

T.C
ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SIÇANLARDA NÖROPEPTİD Y NİN PENİSİLİN MODELİ DENEYSEL
EPİLEPSİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Hayriye ORALLAR

Abant İzzet Baysal Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
Fizyoloji Programı için Öngördüğü
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

TEZ DANIŞMANI
Yrd. Doç. Dr. M. Fatih Gökçe

DÜZCE
2006

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü,

Bu çalışma jürimiz tarafından Fizyoloji Programında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı Yrd. Doç. Dr. M. Fatih GÖKÇE

Üye Yrd. Doç. Dr. Şerif DEMİR

Üye Prof. Dr. Ömer BOZDOĞAN

ONAY:

Bu tez Sağlık Bilimleri Enstitüsü Kurulu'na belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Yönetim Kurulu'nun kararıyla kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Serap KÖYBAŞI
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yazar bu çalışmanın gerçekleşmesine katkılarından dolayı, aşağıda adı geçen kişi ve kuruluşlara içtenlikle teşekkür eder. Lisans eğitimim süresince bana fizyolojiyi ve hayvan çalışmalarını sevdiren hocam Prof.Dr.Ömer BOZDOĞAN'a, lisans eğitimimde bilimi ve bilimsel çalışmayı öğreten ve sevdiren hocam Doç.Dr.Bülent GÜNDÜZ'e, hem lisans eğitimim hem de yüksek lisans eğitimim süresince desteğini ve yardımını esirgemeyen hocam Dr.Alper KARAKAŞ'a, Yüksek Lisans Eğitimim boyunca yakın ilgi ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, değerli bilgi ve deneyimlerinden yararlanma imkanı sunan, bu teze ait yorum ve düzeltmelerin yapılmasındaki katkılarından, hoşgörüsü ve iyi niyetiyle de destek olan değerli danışman hocam Yrd.Doç.Dr.M.Fatih GÖKÇE'ye, bu tezin planlanması, içeriğinin oluşturulması, teze ait yorum ve düzeltmelerin yapılması ve tezin her aşamasındaki katkılarından dolayı hocam Yrd.Doç.Dr.Şerif DEMİR'e, istatistiki analizlerin yapılmasında yardımını esirgemeyen Yrd.Doç.Dr.Seyit ANKARALI'ya, tez çalışmam boyunca destek ve yardımlarını esirgemeyen Fizyoloji Bölümü Yüksek Lisans öğrencisi değerli arkadaşım Bayram Ali YILDIZ'a, eğitimim süresince bana her konuda destek olan aileme, yüksek lisans eğitimim süresince her konudaki yardımından ve anlayışından dolayı eşim Onur ORALLAR'a ve kardeşim Aslı SOYTÜRK'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Epilepsi merkezi sinir sisteminin en yaygın hastalıklarından birisidir. Merkezi sinir sisteminin bir kısmının veya tümünün denetlenemeyen aşırı aktivasyonu ile karakterize bir tablodur. Nöronların patolojik olarak eş zamanlı ve kontrolsüz deşarjları tüm epilepsi türlerinde ortaktır ve bunun altında yatan mekanizma henüz bilinmemektedir. Epileptik nöbet esnasında eksitasyon ve inhibisyon arasındaki denge eksitasyon tarafına kaymaktadır ve bu olaylar esnasında bir çok nörotransmitter madde salınmaktadır. Bu nörotransmitterlerin bir kısmı eksitasyonu arttırırken bir kısmı ise azaltmaktadır. Eksitasyonu azaltan maddelerden biri de endojen antikonvülsan olan, merkezi sinir sistemi'nde (MSS) çok miktarda bulunan ve çok değişik fonksiyonlara sahip olan nöropeptid Y (NPY) dir. NPY, 1982 yılında Tatemoto ve Mutt tarafından bulunmuştur. 36 amino asitten oluşan NPY'nin beş tane fonksiyonel reseptörü vardır. GABA-erjik internöronlarda GABA ile birlikte üretilir ve depolanır. Epilepsinin oluşumunda kalsiyum iyonlarının çok önemli rol oynadıkları ileri sürülmektedir. Kalsiyumun hücre içine girişi, eksitator nörotransmitterlerin salgılanmasına neden olmaktadır. Yapılan in vitro çalışmalarda NPY'nin presinaptik terminallerdeki kalsiyum akışını (Toth ve ark.,1993) ve hipokampal kesitlerde glutamat salınımını baskıladığı görülmüştür (Greber ve ark.,1994). Bu çalışmada NPY'nin basit parsiyel epilepsi modellerinden olan penisilin modeli epilepsi üzerindeki etkileri araştırıldı. Bu çalışmayı planlarken amacımız, bir çok deneysel epilepsi modelinde anti epileptik olan NPY'nin bu model üzerinde de antiepileptik olup olmadığını anlamak ve NPY'nin etki mekanizmasını açıklayabilmektir. Bu çalışma için 230-270 gr ağırlığında erkek albino Wistar cinsi sıçanlar kullanıldı. Hayvanlar iki gruba ayrıldı. Grup 1 NPY grubu ve grup 2 kontrol grubu olarak kabul edildi. Beyin elektrokortikografik (ECoG) biyoelektriksel potansiyelleri ise PowerLab/8SP veri kayıt ve analiz sistemi ile kaydedildi. Sonuçlar istatistiksel olarak independent T test ile değerlendirildi. Farklı zamanlarda her iki grupta da ölçülen hem amplitüdler hem de diken dalga sayısı karşılaştırıldığında NPY grubunda anlamlı bir düşüş görülmüştür. Amplitüdlerdeki düşüşün NPY grubunda 40-45. dakikadaki ölçümlerden sonra daha fazla olduğu ve diken dalga sayısının ise 50-55. dakikalardaki ölçümlerden sonra NPY grubunda daha düşük olduğu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P<0.05$). Sonuç olarak

diğer epilepsi modellerinde olduğu gibi penisilin modeli epilepside de NPY'nin epileptik nöbetleri inhibe ettiği görölmüştür.

Anahtar Kelimeler: Nöropeptid Y, epilepsi, elektrokortikografi (ECoG), GABA, glutamat, anti-konvülsan etki

ABSTRACT

Epilepsy is one of the frequently observed central nervous system disorder. This disorder is characterized by partial or generalize uncontrolled activation of central nervous system. Pathologically, simultaneous and noncontrolled discharge of neurons is same in all epilepsy types and the mechanism that triggers is not known yet. Balance between excitation and inhibition during epileptic seizures favours to excitation side and various neurotransmitter substances are secreted. Some of these secreted neurotransmitters have an increasing effect on excitation, while some have decreasing effect. One of the substance that decreases excitation, having various metabolic functions, being endogen anticonvulsant and mostly found in central nervous system is neuropeptid Y (NPY). NPY was found by Tatemoto and Mutt in 1982. NPY has thirty-six amino acids and five functional receptors. It is secreted and stored with GABA in GABA-ergic interneurons. It was explained that calcium ions has an important role in epileptic seizures. Intercellular intake of calcium results in secretion of excitator neurotransmitters. Some in vitro studies show that; flow of calcium in presynaptic terminals (Greber et al., 1994) and glutamate secretion in hippocampal region is suppressed by NPY. In this study effect of NPY on penicillin model epilepsy which is one of the basic partial epileptic model was explored. Our aim was to explore whether NPY has an anti-epileptic effect on epilepsy just same as in other epileptic models and its effective mechanism. For this experiment male, Wistar, albino, having weight of 230-270 g rats were used. Subjects were separated into two groups; while the second group was accepted as a control group, first group was used for NPY experiments. Electrocorticographic brain bioelectrical potentials (ECoG) were recorded digitally by PowerLab/8SP data acquiring system. Results were analysed by independent t test. Decrease in both amplitude and frequency measured in different times, analysed was found statistically significant. Decrease in amplitude was much more than compared to control group in NPY group after the 40-45. minute measurement. Likewise, decrease on spike-wave activities in NPY group after the 50-55. minute measurement was found statistically significant ($P<0.05$). As a result; just as in other epileptic models, NPY inhibits epileptic seizures in penicillin model epilepsy.

Key words: Neuropeptid Y, epilepsy, electrocorticography (ECoG), GABA, glutamate, anticonvulsant effect

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	ix
ŞEKİLLER.....	x
TABLOLAR.....	xi
1.GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Beyin Korteksi	4
2.1.1. Beyin Korteksindeki Hücrelerin Özellikleri	4
2.1.2. Beyin Korteksinde Bulunan Hücre Grupları	4
2.1.3. Korteksteeki Duraklatıcı Sinapslar	6
2.1.4. Piramidal Hücrelerin Deşarj Özellikleri	6
2.1.5. Dendritlerde Bulunan Trigger Bölgeleri.....	7
2.1.6. Glia Hücrelerinin Yeri ve Önemi.....	8
2.2. Sinaptik İletide Pre ve Post Sinaptik Olaylar.....	9
2.2.1. Postsinaptik safha.....	9
2.2.1. İnhibitör Postsinaptik Potansiyeller.....	11
2.2.3. Eksitatör Postsinaptik Potansiyeller.....	12
2.2.4. K ⁺ Kanalları ve Sinaptik Uyarılma.....	15
2.3.Hipokampus.....	17
2.3.1.Hipokampusun Anatomisi.....	17
2.3.2.Hipokampusun Histolojisi.....	18
2.3.3.Hipokampusun fonksiyonları.....	22
2.4. Epilepsi.....	27
2.4.1.Epilepsinin Fizyopatolojisi.....	27
2.4.2. Epilepsinin Etiyolojisi.....	28

2.4.3. Epileptik Nöbetler ve Uluslararası (ILEA) Sınıflaması.....	30
2.4.4 Deneysel Epilepsi Modelleri.....	30
2.5. Nöropeptid Y (NPY).....	35
2.5.1. Nöropeptid Y'nin Tanımı	35
2.5.2. Nöropeptid Y'nin Yapısı ve Biyosentezi	36
2.5.3. NPY'nin Lokalizasyonu.....	38
2.5.4. NPY Reseptörleri ve Farmakolojik Sınıflandırılması.....	40
2.5.5. NPY ve Epilepsi.....	50
2.5.6. Epilepsi Modelleri ve NPY.....	54
2.5.6.a. İn Vitro Epilepsi Modelleri.....	54
2.5.6.b. İn Vivo Epilepsi Modelleri.....	56
2.5.7. NPY'nin Antiepileptik Özelliği	57
2.5.8. Epilepsinin Hayvan Modellerinde NPY Reseptörlerinin Plastisitesi..	61
2.5.9. Nöbetin Sebep Olduğu NPY ekspirasyonundaki değişiklik.....	62
2.5.10. NPY'nin Glutamat Salınımı Üzerindeki Etkisi.....	64
2.5.11. NPY ve Nitrik Oksit(NO).....	66
2.5.12. NPY ve γ – aminobütirik asit (GABA).....	67
2.5.13. Kolesistokinin (CCK) ve NPY.....	70
2.6. ECoG (Elektrokortikografi) ve EEG (Elektroensefalografi).....	71
2.6.2. ECoG'nin fizyolojik temeli.....	73
2.6.2. EEG'deki beyin dalgaları.....	75
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	78
3.1.Deney Hayvanları.....	78
3.2. Operatif Prosedür.....	78
3.3. NPY enjeksiyonu ve ECoG Kayıtları.....	81
3.4. ECoG Analizleri ve istatistiksel analizler.....	81
4.BULGULAR.....	83
5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR.....	95
6. KAYNAKLAR.....	99

SİMGELER VE KISALTMALAR

ACh	: Asetilkolinin
AChE	: Asetilkolinesteraz
ATP	: adenzin tri fosfattan
AMPA	: α -amino-3-hidroksi-5-metil-4 izoksazol-propionat
ACTH	: Adreno kotikotropik hormon
Amy	: amigdala,
AON	: anterior olfaktor nükleus,
Arc	: Arkuat nükleus,
BST	: stria terminalenin bed nükleusu
Cb	: serebellum,
Cl ⁻	: Klor
Ca ⁺⁺	: Kalsiyum
CO	: Karbonmonoksit
CCK	: Kolesistokinin
CB1	: Kanabinoid reseptörleri
cAMP	: Döngüsel adenzin mono fosfat
cm ²	: Santimetrekare
cm ³	: Santimetreküp
CRF	: Kortikotropin saliverici faktör
cADPR	: Döngüsel adenzin difosfat riboz
COMT	: katekol-o-metil transferaz
CPON	: NPY'nin C-terminal peptidi
DB	: broca'nın diagonal bantı,
DMH	: dorsomedial hipotalamik nükleus,
DAG	: Dia�il gliserol
DOPA	: dihidrofenilalanine
DAT	: proteine dopamin taşıyıcısı
D1,D2,D3,D4,D5	: Dopamin Reseptörü
DNA	: Deoksi ribonükleik asit

EEG	: Elektroensefalografi
ECoG	: Elektrokortikogram
EPSP	: Eksitator postsinaptik potansiyel
E_{Cl}	: Klorun denge potansiyeli
E_K	: Potasyumun denge potansiyeli
E_{Na}	: Sodyumun denge potansiyeli
ERK	: Hücre dışı sinyalle düzenlenen kinaz
GABA	: γ -amino butirik asit
Gm	: Membran iletkenliğ
GABA _A	: GABA A reseptörü
GABA _C	: GABA C reseptörü
GABA _B	: GABA B reseptörü
GAD	: glutamat dekarboksilaz
GABA-T	: GABA transaminaz
GDP	: Guanozindifosfat
GIRK	: K^+ kanallarının aktivasyonu
GTP	: Guanozin trifosfat
Gs	: Uyarıcı G proteini
Gi	: İnhibe edici G proteini
Gq	: Fosfolipaz C enzimini etkinleştiren protein
Hip	:Hipokampus,
5-HT	: 5-hidroksi triptamin
5-HIAA	: 5-hidroksiindol asetik asit
H	:Histamin reseptörü
IPSP	: İnhibitör postsinaptik potansiyel
IC	:İnferior colliculus,
I_{EPSP}	:Sinaptik akımın büyüklüğü
IP ₃	:İnoзитol trifosfat
i.c.	:İntrakortikal
K^+	:Potasyum
LTP	:Long Term Potansiasyon
LC	:locus seruleus

LH	:lateral hipotalamik nükleus:
mM	:Milimolar
μ^3	:Mikroküp
nM	:Nanomolar
μ l	Mikrolitre
mm	:Milimetre
mV	:Milivolt
Mg ⁺⁺	:Magnezyum
M	:Muskarinik reseptör
MMS	:Merkezi sinir sistemi
MAO	:Monoamin oksidaz
MHPG	:3-metoksi-4-hidroksi fenilglükolaldehid
MPON	:medial preoptik nükleus;
mRNA	:Mesajcı ribonükleik asit
NPY	:Nöropeptid Y
Na ⁺	: Sodyum
NE	:Norepinefrin
NGF	:Sinir büyüme faktörü
NMDA	:N-metil-D-aspartat
nM	:Nanomolar
NO	:Nitrik oksit
NK1, NK2 ve NK3-	:Nörokinin reseptörleri
NET	:Proteine norepinefrin taşıyıcısı
NTS	:Nükleus traktus solitarius
Pb	:Kurşun
PDS	:paroksizmal depolarize şift
PIP ₂	:Fosfatidilinozitol 4,5-bifosfat
P	:Pürin reseptörleri
pM	: Pikomolar
PYY	:Peptid YY
PP	:pankreatik polipeptid
PAG	:periaqueductal gri madde

PVN	:paraventriküler nükleus,
RNA	:Ribo nükleik asit
SSRI	: Seçici Serotonin Reuptake İnhibitörleri
S	:Serotoninin reseptörü
SERT	:serotonin taşıyıcı protein
STIB	:stimulus train –induced bursting
SC	:süperior colliculus,
SMS	: spazmodik Stiffman sendromu
TGFa	: Transforming growth factor alpha
VIP	: Vazoaktif intestinal polipeptid
VMA	: 3-metoksi-4-hidroksi fenilglükol (Vanilil Mandelik Asit)
VE	: vestibular kompleks,
VMH	: ventromedial hipotalamik nükleus
VTA	: ventral tegmental area.

ŞEKİLLER

Şekil 2.1. Hipokampal formasyonun önemli fonksiyonel bağlantıları.....	21
Şekil 2.2. Hipokampus.....	26
Şekil 2.3. NPY'nin kimyasal yapısı.....	37
Şekil 2.4. Hipokampusun koronal kesiti.....	39
Şekil 2.5. NPY Y1 reseptör dağılımı.....	44
Şekil 2.6. Epileptik dokudaki Y2 reseptör değişimi.....	46
Şekil 2.7. Klinikte kullanılan standart EEG'de elektrotların saçlı derideki yerleşim noktaları.....	70
Şekil 2.8. Beyin korteksinde bulunan başlıca hücre tipleri ve hücreler arası bağlantılar.....	72
Şekil 2.9. Saçlı deriden alınan kayıtlar ve bunların temelini oluşturan sinaptik mekanizmalar.....	72
Şekil 3.1. Anesteziden sonra opresyon masasına yerleştirilen hayvan.....	77
Şekil 3.2. Kafa derisi orta hat boyunca kesilmiş hayvan.....	77
Şekil 3.3.: Operasyon için kafa derisinin açılması.....	78
Şekil 3.4. Kafatası açıldıktan sonra elektrotların yerleştirilmesi.....	78
Şekil 3.5. PowerLab/8SP veri kayıt ve analiz sistemi.....	80
Şekil 3.6. ECoG kaydı alınırken bilgisayar ekranındaki görüntü ve PowerLab/8SP AD cihaz düzeneği.....	80
Şekil 4.1. Kontrol grubu bir hayvandan alınan ECoG kayıtları. Oklar madde enjeksiyonlarını göstermektedir. A: Bazal aktivite üzerine % 0.9'luk serum fizyolojik enjeksiyonu (2.5 µl, i.c.v), B: Bazal aktivite kaydının devamı, C: Penisilin G (500 IU, 2.5 µl, i.c.v) uygulanmasını takiben epileptik spike'ların oluşumu, D: Penisilinden 30 dk sonra alınan kayıtlarda olgunlaşmış spike'ların görünümü. Vertikal bar: 600 µV, horizontal bar: 500 ms.....	91

Şekil 4.2. Nöropeptid Y (NPY) grubu bir hayvandan alınan ECoG kayıtları. Oklar madde enjeksiyonlarını göstermektedir. A: Bazal aktivite kaydının devamı, B: Penisilin G (500 IU, 2.5 µl, i.c.v) uygulanmasını takiben epileptik spike'ların oluşumu, C: Penisilinden 30 dk sonra alınan kayıtlarda olgunlaşmış spike'ların görünümü. D: NPY (300 nM, 2.5 µl, i.c.v) uygulanmasını takiben gerçekleşen inhibisyonun görünümü. Vertikal bar: 600 µV, horizontal bar: 500ms.....92

TABLÖLAR

Tablo 2.1. NPY reseptörleri ve fizyolojik rolleri.....	41
Tablo 2.2. NPY reseptörlerinin agonistleri ve antagonistleri.....	41
Tablo 4.1. Kontrol ve NPY gruplarında zamana bağımlı amplitüd yönünden karşılaştırılmasından elde edilen istatistiki değerler. * ile işaretli alanlar anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$).....	82
Tablo 4.2. İlk beş dakika (penisilin verilmeden önce) ve penisilin verilmesini takip eden kırk-kırkbeşinci dakikalar arasındaki kayıtların amplitüd yönünden karşılaştırılması.....	83
Tablo 4.3. İlk beş dakika (penisilin verilmeden önce) ve penisilin verilmesini takip eden kırkbeş-ellinci dakikalar arasındaki kayıtların amplitüd yönünden karşılaştırılması.....	83
Tablo 4.4. İlk beş dakika (penisilin verilmeden önce) ve penisilin verilmesini takip eden elli-ellibeşinci dakikalar arasındaki kayıtların amplitüd yönünden karşılaştırılması.....	84
Tablo 4.5. İlk beş dakika (penisilin verilmeden önce) ve penisilin verilmesini takip eden atmış-atmışbeşinci dakikalar arasındaki kayıtların amplitüd yönünden karşılaştırılması.....	84
Tablo 4.6. İlk beş dakika (penisilin verilmeden önce) ve penisilin verilmesini takip eden yetmiş-yetmişbeşinci dakikalar arasındaki kayıtların amplitüd yönünden karşılaştırılması.....	85
Tablo 4.7. İlk beş dakika (penisilin verilmeden önce) , kırk-kırkbeş , kırkbeş elli, elli-ellibeş, atmış atmışbeş, yetmiş-yetmişbeş ve sekse-doksanıncı dakikalar arasındaki kayıtların amplitüd yönünden karşılaştırılması.....	85
Tablo 4.8. Kontrol ve NPY gruplarında zamana bağımlı frekans yönünden karşılaştırılmasından elde edilen istatistiki değerler. * ile işaretli alanlar anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$).....	87
Tablo 4.9. İlk beş dakika (penisilin verilmeden önce) ile elli-ellibeşinci dakikalar arasındaki kayıtların frekans yönünden karşılaştırılması.....	88
Tablo 4.10. İlk beş dakika (penisilin verilmeden önce) ile atmış-atmışbeşinci dakikalar arasındaki kayıtların frekans yönünden karşılaştırılması.....	88

Tablo 4.11. İlk beş dakika (penisilin verilmeden önce) ile atmışbeş- yetmişinci dakikalar arasındaki kayıtların frekans yönünden karşılaştırılması.....	89
Tablo 4.12. İlk beş dakika (penisilin verilmeden önce) ile yetmiş-yetmişbeşinci dakikalar arasındaki kayıtların frekans yönünden karşılaştırılması.....	89
Tablo 4.13. İlk beş dakika (penisilin verilmeden önce) ile yetmişbeş-sekseninci dakikalar arasındaki kayıtların frekans yönünden karşılaştırılması.....	90
Tablo 4.14. İlk beş dakika (penisilin verilmeden önce) ile seksenbeş-doksanıncı dakikalar arasındaki kayıtların frekans yönünden karşılaştırılması.....	90
Tablo 4.15. İlk beş dakika (penisilin verilmeden önce) ile onbeşyirmi, otuzbeş-kırk,kırk-kırkbeş,ellibeş-atmış,seksen-seksenbeş,seksenbeş-doksan,atmış-atmışbeşinci dakikalardaki kayıtların frekans yönünden karşılaştırılması.....	91

1. GİRİŞ

Günümüzde hem epilepsinin sebeplerine hemde tedavisine yönelik bir çok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda en fazla deneysel epilepsi modellerinin geliştirilmesi üzerinde durulmuştur. Epilepsiyle ilgili temel mekanizmaları açıklamak, daha etkili epileptik ilaçlar geliştirmek ve farklı epileptik nöbetlerin temelinde bulunan patolojik olayları belirlemek için çok önemlidir. Bu modellerden bir tanesi basit parsiyel epilepsi modellerinden olan penisilin modeli epilepsi'dir. Bu modelde penisilinin etki mekanizması, γ -amino butirik asit (GABA) etkisini bloklayarak epileptiform aktiviteye sebep olurken presinaptik yollardan ve kalsiyum üzerinden de etki ederek nöronal bürst aktivitesine yol açabileceği şeklindedir (Marangoz, 1997). Bunların yanı sıra epileptik eksitasyon sırasında NPY'nin ve reseptörlerinin kortekste arttığı gösterilmiştir. Çıkarıldı Normal hipokampusta NPY lokalizasyonu gösterilebilir (19). Dentate girusun hiluslarında bulunan GABA-erjik internöronlardaki hücre dentritleri ve sinapslarında, CA2'nin stratum oriensinde ve CA3'ün alt alanlarında, CA1'in alt alanlarının pirimidal stratumunun içinde yada yakınında kısmi olarak üretilir.

NPY, fizyolojik şartlarda hem merkezi sinir sisteminde hem de periferik sinir sisteminde bol miktarda bulunan ve çok çeşitli etkilere sahip olan bir nöropeptittir. NPY'nin merkezi sinir sistemindeki dağılımı karışıktır (14/73). Genelde NPY, korteks ve ön beyindeki GABA ve somatostatinle aynı nöronlarda birlikte bulunur. NPY'nin GABA ile birlikte aynı nöronlarda bulunması konvülsiyon ve epileptik nöbetlerle ilişkisinin olabileceğini düşündürmektedir (Furtinger ve ark., 2001). NPY, normal fizyolojik durumun düzenlenmesi yanında fizyopatolojik durumlarda da önemli rol oynar. Bu fizyopatolojik durumlar aşırı glutamat fonksiyonuyla ilişkilidir (Vezzani ve ark.,1999).

Yapılan ilk çalışmalarda NPY'nin hipokampustaki fonksiyonu üzerinde durulmuştur. Colmer ve ark. (1987) spesifik olarak glutamata duyarlı nöronların NPY ile baskılandığını fakat bu peptidin postsinaptik uyarılar üzerinde etkisiz olduğunu göstermişlerdir. Daha sonra Colmer ve ark. (1988) NPY'nin etkisinin çok daha selektif olduğunu ve sadece rat Ammon boynuzundaki piramidal hücrelerde eksitator inputları inhibe ederken sinaptik inhibisyon üzerinde etkisinin olmadığını göstermişlerdir.

Meldrum ve Garthwaite (1990), serebral korteksin yüksek beyin fonksiyonlarında önemli rol oynamasından dolayı kortikal dejenerasyonun bu beyin bölgelerinde bulunan glutamat düzeyleri ile ilgili olduğunu göstermişlerdir. Lipton ve Rosenberg (1994) ise glutamatın aşırı salınımının ve birikiminin sonucunda nörotoksik hücre hasarlarının oluştuğunu göstermişlerdir. Bijak (1999) ise NPY'nin kortekste glutamatın aşırı salınımını baskıladığını göstermiştir.

NPY, bir çok farklı nörotransmitterle birlikte bulunur ve nöronal eksitabilitede kritik inhibitör düzenleyicidir. NPY'nin, fokal epilepsilerde (örneğin: Temporal Lob Epilepsisi) endojen antiepileptojenik yada antikonvülsan olabileceği düşünülmüştür. NPY, hipokampal CA1 ve CA3 alanlarında potansiyel bir antiepileptik etkiye sahiptir. Kainik asitle indüklenmiş nöbetlerde, pentilentetrazol tutuşma modeli yada elektrokonvulsif şoklardaki nöbetlerden sonra NPY üretiminin artmış olduğu bulunmuştur. İn vitro çalışmalarda rat hipokampus kesitlerinde NPY nin glutamat salınımını baskıladığı gösterilmiştir. Bu etkiyi de kalsiyum akımını düzenlemek yoluyla yapmaktadır. Presinaptik voltaj bağımlı Ca^{+2} kanal aktivitesini ya da presinaptik potasyum aktivitesini baskılayarak yaptığı sanılmaktadır. Tüm bu özelliklerinden dolayı NPY ye “endojen antikonvülsan” denilmektedir (Gu ve ark., 2004). İn vivo ve in vitro çalışmalar NPY'nin endojen antikonvülsan çıkarıldı rolünü destekler mahiyettedir. İn vitro olarak yapılan ilk çalışmalarda çıkarıldı hipokampal CA1 alanında NPY'nin presinaptik etkisinde Y2 reseptörünün tam etkili olduğu ileri sürülmüştür (9/42). NPY sistemindeki genetik değişikliklerle yapılan çalışmalar, NPY'nin çıkarıldı endojen antikonvülsif etkisini Y2 reseptörleri aracılığıyla gösterdiğini ortaya koymaktadır (Vezzani ve Sperk., 2004). NPY geninin silinmesi ile yapılan genetik çalışmalar NPY'nin epilepsideki koruyucu rolünü desteklemiştir.

NPY'nin penisilin modeli deneysel epilepsi üzerindeki etkilerinin gösterilmemiş olması ve bu modelin insanlardaki fokal motor nöbetlerin prototipini oluşturması çalışmamızda bu modeli tercih etmemizin ana etmenini oluşturmuştur. Diğer bir etken ise penisilinin etki mekanizmasıdır. Çünkü penisilin GABA'yı azaltarak epilepsi meydana getirmektedir. Ayrıca NPY ve GABA'nın aynı nöronlarda birlikte üretilmesi ve birlikte lokalize edilmesi bizim bu modeli seçmemizde etkili olmuştur.

Bizim alışmamızda yukarıda bahsedilen çalışmalardan farklı olarak penisilin modeli deneysel epilepsi zerine NPY nin muhtemel etkileri üzerinde çalışılmıştır. Bu hali ile çalışmamızın orijinal olduğunu düşünmekteyiz. Elde edilen sonuçlar diğer çalışmalara paralel olarak NPY nin antikonvülsan özelliğini destekler mahiyettedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 BEYİN KORTEKSİ

2.1.1.Beyin Korteksindeki Hücrelerin Özellikleri

İnsanda beyin korteksinin yüzeyi 2.500 cm^2 , kalınlığı 2-4 mm ve hacmi 600 cm^3 kadardır. Beyin korteksinde 10 milyardan fazla sinir hücresi (nöron) olduğu sanılmaktadır, Bu sayıya glia hücreleri dahil değildir. Beyin korteksinin hücreleri tabakalar teşkil edecek şekilde dağılmışlardır. Anatomistler beyin korteksini tabaka sayısına ve embriyolojik orijinine göre üç bölgeye ayırmışlardır.

1. Arşikorteks
2. Paleokorteks
3. Neokorteks

Arşikorteks ile paleokorteksin ikisine birden allokorteks denir, insanda allokorteks bütün beyin hacminin ancak % 10'u ile ilgilidir. Filogenetik bakımdan en eski olduğu kabul edilen arşikorteks (hipokampus) ile paleokorteks üçer tabakadan meydana gelmiştir. Bir memeli beynine dışarıdan bakıldığında görülen korteks bölgelerine neokorteks denir. Genel olarak altı tabakadan meydana gelmiş olan neokorteksin iç organizasyonu diğer iki kortekstekinden daha karmaşıktır. Presantral girusta bulunan motor alanlarda IV. tabaka gelişmemiştir. Bundan dolayı söz konusu bu bölgeye agranüler korteks denir (Marangoz, 2001).

2.1.2. Beyin Korteksinde Bulunan Hücre Grupları

Beyin korteksinde, hücre gövdelerinin yapı ve şekline, dentritlerinin uzunluk ve dağılımına ve aksonlarının dallanma ve sonlanmalarına göre çok çeşitli hücreler bulunur. Fakat bunların hepsini yıldızlı hücreler ve piramidal hücreler diye iki büyük sınıfa ayırmak mümkündür (Şekil 2.1). Piramidal hücrelerde, hücre gövdesi piramit şeklindedir. Piramidin tepe kısmı korteks yüzeyine, tabanı alta doğru yerleşmiştir. Akson hücrenin taban kısmından çıkarak beynin ve omuriliğin çeşitli kısımlarına kadar uzanır. Piramidal nöronlar uyarıcı hücrelerdir. Motor korteksin V. tabakasında

bulunan piramidal hücrelerin aksonları beyin sapına ve omuriliğe uzanır. Korteksin II. ve III. tabakalarında bulunan daha küçük piramidal nöronların aksonları ise korteksin diğer bölgelerine giderler.

Piramidal hücrelerde çok tipik bir dendrit organizasyonu görülür. Dendritler yatay ve dikey olmak üzere iki çeşittir. Tabana bağlı köşelerden çıkan yatay dendritler hücreden ayrıldıktan sonra dallanırlar. Dikey dendrit hücrenin tepesinden çıkarak korteksin en üst tabakasına kadar uzanır ve yüzeye paralel dallar verir. Sinir sisteminde rastlanan dendritlerin en uzununu (2 mm kadar olabilir) ve en kalını olan bu dendritlerin çapları 5-20 mikron arasındadır. Dikey dendrit ile ondan ayrılan dalların üzerinde diken (spine) denen çok sayıda postsinaptik çıkıntılar bulunur. Piramidal hücrelerin özel organizasyonu sayesinde çeşitli kaynaklardan beyin korteksine gelen girişler dendrit ağacının ayrı bölgelerine dağılır ve integre edilir. Ayrıca, dendritlerde sinaptik akımları artıran yükseltici bölgeler uzaklarda bulunan sinapsların daha etkili olmalarını sağlarlar.

Piramidal hücrelerin aminoasit transmitterlerden glutamik asit veya aspartik asidi serbestleştirerek etki ettikleri sanılmaktadır. Yıldız hücreleri, gövdeleri yuvarlak veya oval olan nöronlardır. Aksonları korteksi terk etmez, yakın çevrede bulunan nöronlarda sonlanır. Ara nöron olan yıldız hücreleri kortekste ki kolonların içinde gerekli olan bağlantıların kurulmasını sağlar. Yıldız hücrelerinin, dendritleri dikine uzanan önemli bir çeşidi vardır. Bu hücreler doğrudan doğruya talamustaki nöronlardan bilgi olarak bu bilgiyi diğer ara nöronlara veya piramidal hücrelere dağıtırlar. Görme korteksinde bulunan ve dikenli yıldız hücreleri denen nöronlar bu sınıftandır. Yıldız hücreleri çok çeşitlilik gösterdiği için salgılanan transmitterler de çeşitlidir. Aksonları dikine uzanan bir grup yıldız hücresinde ya Vazoaktif İntestinal Polipeptid (VIP) veya kolesistokinin (CCK) bulunur. Her iki peptit kortekste ki nöronlarda uyarıcı etki göstermektedir. O halde bu peptitleri ihtiva eden yıldız hücreleri uyarıcı ara nöronlardır.

Bazı yıldız hücrelerinde akson korteksin tabanına paralel olarak uzanır. Sepet hücreleri bu grubun en tipik örneğidir. Sepet hücreleri postsinaptik hücreyi kuşatıp içlerine alacak biçimde bir sinaps yaptıkları için böyle adlandırılmışlardır. Sepet hücrelerinin akson terminallerinde bol miktarda glutamik asit dekarboksilaz enziminin bulunduğu tespit edilmiştir. Bu enzim inhibitör bir aminoasit transmitter

olan gama-amino butirik asit (GABA)'nın sentezini katalizler. O halde, sepet hücreleri duraklatıcı ara nöronlardandır. Bu hücrelerin çevre inhibisyonu meydana getirerek belli bir kolondaki hücreyi, diğer kolonlarda bulunan hücrelerin etkilerinden koruduğu, izole ettiği ve böylece kolonlara gerektiğinde bağımsız çalışma imkanı sağladığı düşünülmektedir (Marangoz, 2001).

2.1.3. Korteksteki Duraklatıcı Sinapslar

E.G. Gray 1959 yılında beyin korteksinde bulunan sinapsları tip I ve tip II diye ikiye ayırdı. Tip I sinapsların büyük çoğunluğu dentritlerdeki dikenlerde bulunur ve bunlar uyarıcı sinapslardır. Genel olarak duraklatıcı olan tip II sinapsları hem hücre gövdesinde hem de dendritlerde bulunurlar. Beyincikte Purkinje hücrelerinin dendritlerine ait dikenlerdeki sinapslar uyarıcı ve tip I sinapslarındandır. Sepet hücrelerinin Purkinje hücrelerinin gövdesinde yaptığı sinapslar ise duraklatıcı ve tip II sinapslarıdır. Genel olarak duraklatıcı sinapslar, uyarıcı sinapslara göre hücre gövdesine daha yakın olurlar. Bu durum informasyonun hazırlanması bakımından son derece önemlidir. Mesela, beyin korteksinde sepet hücresi piramidal nöronun gövdesinde duraklatıcı sinaps yapar. Böylece piramidal hücrenin trigger bölgesinde bir potansiyelin meydana gelmesini daha yakından ve en etkili biçimde kontrol eder; gerektiğinde önleyici etkisini gösterir. Yani, bir sinyalin meydana gelmesini veto eder .

Beyin korteksinde bulunan duraklatıcı sinapslar karar mevkiinde yerleşmiş olmanın yanında oldukça da kuvvetli sinapslardır. Korteksteki duraklatıcı sinapsların etkisi, omurilik motor nöronlarındakinden 10 ile 20 kat daha uzun sürelidir. O halde kortekte meydana gelen duraklatıcı potansiyellerin görevi sadece uyarıcı yolların etkisini nötrleştirmek değil, aynı zamanda belli hücre gruplarını güçlü bir şekilde duraklatıcı baskı altında tutmaktır (Marangoz, 2001).

2.1.4. Piramidal Hücrelerin Deşarj Özellikleri

Merkez sinir sisteminde bulunan bir çok hücre gibi piramidal hücreler de -50 ile -70 mV arasında istirahat potansiyeli ve amplitüdü 100 mV kadar olan aksiyon potansiyeline sahiptirler. Piramidal hücreler, ardpotansiyelleri bakımından omurilik

motonöronlarından farklıdır. Motonöronlarda çok belirli hiperpolarize ard potansiyeller görülür. Bunlar motonöronun deşarj frekansını düşürerek sabit ve kararlı bir seviyede tutarlar. Muhtemelen, belirtilen biyofizik özellik innerve edilen kasların mekanik özellikleriyle uygunluk göstermektedir. Motonöronların aksine, kaslara değil, diğer nöronlara akson vermekte olan piramidal nöronların deşarj frekansı pek sınırlandırılmaz. Piramidal nöronlarda ancak çok küçük hiperpolarize ard potansiyeller görülür ve bundan dolayı deşarj frekansları saniyede 100'e kadar çıkabilir. Hatta hipokampusta bulunan bazı piramidal hücrelerde depolarize ard potansiyeller de görülür. Bu hücreler kısa ve yüksek frekanslı börtler şeklinde deşarj yaparlar. İşte piramidal nöronlara ait bu deşarj özellikleri sayesinde epileptik nöbetler oluşmaktadır (Marangoz, 2001).

2.1.5. Dendritlerde Bulunan Trigger Bölgeleri

Omurilikte bulunan motonöronların sadece birer tane trigger bölgesi vardır. O da aksonun ilk segmentinde bulunur. Beyin korteksindeki piramidal nöronlarda ise, aksondakine ilave olarak dendritlerde de bir veya daha fazla trigger bölgesi bulunur. A. Spencer ve E. Kandel 1961 yılında hipokampusun piramidal nöronlarından hücre içi kayıt aldılar. Bu çalışma esnasında hücre gövdesine uzak bölgelerden muhtemelen dentritlerden küçük potansiyeller kaydedildi ve bunlara “çabuk prepotansiyeller” adı verildi. Daha sonra, R. Llinas ile C. Nicholson beyinciğin Purkinje hücrelerinden benzer potansiyeller kaydedince dendrit kısmında birçok trigger bölgesinin bulunduğunu keşfettiler. Özellikle dendrit içinden alınan kayıtlarda kompleks aksiyon potansiyelleri elde edilmekteydi. Bu potansiyellerin başlangıç ve bitiş kısımlarında birçok çentik vardı. Şekil ve büyüklükleri farklı olan bu çentikler dendritler tarafından meydana getirilen potansiyellerdir. Dendrit potansiyellerinin şekil ve büyüklüğü kaydedici mikroeletrodun potansiyeli meydana getiren trigger bölgesine olan uzaklığına göre değişir. Purkinje hücresinde görülen dendrit aksiyon potansiyellerinin süresi uzundur. Bundan dolayı sumasyon göstererek büyük potansiyelleri meydana getirebilirler (Kandel, 1991).

Pek yakın bir zamana kadar sadece motor korteks ile hipokampusta bulunan büyük piramidal hücrelerin özellikleri detaylı olarak bilinmekteydi. Çünkü büyük

olan bu hücrelerden hücre içi kayıt almak kolaydı. Son yıllarda doku dilimi hazırlama tekniği geliştirildi. Bu teknik ile beyin çeşitli yerlerinden, özellikle motor korteks ve hipokampustan doku dilimleri alınarak in vitro ortamda çalışmak mümkün oldu. Doku dilimi hazırlanırken, beyinden alınan enine doku dilimleri bir deney kabininde oksijenlendirilir ve perfüze edilir. Bu şekilde izole edilen beyin dilimlerindeki hücreler uzun süre yaşatılabilir. Özel mikroskoplar kullanılarak, beyin diliminde bulunan hücrelerden hücre içi kayıtlar alınabilir. Hatta, sinir hücrelerinin mikroçevresi değiştirilebilir. İşte, D. Prince ve arkadaşları bu metodu kullanarak hipokampusta bulunan piramidal hücrelerin dendritlerinden kayıt aldılar. Bu araştırmacılar, biri küçük fakat çabuk (çabuk prepotansiyeller) diğeri de büyük fakat yavaş potansiyeller elde ettiler. Na^+ kanalı inhibitörü olan tetrodotoksin, çabuk prepotansiyelleri ortadan kaldırmaktadır. O halde bu potansiyelleri Na^+ meydana getirmektedir. Tetrodotoksin büyük-yavaş potansiyelleri etkilemez. Bu potansiyeller Ca^{++} kanallarını bloklayan Mg^{++} tarafından duraklatılır.

Korteks nöronlarının dendritlerinde bulunan trigger bölgeleri, uzaktan gelen uyarıcı impulsarı yükselterek onların aksondaki genel ve ortak trigger bölgesine ulaşmalarını sağlarlar. Bundan dolayı, uzaktan gelen uyarıcı girişlerin bir nöronun aktivitesine olan etkileri, postsinaptik potansiyellerden anlaşılmayacak kadar daha fazladır. Omurilikteki motonöronlarda sinaptik girişlerin hepsi aksondaki tek bir trigger bölgesinde sumasyon yaparlar. Motonöronlarda, aksiyon potansiyelinin teşekkülüne dendritlerdeki sinapsların katkısı, hücre gövdesine yakın olanlardan çok daha azdır. Hatırlanacağı gibi, piramidal nöronların, uzunlukları 1-2 mm'ye varan dikine dendritleri vardır. Bu dendritlerde bulunan trigger bölgelerinden dolayı, dikine dendritin en distal kısımlarındaki sinapslar bile hücre aktivitesini etkileyebilecektir (Marangoz, 2001).

2.1.6. Glia Hücrelerinin Yeri ve Önemi

Beynin diğeri bölgelerinde olduğu gibi beyin korteksinde de nöronların yaklaşık 10 katı kadar glia hücreleri bulunur. Merkezi sinir sisteminde en çok rastlanan üç çeşit glia hücresine beyin korteksinde de rastlanır. Bunlar, astrositler, oligodendrositler ve mikrogialardır.

