

758756

T.C.  
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARELERDE LOKOMOTOR AKTİVİTE VE PENTOBARBİTAL İLE  
İNDÜKLENEN UYKU ÜZERİNDE AGMATİN'İN ROLÜ

Ecz. Meltem KÜÇÜKŞENGÜL

Kocaeli Üniversitesi  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin Farmakoloji  
Programı İçin Öngördüğü  
BİLİM UZMANLIĞI TEZİ  
olarak hazırlanmıştır.  
Danışman: Prof. Dr. Güner ULAK  
Bu çalışma KOÜ. Araştırma Fonu tarafında desteklenmiştir. (Proje no:45)

KOCAELİ  
1998

1998

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

İşbu çalışma jürimiz tarafından FARMAKOLOJİ Anabilim Dalında BİLİM UZMANLIĞI (YÜKSEK LİSANS) TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN

Ünvanı Adı SOYADI

İMZA

Prof. Dr. Sezer Komsuoglu



Üye

Ünvanı Adı SOYADI

İMZA

Prof. Dr. Güner Uzak



Üye

Ünvanı Adı SOYADI

İMZA

Prof. Dr. Nejat Gacar



Üye

Ünvanı Adı SOYADI

İMZA

Doç. Dr. Tijen Utkan



Üye

Ünvanı Adı SOYADI

İMZA

Doç. Dr. Fehri Erden

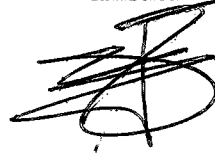


ONAY

Yukarıda imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylıyorum.

4.10/1998

Prof. Dr. Ali SAZCI  
Enstitü Müdürü



## ÖZET

Bu çalışmada pentobarbitalle uyutulmuş erişkin erkek farelerde, agmatinin uyku üzerindeki etkisi incelendi.

Farelere 20,40,80 mg/kg agmatin (Ag) intraperitoneal (i.p) enjekte edildikten yarım saat sonra pentobarbital (i.p) uygulandı. (Righting refleks kaybının meydana gelmesine kadar geçen süre uykuya giriş zamanı ve righting refleks kaybının oluşmasından tekrar geri dönmesine kadar geçen süre uyuma zamanı olarak kabul edildi). Sonuçta agmatinin farelerde uykuya giriş zamanı üzerine etkili olmadığı, 40,80 mg/kg dozlarında uyuma zamanını arttırdığı gözlemlendi. (Sırasıyla  $p<0.05$  ve  $p<0.001$ )

Agmatinin lokomasyon üzerindeki etkisini incelemek amacıyla, farelerin lokomotor aktivite cihazında 4 dakika süreyle hareket sayısı ve hareket mesafesi ölçüldü. Sonuçta agmatinin lokomasyon üzerinde etkili olmadığı görüldü.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda agmatinin imidazolin reseptörlerinin endojen ligantı olduğu belirlendi. Bununla beraber agmatinin nitrik oksitaz (NOS) inhibitörü olabileceği yönünde çalışmalar da bulunmaktadır. Nitrikoksit (NO) uyarıcı bir nörotransmitter olarak uykuya eğilimi azaltır. Bu çalışmada görüldüğü gibi, agmatin ise uykuya eğilimi arttırmaktadır.

**Anahtar sözcükler:** Agmatin, imidazolin reseptörleri, nitrikoksit, uyku, righting refleks.

## ABSTRACT

In this study, the effect of agmatin on pentobarbital induced sleep in mice was observed.

Mice were given 20,40 and 80 mg/kg agmatin, after 30 minutes of being injected pentobarbital, both intraperitoneally (i.p.) (The time passed until righting reflex loss is defined as the sleep latency and the time from loss to recovery of righting reflex is defined as sleeping time). At the end it was observed that agmatin has no effect on sleep latency but increases the sleeping time in mice, with the doses of 40,80 mg/kg. ( $p < 0.05$  and  $p < 0.001$  respectively)

To observe the effects of agmatin in locomotion, locomotor activity device was used and both number of movements and movement distances were measured. It was seen that, agmatin has no effect on locomotion.

In the last few years-studies, agmatin was shown to be the endogen ligand of imidazolin receptors. Besides, some studies showed the probability of agmatin to be a nitric-oxide synthase (NOS) inhibitor. Nitric oxide, as a excitatory neurotransmitter, decreases the tendency to sleep. In this study, we have shown that agmatin increases the tendency to sleep.

**Key words:** Agmatin, imidazolin receptors, nitric oxide, sleep, righting reflex.

## İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİ VE İLGİLİ ÇALIŞMALAR	3
2.1. Uyku	3
2.1.1. Uyku dönemleri	3
2.1.2. Uykunun Temel Kuramları	5
2.1.3. Uykuya Yol Açan Merkez ve Mekanizmalar	5
2.1.4. Uyku ve Uyanıklık Döngüsü	6
2.1.5. Uykunun Fizyolojik Etkileri	7
2.1.6. Uyku-uyanıklık Döngüsünü Etkileyen Nörotransmitterler	8
2.1.7. Uyku Kaybının Etkileri	9
2.1.8. Farelerde Uyku ve Righting Refleks	10
2.2 Lokomasyonun Düzenlenmesi	11
2.3 İmidazolin Reseptörleri	12
2.3.1 I <sub>1</sub> İmidazolin Reseptörleri	14
2.3.2 I <sub>2</sub> İmidazolin Reseptörleri	16
2.3.3 NonI <sub>1</sub> ve NonI <sub>2</sub> İmidazolin Reseptörleri	18
2.4 İmidazolin Reseptörlerinin Endojen Ligantları	18
2.4.1 CDS	18
2.4.2 Endozolin	19
2.4.3 Agmatin	19
3 AMAÇ VE KAPSAM	25

4. GEREÇ VE YÖNTEM	26
4.1 Gereçler	26
4.1.1 Deney Hayvanları	26
4.1.2 Kullanılan İlaçlar	26
4.1.3 Kullanılan Aletler	26
4.2 Yöntem	27
4.2.1 Deneyin Yapılışı	27
4.2.2 Deney Grupları	27
4.2.3 İstatistiksel Değerlendirme	27
5. BULGULAR	28
5.1.1 Lokomotor Aktivite Ölçümü	28
5.1.2 Agmatinin Uyku Üzerine Etkisi	29
6. TARTIŞMA	32
7. SONUÇ	35
KAYNAKLAR DİZİNİ	36
ÖZGEÇMİŞ	42

## SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

S.S.S:	Sanral Sinir Sistemi
5-HT	Serotonin
DA	Dopamin
Ach	Asetil kolin
GABA	Gama-aminobutirik asit
MAO	Monoamin oksidaz
NO	Nitrik Oksit
NOS	Nitrik oksit sentaz
7-NI	7-Nitro indazol
L-NMMA	N <sup>G</sup> -monometil- L-arginin
L-NNA	N <sup>G</sup> -amino-L-arginin
ATP	Adenozintrifosfat
ADP	Adenozindifosfat
NMDA	N-Metil-D-Aspartat
cGMP	Siklik guanizin monofosfat
i.p	İntraperitonal
EEG	Elektensefalografi
REM	Rapid eye movement
NREM	Non Rapid eye movement
NRL	Nukleus retikularis lateralis
IR	İmidazolin reseptörleri
CDS	Clonidin Displacing Substance
ADC	Arginindekarboksilaz
icv	intraserebro ventriküler

## ŞEKİLLER DİZİNİ

- Şekil 5.1: Farelere i.p olarak uygulanan 20,40,80 mg/kg agmatinin pentobarbital ile oluşturulan uykuya giriş süresi üzerine etkisi.....30.
- Şekil 5.2: Farelere i.p olarak uygulanan 20,40,80 mg/kg agmatinin pentobarbital ile oluşturulan uyku zamanı üzerine etkisi.....31.





## 1.GİRİŞ

Uyku ve uyanıklık durumu günlük aktivite içerisinde sirkadiyen bir ritm gösteren en önemli vücut fonksiyonlarından biridir. Uyku hipotalamustaki ventral anterior bölgeden kontrol edilmektedir. Uyku-uyanıklık döngüsünü düzenleyen merkez hipotalamustaki suprakiazmatik çekirdektir ( Adams and Mourice,1989).

Uykunun düzenlenmesinde farklı nörotransmitter, nöromodülatör ve nöropeptidler etkili olmaktadır. Bu nedenle uyku üzerine birden fazla sistemin etkili olabileceği düşünülmüştür. Son yıllarda uykuyu etkileyen sistemleri belirlemek amacıyla bir çok çalışma yapılmaktadır.

İmidazolin reseptörlerinin varlığı 1984 yılında saptanmıştır. Önceleri  $\alpha_2$  adrenerjik reseptör agonisti olduğu kabul edilen ve santral etkili antihipertansif bir ilaç olan klonidin sayesinde imidazolin reseptörlerinin varlığı ortaya çıkarılmıştır. Bu reseptörlerin böbrek fonksiyonları, insülin salınımı, depresyon, mide sekresyonu, alzheimer hastalığı ve parkinson hastalığı gibi bir çok fizyopatolojik olayda rolü olduğu ortaya konmuştur (Regunathan and Reis 1996, Bousquet 1997). İmidazolin reseptörlerinin endojen ligantlarından biri de agmatindir.

Agmatinin imidazolin reseptörlerinin endojen ligantı olduğu 1994 yılında Li ve arkadaşları tarafından yapılan deneysel çalışmalar sonunda saptanmıştır. Agmatinin nörotransmitter ve nöromodülatör kriterlerinin bir çoğunu karşıladığı görülmüştür; sentezlenir, depolanır, beyinde salınır, nöron ve akson terminallerinde heterojen dağılım gösterir, hücreye özgü reseptörlerle ilişkilidir ve biyolojik etkilerini santral sinir sisteminde de gösterir (Reis and Regunathan, 1998).

Lokomasyonun sözlük anlamı; bir yerden bir yere gitme hareketi veya bu hareketi gösterebilme gücüdür.

Vücutta lokomosyonun sağlanması ve postürün düzenlenmesinde pek çok nörotransmitter görev alır. Somomotor fonksiyonlar ve çizgili kas tonusunun sürdürülebilmesi için bazal gangliyonlarda dopaminerjik/kolinerjik dengenin belli bir düzeyde tutulması gerekir. Bazal gangliyonlarda yaygın bir şekilde bulunan intrinsik kolinerjik ara nöronlar, ekstrapirimidial sistemin dengeli çalışmasında postürün ve lokomotor hareketlerin düzenlenmesinde katkıda bulunur. Bunların yanında mezolimbik ve mezokortikal dopaminerjik yollar lokomotor etkinliğin başlamasında ve sürdürülmesinde rol alırlar (Kayaalp, 1995).

Lokomosyonun sağlanmasında pek çok nörotransmitter görev alır. Agmatinin de bir nörotransmitter olduğuna dair çalışmalar vardır. Bu çalışmamızda farelerde pentobarbital ile oluşturulan uyku üzerinde ve lokomosyon üzerinde agmatinin etkisi incelenmiştir.

## 2. GENEL BİLGİ VE İLGİLİ ÇALIŞMALAR

### 2.1 UYKU:

Uyku kişinin duysal veya diğer uyaranlarla uyanabileceği bir bilinçsizlik durumu olarak tanımlanmaktadır. Uyku kişinin uyandırılmadığı bilinçsizlik durumu olan komadan farklıdır. Uykunun, çok hafif uykudan çok derin uykuya kadar uzanan farklı düzeyleri vardır (Guyton and Hall,1996).

