

164294

T.C.  
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SEREBRAL İSKEMİ VE EPİLEPSİDE  
N. VAGUS STİMULASYONU, ADENOSİN VE LİNOLEİK  
ASİDİN KARŞILAŞTIRMALI ETKİLERİ**

Arş. Gör. Fatih EKİCİ

Kocaeli Üniversitesi  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin  
Fizyoloji Programı İçin Öngördüğü  
DOKTORA TEZİ  
Olarak Hazırlanmıştır.

KOCAELİ

2005

**T.C.  
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SEREBRAL İSKEMİ VE EPİLEPSİDE  
N. VAGUS STİMULASYONU, ADENOZİN VE LİNOLEİK  
ASİDİN KARŞILAŞTIRMALI ETKİLERİ**

**Arş. Gör. Fatih EKİCİ**

**Kocaeli Üniversitesi  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin  
Fizyoloji Programı İçin Öngördüğü  
DOKTORA TEZİ  
Olarak Hazırlanmıştır.**

**Danışman: Prof. Dr. Nurbay ATEŞ**

**Bu tez çalışması, Kocaeli Üniversitesi Araştırma Fonu Tarafından  
desteklenmiştir (Proje No: 2002/13)**

**KOCAELİ  
2005**

**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE**

**İş bu çalışma, jürimiz tarafından FİZYOLOJİ Anabilim Dalı'nda DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.**

**BAŞKAN Prof. Dr. Nurbay ATEŞ**  **İmza**

**ÜYE Prof. Dr. Güner ULAK**  **İmza**

**ÜYE Doç. Dr. Behzat NOYAN**  **İmza**

**ÜYE Yard. Doç. Dr. Gül İLBAY**  **İmza**

**ÜYE Yard. Doç. Dr. Ayşe BALCI KARSON**  **İmza**

**ONAY**

**Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.**

**22.02/2005** 

**Prof. Dr. Nejat GACAR**

**Enstitü Müdürü**

## ÖZET

Serebral iskemi ve epilepsi toplumda sıklıkla rastlanan iki patolojidir. Günümüzde bu konuda etkin tedavi seçenekleri oluşturmak için yoğun deneysel ve klinik araştırmalar yapılmaktadır. Serebral iskemi ve epilepsi santral sinir sistemini etkileyen farklı patolojiler olmasına rağmen beyinde morfolojik ve bölgesel olarak benzer hasarlara neden olurlar. Her iki patolojik durum da nöronal hasara yol açan en önemli faktör olarak eksitotoksik hipotez gösterilmektedir. Absans epilepsi ise konvulsif epilepsilerden tamamen farklı mekanizmalarla oluşmaktadır. Birçok nörotransmitterin diken-dalga deşarzlari (SWD) oluşumuna katıldığı belirlense de esas etkenin artmış GABAerjik inhibisyon olduğu belirtilmektedir.

Bu çalışmada Nervus vagus stimulasyonu (NVS), linoleik asit ve adenozinin orta serebral arter iskemisi ve konvulsif-nonkonvulsif epilepsiler üzerindeki karşılaştırmalı etkileri ile olası etki mekanizmalarını araştırmayı planladık. Bu amaçla iskemi-reperfüzyon gruplarında; NVS, adozin ve linoleik asidin nörolojik skor, infarkt alanı ve süperoksit dismutaz (SOD), malonil dealdehit (MDA), redükte glutasyon (GSH) düzeyleri üzerine etkilerine bakıldı. Epilepsi grupları ise; konvulsif ve nonkonvulsif epilepsi grupları olarak ikiye ayrılıp NVS, adozin, linoleik asidin absans epilepsi geçiren sıçanlarda, SWD süre ve sayısı üzerine etkisini belirleme yanında, pentilentetrozol (PTZ) ile oluşturulan konvulsif nöbetlerin onsets latansı ve şiddeti üzerine nasıl etki yaptığı araştırıldı.

Sonuç olarak; NVS, linoleik asit ve adozin kullanımının sıçanlarda orta serebral iskemi-reperfüzyonu (MCAO/R) ile oluşan infarkt alanlarında ve nörolojik defisitlerde azalma oluşturduğu ayrıca hem korteks hem de striatum-talamus-hipotalamus bölgelerinde oksidatif hasarın göstergesi olan MDA düzeylerinde azalma ve antioksidan enzimler olan SOD ve GSH düzeylerinde ise artışa neden olduğu tespit edildi. Bu uygulamaların PTZ ile oluşturulan konvulsif nöbetlerde minör nöbet başlangıç süresi uzattığı (NVS hariç), major nöbete giriş süresini geciktirdiği, toplam major nöbet süresini ve nöbete giren sıçan sayısını azalttığı, bunun yanısıra WAG/Rij sıçanlarda görülen absans nöbetlerinde ise her üçünün de SWD sayı ve sürelerini anlamlı bir şekilde arttırdığı tespit edilmiştir.

Sonuçlarımız, NVS, linoleik asit ve adenozin kullanımının konvulsif epilepsilerde ve serebral iskemide neuroprotektif etkili olabileceğini, bunu da bilinen etki mekanizmaları yanında oksidatif hasarı azaltıp, antioksidan sistemleri aktifleyerek gerçekleştirdiğini gösterirken, nonkonvulsif jeneralize absans epilepsilerde ise proepileptik etkili olduğunu göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Serebral iskemi, Epilepsi, NVS, Adenozin, Linoleik asit, Nöronal korunma.



## ABSTRACT

Cerebral ischemia and epilepsy are common pathologies in the population. Recently many experimental and clinical studies are performed on this pathologies to develop effective treatment alternatives. Although cerebral ischemia and epilepsy are different pathologies, affecting central nervous system (CNS), both of them cause similar morfological and regional damages in brain. Exitotoxic hypothesis is seem to be the most important factor causing neuronal damage in both situation. Absence epilepsy is different from convulsive epilepsies in many aspects. Although it was determined that many neurotransmitters contribute to the formation of spike wave discharge (SWD), increased GABAergic inhibition is stated as the main agent.

In this study we planned to investigate the comperative effects of VNS, linoleic acid and adenosine on middle cerebral artery occlusion and convulsive-nonconvulsive epilepsies and their underlying mechanisms. For this purpose in ischemia-reperfusion groups; the effects of VNS, linoleic acid and adenosine on neurological scores, ratios of infarct areas and MDA, SOD, GSH levels have been investigated. Epilepsy groups have been seperated into two subgroups as convulsive and nonconvulsive epilepsy groups and then we investigated the effects of VNS-linoleic acid-adenosine on the durations and numbers of SWD in rats with absence epilepsy and, the effects of these agents on the onset latency and severity of seizures in PTZ-induced convulsive epilepsy.

As a result; the use of VNS, linoleic acid and adenosine resulted in a decrease infarct areas and neurological deficits caused by MCAO/R in rats. Additionally it was determined that use of VNS, linoleic acid and adenosine caused a decrease in MDA levels which is an indicator of oxidative damage and an increase in SOD and GSH levels which are antioxidant enzymes in both cortex and striatum-thalamus-hypothalamus areas. In epilepsy groups; we found that these treatments delayed the onset of seizures (except NVS), increased the major seizure latency, decreased major seizure duration in PTZ-induced seizures. Additionally, administration of this three agents in WAG-Rij rats were found to be induce a significant increasement in the number and duration of SWD<sub>s</sub>.

Our results showed that VNS, linoleic acid and adenosine create a neuroprotective effects both in cerebral ischemia and convulsive epilepsy by decreasing oxidative damage and activating antioxidant systems in addition to their known mechanisms, whereas they were found to be proepileptic in nonconvulsive generalized absence epilepsy.

**Key Words:** Serebral ischemia, Epilepsy, VNS, Adenosine, Linoleic acid, Neuroprotection.



## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca yakın ilgi ve emeklerini eksik etmedikleri, bölümdeki tüm arkadaşlarımıza adil ve hoşgörülü davrandıkları, hatta işimizin hakkını veremediğimiz zamanlarda dahi bizlere olan desteğini kesmeyerek belli aşamaları geçebilmemizi sağladıkları için danışmanım ve hocam

Sn. Prof. Dr. Nurbay ATEŞ'e,

Bu bölümde göreve başladığım günden itibaren hem bilimsel açıdan hem de özel hayatımda verdikleri desteklerden dolayı

Sn. Yard. Doç. Dr. Ayşe KARSON'a,

Bana çalışma azmi aşıl原因 ve motivasyon kaynağım olan

Sn. Yard. Doç. Gül İLBAY ve Öğr.Gör. Deniz ŞAHİN'e,

Emeği geçen tüm çalışma arkadaşlarıma ve sevgili aileme teşekkürlerimi sunarım...



## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER.....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
TABLolar DİZİNİ.....	xiv
1. GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER	
1.1. Serebral İskemi ve Reperfüzyon.....	1
1.1.1. İskemi-Reperfüzyonda Serbest Radikal Oluşumu.....	6
1.1.2. Global ve Fokal Serebral İskemideki Farklılıklar.....	9
1.1.3. Deneysel Serebral İskemi Modelleri.....	12
1.2. Epilepsi.....	14
1.2.1. Epilepsi Sınıflandırması.....	18
1.2.2. Jeneralize Tonik Klonik Konvulsiyonlar (JTKK).....	20
1.2.3. Deneysel Jeneralize Tonik-Klonik Konvulsif Epilepsi Modelleri .....	21
1.2.4. Absans Nöbetleri ( Nonkonvulsif Epilepsi) .....	22
1.2.5. Nonkonvulsif Epilepsi (Absans) Hayvan Modelleri.....	24
1.3. Nervus Vagus Stimulasyonu.....	25
1.3.1. Nervus Vagus Anatomisi ve Fizyolojisi.....	25
1.3.2. Vagal Afferentlerin Projeksiyonları ve NVS Etki Mekanizması İlişkisi.....	26
1.3.3. Nervus Vagus Stimulasyonunun Muhtemel Etki Mekanizmaları ve Kullanımının Tarihsel Gelişimi .....	28
1.3.4. N. Vagus Stimulasyonunun Epileptik Nöbetleri Önleyici Özellikleri.....	30
1.3.5. Nervus Vagus Stimulasyonunun Uygulanışı .....	31
1.3.6. NVS Tedavisinde Görülebilecek Yan Etkiler.....	34
1.4. Adenozin.....	35
1.5. Linoleik Asit.....	37
2. AMAÇ VE KAPSAM.....	38
3. MATERYAL VE METOD.....	41
3.1. Epilepsi Grupları.....	42

3.1.1. NVS Elektrodu Takılması ve Stimulatörün Kullanımı.....	42
3.1.2. EEG Kayıt Elektrodu Takılması.....	44
3.1.3. Epileptik nöbet aktivitesinin değerlendirilmesi.....	46
3.1.4. Deney Grupları.....	47
3.2. Serebral İskemi ve Reperfüzyon Grupları.....	50
3.2.1. Geçici Fokal Serebral İskemi Oluşturulması.....	50
3.2.2. TTC Boyaması Yapılması ve İnfarkt Alanı Hesaplaması.....	50
3.2.3. Nörolojik skorum .....	51
3.2.4. MDA, SOD ve GSH Tayinlerinin Yapılması.....	51
3.2.5. İskemi Deney Grupları.....	51
4. SONUÇLAR.....	54
4.1. Epilepsi Grupları.....	54
4.2. Serebral iskemi ve reperfüzyon grupları.....	62
5. TARTIŞMA.....	79
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	93
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	97
ÖZGEÇMİŞ.....	108

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ADP	: Adenozin Difosfat
ACC	: Arteria Carotis Communis
ACE	: Arteria Carotis Externa
ACI	: Arteria Carotis Interna
CSF	: Serebrospinal Sıvı
DAG	: Diaçil Gliserol
EEG	: Elektroensefalografi
EPSP	: Eksitator Post Sinaptik Potansiyel
GABA	: Gama Amino Bütirik Asit
GSH	: Glutasyon (Redükte)
HIF	: Hipoksi Inducible Factor (hipoksi ile indüklenebilen Faktör)
HSP	: Isı Şok Proteini
ILAE	: Uluslararası Epilepsiyle Savaş Derneği
IPSP	: İnhibitör Post Sinaptik Potansiyel
JTKK	: Jeneralize Tonik Klonik Konvulsiyonlar
MCAO/R	: Orta Serebral Arter Oklüzyon ve reperfüzyonu
MDA	: Malonil Dealdehit
NCP	: Neurocybernetic prosthesis
NO / NOS	: Nitrik oksit/ Nitrik oksit sentaz
NTS	: Nükleus Traktus Solitarius
NVS (VNS)	: Nervus Vagus Stimulasyonu
PaCO <sub>2</sub>	: Parsiyel Karbondioksit Basıncı
PaO <sub>2</sub>	: Parsiyel Oksijen Basıncı
PTZ	: Pentilene Tetrazole
PUFA	: Poliansature Yağ Asitlerinin
RAS	: Retiküler Akyive Edici Sistem
RTN	: Retikülotalamik Nükleus
SOD	: Süperoksit Dismutaz
SWD	: Spike and wave discharges (Diken-Dalga Deşarjları)
VEGF	: Vascular Endothelial Growth Factor
5HIAA	: 5 Hidroksi İndol Asetik Asit
AMPA	: $\alpha$ -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolproprionat

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1.1. İskemik döngünün şematik olarak gösterimi.....	11
Şekil 1.2.1. Epilepsi mekanizmalarının şematik gösterilmesi .....	17
Şekil 1.2.2. Absans nöbetlerin EEG görüntüsü.....	23
Şekil 1.3.1. İnsanda sol nervus vagusun anatomik lokalizasyonu ve NCP sistemin implantasyonu.....	26
Şekil 1.3.2. Visseral vagal afferent projeksiyonların şematik gösterimi.....	28
Şekil 1.3.3. NCP sisteminin şematik gösterimi.....	32
Şekil 1.3.4. Araştırmamızda kullanılan NCP sistemi.....	33
Şekil 3.1.1. Nervus vagusun izolasyonu.....	42
Şekil 3.1.2. Nervus vagusa spiral elektrotların yerleştirilmesi .....	43
Şekil 3.1.3. NCP Spiral elektrotları yerleştirildikten sonra elektrot kablosunun cilt altından ilerletilip hayvanın ensesinden çıkartılması.....	43
Şekil 3.1.4. Çalışmada kullanılan steriotaksi aleti.....	44
Şekil 3.1.5. Steriotaksi aleti yardımı ile EEG kayıt elektrodu yerleştirilmesi.....	45
Şekil 3.1.6. NVS uygulanan ve EEG elektrodu yerleştirilen hayvanda, EEG100B-Biopac System ile EEG kayıtlarının alınması.....	45
Şekil 4.1.1. Konvulsif epilepsi grubunda NVS, Adenozin ve Linoleik asidin; minör nöbet başlangıç süresi (onset) ve JTKK geçirme oranı üzerine etkileri .....	57
Şekil 4.1.2. NVS uygulaması ile SWD sayı ve süresindeki değişiklikler.....	58
Şekil 4.1.3. Linoleik asit injeksiyonu ile 1 ve 6. saatlerdeki SWD sayı ve sürelerindeki değişiklikler.....	59
Şekil 4.1.4. Adenozin inj. ile 1 ve 6. saatlerdeki SWD sayı ve süresindeki değişiklikler.....	60
Şekil 4.1.5. NVS-Lin. asit ve Adenozinin, SWD sayı ve süresi üzerine karşılaştırmalı etkileri .....	61
Şekil 4.2.1. MCAO/R uygulanan sıçanlarda NVS kullanımının nörolojik defisitler üzerine etkileri.....	62
Şekil 4.2.2. MCAO/R uygulanan sıçanlarda NVS kullanımının infarkt alanları üzerine etkisi.....	63

<b>Şekil 4.2.3.</b> . a- İskemi (kontrol) grubu, b- İskemi+NVS uygulanan sıçanların beyin kesitlerinin TTC ile boyanmış görüntüleri.....	64
<b>Şekil 4.2.4.</b> MCAO/R uygulanan sıçanlarda linoleik asit kullanımının nörolojik defisitler üzerine etkileri.....	65
<b>Şekil 4.2.5.</b> MCAO/R uygulanan sıçanlarda linoleik asit kullanımının infarkt alanları üzerindeki etkileri.....	66
<b>Şekil 4.2.6.</b> İskemi+linoleik asit,iskemi ve çözücü verilen sıçanların beyin kesitlerinin TTC ile boyanmış görüntüleri.....	67
<b>Şekil 4.2.7.</b> MCAO/R uygulanan sıçanlarda adenozin kullanımı nörolojik bozukluklar üzerindeki etkileri.....	68
<b>Şekil 4.2.8.</b> MCAO/R uygulanan sıçanlarda adenozin kullanımı infarkt alanları üzerindeki etkileri.....	69
<b>Şekil 4.2.9.</b> İskemi+adenozin, iskemi ve çözücü verilen sıçanların beyin kesitlerinin TTC ile boyanmış görüntüleri.....	70
<b>Şekil 4.2.10.</b> MCAO/R uygulanan sıçanlarda NVS kullanımının korteksten alınan örneklerde MDA, SOD ve GSH düzeylerine etkileri.....	71
<b>Şekil 4.2.11.</b> MCAO/R uygulanan sıçanlarda NVS kullanımının Striatum+talamus+hipotalamus'tan alınan örneklerde MDA, SOD ve GSH düzeylerine etkileri.....	72
<b>Şekil 4.2.12.</b> MCAO/R uygulanan sıçanlarda linoleik asit kullanımının korteksten alınan örneklerde MDA, SOD ve GSH düzeylerine etkileri.....	73
<b>Şekil 4.2.13.</b> MCAO/R uygulanan sıçanlarda linoleik asit kullanımının Striatum+talamus+hipotalamus'tan alınan örneklerde MDA, SOD ve GSH düzeylerine etkileri.....	74
<b>Şekil 4.2.14.</b> MCAO/R uygulanan sıçanlarda adenozin kullanımının korteksten alınan örneklerde MDA, SOD ve GSH düzeylerine etkileri.....	75
<b>Şekil.4.2.15.</b> MCAO/R uygulanan sıçanlarda NVS kullanımının Striatum+talamus+hipotalamus'tan alınan örneklerde MDA, SOD ve GSH düzeylerine etkileri.....	76
<b>Şekil 4.2.16.</b> Nörolojik skor ve infarkt alanı bakılan gruplarda NVS-linoleik asit-adenozinin karşılaştırması.....	77
<b>Şekil 4.2.17.</b> MDA, SOD, GSH bakılan gruplarda NVS-linoleik asit-adenozinin etkilerinin karşılaştırması.....	78

## TABLolar DİZİNİ

<b>Tablo 1.2.1.</b> Epilepsi ve Epileptik Sendromların Sınıflandırılması (ILAE 1989)....	19
<b>Tablo 4.1.1.</b> Konvulsif epilepsi grubunda NVS, Adenozin ve Linoleik asidin; minör nöbet başlangıç süresi (onset), major nöbet başlangıç süresi, toplam major nöbet süresi ve JTKK geçirme oranı üzerine etkileri .....	54
<b>Tablo 5.1.</b> NVS, Linoleik asit ve Adenozinin; infarkt alanı, nörolojik defisitler ve oksidan-antioksidan sistemler üzerine etkilerinin karşılaştırması .....	94
<b>Tablo 5.2.</b> NVS, Linoleik asit ve Adenozinin; Konvulsif ve nonkonvulsif epilepsiler üzerine etkilerinin karşılaştırılması .....	94



## 1. GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER

### 1.1. SEREBRAL İSKEMİ VE REPERFÜZYON

Beyin damarlarının çeşitli patolojiler nedeni ile tıkanması veya yırtılarak kanın damar dışına çıkması sonucu oluşan klinik tablolara serebrovasküler hastalık yada inme (stroke) denilmektedir. Serebrovasküler hastalıklar tüm dünyada önemli morbidite ve mortalite nedenlerinden olup nörolojik bozukluklar içinde en sık görülen grubu ve erişkinlerdeki üçüncü önde gelen ölüm nedenini oluşturmaktadır. ABD’de Genel popülasyondaki yıllık insidansı binde 1.5 ile 4 arasında değişmekteyken bu oran 70 yaş üstünde binde 70'lere çıkmaktadır (Oğul, 2002; Gilroy, 2002).

Serebral kan akımının beynin işlevlerini, metabolizmasını ve hücre bütünlüğünü sürdüremeyeceği bir değere düşmesi beyin iskemisi olarak adlandırılır. İskemi sonucu oluşan kan akımı yetersizliği ile oksijen ve glikoz hücreye ulaşamadığı gibi CO<sub>2</sub>, laktik asit ve diğer metabolitlerin beyin dokusundan uzaklaştırılması da yapılamamaktadır. Serebral kan akımı (SKA) miktarıyla enerji gereksinimi arasında hassas bir denge kuruludur. Beyin kan akımı gereksinimi vücuttaki tüm organlardan fazladır. Oksijen ve glikoz rezervi bulunmayan beyin dokusunun fonksiyonlarını devam ettirebilme ve bütünlüğünü koruyabilmesi için kalp debisinin yaklaşık %20’si kadar kanı alması gerekir. Serebral kan akımı 100gr beyin dokusundan 1 dakikada geçen kanın miktarıdır. Bu miktar beyin metabolizması ve aktiviteye göre bölgesel farklılıklar gösterebilmekle beraber, erişkin bir insanda, fizyolojik koşullarda 55 ml/100gr/dk’dır. Beyin dolaşımında 10 saniyelik bir duraklamada bilinç yitimi oluşabilir ve 20 saniyede EEG izoelektrik hale gelir ve 5 dakika içinde beyindeki yüksek enerjili fosfat depolarının tükenmesiyle geri dönüşümü olmayan beyin hasarı yani hücre ölümü oluşur (Ertekin, 1987; Aktan, 1991; Hacke ve ark., 1991; Üzüm, 1997; Ganong, 1999; Leker ve Shohami, 2002; Oğul, 2002).

Beyin için gerekli fizyolojik kan ayarlamaları belli sınırlar içinde serebral otonöregülasyon mekanizmaları ile sağlanabilir. Beyinde; sistemik kan basıncı

değişimlerinin yanısıra kan karbondioksit-oksijenin parsiyel basınçlarına ve pH değişimlerine göre oluşan başlıca 2 tip otoregulasyon vardır. Beyin arteriollerinde belirli ortalama arteriel basınç sınırlarının (60-140 mmHg) altına inilmesi durumunda vazodilatasyon, aşılmasında ise vazokonstrüksiyon oluşarak SKA regülasyonu sağlanmaktadır. SKA'nın en kuvvetli düzenleyicisi ise arteriel PaCO<sub>2</sub>'dir ve bu düzenleme PaCO<sub>2</sub> 25-60 mmHg arasındayken devreye girer. PaCO<sub>2</sub>'deki artış vazodilatasyon, azalma ise vazokonstrüksiyona yol açmaktadır. Ancak CO<sub>2</sub> regülasyonu arteriel kan basıncına da bağlıdır, kan basıncı azalınca normal kan akımını sürdürebilmek için serebral damarlar dilate olur, bu yüzden de düzenleyici etkisi minimale iner. PaO<sub>2</sub>'nin beyin kan akımına etkisi ise PaCO<sub>2</sub>'nin tersinedir yani PaO<sub>2</sub> artınca serebral kan akımı düşerken, azalınca akım artar ancak bunun etkinliği CO<sub>2</sub>'ye oranla çok daha azdır. Beyin dokusunun asiditesini ve dolayısıyla hidrojen iyon konsantrasyonunu artıran herhangi bir madde SKA'yı arttırmaktadır. Serebral iskemide iskeminin derecesine göre bu otoregulasyon mekanizmaları bozulmaktadır (Guyton ve Hall, 2001).

Nöronlar yüksek metabolik hıza sahip hücrelerdir, bu enerji büyük oranda mitokondrideki oksidatif fosforilasyonla ATP'den sağlanır ve bu enerjinin %50'sini membranlardan iyon transportu için kullanır. İskemi sırasında beyinde enerji depolarının tükenmesi “**iskemik kaskat**” yada “iskemik kısır döngü” olarak adlandırılan olaylar dizisinin başlamasına neden olmaktadır. İskemik dokularda kan akımının kendiliğinden yada tedavi ile yeniden sağlanmasına **reperfüzyon** denilmektedir. Bu durum, iskemi sırasında kaybolan hücresel fonksiyonların geri gelmesini sağlamakla birlikte, fazla miktardaki oksijen ve dolaşımdaki kan elemanları, iskemik hasara uğramış dokularda özellikle serbest oksijen radikalleri oluşturarak ekstra hasara yol açmaktadır. Bu sebepten dolayı reperfüzyon “iki ucu keskin bıçak” olarak tanımlanmaktadır (Chan, 1996; Henry ve ark., 1998; Oğul, 2002).

Enerji eksikliği iskemik hasarın gelişmesinde merkezi rol oynamaktadır. İskemi sırasında O<sub>2</sub> yokluğuna bağlı mitokondrial elektron transportu ve oksidatif fosforilasyon giderek azalmaktadır. Beyinde ATP sentezi durmasına karşılık, ATP kullanımını devam etmekte ve hidrolizi sonucunda ADP düzeyi artmaktadır (Garcia ve Anderson,1989; Siesjö, 1988-1992)



İskemide enerji yoksunluğu sonucu oluşan olaylar; asidoz, makromolekül yapımının durması, iyon dengesi bozulması ve ATP yıkım ürünlerinin birikmesi olarak sıralanabilir (şekil 1.1.1).

Hücreye ATP sağlandığı müddetçe aktif ve pasif transport sistemleri uyum içinde çalışarak iyon dengesini korumaktadır. **İskemik hücrede iyon dengesi üç aşamada bozulmaktadır.** İlk dönemde; henüz enerji eksikliği tam olarak başlamamıştır, hücre dışı  $K^+$  konsantrasyonu biraz yükselmiştir, hücre içinde birikmeye başlayan laktik asidin diffuzyonla hücre dışına çıkması ve  $CO_2$  birikmesine bağlı hücre dışı pH'sı düşmektedir. Bu dönemde  $Ca^{++}$  henüz etkilenmemiştir. İkinci dönemde; **iyon pompalarının bozulmasına bağlı** olarak  $K^+$  iyonu hücre dışına çıkarırken,  $Ca^{++}$ ,  $Na^+$ ,  $Cl^-$  iyonları hücre içine girmektedir. Bu dönem **membran depolarizasyonunun** görüldüğü dönemdir. Üçüncü dönemde; iyon pompaları bozukluğunun yanında **hücre içi  $Ca^{++}$  konsantrasyonunun yükselmesine bağlı** membran geçirgenliğinin artmasıyla ortaya çıkan iyon kaçakları oluşmaktadır. Bu kaçakların önlenmesi için daha fazla ATP gerekmekte ve bir kısır döngü oluşmaktadır.

**İskemik hasar oluşumunda çok önemli olan hücre içi  $Ca^{++}$  miktarının artışı şu yollarla olur;**

\* **Hücre dışından  $Ca^{++}$  girmesiyle;** hücre içi sodyum iyonu artışı ile başlayan presinaptik depolarizasyon sinir ucuna ulaşınca voltaj bağımlı kalsiyum kanalları açılarak, içeri kalsiyum girer sonra glutamat ve aspartat gibi eksitatör amino asitler presinaptik uçtan sinaps aralığına salınır. Sinaptik aralığa salınan glutamat postsinaptik reseptör komplekslerini aktive eder. Bunlar; kainat reseptörleri (K),  $\alpha$ -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolpropionat (AMPA) reseptörü, N-metil de aspartat (NMDA) reseptörü, kuiskualat reseptörüdür (Q). AMPA, K ve Q reseptörleri,  $Na^+$  un hücre içine,  $K^+$  un hücre dışına geçişini sağlarlar ve membran depolarize olur. NMDA reseptörü ise,  $Ca^{++}$  un hücre içine girişini sağlar, bu reseptör voltaj bağımlı olarak  $Mg^{++}$  tarafından bloke edilir. K ve Q reseptörleri ile oluşan hücrenin depolarizasyonu bu blokaj kalkar ve NMDA reseptörü aracılığıyla  $Ca^{++}$  geçirgenliği artar. İskemide eksitatör amino asit reseptör aktivasyonu sonucu olarak iki yönlü zedelenme oluşmaktadır, bunlar; K ve Q reseptörleri aktivasyonu sonucu hücre içine sodyum ve beraberinde klor iyonu girişi

ile oluşan **osmotik hasar** ve NMDA reseptörü aktivasyonu ile hücre içine **kalsiyum girişinin yarattığı hasardır.**

\* **Hücre içi  $Ca^{++}$  depolarından salınımla;** İskeminin erken safhalarında artan glutamat; kuiskualat reseptörlerini etkileyerek depolardan kalsiyum salınımına neden olabilir. Bunlara ek olarak artmış kalsiyum miktarı da DAG ve protein kinaz C'yi aktive ederek kalsiyum salınması için bir uyarı oluşturmaktadır.

\* **Hücre  $Ca^{++}$  seviyesi kontrol mekanizmalarının bozulmasıyla;** kanallarla hücre içine giren yada intrasellüler olarak salgılanan  $Ca^{++}$ 'un tamponlanması; kalmoduline bağlanarak yada ER ve mitokondri gibi organellerde tutularak oluşur.  $Ca^{++}$ 'un negatif gruplara bağlanarak tamponlanması,  $H^+$  tamponlanmasına benzediği için,  $Ca^{++}$  ve  $H^+$  aynı tampon bölgeleri için yarışa girerler, işte iskemi sonucu gelişen asidozda, kalsiyum bu bölgelerden salınmaktadır. Ayrıca iskemideki enerji yoksunluğuna bağlı kalsiyumun organellere tutunması da zorlaşır.

**İskemi durumunda intrasellüler kalsiyumun artışı sonucunda;** degrade edici enzim grupları aktive olmakta (protein kinazlar C, protein kinaz II, proteaz, fosfolipaz A2, NOS, ksantin oksidaz, endonükleaz gibi) ve bunun sonucu genel olarak **serbest radikal oluşumu, lipoliz, proteoliz, DNA hasarı** gerçekleşmektedir (Siesjö, 1988-1992; Henry ve ark., 1998; Kobayashi ve Mori, 1998; Oğul, 2002).

Şimdiye kadar yapılan çalışmalar iskemide zedelenen beyin dokusunda saatler içinde **inflamatuvar** bir reaksiyonun tetiklendiğini göstermektedir. İskemik dokunun lökositler tarafından infiltrasyonu ile mikroglia ve astrositlerden inflamatuvar cevabın önemli bir göstergesi olan sitokinler (TNF $\alpha$ , İL-1 gibi) açığa çıkmaktadır. Bu sitokinler; endotel hücreleri, lökositler ve plateletlerden adhezyon moleküllerinin (İCAM-1, ELAM-1, selektin, integrinler gibi) salınımını arttırmakta ve sonraki evrelerde;

- 1) Endotele yapışan lökositlerin eritrosit akımını bloke ederek akım hızını yavaşlatması,
- 2) Aktive lökositlerden salınımı artan proinflamatuvar sitokinler, proteazlar ve oksijen radikalleri,
- 3) Lökositlerde fosfolipaz aktivasyonu ile lökotrienler, prostaglandinler, eikosanoidler ve platelet aktive edici faktörlerin yapımının artması, iskemik doku

harabiyetini daha da artırarak nöron ölümüne neden olabilmektedir (Henry ve ark., 1998; White ve ark., 2000; Oğul, 2002; Leker ve Shohami; 2002).

İskemi sırasında bazı hücreler eksitotoksik hasar, osmotik bozulma ve sonuçta nekrozla ölürken, bir kısmı da apopitotik yolla ölmektedir. Nekrozda hücre şişip, parçalanarak etrafında inflamasyon oluştururken, apopitotik hücreler; makrofaj ve mikroglialar tarafından inflamasyon oluşmadan fagosite edilirler. Normal gelişim sırasında hücre içi faktörler veya dışarıdan gelen uyarılar apopitozu başlatabilir. İskemik durumlarda olduğu gibi, yaşamı devam ettirmek için gereken endojen maddelerin eksikliği, hemodinamik bozukluklar, sitokinler, oksidasyon ürünleri, DNA hasarı, TNF gibi uyarılar inaktif duran Caspazları aktive ederek (özellikle Caspaz 8) ölüm döngüsünü başlatabilir. Uygulama safhası özellikle Bcl-2, Bcl<sub>X<sub>L</sub></sub> ve Bax proteinleri (genleri) tarafından yürütülür. **Bax/Bcl-2 oranındaki artış proapopitotik aktiviteye neden olmaktadır.** Serebral iskemide DNA hasarına yada onarımına neden olan genler açığa çıkmaktadır. Bax, core bölgesinde tetiklenerek açığa çıkmakta, Bcl-2 ve Bcl<sub>X<sub>L</sub></sub> penumbra bölgesinde fazla miktarda bulunmaktadır ve bunların antiapopitotik etkisiyle hücreler iskemiden kurtulabilmektedirler. Bcl-2 infarktın merkezindeki hücrelerde ise azalmaktadır. Kısa süreli global veya fokal iske mi sonrası apopitoz için karakteristik değişiklikler olan kromatin kondansasyonu, nükleer segmentasyon, DNA fragmantasyonu, membranda bleb oluşumu ve apopitotik cisimcikler oluşabilmektedir (Mallat ve Tedgui, 2000; Banasiak ve ark., 2000; Robertson ve ark., 2000; Joza ve ark.,2001).

Tüm bunların yanında iske mi-reperfüzyon sırasında **endojen nöroprotektif mekanizmalar** da devreye girmektedir. İske mi sonrasında nöronal ve glial hücrelerin büyüme, farklılaşma, çoğalma ve migrasyonunu sağlayan çeşitli nörotrofik faktörlerin beyin dokusundaki miktarında artış meydana gelmektedir. Bunlardan damarsal geçirgenlik faktörü olarak bilinen vasküler endoteliyal growth faktör (VEGF); endotel hücrelerinin çoğalması ve yeni damar oluşumu üzerine güçlü bir etkiye sahiptir. Hipoksik kalan dokuların oksijen basıncının düşmesi, VEGF ekspresyonuna neden olmaktadır. Hipoksik dokuda artan HIF (hipoksi inducible faktör) ekspresyonunun, VEGF ve eritropoetin miktarını artıran faktörlerden biri olduğu tespit edilmiştir. VEGF'nin anjiogenezden bağımsız olarak nöronlarda protektif etkileri vardır, damar oluşumuna etkisi haricinde, hücre

bütünlüğünün korunmasında da etkili olmaktadır. Ayrıca damar düz kas hücrelerinin gevşemesinde de etkilidir. İskemik hasara karşı hücre yanıtı olarak, HSP (heat shock proteins) artışı olmaktadır. İnfarkt alanındaki mikroglia ve astrositler tarafından salınmaktadır, başlıca artış gösteren HSP-70'dir ve koruyucu etki göstermektedir (Hayashi ve ark., 1997; Plate, 1999; Plate ve ark.,1999; Nag .ve ark., 1999; Abe, 2000).

### 1.1.1. İskemi-Reperfüzyonda Serbest Radikal Oluşumu

Son yıllarda yapılan araştırmalarda, hücre harabiyetine neden olan etkenler arasında serbest radikallerin ve bunların arasında da özellikle serbest oksijen radikallerinin ciddi tehdit oluşturduğu görülmektedir.

