

## Sıçanlarda Pilocarpin ile Oluşturulan Epilepside Topiramatin Nöronlar Üzerine Etkisi

Füsün (AK) SONAT\* Faruk BALCI\*\*

Geliş Tarihi: 16.07.2010

Kabul Tarihi: 21.12.2010

**Özet:** Nöbetler tıbbın bütün alanlarında karşımıza çıkan, oldukça sık görülen bir durumdur. İnsanların yaklaşık % 2'si yaşamları boyunca bir veya daha fazla sayıda nöbet geçirmişlerdir. Epilepsi, beyindeki nöronların ani, aşırı ve düzensiz deşarjları sonucu meydana gelen sinir sistemi rahatsızlığıdır. Bilinç, davranış ve motor aktivitelerde önceden tahmin edilemeyen düzensizlikler görülebilmektedir. İnsan hekimliğinde olduğu kadar veteriner hekimlikte de epilepsi önemli bir yer tutar. Hayvanların yaşam kalitesini düşüren bir hastalıktır.

Topiramate (TPM), 1990'lı yıllarda üretilen birkaç yeni antiepileptik ilaçtan biridir. TPM'nin etki mekanizması tam olarak anlaşılamamış olmasına rağmen, çok sayıda etki mekanizmasına sahiptir. Bunlardan birisi  $\alpha$ -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoxazole propionic acid (AMPA) ve kainat reseptörleri yoluyla glutamat aktivitesinin inhibisyonudur ve nöbetleri takiben nöroprotektif ajan olarak değerlendirilir. Farklı reseptörler üzerine etki etmesi nedeniyle epilepsi ve farklı hastalıkların tedavisinde TPM'nin muhtemel etkisi hala pek çok çalışmaya konu olmaktadır.

Bu çalışmada pilokarpinle oluşturulan deneysel epilepside, TPM tedavisinin, nöronlar üzerine olan nöroprotektif etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Ayrıca bu çalışmanın yapılmasının bir diğer amacı da veteriner hekimlikte TPM ve onun gibi diğer yeni kuşak antiepileptiklerin kullanımının artırılması ve avantajlarının vurgulanmasına katkıda bulunmaktır. TPM veteriner hekimlikte tedavi amaçlı olarak henüz kullanılmamaktadır. Bu çalışma hayvan sağlığı alanında, epilepsinin tedavisinde TPM kullanılması açısından yeni bir başlangıç olabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Nöbet, epilepsi, nöron, topiramate, sıçan.

### The Effect of Topiramate on Neurons in Epilepsy which is Created with Pilocarpin in Rats

**Abstract:** Seizures are common and are treated in all branches of medicine. Approximately 2% of people will have one or more seizures during their life. Epilepsy, a nervous system disorder that occurs as a result of the neurons in the brain of the sudden, excessive and irregular discharge. Unpredictable irregularities can be seen in consciousness, behavior and motor activity. Epilepsy as well as in human medicine has an important place in veterinary medicine. Epilepsy is a disease that reduce quality of life of animals.

Topiramate is one of several newer antiepileptic drugs that were introduced in the 1990s. Although the mechanism of action of TPM is not fully understood, it has a number of mechanisms of action including inhibition of glutamate activity via on  $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid (AMPA) and kainate receptors. It is considered as a neuroprotective agent following seizures. Due to its activity on different receptors, the possible effects of TPM in the treatment of epilepsy and different disorders still have been the subject of many studies.

In this study, we aimed to investigate the neuroprotective effect of the topiramate treatment on neurons in experimental epilepsy which is created with pilocarpine. Another aim of this study also TPM and other new-generation antiepileptic drugs increasing usage and contribute to the advantages highlighted in veterinary medicine. TPM is not yet used as therapeutically in veterinary medicine. This study may serve as an initial reference for future studies on treatment of epilepsy in veterinary medicine.

**Key Words:** Seizure, epilepsy, neuron, topiramate, rat.

\* Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji ABD, Bursa, Türkiye, fusunak@uludag.edu.tr

\*\* Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Zootekni ABD, Genetik BD, Bursa, Türkiye.