Uyku organizmanın sadece dinlenmesine olanak veren bir hareketsizlik hali değil aynı zamanda onun “restorasyonuna “ olanak veren bir durumdur. Bu sayede, santral sinir sistemi başta olmak üzere, çeşitli sistemlerin günlük etkinlik sırasında meydana gelen yıpranması giderilir. Yavaş dalgalı uyku esnasında vücutta protein sentezinin, hücre mitozunun ve büyüme hormonu salgılanmasının arttığı gösterilmiştir. Adrenalin ve kortikosteroidler gibi katabolik hormonların salgısı ise uyku sırasında azalır (Kayaalp, 1995).

#### 2.1.1. Uykunun dönemleri:

Kişi her gece, birbirini ardarda izleyen uykunun iki farklı döneminden geçer.

1-Beyin dalgalarının yavaşladığı ve göz hareketlerinin olmadığı (Non Rapid Eye Movement) NREM dönemi: Bu dönemde EEG’de santral sinir sisteminin elektriksel etkinliğinin azalmasına bağlı yüksek amplitüdü yavaş dalgalar ve içcikler gözlenir. Göz küreleri hareketsizdir ve kas tonusu azalmıştır. Nabız ve solunum yavaşlamıştır. Beyin kan akımı artmıştır. NREM dönemi dört basamağa ayrılır.

İnsan uyumaya başlarken oluşan gevşeme ve gözleri kapama sırasında EEG' de alfa etkinlik egemen olur. Sonra alfa ritmi kaybolur ve NREM dönemine girilir. Bu dönemin birinci basamağında kişi yarı uyur durumdadır. İkinci basamakta, EEG 'de uyku içcikleri ve K kompleksi görülür. Böylece gerçek uyku başlamış olur. Uyumak üzere gözleri kapama ile bu basamağa girme arasında geçen süre 'uykuya dalmanın latent dönemi' olarak kabul edilir. Son iki basamak ise delta dalgalı veya yavaş dalgalı uyku olarak adlandırılır. Bu sırada santral sinir sisteminde elektriksel etkinlik en düşük seviyededir. Dördüncü basamak en derin uyku dönemidir ve uykuya daldıktan sonra yarım saat içinde bu basamağa girilir. Daha sonra uykunun derinliği azalır ve ilk REM dönemine geçilir (Kayaalp,1995).

2- REM dönemi: Uyku esnasında periyodik olarak tekrarlanan hızlı göz hareketlerinin olduğu dönemlere; (Rapid Eye Movement) denir (Aserinsky and Kleitman, 1953). Yapılan çalışmalarda rüyaların REM döneminde görüldüğü belirlenmiştir (Dement and Kleitman, 1957). REM uykusu dönemleri, uyku boyunca periyodik olarak ortaya çıkar. REM uykusu genç erişkinlerde uyku süresinin %25'ini kaplar. REM uykusu paradoksal ve desenkronize uyku diye de adlandırılır.

Normal bir gece uykusunda 5-10 dakika süren REM uykusu dilimleri ortalama 90 dakikada bir ortaya çıkar. Bunlardan ilki, kişi uykuya daldıktan sonra ilk 80-100 dakika arasında olur. Kişi çok uykulu ise, REM uyku dilimlerinin süreleri kısalmaya hatta ortadan kalkar. Diğer yandan, kişi gece boyunca gittikçe daha fazla dinlenmiş olduğu için REM uykusu dilimleri giderek uzar (Guyton and Hall,1996).

REM uykusunun bir çok özelliği vardır:

1. Genellikle aktif düş görme ile birlikte dir.
2. Kişi yavaş dalgalı uykuya göre duysal uyarılara daha zor uyanır. Ancak sabahları REM uykusu sırasında uyanır.
3. Rüya görme sırasında kalp ve solunum hızı düzensizleşir.
4. Periferik kasların aşırı inhibisyonuna karşın, bir kaç düzensiz kas hareketi oluşur. Bunlar özellikle hızlı göz hareketlerini içerirler.

5. Beyin REM uykusu sırasında yüksek bir aktivasyon gösterir. Toplam beyin metabolizmasında %20 oranında artma görülür. EEG’de uyanıklıktakilere benzer beyin dalgaları görülmektedir. Bu uyku tipi kişi beynindeki aşırı aktiviteye rağmen uyumakta olduğu için paradoksal uyku olarak da adlandırılır.

Özetle, REM uykusu beynin aktif olduğu bir uyku tipidir (Guyton and Hall, 1996).

### 2.1.2 Uykunun Temel Kuramları:

Eski bir uyku kuramına göre, retiküler aktivite edici sistem (ARAS) adını alan üst beyin sapının eksitator alanları, uyanık geçirilen gün boyunca yorulmakta ve bunun sonucunda inaktif hale geçmektedir. (Bu uykunun pasif kuramı olarak adlandırılır. Bu konuda yapılan önemli diğer çalışma bu eski kuramın yerini, uykunun olasılıkla aktif inhibitör süreçlerin sonucu olduğunu ileri süren güncel kanı almıştır.) Bu çalışmada beyin midpontin bölgede kesilmesi ile, elektriksel kayıtlar esas alındığında, beyin hiç bir zaman uyumadığı gösterilmiştir. Başka bir deyişle, beyin sapının mitpontin düzeyinin altında beyin diğer bölgelerini inhibe ederek uykuya yol açan bazı merkez veya merkezlerin varlığı olasıdır (Guyton and Hall, 1996).

### 2.1.3 Uykuya Yol Açan Merkez ve Mekanizmalar:

Beynin çeşitli spesifik alanlarının uyarılması, doğal uykuya benzer özelliklere sahip bir uykuya yol açmaktadır. Bu alanların bazıları şunlardır.

1. Hemen hemen doğal uykuya neden olan en belirgin stimülasyon alanı, ponsun alt yarısı ve medullada yer alan rafe çekirdekleridir. Bu çekirdeklerden çıkan sinir lifleri, retiküler formasyon ve yukarı doğru talamus, neokorteks, hipotalamus ve limbik sistemin bir çok alanına dağılmaktadır. Rafe nöronlarının sonlanmalarının çoğunun

serotonin salgıladığı da bilinmektedir. Bir hayvana serotonin oluşumunu durduran ilaç verildiğinde, hayvan genellikle bunu izleyen birkaç gün boyunca uyuyamamaktadır. Bu nedenle, serotonin uyku oluşumu ile ilgili ana nörotransmitter madde olduğu varsayılmaktadır.

2. Visseral duysal sinyallerin vagus ve glossofaringeus sinirlerle beyne girdiği, medulla ve ponsun duysal bölgesi olan nukleus traktus solitarius içindeki bazı alanların uyarılması da, uyku oluşurmaktadır. Bu etki rafe çekirdekleri hasarlandığında ortaya çıkamamaktadır. Bu nedenden dolayı, bu bölgelerin belki rafe çekirdeğini ve serotonin sistemini uyararak etkinlik gösterdiği düşünülmektedir.

3. Diensefalondaki bazı bölgelerin de uyarılması uykuyu kolaylaştırmaktadır. Bu bölgeler, hipotalamustaki suprakiazmatik alan ve talamus çekirdeklerindeki bazı alanlardır (Guyton and Hall, 1996).

#### 2.1.4 Uyku ve Uyanıklık Döngüsü:

Uyku merkezleri aktive olmadıkları<sup>zaman</sup>nda, mezensefalik ve st pontin retiküler çekirdeklerin inhibisyondan kurtarılması bu bölgenin spontan olarak aktif duruma geçmesine olanak sağlar. Bu durum hem serebral korteksin hem de periferik sinir sisteminin uyarılmasına yol açar. Daha sonra bu iki sistem de, retiküler çekirdekleri daha da aktiveleştiren pozitif feedback sinyalleri gönderirler. Bunların etkisi ile uyanıklık oluşur ve devam etme eğilimi gösterir.

Beyin saatler boyunca aktif durumda kaldığında, tahminen aktive edici sistem içindeki nöronlar yorulur<sup>olarak</sup> mezensefalik retiküler çekirdeklere<sup>ile</sup> korteks arasındaki pozitif feedback döngüsü zayıflayacak<sup>ve</sup> uyku merkezlerinin inhibitör etkileri baskın hale geçerek uyanıklık durumundan uyku durumuna hızlı bir geçişe neden olacaktır.

Bunun ardından uzayan uyku süresince, retiküler aktive edici sistemin eksitatör nöronlarının, uzun dinlenme dönemine bağlı olarak uyarılabilirlikleri artarken, uyku

merkezlerinin inhibitör nöronları aşırı etkinlikleri nedeniyle daha zor uyarılabilir hale geçecek ve yeni bir uyanıklık dönemi başlayacaktır (Guyton and Hall,1996).

### **2.1.5 Uykunun Fizyolojik Etkileri:**

Uyku başlıca iki tipte fizyolojik etkiye sahiptir. Bunlardan ilki, sinir sisteminin kendisi üzerine olan etkiler, ikincisi ise vücudun diğer yapıları üzerine olan etkileridir. Bunların ilki çok daha önemlidir. Uyku-uyanıklık döngüsünün ortadan kalkması, beynin altındaki herhangi bir seviyede ne vücut organlarına zarar getirir, ne de işlevsel bozukluklara yol açar.

Uzun süren uyanıklık, zihnin ilerleyici bozukluğunu ve hatta bazen sinir sisteminin anormal davranış özelliklerindeki beraberinde getirir. Ayrıca kişi uzun dönemler boyunca uykusuz kalmaya zorlandığında iritabilite belirtileri ve hatta psikotik özellikler sergileyebilir. Bu nedenle uykunun henüz anlaşılmamış bir yolla, hem santral sinir sisteminin normal etkinlik düzeyini korumasına yardımcı olduğu, hem de santral sinir sisteminin farklı bölümleri arasındaki normal dengeyi sağladığı varsayılabilir.

Uyku-uyanıklık döngüsünü izleyen, artan ve baskılanan sinir uyarılabilirlik döngüsü periferik vücutta belirgin fizyolojik etkilere sahiptir. Örneğin, uyanıklık sırasında sempatik etkinlik artar ve iskelet kaslarına ulaşan sinir uçlarının sayısı kas tonusunu arttıracak derecede yüksektir. Bunun aksine NREM uykusu sırasında sempatik etkinlik azalırken parasempatik etkinlik artar. Bu nedenle bu dönemi sakin bir uyku izler. Arteriel kan basıncı düşer, nabız sayısı azalır, cilt damarları dilate olur, bazen gastrointestinal sistem etkinliği artar, kaslar genellikle gevşer ve vücudun bazal metabolizma hızı %10-30 oranında azalır (Guyton and Hall, 1996).

### 2.1.6 Uyku-uyanıklık döngüsünü etkileyen nörotransmitterler:

**Asetilkolin:** Uyanıklık ve dikkat halinin kontrolünde önemlidir. Korteks ve striatumda asetilkolin salgısı, uyanıklık ve REM uykuda artar. Asetilkolinesteraz inhibitörü olan fizostigminin uygulanması ile devamlı bir uyanıklık ve ajitasyona yol açar, belirli dozlarda verildiğinde ise REM uykuyu kolaylaştırır.

**Norepinefrin:**  $\alpha_1$  reseptör antagonistleri REM uyku oluşumunu ve süresini kısaltırlar.  $\alpha_2$  reseptör antagonistleri düşük dozda REM uykuyu kısaltırken, yüksek dozda kolaylaştırır.  $\beta_1$  ve  $\beta_2$  adrenoreseptörlerin blokajının REM uykuyu kısaltırken sedasyona, insomniye uykuda kabus görülmesine yol açabileceği belirtilmektedir.

**Serotonin:** Uykunun başlatılmasında ve sirkadiyen ritminin düzenlenmesinde önemli rol oynar. Uyku sırasında beyinde en yüksek miktarda bulunur. Rafe nukleus lezyonu ve deneysel olarak 5-HT düzeyinin düşürülmesi uykuyu baskılar ve insomnia oluşturur.

