



T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**AMİGDALANIN SANTRAL NÜKLEUSUNUN UYARILMASIYLA
ORTAYA ÇIKAN KARDİYOVASKÜLER YANITLAR VE
POSTERİOR HİPOTALAMUSDA L- GLUTAMİK ASİT VE
L- SİTRÜLİN DÜZEYLERİNDE OLUŞAN DEĞİŞİKLİKLERİN
İNCELENMESİ**

HAZAN BAYRAKTAR ÖZYURT
DOKTORA TEZİ

FARMAKOLOJİ VE KLİNİK FARMAKOLOJİ
ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. ŞULE OKTAY
İkinci Danışman Doç. Dr. M. ZAFER GÖREN

İSTANBUL -2006

ÖNSÖZ

Tıp ve doktora eğitimim, ve bu tezin hazırlanması sürecinde, çalışkanlığı, bilimsel yönü, hoşgörü ve bilgisiyle bana her zaman destek olan değerli danışman hocam

Prof. Dr. Şule Oktay'a,

doktora eğitimim ve tezin hazırlanmasında değerli katkı ve yönlendirmelerini gördüğüm tecrübe ve bilgisinden sınırsızca yararlandığım ikinci danışman hocam

Doç. Dr. M. Zafer Gören'e,

Farmakoloji ve tıp eğitimim sırasında ilgi ve desteğini esirgemeyen, bilimselliği ve çalışkanlığıyla bana her zaman örnek olan değerli hocam

Prof. Dr. Kemal Berkman'a,

Çalışma şevki ve heyecanı ile farmakoloji eğitimime sağladığı katkılar ve yol göstericiliği için değerli hocam

Prof. Dr. Filiz Onat'a,

Çalışma ve eğitimime sağladığı katkılar için, tezin hazırlanması sırasında kendisinden büyük destek gördüğüm tecrübe ve bilgisinden sınırsızca istifade ettiğim değerli hocam

Prof. Dr. Meral Keyer Uysal'a,

Çalışmalarında ve doktora eğitimimde yardım ve desteklerini benden esirgemeyen

Doç Dr. Atilla Kayaalp ve Doç Dr. Ahmet Akıcı'ya,

Çalışkanlıkları kadar engin sabır ve hoşgörüleri ile ihtiyaç duyduğum her zaman en içten yardımlarını benden esirgemeyen arkadaşlarım

Dr. Rezzan Aker ve Dr. Hasan Raci Yananlı, Dr. Aydan Özkaynakçı ve Dr. Berna Terzioğlu'na,

Çalışmalarında benden hiçbir desteği esirgemeyen eşim

Şule Giray ve Nurettin Demirci'ye ,

Teşekkür ederim,

Hazan Özyurt.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	i
KISALTMALAR	iv
ŞEKİL ve TABLOLAR	vi
i) Şekiller.....	vi
ii) Tablolar.....	x
1.ÖZET	1
2.SUMMARY	3
3.GİRİŞ VE AMAÇ	4
4.GENEL BİLGİLER	4
4.1.Anatomi.....	5
4.1.1.Hipotalamusun Anatomisi.....	5
4.1.2.Posterior Hipotalamusun Anatomisi.....	7
4.1.3.Amigdala ve Amigdalanın Santral Nükleusunun Anatomisi.....	6
4.2.Kardiyovasküler Sistemin Santral Düzenlenmesi.....	9
4.2.1.Amigdalanın Santral Nükleusunun Kardiyovasküler Düzenlemedeki Rolü.....	13
4.2.2.Posterior Hipotalamusun Kardiyovasküler Düzenlemedeki Rolü.....	16
4.2.3.L-Arjinin – Nitrik Oksit Yolağı ve Kardiyovasküler Fonksiyonlardaki Rolü.....	18
4.2.4.Amigdalanın Santral Nükleusu, Nitrejik Sistem ve Santral Kardiyovasküler Düzenleme.....	22
4.2.5.Posterior Hipotalamus, Nitrejik Sistem ve Santral Kardiyovasküler Düzenleme.....	23
4.2.6.L-Glutamik Asit, Nitrejik Sistem ve Santral Kardiyovasküler Düzenleme.....	24
4.3.Mikrodializ ve Nitrejik Sistem.....	26
5. GEREÇ VE YÖNTEM	
5.1.Kullanılan Deney Hayvanı.....	28
5.2.Stereotaksik Cerrahi.....	28