S. Kuffier ve arkadaşlarının hücre içi kayıt metoduyla yaptıkları çalışmalara göre glia hücreleri aksiyon potansiyellerini meydana getirmezler. Elektrik akımına karşı glia membranlarından sadece pasif cevap alınır. Bundan dolayı, gliaların sinyal üretme ve haberleşmede rol oynamadıkları sanılmaktadır. Bununla birlikte, sinir hücrelerinden farklı olarak, glia membranları hücre dışı K^+ konsantrasyonundaki değişmelere karşı aşırı hassasiyet gösterir. Nöronlar aktivite gösterdiklerinde, hücre dışına çıkan K^+ miktarı artar. Hücre dışı ortamın K^+ konsantrasyonu yükselir ve glia membranlarında depolarizasyon görülür. Ekstrasellüler ortamda artan K^+ un glia dentritleri tarafından alınarak, bu ortamdaki K^+ konsantrasyonunun normal seviyede tutulduğu sanılmaktadır (Glia hücrelerinin tampon etkisi). Diğer taraftan glia hücrelerinin, hücre dışı ortamdan nörotransmitterleri ve toksinleri de aldığı sanılmaktadır (Marangoz, 2001).

2.2. Sinaptik İletide Pre ve Post Sinaptik Olaylar

Kimyasal sinapslardaki iletiyi fizyolojik bakımdan iki ayrı safhaya ayırabiliriz.

- Presinaptik safha
- Postsinaptik safha

Presinaptik safhada kimyasal transmitter serbestlenir. Postsinaptik safhada ise, salgılanan transmitter ile postsinaptik membranda bulunan uygun reseptör etkileşir, neticede spesifik iyon kanalları açılır. Açılan kanallardan geçen iyon akımı çeşitli sinaptik potansiyelleri meydana getirir (Marangoz , 2003).

2.2.1. Postsinaptik safha

Kimyasal iletinin postsinaptik safhasına ait iki önemli mekanizma vardır.

- Membranın bazı iyonlar için daha geçirgen duruma gelmesi
- Membranın bazı iyonlar için daha az geçirgen hale gelmesi (K^+ kanalı)

Postsinaptik Membranda İyon Geçirgenliğinin Artışı

Yukarıdaki iki mekanizmadan birincisi daha geneldir, yani daha yaygın olarak görülür. Merkezi sinir sistemindeki kimyasal sinapslarda meydana gelen ve post sinaptik membranın bazı iyonlara daha geçirgen olmasını sağlayan olaylar ilk defa Eccles ve arkadaşları tarafından araştırıldı. Bu konudaki araştırmalar omurilik motor nöronlarında yapıldı.

Omurilik motor nöronları ön boynuzda bulunan büyük motor hücrelerdir. Bu hücrelerin hem uyarıcı hemde duraklatıcı bağlantıları vardır. Uyarıcı bağlantılar aynı veya sinerjistik kastan gelen afferent aksonlardır. Duraklatıcı bağlantılar ise antagonist kastan gelen afferentlerdir. İşte böyle bir organizasyondan dolayı omurilik motor nöronları sinapsta geçen olayları araştırmak için son derece elverişlidir.

Eccles ve arkadaşları tarafından açıklanan ilk sinaptik bağlantı, gerim refleksini meydana getiren bağlantı idi. Araştırmacılar quadriceps kasında bulunan kas içciklerini innerve eden Ia afferentlerini selektif olarak uyardılar. Böylece sinaptik eksitasyon ile sinaptik inhibisyonu araştırdılar.

Aynı deneyler şimdi daha basit ve ileri bir metod ile tekrarlanabilir. Bu maksatla tek bir afferent lif uyarılır veya arka kök gangliyonlarında bulunan nöronlardan birisinin içine uyarıcı mikroelettrot sokulur. Mikroelettrottan uyarıcı akım verilirse gerim reseptörünü meydana getiren sinir hücreleri uyarılmış olur.

Quadriseps kasını innerve eden bu hücrede oluşan aksiyon potansiyeli, omuriliğin boynuzuna ulaşarak ilgili motornöronda bir eksitator postsinaptik potansiyel (EPSP) doğurur. EPSP depolarizasyona sebep olarak motor nöronu uyarır. Yüksekliği 1 mV kadar olan bu depolarizasyon tek başına motor nöronu deşarj eşiğine ulaştıramaz.

Diğer taraftan, eğer quadrisepsin antagonisti olan bisepsin gerim reseptörüne ait nöron uyarılırsa, motor nörondan bu kez EPSP değil, inhibitör postsinaptik potansiyel (IPSP) adı verilen küçük bir potansiyel kaydedilir. IPSP duraklatıcı ve hiperpolarize edici özelliğindedir. Anlatılan deneyde quadriseps yolu monosinaptik iken, antagonist duraklatıcı yol iki sinapslıdır. Duraklatıcı devrede inhibitör bir ara nöron bulunur. Duraklatıcı ara nörondan da kayıt almak mümkündür.

EPSP'ler yeterli ölçüde büyük iseler membran potansiyelini eşik seviyeye ulaştırırlar ve aksiyon potansiyelinin meydana gelmesine sebep olurlar. IPSP'ler tam tersi bir etki göstererek membran potansiyelini eşik seviyeden uzaklaştırırlar. Buna ilave olarak IPSP'ler spontan olarak aktif olan hücrelerde düzenleyici etki gösterir ve bu hücrelerin aksiyon potansiyeli üretmelerini baskı altında tutarlar.

IPSP'lerin iyonik mekanizması EPSP'lerinkinden daha basittir. Eksitator postsinaptik potansiyeller motor nöronların membran potansiyellerini azaltırlar. Eksitator postsinaptik potansiyeller yeterli ölçüde büyük ise membran potansiyeli eşik seviyeye ulaşır ve bir aksiyon meydana gelir. Diğer taraftan, inhibitör post sinaptik potansiyeller membran potansiyelinin eşik seviyeye ulaşmasını önleyerek eksitator girişlerin etkisini azaltıcı yönde etki ederler. Buna ilaveten, inhibitör sinaptik potansiyeller spontan olarak aktif olan hücrelere önemli bir düzenleyici etki gösterirler. Bu hücrelerin aksiyon potansiyeli oluşturmalarını baskı altında tutar ve bu yolla impuls aktivitesi biçimini tayin ederler. İnhibisyonun bu fonksiyonuna inhibisyonun heykeltıraşlık (sculpturing) rolü denir (Marangoz, 2003).

2.2.2. İnhibitör Postsinaptik Potansiyeller

Eccles ve arkadaşları inhibitör post sinaptik potansiyellerin (IPSP) aksonun başlangıç segmentinde (integresyonu sağlayan kısım) membran potansiyelinin eşik değere ulaşmasını önleyerek inhibisyona sebep olduklarını buldular. Genel olarak IPSP'ler membran potansiyelini artırarak yani hiperpolarizasyona sebep olarak bu işi başarırlar. IPSP'ler eksitator sinapslar tarafından meydana getirilen sinaptik etkileri de azaltırlar. Transmitterin reseptöre bağlanması mebranın Cl^- ve K^+ iyonuna olan geçirgenliğinin ani olarak artmasına sebep olur. Bir sinir hücresinde bu iyonlardan Cl^- nin denge potansiyeli (E_{Cl^-}) -70 mV; K^+ nın (E_K) ise -80 mV civarındadır. Sinir hücrelerinin çoğunda bu iyonların her birinin denge potansiyeli istirahat potansiyelinden (-65 mV kadar) daha negatiftir. Daha önemlisi, denge potansiyeli eşik potansiyelden (-45 mV) çok daha negatiftir. Eccles'in çalıştığı motor nöronlarda inhibitör transmitter presinaptik hücrenin hem K^+ hemde Cl^- a olan geçirgenliği artmıştı. Beyin korteksinin ve hipokampusun bir çok hücresinde inhibitör transmitter

sadece Cl^- kanallarının geçirgenliğini artırmaktadır. Bazı sinapslarda da sadece K^+ kanalları açılır.

Klorür iyonları hücre dışında yüksek konsantrasyonda (150 mM) hücre içinde ise düşük konsantrasyonda (10 mM) bulunur. Bundan dolayı Cl^- kanallarının açılması Cl^- iyonlarının hücre içine geçmesine sebep olur. İçeriye giren Cl^- iyonları ile dışarıya çıkan K^+ iyonları eşittir. Transmitterin etkisi ile K^+ ve Cl^- kanalları açıldıktan sonra hücre içindeki negatif iyon konsantrasyonu gittikçe yükselir. Hiperpolarizasyon olur.

K^+ ve Cl^- iyonlarına olan iletkenliğin artmasından dolayı ortaya çıkan bir IPSP iki şekilde postsinaptik hücreyi duraklatır:

1- IPSP membran iletkenliğini artırarak EPSP'nin etkisini azaltır. Buna inhibisyonun kısa devre etkisi denir.

2- İletkenliğin artmasıyla beliren bir IPSP membranın polarizasyonunu artırır ve membran potansiyelini eşik değerden uzaklaştırır (Yüksek istirahat potansiyeline sahip olan hücrelerde bu etki görülmez. Çünkü bu tip hücrelerde $V_m = E_{\text{Cl}^-}$ dir.)

Kimyasal transmitterlerin K^+ iyonlarının geçirgenliğini artırmasının önemli bir özelliği daha vardır: İletkenlikteki artış yani K^+ ve Cl^- kanallarının açılması membran voltajına bağlı değildir. Membran potansiyelindeki bir değişme transmitter tarafından açılan K^+ ve Cl^- kanallarının sayısını değiştirmez. Bundan dolayı, aksiyon potansiyeli tarafından yönetilen K^+ kanalları ile inhibitör sinaptik etki tarafından aktive edilen K^+ kanalları arasında önemli bir fark vardır. Aksiyon potansiyeli tarafından aktive edilen K^+ kanallarını membran potansiyeli yönetir. Onun için bu kanallara voltaj kapılı kanallar denir. Bu iki çeşit potasyum kanalı farmakolojik olarak da farklıdır. Mesela tetraetilamonyum voltaj kapılı potasyum kanallarını selektif olarak bloklar; fakat transmitter kapılı kanalları genel olarak etkilemez (Marangoz, 2003).

2.2.3. Eksitator Postsinaptik Potansiyeller

Eccles ve arkadaşları, eksitator postsinaptik potansiyelin hem sodyuma hemde potasyuma geçirgen olan transmitter kapılı iyon kanallarının açılması sonucu meydana geldiğini keşfettiler. İskelet kasında bulunan ve ACh'nin etkisiyle açılan

Na^+ ve K^+ kanalları da aynı özelliğe sahiptir. Uyarın şiddeti artırıldığında daha çok sayıda aferent lif uyarılır. Böylece motor nöron üzerinde EPSP lerin sumasyonu gerçekleşir, neticede başlangıç segmentinde membran potansiyeli deşarj seviyesine ulaşarak aksiyon potansiyellerini üretmeye başlar (Marangoz, 2003).

EPSP Esnasındaki İyon Akımı

EPSP'nin iyonik temelini araştırmak için kullanılan en iyi metod voltaj kıskacı metodudur. Membran potansiyelinin değerini değiştirip EPSP'nin büyüklüğü ve polaritesini ölçerek onun iyonik yapısı hakkında önemli bilgiler elde edilmiştir. Bu maksatla hücre içi mikroelettrot yoluyla akım verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre EPSP'nin büyüklüğü (V_{EPSP}), hem sinaptik akımın büyüklüğüne hemde hücrede sinaptik olmayan membranın iletkenliğine (gm) bağlıdır. Aradaki ilişkiyi şöyle ifade edebiliriz:

$$V_{\text{EPSP}} = I_{\text{EPSP}} / \text{gm}$$

Uyarıcı taransmitterlerin etkisiyle açılan kanallar voltaja bağımlı değillerdir. Bunun sonucu olarak transmitterlerin etkisiyle açılan kanalların sayısı sadece transmitterlerin konsantrasyonuna bağlıdır. Membran potansiyelinin değişmesi açılan kanal sayısını etkilemez. O halde EPSP amplitüdündeki değişmeler esasta sinaptik akımdaki (I_{EPSP}) değişmelerle ilgilidir.

Sinir hücrelerinin çoğunda istirahat membran potansiyeli -65 mV kadardır ki bu, kas hücresinin membran potansiyelinden (-90 mV) çok daha düşüktür. Sinir hücresinde membran potansiyeli -65 mV dan -70 mV a yükseltirirse, EPSP'nin amplitüdü de artar.

Sinaptik eksitasyon ile bir aksiyon potansiyelini doğrudan eksitasyon arasında (diğer bir deyişle voltaj kapılı iyon kanalları ile transmitter kapılı kanallar arasında) önemli farklar vardır.

1-Aksiyon potansiyeli meydana gelirken Na^+ ve K^+ membrandan belli bir sıraya göre geçmeye başlar. Yani önce Na^+ geçirgenliği artar, sonrada K^+ geçirgenliği yükselir. Transmitter kapılı kanallarda sinaptik potansiyeller meydana gelirken her iki iyonun geçişi aynı ana rastlar. Bu farklılığın sebebi her iki potansiyelde rol alan iyon kanallarının farklı oluşudur.

2-Aksiyon potansiyeli meydana gelirken membranin depolarizasyonu, biri Na^+ diğeri de K^+ kanalı olmak üzere iki farklı kanalın açılmasına sebep olur. Halbuki sinaptik potansiyeli meydana getiren transmitter hem sodyumu hemde potasyumu aynı ölçüde geçiren özel ve tek bir çeşit kanalın açılmasına neden olur. Bu kanal o kadar büyüktür ki Ca^{+2} ve NH_4^+ ile belli organik katyonları bile geçirir. Fakat Cl^- gibi anyonları geçirmez. Katyonlara geçirgen olması kanal ağzının negatif yüklü olduğunu ve bundan dolayı pozitif yüklü katyonları çektiğini fakat negatif yüklü anyonları ittiğini gösterir.

3-Sinaptik potansiyel ile aksiyon potansiyeli arasındaki diğer farklılık da aksiyon potansiyelinin sebep olduğu Na^+ geçirgenliğinin rejeneratif olmasıdır. Fakat sinaptik potansiyelin sebep olduğu Na^+ geçirgenliği rejeneratif değildir. Aksiyon potansiyelinden sorumlu olan Na^+ ve K^+ kanalları voltaj bağımlı kanallardır. Depolarizasyonla açılır hiperpolarizasyonla da kapanırlar. Sinaptik potansiyellerden sorumlu kanallar ise transmitter kapılıdır. Özel bir transmitterin konsantrasyonu artınca açılan kanal sayısı da artar. O halde transmitter tarafından meydana getirilen depolarizasyon sinaptik membranda daha fazla kanalın açılmasına sebep olmaz (yani toplam sinaptik iletkenliği artırmaz). Bu özellikler sinaptik potansiyellerin niçin nisbeten çok küçük; aksiyon potansiyelinin de büyük (+110 mV) ve hep yada hiç özelliğinde olduğunu açıklamaktadır.

4-Voltaj kapılı iyon kanalları ile transmitter kapılı iyon kanallarının farmakolojileri de farklıdır. Uyarıcı transmitterlerin sebep olduğu Na^+ girişi tetrodotoksin tarafından bloklanmazken aksiyon potansiyelinin aktiflediği voltaj kapılı Na^+ kanalı tetrodotoksin tarafından bloklanır.

Eksitator sinir-kas sinapsında tek bir kanalın açılıp kapanmasını araştırmak için önemli yeni teknikler geliştirilmiştir. Bu sinapsta da transmitter hem Na^+ hemde K^+ geçirgenliğini artırır. Son tespitlere göre bir kanal yaklaşık olarak 1 ms süreyle açık kalır ve bu süre zarfında 20.000 Na^+ iyonunun hücre içine, bir o kadar da K^+ iyonunun hücre dışına çıkmasını sağlar. Tek bir kanalın açılması sadece 0,3 mV 'lık bir potansiyel değişmesine sebep olur (Marangoz, 2003)

2.2.4. K⁺ Kanalları ve Sinaptik Uyarılma

Bazı K⁺ kanallarının kapanması sinaptik uyarılmaya ve yavaş EPSP lere neden olur. Sempatik gangliyonlarda ve omurgasızlarda yapılan çalışmalar istirahat esnasında açık olan bazı K⁺ kanallarının kapanmasıyla sinaptik uyarılma olabileceğini gösterdi.

Bazı hücrelerde istirahat membran potansiyelinin teşekkülüne katkıda bulunan K⁺ kanallarının bir kısmı sinaptik etkilerle kontrol edilirler. Bu kanalların kapanmasına sebep olan transmitterler hücreyi depolarize ederler. Mesela, ACh için iki ana reseptör çeşidi vardır. Bunlardan biri muskarinik diğeri nikotinik'dir. Her ikiside ACh yi bağlar. Fakat bu reseptörlerin agonistleri ile antagonistleri de vardır. Nikotin ile muskarin gibi agonistler ACh nin etkisini uyarırken, kürar ve hexamethonium gibi antagonistler reseptörleri bloklayarlar. Biyokimyası farklı olan her iki çeşit reseptörün sinir sistemindeki görevi de farklıdır. Sempatik nöronlar ile hipokampus ve korteksteeki nöronlarda bulunan reseptörler muskariniktir. P. Adams ve arkadaşları ACh nin muskarinik etkisiyle bir çeşit potasyum kanalının kapandığını buldular. Bu kanalı repolarizasyon esnasında açılan potasyum kanallarından ayırmak için M (muskarinik) kanal diye adlandırdılar.

Bazı sinapslarda transmitterlerin etkisi ile kapanan K⁺ kanalları sadece presinaptik ucun karşısındaki membranda bulunmaz buna ilaveten hücre yüzeyinin diğer kısımlarında da bulunur. Bu durumda transmitterlerin reseptörü etkilemesi hücre içinde bir ikinci habercinin sentezlenmesini başlatır. İkinci haberci yaygın olarak bulunan kanalları etkiler. Mesela Aplysia'nın bazı duyu nöronlarında serotonin tarafından meydana getirilen bir EPSP nin sebebi S kanalı denen bir K⁺ kanalının kapanmasıdır. İstirahat esnasında açık olan bu potasyum kanalı serotoninin etkisi ile kapandığı için S kanalı adını almıştır. Burada sözü edilen sinaptik etkileşimde transmitter maddenin tutunduğu reseptör iyon kanalının bir parçası değil aksine buradaki reseptör enzim kümesini (kaskad) bir parçasıdır. Bu durumda serotonin gibi bir transmitter postsinaptik hücredeki bir reseptöre tutunur. Reseptör serotoninini bağlayınca Gs proteini denen bağlayıcı bir protein adenilat siklaz denen enzimi aktive eder, aktif hale gelen bu enzim de adenosin tri fosfattan (ATP) siklik AMP yi sentezler. cAMP nin miktarı artınca cAMP ye bağlı protein kinaz denen

diğer bir enzim aktif hale gelir bu da proteinlerin fosforilasyonunu sağlar. Burada fosforilasyona uğrayan protein ya S kanalının kendisidir yada bu kanalın kapanmasını sağlayan diğer düzenleyici proteindir. R. Nicoll ve arkadaşları benzer bir mekanizmaya norepinefrinin beyin korteksindeki hücreleri etkilemesinde rastladıklarını ileri sürdüler. Beyinde NE serbestleyen hücrelerin kaynağı beyin sapındaki locus ceruleus'tur. Buradaki hücreler hipokampus ile beyin korteksine uzantılar gönderirler. NE cAMP yoluyla etki ederek bir çeşit K^+ kanalının kapanmasına sebep olur. Buradaki K^+ kanalına da Ca^{+2} ya bağımlı K^+ kanalı denir (Marangoz, 2003).

K^+ Kanallarının Kapanması İki Yolla Uyarıcı Sinaptik Etkileşmeye Neden Olur

1- İstirahat membran potansiyeli esnasında normal olarak açık olan K^+ kanallarının kapanması depolarizasyona sebep olarak membran potansiyelini eşik değere yaklaştırır. Çünkü istirahat esnasında membran Na^+ (ve Cl^-) ile K^+ a geçirgendir ve istirahat potansiyeli bu üç iyon geçirgenliğinden etkilenir bu durumda bazı K^+ kanallarının kapanması membran potansiyelini Na^+ denge potansiyeline (E_{Na^+}) doğru kaydırır.

2- Açık potasyum kanallarının sayısındaki azalmadan dolayı membranın efektif iletkenliği (gm) azalır. Bu durumda EPSP ye neden olacak herhangi bir uyarıcı giriş daha büyük bir depolarizasyona sebep olur ($V_{EPSP} = I_{IPSP} / gm$).

İyon kanallarının kapanmasıyla meydana gelen sinaptik potansiyeller iyon kanallarının açılmasıyla meydana gelenlerden 10.000 defa daha yavaştır. Aynı nöronda iletkenliğin artmasıyla meydana gelen EPSP nin süresi 20 ms olduğu halde M tipi K^+ kanalının kapanmasıyla meydana gelen EPSP nin süresi 10 dk dır. Diğer taraftan Aplysia da serotonin tarafından K^+ kanallarının kapatılmasıyla meydana gelen EPSP nin süresi 30 dakikayı geçmektedir. Nöronal aktiviteyi uzun sürede düzenleme bakımından bu yavaş sinaptik potansiyellerin çok önemli olduğu sanılmaktadır.

Diğer taraftan transmitterlerin etkisiyle açılan iyon kanalları membran potansiyelinden etkilenmediği ve aksiyon potansiyeline katkıda bulunmadığı halde transmitter etkisi ile kapanan K^+ kanalları ve neticede meydana gelen yavaş EPSP ler

aksiyon potansiyeline katkıda bulunabilirler. Özellikle otonom sinir sisteminde membran iletkenliğinin azalmasından dolayı meydana gelen farklı IPSP ve EPSP ler de bilinmektedir (Marangoz, 2003).

2.3.HİPOKAMPUS

2.3.1.Hipokampusun Anatomisi

Hipokampus, hipokampal fissurun derinleşerek inferior boynuza invajine olmasıyla meydana gelmiştir. Fissürün dudakları ise girus dentatusu ve parahipokampal girusu oluşturur. Hipokampal kavisin değişik bölgeleri aynı ölçüde gelişmez (Carpenter ve Sut, 1983). Hipokampal bölge (Nolte, 1988) olarak da adlandırılan "hipokampal formasyon" (Demeter ve ark., 1985), subikulum, hipokampus, girus dentatus gibi yapılardan meydana gelmiştir.

Hipokampus (Ammon Boynuzu)

Koronal kesitlerde deniz atına benzediğinden dolayı bu terimle adlandırılmıştır. Ayrıca koç boynuzuna benzediği için "Cornu Ammonis" de denir. Beyin hemisferlerinin içine doğru çıkıntılar yapan hipokampus; CA1, CA2, CA3 ve CA4 olmak üzere değişik bölgelere ayrılmıştır (Cohen ve Sherman, 1983). Hipokampusun ventriküllere bakan yüzü alveus olarak da adlandırılmaktadır (Carpenter ve Sutin, 1983; Barr ve Kiernan, 1988). Alveus aferent ve eferent liflerin bir subependimal kılıfıdır. Fimbriya ve fornikte sonlanan miyelinli liflerden oluşan bir topluluktur (Cohen ve Sherman, 1983).

Sıçan ve tavşanda hipokampus dorsal ve ventral olmak üzere iki kısımdan meydana gelmiştir. Dorsal hipokampus yanlardan lateral ventriküllerle çevrelenmiştir. Rostraldan kaudale doğru gidildikçe iki hipokampus birleşir. Memelilerde hipokampus yapısal organizasyon açısından birbirine benzerdir. İnsanda hipokampal formasyonun en büyük kısmını hipokampus oluşturur .

2.3.2.Hipokampusun Histolojisi

Son zamanlarda yapılan deneysel, anatomik, histokimyasal ve elektrofizyolojik çalışmalar hipokampusun daha iyi anlaşılmasını sağlamıştır. Hipokampusun üç tabakalı histolojik yapısı, kortikal altı tabakanın parahipokampal giristan hipokampus ve girus dentatusa geçerken tedrici olarak azalmasıyla meydana gelmiştir. Esas tabakalardaki hücrelerin dendrit ve aksonlarının farklı şekilde düzenlenmesiyle bir çok sekonder tabaka da oluşmuştur (Carpenter ve Sutin, 1983). Bu tabakalar ventrikülün yüzeyini döşeyen ependim hücrelerinin hemen altında alveustan içe doğru şöyle sıralanır:

1. Stratum oriens
2. Stratum pyramidale
3. Stratum radiatum
4. Stratum lakunosum
5. Stratum molekulare

Hipokampal formasyondaki tüm birimlerde nöronların genel bir dizilimi olmakla beraber zaman zaman farklılıkların da olduğu gözlenmiştir (Carpenter ve Sutin, 1983). Hipokampus üç esas tabakadan meydana gelmektedir. Hipokampusun bu üç esas tabakası alveustan içe doğru şu şekilde sıralanmaktadır.

1. Stratum poliforme
2. Stratum pyramidale
3. Stratum molekulare

1. Stratum Poliforme

Hipokampusun en dış tabakası olup alveusla stratum pyramidale arasında yer alır. Stratum oriens olarak ta adlandırılan bu tabaka nonpiramidal hücrelerce zengindir (Totterdell ve Hayes, 1987). Görünümü itibariyle neokorteksin VI tabakasına benzer. Stratum oriens, lifleri ve polimorfik hücreleri içeren iç ve dış zonlara ayrılabilir. Dış zon hücrelerinin aksonları moleküler tabakaya dağılır. İç zon hücrelerinin aksonlarından bazıları alveusa gider, diğerleri ise bu tabakada dallanırlar veya piramidal tabakaya geçerler.

2. Stratum Piramidale

Bu tabakada piramidal hücreler bulunur. Piramidal hücrelerin tabanları hipokampusun ventriküler yüzeyine dönüktür . Karakteristik olarak bu tabakada küçük piramidal ve Golgi tip II hücreleri bulunmaktadır. Büyük ve küçük piramidal hücreler arasındaki morfolojik farklılıkların çoğu, dendritlerin gelişimindeki varyasyonlardan ileri gelmektedir. Bazı hücrelerin her iki kutbundan da zengin pleksus ağı çıktığı için her iki taraftan piramid gibi görünmektedir. Piramidal hücrelerin bazal ve apikal dendritleri komşu tabakalara, aksonları ise stratum oriens'ten geçerek alveusa girerler. Hipokampusun sepet hücreleri çoğunlukla stratum oriens ve stratum piramidale arasındaki geçiş zonunda bulunurlar. Bu hücrelerin aksonları alveusa geçmez. Fakat aksi yönde ilerleyerek piramidal hücre gövdelerinin çevresinde yoğun pleksus yaptıktan sonra stratum radiatum'a geçerler (Reisman ve ark., 1965). Piramidal hücre aksonları geriye dönebilen kollateraller verebilirler. Bunların çoğu stratum radiatum'a girerler. Diğerleri ise stratum oriens'e geçerek forniks yoluyla hipokampusu terkederler (Carpenter ve Sutin, 1983). Düzenli sıralanan piramidal hücreler hipokampusun şeklini belirler. Piramidal tabakada, diğer bütün tabakalara giden ve değişik yollar takibeden kısa aksonlu hücreler de mevcuttur. Bu hücreler hipokampusun iç aktivitesini düzenler (Carpenter ve Sutin, 1983).

Bilim adamları "Cornu Ammonis" in baş harflerini kullanarak hipokampusu "CA" ile ifade etmişlerdir. Hipokampus hücre morfolojisindeki değişikliklerden dolayı farklı alanlara bölünmüştür. Bu alanlar, CA1, CA2, CA3 ve CA4 olarak adlandırılmıştır. Bunlardan CA1 subikulumu, CA4 ise girus dentatus'a en yakın olan alandır (Mayer, 1971).

3. Stratum Molekölare

Çok az sayıda nöron içeren bu tabaka üç alt bölgeye ayrılır.

1. Stratum radiatum
2. Stratum ömolekölare
3. Stratum lakunozum

Stratum radiatum geniş bir ağ yapısında olup piramidal tabakanın sınırından ışınsal olarak uzanan dallara sahiptir. Stratum ömolekölare ve stratum lokunozum ise bazen diğer tabakalardan gelen zengin bir lif ağı içeren tek bir lamina olarak da kabul edilmektedir. Hipokampus, entorhinal alandan gelen önemli aferent lifler stratum lokunozum - molekülarede sonlanmaktadır (Carpenter ve Sutin,1983).

Hipokampal Yollar

Hipokampal eferent liflerin büyük bir kısmını piramidal hücreler oluşturmaktadır. Hipokampusun aferentleri ise parahipokampal giristan ve daha çok entorhinal alandan gelmektedir. Aferent lifler perforant veya alveolar yollar ile hipokampusu ulaşmaktadır. Entorhinal korteksten alveolar yolla gelen lifler hipokampusun CA1 kısmına ve subikulumun iç tabakasına, perforant yolla entorhinal alanın lateral bölgesinden gelen lifler ise girus dentatus ve CA4 hariç tüm hipokampusu dağılmaktadır (Carpenter ve Sutin, 1983).

İç bağlantılar

Hipokampal devrenin birinci basamağını girus dentatus oluşturur. Girus dentatus hücreleri hipokampus dışına uzantı göndermezler. Girus dentatusun granüler hücrelerinin lifleri (yosunsu lifler), girus dentatusun polimorfik tabakasında ve hipokampusun CA3 bölgesi piramidal hücrelerinin proksimal dendritleri üzerinde sinaps yaparlar (Gaorskjaer ve ark., 1981). Girus dentatusun derin ve polimorfik tabakasında karşı tarafa uzanan assosiasyon lifleri vardır.

Entorhinal korteksin I. ve II. tabakasından çıkan hücrelerin aksonları perforant yolu oluşturlar (Witter ve ark., 1989). Perforant yol subikulumu, hipokampusu ve girus dentatusu delerek girus dentatusun molekülare tabakasına yayılır. Bu yola ait bir kısım uzantılar hipokampal fissürü takip ederek yine molekülare tabakada sonlanmaktadır. Büyük bir kısmı ise CA1ve CA3'ün stratum lakunozum molekülarelerinden geçerler (Steward, 1976). CA3 piramidal hücreleri, CA1'e ve subkortikal yapılara özellikle septal nukleusa lifler gönderir. Ayrıca

stratum radiatum ve stratum oriens'te sonlanan lifler verir. CA3 bölgesi çok sayıda nonpiramidal hücre bulundurur. Bu nöronların çoğu ara nöronudur.

Forniks, subikulum ve hipokampusun büyük piramidal hücrelerinden gelen aksonlardan ibarettir. Hipokampusun ana eferent lif sistemini oluşturan bu bantta hem projeksiyon hem de komissural lifler bulunur (Meibach ve Seigel,1975; Rosene ve Van Hoesen, 1967).

Dış bağlantılar

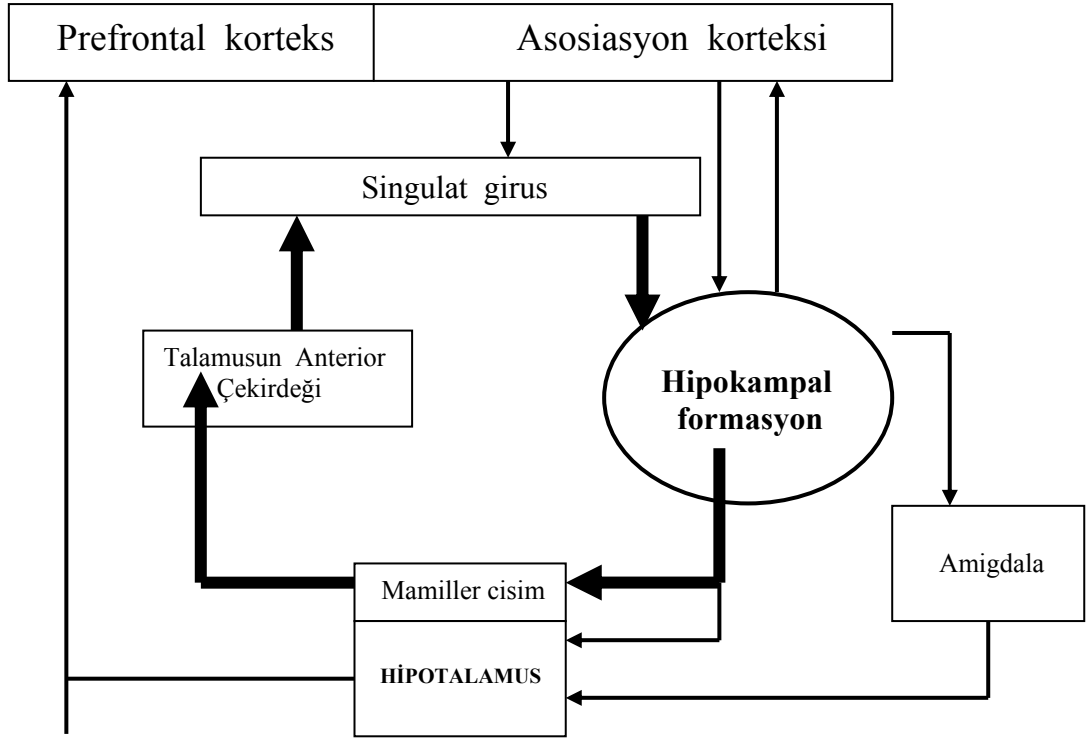
Hipokampusun dış bağlantılarını genellikle "Papez devresi "ifade eder. Papez (1937) hipokampal korteksi çeşitli kortikal bölgelerden, duyuşal bilginin kabul edildiği alan olarak kabul etmiştir. Forniks büyük ölçüde hipokampustan çıkan yolu oluşturur. Subikulum, entorhinal alan, perirhinal korteks, parahipokampal alan gibi bölgelere hatta orbitofrontal kortekse lifler gönderir. Hipokampal yapı ayrıca amigdaloid ve striatuma etki etmektedir (Amaral ve Insausti, 1990).

Komissural bağlantılar

Blackstad 1950'de sıçanda sağ ve sol hipokampusun birbiriyle bağlantılı olduğunu gösterdi. Maymunlar üzerinde yapılan çalışmalarda da sağ ve sol hipokampus arasındaki bağlantının varlığı gösterilmiştir. Sıçan beyinde kontralateral entorhinal korteksin üçüncü tabakasında sona eren komissural projeksiyonlar gösterilmiştir (Amaral ve Insausti, 1990).

Kortekse ait bağlantılar

Dejenerasyon metoduyla sıçanda yapılan çalışmalarda, hipokampustan neokortekse direkt olan bağlantılar gösterilmiştir. Bunun yanında retrograd taşınma teknikleri kullanılarak yapılan çalışmalarda, perirhinal korteks (alan 35 ve 36), singulat korteks, insular korteks, ve parahipokampal girusun korteksle direkt bağlantılı olduğu gösterilmiştir (Amaral ve Insausti, 1990).



Şekil 2.1. Hipokampal formasyonun önemli fonksiyonel bağlantıları. Kalın çizgiler Papez (1937) tarafından, ince çizgiler ise daha sonra ileri sürülen bağlantıları göstermektedir. Hipokampal formasyon, hipokampus ve onun çevresindeki yapılar olan entorhinal alan ve subiküler kompleksten oluşmaktadır (Kandel, 1991).

2.3.3. Hipokampusun fonksiyonları

Hipokampusun anatomisi ve histolojisi hakkında çok şey bilinmesine rağmen, fonksiyonu hakkında pek fazla şey bilinmemektedir. Bunun nedeni ise hipokampusun beyindeki bir çok bölgeyle yakın ilişkide olmasıdır. Hipokampal formasyonun anatomik yapısının karmaşık olması, hipokampusun herhangi bir bölümünün fonksiyonunun açıklanmasını zorlaştırmaktadır. Bu nedenle hipokampusun yapısı tam olarak anlaşılamamıştır (Nolte, 1988). O nedenle hipokampusun genel görevlerini tanımlamak yerine, az çok iştirak ettiği görevlerin belirlenmesine çalışılmaktadır (Carpenter ve Sutin, 1983).

Önceleri hipokampusun kokuyla ilgili olduğu düşünülüyordu. Fakat koku duyusunu alan yolların veya bulbus olfaktoriusun gelişmediği bazı insanlarda

hipokampusun normal gelişimini tamamladığı gösterilmiştir. Daha sonra anatomistler hipokampus gelişiminin bulbus olfaktoriusun gelişimine paralel olmadığını göstermişlerdir (Gray's). Fakat indirekt yollardan bulbus olfaktoriusun hipokampusla ilişkili olduğunu gösteren deliller vardır (Carpenter ve Sutin, 1983). Hipokampusun fonksiyonuyla ilgili bilgilerin bir çoğu histokimyasal çalışmalardan sağlanmıştır. Asetilkolinesteraz (AChE) girus dentatusun hilusundaki hücre gövdelerinde bulunur ve piramidal hücre tabakasına dağılır (Lewis ve Shute, 1967; Mellgren ve ark., 1977; Dajas ve ark., 1979).

1953'de Jansen anestezisiz kedilerde, hipokampusun uyarılmasıyla dikkatli bakış ve arayış hareketleri gözlemlemiştir. Kedilerin yüzlerinde görülen şaşkınlık ifadesi dikkat olarak değerlendirilmiş, dış uyaranlara karşı tepkileri azalmış ve dikkatleri çevredeki herhangi bir şeye fikse olmuştur. Bu davranışların fiziksel işlemlere karşı duyarlı motor reaksiyonlar tarafından başlatıldığı kabul edilmiştir . Bilinci yerinde olan kedilerin hipokampusunda meydana getirilen lokal stimülasyonlar veya lokal lezyonlar sonucunda gözlenen davranış değişiklikleri psikomotor epilepside meydana gelenlere benzemektedir. Bu hayvanlar anormal horlama, pupillar dilatasyon ve anormal korku belirtileri gösterirler. Hipokampusun uyaranlara karşı aktivite gösterirken son derece düşük eşik şiddetine sahip olduğu belirtilmiştir. Hipokampustan yayılan epileptiform aktivite limbik lobun diğer kısımlarına ve en sonunda da neokortekse yayılır (Kelly ve Dodd, 1991).

Hipokampusun EEG dalgaları ritmik sinüzoidal tipteki teta dalgalarıdır. Bu durum yapının spontan aktivitesini ve bilincin değişik devrelerle ilişkili olduğunu göstermektedir. Korteksin desenkronize durumlarında hipokampus senkronizasyon göstermekte ve teta dalgaları oluşmaktadır. Bu çapraz ilişkinin fonksiyonel önemi anlaşılamamıştır. Teta dalgalarının sadece dikkat ve uyanıklık ile değil, aynı zamanda bir çok fizyolojik fonksiyonla da ilgili olduğu tespit edilmiştir. Hipokampus ve intratemporal korteksin öğrenme ve yakın hafıza ile ilgili olabileceğine dair önemli bilgiler bulunmaktadır (Kelly ve Dodd, 1991). Hipokampusun bir çok fonksiyonla ilişkisi vardır. Bunlardan birisi hafıza özellikle yakın hafıza (kısa süreli) dır. Kısa süreli hafıza, yeni bilgilerin depolanma kapasitesini ifade etmektedir. Canlıda bu özellik bozulsa da, önceden öğrenilmiş bilgileri etkilemez (Carpenter ve Sutin, 1983).

1950' li yılların başında insanda temporal lobun medial parçalarının iki taraflı çıkarılmasından sonra belirgin bir şekilde hafıza kaybının olduğu görülmüştür. Cluver-Bucy Sendromu da denilen bu tabloya ilişkin belirtilerden bir kısmı veya tamamı, temporal lob ameliyatları geçiren kişiler hakkında rapor edilmiştir. Bu belirtiler genel olarak şu şekildedir:

1. Korku duygusu kaybolur.
2. Beslenme alışkanlıklarında değişiklikler görülür. Yiyecekleri uzun süre yoklayıp kontrol ettikten sonra yer ve yiyecek olmayan cisimleri de yemeye çalışabilir (iştah artışı).
3. Psişik körlük durumu oluşur. Yani görülen objelere anlam verilemez.
4. Hiperseksüalite gelişir. Cins, tür, canlı, cansız ayırımı gözetmeksizin, sıklıkla seksüel aktiviteye yönelir (Moss, 1981).

Bu hastalar yeni şeyleri hafızalarında tutamamakta yeni beceriler elde edememekteydiler. Şayet hipokampusun tek tarafı sağlam bırakılacak olursa, herhangi ciddi bir fizyolojik bozukluğun meydana gelmediği gözlenmiştir (Penfield, 1958).

Hipokampal lezyonlarda, hafıza kaybından başka durumlar da görülür. Yeni ezberlenen şeylerin pekiştirilmesi veya bunları ifade etme, hipokampusun fonksiyonuna bağlanmaktadır (Carpenter, 1983; Nolte 1988). Hipokampus ve girus dentatusun iki taraflı lezyonunun uzun süreli hafızayı etkilememesinin sebebi uzun süreli hafızanın tüm serebral kortekste yerleşik olmasındandır. Yakın hafıza kaybının derecesi lezyon alanıyla doğru orantılıdır. Temporal lobun ön bölgesindeki iki taraflı lezyonlar hafızaya zarar vermektedir. Parahipokampal girus, girus dentatus ve hipokampusu kapsayan lezyonlarda yakın hafıza etkilenmektedir.

Yaşlılığın sebep olduğu hafıza bozukluklarında, hipokampusta önemli miktarda hücre kaybı olduğu gözlenmiştir. Fakat hücre kaybından başka nedenlerle de hafıza kaybı görülebilir (Carpenter, 1983).

Maymunlarda yapılan deneysel çalışmalarda hipokampus ve amigdaloid'in iki taraflı çıkarılmasından sonra, duyma ve görmeye bağlı hafızanın bozulduğu gösterilmiştir. Hipokampustaki lezyonun genişlemesiyle hayvanlarda öğrenme daha zorlaşmıştır. Ayrıca dokunma uyarısının algılanmasında da bozulmalar görülmüştür (Moss, 1981).

Hipokampusun davranış olarak, çevrenin önemli özelliklerini ihtiva eden bir iç "kognitif harita" ya sahip olduğu hipotez olarak belirtilmiştir (O'keefe, 1978).

Literatürden çıkarılan sonuçlara göre, hafızaya alma ve öğrenme beynin birçok bölgesindeki nöron topluluklarını içine alan yaygın bir işlemle yapılmaktadır. Hafızayla ilgili problemlerin çözümü için yaygın nöronal şebekelerin özelliklerinin anlaşılması ve bu maksatla, yeni biyofizik ve biyokimyasal metodların uygulanması gerekir (Cooper, 1981).

Hipokampal formasyondan gelen ve aferentlerin çoğunu içeren fornixsin kesilmesi hafıza kaybı oluşturmada yetersiz kalmaktadır. İnsan veya maymunda her iki fornix kesildikten sonra da önemli bir hafıza kaybı görülmemiştir (Moss, 1981).