**Dopamin:** Uyanıklığın korunmasında özellikle davranışsal aktivasyonun sağlanmasında ve motor aktivite artışında önemlidir. Nonselektif  $D_1/D_2$  reseptör agonisti apomorfin bifazik etkilidir ve az miktarda verilmesi total uyku süresini uzatırken, uyanıklığı azaltır. Yüksek dozda verildiğinde ise uykuya dalışı geciktirir ve uyanıklığı artırır.

**Histamin:** Uyanıklık düzeyinin kontrolü ile ilgilidir. Histamin sentezinin inhibe edilmesi uyanıklık süresini kısaltırken, NREM uykuyu artırır.

**Adenozin:** Merkezi aktivitenin regülatörüdür. Adenozin ve metabolitleri merkezi nöronların spontan ve ateşleme hızlarını baskırlar. Özellikle davranışsal düzeyde sedatif ve hipnotik etki gösterirler. Asetilkolin, norepinefrin, 5-HT, GABA, ve Glutamat gibi diğer nöronların salınımı üzerinde inhibitör etki gösterir, bu nedenle adenozin nörotransmitterden çok nöromodulatör olarak görev yapar. Adenozin icv. enjeksiyonu uyanıklıkta azalma, derin uykuda artış ve total uyku süresinde uzamaya yol açar. Kafein ve diğer metilksantinlerin uyarıcı etkisi adenozin reseptörlerinin antagonizmasına bağlıdır.



**GABA-erjik trasmisyon ve benzodiazepinler:** Merkezi sinir sistemindeki tüm sinapsların yaklaşık 1/3 GABAerjiktir. GABA salgılayan nöronların çoğu internöronudur. Bu nedenle pre ve post sinaptik inhibisyonla diğer etkileri modüle edilebilir ve aynı şekilde hücre ateşlemesini inhibe ederler. Agonistler uykuya dalış süresini kısaltıp, gece uyanıklık süresini azaltarak total uyku süresini artırırlar (Gaillard et al, 1994).

### 2.1.7 Uyku kaybının etkileri:

Uyku ile ilgili deneylerde kullanılan hayvanlar, ne kadar iyi beslenip bakılsalarda, uykusuzluk nedeniyle birkaç gün ile birkaç hafta arasında ölebilirler. Fakat insanlarda daha farklı olumsuzluklar meydana gelmektedir.

Uykusuzluğun sağlığa zararlı olan duyuşsal ve kavramsal etkilerini inceleyen bir çok araştırma yapılmasına rağmen, yine de bu konuda çok az bilgiye sahibiz. İnsanlar 60 ile 200 saat arasındaki periyotlarda uykudan (NREM ve REM) yoksun bırakıldıklarında, artan yorgunluk ve sinirlilik yaşamaya başlarlar ve konsantre olma, doğru algılama, dengelerini muhafaza etmede güçlük çekerler.

Uykusuzluk çeken insanlar genelde görsel ve dokunsal hayaller ve halüsinasyonlar görmeye başlarlar. Yetenek motor aktivitelerinin performansı bozulur. Çalışma isteği zayıflar ve düzenli düşünce ve hareket biçimi, dikkat dağılımları ile bölünür. Görülen nörolojik belirtiler arasında hafif ve geçici nistagmus, göz hareketlerinin bozulması, uyum kaybı, ellerde hafif titreme, göz kapaklarının sarkması, ifadesiz bir yüz, kelimelerin yanlış telaffuzu ve hatalı seçimi ile konuşma kalınlığı bulunuyor. EEG'de alfa dalgalarında zayıflama görülür. Kandaki 17-hidroksi kortikosteroid konsantrasyonu yükselir ve katekolamin düzeyi artar (Adams and Maurice, 1989).

Ender olarak uykuya eğilimli kişilerde, uykusuzluk psikotik durumlara yol açabilir. Hayal görmeler ve paranoid düşünceler daha sık görülmektedir.

Uzun süreli uyku yitiminin tedavisinde elde edilen uyku kalitesi hiç bir zaman kaybedilen miktara eşit olmaz. Uzun bir uykusuzluk döneminden sonra uykuya dalan kişi 2. evre ve REM uykusunu gözardı ederek birkaç saat süren NREM uykunun 4. evresine hemen girer. Fakat ikinci tedavi gecesinde REM uykusu tekrar ortaya çıkar ve uykusuzluk öncesi periyodunu aşar. Uzun süren uykusuzluktan kaynaklanan uyku fonksiyon değişimini düzeltmek gerekir. Bunun için 4. evre kullanılır.

Kısmi ve diferansiyel uyku yitimi, tam uykusuzluktan daha farklı etkilere neden olur. Bir çok gece REM uykudan yoksun bırakılan kişilerde hiperaktiflik, duygusal kararsızlık fevri davranışlarını kontrol etme kabiliyetinin azalması, aşırı iştah artışı, REM uykusundan yoksun olan hayvanlarda aşırı cinsel eğilimler görülmüştür. NREM uykusunun (3.ve 4. evreler) diferansiyel kaybı ise tepkisizlik ve aşırı uyuklamaya neden olur.

Uykuya duyulan ihtiyaç kişiden kişiye değişiklik gösterdiğinden, kısmi uykusuzluğun nedenini çözmek güçleşmektedir. Çok az kişi her 24 saatlik periyotta 4 saat veya daha az uyku ile rahatlıkla yetinirken, uzun saatler uyuyabilenler, uykudan maksimum derecede istifade etmediklerinden yakınrlar (Adams and Maurice,1989)

### **2.1.8 Farelerde uyku ve righting refleksi:**

Bugüne kadar uyku üzerine bir çok çalışma yapılmıştır. Özellikle farmakolojide uyku üzerine yapılan çalışmalar, klinikte kullanımda belli bir yarar sağlayacağı düşünülen maddelerin araştırılmasına yöneliktir. Agmatin, nitrikoksit gibi son zamanlarda üzerinde çalışmalar yapılan maddelerin uyku üzerine olan etkileri de araştırma konusu olmuştur. Uyku üzerine yapılan araştırmalarda, uykuya geçiş zamanı ve uyuma zamanı üzerine kullanılan maddelerin etkileri ölçülmektedir.

Farelerde yapılan uyku deneylerinde uykuya giriş zamanını ve uyuma süresini belirleyebilmek için righting refleksi kullanılmaktadır (Kmei et al, 1996).

## 2.2 LOKOMOSYONUN DÜZENLENMESİ:

Hemen hemen bütün istemli hareketler beyin korteksinde bilinçli aktiviteyi gösterir. Korteks tarafından yapılan kontrolün büyük kısmı alt beyin alanlarında (beyin sapı, bazal gangliyonlar, serebellum) bulunan çeşitli fonksiyonel modellerin aynı anda aktivasyonunu gerektirir. Bununla birlikte, özellikle parmak ve ellerin ustalık isteyen hareketleri ve benzerlerinin düzenlenmesi için korteksten başlayıp, yol üzerindeki diğer motor merkezleri atlayarak omuriliğin anterior motor nöronlarında sonlanan direk bir yol bulunmaktadır (Tractus corticospinalis).

Serebellum, esas olarak bir hareketten diğerine hızlı geçişte ve motor aktivitelerinin zamanlamasında önemli rol oynar. Ayrıca agonist ve antagonist kas gruplarında gerekli etkileşimin düzenlenmesini ve kas yükü değiştiğinde kasılma şiddetinin kontrolüne yardımcı olur. Motor korteksten ve nukleus ruberde düşünülen ardışık hareketin plan hakkında genel bilgi ve vücudun periferik bölgelerinden hareketlerin sonucunu bildiren feed back bilgileri olmak üzere, serebellum iki tip bilgi alır. Yapılan hareketle, yapılması planlanan hareket karşılaştırıldıktan sonra talamustaki aktarıcı nukleuslar aracılığı ile geriye motor kortekse ve rubrospinal yola gönderir. Serebellum amaca yönelik hareketlerin yapılabilmesi için ekstremitelerin distalindeki agonist ve antagonist kasların düzgün ve koordineli hareketini sağlar.

Bazal gangliyon motor kontrolde önemi, serebellumunkinden farklıdır. Hareketin bilinçaltı fakat öğrenilmiş modelini yerine getirmede kortekse yardım etmek ve çok sayıda paralel ve ardışık hareket modellerinin planlanmasına yardım etmek bazal gangliyonların en önemli görevini oluşturur. Alfabenin farklı harflerini yazma, topu elle fırlatma, daktilo ile yazma gibi motor model çeşitlerinin yapılması için bazal gangliyonlara ihtiyaç vardır. Böylece modellerin boyutları ve zamanlaması kontrol edilebilir. Beynin düşünme sürecinde başlayan ve kişinin yüzüne vuran bir saldırıya verdiği ani motor cevabın veya beklenmedik bir sarılmaya karşı gösterilen ardışık

cevabın planlanması gibi aktivitelerin genel sırasını hazırlayan serebral korteks- bazal gangliyonlar devresi diğerk bir üst kontrol düzeydedir (Guyton and Hall, 1996).

Lokomasyonun sağlanması ve postürün düzenlenmesinde pek çok nörotransmitter görev alır. Somomotor fonksiyonlar ve çizgili kas tonusunun sürdürülebilmesi için bazal gangliyonlarda dopaminerjik /kolinerjik dengenin belli bir düzeyde tutulması gereklidir (Kayaalp,1995).

### 2.3 İMİDAZOLİN RESEPTÖRLERİ:

Son yıllarda özellikle 1980 sonrasındaki yıllarda yapılan bir çok çalışmada katekolamin ve imidazolin yapılı  $\alpha_2$  adrenoseptör agonistlerinin biyolojik yanıtları arasında değişiklikler göze çarpmıştır. Bu değişiklikler ilk kez Ruffalo ve arkadaşları (1977) tarafından sıçanların vas deferens kontraktilitesini, imidazolin türevleri olan okzametazolin ve tetrahidrazolin tarafından inhibe edildiği, fakat noradrenalin, fenilefrin gibi katekolamin etkileri olmamasıyla göstermiştir. Yapılan farklı çalışmalardan birinde klonidinin intra serebro ventriküler (i.c.v.) uygulanması sonucu oluşan antihipertansif etkiyi, imidazolin yapılı histamin reseptör antagonisti olan ve  $\alpha_2$  reseptörlerini etkilemeyen simetidinin güçlü bir şekilde bloke ettiği gözlenmiştir (Karppamen et al, 1976).

İmidazolin reseptörlerinin konsepti, santral etkili antihipertansif ve bir imidazolin olan klonidin sayesinde anlaşılmıştır. Klonidinin antihipertansif etkisinin merkezi  $\alpha_2$ adrenoreseptörlerin stimüle edilmesine bağlanırken, Bousquet'un 1984 yılında yaptığı bir araştırma sayesinde klonidinin etkisinin farklı reseptörler aracılığı ile olduğu ortaya çıkmıştır. Bu çalışmada anestezi altındaki kedilere, bulbusun ventral düzeyinde bulunan nukleus retikularis lateralis (NRL) yapısı ve/veya etkisi farklı  $\alpha_2$  adrenoreseptörleri

uyaran bir seri ilaç mikroenjeksiyon yolu ile uygulanarak hipotansif etkileri karşılaştırılmıştır. Klonidin, sirazolin gibi imidazolin yapılı ilaçlar kan basıncını düşürürken alfa adreno reseptörlerin fizyolojik ligantı olan noradrenalin veya fenilefrin,  $\alpha$  adreno reseptörlerin en seçici ligantı olan  $\alpha$ -metil noradrenalin herhangi bir etki oluşturamamışlardır.