## Giriş

Epilepsi, beyindeki nöronların ani, aşırı ve düzensiz deşarjları sonucu meydana gelen sinir sistemi rahatsızlığıdır. Sinir sistemi hastalıkları içinde epilepsi çeşitli özellikleri sebebiyle toplumun eskiden beri dikkatini çekmiştir<sup>33,1</sup>. Epilepside nöron hasarı karakteristiktir ve bu yüzdende nörolojik hasara bağlı insan ve hayvanlarda ölüme kadar neden olabilen ciddi bir hastalıktır<sup>3</sup>. Bilinç, davranış ve motor aktivitelerde önceden tahmin edilemeyen düzensizlikler görülebilmektedir<sup>29</sup>. Epilepsi genel olarak toplumda % 1 sıklıkta görülmektedir. Yaşamın çeşitli evrelerinde görülme sıklığı değişir; 20 yaş altında ve 60 yaş üzerinde daha sık görülmektedir. Çocukluk döneminde ailevi nedenli epilepsilerin ortaya çıkması, yaşlılık döneminde ise beyin damar tıkanıklığı ya da tümörlerin görülmesine bağlı olarak sıklığı artmaktadır. Bebeklerden yaşlı insanlara kadar herkes epilepsiye yakalanabilir. Nöbetler genetik bozukluklar, yapısal, fonksiyonel ve metabolik nedenlere bağlı olarak ortaya çıkabilir. Çoğu olguda epilepsiye neden olan bir patoloji (tümör, kist, glialskleroz, vasküler anomali vb.) gösterilebilmektedir<sup>33</sup>. Epileptik nöbetlerin patofizyolojisi her zaman tam olarak bilinmemektedir. Ayrıca tüm epilepsi nöbetlerinde aynı patofizyoloji geçerli değildir. Epilepsi doğuran gliozisli hücreler, hücre dışı  $K^+$  iyonlarını tamponlama kabiliyetleri bozulduğundan, hücre dışında  $K^+$  iyon artışına yol açarak nöronların uyarılabilme eşliğinin düşmesine ve epilepsi nöbetlerinin oluşmasına yol açar. Ayrıca epileptojenik bölgelerde  $Na^+K^+/ATPaz$  aktivitesinin azalması nedeniyle hücre dışı  $K^+$  iyon konsantrasyonu artar. Bu şekilde nöronlar uyarılarak, deşarjların oluşması ve yayılması kolaylaşır<sup>12</sup>.

Antikonvulzanlar, merkezi sinir sistemini seçici olarak deprese eden ilaçlardır. Bu ilaçlar esas olarak merkezi sinir sistemine zarar vermeden ve solunumu deprese etmeden epileptik nöbetlerin baskılanması için kullanılırlar<sup>28</sup>. Hastaların % 75–80 inde etkilidirler.

Epilepsinin semptomatik tedavisi amacıyla kullanılan antiepileptik ilaçlar, motor uyarılabilirliğini etkilemeden nöbet şuur eşliğini arttırmaktadır. Antiepileptiklerin nöbetleri nasıl önlediği konusunda çeşitli görüşler vardır. Genellikle sinapslardaki iletimi engellemek suretiyle yüksek frekanslı düzensiz deşarjların yayılmasını bloke ederek nöbet oluşumunu engelledikleri sanılmaktadır<sup>8,19,26,28</sup>.

Topiramate [2,3:4,5-bis-0-(1-methylethylidene) b-D-fuructopyranose sulfamate] ( $C_{12}H_{21}NO_8S$ ) geniş spektrumlu etki mekanizmasına sahip yeni kuşak bir antiepileptiktir. Sülfat içeren monosakkarid yapıda bir bileşiktir<sup>7</sup>. Hem deneysel<sup>27,30</sup> hem de klinik çalışmalarda<sup>6</sup> geniş spektrumlu antiepileptik aktiviteye sahip bir bileşiktir. 1979 yılında sentezlenen ve 1995 yılında ilk kez İngiltere’de kullanıma sunulan TPM, 1998 yılında, Amerikan Gıda ve İlaç Uygulama (Food and Drug Administration-FDA) komitesi tarafından da ruhsatlandırılmıştır<sup>2</sup>.

Geniş spektrumlu etki mekanizmasına sahip olması nedeni ile epilepsi tedavisinde daha yüksek etkinlik gösterdiği düşünülmektedir<sup>15</sup>. Hayvanlarda yapılan epilepsi çalışmalarında TPM’in deneysel olarak oluşturulan nöbetleri engellediği bildirilmektedir<sup>20,27,30,31</sup>. Değişik reseptörler üzerindeki etkileri nedeniyle TPM hala araştırılmaktadır.

TPM’in antikonvülzan etki göstermesinde birden fazla etki mekanizması vardır. Bunlar kısaca şöyle özetlenebilir;

1- Diğer antikonvülzanlara benzer şekilde voltaj duyarlı  $Na^+$  kapılarını bloke ederek epileptiform deşarjların süresini ve her deşarjda ortaya çıkan aksiyon potansiyellerini azaltır.

2-  $\gamma$  – aminobütirik asit tip A ( $GABA_A$ ) reseptörünün düzenlediği klor akışını artırır yani  $GABA_A$  reseptör üzerine düzenleyici etkisi vardır. Genellikle  $GABA$  aktivitesini güçlendirir.

