülinin etkisinin olması, tek ve tekrarlanan nöbetlerden sonra artan kan glukoz düzeylerinin kontrol edilmesi amacıyla sentezlenen insülinin trigliserid düzeyinde bir artışa yol açabileceğini söyleyebiliriz (Özgünen ve Üstdal, 1997).

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Çalışmamızdan ortaya çıkan sonuç, tek ve tekrarlanan epileptik nöbetler arasında, KBB geçirgenliği ve epileptik nöbet aktivitesinde belirgin farklılıkların bulunmasıdır. Tekrarlanan nöbetler sonucu, geçirilen nöbetin tonik komponentinin kısaldığı, bunun yerini klonik komponentin aldığı ve nöbet şiddetinin azaldığı gözlenmiştir. Buna paralel olarak, tekrarlanan PTZ nöbetlerinde, KBB geçirgenliğinin, tek nöbet geçiren gruba göre daha az şiddette ve sınırlı alanda olduğu bulunmuştur.

Tekrarlanan nöbetler sonucunda demir ve bakır düzeyleri, jeneralize tonik-klonik nöbetlerin etkisiyle anlamlı olarak azalmış, çinko düzeylerinin ise nöbet aktivasyonundan etkilemediği görülmüştür.

Jeneralize tonik-klonik nöbet geçiren sıçanlarda, serumda artmış kalsiyum, fosfor, ürik asid, trigliserid düzeyleri, bu nöbetlerde kas faaliyetindeki artışın metabolizmada meydana getirdiği değişiklikleri yansıtmaktadır. Glukoz düzeyindeki artışın ise, nöbetlerin direkt etkisi ile sempatik aktivite artışının bir sonucu olarak ortaya çıktığını düşünmekteyiz.

Uzun süreli nöronal hipereksitabilite, beyin oksijen metabolizmasında, nörotransmitter homeostazisinde ve beyin antioksidan korunma mekanizmalarında progresif bir fonksiyon yetersizliğine neden olabilir. Eser element düzeylerinde gözlenen azalma bu duruma ilişkili olabilir. Kronik nöbet aktivitesi, eser elementler ve antioksidan sistemler arasındaki ilişki, beyinde lipid peroksidasyonu ölçümlerinin de incelendiği farklı çalışmalarla daha fazla aydınlatılabilecektir.

Tekrarlanan nöbetler oluşturularak yapılan daha ileri çalışmalarla kronik epilepsilerin fizyopatolojisinin anlaşılması ve tedavisi yönünde önemli ilerlemeler sağlanacaktır.

KAYNAKLAR

- ACARSOY, A., (1998). İnsan sağlığı açısından çinkonun nemi. 1. *Ulusal inko Kongresi Katoloğu*. 11-17
- ABOTT, LC., NEJAD, H.H., BOTTJE, W.G., HASSAN, A.S., (1990). Glutathione levels in specific brain regions of genetically epileptic mice. *Brain Res. Bull.* 25: 629-31
- ADAM, G., JOO, F., TEMESVARI, P., DUX, E., SZERDAHELYIŐ, P., (1987). Effects of acute hypoxia on the adenylate cyclase and Evans Blue transport of brain microvessels. *Neurochem. Int.* 10(4): 529-531
- ATEŞ, N., ÜZÜM G., DILER A.S., (1992). The cerebrovascular permeability and epilepsy: The role of blood pressure. *Neurosci Res Comm.* 10(3):163-169
- BAŞOĞLU, M., (1988). Epilesiler. 1. Baskı, İzmir.
- BETTGER W.J., FİŐH, T.J., O'DELL, B.L., (1978). Effects of copper and zinc status of rats on erythrocyte stability and superoxide dismutase activity. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 158: 279-282
- BOHENANKAMP, W., WESER, U., (1977). Cu-Zn superokside dismutase in copper depleted rats. In: Superoxide and superoxide dismutase Ed: Michelson, A.M., McCord, J.M., Fridovich, I., Academic Press, New York. 387-394.
- BOLWING, T.G., HERTZ, M.M., HOLM, J.J., (1977). Blood-brain barrier permeability during electroshock seizures in rat. *Eur. J. Clin. Invest.* 7: 95-100
- BRABCOVA, R., KUBOVA, H., VELISEK, L., MARES, P., (1993). Effects of benzodiazepine, bretazenil (16-6028), on rhythmic metrazol EEG activity: Comparison with standart anticonvulsants. *Epilepsia* 34(6): 1135-1140
- BRADBURY, M.W.B. (1979). The concept of a blood-brain barrier. Wiley . New York.
- BROWNING, R.A., SIMONTON, R.L., TURNER, F.J., (1981). Antagonism of experimentally-induced tonic seizures following a lesion of the midbrain tegmentum. *Epilepsia.* 22: 595-601
- BROWNING, R.A., (1985). Role of the brain-stem reticular formation in tonic-clonic seizures: lesion and pharmacological studies. *Fed Proc.* 44: 2425-31
- CARL, G.F., CRITCHFIELD, J.W., THAMPSON J.L., (1990). Genetically epilepsy prone rats are characterized by altered tissue trace element concentrations. *Epilepsia.* 31(3): 247-252