Başka bir çalışmada ise, bir  $\alpha_2$ -adrenerejik agonist olan [ $^3\text{H}$ ] idazoksanı kullanarak, tavşanın böbrek korteksinde imidazolin türevlerine karşı yüksek bir afinitesi olan ve katekolaminler tarafından tanınmayan bir bağlantı alanı bulunmuştur (Coupry et al, 1987). İmidazolin türevlerine karşı bu yüksek afinite ve katekolaminlere karşı duyarsızlık, bu iki merkezi ve periferik bağlantı alanının imidazolin reseptörleri olarak tanımlanmasını sağlamıştır. Bununla beraber ligantların tanınma özelliklerinde belirlenen bu farklar, [ $^3\text{H}$ ]p-aminoklonidin ve [ $^3\text{H}$ ] idazoksan ile belirtilen bağlantı alanlarının, aynı türden bir protein sınıfının iki alt tipi olduğu varsayımını uyandırmıştır. Bu varsayım, farklı doku ve türlerde imidazolin alanlarını karakterize etme olanağını tanıyan bir çok bağlanma çalışması ile doğrulanmıştır (Lachaud-Pettiti et al, 1991; Tesson et al, 1992).

Radyoaktif ligantları kullanarak NRL bölgesinde imidazolinleri tanıyan ve katekolaminlere duyarsız kalan alanlar bulunmuştur (Ernsberger et al 1987, Bricca et al 1994). İmidazolinlere karşı yüksek afinite gösteren ve katekolaminlere karşı duyarsız kalan alanlar; imidazolin reseptörleri olarak tanınmışlardır (Lanier et al, 1994)

Bugüne kadar gelen araştırmalarda imidazolin reseptörleri beyinde, adrenal medullada, trombositlerde, karaciğerde, yağ dokusunda, üretrada, kolonda, ve pankreasın beta hücrelerinde saptanmıştır (Regunathan and Reis, 1996).

İmidazolin reseptörleri ve  $\alpha_2$  adreno reseptörler farklı reseptör sistemleri olmalarına rağmen bir çok ortak özellikleri vardır. Aynı fizyolojik yanıt, farklı anatomik lokalizasyonda bulunan santral  $I_1$  reseptörleri ve  $\alpha_2$  adreno reseptörlerinin aktivasyonu ile oluşabilmektedir. Ayrıca her iki reseptör sistemine etki gösteren ilaçlar bulunmuştur. Rilmenidin, moksonidin, klonidin gibi ilaçlar,  $\alpha_2$  adreno reseptörlerindeki

uyarabilmektedir. İdazoksan  $I_1, I_2$  ve  $\alpha_2$  adreno reseptörlerini antagonize etmektedir. Bir çok ajan iki reseptör sistemini uyarabilmekte veya bloke etmektedir (Hieble, 1995). Yapılan araştırmalara rağmen ~~rağmen~~ imidazolin reseptörleri için spesifik bir ilaç bulunamıştır.

Radyoligant bağlanma ve fotoafinite teknikleriyle imidazolin reseptörlerinin heterojen bir yapıya sahip olduğu anlaşılmıştır. Bu yöntemler sonucunda  $I_1$  ve  $I_2$  reseptörleri ve bunların alt grupları olan  $I_{2A}$  ve  $I_{2B}$  bulunmuştur (Vanhoutte et al, 1994)

### 2.3.1 $I_1$ İmidazolin reseptörleri:

$I_1$  imidazolin reseptörleri merkezi sinir sistemi (MSS) düzeyinde, barorefleks zincirin temel unsurlarını oluşturan hücre gruplarında çok sayıda bulunmaktadır: NTS(solitertraktus çekirdeği),RVLM(lateral ventrorostmedular bölge), CVLM(ventrolateralkolonunu meduler bölgesi) (Bricca et al,1993; De Vos et al 1994).

$I_1$  imidazolin reseptörleri alanları esas olarak [ $^3H$ ] p-aminoklonidin, [ $^3H$ ]klonidin,[ $^{125}I$ ] iyodoklonidin kullanarak saptanmıştır.  $I_1$  reseptörlerine klonidin, p-aminoklonidin (PAC), rilmenidin, tizanidin, fentolamin, moksininidin, oksimetazolin, idazoksan yüksek afiniteyle naphazolin, simetidini, imidazol-4-asetik asit orta afiniteyle katekolaminler, sirazolin, guanebenz düşük afiniteyle bağlanır (Regunathan and Reis, 1996).

$I_1$  reseptörleri insan, sığır ve tavşan beyin sapı , sığır adrenal medullası (Ernsberger et al, 1990), PC12 hücreleri , insan trombositleri (Piletz et al,1991) ve sınırlı olarak beyinde (hipotalamus, hipokampus, sitriatum) (Bricca et al,1989; Ernsberger et al, 1990; Tesson and Parini, 1991; Czewiec,1996) belirlenmiştir.  $I_1$  reseptörlerinin subsellüler dağılımı hakkındaki bilgiler yetersizdir. Mitokondrial yerleşimi kesin olarak bilinen  $I_2$

reseptörlerinin aksine, yapılan ileri düzey araştırmalara rağmen I<sub>1</sub> reseptörleri burada tespit edilememiştir. Sadece trombositlerde ve PC 12 hücrelerinde hücre membranında olduğu saptanmıştır.

Kan basıncının santral kontrolü I<sub>1</sub> reseptörlerinin bugün için bilinen en önemli fonksiyonunu oluşturmaktadır. Klonidin ve diğer imidazolin yapılı ilaçların hipotansif etkisinin sempatikoeksituar retikülospinal vasomotor nöronların inhibisyonu sonucu oluştuğu kabul edilmekteydi. Böylece sempatik sinir aktivitesinin azalmasıyla ve buna bağlı olarak renin salınımının da artmasıyla anjiyotensin 2 üretiminin inhibe olması sonucunda kan basıncının düştüğüne inanılmaktaydı. Günümüzde imidazolin yapılı ilaçların I<sub>1</sub> reseptörleri aracılığı ile kan basıncını düşürdüğüne dair bulgular vardır: İlk olarak,  $\alpha$  metil norepinefrin gibi bazı  $\alpha_2$  adrenoseptör agonistlerinin NRL'ye mikroenjeksiyon sonucu oluştukları hipotansif etki çok azdır (Bousquet et al, 1984; Ernsberger et al, 1990). İkinci olarak NRL'ye uygulanan I<sub>1</sub> reseptör agonistlerinin molar konsantrasyonu ile orantılı oluşan hipotansif etki paralellik gösterir ( Ernsberger et al, 1993). Üçüncü olarak, bilateral RVL'ye selektif  $\alpha_2$  adrenoseptör antagonist mikroenjeksiyonu, intravenöz (i.v.) klonidin uygulaması ile oluşan hipotansif etkiyi engelleyememektedir. Fakat hem  $\alpha_2$  adrenoseptör antagonisti hem de imidazolin reseptör ligantı olan idazoksan, klonidinin hipotansif etkisini ortadan kaldırmaktadır (Ernsberger et al, 1993). Dördüncü olarak, rilmenidin ve moksininin intrasisternal verilmesi sonucu oluşan hipotansif etkiyi selektif  $\alpha_2$ adrenoseptör antagonistleri etkilememiştir (Ernsberger et al, 1993). Beşinci olarak klinikte hipotansif etkiyi oluşturan imidazolin yapılı ilaçlar I<sub>1</sub> reseptörlerine afinite gösterirken, bu afinite  $\alpha_2$ adrenoseptörleriyle korele olmadığı bulunmuştur. (Ernsberger et al, 1995).

Yapılan başka çalışmalarda ise, bazı imidazolin yapılı ilaçların  $\alpha_2$  adrenoseptörleri etkileyerek kan basıncını düşürdüklerini ileri sürmektedir. Selektif  $\alpha_2$  adrenoseptör antagonisti SKF-86466, RX-821002 ve yohimbinin i.v. enjeksiyonu klonidinin hipotansif etkisini bloke etmektedir (Hieble et al, 1993).

Moksinidin tarafından  $I_1$  reseptörlerinin aktivasyonu renal sodyum ve suyun atılımını artırır. Bu etki idazoksan tarafından bloke edilir (Allan et al, 1993). Rawolşisinin ise etkisi yoktur.  $I_1$  reseptörleri trakea ve prostatın epitel hücrelerinden sekresyonu düzenler (Felsen et al, 1994). Santral olarak intra oküler basıncı ve pupiler kontraksiyonu etkiler. Termoregülasyonda da rolü olduğu düşünülmektedir (Regunathan and Reis, 1996).

Endojen depresyonlu hastalarda trombositlerdeki  $I_1$  reseptörleri upregüle olur ve serotonerjik (fluoksetin) veya trisiklik antidepresan (desimipramin) ilaçlarla yapılan tedaviden sonra normale döner ya da down regülasyon gelişebilir (Parini et al,1994).

### 2.3.2 $I_2$ İmidazolin Reseptörleri:

$I_2$  imidazolin reseptörleri  $\alpha_2$  adrenoseptör antagonisti olarak bilinen [ $^3$ H] idazoksan ile tanımlanmıştır.  $I_2$  reseptörleri amilorid, guanabenz ve guanaduma duyaklılıklarına göre  $I_{2a}$  ve  $I_{2b}$  olarak iki alt sınıfa ayrılırlar (Vonhouette et al,1994).

$I_2$  reseptörlerine sirazolin, idazoksan, talazolin ve UK- 14304, ST-587, naphazolin, yüksek afinite ile bağlanırlar. Tersine klonidin, p-aminoklonidin, rilmenidin, moksinidin simetid gibi  $I_1$  reseptörlerine ileri derecede selektif olan ligantlar,  $I_2$  reseptörlerine çok düşük afiniteyle bağlanırlar. Katekolaminlerin ve histaminlerin hiç biri bağlanmaz (Regunathan and Reis, 1996).

$I_2$  reseptörleri bir çok doku, organ ve hücre tipinde saptanmıştır. Beyin astrosit, böbrek, yağ dokusu, trombosit, adrenal medulla, karaciğer, plasenta, üretra, kolon, pankreatik  $\beta$  hücreleri , prostat, karotis, vasküler düz kas hücrelerinde bulunmuştur (Regunathan and Reis, 1996).

$I_2$  reseptörlerinin hücre lokalizasyonu  $I_1$  ve  $\alpha_2$  adrenoseptörlerden farklı olarak dokuların çoğunda mitokondrinin dış kısmında bulunur (Tessan and Parini, 1991). Fakat insan plasentasında ve tavşan böbrek proksimal tübüllerinde hücre membranında



saptanmıştır. Fakat iskelet kası, akciğer ve dalaktaki hücre membranı ve mitokondride bulunmamıştır (Tesson et al, 1992).

Monoaminoksidaz (MAO) nörotransmitterlerin ve eksojen aminlerin oksidatif deaminasyonunu katalizleyen mitokondrial bir enzimdir. Mitokondrilerde I<sub>2</sub> alanları ile MAO arasında bağlantı olduğu düşünülmektedir. I<sub>2</sub> nin alt grupları olan I<sub>2a</sub> ve I<sub>2b</sub> nin sırasıyla MAO-A ve MAO-B arasında ilişki olabileceği ileri sürülmüştür. Yaşlılıkta ve Alzheimer hastalığında MAO'nun ve I<sub>2</sub> bağlantı yerlerinin insan beynindeki dansitelerinin artması ve MAO inhibitörü olan klorgilin, pargilin tedavisi ile her ikisinde downregüle olması, aralarındaki bağlantının indirek yoldan kanıtı olmaktadır. Ayrıca I<sub>2</sub> alt tiplerinin molekül ağırlıklarıyla MAO-A ve MAO-B'nin molekül ağırlıklarının birbirine uyması, aynı zamanda K<sup>+</sup> ile aynı şekilde regüle edilmeleri nedeniyle bu iki yapının aynı olup olmadığı düşünülmüştür. Son çalışmalarda I<sub>2</sub> alanlarının MAO'nun katalitik alanlarından farklı bölgelerde olduğu belirlenmiştir. Bu yerlerin imidazolin reseptörlerinin MAO aktivitesini inhibe eden işlevsel yerler olduğu kanıtlanmıştır (Boulez et al, 1996; Raddatz and Lanier, 1997).