3- Sadece TPM’a özgü olduğu öne sürülen bir özellik olarak glutamat reseptör alt tiplerinden Kainat ve AMPA reseptörlerini bloke eder. Ancak NMDA reseptörleri üzerinde anlamlı etkisi yoktur.

4- Nöronal uyarılabilirliğin kontrolünde rol oynadığı bilinen  $Ca^{++}$  kanalları üzerinde düzenleyici etkisi vardır. Yüksek voltajla aktive olan  $Ca^{++}$  kanallarında negatif modülasyon sağlar, yani  $Ca^{++}$  akışını azaltır.

5-  $K^+$  kanallarını aktive eder.

6- Sinir uçlarından glutamat ve aspartat gibi eksitatör aminoasit salınımını inhibe eder<sup>4,5,9,11,13-17,21,23-25,27</sup>.

Bu çalışma, antiepileptik bir ilaç olan TPM’in, pilokarpine oluşturulan deneysel epilepside, nöronlar üzerine olan nöroprotektif etkisinin ve hangi dozda en fazla olduğunun belirlenmesi amacı ile yapılmıştır. Elde edilen sonuçların, hayvanlarda epilepsi olgularının tedavisinde yeni bir yaklaşım getireceği düşünülmektedir.

## Materyal ve Metot

Hayvanlarla ilgili bütün prosedürler Uludağ Üniversitesi Etik Kurulundan 08062005/3 karar numarası ile onay alındıktan sonra ve etik kurallara uyularak gerçekleştirilmiştir.

### Hayvanlar

Çalışmada, 60 adet 300-350 g ağırlığında erişkin Sprague-Dawley ırkı erkek sıçan kullanıldı. Hayvanlar Uludağ Üniversitesi, Deney Hayvanları Yetiştirme, Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edildi. Sıçanlar, nemi % 60, sıcaklığı 18-22°C arasında sabit olan, çevre kontrollü bir ortamda barındırıldılar. Sıçanlara sabah 07:00-19:00 saatleri arasında suni ışık ile aydınlık, 19:00-07:00 saatleri arasında karanlık uygulandı. Yem ve su gereksinimleri ad libitum sağlandı. Standart sıçan diyeti ile beslendiler.

### Gruplar

Çalışma, deneysel epilepside TPM'in beklenen antikonvulsan etkisinin yanı sıra en yüksek nöroprotektif etkinin hangi dozda olduğunun araştırılabilmesi amacı ile 6 gruptan oluşturuldu, her grupta 10 adet sıçanın bulguları değerlendirildi. Gruplar ve gruplara yapılan uygulamalar aşağıda belirtildiği gibidir.

1) Naif Grup: İntra peritoneal (i.p.) % 0.9 NaCl enjekte edildi.

2) Nöbet Grubu: 380 mg/kg i.p. pilokarpin HCl enjeksiyonu ile nöbet oluşturuldu.

3) Nöbet + TPM20 Tedavili Grup: 20 mg/kg i.p. topiramate uygulandıktan sonra 380 mg/kg i.p. pilokarpine HCl uygulandı.

4) Nöbet + TPM60 Tedavili Grup: 60 mg/kg i.p. topiramate uygulandıktan sonra 380 mg/kg i.p. pilokarpine HCl uygulandı.

5) Nöbet + TPM100 Tedavili Grup: 100 mg/kg i.p. topiramate uygulandıktan sonra 380 mg/kg i.p. pilokarpine HCl uygulandı.

6) Nöbet + TPM150 Tedavili Grup: 150 mg/kg i.p. topiramate uygulandıktan sonra 380 mg/kg i.p. pilokarpine HCl uygulandı.

### Nöbet Oluşturulması

380 mg/kg dozda pilokarpin HCl (i.p.; Sigma-Aldrich, United Kingdom) enjeksiyonu ile nöbet oluşturularak hayvanlar status epileptikusa sokuldu. Bu tek ve yüksek doz pilokarpin enjeksiyonu hayvanlarda yüksek oranda tonik-klonik nöbetlerin oluşmasına neden oldu. Pilokarpin distile su ile 0.5 ml lik bir

hacimde sulandırılarak uygulandı. Nöbetlerde periferik yan etkilerin azaltılması için pilokarpin HCl verilmeden önce metil-scopolamine (1 mg/kg, s.c.; Sigma-Aldrich, Germany) enjeksiyonu yapıldı. Skopolamin distile su ile 0.5 ml lik bir hacimde sulandırılarak uygulandı.

### Topiramatin Uygulanışı

Çalışmada kullanılan Topiramate Sigma-Aldrich, Germany firmasından temin edildi. Toz şeklindeki TPM, pH 8 de % 0.9 NaCl içinde sıcaklığı 40-60 °C olan ılık su banyosunda çözülünceye kadar tutularak enjeksiyona hazırlandı. Topiramatin daha hızlı emilerek daha çabuk etkisini göstermesi amacı ile i.p. olarak verilmesi tercih edildi.