Atomların yapısına bakıldığında, çekirdek ve çevresindeki elektronlardan oluştuğu görülmektedir. Her yörüngede çift elektron bulunur ve bunların dönme yönleri terstir, atom ancak bu şekilde stabil kalabilir. Dış yörüngesinde bir adet eşlenmemiş (tek sayıda) elektron bulunduran atom yada moleküllere “**radikal**” denir. Kararlı bir atom yada molekül çeşitli etkenlerle dış yörüngesinden bir elektron kaybedebilir veya kazanabilir. Serbest radikal oluşumu, çoğunlukla kovalent bağ yıklması ve ortak kullanılan elektronların iki molekül arasında paylaşılırken birinde yada her ikisinde tek elektron kalacak şekilde gerçekleşmesi olayıdır. Eşlenmemiş elektron, yörünge üzerinde her iki yöne de hareket edebilme özelliğine sahip olduğundan çok reaktiftir, bu atom veya moleküller tek kalan elektronlarını bir başka moleküle vererek (okside olarak) yada başka molekülden elektron alarak (redükte olarak) daha stabil hale gelme eğilimindedirler. Serbest radikaller; süperoksit, peroksit ve hidroksil radikalleri gibi **oksijen merkezli** olabildiği gibi karbon tetraklorür, triklorometil, aromatik hidrokarbonlar gibi **karbon merkezli**, veya glutatyon radikali gibi **sülfür merkezli** olarak gruplandırılabilirler. Serbest radikallerin katıldıkları reaksiyonlar, enzimatik yada nonenzimatik olabilir. Enzimatik reaksiyonlar arasında; solunum zinciri, fagositoz, prostaglandin sentezi ve strom P-450 sisteminin çalışması sırasında oluşan reaksiyonlar söylenebilirken, oksijenin organik bileşiklerle bakır veya demir katalizörlüğünde girdiği reaksiyonlar ise enzimatik olmayan radikal reaksiyonlarıdır. Serbest

radikallerin patolojik süreçlerde yer almasının ötesinde enerji üretimi için hidrokarbonların oksidatif metabolizması, ovulasyon ve mikroorganizmaların fagositik yolla öldürülmesi gibi biyolojik süreçler için hayati görevleri de vardır (Halliwell ve ark.,1990; Reilly ve ark., 1991; Erenel ve ark.,1992; Bingöl ve ark., 1993; Dröge, 2002).

Birçok hücre sel enzim ve elektron transport sistemi, katalitik fonksiyon doğrultusunda ara ürün olarak sınırlı miktarda serbest radikaller oluşturur. Fizyolojik koşullarda oluşan radikaller, savunma mekanizmalarıyla ortadan kaldırılırlar. Ancak bazı patolojik süreçlerde serbest radikallerin aşırı miktarda üretilmesi veya biyolojik koruyucu sistemlerin çalışmaması gibi durumlarda uzaklaştırılamazlar ve zararlı etkilere yol açarlar. Serbest radikaller; kovalent bağları etkileyerek, protein, lipit ve nükleik asitlerin yapılarını bozmaktadırlar. Membran enzimlerine ve reseptörlerine bağlanarak antijenik özellik kazanmalarına ve taşıma fonksiyonlarının bozulmasına neden olur, poliansature yağ asidi/protein oranlarını değiştirir ve lipit peroksidasyonunu başlatırlar. Radikallerin membran lipoproteinlerine ve poliansature yağ asitlerine saldırımları sırasında birçok oksijene olmuş bileşik, özellikle de MDA gibi aldehitler oluşmaktadır. Lipit peroksidasyonuna bağlı, organellerde fonksiyon bozukluğu oluşmakta ve sonuçta hücre sel harabiyet meydana gelmektedir. **Lipit peroksidasyon hızının belirlenmesinde en çok kullanılan indeks MDA'dır.** MDA hücre zarı bütünlüğünü bozar, hücre içine giren MDA çekirdeğe kadar ilerleyip, DNA yapısındaki azotlu bazlarla reaksiyona girerek mutajenik ve karsinojenik etki gösterir (Siesjö,1989; Reilly ve ark.,1991; Yalçın, 1992; Chan , 1994-1996; Blaine, 2000; Dröge., 2002).

Serebral iskemi-reperfüzyon hasarında, birçok oksidan ve antioksidan enzim aktive olmaktadır. **Oksidan ürünler** çoğunlukla nitrik oksit sentaz, siklooksijenaz, ksantin dehidrogenaz, ksantin oksidaz, NADPH oksidaz, myeloperoksidaz, monoamin oksidaz gibi enzim sistemleri tarafından üretilir; **Nitrik oksit sentaz (NOS)**, arginin ve oksijeni kullanarak NO üretir. Beyinde 3 değişik NO izoformu bulunmakta ve buna göre serebral iskemideki etkisi farklı olmaktadır. Endotelial NOS (eNOS) koruyucu etki gösterirken, Nöronal NOS (nNOS) nörotoksik, indüklenebilen NOS (iNOS) ise normalde nöromodülatör olarak görev yaparken,

aşırı salınımında nörotoksik olabilmektedir. NO'nun nöron ölümüne götüren başlıca mekanizması, **süperoksit radikali ile reaksiyona girmesi** ve sitotoksik bir madde olan **peroksinitrit** oluşturmasıdır. Peroksinitrit; proteinleri, lipitleri ve DNA'yı okside etme yeteneğine sahip bir moleküldür (Moncada ve ark.,1991-1999; Patel ve ark.,1999; Castillo, 2000; Blaine, 2000; Dröge, 2002).

İskemik beyin parankiminde birçok oksidan enzim tarafından en çabuk ve en kolay üretilen başlıca oksidan, **süperoksit radikalidir**. Aktivitesi kısmen düşük olmasına rağmen diğer radikalleri oluşturduğu için önemlidir. Bir transizyonel metalin varlığında süperoksit radikali, hidrojen peroksit ile tepkimeye girerek **hidroksil radikalini** oluşturur. Hidroksil radikali bu grupta en potent serbest radikaldir.

İskemi sırasında adenin nükleotitlerinin, nükleositler ve pürin bazlarına dönüştüğü bilinmektedir. **İskemi ile adenozin ve hipoksantin seviyeleri hızla yükselmekte**, ardından oluşan reperfüzyonla ise; ksantin oksidaz enzimi, oluşan hipoksantini, ksantine ve üreye dönüştürmektedir. Ksantin oksidaz enzimi bu sırada moleküler oksijen kullanır ve süperoksit radikali oluşmasına neden olur. Hücre içinde artan kalsiyum iyonu da, bir proteaz olan **kalpaini** aktive edebilir, bu enzim de ksantin oksidaza dönüşümü sağlayabilir ve radikal oluşumuna katkıda bulunmuş olur.

İskemik serebral dokuda oluşan oksijen radikallerinin parankim hücrelerinden daha çok **vasküler endotel kaynaklı** olduğu ileri sürülmektedir. Beyindeki diğer hücrelere kıyasla kan-beyin bariyeri kapiller hücrelerinde ksantin oksidaz aktivitesinin yüksek oluşu, serbest oksijen radikallerinin daha çok bu hücrelerde oluştuğunu göstermektedir. Oluşan radikallerinin, serebral endotelial hücrelerde hasar oluşturarak kan-beyin bariyerinin bozulması ve ödem oluşumunda birincil rol oynadığı, ayrıca iskemik dokunun kollateral damarlanma oluşumunu bozarak hasarı daha da artırdıkları tespit edilmiştir (Marx, 1987; Albelda, 1994; Winqvist ve Kerr, 1997;).Clark ve ark., 1997; Dröge, 2002).

**Oldukça zararlı olan serbest radikallere karşı organizmanın korunma mekanizmaları da bulunmaktadır**; bu sistem serbest radikallerin oluşmasını engelleme veya mevcut radikallerin etkisiz hale getirilmesi şeklinde işlemektedir. Savunma mekanizmalarında; öncelikle SOD, CAT, GSH-Px gibi **enzimatik**

**sistemler etkili olmaktadır. SOD'un başlıca etkisi;** süperoksit radikalini, daha az zararlı olan hidrojen peroksit ve moleküler oksijene çevirmektir. Ayrıca kromozomal kırılmayı engelleyici etkisi de vardır. **CAT ve GSH-Px ise** hidrojen peroksidi, su ve oksijene parçalamaktadır. Savunma mekanizmasında diğer bir sistem de lipit peroksidasyonunun çeşitli safhalarına katılarak etkili olan **zincir kırıcı antioksidanlardır.** E, C, A vitaminleri ve glutatyon bunlara örnektir. **Glutatyon,** başta karaciğer olmak üzere birçok dokuda bulunan bir peptittir ve eritrositlerde devamlı sentezlenmek zorundadır. Glutatyon; dokularda birbiriyle dengeli, redükte (GSH) ve okside (GSSG) glutatyon olmak üzere iki şekilde bulunur. Glutatyonun, peroksitlerle ve disülfidlerle reaksiyonu sonucu okside glutatyon oluşur ve bundaki artış oksidan stresin bir göstergesidir. Eritrositlerde bulunan GSH ise, hemoglobinin sistein gruplarını ve diğer hücre proteinlerinin tiol gruplarını indirgenmiş halde tutarak hemoglobini peroksidatif hasardan korur. Ayrıca protein ve DNA sentezinde, enzim aktivitesinde, hücre membranının stabilizasyonunun sağlanmasında ve aminoasit transportunda rol oynar (Meister,1992; Van ve ark., 1993; Frel,1994; Halliwell, 1995-1996; Chan, 1996).

### **1.1.2. Global ve Fokal Serebral İskemideki Farklılıklar**

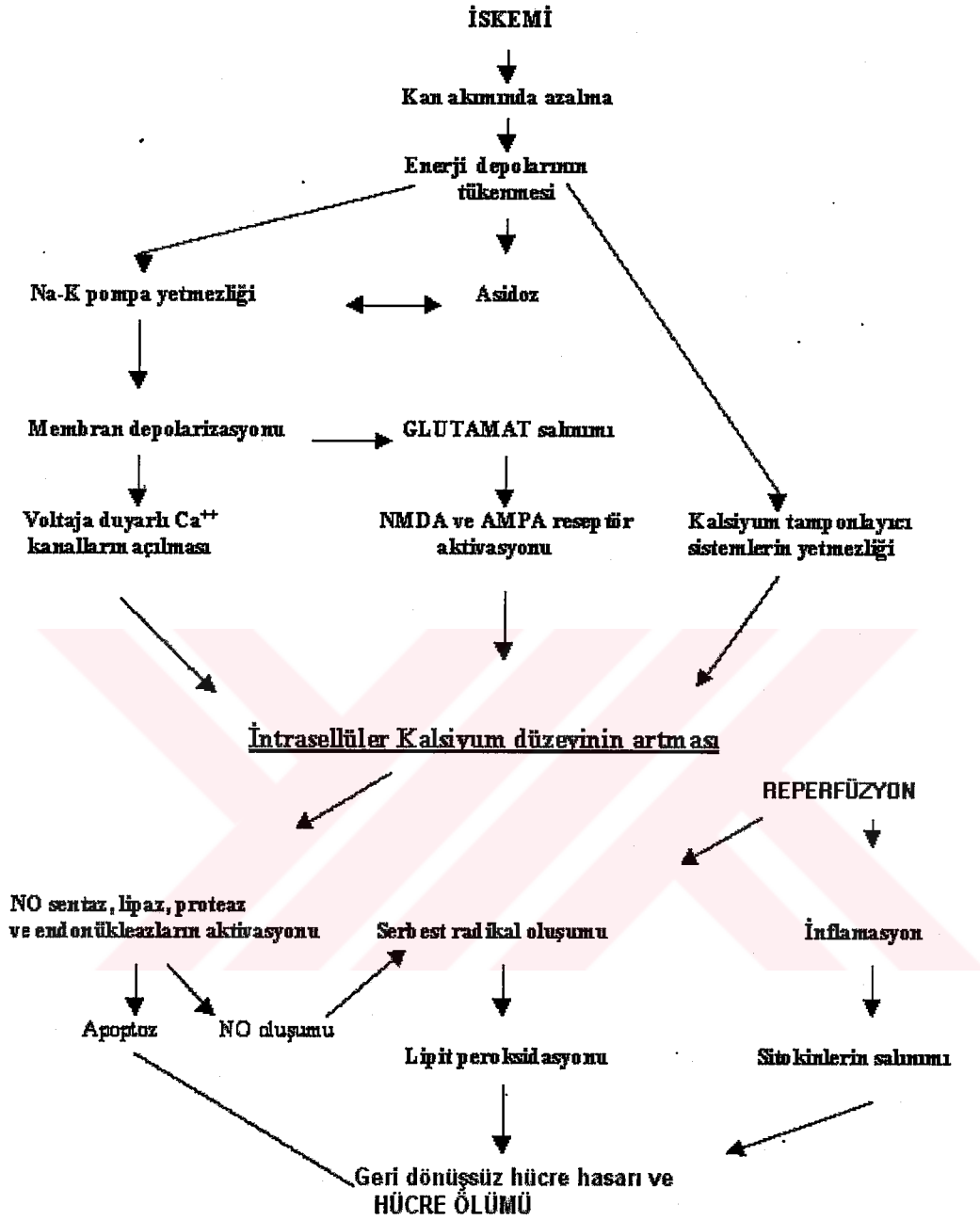
Serebral iskemi global yada fokal olabilmektedir. Global iskemi; karotit arter tıkanıklığı, kardiyak arrest gibi nedenlerle oluşabilmekteyken, fokal iskemide arteriyel tıkanıklık beyin belli bir bölgesini etkilemektedir. Tıkanmanın distalinde serebral kan akımı düşmeye başlar, eğer bu değer 10-12 ml/100g/dakikanın altına düşerse hücre ölümü gerçekleşir. Sonuçta beyin dokusu bütünlüğünü kaybeder ve infarktüs gerçekleşir. Fokal iskemide, iskemik alanın iki ayrı bölgeden oluştuğu gösterilmiştir. Kan akımının 12 ml/100g/dk'nın altında olduğu merkezi bölgeye iskemik "core" (merkez) alanı denilmekte ve bunun etrafındaki bölgeye ise iskemik "penumbra" (yarı gölge) alanı denilmektedir. Yarı gölge hücrelerinin hayatta kalma sürelerinin son araştırmalar ışığında yaklaşık 6 saat olduğuna inanılmaktadır, ancak bazı beyin bölgelerinin farklı duyarlılığa sahip olduğu da unutulmamalıdır. Örneğin kortikal nöronlar daha hassasken, beyin sapı nöronlarında bu süre 24 saatin üzerine çıkabilmektedir. Global ve fokal serebral

iskemik hücre hasar mekanizmalarında birçok benzerlik olmasına rağmen, infarktın gelişmesi için geçen süre, etkilenen alanın büyüklüğü, kollateral dolaşım, bazı genlerin ekspresyonu, erken ve gecikmiş tipte seçici hücre ölümü gibi konularda farklılıklar mevcuttur (Siesjö ve ark., 1992-1995; White ve ark., 2000; Ronen ve Shohami,2002).

Global serebral iskemide beyin kan akımı %3 seviyelerine düşmekte ve kollateral akım olmamaktadır. Global iskemide 5-15 dakikalık süre hücre hasarı için yeterli olmakta ve sonuçta hipokampus CA1 ve CA4 pramidal nöronları, striatum ve kortekste geri dönüşümsüz hasar başlamaktadır. Global serebral iskeminin fokal iskemiden en önemli farkı, hem seçici hem de gecikmiş tipte hücre ölümünün görülmesidir. Hem global hem de fokal iskemide eksprese olabilen c-jun geni, global serebral iskemi de çok erken safhada, ilk 5 dk içinde eksprese olarak hücre ölümü gelişmektedir (Siesjö ve ark., 1992-1995; Banasiak,2000; Witte ve ark.,2000).

Fokal serebral iskemide, en fazla etkilenen merkez bölgesinde nekroz oluşurken, penumbra bölgesinde sağlam hücreler bulunabilmekte, kollateral dolaşım sağlanabildiğinden ve kan akımı çok düşük seviyelere inmediğinden kısa süreli fokal iskemide, global iskemide olduğu gibi hemen infarkt gelişmemektedir. Fokal serebral iskemide infarktın “core” bölgesindeki damarlardan intrasellüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1) ekspresyonu olur ve iskemik dokuya nötrofil invazyonundan sorumludur. ICAM-1 ve ELAM-1 (endotelial lökosit adezyon molekülü-1) iskeminin 3-6. saatlerinde salınmaya başlar ve 6-12. saatlerinde en üst düzeylere ulaşır. Serebral iskemide önemli rol oynayan matriks metalloproteinaz-2 (MMP-2) de iskeminin 2. saatinde “core” bölgesinde artmaya başlayarak K-BB geçirgenliğini artırır ve hücre infiltrasyonuna neden olurlar. Fokal iskemi sonrasında interlökin-1 (IL-1) üretimi her iki hemisferde, IL-10 ise sadece iskeminin olduğu hemisferde artmaktadır ve iskemik hasarı arttırdığı tespit edilmiştir. IL-6 ise tüm beyinde artar ve koruyucu etki göstermektedir. TNF- $\alpha$  ise iskeminin erken dönemlerinde astrositler ve endotel tarafından salınmakta olup iskemik hasarı kötüleştirdiği belirtilmektedir (Siesjö 1992; Clark ve ark.,1997; Yank ve ark., 1999; Soriano ve ark.1999; Witte ve ark.,2000; White ve ark.,2000).





**Şekil 1.1.1.** İskemik döngünün şematik olarak gösterimi (Keyser ve ark.'nın makalesinden alınarak uyarlanmıştır).

### 1.1.3. Deneysel Serebral İskemi Modelleri

Serebral iskemi fizyopatolojisinin anlaşılabilmesi ve tedavi protokollerinin belirlenebilmesi için gerçeğe yakın klinik ve fizyopatolojik gözlemlerin yapılabildiği deneysel serebral iskemi, iskemi-reperfüzyon modelleri geliştirilmiş ve kullanılmaktadır. Kullanılan modeller global, ön beyin ve fokal olmak üzere kabaca üçe ayrılabilir.

#### Global Serebral İskemi Modelleri

**1) Resüsitasyonsuz kardiyak arrest modeli:** Bu modelde iskemi sonrası dolaşımın sağlanamaması en büyük dezavantajdır. Mg-klorit verilerek kardiyak arrest oluşumu sağlanabilir ( Xie ve ark., 1995).

**2) Kardiyak arrest ve resüsitasyon modeli:** Resüsitasyon sonrası oluşabilen serebral patolojilerin anlaşılmasında kullanılan en iyi modeldir. Elektrik şoku, çıkan aortun mekanik obstrüksiyonu ve potasyum klorit ile kardiyak arrest oluşturulabilir. Bu modelde, dolaşım tekrar sağlanmakta ve geçici iskemi oluşturulmaktadır (Kwai ve ark., 1992).

**3) Derin sistemik hipotansiyon modeli:** Farmakolojik ajanlar kullanılarak, sistolik tansiyon 30-35 mmHg'nin altına, oksijen basıncı %4'ün altına düşürülerek oluşturulur (Horst, 1997).

**4) Kafa içi basınç yükseltilmesi:** BOS'a sistemadan sıvı enjekte edilir ve kafa içi basınç yükseltilir, böylece serebral kan akımı durur ve iskemi oluşturulabilir. Ancak burada oluşan esas olay kafa içi basınç artışıdır, ortaya çıkan patoloji sadece serebral iskemiden kaynaklanmadığından kullanımı sınırlı kalmıştır (Ross ve Duhaime, 1989).

**5) Asfiksi ve servikal kompresyon:** Maymun ve kedilerde boyuna takılan bir manşonla beyne giden kan akımı azaltılır ve farmakolojik ajanlar ile hipotansiyon oluşturulur. Bu modelde spinal ve vertebral arter akımı devam etmektedir.

**6) Büyük damarların cerrahi tıkanması:** Brakiosefalik ve sol subklavian artere, toraks içinde klemp takılır ve ACC ile anastomozu olduğu için internal mammarial arter de bağlanır. Ayrıca baziler arter ve iki ACC bağlanarak da global iskemi oluşturulabilir (Horst, 1997).

### **Ön Beyin İskemisi Modelleri**

1) **İki taraflı ACC tıkanması:** Bu model sıçan ve farelerde uygulanmamaktadır. Vertebral arter ve ACI anastomozu gerbillerde olmadığı için kullanılabilir. Her iki ACC'nin 10-15 dk tıkanması ile hipokampusun CA1, striatum ve neokorteksin 3-4-5-6. tabakalarında seçici nöronal hasar gelişmektedir (Kurawi ve ark.,1990).

2) **Dört damar oklüzyon modeli:** Her iki vertebral arter elektrokoagülasyonla tıkanır sonra her iki ACC klips ile kapatılır. İskemiden sonra klipsler kaldırılarak reperfüzyon oluşumunun da sağlanabilmesi bu modeli üstün kılmaktadır (Pursinelli ve Buchan, 1988).

3) **İki taraflı ACC oklüzyonu ile birlikte hipotansiyon oluşturulması:** ACC'lerin klemplenmesinden sonra hayvandan kan alınarak tansiyonun 30-35 mmHg'ye düşürülmesiyle oluşturulan bir modeldir, bunda da ACC'lerdeki klipsler kaldırılarak reperfüzyon oluşturulabilmektedir.

4) **Yüksek tansiyonlu sıçanlarda iki taraflı ACC tıkanması:** Normal sıçanlarda iskemi oluşturmayan bu yöntem, hipertansif hale getirilmiş sıçanlarda iskemi oluşumunu sağlayabilmektedir (Horst, 1997).

### **Fokal Serebral İskemi Modelleri**

1) **MCA'nın değişik lokalizasyonlarda oklüzyonu:** Cerrahi işlemle kraniumdan pencere açılarak oklüzyon yapılır. Bu modelde işlem sırasında parankim hasarı ve kafa içi basınç artışı oluşabilmektedir (Chen ve ark., 1986; Brint ve ark., 1988).

2) **Serebral emboli ve tromboz oluşturma:** Kan pıhtı embolizasyonu, mikrosfer embolizasyonu, fotokimyasal fokal serebral tromboz oluşturma gibi tekniklerle yapılabilmektedir (Horst , 1997).

3) **İntraluminal stür modeli (koizumi modeli):** Daha az invaziv olan bu modelde, boyun diseksiyonu ile ACE bağlandıktan sonra, ACC'e sokulan propilen ipliğin ACI içinden ilerletilerek MCA girişinin tıkanması sağlanır. MCA girişinin tıkanması ile ACA ve AV'den gelen kanın MCA'ya geçişi engellenmiş olur. İpin geri çekilmesi ile reperfüzyon sağlanabilmektedir. Kemik dokusu ve beyin parankim dokusu hasarı olmadığı için iskeminin en iyi taklit edildiği modeldir. Bu nedenle deneysel çalışmalarda en çok tercih edilen model budur (Longa ve ark, 1989).

## 1.2. EPİLEPSİ

Epileptik nöbet, merkezi sinir sistemindeki çeşitli faktörlere bağlı olarak kortikal veya subkortikal nöronlarda anormal, aşırı ve hipersenkron aktivite oluşmasıdır. Nöbetlerin tekrarlama eğilimi göstererek kronikleşmesine de epilepsi adı verilir. Epilepsinin bir hastalık değil, tekrarlayan nöbetlerle karakterize, heterojen yapıda semptomlar grubu olduğu kabul edilmektedir (Kayaalp, 1995; Gilroy, 2002).

Beynin sık görülen nörolojik hastalıklarından biri olan epilepsi, nüfusun yaklaşık %0.8-1'ini etkilemektedir. Dünya üzerinde yaklaşık 50 milyon kişinin epilepsi hastası olduğu, bunların da çoğunluğunun gelişmekte olan ülkelerde yaşadığı tahmin edilmektedir. Epilepsinin beyinle ilgili bir hastalık olduğu ilk defa Hipokrat tarafından ortaya atılmıştır. Jackson ise epilepsinin sinir hücrelerinin geçici anormal deşarjlarına bağlı bir semptom olduğunu söyleyen ilk araştırmacıdır. 20. yüzyılın ikinci yarısındaki yoğun araştırmalar epilepsideki bir çok bilinmeyen noktaları aydınlatmış ve artık epilepsi korkulan bir hastalık olmaktan çıkıp tedavi edilebilir nörolojik bir durum haline gelmiştir. Bununla birlikte spesifik bir etiyojik yaklaşım olmaması ve patofizyolojik mekanizmaların tam olarak anlaşılabilmesi nedeniyle; tedavide epilepsiye neden olan işlemin ortadan kaldırılmasından çok, kronik olarak antiepileptik ilaç ile semptomların kontrolü ve nöbetlerin baskılanması yapılmaktadır (Başoğlu,1988; Bora ve Taşkapılıoğlu, 2003).

Antiepileptiklerle tedavi altındaki hastalarda nöbet kontrolünün başarılı olmadığı ya da anlamlı yan etkilerin görüldüğü durumlarda; epilepsi cerrahisi, transkraniyal manyetik stimülasyon (talamus yada epileptik odağa yönelik), fokal ilaç enjeksiyonu, immunoterapi, hormon tedavisi, antioksidan tedavi, hücre transplantasyonu, gen tedavisi, ketojenik diyet ve nervus vagus stimülasyonu gibi bir çok tedavi yaklaşımı denenmekte ve bazıları klinikte kullanılmaktadır (Bora ve Taşkapılıoğlu, 2003).

Epilepsi ve nöbetlerin patogenezi anlamada önemli ilerlemeler olmasına rağmen, insan epilepsisinin hücresel temeli hala tam olarak aydınlatılamamıştır. Epilepsinin temel mekanizmaları üzerinde yapılan araştırmalar, epileptogenez

işleminde farklı mekanizmaların etkilendiğini göstermiş ve epilepsiye neden olan çok sayıda mekanizma öne sürülmüştür. Epilepsililerin çoğunda fokal başlangıçlı nöbetler görülür, yeni tanı konmuş ve epileptik odağı klinik olarak belirlenebilen nöbetlerin yaklaşık %30'u temporal lob başlangıçlıdır. Genetik malformasyonlar (Tubero skleroz, Sturge-Weber hastalığı gibi), kafa travması, beyin tümörü, beyin damar hastalıkları (kanama, tıkanma, AVM gibi), SSS'i enfeksiyonları (ensefalit, menenjit gibi), dejeneratif ve demiyelinizan hastalıklar (Alzheimer, Multipl skleroz gibi) sonucunda epileptogenez oluşması için bir sessiz dönem geçmekte ve bunu kendiliğinden oluşan nöbetler izlemektedir. Epileptik beyinde nöron kaybının yanı sıra; gliozis, aksonal ve dentritik plastisite, nörogenezis, hücre membranı ve ekstrasellüler matriksin moleküler reorganizasyonu gibi değişiklikler görülebilmektedir (Johnston, 1996; Bora ve Taşkapılıoğlu, 2003), (şekil 1.2.1).

Epileptik aktivite nekrotik doku ve skar dokusundan kaynaklanmayıp sadece yaşayan hücrelerin deşarjı sonucu gelişebilmektedir. Ancak skleroz, çevredeki canlı nöronları zedeleyerek metabolizma ve fonksiyonlarını değiştirebilir. Anormal deşarjlar çevredeki nöronlara yayılarak zamanla onları anormal aktivite gösteren nöron havuzuna dahil edebilir. Epilepside görülen fokal veya jeneralize nöbetler, beyin korteksi veya subkortikal yapılarda belirli bir bölgede yada korteksin genelinde eksitabilitenin artmasına bağlıdır. Jeneralize nöbetlerde kortekste eksitabilite artmasının EEG'ye yansması, spike (diken) ve spike-wave (diken-dalga) kompleksleri şeklindeki EEG segmentleridir. Dikenler, korteksin yüzeyel tabakalarındaki nöron topluluğunda senkron olarak meydana gelen paroksizmal deşarjları, yavaş dalgalar ise korteksin derin tabakalarındaki nöronlarda gelişen inhibitör postsinaptik potansiyelleri temsil eder.

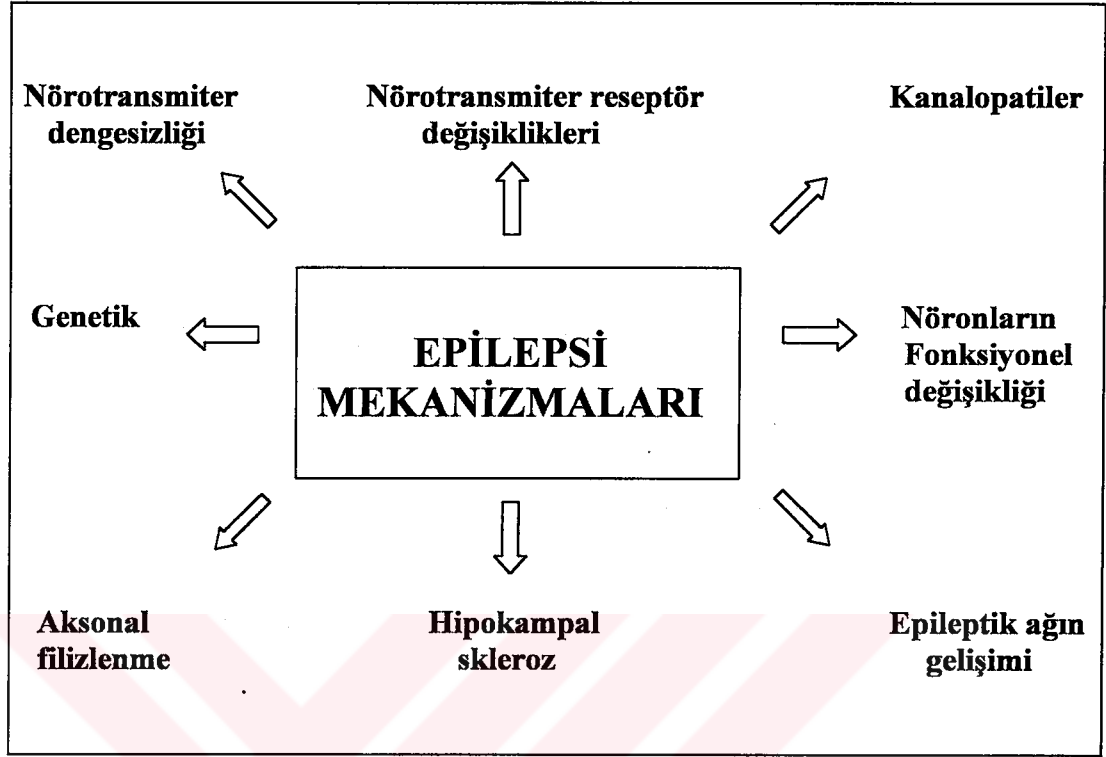
Jeneralize epilepsilerde, nöbetin başlamasından sorumlu subkortikal bir yapının bulunduğu ve tetiği bu yapının çektiği ileri sürülmüştür. Bu teoriye göre, eksitabilitesi artmış ve paroksizmal deşarjları oluşturan bu subkortikal yapı bir pacemaker görevi yapar. İkinci teori ise bu odağın korteks içinde olduğu ve zamanla yer değiştirebildiğine dairdir. Diğer bir teoriye göre primer olay tüm korteks düzeyinde eksitabilite artmasıdır ve bu zemin üzerindeki kortikal nöronlar, talamus ve retiküler formasyondan gelen uyarılara aşırı cevap verirler, buna epileptogenezin kortiko-retiküler teorisi denir. Olağan koşullarda, retiküler

aktivasyon sistemi, uyanıklık mekanizmalarının bir parçası olarak, kortikal ritmlerin desenkronizasyonunu sağlar. Eğer retiküler sistemin dürtüsü bozulur veya senkron hale gelirse, korteksten gelişen ve klinik olarak epilepsi nöbetine eşlik eden diken-dalga aktivitesi ortaya çıkabilir (Başoğlu, 1988; Kayaalp, 1995; Futatsugi, 1998; Gilroy, 2002).

Epileptik nöronlar, fonksiyonel özellikleri değişmiş hücrelerdir. Temel özellikleri aşırı uyarılabilir olmaları ve normal hücrelerde görülmeyen, “burst” adı verilen yüksek frekanslı ve kısa süreli deşarjlar oluşturmalarıdır. Burst’ler sırasında membran potansiyelinde uzun süreli depolarizasyonlar (LTP) oluşur. Birbirini izleyen çok sayıda yüksek frekanslı aksiyon potansiyellerinin oluşturduğu ve kortikal paroksizmal aktivite ile eş zamanlı olan bu depolarizasyonlara paroksizmal depolarizasyon çifti (PDS) adı verilir. PDS ile birlikte nöronların eksitator uyarılara karşı aşırı duyarlı hale geldiği ve inhibitör uyarılarda azalma olduğu kabul edilmektedir.

İdiyopatik epilepsiler dışındaki bazı durumlarda primer odağın varlığı somut olarak belirlenebilir. Primer odak, nöbetler arasında da intermittan veya devamlı bir şekilde yüksek frekanslı deşarjlarına devam edebilir. İdiyopatik olarak bulunan veya belirli bir olaya bağlı olarak gelişen odağın deşarjlarının fokal veya jeneralize nöbetleri başlatmak üzere korteksin bir kısmına veya tümüne yayılabilmesi için, aşırı fiziksel ve mental aktivite, yorgunluk, emosyonel stres, uyku-uyanıklık ritmi, kan şekeri ve elektrolit düzeyi ile pH’ın değişmesi gibi bazı faktörlerin yardım veya teşvik etmesi gerektiğine inanılmaktadır (Başoğlu, 1988; Gilroy, 2002).

**Epileptogenezde eksitabilite artış mekanizması:** Beyindeki nöronlarda eksitabilite düzeyi, eksitator ve inhibitör etkiler arasındaki dengeye bağlıdır. Eksitabilite artışı, teorik olarak eksitator etkinliğin artmasına veya inhibitör etkinliğin azalmasına yani disinhibisyona bağlıdır. Nöron düzeyindeki eksitabilitenin ayarlanmasında temel olay;  $Na^+$ ,  $Ca^{++}$ ,  $K^+$ , ve  $Cl^-$  iyonlarına karşı geçirgenliğin (permeabilitenin) değiştirilmesidir. Nöron düzeyinde eksitasyon, membranın  $Na^+$  ve bazı nöronlarda da  $Ca^{++}$ ’a permeabilitesinin artmasına bağlıdır. İnhibisyon ise;  $Cl^-$  veya  $K^+$  permeabilitesinin artması sonucu meydana gelir. Son yıllarda bazı ailevi epilepsi olgularında kanallar ve subünitlerinde mutasyonlar tespit edilmiştir.



**Şekil 1.2.1.** Epilepsi mekanizmalarının şematik gösterilmesi (Bora ve Taşkapılıoğlu, 2003).

Eksitabilitenin ayarlanmasında önemli rol oynayan üç ana nöromodülatör sistem vardır, bunlar; GABA'erjik ve adenozinerjik inhibitör sistemler ve glutamerjik eksitator sistemdir. Dopaminerjik, nöradrenerjik, serotonerjik, kolinerjik ve enkafelinerjik sistemlerin de eksitabilite düzeyinin ayarlanmasında katkılarının olduğunu gösteren kanıtlar mevcuttur. Epileptik aktivite, aşırı glutamat ve aspartat salınımı ile artmış NMDA reseptör aktivitesi sonucu lokal paroksizmal deşarjları başlatan büyük bir hücre popülasyonunun fonksiyon bozukluğu sonucu gelişir. Anormal dentritik ağ örgüsü aracılığıyla çıkış bölgesinden diğer bölgelere yayılan deşarjlar, inhibitör mekanizmalara sahip olmayan nöronları ateşleyerek fokal nöbetlerin oluşmasına sebep olur. Deşarj yayılımının ilerlemesi jeneralize nöbetlere neden olur. Nöbet aktivitesi beyinde rastgele bir yayılım göstermez,

elektriksel deşarjlar, daha çok spesifik döngüsel yollar tarafından yayılır. Eksitatör deşarjlar GABA-erjik nöronların kontrolündeki inhibitör mekanizmaları devre dışı bırakır. Epileptik nöbetlerin oluşumunda diğer nörotransmitterlerin rolü muhtemelen kısıtlıdır. Norepinefrin büyük olasılıkla inhibitör etkisiyle nöbetlerin yayılımını sınırlar, dopaminerjik sistemin inhibitör etkisi ise azdır. Öte yandan beyindeki yaygın asetilkolin projeksiyonları epileptik aktiviteyi artırabilir (Öztaş, 1986; Kayaalp, 1995; Bora ve Taşkapılıoğlu, 2003).