Hipokampus, özellikle LTP (Long Term Potentiation) ve seçici iskemi duyarlılığı gibi konularda, memelilerde oldukça dikkat çeken bir yapıdır. LTP, ilk kez hipokampusta ortaya çıkarılan ve özellikle glutamat kullanan sinapslarda gözlenen, uzun süreli bir sinaptik ilişki türüdür. Bu uzun süreli sinaptik deşarj, öğrenmenin temel modeli olarak oldukça geniş bir araştırma konusudur (Wieraszko, 1993).

Glutamat kullanan sinapslarla ilişkili olan iskemiye seçici duyarlılık da hipokampus için oldukça karakteristik bir durumdur. Özellikle memeli hipokampusunda bulunan CA1 piramidal hücre tabakasının, iskemiye takip eden reperfüzyon döneminde gecikmiş iskemik cevap sonucu seçici olarak hasara uğradığı bilinmektedir (Cizkova, 1996).

Yakın zamana kadar, yaşlanma sürecinde, hipokampus'taki hücre sayısının önemli ölçüde azalma gösterdiği ve bunun da yaşlılıkta görülen bunamaya sebep olabileceği düşünülmektedirken, yine son zamanlarda yapılan çalışmalar sonucu, yaşlanma ile hipokampus'taki hücre kaybı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulunmadığı anlaşılmıştır. Yalnızca, Alzheimer hastalığına yakalanmış insanların hipokampal CA1, CA2 ve CA3 alanlarına ait piramidal hücre sayısında bir azalma tesbit edilmiştir (Selkoe, 1993).

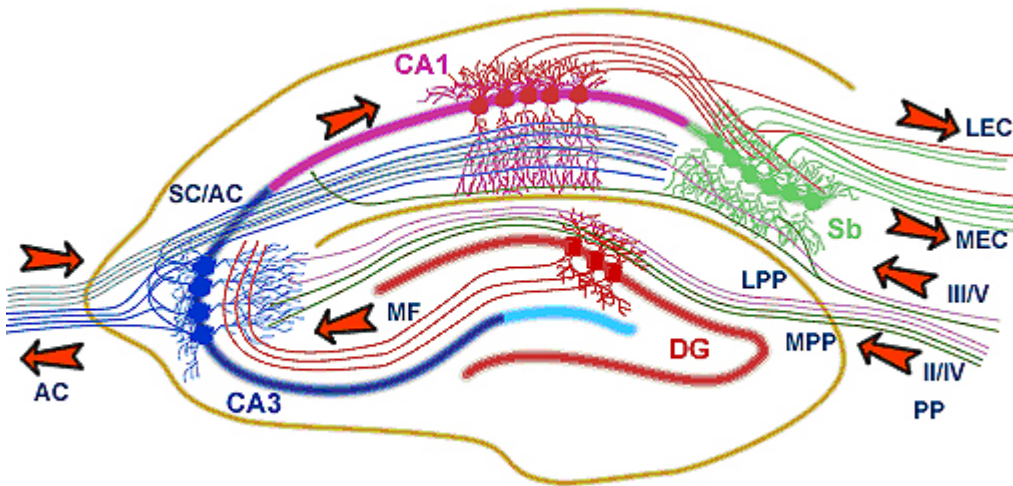
GABA'erjik inhibitör ara nöronların ölümü, inhibisyonda azalmaya sebep olur. İnhibisyondaki bu azalma, hipokampusun esas nöron topluluklarında, özellikle CA3 alanındaki piramidal ve dentat granül hücrelerinde patolojik hipereksitabiliteye yol açmaktadır (Serrano, 1997).

Sloviter yaptığı bir çalışmada, mevcut en kuvvetli fikrin aksini iddia ederek GABA immünoreaktif nöronlarının, hipokampustaki diğer nöronlara göre nöbetlerin sebep olduğu hücre ölümüne karşı daha dirençli olduklarını gösterdi (Sloviter, 1987). Hipokampusta nöbetlere bağlı olarak oluşan hücre ölümlerinin altında yatan moleküler mekanizmada, glutamat reseptör alt tipi NMDA ve intrasellüler haberleşme ile nöron ölümüne sebep olan eksitotoksik mekanizma en kuvvetli muhtemel mekanizma olmakla birlikte, yine de nöron ölümü tam olarak aydınlatılamamıştır. Nöbetler, çoğu hipokampal nöronda c-fos (hücrel onkojenik gen) gibi bir erken genin ekspresyonuna sebep olur ve c-fos tekrarlayan şiddetli nöbetlerle, ölmek üzere olan bazı hipokampal nöronlarda gecikmeli olarak uyarılır. Bu son görüş, gen ekspresyonunun nöron ölümüne katkıda bulunabileceğini ileri sürmektedir (Smeyne, 1993).

Araştırmacılar uzun ve kısa süreli hafıza ve öğrenmenin sinapslardaki morfolojik veya fonksiyonel değişikliklerle ilgili olabileceğini ileri sürmektedirler. Kısa süreli tekrarlayan uyarılarla forniks veya entorhinal alanın aferent aksonları stimüle edildiğinde hipokampus veya girus dentatusun granüler hücrelerinin cevabında artış görülmüştür (Bliss, 1973).

Hipokampusun şu fonksiyonlara da katıldığı kabul edilmektedir.

1. Heyecan uyandıran reaksiyonlar veya heyecanın kontrolü,
2. Serebral korteks üzerine retiküler aktivitenin tesirinin düzenlenmesi
3. İç organlara ait aktivitenin düzenlenmesi.



Şekil 2.2. Hipokampus

2.4. EPİLEPSİ

Epilepsi santral sinir sisteminde, kortikal veya subkortikal bölgelerde yer alan nöron gruplarının ani, anormal ve hipersenkron deşarjları sonucu ortaya çıkan ve genellikle tekrarlayıcı nitelikte olan bir klinik tablodur. Anormal deşarjların ortaya çıktığı veya yayıldığı nöronların somatik veya psişik fonksiyonları ile ilgili geçici bozukluklarla karakterizedir. Epilepsi oldukça sık görülen bir hastalık olup, genel popülasyonda görülme sıklığı % 5-10 arasındadır. Epileptik nöbet bir semptomdur ve birçok kişi belirli koşullar altında (hipoglisemi, hipoksi, entoksikasyonlar, elektrolit bozuklukları gibi) bir epileptik nöbet geçirebilir. Bu gibi koşullar altında nöbet geçiren hastaya epileptik hasta tanısı konulmamalıdır. Bu tip nöbetlere “duruma bağlı nöbet” denir. Ayrıca epilepsi dışında geçici bilinç kaybı veya bozukluğu ile giden değişik klinik tablolar olduğu unutulmamalıdır. Anormal epileptik deşarjın ortaya çıktığı nöronlar, yayıldığı anatomik yollar veya bölgeler nöbetin klinik görünümünü belirlerler. Klinik görünüm bazen bir fonksiyonun istemsiz olarak durması (absans nöbetlerinde olduğu gibi) veya bir fonksiyonun istemsiz olarak ortaya çıkması (fokal motor epilepside olduğu gibi) şeklinde olabilir. Epileptik deşarj kortekste ki veya subkortikal yapılarıdaki belli bir bölgede kalırsa buna fokal (lokal) deşarj, bu deşarj sonucu ortaya çıkan klinik tabloya da fokal (parsiyel) epilepsi denir. Epileptik deşarjlar bir bölgede sınırlı kalabileceği gibi transkortikal, transkallosal ve talamo-retiküler yollarla beynin değişik bölgelerine yayılabilirler (Ciğer,2002)

2.4.1 Epilepsinin Fizyopatolojisi

Epileptik nöbetlerin fizyopatolojisi her zaman tam olarak bilinmemektedir. Ayrıca tüm epilepsi nöbetlerinde aynı fizyopatoloji geçerli değildir. Epilepsi doğuran nöronlar için epileptik nöron veya epileptojenik fokus terimi kullanılmaktadır. Ultrastrüktürel çalışmalarda epileptik nöronların dendritik çıkıntılarında (spine) azalma olduğu (dendritik deafferentasyon), epileptojenik fokusta yeni sinapslar oluştuğu, astrositlerin artmasıyla gliosis oluştuğu gösterilmiştir. Epileptojenik odakta ki gliosisli hücreler, hücre dışı K^+ iyonlarını tamponlama kabiliyetleri

bozulduğundan, hücre dışında K^+ iyon artışına yol açarak, nöronların uyarılabilme eşiğinin düşmesine ve epilepsi nöbetlerinin oluşmasına yol açarlar. Ayrıca epileptojenik bölgelerde $Na^+-K^+/ATPaz$ aktivitesinin azalması nedeniyle de hücre dışı K^+ iyon konsantrasyonu artar. Bu şekilde nöronlar uyarılarak deşarjların oluşması ve yayılması kolaylaşır. Kısaca özetlemek gerekirse fizyopatolojide üç mekanizma önemlidir.

- Glia (özellikle astrositlerin) fonksiyonunun bozulması,
- Glutamat gibi eksitator amino asitlerde artma,
- Başta GABA olmak üzere inhibitör amino asitlerde azalma.

Bu mekanizmalar sonucunda nöronların membran potansiyelleri bozulmakta, bu nöronlar normalden daha kolay depolarize olmakta, bir başka deyişle nöronda deşarj ve eksitasyon eşiği düşmektedir. İnhibitör bir nörotransmitter olan GABA'nın azalması da epileptik nöronlar üzerindeki sinaptik inhibisyonun kalkmasına ve daha kolay eksite olmalarına yol açmaktadır (Ciğer, 2002).

2.4.2. Epilepsinin Etiyolojisi

Epilepsilerin önemli bir bölümünde mevcut tanı yöntemleriyle etyolojiyi bulmak mümkün olamamaktadır. Etiyolojik yönden epilepsiler üç grupta incelenebilir :

- **İdiyopatik epilepsiler** (Primer jeneralize epilepsiler): Kalıtsal yatkınlık dışında bir neden gösterilemeyen ve başka bir nörolojik hastalıkla korelasyonu olmayan epilepsilerdir. Çocukluk veya genç erişkinlik döneminde başlarlar. Bu türdeki hastaların nörolojik ve mental muayeneleri normaldir. Normal gelişim gösterirler. Bu gruptaki hastaların karakteristik EEG görünümleri vardır.
- **Kriptojenik epilepsiler**: Semptomatik oldukları kabul edilen, fakat etiyolojik nedeni ortaya konulamayan epilepsilerdir. Bu gruptaki hastalar, idiyopatik epilepsi kriterlerine uymazlar.

- **Semptomatik epilepsiler:** Belli bir serebral bozukluğa bağlı olan veya en azından onunla ilişkilendirilen epilepsi grubudur. Bu grubun etiolojisinde pek çok neden sıralanabilir :
 1. Konjenital bozukluklar: Girus anomalileri (makrogiri, mikrogiri, polimikrogiri), korpus kallosum agenezisi, heterotopi (kortikal disgenезis) başta olmak üzere değişik konjenital malformasyonlar bunlar arasındadır.
 2. Kafa travmaları: Doğum travmasından başlayarak, her yaşta geçirilen kafa travmaları, epilepsi etyolojisi yönünden önemlidir. Özellikle ağır kafa travmaları ve bunlara bağlı fraktürler, hematomlar, kommosyo ve kontüzyo serebri gibi durumlar,
 3. Enfeksiyonlar: İntrauterin enfeksiyonlar, her yaşta geçirilen menenjit ve ensefalitler, kronik ve ağır otitis media, mastoidit vs.
 4. Kitle lezyonları : Beynin primer ve metastatik tümörleri, abse ve kistler; bulundukları yere, türüne ve büyüklüğüne bağlı olarak epilepsiye neden olabilirler.
 5. Metabolik bozukluklar: Hipoglisemi, hiperglisemi, hipokalsemi, hiponatremi veya diğer elektrolit bozuklukları, kronik böbrek yetmezliği, hepatik ensefalopati.
 6. Toksik durumlar: Karbonmonoksit (CO), Kurşun (Pb), alkol, talyum ve çeşitli ilaç entoksikasyonları
 7. Vasküler lezyonlar: A-V malformasyonlar, anevrizmalar. Geç yaştaki epilepsilerde serebrovasküler hastalıklar (enfarktüs veya kanamalar)
 8. Dejeneratif ve demiyelinize hastalıklar: Özellikle çocukluk yaşındaki epilepsilerde önemlidir.
 9. Sistemik hastalıklar: Malign hipertansiyon, kollagen doku hastalıkları (özellikle SLE)
 10. SSS'de inhibisyon yapan maddelerin ani kesilmesi (alkol, morfin, hipnotik ilaçlar vs.)

11. Yüksek doz fenotiazinler, nöroleptikler, trisiklik antidepresanlar ve Seçici Serotonin Reuptake İnhibitörleri (SSRI) (Ciğer, 2002)

2.4.3. Epileptik Nöbetler ve Uluslararası (ILEA) Sınıflaması

Klinik nöbetler esas olarak parsiyel (fokal-lokal) ve jeneralize diye iki büyük sınıfa ayrılır. Klinik ve EEG bulgularına göre parsiyel nöbetler lokal bir beyin bölgesinden başlarlar. Bir hemisferin belli bir bölgesinden başlayan anormal deşarjlar, nöbet esnasında beynin diğer kısımlarına da yayılır. Diğer taraftan, jeneralize (genel) nöbetlere beynin bütün bölgelerinde aynı anda başlayan anormal nöron deşarjları sebep olmaktadır (Furtinger ve ark, 2001).

I. Parsiyel (Lokal, Fokal) Nöbetler :

1. Basit

- a. Motor
- b. Duyu
- c. Duyu-motor
- d. Otonomik-viseral
- e. Kognitif

2. Kompleks (psikomotor)

3. Sekonder jeneralize

II. Jeneralize Nöbetler (Konvülsif veya Nonkonvülsif)

- 1. Petit-mal (absans)
- 2. Grand-mal (tonik-klonik)

III. Miyoklonik Nöbetler

IV. Tonik Nöbetler

V. Klonik Nöbetler

VI. Atonik Nöbetler

VII. Sınıflandırılmayan Epileptik Nöbetler

2.4.4 Deneysel Epilepsi Modelleri

Epilepsi çalışmalarında kullanılan deneysel model çeşidi oldukça fazladır. Bunun birkaç önemli nedeni vardır: (I) Modeli oluşturacak klinik nöbetler çeşitlidir (II) Modellerin hiçbirisi klinik epilepsiyle tamamen aynı değildir (III) Çeşitli modellerden elde edilen sonuçların karşılaştırılarak test edilmesi gerekir (IV) Geliştirilen yeni metodlara ve yeni şartlara daha uygun yeni modeller oluşturulmaktadır (Löscher ve Schmidt, 1994).

İdeal bir epilepsi modeli aşağıdaki özelliklere sahip olmalıdır.

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

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

- Konvülsan kimyasal madde veya elektrik uyaralarıyla oluşturulan modeller
- Refleks epilepsi modelleri (ses ve ışık gibi uyarılarla başlatılan modellerdir)
- İdiopatik modeller

İnsandaki nöbetlerin oluşmasına göre deneysel epilepsi modellerinin sınıflandırılması ise aşağıdaki gibidir.

Basit Parsiyel (Akut)

- Topikal konvülsanlar (penisilin, bikukulin vb.)
- Akut elektriksel uyarı
- GABA-kesilmesi
- Neokorteks dilimleri

Basit Parsiyel (kronik)

- Kortekse metal verilmesi (Alüminyum hidroksit, kobalt, çinko, demir vb.)
- Kriyojenik hasar
- Gangliosit antikor verilmesi
- Sistemik fokal epileptogenez

Jeneralize tonik-klonik

- Genetik (Işığa duyarlı babunlarda ve farelerde sesle oluşturulan nöbetler, Paytak ve E1 fareler, sıçan, gerbil ve drozofila)
- Maksimal elektrik şoku
- Kimyasal elektrik şoku (Pentilentetrazol, penisilin vb.)
- Metabolik düzensizlik (hipoksi, hiperglisemi, hiperbarik oksijen, hiperkarbi, üremi, yüksek temperatur, ilaç kesilmesi)

Kompleks parsiyel

- Kainik asit, tetanoz toksini
- Fırtınalar (tutuşma; trigger) alanına injeksiyon
- Tutuşma
- Beyin dilimleri

Jeneralize absans

- Talamusun uyarılması
- Bilateral odak
- Sistemik penisilin
- Gama hidroksi bütirat
- I.V. opiat uygulanması

Status epileptikus

- Lityum-pilokarpin
- Kobalt-hemosistein
- Rekürrent uyarılma

Fokal Penisilin Modeli

Basit parsiyel nöbetlerle ilgili çalışmalarda topikal olarak en çok kullanılan konvülsan madde bir antibiyotik olan penisilin'dir. Penisilin sistemik olarak verildiğinde sistemik fokal epilepsi ile jeneralize (petit mal) epilepsi modelleri oluşmaktadır. Penisilinin konvülsan özelliği ilk kez Walker ve Johnson tarafından gözlemlendi (Walker ve Johnson, 1945). Sıçan, tavşan veya kedide açılan korteks yüzeyine 1.7- 3.4 mM penisilin ile ıslatılan küçük bir kurutma kağıdı parçası konursa akut fokal epilepsidekine benzer bir ECoG kaydedilir. Penisilinden 2-5 dakika sonra gelmeye başlayan deşarjlar insandaki interiktal dikenlere benzer (De Deyn ve ark 1992). EEG de akut penisilin odağından kaydedilen interiktal deşarjların tek hücre cevabındaki karşılığına paroksizmal depolarize şift (PDS) denir. Penisilin'in odağından alınan hücre içi kayıtlar PDS'lerin membran geçirgenliğinin aşırı ölçüde artışıyla ilgili olduklarını gösterdi (Matsumoto ve Ajmane, 1964; Schwartzkroin ve Wheal, 1984).

Topikal penisilin modeli, epilepsinin nasıl yayıldığını araştırma bakımından da uygun bir metottur. İşaretli penisilinle yapılan çalışmalar odağın birkaç mm² lik bir alanla sınırlı kaldığını göstermiştir (Noebels ve Pedley, 1977). Bu odağın çevresindeki nöronlar epileptiform aktivitenin yayılmasını engellemek için inhibitör aktivite gösterirler (Prince ve Wilder, 1967). Doku kültürüne (MacDonald ve Barker, 1977), anestezi hayvanda kortekse (Hill ve ark , 1973) ve hipokampus dilimlerine düşük doz penisilin verildiğinde, GABA tarafından oluşturulan postsinaptik inhibisyonun selektif olarak bloklandığı (Dingledine ve Gjerstad, 1980) yüksek dozda ise blokajın pek spesifik olmadığı tespit edilmiştir. Akut penisilin modeli hem ucuz hemde kolay oluşturulan bir modeldir. Yapılan bir çalışmada bu amaçla kedi,

tavşan ve sıçan’da kortekse uygulanan 300-500 IU kristalize penisilinle epileptiform aktivite oluşturuldu ve farklı kimyasal maddelerin epileptiform aktiviteye olan etkileri araştırıldı. Kedide pia altına 30 μ^3 lük hacimde verilen % 0.1’lik adrenalin solüsyonu aynı yolla verilen penisilinin oluşturduğu epileptik aktiviteyi 10-13 dakika; piramidal yolun repetitif uyarılmasını ise bir dakika süreyle iyice azalttı. Tavşanda intrakortikal (i.c.) yolla uygulanan 300 IU penisilinden 25 dakika sonra verilen etomidat (GABAmimetik genel anestezi bir ilaç) epileptiform aktiviteyi 10 dakika süreyle önemli ölçüde blokladı. Sıçanda i.c. 300 IU penisilinden sonra korteks içine verilen sodyum nitroprusit’in (5 μ l; 5 nM, i.c.) penisilinin oluşturduğu deşarjları 4-5 dakika süreyle önemli ölçüde baskıladığı görüldü (Marangoz , 1997).

Sistemik Penisilin Modeli

Yüksek doz sistemik penisilinle oluşturulan çok odaklı model en yaygın modellerden birisidir. Özellikle kedide sistemik penisilinle oluşturulan EEG modeli, klinik modele oldukça benzemektedir (Prince ve Farrel , 1969) . Ancak, farklı olarak klinik epilepsinin yıllar boyu tekrarlama özelliği vardır.

Kedide sistemik olarak verilen yüksek doz penisilin (200.000-400.000 IU/kg IM) 30-60 dakika jeneralize, bilateral, senkronize diken-dalga modelinin belirmesine yol açar ve bu epileptiform aktivite 3-5 saat devam eder. Bu model hem anestezi kedide akut olarak hem de elektrot yerleştirilmiş anestezi kedide kronik olarak meydana gelmiştir (Gloor , 1984). Kedide oluşturulan jeneralize penisilin modeli özellikle şu iki sorunun cevabını araştırmak bakımından çok önemlidir: (1) EEG de kaydedilen diken-dalga modelinin hücresel temeli nedir? (2). Diken-dalga aktivitesinin oluşumunda korteks ile korteks altı yapıların rolü nedir?

Penisilin'in Etki Şekli

Muhtemelen penisilin, GABA'nın etkisini bloklayarak epileptiform aktiviteye sebep olmaktadır. Penisilin in vitro olarak hipokampus dilimlerinde inhibitör postsinaptik potansiyelleri önler; asetilkolin'in uyarıcı etkisini ve presinaptik uçlardan asetilkolin salgısını artırır. Penisilin'in korteks dilimlerinden glutamat salgısını artırdığı da bildirilmiştir. Ayrıca, penisilin'in parasinaptik yollardan ve kalsiyum üzerinden de etki ederek börs aktivitesine yol açabileceği tespit edilmiştir. Anestezili kedide penisilin epilepsisi başlamadan önce ekstrasellüler kalsiyum seviyesinin arttığı bulunmuştur (Hokfelt, 1991). Bütün bunlara rağmen, kedi penisilin modelinde GABA ile iletilen inhibisyonunda önemli değişikliklerin olmadığını gösteren çalışmalar da vardır. İnsanda petit mal epilepsinin korteks altı yapılarından özellikle talamus ile beyin sapının retiküler formasyonundan kaynaklandığı ileri sürülmüştür (Yannielli ve Harrington, 2001). Kedigillerde oluşturulan model için aynı şeyleri söylemek güçtür. Çünkü, bu modelde diken ve dalgalar mediyal talamus veya retiküler formasyondan önce korteksten kaydedilmiştir. Kortekse yaygın olarak verilen penisilin, talamusa ulaşmadığı halde EEG de diken dalga modelinin belirmesini sağlar . O halde, bu modeldeki deşarjlar korteksten kaynaklanmakta, fakat talamus ile korteks arasındaki nöronal devreler tarafından kuvvetlendirilip sürdürülmektedir. Bu modelin antikonvülsanlara olan farmakolojik cevabı, klinik petit mal epilepsisindeki oldukça benzemektedir. Etosüksimid ile sodyum valproat hem deneysel hem de klinik epilepside etkili iken difenilhidantoin çok daha az etkilidir. Ayrıca, karotisler yoluyla verilen allobarbitol ve pentilentetrazol'ün kedide diken-dalga modeline olan etkisi, insandaki etkisine benzemektedir. Klinik absans epilepsi ile yüksek doz sistemik penisilin uygulanan kediden alınan EEG'lerin benzer yapıda oldukları gösterilmiştir (Gloor, 1984).

2.5. NÖROPEPTİD Y (NPY)

2.5.1. Nöropeptid Y'nin Tanımı

NPY, 1982 yılında beyin dokusunda yoğun olarak bulunan peptid olarak ilk defa domuz beyinde Tatamoto ve Mutt tarafından keşfedilmiştir (Tatamoto ve

ark.,1982). Nöropeptid Y'nin birçok fizyopatolojik durumlarla ilgili olduğu görülmüştür. İlk çalışmalar NPY'nin feokromasitoma için bir tümör faktörü olduğu ile ilgili idi. Aynı zamanda NPY' nin merkezi olarak enjekte edildiğinde uzun süreli bir vazokonstriktör olduğu ve yeme davranışına sebep olduğu gösterilmiştir. Daha sonraları ise NPY'nin peptid analogları ile yapılan farmakolojik deneylerde bu peptidin iki reseptörünün olduğu keşfedilmiştir. Sonradan ise NPY reseptörlerinin 5 tane olduğu anlaşıldı ve bu reseptörler birçok hastalığın fizyopatolojisinin araştırılmasında örneğin; yeme hastalıkları, metabolik hastalıklar, nöbet, anksiyete, hipertansiyon, konjestif kalp yetmezliği ve akciğer hastalıklarındaki çalışmalarda kolaylaştırıcı bir role sahip olduğu görülmüştür. Fakat biyosentezi, aksonal taşınımı, depolanması, ekstrasellüler inaktivasyonu farklıdır ve frekansa bağlıdır. Bunların salınımı 1-10 Hz arasında gerçekleşirken klasik nörotransmitterlerin ve peptidlerin salınımı için 5-40 Hz gereklidir.

Nöropeptid Y, 36 aminoasit'ten oluşan, pankreatik polipeptid ailesinin bir üyesidir. Memeli merkezi sinir sisteminde geniş bir alanda dağılım gösterir ve üretilir. GABAerjik internöronlarda ekspresse edilir ve depolanır. Sinir terminallerinin merkezi kısımlarında büyük yoğunlukta bulunur (Hokfelt, 1991). NPY bir çok farklı nörotransmitterle birlikte bulunur. Nöronal eksitabilitede kritik inhibitör düzenleyicidir. Beyin ve vücudun farklı yerlerinde bulunan salgı hücrelerindeki nöronlar tarafından üretilir ve beyinde çok sayıda fizyolojik olaya katılır. Örneğin; enerji dengesinin düzenlenmesinde, hafıza, öğrenme ve epilepsi de rolü vardır. Ayrıca, uyku-uyanıklık siklusunun düzenlenmesi, günlük sirkadiyen ritm (Yannielli ve Harrington, 2001), kan basıncının düzenlenmesi (Hu ve Dunbar, 1997) ve beslenme gibi birçok fizyolojik fonksiyon için gereklidir. NPY anksiyete, yeme bozuklukları, Huntington hastalığı, Alzheimer, Parkinson, epilepsi ve çeşitli nöbetlerin patogeneze karışır (Chen ve Cheung, 2005). Basit NPY nöronları kolinerjik kortikopedal nöronlar tarafından innerve edilir (Toth ve ark., 2005). NPY içeren terminaller kolinerjik nöronlarla simetrik sinapslar yaparlar ve inhibisyon yapıyormuş gibi varsayılabilirler (Toth ve ark., 2005). NPY'nin 5 adet G proteine bağlı reseptörü bulunur. Bu reseptörler adenilat siklazı inhibe ederler ve intrasellüler kalsiyum seviyesini düzenlerler. NPY ve NOS nöronlarda ve endotel hücrelerinde birbirini etkilerler. Somatostatin, NPY, nNOS ve indirgenmiş NADPH strial

internöronlarda birlikte bulunur (Chen ve Cheung, 2005). NPY elektriksel olarak stimüle edilmiş noradrenalin salınımını rat hipotalamusunda NO üretimini artırmak yoluyla inhibe eder (Chen ve Cheung, 2005). NPY birçok hipotalamik nöropeptidin sekresyonunu modüle eder, kortikotropik aksı stimüle eder ve gonadotropik ve somatotropik aks üzerinde inhibe edici bir etkisi vardır. Mood (ruhsal) hastalıklarının fizyopatolojisinde önemli rolü vardır.

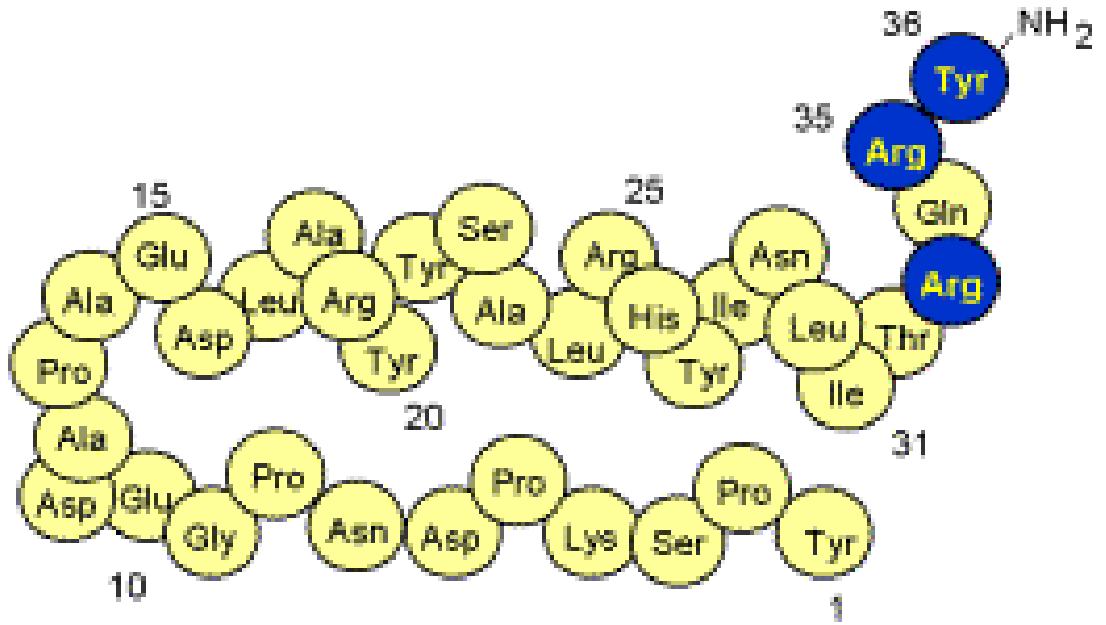
2.5.2. Nöropeptid Y'nin Yapısı ve Biyosentezi

NPY 36 amino asitten oluşan bir peptiddir ve ilk defa domuz beynin'den izole edilerek keşfedilmiştir (Tatemoto ve ark., 1982). NPY ailesinin diğer peptidleri gibi peptid YY (PPY), Pankreatik Polipeptid (PP) ve NPY üç boyutlu (three-dimensional) yapıya sahiptir. Bu yapı X-ray kristalografi yöntemiyle belirlenmiş kuşlardaki PP' in yapısı ile bilgisayar modelleme çalışmaları karşılaştırılarak PP'nin yapısı belirlenmiştir ve PP katlanması olarak adlandırılmıştır. Bu 3 boyutlu yapı saç tokasına benzer yapı gösterir buda tip 2 beta dönüşü ile poliprolin benzeri tip 2 heliks ve (1 den 9 a kadar olan parça) amphiphilic (amfifil) α -heliks (14 den 30 a kadar olan parça) karakterize edilmiştir. Böylece peptidlerin N- ve C-terminal sonlarının yaklaşmasına öncülük eder (Blundel ve ark., 1981; Cerda ve Larhammar,2000).

İnsanda NPY geni 7. kromozomun 7p15.1. lokusunda bulunur. 4 ekzondan oluşur. İlk kodlama çevrilmemiş bölümdür (5'-UTR). İkinci kodlanan ekzon sinyal peptidi ve olgunlaşmış NPY dizininin ana bölümüdür. Üçüncü ekzon tirozin NPY'nin tirozin³⁶, Glisin³⁷amid donor kısmı, dibazik K³⁸-R³⁹ kısmını ayırmak için prohormon dönüştürücü (PC) kullanılır ve NPY'nin C-terminal peptidinin (CPON) ana parçasını içerir. Dördüncü ekzon kodlaması ise CPON'nin sonunu ve 3'-UTR'dir.

NPY, sıçan beyninde paraventriküler nükleus ve arkuat nükleusta yüksek miktarda bulunan bir ajandır. Fosfolipaz C γ , brain-derived neurotrophic faktör (BDNF) tarafından NPY ekspirasyonunun yerine getirilmesine aracılık eder (Williams ve ark.,1998). NPY mRNA ekspirasyonu ayrıca glukokortikoidler (örneğin deksametazon) tarafından da up-regüle olur (Higuchi ve ark., 1988).

Prepro-NPY signal peptidinin ayrılmasıyla direk translasyondan sonra endoplazmik retikulumda oluşturulur. Daha sonraki aşama ise, dibazik kısımda prohormon konvertaz enzimi tarafından prekürsör pro-NPY'nin ayrılmasıyla NPY₁₋₃₉ ve CPON'nun oluşturulmasıdır. C-terminal sonunda iki uzaktaki sıralının kesimi karboksipeptidaz ve peptidilglisin α -amidating monoksijenaz enzimleri tarafından gerçekleştirilir ve sırasıyla biyolojik olarak aktif olan amidlenmiş NPY oluşur. Amid parçası NPY'nin aktivitesi için esastır ve karboksipeptidaz enzimi ile bozulmaya karşı korunur. Olgunlaşmış NPY daha sonra iki enzim tarafından işleme tabi tutulur. Bu enzimler dipeptidil peptidaz-IV ve aminopeptidaz P. Bu enzimlerin işlemlerinden sonra NPY₃₋₃₆ ve NPY₂₋₃₆ sırasıyla oluşturulur.



Şekil 2.3. NPY 'nin kimyasal yapısı

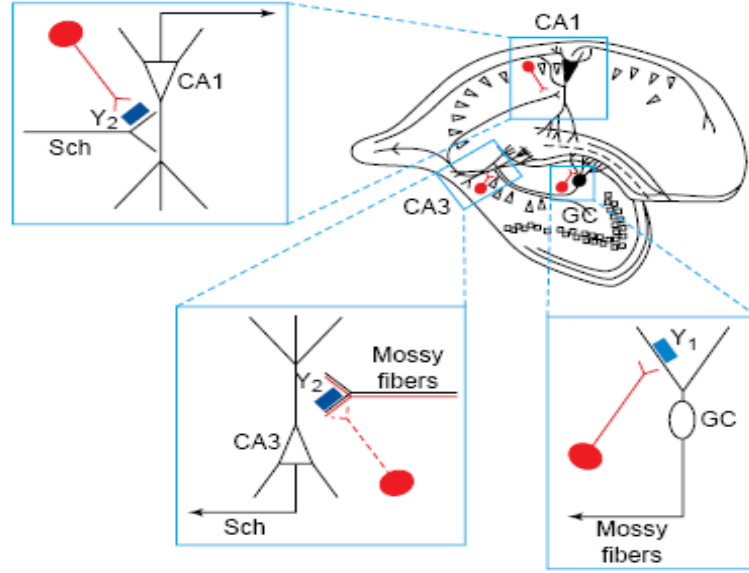
2.5.3. NPY'nin Lokalizasyonu

NPY memeli beyinin her yerinde aynı anda bulunabilen bir nöropeptittir (Balasubramaniam, 1997). Merkezi sinir sisteminde NPY'nin en zengin kaynağı hipotalamustur. Kısmi olarak ise paraventriküler nükleus, arkuate nükleus, suprakiazmatik nükleus, median eminens ve dorsomedial nükleusta bulunur (Gayle ve ark., 1997; Gritti ve ark 1997; Colmers ve Bahh, 2003). Serebral kortekste de

yüksek seviyede tespit edilmiştir (Detari ve ark1999; Smialowska ve ark., 1996). NPY bazal önbeyin'de (BF) de bulunur ve bu alanda kortikal aktivasyonun düzenlenmesinde önemli role sahiptir (Zaborszky ve Duque, 2003). BF kolinerjik ve non-kolinerjik heterojen nöron popülasyonunu içerir. Kortikopedal nöronlar çok çeşitli internöronların tipleri gibi farklı peptidler içerir (Zaborszky ve Duque, 2000). Beyinde bulunan NPY norepinefrin, GABA ve somatostatinle birlikte agouti-related protein içeren nöronlarda bulunur (Kask ve ark; 2001). NPY, önbeyin nöronlarında, GABA ile birlikte bulunur (Aoki ve Pickel, 1989). Basit NPY nöronları birkaç kolinerjik kortikopedal nöronlarda innerve edilir (Tamiya ve ark., 1991; Zaborsky ve Duque, 2000). Anestezili ratlarda, Bazal ön beyin (BF) nöronlarının alt popülasyonu olan S hücreleri (slow –wave –active hücreler) NPY içerirler (Detari ve ark., 1999). Bu nöronların kortikal kolinerjik nöronları inhibe ettiği ileri sürülmüştür (Duque ve ark, 2000). NPY pozitif S-hücreleri GABA ile kolokalizedir. S nöronlarının aktivasyonu ile salınan madeller sadece nöropeptidlerdir (Duque ve ark, 2000). Anatomik verilere göre NPY kolinerjik hücrelerle iletişim içindedir ve bu innervasyonun kaynağı bilinmemektedir. Fakat kısmi olarak lokal nöronlardan köken alır (Zaborsky ve Duque, 2000). Lokal NPY içeren hücreler kapsamlı akson kolaterallerine sahiptir. Bazıları da kolinerjik nöronlarla innerve edilirler (Duque ve ark, 2000). NPY nöronlarının kortikopedal GABA-erjik BF hücrelerini innerve ettiği hakkında herhangi bir veri yoktur. Hipokampal oluşumlarda, NPY sinir hücre gövdesi ve terminallerinde bulunur (Stroud ve ark., 2005) ve bu yapılarda NPY reseptörleri yüksek yoğunluktadır (Arabaolizisz ve ark., 2005)

Periferde ise NPY sempatik sinir sisteminde yoğun olarak bulunur ve norepinefrin (NE) ile birlikte salınır ve depo edilir. Ayrıca parasempatik nöronların alt popülasyonlarında da ekspresse edilir. Periferde adrenal medulla NPY kaynağıdır (Cavadas ve ark., 2001). Yapılan bir çalışmada deksametazonla tedavi edilen sıçanların pankreaslarının endokrin kısmında NPY ekspresse edildiği gösterilmiştir (Myersen ve ark., 1995). Sinir hücresi dışındaki diğer hücrelerde NPY ekspresse edilmektedir. Örneğin; sıçanlarda megakaryositlerde NPY geninin ekspresse edilmekte olduğu görülmüştür (Ericson ve ark., 1987). NPY ayrıca birçok organdaki nonsinaptik nöronlarda bulunur örneğin; gastrointestinal tractusda, tükrük bezinde,

tiroid bezinde, pankreasta, ürogenital sistemde, hava yollarında, kalpte, dalakta, kan damarlarının endotel hücrelerinde ve karaciğerde bulunur (Strand, 1999).



Şekil 2.4. Hipokampusun coronal kesiti. Kırmızı olanlar NPY içeren internöronlar, açık mavi olan Y1, koyu mavi olan Y2 reseptörleri. Görünen 3 tane açık mavi kutu CA1, CA3 ve granül hücre alanlarını göstermektedir. CA1 alanında NPY pozitif internöronlar görülmekte. Stratum oriensten aksonları çıkmakta ve Schaffer kolaterallerinde (Sch) sinaps yapmakta. CA3 alanında ise granül hücrelerinin aksonları (mossy fibers) piramidal hücre dentritleri ile sinaps yaparlar. Koyu kırmızı çizgiler nöbetin sebep olduğu ektopik NPY ekspirasyonunu göstermekte. Glutaminerjik mossy fiberlerde siyah çizgi ile gösterilmiştir (Schwarzer ve ark., 1995). NPY pozitif internöronları mossy fiber terminallerinde kesikli kırmızı çizgi ile gösterilmiştir.

2.5.4. NPY Reseptörleri ve Farmakolojik Sınıflandırılması

NPY'nin 6 tane reseptörü bulunmaktadır: Y1, Y2, Y3, Y4, Y5 ve Y6. Fakat bunlardan 5 tanesi klonlanmıştır (Wan ve Lau, 1995). NPY biyolojik fonksiyonları için G-proteinleri ile eşlenen reseptörleri kullanır. Bu reseptörler fizyolojik işlevleri yürütür. NPY reseptörlerinden ilk keşfedilen Y1 reseptörüdür ve post-sinaptik reseptör özelliğindedir. Y2 reseptörü pre-sinaptik reseptör özelliğine sahiptir. Y3 ise NPY tarafından tercih edilen bir reseptördür. Y4 reseptörü ilk bulunduğu PP

reseptörü olarak biliniyordu, fakat daha sonraları NPY reseptörü olduğu anlaşıldı. Y5 reseptörü yeme davranışı ile ilgili olan reseptördür. Y6 reseptörü ise klonlanmıştır, fakat insanlarda fonksiyonel değildir (Michel ve ark., 1998). Y3 reseptörü dışındaki bütün reseptörler klonlanmıştır.

Rat merkezi sinir sisteminde Y1 ve Y2 reseptörleri baskın olarak Y4 ve Y5 reseptörlerinden fazladır (Michel ve ark., 1998; Lundel ve ark., 1995). [Leu³¹,Pro³⁴]-NPY selektif Y1 reseptör agonistidir. [Leu³¹,Pro³⁴]-NPY non-Y2 agonistidir. Buna zıt olarak BIBP3226 (N2-(diphenylacetyl)-n-[(4-hydroxyphenyl) methyl]-D- arjinin amide) selektif ve spesifik Y1 reseptör antagonistidir (Michel ve ark., 1998; Shaw ve ark., 2003).

NPY3-36 selektif Y2 reseptör agonistidir, bazı aktiviterde Y5 reseptörlerine de etki ederken Y1 reseptörleri üzerinde hiç bir etkiye sahip değildir (Michel ve ark., 1998; Shaw ve ark., 2003). Şimdiki çalışmalarda NPY'nin iskemi fizyopatolojisinde role sahip olduğu ileri sürülmüştür. Eksitotoksik yaralanmalardan sonra NPY'nin para-lezyonel korteks etrafında arttığı gözlenmiştir (Cheung ve Cechetto, 1995).

Y1 reseptörü (Y1R),Y2 reseptörü ve Y5 reseptörü seçici olarak NPY ve PYY ye bağlanır, fakat PP ye ise Y4 reseptörü ile seçici olarak bağlanır (Lundell ve ark., 1995; Rose ve ark., 1995; Gerald ve ark., 1996; Weinberg ve ark., 1996).Y6 reseptörü birçok memelide bulunur fakat sadece fare ve tavşanda fonksiyoneldir (Starback ve ark., 2000).