Enjeksiyon yapıldıktan 24 saat sonra sıçanlar 40 mg/kg, i.v thiopental sodium (Pentothal Sodium-Abott) ile anesteziye alındı. Anestezi altında iken sıçanlar dekapite edilerek hızla beyinleri çıkarıldı. Beyinler CO<sub>2</sub> gazı ile donduruldu ve hipokampal boyama yapılana kadar -80°C de saklandı. Alınan histolojik kesitlerde ise hematoksilin-eozin boyaması yapılarak hipokampüsde cornu ammonis (CA3 ve CA1) alanlarındaki piramidal nöronların sayısı saptanarak nöron hasarının olup olmadığı tesbit edildi.

### Hematoksilen-Eosin Boyaması ve Nöron Sayımı

Beynin hipokampüs bölgesinden alınan frozen 10 µm'lik kryostat kesitleri % 10 nötral formalinde oda ısısında 20 saniye tutularak fikse edildi, musluk suyundan geçirildikten sonra 10-20 saniye hematoksilin boyaması yapıldı, kesitler tekrar musluk suyundan geçirildikten sonra 10 saniye % 1'lik eosinde bekletildi, musluk suyunda yıkandıktan sonra dehidrasyon, şeffaflandırma ve kapatma işlemine tabii tutuldu. Hazırlanan preparatlar ışık mikroskopunda (Olympus BX-50) incelendi. Mikroskoba bağlı bir kamera (Olympus DP71; Olympus Optical Co., Ltd., Tokyo, Japan) ile çekilen fotoğraflar bilgisayar ortamına alındı. CA3 ve CA1 alanlarındaki piramidal nöronların sayımı Scion Image programı (Scion Image for Windows, Scion Corporation 4.0.3.2., USA) ile yapıldı ve preparatlar nöron hasarı yönünden değerlendirildi.

### İstatistiksel Analiz

Grupların CA1 ve CA3 hipokampal alanlarına ait ortalama nöron sayılarının karşılaştırılmasında SPSS (SPSS 15.0 for Windows,

SPSS Inc.) istatistik programından yararlanılarak tek yönlü varyans analizi uygulandı. Varyans analizi sonucuna göre istatistiki düzeyde anlam bulunan grupların karşılaştırılmasında Tukey Gerçek Önemli Fark Yöntemi kullanıldı.

## Bulgular

Deney gruplarında hipokampusun CA1 ve CA3 bölgelerindeki nöron sayıları ortalama, minimum ve maksimum değerleri tablo-1 de sunulmuştur.

**Tablo-1: Hipokampusun CA1 ve CA3 bölgelerindeki nöron sayıları**

**Table-1: Number of neurons in the hippocampus CA1 and CA3 regions**

	CA1			CA3		
	$\bar{X} \pm SE$	Minimum	Maximum	$\bar{X} \pm SE$	Minimum	Maximum
Naif	10.75 $\pm$ 1.03 <sup>a</sup>	7.75	13.00	10.25 $\pm$ 1.16 <sup>a</sup>	7.00	14.25
Nöbet	7.95 $\pm$ 0.34 <sup>abc</sup>	7.00	9.00	8.35 $\pm$ 0.24 <sup>ab</sup>	7.50	9.00
Nöbet+TPM 20	7.00 $\pm$ 0.29 <sup>bc</sup>	6.25	7.75	8.60 $\pm$ 0.23 <sup>ab</sup>	8.00	9.25
Nöbet+TPM 60	6.10 $\pm$ 0.78 <sup>c</sup>	4.00	8.50	9.00 $\pm$ 0.78 <sup>ab</sup>	6.50	10.75
Nöbet+TPM 100	9.95 $\pm$ 1.08 <sup>ab</sup>	6.25	12.00	9.20 $\pm$ 0.34 <sup>ab</sup>	8.00	10.00
Nöbet+TPM 150	8.95 $\pm$ 0.34 <sup>abc</sup>	8.00	10.00	6.65 $\pm$ 0.19 <sup>b</sup>	6.00	7.00

a- c: Aynı sütunda değişik harfler ile gösterilen gruplar arası farklar önemlidir ( $p < 0.05$ )

a-c: Shown in the same column with different letters are significant differences between groups ( $p < 0.05$ )

Tabloda belirtildiği gibi CA1 bölgesinde nöron sayısı ortalaması en yüksek naif grupta bulunmuştur. Nöbet oluşturulan gruplarda ise en yüksek nöron sayısı TPM 100 grubunda hesaplanırken en düşük ortalama TPM 60 grubunda gözlenmiştir. Nöron sayısı açısından en düşük minimum değere (Min. = 4) sahip olan grup TPM 60 grubuyken, en yüksek minimum nöron sayısı (Min.=8) TPM 150 grubudur. TPM 100 grubunda maksimum nöron sayısı en yüksek düzeyde bulunmuştur (Max.=12). Maksimum ve minimum değerlerin gruplarda farklı düzeylerde bulunması sıçanların bireysel özelliklerinin de nöbet ve topiramet tedavisine karşı, etkili olabileceğini düşündürmektedir.