Son yıllarda yapılan bir çok çalışmada imidazolin reseptörleri ile potasyum kanalları arasında bir etkileşim olduğu düşünülmektedir. Potasyum kanalları, pankreas düzeyindeki Langerhans adacıklarının beta hücrelerinin insülin salgısını düzenlerler. I<sub>2</sub> imidazolin reseptörleri insülin salgısını başlatırlar. Bu etkilerini ATP'ye duyarlı potasyum kanallarını (K<sup>+</sup> ATP) inhibe ederek gösterirler. (Regunathan et al, 1996), Böylece glukoz etkisinin taklidini yaparlar. Bulunan bu sonuçlar hayvanın tamamında veya insülin salgılayan klone hücreler üzerinde bulunmuştur. Eferoksan, talozolin, antazolin potasyum-ATP kanalını inhibe ederek pankreastan insülin salınımını arttırırlar. Bu durumda diabetes tedavisine yeni bir bakış açısı kazandırabileceği düşünülmektedir (Chan and Morgan, 1990).

MAO'nun düşünce bozuklukları, parkinson, alzheimer gibi nörodejeratif hastalıklardaki ve MAO-B'nin metabolizmadaki rolü sebebi ile I<sub>2</sub> imidazolinler

gelecekte nörolojik, psikiyatrik, metabolik hastalıkların tedavisine girebilirler (Vanhutte et al, 1994).

### 2.3.3 NonI<sub>1</sub> ve NonI<sub>2</sub> Reseptörleri

İmidazolin reseptörlerinin [<sup>3</sup>H] p-aminoklonidin, [<sup>3</sup>H] klonidin, ve [<sup>3</sup>H] idazoksan ile belirlenen suptipleri dışında kalan ve bu radyoligand yöntemleri ile saptanamayan nonadrenerjik reseptörlerdir (Regunathan and Reis, 1996).

Örneğin:

<sup>3</sup> [H] Rilmenidin: Rilmenidin I<sub>1</sub> selektif ligant olmasına rağmen onlardan farklı olarak serebral kortekse afinite gösterir.

<sup>3</sup> [H] Atipomonal: diğer imidazolin ve α<sub>2</sub> adreseptör antagonistik özellik gösterir. Sıçan akciğer ve mamalial tümör hücrelerinin noradrenerjik yerlerine bağlanır.

## 2.4 İMİDAZOLİN RESEPTÖRLERİNİN ENDOJEN LİGANTLARI:

İmidazolin reseptörlerinin katekolaminlere karşı duyarsız olması sebebiyle, bunların doğal ligandı katekolaminik yapıda olmamalıdır ve α<sub>2</sub> adrenerjik reseptörlerden etkilenmeden direk imidazolin reseptörlerine selektif olmalıdır.

### 2.4.1 CDS (Clonidin Displacing Substance)

Bu ligantın izolasyonu ve pürfikasyonu Atlas ve arkadaşları tarafından, 1984 yılında dana beyni ekstresinden yola çıkılarak alınmış ve  $\alpha_2$  adrenerjik reseptörlerin selektif bir ligantı olan [ $^3\text{H}$ ] rauwolşine bağlantısında deplase edebilen kısmen pürifiye edilmiş olan CDS elde edilmiştir.

CDS bir katekolamin değildir, bir peptid gibi görünmemektedir, termostabldır ve asitlere ve suya direnç gösterir,580 daltonluk molekül ağırlığındadır.(Atlas,1991)

CDS, insan, sığır, domuz ve fare beyinleri ekstrelerinde (Atlas,1991; Bricca et al, 1989) dana akciğeri ekstresinde(Hussain et al, 1991) insan serum ve beyin-omurilik sıvısında (Goldberg-Stern et al, 1993) tanımlanmıştır.

Beyine enjekte edildiğinde, arter basıncında güçlü bir artışa yol açmakta ve boşaltıcı kanalın kontraktıl tepkisini inhibe edebileceğini ve plakelerin agregasyon mekanizmasında kendini gösterebileceğini ortaya koymuştur.(Atlas,1991)

CDS'nin bağlantı özellikleri imidazolin reseptörlerinin oldukça spesifik ve selektif endojen bir ligand tanımına uygun değildir.

#### **2.4.2 Endozolin:**

Peptidik olmayan, termastabl özellik gösteren, asitlere ve amfoter karaktere duyarlılık göstermeyen 500-1000 dalton arasında bir molekül ağırlığına sahip olan bir moleküldür.İmidazolin reseptörlerine spesifik olarak bağlanır. $\alpha_2$  adrenerjik reseptörlere bağlantısı üzerinde etkisiz kalır. Deney hayvanlarının beynine enjekte edildiğinde hipertansif bir özellik gösterir. Moleküler yapısı tam belirlenmemiş olan endozolin imidazolin reseptörleri için uygun bir endojen ligand adayı gibi görünmektedir.

#### **2.4.3 Agmatin:**

Agmatin arginin dekarboksilaz (ADC) etkisi ile argininden sentezlenir. Bakteri, bitki ve pek çok omurgasızlarda normalde bulunur. Agmatin üreohidrolazla (agmatinaz) putressine hidrolizlenir; bu da spermin, spermidin gibi poliaminlerin metabolizmasında prekürsör rolü oynar.

Yakın zamana kadar agmatin ADC yada agmatinazın memelilerde mevcut olmadığı düşünülüyordu. Ancak 1994'de Li ve arkadaşları tarafından imidazolin reseptörlerinin endojen ligandı araştırmaları yapılırken sığır beyninde HPLC ve presipitasyon yöntemleri kullanarak agmatin saptandı. Ayrıca çeşitli organ ve dokularda varlığı gösterildi (Li et al,1994 ve Raasch et al, 1995). Agmatin memelilerde ilk saptandığında, diyet ve enterik bakteriler vasıtasıyla vücuda alındığı sanılıyordu. Fakat sıçan beyninde L-arginini, agmatine dönüştüren arginin dekarboksilaz (ADC) enzimi saptandı. Böylece agmatinin memelilerde yapıldığı gösrerildi.

Beyindeki aminin varlığı,  $\alpha_2$  adrenerjik reseptörlere ve imidazolin reseptörlerine bağlanması, agmatinin diğer biyoaminler gibi reseptörlere bağlanabileceğini, etkili olabileceğini ve olası nörotransmitter-nöromodulatör etkilerinin olabileceği varsayımının düşünülmesine neden oldu.

### **Nörokimyası:**

#### **A-Dağılımve depolanma:**

Agmatin sığır ve sıçan beyninde serotonin, adrenalın ve dopamin (Raasch et al 1995,Feng et al 1997) gibi diğer monoamin transmitterlerle kıyaslanabilir miktarda bulunmaktadır. Diğer transmitterler gibi kromafin ve adrenal medulla hücrelerinde de mevcuttur.

İmmünitokimyasal olarak agmatin beyin ve adrenal medullada poliklonal antikolarlar (Wang et al, 1995) yardımı ile lokalize edilmiştir.

Agmatin santral sinir sisteminde anlamlı miktarda (0.2-0.4 µg/g) bulunmaktadır (Li et al, 1994). Beynin değişik bölgelerinde farklı aktiviteler göstermektedir. Hipotalamusta yüksek aktivite gösterirken, striatum ve kortekste daha düşük aktivite göstermektedir (Sastre et al, 1996).

**B-Biyosentezi:** Agmatin beyinde lokalize olarak sentezleniyor gibi görünmektedir. Bakteriyel ADC'den farklı olarak, memelilerde ADC membranda sinoptozomal ve iç mitokondri zarında daha fazladır. ADC beyinde düzensiz bir dağılım göstermektedir. İmmünitokimyasal olarak agmatin dağılımına uygun biçimde aktivitesi serebral korteks ve hipokampüste çoktur.

Agmatin, son zamanlara kadar yapılan çalışmalar ışığında mide, barsak, adrenal, kalp, plazma, kan damarlarındaki endotel hücrelerinde, düz kas hücrelerinde ve bölgesel olarak spesifik beyin nöronlarında bulunur (Reis and Regunathan,1998)

Memelilerde ADC'nin spesifik inhibitörlerinin ve agmatinazın yokluğu beyindeki çalışmaları sınırlamaktadır.

**C-Salınım:**Diğer transmitterler gibi agmatin sıçan beyin hücreleri sinaptozom veya sıgır adrenal kromafin hücrelerinin depolarizasyonu ile salınmaktadır. KCl ya da nikotin ile depolarizasyon belirgin [<sup>3</sup>H] agmatini adrenal kromafin hücrelerden salar. Bu sonuçlar; diğer transmitterler gibi agmatininde presinaptik membrandan ve adrenal kromafin hücrelerden Ca<sup>++</sup> bağımlı depolarizasyon uyarı ile salınabileceğini göstermektedir (Reis and Regunathan, 1998).

#### **D-İnaktivasyon**

**Geri alınım:**Agmatin memeli beyinde iki yolla inaktive olur.; geri alınım (reuptake) ve enzimatik degradasyon. Agmatin uptake'i ısıya bağlı ve yüksek konsantrasyonda doyurulabilen bir olaydır. Ovabain (Na-K ATPaz inhibitörü) ile tedavi veya ekstrasellüler Na<sup>+</sup> replasmanı uptake'i etkilemez. Agmatin uptake'nin değişik aminoasit poliamin veya monoaminle inhibe olmadığı gözlenmiştir. Pek çok iyon kanal

modülatöründen sadece  $Ca^{++}$  kanal blokörleri inhibe olur ve  $Ca^{++}$  extrasellüler azalması, uptake'i artırır. İmidazolin reseptörlerini etkileyen bazı ilaçlar (Örnek: İdazoksan ve fentolamin ) uptake'in nonkompetitif inhibitörleridir. Bu gözlemler göstermiştir ki sinaptozom agmatini alıp konsantre edebilir. (Reis and Regunathan, 1998).

**Metabolizma:** Agmatinin metabolizması hakkında bilgilerimiz yetersizdir. Düşük yaşam formlarında agmatin poliamin sentezi için prekürsör olarak kullanılmaktadır. Önceleri agmatinin mitokondride oluşması nedeniyle MAO enzim sisteminin metabolizmasında rolü olduğu sanılıyordu. Memeli beyinde agmatini metabolize eden enzimin diaminoksidaz (DAO) olduğu düşünülmektedir (Holt et al, 1995; Gilad et al, 1996). Agmatin sıçan beyinde DAO enzimi ile üreye metabolize olur. Böylece poliamin sentezinin prekürsörü olan putressine dönüşür (Gilad et al, 1996). Agmatinin bu enzim tarafından metabolizması, aminoguanidin ve antidepresanlar tarafından inhibe olur. Endojen agmatin seviyesi artar. Böylece imidazolin reseptör yoğunluğu değişir (Holt et al, 1995). Diğer taraftan sıçan beyinde agmatini metabolize eden enzimin mitokondri matriksinde saptanan agmatinaz enziminin olduğu ileri sürülmektedir (Sastre et al., 1996). Muhtemelen DAO ile agmatinaz aynı enzimdir.

Agmatinaz aktivitesinin memeli beyinde mevcudiyeti bulundu. Enzim sıçan beyinde agmatini putressin ve üreye yıktığı saptandı (Reis and Regunathan, 1998).