Tablo 2.1. NPY reseptörleri ve fizyolojik roller

Fizyolojik Rolü	Reseptörler
Kan basıncının düzenlenmesi	Y1,Y2
Besin alımı	Y1,Y2,Y4,Y5
Nöbet düzenlenmesi	Y1,Y2,Y5
Anksiyete	Y1,Y2,Y5
Kemik oluşumunun hipotalamik düzenlenmesi	Y2
LH sekresyonu	Y1
Ağrı duyarlılığı	Y1,Y2
Depresyon	Y1,Y2
GI motilitesinin düzenlenmesi	Y2,Y4
Anjiyogenez	Y1,Y2
Etanol tüketimi	Y1

Tablo2.2. NPY reseptörlerinin agonistleri ve antagonistleri

Reseptör	Karakteristik	Karakteristik
	Agonist	Antagonist
Y1	[D-Arg ²⁵]NPY [D-His ²⁶]NPY Des AA ¹¹⁻¹⁸ [Cys ^{7,21} ,D-Lys ⁹ (Ac) D-His ²⁶ ,Pro ³⁴]NPY	1229U91 BIBP3226 LY366258 SR120819A
Y2	C2-NPY cyclo S-S[Cys ²⁰ ,Cys ³⁴]pNPY	BIIE0246
Y4	1229U91	N/A
Y5	D-[Trp ³⁴]NPY [Ala ³¹ ,Aib ³²]NPY [Cpp ¹⁻⁷ ,NPY ¹⁹⁻²³ ,Ala ³¹ Aib ³² ,Gln ³⁴]Hpp [Hpp ¹⁻¹⁷ ,Ala ³¹ ,Aib ³²]Hnpy	CGP71683A Novartis I L152,804

Y1 Reseptörü

İlk rapor edilen NPY reseptör kolonudur ve “orphan” reseptördür. İnsan, fare (Hokfelt, 1991; Yannielli ve Harrington, 2001), kobay, domuz, köpek ve maymundan Y1 reseptör cDNA’sı izole edilmiştir. Sıçan beyinde Y1 reseptörünün mRNA’sı ile Y1 reseptör proteini birbirine çok yakındır. Serebral kortekste, talamusta, beyin sapında yoğun olarak rastlanır.

N- terminalinden peptid ayrıldığında NPY, Y1 reseptörüne bağlanır ve büyük oranda bozular. Gerçekten NPY’nin kesilmesiyle NPY₂₋₃₂, NPY₂₋₃₂-NPY₁₃₋₃₆ molekülleri oluşur sonuç olarak da biyolojik aktivite ve affinite kaybedilir (Krause ve ark., 1992). C-terminali sonundaki peptidler modifiye olur (yani [Pro³⁴]NPY, [Leu³¹, Pro³⁴]NPY) ve tekrardan Y1 reseptör üzerinde tam aktivite sağlanır (Krause ve ark., 1992). Fakat Y2 reseptörü için afinite kaybı olur (Rose ve ark., 1995). Bu fikirle N-

terminali kısımdaki peptidlerin ve bunların bağlanma alanları ve aktiviteleri Y1 reseptörü üzerinde tanımlanır.

Son yıllarda [Phe²⁷,Pro³⁴]NPY gibi yüksek seçiciliğe sahip Y1 agonistleri sentezlenmiştir. Bunlar nanomolar aralığın üzerinde sabit bir afinite gösterir (Soll ve ark., 2001). Y1 reseptörünün bir çok peptid antagonisti temel olarak N-terminalinden kesilen analog GW1229' dur. Ayrıca GR231118 yada 12229U91 olarak da adlandırılır ki NPY Y1 reseptörü için pikomolar aralıklarda afiniteye sahiptir (Daniels ve ark., 1995). Bununla birlikte Y1'in antagonistlerinin potansiyel olarak Y4 reseptör agonisti olduğu bulunmuştur (Schober ve ark., 1998). Y1 reseptörleri için nonpeptid antagonistler de sentezlenmiştir. Örneğin BIBP3226 (Rudolf ve ark., 1994) ve SR120819A (oral olarak alınan aktif antagonisttir) (Serradeil ve ark., 1995). Bunlardan başka iki tane daha etkili antagonist geliştirilmiştir. Birincisi, BIBP3226'nin analogu BIB03304 (Murakami ve ark., 1999) ikincisi ise LY357897 trisubstituted indol dür (Hipskind ve ark., 1997). 1,3-olisubstituted benzodiazepine ise yeni karakterize edilmiş güçlü seçiciliğe sahip Y1 antagonistidir (Murakami ve ark., 1999). Y1 reseptörü bir de J-115814 tarafından bloke edilir. H394/84 antagonisti dihidropiridin benzeri madde yardımı ile Kanatani ve ark. tarafından 2001 yılında geliştirildi (Malmstrom., 2001).

Y1 reseptörü temel olarak kan damarlarında, merkezi sinir sisteminde (ön talamus, serebral korteks, medial genikulate) ve amigdala'da bulunur. Reseptör otoradyografi yöntemi kullanılarak da Y1R bağlama kısmı serebral korteks, olfaktor nükleus, dentate girus, talamus, septum, serebellum ve paraventriküler (PVN) ve dorsomedial hipotalamik nükleuslarda belirlenmiştir (Dumont ve ark., 1998). Y1R mRNA'nın büyük miktarı pozitif nöronlarında, kısmi olarak ta talamusta, limbik sistemde (hipokampus, amigdala ve stria terminallisin bed nükleusunda) ve hipotalamusta (medial preoptik alanda, PVN, dorsamedial, ventromedial ve arkuat (ARC), nükleuslarında bulunduğu rat ve farede spesifik cDNA kullanılarak ve in situ hibridizasyon teknikleriyle belirlenmiştir (Kishi ve ark., 2005). Y1R temel olarak postsinaptik olarak lokalizedir (Caberloto ve ark., 2000). Y1R varlığında nükleus accumbens nöronlarında, medial amigdalada (MeA) ve rat hipokampusundaki NPY-IR si tanımlanarak Y1R'nin ayrıca presinaptik reseptör olarak etki ettiği ileri sürülmüştür (St-Pierre ve ark., 1998, 2000).

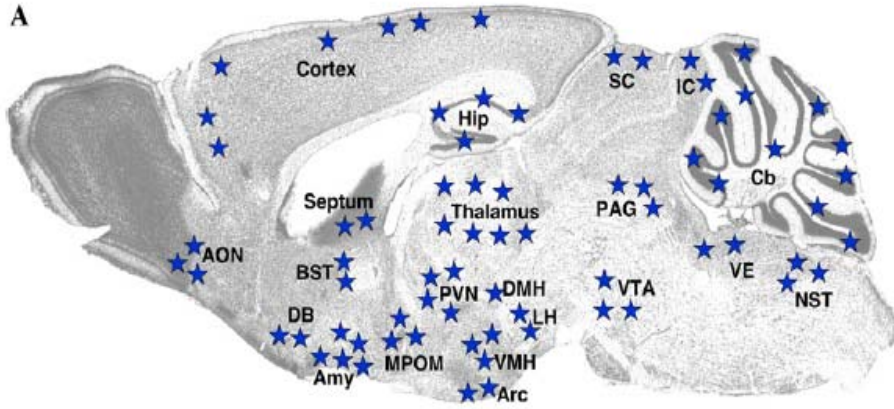
Y1, dentat girusun granül hücre ve dentritlerinde bol miktarda bulunur (Dumont ve ark., 1993). Y1 reseptörlerinin mRNA sı granül hücrelerinde yoğun miktarda bulunurken piramidal hücrelerde ise düşük miktardadır (Gobbi ve ark., 1998). NPY Y1 reseptörü nöroblastoma hücre hattında da dengeli şekilde eksprese edilir. Schwartz ve arkadaşları bir çok hücre hattında Y1'in bulunduğunu monoiodine NPY kullanarak tanımlanmışlardır. Bu hücre hatları SK-N-MC, PC-12, MC-1XC. Bunların geliştirdiği [Leu³¹,Pro³⁴]NPY Y1 reseptörlerine selektif olarak bağlanır (Fuhlendorff ve ark., 1990). Bu buluşlar daha sonra Wahlestedt ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir.(Wahlestedt ve ark., 1990; Wahlestedt ve ark., 1992).

Motulsky ve Michael,(1988) NPY reseptörlerinin insan eritrolösemik hücrelerinde (HEL) intrasellüler [Ca⁺²] gibi pertussis toksinine duyarlı G-protein aracılığı ile cAMP ile eşlendiğini göstermişlerdir. Daniels ve arkadaşları (1995) ise HEL hücrelerinde NPY reseptörlerinden Y1 alttipinin bulunduğunu göstermişlerdir. Bu hücreler içinde IP3-duyarlı kalsiyum havuzundan [Ca⁺²] salınımını NPY ile sağladığını göstermişlerdir.

Memelilerde ve diğer canlılarda Y1R, transmembran bölgesinde gösterilmişir ve yüksek homolojiye sahiptir. Filogenetik olarak da yüksek oranda korunmuştur (Larhammar ve Salaneck, 2004). Y1R bağlandığında adenilat siklazı inhibe eder. Pertussis toksinine duyarlı GTP bağlama proteini Gi/Go'nun aktivasyonu ile ve intrasellüler depodan Ca⁺²'un mobilizasyonunu sağlar (Herzog ve ark., 1992). Ayrıca Y1R, ekstrasellüler regüle edici kinazın (ERK) fosforilasyonu yoluyla mitojen aktive edici protein kinaz (MAPK) yolunu inhibe eder. Bu etkilerin PI3-kinaza bağlı olduğu gösterilmiştir (Nie ve Selbie, 1998; Monnon ve Mele, 2000).

Y1R'nin fizyolojik önemi selektif agonistleri ve antagonistlerinin kullanılmasıyla farmakolojik çalışmalarda ilk olarak keşfedilmiştir ve bu reseptör için selektif agonistleri ve antagonistlerinin yüksek bağlanma kapasitesine sahip olması gerekmektedir. Beyinde, Y1R NPY'nin etkisine aracılık eder. Bunlar anksiyolitik etki ve stres cevaplarında (Sajdyk ve ark, 2004), Etanol içme davranışı üzerinde (Sparta ve ark., 2004), besin alımının stimülasyonunda (Kask ve ark., 1998; Kanatoni ve ark., 2000) ve nöroendokrin alksionların aktivasyonunda (Klara ve ark., 1992), vazokonstriksiyon (Wahlestedt ve Hakanson., 1986; Wahlestedt ve ark.,

1993) üzerinde olan etkileridir. Y1R'nin nöbete sebep olduğunu gösteren farklı kanıtlar vardır (Gariboldi ve ark., 1998; Vezzani ve ark., 2000, 2002)



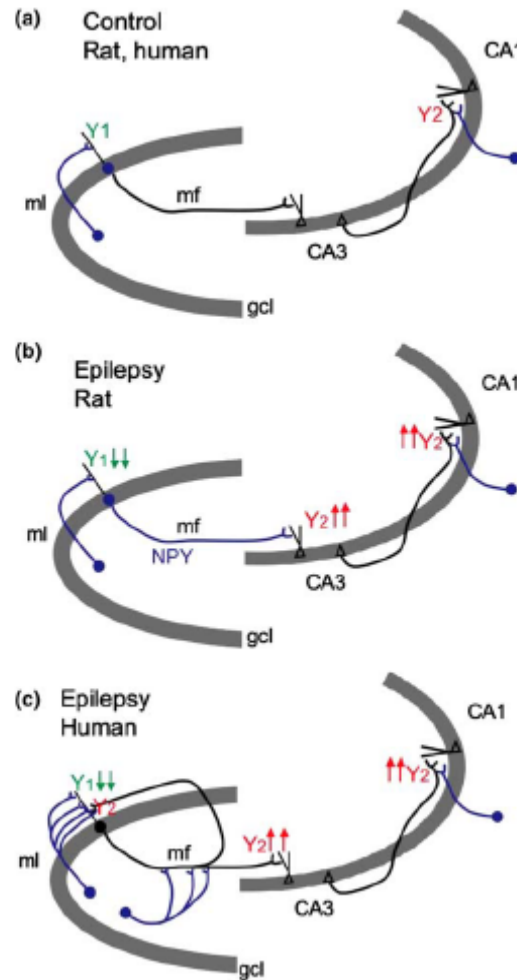
Şekil 2.5. NPY Y1 reseptör dağılımı (mavi yıldızlar reseptörleri göstermekte) (Eva ve ark., 2006)

Y2 Reseptörü

Y1 reseptörüne zıt olarak N-terminal kısmına bağlanmak istemez, fakat bağlandığı zaman ise daha güçlü etkilere sahiptir ki bir çok parça oluşur (yani NPY₂₋₃₆, NPY₃₋₃₆, NPY₁₃₋₃₆, NPY₁₈₋₃₆ ve NPY₂₂₋₃₆). Diğer taraftan C-terminal kısmındaki peptidler çok önemlidir. [Pro³⁴]NPY Y2 reseptörü için Y1 reseptöründen daha az afiniteye sahiptir. NPY nin döngüsel analogu tam bir analog özelliği gösterir ki bu Ac-[Lys₂₈,Glu₃₂]-[25-36]-NPY'dir (Rist ve ark., 1996). Diğer güçlü agonist Y2 reseptörü için TASP-V dir (Malis ve ark., 1999). Bir molekülü iki C-terminal fragmanından oluşur ve NPY₂₁₋₃₆ ile döngüsel bir kalıp oluşturur (Grounzmann ve ark., 1997). Y2 reseptörünün nonpeptiderjik reseptör antagonisti dizayn edilmiştir: BIIE0246 çıkarıldı. Bu antagonist rat vas deferensinde bulunmuştur ve bu madde Y2 reseptörü ile NPY'yi antagonize eder (Doods ve ark., 1999). Y2 reseptörü Y1'le tamamen zıttır ve temelde pre-sinaptik reseptördür. Nörotransmitter salınımının inhibisyonunu içerir (Michel ve ark., 1998). Bu reseptör, merkezi ve periferik sinir sisteminde, bağırsaklarda ve kan damarlarında ekspresse edilir (Rose ve ark., 1995). Hippokampusta Y2 reseptörü temel olarak stratum oriens ile CA1 ve CA3'ün radiatumunda bulunur (Dumont ve ark., 1993) ve sinaptik terminallerin sırasıyla

Schaffer kollateralinde ve mossy fiberlerinde bulunur (Colmers ve Bleakman, 1994; Qian ve ark, 1997). Y2 reseptör mRNA'sı CA3 piramidal hücrelerinde ve granül hücrelerinde bulunur (Schwarzer ve ark., 1998; Gustafson ve ark.,1997). Y2 reseptörü insan astrositoma hücre hattında 1N319' de ekspresse edilmektedir. Schwartz ve ark. (1990) çok sayıdaki nöroblastoma hücre hattında monoiyodize NPY kullanılarak tanımlanmıştır.

Bir çok hücre hattında Y2 reseptörü bulunmuştur. Bu hücre hatları SMS-MSN, SMS-KAN, CHP-234'de bulunur. Buna benzer olarak Y2 reseptör SMS-KAN (Shigeri ve ark.,1994), CHP-234 (Lynch ve ark 1994; Shigeri ve ark.,1994) ve rat dorsal kök gangliyonunda kalsiyum (bağlandığı) gösterilmiştir.



Şekil 2.6. Epileptik dokudaki Y2 reseptör değişimi.

Y3 Reseptörü

PYY ye karşı NPY'den on kat daha az affiniteye sahip Y3 reseptörü karakterize edilmiştir (Michel ve ark.,1998). Bu reseptör alt tipi insan adrenal medullasında, nükleus traktus solitarusunda, sıçan kardiyak membranında, öküz kromaffin hücrelerinde bulunur (Lee ve Miller.,1998). NPY'nin sebep olduğu katekolaminlerin sekresyonuna aracılık eder (Cavadas ve ark.,2001) .

Xiong ve Brown (1993) kardiyak miyositlerde pertussis toksinine duyarsız mekanizma ile NPY'nin IP3 ile bağlanmasının ters ilişkili olduğunu göstermişlerdir ve NPY ile PYY, [Leu³¹,Pro³⁴]NPY ve NPY₍₁₃₋₃₆₎'nın etkileri de benzerdir. NPY'nin nükleus traktus solitarusa (NIS) enjeksiyonu hipotansiyona ve bradikardiye sebep olur (Barraco ve ark.,1990). Bu etki [Pro34]NPY ve NPY₁₃₋₃₆ ile taklit edilir fakat PYY'nin böyle bir etksi yoktur (Barraco ve ark.,1990). Rat NTS'sindeki NPY reseptörleri Y3 reseptörleri olarak sınıflandırılır. Benzer olarak, NPY, [Pro34]NPY ve NPY₁₃₋₃₆ öküz kromafin hücrelerine bağlanırken PYY ve 125I-NPY bu hücrelere bağlanmıştır ve bu hücrelerdeki NPY reseptörleri Y3 alt tipinin üyesidir (Wahletesdt ve ark.,1992). Hexum ve ark. (1992) hem PYY hemde NPY'nin eşit etkiye sahip olduğunu bildirdiler. Her ikisi de Y3 alt birimlerine bağlanarak cAMP'yi inhibe eder. Y3 reseptörleri kalpte, NTS ve kromafin hücrelerde pertussis toksine duyarlı G-protein aracılığı ile adenilat siklazla bağlanmış olduğu gösterilmiştir (Harfstrand ve ark.,1987).

Y4 Reseptörü

Y4 reseptörü, çeşitli boyutlulardaki memeli NPY ailesinin üç üyesine bağlanır. İnsandaki Y4 reseptörünün en iyi afinitesi PP ye karşıdır (Michel ve ark.,1998)). PYY ile düşük affiniteye sahiptir ve son olarak NPY insan Y4 reseptörüne bağlanmaz (Lundell ve ark.,1995). Hem PYY hemde NPY rodent Y4 reseptörü için çok seçicidir, fakat PP ile karşılaştırıldığında düşük affiniteye sahiptir. PP'ye karşı yüksek affiniteye sahiptir (Lundell et al ., 1995). Y1 antagonisti olan GW1229, güçlü bir Y4 agonistidir. Y4 reseptörü bütün vücutta geniş bir dağılıma sahiptir hem beyinde hemde periferde bulunur. Örneğin hipotalamus, hipokampus, çizgili kas, tiroid bezi, kalp, prostat, mide, ince bağırsak, kolon, pankreas , adrenal

medulla, korteks ve nazal mukoza (Lundell ve ark 1995; Michel ve ark.,1998),merkezi sinir sisteminde, serebellumda, medulla ve spiral kordda da bulunur (Cerde ve Larhammar.,2000). PP (panreatik polipeptid), pankreasın ekzokrin sekresyonunu inhibe eder (Schwartz ve ark.,1983) ve safra kesesinin gevşemesini sağlar (Ledeboer ve ark.,1997) ve LH sekresyonunu stimule eder (Jain ve ark.,1999). Bu dağılımdan dolayı Y4 reseptörü PP için tanımlanan etkileri kapsayabileceği düşünülmektedir. Y4 reseptörü Y4-CHO klon 29 hücre hattında ekspresse edilir (Voisin ve ark.,2000).

Y5 Reseptörü

Y5 reseptörü, Y4 reseptör agonisti olan [Leu³¹, Pro³⁴]NPY, Y2 reseptör agonisti olan NPY₂₋₃₆ ve NPY₃₋₃₆ ve PP ile bağlanır (Browsky ve ark.,1998). Y5 reseptörünün selektif agonisti Beck-Sickinger ve ark. (2000) tarafından bulunan [Ala³¹,Aib³²]-NPY'dir ve ratlarda besin alımını stimule ettiği görülmüştür. Y5 reseptörünün ilk olarak yeni geliştirilmiş nonpeptid antagonisti CGP71683A, kullanılarak bulunmuştur. NPY'nin sebep olduğu besin alımındaki artmasında Y5 reseptörünün rolünün araştırılmasında da ayrıca faydalı olmuştur (Criscione ve ark., 1998). Maalesef, bu antagonist Y5 reseptörüne bağlı yan etkiler göstermiştir (Della Zuana ve ark., 2001). Y5 reseptörünün antagonistlerinde temelde α -(3-pyridylmethyl)- β -aminotetralins'in asetilasyonu ve sentezi söz konusudur (McNally ve ark., 2000). Diğer antagonist L-152,804 yeni geliştirilmiştir. Besin alımının düzenlenmesinde NPY Y5 reseptörünün rolünün araştırılmasında faydalı olduğu gösterilmiştir (Kanatani ve ark.,2000). Bu reseptör hipotalamusta lokalizedir ve iştahı stimule eder (Gerald ve ark.,1996;Michel ve ark.,1998;Widowson ve ark.,1997). Periferel seviyede, Y5 intestinde, ovaryumda, testislerde, prostat, dalak, pankreas, böbrek, çizgili kas, plasenta ve kalp'te bulunur (Gerald ve ark.,1996). Bu reseptör, insan endometrial kanser hücre hattında ekspresse edildiği gösterilmiştir. Y5-reseptörü bu hatta DNA ile birlikte bulunur Y5-HEC-IB (Moser ve ark 2000).

Y6 Reseptörü

Y6 reseptörü farede, tavşanda, maymunda ve insan dokularında bulunduğu rapor edilmiştir. Y2, Y4, Y5, reseptörleri ile benzer olduğu rapor edilmiştir. İnsan Y6 reseptörü cDNA'sının ekspresyonu başarısızdır, tam olarak translate edilemez ve fonksiyonel reseptör oluşturamaz. Y6 reseptörünün sıçanlarda eksprese edilemediği bu günlerde bilinmektedir. İnsanlarda ve primatlarda cDNA'sına sahiptir fakat basit temel bir silinmenin sonucunda nonfonksiyonel NPY reseptörü eksprese edilir. Psödogen'in (yalancı gen) ayrıca kobaylarda bulunduğu rapor edilmiştir. Köpeklerde fonksiyonel reseptörler oluşturulur (Redrobe ve ark.,2002).

2.5.5. NPY ve EPİLEPSİ

Nöbet aktivitesinin düzenlenmesinde NPY'nin rolü vardır ve son yıllarda epilepsiyle ilgili olabileceği düşünülmüştür. Akut nöbet sonrası, NPY ve pre-pro NPY mRNA seviyesi bazı kortikal nöronlarda ve limbik alanlarda, kısmi olarak da frontal, priform ve entorhinal korteks, amigdala ve hipokampusta artar (Vezzani ve ark.,1999).

Hipokampus ve neokortekste, NPY nöronlar tarafından üretilir. Bu nöronlarda ayrıca γ -aminobutirik asit (GABA) da eksprese edilir. NPY, bir çok internöronda somatostatin ile birlikte eksprese edilir. NPY reseptörleri ratlarda ve insanlarda stratum radiatumda ve Ammon boynuzunda yoğun olarak bulunur. Daha önce yapılan çalışmalarda NPY'nin hipokampustaki fonksiyonu üzerinde durulmuştur. Daha sonraları ise NPY'nin etkisinin çok selektif olduğu ve sadece rat Ammon boynuzundaki piramidal hücrelerde eksitator inputları inhibe ettiği görülmüştür. Fakat sinaptik inhibisyon üzerinde etkisinin olmadığı anlaşılmıştır (Colmers ve ark.,1988). Spesifik olarak glutaminerjik inputların olduğu nöronlar NPY ile baskılanır fakat bu peptid postsinaptik uyarılara etkisizdir (Colmer ve ark.,1987).

Hipokampal kesitlerden salınan glutamat salınımının NPY ile baskılandığı gösterilmiştir (Greber ve ark.,1994). Daha sonra yapılan çalışmalarda ise NPY'nin nöronal kültürlerdeki presinaptik terminallerde N-tipi Ca^{+2} akımını baskıladığı gösterilmiştir (Toth ve ark.,1993). N-, P/Q ve diğer tip presinaptik Ca^{+2} akımını yeni (taze dokudan) hazırlanmış hipokampal kesitlerde baskılamıştır (Qian ve ark.,1997).

Epileptiform deşarjların sonunda NPY ekspirasyonu internöronlarda ve dentat granül hücrelerinde artar fakat bazı epilepsi modellerinde ve insanda NPY internöronlarında ve diğer internöronlarda aşırı stimulasyon uzun sürebilir.

İn vivo ve in vitro çalışmalar endojen antikonvülsan olarak NPY'nin rolünü destekler. In vitro yapılan ilk çalışmalarda NPY fragmanlarının hipokampal CA1 alanında NPY'nin presinaptik etkisinde Y2 reseptörünün tam etkili olduğu ileri sürülmüştür (Colmers ve ark.,1991). İnsan ve kemirgen hipokampus kesitlerinde NPY eksitator nörotransmisyonu inhibe eder ve glutamat salınımını azaltır (Reibel ve ark.,2001). NPY KO fareler kendiliğinden oluşan nöbetleri durdurur fakat konvülsan ajanlara karşı çok duyarlıdırlar. NPY'nin i.c.v enjeksiyonuyla etkisi geri getirilir (Ericson ve ark.,1996). Transgenik sıçanlarda NPY'nin aşırı ekspresyonu vardır. Özellikle de hipokampusun CA1 alanında epileptogeneze karşı direncin olmaması olayı düşük bir ihtimaldir ki kainatın sebep olduğu ensefalografik (EEG) nöbetlerin süresini ve sayısını anlamlı şekilde düşürdüğü gösterilmiştir (Vezzani ve ark.,2002).

Nöbet ve NPY'nin ekspirasyonunun artması ilişkilidir. NPY reseptör alt tiplerinin seviyesi modifiye olur. Y1, Y2, Y5 alt tipleri hipokampusta bol miktarda bulunur (Michel ve ark.,1998). Bazı hayvan modellerinde Y1 reseptörü ve Y5 reseptörünün seviyesi düşerken Y2 reseptörünün seviyesi artar (Bregola ve ark.,2000). Ayrıca, temporal lob epilepsisi bulunan hastalardan elde edilen hipokampal örneklerde Y2 reseptör bağlayabilme yeteneği artarken Y1 reseptör bağlayabilme yeteneğinin azaldığı otopside elde edilen kontrollerle karşılaştırıldığında görülmüştür. Bir kaç çalışmada NPY'nin antikonvülsif fonksiyonuna hem Y2 hemde Y5'in aracılık ettiği ileri sürülmüştür. Hipokampal kesitlerde de NPY'nin Y2 reseptörünün presinaptik aktivasyonu ile glutamat salınımı baskılanır (Ericson ve ark.,1996). Antikonvülsif tedavi için Y2 reseptör agonistleri geliştirilebilir. Diğer çalışmalarda Y5 reseptör alt tipi NPY'nin antikonvülsan özelliğine aracılık ettiği gösterilmiştir. Gerçekten de kainik asitle oluşturulan nöbetleri NPY agonistleri inhibe eder. Bu NPY agonistlerinin farmakolojik profili Y5 reseptörüne benzerlik gösterir (Woldbye ve ark.,1997). Y5 reseptör KO fareler spontan nöbet benzeri aktivite göstermezler bunlar kainat maruziyetine çok duyarlıdır ve ekzojen NPY'nin antiepileptik etkisi bu modeldeki nöbetleri baskılar (Marsh ve ark.,1999). Y5 agonist uygulaması ([6-aminohexanoik asit 8-20] [Pro34]

NPY yada [D-Trp32] NPY) yapıldığında hipokampusun CA3 alanında sinaptik eksitasyonu düşürmesine rağmen normal rat hipokampal kesitlerinde epileptiform aktiviteyi baskılamaz (Ho ve ark.,2000). Bu sonuçlara göre Y5 reseptörünün kısmi olarak NPY'nin antiepileptik aktivitesine aracılık ettiği ileri sürülmektedir ve limbik nöbetlerde Y5 reseptörünün modülasyon rolünü üstlendiğini kanıtlar. Y5 reseptörü normal hipokampal fonksiyon için etki göstermez.

Limbik alanlarda, NPY'nin inhibitör etkisi vardır. Bu peptid Y1 reseptörü aracılığı ile nöbeti kolaylaştırıyor olabilir. Sıçanlarda kainatın sebep olduğu elektroensefalografik (EEG) nöbetleri azaltır. Bu antikonvülsan etki Y1/Y5 agonisti [Leu 31,Pro34] NPY tarafından geri döndürülür (Ho ve ark.,2000). Y1 reseptör antagonisti yada Y2 ve Y5 agonistleri nöbetlerin alternatif tedavisi için kullanılabilir fakat etkileri henüz tam olarak net değildir.

Sürekli nöbetlerde örneğin status epileptikus'da rat beyinde kainik asitin yada elektrik stimülasyonunun sebep olduğu limbik alanlardaki nöbetlerde, elektrokonvülsif tedavinin sebep olduğu yada elektriksel ve kimyasal kindling'in sebep olduğu tekrarlayan nöbetlerde diğer bir çok nöropeptid gibi NPY'nin ekspirasyonu da artar (Zachrisson ve ark.,1995) .

Glutamat reseptörlerinin stimülasyonu NPY mRNA'sının artmasını tetikler. NMDA, AMPA yada kainat reseptör agonistlerinin dentate gyrus içine non-nörodejeneratif düşük dozlardaki infüzyonu ile hiler internöronlarda NPY mRNA ekspirasyonu kolaylıkla artar, fakat granül hücrelerinde böyle bir olay görülmez (Schwarzer ve Sperk.,1998). Diğer yandan metabotropik glutamat reseptörleri ACPD tip I agonistleri güçlü olarak granül hücrelerinde NPY mRNA ekspirasyonunu stimüle eder (Schwarzer ve Sperk, 1998.)

Benzer olarak NPY limbik nöbetlerde ve ACPD'nin hipokampus içine enjeksiyonuyla granül hücrelerinde ve mossy fiberlerinde brain-derived nörotrofik faktör (BDNF) ekspirasyonuna neden olur (Vezzani ve ark .,1999 a,b). NPY ile BDNF'nin aynı hipokampal nöronlarda bulundukları ileri sürülmüştür fakat BDNF ekspirasyonu genellikle daha önce gerçekleşir. BDNF transkripsiyonal aktivatörü NPY genine etki eder ve ek olarak nöronal eksitabilite üzerinde direkt olarak etkilidir (Reibel ve ark., 2000).

NPY'nin Prokonvülsan Etkisi

Normal ratlarda ve epileptik hastaların beyinlerinde NPY'in inhibitör rolü güçlü delillerle kanıtlanmasına rağmen yeni farmakolojik kanıtlarda kemirgen modellerinden olan limbik nöbetlerde NPY'nin tamamıyla antikonvülsan etkiye sahip olmadığı ileri sürülmüştür (Vezzani ve ark.,1999a). Brooks ve ark. (1987) NPY granül hücrelerinin dentritleri üzerinde eksitator etkiye sahip olduğunu ileri sürmüşlerdir. Kainik asitle nöbet oluşturulmuş ratlarda kontrol ratlarla karşılaştırıldığında hipokampal kesitlerde büyük miktarda NPY salındığı görülmüştür (Vezzani ve ark.,1999a). Hipokampusta nöbetleri takiben NPY salınır ve prokonvülsan etkiye sahiptir. Y1 reseptörleri aracılığı ile dentate girusun moleküler katmanlarındaki granül hücrelerinin dentritlerinde lokalizedir (Dumont ve ark.,1993).

Y1 selektif antagonisti BIBP3226 dır. Bu maddenin nanomolar miktarlarda İntrahipokampal enjeksiyonu ile kainik asitle oluşturulan EEG nöbetlerini anlamlı derecede azaltmıştır. Fakat BIBP3226'nın enantiomeri olan BIBP3435 etkisizdir. Bu antikonvülsan etki Y1 reseptör agonisti [Leu31,Pro34] NPY tarafından tersine çevrilir (Gariboldi ve ark.,1998) fakat nöbete sebep olmazken wet dog shakes'e sebep olur ve bu davranışlar da dentate girusdaki granül hücrelerinin aktivasyonu ile ilgilidir. Bu mekanizma henüz kesin değildir çünkü Y1 reseptörü granül hücrelerinde yoğun bir dağılıma sahiptir ve Ca^{+2} akımının baskılanmasına aracılık ettiği gösterilmiştir. Y1 reseptörlerinin epileptik dokudaki aktivasyonu Ca^{+2} 'a bağlı K^{+} akımının inhibisyonu sonucunda eksitabilitenin artmasıyla gerçekleşir. Bu eksitasyon yolu çoğu normal DRG hücrelerinde anlamlı değildir. Bu anatomik olarak duyu hücrelerinde önemli hale gelmektedir epileptik odadaki granül hücrelerinin özelliklerindeki benzer değişiklik oranları artmaktadır (McQuiston ve ark 1996).

2.5.6. Epilepsi Modelleri ve NPY

2.5.6.a. İn Vitro Epilepsi Modelleri

NPY'nin , epilepsi benzeri davranışları birkaç invitro modellerde oluşturulan nöbetleri inhibe ettiği gözlemlenmiştir. Normal rat hipokampal kesitlerinde

bikukullin, pikrotoksin yada ekstrasellüler magnezyumun uzaklaştırılması ile interiktal benzeri davranışlara sebep olduğu görülmüştür (Colmers ve ark.,1988). Bu mekanizmalar NPY'ye duyarlıdır. Elektriksel stimülasyonun sebep olduğu iktal benzeri davranışlar NPY ve ilgili peptidlerle tamamıyla inhibe edilir. Bu da Y2 reseptörlerinin nöbet sırasındaki davranışları ile ilişkilidir (Silva ve ark., 2002). İki NPY reseptörü Y2 ve Y5 hipokampustaki epileptiform aktiviteyi baskılar. Hipokampusta hem Y2 hemde Y5 presinaptik reseptörlerin bağlanmasıyla, Ca^{+2} akımının modülasyonu yoluyla NPY glutamat salınımını inhibe eder. (Silva ve ark., 2002). O-Mg⁺² modelde , NPY'nin etkisi lokal hiokampal NPY reseptörlerinin aktivasyonu yoluyla gerçekleşir. Kainate modelinde ekstra-hipokampal NPY reseptörleri benzer rol oynarlar (Woldbye ve ark.,2005) .

Limbik nöbetlerin tonik-klonik karakterleri primer deşarj sonrası taklit edilir. NPY, peptid YY (PYY) ve Y2 reseptör selektif agonisti [ahx5-24] NPY deşarj sonrası inhibisyonda etkilidir (Klapstein ve Colmers.,1997). Y1 ve Y5 reseptör ligandları [Leu³¹,Pro³⁴] NPY bu modelin deşarj kısmında etkisizdir (Klapstein ve Colmers.,1997). Y2 reseptörünün NPY'nin etkisindeki önemi ileri sürülmüştür. Frontal neokorteks kesitlerinde O-Mg⁺² solüsyonunun neden olduğu nöbet aktivitesine karşı NPY test edilmiştir. Bu çalışmada NPY nöbet aktivitesini baskılamıştır ve bu sonucun oluşmasını açıklayacak hipokampusta gerçekleşen iki mekanizma mevcuttur;

1-Y1/Y5 reseptörleri bu etkiye aracılık etmektedir. 2- Bireysel interiktal ateşlemenin süresi ve frekansı azaltılır (Bijak ,2000). Fakat NPY'nin bu etkileri henüz tam olarak açıklanamamıştır.

NPY'nin nöbet aktivitesine ve eksitatör sinaptik transmisyonun modülasyonuna etkili olduğu elektrofizyolojik ve farmakolojik çalışmalarda açıklanmıştır. Sıçan hipokampal kesitlerindeki piramidal hücrelerdeki glutamat salınımının inhibisyonuna NPY Y2 reseptörleri predominant olarak etkilidir. Bu inhibisyon presinaptik sinir terminallerine birkaç Ca^{+2} kanalı tipinde Ca^{+2} akışının azaltılması ile sağlanır (Qian ve ark.,1997).

Hipokampal glutamat salınımindaki etki selektiftir çünkü NPY hipokampustaki sinaptik inhibisyonda etkili değildir (Klapstein ve Colmers.,1993). Bu konudaki sonuçlar insanlarda görülen epilepsiyi açıklayabilir. İnsan epileptik

odağından alınan hipokampal piramidal hücrelerinden hazırlanan kesitlerde NPY glutamat salınımını inhibe etmiştir (Colmers ve ark.,1997).

İntrasellüler kayıtlarda alınan verilere göre sıçanlarda NPY'nin dentate girusun granül hücrelerindeki sinaptik eksitasyon üzerinde etkiye sahip olmadığı ileri sürülmüştür (Qian ve ark.,1997). Fakat bu hücrelerin sinaptik eksitasyonlarını inhibe ettiği, insan epileptik hipokampusundan alınan hücrelerde gösterilmiştir. Bazı çalışmalarda da NPY'nin direkt olarak postsinaptik eksitator etkiye sahip olduğu rat granül hücrelerinde ileri sürülmüştür (Qian ve ark.,1997). NPY'nin Y1 reseptörü soma ve granül hücrelerinin hipokampal kesitlerinde N-tipi kalsiyum kanalları yoluyla Ca^{+2} akışını inhibe eder (McQuiston ve ark.,1996).

Bu modellerde reseptörler için bazı düzenleyici mekanizmalar mevcuttur. Mesela; bütün mutant farelerin hipokampal alanlarında Y1 reseptör bağlama bölümleri düşüktür. Fakat bu in-situ hibridizasyon tekniği ile anlamlı bir şekilde açıklanamamıştır. Y1 down-regülasyonu post-transkripsiyonal olarak gerçekleşir. Y2 -/- farelerde Y5 reseptörünün bağlayabilme kapasitesi dorsal hipokampusta azalırken ventral hipokampusta ise böyle olmadığı $0-Mg^{+2}$ modelinde in vitro elektrotlardan alınan kayıtlarda gösterilmiştir. Buna benzer yöntemlerle Y1, Y5 reseptörlerinin down-regülasyonu gösterilmiştir. Ayrıca Y5 reseptörünün bağlanabilme yeteneğinin uzun süreli azaldığına nöbetlerin sebep olduğu da gösterilmiştir. Y5 mRNA ekspirasyonu akut olarak artar . Epileptogenezde nöbet sonrası Y5 bağlayabilme kapasitesi düşer. Beklenen ise nöbetin sebep olduğu hipereksitabilitenin hipokampusta gerçekleşmesidir. Buna zıt olarak tutuşma süresince hipokampusta Y5 bağlanması artar (Woldbye ve ark., 2005).

2.5.6.b. İn Vivo Epilepsi Modelleri

Birkaç in vivo epilepsi modelinde NPY'nin antiepileptik etkisi kanıtlanmaya çalışılmıştır. İn vivo şartlarda rat beyinde pikrotoksinle $GABA_A$ reseptörleri bloklanır. NPY enjeksiyonu pikrotoksinin sebep olduğu epileptik davranışı hipokampal CA1 alanında inhibe etmiştir (Smialowska ve ark.,1996). İn vivo kainik asit modellerinde, lateral ventrikül içine yapılan NPY enjeksiyonuyla motor nöbet

aktivitesi baskılanır (Woldbye ve ark.,2005). NPY'nin nanomolar miktarlardaki intraserebral uygulaması hipokampusta deşarj sonrası süreyi kısaltır.

NPY'nin hipokampus içine infüzyonu klasik tutuşma (kindling) sıçanlarda kindling mekanizmasının oluşmasını geciktirdiği görülmüştür. Ayrıca anti-NPY anti korları ile de aynı şekilde tutuşma mekanizması gecikmiştir (Reibel ve ark.,2000).

İn vivo şartlarda NPY uygulanması farelerdeki nöbete karşı olan hassasiyeti azaltmıştır (Erickson ve ark.,1996). Bununla birlikte in vivo sonuçlar birkaç farklı epilepsi modelinde yada gerçek epileptogenezde NPY'nin antiepileptogenetik ve antiexsitatör olarak etkili olduğu konusunda tutarlıdır.

Woldbye ve arkadaşları (2005), kainik asitin sistemik uygulamasının sebep olduğu Motor ve EEG nöbetler üzerine NPY'nin intraserebroventriküler enjeksiyonlarının Y5 reseptörü aracılığı ile antikonvülsan etkiye aracılık ettiği bilinmektedir .

2.5.7. NPY'nin Antiepileptik Özelliği

NPY'nin hipokampustaki temel rolü nöronal eksitabiliteyi modüle ederek eksitatör sinaptik geçişi (Colmers ve ark.,1988) ve glutamat salınımını inhibe etmektir (Colmers ve ark.,1988). Elektrofizyolojik çalışmalarda da NPY'nin kortikal glutamat transmisyonunu inhibe ederek presinaptik inhibisyonu sağladığı gösterilmiştir (Bijak, 2000). Pikrotoksinin sebep olduğu ateşleme aktivitesi üzerinde NPY'nin inhibitör etkisi olabileceği düşünülmektedir ve buna mossy fiber CA3 piramidal hücrelerindeki sinapslarda ve Schaffer-kollateral CA1 hücre sinapslarındaki glutaminerjik transmisyon üzerindeki presinaptik etkisi iyi bir kanıttır (Smialowska ve ark.,1996). Benzer olarak hipokampusta eksitatör sinaptik taransmisyonun inhibisyonu gösterilmiştir (Smialowska ve ark.,1996).

Pikrotoksinin sebep olduğu epileptiform deşarjlar üzerindeki etkiye Y2 reseptörünün aktivasyonu aracılık etmektedir. Yapılan bir çalışmanın sonucunda NPY₁₃₋₃₆ nin Y2 ile birlikte peptid fragmanı olduğu ve deşarjların inhibisyonuna sebep olduğu, buna karşılık Y1 reseptör aktivasyonunda ise deşarjların inhibisyonuna sebep olmadığı anlaşılmıştır (Smialowska ve ark.,1996).

Hipokampal kesitlerde epileptiform deşarja sebep olan GABA_A reseptör antagonistleri, pikrotoksin yada bikukullin non-NMDA glutaminerjik reseptörlerle potansiyel olarak inhibe edilir. Adenozin ve baklofen gibi bazı ajanlar presinaptik glutamat salınımını inhibe etmektedir. Diğer maddeler bu inhibisyonla birlikte piramidal hücreler üzerinde K⁺ akımının aktivasyonu sayesinde güçlü postsinaptik inhibitör etki sergilerler.

NPY'nin CA1 yada CA3 nöronları üzerinde direkt bir postsinaptik etkisi bulunamamıştır (Colmers ev ark.,1987). Bundan dolayı olası antiepileptik etki Y2 reseptörlerinin aracılığı ile glutamat salınımının presinaptik inhibisyonuna büsbütün bağlanabilir (Greber ve ark., 1994).

Bir çok çalışma sonucunda epileptiform aktivitenin in vitro modellerinde NPY'nin antiepileptik etkisi tekrar tekrar bulunmuştur. Pikrotoksinin varlığında elektrik stimülasyonunun sebep olduğu deşarjlarda CA1 hücre gövdesi katmanında NPY deşarj sayısını düşürmüştür (Bijak ve Smialowska., 1995). Ayrıca NPY'nin STIB (Stimulus train induced bursting) modelinde ve Mg⁺² solüsyonun sebep olduğu spontan populasyon bursting modelde inhibitör etkiye sahiptir. Bütün bu çalışmalar 'Endojen NPY anti epileptik etkiye sahiptir' hipotezini desteklemektedir.