CA1 bölgesinde grupların nöron sayıları istatistiki düzeyde önemli bulunmuştur ( $p < 0.001$ ). TPM 100 ve TPM 150 grupları ile

nöbet ve naif gruplarının nöron sayıları arasındaki farklılık istatistiki düzeyde önemli değildir ( $p > 0.05$ ). Ancak naif grupla karşılaştırıldığında hücre sayısının en yakın olduğu gruplar, 100 ve 150 mg/kg dozda TPM tedavisinin uygulandığı gruplardır. TPM 20 ve TPM 60 gruplarının CA1 bölgesindeki nöron sayıları nöbet grubundan farklı olmamakla birlikte naif gruptan istatistiki düzeyde düşüktür. Bu durum topiramatin belli dozlarda kullanımının nöron ölümlerini engellerek etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Nöbet oluşturulan gruplarda hipokampusun CA3 alanında nöron sayıları ortalamaları en yüksek TPM 100 grubunda gözlenirken, en düşük ortalama TPM 150 grubunda bildirilmiştir. CA3 bölgesindeki nöron sayıları minimum değerleri genellikle birbirine yakıncan maksimum nöron sayısı TPM 60 ve TPM 100 grubunda diğer gruplara göre daha yüksek düzeydedir.

CA3 bölgesinde grupların nöron sayıları istatistiki düzeyde anlamlı bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ). TPM 20, 60 ve 100 grupları ile nöbet ve naif gruplarının nöron sayıları arasındaki farklılık istatistiki düzeyde önemli değildir ( $p > 0.05$ ). TPM 150 grubunun CA3 bölgesindeki nöron sayısı ise nöbet grubundan farklı olmakla birlikte naif gruptan istatistiki düzeyde düşüktür. Ayrıca en düşük nöron sayısı bu grupta gözlenmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı düzeyde çıkan nöron sayılarındaki bu düşüş, ilacın özellikle 150 mg/kg dozunda etkisiz olduğunu göstermektedir. 20, 60 ve 100 mg/kg dozlarında TPM tedavisi uygulanan grup ile nöbet grubu arasında istatistiksel düzeyde önem olmasa da tedavi grupları daha fazla sayıda nörona sahiptir (özellikle 100 mg/kg). Ancak bu durum TPM'in belirtilen dozlarda da, hücre ölümlerini belli düzeylerde azalttığını düşündürmekle birlikte yine ilacın yeterince etkili olmadığını göstermektedir. CA3 bölgesindeki nöron sayısı açısından TPM tedavisinin yararlı olmadığı, hatta en fazla hücre ölümünün TPM (150 mg/kg) tedavili grupta olduğu gözlenmektedir.

## Tartışma

Çalışmadan elde edilen bulgular, CA1 bölgesi için topiramatin 100 ve 150 mg/kg dozlarında uygulanmasının daha yararlı olduğunu ve bu dozlarda kullanılması ile nöron sayılarının nöbet sonrası ölümlerinin minimum düzeyde kalmasını sağladığını ortaya koymuştur. TPM 20 ve 60 mg/kg dozlarında uygulanmasının ise nöbet sonrası hücre ölümlerinde yeterli koru-

mayı sağlayamadığını düşündürmektedir. CA1 bölgesindeki nöron sayıları açısından, TPM'in 100 mg/kg dozda uygulandığında en etkin doz olduğu ve bu dozda hücre ölümlerinin en az düzeyde gerçekleştiği ortaya konulmuştur. Ancak CA3 bölgesinde TPM'in, uygulanan tüm dozlarında etkisiz olduğu gösterilmiştir. CA1 ve CA3 bölgelerinde deney gruplarında gözlenen nöron sayılarının minimum ve maksimum değerleri arasındaki farklılıklar yorumlandığında, bireysel özelliklerin ilaç tedavisine verilen yanıtı etkileyebileceğini düşündürmektedir. Özellikle CA1 bölgesinde 100 mg/kg dozda uygulanan TPM'in etkili olduğu düşünülmeyle beraber, daha yüksek dozların etkilerinin saptanması için yeni çalışmaların yapılması gerekmektedir. Daha düşük dozların etkileri ise bireysel farklılıklardaki geniş rank nedeni ile tam olarak değerlendirilememektedir.