5.3.Damar Kanülünün Yerleştirilmesi ve Kan Basıncı ile Kalp Hızı Değişikliklerinin İzlenmesi.....	29
5.4.Probların Hazırlanması ve Mikrodiyaliz Deneyleri.....	29
5.5.Kromatografik Sistem ile L-sitrülin ve L- glutamik Asit Düzeylerinin Ölçümü.....	30
5.6.Deney Protokolü.....	31
5.7. Histolojik Doğrulama.....	33
5.7.Verilerin İstatistiksel Analizi.....	34
6. BULGULAR	
6.1.Amigdalanın Santral Nükleusuna Parankimal Uygulanan yBOS veya L-NAME'nin Amigdalanın Santral Nükleusunun Elektriksel Olarak Uyarılmasıyla Ortaya Çıkan Kardiyovasküler Yanıtlar Üzerine Etkisi.....	36
6.2.Posterior Hipotalamusa Parankimal Uygulanan yBOS veya L-NAME'in Amigdalanın Santral Nükleusunun Elektriksel Uyarılması ile oluşan Kardiyovasküler Yanıtlar Üzerine Olan Etkisi.....	45
6.3.Amigdalanın Santral Nükleusuna Uygulanan Elektriksel Uyarılar Önce ve Sonrasında Posterior Hipotalamusdan Toplanan Diyalizatlarda Ölçülen Ekstraselüler L-sitrülin ve L-glutamatik Asit Düzeyleri.....	54
7.TARTIŞMA	57
8.SONUÇLAR	70
9.KAYNAKLAR	72
10.ÖZGEÇMİŞ	91
SINAV TUTANAĞI	
ETİK KURUL ONAYI	

KISALTMALAR

- ACTH:** Adrenokortikotropik hormon
AMPA: Alfa-amino 3-hidroksi-5-metil-4-izoksazol propiyonik asit
ASN: Amigdalanın santral nükleusu
BMI: Bikukulin metiyodür
cGMP: Siklik guanosin monofosfat
DMH: Hipotalamusun dorsomedial nükleusu
EAA: Eksitator amino asitler
eNOS: Endotelial nitrik oksit sentetaz
ES: Elektriksel stimülasyon
FMN: Flavin adenin mononükleotid
GABA: Gama-amino bütirik asit
GTN: Gliseriltrinitrit
HPLC: High Pressure Liquid Chromatography; yüksek basınçlı sıvı kromatografi
i.p.: İntraperitoneal
iGluR: İyonotropik eksitator amino asit reseptörleri
iNOS: İndüklenebilir tip nitrik oksit sentetaz
KB: Kan basıncı
KH: Kalp hızı
KVLM: Kaudal venrolateral medulla
L-NAME: N^G – nitro – L – arjinin metilester
LPS: Lipopolisakkarid
mGluR: Metalotropik eksitator amino asit reseptörleri
NADPH: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
ND: NADPH-diaforez
NMDA: N-metil-D-aspartat
nNOS: Nöronal nitrik oksit sentetaz
NO: Nitrik oksit
NOS: Nitrik oksit sentetaz
NTS: Nükleus traktus solitarius

OKB: Ortalama kan basıncı
PH: Posterior hipotalamus
PVN: Hipotalamusun paraventiküler nükleusu
RVLM: Rostral venterolateral medulla
SHR: Spontan hipertansif sıçanlar
yBOS: Yapay beyin omurilik sıvısı