NPY ayrıca in vitro epileptiform aktivite üzerinde güçlü inhibitör etkiye sahiptir. NPY'nin intrahipokampal enjeksiyonu pikrotoksinin sebep olduğu davranışsal eksitasyon üzerinde güçlü etkiye sahiptir (Smialowska ve ark.,1996). Smialowska ve ark (1996) yaptıkları çalışmada ilk defa rat serebral korteksindeki sinir terminallerinden NPY'nin Y1 reseptörü üzerindeki etkisi ile glutamat salınımı inhibisyonunun ve reseptörlere bağlanma mekanizmasının voltaja bağlı Ca⁺² girişi ile ve PKC'nin modülasyonu ile olabileceği ileri sürmüşlerdir..

Y1 reseptörleri predominant olarak soma ve dentritlerde lokalizedir ve nöronal aktiviteyi K⁺ kanallarının aktivasyonu yoluyla (GIRK) direkt olarak inhibe eder. Fakat Y2 reseptörleri sinir terminallerinde lokalizedir ve voltaj bağımlı Ca⁺² kanallarının inhibisyonu yoluyla GABA salınımının inhibisyonu üzerinde etkilidir (Sun ve Huguenard.,2001)

NPY'nin jeneralize nöbetleri baskıladığı bir çok çalışmada gösterilmiştir. Nöbetlerin baskılanması da post sinaptik Y1 yada Y5 reseptörleri yolu ile GABA-erjik inhibisyonun artması ile gerçekleşir. Kortekste presinaptik Y2 reseptörleri

yoluyla GABA salınımını inhibe edilir. Alternatif bir olasılıkta talamokortikal yada kortikotalamik nöronların NPY'nin etkisi baskınması ve glutamat salınımının azaltılmasıdır. Y2 reseptör aktivasyonu bu mekanizma içerisinde bulunur. NPY Y2 reseptörlerinin aktivasyonu ile jeneralize nöbetler baskılanır. GABA'nın miktarının düşmesine talamokortikal nöronların hiperpolarizasyonu aracılık eder. Elektrofizyolojik çalışmalarla Y2 reseptörlerinin akson terminallerinde bulunduğu gösterilmiştir. Bunlar nörotransmitterlerin salınımının inhibisyonunda etkilidir. Bu inhibisyonu da voltaj bağlı Ca^{+2} kanallarının aktivasyonunun modülasyonu ile sağlar (Sun ve Huguenard.,2001).

NPY'nin endojen antikonvülsif olduğu bir çok çalışmada gösterilmiştir. Bu antikonvülsif etkinin mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Fakat NPY reseptörleri üzerinde yapılan bir çok çalışmada NPY'nin birçok fizyolojik etkisine reseptörleri aracılık eder. NPY'nin çok fazla merkezi ve periferik etkisinin olmasının nedeni de farklı reseptörlere sahip olmasıdır. Bu reseptörler ise değişen ortamlara (örneğin nöbet esnasında) uyum sağlamak için bu reseptörlerde adaptif değişiklikler gerçekleşir (Stroud ve ark.,2005) .

NPY reseptör yoğunluğu ve afinitesindeki değişiklik epileptik dokuda, nöbetin ilerlemesi ve gelişmesiyle ilgili olabilir. Y2 reseptörleri ($GABA_B$ reseptörlerine benzerler) ve presinaptik inhibisyona ve GABA salınımına ayrı ayrı sinir terminallerinde aracılık ederler (Sun ve ark ., 2001). Hipokampusun CA1 kısmındaki Schaffer kollateral sinir terminallerinde Y2 reseptörlerinin yüksek yoğunlukta olduğu bulunmuştur. Epilepsinin oluşumundaki önemli sebeplerden biri glutamat salınımının artmasıdır. NPY de glutamat salınımı üzerinde güçlü bir inhibitör özellik sergiler. (Klapstein ve Colmers .,1992) Fakat glutamat salınımının inhibisyonu için epileptik aktivitenin olması önemlidir (Vezzena ve ark., 1999 a,b)

NPY'nin antikonvülsan etkisine Y2 ve Y5 reseptörleri aracılık eder. Y2 reseptör aktivasyonunun epileptiform aktiviteyi bir çok epilepsi modelinde inhibe ettiği gösterilmiştir . Kainatın sebep olduğu nöbetlerde Y5 reseptörleri antikonvülsan etkiye aracılık eder (Marsh ve ark .,1999).Buna zıt olarak selektif Y1 reseptör antagonistinin uygulanması (BIBP3226) kainik asitin sebep olduğu limbik nöbetleri ratlarda hafifletir

Y1 reseptörlerinin sıçanlarda NPY'nin zayıf eksitatör etkisine aracılık ettiği görülmüştür. Y1 antagonistleri BIBP3236 kainik asitin sebep olduğu nöbetleri inhibe eder ve sıçanlarda kindling epileptogenezi geciktirir (Gariboldi ve ark., 1998). Y1 reseptör agonisti [Leu32,Pro34]-PYY ve NPY'nin anti epileptik etkisini kendi kendine antagonize eder (Gariboldi ve ark., 1998). Y1 reseptörleri epileptik dokuda down-regüle olur ki bu mekanizmanın beyinde koruyuculuk için olduğu ileri sürülmüştür. NPY, Y1 reseptörlerinin aktivasyonu ile Ca^{+2} akımının inhibisyonuna sebep olur (Mc Quiston et al., 1996).

NPY sistemindeki genetik değişikliklerde NPY'nin Y2 aracılığı ile endojen antikonvulsif etkisini gösterir (Vezzani ve Sperk., 2004). NPY geninin silinmesi ile yapılan genetik çalışmalar NPY'nin epilepsideki koruyucu rolünü desteklemiştir. Sistemik kainik asit ve pentilentetrazol enjeksiyonu sonrasında NPY'den yoksun farelerin nöbetten etkilenmesi ve ölüm oranının arttığını göstermişlerdir (Baraban ve ark., 1997). Bunlara ters olarak NPY'nin aşırı ekspresse olduğu transgenik ratlarda ve in vivo rat hipokampusuna gen transferi (adenoassociated viral vectorlerde (AAU) yapıldığında NPY'nin ve mRNA'sının aşırı ekspirasyonu belirgin şekilde artar. Kainik asitin sebep olduğu nöbetlerde ise bu modelin güçlü bir antikonvülsan ve antiepileptik olduğu görülmüştür (Richini ve ark., 2004).

Y2 reseptöründen yoksun farelerde intrahipokampal kainik asit uygulanması sonucunda artan bir epileptik aktivite görülmüştür. Bu sonuçla da Y2 reseptörünün NPY'nin antikonvülsan etkisine aracılık ettiğini söyleyebiliriz (Klapstein and Colmers., 1992; McQuiston ve Colmers., 1996). Ayrıca Y5 reseptöründen yoksun fareler de nöbetlerden çok fazla etkilenirler (Marsh ve ark., 1999). Çok az miktarda Y5 reseptör proteini hipokampusta görülür (Colmers ve ark., 1988; Dumont ve ark., 1998; Widdowson ve ark., 1997). Varsayılan antikonvülsan mekanizmaya ektrahipokampal reseptör olarak Y5 reseptörünün de aracılık ettiği belirtmiştir (Marsh ve ark., 1999). Fakat başka bir çalışmada ise NPY'nin antikonvülsan etkisine epileptik hipokampusta Y2 reseptörünün aracılık ettiği fakat Y5 reseptörünün bu etkiye aracılık etmediği görülmüştür. Bu delillerle Y2 reseptörlerinin anti epileptik etkisi olduğunu bildirmişlerdir (Vezzani ve ark., 1999a ; El Bahh ve ark., 2002).

Kronik epileptik modellerde NPY sisteminin plastik değişikliği kanıtlanmıştır (Vezzani ve ark., 1999b). Bu etkinin mekanizması iki şekilde gerçekleşir: birincisi

GABA-erjik internöronlarda NPY'nin overekspirasyonu gözlemlenir ve dentate granül hücrelerinde ve mossy fiberlerde novo sentezi görülür (Schwarzer and Sperk.,1995). İkincisi epileptik hipokampusta NPY reseptörlerinin değişmesi gerçekleşir. Y2 reseptör seviyesinin hipokampusta arttığı rapor edilmiştir. Y1 ve Y5 reseptörlerinin seviyesinin ise düştüğü görülmüştür (Gobbi et al.,1998).

Yeni yapılan çalışmalarda önceki çalışmalarda olduğu gibi NPY'sisteminin endojen antikonvülsan etki gösterdiği önerilmiştir (Vezzani ve Sperk, 2004; Tu ve ark.,1997). İn vivo nöbetlerde NPY ve Y2 seviyesi up-regüle olurken (Sperk ve ark.,1992;Gobbi ve ark.,1998). Y1 reseptörleri down-regüle olur (Kofler ve ark., 1997). Hipokampusta NPY'nin artmasıyla nöbet eşikdeğeri de artar ve böylelikle epileptogenez gecikir, sonuçta da daha az ve kısa tutuşma nöbetleri oluşur (Vezzani ve ark., 2002; Richichi ve ark.,2004). NPY den yoksun farelerde bazen yumuşak ve spontan nöbetler gelişir ve bu hayvanlarda konvülsan ajanlardan çok fazla etkilenererek motor nöbetler meydana gelir (Erikson ve ark., 1996 ; Baraban ve ark., 1997). Temporal lob epilepsisi olan hastalarda Y2 reseptör seviyesinin arttığı görülmüştür (Fürtinger ve ark., 2001) ve NPY'nin uygulanması epileptiform aktiviteyi insan epileptik dentate girusunda baskılar (Colmers ve ark., 1997).

2.5.8. Epilepsinin Hayvan Modellerinde NPY Reseptörlerinin Plastisitesi

NPY nörotransmisyonu epileptogenez süresince plastik değişikliğe maruz kalır (Vezzani ve ark.,1999). NPY reseptör bağlanma yeteneği ve NPY reseptörlerinin gen kodlaması nöbetle değişir. Spesifik radioligand bağlanması Y2 reseptörlerine strata oriens ve Ammon boynuzunun radiatumunda kainik asitin sebep olduğu yada tutuşma modeli nöbetlerde 6 saat içinde yükselir (Gobbi ve ark.,1998). Reseptör bağlanmalarının kinetik analizi kainik asit modelinde açıklanır ki bu etki Y2 reseptörlerinin afinitesinin artmasından dolayıdır.

Elektrofizyolojik ve biyokimyasal çalışmalarda NPY'nin glutaminerjik nörotransmisyonu presinaptik Y2 reseptör üzerindeki etkiyle inhibe olur. CA3 piramidal hücrelerinde Y2 mRNA seviyesinde bir değişiklik göstermez. Y2 reseptörlerinin afinitesindeki artış Y2 reseptör ligandlarının faydasının artmasıyla

ilişkilidir hipokampal kesitlerden glutamat salınımı için (Colmers ve Bleakman.,1994).

24 saat ile 30 gün arasında kainik asit yada tutuşma modelinin sebep olduğu nöbetlerden sonra Y2 reseptörünün bağlanması dentate girusun hilluslarında ve CA1'in stratum oriensinde artar. Y2 reseptör mRNA seviyesi granül hücrelerinde artar Y2 reseptörlerinin bağlanma bölümlerinin sayısı hillusta artar ve mossy fiber sinir terminallerinde yeni NPY reseptörlerinin bulunduğu gösterilmiştir. Bunlara zıt olarak NPY reseptörlerinin mRNA seviyesi ve dentate girusta Y1 reseptörlerinin spesifik olarak bağlanması bütün nöbet çeşitlerinde altı ayın sonunda down-regüle olmuştur (Gobbi ve ark., 1998). Farklı NPY reseptörlerinin ekspirasyonları bu beyin alanlarında farklı olarak düzenlenir, fakat nöbete yanıt için fizyolojik adaptasyon yada patolojik tepkiler henüz tam olarak açıklanabilmiş değildir. Rat hipokampusunda NPY Y1 ve Y2 reseptörleri jeneralize nöbetler sonrasında zıt olarak değişikliğe maruz kalır. Spesifik olarak Y1 reseptör yoğunluğu granül hücre dentritlerinde düşer ve Y2 reseptör yoğunluğu mossy fiberlerde artar (Vezzani ve ark.,2000).

Kainik asit enjeksiyonundan 2,5 saat sonra nöbet aktivitesi gözlemlendiğinde Y5 reseptör proteinleri ve Y2 reseptör proteinleri karşılaştırıldığında hipokampal alt bölümlerinde bir değişiklik yoktur fakat CA1 ve CA3 de düşüş DG de de artış görülür (Vezzani ve ark.,2000).

2.5.9. Nöbetin Sebep Olduğu NPY ekspirasyonundaki değişiklik

Akut nöbetlerden sonra limbik alanlarda ve bazı kortikal nöronlarda prepro-NPY'nin mRNA'sı ve NPY seviyesinin artışı gösterilmiştir. Hillar lezyon (Vezzani ve ark.,1999a), sistemik yada intraserebral kainik asit (Sperk ve ark.,1992), tekrarlanan elektrokonvulsif şok kronik tutuşma nöbet modelleri ,sıçanlarda nöbet oluşumuna sebep olur. Frontal, priform ve entorhinal korteks bölümlerinde amigdala ve hipokampusta NPY ekspirasyonunun kısmi olarak nöbetle arttığı histolojik çalışmalarla da gösterilmiştir. Hipokampusta, NPY GABA internöronlarında ekspresse edilir ve ayrıca bu nöronlar somatostatin de içerirler . Hipokampusta, hem

bu internöronlarda inhibitör hemde eksitator granül hücreleri ve mossy fiberlerde NPY seviyesi artar fakat normal olarak peptid içermezler (Vezzani ve ark.,1999a).

NPY'nin gen kodlanması sonucunda de novo protein sentezinin internöronlarda oluşmasına sebep olur. Hipokampal granül hücrelerinin indüklenmesi için daha düşük bir nöronal eksitasyon ile bu gerçekleşir. Hipokampal kesitlerde yapılan elektrofizyolojik çalışmalarda hiliar nöronların afferent stimülasyona granül hücrelerinden daha duyarlı olduğu gösterilmiştir Bu mekanizma, nöbetin sebep olduğu NPY sentezini yönetir fakat tam olarak keşfedilmemiştir (Vezzani ve ark.,1999a).

Beyinden izole edilen nörotrofik faktör (BDNF) de aynı role sahip olabilir. Hipokampus içine BDNF'nin infüzyonuyla internöronlardaki NPY ekspirasyonu artar ve bu nörotrofinlerin önbeyindeki seviyesi ve mRNA'sı nöbetle up-regüle olur. Granül hücrelerindeki metabotropik glutamat reseptörlerinin uyarılması ile NPY'nin ekspirasyonu bu hücrelerde artar. Ayrıca iyonotropik glutamat reseptörleri internöronlardaki NPY mRNA seviyesini artırır ki eksitator glutaminerjik nörotransmisyonun NPY ekspirasyonunu düzenlediği ileri sürülmüştür. Hipokampal GABA içeren internöronlarda elektrokonvulsif şok ve tutuşma modellerinde belirgin olarak NPY ekspirasyonunu up-regüle eder. NPY ekspirasyonlarındaki bu artış piramidal ve granül hücrelerinin içindeki inhibitör inputa aracılık eder. Bu da NPY'nin endojen antikonvulsan mekanizmasını gösterir (Vezzani ve ark.,1999a).

Sıçanlarda hipoksi oluşturulduğunda NPY ekspirasyonunun arttığı hiliar internöronlarda gösterilmiştir. Zıt olarak sürekli epileptik uyarı örneğin kainik asit yada elektrik uyarısının sebep olduğu gibi durumlarda NPY-GABA internöronlarındaki dejenerasyona öncülük eder ki bu nöronlar somatostatin de içerir. Bu ayrıca temporal lob epilepsisinde gözlemlenir. Bu inhibitör internöronların kaybı hayvan modellerinde epilepsinin ve insanda da spontan nöbetlerin oluşumuna katkıda bulunur (Vezzani ve ark.,1999a).

Hipokampal granül hücrelerinde ve mossy fiberlerinde tutuşma modeli konvulsif stimülasyon sonrası NPY'nin mRNA seviyesi hızlı bir şekilde artar. Spontan epileptik sıçanlarda bu alanda kalıcı olarak NPY mRNA'sını arttığı bildirilmiştir . NPY nin gen kodlanması bu sıçanlarda anti konvulsan tedavi ile baskılanır (Vezzani ve ark.,1999a).

Nöbet modellerinde NPY reseptörlerinin ekspirasyonlarında da değişiklik olur. Nöbet NPY ekspirasyonunda değişikliğe sebep olur buna da reseptör alt tiplerinin modifikasyonu eşlik eder. Yapılan çalışmalarda NPY'nin aracılık ettiği nörotransmisyonun epileptik dokularda değiştiği ileri sürülmüştür. Kainik asitin sebep olduğu nöbetlerde konvülsan enjeksiyondan 4 ile 6 saat sonra hızlı şekilde CA1 de NPY Y2 reseptörlerindeki afinite artar. Tahminen Schaffer kollateral terminallerinde lokalizedir (Schwarzer ve ark.,1998). Kainat enjeksiyonundan 24 saat sonra Y2 reseptör mRNA'sı belirgin şekilde granül hücrelerinde artar ve mossy fiberlerindeki 3-10 gün sonraki Y2 reseptör ekspirasyonuna öncülük eder (Schwarzer ve ark., 1998).

Bir çok nöbet modelinde örneğin elektirikle oluşturulmuş ve tutuşma modellerinde Y1 ve Y2 reseptörlerindeki değişiklikler bildirilmiştir (Gobbi et al., 1998). Y5 reseptör mRNA seviyesi hipokampusun bütün piramidal hücrelerinde yüksek bulunmuştur. Y5 reseptör proteinleri ve bunların mRNA'sı tutuşma modelinde hızlı bir şekilde up-regüle olurken (Vezzani ve ark., 2000) bunlar kainik asitle indüklenen nöbetlerde down-regüle olmuştur (Bregolo ve ark., 2000).

2.5.10. NPY'nin Glutamat Salınımı Üzerindeki Etkisi

NPY'nin beş tane reseptörü moleküler olarak klonlanmıştır (Y1,Y2,Y3,Y4,Y5 ve Y6) (Wan ve Lav, 1995). Wang 2005, yaptığı çalışmasında 4AP (4-aminopyridine) ile uyandırılmış glutamat salınımı üzerindeki NPY'nin inhibe edici etkisini araştırmış ve NPY Y1 reseptörünün buna aracılık ettiği ileri sürmüştür. Bu görüşün iki kanıtı vardır:

1- NPY Y1 reseptör agonisti [Leu³¹Pro³⁴]NPY, NPY'ye benzer mekanizma ile 4AP-evoked Ca⁺² bağımlı glutamat salınımını inhibe edebilir. NPY Y2 reseptör agonisti NPY₁₃₋₃₆ bu etkinin dışındadır

2- Selektif NPY Y1 reseptör antagonisti GR 23118 varlığında NPY'nin yada [Leu³¹ Pro³⁴]NPY inhibisyonu 4AP ve KCI ile uyarılan glutamat salınımını anlamlı şekilde bloklamıştır.

Bu çalışmanın sonuçları daha önceki çalışmaların sonuçlarını desteklemektedir. Dentate girus bölgeleri ve hipokampal CA3'den izole edilen sinir

terminallerinde NPY, NPY Y1 aracılığı ile KCI ile uyarılan glutamat salınımını inhibe eder (Silva ve ark 2003). Burada ki çelişki ise şöyle açıklanabilir: NPY inhibisyona sebep olur fakat bu inhibisyona farklı sinir terminallerinde farklı reseptörler aracılık etmektedir. Örneğin; NPY Y1 reseptörleri kortekste predominantken, NPY Y2 reseptörleri ise hipokampusta yüksek miktarlarda bulunur (Dumont ve ark.,1992). Bu nedenle şimdiki farmakolojik çalışma sonuçlarında göstermiştir ki fonksiyonel NPY Y1 reseptörleri serebral korteksteki glutaminerjik sinir terminallerinde bulunur ve bu bölge glutamat salınımını modüle eder.

Bu hipotez immunohistokimyasal çalışmalarla desteklenmiştir. NPY Y1 reseptörlerinin pre ve post sinaptik lokalizasyona sahip olduğu gösterilmiştir (Koop ve ark.,2002). Bu çalışmalarda NPY Y5 reseptörünün serebrokortikal sinir terminallerinden glutamat salınımı üzerindeki inhibe edici etkiyi sağlayabilme olasılığını azaltmaktadır. NPY'nin hipokampusta gözlemlenen bazı etkilerini NPY Y5 reseptörü sağlayabilir (Ho ve ark., 2000).

Bu çalışmalarda NPY Y1 reseptörünün glutamate salınımının modülasyonunda etkili olduğu yönündedir. Serebrokortikal sinir terminallerinden glutamat salınımının inhibisyonu ve nörotransmitter salınımının modülasyonu için iki tane büyük presinaptik mekanizma bulunur

1- Sinaptik terminallerde Ca^{+2} akımının modülasyonu (Foehring ve ark., 1989) yada voltaj bağlı Ca^{+2} kanallarının direk regülasyonu ile (Catterall, 2000) eksitabilitenin değişmesidir.

2- Ca^{+2} 'nin hücrelerdeki aşağı doğru akımının sağlandığı veziküler salınımının direk modülasyonunun mekanik olmasıdır (Trudeau ve ark., 1996).

NPY'nin sebep olduğu Ca^{+2} girişindeki azalma NPY Y1 reseptör agonistleri ile taklit edilirken NPY Y1 antagonistleri ile korunur. Rat hipokampal nöronlarında olduğu gibi (Mc Quiston ve ark., 1996). NPY Y1 reseptörlerinin inaktivasyonu ile voltaj-bağımlı Ca^{+2} kanallarının aktivasyonu sağlanır, böylelikle NGF'nin PC12'ye farklılaşmasına sebep olur. (Mc Cullough ve ark., 1998). Presinaptik Ca^{+2} kanal aktivitesinin baskılanması NPY'nin aracılık ettiği glutamat salınımının inhibisyonuna ışık tutucu mekanizmadır. Sinaptik terminallerde, glutamat salınımının lokalize N-tipi ve P/Q tipi Ca^{+2} kanallarından Ca^{+2} akımına bağlı olduğuna inanılır. P/Q tipi Ca^{+2} kanalı glutamat salınımına öncülük eden temel kanaldır ve N- tipi Ca^{+2} kanalları

ve tanımlanamayan Ca^{+2} kanallarında yardımcı kanallardır (Wang 2003). N-, P- yada Q tipi Ca^{+2} kanallarının geniş spektrumlu blokörleri NPY'nin glutamat salınımı üzerindeki inhibe edici etkisini tamamen ortadan kaldırabilir. Bu gözlem noktasında hem N- hemde P/Q tip Ca^{+2} kanal aktivitesinin baskılanması glutamat ekzositozunun inhibisyonunun potansiyel mekanizmasının altını çizer.

Daha önceki çalışmalarda NPY Y1 reseptör aktivasyonu ile serebrokortikal sinir terminallerindeki NPY'nin kalsiyum akımını ve eksitatör sinaptik transmisyonu bir kaç nöronal preparasyonda inhibe ettiği gösterilmiştir (Mc Quiston ve ark., 1996; Qian ve ark., 1997).

Diğer olası mekanizma ise NPY'nin aracılık ettiği presinaptik inhibisyon presinaptik K^{+} kanallarının aktivasyonu ile gerçekleşir çünkü K^{+} akımının artması sinir terminallerinin hiperpolarizasyona öncülük eder. Kısa aktivasyon potansiyeli presinaptik Ca^{+2} akımını ve sonuç olarak nörotransmitter salınımını azaltır. NPY reseptörlerinin etkisiyle K^{+} kanallarının içe doğru açılması (düzeltmesi) rat talamik nöronlarında gösterilmiştir (Sun ve ark., 2001). Daha önceki çalışmalarda NPY'nin sebep olduğu presinaptik inhibisyon K^{+} akımının artması ile gerçekleştiği ileri sürülmüştür.

Serebrokortikal sinir terminallerinde presinaptik voltaj bağımlı Na^{+} kanallarının bloke edilmesiyle NPY Y1 reseptörlerinin aktivasyonu etkilenebilir. Presinaptik nöronal membran ve glutamat salınımının azalması sabitlenir.

Presinaptik Ca^{+2} kanal aktivitesinin baskılanmasıyla NPY Y1 reseptörünün aracılık ettiği glutamat salınımının inhibisyonu benzer mekanizma gösterir. NPY ayrıca Ca^{+2} 'nin içeriye akışıyla eksitotoksik mekanizma üzerinde etkilidir .

2.5.11. NPY ve Nitrik Oksit(NO)

İntra-karotid olarak NPY'nin enjeksiyonundan kısa bir süre sonra reperfüzyon başlar. Ya da sıçanlarda iskemi süresince NPY'nin intrasisternal yada intraserebroventriküler yolla enjeksiyonu sonrasında reperfüzyon süresi boyunca bölgesel kan akımı (r CBP) az miktarda baskılanır. NPY ile NOS hem nöronlarda hemde endotel hücrelerinde birbirini etkiler.

Striatal internöronlarda somatostatin, NPY ve nNOS ortak olarak bulunur ve NADPH (nikotinamid adenin dinükleotid fosfat) miktarını azaltır (Figueredo ve ark.,1996). Elektrik uyarısının sebep olduğu NE salınımını rat hipotalamusunda NO'nun üretiminin artması yolu ile inhibe eder. NO'nun da bu sinyalizasyon yoluna katıldığı ileri sürülmüştür (Bitran ve ark.,1999). Y1 ve Y2 reseptörlerinin aktivasyonu vasküler düz kaslarda vazokonstruksiyonu sağlar ve non-Y1 reseptörlerinin aktivasyonunda NO salınır ve vazodilatasyon gerçekleşir (You ve ark.,2001). NPY'nin i.c.v enjeksiyonundan sonra iskeminin sebep olduğu NO'nun aşırı üretimi artar. Oysa BIBP3226 NO'nun iskemi süresince aşırı üretimini azaltır (Chen ve Cheung.,2005). NPY Y1 reseptörünün aktivasyonu yolu ile ve NO nun aşırı üretimi ile iskemik zarara aracılık eder. Buna zıt olarak, NPY Y1 reseptörünün inhibisyonu iskemi süresince nöroprotektif etki yapar. NOS'un farklı izoformları iskemi fizyopatolojisinde zıt bir role sahiptir (Chen ve Cheung.,2005) .

İskemi/reperfüzyon yaralanmalarının sonrasında eNOS aktivitesi serebroprotektif etkiye aracılık eder. İskemik hasarlanmada nNOS ve iNOS aktivitesi ilişkilidir.NPY'nin i.c.v enjeksiyonu ve [Leu³¹, Pro³⁴]-NPY iskemi eğilimi süresince nNOS pozitif nöronların sayısı ipsilateral olarak artar, fakat mikrodamarlardaki eNOS'un duyarlılığı baskılanır (Chen ve Cheung.,2005) .

2.5.12. NPY ve γ – aminobütirik asit (GABA)

GABA tip A (GABA_A) reseptör kompleksinin pozitif modülatörleri ile NPY benzer özellikler gösterir. Örneğin uyku üzerinde benzodiazepinlerle ve nöroaktif steroidlerle benzer özelliktedir (Ehlers ve ark.,1997) anksiyete, stres (Heiling et al., Kask ve ark.,2001), konvülsiyon (Woldbye ve ark ., 1997) beslenme davranışı (Kask et al ., 1998; Zhang ve Wang .,2005) üzerinde de benzer etkilere sahiptirler. GABA ve NPY arasında fonksiyonel ilişki kanıtlanmıştır ve sedasyonun, beslenmenin anksiyonu (anxious) davranışı ve nöronal eksitabilitenin düzenlenmesinde önemlidir (Kask et al ., 1998; Zhang ve Wang .,2005). GABA, NPY, Agouti-Related Proteinle ortak ekspresse olur. ARC nöronlarında (Pu ve ark., 1999). PVN'de de içindeki nöronlarla kortikotropin releasing faktör (CRF) nöronlarında beslenmenin artması sinerjik olarak inhibe edilir (Pu ve ark., 1999). GABA, NPY, Agouti-related protein

nöronlarından ARC de birlikte salınır ki proopiomelanokortin nöronlarında farklı reseptörlerin etkisiyle inhibe edildiği gösterilmiştir (Pu ve ark., 1999). Hem fertilitenin hemde besin alımının düzenlenmesinde (Kalra ve ark., 1991) anatomik ve fonksiyonel kanıtlar ileri sürülmüştür. Hipotalamik GABA_Aerjik nöronları ve NPY arasında karşılıklı olarak birbirini etkiledikleri ile ilgili (Pu ve ark., 1999). Kısmi olarak da NPY fertilitayı inhibe eder. GABA_Aerjik nöronların afferent gonodotropin releasing hormon nöronlarındaki aktivitenin düşmesiyle ki bu NPY Y1R alttipinin aracılığı yoluyla gösterilir (Sullivan ve Moenter., 2004).

Hipokampus ve neokortekste NPY nöronlar tarafından üretilir ve burada GABA da eksprese edilir (Pu ve ark., 1999). Bir çok çalışma sonrasında epileptogenezin cevabında neokortikal ve hipokampal nöronlarda GABA ve NPY nin ortak olarak ekspresse edildiği gösterilmiştir. Neokortekste NPY'nin varlığında GABA_Aerjik nörotransmisyon artar. Piramidal nöronlarda ve GABA_Aerjik internöronlar üzerindeki inhibisyonundaki azalmada da nörotransmisyon artar (Bacci ve ark., 2002). NPY'nin etkisi, kortikal alanda eksitabilitayı düşürür. Sonuçta GABA ve NPY'nin inhibitör etkisi potansiyeldir. Rat in vivo epilepsi modellerinde (Sloviter, 1989) ve epileptik hastalarda NPY/GABA internöronları hipokampusta selektif olarak izole edilmiştir. Fonksiyonel olarak GABA_Aerjik nöronlar ile NPY Y1R arasında ilişki vardır ve emosyonel davranışların düzenlenmesinde trasnmisyona aracılık ederler. İlk bulunduğu Kask ve arkadaşları tarafından (1998) anksiyolitik etkili benzodiazepin, Diazepam bloklanmıştır. Y1R antagonistleri ile anksiyojenik etkiler de bloklanır. NPY ayrıca GABA erjik sistem aracılığı ile sedatif etkiye sebep olduğu bildirilmiştir. Posterior hipokampus da Y1R ile ilişkilidir (Naveilhan ve ark., 2001a). Diğer taraftan NPY'nin ve NPY mRNA'sının ekspresyonu GABA_A reseptör kompleksinin modülasyonundaki değişikliğe sebep olur. Çeşitli beyin alanlarında akut, sub-kronik ve kronik benzodiazepinlerle yapılan tedaviler etkilidir. Hipokampusta normal ratlarda NPY'nin immunoreaktivitesi amigdalada serebral korteks ve locus coeruleus da olduğu gösterilmiştir (Krysiak ve ark., 1999) .

Nonsinaptik GABA_A reseptörleri eşit olarak önemlidir ve herhangi bir reseptörle nöronal eksitabilitenin düzenlenmesinde anahtar role sahiptir (Semyanov ve ark., 2004).

GABA_A δ altbirimi içeren reseptörlerdir ve dentate girusta nonsinaptik inhibisyonda kritik mediatörlerdir. Ayrıca GABA yavaş, hızlı desenkronizasyonda yüksek affiniteye sahiptir (Haas Macdonald, 1999). δ altbirimi serebellumda ekstrasinaptik bölümlerde lokalizedir (Nusser ve ark., 1998b). Ayrıca dentate girusun granül hücre dentritlerinde presinaptik kısımlarda çok yüksek konsantrasyonda bulunur (Wei ve ark., 2003). Ek olarak δ altbirimi içeren reseptörler nörosteroidler tarafından gerçekleştirilen modülasyona az duyarlıdır. İn vitro çalışmalarda dentate girusdaki inhibisyonları kanıtlar niteliktedir. İn vitro çalışmalarda dentate girusdaki δ altbirimi içeren reseptörler aracılığı ile güçlü bir şekilde tonik inhibisyonu azalttığı gösterilmiştir. Diğer iki alt birim $\alpha 4$ ve $\gamma 2$ kısmi olarak GABA_A reseptörlerinde δ altbirimi ile ilişkilidir. GABA_A reseptörlerinde $\alpha 4$ alt birimi ön beyinde δ altbirimi ile ortak bulunur (Sun ve ark., 1999). Bu reseptör genellikle $\gamma 2$ altbiriminden yoksundur (Quirk ve ark., 1995). δ altbirimi içeren reseptörler tonik inhibisyonda önemlidir ve bunlar epilepside bu etkiyi gösterirler.

GABA_A reseptörlerinin δ altbiriminin ekspirasyonu dentate girusta temporal lob epilepsisinin fare modelinde eksitabilitenin artması yoluyla değişir. δ altbirimi dentate girusun granül hücrelerindeki dentritlerin üzerinde azalır. δ altbirimi ekspirasyonu internöronlarda kronik epileptik periyot süresince artar. GABA_A reseptör altbiriminin önemi nonsinaptik ve tonik inhibisyonu içermesidir. Prinsipal hücrelerde ve internöronlarda GABA_A reseptör alt birimlerinin ekspirasyonlarının farklılaşmış değişiklikler gösterdiği kanıtlanmıştır. Gözlemlenen altbirim değişiklikleri nörosteroidlerin epilepsi modelindeki artan inhibisyondaki etkisizliği sınırlı olabilir. δ altbirimi dentate girusun moleküler tabakalarında nöbetin kronik periyodu süresince azalır. Bu sonuçlarla aynı fikirde olan ve olmayan bir çok yeni çalışma yapılmaktadır. δ altbirimlerinin mRNA ve proteinleri kainatın sebep olduğu nöbetlerden 30 dak ile 12 saat sonrasında ekspirasyonlarının azaldığı gösterilmiştir. Status epileptikustan iki hafta sonrasında δ altbiriminin mRNA gruplarından bir tanesinde anlamlı olarak düştüğü görülmüştür. Pilokarpin modelinde basit hücre mRNA amplifikasyon metodu ile granül hücrelerindeki δ altbiriminin mRNA'sının dağılımının anlamlı şekilde arttığı gösterilmiştir (Peng ve ark.,2004) .

İlginç olarak jeneralize nöbetlerin ikinci formu olan insanlarda GABA_A reseptörlerinin δ altbiriminin geni mutasyona uğrar. δ birimi dentate girusta tonik

inhibisyonla ilgili en etkili birimdir. $\alpha 5$ altbirimi CA1'in nonsinaptik inhibisyonunu içerir . $\alpha 5$ altbiriminin mRNA ve proteinleri CA1 de daha önceki gözlemlerde rat pilokarpin modellerindeki nöbetlerde piramidal hücreler korunmuştur (Peng ve ark.,2004). İki tane putatif nonsinaptik altbirimin ekspirasyonları azalırken birkaç epilepsi modellerinde diğer GABA_A reseptör altbirimlerinin ekspirasyonlarının arttığı çok sıklıkla bulunur (Schwarzer ve ark., 1997) ki insan temporal lob epilepsisinde de aynı şekildedir. Tonik GABA_Aerjik inhibisyon temporal lob epilepsisi modelinde düşer, bu azalma diğer GABA_A reseptörleri yada non-GABA_Aerjik mekanizmalarla yerine konmaz örneğin serebellumda hem δ hemde $\alpha 6$ altbirimlerinin kaybından sonra gerçekleşir (Peng ve ark.,2004). Altbirimlerdeki değişiklik nonsinaptik inhibisyonla ilişkilidir ki temporal lob epilepsine katkıda bulunur. Normal altbirimlerde fazık inhibisyonla ilişkilidir buda kompensator değişikliklerden dolayıdır (Peng ve ark.,2004).

GABA_B nin aracılık ettiği post sinaptik K⁺ iletimi CA3 piramidal hücrelerde artar ki bu mutant farelerde ortadan kaldırılır. GABA_B'nin aracılık ettiği presinaptik inhibisyonu CA3, CA1 hücreleri üzerindeki sinapslardan transmitter salınımının presinaptik inhibisyon etkisi G protein eşlenmiş reseptörlerle hipokampusta Ca⁺² girişini yada salınım işlevini kendi kendine direkt inhibe olduğundan dolayı gerçekleşmektedir (Wu and Saggau .,1997).

2.5.13. Kolesistokinin (CCK) ve NPY

Kolesistokinin (CCK) memeli merkezi sinir sisteminde yoğun olarak bulunan bir nöropeptitdir. Sülfatlanmış oktapeptid formu CCK8 dir. Nörotransmitter ve nöromodülatör olarak etki eder. Hem nöronların elektriksel aktivitelerinde hemde diğer nöropeptidlerin salınımını düzenler (Hokfelt ve ark,1991). Beyinde CCK8, birçok alanda katekolaminerjik ve aminoadrenerjik nörotransmitterlerle birlikte bulunur (Acosta ,2001) ve anlamlı bir role sahiptir. Hafıza ve emosyonel davranışlarla ilgili olarak (Sebret ve ark.,1999) CCK8 in ekspirasyonunun azalması beyindeki kognitif eksiklikle nörodejeneratif ve nöropsikatrik hastalıklar olduğu bildirilmiştir (Tirassa ve ark., 2002). CCK beyin hastalıklarının etyopatogenezinde aktif bir role sahiptir.

Epileptik hastalarda beyindeki CCK8 seviyesinin ya da mRNA seviyesinin değışikliği bildirilmiştir (Iadarola ve Sherwin .,1991) ve kindling tipi epileptik ratlarda (Fetissou ve ark ., 2003) CCK nörotransmitterlerin ya da diğer nöropeptidlerin örneğin NPY sentezini stimüle etme yeteneğine sahiptir ve periferel sinir lezyonlarından sonra sinirlerin tamiri yeteneğine sahiptir (Manni ve ark., 2001). CCK8, hipokampusta PTZ nin sebep olduğu GABA ve NPY ekspirasyonunu değıştirmeyi etkisiz hale getirir. Konvülsif davranışın geri gelmesine sebep olur.

2.6. ECoG (Elektrokortikografi) ve EEG (Elektroensefalografi)

Epilepsiyle ilgili çalışmalarda EEG (elektroensefalogram) ve ECoG (elektrokortikogram) en çok kullanılan metottur. Saçlı deri (scalp) üzerinden kaydedilen beyin dalgalarına EEG (elektroensefalogram), beyin korteksinin yüzeyinden makroelektrodlarla direkt olarak kaydedilenlere de (elektrokortikogram) ECoG denir.

Temel araştırmalara göre, kısa süreli aksiyon potansiyellerinin EEG'ye direkt katkısı çok azdır. Beyin dalgaları eksitator ve inhibitör postsinaptik potansiyellerin (EPSP ve IPSP) cebirsel toplamı sonucu arta kalan sinaptik aktivitenin senkronizasyonu yoluyla oluşur ve yüzeydeki kaydedici elektrot yardımıyla yazdırılır. Korteks yüzeyine yakın nöronal yapıların EPSP'leri EEG dalgalarının pozitif kısımlarını oluştururlar. Ayrıca, yüzeyel IPSP'ler EEG dalgalarının pozitif kısımlarını oluştururlar. Ayrıca, yüzeyel IPSP'ler EEG dalgalarının pozitif kısımlarının, derindekiler ise negatif kısımlarının oluşumuna katkıda bulunur.

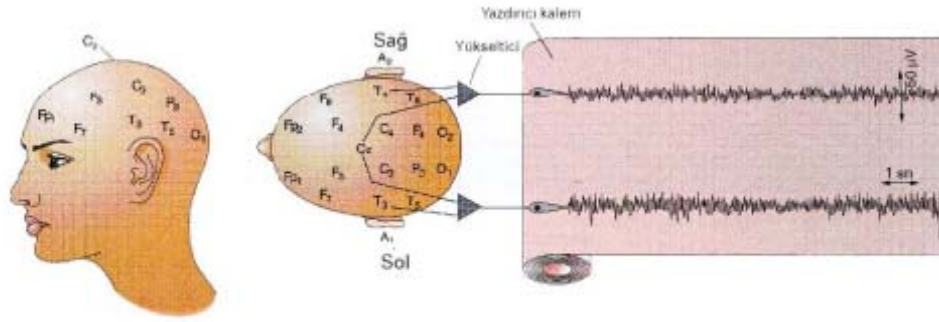
Epileptik deşarjlar EEG'nin aşırı senkronizasyonunu ifade eder. EEG epileptik nöbetin imzası sayılır. Absans nöbetlerde EEG'de saniyede 3-4 ritmik diken-dalga kompleksi görülür. Jeneralize tonik-klonik nöbetlerde (grand mal) diken-dalga kompleksine rastlanmaz. Bir nöbete girilirken EEG deki ilk değışiklik, düşük amplitütlü desenkronize dalgalar olabilir.

Tonik-klonik nöbette bunu saniyede 15-25 frekanslı keskin dalgalar izler. Nöbetten sonra EEG düzleşir ve kontroldekinden daha yavaş dalgalar izler. Nöbet

karşılığı olarak iktus (ictus) da kullanılır. Bu nedenle, nöbet sonrasına *postiktal periyod*, nöbetler arası zamana da *interiktal periyot* denir. İnteriktal dönemde EEG normal olabileceği gibi davranışı etkilemeyecek ölçüde çok kısa süreli deşarjlar da görülebilir.

İnteriktal deşarjlar epilepsinin beyindeki kaynağı hakkında bilgi verir. Epilepsinin deneysel modellerinden elde edilen kayıtlar genellikle interiktal epilepsidekine benzemektedir. Ancak, davranış desteklemediği sürece, EEG'deki diken benzeri dalgaların epilepsiyi gösterdiğini söylemek mümkün değildir. Diğer taraftan, interiktal dönemde EEG'de dikenlerin olmaması epilepsi olmadığı anlamına gelmez (Marangoz, 1997).