### 1.2.1. Epilepsi Sınıflandırması

Uluslararası Epilepsiyle Savaş Derneği (ILAE) uzun yıllar süren çalışmalar sonucu 1981 yılında epileptik nöbetlerin klinik ve elektroensefalografik sınıflamasını gerçekleştirmiş ancak daha sonra nöbetlerin kliniği ve EEG'ye yansıyan özelliklerinin bu sınıflandırmada yeterli olmadığı düşünülerek 1989'da nöbet tipi, etyolojisi, nöbeti uyaran faktörler, başlangıç yaşı, tedavi seçimi gibi faktörleri de kapsayan epileptik sendromları tanımlamaya yönelik yeni bir sınıflama yapılmıştır (Tablo 1.2.1.).

Bu sınıflamada; parsiyel epilepsiler ile jeneralize olanların ayırımı ve idiyopatik veya primer olanlarla, sekonder yada semptomatik olanların ayırımı vurgulanmaktadır. İdiyopatik sendromlara genellikle bir başka nörolojik fonksiyon bozukluğu eşlik etmez, gelişme basamakları normal seyreder ve altta gösterilen başka bir patolojik süreç yoktur, ailesel yatkınlık genellikle dikkati çekmektedir, nöbetler daha sınırlıdır ve tedaviye yanıtları daha iyidir. EEG interiktal dönemde normal temel aktivite gösterir. Buna karşın, semptomatik epilepsilerde; sıklıkla altta yatan bir beyin hastalığı ve buna bağlı nörolojik bozukluk vardır. EEG'de temel aktivitede yavaşlama saptanır. Kriptojenik epilepsi ise; nedeni bulunamayan fakat bir nedeni olması gerektiği düşünülen epilepsiler için kullanılan bir terimdir (Dreifuss, 1990).



**Tablo 1.2.1. Epilepsi ve Epileptik Sendromların Sınıflandırılması (ILAE 1989)**

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

**1.1. İdiyopatik (yaşa bağlı başlangıç)**

- \* Sentrot temporal dikenli selim çocukluk çağı epilepsisi
- \* Oksipital paroksizmlili çocukluk çağı epilepsisi
- \* Primer okuma epilepsisi

**1.2. Semptomatik**

- \* Temporal lop epilepsisi
- \* Frontal lop epilepsisi
- \* Pariyetal lop epilepsisi
- \* Oksipital lop epilepsisi
- \* Çocukluk çağının kronik progresif "Epilepsia parsiyalis continua" sı
- \* Spesifik faktörlerle uyarılan nöbetlerle karakterize sendromlar

**1.3. Kriptojenik**

**II. Jeneralize epilepsiler ve sendromlar**

**2.1. İdiyopatik (yaşa bağlı başlangıç ve yaş sırasına göre sıralanmıştır)**

- \* Selim ailesel yenidoğan konvulsiyonları
- \* Selim yenidoğan konvulsiyonları
- \* Süt çocukluğunun selim myoklonik epilepsisi
- \* Çocukluk çağı absans epilepsisi (piknolesi)
- \* Juvenil absans epilepsi
- \* Juvenil myoklonik epilepsi (impulsif petit-mal)
- \* Uyanırken gelen grand-mal nöbetli epilepsi
- \* Diğer jeneralize idiyopatik epilepsiler
- \* Belirli aktivasyon yöntemleriyle uyarılan epilepsiler

**2.2. Kriptojenik veya semptomatik (yaş sırasına göre)**

- \* West sendromu
- \* Lenox-Gastaut sendromu
- \* Myoklonik astatik nöbetli epilepsi
- \* Myoklonik absanslı epilepsi

**2.3. Semptomatik**

**2.3.1. Nonspesifik etyoloji**

- \* Erken myoklonik ensefalopati
- \* Supresyon burst'lü erken infantil epileptik ensefalopati
- \* Diğer semptomatik jeneralize epilepsiler

**2.3.2. Spesifik sendromlar**

**III. Fokal yada jeneralize olduğu belirlenemeyen epilepsiler**

**3.1. Jeneralize ve fokal konvulsiyonlu epilepsiler**

- \* Yenidoğan konvulsiyonları
- \* Süt çocuğunun ağır myoklonik epilepsisi
- \* Yavaş dalga uykusu sırasında devamlı diken-dalgalı epilepsi
- \* Edinsel epileptik afazi (Landau-Kleffner sendromu)
- \* Diğer belirlemeyen epilepsiler

**3.2. Net jeneralize yada fokal konvulsiyon özelliği olmayanlar**

**IV: Özel durumlar**

**4.1. Duruma bağlı nöbetler**

- \* Febril konvulsiyonlar
- \* İzole nöbet yada izole status epileptikus.
- \* Akut metabolik veya toksik nedenlere bağlı nöbetler

### 1.2.2. Jeneralize Tonik Klonik Konvulsiyonlar (JTKK)

Klasik olarak, büyük nöbet (grand mal) olarak da bilinen JTKK, ya primer olarak veya basit yada kompleks parsiyel nöbetleri izleyerek ortaya çıkar. Eğer parsiyel nöbetleri izliyorsa, çoğu kez nöbetten bir-iki gün veya birkaç saat önce başağrısı, uykusuzluk, irritabilite gibi belirtiler görülür. Nöbet; el, yüz ve ayaktan başlayan fokal motor, duysal yada psişik semptomları izler. Primer JTKK'ların başlangıcı ise anidir ve genellikle bu belirtiler görülmez. JTKK başladıktan sonra hasta çığlık atarak birden bire yere düşer ve bir süre opustatanus pozisyonunda ve solunum yapmadan kalır. Çığlık sesi, solunum kasları ve plika vokalislerin kasılmasına, yere düşme ise bilinç yitimi ve bütün istemli kasların aynı anda kasılmasına bağlı oluşmaktadır. Baş ve gözler yukarı ve bir yana dönmüş, dudaklar ve yüz morarmıştır. Ağızda bol miktarda sekresyon birikmiştir (tonik faz). Bu faz 10-20 saniye sürer. Kan pCO<sub>2</sub> düzeyinin yükselmesi sonucu solunum merkezi uyarılır ve güçlü bir solunum başlar, vücut kaslarında yineleyici sık ve güçlü kasılma gevşemeler başlar. Mesane ve anal kontrolün ortadan kalkması sonucu, idrar ve dışkı inkontinansı olur. Kasılma ve gevşemeler giderek seyrekleşir, şiddeti azalır ve durur (Klonik faz). 40-90 saniye süren bu fazdan sonra kişi ya derin bir uykuya dalar yada ajitasyon gösterir. Hırıltılı bir solunum vardır, bu devre bazen saatlerce sürebilir (post iktal faz). Hasta kendine geldiği zaman, bitkinlikten, baş ve vücut ağrılarından yakını. Tonik fazda EEG'de yaygın ve senkron diken deşarjları görülür. Bununla eş zamanlı olarak, muhtemelen hem piramidal hem de ekstra piramidal sistemden omuriliğe iletilen deşarjların etkisiyle, alt ekstremitelerde tonik ekstansör, üstte ise tonik fleksör postür meydana gelir. Klonik fazda ise diken deşarjlarını yavaş dalgalar izler. Klonik faz aslında, tonik fazın periyodik olarak kesintiye uğramasıdır. Dikenleri tonik kasılmalar, yavaş dalgaları ise, kasların gevşemesi izler. Post iktal dönemde EEG'de diffüz yavaş dalgalar ortaya çıkar. Nöbetlerin sonlanması, çeşitli inhibisyon olaylarına bağlıdır. Bununla birlikte serebral hipoksi, asidoz ve nöronal metabolik tükenmenin de rolü vardır.

Tek bir epileptik nöbetin yada tekrarlayan epileptik nöbetlerin süresinin en az 30 dk. devam etmesi "status epileptikus" olarak tanımlanır. Jeneralize tonik klonik status epileptikusta birbirini kesintisiz izleyen major nöbetler uzun

sürdüğünde ölüme neden olabildiği gibi çeşitli kalıcı nörolojik şekillere ve sistemik patolojilere neden olabileceğinden acil tedavi gerektirir (Başoğlu, 1988; Nei ve ark.; 1999; Gilroy, 2002; Velez ve Selva, 2003).

### **1.2.3. Deneysel Jeneralize Tonik-Klonik Konvülsif Epilepsi Modelleri**

#### **Primer Jeneralize Epilepsi Modelleri**

- 1) Maksimal elektroşok epilepsi modeli (250-350  $\mu$ A elektrik stimülasyonu ile)
- 2) Maksimal PTZ nöbetleri
- 3) Diğer kemo-konvülzanlar ile oluşturulan nöbetler (bikukulin, pikrotoksin, striknin)

#### **Sekonder Jeneralize Epilepsi Modelleri**

- 1) Kindling modeli (korteks, amigdala, hipokampus gibi belirli bölgelere konulan elektrot ile subkonvülsif tekrarlayan uyarılar verilerek nöbet oluşturulur).
- 2) Kimyasal ajanlarla oluşturulan modeller (penisilin, kainik asit, PTZ, alüminyum, demir, kobalt gibi metallerin kortekse lokal olarak uygulanmasıyla ve lokal dondurma ile nöbet oluşturulur), (Fisher, 1989; Upton, 1994).

#### **Pentylentetrazole (PTZ) Nöbetleri:**

PTZ, GABA-benzodiazepin kompleksini bloke ederek ve membran potasyum geçirgenliğini değiştirerek MSS'de direkt eksitatör etki oluşturan konvülsan bir ajandır. Bazı beyin bölgeleri, özellikle beyin sapı retiküler formasyon alanı PTZ ile oluşan paroksizmal ritmik aktivite için düşük eşik gösterirler. PTZ Deneysel epilepsi modellerinin oluşmasında yaygın olarak kullanılan bir maddedir. Doza ve verilmiş yerine bağlı olarak absans, klonik veya tonik-klonik nöbetler oluşturabilir. PTZ'nin 50-100 mg/kg, İP uygulanmasını takiben 1-2 dk içinde başlayan bilateral myoklonik jerkler, myoklonuslar, tonik ekstansiyon ve fleksiyonlar, tonik-klonik konvülsiyonlar görülmektedir (Ates ve ark.1992; Goldman ve ark.,1992; Madeja ve ark.,1996; Vergnes ve ark.,1997; Mirski ve ark., 2003).

#### 1.2.4. Absans Nöbetleri ( Nonkonvulsif Epilepsi)

Klasik olarak, petit mal nöbet olarakta tanınan absans epilepsi, konvulsif olmayan generalize bir epilepsi türüdür. Hastaların bilinç durumunun 5-20 saniye süreyle kesintiye uğramasıyla birlikte, aktivite kaybı, anlamsız boş bakış, sorulara yanıt vermeme, gözlerin yukarı doğru kısa bir rotasyonu, bazen hafif klonik komponentlerin eşlik ettiği bir nöbet tarzıdır. Ataklar gün içinde bir çok kez tekrarlar, hiperventilasyon, hipoglisemi ve fotik uyaran absans atakları uyandırabilir yada yoğunlaştırabilir.

EEG, absans epilepsinin teşhisinde en duyarlı tanı yöntemidir. Klasik EEG paterninde; nöbete eşlik eden, bilateral, senkron ve simetrik, saniyede 3 Hz frekansta, voltajı 100-1200 $\mu$ V aralığında diken- dalga deşarjları (spike and wave discharges- SWD) mevcuttur. Deşarjlar jeneralize olmakla birlikte, en yüksek amplitüd superior frontal ve orta frontal bölgeden alınır.

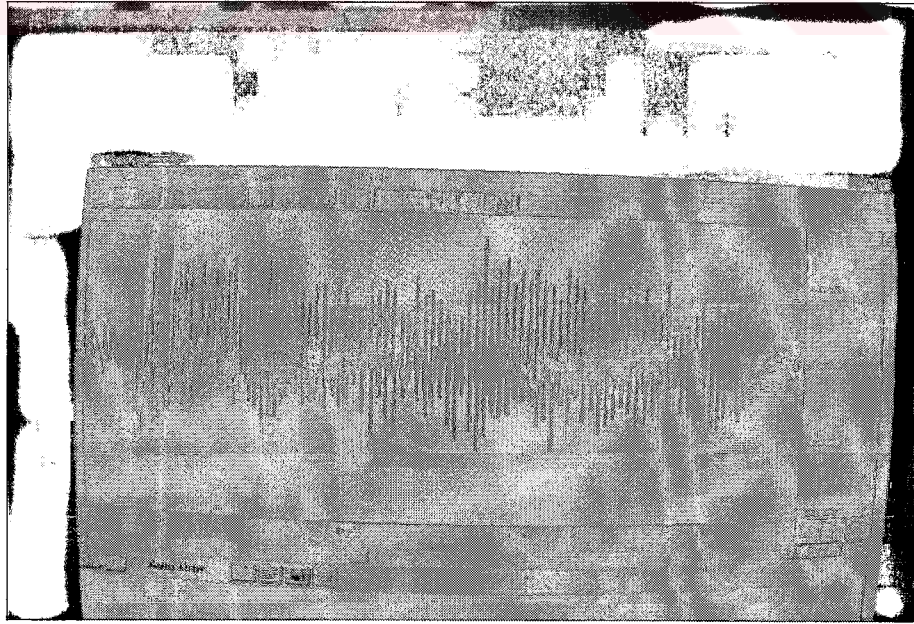
Genellikle 4-12 yaş arasında ortaya çıkar ve genetik bir yatkınlıktan söz edilmektedir. Adelosan çağda kendiliğinden kaybolabilir, ancak yeterli tedavi görmeyenlerin önemli bir kısmında JTKK yada jüvenil myoklonik epilepsi gelişebilir. Bu nedenle sanılanın aksine absans çok selim seyirli bir epilepsi değildir (Başoğlu, 1988; Gilroy, 2002).

Absans nöbetlerin oluşum mekanizmalarına yönelik araştırmalarda; talamus, korteks, retikuler formasyon, substantia nigra gibi beyin bölgelerinin SWD oluşumunda anahtar rol oynadığını ortaya çıkarılmıştır. Hangi yapının SWD'leri oluşturduğu net olarak bilinmemekle birlikte, korteks ve talamusta eş zamanlı olarak SWD oluştuğuna dair çalışmalar bulunmaktadır. Korteks ve talamus arasındaki etkileşimlerin etkisi de mekanizmanın açıklanmasında büyük öneme sahiptir (Vergnes ve ark., 1987).

Talamus, kortekse iletilecek uyarıların geçişlerinin düzenlendiği bir bölgedir. Talamik duysal çekirdekler, korteksin ilgili bölgelerine glutamerjik (eksitatör) uyarılar gönderir ve bu bölgelerden feedback glutamerjik projeksiyonlar alırlar. Aynı zamanda yukarıda belirtilen aksonlar, RTN'deki (talamus retiküler çekirdeği) GABA-erjik nöronlara da eksitatör kollateraller gönderirler. RTN'deki nöronların kortekse projeksiyonu yoktur ancak birbirlerine ve tüm talamik

çekirdeklere inhibitör (GABA-erjik) projeksiyonlar gönderirler. Talamustaki nöronlar osilator ve tonik ateşleme moduna geçiş yapabilme özelliğine sahiptir, böylece EEG'de senkronizasyon yada desenkronizasyon oluşabilmektedir. Bu tonik-osilator mod geçiş mekanizmasının altında yatan olay, düşük eşikli  $Ca^{2+}$  bağımlı spike dalgalarıyla ilişkilidir. Bu olay yüksek frekanslı aksiyon potansiyeli dalgalarının rebound ateşlemelerine yol açan GABA<sub>B</sub> aracılı geç inhibitör post sinaptik potansiyeller (IPSP) tarafından tetiklenir. GABA<sub>A</sub> reseptörlerinin aktivasyonunun ise inhibisyonun tekrarına aracılık ettiği kabul edilmektedir (Zhang ve ark., 1997; Avanzini ve ark., 2000).

GABA aracılı mekanizmalar talamo-kortikal sistemde yaygın olarak çalışılmıştır. GABA<sub>A</sub> ve GABA<sub>B</sub> reseptörlerinin SWD oluşumuna katıldığını gösteren bir çok çalışma bulunmaktadır (Van Luijtelaa ve ark., 1995, Futatsugi ve Riviello, 1998). GABA-erjik aktivitenin artması, inhibisyon yaparak ve nöronal ateşlemeyi senkronize ederek, insanda ve hayvan modellerinde absans nöbetleri şiddetlendirerek SWD oluşumuna yol açabilmektedir. Bunların dışında, RTN üzerine etkili olan RAS, substantia nigra gibi yapıların, GABA dışındaki nörotransmitterlerin ve iyon kanallarının da intrensek osilator mekanizmaların kontrolünde etkili olabileceği gösterilmiştir (Tsakiridou ve ark., 1995).



**Şekil 1.2.2.** Absans nöbetlerin EEG görüntüsü

### **1.2.5. Nonkonvulzif Epilepsi (Absans) Hayvan Modelleri**

Hayvan modelleri, absans epilepsinin patofizyolojisi ve tedavisini araştırmada kontrollü deneyler yapabilme imkanı sağlamakta, bu nedenle de yaygın olarak kullanılmaktadır.

**Absans epilepsi oluşturan modeller;**

- 1) Talamik stimulasyon modeli (orta hat ve lateral talamik çekirdeklerin elektrikle uyarılmasıyla)
  - 2) Sistemik dolaşıma verilen farmakolojik ajanlarla oluşturulan modeller (düşük doz PTZ, penisilin, GABA analogları verilerek)
  - 3) Genetik modeller (WAG/Rij ve GEARS sıçanları)
- (Ateş ve ark, 1994; Marecaux ve Vergnes, 1995; Smith ve Fisher, 1996; Sneed, 1995).

**WAG-Rij Modeli:** Genetik modeller, absans benzeri epilepsi gösteren hayvan serisinin seçilip, inbred olarak üretilmesiyle elde edilir. WAG-Rij ırkı genetik epilepsili sıçanlarda, 7-11 Hz frekanslı, 200-1000  $\mu$ V amplitüdünde, 1-45 sn süreli spontan olarak gelişen, bilateral senkronize diken-dalga aktivitesi kortikal EEG'de kaydedilmektedir (şekil 1.2.2.). Dalgınlık, bıyık hareketleri ve solunum hızlanması da EEG bulgularına eşlik etmektedir. Nöbetin dışındaki zamanlarda davranışsal değişiklik göstermezler. Oluşan SWD'lerin sayısı saatte ortalama 18, günde ise 300-400'dür. SWD'ler 6. aydan itibaren gözlenmekte, sayı ve süreleri yaşa bağlı olarak artmaktadır. Cinsiyete bağlı değişimler ise minimaldir. Bu hayvanlardaki diken-dalga aktivitesi oluşumu ve bunların uyku-uyanıklık arasındaki değişiklikleri insandakine benzerdir. SWD'ler %33 pasif uyanıklık, %13 derin uykuda gözlenirken, aktif uyanıklık ve REM uykusu sırasında çok nadir görölmektedir

Sonuç olarak; WAG-Rij ırkı sıçanlar elektronörofizyolojik, farmakolojik, davranışsal ve genetik özellikleri ile insan absans epilepsisi için uygun bir model kabul edilmektedir (Coenen ve Van Luijtelaar, 1987; Van Luijtelaar ve Coenen, 1988-1989; Drinkenburg ve ark., 1991; Ateş ve ark., 1994).

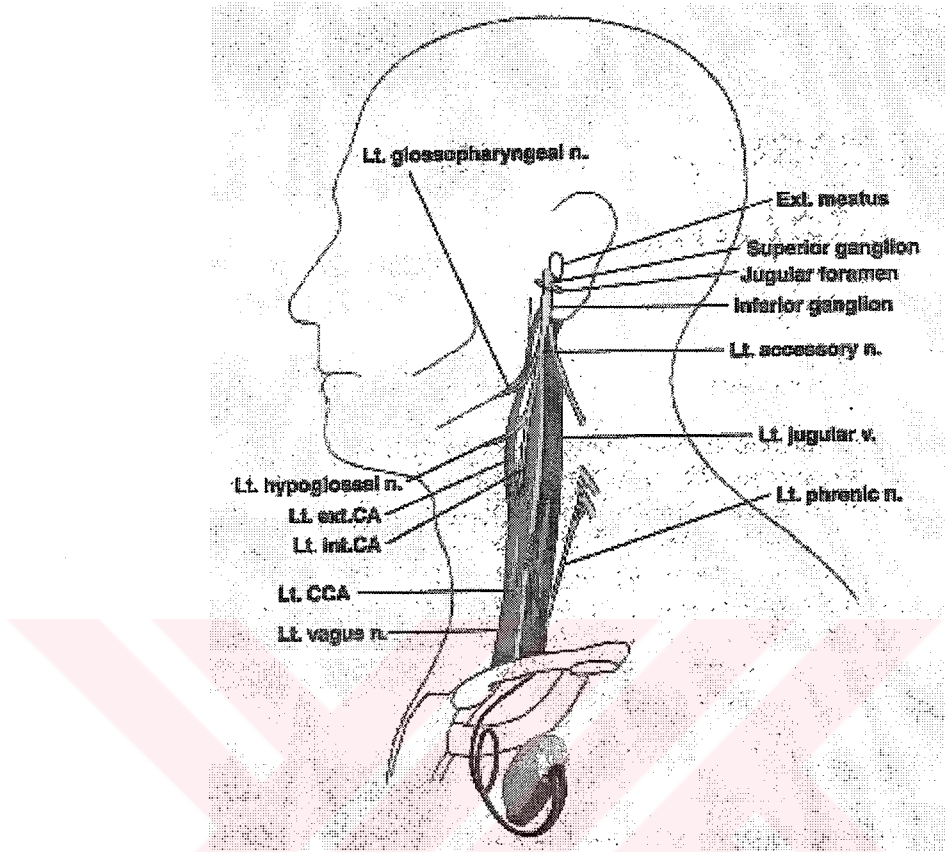
### 1.3. NERVUS VAGUS STİMULASYONU

#### 1.3.1. Nervus Vagus Anatomisi ve Fizyolojisi

Onuncu kranial sinir olan n.vagusun üst parçası birçok kökçükle medulla oblangataya yayılarak foramen jugulare yoluyla kraniumu terk eder ve ikiye ayrılır. Boyunda her bir vagus siniri a.karotis ve v. jugularis arasında karotit kılıf içinde seyreder (şekil 1.3.1.).

Vagus siniri somatik ve visseral afferent ve efferent lifler içerir. Bunların % 80 gibi büyük çoğunluğunu afferent lifler oluşturur ve hücre gövdeleri superior (juguler) vagal ganglion ve daha geniş olarak da inferior (nodose) vagal gangliondadır. N.vagusun visseral afferentleri; tat alma, baş-boyun, toraks ve abdomenle ilgili duysal bilgileri beyne taşır. Vagal efferent lifler ise çoğunlukla; kalp akciğerler, mide, barsak, karaciğer, pankreas ve böbreklere parasempatik yayılımlar gösterirler. Bu efferent lifler medulla oblangatadaki vagusun motor nükleusu ve nükleus ambiguus lokalize olan preganglionik nöronlardan orijin alır. Bu efferentler hedef organların yakınında bulunan ganglionlarda postganglionik nöronlarla sinaps yaparlar. Vagus sinirinin yayılımı kalp dışında genellikle simetriktir, kalpte ise sol n.vagus daha az yoğunlukta olmak üzere ventrikülleri inerve ederken, sağ N.vagus yoğun bir şekilde atriumları inerve eder. Ayrıca vagus siniri, ses telleri, farinks ve larinksin kaslarını inerve eden efferentleri de içerir (Henry, 2002).

Vagus sinirinin çoğunluğu ince çapta miyelinize olmamış C lifleri olmak üzere, orta çapta miyelinize B lifleri ve kalın çapta miyelinize A liflerinden oluşmaktadır. Bunlardan uyarılma eşiği en düşük olan A lifleri, en yüksek olan ise C lifleridir (Schachter and Saper,1998).



**Şekil 1.3.1.** İnsanda sol nervus vagusun anatomik lokalizasyonu ve NCP sistemin implantasyonu (Henry, 2002).

### 1.3.2. Vagal Afferentlerin Projeksiyonları ve NVS Etki Mekanizmasıyla İlişkisi

Vagal afferentler medulla oblongatada; nukleus traktus solitarius (NTS), trigeminal sinirin spinal nukleusu, medullar medial retiküler formasyon, area postrema, vagusun dorsal motor nükleusu ve nükleus ambiguus gibi yapılara sinaps yapar. Bu yapılar arasında vagal afferentlerin en çok sinaps yaptığı NTS dir (şekil 1.1.2.). Bu afferent sinapslar; GABA, glisin gibi inhibitör, glutamat, aspartat gibi eksitator nörotransmitterlerin yanında asetilkolin ve birçok nöropeptit de kullanırlar. NTS somatik ve visseral duysal afferentlerden ayrıca diğer birçok beyin bölgesinden projeksiyonlar alır ve bunları kendi içinde bilgi-işleme tabi tutarak otonomik ve motor efferentler üretir ( George ve ark., 2000, Henry, 2002). Vagal afferentler medulla oblongata dışında NTS yoluyla pons (en yoğun olarak ponsun

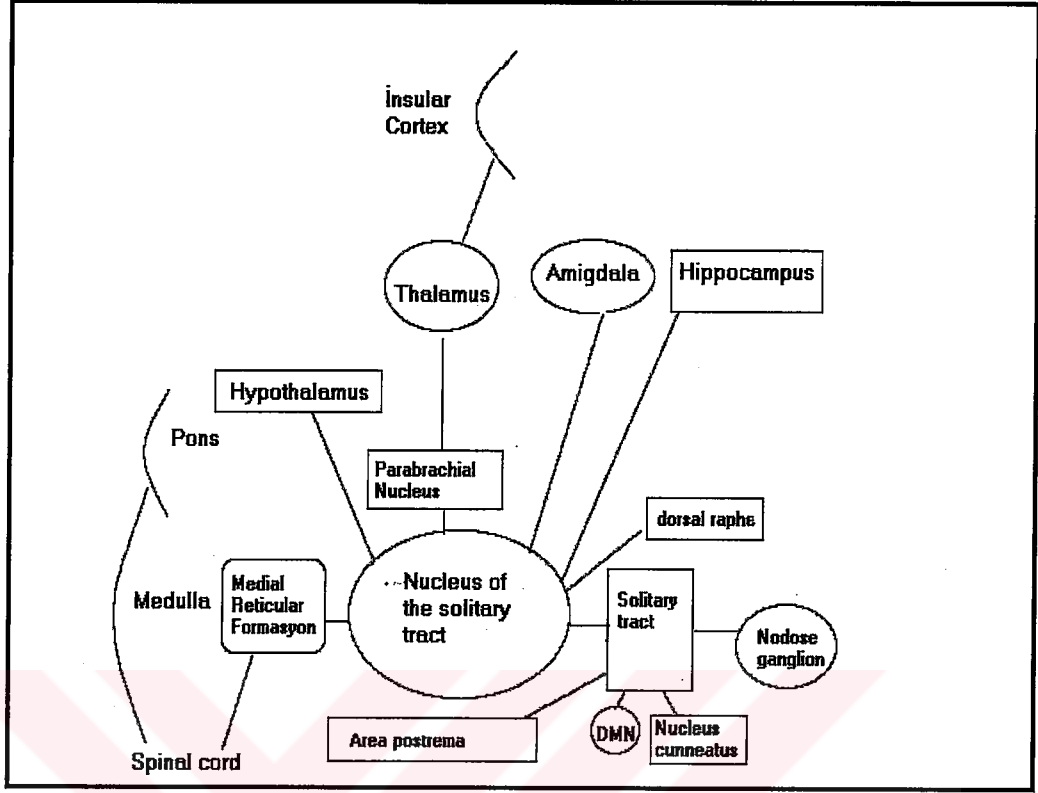


parabrakial nükleusuna), orta beyin ve serebelluma polisinaptik projeksiyonlar oluştururlar (şekil 1.3.2.). Bu yayılımlar yoluyla NTS, respirasyon ve ağrı düzenlenmesini etkileyebilir. NVS sırasında respirasyon sıklıkla etkilenmese de obstruktif uyku apneli kişilerde, yüksek frekanslı NVS uygulamalarında apne ve hipopne oluşabilmektedir. Periaquaduktal gri madde ise santral ağrı proseslerini oluşturan bir yapıdır ve NVS sırasında burada oluşan değişiklikler antinosiseptif etkinin altında yatan neden olabilir (Kirchner ve ark., 2000; Henry, 2002).

Vagal afferentler, NTS yoluyla spinal kord ve beynin noradrenerjik ve serotonerjik nöromodulator sistemlerine yansır. Bunlardan lokus sereleus ; korteks, diensefelon ve birçok diğer beyin bölgesine geniş noradrenerjik inervasyon sağlar. NTS, lokus sereleusa nükleus paragigantosellularis (eksitator) ve nükleus prepositus hipoglossi (inhibitör) gibi 2 disinaptik yolakla yayılmaktadır. Bu nedenle NVS lokus sereleus üzerine eksitator, inhibitör yada nötral etkili olabilir. Raphe nükleusu ise birçok beyin bölgesine yaygın serotonerjik inervasyon sağlamaktadır. Vagal- lokus sereleus ve vagal-raphé etkileşimleri NVS' nin etki mekanizmalarına ışık tutmaktadır çünkü; noradrenalin, adrenalin ve serotoninin epilepsi, anksiyete, depresyon, uyku, iştah, ağrı gibi birçok durumda etkili olduğu bilinmektedir. (Handforth ve ark., 1998; Rosenbaum ve Heninger, 2000; George ve ark., 2002; Henry, 2002).

Polisinaptik vagal projeksiyonlar daha çok NTS yoluyla hipotalamik-talamik nükleuslar, amigdalanın santral nükleusu, stria terminalisin bed nükleusu, nükleus akumbens gibi yapılaradır (şekil 1.3.2.). NTS'nin özellikle amigdalaya olan projeksiyonları yoluyla kompleks parsiyel nöbetlerin en sık yerleştiği limbik sistemle bağlantı kurulmuş olur. Bu durum NVS'nin antiepileptik etkisini açıklamada önemli olabilir.

Medullanın medial retiküler formasyonu; n.vagustan ve diğer birçok kaynaktan projeksiyonlar alır ve talamusun nükleus retikularis talami (ventral parçada) ve intralaminar çekirdeklerine (dorsal parçada) yayılır. Retikülotalamik çekirdek diğer talamik çekirdeklerin çoğuna dağılır ve talamokortikal projeksiyonların senkronizasyonu için kuvvetli güç uygular. NVS uygulaması sırasında olasılıkla retiküler aktive edici sistem fonksiyonlarında azalma oluşumuna bağlı, alertness (tetikte olma) durumunda düzelme tespit edilmiştir (Henry, 2002).



Şekil 1.3.2.Visseral vagal afferent projeksiyonların şematik gösterimi (Henry, 2002'den değiştirilerek uyarlanmıştır).

### 1.3.3. Nervus Vagus Stimulasyonunun Muhtemel Etki Mekanizmaları ve Kullanımının Tarihsel Gelişimi

**NVS ve EEG etkileşimi:** Vagus siniri ile EEG arasındaki ilişki ilk olarak gastrik gerilme yada karotit sinusa basınç uygulamasıyla oluşturulan vagal mekanik uyarılmaya bağlı EEG'de yavaşlama olduğunun tespit edilmesiyle ortaya çıkmıştır. Vagus sinirinin elektriksel stimulasyonu ilk olarak 1938'de Bailey ve Bremer tarafından anestezideki kedilerde yapılmış ve EEG'de desenkronizasyon oluşturduğu bulunmuştur. Daha sonraki çalışmalarda NVS'nin merkezi etkisi direkt olarak NTS stimulasyonu yoluyla araştırılmış; 30 Hz ve üzerindeki frekanslarda EEG'de desenkronizasyon, 1-17 Hz arasındaki frekanslarda ise senkronizasyon oluşturduğu tespit edilmiştir. Bu bulgular, epileptik nöbetlerin önlenmesi için vagal stimulasyonun şiddet ve frekansının dikkatli ayarlanması gerektiğini gösterir (Henry, 2002; George ve ark., 2002).

Geçmişte birçok bilim adamı NVS'nin RAS yoluyla kortekste desenkronizasyon oluşturmasının C lifleri aracılığıyla oluştuğunu belirtse de yapılan son çalışmalarda; anestezi altındaki sıçanlarda NVS uygulaması ile bradikardi, apne, hipopne, oluşumu sadece C liflerini uyarabilecek eşik değerlerin üzerinde görülmesi (yüksek stimulyonda) ve insanda epilepsi tedavisi için NVS uygulamaları sırasında parasempatik visseral etkilerin neredeyse hiç görülmemesi, C liflerinin epileptik terapötik dozlarda aktive olmadığını düşündürmektedir (verilen stimulyasyon C liflerinin uyarılma eşığının altındaydı ). 2001 yılında Krahl ve arkadaşları; C liflerini capsaisin ile tahrip ettikten sonra da NVS ile epileptik nöbetlerin baskılanabileceğini ve C liflerinin gerekli olmadığını A ve B liflerinin stimulyasyonu ile antiepileptik etki oluşabildiğini göstermişlerdir (Woodbury ve Woodbury, 1990; Krahl ve ark., 2001).

NVS'nin evoked (uyarılmış) potansiyeller üzerine etkisi de araştırılmış ve insanda uyanıklık EEG'sinde; kortikal potansiyeller oluştururken, uyanıklık EEG'si background ritminde ve güç spektrumunda önemli etki görülmemiştir. Görsel uyarılmış, duysal beyin sapı ve p300 potansiyellerine etkili bulunmamıştır (Hammond ve ark.,1992; Valencia ve ark, 2001).

**NVS ve C-Fos indüksiyonu:** Çekirdek proteini olan Fos, nöronal aktivasyonun göstergesi olarak kullanılabilen erken gen üretir. İnaktive beyinde çok düşük fos seviyeleri vardır. Ratlarda NVS ile vagus çekirdeklerini kapsayan beyin sapı bölgeleri, amigdala, singulat girus, LC, talamus ve hipotalamusun çeşitli bölgelerinde artmış fos aktivitesi görülmüştür. Bu durum NVS'nin muhtemel mekanizmalarından biri olan nöronal aktivasyonu göstermektedir (Naritoku ve ark., 1995; Valencia ve ark, 2001).