**E-Reseptör Mekanizmaları:** Li ve arkadaşları agmatini beyinde hem imidazolin hem de  $\alpha_2$  adrenerjik reseptörleri endojen ligandı olarak saptamışlardır (1994). İmidazolin reseptörlerinin endojen ligandı olarak kabul edilmesine rağmen, başka reseptör sistemini de etkilemektedir. Bir çalışmada agmatinin kromafin hücrelerinde nikotinik antagonist olduğu saptanmıştır (Lorting R.H 1990). Agmatin adrenerjik reseptörlerde  $\alpha_2$  ye bağlanır fakat  $\beta$  ve  $\alpha_1$  'e bağlanmaz. Agmatin  $\alpha_2$  adrenoreseptörlere bağlanmakla beraber buradaki etkisi bilinmemektedir. Bugüne kadar invitro olarak agmatinin agonist veya antagonist etkisi gösterilememiştir. Organik katyon olarak agmatinin farklı özellikleri vardır. Hücreye katyon kanallarından girebilir (voltaj veya liganda bağlı  $Ca^{++}$  kanalları). Liganda bağlı  $Ca^{++}$  kanalları kolinerjik, nikotinik ve N

metil D aspartat (NMDA) reseptörleridir. Böylece, agmatin hücrelere metabolik değişim olmadan girebilir ve mitokondrial I<sub>2</sub> reseptörlerine ulaşır.

Agmatinin NO üzerine etkisi tartışmalıdır, sıçanlara sistemik infizyon şeklinde verildiğinde hipotansiyona sebep olur. Bu etki muhtemelen kan damarlarının duvar hücrelerini direk etkilemesi ile oluşan vazodilatasyon sonucu gelişir. Morrissey ve arkadaşları yaptıkları çalışmada sığır pulmoner arter endotel hücre kültürleri kullanarak agmatinin endotelial nitrik oksit üretimini üç kat arttırdığını belirlediler. Bu artış idazoksan tarafından inhibe edilmekte, ama yohimbin etkilememektedir (Reis and Regunathan, 1998). Agmatin, endotelial nitrik oksid salınımını arttırıcı etkisini, indüklenen veya nöronal nitrik oksid üzerine göstermemektedir. Nöronal nitric oksitin agmatin tarafından antagonize edildiği belirlenmiştir. Schreiber ve Gilad 1997 yılında agmatinin nöronal NOS enzimini inhibe ettiğini göstermişlerdir. Galae ve Auguet'e göre agmatinin indüklenen NOS enzimini inhibe eden aminoguanidine yapı olarak benzediği ve onun kadar iNOS'u inhibe ettiğini belirtmişlerdir. Böylece agmatinin iNOS'un endojen inhibitörü olduğunu ileri sürmüşlerdir.

**F-Fonksiyonları:** Agmatinin doza bağımlı olarak adrenal kromafin hücrelerden katekolamin, pankreas adacık hücrelerinden glukozaya yanıt olarak insülin ve hipotalamustan overiektomize sıçanlarda LHRH salar. Gastrik sekresyonunu ve ülser oluşumunu arttırır (Glavin et al, 1995). Agmatinin oluşturduğu mide lezyonlarının idazoksan ile tamamen, yohimbin ile kısmen, L-arginin ile çok az önlenmesi, agmatinin buradaki etkinliğinin imidazolin reseptörleri üzerinden olduğu yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir (Yayınlanmamış bulgu). I<sub>2</sub> reseptörleri ile sıçan aortunda uyarılan düz kas hücre proliferasyonunu bloke eder. Intratekal verildiğinde farelerde morfine bağlı analjeziyi K<sub>1</sub> reseptörleri yolu ile ağrı eşiğini etkileyerek dokuz kat arttırır ve aynı reseptörde morfin toleransını düşürür. Bu etkilerin hücresel mekanizmaları, henüz tam olarak bilinmemektedir, α<sub>2</sub> veya imidazolin reseptörleri ile oluştuğu düşünülmektedir. Sonuç olarak iyonik kanalların agmatin ile modülasyonu voltaja bağımlı veya liganda

bağımlı katyon kanallarında kompetisyon ile etkilediği düşünölebilir (Reis and Regunathan, 1998).

Özet olarak; son bilgiler ışığında agmatin nörotransmitter- nöromodölatör kriterlerinin pek çoğunu karşılamaktadır. Normal beyindeki fonksiyonları tam olarak bilinmemektedir. Bununda nedeni selektif olarak yıkımını etkileyen ajanların bilinmemesidir (Reis and Regunathan, 1998)





### 3. AMAÇ VE KAPSAM

Uyku, yaşamın temel elemanlarından biridir ve kontrolü hipotalamustaki ventral anterior bölgeden yapılmaktadır. Uyku organizmanın dinlenmesine olanak veren bir durumdur. Bu sayede başta santral sinir sistemi olmak üzere çeşitli sistemlerin günlük etkinlik sırasında meydana gelen yıpranması giderilir (Kayaalp, 1985).

Uyku ve uyanıklığın sağlanmasında birden fazla nörotransmitter, nörohormon ve nöromodülatörün kullanıldığı karmaşık bir sistem hakimdir.

Bugüne kadar yapılan bir çok çalışmada imidazolin reseptörlerinin santral sinir sisteminde striatum, hipokampus, hipotalamus ve frontal kortekste yaygın olarak bulunduğu saptanmıştır (Czerwiec et al, 1996; Flamez et al, 1997; De Vas et al, 1994). Ayrıca bu yerlerin davranış ve lokomasyonun düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığı bilinmektedir.

Son yıllarda yapılan çalışmalar, agmatinin imidazolin reseptörlerinin endojen ligandı olduğunu göstermiştir (Li et al, 1994). Agmatin arginindekarboksilaz (ADC) enzimi etkisi ile L-argininden sentezlenir. Mide, barsak, kalp, plazma, kan damarlarındaki endotel hücrelerinde ve santral sinir sisteminde bulunur. Agmatin santral sinir sisteminde 0.2-0.4µg/g miktarında bulunmaktadır (Li et al, 1994). Beynin değişik bölgelerinde farklı aktiviteler gösterir. Hipotalamusta yüksek aktivite gösterirken, striatum ve kortekste düşük aktivite göstermektedir (Sastre et al, 1996).

Yukarıda belirtildiği gibi uykunun kontrolü hipotalamusta yapılmakta, agmatin de aynı bölgede yüksek oranda dağılım göstermektedir. Bu bilgiden yola çıkarak imidazolin reseptörlerinin endojen ligandı olan agmatinin, uyku ve lokomasyon üzerindeki olası etkisi düşünülmüştür.

Bu çalışmada pentobarbitalle uyutulan farelerde uykuya giriş ve uyuma zamanı üzerine agmatinin etkisinin gözlenmesi amaçlanmıştır.

## 4. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim dalı araştırma laboratuvarında gerçekleştirilmiş olup, Kocaeli Üniversitesi Lokal Etik Kurulunun 4.12.1997 tarihli 97/HEK-9795 sayılı ön onayını almıştır.

### 4.1 Gereçler

**4.1.1 Deney Hayvanları:** Çalışmada ağırlığı 25-30g arasında değişen ve Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim dalında üretilen balb/c cinsi erkek fareler kullanıldı. Ortam sıcaklığı 22-24 °C olan ve 12 saat aydınlık-karanlık periyodu düzenlenen ortamda yetiştirilen hayvanlara içecek olarak musluk suyu, yem olarak standart pelet yem verildi.

### 4.1.2 Kullanılan İlaçlar:

- Sodyum pentobarbital
- Agmatin Sülfat (Sigma)

### 4.1.3 Kullanılan Aletler:

Kenarları 50cm, yüksekliği 40cm olan ve 2.5cm arayla sensörler bulunan bilgisayar kontrollü olan May Com 9803 (Türkiye) lokomotor aktivite cihazı kullanıldı. Bilgisayar tarafından farenin, dolaştığı mesafe cm cinsinden, harekete yönelişi ise hareket sayısı olarak ölçüldü. Bu iki parametre hayvanın spontan lokomotor aktivitesi olarak değerlendirildi

## 4.2 Yöntem

**4.2.1 Deneyin Yapılışı:** Deneyler 10-12 saatleri arasında, dış ortamdan gelen sese karşı yalıtılmış 22-24°C sıcaklığındaki odada yapıldı. Bu çalışmada agmatinin (Sigma) uyku üzerine olan etkisi, pentobarbital ile uyutulan farelerde righting refleksi testi kullanılarak ölçüldü.

Farelere agmatinin 20,40,80 mg/kg dozları i.p olarak enjekte edildi. Enjeksiyondan 30 dakika sonra fareler lokomotor aktivite cihazına konarak, 4 dakika boyunca lokomotor aktiviteleri değerlendirildi. Bu değerlendirmede farelerin hareket sayısı ve hareket mesafesi ölçüldü. Bunu takiben 35mg/kg pentobarbital i.p olarak enjekte edildi. Farenin righting refleksi kaybının başladığı an ve bu refleksin geri dönmesi için geçen süre kronometre yardımıyla saptandı.

Righting refleksi kaybının meydana geldiği ana kadar geçen süre uykuya giriş zamanı ve righting refleksi kaybının oluşmasından tekrar geri dönmesine kadar geçen süre uyuma zamanı olarak değerlendirildi (Dzolja et al,1994).

**4.2.2 Deney Grupları:** Uykuya giriş zamanı ve uyuma süresinin saptanmasında aşağıda belirtilen gruplar kullanılmıştır. Locomotor aktivitesi ölçülen fare sayısı çizelge 5-1'de belirtilmiştir.

- 1.grup (n=18): Kontrol (serum fizyolojik)
- 2.grup (n=20): 20 mg/kg agmatin
- 3.grup (n=19): 40 mg/kg agmatin
- 4.grup (n=12): 80 mg/kg agmatin

**4.2.3 İstatistiksel Değerlendirme:** Agmatinin lokomotor aktivite üzerine olan etkisi Student's t testi kullanılarak, uyku üzerine olan etkisi ise Mann Whitney U testi kullanılarak değerlendirildi.

## 5. BULGULAR

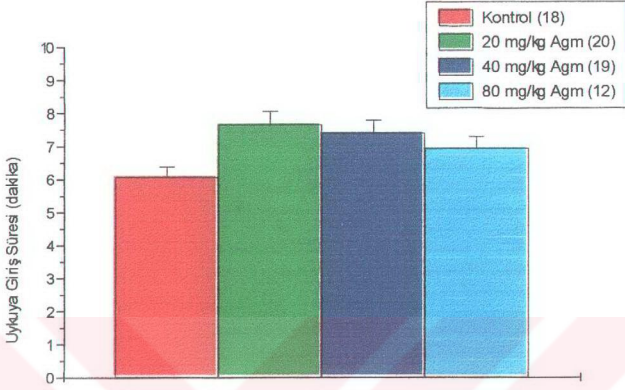
**5.1.1 Lokomotor aktivite ölçümü:** Agmatinin farklı dozlarının farelerde 4 dakika süresince lokomotor aktivite cihazında saptanan hareket sayısı ve mesafesi üzerine etkisinin olmadığı saptandı. (Çizelge5.1).

Gruplar (mg/kg)	Lokomosyon (cm)	Lokomosyon (hareket sayısı)
Kontrol grubu (n=12)	657.33±48.98	67.41±3.91
20 Agm (n=10)	804.60±51.97	77.20±4.49
40 Agm (n=10)	630.20±67.30	65.00±6.42
80 Agm (n=11)	559.45±47.56	57.45±4.03

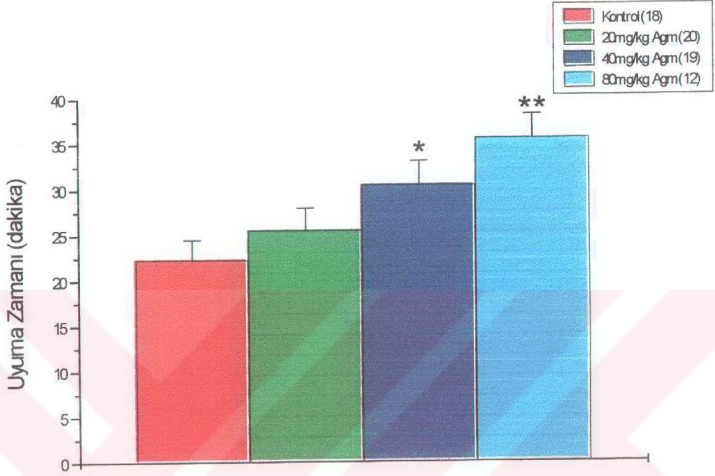
**Çizelge 5-1:** Farelere i.p verilen agmatinin farklı dozlarının lokomotor aktivite cihazında saptanan hareket sayısı ve hareket mesafesi üzerine etkisi (Değerler aritmetik ortalama± standart hata olarak verilmiştir).