Nöron topluluklarının davranışlarını kaydedip gözlemek için mikro yada makro elektrotlar kullanılır. Mikroelektrotlar ile tek hücre cevapları kaydedilir. Zor ama zaman alıcı olan bu metot daha çok deney hayvanlarına uygulanır. Kalabalık hücre gruplarının toplam aktivitesi ise makro elektrotlarla kaydedilir. 19. yy.'da beyin üzerine veya başın dış yüzeyine elektrotlar yerleştirilerek alınan elektriksel kayıtlarda beynin sürekli ve spontan bir elektriksel aktivitesi olduğu anlaşılmıştır. İnsan EEG'si ile ilgili ilk önemli bilgileri ise H. Berger'in çalışmalarına borçluyuz. Berger 1929-1938 yılları arasında hassas galvanometreler kullanarak insanda saçlı deriden beynin spontan aktivitesini yazdırmış ve bazı hastalıklarda EEG'nin değiştiğini ileri sürmüştür. Beyin dalgaları yaş, duyuşal uyarılar, beyin hastalıkları ve vücudun kimyasal durumuna göre değişiklik gösterir. EEG ile insanda uyku-uyanıklık, rüya gibi konularda fizyolojik araştırmalar yapılabildiği gibi EEG tümör, infarktüs, epileptik lezyonlar gibi nörolojik hastalıkların teşhisinde ve yerini belirlemede kullanılabilir. Düz EEG kaydı yani, beyinde elektriksel aktivite yokluğu ise beyin ölümünün klinik kanıtı olarak kullanılır. EEG kayıtları bipolar veya unipolar olarak alınabilir. Bipolar kayıtlarda iki nokta arasındaki EEG aktivitesi kaydedilir. Unipolar kayıtlarda ise potansiyelin 0 olduğu kulak memesi gibi bir yere referans (inaktif) elektrot yerleştirilir ve kaydedici (aktif) elektrodun altındaki EEG aktivitesi kaydedilir. Klinikte EEG kayıtları için oluşturulmuş standart elektrot yerleşimleri kullanılmaktadır.

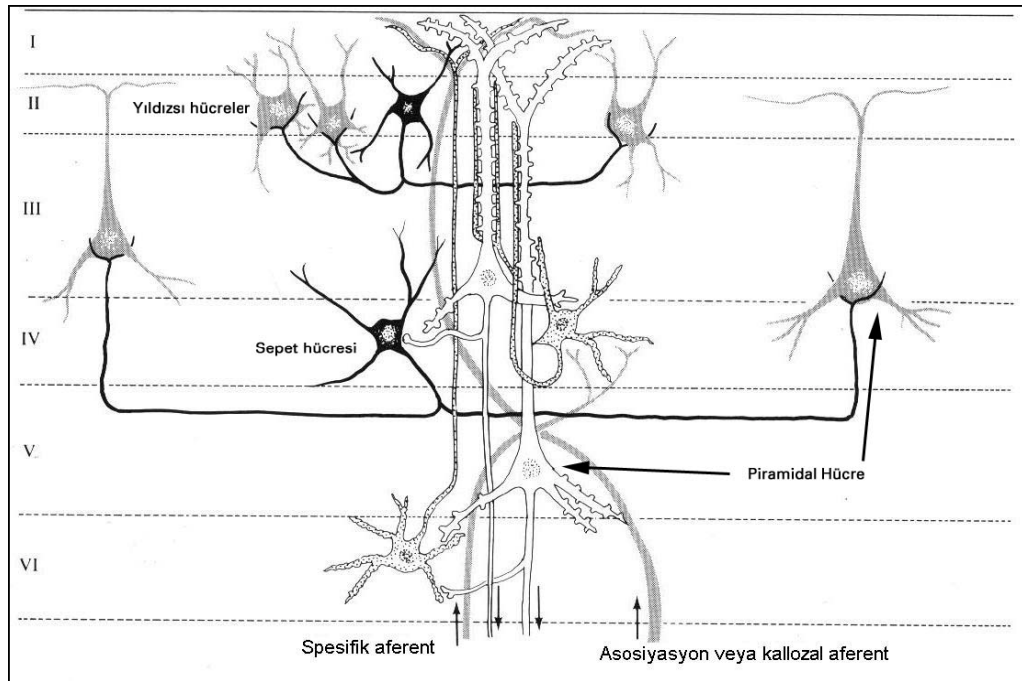


Şekil 2.7. Klinikte kullanılan standart EEG’de elektrotların saçlı derideki yerleşim noktaları. (A kulak, C merkezi, Cz verteks, F frontal, Fp frontal havuz, O Oksipital, P, pariyetal, T temporal)

2.6.1. ECoG’nin fizyolojik temeli

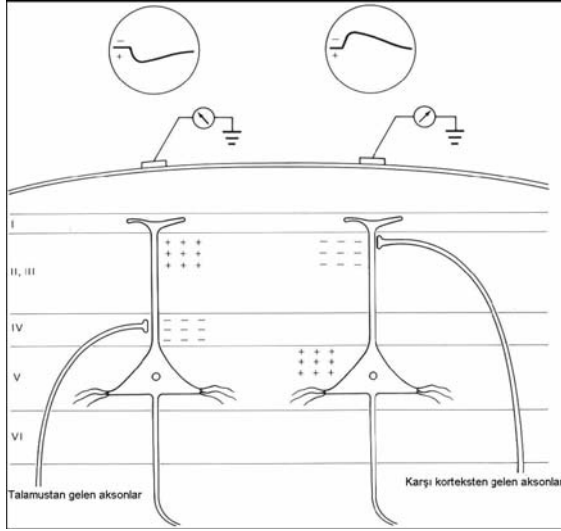
Bir elektriksel potansiyelin ECoG dalgası olarak kaydedilebilmesi için, elektriksel akımların sinir dokusunun büyük bölümlerinde eş zamanlı olarak yayılması ve somatomotor kortekse kadar ulaşması gerekir. Beyin korteksinden ECoG olarak kaydedilen potansiyel değişimlerini, kaydedici elektrotların altında bulunan binlerce hücre meydana getirmektedir. Elde edilen potansiyelleri binlerce hücreye ait iyon akımının cebirsel toplamı olarak görebiliriz (Şekil 2.9). ECoG’da kaydedilen aktivitenin büyük bölümü kortikal gri maddenin yüzeysel tabakalarına aittir. Beyin korteksinde 10 milyardan fazla sinir hücresi olduğu sanılmaktadır. Bu sayıya glia hücreleri dahil değildir. Beyin korteksinin hücreleri yüzeyden daha derinlere doğru tabakalar teşkil edecek şekilde dağılmışlardır. Bu katmanlarda çok az hücre soması olup, büyük oranda dendritlerden oluşur. Beyin korteksindeki hücre gövdelerinin yapı ve şekline, dendritlerinin uzunluk ve dağılımına, aksonlarının dallanma ve sonlanmalarına göre çok çeşitli hücreler bulunur. Fakat, bunların hepsini **yıldızsı (satellit) hücreler ve piramidal hücreler** diye iki büyük sınıfa ayırmak mümkündür (Şekil 2.8). Yıldızsı hücreler, gövdeleri yuvarlak veya oval olan kısa aksonlu nöronlardır. Aksonları korteksi terk etmez, yakın çevrede bulunan nöronlarda sonlanır. Ara nöron olan yıldız hücreleri kortekste ki kolonların içinde gerekli olan bağlantıların kurulmasını sağlar. Yıldız hücrelerinin, dendritleri dikine

uzanan ve sepet hücreleri adı verilen önemli bir çeşidi vardır. Bu hücreler doğrudan doğruya talamusdaki nöronlardan bilgiyi alarak bu bilgiyi diğer ara nöronlara veya piramidal hücrelere dağıtırlar. Yıldızlı hücrelerin bir kısmı eksitator olup glutamat salgılayarak, bir kısmı da inhibitör özelliğe sahiptir ve GABA salgılayarak (Şekil 2.8). (Ankaralı ve Canan.,2004)



Şekil 2.8. Beyin korteksinde bulunan başlıca hücre tipleri ve hücreler arası bağlantılar. Koyu renkli hücreler, inhibitör sepet hücreleridir

Piramidal hücrelerde, hücre gövdesi piramit şeklindedir. Piramidin tepe kısmı korteks yüzeyine, tabanı alta doğru yerleşmiştir. Piramidin tepe kısmından çıkan uzun dendritler korteks yüzeyine kadar uzanırlar. Akson ise hücrenin taban kısmından çıkarak beynin ve omuriliğin çeşitli kısımlarına kadar uzanır. Piramidal nöronlar uyarıcı hücrelerdir ve başlıca glutamat ve aspartat salgılayarak (Şekil 2.8).



Şekil 2.9. Saçlı deriden alınan kayıtlar ve bunların temelini oluşturan sinaptik mekanizmalar. Şeklin solunda, talamus girişlerinin IV. tabakaya ulaşmasıyla kaydedilen potansiyel görülmektedir. Sağda ise, karşı korteksten gelen girişlerin üst tabakaları aktiflemesi sonucu oluşan potansiyel görülmektedir. Spesifik duyuşal liflerin çoğu talamustan geçerek korteksin IV. tabakasında sonlanırlar. Korteksin V. ve VI. tabakasında bulunan piramidal hücrelerin aksonları ise beyin sapına ve omuriliğe uzanır. Korteksin II. ve III. tabakalarında bulunan daha küçük piramidal nöronların aksonları ise korteksin diğer bölgeleriyle bağlantılıdırlar.

Beyin korteksindeki dendritlerde oluşan hiperpolarizasyon veya hipopolarizasyon durumlarında hücre gövdeleri ile dendritler arasında bir potansiyel farklılığı oluşur ve böylece beliren potansiyeller saçlı deriden kaydedilir. Özellikle büyük piramidal hücrelerin hücre gövdelerine yakın olan IV. kortikal tabakaya talamustan gelen eksitator sinyallerle korteksin derin kısımlarının negatif akımlara maruz kalması, daha yüzeysel tabakaların ise pozitif kalması nedeniyle EEG’de pozitif (taban çizgisinin altında) dalgalar görülür. Piramidal hücrelerin dendritlerinin kortekste ki nöronlar arası bağlantıların olduğu II. tabakadan eksitator sinyallerle uyarılması ise yüzeysel tabakaların daha negatif olması, derin tabakaların daha pozitif kalması dolayısıyla negatif (taban çizgisinin üstünde) dalgalar ortaya çıkarır (Şekil 2.9).

2.6.2. EEG'deki beyin dalgaları

Normal bir insanda saçlı deriden kaydedilen potansiyellerin frekansı genel olarak 1 ile 30 Hz; yükseklikleri ise 0 -300 mikrovolt kadardır. Elektriksel aktivitenin şiddeti ve modeli büyük oranda RAS'ın fonksiyonu sonucu beyin eksitasyon düzeyi ile belirlenir. Kafatası ve deri EEG dalgalarının yüksekliğini azaltıcı bir etki gösterir. EEG dalgalarının hem frekansı hem de yüksekliği oldukça karmaşık bir yapı gösterir ve çeşitli şartlarda değişebilir. Örneğin, istirahat esnasında baskın EEG ritminin frekansı yaşa göre değişir. Erişindeki alfa modeli ancak buluş çağında kesin şeklini alır. Bununla birlikte EEG dalgaları frekanslarına göre dört büyük gruba ayrılmaktadır.

Alfa Ritmi

Saniyede 8-13 frekanslı 20-50 mikrovolt genlikli dalgalar hakimdir. Bazı hastalıklarda EEG'nin değiştiğini gösteren Hans BERGER'in adına izafeten alfa dalgalarına **Berger ritmi** de denir. Normal bir fertte, sessiz ve sakin bir odada gözler kapalı, zihnen ve bedenen tam istirahat ederken kaydedilir. Parietal ve özellikle oksipital bölgede daha belirgindir. Uykuda kaybolur. Dominant hemisferde dalga yüksekliği daha fazladır. Gözler açıldığında, duyuşal uyarılar alındığında veya zihin bir problemle meşgul olduğunda alfa ritmi kaybolur. Onun yerine düzensiz, daha düşük voltajlı ve yüksek frekanslı bir aktivite görülür. Bu olaya **alfa blokajı** veya **desenkronizasyon** denir. Alfa blokajı süresince ilgili nöronlar senkron deşarj yapmazlar.

Alfa ritminin frekansını yavaşlatan faktörler

Kanda glukoz seviyesinin azalması, vücut sıcaklığının düşmesi, glukokortikoid hormonların miktarında azalma ve arter kanında PCO₂ nin artışı. Ters durumlarında alfa frekansı yükselir.

Beta Ritmi

Frontal bölgede daha belirgin kaydedilir. Uyarıların varlığında ve aşırı zihin aktivitesi olduğunda daha yoğundur. Beta ritmi EEG'nin en küçük (5-10 mikrovolt),

fakat en yüksek frekanslı (13-30 Hz) dalgalarıdır. Kaynağı kortektir. Beynin hasara uğrayan bölgelerinde azalır veya tamamen kaybolur. MSS'nin aktivasyonu veya gerginlik durumu ile ortaya çıkarlar.

Teta ritmi

Frekansı 4-7 Hz, yüksekliği 10-100 mikrovolt olan yavaş dalgalar hakimdir. Uyanıkken sağlıklı erişkinde görülmez. Çocuklarda pariyetal ve temporal bölgelerde görülmesi normaldir. Fokal korteks altı lezyonların varlığında, metabolik ensefalopatide, orta düzlemin derinliklerinde lezyon olduğunda ve sıklıkla hidrosefalide görülürler. Ayrıca, uyuklama, sevinç ve keder gibi durumlarda genç erişkinlerde teta dalgaları yazdırılabilir.

Delta ritmi

EEG'nin frekansı en az (0.5-4 Hz) ve yüksekliği en fazla (20-200 mikrovolt) olan dalgalarıdır. Yeni doğan çocuklarda (bir yaşına kadar) ve uykunun 3., 4., safhalarında dominant ritimdir. Korteks altı lezyonların varlığında, yaygın lezyonlar olduğunda, metabolik ensefalopatide ve hidrosefalide görülür. Erişkinde frontal bölgede, çocuklarda ise oksipital bölgede daha belirgindir.

EEG'deki ritmin ortalama frekansı, beynin aktivite derecesine bağlıdır. Genel olarak aktivite arttıkça frekansı da artar. En yüksek frekanslı β dalgaları şiddetli mental aktiviteyle oluşur. Ancak bu sırada dalgalar senkron olmaktan çok asenkron durumdadır. Bu nedenle kortikal aktivite yükseldiği halde voltaj önemli ölçüde düşmüş olarak tespit edilir.(Ankaralı ve Canan.,2004)

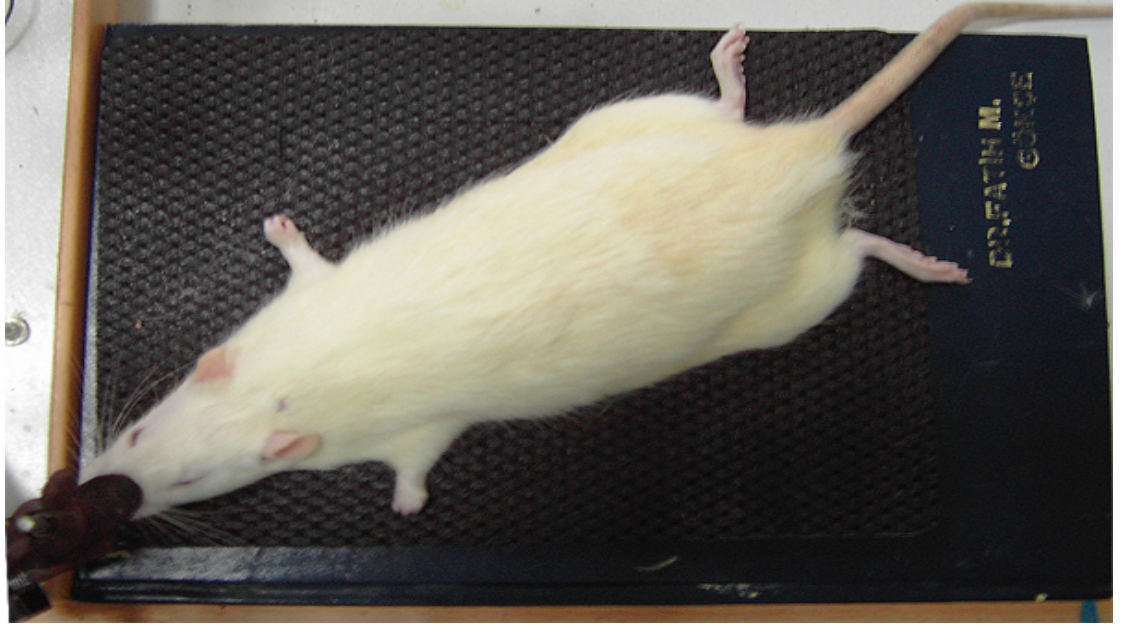
3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

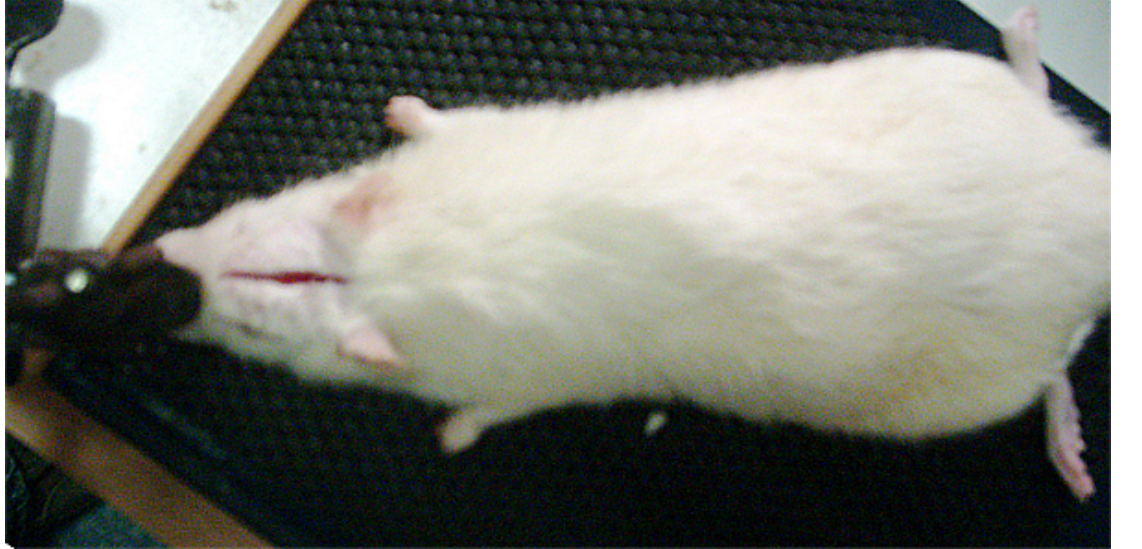
Çalışma A.İ.B.Ü Düzce Tıp Fakültesi Deneysel Hayvan Laboratuvarında 12L:12D fotoperiyodunda besin ve su alımları ad-libitum, oda sıcaklığı 23 °C de, yetiştirilmiş erkek albino Wistar cinsi sıçanlar ile gerçekleştirildi. Hayvanların yaşını sabit tutmak için 4 ile 5 aylık sıçanlar tercih edildi. Bu deney için toplam 20 hayvan kullnıldı fakat istatistiksel olarak, her grupta 7 hayvan olmak üzere toplam 14 hayvandan alınan kayıtlar değerlendirildi. Deneyler için kontrol (n=7) ve NPY verilecek grup (n=7) olmak üzere 2 farklı grup oluşturuldu.

3.2. Operatif Prosedür

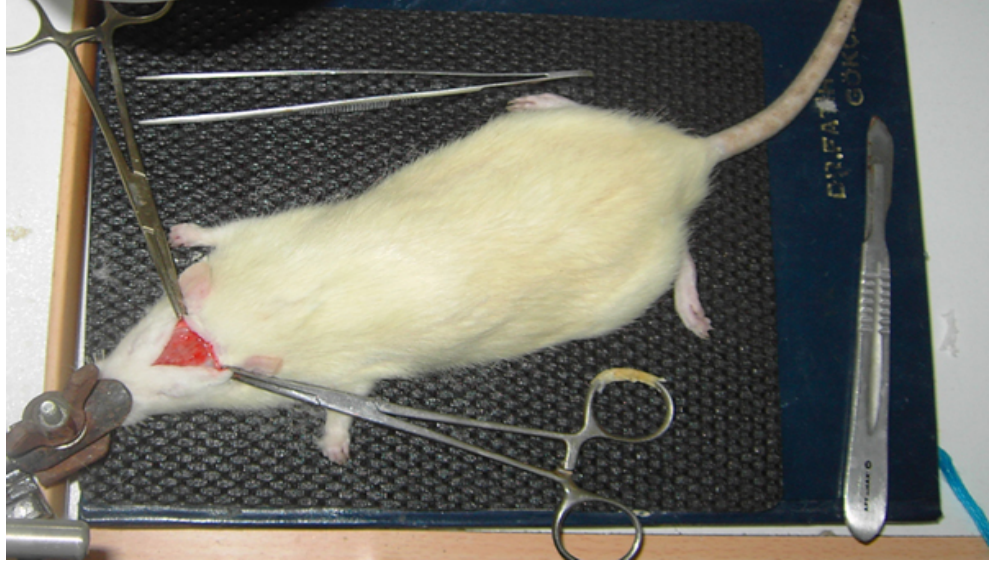
Hayvanların tümü operasyondan 12 saat önce aç bırakıldı. 230-270 gr ağırlığındaki erkek Wistar cinsi sıçanlar 1.25 gr/kg üretan ile anesteziye alındıktan sonra operasyon masasına yüzüstü yatırılan hayvan, üst çenesinden operasyon masasına tespit edildi. Baş bölgesi traş edildikten sonra, kafa derisi orta hat boyunca önden arkaya doğru bisturi ile kesildi. Kafa kemiği üzerindeki yumuşak doku hassas bir şekilde sıyrılarak kaldırıldı. Böylece kraniotomi yapılacak bölgenin ve Bregma hattının rahatça görülmesi sağlandı. Daha sonra sol serebral korteks üzerindeki kemik, diş hekimliğinde kullanılan tur motoruyla (Proxxon Minimoto 40/E) inceltilerek dikkatlice kaldırıldı. Kemiği kaldırma işlemi sırasında bölgedeki ısı artışını bertaraf etmek için bölgeye sık sık 37 °C sıcaklıkta SF damlatıldı. Deney esnasında olabilecek kanamaları önlemek için bir koter (elektronik koagulator, Elektro-Mag 75) hazır bulunduruldu. Sol hemisfer üzerinde (somatomotor korteks) Bregma hattının lateralinde açılan geniş alanda havuz oluşturularak gümüş-gümüş klorür top elektrotlar yerleştirildi.



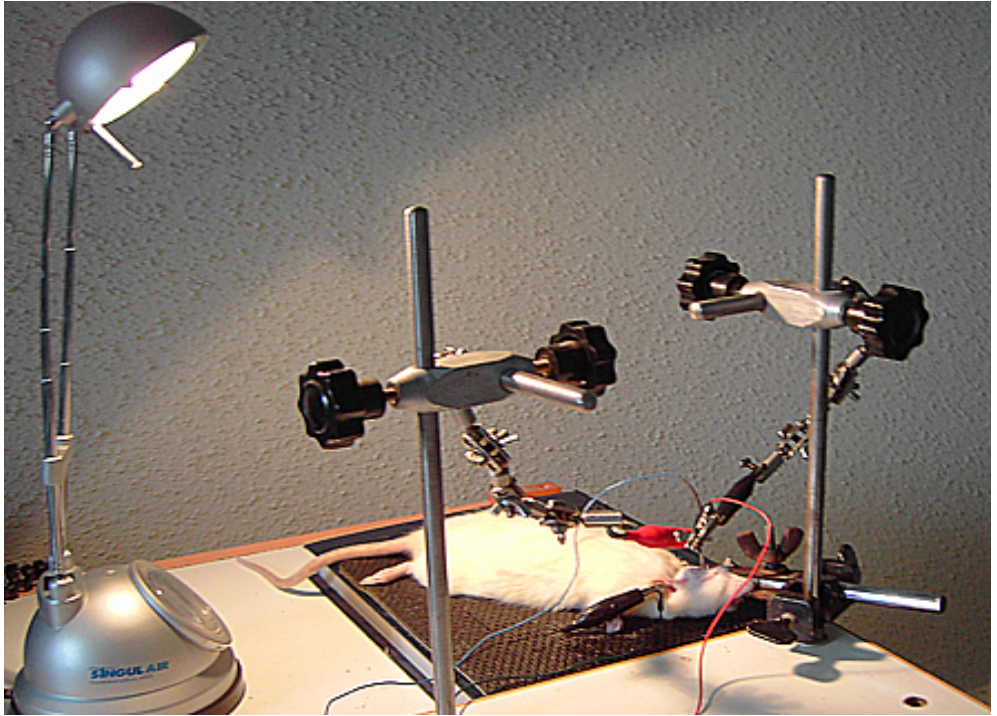
Şekil 3.1: Anesteziden sonra opresyon masasına yerleştirilen hayvan



Şekil 3.2:Kafa derisi orta hat boyunca kesilmiş hayvan



Şekil 3.3.:Operasyon için kafa derisinin açılması



Şekil 3.4:Kafa tası açıldıktan sonra elektrotların yerleştirilmesi

3.3. NPY enjeksiyonu ve ECoG Kayıtları

Elektrotlar yerleştirildikten itibaren PowerLab/8SP veri kayıt sistemi ile baseline kayıtlar alınmaya başlandı. Kontrol grubunda oluşturulan epilepsinin penisilinden dolayı olduğunu kontrol etmek amacıyla, kayıtlar alınmaya başlandıktan 5-10 dakika sonra Bregma hattının 1.5-2 mm lateraline, 1 mm önüne ve 1.2 mm derinliğe Hamilton mikroenjektörü ile % 0.9'luk serum fizyolojik (SF) 2.5 µl hacimde intrakortikal yolla verildi. Bazal aktivitede hiçbir değişiklik olmadığından iyice emin olunduktan sonra aynı bölgeye 500 IU (2.5 µl hacim içinde) penisilin G potasyum intrakortikal yolla uygulandı ve kayıt alınmaya devam edildi. Penisilin uygulanmasını takiben ECoG kayıtlarında bazal aktivitede geçici bir inhibisyon oluştu. Yaklaşık 2-5 dk. sonra önce tek-tük daha sonra gittikçe sıklaşan diken-dalga aktivitesi görülmeye başladı. NPY grubunda ise kayıtlar alınmaya başlandıktan 5 - 10 dakika sonra Bregma hattının 1.5-2 mm lateraline, 1 mm önüne ve 1.2 mm derinliğe Hamilton mikro enjektörü ile 500 IU (2.5 µl hacim içinde) penisilin G potasyum intrakortikal yolla verildi ve kayıt alınmaya devam edildi. Penisilin uygulanmasından yaklaşık 2-5 dk. sonra önce tek-tük daha sonra gittikçe sıklaşan diken-dalga aktivitesi görülmeye başladı ve hayvan nöbete girdikten (yaklaşık 30 dk) sonra intrakortikal yolla 1.2 mm derinliğe Hamilton mikroenjektörü ile 400 pm/2.5 µl hacimde neuropeptide Y (NPY) (Sigma N5017) uygulandı ve kayıtlar alınmaya devam edildi. Kontrol grubuna ise aynı hacimde serum fizyolojik verildi. Bu işlemler esnasında hayvanın vücut ısısı 36.5-37.5 °C arasında sabit tutuldu. Kayıt işlemi sona eren hayvan usulüne ve etik kurallara uygun olarak dekapite edilerek yaşamına son verildi.

3.4. ECoG Analizleri ve istatistiksel analizler

PowerLab/8SP sistemi ile alınan kayıtların analizleri Chart 5 programı yardımıyla istatistiksel olarak değerlendirildi. Veriler istatistiksel olarak SPSS 11.0 programı yardımı ile independent t testi kullanılarak değerlendirildi.



Şekil 3.5. PowerLab/8SP AD instruments



Şekil 3.6.ECOG kaydı alınırken bilgisayar ekranındaki görüntü ve PowerLab/8SP AD instruments düzeneği

4.BULGULAR

NPY grubu ve Kontrol grubuna ait amplitüd ve frekans değerleri zamana bağımlı olarak değerlendirildi. Elde edilen bulgulara göre gruplar kendi aralarında istatistiksel olarak karşılaştırılarak değerlendirildi.

Elde edilen ölçümlere ait tanımlayıcı istatistikler ortalama $\pm$ standart sapma olarak tablo halinde verilmiştir. Farklı zaman dilimlerinde alınan her bir ölçüm bakımından NPY ve kontrol grubunun karşılaştırılmasında independent t testi kullanılmıştır. İstatistiksel analizler sonucunda $P<0.05$ değerleri anlamlı olarak kabul edilmiştir.

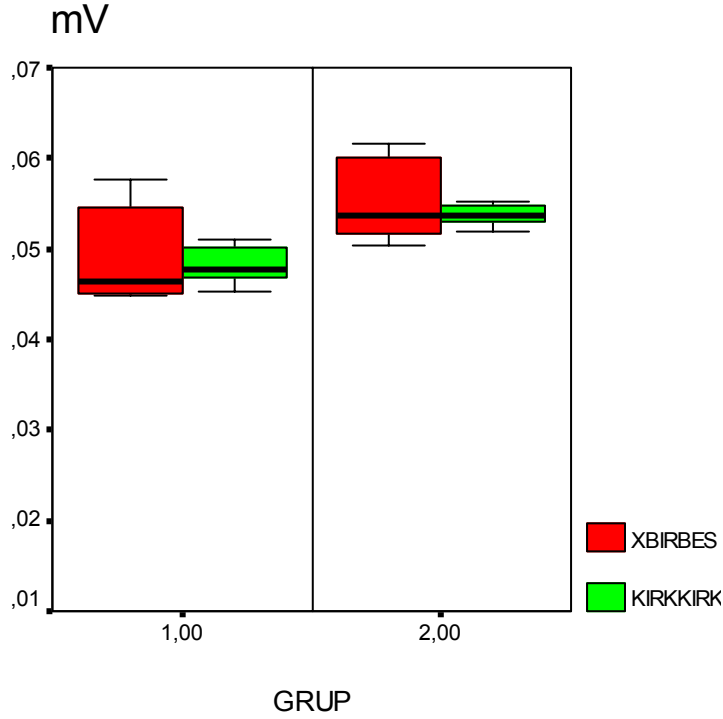
Farklı zamanlarda ölçülen amplitüd değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve NPY ile kontrol grubunun karşılaştırılmasına ait sonuçlar Tablo 4.1’de verilmiştir. Tablo incelendiğinde her iki grupta da zaman ilerledikçe amplitüd ortalamasında bir düşmenin meydana geldiği görülmektedir. Ancak 40-45.dakikaları içine alan kayıt dilimlerinden itibaren NPY grubundaki amplitüd değerlerindeki azalmanın daha belirgin olduğu istatistiksel olarak da saptanmıştır.

Tablo 4.1’de 40-45, 45-50, 50-55, 60-65 ve 70-75. dakikalar arasında ise düşüş daha belirgin bir şekilde görülmektedir. 40-45. dakikalar arasındaki ortalama amplitüd değerleri NPY grubunda 0.0494 ± 0.0044 mV iken kontrol grubunda 0.0542 ± 0.0020 mV dir. 45-50. dakikalar arasındaki ortalama amplitüd değerleri NPY grubunda 0.0504 ± 0.0046 mV iken kontrol grubunda 0.0559 ± 0.0044 mV dir. 50-55. dakikalar arasındaki ortalama amplitüd değerleri NPY grubunda 0.0492 ± 0.0048 mV iken kontrol grubunda 0.0562 ± 0.0048 mV dir. 60-65. dakikalar arasındaki ortalama amplitüd değerleri NPY grubunda 0.0507 ± 0.0040 mV iken kontrol grubunda 0.0560 ± 0.0052 mV dir. 70-75. dakikalar arasındaki ortalama amplitüd değerleri NPY grubunda 0.0509 ± 0.0036 mV iken kontrol grubunda 0.0557 ± 0.0047 mV dir ($p<0.05$).

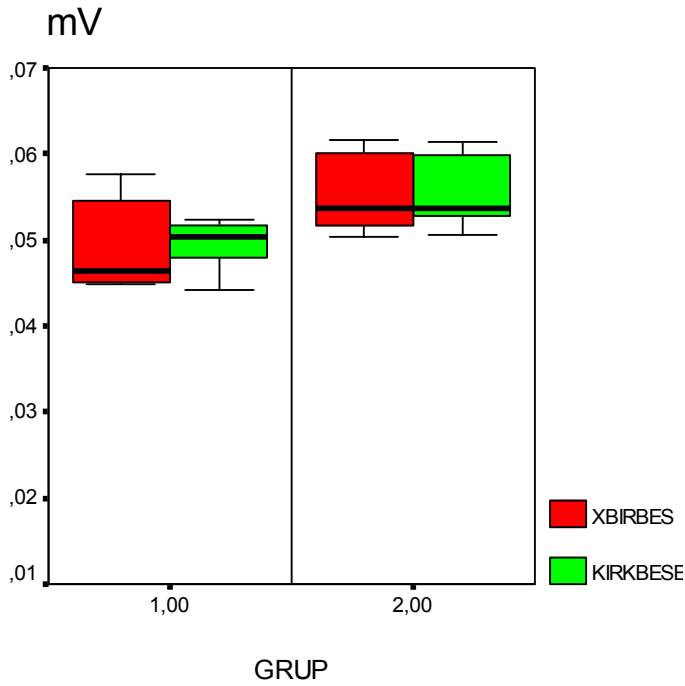
Tablo 4.1. Kontrol ve NPY gruplarında zamana bağımlı amplitüd yönünden karşılaştırılmasından elde edilen istatistiki değerler. * ile işaretli alanlar anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$).

zaman	Grup	N	Mean	Std. Deviation	P
Xbirbes	1,00	7	,0463	,01240	0.092
	2,00	7	,0556	,00493	
Birbes	1,00	7	,0467	,01249	0.13
	2,00	7	,0552	,00448	
Beson	1,00	7	,0525	,00482	0.232
	2,00	7	,0557	,00481	
Ononbes	1,00	7	,0515	,00493	0.162
	2,00	7	,0553	,00457	
onbesyirmi	1,00	7	,0521	,00434	0.197
	2,00	7	,0556	,00522	
yirmiyirmibes	1,00	7	,0510	,00593	0.108
	2,00	7	,0559	,00448	
yirmibesotus	1,00	7	,0545	,00726	0.710
	2,00	7	,0558	,00550	
otusotusbes	1,00	7	,0516	,00510	0.144
	2,00	7	,0556	,00444	
otubeskirk	1,00	7	,0521	,00468	0.189
	2,00	7	,0569	,00765	
kirkkirkbes	1,00	7	,0494	,00446	0.024*
	2,00	7	,0542	,00207	
kirkbeselli	1,00	7	,0504	,00462	0.041*
	2,00	7	,0559	,00442	
elliellibes	1,00	7	,0492	,00481	0.019*
	2,00	7	,0562	,00485	
ellibesatmis	1,00	7	,0513	,00589	0.192
	2,00	7	,0551	,00416	
atmatmbes	1,00	7	,0507	,00401	0.050*
	2,00	7	,0560	,00529	
atmbesyetmis	1,00	7	,0508	,00407	0.093
	2,00	7	,0554	,00527	
yetyetbes	1,00	7	,0509	,00369	0.050*
	2,00	7	,0557	,00473	
yetbessek	1,00	7	,0509	,00434	0.121
	2,00	7	,0552	,00535	
seksekbes	1,00	7	,0510	,00529	0.085
	2,00	7	,0560	,00451	
sekbesdok	1,00	6	,0512	,00448	0.147
	2,00	7	,0555	,00516	

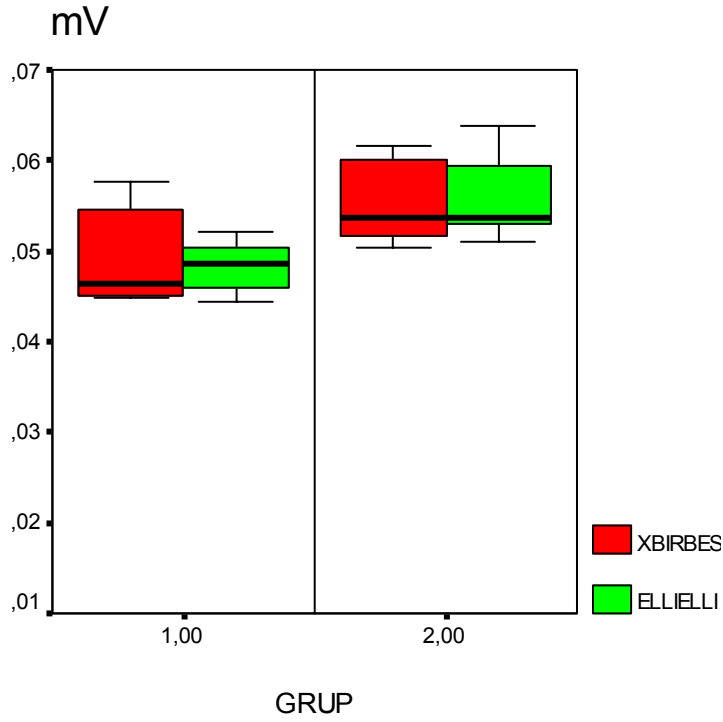
Tablo 4.2. İlk beş dakika (penisilin verilmeden önce) ve penisilin verilmesini takip eden kırk-kırkbeşinci dakikalar arasındaki kayıtların amplitüd yönünden karşılaştırılması



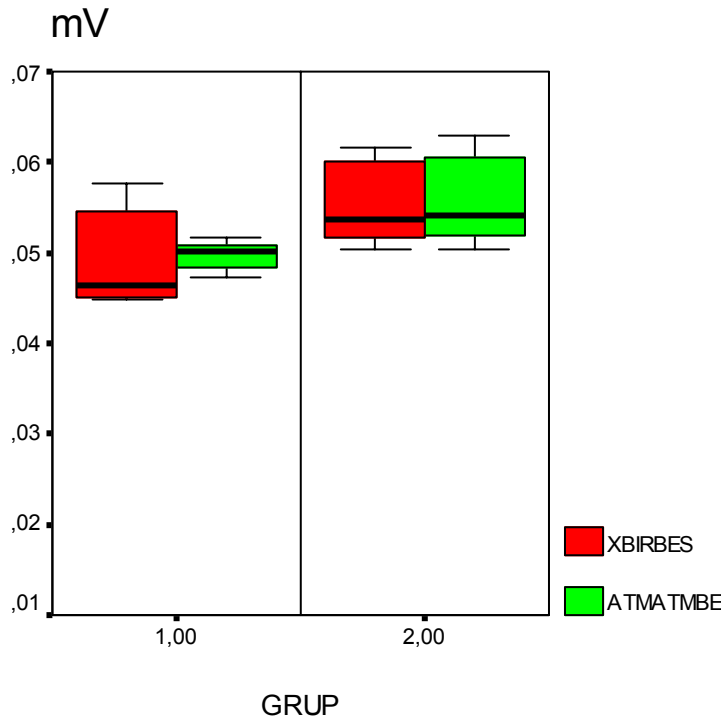
Tablo 4.3. İlk beş dakika (penisilin verilmeden önce) ve penisilin verilmesini takip eden kırkbeş-ellinci dakikalar arasındaki kayıtların amplitüd yönünden karşılaştırılması



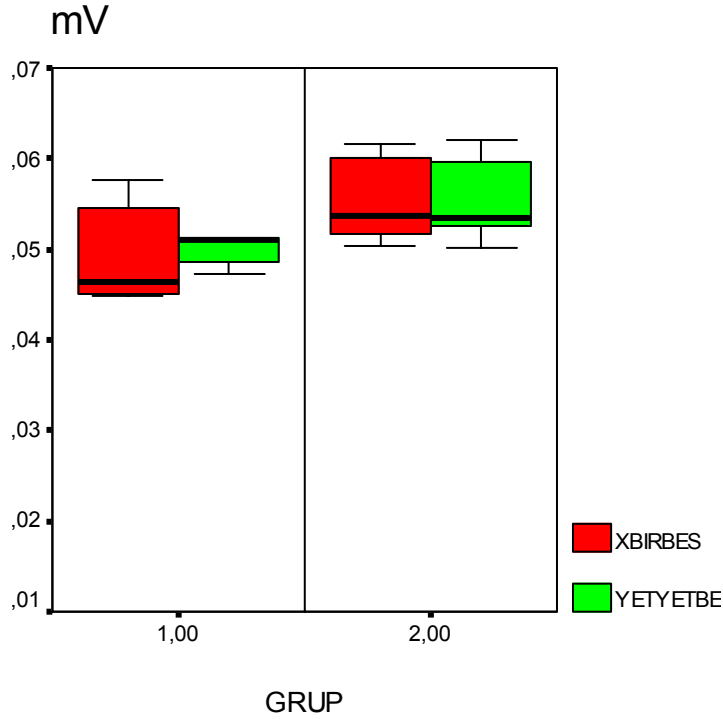
Tablo 4.4. İlk beş dakika (penisilin verilmeden önce) ve penisilin verilmesini takip eden elli-ellibeşinci dakikalar arasındaki kayıtların amplitüd yönünden karşılaştırılması



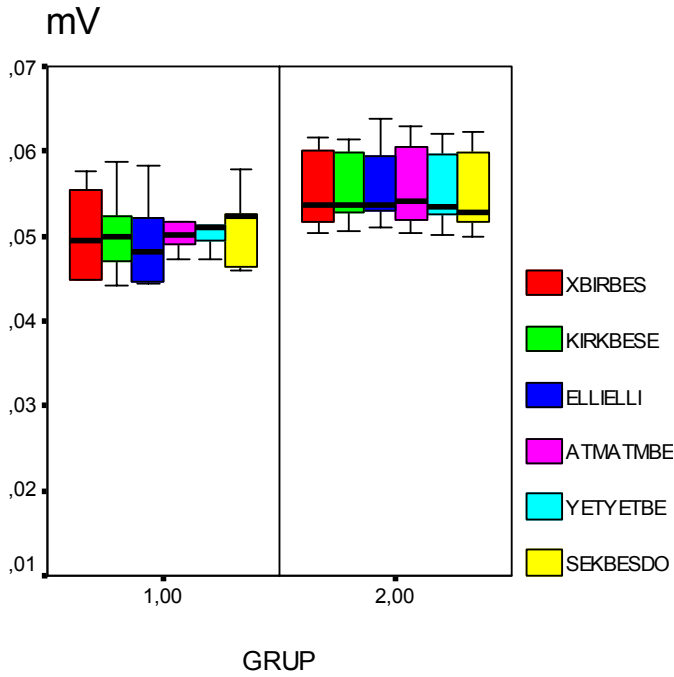
Tablo 4.5. İlk beş dakika (penisilin verilmeden önce) ve penisilin verilmesini takip eden atmış-atmışbeşinci dakikalar arasındaki kayıtların amplitüd yönünden karşılaştırılması



Tablo 4.6. İlk beş dakika (penisilin verilmeden önce) ve penisilin verilmesini takip eden yetmiş-yetmişbeşinci dakikalar arasındaki kayıtların amplitüd yönünden karşılaştırılması



Tablo 4.7. İlk beş dakika (penisilin verilmeden önce) , kırk-kırkbeş , kırkbeş elli,elli-ellibeş,atmış atmışbeş,yetmiş-yetmişbeş ve sekse-doksanıncı dakikalar arasındaki kayıtların amplitüd yönünden karşılaştırılması



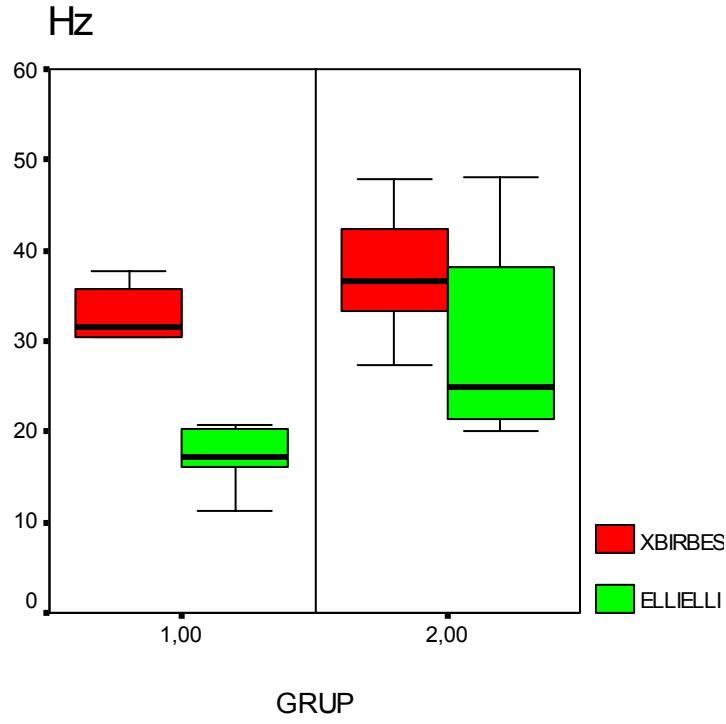
Farklı zamanlarda ölçülen ortalama frekans (diken dalga sayısı) değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve NPY ile kontrol grubunun karşılaştırılmasına ait sonuçlar verilmiştir Tablo.4.8. de verilmiştir.Tablo incelendiğinde, NPY uygulaması sonrası ilk beş dakikada NPY grubunda epileptik deşarjların kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazla düştüğü görülmektedir. Yine her iki grupta da zaman ilerledikçe frekans (diken dalga sayısı/dak.) ortalamasında bir düşmenin meydana geldiği görülmektedir. Ancak 55-60.dakikalar aralığı hariç olmak üzere 50-55.dakikadaki ölçümden itibaren NPY grubundaki azalma daha fazla olup genel olarak bu gruptaki düşüş kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha fazladır.