**NVS ve serebrospinal sıvı çalışmaları:** Nervus vagus stimulyasyonunun etkilerini açıklayıcı mekanizmalara ışık tutan, serebrospinal sıvıda; amino asid, nörotransmitter ve fosfolipit değişikliklerine neden olduğu tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalarda, NVS uygulanan epileptik hastalarda CSF değişiklikleri incelenmiş ve sonuç olarak CSF'da inhibitör nörotransmitter GABA düzeyinin belirgin olarak arttığı, eksitatör nörotransmitter glutamat ve aspartat düzeylerinin azaldığı, 5HIAA, asparagine, fenilalanin, fosfoetanolamin, alanin, triptofan konsantrasyonlarının

arttığı tespit edilmiştir (Hammond ve ark.,1992; Ben-Menachem, 1995; Valencia ve ark, 2001).

**NVS ve serebral kan akımı çalışmaları;** NVS uygulanan epileptik kişilerde PET, SPECT, fMRI görüntüleme yöntemleri kullanılarak yapılan çalışmalarda; PET ile NVS'den 20 saat sonra yapılan çekimlerde; NTS, trigeminal sinir nükleusu, vagusun dorsal motor nükleusu, nukleus ambiguus, talamus, sağ postsentral girus, limbik sistemin supratentorial yapıları, hipotalamus, insular korteks, inferior serebellar hemisferde serebral kan akımında artış; amigdala, hipokampus, posterior singulat girus gibi bölgelerde azalma tespit edilmiştir. SPECT çalışmalarında; NVS'den 1 saat sonra radyoligant madde verilerek yapılan çekimlerde, sol talamik ve sol paryetal bölgede kan akımında azalma tespit edilmiştir. 2-6 dakika kadar kısa bir sürede NVS'nin etkilerini gösterebilen fonksiyonel MRI çalışmalarında; özellikle vagus sinirinin duysal girdilerini alan orbito-frontal korteks, serebellum, insula, medial ve dorsolateral prefrontal korteks gibi beyin bölgelerinde akut kan akımı artışları tespit edilmiştir (Henry 1999; Henry ve ark., 1998-1999; Lomarev ve ark., 2002; Henry, 2002).

#### **1.3.4. Nervus Vagus Stimulasyonunun Epileptik Nöbetleri Önleyici Özellikleri:**

Hayvan çalışmaları, NVS'nin nöbet önleyici etkilerinin 3 farklı paterne bağlı olduğunu göstermiştir.

**Akut erken etkiler:** Nöbet başlangıcından sonra NVS uygulanmasıyla oluşan ve nöbetin azalmasına neden olan akut zayıf etkileri görülmüştür.

**Akut profilaktik etki:** PTZ gibi nöbet oluşturucu ajanların uygulamasından dakikalar önce başlatılan NVS uygulamasının nöbet oluşumunu önlediği yada azalttığı gösterilmiştir.

**Kronik progresif etki:** Haftalar yada aylar boyunca kronik stimulasyon uygulananlarda, bir günden az stimulasyon (akut) uygulananlara göre total nöbet sayısını daha fazla azalttığı belirtilmektedir.

Hayvan çalışmalarında maksimal elektroşok, sistemik PTZ ve strikinin verilmesiyle oluşturulan deneysel epilepsi modellerinde; nöbet başladıktan sonra

yapılan NVS uygulamasının nöbetleri azaltabileceği hatta durdurabileceği ayrıca bu nöbet önleyici etkilerin sinirin stimüle edildiği periyoddan daha uzun sürdüğü ancak antikonvülzan etkinin 10 dakikanın üzerinde giderek azaldığını bulmuşlardır. Öte yandan uzun süreli ve aralıklı NVS uygulamasının daha fazla antikonvulsan etki oluşturduğunu tespit etmişlerdir. Akut NVS uygulamalarında ise 10-60 Hz frekanslarında, akut nöbet düşürücü etki ve profilaktik etkilerin daha fazla olduğunu göstermişlerdir (Henry, 2002).

### **1.3.5. Nervus Vagus Stimulasyonunun Uygulanışı**

Nervus vagus stimulasyonu terimi; genel olarak hayvan çalışmalarında abdomen ve diyafragma yoluyla ulaşımı da içeren çeşitli stimulasyon tekniklerini belirtmek için kullanılır. Ancak pratikte tüm insan çalışmalarında; sol servikal vagusun , ticari ismi Neurocybernetic prosthesis (NCP) olan aletle stimulasyonunu belirtir. ABD’de dirençli parsiyel epilepsilerin tedavisi için 12 yaş üstü ve yetişkinlerde FDA onayıyla kullanılmaktadır. Avrupa’da ise hem parsiyel hem de jeneralize epilepsilerde kullanıma girmiştir (Amar ve ark., 1998; Uthman, 2000; Heck ve ark., 2002).

#### **NCP sistemini oluşturan parçalar;**

- Akım jeneratörü (pil)
- Bipolar NVS elektrodu
- Program çubuğu (kompitüre bağlanan)
- Deri altına tünel açma aracı
- El ile çalıştırılabilen magnet

NCP pili sol üst göğüs kafesine yerleştirilir ve elektrot kabloları subkutan ilerletilir, spiral elektrot uçları sol vagusa geçirilerek ucunda bulunan iplerle bağlanır. Bilgisayar aracılığıyla ayarlanan program çubuğundaki stimulasyon parametreleri bilgileri, NCP pili içindeki alıcı vasıtasıyla yine buradaki mikro işlemciye aktarılır.

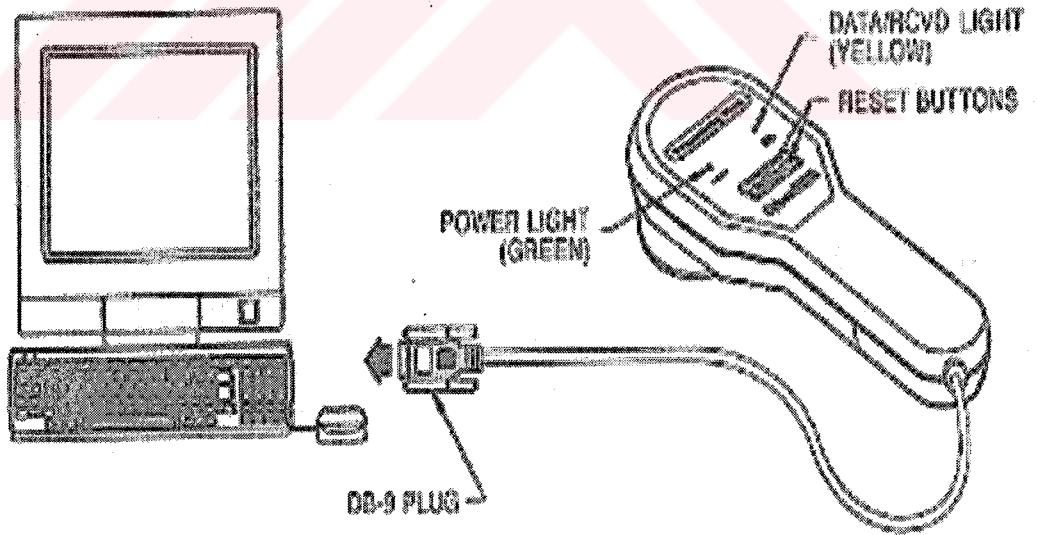
#### **Programlanabilen stimulasyon parametreleri;**

- Çıkış akım şiddeti; 0.25-4 mA arasında ( klinik olarak tolere edilebilen aralık, 0.25 mA’lık artışlarla ayarlanır).
- Sinyal frekansı; 1-145 Hz arası

- Sinyal atım genişliği; 130, 250, 500, 750, 1000  $\mu$ sarası
- Sinyal çalışma süresi (on-time); 7, 14, 21, 30,...(30 sn artışlarla)...270 sn arası
- Sinyal durma süresi (off-time); 0.2, 0.3, 0.5, 0.8, 1.1, 1.8, 3, 5, ... 180 dk arası (5-60 dk arası 5 dk artışlarla, 60-180 dk arası 30 dk artışlarla)

**El magneti;** NVS kullanımı sırasında nöbet gözlenirse ekstra akım verebilme amacıyla kullanılır. Nöbet başlangıcında göğüs duvarındaki pilin üzerine tutup kısaca magnete basılarak kullanılır. Magnetin stimulus parametreleri de önceden ayarlanabilir, bunlar; çıkış akım şiddeti, sinyal atım genişliği ve sinyal çalışma süresidir.

NCP sistemi yerleştirildikten sonra; Avrupa'da postop 1. gün, ABD'de ise 2 hafta sonra kullanılmaya başlanır, çıkış akımı 0.25 mA artışlarla yükseltilir, arttırma prosedürü ve stimülasyon parametreleri bireysel toleransa bağlı ayarlanır.



**Şekil 1.3.3.** NCP sisteminin şematik gösterimi.



Şekil 1.3.4. Araştırmamızda kullanılan NCP sistemi.

**Genellikle kullanılan rutin uygulama;**

- Çıkış akım şiddeti; genelde toleransa göre ayarlanır (yaklaşık 1.25 mA)
- Sinyal frekansı; 30 Hz
- Sinyal atım genişliği; 500  $\mu$ s
- Sinyal çalışma süresi; 30 sn
- Sinyal durma süresi; 5 dk

**Düşük stimülasyon grubunda kullanılan değerler ise;**

- Sinyal frekansı; 1 Hz
- Sinyal atım genişliği; 130  $\mu$ s
- Sinyal çalışma süresi; 30 sn
- Sinyal durma süresi; 180 dk (Amar ve ark., 1998; Uthman, 2000; Heck ve ark., 2002)

### **1.3.6. NVS Tedavisinde Görülebilecek Yan Etkiler**

Kronik NVS uygulaması sırasında yan etki görülme sıklığı %2 olarak kabul edilir. Bunlar; ses kısıklığı (%38), göğüs ağrısı (%13), öksürük (%9), nefes darlığı (%5.5), parestezi (%5), bulantı (%3.5), kulak çınlaması (%3.5), diş ağrısı (%3.5), ateş (%3.5), menstürasyon bozukluğu (%3.5), ishal (%2), yutma zorluğu, yüz kızarması şeklinde sıralanabilir (Fisher ve ark., 1997).



#### 1.4. ADENOZİN

Adenozin MSS'de yaygın olarak bulunan genellikle inhibitör etki gösteren bir nöromodülatördür. Adenozinin etki mekanizmalarını araştıran ilk çalışmalarda, beyine lokal uygulanımının bazı beyin bölgelerindeki spontan nöronal ateşlemeleri inhibe ettiği gösterilmiştir (Dunwiddie, 1985; Kostopoulos ve ark., 1989). Adenozinin diğer bir etkisi olarak; kortikal yapılarda eksitatör sinaptik iletiyi baskıladığı, fakat inhibisyonun derecesinin bölgesel farklılıklar gösterdiği tespit edilmiştir. Adenozin GABA'nın sinir terminalinden salınımından çok, GABA-erjik internöronların ateşlemelerinin kontrolünde etkili olmaktadır. Bu internöronlar eksitatör sinapslar sayesinde indirekt olarak aktive edilirler, adenozin bu eksitatör nöronal sistemler üzerinden depresan etki oluşturarak fonksiyon görür (Broad ve Fredholm, 1996). Adenozinin diğer bir etkisi de post sinaptik  $K^+$  kanallarının açılmasını sağlayarak hiperpolarizasyon oluşturabilmesidir. Buna ilaveten, adenozin voltaj bağımlı  $Ca^{+2}$  kanallarını inhibe ederek, aksiyon potansiyeli süresini kısaltır ve salınan nörotransmitter miktarını azaltır. Ayrıca adenozinin vazodilatator, metabolizmayı azaltıcı, antiinflamator ve serbest radikal oluşumunu azaltıcı etkileri olduğu gösterilmiştir (von Lubitz, 1999; Mendonca ve ark., 2000).

Adenozinin MSS'de  $A_1$ ,  $A_{2A}$ ,  $A_{2B}$ ,  $A_3$  reseptörleri tanımlanmıştır. Adenozin reseptörlerinin epilepsi ve iskemi gibi durumlarda up yada down regulasyonu olduğu bilinmektedir. PTZ nöbetlerinden sonra nöbet oluşumuna aracılık eden bazı beyin bölgelerinde  $A_1$  reseptörlerinin upregulasyonunun olduğu gösterilmiştir. Bu artışın nöbet gelişimiyle ilgili alanlarda gözlenmesi adenozinin nöbet engelleyici etkisi ile ilişkili olduğunu düşündürmüştür. Özellikle  $A_1$  reseptörleri epileptik nöbet gelişiminden sorumlu beyin sapı, hipokampus, talamus, korteks gibi yapılarda bulunmaktadır. Adenozin antikonvulsif etkisini (serebral iskemide de) merkezi presinaptik  $A_1$  reseptörleri aracılığıyla eksitatör aminoasitlerin ve bazı nörotransmitterlerin salınımını engelleyerek gösterir. Buna ilaveten adenozin postsinaptik  $A_1$  reseptörlerini de aktive eder ve  $K^+$  kanallarının açılmasını sağlar. Hipokampal dilimlerde yapılan deneylerde adenozin  $A_1$  reseptörlerinin aspartat ve glutamat salınımını azalttığı gösterilmiştir. Yapılan başka bir deneyde de

adenozinin, kan-beyin bariyerinden glutamat ve aspartat geçişini azalttığı belirtilmiştir (Pagonopoulou ve ark., 1998; von Lubitz, 1999; Riberio ve ark.,2003).

Serebral iskemi, kafa travması ve epileptik nöbetler gibi patolojilerde, adenzin konsantrasyonunun normal duruma göre 30-100 kat arttığı tespit edilmiştir. Fokal serebral iskemide serebral kan akımının 25 ml/100g/dk gibi bir değere düşmesinin, intraserebral adenzin konsantrasyonunu yükselttiği gösterilmiştir (von Lubitz, 1999).

Adenzinin nöroprotektif etkisiyle ilgili invitro ve invivo olarak yapılan çalışmalar sonunda oluşan genel kanı adenzinin nöroprotektif etkili olduğudur. Ancak adenzinin reseptör agonistlerinin farklı etkileri olabildiği gibi, akut yada kronik uygulanmasına bağlı olarak da değişik etkiler meydana gelebilmektedir. Invivo çalışmalarda adenzinin hemodinamik etkileri de işe karıştığı için daha kompleks mekanizmalar etkili olmaktadır. Örneğin adenzinin hipotansiyon oluşturması iskemi sırasında bozulan kan akımını daha da azaltarak nöroprotektif etkinliğini olumsuz etkileyebilmekte fakat serebral damarlarda vazodilatasyon oluşturması, vücut ısısını azaltması, damar endotel hücrelerinde lökosit adezyon ve aktivasyonunu önlemesi nöroprotektif etkinliğin daha güçlü olmasını sağlayabilmektedir. Tüm bunların yanında serebral iskemiyeye sekonder oluşan konvulsiyonları önlediği için de nöronal hasarı azaltmaktadır (von Lubitz, 1999; Mendonca ve ark., 2000).

Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda; global ve fokal serebral iskemik hayvan modellerinde akut olarak adenzin, adenzin geri alım inhibitörleri ve A<sub>1</sub> reseptör agonistlerinin birçoğunun kullanımının nöronal hasarı azalttığı, antagonistlerinin ise hasarı agreve ettiği infarkt alan ölçümü, nörolojik skora, çeşitli boyama yöntemleri kullanarak hücre sayımı gibi değişik yöntemlerle gösterilmiştir. Adenzin A<sub>2A</sub> reseptör agonistleriyle yapılan çalışmaların sonuçları çelişkili olmakla beraber genelde iskemik hasarı artırdıkları görülmüş, A<sub>2A</sub> reseptör antagonistleri ise nöroprotektif etkili bulunmuştur. A<sub>3</sub> reseptör agonistleri ise hücre kültürlerinde yapılan (invitro) çalışmalarda; düşük dozda nöroprotektif etkiliyken yüksek dozda hücre ölümünü arttırmıştır. Invivo çalışmalarda ise A<sub>3</sub> reseptör agonistlerinin akut kullanımının serebral iskemik hasarı arttırdığı tespit edilmiştir. (von Lubitz, 1999; Mendonca ve ark., 2000).

## 1.5. LİNOLEİK ASİT

Esansiyel yağ asitleri membran yapısının akışkanlığı ve eikasanoidlerin sentezi için gereklidir. İnsanlar için esansiyel olan iki yağ asidinden birisi prostaglandinlerin öncül maddesi olan linoleik asit, diğeri linolenik asittir (Champe ve Harvey, 2000).

Linoleik asidin de içinde bulunduğu poliansature yağ asitlerinin (PUFA), nöronal hasarı düzeltici etkisini; glutamerjik sinaptik aşırımı inhibe etme yoluyla EPSP oluşumunu önleyerek ve yeni klonlanan bir K<sup>+</sup> kanalı olan 2-P domain kanallarını (TREK-1, TREK-2, TRAAK) pre ve post sinaptik olarak aktive ederek gerçekleştirdiği düşünülmektedir. Ayrıca PUFA'lar kan-beyin bariyerini rahatlıkla geçebilme yeteneğine sahiptirler. Poliansature yağ asitlerinin, son yıllarda yapılan çalışmalarda epileptik nöbetler, beyin iskemisi, depresyon, bipolar bozukluk ve çeşitli koroner hastalıklarda faydalı etkilere sahip olduğunu gösteren veriler yayınlanmıştır (Lauritzen ve ark., 2000; Blondeau ve ark., 2002).

Bu konuda daha önce yapılan deneysel çalışmalarda; fare serebellar nöron kültürlerinde oluşturulan invitro eksisotoksite modellerinde poliansature yağ asitlerinin nöronal koruyucu etki oluşturduğu tespit edilmiştir (Abele ve Miller, 1990; Lauritzen ve ark., 2000). Sıçanlarda geçici global iskemide verilen linoleik asidin hipokampusun CA1 bölgesindeki nöronal kaybını büyük oranda engellediği bildirilmiştir. Ayrıca linoleik asidin, kainik asit ile oluşturulan nöbetler sırasında oluşan hipokampal hasarı da önlediği ve epileptiform aktivitenin engellendiği tespit edilmiştir (Lauritzen, 2000). Başka bir epilepsi modeli olan kortikal stimülasyon modeli oluşturulan sıçanlarda çeşitli poliansature yağ asitleri verilerek yapılan bir araştırmada PUFA'ların antikonvulsan etkili olduğu gösterilmiştir (Voskuyl ve ark., 1998). PUFA'ların uzun süreli etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada PUFA verildikten 3 gün sonra nöroprotektif etkili HSP70 ekspresyonunun arttığı, iskemi ve epilepside artan proapoptotik Bax proteinini azaldığı tespit edilmiştir. Bu yolla epilepsi ve beyin iskemisinde oluşan nörodejenerasyona karşı PUFA'nın güçlü bir tolerans sağlayabileceği söylenmektedir (Blondeau ve ark., 2002).

## 2. AMAÇ VE KAPSAM

Serebral iskemi ve epilepsi toplumda sıklıkla rastlanan iki patolojidir. Günümüzde bu konuda etkin tedavi seçenekleri oluşturmak için yoğun deneysel ve klinik araştırmalar yapılmaktadır. Özellikle serebral iskemi tedavisinde; hücre kültürü, beyin kesitleri ve hayvan modelleri üzerinde denenen çeşitli ilaçların infarkt alanını azalttığı ve nöronal koruma sağladığı gösterilmesine rağmen, bunların insan tedavisinde pratikte kullanımında aynı derecede başarı elde edilememiştir. Bu durumdan, ilaçların sistemik yan etkileri ve kan-beyin bariyerinden yeterince geçememeleri sorumlu tutulmuştur.

Epilepside ise; son yıllarda birçok yeni antiepileptik kullanıma girmiş olmakla birlikte ilaç tedavisine yanıt vermeyen hastaların dağılımında anlamlı düzeyde bir değişiklik olmadığı görülmüştür, öte yandan bu ilaçların hiçbiri epilepsi oluşumu tamamen önlemede etkili olamamakta sadece semptomatik tedavi sağlanabilmektedir. Dolayısıyla, epilepsi tedavisinde özgün fikirler ve yeni kavramlara ihtiyaç vardır (Bora ve Taşkapılıoğlu, 2003).

Serebral iskemi ve epilepsi MSS'yi etkileyen farklı patolojiler olmasına rağmen beyinde morfolojik ve bölgesel olarak benzer hasarlara neden olurlar. Her iki patolojik durum da nöronal hasara yol açan en önemli faktör olarak eksitotoksik hipotez gösterilmektedir.

Epilepside 10-30 sn'de fosfokreatin, glukoz ve glukojen düşer, laktik asit artar, oksijen kullanımı 2.5-4 kat artar, amonyak artışı oluşur ve inhibitör nörotransmitter olan GABA seviyeleri azalır. 30 dk'nın altındaki nöbetlerde metabolik değişikliklerin hızla normale döndüğü ve kalıcı hasar görülmediği saptanmıştır. Daha uzun süren nöbetlerde, serebral patoloji genellikle korteks, hipokampus, serebellum ve talamusta görülmektedir. MCAO, 30 dk'nın üzerinde ise bir takım doku hasarı oluşturur, ancak 60 dakikanın üzerinde infarkta sebep olur. Status epileptikusta ise nöronal nekroz oluşması için gerekli minimal sürenin 45-60 dk olduğu saptanmıştır. Epilepsi ve global iskeminin beyinde oluşturduğu bölgesel hasar incelendiğinde; NMDA reseptörleri bakımından zengin olan hipokampal CA1 bölgesi pramidial nöronlarının her iki patolojide de ortak hedef olduğu saptanmıştır.

NMDA, beyinde eksitatör iletinin %75'inden sorumlu olan glutamat ile aktive olarak nöron içine  $Ca^{++}$  ve  $Na^+$  girişine sebep olan ligand kapılı iyon kanallarıdır. Hem iskemi hem de epilepside erken lezyon dentritlerde başlamaktadır. Bu bulgu erken lezyonun sebebi olarak eksitatör amino asitlerin sorumlu olduğunu düşündürür. Çünkü inhibitör sinapslar somada yada somaya yakın yerleşim gösterirken eksitatör sinapslar dentritlerde bulunmaktadır (Siesjö, 1992; Üzüm, 1997; Leker R. and Shohami, 2002).

Absans epilepsi ise konvülsif epilepsilerden tamamen farklı mekanizmalarla oluşmaktadır. SWD oluşumunda talamokortikal yapıların sorumlu olduğu ve RTN'un bu osilasyonların oluşumunda pace-maker aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Nörepinefrin, dopamin, glutamat gibi birçok nörotransmitterin SWD oluşumuna katıldığı görülse de, bu osilasyonların altında yatan mekanizmanın artmış GABA-erjik inhibisyon olduğu gösterilmiştir (Van Luijetelaar ve ark., 1995; Zhang ve ark., 1997; Avanzini ve ark., 2000).

Epilepsi ve serebral iskemide uygulanan tedavi protokollerine bakıldığında da, birbirine benzer yaklaşımlar içerdiği gözlenebilir (absans epilepsi hariç tutulursa). Bunlara, NMDA ve AMPA reseptör antagonistleri, kalsiyum antagonistleri, adenzin analogları, antioksidan ajanlar örnek gösterilebilir.

Bütün bu bilgiler değerlendirildiğinde ve NVS, adenzin, linoleik asidin etki mekanizmaları da göz önüne alındığında; serebral iskemi ve epileptik hasarın önlenmesinde bu tedavi yaklaşımlarının etkili olabileceğini düşünülerek aşağıdaki konuların araştırılması planlandı;

1) NVS'nin antiepileptik etkinliğinin adenzin ve linoleik asit ile karşılaştırılması ve özellikle nonkonvulsif epilepsilerdeki etkisinin saptanması. Bu yöntemin antikonvulsif etkinliğini belirlemek için, PTZ nöbetlerinde gözlenen EEG parametreleri üzerine etkisini araştırmanın yanısıra NVS'nin etkisiyle ilgili yeterli çalışma olmayan nonkonvulsif epilepside, NVS'nin inhibitör/eksitatör nörotransmitter dengesini nasıl değiştirdiğine bağlı olarak SWD oluşumu üzerindeki etkilerinin saptanması.

2) NVS'nin muhtemel etki mekanizmaları düşünüldüğünde ve epilepsi-serebral iskemi nöronal hasar mekanizmaları benzerliği göz önüne alındığında serebral

iskemide de etkili olabileceği tahmin edilebilir. Çalışmamız bu konuda yeni yaklaşımlar sağlamayı amaçlamaktadır.

3) Araştırmada kullanılan diğer bir ajan adenzindir. Serebral iskemi ve epilepside adenzinerjik agonist ve antagonistlerinin kullanımıyla ilgili pek çok araştırma bulunmaktadır. Bu çalışmalar sonucunda adenzin ve reseptör agonistlerinin genelde nöroprotektif etki gösterdiği, konvülsif nöbetleri azalttığı, ancak reseptör alt tiplerine göre farklı etkiler oluşabildiği gözlemlenmiştir. Buna rağmen absans nöbetlere etkisini gösteren yeterli çalışma bulunmamaktadır. Bizim çalışmamızda adenzinin tüm bu etkilerine katkıda bulunma ayrıca NVS ve linoleik asidin etkileriyle kıyaslama yapılmış düşülmüştür.

4) Linoleik asidin ise; Epilepsi ve serebral iskemide kullanımı henüz çok yenidir. Konvülsif nöbetleri ve global serebral iskemide nöronal hasarı azalttığını gösteren bazı çalışmalar olmasına rağmen, fokal serebral iskemi ve absans epilepsiler üzerine etkileri gösterilmemiştir. Ayrıca nöroprotektif etki mekanizmalarını açıklayıcı yeterince çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamız bu konularda yeni yaklaşımlarda bulunmayı amaçlanmaktadır.

5) Bu çalışmamızda; NVS, linoleik asit ve adenzinin MCAO/R modelinde iskemik hasara etkileri, infarkt alanı ölçümleri ve nörolojik skorlama yapılarak ayrıca iskemi-reperfüzyonda serbest radikallere bağlı oluşan lipid peroksidasyon ürünü olan MDA ve antioksidan enzimler olan SOD ve GSH düzeylerine bakılarak araştırılacaktır. Bu yaklaşım hem MCAO/R modelinde NVS, linoleik asit ve adenzinin etkisini gösterme hem de etki mekanizmalarının aydınlatılmasına katkıda bulunmayı amaçlamaktadır.

**Bu amaçlarla,**

\* İskemi-reperfüzyon gruplarında; NVS, adenzin ve linoleik asidin nörolojik skor, infarkt alanı ve SOD, MDA, GSH düzeyleri üzerine etkilerine bakılacak,

\* Epilepsi grupları ise konvülsif ve nonkonvülsif epilepsi grupları olarak ikiye ayrılıp; NVS, adenzin, linoleik asidin absans epilepsi geçiren sıçanlarda, SWD süre ve sayısı üzerine etkisini belirleme yanında, PTZ ile oluşturulan konvülsif nöbetlerin onset latansı ve şiddeti üzerine nasıl etki yaptığı araştırılacaktır.

### 3. MATERYAL VE METOD

Çalışmamızda; Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Tıp Araştırma Laboratuvarında üretilen, 200-300 gr ağırlığında, erkek, Wistar Albino sıçanlar ile WAG/Rij ırkı epileptik sıçanlar kullanıldı. Hayvanlar deney için gerekli yaşa gelinceye kadar sabit ısıli bir odada ( $20\pm3$  °C), 12 saat aydınlık 12 saat karanlık sağlayan fotoelektrik koşullarda tutuldular. Nonkonvulsif epilepsi grubunda hepsi aynı yaşta 9 aylık sıçanlar kullanıldı. Tüm hayvanların yiyecek ve su alımları serbest bırakıldı.

**Çalışmamız, epilepsi ve geçici fokal serebral iskemi grubu olarak 2 ana kısma ayrıldı;**

#### **EPİLEPSİ GRUBU**

##### **1- Konvulsif Epilepsi Modeli Oluşturulan Deney Grupları**

- A- PTZ (60 mg/kg) Uygulanan Grup (n=7)
- B- PTZ+ NVS Uygulaması Yapılan Grup (n=7)
- C- PTZ+ Linoleik Asit Verilen Grup (n=7)
- D- PTZ+ Adenozin Verilen Grup (n=7)

##### **2- Nonkonvulsif Epilepsi (Absans) Modeli Oluşturulan Deney Grupları**

- A- NVS Grubu (n=7)
- B- Linoleik Asit Grubu (n=7)
- C- Adenozin Grubu (n=7)

#### **SEREBRAL İSKEMİ - REPERFÜZYON GRUBU**

- 1- İskemi Oluşturulan Grup (n=7)
- 2- İskemi+ NVS Uygulaması Yapılan Grup (n=7)
- 3- İskemi+Linoleik Asit Verilen Grup (n=7)
- 4- İskemi + Adenozin Verilen Grup (n=7)

Yukarıdaki deney gruplarından herbiri;

A- Nörolojik Skorlama ve İnfarkt Alanı Değerlendirmesi

B- MDA, SOD, GSH parametreleri açısından değerlendirilmek üzere 2 alt gruba ayrıldı.

### 3.1. EPİLEPSİ GRUPLARI

#### 3.1.1. NVS Elektrodu Takılması ve Stimulatörün Kullanımı

Hafif dietil eter anestezisi altında, sırt üstü pozisyonunda cerrahi masaya yatırılan sıçanın boyun bölgesi tıraşlandı ve boyun orta hattan 3 cm'lik vertikal bir insizyon yapıldı. Cilt, cilt altı ve boyun yüzeysel fasiyası geçildi, vena jugularis eksterna ve interna görüldü, timus ekarte edildi. Sternocleidomastoidus kası lateralde, trakea medialde olacak şekilde diseksiyon yapılarak damar sinir paketi ortaya çıkarıldı. Arteria carotis communis'in hemen lateralinde nervus vagus görüldü ve internal-eksternal karotit arterlerin ayırım yerine kadar diseke edilerek ortaya kondu (Şekil 3.1.1.). Nervus vagus stimulatörünün spiral elektrodu sol vagusu saracak şekilde yerleştirildi (Şekil 3.1.2.), (NCP, model 100, cyberonics, inc., Webster, TX, USA). Elektrodun kablosu cilt altından tünel açılarak taşındı ve enseden çıkarıldı. Cilt altına ve deriye tespit edildi (Şekil 3.1.3.). Bu işlemden sonra hayvanlar bir gün dinlenmeye bırakıldı (Amar ve ark., 1998).



Şekil 3.1.1. Nervus vagusun izolasyonu





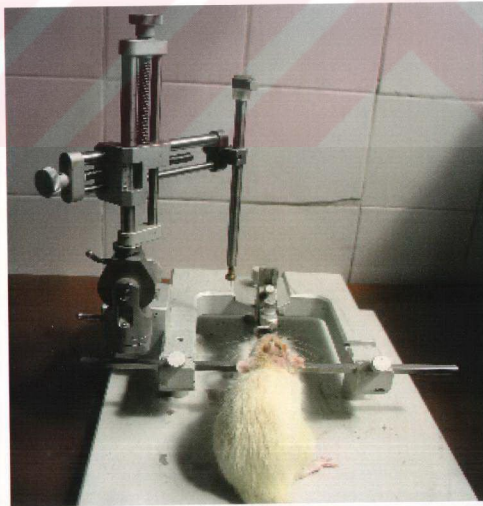
**Şekil 3.1.2.** Nervus vagusa spiral elektrotların yerleştirilmesi



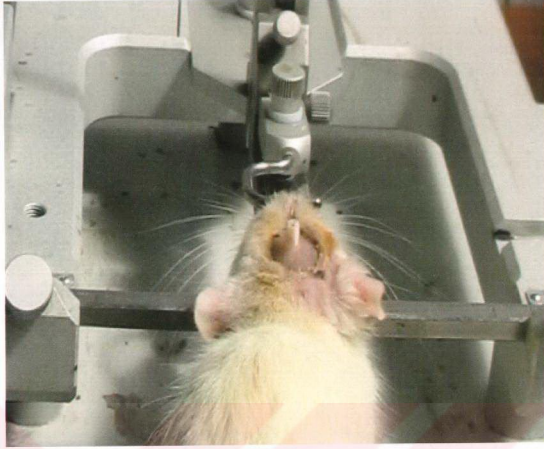
**Şekil 3.1.3.** NCP Spiral elektrotları yerleştirildikten sonra elektrot kablosunun cilt altından ilerletilip hayvanın ensesinden çıkartılması.

### 3.1.2. EEG Kayıt Elektrodu Takılması

Epilepsi gruplarında, EEG değerlendirmesi yapabilmek için sıçanların kafatasına kronik olarak bipolar elektrot (Plastic Products Company MS 333/2A) yerleştirildi. Bu amaçla; sıçanlar, ketamin (100 mg/kg, İP) ve klorpromazin (1mg/kg, İP) ile anestezi altına alındıktan sonra steriotaksik alete (Stoelting Model 15600) yerleştirilerek kulakları ve dişlerinden sabitleştirildi (şekil 3.1.4.). Kafa derileri açılarak lambda ve bregma ortaya çıkarıldı. Kayıt elektrotları; frontal bölge koordinatları; 2 mm anterior ve 3.5 mm lateral, pariyetal bölge koordinatları; 6 mm posteriyor ve 4 mm lateral, referans elektrot ise serebellum üzerinde olacak şekilde kortekse yerleştirildi ve dental akrilik yardımıyla sabitlendi (şekil 3.1.5.), (Przewlocka ve ark., 1998). Bu işlem sonrası hayvanlar 1 hafta süreyle dinlenmeye bırakıldı. EEG kayıtları; EEG100B, Biopac System kullanılarak yapıldı (şekil 3.1.6.).



şekil 3.1.4. Çalışmada kullanılan steriotaksi cihazı (Stoelting Model 15600)



**Şekil 3.1.5.** Steriotaksi aleti yardımı ile EEG kayıt elektrodu yerleştirilmesi



**Şekil 3.1.6.** NVS uygulanan ve EEG elektrodu yerleştirilen hayvanda, EEG100B-Biopac System ile EEG kayıtlarının alınması.

### 3.1.3. Epileptik nöbet aktivitesinin değerlendirilmesi

60 mg/kg intraperitoneal (İP) PTZ injeksiyonunu takiben 30 dakika boyunca epileptik nöbet aktivitesi; nöbet başlangıç süresi, nöbet şiddeti ve toplam nöbet süresi açısından değerlendirildi. Jeneralize nöbet şiddetinin değerlendirilmesi için Mares ve arkadaşlarının tanımladıkları skala kullanıldı, buna göre;

- 0- davranış değişikliği yok,
- 0.5- atipik davranış,
- 1- izole miyoklonik jerkler,
- 2- atipik minimal nöbetler,
- 3- minimal nöbetler (doğrulma refleksinin korunduğu),
- 4- major nöbetler (tonik fazın olmadığı),
- 5- jeneralize tam major tonik-klonik nöbetler.

Anormal davranış değişiklikleri, izole miyoklonik jerkler, fasiyal ve ön üye kaslarının klonuslarına eşlik eden klonik nöbetler; **minimal PTZ nöbetleri olarak (minör nöbet)** değerlendirildi. Takibinde başlayan baş, boyun, kuyruk ekstansiyonu ile birlikte doğrulma refleksinin kaybı; **tonik fazsız major PTZ nöbeti olarak** ve tonik fleksiyon-ekstansiyonu takiben uzamış klonuslar da **komple major nöbet** olarak (**major nöbet**) değerlendirildi (Mares ve ark., 1990).

Nöbet başlangıç süresi (onset) PTZ uygulamasından sonra ilk miyoklonik jerkin görüldüğü sürenin ölçülmesiyle tespit edildi. Jeneralize tonik-klonik nöbet latansı major nöbetin ortaya çıktığı sürenin kaydedilmesi ile belirlendi. Nöbet süresi ise oluşan major nöbetin süresi tespit edilerek belirlendi.