ŞEKİL ve TABLOLAR

i) Şekiller

- Şekil 1:** Akut stres durumlarında santral kardiyovasküler yanıtları oluşturulmasında rolü olduğu düşünülen yollar.....12
- Şekil 2:** Bir mikrodiyaliz probunun şematik gösterilmesi.....30
- Şekil 3:** Amigdalanın santral nükleusuna yapay beyin omurilik sıvısı enjeksiyonu öncesi uygulanan elektriksel stimülasyon ile enjeksiyon sonrası uygulanan elektriksel stimülasyon sırasında ölçülen ortalama kan basıncı değerleri.....37
- Şekil 4:** Amigdalanın santral nükleusuna yapay beyin omurilik sıvısı) enjeksiyonu öncesi uygulanan elektriksel stimülasyon ile enjeksiyon sonrası uygulanan elektriksel stimülasyon sırasında ölçülen kalp hızı değerleri.....37
- Şekil 5:** Amigdalanın santral nükleusuna yapay beyin omurilik sıvısı enjeksiyonu öncesi uygulanan elektriksel stimülasyon ile enjeksiyon sonrası uygulanan elektriksel stimülasyon sırasında saptanan ortalama kan basıncı değerlerinin bazal değerlere göre değişim yüzdeleri.....38
- Şekil 6:** Amigdalanın santral nükleusuna yapay beyin omurilik sıvısı (öncesi uygulanan elektriksel stimülasyon ile enjeksiyon sonrası uygulanan elektriksel stimülasyon sırasında saptanan kalp hızı değerlerinin bazal değerlere göre değişim yüzdesi.....39
- Şekil 7:** Amigdalanın santral nükleusuna 40 nmol N^G – nitro – L – arjinin metilesterenjeksiyonu öncesi uygulanan elektriksel stimülasyon ile enjeksiyon sonrası uygulanan elektriksel stimülasyon sırasında ölçülen ortalama kan basıncı değerleri.....40
- Şekil 8:** Amigdalanın santral nükleusuna 40nmol N^G – nitro – L – arjinin metilester enjeksiyonu öncesi uygulanan elektriksel stimülasyon ile enjeksiyon sonrası uygulanan elektriksel stimülasyon sırasında ölçülen kalp hızı değerleri.....40
- Şekil 9:** Amigdalanın santral nükleusuna 40 nmol N^G – nitro – L – arjinin metilester (L-NAME, 40 nmol/100nl) enjeksiyonu öncesi uygulanan elektriksel stimülasyon ile

enjeksiyon sonrası uygulanan elektriksel stimülasyon sırasında saptanan ortalama kan basıncı değerlerinin bazal değerlere göre değişim yüzdeleri.....41

Şekil 10: Amigdalanın santral nükleusuna 40 nmol N^G – nitro – L – arjinin metilester enjeksiyonu öncesi uygulanan elektriksel stimülasyon ile enjeksiyon sonrası uygulanan elektriksel stimülasyon sırasında saptanan kalp hızı değerlerinin bazal değerlere göre değişim yüzdeleri.....42

Şekil 11: Amigdalanın santral nükleusuna 400 nmol N^G – nitro – L – arjinin metilester enjeksiyonu öncesi uygulanan elektriksel stimülasyon ile enjeksiyon sonrası uygulanan elektriksel stimülasyon sırasında ölçülen ortalama kan basıncı değerleri.....43

Şekil 12: Amigdalanın santral nükleusuna 400 nmol N^G – nitro – L – arjinin metilester enjeksiyonu öncesi uygulanan elektriksel stimülasyon ile enjeksiyon sonrası uygulanan elektriksel stimülasyon sırasında ölçülen kalp hızı değerleri.....43

Şekil 13: Amigdalanın santral nükleusuna 400 nmol N^G – nitro – L – arjinin metilester enjeksiyonu öncesi uygulanan elektriksel stimülasyon ile enjeksiyon sonrası uygulanan elektriksel stimülasyon sırasında saptanan ortalama kan basıncı değerlerinin bazal değerlere göre değişim yüzdeleri.....44

Şekil 14: Amigdalanın santral nükleusuna 400 nmol N^G – nitro – L – arjinin metilester enjeksiyonu öncesi, uygulanan elektriksel stimülasyon ile enjeksiyon sonrası uygulanan elektriksel stimülasyon sırasında saptanan kalp hızı değerlerinin bazal değerlere göre değişim yüzdeleri.....45