Hipokampüsün CA3 ve özellikle CA1 bölgesindeki piramidal hücrelerin nöron hasarına karşı daha hassas olduğu bilinmektedir. Bu sebeple bizde çalışmamızda bu bölgelerdeki piramidal nöron sayıları üzerinde yoğunlaştık. Nöronlarda hasara ve ölüme neden olan olay ise eksitator aminoasit olan glutamata aşırı miktarda maruz kalınmasına bağlanabilmektedir. Diğer antiepileptik ilaçlarla karşılaştırıldığında, araştırmacılar TPM'in güvenlik profilinin geniş ve yarılanma ömrünün uzun olmasını bir avantaj olarak değerlendirmişlerdir<sup>21</sup>.

Fischer ve arkadaşları<sup>9</sup> CA1 ve CA3 alanlarında minimal 80 mg/kg dozda TPM uyguladıklarında nöronlar üzerinde koruyucu etki gösterdiğini bulmuşlardır. 80 mg/kg altındaki dozlarda uyguladıkları TPM'in nöron hasarı üzerine etkisiz olması kısmen bizim sonuçlarımızı da desteklemektedir. Aynı çalışmada TPM'in maksimal nöroprotektif etkisini 80 mg/kg da göstermesine karşılık, bu dozda nöbet frekansı ve amplitüdü üzerine önemli etkisi olmadığını da bildirmişlerdir. Aynı zamanda 320 mg/kg dozda uygulanan TPM'in çalışmadaki bazı sıçanlarda ciddi solunum depresyonu yarattığını ve buna bağlı olarak da ölümlerin meydana geldiğini vurgulamışlardır. TPM'in nöron koruyucu mekanizmasının tam olarak bilinmemesine karşılık yüksek dozlarda nöroprotektivitenin azalması, kısmen solunum depresyonuna neden olmasıyla açıklanabilir. Bizim çalışmamızda da 150 mg/kg dozda TPM uygulandığında özellikle CA3 bölgesinde nöron sayısının nöbet grubuna kıyasla daha da düşük çıkması belli bir dozun üzerine çıkıldığında ilacın nöroprotektivitesinin azaldığını düşündürmektedir.

Rigoulot ve arkadaşları<sup>24</sup> Sprague-Dawley sıçanlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada farklı dozlarda uygulanan TPM tedavisinin sonucunda, kısmen bizim çalışmamızı destekler nitelikte, TPM'in hipokampüsde yalnızca CA1 alanında nöron koruyucu etkisinin olduğunu bulmuşlardır. Aynı zamanda CA1 bölgesindeki nöronların CA3 nöronlarından daha hassas olduğu da vurgulanmaktadır. Bizim çalışmamızda ise naif gruba göre TPM tedavisi uygulanan grupta (20 ve 60 mg/kg dozda) CA1 alanında hücre sayısındaki azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olması CA3 de ise anlam bulunmaması, CA1 deki piramidal nöronların daha hassas olmasından kaynaklanıyor olabilir.

TPM'in nöron korumadaki etki mekanizması tam olarak anlaşılamamış olmasına rağmen, GABA reseptörleri<sup>32</sup>, AMPA/Kainat reseptörleri<sup>10</sup>, Ca<sup>++</sup> kanalları<sup>34</sup> ve voltaja duyarlı sodyum kanallarına<sup>35</sup> etki ederek antiepileptik etki gösterdiği ve nöron korunmasına katkıda bulunduğu bilinmektedir. TPM'in nöron koruyucu etkisinin korteksdeki hücrelerle karşılaştırıldığında, hipokampüsdeki nöronlar üzerinde daha fazla olduğu bildirilmiştir<sup>24</sup>. AMPA/Kainat reseptörlerinin kortekse göre hipokampüsde daha fazla bulunduğu ve hipokampüsünde en fazla CA1 ve CA3 bölgelerinde var olduğu bildirilmektedir<sup>22</sup>. TPM'in hipokampüsde bu nöron koruyucu etkisi AMPA/Kainat reseptörlerinin aktivasyonunu inhibe etmesi ile açıklanabilmektedir<sup>24</sup>. Buna dayalı olarak bizde çalışmamızda özellikle TPM'in hipokampüsdeki piramidal nöronlar üzerinde olan etkisine yoğunlaştık.

Lee ve arkadaşları<sup>18</sup> yapmış oldukları bir iskemi çalışmasında 50 mg/kg dozda uyguladıkları TPM'in CA1 alanında nöron hasarı üzerinde etkisiz olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca Cha ve arkadaşları<sup>7</sup> yaptığı TPM tedavisi ile ilgili bir başka çalışmada ise 80 mg/kg dozda 4 hafta boyunca TPM uygulamışlardır. Sonuçta TPM tedavisinin nöronlardaki hücre kaybı üzerinde nöroprotektif etkisinin olmadığını bulmuşlardır.