### 3.1.4. Deney Grupları

Tüm gruplar 7 sıçandan oluşturuldu.

#### 1) Konvulsif Epilepsi Modeli Oluşturulan Deney Grupları

**A- PTZ Uygulanan Grup (n=7):** 60 mg/kg İP PTZ injeksiyonunu takiben 30 dakika boyunca epileptik nöbet aktivitesi; ilk myoklonik jerkin başlangıç süresi (onset), major nöbet başlangıç süresi ve toplam major nöbet süresi açısından değerlendirildi.

**B- PTZ + NVS Uygulaması Yapılan Grup (n=7):** Daha önceden EEG elektrodu ve NVS spiral elektrotları takılan sıçanlarda, NVS sistemi; akım şiddeti 1 mA, frekans 20 Hz, off-time (pilin kapalı kalma süresi) 0.2 dakika, on time (pilin çalıştığı süre) 30 saniye ve atım genişliği (pulse width) 500µs olacak şekilde programlanarak çalıştırılmaya başlandı. 30 dakika sonra sıçanlara 60 mg/kg, İP, PTZ verilerek EEG kayıtları başlatıldı ve 30 dakika boyunca epileptik nöbet aktivitesi değerlendirildi (Krahl ve ark., 2001; Krahl ve ark., 2003).

**C- PTZ + Linoleik Asit Verilen Grup (n=7):** 100 nmol/kg, İV, linoleik asit verilen sıçanlara 30 dakika sonra 60 mg/kg, İP, PTZ verilerek 30 dakika boyunca nöbet aktivitesi değerlendirildi (Lauritzen ve ark., 2000).

**D- PTZ + Adenozin Verilen Grup (n=7):** 500 mg/kg, İP, Adenozin verilen sıçanlara 15 dakika sonra 60 mg/kg, İP, PTZ verilerek 30 dakika boyunca nöbet aktivitesi değerlendirildi (Gupta ve ark., 2002).

#### 2) Nonkonvulsif Epilepsi (Absans) Modelinde Oluşturulan Deney Grupları

Tüm sıçanlara EEG elektrodu takıldıktan sonra 1 haftalık iyileşme süresini takiben deney koşullarına adaptasyonunu sağlamak için önce deneme kayıtları alındı daha sonra deneylere başlandı. Tüm gruplar 7 sıçandan oluşturuldu.

##### **Grup 1: NVS Yapılan Deney Grubu (n=7)**

Sadece EEG elektrodu takılmış ama NVS elektrodu takılmamış WAG/Rij ırkı sıçanların sabah 9-10 arasında 1 saatlik bazal EEG kayıtları alındı. Bu hayvanlara NVS spiral elektrotları takıldıktan sonra bir günlük dinlenme periyodunu takiben

yine sabah 9-10 arası NVS pili çalıştırılmadan EEG kayıtları alındı (sham gr.). Daha önceden EEG elektrodu ve NVS spiral elektrotları takılan aynı sıçanlarda, NVS sistemi; akım şiddeti 1 mA, frekans 20 Hz, off-time (pilin kapalı kalma süresi) 0.2 dakika, on time (pilin çalıştığı süre) 30 saniye ve atım genişliği (pulse width) 500 µs olacak şekilde proglamlanarak EEG kaydından 30 dakika önce başlatılmak kaydıyla sabah 9-10 arası çalıştırıldı ve EEG kaydı tamamlandı (NVS uygulamasının etkilerinin kesildikten 10 dk'dan sonra giderek azaldığı bilindiği için 6 ve 24 saatlik kayıtlara gerek duyulmadı).

### **Grup 2: Linoleik Asit Verilen Deney Grubu (n=7)**

Kontrol amaçlı kullanılmak üzere sadece EEG elektrodu takılmış WAG/Rij ırkı sıçanlar sabah 9-10 arasında EEG kayıtları alındı. Deney grubunda ise; 100 nmol/kg, İV, linoleik asit verilen sıçanlara 30 dakika sonra EEG kayıtları alınmaya başlandı ve 1 saat devam ettirildi. Ayrıca 6. ve 24. saatlerde de 1 saatlik takip kayıtları alındı (sham grubunda (n=7) aynı işlemler eşit hacimde Linoleik asit çözücüsü verilerek uygulandı).

### **Grup 3: Adenozin Verilen Deney Grubu**

Yine aynı şekilde bazal EEG kaydedildikten sonra ertesi günü aynı sıçanlara İP 500 mg/kg, adenozin uygulandıktan 15 dakika sonra sabah 9-10 arası EEG kayıtları alındı, ayrıca 6. ve 24. saatlerde de bir saatlik takip kayıtları alındı (sham grubunda (n=7) aynı işlemler eşit hacimde adenozin çözücüsü verilerek uygulandı).

**İLAÇLAR:** Adenozin (Sigma-Aldrich chemie, Germany), %8 tween-20 solüsyonunda çözdürülerek uygulandı. Linoleik asit (Sigma-Aldrich chemie, Germany) ise, etanolde çözdürülüp yeterli konsantrasyonda % 0.9'luk serum fizyolojik ile dilüe edilerek (% 0.05'lik etanol olacak şekilde), PTZ (Sigma-Aldrich chemie, Germany) distile suda gerekli konsantrasyonda çözdürülerek uygulandı.

**İSTATİSTİKLER:** Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart hata (SE) olarak ifade edildi.

Verilerin istatistiksel değerlendirmesi **konvulsif epilepsi grubunda;** tedavi (deney) grupları-PTZ grubu arasında minör nöbet başlangıç süresi (onset latansı) açısından **Mann-Whitney U testi** ile değerlendirilirken, JTKK (major nöbet) geçiren sıçan sayısına etkileri **Ki-kare testi** yapılarak değerlendirildi. Major nöbet latansı ve

toplam major nöbet süresindeki değişiklikler ise major nöbete giren sıçan sayısı istatistik için yetersiz olduğundan dolayı değerlendirilmeleri yapılmadı.

**NVS-Adenozin-Linoleik asit uygulamalarının etkinlikleri arasında** istatistiksel farklılık olup olmadığı; **Kruskal-Wallis varyans analizi** ile değerlendirildi.

**Non-konvulsif epilepsi grubunda ise;** tedaviye bağlı olarak oluşan SWD sayı ve sürelerindeki değişiklikler, **PTZ verilen grup ile PTZ-NVS uygulanan grup arasında Wilcoxon-Signed Ranks testi** ile değerlendirildi (sadece 1.satteki kayıtlarla karşılaştırıldığı için). **PTZ grubu ile Adenozin+PTZ ve Linoleik asit+PTZ gruplarının bazal-1.sa-6.sa-24.saatlerdeki kayıtları arasındaki** istatistiksel farklılığı belirlemek için **Friedman testi** kullanıldı. Takibinde hangi saatler arasında farklılığın olduğunu tespit edebilmek için **Bonferroni düzeltilmiş Wilcoxon Signed Ranks testi** kullanıldı.

**NVS-Adenozin-Linoleik asit uygulamalarının etkinlikleri arasında** istatistiksel farklılık olup olmadığı; **Friedman testi** ile değerlendirildikten sonra **Bonferroni düzeltilmiş Wilcoxon Signed Ranks testi** ile de hangi gruplar arasında fark olduğu tespit edildi.

Tüm gruplarda  $P < 0.05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## **3.2. SEREBRAL İSKEMİ VE REPERFÜZYON GRUPLARI**

### **3.2.1. Geçici Fokal Serebral İskemi Oluşturulması**

Geçici fokal iskemi, intraluminal iplik (sture) modeli ile gerçekleştirildi. Aynen NCP elektrotları yerleştirilmesinde uygulanan cerrahi işlemlerle, deney hayvanlarının sağ karotit kommunis arteri (ACC) ve vagus siniri izole edildi, sağ karotit bifurkasyonu ve internal-eksternal karotit arterler ortaya çıkarıldı. Ucu hafifçe ısıtılarak küntleştirilen 4-0 propilen iplik, ACC'ye tweezer yardımıyla açılan aralıktan sokularak yavaşça ilerletildi. Yaklaşık 17-18 mm ilerletildiğinde ipin daha fazla gitmediği görüldü. Bu şekilde A. Karotis İnterna (ACİ) ve A. Serebri Anterior'dan (ACA) gelecek kan akımı engellenerek MCA alanında iskemi meydana getirildi. ACİ üzerine mikrovasküler klip konularak propilen ipliğin geri kaçması engellendi ve bu şekilde 90 dk tutuldu. Bu süre sonunda klip kaldırılıp iplik geri çekilerek ACC bağlandı ve ACA'dan tekrar kan akımının sağlanması ile reperfüzyon sağlandı. İşlem sonrası cerrahi bölge 2-0 ipek iplik ile dikilerek kapatıldı (Koizumi ve ark., 1986; Katsuyoshi ve ark., 2003).

### **3.2.2. TTC Boyaması Yapılması ve İnfarkt Alanı Hesaplaması**

İnfarkt alan ölçümü için soğutulmuş beyinler frontal bölgeden başlayarak 2 mm kalınlığında koronal dilimler ayrıldı. Kesitler % 1'lik 2,3,5- Triphenyl tetrazolium chlorid (TTC) boyası içinde 37 °C de, karanlıkta, 20 dk bekletildi (TTC boyası, pH 7.4 olan fosfat tamponu içinde çözdürülerek hazırlandı). TTC boyası iskemik alanlarda tutmadı, diğer alanları ise kırmızıya boyadı (Okuno, 2001). Digital kamera ile çekilen fotoğraflar bilgisayara aktarıldı. Adobe photoshop programı yardımıyla infarkt alanlarının ve sağ hemisferin total piksel değerleri ayrı ayrı hesaplandı, infarkt alanı sağ hemisferin tüm alanına oranlanıp yüzde (%) olarak ifade edildi (Wang, 2000).



### 3.2.3. Nörolojik skorlama

Nörolojik bozukluklar, MCA oklüzyonundan 24 saat sonra Longa ve arkadaşlarının (1989) tanımladığı skorlama ile değerlendirildi. Bu skorlama şöyledir; 0: normal, 1: sol pençe hareketlerinde yetersizlik, 2: sola dönme hareketi olması, 3: sola yıkılma olması, 4: kendiliğinden yürüyememe ve bilinç düzeyinde bozulma görülmesi.

### 3.2.4. MDA, SOD ve GSH Tayinlerinin Yapılması

Alındıktan sonra -80 °C'de saklanan doku örnekleri derin dondurucudan çıkarılıp, % 0.9'luk NaCl içinde yıkanarak buzu çözdürüldü ve işlemler sırasında buz içinde muhafaza edildi. Dokular 0.1 M fosfat tamponu (pH 7.4) ile 10 kez homojenize edildi.

**MDA** olarak ifade edilen doku lipid peroksidasyon düzeyleri, Buege ve Aust'un belirttiği metoda göre (1978) hesaplandı ve sonuçlar nmol/100mg protein olarak gösterildi. **Doku GSH düzeyleri**; Ellman metoduna göre (1959) 412 nm'de 5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoate) ile ölçüldü ve sonuçlar nmol/mg protein olarak gösterildi. **Cu-Zn SOD aktivitesi** Sun ve arkadaşlarının uyguladığı metotla kinetik olarak ölçüldü ve U/mg protein olarak ifade edildi (1988). Doku homojenatlarının **protein konsantrasyonları** ise Lowry ve arkadaşlarının metoduna göre (1951) tespit edilmiştir.

### 3.2.5. İskemi Deney Grupları

#### A) Nörolojik Skorlama Yapılan ve TTC ile Boyanarak İnfarkt Alanı Değerlendirilen Gruplar

Hiçbir işlem yapılmayan ratların beyin kesitleri (TTC) boyasıyla boyandı ve normal beynin nasıl boya tuttuğu gözlemlenip fotoğraflandı.

**1) İSKEMİ (MCAO/R) grubu (n=7):** 90 dakikalık orta serebral arter iskemisini takiben reperfüzyon yapılan ratlar 24. saatte nörolojik skorlama yapıldıktan sonra dekapite edilerek 2 mm beyin kesitleri alınıp TTC boyası ile boyandı. Çekilen

fotoğrafların Adobe photoshop programı ile infarkt alanlarının pixel değerleri hesaplanıp, aynı beyin hemisferinin total pixel değerlerine oranlandı.

**2) İSKEMİ + NVS uygulanan grup (n=7):** Sol vagusa uygulanan elektriksel stimülasyon MCA oklüzyonundan 10 dakika önce başlatıldı ve reperfüzyonun 30. dakikasına kadar sürdürüldü. NVS sistemi; akım şiddeti 1 mA, frekans 20 Hz, off-time (pilin kapalı kalma süresi) 0.2 dakika, on time (pilin çalıştığı süre) 30 saniye ve pulse-width (sinyal atım genişliği) 500µs olacak şekilde programlanarak çalıştırıldı (Krahl ve ark., 2001;2003). 24. saatte nörolojik skorlama yapıldıktan sonra sıçanlara aynı protokol uygulanarak infarkt alanları ölçümlendi.

**3) İSKEMİ + LİNOLEİK ASİT verilen grup (n=7):** 100 nmol/kg linoleik asit, iskemiden 30 dk önce İV verildi (Lauritzen ve ark., 2000). 90 dk MCAO uygulandıktan 24 saat sonra aynı işlemler yapıldı (sham grubunda ise linoleik asit çözücüsü % 0.05'lik etanol verilerek aynı işlemler gerçekleştirildi).

**4) İSKEMİ + ADENOZİN verilen grup (n=7):** Adenozin iskemiden hemen önce İP, 500 mg/kg dozunda verildi (Gupta ve ark., 2002). 90 dk MCAO/R uygulandıktan 24 saat sonra aynı işlemler gerçekleştirildi (sham grubunda ise adenozin çözücüsü % 8 tween-20 solüsyonu kullanıldı).

### **B) SOD, MDA, GSH Tavinleri Yapılarak Değerlendirilen Grup**

**1) İSKEMİ (MCAO/R) grubu (n=7):** 90 dakika MCAO ve 30 dakika reperfüzyon oluşturulduktan sonra dekapite edilen sıçanların beyinleri hızlıca çıkartılıp soğuk bir zemine konularak **korteks** bölgesinden ve **striatum+hipotalamus+talamus** bölgelerinden gerekli miktarlarda alınan doku örnekleri ayrı ayrı iki ependorf içine alınarak -80 °C'de muhafaza edildi ve önceden belirtilen biokimyasal yöntemlerle SOD, MDA, GSH tavinleri yapıldı.

2) **İSKEMİ + NVS uygulanan grup (n=7):** MCAO'dan 10 dakika önce NVS pili önceden belirtilen stimulus parametrelerinde çalıştırıldı ve aynı işlemler uygulandı.

3) **İSKEMİ + LİNOLEİK ASİT verilen grup (n=7):** MCAO'dan 30 dk önce İV 100 nmol/kg linoleik asit verildi ve aynı işlemler uygulandı (sham grubunda ise linoleik asit çözücüsü % 0.05'lik etanol kullanıldı).

4) **İSKEMİ + ADENOZİN verilen grup (n=7):** Adenozin MCAO'dan hemen önce 500 mg/kg İP dozunda verildi ve aynı işlemler uygulandı (sham grubunda ise adenozin çözücüsü % 8 tween-20 solüsyonu kullanıldı).

**İLAÇLAR:** Adenozin (sigma) % 8 tween-20 solüsyonunda çözdürülerek uygulandı. Linoleik asit (sigma) ise, etanolde çözdürülüp yeterli konsantrasyonda % 0.9'luk serum fizyolojik ile dilüe edilerek (% 0.05'lik etanol olacak şekilde) uygulandı.

**İSTATİSTİKLER:** Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart hata (SE) olarak ifade edildi.

**Nörolojik skorlama ve infarkt alanı değerlendirmesinde;** İskemi grubu ile İskemi+Tedavi grupları arasındaki istatistiksel değerlendirmede **Mann-Whitney-U testi** kullanıldı.

**MDA, SOD, GSH düzeylerine bakılarak değerlendirilen gruplarda ise;** (Korteks ve striatum+talamus+hipotalamus bölgeleri ayrı ayrı olarak)

a) İskemi grubu ile NVS+İskemi grubu arasındaki farkın değerlendirmesinde Mann-Whitney-U testi,

b) İskemi-İskemi+çözücü-İskemi+Linoleik asit grupları arasında ve İskemi-İskemi+çözücü - İskemi+Adenozin grupları arasındaki farklılığın tespitinde Kruskal Wallis varyans analizi ve takibinde hangi gruplar (iskemi-iskemi+çözücü - iskemi+tedavi) arasında farklılığın olduğunu belirleyebilmek için de **Bonferroni düzeltilmiş Mann-Whitney-U testi** kullanıldı.

**NVS-Adenozin-Linoleik asit uygulamalarının etkinlikleri arasında** istatistiksel farklılık olup olmadığı; **Kruskal-Wallis varyans analizi** ile değerlendirildikten sonra **Bonferroni düzeltilmiş Mann-Whitney-U testi** ile de hangi gruplar arasında fark olduğu tespit edildi.

Tüm testlerde  $P < 0.05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## 4. SONUÇLAR

### 4.1. Epilepsi Grupları

#### 1) **Konvulsif Epilepsi Modeli Oluşturulan Denev Grupları Sonuçları:**

**A- PTZ Uygulanan Grup (n=7):** Tüm sıçanlarda jeneralize tonik klonik major nöbet aktivitesi oluştu. Jeneralize nöbetler, fasiyal ve ön üye kaslarının klonuslarına eşlik eden klonik jerkleri takiben başladı (st 1: onset), baş, boyun, kuyruk ekstansiyonu (st 2-3), doğrulma refleksinin kaybı (st 4: jeneralize major nöbet başlangıcı), tonik fleksiyon-ekstansiyon ve takiben uzamış tonik-klonik klonuslarla (st 5) tamamlandı. Tek başına PTZ uygulanan bu grupta onset  $91.4 \pm 5.9$  sn, major nöbet latansı  $237.8 \pm 104$  sn, major nöbet süresi  $82.7 \pm 18.9$  sn olarak bulundu (Tablo 4.1.1., şekil 4.1.1.).

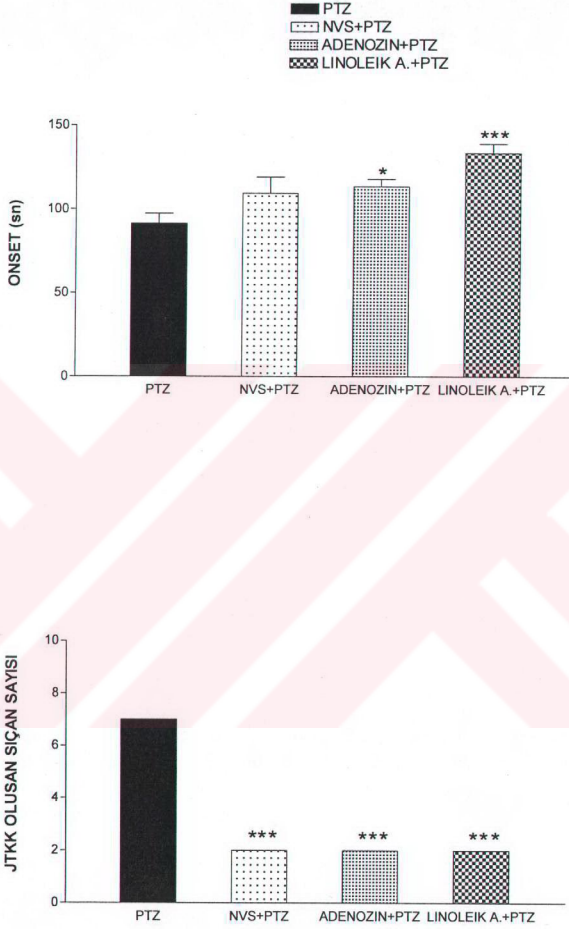
**B- NVS + PTZ Uygulaması Yapılan Grup (n=7):** Sıçanlardan 5 tanesinde hiç major nöbet oluşmazken sadece 2 tanesinde çok kısa süren major nöbet oluştu. Ortalama minör nöbet onsetsi  $109.4 \pm 9.7$  sn, major nöbet latansı  $420 \pm 280$  sn, major nöbet süresi 10 sn olarak bulundu. PTZ grubu ile karşılaştırıldığında; onsette (minör nöbete giriş süresi) istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşmazken, major nöbete giren sıçan sayısındaki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p < 0.001$ ). Major nöbet latansındaki ve toplam major nöbet süresindeki değişiklikler nöbete giren sıçan sayısının azlığı nedeniyle istatistiksel olarak değerlendirmeye alınmadı (Tablo 4.1.1., şekil 4.1.1.).

**C- Linoleik Asit + PTZ Verilen Grup (n=7):** 7 sıçandan 5 tanesinde hiç major nöbet oluşmazken sadece 2 tanesinde çok kısa süren major nöbet oluştu. Minör nöbete giriş ortalama süresi (onset)  $133.5 \pm 5.6$  sn, major nöbet latansı  $430 \pm 35$  sn, major nöbet süresi  $7.5 \pm 2.5$  sn olarak bulundu. Bu değerler PTZ grubu ile karşılaştırıldığında minör nöbete giriş (onset) süresinde gecikme ( $p < 0.001$ ) ile major nöbete giren sıçan sayısındaki azalma ( $p < 0.001$ ) istatistiksel olarak anlamlı bulundu Major nöbet latansındaki ve toplam major nöbet süresindeki değişiklikler nöbete giren sıçan sayısının azlığı nedeniyle istatistiksel olarak değerlendirmeye alınmadı (Tablo 4.1.1., şekil 4.1.1.).

**D- Adenozin + PTZ Verilen Grup (n=7):** sadece 2 tanesinde çok kısa süren major nöbet oluştu, diğer sıçanlarda ise oluşmadı. Minör nöbete giriş ortalama süresi (onset)  $113.5 \pm 4.5$  sn, , major nöbet latansı  $585 \pm 70$  sn, major nöbet süresi  $12,5 \pm 2,5$ sn olarak bulundu. Bu değerler PTZ grubu ile karşılaştırıldığında minör nöbete giriş (onset) süresinde gecikme ( $p < 0.05$ ) ile Major nöbete giren sıçan sayısındaki azalma ( $p < 0.001$ ) istatistiksel olarak anlamlı bulundu Major nöbet latansındaki ve toplam major nöbet süresindeki değişiklikler nöbete giren sıçan sayısının azlığı nedeniyle istatistiksel olarak değerlendirmeye alınmadı (Tablo 4.1.1., şekil 4.1.1.).

**Tablo 4.1.1.** Konvulsif epilepsi grubunda NVS, Adenozin ve Linoleik asidin; minör nöbet başlangıç süresi (onset), major nöbet başlangıç süresi (latansı), toplam major nöbet süresi ve JTKK geçirme oranı üzerine etkileri.

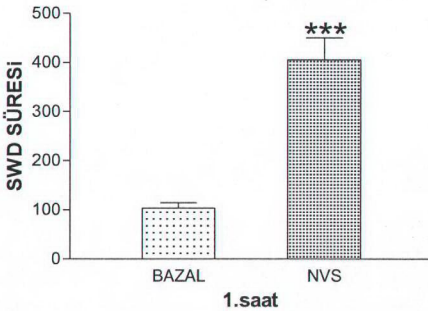
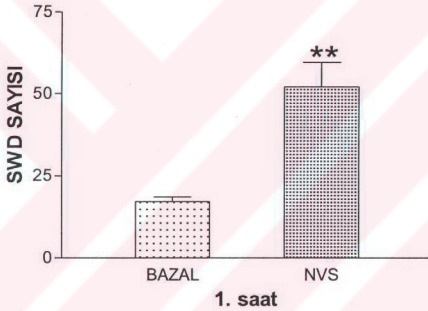
GRUPLAR (n=7)	MİNÖR NÖB. BAŞLANGIÇ SÜRESİ (ONSET) (sn)	MAJOR NÖB. BAŞLANGIÇ SÜRESİ (LATANSI) (sn)	TOPLAM MAJ. NÖBET SÜRESİ (sn)	MAJOR NÖB. GEÇİREN SİÇAN SAYISI
PTZ	90	165	67	Nöbete girdi
	65	75	152	Nöbete girdi
	115	240	70	Nöbete girdi
	95	110	40	Nöbete girdi
	80	120	95	Nöbete girdi
	95	105	140	Nöbete girdi
	100	850	15	Nöbete girdi
[ Ort±SE]	<b>[91.4±5.9]</b>	(237.8±104)	(82.7±18.9)	<b>[7]</b>
PTZ+NVS	125	700	10	Nöbete girdi
	110	-	-	-
	95	-	-	-
	86	-	-	-
	90	-	-	-
	160	-	-	-
	100	140	10	Nöbete girdi
[ Ort±SE]	<b>[109.4±9.7]</b>	(420±280)	(10)	<b>[2]</b>
PTZ+ADENOZİN	100	-	-	-
	125	-	-	-
	130	-	-	-
	115	-	-	-
	105	515	15	Nöbete girdi
	120	-	-	-
	100	655	10	Nöbete girdi
[ Ort±SE]	<b>[113.5±4.5]</b>	(585±70)	(12,5±2,5)	<b>[2]</b>
PTZ+LİN. ASİT	120	395	5	Nöbete girdi
	135	-	-	-
	150	-	-	-
	155	-	-	-
	115	465	10	Nöbete girdi
	125	-	-	-
	135	-	-	-
[ Ort±SE]	<b>[133.5±5.6]</b>	(430±35)	(7,5±2,5)	<b>[2]</b>



**Şekil 4.1.1.** Konvulsif epilepsi grubunda NVS, Adenozin ve Linoleik asidin; minör nöbet başlangıç süresi (onset), ve JTKK geçirme oranı üzerine etkileri. (\*  $p < 0.05$ , \*\*\*  $p < 0.001$ )

## 2) Nonkonvulsif Epilepsi (Absans) Modelinde Oluşturulan Deney Grupları

**A- NVS uygulanan deney grubu:** Hiçbir işleme tabi tutulmayan WAG-Rij ırkı sıçanların sabah saat 9-10 arası 1 saatlik bazal EEG kayıtlarında toplam SWD sayısının ortalama değeri  $17.2 \pm 1.4$ , süresinin ise  $103.4 \pm 11.8$  sn olarak bulundu. Deney grubunda ise NVS uygulamasını takiben aldığımız 1 saatlik EEG kayıtlarında toplam SWD sayısının ortalama değerleri;  $52.1 \pm 7.4$ , süresinin ise  $405.4 \pm 45.5$  sn olarak bulundu, bu sonuç bazal değerler ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulundu (SWD sayısı;  $p < 0.01$ , SWD süresi;  $p < 0.001$ ), (Şekil 4.1.2.). Sham ile kontrol grubu arasında ise anlamlı bir fark saptanmadı.

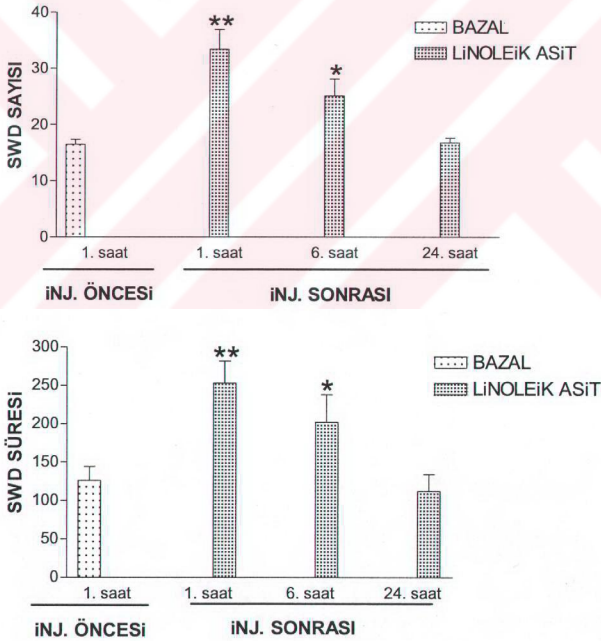


Şekil 4.1.2. NVS uygulamasının SWD sayı ve sürelerine etkisi (\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ ).



## B- Linoleik Asit Verilen Deney Grubu:

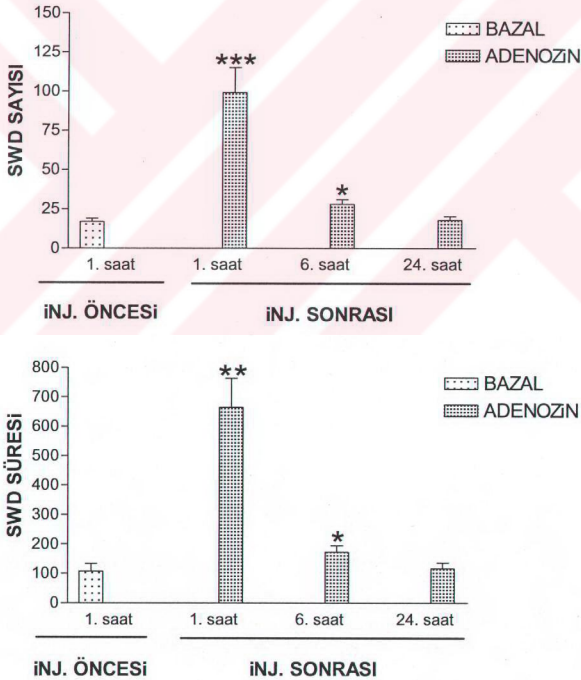
1 saatlik (saat 9-10 arası) bazal EEG kayıtlarında toplam SWD sayısının ortalama değeri  $16.5 \pm 0.9$ , süresi ise  $126.2 \pm 18.3$  sn olarak bulundu, deney grubunda ise EEG kayıtlarında toplam SWD sayı ve süresinin ortalama değerleri; linoleik asit verildikten sonra 1. saatte  $33.4 \pm 3.5$ ,  $253 \pm 28.5$  sn; 6. saatte  $25.1 \pm 3$ ,  $202 \pm 36.1$  sn; 24. saatte ise  $16.8 \pm 0.8$ ,  $112.1 \pm 22.1$  sn olarak saptandı. Bu sonuçlara göre deney grubunun SWD sayı ve süresinin ortalama değerleri bazal değerlere göre karşılaştırıldığında; 1. ve 6. saatlerde istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterirken (1. saatte  $p < 0.01$ , 6. saatte;  $p < 0.05$ ), 24. saatte anlamlılık göstermedi (Şekil 4.1.3.). Sham ile kontrol grubu arasında ise anlamlı bir fark saptanmadı.



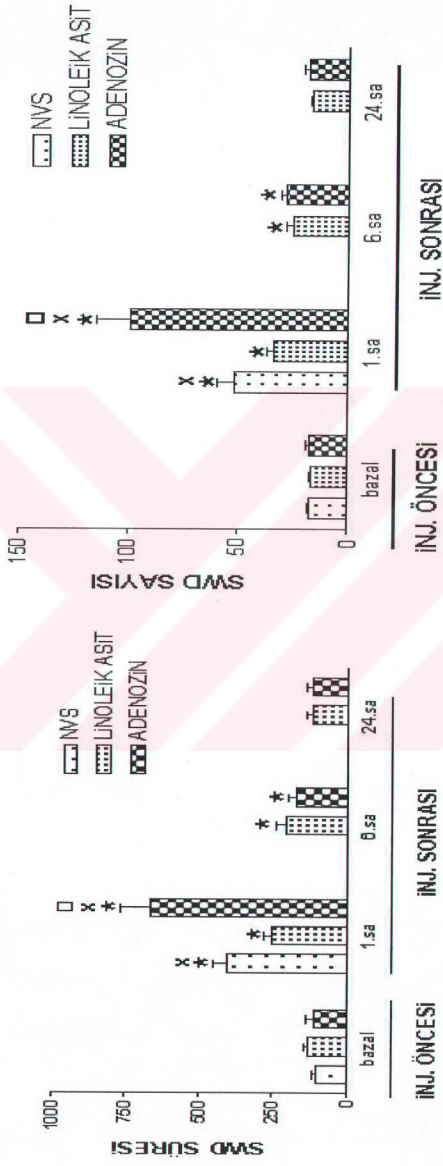
Şekil 4.1.3. Linoleik asit injeksiyonunun 1-6-24. saatlerdeki SWD sayı ve sürelerine etkileri (\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ ).

### C- Adenozin Verilen Deneysel Grup;

Bazal EEG kayıtlarında (saat 9-10 arası) toplam SWD sayısı ortalama değeri  $17 \pm 2.3$  ve süresi  $107.5 \pm 26.8$  sn olarak bulundu. Deneysel grupta ise EEG kayıtlarında toplam SWD sayısı ve süresinin ortalama değerleri; adenozin verildikten sonra 1. saatte  $99.5 \pm 16.7$ ,  $665 \pm 98.7$  sn; 6. saatte  $28.6 \pm 3.1$ ,  $173 \pm 22.3$  sn; 24. saatte ise  $18.1 \pm 2.3$ ,  $117 \pm 20$  sn olarak saptandı. Bu sonuçlara göre deneysel gruplarının SWD sayısı ve süresinin ortalama değerlerindeki artış kontrol grupları ile karşılaştırıldığında; SWD sayısında; 1. saatte ( $p < 0.001$ ) ve 6. saatte ( $p < 0.05$ ), SWD süresinde; 1. saatte ( $p < 0.01$ ) ve 6. saatte ( $p < 0.05$ ) istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterirken, 24. saatte anlamlılık göstermedi (şekil 4.1.4.).



Şekil 4.1.4. Adenozin enjeksiyonunun 1-6-24. saatlerdeki SWD sayısı ve süresine etkileri (\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ ).



Şekil 4.1.5. NVS-Linoleik asit-Adenozinin, SWD sayı ve süresi üzerine etkileri.

- Bazal EEG'ye göre istatistiksel anlamlı fark (\* ; P<0.05)
- Linoleik aside göre istatistiksel anlamlı fark (X ; P<0.05)
- NVS'ye göre istatistiksel anlamlı fark(□ ; P<0.05)

## 4.2. SEREBRAL İSKEMİ VE REPERFÜZYON GRUPLARI

### A) Nörolojik Skorlama Yapılan ve TTC ile Boyanarak İnfarkt Alanı Değerlendirilen Gruplar

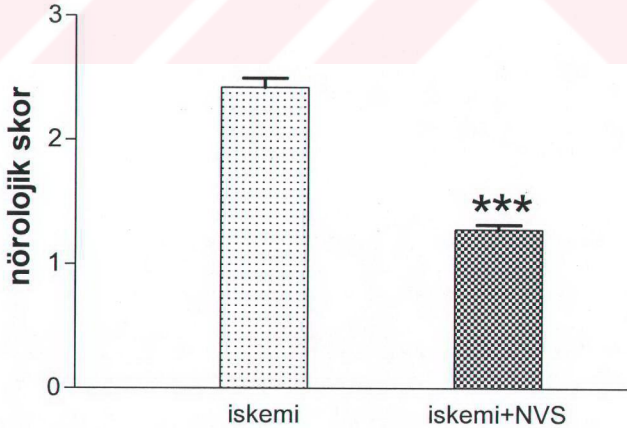
#### 1) İSKEMİ (MCAO/R) grubu (n=7):

**Nörolojik skorlama sonuçları:** İskemiden 24 saat sonraki nörolojik muayene sonucu yapılan skorlama neticesi  $2.42 \pm 0.2$  olarak bulundu (şekil 4.2.1.).