**5.1.2 Agmatinin uyku üzerine etkisi:** Farelere i.p uygulanan 20-40-80 mg/kg dozlarının uykuya giriş zamanını istatistiksel olarak değiştirmede. Agmatinin uyuma zamanı üzerine olan etkisini 20mg/kg dozda kontrolden farklı bulunmadı. 40mg/kg ( $p<0.05$ ) ve 80mg/kg ( $p<0.001$ ) dozlarında ise agmatinin uyuma zamanını anlamlı bir şekilde arttırdığı saptandı. (Şekil 5.1 ve 5.2).





**Şekil 5.1:**Farelere ip uygulanan 20,40,80 mg/kg agmatin (Agm) in pentobarbital (35 mg/kg) ile oluşturulan uykuya giriş süresi üzerine etkisi. Değerler aritmatik ortalama  $\pm$  standart hata olarak gösterilmiştir. (Parentez içindeki rakamlar n sayısını göstermektedir.)



**Şekil 5.2:** Farelere i.p olarak uygulanan 20, 40, 80 mg/kg Agmatinin pentobarbital (35 mg/kg) ile oluşturulan uyku zamanı üzerine etkisi. (Parantez içindeki rakamlar 'n' sayısını göstermektedir. ) (\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.001$ )

## 6-TARTIŞMA:

İmidazolin reseptörlerinin varlığı 1984 yılında gösterilmiştir (Bousquet et al, 1984) ve son yıllarda yapılan araştırmalarda bir çok fizyopatolojik olayda rolü saptanmıştır.

Bu çalışma imidazolin reseptörlerinin uyku ve lokomosyon üzerine olan etkilerini saptamak amacıyla planlanmış olup deneyde imidazolin reseptörlerinin endojen liganti olan agmatin kullanıldı.

Çalışmada 20-40-80 mg/kg agmatin enjekte edilmiş fareler pentobarbital ile uyutuldu ve uykuya giriş zamanı ile uyuma zamanı ölçüldü. Agmatinin uykuya giriş zamanına etki etmediği fakat uyuma zamanını uzattığı saptandı.

İmidazolin reseptörleri santral sinir sisteminde yaygın olarak medullanın NRL'sinde hipotalamus, hipokampus ve striatumda bulunmaktadır (DeVos et al, 1994; Czewiec et al, 1996; Flamez et al, 1997). Özellikle hipotalamus, hipokampus ve striatum lokomosyonun ve davranışın düzenlenmesi ile ilgili merkezlerdir.

Agmatinin uyku üzerine etkisi; sedasyona neden olması veya kas gevşetici etkisi ile açıklanamaz. Çünkü çalışmamızda agmatin farelerde lokomotor aktivite üzerinde herhangi bir değişikliğe neden olmadı.

Agmatin sığır ve sıçan beyinde serotonin ve dopamin gibi diğer nörotransmitterlerle kıyaslanabilir miktarda bulunmaktadır (Raash et al,1995; Feng et al,1997). En fazla aktivite gösterdiği yer hipotalamustur; striatum ve kortekste daha düşük oranda aktivite göstermektedir (Sastre et al, 1996). Uykunun kontrol merkezi hipotalamustaki ventral anterior bölgeden yapılmaktadır (Adams and Maurice, 1989). Agmatinin uyuma süresinde meydana getirdiği artış; hipotalamusta yaygın olarak bulunması ve yüksek oranda burada aktive olması olasılığını düşündürmektedir.

Nitrik oksit endojen olarak veya NMDA reseptörlerinin aktive olması sonucunda NOS enzimi etkisi ile L-argininden sentezlenir (Moncada et al, 1991). Biyosentezi sağlayan NOS enziminin organizmada 3 değişik tipi tanımlanmıştır; bunlar endotelial



NOS, nöronal NOS, indüklenen NOS'dır (Hecker et al, 1990; Knowles and Moncada,1992). Nitrik oksit oluşumunda etkin olan NOS enzimi; N-monometil-L-arginin (L-NMMA), N-nitro-L-arginin (L-NNA), N-nitro-L-arginin metilester (L-NAME) gibi L-arginin analogları ile inhibe edilmektedir.

Uyku üzerinde nitrik oksit sentezinin etkili olduğuda belirlenmiştir. NMDA reseptörlerinin uyarılması, nitrik oksit sentezine neden olmakta ve cGMP düzeyini arttırmaktadır. NMDA reseptör antagonistleri kedilerde uykuya eğilimi arttırmaktadır (Juharz et al, 1990). NMDA reseptör antagonistlerinin sedatif/hipnotik etkisi, nitrik oksit sentezini düşürerek sağlanabilir. Nitrik oksitin açığa çıkması ve/veya sentezini kolaylaştırmak farelerde artan bir uyanıklığa ve uyku bozukluklarına neden olabilir (Dzajlic et al, 1994).

Bir NOS inhibitörü olan 7-Nitro indazole'ün, uyku üzerine etkisi araştırılmıştır. Fareler üzerine yapılan bu çalışmada, righting refleks kaybının uzun sürdüğü ve EEG amplitüdülerinde yavaşlama meydana geldiği görülmüştür. 7-Nitro indazolün uyku üzerine etkileri, NO prokürsörü olan L-argininin intrentriküler uygulanmasıyla parsiyel antagonize edilmiştir. Bu bulgular 7-NI'un uykuya eğilimini arttırdığını göstermektedir (Dzajlic et al,1994).

Son çalışmalarda, agmatinin nöronal NOS inhibisyonu yaptığı görülmüştür (Gilad et al,1996; schreiber et al,1997).

Agmatinin fizyolojik fonksiyon olarak sıçan hipokampus nöronlarında ve fare hipokampal hücre kültürlerinde selektif bir şekilde NMDA reseptörlerini bloke ettiği saptanmıştır (Yang et al, 1997). Bu bilgilerden yola çıkarak agmatinin NOS inhibitörü ve NMDA reseptör antagonisti olduğunu düşünebiliriz.

Agmatinin bir NOS inhibitörü olabileceği son zamanlarda yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Nitrik oksitin uyanıklığı artırıcı bir nörotransmitter olduğu bilindiğine göre, bir NOS inhibitörü olan agmatinin uykuya olan eğilimi artırıcı özelliği olan nörotransmitter olduğunu düşünebiliriz.

I<sub>2</sub> imidazolin reseptörleri mitokondride MAO ile ilişkilidir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda biyokimyasal ve moleküler biyoloji yaklaşımları kullanarak, I<sub>2</sub> alanlarının katalitik alanlardan ayrı bir MAO bölgesinde bulunan bir alan olduğu kanıtlanmıştır. Bu bağlantı alanlarında imidazolin türevleri MAO aktivitesini inhibe etmektedir (Parini, 1994). Böylece dopamin, noradrenalin, serotonin gibi nörotransmitterlerin metabolizmasında da rol oynadığı düşünülmektedir. Bu nedenle alzheimer ve parkinson hastalıklarının tedavisinde rol alabilecekleri düşünülmektedir. Agmatinin mitokondride oluşması nedeniyle MAO enzim sisteminde rolü olabileceği düşünülebilir.

Serotonin uyku sırasında beyinde yüksek oranda bulunmaktadır. Uykunun başlatılmasında ve sirkadiyen ritmin düzenlenmesinde önemli rol oynar. Dopamin ise total uyku süresini uzatırken uyanıklığı azaltmaktadır. MAO enziminin bu nörotransmitterlerin metabolizması üzerine etkisini göz önüne alarak; bu enzim sisteminin dolaylı olarak uyku üzerine etkili olabileceğini düşünebiliriz. Agmatinin mitokondride oluşması nedeniyle MAO enzim sisteminde de rolü olabilir. Böylece agmatinin uyuma zamanı üzerine arttırıcı etkisini bu şekilde de açıklayabiliriz.

İmidazolin reseptörlerine spesifik olan bir ilaç daha bulunamamıştır. Bu reseptörlere afinite gösteren bütün ilaçlar az veya çok  $\alpha_2$  adreno reseptörlerine de afinite göstermektedirler. İmidazolin reseptörlerinin endojen ligantı olan agmatin,  $\alpha_2$  adreno reseptörlerine de bağlanmaktadır (Li et al, 1994). Fakat son yıllarda yapılan çalışmalarda ise  $\alpha_2$  adreno reseptörlerine bağlanan agmatinin fizyolojik cevap oluşturmadığı gösterilmiştir (Pinade et al, 1996). Bu nedenle agmatinin uyku üzerine etkisi  $\alpha_2$  adreno reseptörleri ile açıklanamaz.

Uykunun bir çok sistemden etkilendiği ve düzenlenmesinde birden fazla nörotransmitter, nöromodülatör ve nörohormonun görev aldığı bilinmektedir. Bu çalışmada, agmatinin uykuya giriş ve uyuma zamanı üzerine olan etkisi tartışılmıştır.

## 7.SONUÇ:

Bu araştırmada agmatinin uykuya giriş zamanı ve uyuma zamanı üzerine etkisi incelendi. Çalışma sonunda agmatinin uykuya giriş zamanını etkilemediği, 40-80mg/kg dozlarında uyuma zamanını arttırdığı görüldü. Ayrıca agmatinin lokomosyon üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı yapılan deneysel çalışmalar sonunda görüldü.

Bu sonuçlardan yola çıkarak agmatinin, uykunun araştırılması ile ilgili çalışmalarda kullanılacağı düşünülebilir.

## KAYNAKLAR

- ADAMS, R.D., MAURICE, V. (1989). Sleep and abnormalities. *Principles of Neurology*. 302-308
- ALLAN, D.R., PENNER, S.B., SYMITH, D.D., (1993). Renal imidazoline preferring sites and solute excretion in the rat. *Br.J. Pharmacol.* 108: 870-875.
- ATLAS, D., (1991). Clonidine- displacing Substance (CDS) and its putative imidazoline receptor, new leads for further divergence of  $\alpha_2$  adrenergic receptor activity. *Biochem Pharmacol.* 41:1541-1549.
- ASERINSKY, E., KLEITMAN, N. (1953) . Regularly occurring periods of eye motility and concomitant phenomena during sleep. *Science.* 118: 273-274.
- BOULEZ, I. L., TESSON, F., MOUDANOS, C. G., PARINI, A. (1996). I<sub>2</sub> imidazoline binding sites: Relationship with different monoamine oxidase domains and identification of histidine residues mediating ligand binding regulation by H<sup>+</sup>. *J. Pharmacol. Exper. Ther.* 276: 359-364.
- BOUSQUET, C.L., FELDMAN, J., SCHWARTZ, J., (1984). Central cardiovascular effects of  $\alpha_2$ - adrenergic drugs: differences between catecholamines and imidazolines. *J.Pharmacol. Exp. Ther.* 230:232-236.
- BOUSQUET, P. (1997). Imidazoline receptors. *Neurochem. Int.*30: 3-7.
- BRICCA, G., DONTENWILL, M., MOLINES, A., FELDMAN, J., BELCOURD, A., BOUSQUET, P. (1989). The imidazoline preferring receptor binding studies in bovine, rat and human brainstem. *Eur. J. Pharmacol.* 162: 1-9.
- BRICCA, G., ZHANG, J., GRENEY, H., DONTENWILL, M., (1993). Relevance of the use of <sup>3</sup>H-clonidine to identify imidazoline receptors in the rabbit brainstem. *Br. J. Pharmacol.* 101:537-543.
- BRICCA, G., GRENEY, H., ZHANG, J., DONTENWILL, M., STUTZMAN, J., BOUSQUET, P. (1994). Human Brain imidazoline receptors: further characterization with [3H] clonidine. *Eur. J. Pharmacol.* 266: 25-33
- CHAN, S., MORGAN, N. G., (1990). Stimulation of insulin secretion by eforoxan may involve interaction with potassium channels. *Eur. J. Pharmac.* 176: 97-101. .
- COUPRY, I., PODEVIN, R.A., DAUSSE, J.P., PARINI, A., (1987). Evidence for imidazoline binding sites in basolateral membranes from rabbit kidney. *Biochem*

*Biophys. Res. Commun.* 147: 1055-1060.