- CLOEZ, I., TAYARANI, I., MOREL, F., BOURRE, JM., (1989). Alterations in protective enzymes against peroxidation in central and peripheral nervous system of control and dysmyelinating mutant mice. *J. Neurochem.* 52(5):1353-1358
- CORNFORD, M.E., OLDENDORF, W.H., (1986). Advances in Neurology vol. 44. Ed: Delgado, A.V., Ward, A.A., Woudbury, D.M., Porter, R.J., Raven Press New York 787-811
- CROWE, A., MORGAN, E.H., (1996). Iron, copper interact during their uptake and deposition in the brain and other organs of developing rats exposed to dietary excess of the two metals. *Nutrient Metabolism.* May. 183-194
- DENER, Ş., (1995). Epilepsi. Yayınlanmamış Notlar.
- DREIFUSS, F.E., (1990). The epilepsies: Clinical implications of the international classification. *Epilepsia.* 31(3); 3-10
- EBADI, M.S., WILT, S., RAMALEY, R., SWANSON, S., MEBUS, C., (1984). The role of zinc and zinc-binding proteins in regulation of glutamic acid decarboxylase in brain. *Prog. Clin. Biol. Res.* 144A: 225-275
- FISHER, R. S., (1989). Animal models of epilepsies. *Brain Res. Rev.* 14: 245-278
- GOLDMAN, H., BERMAN, R.B., HAZLETT, J., (1992). Cerebrovascular response to pentylentetrazole: Time and dose dependent effects. *Epilepsy Res.* 12: 227-242
- GRYGLEWSKI R.J., PALMER, R.M.J. MONCADA S., (1987). Superoxide anion is involved in the breakdown of endothelium-derived vascular relaxing factor. *Nature.* 320: 454-456
- HANTRAYE E., BROUILLET, B., GUIBERT C., (1987). Pentylentetrazole-induced seizure is not mediated by benzodiazepine receptors in vivo. *Neuropharmacol.* 22 (10): 1509-1512
- HARIK, S.I., SHARMA, V.K., WETHERBEE, J.R., (1982). Adrenergic and cholinergic receptors of cerebral microvessels. *J. Cereb. Blood Flow. Metab.* 1: 329-338
- HARKNESS J.E., DUM, M.S., (1989). The biology and medicine of rabbits and rodents. Ed: Lea, Febiger. London p.: 75-110
- JESBERGER, J.A., RICHARDSON, J.S., (1991). Oxygen free radicals and brain dysfunction. *Int. J. Neurosci.* 57: 1-17
- JOHANSON, B., FRANDGOARD, S., LASSEN, N.A., (1974). On the pathogenesis of hypertensive encephalopathy. *Circ. Research.* 34(1): 167-171