**TTC ile boyanarak infarkt alanı değerlendirilen grup sonuçları:** frontal-temporal-parietal korteks, c.striatum ve talamus gibi bölgelerde TTC ile boyanmayan iskemik alanlar tespit edildi ve infarkt alanının aynı beyin hemisferine oranı ortalama  $\% 16.2 \pm 1.3$  olarak bulundu (şekil 4.2.2., şekil 4.2.3.).

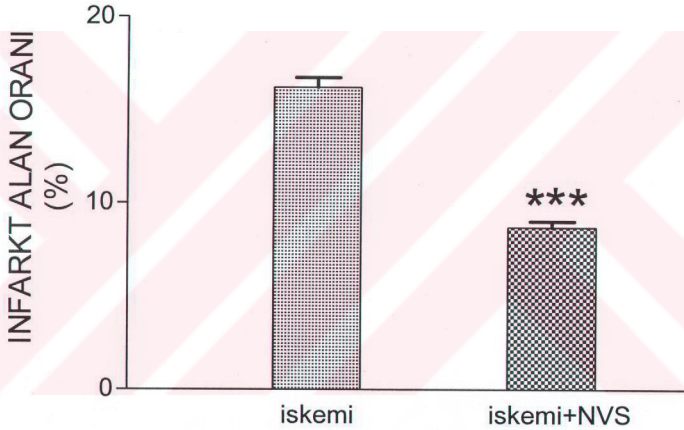
#### 2) İSKEMİ + NVS uygulanan grup (n=7):

**Nörolojik skorlama sonuçları:** NVS uygulanan grupta iskemiden 24 saat sonraki nörolojik muayene sonucu yapılan skorlama neticesi  $1.28 \pm 0.18$  olarak bulundu. Bu sonuçların iskemi grubu ile karşılaştırması sonucu istatistiksel olarak anlamlı bir azalma tespit edildi ( $p < 0.001$ ), (şekil 4.2.1.).

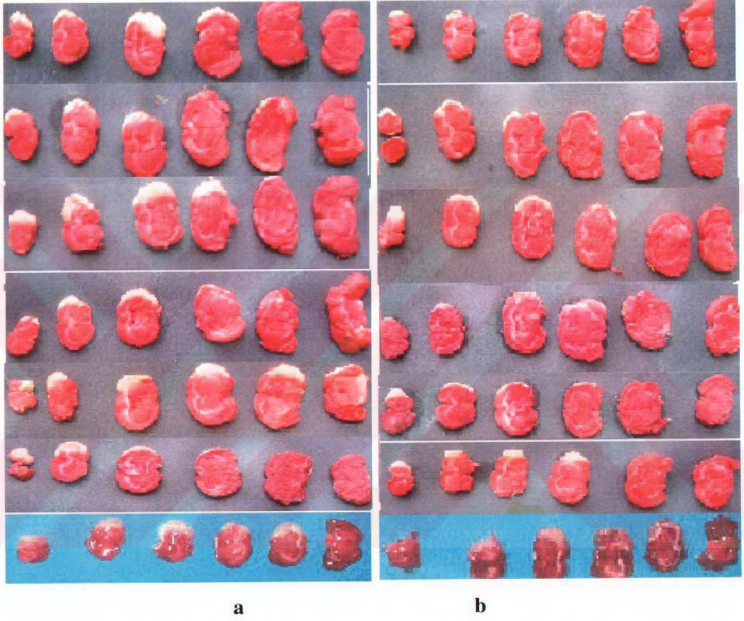


Şekil 4.2.1. MCAO/R uygulanan sıçanlarda NVS kullanımının nörolojik defisitler üzerindeki etkileri (\*\*\*)  $P < 0.001$ ).

**TTC ile boyanarak infarkt alanı değerlendirilen grup sonuçları:** NVS grubunda infarkt alan oranı %  $8.7 \pm 0.6$  olarak belirlendi ve iskemi grubuna göre infarkt alanı azalması istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p < 0.001$ ). NVS uygulaması ile infarkt alanında % 45.9'luk bir azalma olduğu tespit edildi (şekil 4.2.2., şekil 4.2.3.).



**Şekil 4.2.2.** MCAO/R uygulanan sıçanlarda NVS kullanımının infarkt alanları üzerindeki etkileri (\*\*\*)  $P < 0.001$ ).



**Şekil 4.2.3.** a- İskemi (kontrol) grubu, b- İskemi+NVS uygulanan grup. TTC boyaması sonucunda canlı dokular kırmızıya boyanırken, boya tutmayan iskemik alanlar beyaz görülmekte.

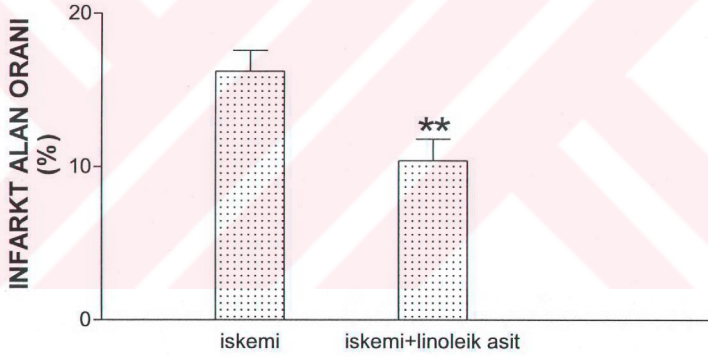
### 3) İSKEMİ + LİNOLEİK ASİT verilen grup (n=7):

**Nörolojik skorlama sonuçları:** İskemiden 24 saat sonraki nörolojik muayene sonucu yapılan skorlama neticesi deney grubunda  $1.42 \pm 0.2$  olarak bulundu. Bu sonucun iskemi grubu ile istatistiksel olarak karşılaştırması sonucu deney grubundaki azalma anlamlı bulundu ( $p < 0.01$ ). Kontrol ve sham grupları arasında ise anlamlı bir fark bulunmadı (şekil 4.2.4.).



**Şekil 4.2.4.** MCAO/R uygulanan sıçanlarda linoleik asit kullanımının nörolojik defisitler üzerindeki etkileri (\*\* $P < 0.01$ ).

**İnfarkt alanı değerlendirilen grup sonuçları:** Linoleik asit verildikten sonra MCAO/R oluşturulan deney grubunda infarkt alan oranı ortalama  $10.4 \pm 1.4$  olarak bulundu. Bu değerler iskemi grubu ile karşılaştırıldığında, deney grubundaki infarkt alanı azalması istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p < 0.01$ ). Kontrol ve sham grubu değerleri karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi. Linoleik asit verilmesi ile infarkt alanında iskemi grubuna göre % 35.8'lik bir azalma olduğu tespit edildi (Şekil 4.2.5., şekil 4.2.6.).



**Şekil 4.2.5.** MCAO/R uygulanan sıçanlarda linoleik asit kullanımının infarkt alanları üzerine etkileri (\*\*P<0.01).

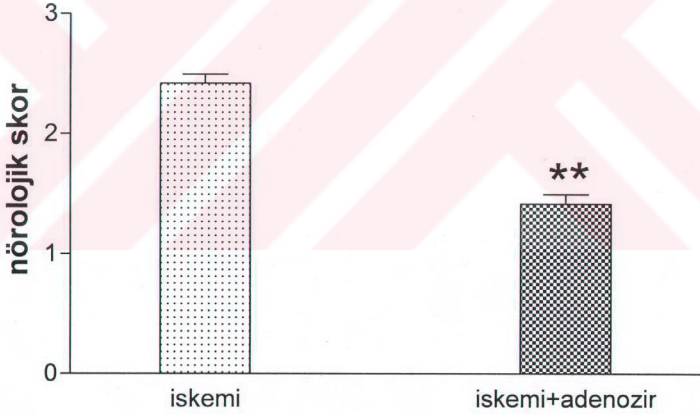




**Şekil 4.2.6.** a) iskemik infarkt asit grubu, b) iskemik grubu, c) sham grubu. TTC boyaması sonucunda canlı dokular kırmızıya boyanırken, boya tutmayan iskemik alanlar beyaz görülür.

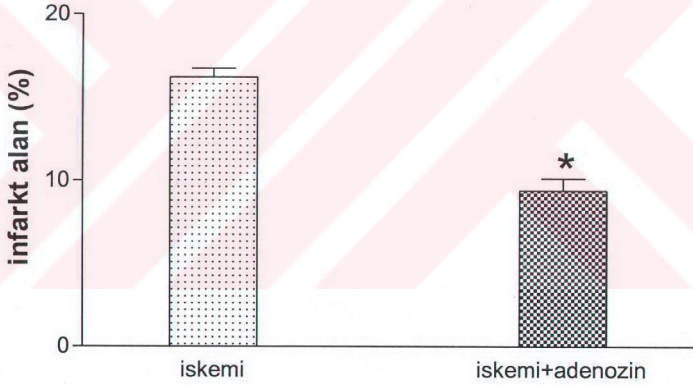
#### 4) İSKEMİ + ADENOZİN verilen grup (n=7):

**Nörolojik skorlama sonuçları:** İskemiden 24 saat sonraki nörolojik muayene sonucu yapılan skorlama neticesi  $1.42 \pm 0.29$  olarak bulundu. Bu sonucun iskemi grubu ile istatistiksel olarak karşılaştırması sonucu azalma anlamlı bulundu ( $p < 0.01$ ). Kontrol ve sham grupları arasında ise anlamlı bir fark bulunmadı (şekil 4.2.7.).

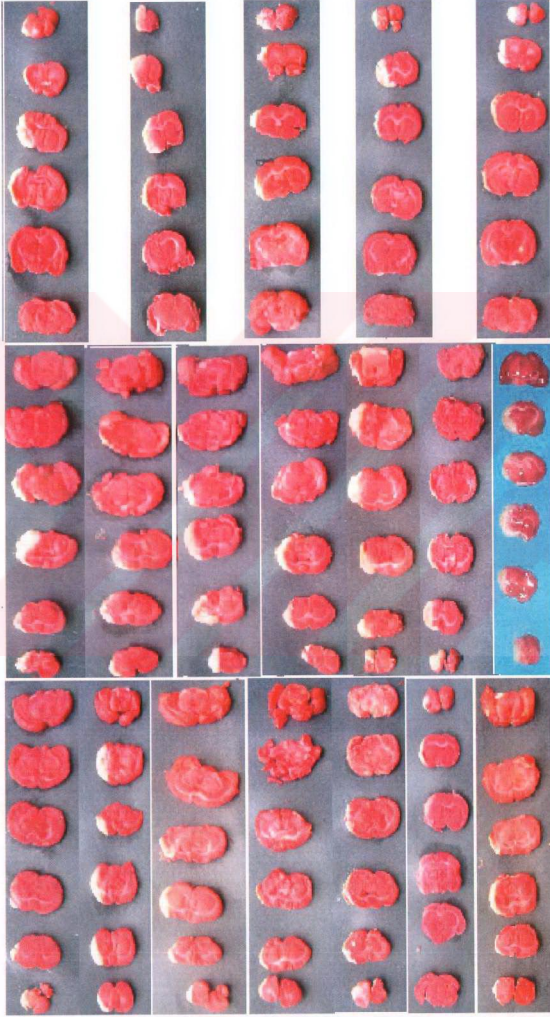


**Şekil 4.2.7.** MCAO/R uygulanan sıçanlarda adenozin kullanımının nörolojik bozukluklar üzerindeki etkileri (\*\*  $P < 0.01$ ).

**İnfarkt alanı değerlendirilen grup sonuçları:** Adenozin verildikten sonra MCAO/R oluşturulan deney grubunda infarkt alan oranı ortalama % 9.4±1.9 olarak bulundu. Bu değerler iskemi grubu ile karşılaştırıldığında infarkt alanı azalması istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ). Kontrol ve sham grubu değerleri karşılaştırıldığında ise anlamlı bir fark gözlenmedi. Adenozin verilmesi ile infarkt alanında iskemi grubuna göre % 41.9 azalma gözlemlendi (Şekil 4.2.8, şekil 4.2.9).



**Şekil 4.2.8.** MCAO/R uygulanan sıçanlarda adenozin kullanımının infarkt alanları üzerindeki etkileri (\*  $P<0.05$ ).



**Şekil 4.2.9.** a) İskemi+adenozin grubu, b) İskemi grubu, c) sham grubu. TTC boyanması sonucunda canlı dokular kırmızıya boyanırken, boya tutum ayarı iskemik alanlar beyaz görünüm ekte.

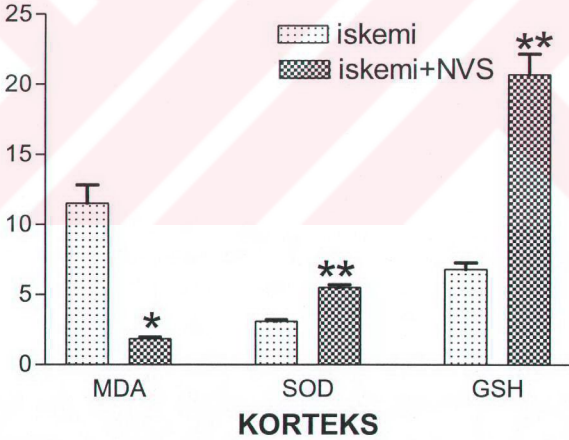
1) İSKEMİ (MCAO/R) grubu (n=7): Beyin doku örnekleri, korteks ve striatum+talamus+hipotalamus bölgelerinden olmak üzere 2 ayrı grupta incelendi.

**Korteks'ten alınan örneklerde;** ortalama MDA değeri  $11.5 \pm 3.6$ , GSH değeri  $6.8 \pm 1.3$ , SOD değeri  $3.1 \pm 0.37$  (Şekil 4.2.10).

**Striatum+talamus+hipotalamus'tan alınan örneklerde;** ortalama MDA değeri  $3.9 \pm 0.73$ , GSH değeri  $7.1 \pm 1.35$ , SOD değeri  $2.9 \pm 0.3$  olarak bulundu (Şekil 4.2.11.).

2) İSKEMİ + NVS uygulanan grup (n=7):

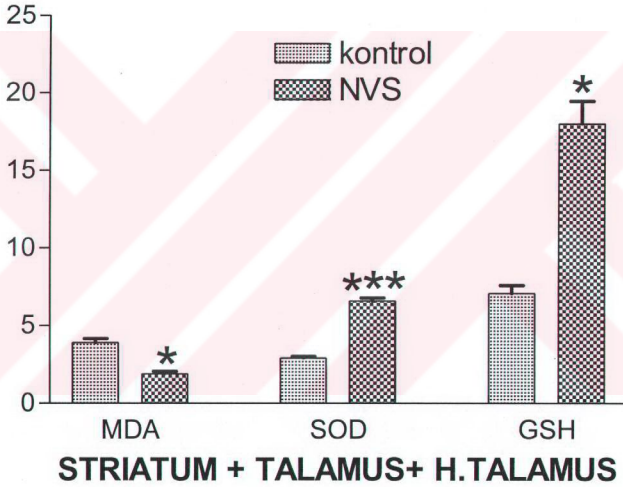
**Korteks'ten alınan örneklerde;** ortalama MDA değeri  $1.85 \pm 0.32$ , GSH değeri  $20.7 \pm 3.9$ , SOD değeri  $5.5 \pm 0.57$  olarak bulundu. Bu sonuçların istatistiksel analizi yapıldığında; iskemi grubuna göre NVS grubunda oluşan MDA değerindeki azalma ( $p < 0.05$ ), GSH ve SOD değerlerindeki artışlar ( $p < 0.01$ ) anlamlı bulundu (şekil 4.2.10).



Şekil 4.2.10. MCAO/R uygulanan sıçanlarda NVS kullanımı ile korteksten alınan örneklerde MDA, SOD ve GSH düzeylerinde oluşan etkiler (\*  $P < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ ).

**Striatum+talamus+hipotalamus'tan alınan örneklerde:** Ortalama MDA değeri  $1.9 \pm 0.44$ , GSH değeri  $18 \pm 3.95$ , SOD değeri  $6.6 \pm 0.59$  olarak bulundu.

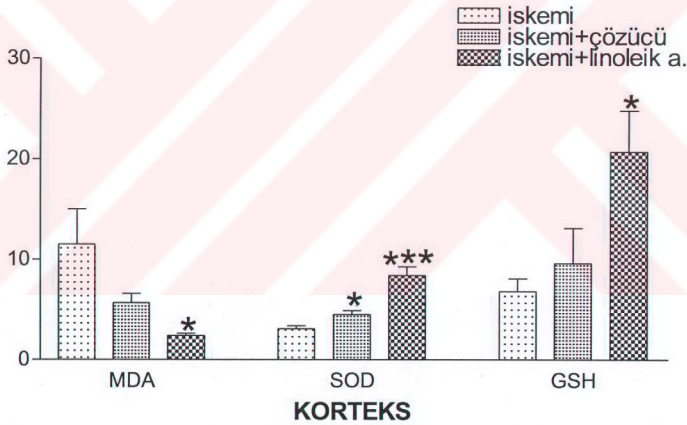
Bu sonuçların istatistiksel analizi yapıldığında; iskemi grubuna göre NVS grubundaki MDA değerindeki azalma( $p<0.05$ ), GSH değerinde artma( $p<0.05$ ) ve SOD değerlerindeki artış ( $p<0.001$ ) anlamlı bulundu (Şekil 4.2.11.).



**Şekil 4.2.11.** MCAO/R uygulanan sıçanlarda NVS kullanımı ile Striatum+talamus+hipotalamus'tan alınan örneklerde MDA, SOD ve GSH düzeylerinde oluşan etkiler. (\*  $P<0.05$ , \*\*\* $P<0.001$ ).

### 3) İSKEMİ + LİNOLEİK ASİT verilen gruplar (n=7):

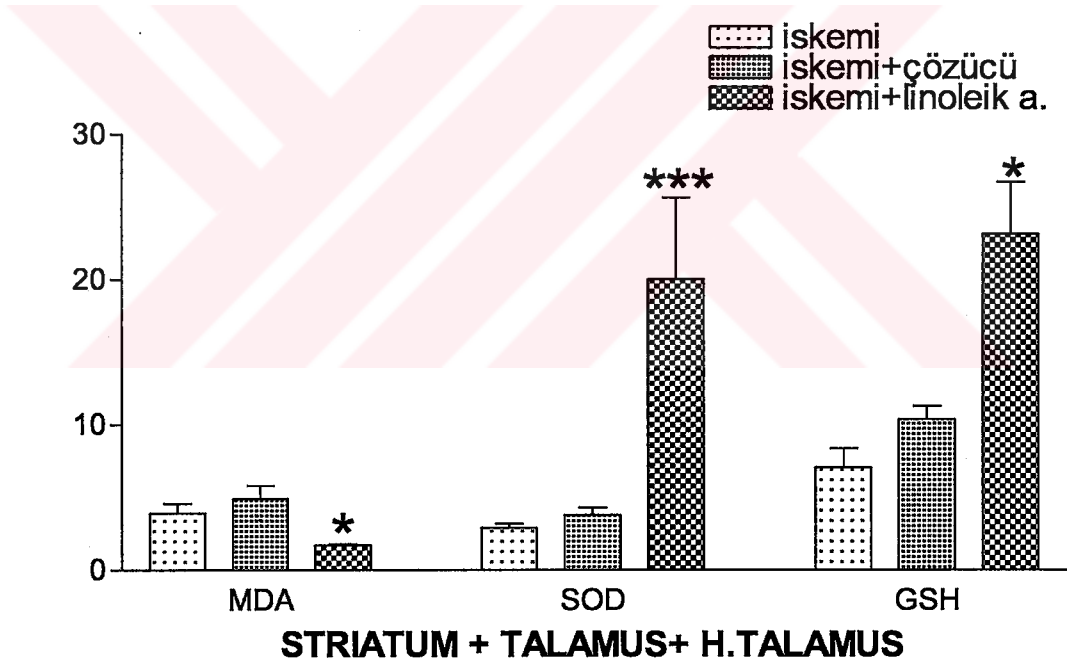
**Korteks'ten alınan örneklerde:** Ortalama MDA değeri  $2.4 \pm 0.21$ , GSH değeri  $20.7 \pm 4.1$ , SOD değeri  $8.4 \pm 0.91$  olarak bulundu. Bu sonuçların istatistiksel analizi yapıldığında, iskemi grubuna göre MDA değerindeki azalma ( $p < 0.05$ ), GSH değerindeki artış ( $p < 0.05$ ) ve SOD değerlerindeki artış ( $p < 0.001$ ) anlamlı bulundu. Kontrol ve sham grupları karşılaştırıldığında ise; MDA ve GSH değerlerinde anlamlı bir fark bulunmazken, SOD değeri sham grubunda daha yüksekti ve bu fark anlamlı bulundu ( $p < 0.05$ ), (Şekil 4.2.12).



**Şekil 4.2.12.** MCAO/R uygulanan sıçanlarda linoleik asit kullanımı ile korteksten alınan örneklerde MDA, SOD ve GSH düzeylerinde oluşan değişiklikler (\*  $P < 0.05$ , \*\*\* $P < 0.001$ ).

**Striatum+talamus+hipotalamus'tan alınan örneklerde:** Ortalama MDA değeri  $1.7\pm 0.17$ , GSH değeri  $23.1\pm 3.6$ , SOD değeri  $20\pm 5.6$  olarak bulundu.

Bu sonuçların istatistiksel analizi yapıldığında; iskemi grubuna göre MDA değerindeki azalma ( $p<0.05$ ), GSH değerindeki artış ( $p<0.05$ ) ve SOD değerlerindeki artış ( $p<0.001$ ) anlamlı bulundu. İskemi ve iskemi+linoleik asit çözücüsü kullanılan gruplar karşılaştırıldığında ise; MDA, GSH ve SOD değerlerinde anlamlı bir fark bulunmadı, (Şekil 4.2.13.).



**Şekil 4.2.13.** MCAO/R uygulanan sıçanlarda linoleik asit kullanımı ile Striatum+talamus+hipotalamus'tan alınan örneklerde MDA, SOD ve GSH düzeylerinde oluşan değişiklikler (\* P<0.05, \*\*\*P<0.001).



#### 4- İSKEMİ + ADENOZİN verilen gruplar (n=7)

**Korteks'ten alınan örneklerde:** Ortalama MDA değeri  $1.9 \pm 0.18$ , GSH değeri  $15.3 \pm 3.2$ , SOD değeri  $1.12 \pm 0.42$  olarak bulundu.

Bu sonuçların istatistiksel analizi yapıldığında; iskemi grubuna göre MDA değerindeki azalma ve GSH değerindeki artış anlamlı bulunurken ( $p < 0.05$ ), SOD değerinde fark saptanmadı. İskemi ve iskemi+çözücü verilen grup karşılaştırıldığında ise; MDA ve GSH değerlerinde anlamlı bir fark bulunmazken, SOD değerleri çözücü verilen grupta daha düşüktü ve bu fark anlamlı bulundu ( $p < 0.05$ ), (Şekil 4.2.14).



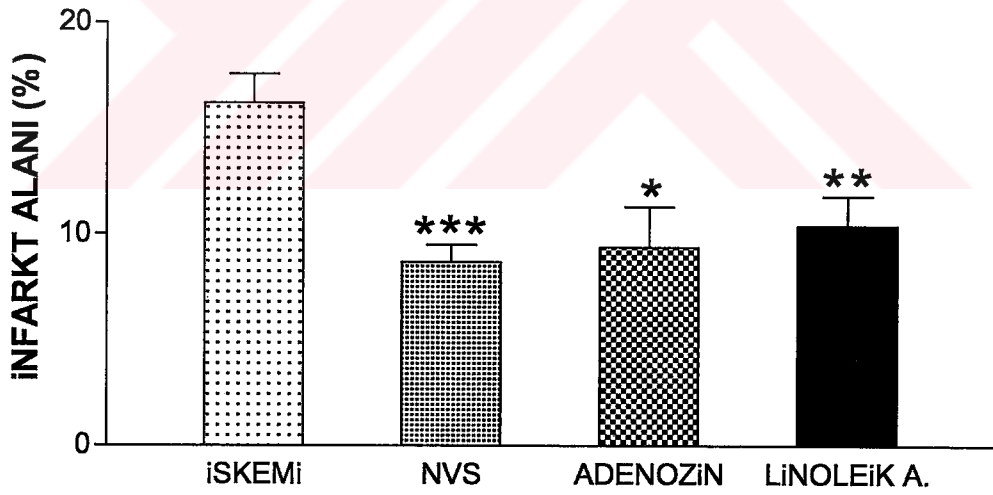
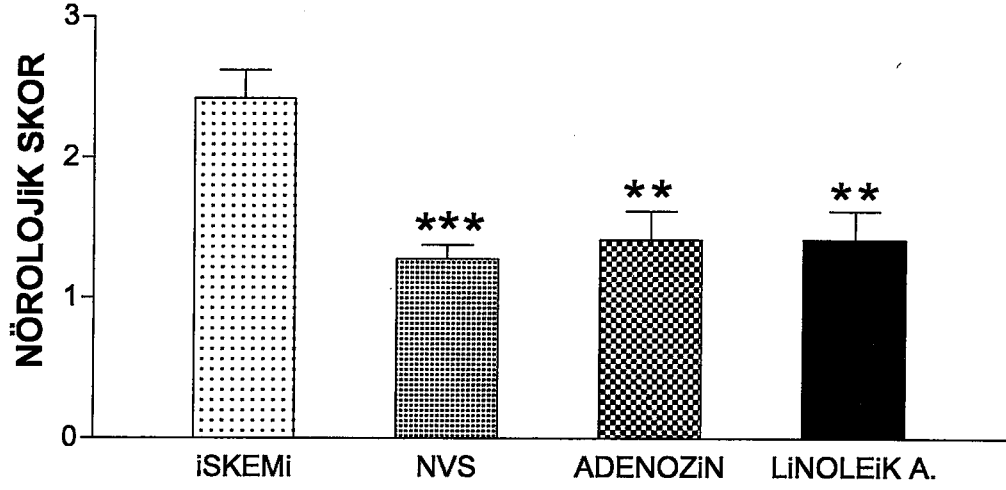
**Şekil 4.2.14.** MCAO/R uygulanan sıçanlarda adenozin kullanımı ile korteksten alınan örneklerde MDA, GSH ve SOD düzeylerinde oluşan değişiklikler, (\*  $P < 0.05$ ).

**Striatum+talamus+hipotalamus'tan alınan örneklerde:** Ortalama MDA değeri  $1.58 \pm 0.21$ , GSH değeri  $23 \pm 2.6$ , SOD değeri  $4.1 \pm 0.52$  olarak bulundu. Bu sonuçların istatistiksel analizi yapıldığında; iskemi grubuna göre MDA değerindeki azalma ( $p < 0.05$ ) ve GSH değerlerindeki artış ( $p < 0.001$ ) anlamlı bulundu SOD değerlerindeki artış ise anlamlı bulunmadı. İskemi ve çözücü verilen gruplar karşılaştırıldığında ise; MDA, GSH ve SOD değerlerinde anlamlı bir fark bulunmadı (Şekil 4.2.15).



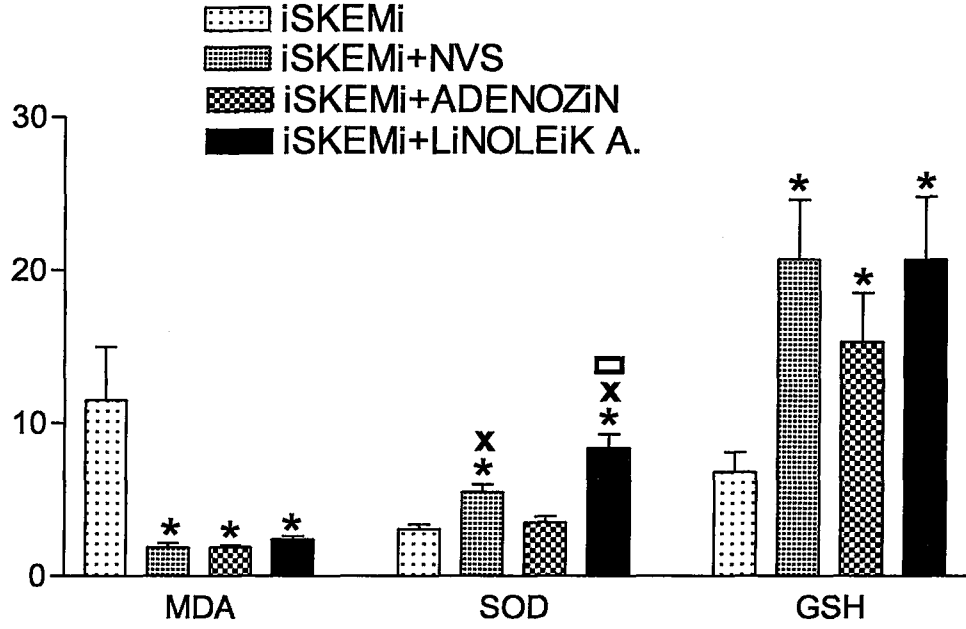
### STRIATUM+TALAMUS+HIPOTALAMUS

**Şekil.4.2.15.** MCAO/R uygulanan sıçanlarda adenozin kullanımı ile Striatum+talamus+hipotalamus'tan alınan örneklerde MDA, SOD ve GSH düzeylerinde oluşan değişiklikler (\*  $P < 0.05$ , \*\*\* $P < 0.001$ ).

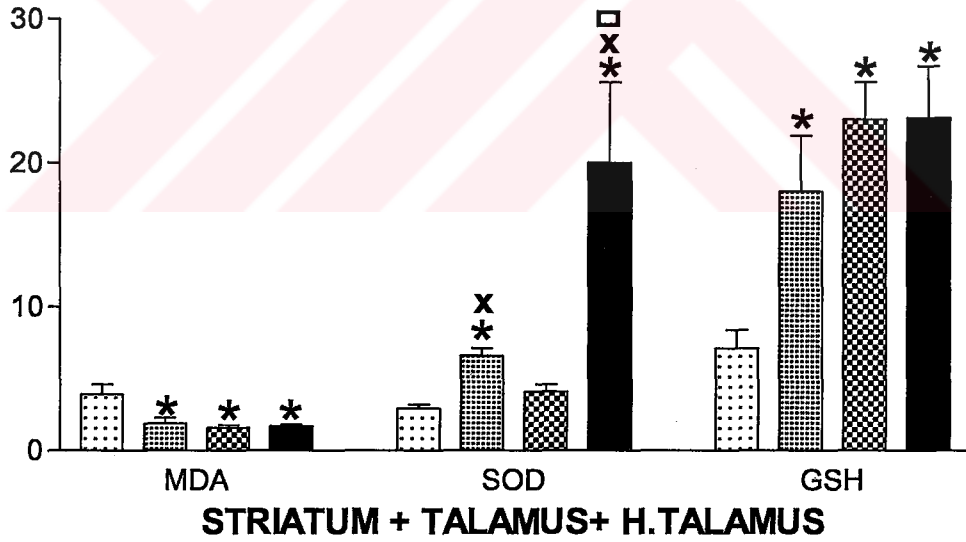


**Şekil 4.2.16.** Nörolojik skor ve infarkt alanı bakılan gruplarda NVS-linoleik asit-Adenozin karşılaştırılması.

- İskemi grubuna göre fark; \*P<0.05, \*\*P<0.01, \*\*\*P<0.001



### KORTEKS



Şekil 4.2.17. MDA, SOD, GSH bakılan gruplarda; NVS-Linoleik asit-Adenozinin etkilerinin karşılaştırılması.

- İskemi grubuna göre fark (\* $P < 0.05$ , anlamlılık dereceleri daha önceki şekillerden incelenebilir),
- Adenozin grubuna göre fark (x  $P < 0.05$ ),
- NVS grubuna göre fark ( $\square P < 0.05$ ).

## 5. TARTIŞMA

### **NVS, Linoleik Asid ve Adenozinin Serebral İskemi Üzerine Etkileri:**

**NVS'nin Etkileri:** 90 dk MCAO uygulanacak sıçanlara iskemiden 10 dk önce akım şiddeti 1 mA, frekans 20 Hz, off-time (pilin kapalı kalma süresi) 0.2 dakika, on time (pilin çalıştığı süre) 30 saniye ve pulse width (atım genişliği) 500µs olacak şekilde proglamlanarak çalıştırılmaya başlatılan NVS sistemi; fokal iskemi sonucu oluşan nörolojik bozukluklarda anlamlı bir düzelme, infarkt alanında azalma meydana getirdi. Bunun yanında iskemik beyin dokusundan aldığımız örneklerde lipit peroksidasyon ürünü MDA düzeyini azaltıp, antioksidan sistemlerle ilgili SOD ve GSH düzeylerini arttırdığını tespit ettik. Bu sonuçlar bize NVS'nin nöroprotektif etkili olduğunu ve bu etkiyi yaparken serbest radikal oluşumunu azaltıp, antioksidan enzimleri de artırdığını göstermektedir.

MCAO/R yapılması ile MDA düzeylerinde oluşan artış, iskemi-reperfüzyon sırasında artmış serbest radikallere bağlı oluşan lipit peroksidasyonunu yansıtmaktadır. NVS uygulamasının MDA düzeylerini düşürmesi ise NVS'nin radikal süpürücü etki oluşturduğu ve bu şekilde oksidatif hasarı engellediğini göstermektedir.

Serbest radikallere karşı organizmanın enzimatik korunma mekanizmalarından olan SOD'un başlıca etkisi; süperoksit radikalini, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene çevirerek dokuları süperoksit radikalinin oluşturacağı hasardan korumaktır. Araştırmamızda MCAO/R yapılan sıçanlarda NVS kullanımı ile SOD enzimi anlamlı olarak artmıştır. Böylece artan SOD enzimi beyin dokusunda süperoksit radikale karşı önemli bir savunma hattı oluşturmuştur. Bu durum bize NVS'nin daha önce belirtilen etkilerinin yanında antioksidan enzimleri artırarak serbest radikal süpürücü etki de oluşturabileceğini göstermektedir.

Savunma mekanizmasında diğer bir sistem de; zincir kırıcı antioksidanlardır, bunlar lipit peroksidasyonunun çeşitli safhalarına katılarak etkili olmaktadır. Bunların en önemlilerinden biri olan glutatyon, başta karaciğer olmak üzere birçok dokuda bulunan bir peptittir, hemoglobin ve diğer önemli eritrosit proteinlerini

peroksidatif hasardan korur. Glutasyon; dokularda birbiriyle dengeli, redükte ve okside glutasyon olmak üzere iki şekilde bulunur. Araştırmamızda MCAO/R yapılan sıçanlarda NVS kullanımı ile GSH seviyeleri anlamlı olarak artmış ve beyin dokusunda iskemi-reperfüzyonla oluşan peroksidatif hasarı azaltmıştır (Meister,1992; Van ve ark., 1993; Frei ,1994; Halliwell, 1995-1996; Chan, 1996; Dröge, 2002).

MCAO/R yapıldıktan 24 saat sonraki nörolojik muayene sonucunda tüm sıçanlarda motor defisitler görülmüştür. Bu durum MCA'nın beslediği caudat putamen, korteks gibi alanlardaki iskemik hasara bağlı oluşmaktadır. NVS'den sonra motor defisitlerde oluşan düzelme ise bu bölgelerdeki iskemik hasardaki iyileşmeyi yansıtmaktadır (Corbett ve Nurse, 1998).

NVS ile infarkt alanındaki azalmanın TTC boyaması gibi makroskobik bir yöntemle gösterilebilmesi bize NVS'nin iskemik hasara karşı önemli bir koruyucu etki oluşturduğunu göstermektedir.