Tablo 4.8. de 50-55, 60-65, 65-70, 70-75, 75-80 , 80-85, 85-90 nıncı dakikalar arasında NPY grubundaki frekans değerlerindeki düşüş daha belirgin olarak görülmektedir.50-55.dakikalar arasındaki ortalama frekans değeri NPY grubunda 17.0667 ± 3.5137 Hz iken Kontrol grubunda ise 30.2857 ± 11.1084 Hz dir.60-65. dakikalar arasındaki ortalama frekans değeri NPY grubunda 17.6667 ± 5.4767 Hz iken kontrol grubunda 27.9143 ± 9.2541 Hz dir.65-70.dakikalar arasındaki ortalama frekans değeri NPY grubunda 15.9333 ± 6.7665 Hz iken kontrol grubunda 27.9143 ± 9.6110 Hz dir. 70-75. dakikalar arasındaki ortalama frekans değeri NPY grubunda 15.5000 ± 7.8686 Hz iken kontrol grubunda 30.2000 ± 11.9197 Hz dir. 75-80. dakikalar arasındaki ortalama frekans değeri NPY grubunda 14.5000 ± 7.4369 Hz iken kontrol grubunda 28.9714 ± 11.2868 Hz dir. 80-85. dakikalar arasındaki ortalama frekans değeri NPY grubunda 13.8583 ± 8.1498 Hz iken kontrol grubunda 29.4286 ± 10.3392 Hz dir. 85-90. dakikalar arasındaki ortalama frekans değeri NPY grubunda 14.0267 ± 10.4784 Hz iken kontrol grubunda 30.2143 ± 10.9048 Hz dir.

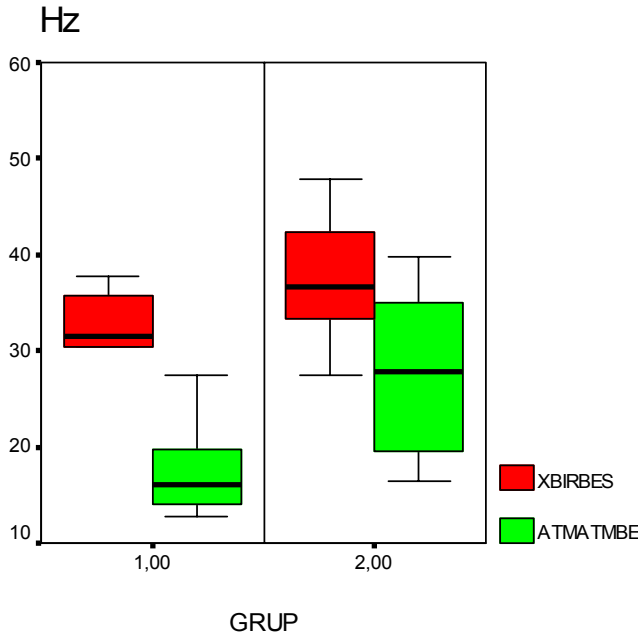
Tablo 4.8. Kontrol ve NPY gruplarında zamana bağımlı frekans yönünden karşılaştırılmasından elde edilen istatistiki değerler. * ile işaretli alanlar anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$).

zaman	Grup	N	Mean	Std. Deviation	P
xbirbes	1,00	7	31,8857	7,29827	0.161
	2,00	7	37,6286	7,08089	
birbes	1,00	7	16,8000	9,08772	0.001
	2,00	7	33,8571	5,73726	
beson	1,00	7	30,3143	14,25008	0.849
	2,00	7	31,4286	5,29582	
ononbes	1,00	7	28,5714	11,65243	0.632
	2,00	7	30,9429	5,19579	
onbesyirmi	1,00	7	25,5714	7,29971	0.239
	2,00	7	29,6000	4,54606	
yirmiyirmibes	1,00	7	23,2571	6,79776	0.156
	2,00	7	28,1143	5,06867	
yirmibesotus	1,00	7	22,1714	6,06237	0.088
	2,00	7	27,6000	4,81664	
otusotusbes	1,00	6	22,4667	5,04487	0.224
	2,00	7	26,0857	5,04890	
otubeskirk	1,00	6	20,8000	2,98262	0.112
	2,00	7	29,0000	11,49609	
kirkkirkbes	1,00	6	19,5333	3,37678	0.072
	2,00	7	26,9143	8,70468	
kirkbeselli	1,00	6	19,4667	3,74949	0.077
	2,00	7	30,5143	13,56115	
elliellibes	1,00	6	17,0667	3,51378	0.019*
	2,00	7	30,2857	11,10847	
ellibesatmis	1,00	6	19,7333	10,24318	0.328
	2,00	7	25,4000	9,70361	
atmatmbes	1,00	6	17,6667	5,47674	0.042*
	2,00	7	27,6000	9,25419	
atmbesyetmis	1,00	6	15,9333	6,76658	0.027*
	2,00	7	27,9143	9,61101	
yetyetbes	1,00	6	15,5000	7,86867	0.026*
	2,00	7	30,2000	11,91973	
yetbessek	1,00	6	14,5000	7,43693	0.022*
	2,00	7	28,9714	11,28682	
seksekbes	1,00	6	13,8583	8,14987	0.013*
	2,00	7	29,4286	10,33920	
sekbesdok	1,00	5	14,0267	10,47840	0.028*
	2,00	7	30,2143	10,90480	

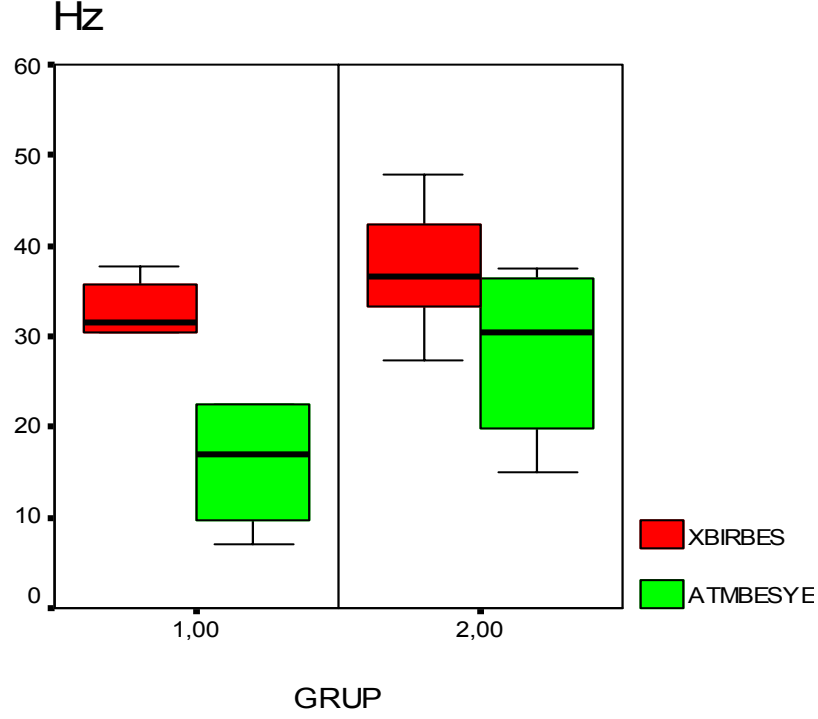
Tablo 4.9. İlk beş dakika (penisilin verilmeden önce) ile elli-ellibeşinci dakikalar arasındaki kayıtların frekans yönünden karşılaştırılması



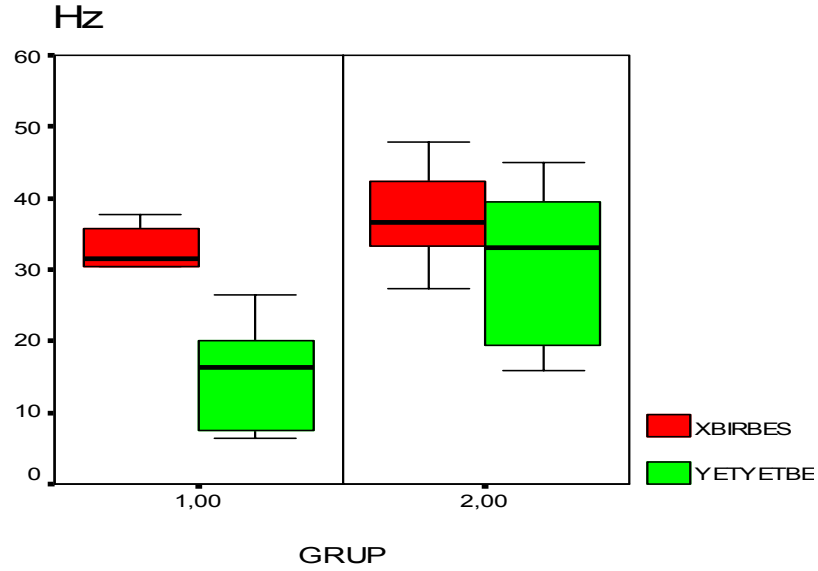
Tablo 4.10. İlk beş dakika (penisilin verilmeden önce) ile atmış-atmışbeşinci dakikalar arasındaki kayıtların frekans yönünden karşılaştırılması



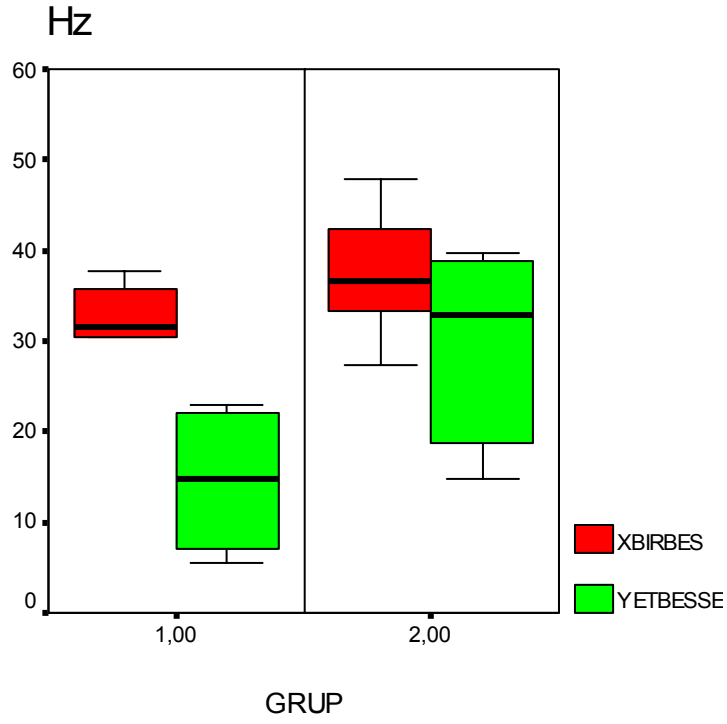
Tablo 4.11. İlk beş dakika (penisilin verilmeden önce) ile atmışbeş- yetmişinci dakikalar arasındaki kayıtların frekans yönünden karşılaştırılması



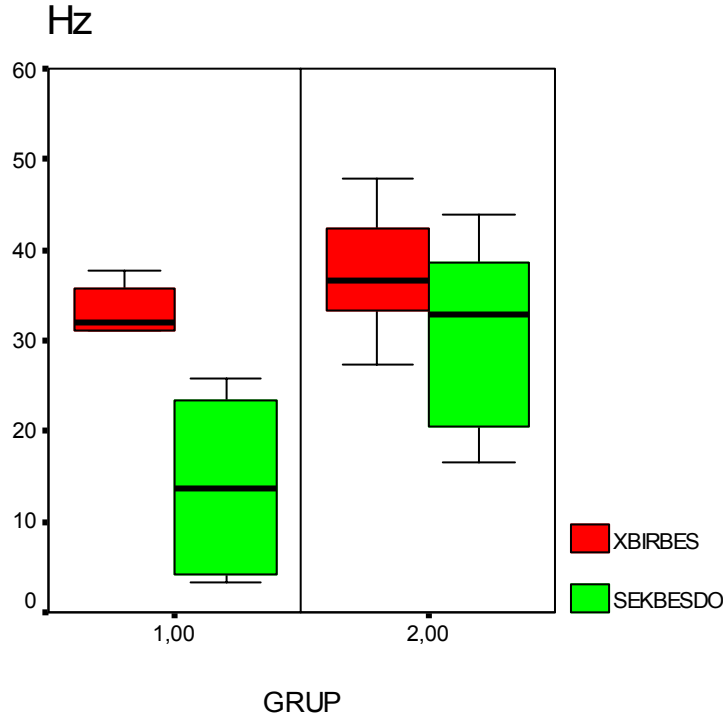
Tablo 4.12. İlk beş dakika (penisilin verilmeden önce) ile yetmiş-yetmişbeşinci dakikalar arasındaki kayıtların frekans yönünden karşılaştırılması



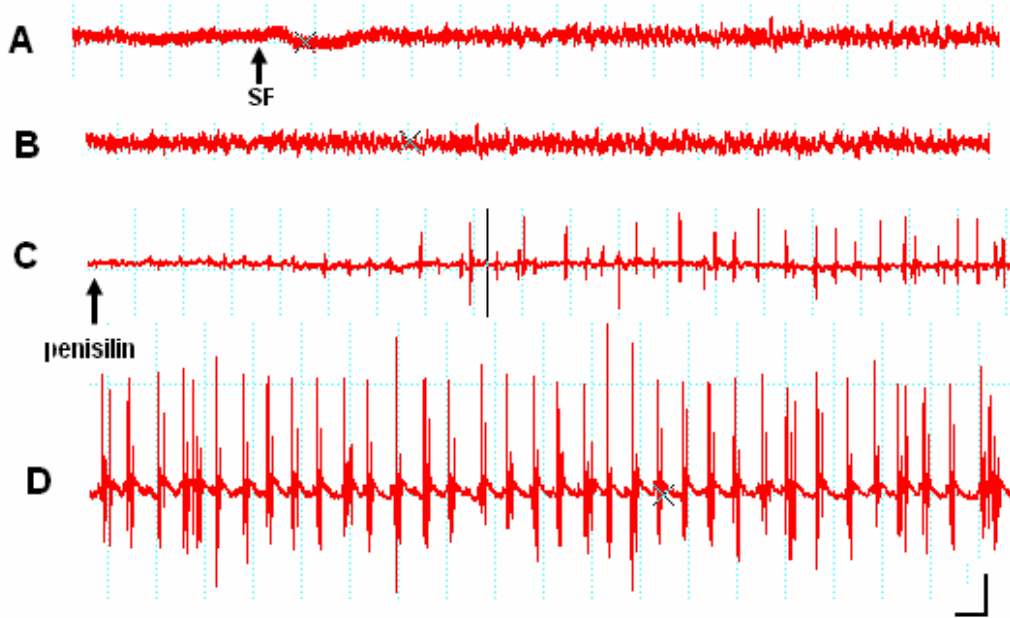
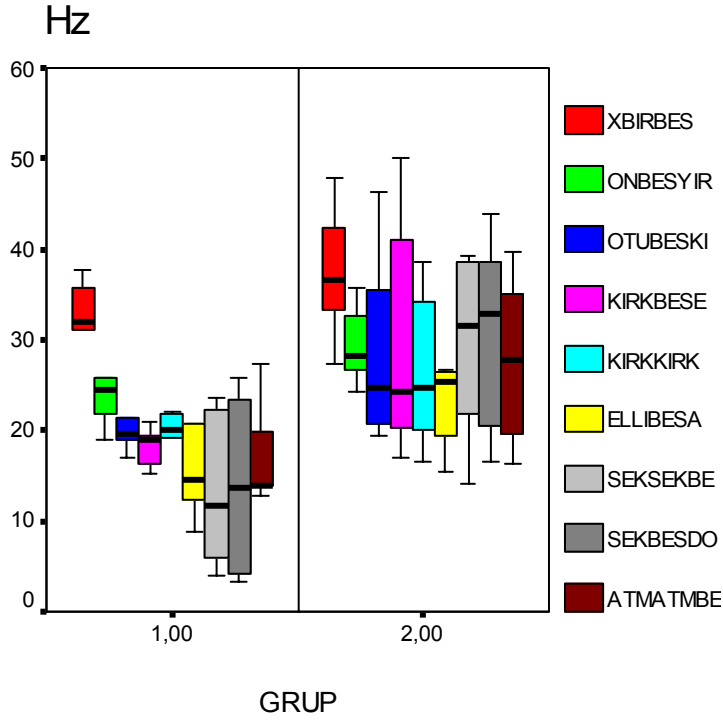
Tablo 4.13. İlk beş dakika (penisilin verilmeden önce) ile yetmişbeş-sekseninci dakikalar arasındaki kayıtların frekans yönünden karşılaştırılması



Tablo 4.14. İlk beş dakika (penisilin verilmeden önce) ile seksenbeş-doksanıncı dakikalar arasındaki kayıtların frekans yönünden karşılaştırılması

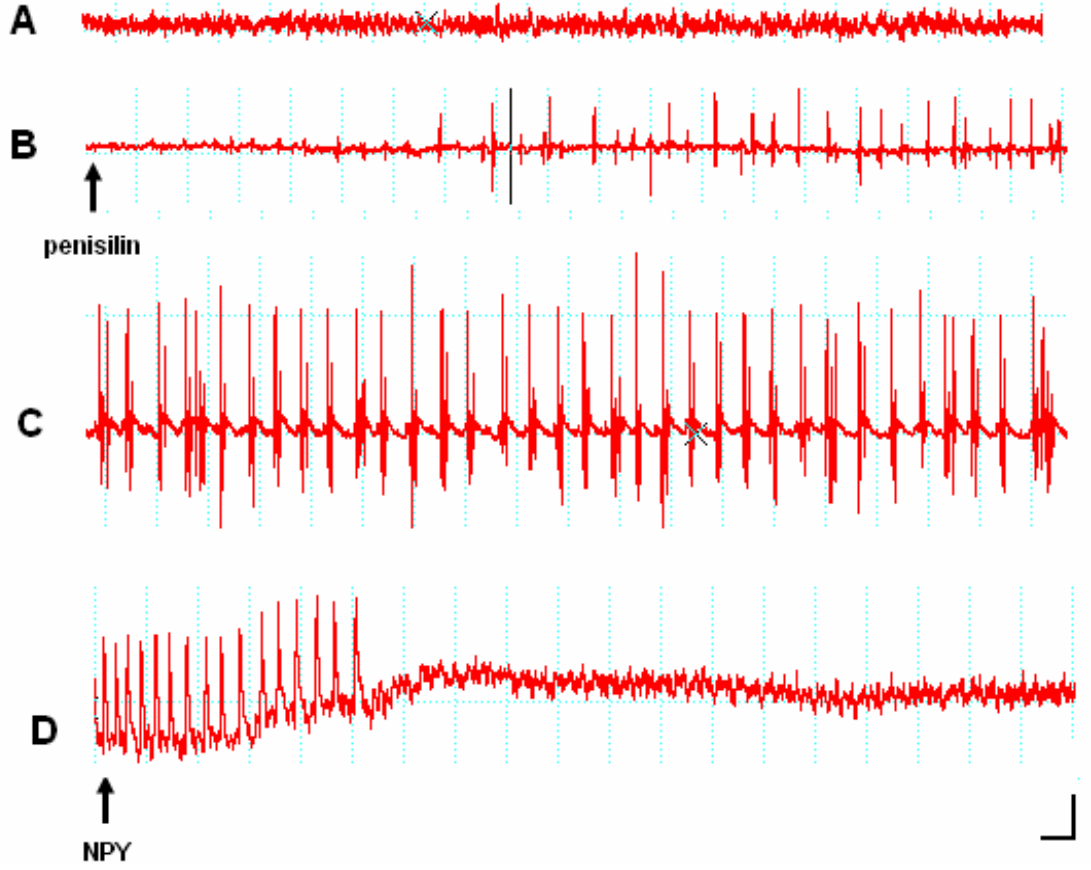


Tablo 4.15. İlk beş dakika (penisilin verilmeden önce) ile onbeşyirmi, otuzbeş-kırk,kırk-kırkbeş,ellibeş-atmış,seksen-seksenbeş,seksenbeş-doksan,atmış-atmışbeşinci dakikalardaki kayıtların frekans yönünden karşılaştırılması



Şekil 4.1. Kontrol grubu bir hayvandan alınan ECoG kayıtları. Oklar madde enjeksiyonlarını göstermektedir. A: Bazal aktivite üzerine % 0.9'luk serum fizyolojik enjeksiyonu (2.5 µl, i.c.v), B: Bazal aktivite kaydının devamı, C: Penisilin G (500 IU, 2.5 µl, i.c.v) uygulanmasını takiben epileptik spike'ların oluşumu, D: Penisilinden 30

dk sonra alınan kayıtlarda olgunlaşmış spike'ların görünümü. Vertikal bar: 600 μ V, horizontal bar: 500 ms.



Şekil 4.2. Nöropeptid Y (NPY) grubu bir hayvandan alınan ECoG kayıtları. Oklar madde enjeksiyonlarını göstermektedir. A: Bazal aktivite kaydının devamı, B: Penisilin G (500 IU, 2.5 μ l, i.c.v) uygulanmasını takiben epileptik spike'ların oluşumu, C: Penisilinden 30 dk sonra alınan kayıtlarda olgunlaşmış spike'ların görünümü. D: NPY (400 pm, 2.5 μ l, i.c.v) uygulanmasını takiben gerçekleşen inhibisyonun görünümü. Vertikal bar: 600 μ V, horizontal bar: 500ms.

5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Günümüzde hem epilepsinin sebepleri hemde tedavisine yönelik bir çok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda en fazla deneysel epilepsi modellerinin geliştirilmesi üzerinde durulmuştur. Bu modellerden en çok bilineni pentilentetrazol, pikrotoksin, kainik asit, demir, çinko ve penisilin modelidir. Deneysel epilepsi modellerinde bir çok prokonvülsan ve antikonvülsan madde çalışılmıştır. Yapılan bir çok araştırmada NPY ile epilepsi arasında bir ilişki olduğu gösterilmiştir. Pikrotoksinle oluşturulan epilepside, 0-Mg⁺² modelinde, Kainik asit modelinde ve temporal lob epilepsi modelinde NPY'nin antiepileptik olduğu gösterilmiştir. Stroud ve ark 6 ve 12 nmol NPY'nin i.c.v uygulanması sonucunda nöbetin baskılanmasında herhangi bir etkisinin olmadığını gösterdiler. Smialowska ve ark (1996) pikrotoksinle oluşturdukları deneysel epilepside 0.1-0.5 µM NPY verdiklerinde hipokampal kesitlerde NPY nin epileptiform aktiviteyi inhibe ettiğini gösterdiler. Aynı araştırmacılar hipokampal CA1 ve CA3 piramidal hücrelerinde Y2 reseptör agonistleri (NPY 13-36) kullandıklarında NPY nin etkisine benzer sonuçlar bulmuşlardır. Davranış çalışmalarında da doza bağlı olarak farklı sonuçlar elde edilmiştir. Sıçanların CA1 bölgelerine implante edilen kanüller aracılığı ile 1 mg pikrotoksin (1.6 nmol) verildiğinde epileptik davranışlar gözlenmiştir. Daha sonra ise 2 mikrogram (470 pmol) NPY verildiğinde pikrotoksine bağlı epileptik davranışların kaybolduğu fakat 1 mikrogram NPY verildiğinde ise epileptik davranışların değişmediği gösterilmiştir. Bijak ve Smialowska (1995) pikrotoksinin ve elektrik stimülasyonunun sebep olduğu epileptik aktivitede NPY'nin CA1 hücre gövdesinde deşarj sayısını düşürdüğünü göstermişlerdir. Diğer bazı çalışmalarda NPY, Bazal ön beyin (BF) bölgesine direkt olarak verildiğinde kortikal EEG de yavaş dalgalar belirmiş ve hızlı aktivite düşmüştür. Toth ve ark. (2005) yaptıkları çalışmada BF bölgesine 0.5 µl lik hacimde 300-500 pmol ekzojen NPY uyguladıklarında EEG 'de delta gücünde anlamlı bir artış görürken teta, alfa ve beta bandlarında ise anlamlı bir azalma görmüşlerdir. NPY'nin bu etkisi 20 ve 30 dakika arasında enyüksek seviyeye ulaşmıştır. (Kindling modeli(19) epilepside) Kainik asitle oluşturulan epilepside granül hücrelerinde Y2 m RNA seviyesinin arttığı gösterilmiştir (Gobbi ve ark., 1998). Aynı çalışmada Y2 reseptörünün dentate gyrusun hilusunda ve CA1'de artarken Y1 reseptörünün seviyesinin azaldığı gösterilmiştir. Kofler ve ark. (1997)

kainik asitle oluşturulan limbik nöbetlerin sonrasında NPY üretiminin hipokampal granül hücrelerinde (mossy fiberlerde) arttığını göstermişlerdir. Ayrıca bu nöronlarda NPY Y1 reseptörünün de arttığı gösterilmiştir. Kainik asitin sebep olduğu nöbetlerden 6 saat sonra Y1 reseptör mRNA seviyesi granül hücrelerinde % 80 düşerken CA2 piramidal hücrelerde % 75 arttığını göstermişlerdir. Sonuç olarak da kainik asitin sebep olduğu epilepside hipokampal alanlarda Y1 reseptörlerinin down-regüle olduğu gösterilmiştir. Gall ve ark. (1990) kainik asitin sebep olduğu nöbetlerden 10 saat sonrasında spontan NPY gen ekspirasyonunun olduğunu CA1 piramidal nöronlarında gözlemlemişlerdir. Woldbye ve ark. (2005)'da in vivo kainik asit modelinde, lateral ventrikül içine yapılan NPY enjeksiyonuyla motor nöbet aktivitesinin baskılandığını göstermişlerdir. Aynı çalışma grubu NPY'nin nanomolar miktarlarda intraserebroventriküler uygulanmasının hipokampusta deşarj süresini kısalttığını da göstermişlerdir. Aynı çalışma grubunun kainik asitin sistemik uygulamasıyla meydana gelen motor ve EEG nöbetleri üzerine NPY'nin intraserebroventriküler enjeksiyonlarının Y5 reseptörü aracılığı ile antikonvülsan etkiye aracılık ettiğini bulmuşlardır. Vezzani ve ark. (1999a) elektriksel stimülasyonun sebep olduğu iktal (nöbet) benzeri davranışların NPY ve ilgili peptidlerle tamamıyla inhibe edildiğini ve bu inhibisyonun da Y2 reseptörlerinin nöbet sırasındaki davranışları ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir.

NPY'nin CA1 ya da CA3 nöronları üzerinde direkt bir postsinaptik etkisi bulunamamıştır (Colmers ve ark., 1987). Bundan dolayı olası antiepileptik etki Y2 reseptörlerinin aracılığı ile glutamat salınımının presinaptik inhibisyonuna bağlanabilir (Greber ve ark., 1994).

Biz çalışmamızda penisilin modeli deneysel epilepsi üzerinde NPY nin etkisine baktık. 400 pM NPY'yi intracortikal olarak nöbet esnasında verdik ve sonuç olarak NPY pikrotoksinle oluşturulmuş epilepsi modelinde olduğu gibi penisilin modeli epilepsi de de epileptiform aktiviteyi anlamlı şekilde inhibe etmiştir. Yapılan bu çalışma NPY'nin deneysel epilepsi modellerindeki inhibe edici etkisini desteklemektedir.

NPY'nin olası antiepileptik mekanizması şu şekilde olabilir. Nöbet aktivitesinin temelinde beyindeki inhibitör transmisyonun bozulması yatmaktadır (Rodi ve ark., 2003). Çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre NPY de GABA

inhibitör mekanizması gibi epilepsiyi engellemektedir. Çünkü NPY reseptörlerinin epilepside etkili oldukları *invivo* ve *invitro* çalışmalarla ve genetik çalışmalarla kanıtlanmıştır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda her ne kadar yeterli sayıda olmasa da spesifik çeşitli NPY reseptör antagonistleri ve agonistleri geliştirilmiştir ve bunlar yapılan deneylerde epilepsinin tedavisinde çok etkili oldukları gösterilmiştir.

Bizim çalışmamızda kullandığımız penisilin GABA antagonisti olan bikukullin'e yapısal olarak benzerlik gösterir Penisilin uygulanmasından sonra GABA'nın inhibisyon etkisi ortadan kalktığından glutamatın eksitatör etkisi dominant hale gelir. Glutamat, NMDA reseptörlerinin etkisiyle intrasellüler kalsiyum konsantrasyonunu artırır (10/11). Marangoz ve Bağırıcı, çalışmalarında 2.5 – 5 milyon U/kg penisilin G nin sistemik uygulanmasından 45 dakika sonra epileptiform diken dalgaları görmüşlerdir. Biz penisilini sistemik değil intrakortikal verdik ve yukarıdaki çalışmaya benzer olarak da 30. dakikadan sonra diken dalgaları görmeye başladık.

NPY'nin penisilin modeli deneysel epilepsi üzerindeki etkilerinin gösterilmemiş olması çalışmamızda bu modeli kullanmamızdaki etkenlerden bir tanesi olmuştur. Bu yönüyle çalışmamız orijinaldir. Diğer bir etken ise penisilinin etki mekanizmasıdır. Çünkü penisilin GABA'yı azaltarak epilepsi meydana getirmektedir. Ayrıca NPY ve GABA'nın aynı nöronlarda birlikte üretilmesi ve birlikte lokalize edilmesi bizim bu modeli seçmemizde etkili olmuştur.

Sonuç olarak diğer deneysel epilepsi modellerinde olduğu gibi NPY'nin penisilin modeli epilepsi üzerinde de inhibe edici etkisinin olduğunu gösterdik. Fakat bilindiği gibi NPY nin altı tane reseptörü bulunmaktadır. Bu reseptörlerden Y1 reseptörü ile prokonvülsan etki gösterirken Y2, Y4 ve Y5 reseptörleri ile antikonvülsan etki gösterdiği bulunmuştur. Bu çalışmada NPY'nin antiepileptik etkisinin Y2, Y4 ve Y5 reseptörleri aracılığı ile gerçekleştiğini düşünmekteyiz.

NPY, hücre içersine Ca^{+2} girişini azaltarak ve GABA ile kolokalizasyonundan dolayı GABA yı indükleyerek antiepileptik etki gösteriyor olabilir. Belki yakın gelecekte NPY sisteminin GABA gibi epilepsinin önlenmesinde önemli bir yere sahip olduğu anlaşılabilecek ve klinik nörolojik kullanımda kendisine bir yer bulabilecektir. Bu konuda ileriye dönük daha uzun süreli ve multidisipliner yaklaşımlı çalışmalar yapılması konunun aydınlatılmasına ışık tutacaktır.

6. KAYNAKLAR

- 1) Cığer A. Erişkinlerde Epilepsi. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji ders notları 2002; 5: 115-118.
- 2) Fisher RS. Animal models of the epilepsies. Brain Res Rev 1989; 14: 245-278.
- 3) Furtinger S, Pirker S, Czech T, Baumgartner C, Ransmayer G, Sperk G. Plasticity of Y1 and Y2receptors and neuropeptide Y fibers in patients with temporal lobe epilepsy. J Neurosci 2001; 21:5804-5812.
- 4) Dreifuss FE. The commission on classification and Terminology of the international Leagueagainst Epilepsy: Proposal for revised clinical an electroencephalographic classification of epileptic seizures. Epilepsia 1981; 22: 489-501.
- 5) Vezzani A, Sperk G, Colmers WF. Neuropeptide Y: emerging evidence for a functional role in seizure modulation. Trends Neurosci 1999a; 22: 25-30.
- 6) Meldrum B, Garthwaite J. Excitatory amino acid neurotoxicity and neurodegenerative disease. Trends Pharmacol 1990; 11: 379-387.
- 7) Lipton SA, Rosenberg PA. Excitatory amino acids as a final common pathway for neurological disorders. New Engl J Med 1994; 330: 613-622.
- 8) Bijak M. Neuropeptide Y suppresses epileptiform activity in rat frontal cortex and hippocampus in vitro via different NPY receptor subtypes. Neurosci Lett 1999; 268: 115-118.
- 9) Gu J, Lynch BA, Anderson D, Klitgaard H, Lu S, Elashoff M, Ebert U, Potschka H, Löscher W. The antiepileptic drug levetiracetam selectively modifies kindling-induced alterations in gene expression in the temporal lobe of rats. Euro J of Neurosci 2004; 19: 334-345.
- 10) Löscher W, Schmidt D. Strategies in antiepileptic drug development: is rational drug design superior to random screening and structural variation? Epilepsy Res 1994; 17: 95-134.
- 11) Biziere K, Chambon JP. Animal models of epilepsy and experimental seizures. Rev Neural (Paris) 1987; 143: 329-340.
- 12) Walker AE, Johnson HC. Convulsive factor in commercial penicilin. Arch Surg 1945; 50: 69-73.
- 13) De Deyn PP, D'Hooge R, Marescau B et al. Chemical models of epilepsy with some reference to their applicability in the development of anticonvulsants. Epilepsy Res 1992; 12: 87-110.

- 14) Matsumoto H, Ajmane MC. Cortical cellular phenomena in experimental epilepsy : interictal manifestations. *Exp Neurol* 1964; 9: 286-304.
- 15) Schwartzkroin PA, Wheal H. *Electrophysiology of Epilepsy*. London Academic Press 1984; 277-301.
- 16) Noebels JL, Pedley TA. Anatomic localization of topically applied penicilin during experimental focal epilepsy in cat neocortex. *Brain Res* 1977; 125: 293-303.
- 17) Prince DA, Wilder BJ. Control mechanisms in cortical epileptogenic foci. *Arch Neurol* 1967; 16: 194-202.
- 18) MacDonald RL, Barker JL. Pentilenetetrazole and penicilin are selective antagonists of GABA mediated postsynaptic inhibition cultured mammalian neurons. *Nature* 1977; 267-721.
- 19) Hill RG, Simmonds MA, Straughn DW. A comparative study of some convulsant substances as gamma-aminobutyric acid antagonist in the feline cerebral cortex. *Br J Pharmacol* 1973; 49: 37-51.
- 20) Dingledine R, Gjerstad L. Reduced inhibition during epileptiform activity in the in vitro hippocampal slice. *J Physiol (Lond)* 1980; 305: 297-313.
- 21) Marangoz C. Deneysel epilepsi modelleri. *O.M.Ü Tıp Dergisi* 1997; 14: 147-186.
- 22) Prince DA, Farrel D. "Centrencephalic" spike-wave discharges following parenteral penicillin injection in the rat. *Neurology* 1969; 19: 309-310.
- 23) Gloor P. *Electrophysiology of generalized epilepsy*. London Academic Press, 1984; 107-136.
- 24) Hokfelt T. Neuropeptides in perspective: the last ten years. *Neuron* 1991; 7: 867-879.
- 25) Yannielli PC, Harrington ME. Neuropeptide Y in the mammalian circadian system: effects on light-induced circadian responses. *Peptides* 2001; 22: 547-556.
- 26) Carpenter MB, Sutin J. *Human Neuroanatomy* (1983). (8th ed). Maryland, Williams & Wilkins Press,
- 27) Nolte, J. *The Human Brain: An intraduction to its functional anatomy*. (1988). (2nd ed). St. Louis, Toronto, C.V. Mosby Company.
- 28) Demeter, S., Rosene D.L., Van Hoesen GW. Interhemispheric pathways of the hippocampal formation, presubiculum and entorhinal and posterior parahippocampal cortices in the Rhesus

- monkey: The structure and organisation of the hippocampal commissures. *J Comp Neurol.*, 1985; 223: 30-47.
- 29) Cohen, D.H., Sherman, S.M. The nervous system. In: Berne RM, Levy MN (ed) *Physiology* (1983). (2nd ed). St. Louis, Toronto, C.V. Mosby Company.
 - 30) Totterdell, S. Hayes, L. Non-pyramidal hippocampal projection neurons: a light and electron microscopic study. *Journal of Neurocytology* 1987; 16(4): 477-485.
 - 31) Lorante de N.R. Studies on the structure of the cerebral cortex. In: Continuation of the study of the ammonic system. *J Psychol Neurol* 1934 ; 46, 113-177.
 - 32) Mayer, A. Historical aspects of cerebral anatomy. (1971) (2nd ed). London, Oxford University Press, 230.
 - 33) Gaorskjaer, F.B. The hippocampal mossy fiber system of the rat studied with retrograde tracing techniques. Correlation between topographic organisation and neurogenetic gradients. *J Comp Neurol.*, 1981; 203:717-735.
 - 34) Witter, M.P., Van Hoesen, G.W., Amaral, D.G. Topographical organisation of the entorhinal projection to the dentate gyrus of the monkey. *J Neurosci* 1989; 9:216-228.
 - 35) Steward, O. Scoville, S.A. Cells of origin of entorhinal cortical afferents to the hippocampus and fascia dentata of the rat. *J Comp Neurol* 1976; 169: 347-370
 - 36) Meibach, R.C., Siegel, A. The origin of fornix fibers which project to the mammillary bodies in the rat; A horseradish peroxidase study. *Brain Res* 1975 ; 88: 508-512.
 - 37) Rosene, D.L., Van Hoesen, G.W. Hippocampal efferent reach widespread areas of cerebral cortex and amygdala in the rhesus monkey. *Science* 1967; 198, :315-317.
 - 38) Amaral, D.G., Insausti, R. Hippocampal formation. In: Paxinos G (ed.) *The Human Nervous System* (1990) (2nd ed). San Diego, California, Academic Press, Inc.
 - 39) Kandel, ER, Schwartz JH, Jessell TM *Principles of Neural Science.* (1991). (3rd ed). New York, Elsevier Science Publishing Co., Inc. 737.
 - 40) Lewis, P.R., Shute, C.C.D., Silver, A. Confirmation of cholin acetylase analyses of massive cholinergic innervation to the rat hippocampus. *J Physiol* 1967 ; 191: 215-224.
 - 41) Mellegren, S.I., Harkmark, W., Srebro, B. Some enzyme histochemical characteristics of the human hippocampus. *Cell Tissue Res* 1977 ; 181:459-471.

- 42) Dajas, F., Silveira, R., Echague, A.. Microden sitometry of acetylcholinesterase in subfields of the hippocampal pyramidal layer and fascia dentata. *Acta Anat* 1979;103: 344-350.
- 43) Kelly, J.P.,and Dodd, J.. Anatomical Organization of the nervous system . in: Kandel, E. R., Schwartz, J. H. And Jessel T. M. (Eds.), *Principles of Neural Sciences.*, Third Ed., New York, Amsterdam, Elsevier Science publishing, 1991 ; 273 – 282
- 44) Moss, M., Mahut, H., Zola, M.S. Concurrent discrimination learning of monkeys after hippocampal, entorhinal, or fornix lesions. *J Neurosci* 1981;1:227-240
- 45) Penfield W, Milner B. Memory deficit produced by bilateral lesions in the hippocampal zone. *Arch Neurol Psychiatry* 1958;79: 475-497.
- 46) O'keefe, J., Conway, D.H. Hippocampal place units in the Freely moving rat. In: *Why they fire where they fire?* *Exp Brain Res* 1978; 31: 573-590.
- 47) Cooper LN. Distributed memory in the central nervous system: Possible test of assumptions in visual cortex. In: Schmitt FO, Worden FG, Adelman G, Dennis SG (eds.) *The organisation of the cerebral cortex* (1981) (2nd ed). Cambridge, MIT Press, 479-503.
- 48) Wieraszko A, Ball GF. Long-term potentiation in the avian hippocampus does not require activation of the N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor. *Synapse* 1993;13: 173-178.
- 49) Cizkova D, Vonicky I, Gottlieb M, Marsala J. Ischemic damage in the hippocampus: A silver impregnation and immunocytochemical study in the rat. *Archives Italiennes de Biologie* 1996; 134:279-290.
- 50) Selkoe DJ. Physiological production of the beta-amyloid protein and the mechanism of Alzheimer's disease. *Trends Neurosci* 1993;16 :403-409.
- 51) Serrano, C.P., Sanches, A.J.C., Garcia, G.T. Mesial temporal sclerosis (I): Histological data, physiopathological hypothesis and etiological factors. *Rev Neurol* 1997; 25-140: 584-589.
- 52) Sloviter RS. Decreased hippocampal inhibition and a selective loss of interneurons in experimental epilepsy. *Science* 1987; 235:73-76.
- 53) Smeyne, R.J., Vendell, M., Hayward, M. Continuous c-fos expression precedes programmed cell death in vivo. *Nature* 1993;363:166-169.
- 54) Bliss T, Lomo T. Long lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anesthetized rabbit following stimulation of the perforant pathways. *J Physiol* 1973; 232: 331-356.