- JOHANSON, J.L., RAJAGOPALAN, K.V., (1976). Human sulfite oxidase deficiency J. Clin. Invest. 58: 551-6
- KAYAALP, O.(1995). Tibbi farmakoloji. Cilt:2 , 8. Baskı. Ankara
- KOFOD, B., (1970). Iron, copper, and zinc in rat brain. *Eur. J. Pharmacol.* 13: 40-45
- KONTOS , H.A., (1985). Oxygen radicals in cerebral vascular injury. *Circ. Res.* 57:508-516
- KUMRAL, A., KUMRAL, S., (1993). Santral sinir sisteminin damarsal hastalıkları. *Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları No:72.* s. 25-60
- LAL, H., MANN, P.A., SHEARMAN, T., (1981). Effects of acute and chronic pentylenetetrazole treatment on benzodiazepine and cholinergic receptor binding in rat brain. *Eur. J. Pharmacol.* 15: 115-119
- LEVIN E., BLECK, V., (1981). Electroshock seizures in mice. *Epilepsia* 22:577-881
- LORENZO, A.,SHIRANIGE, I., LIANG, M., BARLOW, C.F., (1972). Temporary alteration of cerebrovascular permeability to plasma protein during drug-induced seizures. *Am. J. Physiol.* 223: 268-277.
- LORENZO, A.V., HADLEY-WHYTE, E.T., (1975). Increased penetration of horseradish peroxidase across the blood-brain barrier induced by metrazol seizures. *Brain Res.* 88: 136-140
- MARES, P., SCHİCHKEROVA, P., (1980). Seizures elicited by subcutaneous injection of metrazol during ontogenesis in rats. *Activ. Nerv.* 22: 264-268
- MARGERİSON, J. H., CORSELLİS, J.A.N., (1996). Epilepsy and the temporal lobes. *Brain* 89: 499
- MCCAUGHRAN, J.A, MANETTO, C., (1982). Changes in convulsive threshold in developing rat following chronic administration of pentylenetetrazole. *Epilepsia.* 23; 619-627
- MELDRUM, B.S. (1988). Part of Pathophysiology, in: *Text Book of Epilepsy* 2nd ED. p. 203-235
- MİLLER, J.W, MICKEON, C.A., FERREDELİ, A., (1987). Functional anatomy of pentylenetetrazole and electroshock seizures in the rat brainstem. *Annals of Neurology* 22 (5): 615-621
- MYLORİE, A.A., COLLİNS, H., UMBLES, C., AND KYLE, J., (1986). Erythrocyte superoxide dismutase activity and other parameter of copper status in rats investing lead acetate. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 82: 512-520

- NITSCH, C., KLATZO, I., (1983). Regional patterns of blood-brain barrier breakdown during epileptiform seizures induced by various convulsive agents. *Journal of Neurological Sciences* 59: 305-322
- ÖZGÜNEN, Ö., ÜSTDAL, İ., (1997). Hekimlikte Biyokimya, 1. Baskı. Bölüm 4: 85-100
- ÖZTAŞ, B., (1984). Kan-beyin bariyeri ve etkili faktörler. *TKI Tıp Bil. Araş. Dergisi*. 2(2):135-140.
- ÖZTAŞ, B., SANDALCI, U., (1984). Blood-brain permeability after pentyleneterazol and electrically induced seizure. *IRCS Medical Science*. 12: 488-489
- ÖZTAŞ, B., KAYA, M., (1990). The effect of acute hypertension on blood-brain barrier permeability to albumin during experimentally induced epileptic seizures. *Pharmacological Research*. 23(1): 41-46
- PAPAVASİLİOU, P.S., MİLLER, S.T., (1983). Generalized seizures alter the cerebral and peripheral metabolism of essential metals in mice. *Experimental Neurology*. 82: 223-236
- PAREDES, G.S., OTERO, R.S., ALVEREZ, E.M., (1989). Experimental spike-and-wave discharges induced by pentylenetetrazole and tolerance to repeated injections: an electrophysiological and biochemical study. *Epilepsy Res*. 4:139-146
- PETİTO, C.K., SCHAEFER, J.A., PLUM, F., (1977). Ultrastructural characteristics of the brain and blood-brain barrier in experimental seizures. *Brain Res*. 127: 251-267
- PETİTO, C.K., LEVY, D.E., (1980). The importance of cerebral arterioles in alterations of the blood-brain barrier. *Lab. Invest*. 43: 262-268
- PITKANEN, A., JOLKKENEN, J., HONKANEN, HONKANEN, K.-L., RIEKKINEN, P., (1987). Effect of pentylenetetrazol-induced convulsions on somatostatin-like immunoreactivity in rat cerebrospinal fluid. *Neuropeptides*. 9: 19-24
- PROHASKA, R.J., (1987). Function of trace elements in brain metabolism. *Physiological Reviews*. 67(3): 858-901
- REYNOLDS, E.H., (1988). The prevention of chronic epilepsy. *Epilepsia*. 29: 25-28
- SLEVIN, J.T., KASARSKIS, E.J., (1985). Effects of zinc on markers of glutamate and aspartate neurotransmission in rat hippocampus. *Brain Res*. 334: 281-286
- SUZUKI, R., NITSCH, K., FUJIWARA, K., KLATZO, I., (1984). Regional changes in cerebral blood flow and blood-brain barrier permeability during epileptiform seizures and in acute hypertension in rabbits. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*. 4:96-102