Şimdiye kadar yapılan araştırmalarda NVS'nin stimülasyon parametrelerine göre EEG'de senkronizasyon yada desenkronizasyon oluşturabildiği, serebral kan akımında, serebrospinal sıvıda nörotransmitter ve aminoasit seviyelerinde, sistemik inflamator cevapta değişiklikler oluşturduğu gösterilmiştir. NVS serebrospinal sıvıda GABA seviyesini artırıp glutamat ve aspartat düzeylerini düşürerek iskemik hasara karşı koruyucu etkili olabilir. Bunlara ilaveten, homovalinik asit ve 5-HIAA seviyelerinde de belirgin bir artma görülmüştür. 5-HIAA serotoninin metabolitidir ve serotonin de iskemide artan glutamat salınımını azaltarak iskemik hasara karşı koruyucu etkili olabileceği belirtilmiştir. Ayrıca NVS ile asparagine, fenilalanin ve triptofan gibi aminoasitlerin arttığı ve bunların da nöronal hasarın azaltılmasına katkıda bulunabileceği belirtilmektedir.

Yapılan son çalışmalar NVS'nin TNF gibi inflamator sitokinleri ve bunlarla ilişkili myeloperoksidaz gibi enzimlerin salınımını inhibe ettiği tespit edilmiştir. Bilindiği gibi TNF $\alpha$ , İL-1 gibi sitokinler iskemiden sonra erken dönemlerde aktive olarak inflamator reaksiyon ve doku hasarına neden olur. Bu nedenle, NVS ile oluşan inflamator sitokinlerin inhibisyonu, iskemik hasarın azaltılmasına katkıda bulunabilir (Ronen ve Shohami, 2002; Borovikova ve ark., 2000).

N. Vagusun efferent liflerinin birçok iç organa yayıldığı ve vagusun elektriksel stimülasyonu ile buralardan CCK gibi nöropeptitlerin salınımını arttırdığı tespit edilmiştir. CCK, eksitator aminoasitler üzerine nöromodülatör etki göstermektedir. NVS'nin antiepileptik ve nöroprotektif etkilerinin, efferent liflerin etkisinden ziyade afferent lifler aracılığıyla oluştuğu belirtilmekle birlikte CCK ile ilişkili periferik etkisinin serebral iskemideki eksitotoksiteyi azaltmada kısmi bir katkı sağlayacağı düşünülmektedir (Masada ve ark., 1996).

NVS uygulanan epileptik kişilerde PET, SPECT, fMRI görüntüleme yöntemleri kullanılarak yapılan çalışmalarda NVS'nin serebral kan akımı üzerinde değişikliklere neden olduğu tespit edilmiştir. PET ile NVS'den 20 saat sonra yapılan çekimlerde; NTS, trigeminal sinir nükleusu, vagusun dorsal motor nükleusu, nukleus ambiguus, talamus, sağ postsentral girus, limbik sistemin supratentorial yapıları, hipotalamus, insular korteks, inferior serebellar hemisferde serebral kan akımında artış; amigdala, hipokampus, posterior singulat girus gibi bölgelerde azalma tespit edilmiştir (Lomarev M., 2002). SPECT çalışmalarında; NVS'den 1 saat sonra radyoligant madde verilerek yapılan çekimlerde, sol talamik ve sol parietal bölgede kan akımında azalma tespit edilmiştir. 2-6 dakika kadar kısa bir sürede NVS'nin etkilerini gösterebilen fonksiyonel MRI çalışmalarında; özellikle vagus sinirinin duysal girdilerini alan orbito-frontal korteks, serebellum, insula, medial ve dorsolateral prefrontal korteks gibi beyin bölgelerinde akut kan akımı artışları tespit edilmiştir. Bu sonuçlar NVS'nin beyin akımı üzerinde değişikliklere neden olarak iskemik hasar oluşumu üzerine etkili olabileceğini göstermektedir (Henry, 1999).

Gerbillerde global serebral iskemi üzerine NVS'nin etkisinin araştırıldığı çalışmalarda NVS'nin hipokampusta nöron ölümünü azalttığı tespit edilmiştir (Masada ve ark., 1996; Miyamoto ve ark., 2003). Bizim araştırmamızda da sıçanlarda oluşturulan fokal serebral iskemi üzerine etkili olduğu nörolojik skorda iyileşme ve infarkt alanında azalma yaptığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlar NVS'nin nöroprotektif olduğunu gösteren önceki çalışmalarla uyumludur. Bu çalışmamızda; NVS'nin daha önceden belirtilen ve net olarak da aydınlatılamamış olan etki mekanizmalarına da katkıda bulunmayı amaçladık. İskemi ve reperfüzyon hasarında büyük öneme sahip olan reaktif oksijen radikallerinin ve buna karşı oluşan

antioksidan mekanizmaların NVS'den etkilenebileceğini düşündük. Bu amaçla MCAO/R oluşturulan sıçanlarda NVS uygulamasını takiben lipit peroksidasyon ürünü MDA düzeyine ayrıca antioksidan savunmada yer alan SOD ve GSH seviyelerine bakılarak; NVS'nin iskemi sonucu artan MDA düzeylerini düşürdüğünü, SOD ve GSH seviyelerini arttırdığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlar NVS'nin geçici serebral iskemide serbest oksijen radikali oluşumunu azalttığını ve antioksidan sistemleri aktifleyerek oksidatif hasarı azaltıp nöronal koruma oluşturabileceğini göstererek NVS'nin önemli bir etki mekanizmasını da aydınlatmıştır.

**Linoleik asidin etkileri;** 90 dk MCAO uygulanacak sıçanlara iskemiden 30 dk önce verilen 100 nmol/kg, İV linoleik asidin; fokal iskemi sonucu oluşan nörolojik bozukluklarda anlamlı bir düzelme, infarkt alanında azalma oluşturduğunu ve iskemik beyin dokusundan aldığımız örneklerde lipit peroksidasyon ürünü MDA düzeyini azaltıp, antioksidan sistemlerle ilgili SOD ve GSH düzeylerini arttırdığını tespit ettik. Bu sonuçlar bize linoleik asidin nöroprotektif etkili olduğunu ve bu etkiyi yaparken serbest radikal oluşumunu azaltıp, antioksidan enzimleri de arttırdığını göstermektedir.

Poliansature yağ asitlerinin nöronal hasarı düzeltici etkisini, glutamerjik sinaptik aşırımı inhibe edip, voltaj bağımlı  $Na^+$  ve  $Ca^{2+}$  kanallarının kısmi inhibisyonunu sağlayarak, ayrıca bir  $K^+$  kanalı olan 2-P domain kanallarını pre ve post sinaptik olarak aktive edip, iskemide oluşan eksitotoksiteyi engelleyerek gerçekleştirdiği düşünülmektedir (Lauritzen ve ark., 2000).

Bu konuda daha önce yapılan deneysel çalışmalarda; sıçanlarda 10, 20, 30 dakikalık geçici global iskemi oluşturmadan 30 dk önce yada iskemiden 30 dk sonra verilen 100 nmol/kg, İV linoleik asidin hipokampus CA1 bölgesindeki nöronal kaybı büyük oranda engellediği bildirilmiştir. Bunlara ek olarak fare serebellar nöron kültürlerinde oluşturulan in-vitro eksitotoksite modellerinde de linoleik asit ve diğer poliansature yağ asitlerinin nöronal koruyucu etki oluşturduğu tespit edilmiştir (Abele ve Miller, 1990; Lauritzen ve ark., 2000).

Diğer bir araştırmada da sıçanlarda 6 dakikalık global serebral iskemi oluşturulmadan 3 gün önce verilen PUFA'nın iskemide oluşan hipokampal hücre ölümünü azalttığı, ayrıca verildikten 3 gün sonra nöroprotektif etkili HSP70



ekspresyonunu artırıp, iskemide artan proapoptotik Bax proteinini azalttığı tespit edilmiştir (Blondeau ve ark., 2002). Bu araştırma ile bizim araştırmamız sonuç olarak PUFA'nın serebral iskemide nöronal koruyucu etkili olduğunu göstermesi nedeniyle uyumludur.

Bulgularımız linoleik asidin global iskemi yanında, geçici fokal iskemi modelinde de nöroprotektif etkili olduğunu göstermesi açısından oldukça önemlidir.

**Adenozinin etkileri;** MCAO uygulanacak sıçanlara iskemiden hemen önce verilen adenozinin; fokal iskemi sonucu oluşan nörolojik bozukluklarda anlamlı bir düzelme, infarkt alanında belirgin bir azalma oluşturduğunu ve iskemik beyin dokusundan aldığımız örneklerde lipit peroksidasyon ürünü MDA düzeyini azaltıp, antioksidan sistemlerle ilgili SOD ve GSH düzeylerini arttırdığını tespit ettik. Bu sonuçlar bize adenozinin nöroprotektif etkili olduğunu ve bu etkiyi yaparken serbest radikal oluşumunu azaltıp, antioksidan enzimleri de artırdığını göstermektedir.

Şimdiye kadar yapılan araştırmalar sonucunda; adenozinin kortikal yapılarda eksitatör sinaptik iletiyi baskıladığı, ancak bu inhibisyonun derecesinin bölgesel farklılıklar gösterdiği tespit edilmiştir. Adenozin GABA'nın sinir terminalinden salınımından çok GABA-erjik internöronların ateşlemelerinin kontrolünde etkili olduğu düşünülmektedir. Bu internöronlar eksitatör sinapslar sayesinde indirekt olarak aktive edilirler, adenozin bu eksitatör nöronal sistemler üzerinden depresan etki oluşturarak fonksiyon görür (Broad ve Fredholm, 1996). Adenozinin diğer bir etkisi de post sinaptik  $K^+$  kanallarının açılmasını sağlayarak hiperpolarizasyon oluşturabilmesidir. Buna ilaveten, adenozin voltaj bağımlı  $Ca^{+2}$  kanallarını inhibe ederek, aksiyon potansiyeli süresini kısaltır ve salınan nörotransmitter miktarını azaltır. Ayrıca adenozinin vazodilatator, metabolizmayı azaltıcı, antiinflamator ve serbest radikal oluşumunu azaltıcı etkileri olduğu gösterilmiştir (von Lubitz, 1999; Mendonca ve ark., 2000). Adenozin reseptörlerinin epilepsi ve iskemi gibi durumlarda up yada down regülasyonu olduğu bilinmektedir. Hipokampal dilimlerde yapılan deneylerde adenozin  $A_1$  reseptörlerinin aspartat ve glutamat salınımını azalttığı gösterilmiştir. Yapılan başka bir deneyde de adenozinin, kan-beyin bariyerinden glutamat ve aspartat geçişini azalttığı belirtilmiştir (Pagonopoulou ve ark., 1998; von Lubitz, 1999; Riberio ve ark., 2003).

Adenozinin nöroprotektif etkisiyle ilgili invitro ve invivo olarak yapılan çalışmalar sonunda oluşan genel kanı adenozinin nöroprotektif etkili olduğudur. Ancak adenozinin reseptör agonistlerinin farklı etkileri olabildiği gibi, akut yada kronik uygulanmasına bağlı olarak da değişik etkiler meydana gelebilmektedir. İnvivo çalışmalarda adenozinin hemodinamik etkileri de işe karıştığı için daha kompleks mekanizmalar etkili olmaktadır. Örneğin adenozinin hipotansiyon oluşturması iskemide bozulan kan akımını daha da azaltarak nöronal koruyuculuğunu olumsuz etkilemekte ancak bunun yanında serebral damarlarda vazodilatasyon oluşturması, vücut ısısını azaltması, damar endotel hücrelerinde lökosit adezyon ve aktivasyonunu önlemesi nöroprotektif etkisini arttırmaktadır. Tüm bunların yanında serebral iskemiye sekonder oluşan konvulsiyonları önlediği için de nöronal hasarı azaltmaktadır (von Lubitz, 1999; Mendonca ve ark., 2000).

Şimdiye kadar global ve fokal serebral iskemik hayvan modellerinde yapılan çalışmalarda; akut olarak adenozin, adenozin geri alım inhibitörleri ve A<sub>1</sub> reseptör agonistlerinin birçoğunun kullanımının nöronal hasarı azalttığı, antagonistlerinin ise hasarı arttırdığı infarkt alan ölçümü, nörolojik skorlama ve çeşitli boyama yöntemleri kullanarak gösterilmiştir. Adenozin A<sub>2A</sub> reseptör agonistleriyle yapılan çalışmaların sonuçları çelişkili olmakla beraber genelde iskemik hasarı arttırdıkları, A<sub>2A</sub> reseptör antagonistleri ise nöroprotektif etkili olduğu bulunmuştur. A<sub>3</sub> reseptör agonistleri ise hücre kültürlerinde yapılan (invitro) çalışmalarda; düşük dozda nöroprotektif etkiliyken yüksek dozda hücre ölümünü arttırmıştır. İnvivo çalışmalarda ise A<sub>3</sub> reseptör agonistlerinin akut kullanımının serebral iskemik hasarı arttırdığı tespit edilmiştir (von Lubitz, 1999; Mendonca ve ark., 2000).

Gupta ve arkadaşlarının yaptığı bizim çalışmamıza benzer diğer bir çalışmada, 500 mg/kg, İP verilen adenozinin MCAO/R modeli uygulanan ratlarda infarkt alanı (Diffusion-Weighted Imaging yöntemi ile değerlendirilerek), nörolojik skor değerlendirmesi ve GSH, MDA düzeylerine etkileri araştırılmıştır. Sonuçta adenozinin infarkt alanını düşürdüğü, nörolojik defisitleri azalttığı, MDA düzeylerinde düşme GSH'da ise artışa yol açtığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlar bizim çalışmamızla paralellik göstermektedir. Bu çalışmada infarkt alanı değerlendirmek için kullanılan DWI iskemiden sonra 30 dk gibi erken safhalardaki etkileri gösterebilmekte ve TTC'ye göre çok daha hassas bir değerlendirme

yapılabilmektedir (TTC ile iskemik alanlar en iyi 24 saat sonra gösterilebilmekte). Bununla birlikte, TTC veya DWI kullanılarak yapılan birçok çalışmada birbiriyle uyumlu sonuçların çıkması TTC'nin güvenilirliğini ispatlamıştır (Gupta ve ark., 2002).

Bu güne kadar yapılan çalışmalar ışığında bakıldığında serebral iskemi üzerinde adenozinin hipotermik etkisi olumlu yönde katkı sağlarken, hipotansiyon oluşturması ise serebral kan akımını daha da azaltarak iskemik hasarın artmasına neden olabilmektedir. Bu etki adozin kullanımını kısıtlayan önemli bir sorun teşkil etmektedir (von Lubitz, 1999; Mendonca ve ark., 2000).

İleriki çalışmalarda, adozin ve kan basıncını düzenleyici tedavi protokollerinin birlikte kullanılmasıyla daha ümit verici sonuçlar alınabileceğini tahmin etmekteyiz.

### **NVS, Linoleik Asid ve Adenozinin Epilepsiler Üzerine Etkileri :**

**A) Konvulsif Epilepsilerdeki etkiler:** 60 mg/kg PTZ injeksiyonu yapılan tüm sıçanlarda kısa süreli jeneralize tonik-klonik nöbet aktivitesi (major nöbet) oluştu.

**NVS'nin Etkileri;** NVS uygulanan grupta, onsette (minör nöbete giriş süresi) istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşmazken, major nöbet latansı (nöbet başlangıç süresi ve nöbete girip-girmeme şeklinde değerlendirildi) ve major nöbet süresinde istatistiksel olarak anlamlı azalma oluşmuştur. Bu sonuç bize NVS'nin major nöbet oluşumunu ve yayılmasını engellediğini göstermektedir.

NVS bu etkisini daha önce de açıkladığımız gibi olasılıkla; serebrospinal sıvıda çeşitli nörotransmitter ve aminoasit miktarlarında ve serebral kan akımında değişikliklere neden olarak, ayrıca oksidan-antioksidan sistemleri etkileyerek oluşturmaktadır.

Bu konuyla ilgili daha önceden yapılan çalışmalarda NVS'nin JTKK'larda etkili olduğu hayvan ve insan deneylerinde gösterilmiş ve klinik olarak 12 yaş üstü, ilaca dirençli parsiyel başlangıçlı jeneralize epilepsilerin tedavisinde kullanımı FDA tarafından onaylanmıştır. Bizim çalışmamızda da PTZ ile oluşturduğumuz JTKK'ları büyük oranda engellemiş ve oluşan nöbetlerin de yayılımını engelleyerek şiddetini azaltmıştır. Bu sonuçlar daha önceki çalışmalarla uyumlu bulunmuştur.

Epileptik nöbetler MSS'de eksitatör ve inhibitör sistemler arasındaki dengenin bozulması sonucu oluşmaktadır (Brodie ve French 2000). Konvulsif nöbetlerde bu denge eksitasyon yönünde değişmektedir (absans epilepsi de ise denge inhibisyon yönündedir). NVS uygulanan epileptik hastalarda yapılan serebrospinal sıvı tetkiklerinde; NVS'nin GABA seviyesini arttırdığı, glutamat ve aspartat seviyelerini azalttığı, bunun yanında asparagine, fenilalanin, fosfoetonolamin, alanin, triptofan, ve 5-HIAA düzeylerini arttırdığı belirlenmiştir. Bu nörotransmitter ve aminoasit değişiklikleri MSS'de inhibitör yönde bir etkinlik oluşturup konvulsif nöbet aktivitesini baskılayabilmektedir. MSS'nin en önemli inhibitör nörotransmitteri GABA'dır ve nöronlarda GABA'nın inhibitör etkisinin azalmasının epileptik deşarjları meydana getirdiği ve nöbet oluşmasında önemli etkinliğe sahip olduğu gösterilmiştir. GABA agonistleri ve GABA yıkımını sağlayan en önemli enzim olan GABA-T inhibitörleri ise antikonvülsan etki gösterirler. GABA'dan başka MSS'de glisin, taurin, alanin, serin amino asitleri de inhibitör rol oynamakta ve NVS'nin bu aminoasitlerden alanini arttırmasının konvulsiyonların önlenmesine katkıda bulunabileceği belirtilmektedir (Henry ve ark., 1998-1999; Henry, 2002).

Yine NVS uygulanan epileptik kişilerde serebral kan akımı değişikliklerine bakılmış ve PET ile yapılan incelemelerde; özellikle amigdala ve hipokampusda bilateral kan akımında meydana gelen azalma, bu alanların kompleks parsiyel nöbetlere sıklıkla maruz kalan bölgeler olmasından dolayı ilginçtir. Birçok beyin bölgesinde NVS ile belirgin kan akımı değişikliği gözlenmesine rağmen, yalnız talamusta kan akımındaki artış nöbet azalması ile korelasyon göstermiştir. Bu durumda NVS talamusta sinaptik aktiviteyi arttırarak nöbetleri azaltıcı etki gösteriyor olabilir (Henry, 2002). İleri düzey çalışmalar bu durumu daha iyi açıklayabilecektir. Daha önce de belirtildiği gibi SPECT ve fMRI gibi görüntüleme yöntemleriyle yapılan çalışmalarda da NVS'nin birçok beyin bölgesinde kan akımında değişikliklere yol açtığı gösterilmekle birlikte sonuçlar netlik kazanmamıştır. Bu nedenle bu yolla mekanizmayı açıklamak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç bulunmaktadır.

MSS'de inhibitör ve eksitatör rol oynayan biyojenik aminlerin de konvulsiyonların patogeneğinde rol oynayabileceği çeşitli araştırmacılar tarafından

ileri sürülmüştür. Katekolaminlerin artışının antikonvülsan etki oluşturduğu, bunların içinde de en çok ilişkili olanın noradrenalin olduğu tespit edilmiştir. Locus ceruleus bölgesine mikroiyoferik olarak noradrenalin verilirse yada elektrikle uyarılırsa spontan aktif nöronların hemen inhibe olduğu görülmüştür. Ayrıca epileptik çocukların serebrospinal sıvılarında serotonin ve onun yıkım ürünü olan 5-HIAA düzeylerinin azaldığı bulunmuş ve epileptik konvülsiyonların patogeneğinde serotonin metabolizması bozukluğunun da önemli rol oynayabileceği ileri sürülmüştür (Matsuo, 1983; Ferrendelli, 1984). Vagal afferentler NTS yoluyla spinal kord ve beyin noradrenerjik ve serotonerjik nöromodulatör sistemlerine yansır. Bunlardan locus ceruleus noradrenerjik inervasyon sağlar. Raphe nükleusu ise; korteks, diensefalon ve diğer birçok bölgeye yaygın serotonerjik inervasyon sağlamaktadır. Vagal-locus ceruleus ve vagal-raphe etkileşimleri NVS'nin antiepileptik etki mekanizmalarına ışık tutmaktadır (Henry, 2002).

Polisinaptik vagal projeksiyonlar daha çok NTS yoluyla hipotalamik-talamik nükleuslar, amigdalanın santral nükleusu, stria terminalisin bed nükleusu, nükleus akumbens gibi yapılardır. NTS'nin özellikle amigdalaya olan projeksiyonları kompleks parsiyel nöbetlerin en sık yerleştiği limbik sistemle bağlantı kurarak NVS'nin antiepileptik etkisini kısmen açıklayabilir (Henry, 2002).

**Adenozinin etkileri:** 60 mg/kg (İP) PTZ verilen sıçanların tümünde tonik klonik konvülsiyonlar oluşurken, 500 mg/kg (İP) adenozin major nöbet oluşumunu önemli oranda engelleyip, nöbete giriş süresini geciktirmiş ve major nöbet süresini kısaltmıştır. Bu sonuçlar şimdiye kadar konvulsif epilepsilerde adenozin kullanımıyla ilgili çalışmalardaki sonuçlarla ve adenozinin bilinen etki mekanizmalarıyla uyum göstermektedir.

Şimdiye kadar yapılan araştırmalar sonucunda; adenozinin kortikal yapılarda eksitatör sinaptik iletiyi baskıladığı, ancak bu inhibisyonun derecesinin bölgesel farklılıklar gösterdiği tespit edilmiştir (Broad ve Fredholm, 1996). Adenozin post sinaptik  $K^+$  kanallarının açılmasını sağlayarak hiperpolarizasyon oluşturabilmekte ayrıca voltaj bağımlı  $Ca^{+2}$  kanallarını inhibe ederek aksiyon potansiyeli süresini kısaltıp salınan nörotransmitter miktarını azaltmaktadır. (Gerber ve ark.,1989; Haas ve Selbach, 2000). Ayrıca adenozinin vazodilatator, metabolizmayı azaltıcı,

antiinflamator ve serbest radikal oluşumunu azaltıcı etkileri olduğu gösterilmiştir (von Lubitz, 1999; Mendonca ve ark., 2000).

Serebral iskemi, kafa travması ve epileptik nöbetler gibi patolojilerde, adenzin konsantrasyonu normal duruma göre 30-100 kat arttığı tespit edilmiştir. Adenzinin özellikle A<sub>1</sub> reseptörlerinin PTZ nöbetlerinden sonra up regülasyonu olduğu bilinmektedir. Bu artışın nöbet gelişimi ile ilgili alanlarda gözlenmesi, adenzinin nöbet engelleyici ve ilerlemesini durdurucu etkisiyle ilişkili olduğunu göstermektedir. Yapılan başka bir deneyde de adenzinin, kan-beyin bariyerinden glutamat ve aspartat geçişini azalttığı belirtilmiştir (Pagonopoulou ve ark., 1998; von Lubitz, 1999; Riberio ve ark., 2003). Adenzinin nöroprotektif etkileri tüm bu mekanizmalarla açıklanmaya çalışılmıştır, bizim çalışmamızdaki antiepileptik etkileri de bunlarla ilişkilendirilebilir, çünkü adenzin nörotransmitter dengesini inhibitör yönde etkilemektedir. Sistemik kullanımda adenzinin hemodinamik etkileri de işe karıştığı için daha kompleks mekanizmalar etkili olmaktadır. Örneğin JTKK sırasında oluşan ve K-BB'de yıkıma neden olan hipertansiyon, adenzinin kan basıncını düşürücü etkisiyle engellenerek konvulsiyon sonucu oluşan nöron hasarı azalabilmektedir (Ateş ve ark., 1992). Buna ek olarak adenzinin vucut ısısını düşürmesi de hipotermimin nöronal koruyucu etkisine bağlı olarak epileptik hasarı azaltıcı olabilir.

**Linoleik asidin etkileri;** major nöbet oluşumunu önemli oranda engelleyip, nöbete giriş süresini geciktirmiş ve major nöbet süresini kısaltmıştır. Bu sonuçlar şimdiye kadar konvulsif epilepsilerde linoleik asit kullanımıyla ilgili sınırlı sayıdaki çalışma sonuçlarıyla ve linoleik asidin bilinen etki mekanizmalarıyla uyum göstermektedir.

Poliansature yağ asitlerinin etkisini, glutamerjik sinaptik aşırımı inhibe edip, voltaj bağımlı Na<sup>+</sup> ve Ca<sup>2+</sup> kanallarının kısmi inhibisyonunu sağlayarak, ayrıca bir K<sup>+</sup> kanalı olan 2-P domain kanallarını pre ve post sinaptik olarak aktive edip, eksitotoksitelyi engelleyerek gerçekleştirdiği belirtilmiştir (Lauritzen ve ark., 2000). Na<sup>+</sup> ve Ca<sup>2+</sup> girişinin azalması, nöron ve diğer uyarılabilir hücrelerin membranını stabilize edip, epileptojenik odaktakiler gibi yüksek frekanslı deşarj yapan nöronları daha fazla inhibe eder. K<sup>+</sup> kanallarının aktivasyonuyla K<sup>+</sup> dışa çıkışının artırılması hiperpolarizasyona yol açarak eksitabilitelyi azaltmaktadır (Kayaalp, 1995). Bizim

çalışmamızda da linoleik asidin belirtilen etki mekanizmaları yoluyla PTZ nöbetlerini engellediğini düşünmekteyiz. Daha önce yapılan başka bir araştırmada da sıçanlarda KA injeksiyonu ile nöbet oluşturulmadan 3 gün önce verilen PUFA'nın epilepside oluşan hipokampal hücre ölümünü azalttığı, epileptik aktiviteyi baskıladığı, ayrıca verildikten 3 gün sonra nöroprotektif etkili HSP70 ekspresyonunu artırıp, epilepside artan proapoptotik Bax proteinini azalttığı tespit edilmiştir (Blondeau ve ark., 2002). Bu araştırma ile bizim araştırmamız sonuç olarak PUFA'nın antiepileptik etki göstermesi açısından da uyumludur.

Daha önce PUFA'nın epileptik nöbetlere etkisi invitro ve invivo modeller oluşturularak yapılan bazı çalışmalarda gösterilmiştir. Invitro modelde; glutamerjik nöronlar kullanılarak nöbet benzeri aktivite oluşturulmuş ve linoleik asidin glutamerjik aşırımı engellediği gösterilmiştir. Invivo olarak da; Kainik asit (KA) injeksiyonu ile temporal lop epilepsisi oluşturulan sıçanlarda linoleik asit verilmesinin epileptiform aktiviteyi engellediği ayrıca nöbetler sırasında oluşan hipokampal hasarın da azaldığı tespit edilmiştir (Lauritzen ve ark., 2000). Ayrıca kortikal stimülasyon modeli oluşturulan sıçanlarda çeşitli poliansature yağ asitleri verilerek yapılan bir araştırmada PUFA'nın antikonvulsan etkili olduğu ve bu etkinin 6 saat boyunca devam ettiği, ertesi gün ise hiç kalmadığı gösterilmiştir. Aynı araştırmada; PUFA'nın antikonvulsan etkisi sodyum valproat ile karşılaştırılmış ve valproat daha etkili bulunmasına rağmen PUFA'nın belirgin antikonvulsan etkisinin de gözardı edilemeyeceği ifade edilmiştir (Voskuly, 1998). Yukarıda belirtilen ve bizim yaptığımız çalışmalarda PUFA'nın antikonvulsan etkili olduğu ve bu etkinin 6 saat boyunca devam ettiği gösterilmiştir. Bu açıdan çalışmamız önceki çalışmalarla uyumlu görülmektedir.

Bizim çalışmamızda öncekilerden farklı olan PTZ modeli kullanıldı böylece PUFA'nın antikonvulsif etkisi bu modelde de gösterilmiş oldu.

## **2) Nonkonvulsif Epilepsi (Absans) üzerine etkiler:**

**NVS'nin Etkileri;** NVS uygulamasını takiben aldığımız 1 saatlik EEG kayıtlarında toplam SWD sayı ve süresinin anlamlı şekilde artması NVS'nin absans epilepsiyi şiddetlendirdiğini göstermektedir. Konvulsif epilepsilerde NVS kullanımıyla ilgili birçok çalışma olmasına hatta klinikte kullanılmaya başlanmasına rağmen absans epilepside kullanımıyla ilgili yeterli sayıda araştırma bulunmamaktadır.

Aynı stimülasyon parametreleri kullanılarak uygulanan NVS'nin konvulsif epilepsileri azaltırken nonkonvulsif absans epilepsiyi arttırması bize NVS'nin en önemli etki mekanizmasının serebrospinal sıvıdaki nörotransmitter dengesini değiştirerek oluşturabileceğini düşündürmektedir. Daha önceden de açıkladığımız gibi, epileptik nöbetler MSS'de eksitator ve inhibitör sistemler arasındaki dengenin bozulması sonucu oluşmaktadır. Bu denge; konvulsif nöbetlerin oluşumunda eksitasyon yönünde değişmekteyken, absans nöbetlerde inhibisyon yönündedir (Tsakridou ve ark., 1995; Brodie ve French, 2000). İşte NVS'nin önemli etki mekanizmalarından biri de bahsedilen dengeyi inhibitör yönde etkileyebilmesidir. NVS'nin özellikle GABA seviyesini arttırması, GABA aracılı inhibisyonun aşırılığından dolayı ortaya çıktığı belirtilen absans nöbetlerin artmasında çok önemli bir mekanizma gibi görünmektedir.

Absans epilepside şimdiye kadar yapılan çalışmalarda bulunan sonuçlara göre GABA ve glutamat agonistleri absans nöbetleri arttırırken, her ikisinin antagonistleri absans nöbetleri azaltmaktadır (Ateş ve ark., 1994). NVS uygulananlarda da etkilenen nörotransmitterlerden en önemlileri GABA ve glutamattır. NVS serebrospinal sıvıdaki GABA düzeylerini attırırken glutamata azaltmaktadır. Burada GABA düzeylerinin artmasının önceki çalışmalar ışığında bakıldığında absans nöbetleri arttırıcı etki oluşturabileceği yorumu yapılabilir, ancak glutamat düzeylerinde oluşan azalmanın da absans nöbetleri azaltıcı etki oluşturması beklenebilir. Bizim çalışmamızda oluşan net etki ise SWD sayı ve süresinde artış oluşması şeklinde bulunmuştur. Bu durum ilk bakışta çelişkili gibi görünmekle birlikte bize NVS'nin etki mekanizmasında GABA düzeylerindeki artışın glutamattaki azalmadan daha yüksek düzeylerde etkili olarak nörotransmitter dengesini inhibitör yöne kaydırabileceğini düşündürmüştür. Buradan diyebiliriz ki



NVS kullanımını glutamattan daha ziyade GABA düzeylerinde değişiklik yaparak etkili olabilmektedir.

**Linoleik Asidin Etkileri;** alışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlar, linoleik asidin WAG-Rij sıçanlarda oluşan absans nöbetlerin sayı ve süresini arttırdığını göstermektedir. Bu sonuçlarla karşılaştırabileceğimiz PUFA'nın şimdiye kadar absans epilepside kullanımıyla ilgili yeterli literatür bilgisi mevcut değildir.

Poliansature yağ asitlerinin etkisini, voltaj bağımlı Na<sup>+</sup> ve Ca<sup>2+</sup> kanallarının kısmi inhibisyonunu sağlayarak, K<sup>+</sup> kanallarını pre ve post sinaptik olarak aktive ederek ayrıca HSP ve Bax proteini ekspresyonu oluşturarak gerçekleştirdiği düşünülmektedir.

Absans epilepside Ca<sup>2+</sup> kanallarının modülasyonu ile ilgili yapılan çalışmalarda, T-tip kanal blokajı SWD'leri azaltırken, L-tip kanal blokajının ise SWD'leri arttırdığı tespit edilmiştir (van Luijtelaar ve ark., 1995). PUFA'nın inhibe ettiği Ca<sup>2+</sup> kanallarının da özellikle L-tip kanallar olduğunun tespit edilmesi (Voskuyl ve ark., 1998), linoleik asidin SWD'leri arttırıcı etkisinin oluşmasında L-tip Ca<sup>2+</sup> kanallarının inhibisyonunun önemli bir faktör olabileceğini göstermektedir.

PUFA'nın Na<sup>+</sup> kanallarını bloke edici etkisi sonucu membran stabilizasyonu ve inhibitör yönde bir etki oluşur. K<sup>+</sup> kanallarının açılması ise K<sup>+</sup>un dışarı çıkışını arttırarak hiperpolarizasyona yol açan bir olaydır. Tüm bu mekanizmalar nöronal eksitabilitenin azalmasına, beyinde nörotransmitter dengesinin inhibitör yönde değişmesine yol açarak absans nöbetleri arttırabilir.

**Adenozinin Etkileri:** alışmamızda adenozinin SWD sayı ve süresini arttırdığı yani absans epilepsiyi arttırıcı etki oluşturduğunu tespit ettik. şimdiye kadar yapılan çalışmalarda adenozinerjik sistemin non-konvulsif absans nöbetlerindeki rolü tam olarak aydınlatılamamıştır, bu konuda bölümümüzden İlbay ve ark.'nın yaptığı çalışmada (2001) adenozinin daha düşük dozlarda periferik yolla uygulamasının absans nöbetlerini şiddetlendirdiği gösterilmiştir, bizim çalışmamız da bununla uyumlu bulunmuştur.

Adenozin MSS'de, özellikle talamik bölgede GABAerjik nöronlarda hiperpolarizasyon oluşturarak düşük eşikli T-tip kalsiyum kanallarının aktivasyonunu sağlayıp osilatör aktivitenin artışına yol açabilir. Yine beyinde birçok nörotransmitter ve nöropeptitlerin salınımını düzenleyen adenozin özellikle

eksitatör nörotransmitter salınımını baskılamaktadır. Bu nedenle inhibitör-eksitatör denge inhibitör yönde değişmekte ve tüm bu etkilerin sonucu absans nöbetler şiddetlenmektedir.

Adenozin beyinde hem eksitatör hem de inhibitör nörotransmitter salınımını etkileyebilir. Düşük dozlarda eksitatör nörotransmitter salınımını etkilerken, bizim çalışmamızdaki gibi yüksek dozda kullanımı inhibitör nörotransmitter salınımına neden olarak nörotransmitter dengesini inhibitör yöne kaydırmaktadır. Bu artmış GABAerjik fonksiyon SWD oluşumunu kolaylaştırıp absans epilepsiyi şiddetlendirebilir. Bizim bulduğumuz sonuçlar da bu literatür bilgileriyle uyumlu bulunmaktadır.



## 6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Serebral iskemi ve epilepsi MSS'yi etkileyen farklı patolojiler olmasına rağmen beyinde morfolojik ve bölgesel olarak benzer hasarlara neden olurlar. Her ikisinde de nöronal hasar oluşumunda en önemli mekanizma eksitotoksisite ile ilgilidir. Absans epilepside ise konvulsif epilepsilerden farklı olarak SWD oluşumunda retikulotalamik nükleusun pacemaker aktivite gösterdiği ve bu osilasyonların altında yatan mekanizmanın artmış GABA-erjik inhibisyon olduğu gösterilmiştir.