Yapılan çalışmalarda farklı dozlarda uygulanan TPM'in nöroprotektif etkisi açısından farklı sonuçlar bulunmuş olması bu konuyla ilgili daha fazla araştırma yapılmasının gerekliliğini ortaya çıkarmaktadır.

Bu çalışmanın yapılmasındaki bir amaçta veteriner hekimlikte TPM ve onun gibi diğer yeni kuşak antiepileptiklerin kullanımının artırılması ve avantajlarının vurgulanmasında katkıda bulunmaktadır. Ancak henüz bu alanda kullanılmadığı için hayvanlar üzerinde daha geniş kapsamlı araştırmaların yapılması da gerek-

tedir. Veteriner hekimlikte, klinikler ve hayvan hastanelerinde epilepsi tedavisinde çok eski yıllarda tedavi amaçlı kullanılan fenobarbütal ve türevleri, Türkiye'nin belli başlı bazı büyük şehirlerinde (Bursa, Antalya, İzmir, İstanbul...vb.) nöbetlerin semptomatik tedavisinde halen günümüzde kullanılmaktadır. Oysaki yeni kuşak antiepileptiklerden biri olan TPM, tedavide veteriner hekimler tarafından tercih edilse, eski generasyon ilaçlara nazaran muhtemelen tedavide daha yüksek başarı oranı elde edilebilecektir. Nitekim beşeri hekimlikte artık eski kuşak ilaçlar tedaviden çıkarılmış olup yeni kuşak ilaçlarda oldukça başarılı sonuçlar alınmıştır. TPM da epilepsi hastası insanlarda tedavide son yıllarda başarılı bir şekilde uygulanan ilaçlar arasında yer almaktadır. Etki mekanizması çok geniş olan TPM veteriner hekimlik alanında tedavide kullanıldığı takdirde eski kuşak antiepileptiklerin neden olduğu yan etkilerin azalması başarımın daha da artabileceğini düşündürmektedir.

### Teşekkür

Bu çalışma TÜBİTAK tarafından (Proje No:SBAG-HD-117, 106S012) desteklenmiştir.

### Kaynaklar

- 1- Ak Sonat, F., 2009. Hayvanlarda Epilepsi. *U. Ü. Vet. Fak. Derg.*, 28, 47-52.
- 2- Ak Sonat, F., 2009. Antiepileptikler ve Yeni Bir Antiepileptik Olan Topiramatin Epilepsi Tedavisindeki Yeri ve Önemi. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.*, 15, 987-992.
- 3- Ak Sonat, F., Ercan, İ., Turan Özdemir, S., Özkaya, G., Noyan, B., 2009. Statistical shape analysis of the rat hippocampus in epilepsy. *Anat. Sci. Int.*, 84, 298-304.
4. Alves, O.L., Doyle, A.J., Clausen, T., Gilman, C., Bullock, R., 2003. Evaluation of topiramate neuroprotective effect in severe TBI using microdialysis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 993, 25-34.
5. Borowicz, K.K., Luszczki, J.J., Duda, A.M., Czuczwar, S.J., 2003. Effect of topiramate on the anticonvulsant activity of conventional antiepileptic drugs in two models of experimental epilepsy. *Epilepsia*, 44, 640-646.
6. Bourgeois, B.F., 1996. New antiepileptic drugs. *Curr. Opin. Pediatr.*, 8, 543-548.
7. Cha, B.H., Silveira, D.C., Liu, X., Hu, Y., Holmes, G.L., 2002. Effect of topiramate following recurrent and prolonged seizures during early development. *Epilepsy Res.*, 51, 217-232.
8. Czapinski, P., Blaszczyk, B., Czuczwar, S.J., 2005. Mechanisms of action of antiepileptic drugs. *Curr. Top. Med. Chem.*, 5, 3-14.
9. Fisher, A., Wang, X., Cock, H.R., Thom M., Patsalos P.N., Walker, M.C., 2004. Synergism between topiramate and budipine in refractory status epilepticus in the rat. *Epilepsia*, 45, 1300-1307.
10. Gibbs, J.W., Sombati, S., Delorenzo, R.J., Coulter, D.A., 2000. Cellular actions of topiramate: blockade of kainate evoked inward currents in cultured hippocampal neurons. *Epilepsia*, 41, 10-16.
11. Glauser, T., 1999. Topiramate. *Epilepsia*, 40, 71-80.
12. Johannessen, S., Graw, L., Sillanpaa, M., Tomson, T., 1995. Intractable Epilepsy, Wrightson Biomedical Publishing Ltd.
13. Kaminski, R.M., Banerjee, M., Rogawski, M.A., 2004. Topiramate selectively protects against seizures induced by ATPA, a GluR5 kainate receptor agonist. *Neuropharmacology*, 46, 1097-1104.
14. Kanda, T., Kurokawa, M., Tamura, S., Nakamura, J., Ishii, A., Kuwana, Y., Serikawa, T., Yamada, J., Ishihara, K., Sasa, M., 1996. Topiramate reduces abnormally high extracellular levels of glutamate and aspartate in the hippocampus of spontaneously epileptic rats (SER). *Life Sci.*, 59, 1607-1616.
15. Karamustafaloğlu, O., Demirkıran, S., 2004. Psikiyatrik bozukluklarda topiramate kullanımı. *Klin. Psikofarm. Bült.*, 14, 26-37.
16. Koh, S., Jensen, F.E., 2001. Topiramate blocks perinatal hypoxia-induced seizures in rat pups. *Ann. Neurol.*, 50, 366-372.
17. Kudin, A.P., Debska-Vielhaber, G., Vielhaber, S., Elger, C.E., Kunz, W.S., 2004. The mechanism of neuroprotection by topiramate in an animal model of epilepsy. *Epilepsia*, 45, 1478-1487.
18. Lee, S.R., Kim, D.P., Kim, J.E., 2000. Protective effect of topiramate against hippocampal neuronal damage after global ischemia in the gerbils. *Neurosci. Lett.*, 281, 183-186.
19. Macdonald, R.L., Kelly, K.M., 1995. Antiepileptic drug mechanisms of action. *Epilepsia*, 36, 2-12.
20. Nakamura, J., Tamura, S., Kanda, T., Ishii, A., Ishihara, K., Serikawa, T., Yamada, J., Sasa, M., 1994. Inhibition by topiramate of seizures in spontaneously epileptic rats and DBA/2 mice. *Eur. J. Pharmacol.*, 254, 83-89.
21. Niebauer, M., Gruenthal, M., 1999. Topiramate reduces neuronal injury after experimental status epilepticus. *Brain Res.*, 837, 263-269.