- CZERWIEC, E., BACKER, J. P., FLAMEZ, A., VAUQUELIN, G. (1996). Identification and characterization of imidazoline binding sites from calf striatum. *European of Pharmacology*. 315: 99-109.
- DEMENT, W., KLEITMAN, N. (1957). Cyclic variations in EEG during sleep and their relation eye movements, body motility and dreaming. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 9:673-690.
- DE VOS, H., BRICCA, G., KEYSER, J., BACKER, J., B. (1994). Imidazoline receptors. Nonadrenergic idazoxan binding sites and  $\alpha_2$ - adrenoceptors in the human central nervous system. *Neuroscience*. 59: 589-598.
- DZOLJIC, M.R., DE VRIES, R. (1994). Nitric oxide synthase inhibition reduces wakefulness. *Neuropharmacology*. 33 (11).
- ERNSBERGER, P., MEELEY, M.P., MANN, J.J., REIS, D.J. (1987). Clonidine binds to imidazoline binding sites as well as  $\alpha_2$ - adrenoceptors in the ventrolateral medulla. *Eur. J. Pharmacol.* 134: 1-13.
- ERNSBERGER, P., GIULIANO, R., WILLETTE, R. N., REIS, D.J. (1990). Role of imidazoline receptors in the vasodepressor response to clonidine analogs in the rostral ventrolateral medulla. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 253: 408-418.
- ERNSBERGER, P., DAMON, T. H., GRAFF, L.M., SCHAFER, S.G., CHRISTEN, M.O. (1993). Moksonidin a centrally acting antihypertensive agent, is a selective ligand for I imidazoline sites. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 264: 172-181.
- ERNSBERGER, P., GRAVIS, ME., GRAFT, L.M., ZAKIEH, N., NUGUYEN, P. (1995). I<sub>1</sub> imidazolin receptors. Definition, characterization, distribution and transmembran signaling. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 763: 22-42.
- FELSEN, D., ERNSBERGER, P., SUTARIA, P.M., NEJAT, R.J., NGUYEN, P. (1994). Identification localization and functional analysis of imidazoline and alpha adrenergic receptors. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 268: 1063-1071.
- FENG, Y., HALARIS A.E., PILETZ, J. E. (1997). Determination of agmatine in brain and plasma using high-performenc lioud chromatography with fluorescence detection. *J. Chromatogr.* 691: 277-276.
- FLAMEZ, A., DE BACKER, J.P., CZERWIEC, E., LADURE, P, VAQUELIN, G. (1997).

- Pharmacological characterization of I<sub>1</sub> and I<sub>2</sub> imidazoline receptors in human striatum  
*Neurochem. Int.* 30: 25-29.
- GAILLARD, J.M., NICHOLSON, A.N., PASCOE, P.A. (1994). Neurotransmitter systems. In Kryger, Roth, Dement Principles and practice of sleep medicine. *W.B.Saunders Company*
- GOLDBERG-STERN, P., ATLAS, D., SCHWARTZ, L., ACHIRON, A., ZIV, I., DJALDETTI, R., ZOLDAN, Y., MELAMED, E. (1993). Detection and measurement of an endogenous Clonidine-Displacing Substance in human cerebrospinal fluid. *Brain Research* 601: 325-328.
- GILAD, G.B., WOLLAM, Y., AINA, A., RAABEY, J.M., CHERNIHOSKY, T., GILAD, V.H. (1996). Metabolism of agmatine into urea but not into nitric oxide in rat brain. *Neuroreport*. 7: 1730-1732.
- GLAVIN, G.B., CARLISTE, M.A., SYMTH, D.D. (1995). Agmatine, an endogenous imidazoline receptor agonist, increases gastric secretion and worsens experimental gastric mucosal injury in rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 274: 741-744.
- GUYTON, A.C., HALL, J.E. (1996). *Textbook of medical physiology*. *W.B. Saunders Company*.
- HECKER, M., SESSA, W.C., MITCHEL, J.A., ANGGARD E.F., VANO, J.R. (1990). The metabolism of L-arginine and its significance for the biosynthesis endothelium derived relaxing factor: Cultured endothelial cells recycle citrullin to L-arginine. *Proc Nat Acad Sci USA*. 87: 8612.
- HIEBLE, J.P., KOLPAK, D.C. (1993). Mediation of the hypotensive action of systemic clonidine in the rat by alpha-2 adrenoceptor. *Br. J. Pharmacol.* 110: 1635-1639.
- HIEBLE, J.P., RUFFOLO, R.R. (1995). Possible structural and functional relationships between imidazoline receptors and  $\alpha_2$  adrenoceptors *Br. J. Pharmacol* 110:1635-1639
- HOLT, A., BAKER, G.B. (1995). Metabolism of agmatine by diamine oxidase and the possible implications for studies of imidazoline receptors. *Prog. Brain. Res.* 106: 187-197.
- HUSSAIN, J.F., BROWN, C.M., KENDALL, D.A., MACKINON, A., WILSON, V.G. (1991). A crude extract of bovine lung displaces ligands from  $\alpha_2$ - adrenoceptors and non-adrenoceptors, imidazoline binding sites. *Br. J. Pharmacol.* 104: 80P
- JUHASZ, G., KEKESI, K., EMRI, Z., SOLTESZ, I., CRUNELLI, V. (1990). Sleep promoting action of excitatory amino acid antagonists: a different role of thalamic NMDA and non-

- NMDA receptors. *Neurosci. Lett.* 14 : 333-338
- KARPPAMEN, H., PAAKKARI, I., PAAKKAR, P., HUOTAAARI, R., ORMA, A.L. (1976). Possible involvement of central histamine H-2 receptors in the hypotensive effect of clonidine. *Nature* 259: 587-588.
- KAYAALP, O. (1995). *Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji*. 2.cilt, Bölüm 66: 1824-1842
- KMEİ, J., OHSAWA, M., NAGASE, H. (1996). Possible involvement of mu 2-opioid receptor mediated mechanisms in morphine-induced enhancement of the pentobarbital-induced loss of the righting reflex in the mouse. *Life-Sci* 59(22): 349-353.
- KNOWLES, R.G., MONCADA, S. (1992). Nitric oxide as a signal in blood vessels. *TIBS* 17:399.
- LACHAUD-PETTITI, V., PODEVIN, R.A., CHRETIEN, Y., PARINI, A., (1991). Imidazoline- guanidinium receptive sites in basolateral membranes from rabbit kidney. *Eur. J. Pharmacol.* 206: 23-31.
- LANIER, S., PARINI, A., (1994). In: Handbook of receptor Classification. *J.W. Kebabian, J.L. Neumeyer (Eds)*: 40-41.
- Lİ, G., REGUNATHAN, S., BARROW, C.J., ESHRAGHİ, J., COOPER, R., REİS, D.J. (1994). Agmatin: An endogenous clonidine-displacing substance in brain. *Science*. 263: 966-969
- LORTING, R.H. (1990). Agmatine acts as an antagonist of neuronal nicotinic receptors. *Br. J. Pharmacol.* 99: 207-211.
- MONCADA, S., PALMER, R.M.J., HIGGS, E.A. (1991). Nitric oxide: Physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol. Rev.* 43:109-142.
- PARINI, A. (1994). İmidazolin reseptörleri: Farmakolojik ve moleküler özellikleri. *La Lettree du pharmacologue* ( Türkçeye çevrilmiş dergi). 14: 10-12.
- PILETZ, J.E., ANDORN, A.C., UNERSTALL, J.R., HALARIS, A. (1991). Binding of [3H]-P-aminoclonidine to alpha 2 adrenoceptors states plus a nonadrenergic sites on human platelet plasma membranes. *Biochem Pharmacol.* 42: 562-584.
- PINADE, J., RUIZ-ORTEGA, R., MARTIN-RUIZ, R., UDEGO, L. (1996). Agmatine does not have activity at  $\alpha_2$  adrenoceptors which modulate the firing rate of locus coeruleus neurons: an electrophysiological study in rat, *Neuroscience Letters* 219: 103-106

- RAASCH, W., REGUNATHAN, S., LI, G., REIS, D.J., (1995). Agmatine, the bacterial amine, is widely distributed in mammalian tissues. *LiefSci*. 56: 2319-2330.
- RADDATZ, R., LANIER, S.M. (1997). Relationship between imidazoline guanidinium receptive sites and monoamine oxidase A and B. *Neurochem. Int* 30: 109-117.
- REGUNATHAN, S., REIS, D.J., (1996). Imidazoline receptors and their endogenous ligands. *Annu Rev. Pharmacol. Toxicol.* 36: 511-544.
- REIS, D.J., REGUNATHAN, S. (1998). Agmatine: A novel neurotransmitter? *Advence in Parmacology*. 42: 645-649.
- SASTRE, M., REGUNATHAN, S., GALEA, E., REIS, D.J. (1996). Agmatinase activity in rat brain: a metabolic pathway for the degradation of agmatine (1996). *J. Neurochem.* 67: 1761-1765.
- SCHRËBER, K.L., LARGHLIN, T.M., FAIRBANKS, C.A., WILCOX, G.L. (1997). Agmatine, potential inhibitor of NOS, attenuates dynorphin induced allodynia in mice *Society for neuroscience* 70:18
- TESSON, F., PARINI, A. (1991). Identification of an imidazoline guanidium receptive site in mitochondria from rabbit cerebral cortex. *Eur. J Pharmacol.* 208: 81-83.
- TESSON, F., LIMON, I., PARINI, A. (1992). Tissue spesific localization of mitochondrial imidazoline-guanidium receptive sites. *Eur. J. Pharmacol.* 219: 335-338.
- VANHOUTTE, P.M., BARNARD, E.A., COSMIDES, G.J., HUMPHREY, M. (1994). International union of pharmacology committee on receptor nomenclature and drug claassficaation. *Pharma. Rev.* 46: 111-116.
- YANG, X.C., REIS, D.J. (1997). Agmatine selectively blocks the NMDA subclass of glutamate receptor channels in cultured mouse hippocampal neurons. *Society for Neurosciense*. 688.
- WANG, H, REGUNATHAN, S., YOUNGSON, C., REIS, D.J., (1995). An antibody to agmatine localizes the amine in bovin adrenal chromaffin cells. *Neurosci. Lett.* 183: 17-21



## ÖZGEÇMİŞ

- 19.12.1965 Duisburg' da doğdu
- 1972-1977 Kocaeli 50.Yıl İlkokulunda okudu.
- 1977-1980 İzmit Merkez Ortaokulunda okudu.
- 1980-1983 İzmit Lisesini 3. Olarak bitirdi.
- 1983-1989 Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesini bitirdi.
- 1990-1995 SSK İzmit Hastanesinde ve dispanserinde Eczacı olarak görev yaptı.
- 1995 KOÜ Tıp Fak. Hastanesinde Eczacı olarak çalışmaya başladı, halen aynı yerde görev yapmaktadır.
- 1995 KOÜ Tıp Fak. Farmakoloji A.B.D.'da Yüksek Lisans programına başladı.