Tedavi yaklaşımları açısından bakıldığında da serebral iskemi ve konvulsif epilepsilerdeki uygulamalar benzerlik göstermektedir. Örneğin NMDA ve AMPA reseptör antagonistleri, adenozin analogları, kalsiyum antagonistleri ve antioksidan ajanların her iki patolojide de etkili olduğu gösterilmiştir. Absans epilepside ise GABA ve adenozin antagonistlerinin yanısıra glutamat agonistleri gibi farklı ajanlar etkili bulunmuştur.

Araştırmamızda kullanılan ajanların etki mekanizmaları göz önüne alındığında; Adenozinin nörotransmitter dengesi üzerine, Linoleik asidin daha çok iyon kanalları ve antioksidan sistemlere, NVS'nin ise yine nörotransmitter dengesi ve serebral kan akımı üzerine etkileri, serebral iskemi ve epilepsilerin tedavisi açısından öne çıkmaktadır.

Bu araştırmada özellikle NVS ve linoleik asit gibi serebral iskemi ve epilepside kullanımı çok yeni olan ayrıca adenozin gibi daha fazla araştırma ile etkileri gösterilmiş olan ajanlar kullanılarak bunların etkileri incelenip birbiriyle karşılaştırılmış ve sonuçta; NVS, linoleik asit ve adenozinin her üçünün sıçanlar üzerinde kullanılması ile hem orta serebral arter iskemisi hem de konvulsif epilepsi modelinde nöronal koruyucu etkili olduğu ve nörolojik parametrelerde iyileşme sağladığı tespit edilirken, nonkonvulsif (absans) epilepsi modeli olan WAG-Rij sıçanlarda kullanımlarının absans nöbetleri şiddetlendirdiği bulunmuştur (Tablo 5.1.; tablo 5.2.).

**Tablo 5.1.** NVS, Linoleik asit ve Adenozinin; infarkt alanı, nörolojik defisitler ve oksidan-antioksidan sistemler üzerine etkilerinin karşılaştırması (↑: İstatistiksel olarak anlamlı artış, ↓ : İstatistiksel olarak anlamlı azalma, \_ : İstatistiksel olarak anlamlı fark yok).

	İnfarkt oranı (%)	Nörolojik skor	MDA		SOD		GSH	
			Korteks/striatum		Kortks / str.		Kortks / str.	
NVS	↓	↓	↓	↓	↑	↑	↑	↑
Linoleik asit	↓	↓	↓	↓	↑	↑	↑	↑
Adenozin	↓	↓	↓	↓	—	—	↑	↑

**Tablo 5.2.** NVS, Linoleik asit ve Adenozinin; Konvulsif ve nonkonvulsif epilepsiler üzerine etkilerinin karşılaştırılması ( : İstatistiksel anlamlı artış, : İstatistiksel anlamlı azalma, \_ : İstatistiksel olarak anlamlı fark yok).

	Konvulsif Epilepsi				Non-konvulsif Epilepsi(Absans)	
	Minör Nöbet Başlangıç Süresi (Onset)	Major Nöbet Latansı	Toplam Maj.Nöb. Süresi	Maj.Nöb. Girme Oranı	SWD SAYISI	SWD SÜRESİ
NVS	—	↑	↓	↓	↑	↑
Linoleik Asit	↑	↑	↓	↓	↑	↑
Adenozin	↑	↑	↓	↓	↑	↑

**İskemi gruplarında değerlendirme yaptığımızda;** NVS, linoleik asit ve adenozin kullanımının sıçanlarda MCAO/R ile oluşan infarkt alanlarında ve nörolojik defisitlerde azalma oluşturduğu ayrıca hem korteks hem de striatum-talamus-hipotalamus bölgelerinde oksidatif hasarın göstergesi olan MDA düzeylerinde azalma ve antioksidan enzimler olan SOD ve GSH düzeylerinde ise artmaya neden olduğu tespit edildi. Bu grupta sadece, adenozin kullanımı ile kortekste oluşan SOD artışı istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

**NVS, linoleik asit, adenozinin etkinlikleri birbiriyle karşılaştırılacak olursa;** infarkt alanı ve nörolojik skorlama açısından etkinliği en yüksek NVS görülmekle birlikte istatistiksel olarak üçünün arasında anlamlı bir fark tespit edilmedi (Şekil 4.2.16.). Biokimyasal parametreler açısından üç ajan karşılaştırıldığında ise **kortekste; MDA ve GSH düzeylerindeki artışlarda birbirine göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark yokken, SOD düzeylerinde kontrol grubuna göre anlamlı bir fark oluşturmayan adenozine göre linoleik asit ve NVS'deki artışlar anlamlı bulunmuştur. Striatumda ise; MDA ve GSH düzeyleri açısından üç ajan arasında bir fark gözlenmezken, linoleik asidin SOD düzeylerini diğerlerine göre anlamlı şekilde daha fazla arttırdığı tespit edilmiştir (Şekil 4.2.17.). Özellikle SOD seviyelerindeki bu değişiklikler değerlendirildiğinde antioksidan etkinliği en yüksek ajanın linoleik asit, en düşük olanın da adenozin olduğu yorumu yapılabilir.**

Tüm iskemi grubu sonuçları değerlendirildiğinde; **her üç ajanın da lipid peroksidasyonunu engelleyerek oksidatif hasarı azaltabileceği ve antioksidan sistemleri aktifleyerek radikal süpürücü etki gösterebileceği kanısına varılabilir.** Oluşan radikallerinin, serebral endotelial hücrelerde hasar oluşturarak kan-beyin bariyerinin bozulması ve ödem oluşumunda birincil rol oynadığı, ayrıca iskemik dokuda kollateral dolaşımın gelişimini bozarak hasarı daha da arttırdıkları göz önüne alındığında bu ajanların oluşturacağı radikal süpürücü etkinin önemi daha iyi anlaşılmaktadır. Özellikle serebral iskemik hasara karşı kullanımı birkaç hayvan deneyiyle sınırlı olan linoleik asit ve NVS'nin tedavi açısından ümit verici olduğunu ve bu patolojinin tedavisinde kullanımına yönelik çalışmaların artırılması gerektiğini düşünmekteyiz.

**Sonuçlarımızı konvulsif epilepsiler açısından değerlendirirsek;** NVS, adenozin ve linoleik asidin PTZ ile oluşturulan konvulsif nöbetlerde minör nöbet

**Sonuçlarımızı konvulsif epilepsiler açısından değerlendirirsek;** NVS, adenozin ve linoleik asidin PTZ ile oluşturulan konvulsif nöbetlerde minör nöbet başlangıç süresini uzattığı (NVS hariç), major nöbete giriş süresini geciktirdiği, toplam major nöbet süresini ve nöbete giren sıçan sayısını azalttığı tespit edildi. **NVS, linoleik asit, adenozinin etkinlikleri birbiriyle karşılaştırıldığında ise;** yukarıda saydığımız parametreler açısından üç ajan arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı yani eşit güçte etkili olduğu tespit edildi (Şekil 4.1.1.).

Bu sonuçlar şu anda kliniklerde insan üzerinde kullanılmaya başlanmış olan NVS gibi, adenozin ve linoleik asidin de epilepsi tedavisinde etkili olabileceğini göstermektedir. Bu konuda yapılacak çalışmaların sayısının artırılması ve bu ajanların klasik antiepileptik ilaçların yanısıra kullanıma girmesinin epilepsi tedavisinde yeni ufuklar açacağına inanmaktayız.

**Absans epilepsideki sonuçları değerlendirdiğimizde ise;** her üç uygulamanın da SWD sayı ve sürelerini istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttırdığını tespit ettik (Şekil 4.1.5.). Bulduğumuz sonuçlara göre kullandığımız ajanlardan hiçbirinin absans epilepside kullanımı uygun görülmemektedir. Ancak özellikle NVS'nin değişik stimulus parametrelerinde çalıştırılması yada her üç ajanın kronik kullanımlarının denenmesi sonucu farklı etkilerin oluşabileceği düşünülerek yapılacak ileri çalışmalarla ilginç sonuçların elde edilebileceğine inanmaktayız.

**Araştırmamız konvulsif ve non-konvulsif epilepsilerdeki farmakolojik farklılaşmayı ortaya koymaktadır. Şimdiye kadar yapılan deneysel ve klinik çalışmalarda; bu epilepsilerin oluşumunda eksitatör ve inhibitör sistemler arasındaki dengenin değişmesinin farklı etkiler ortaya çıkarması nedeniyle tedavilerinde de farklı yaklaşımların kullanılması gerektiği belirtilmektedir. Çalışmamızın sonuçları bunu birkez daha göstermiş bulunmaktadır.**

## KAYNAKLAR DİZİNİ

Abe K., (2000). Therapeutic potential of neurotropic factors and neural stem cells against ischemic brain injury. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*. 20: 1393-1408.

Abele A.E and Miller R.J., (1990). Potassium channel activators abolish excitotoxicity in cultured hippocampal pyramidal neurons. *Neurosci.lett.* 115: 195-200.

Aktan S., (1991). İskemik beyin zedelenmesinde rol alan etkenler: beyin dokusu bu zararlı etkenlerden korunabilir mi? *Klinik Gelişim* 4:150-1563.

Albelda S.M., Smith C.W., Ward P.A., (1994). Adhesion molecules and inflammatory injury, *FASEB J.* 8:504-512.

Amar AP, Heck CH, Levy ML, Smith T, DeGiorgia CM, Oviedo S, Apuzzo MLJ (1998) An institutional experience with cervical vagus nerve trunk stimulation for medically refractory epilepsy: rationale, technique, and outcome. *Neurosurgery* 43: 1265-1280.

Ates N., Uzum G., Diler S., Ziylan Z., (1992). The cerebrovascular permeability and epilepsy: the role of blood pressure. *Neuroscience reseach Communications* 10: 163-169.

Ateş N., van Luijtelaar E.L.J.M., Conen A.M.L., Ziylan Y.Z., (1994). Absans tipi epilepsi için genetik hayvan modeli. *Tıp fakültesi mecmuası*, 57: 82-87.

Avanzini G., (1995). Animals models relevant to human epilepsies. *Ital.J.Neurol.Sci.*, 16: 5-8.

Avanzini G., Panzica F., de Curtis M., (2000). The role of thalamus in vigilance and epileptogenic mechanism. *Clin Neurophysiol.*, 111:19-26.

Banasiak K.J., Xia Y., Haddad G.G., (2000). Mechanisms underlying hypoxia-induced neuronal apoptosis. *Progress in Neurobiology*, 62: 215-249.

Başoğlu M., 1988. *Epilepsiler*, 1. baskı.

Ben-Menachem E, Hamberger A, Hedner T, Hammond EJ, Othman BM, Slater J, Treig T, Stefan H, Ramsay RE, Wernicke JF, Wilder BJ (1995) Effects of vagus nerve stimulation on amino acids and other metabolites in the CSF of patients with partial seizures. *Epilepsy Research* 20: 221-227.

Bingöl F., Aydın S., Açıkgöz Ş., (1993). Serbest radikaller. Ankara Hst. Tıp Dergisi, 28: 1-23.

Blaine C.W., Jonathon M.S., Donald J.D., Brain J. O'Neil, Robert W.N., Lawrence I.G., Jose A.R., Gary S.K., (2000). Brain ischemia and reperfusion: molecular mechanisms of neuronal injury, 179:1-33.

Blondeau N., Widmann C., Lazdunski M., Hearteaux C., (2002). Polyunsaturated fatty acids induce ischemic and epileptic tolerance. Neuroscience 109: 231-241.

Bora İ. ve Taşkapılıoğlu Ö., (2003). Epilepsi tedavisinde yeni yönelimler. Epilepsi, 9: 91-102.

Brint S., Jacewicz M., Kiessling M., (1988). Focal brain ischemia in the rat: methods for reproducible neocortical infarction using tandem occlusion of the distal MCA and ipsilateral CCA. J. Cereb Blood Flow Metab, 8: 474-485.

Broad R.M., Fredholm B.B., (1996). A1 but not A2a adenosine receptors modulate electrically stimulated acetylcholine release from rat cortex. J. Pharmacol Exp Ther., 277:193-7.

Buege, J.A. and Aust, S.D. (1978). Microsomal lipid peroxidation. Methods Enzymol. 52, 302-310.

Castillo J., Rama R., Davalos A., (2000). Nitric oxide related brain damage in acute ischemic stroke. Stroke, 31:852-857.

Champe P.C., Harvey R.A., (2000). Lippincott's Biokimya, Nobel kitabevi çevirisi, s;172, 179, 306.

Chan P.H., (2001). Reactive oxygen radicals in signaling and damage in the ischemic brain. J Cereb Blood Flow Metab., 21: 2-14.

Chan PH. Oxygen radicals in focal cerebral ischemia. Brain Pathol. 1994;4:59-65.

Chan PH., (1996). Role of oxidants in ischaemic brain damage. Stroke 27: 1124-29.

Chen S.T. Hsu C. Hogan E., (1986). A model of focal ischemic stroke in the rat: Reproducible external cortical infarction. Stroke, 17: 738-743.

Clark A.W., Krekoski C.A., Bou S.,(1997). Increased gelatinase A (MMP-2) and gelatinase B (MMP-9) activities in human brain after focal cerebral ischemia. Neurosci Lett., 238: 53-56.

Clark W.M., (1997). Cytocines and reperfusion injury. Neurology 49:10-14.



- De Keyser J., Sulter G., Luitem P.G., (2000). Clinical trials with neuroprotective drugs in acute ischemic stroke: are we doing the right things? *Trends in Neurosciences* 23(6): 245-46.
- Dreifuss F.E., (1990). The epilepsies: Clinical implications of the international classification. *Epilepsia*, 31(3): 3-10.
- Drinkenburg W.H., Coenen A.M., Vossen J.M., Van Luijtelaar E.L.J.M., (1991). Spike wave discharges and sleep-wake states in rats with absence epilepsy. *Epilepsy Res.* 9: 218-24.
- Dröge W., (2002). Free radicals in the Physiological control of cell function. *Physiol Rev*, 82:47-95.
- Dunwiddie T.V, Masino S.A., (2001). The role and regulation of adenosine in the central nervous system. *Annu rev Neurosci*, 24: 31-51.
- Dunwiddie T.V., (1985). The physiological role of adenosine in the central nervous system. *Int Rev Neurobiol* 27:63-139.
- Ellman, G.L. (1959). Tissue sulfhydryl groups. *Arch. Biochem. Biophys.* 82(1), 70-77.
- Erenel G., Erbaş D., Arıcıoğlu A., (1992). Serbest radikaller ve antioksidan sistemler. *Gazi tıp dergisi*, 3: 243-250.
- Ertekin C., (1987). Serebrovasküler hastalıklar, nörolojide fizyopatoloji ve tedavi. *Bilgehan matbaası, İzmir*, 625-627.
- Ferrendelli J.A., (1984). Role of biojenic amines and cyclic nucleotides in seizures mechanisms. *Ann. Neurol* 16: 98-103.
- Fisher R.S., (1989). Animal models of the epilepsies. *Brain Res Rev.*, 14(3): 245-78.
- Fisher RS, Krauss GL, Ramsay E, Laxer K, Gates J., (1997). Assessment of vagus nerve stimulation for epilepsy: report of the Therapeutics and Technology Assessment Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology*, 49(1): 293-7.
- Frei B., (1994). *Natural antioxidants in human health and disease.* Academic Press.
- Frei B., (1999). Molecular and biological mechanisms of antioksidant action. *FASEB J.*, 13: 963-964.
- Futatsugi Y., Riviello J.J.Jr., (1998). Mechanisms of generalized absence epilepsy. *Brain Dev.*, 20(2): 75-79.

Ganong W.F., (1999). Tıbbi Fizyoloji (19. baskı), Türk fizyolojik bilimler çevirisi. Sayfa 653.

George MS, Nahas Z, Bohning DE, Kozel FA, Anderson B, Chae JH, Lomarev M, Denslow S, Li X, Mu C., (2002). Vagus nerve stimulation therapy: a research update. *American Academy of Neurology* 59 (6): 56-61.

George MS, Sackeim HA, Rush AJ, Marangell LB, Nahas Z, Husain MM, Lisanby S, Burt T, Goldman J, Ballenger JC (2000) Vagus nerve stimulation: a new tool for brain research and therapy. *Biological Psychiatry* 47: 287-295.

Gilroy J., (2002). Temel Nöroloji Sayfa: 225-247,(3. baskı). Çeviri Editörü; Rana Karabudak, Güneş Kitabevi.

Goldman H., Berman R.F., Hazlett J., Murphy S., (1992). Serebrovascular responses to pentylenetetrazole: time and dose dependent effects. *Epilepsy res.* 12(3): 227-242.

Gupta Y.K., Shinha K., Chaudhary G., Jagannathan N.R., (2002). *Pharmacol. Bioch. and Beh.*, 72(3): 569-74.

Guyton A.C., Hall J.E., (2001). Tıbbi Fizyoloji, Sayfa: 709-711 (10. Baskı). Çeviri editörü: H. Çavuşoğlu.

Hacke W., Hennerici M., Gelmerz HJ., Kramer G., (1991). Pathophysiology of cerebral ischemia, Springer-Verlag, Berlin, sayfa:17-30.

Halliwell B., Gutteridge J.M.C.,(1990). The antioxidants of human extracellular fluids. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 280:1-8.

Halliwell B.,(1995). Antioxidant characterization methodology and mechanism. *Biochem Pharmacol*, 10: 1341-1348.

Halliwell B.,(1996). Antioxidants in human health and disease. *Annu Rev Nutr.* 16:33-50.

Hammond E.J., Uthman B.M., Wilder B.J., et al., (1992). Neurochemical effects of vagus nerve stimulation in humans. *Brain res.*,583: 300-303.

Hammond EJ, Othman BM, Reid SA, Wilder BJ (1992) Electrophysiological studies of cervical vagus nerve stimulation in human: 1. EEG effects. *Epilepsia* 33(6): 1013-1020.

Hammond EJ, Othman BM, Reid SA, Wilder BJ, (1992). Electrophysiological studies of cervical vagus nerve stimulation in humans: II. Ewoked potentials.. *Epilepsia* 33: 1021-1028.

- Handforth, A., DeGiorgio, C.M., Schachter, S.C., Uthman, B.M., Naritoku, D.K., Tecoma, E.S., (1998). Vagus nerve stimulation therapy for partial-onset seizures: A randomized active-control trial. *Neurology* 51: 48–55.
- Hayashi T., Abe K., Suziki H., Itayama Y., (1997). Rapid induction of vascular endothelial growth factor gene expression after middle cerebral artery occlusion in rats. *Stroke* 28: 2039-2044.
- Heck Christi, Helmers Sandra L., and M. DeGiorgio Christopher, 2002. Vagus nerve stimulation therapy, epilepsy, and device parameters: Scientific basis and recommendations for use. *Neurology*, 59: 31-37.
- Henry JM. Barnett, JP. Mohr, Bennett M. Stein, Frank M. Yatsu (1998). *Stroke: Pathophysiology, diagnosis and management* (3. Edition).
- Henry TR, Bakay RA, Votaw JR, Pennell PB, Epstein CM, Faber TL, Grafton ST, Hoffman JM., ( 1998). Brain blood flow alterations induced by therapeutic vagus nerve stimulation in partial epilepsy: I. Acute effects at high and low levels of stimulation. *Epilepsia* 39(9): 983-90.
- Henry TR, Votaw JR, Pennell PB, Epstein CM, Bakay RAE, Faber TL, Grafton ST, Hoffman JM (1999). Acute blood flow changes and efficacy of vagus nerve stimulation in partial epilepsy. *Neurology* 52:1166-1173.
- Henry TR. Therapeutic mechanisms of vagus nerve stimulation (2002). *American Academy of Neurology* 59 (6): 3-14.
- Horst G.J., (1997). *Clinical pharmacology of cerebral ischemia*. Totowa New Jersey, 1-31.
- İlbay G., Sahin D., Karson A., Ates N., (2001). Effects of adenosine administration on spike –wave discharge frequency in genetically epileptic rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 28: 643-646.
- Johnston M.V.,(1996). Developmental aspects of epileptogenesis. *Epilepsia* 37; 2-8.
- Katsuyoshi S., Nishadi R., Takashi H., ve ark., (2003). *Brain res.* 962: 8-14.
- Kayaalp O., (1995). *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*. 7. baskı, cilt 2: 2027-2052.
- Kirchner A., Birklein F., Stefan H., Handwerker H.O., (2000). Left vagus nerve stimulation suppresses experimentally induced pain. *Neerology*, 55: 1167-1171.
- Kobayashi T., Mori Y., (1998). Ca<sup>2+</sup> channel antagonists and neuroprotection from cerebral ischemia. *European Journal of Pharmacology* 363: 1-15.

Koizumi J, Yoshida Y, Nazakawa T, et al., (1986). Experimental studies of ischemic brain edema: a new experimental model of cerebral embolism in rats in which recirculation can be introduced in the ischemic area. *Jpn J Stroke* 8; 1-8.

Kostopoulos G.K., Drapeau C. Avoli M. Oliver A., villemeur J.G., (1989). Endogenous adenosine can reduce epileptiform activity in the human epileptogenic cortex maintained in vitro. *Neurosci Lett* 106: 119-124.

Krahl S.E., Senanayake S.S., Handforth A., (2001). Destruction of peripheral C-fibers does not alter subsequent vagus nerve stimulation-induced seizure suppression in rats. *Epilepsia* 42: 586-90.

Krahl SE, Senanayake SS, Handforth A., (2003). Right-sided vagus nerve stimulation reduces generalized seizure severity in rats as effectively as left-sided. *Epilepsy Res.* 56(1):1-4.

Krahl, S.E., Clark, K.B., Smith, D.C. and Browning, R.A., (1998). Locus coeruleus lesions suppress the seizure attenuating effects of vagus nerve stimulation. *Epilepsia* 39, pp. 709–714.

Kuraiwa T., Bonnekoh P. Hossman K., (1990). Prevention of postischemic hyperthermia prevents ischemic injury of CA1 neurons in gerbils. *J. Cereb. Blood flow Metab.*, 10: 550-556.

Kwai K., Nitecka L., Ruetzler C., (1992). Global cerebral ischemia associated with cardiac arrest in the rats. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 12: 238-249.

Lauritzen I., Blondeau N., Heurteaux C., Widmann C., Romey G., Lazdunski M., (2000). Polyunsaturated fatty acid are potent neuroprotectors. *The EMBO Journal* 19: 1784-93.

Leker R. and Shohami E., (2002). Cerebral ischemia and trauma-different etiologies yet similar mechanisms: neuroprotective opportunities. *Brain Research Reviews* 39: 55-73.

Lomarev M, Denslow S, Nahas Z, Chae J, George MS, Bohning DA (2002) Vagus nerve stimulation synchronized BOLD fMRI suggests that VNS in depressed adults has frequency/dose dependent effects. *Journal of psychiatric research* 36: 219-227

Longa Z., Weinstein P.R., Carlson S. and Cummins R., (1989). Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. *Stroke*, 20: 84-91.

Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. (1951). Protein measurement with the phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275.

Mallat Z., Tedgui A., (2000). Apoptosis in the vasculature: mechanism and functional importance. *British Journal of Pharmacology*, 130: 947-962.

Marecaux C., Vergnes M., (1995). Genetic absence epilepsy in rats from strasbourg (GAERS). *Ital. J. Neurol. Sci.*,16: 113-18.

Mares P., Mirvaldova H., Belska M., (1990). Influence of a new antiepileptic drug ORG 6370 on metrazol-induced seizures in rats during ontogenesis. *Physiol Bohemoslov*, 39: 199-205.

Marx J.L., (1987). Oxygen free radicals linked to many disease. *Science* 235: 529-531.

Masada T., Itano T., Fujisawa M., Miyamoto O., Tokuda M., Matsui H., Nagao S., Hatase O., (1996). Protective effect of vagus nerve stimulation on forebrain ischemia in gerbil hippocampus. *Neuroreport* 7: 446-448.

Matsuo T., (1983). Biochemical aspects of pathophysiology and treatment of intractable epilepsy in children. *Brain Dev.* 5: 100-106.

Meister A.,(1992). On the antioxidant effects of ascorbic acid and glutathione. *Biochem Pharmacol*, 44: 1905-1915.

Mendonca A, Sebastiao A M, Riberio J A., (2000). Adenosine: does it have neuroprotective role after all? *Brain Research Reviews* 33; 258-274.

Mirski M.A., Tsai Y.C., Rossell L.A., Thalcor N.V., Sherman D.L., (2003). Anterior thalamic mediation of experimental seizures: selective EEG spectral coherence. *Epilepsia* 44(3): 355-65.

Miyamoto O., Pang J., Sumitani K., Negi T., Hayashida Y., Itano T., (2003). Mechanisms of the antiischemic effect of vagus nerve stimulation in the gerbil hippocampus. *Neuroreport* 14: 1971-1974.

Moncada S., (1999). Nitric oxide: discovery and impact on clinical medicine. *J R Soc Med*, 92:164-9.

Moncada S., Palmer R.M., Higgs E.A., (1991). Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev*, 43: 109-142.

Nag S., Takahashi J.L., Kilty D.W., (1997). Role of vascular endothelial growth factor in blood brain barrier breakdown and angiogenesis in brain trauma. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, 56: 912-921.

Naritoku D.K., Terry W.J., Helfert R.H., (1995). Regional induction of Fos immunoreactivity in the brain by anticonvulsant stimulation of the vagus nerve. *Epilepsy Res* 22: 53-62.

Nei M., Lee J.M., Shanker V.L., Sperling M.R., (1999). The EEG and prognosis in status epilepticus. *Epilepsia*, 40(2): 157-163.

Nishikawa Y., Koyama N., Yoshida Y., Yokota T., (1999). Activation of ascending antinociceptive system by vagal afferent input as revealed in the nucleus ventralis posteromedialis. *Brain Res.*; 833: 108-111.

Oğul E., (1996). Temel ve klinik nöroloji. S:105-145. Uludağ Üniversitesi Basımevi

Okuno S, Nakase H, Sakaki T., (2001). Comparative study of 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (TTC) and hematoxylin-eosin staining for quantification of early brain ischemic injury in cats. *Neurol Res.* 23(6):657-61.

Öztaş B., (1986). Konvulsiyonların patogeneğinde nöron düzeyinde yaklaşım. *Nöropsikiyatri Arşivi* 23: 1-2.

Pagonopoulou O., Angelatou F., (1998). Time development and regional distribution of nitrobenzylthioinosine adenosine uptake site binding in the mouse brain: a quantitative autoradiographic study. *Neuroscience*, 56: 711-16.

Patel R.K., Mc Andrew J., Sellak H, White C.R., (1999). Biological aspects of reactive nitrogen series. *Biochim Biophys Acta*, 1411: 385-400.

Pei Z., Pang SF and Cheung RTF (2002) Pretreatment with melatonin reduces volume of cerebral infarction in a rat middle cerebral artery occlusion stroke model. *J. Pineal Res* 32: 168-172

Plate K.H., (1999). Mechanisms of angiogenesis in the brain. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, 58: 313-320.

Plate K.H., Beck H., Danner S., (1999). Cell type specific upregulation of vascular endothelial growth factor in MCA occlusion model of cerebral infarct. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, 58: 654-666.

Przewlocka B., Lason W., Turchan J., de Bruin N., van Luijtelaar E.L.J.M., Przewlocki R., Coenen A., (1998). Anatomical and functional aspects of mu opioid receptors in epileptic WAG/Rij rats. *Epilepsy res.* 29:167-73.

Pulsinelli W., (1992). Pathophysiology of acute ischemic stroke. *Lancet* 339: 533-36.

Pulsinelli W. and Buchan A.M., (1988). The four-vessel occlusion rat model. Method for complete occlusion of vertebral arteries and control of collateral circulation. *Stroke*, 19: 913-914.

Reilly P., Schiller H., Bulkley G., (1991). Pharmacologic to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. *Am J Surg*, 161: 488

Riberio J.A., Sebastiao A.M., de Mendonca A., (2003). Adenosine receptors in the nervous system, pathophysiological implication. *Prog Neurobiol.*, 68: 377-92.

- Robertson G.S., Crocker S.J., Nicholson D.W., Schultz J.B., (2000). Neuroprotection by the inhibition of apoptosis. *Brain pathology*, 10: 283-292.
- Rosenbaum JF, Heninger G., (2000). Vagus nerve stimulation for treatment-resistant depression. *Biological Psychiatry* 47: 273-275
- Ross D. ve Duhaime A.C., (1989). Degereneration of neurons in the thalamic reticular nucleus following transient ischemia due to raised intracranial pressure: exitotoxic degeration mediated via non NMDA receptors. *Brain Res*, 15: 129-143.
- Rutecki P., (1990). Anatomical, physiological and theoretical basis for the antiepileptic effect of vagus nerve stimulation. *Epilepsia* 31(2): 1-6.
- Sariano S.G., Coxon A., Wang Y.F., (1999). Mice deficient in MAC-1 are less susceptible to cerebral ischemia-rep. injury. *Stroke*, 30:134-139.
- Schachter, S.C. and Saper, C.B., (1998). Vagus nerve stimulation (progress in epilepsy research). *Epilepsia* 39, pp. 677-686.
- Siesjö BK, Agardh CD, Bengtsson F., (1989). Free radicals and brain damage. *Cerebrovasc Brain Metab Rev*, 1:165-211.
- Siesjö BK., (1992). Pathophysiology and treatment of focal cerebral ischemia part I: Pathophysiology, *J Neurosurg* 77: 169-184
- Siesjö BK., (1988). Calcium, ischemia and death of brain cells. *Ann NY Acad Sci* 522: 638-661.
- Siesjö, B.K., (1995). Katsura, K.-I., Zhao, Q., Folbergrova, J., Pahlmark, K., Siesjö, P. and Smith, M.-L. Mechanisms of secondary brain damage in global and focal ischemia: a speculative synthesis, *J. Neurotrauma*, 12: 943-956.
- Smith K.A., Fisher R.S., (1996). The selective GABA-B antagonist CGP-35348 block SWD in the cholesterol synthesis rat absence epilepsy model. *Brain research* 729:147-150.
- Sneed D.C., (1995). Basic mechanism of generalize absence seizures. *Ann . Neurol.*, 37: 146-157.
- Sun, Y., Oberley, L.W. and Li, Y., (1988). A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin. Chem.* 34, 497-500.
- Tsakiridou E., Bertollini L., Curtis M., Avanzini G., Pape H.C., (1995). Selective increase in T-type calcium conductance of retikular thalamic neurons in a rat model of absence epilepsy. *J. Of Neuroscience*, 15(4): 3110-3117.
- Upton N., (1994). Commonly used animal seizure models for characterizing potential anticonvulsant agents. *TIPS*, 15:460-62.

- Uthman B., (2000). Vagus nerve stimulation for seizures. *Arch Med Res*: 31(3):300-3. Review.
- Üzüm G., (1997). Serebral iskemi, hipoglisemi ve epilepsiye fizyolojik yaklaşım. *Sendrom* 7: 34-38.
- Valencia J., Holder D., Helmers S., Madsen J.R., Rivello J., (2001). Vagus nerve stimulation in pediatric epilepsy: a review. *Pediatric Neurology*, 25: 368-76.
- Van A.S.A., Koymans L.M., Bast L., (1993). Molecular pharmacology of vit. E structural aspects of antioxidant activity. *Free Radical Biol Med*, 15:311-318.
- Van Luijtelaar E.L.J.M., Ates N., Coenen A.M.L. (1995). Role of L-type calcium channel modulation in nonconvulsive epilepsy in rats. *Epilepsia*, 36(1): 86-92.
- Van Luijtelaar E.L.J.M., Coenen A.M.L., (1988). Circadian rhythmicity in absence epilepsy in rats. *Epilepsy Res.*, 2: 331-336.
- Van Luijtelaar E.L.J.M., Coenen A.M.L., (1989). The WAG/Rij model for generalized absence seizures. *Advances in Epileptology*, 17: 78-82.
- Velez L., Selva L.M., (2003). Seizures disorders in the elderly. *Am Fam Physician.*, 67(2): 325-32.
- Vergnes M., Boehrer A., Simler S., Bernosconi R., Marescaux C., (1997). Opposite effects of GABA-B receptor antagonists on absence and convulsive seizures. *Eur J Pharmacol.*, 332: 245-55.
- von Lubitz D.K.J.E., (1999). Adenosine and cerebral ischemia: therapeutic future or death of a brave concept? *European Journal of pharmacology* 371: 85-102.
- Voskuyl R.A., Vreugdenhil M., Kang J.X., Leaf A., (1998). Anticonvulsant effect of polyunsaturated fatty acids in rat, using the cortical stimulation model. *E.J. Pharmacology* 341: 145-152.
- Wang C.X., Yang Y., Li Qiu, and Ashfaq S., (2000). Neuroprotective activity of tiagabine in focal embolic model of cerebral ischemia. *Brain res.* 874: 75-77.
- White JM. Sullivan B.C., DeGracia DJ., O'Neil BJ., Neumar RW., Grossman LI., Rafols JA., Krause GS., (2000). Brain ischemia and reperfusion: molecular mechanisms of neuronal injury. *Journal of the Neurological Sciences* 179: 1-33.
- Winqvist R.J., Kerr S., (1997). Cerebral ischemia and reperfusion injury and adhesion, *Neurology* 49: 23-26.



Witte O., Bidmon H.J., Schiene K. (2000). Functional differentiation of multiple perilesional zones after focal cerebral ischemia. *J.Cereb. Blood Flow Metab.*,20: 1149-1165.

Woodbury D.M. and Woodbury J.W., (1990). Effects of vagal stimulation on experimentally induced seizures in rats. *Epilepsia*, 31(2): 7-19.

Xie Y. Zacharias E. Hoff P. Ion channel involvement in anoxic depolarization induced by cardiac arrest in rat brain. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 15: 587-594.

Yalçın A.S., (1992). Serbest radikaller ve patolojik etkileri. *Sendrom*, 4:40.

Yang G.Y., Schielke G.P.,Gong C., (1999). Expression of TNF $\alpha$  and ICAM-1 after focal cerebral ischemia in IL-1  $\beta$  converting enzyme deficient mice. *J Cer Blood Flow Metab*,19:1109-1117.

Zhang Y.F., Gibbs J.W., Coulter D.A., (1997). Anticonvulsant drug effects on spontaneous thalamocortical rhythms in vitro: valproic acid, clonazepam, apfa methyl-alpha-phenylsuccinamide. *Epilepsy Res.*, 23(1):37-53.

Zoa N., Susin S.A., Dugas E., Stanford W.L., (2001). Essential role of the mitochondrial apoptosis-inducing factor in programmed cell death. *Nature* 410: 549-554.

## ÖZGEÇMİŞ

Fatih EKİCİ, 1971 yılında Burdur'da doğdu. Burdur Gazi İlkokulu ve Cumhuriyet Lisesi'nde ilköğretim-lise eğitimini tamamladı.

1987-1988 öğretim yılında Dokuz Eylül Üniversitesinde Tıp eğitimine başlayıp 1994'de mezun oldu ve aynı yıl pratisyen hekim olarak göreve başladı. Konya ve Burdur'un değişik yerlerinde görev yaptıktan sonra 2000 yılında Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda Doktora eğitimine başladı.

Halen Fizyoloji Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak çalışmaktadır.