- TAYARANI, I., CLOEZ, I., CLEMENT, M., AND BROURRE, J.M., (1989). Antioxidant enzymes and related trace elements in aging brain capillaries and choroid plexus *Journal of Neurochemistry*. 53(3): 817-824
- ÜZÜM, G., ATEŞ, N., ZİYLAN Y. Z., (1993). *Tıp Fak. Mec.* 58(3): 48-51
- VELİSKOVA, J., VELİSEK, L., MOSHE, S.L., (1996). Age spesific effects of baklofen on pentylenetetrazole-induced seizure in developing rats. *Epilepsia*. 37(8):718-722
- WESTERGAARD, E., (1977). The blood brain barrier to horseradish peroxidase under normal and experimental conditions. *Acta Neuropath.(Berl)* 39: 181-7
- WILLMORE, L.J., RUBİN, J.J., (1981). Antiperoxidant pretreatment and iron-induced epileptiform discharges in the rat: EEG and histopathologic studie. *Neurology*. 31: 63-69
- YODİM, M.B.H., GREEN, A.R., BLOOMFİEL, MİTCHELL, B.D., HEAL, D.J., GRAHAMESMİTH, D.G, (1980). The effects of iron deficiency on brain biogenic monoamine biochemistry and function in rats. *Neuropharmacology*. 19: 259-267
- YODİM, M.B.H., GREEN. A.R., BEN-SACHAR D., ASHKENAZİR, YEHADA, S., (1983). Brain iron and dopamine recepyor function. *Adv. Biochem Psycho-pharmacol.* 37: 309-321
- ZİYLAN, Y.Z., ATEŞ, N., (1989). Age-related changes in regional pattern of blood-brain barrier breakdown during epileptiform seizures induced by pentylenetetrazol. *Neuroscience Letters*. 96:179-184
- ZİYLAN, Y.Z., LEFAUCONNIER, JM., ATEŞ, N., BERNARD, G., BOURRE, JM., (1992). Age-dependent alteration in regional cerebrovascular permeability during drug-induced epilepsy. *Mechanisms of Ageing and Development*. 62: 319-327

ÖZGEÇMİŞ

Deniz ÖZTÜRK ŞAHİN, 1973 yılında Bilecik'te doğdu. İlk öğrenimini Derince Piri Reis İlköğretim Okulu'nda, orta öğrenimini İzmit İnkılap Orta Okulu'nda, lise eğitimini İzmit Lisesi'nde tamamladı. 1991 yılında İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyolojik Bilimler Bölümü'ne girdi ve 1995 yılında mezun oldu. Aynı yıl Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans eğitimine başladı. Deniz ÖZTÜRK ŞAHİN, Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nde kadrolu olup Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalında görevlidir.

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**