- 55) Marangoz C. Sinir fizyolojisine giriş-I. Beyin korteksi. EEG ve Epilepsi. Samsun: 19 Mayıs Üniversitesi Matbaası baskısı; 2001: sa: 120-131
- 56) Marangoz C. Sinir fizyolojisine giriş-I. Sinaps. Samsun:19 Mayıs Üniversitesi Matbaası baskısı 2003: sa:1-22.
- 57) Ganong, W.F. (2002). Ganong Tıbbi Fizyoloji (çeviri).Yirminci baskı, Ed., Türk fizyolojik bilimler derneği.,Nobel Tıp Kitapevi / McGraw-Hill (2001)., İstanbul.
- 58) Rezaki M , Dalkara T. Davranışın Biyokimyasına Giriş.
Erişim:(www.med.gazi.edu.tr/akademik/psikiyatri/davranis.doc) 2006. Erişim tarih:01,12,2006 saat:13:21
- 59)Tatemoto K, Carlquist M,Mutt V.Neuropeptide Y: a novel brain peptide with structural similarities to peptide YY and pancreatic polypeptide.Nature 1982;296:659-60.
- 60) Hu Y, Dunbar JC. Intracerebroventricular administration of NPY increases sympathetic tone selectively in vascular beds. Brain Res Bull 1997; 44: 97-103.
- 61) Chen SH, Cheung RTF. Neuropeptide Y and its receptor analogs differentially modulate the immunoreactivity for neuronal or endothelial nitric oxide synthase in the rat brain following focal ischemia with reperfusion. Journal of Biomedical science 2005; 12: 267-278.
- 62)Toth A, Zaborszky L, Detari L. EEG effect of basal forebrain neuropeptide Y administration urethane anesthetized rats. Brain Res Bull 2005; 66: 37-42.
- 63) Blundell TL,Pitts JE,Tickle IJ,Wood SP,Wu CW .X- ray analysis(1,4a resolution) of avian pancreatic polypeptide:Small globular protein hormone.Proc Natl Acad Sci USA 1981;78:4175-9.
- 64) Cerda-Reverter JM,Larhammar D.Neuropeptide Y family of peptides;structure anatomical expression,function and molecular evolution.Biochem cell Biol 2000;78:371-92.
- 65) Williams AG.,Hargreovers AC,Gunn-Moore FJ,Tavore JM. Stimulation of neuropeptide Y gene expression by brain derived neurotrophic factor requires both the phospholipase C and Sch binding sites on its receptor,TrkB.Biochem 1998;333:505-9.
- 66) Higuchi H,Yong HY,Sobol SL.Rat neuropeptide Y precursor gene expression mRNA structure,tissue distribution ,and regulation by glucocorticoids,cyclic AMP and phorbol ester.J Biol Chem 1988;263:6288-95.
- 67) Balasubramaniam A.A. Neuropeptide Y family of hormones:receptor subtypes and antagonists,Peptides 1997 ;18:445-457.

- 68) Gayle D, Ilyin SE, Plata-Salman CR. Central nervous system IL-1 beta system and neuropeptide Y mRNA during IL-1 beta-induced anorexia in rats, *Brain Res. Bull* 1997;443:11-317.
- 69) Gritti I, Mainville L, Mancina M, Jones B.E. GABAergic and other non-cholinergic basal forebrain neurons, together with cholinergic neurons, project to the mesocortex and isocortex in the rat, *J. Comp. Neurol* 1997;383:163-177.
- 70) Colmers WF, Bahh BE. Neuropeptide Y and Epilepsy. *Epilepsy current* 2003 ; 3: 53-58.
- 71) Detari L, Rasmusson D.D, Semba K, The role of basal forebrain neurons in tonic and phasic activation of the cerebral cortex, *Prog. Neurobiol* 1999;58 :249-277.
- 72) Smialowska M, Bijak M, Sopala M, Tokarski K. Inhibitory effect of NPY on the picrotoxin-induced activity in the hippocampus: a behavioural and electrophysiological study. *Neuropeptides* 1996; 30: 7-12.
- 73) Zaborszky L, Duque A. Sleep-wake mechanisms and basal forebrain circuitry, *Front Biosci* 2003; 8:d1146-d1169.
- 74) Zaborszky L, Duque A. Local synaptic connections of basal forebrain neurons, *Behav. Brain Res.* 2000;115:143-158.
- 75) Aoki C, Pickel V. Neuropeptide Y in the cerebral cortex and the caudate-putamen nuclei: ultrastructural basis for interactions with GABAergic and non-GABAergic neurons, *J. Neurosci* 1989;9:4333-4354.
- 76) Tamiya R, Hanada M, Inagaki S, Takagi H. Synaptic relation between neuropeptide Y axons and cholinergic neurons in the rat diagonal band of Broca, *Neurosci. Lett.* 1991 ;122:64-66.
- 77) L. Detari, D.D. Rasmusson, K. Semba, Phasic relationship between the activity of basal forebrain neurons and cortical EEG in urethane-anesthetized rat, *Brain Res* 1997 ;759: 112-121.
- 78) A. Duque, B. Balatoni, L. Detari, L. Zaborszky, EEG correlation of the discharge properties of identified neurons in the basal forebrain, *J. Neurophysiol* 2000; 84: 1627-1635.
- 79) Stroud LM, O'Brien TJ, Jupp B, Wallengren C, Moris MJ. Neuropeptide Y suppresses absence seizures in a genetic rat model. *Brain Res* 2005; 1033: 151-156.
- 80) Arabadzisz D, Antal K, Parpan F, Emri Z, Frisetsch JM. Epileptogenesis and chronic seizures in a mouse model of temporal lobe epilepsy are associated with distinct EEG patterns and selective neurochemical alterations in the contralateral hippocampus. *Exper Neurol* 2005; 194: 76-90.
- 81) Cavadas C, Silva AP, Mosimán F, Cotrim MD, Fontes Riberio CA, Brunner HR. NPY regulates catecholamine secretion from adrenal chromaffin cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:5956-63.

- 82) Myrersen U, Ahren B, Slundler F. Neuropeptide Y is expressed in subpopulations of insulin- and non-insulin-producing islet cells in rat after dexamethasone treatment: a combined immunocytochemical and in situ hybridisation study. *Regul Pept* 1995;60:19-31.
- 83) Ericson A, Schalling M, McIntyre KR, Lundberg JM, Larhammar D, Seroogy K. Detection of neuropeptide Y and its mRNA in megakaryocytes: enhanced levels in certain autoimmune mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987;84:5585-9.
- 84) Strand FL. *Neuropeptides: regulators of physiological processes*. London: Charles F. Stevens; 1999.
- 85) Schwarzer C, Sperk G. Hippocampal granule cells express glutamic acid decarboxylase-67 after limbic seizures in the rat. *Neuroscience* 1995;69, 831–845.
- 86) Wan CP, Lau BH. Central nervous system pharmacology of neuropeptide Y. *Pharmacol Ther* 1995;65:397-414.
- 87) Lundell I, Blomqvist A.G., Berglund MM., Schober D.A., Johnson D., Stantnick MA., Gadski R A., Gehlert D R and Larhammar D., Cloning of human receptor of the NPY receptor family with high affinity for pancreatic polypeptide and peptide YY. *J. Biol. Chem.* 1995;270:29123-29128,
- 88) Shaw JL, Gackenhimer SL, ve Gehlert DR., Functional autoradiography of neuropeptide Y Y1 and Y2 receptor subtypes in rat brain using agonist stimulated [³⁵S]GTPγS binding. *J. Chem. Neuroanat* 2003;26:179-193.
- 89) Cheung RT, Cechetto DF. Neuropeptide changes following excitotoxic lesion of the insular cortex in rats. *J. Comp. Neurol* 1995;362:535-550.
- 90) Lundell I, Blomqvist AG, Berglund MM, Schober DA, Johnson D, Statnick MA, et al. Cloning of a human receptor of the NPY receptor family with high affinity for pancreatic polypeptide and peptide YY. *J Biol Chem* 1995;270:29123–8.
- 91) Starback P, Wraith A, Eriksson H, Larhammar D. Neuropeptide Y receptor gene y6: multiple deaths or resurrections? *Biochem Biophys Res Commun* 2000;277:264–9.
- 92) Krause J, Eva C, Seeburg P, Sprengel R. Neuropeptide Y 1 subtype pharmacology of a recombinantly expressed neuropeptide receptor. *Mol Pharmacol* 1992;41:817-21.
- 93) Soll RM, Dinger MC, Lundek I, Larhammer D, Beck-Sickinger AG. Novel analogues of neuropeptide Y with a preference for the Y1- receptor. *Eur J Biochem* 2001;268:2828-37.
- 94) Daniels AJ, Matthews JE, Slepatis RJ, Jansen M, Viveros OH, Tadepalli A., High affinity neuropeptide Y receptor antagonists. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:9067-71.

- 95) Schober DA, Van Abbema AM, Smiley DL, Bruns RF, Gehret DR. The neuropeptide Y Y1 antagonist, 1229U91, a potent agonist for the human pancreatic polypeptide-preferring (NPY Y4) receptor. *Peptides* 1998;19:537-42.
- 96) Rudolf K, Eberlein W, Engel W, Wieland HA, Willim KD, Entzeroh M. The first highly potent and selective non peptide neuropeptide Y Y1 antagonist: BIBP3226. *Eur J Pharmacol* 1994;271:R11-3.
- 97) Serradiel-Le G, Valette G, Douby PE, Pellet A, Oury-Donat F, Brossard G. SR120819A, an orally-active and selective neuropeptide Y Y1 receptor antagonist. *FEBS Lett* 1995;362:192-6.
- 98) Kanatani A, Hata M, Mashiko S, Ishihara A, Okamoto O, Haga Y, et al. A typical Y1 receptor regulates feeding behaviors: effects of a potent and selective Y1 antagonist, J-115814. *Mol Pharmacol* 2001;59:501-5.
- 99) Hipkind PA, Lobb KL, Nixon JA, Britton TC, Bruns RF, Catlow J. Potent and selective 1,2,3-trisubstituted indole NPY Y-1 antagonists. *J Med Chem* 1997;40:3712-4.
- 100) Murakami Y, Hara H, Okada T, Hashizume H, Kii M, Ishihara Y. 1,3-Disubstituted benzodiazepines as novel, potent, selective neuropeptide YY1 receptor antagonists. *J Med Chem* 1999;42:2621-32.
- 101) Malmstrom RE, Balmer KC, Weilitz J, Nordlander M, Sjolander M. Pharmacology of H 394/84, a dihydropyridine neuropeptide Y (Y1) receptor antagonist, in vivo. *Eur J Pharmacol* 2001;418:95-104.
- 102) Dumont Y, Jacques D, Bouchard P, Quirion R. Species differences in the expression and distribution of the neuropeptide Y Y1, Y2, Y4, and Y5 receptors in rodents, guinea pig, and primates brains. *J Comp Neurol* 1998;402:372-84.
- 103) Kishi T, Aschkenasi CJ, Choi BJ, Lopez ME, Lee CE, Liu H, et al. Neuropeptide Y Y1 receptor mRNA in rodent brain: distribution and colocalization with melanocortin-4 receptor. *J Comp Neurol* 2005;482:217-43.
- 104) Caberlotto L, Fuxe K, Hurd YL. Characterization of NPY mRNA-expressing cells in the human brain: co-localization with Y2 but not Y1 mRNA in the cerebral cortex, hippocampus, amygdala, and striatum. *J Chem Neuroanat* 2000;20:327-37.
- 105) St-Pierre JA, Dumont Y, Nouel D, Herzog H, Hamel E, Quirion R. Preferential expression of the neuropeptide Y Y1 over the Y2 receptor subtype in cultured hippocampal neurons and cloning of the rat Y2 receptor. *Br J Pharmacol* 1998;123:183-94.
- 106) St-Pierre JA, Nouel D, Dumont Y, Beaudet A, Quirion R. Association of neuropeptide Y Y1 receptors with glutamate-positive and NPY-positive neurons in rat hippocampal cultures. *Eur J Neurosci* 2000;12:1319-30.

- 107) Gobbi M, Gariboldi M, Piwko C, Hoyer D, Sperk G, Vezzani A. Distinct changes in peptide YY binding to, and mRNA levels of Y1 and Y2 receptors in the rat hippocampus associated with kindling epileptogenesis. *J Neurochem* 1998;70:1615-1622.
- 108) Motulsky HJ, Michel MC. Neuropeptide Y mobilizes Ca^{+2} and inhibits adenylate cyclase in human erytroleukemia cells. *Am. J. Physiol* 1988;225:E880-E885.
- 109) Larhammar D, Salaneck E. Molecular evolution of NPY receptor subtypes. *Neuropeptides* 2004;38:141-51.
- 110) Herzog H, Hort YJ, Ball HJ, Hayes G, Shine J, Selbie LA. Cloned human neuropeptide Y receptor couples to two different second messenger systems. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992;89:5794-8.
- 111) Mannon PJ, Mele JM. Peptide YY Y1 receptor activates mitogen-activated protein kinase and proliferation in gut epithelial cells via the epidermal growth factor receptor. *Biochem J* 2000;350(Pt 3):655-61.
- 112) Sajdyk TJ, Shekhar A, Gehlert DR. Interactions between NPY and CRF in the amygdala to regulate emotionality. *Neuropeptides* 2004;38:225-34.
- 113) Sparta DR, Fee JR, Hayes DM, Knapp DJ, MacNeil DJ, Thiele TE. Peripheral and central administration of a selective neuropeptide Y Y1 receptor antagonist suppresses ethanol intake by C57BL/6J mice. *Alcohol Clin Exp Res* 2004;28:1324-30.
- 114) Kask A, Rago L, Harro J. Evidence for involvement of neuropeptide Y receptors in the regulation of food intake: studies with Y1-selective antagonist BIBP3226. *Br J Pharmacol* 1998;124:1507-15.
- 115) Klara SP, Fuentes M, Fournier A, Parker SL, Crowley WR. Involvement of the Y-1 receptor subtype in the regulation of luteinizing hormone secretion by neuropeptide Y in rats. *Endocrinology* 1992;130:3323-30.
- 116) Wahlestedt C, Hakanson R. Effects of neuropeptide Y (NPY) at the synaptic neuroeffector junction. Can pre- and projunctional receptors be distinguished? *Med Biol* 1986;64:85-8.
- 117) Gariboldi M, Conti M, Cavaleri D, Samanin R, Vezzani A. Anticonvulsant properties of BIBP3226, a non-peptide selective antagonist at neuropeptide Y Y1 receptors. *Eur J Neurosci* 1998;10:757-9.
- 118) Eva C, Serra M, Mele P, Panzico G, Oberto A. Physiology and gene regulation of the brain NPY Y1 receptor. *Frontiers in Neuroendocrinology* 2006 ;27:308-339.

- 119) Rist B, Zerbe O, Ingenhoven N, Scapozza L, Peers C, Vaughan PF. Modified, cyclic dodecapeptide analog of neuropeptide Y is the smallest full agonist at the human Y₂ receptor. *FEBS Lett* 1996;394:169-73.
- 120) Malis DD, Grouzmann E, Morel DR, Mutter M, Lacroix JS. Influence of TASP-V, a novel neuropeptide Y/NPY Y₂ agonist, on nasal and bronchial responses evoked by histamine in anesthetized pigs and in humans. *Br J Pharmacol* 1999;126:989-96.
- 121) Grouzman E, Buclin T, Matie M, Canizzaro C, Dorner B, Razaname A. Characterization of selective antagonist of neuropeptide Y at the Y₂ receptor. Synthesis and pharmacological evaluation of a Y₂ antagonist. *J Biol Chem* 1997;272:7699-709.
- 122) Doods H, Gaida W, Wieland HA, Dollinger H, Schnorrenberg G, Esser F. BIIE0246: a selective and high affinity neuropeptide Y Y₂ receptor antagonist. *Eur J Pharmacol* 1999;384:R3-5.
- 123) Rose PM, Fernandes P, Lynch JS, Frazier ST, Fisher SM, Kodukula K. Cloning and functional expression of a cDNA encoding a human type 2 neuropeptide Y receptor. *J Biol Chem* 1995;270:22661-4.
- 124) Colmers WF, Bleakman D. Effects of neuropeptide Y on electrical properties of neurons. *Trends Neurosci.* 1994;17:373-379
- 125) Schwartz TW, Fuhlendorff J, Kjems L, Kristensen MS, Vervelde M, O'Hare M, Krstenansky JL, Bjornholm B. Signal epitopes in the three-dimensional structure of neuropeptide Y: Interaction with Y₁, Y₂ and pancreatic polypeptide receptors. *Ann. N.Y. Acad. Sci* 1990;611:35-47.
- 126) Shigeri Y, Fujimoto M. Y₂ receptors for neuropeptide Y are coupled to three intracellular signal transduction pathways in a human neuroblastoma cell line. *J. Biol. Chem.* 1994;269:8842-8848.
- 127) Lee CC, Miller RJ. Is there really an NPY Y₃ receptor? *Regul Pept* 1998;75/76:71-8
- 128) Xiang H, Brown JC. Inhibitory effect of neuropeptide Y and its analogs on inositol 1,4,5-trisphosphate activity in rat cardiomyocytes. *Receptors and Channels* 1993;1:315-321.
- 129) Barraco RA, Ergene E, Dunbar J C, El Ridi, M R. Cardiorespiratory response patterns elicited by microinjections of neuropeptide Y in the tractus solitarius. *Brain Res. Bull* 1990;24:465-85.
- 130) Wahlestedt C, Regunathan S, Reis DJ. Identification of cultured cells selectively expressing Y₁-, Y₂- or Y₃- type receptors for neuropeptide Y /peptide YY. *Life Sci* 1992;50:PL12;.
- 131) Harfstrand A, Fredholm B, Fuxe K. Inhibitory effects of neuropeptide Y on cyclic AMP accumulation in slices of the nucleus tractus solitarius region of the rat. *Neurosci. Lett.* 74:237-242;1987.

- 132) Lundell I,Blomqvist AG,Berglund MM,Schober DA,Johnson D,Statnick MA.Cloning of a human receptor of the NPY receptor family with high affinity for pancreatic polypeptide and peptide YY.J Biol Chem 1995;270:29123-8.
- 133) Schwartz TW.Pancreatic polypeptide:a hormone under vagal control. Gastroenterology 1983;85:1411-25.
- 134) Ledeboer M,Masclee AA,Biemon I,Lamers CB.Gallbladder nutrition.Am J Gastroenterol 1997;92:2274-9.
- 135) Jain MR,Pu S,Kalra PS,Kalra SP.Evidence that stimulation of two modalities of pituitary luteinizing hormone release in ovarian steroid- primed ovariectomized rats may involve neuropeptide Y Y1 and Y4 receptors.Endocrinology 1999;140: 5171-7.
- 136) Vosion T,Goumain M,Lorinet AM,Maoret JJ,Laburthe M.Functional and molecular properties of the human recombinant Y4 receptor: resistance to agonist-promoted desensitization.J Pharmacol Exp Ther 2000;292:638-46.
- 137) Browsky B,Walker MW,Bard J,Weinshank RL,Laz TM,Vaysse P.Molecular biology and pharmacology of multiple NPY Y5 receptor species homologs.Regul Pept 1998;76:45-53.
- 138)Criscione L,Rigollier P,Batzl-Hartmann C,Rüeger H,Stricker –Krongrad A,Wyss P.Food intake in free-feeding and energy-deprived lean rats is mediated the neuropeptide Y5 receptor.J Clin Invest 1998;102:2136-45.
- 139) Della Zuana O,SadloM,Germain M,Feletou M,Charmorro S,Tisserand F.Reduced food intake in response to CGP71683A may be due to mechanisms other than NPY Y5 receptor blockade.Int J Obes Relat Metab Disord 2001;25:84-94.
- 140) McNally JJ,Youngman MA,Lovenberg TW ,Nepomuceno D,Wilson S,Dax SL.N- acetylated alpha- (3-pyridylmethyl)-beta-aminotetralin antagonists of the human neuropeptide Y Y5 receptors.Bioorg Med Chem Lett 2000;10:1641-3.
- 141) Kanatani A,Ishihara A,Iwaasa H,Nakamura K,Okamoto O,Hidaka M.L-152,804:orally active and selective neuropeptide Y Y5 receptor antagonist.Biochem Biophys Res Commun 2000;272:169-73.
- 142) Gerald C,Walker MW,Cristone L,Gustafson EL,Batzl-Hartmann C,Smith KE.A receptor subtype involved in neuropeptide Y –induced food intake.Nature 1996;382:168-71.
- 143) Moser C,Bernhardt G,Michel J,Schwartz H,Buschauer A.Cloning and functional expression of the h NPY Y5 receptor in human endometrial cancer (HEC-1B) cells.Can J Physiol Pharm 2000;78:134-42.

- 144) Redrobe JP, Dumant Y, Quirion R. Neuropeptide Y (NPY) and depression: From animal studies to the human condition. *Life Sciences* 2002; 71: 2921-2937.
- 145) Vezzani A, Michalkiewicz M, Michalkiewicz T, Moneta D, Ravizza T, Richichi C, Aliprandi M, Mule F, Pirona L, Gobbi M, Schwarzer C, Sperk G. Seizure susceptibility and epileptogenesis are decreased in transgenic rats overexpressing neuropeptide Y. *Neuroscience* 2002; 110: 237-243.
- 146) Baraban SC, Hollopeter G, Ericson JC, Schwartzkroin PA, Palmiter RD. Knock-out mice reveal a critical antiepileptic role for neuropeptide Y. *J Neurosci* 1997; 17: 8927-8936.
- 147) Dumont Y, Jacques D, Bouchard P, Quirion R. Species differences in the expression and distribution of the neuropeptide YY1, Y2, Y4, and Y5 receptors in rodents, guinea pig, and primates brains. *J Comp Neurol* 1998; 402: 372-384.
- 148) Vezzani A, Moneta D, Mule F, Ravizza T, Gobbi M, French-Mullen J. Plastic changes in neuropeptide Y receptor subtypes in experimental models of limbic seizures. *Epilepsia* 2000; 41: 115-121.
- 149) Nie M, Selbie LA. Neuropeptide Y Y1 and Y2 receptor-mediated stimulation of mitogen-activated protein kinase activity. *Regul Pept* 1998; 75-76: 207-13.
- 150) Wang SJ. Activation of neuropeptide YY1 receptors inhibits glutamate release through reduction of voltage-dependent Ca²⁺ entry in the rat cerebral cortex nerve terminals: suppression of this inhibitory effect by the protein kinase C-dependent facilitatory pathway. *Neuroscience* 2005; 134: 987-1000.
- 151) Dumont Y, Martel JC, Fournier A, St-Pierre S, Quirion R. Neuropeptide Y and neuropeptide Y receptor subtypes in brain and peripheral tissue. *Prog Neurobiol* 1992; 38: 125-67.
- 152) Malmström RE. Vascular pharmacology of BIIE0246, the first selective non-peptide neuropeptide YY2 receptor antagonist, in vivo. *Br J Pharmacol* 2001; 133: 1073-80.
- 153) Li JA, Ritter S. Functional expression of neuropeptide Y receptors in human neuroblastoma cells. *Regulatory Peptides* 2005; 129: 119-124.
- 154) Silva AP, Cavadas C, Grouzmann E. Neuropeptide Y and its receptors as potential therapeutic drug targets. *Clinica Chimica Acta* 326 (2002) 3-25.
- 155) Fuhlendorff J, Gether U, Aakerlund L, Langeland-Johansen N, Thøgersen H, Melberg SG, et al. [Leu31, Pro34]neuropeptide Y: a specific Y1 receptor agonist. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990; 87: 182-6.
- 156) Widdowson PS. Regionally-selective down regulation of NPY receptor subtypes in obese Zucker rat. Relationship to the Y5 'feeding' receptor. *Brain Res* 1997; 758: 17-25.

- 157) Erickson JC, Clegg KE, Palmiter RD. Sensitivity to leptin and susceptibility to seizures of mice lacking neuropeptide Y. *Nature* 1996;381:415-21.
- 158) Kask A, Rago L, Harro J. Evidence for involvement of neuropeptide Y receptors in the regulation of food intake: studies with Y1 –selective antagonist BIBP3226. *Br J Pharmacol* 1998;124:1507-15.
- 159) Vezzani A, Sperk G, Colmers WF. Neuropeptide Y: emerging evidence for a functional role in seizure modulation. *Trends Neurosci* 1999a;22:25-30.
- 160) Colmers WF, Lukowiak K, Pittman QJ. Presynaptic action of neuropeptide Y in area CA1 of the rat hippocampal slice. *J Physiol* 1987;383:285-299.
- 161) Colmers WF, Lukowiak K, Pittman QJ. Neuropeptide Y action in the rat hippocampal slices: site and mechanism of presynaptic inhibition. *J Neurosci* 1988;8:3827-3837.
- 162) Greber S, Schwarzer C, Sperk G. Neuropeptide Y inhibits potassium-stimulated glutamate release through Y2 receptors in rat hippocampal slices in vitro. *Br J Pharmacol* 1994;113:737-740.
- 163) Qian J, WF, Saggau P. Inhibition of synaptic transmission by neuropeptide Y in rat hippocampal area CA1: modulation of presynaptic Ca²⁺ entry. *J Neurosci* 1997;17:8169-8177.
- 164) Reibel S, Nadi S, Benmaamar R, Larmet Y, Carnahan J, Marescaux C. Neuropeptide Y and epilepsy: varying effects according to seizure type and receptor activation. *Peptides* 2001;22:529-39.
- 165) Michel MC, Beck-Sickinger AG, Cox H, Doods HN, Herzog H, Larhammar D, Quirion R, Schwartz T, Westfall T. XVI International Union of Pharmacology recommendations for the nomenclature of neuropeptide Y, peptide YY, and pancreatic polypeptide receptors. *Pharmacol Rev* 1998;50:143-150.
- 166) Bregola G, Dumont Y, Fournier A, Zucchini S, Quirion R, Simonato M. Decreased levels of neuropeptide Y (5) receptors binding sites in two experimental models of epilepsy. *Neuroscience* 2000;98:697-703.
- 167) Woldbye DP, Larsen PJ, Mikkelsen JD, Klemp K, Madsen TG, Bolwig TG. Powerful inhibition of kainic acid seizures by neuropeptide Y via Y5 –like receptors. *Nat Med* 1997;3:761-4.
- 168) Marsh DJ, Baraban SC, Hollopeter G, Palmiter RD. Role of the Y5 neuropeptide Y receptor in limbic seizures. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:13518-23.
- 169) Ho MW, Beck-Sickinger AG, Colmers WF. Neuropeptide Y5 receptors reduce synaptic excitation in proximal subiculum, but not epileptiform activity in rat hippocampal slices. *J Neurophysiol* 2000;83:723-34.

- 170) Zachrisson, O., Mathe, A.A., Stenfors, C., Lindefors, N., Limbic effects of repeated electroconvulsive stimulation on neuropeptide Y and somatostatin mRNA expression in the rat brain. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 1995; 31, 71–85.
- 171) Schwarzer, C., Sperk, G., 1998. Glutamate-stimulated neuropeptide Y mRNA expression in the rat dentate gyrus: a prominent role of metabotropic glutamate receptors. *Hippocampus* 8, 274–288.
- 172) Vezzani, A., Ravizza, T., Moneta, D., Conti, M., Borroni, A., Rizzi, M., Samanin, R., Maj, R., Brain-derived neurotrophic factor immunoreactivity in the limbic system of rats after acute seizures and during spontaneous convulsions: temporal evolution of change as compared to neuropeptide Y. *Neuroscience* 1999b;90, 1445–1461.
- 173) Reibel, S., Larmet, Y., Le, B.T., Carnahan, J., Marescaux, C., Depaulis, A., Brain-derived neurotrophic factor delays hippocampal kindling in the rat. *Neuroscience* 2000;100, 777–788.
- 174) Woldbye DP, Nanobashvili A, Sørensen AT, Husum H, Bolwig TG, Sørensen G, Ernfor P, Kokaia M. Differential suppression of seizures via Y2 and Y5 neuropeptide Y receptors. *Neurobiology of Disease.* 2005; 20: 760 – 772.
- 175) Klapstein GJ, Colmers WF. Neuropeptide Y suppresses epileptiform activity in rat hippocampus in vitro. *J Neurophysiol* 1997;78:1651-1661.
- 176) Bijak M. Neuropeptide Y reduces epileptiform discharges and excitatory synaptic transmission in rat frontal cortex in vitro. *Neuroscience* 2000;96(3):487-94.
- 177) Smialowska M, Bijak M, Sopala M, Tokarski K. Inhibitory effect of NPY on the picrotoxin-induced activity in the hippocampus: a behavioural and electrophysiological study. *Neuropeptides* 1996;30:7-12.
- 178) Bijak M, Smialowska M. The effects of neuropeptide Y on evoked potentials in the CA1 region and the dentate gyrus of the hippocampal slice. *Pol. J. Pharmacol.* 1995;47:333-338.
- 179) Sun Q.Q., Huguenard J.R., Prince D.A., Neuropeptide Y receptors differentially modulate G-protein-activated inwardly rectifying K⁺ channels and high-voltage-activated Ca²⁺ channels in rat thalamic neurons, *J. Physiol.* 2001;531 : 67– 79.
- 180) Stroud L M, O'Brien T J, Jupp B, Wallengren C, Morris M. Neuropeptide Y suppresses absence seizures in a genetic rat model. *Brain Research* 2005 ;1033 :151– 156
- 181) Sun, Q.Q., Akk, G., Huguenard, J.R., Prince, D.A., Differential regulation of GABA release and neuronal excitability mediated by neuropeptide Y1 and Y2 receptors in rat thalamic neurons. *J. Physiol* 2001; 531, 81–94.

- 182) Klapstein, G.J., Colmers, W.F., 4-Aminopyridine and low Ca^{+2} differentiate presynaptic inhibition mediated by neuropeptide Y, baclofen and 2-chloroadenosine in rat hippocampal CA1 in vitro. *Br. J. Pharmacol* 1992; 105, 470–474.
- 183) Vezzani A, Sperk G. Overexpression of NPY and Y2 receptors in epileptic brain tissue: an endogenous neuroprotective mechanism in temporal lobe epilepsy? *Neuropeptides* 2004 ;38: 245–252.
- 184) Baraban, S.C., Hollopeter, G., Erickson, J.C., Schwartzkroin, P.A., Palmiter, R.D., Knock-out mice reveal a critical antiepileptic role for neuropeptide Y. *J. Neurosci* 1997. 17, 8927–8936.
- 185) Richichi, C., Lin, E.J., Stefanin, D., Colella, D., Ravizza, T., Grignaschi, G., Veglianesi, P., Sperk, G., During, M.J., Vezzani, A., Anticonvulsant and antiepileptogenic effects mediated by adeno-associated virus vector neuropeptide y expression in the rat hippocampus. *J. Neurosci.* 2004;24:3051–3059.
- 186) El Bahh B, Cao JQ, Beck-Sickinger AG, Colmers WF. 2002. Blockade of neuropeptide Y2 receptors and suppression of NPY's anti-epileptic actions in the rat hippocampal slice by BIIIE0246. *Br J Pharmacol* 2002;136:502-509.
- 187) McQuiston AR, Petrozzino JJ, Connor JA, Colmers WF. Neuropeptide Y1 receptors inhibit N-type calcium currents and reduce transient calcium increases in rat dentate granule cells. *J. Neurosci* 1996;16:1422-1429.
- 188) Tu B, Timofeeva O, Jiao Y, Nadler JV. Spontaneous release of neuropeptide Y tonically inhibits recurrent mossy fiber synaptic transmission in epileptic brain. *J Neurosci* 1997; 25, 1718-1729.
- 189) Kofler N, Kirchmair E, Schwarzer C, Sperk G. Altered expression of NPY Y1 receptors in kainic acid induced epilepsy in rats. *Neurosci. Lett*, 1997;230, 129-132.
- 190) Fürtinger S, Pirker S, Czech T, Baumgartner C, Ransmayr G, Sperk G. Plasticity of Y1 and Y2 receptors and neuropeptide Y fibers in patients with temporal lobe epilepsy. *J. Neurosci.* 2001;21:5804-5812.
- 191) Colmers WF, Pronchuc N, Torok-Both C, Ho M, Aronyk K, McKean J, Snyder T, Sinclair DB, Javidan M, Beck –Sickinger AG. Neuropeptide Y2 and other receptors inhibit synaptic excitation in epileptic human brain. *Epilepsia* 1997;38:8-12.
- 192) Vezzani A, Moneta F, Mulé T, Ravizza M, Gobbi M, French M. Plastic changes in neuropeptide Y receptor subtypes in experimental models of limbic seizures. *Epilepsia* 2000;41:115-121.
- 193) Schwarzer C, Sperk G., Glutamate-stimulated neuropeptide Y mRNA expression in the rat dentate gyrus: a prominent role of metabotropic glutamate receptors. *Hippocampus* 1998; 8, 274–288.

- 194) Bregola, G., Dumont Y., Fournier, A., Zucchini, S., Quirion, R., Simonato, M.,. Decreased levels of neuropeptide Y5 receptor binding sites in two experimental models of epilepsy. *Neuroscience* 2000; 98, 697–703.
- 195) Wan CP, Lau BH. Neuropeptide Y receptor subtypes. *Life Sci.* 1995;56:1055-1064.
- 196) Silva AP, Carvalho AP, Carvalho CM, Malva JO. Functional interaction between neuropeptide Y receptors and modulation of calcium channels and high-voltage-activated Ca²⁺ channels in the rat hippocampus. *Neuropharmacology*. 2003;44:282-292.
- 197) Kopp J, Xu ZQ, Zhang X, Pedrazzini T, Herzog H, Kresse A, Wong H, Walsh JH, Hokfelt T. Expression of the neuropeptide Y Y1 receptors in CNS of rat and of wild-type and Y1 receptor knockout mice. 2002. Focus on immunohistochemical localization. *Neuroscience* 111:443-532.
- 198) Foehring RC, Schwindt PC, Crill WE. Norepinephrine selectively reduces slow Ca²⁺ and Na⁺-mediated K⁺ currents cat neocortical neurons. *J Neurophysiol* 1989;61:245-256.
- 199) Catterall WA. Structure and regulation of voltage-gated Ca²⁺ channels. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2000;16:521-555.
- 200) Trudeau LE, Emery DG, Haydon PG. Direct modulation of the secretory machinery underlies PKA-dependent synaptic facilitation in hippocampal neurons. *Neurons. Neuron* 1996;17:789-797.
- 201) McCullough LA, Egan TM, Westfall TC. Neuropeptide Y receptors involved in calcium channel regulation in PC12 cells. *Regul Pept* 1998;75-76:101-107.
- 202) Wang SJ. Cannabinoid CB1 receptor-mediated inhibition of glutamate release from rat hippocampal synaptosomes. *Eur J Pharmacol* 2003; 469:47-55.
- 203) Figueredo-Cardenas G., Morello M, Sancesario G, Bernardi G, Reiner A. Colocalization of somatostatin, neuropeptide Y, neuronal nitric oxide synthase and NADPH –diaphorase in striatal interneurons in rats. *Brain Res* 1996;735:317-324,.
- 204) Bitran M, Tapia W, Eugenin E, Orio P, Boric MP. Neuropeptide Y induced inhibition of noradrenalin release in rat hypothalamus: role of receptor subtype and nitric oxide. *Brain Res* 1999;851:87-93,.
- 205) You J, Edvinsson L, Bryan RM Jr. Neuropeptide Y mediated constriction and dilation in rat middle cerebral arteries. *J. Cereb. Blood Flow Metab* 2001;21:77-84.
- 206) Ehlers CL, Somes C, Seifritz E, Rivier JE. CRF/NPY interactions: a potential role in sleep dysregulation in depression and anxiety. *Depress Anxiety* 1997;6: 1–9.

- 207) Kask A, Nguyen HP, Pabst R, von HS. Neuropeptide Y Y1 receptor-mediated anxiolysis in the dorsocaudal lateral septum: functional antagonism of corticotropin-releasing hormone-induced anxiety. *Neuroscience* 2001;104: 799–806.
- 208) Zhang LP, Wang L. Changes of brain neuropeptide Y and its receptors in rats with flurazepam tolerance and dependence. *Acta Pharmacol Sin* 2005;26: 1290–6.
- 209) Pu S, Jain MR, Horvath TL, Diano S, Kalra PS, Kalra SP. Interactions between neuropeptide Y and gamma-aminobutyric acid in stimulation of feeding: a morphological and pharmacological analysis. *Endocrinology* 1999;140: 933–40.
- 210) Kalra SP, Dube MG, Sahu A, Phelps CP, Kalra PS. Neuropeptide Y secretion increases in the paraventricular nucleus in association with increased appetite for food. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991;88:10931–5.
- 211) Sullivan SD, Moenter SM. Gamma-aminobutyric acid neurons integrate and rapidly transmit permissive and inhibitory metabolic cues to gonadotropin-releasing hormone neurons. *Endocrinology* 2004;145:1194–202.
- 212) Bacci A, Huguenard JR, Prince DA. Differential modulation of synaptic transmission by neuropeptide Y in rat neocortical neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99:17125–30.
- 213) Sloviter RS. Calcium-binding protein (calbindin-D28k) and parvalbumin immunocytochemistry: localization in the rat hippocampus with specific reference to the selective vulnerability of hippocampal neurons to seizure activity. *J Comp Neurol* 1989;280:183–96.
- 214) Naveilhan P, Canals JM, Valjakka A, Vartiainen J, Arenas E, Ernfors P. Neuropeptide Y alters sedation through a hypothalamic Y1-mediated mechanism. *Eur J Neurosci* 2001a;13:2241–6.
- 215) Krysiak R, Obuchowicz E, Herman ZS. Diazepam and buspirone alter neuropeptide Y-like immunoreactivity in rat brain. *Neuropeptides* 1999;33: 542–9.
- 216) Wu LG, Saggau P. Presynaptic inhibition of elicited neurotransmitter release. *Trends Neurosci* 1997;20, 204–212.
- 217) Acosta, G.B. A possible interaction between CCK ergic and GABAergic systems in the rat brain. *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol* 2001;128, 11–17.
- 218) Sebret A., Lena I, Crete D, Matsui T, Roques, BP, Dauge V. Rat hippocampal neurons are critically involved in physiological improvement of memory processes induced by cholecystokinin-B receptor stimulation. *J. Neurosci* 1999;19, 7230– 7237.
- 219) Tirassa P, Manni L, Aloe L, Lundeberg, T. Cholecystokinin- 8 and nerve growth factor: two endogenous molecules working for the upkeep and repair of the nervous system. *Curr. Drug Target CNS Neurol. Disord* 2002;1, 495–510.

- 220) Iadarola MJ, Sherwin AL. Alterations in cholecystokinin peptide and mRNA in actively epileptic human temporal cortical foci. *Epilepsy Res* 1991;8, 58–63.
- 221) Fetissov, S.O., Jacoby, A.S., Brumovsky, P.R., Shine, J., Iismaa, T.P., Hokfelt, T., 2003. Altered hippocampal expression of neuropeptides in seizure-prone GALR1 knockout mice. *Epilepsia* 44, 1022–1033.
- 222) Manni, L., Aloe, L., Tirassa, P., Finn, A., Lundeberg, T., 2001. Cholecystokinin-8 promotes recovery of sympathectomy induced by 6-hydroxydopamine in adult mice. *Neuroreport* 12, 1621–1627.
- 223) Marangoz C. Deneysel epilepsi modelleri. *O.M.Ü Tıp Dergisi* 1997; 14: 147-186.
- 224) Marangoz C, Bağırıcı F. Effects of L-Arginine on Penicillin-Induced Epileptiform Activity in rats. *Jpn J Pharmacol* 2001; 86: 297-301.
- 225) Ankaralı S, Canan S. Merkezi Sinir Sistemi. 2004. Başkent Üniversitesi. Ankara.
- 226) Semyanov A, Walker MC, Kullmann DM, Silver RA. Tonically active GABA A receptors: modulating gain and maintaining the tone. *Trends Neurosci* 2004;27:262-269.
- 232) Haas K, Macdonald RL. GABA A receptor subunit $\gamma 2$ and δ subtypes confer unique kinetic properties on recombinant GABAA receptor currents in mouse fibroblasts. *J Physiol (London)* ;19541:27-45.
- 227) Nusser Z, Sieghart W, Somogyi P. Segregation of different GABAA receptors to synaptic and extrasynaptic membranes of cerebellar granule cells. *J Comp Neurol* 1998b;18:1693-1703.
- 228) Wei W, Zhang N, Peng Z, Houser CR, Mody I. Presynaptic localization of δ subunits-containing GABA A receptors and their activation by GABA spillover in the mouse dentate gyrus. *J Neurosci* 2003;23:10650-10661.
- 229) Peng Z, Huang CS, Stell BM, Mody I, Houser CR. Altered expression of the δ subunit of the GABAA receptor in a mouse model of temporal lobe epilepsy. *Neuroscience* 2004;24(39):8629-8639.
- 230) Quirk K, Whiting PJ, Ragan CL, McKernan RM. Characterisation of δ - subunit containing GABAA receptors from rat brain. *Eur J Pharmacol* 1995;290:175-181.
- 231) Toth PT, Bindokas VP, Bleakman D, Colmers WF, Miller RJ. Mechanism of presynaptic inhibitory neuropeptide Y at sympathetic nerve terminals. *Nature* 1993; 364: 635-639.

- 232) Rodi D, Mazzuferi M, Bregola G, Dumont Y, Fournier A, Quirion R, Simonato M. Changes in NPY-Mediated Modulation of hippocampal [³H]D-Aspartate outflow in the kindling model of epilepsy. *Synapse* 2003;49:16-124.
- 233) Colmers WF, Kalpstein GJ, Fournier A, St-Pierre S, Treherne KA. Presynaptic inhibition by neuropeptide Y in rat hippocampal slice in vitro is mediated by a Y2 receptor. *Br J Pharmacol* 1991;102:41-44.