22. Ozawa, S., Kamiya, H., Tsuzuki, K., 1998. Glutamate receptors in the mammalian central nervous system. *Prog. Neurobiol.*, 54, 581-618.
23. Rigoulot, M.A., Boehrer, A., Nehlig, A., 2003. Effects of topiramate in two models of genetically determined generalized epilepsy, the GAERS and the audiogenic Wistar AS. *Epilepsia*, 44, 14-19.
24. Rigoulot, M.A., Koning, E., Ferrandon, A., Nehlig, A., 2004. Neuroprotective properties of topiramate in the lithium-pilocarpine model of epilepsy. *J. Pharmacol Exp. Ther.*, 308, 787-795.
25. Russo, E., Constanti, A., Ferreri, G., Citraro, R., De Sarro, G., 2004. Nifedipine effects the anticonvulsant activity of topiramate in various animal models of epilepsy. *Neuropharmacology*, 46, 865-878.
26. Sankar, R., Holmes, G.L., 2004. Mechanisms of action for the commonly used antiepileptic drugs: relevance to antiepileptic drug-associated neurobehavioral adverse effects. *J. Child Neurol.*, 19, 6-14.
27. Shank, R.P., Gardocki, J.F., 1994. Vaught, J.L., Topiramate: preclinical evaluation of structurally novel anticonvulsant. *Epilepsia*, 35, 450-460.
28. Soderpalm, B., 2002. Anticonvulsants: aspects of their mechanisms of action. *Eur. J. Pain*, 6, 3-9.
29. Tucker, G.M., 2002. Oral anticonvulsants used in the chronic management of seizure disorders. *P&T*, 27, 96-102.
30. Wauquier, A., Zhou, S., 1996. Topiramate: a potent anticonvulsant in the amygdala-kindled rat. *Epilepsy Res.*, 24, 73-77.
31. White, H.S., Brown S.D., Woodhead, J.H., Skeen, G.A., Wolf, H.H., 1997. Topiramate enhances GABA mediated chloride flux and GABA evoked chloride currents in murine brain neurons and increases seizure threshold. *Epilepsy Res.*, 28, 167-179.
32. White, H.S., Brown, S.D., Woodhead, J.H., Skeen, G.A., Wolf, H.H., 2000. Topiramate modulates GABA evoked current in murine cortical neurons by a nonbenzodiazepine mechanism. *Epilepsia*, 41, 17-20.
33. Zenbilci, N., 1995. Sinir Sisitemi Hastalıkları, 3.Baskı, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları, İstanbul, 625-661.
34. Zhang, X., Velumian, A.A., Jones, O.T., Carlen, P.L., 2000. Modulation of high voltage activated calcium channels in dentate granule cells by topiramate. *Epilepsia*, 41, 52-60.
35. M., 1997. Topiramate attenuates voltage gated sodium currents in rat cerebellar granule cells. *Neurosci. Lett.*, 231, 123-126.