Şekil 15: Posterior hipotalamusa parankimal yapay beyin omurilik sıvısı enjeksiyonu öncesi amigdalanın santral nükleusunun elektriksel stimülasyonu ile enjeksiyon sonrası elektriksel stimülasyonu sırasında ölçülen ortalama kan basıncı değerleri.....46

Şekil 16: Posterior hipotalamusa parankimal yapay beyin omurilik sıvısı enjeksiyonu öncesi amigdalanın santral nükleusunun elektriksel stimülasyonu ile enjeksiyon sonrası elektriksel stimülasyonu) sırasında ölçülen kalp hızı değerleri.....46

- Şekil 17:** Posterior hipotalamusa parankimal yapay beyin omurilik sıvısı) enjeksiyonu öncesi amigdalanın santral nükleusunun elektriksel stimülasyonu ile enjeksiyon sonrası elektriksel stimülasyonu sırasında saptanan ortalama kan basıncı değerlerinin bazal değerlere göre değişim yüzdeleri.....47
- Şekil 18:** Posterior hipotalamusa parankimal yapay beyin omurilik sıvısı enjeksiyonu öncesi amigdalanın santral nükleusunun elektriksel stimülasyonu ile enjeksiyon sonrası elektriksel stimülasyonu sırasında saptanan kalp hızı değerlerinin bazal değerlere göre değişim yüzdeleri.....48
- Şekil 19:** Posterior hipotalamusa parankimal 40 nmol N^G – nitro – L – arjinin metilester enjeksiyonu öncesi amigdalanın santral nükleusunun elektriksel stimülasyonu ile enjeksiyon sonrası elektriksel stimülasyonu sırasında ölçülen ortalama kan basıncı değerleri.....49
- Şekil 20:** Posterior hipotalamusa parankimal 40 nmol N^G – nitro – L – arjinin metilester enjeksiyonu öncesi amigdalanın santral nükleusunun elektriksel stimülasyonu ile enjeksiyon sonrası elektriksel stimülasyonu sırasında ölçülen kalp hızı değerleri.....49
- Şekil 21:** Posterior hipotalamusa parankimal 40 nmol N^G – nitro – L – arjinin metilester enjeksiyonu öncesi amigdalanın santral nükleusunun elektriksel stimülasyonu ile enjeksiyon sonrası elektriksel stimülasyonu sırasında saptanan ortalama kan basıncı değerlerinin bazal değerlere göre değişim yüzdeleri.....50
- Şekil 22:** Posterior hipotalamusa parankimal 40 nmol N^G – nitro – L – arjinin metilester enjeksiyonu öncesi amigdalanın santral nükleusunun elektriksel stimülasyonu ile enjeksiyon sonrası elektriksel stimülasyonu sırasında saptanan kalp hızı değerlerinin bazaldeğerlere göre değişim yüzdeleri.....51
- Şekil 23:** Posterior hipotalamusa parankimal 400 nmol N^G – nitro – L – arjinin metilester enjeksiyonu öncesi amigdalanın santral nükleusunun elektriksel stimülasyonu ile enjeksiyon sonrası elektriksel stimülasyonu sırasında ölçülen ortalama kan basıncı değerleri.....52
- Şekil 24:** Posterior hipotalamusa parankimal 400 nmol N^G – nitro – L – arjinin metilester enjeksiyonu öncesi amigdalanın santral nükleusunun elektriksel stimülasyonu ile

enjeksiyon sonrası elektriksel stimülasyonu sırasında ölçülen kalp hızı değerleri.....	52
Şekil 25: Posterior hipotalamusa parankimal 400 nmol N ^G – nitro – L – arjinin metilester enjeksiyonu öncesi amigdalanın santral nükleusunun elektriksel stimülasyonu ile enjeksiyon sonrası elektriksel stimülasyonu sırasında saptanan ortalama kan basıncı değerlerinin bazal değerlere göre değişim yüzdeleri.....	53
Şekil 26: Posterior hipotalamusa parankimal 400 nmol N ^G – nitro – L – arjinin metilester enjeksiyonu öncesi amigdalanın santral nükleusunun elektriksel stimülasyonu ile enjeksiyon sonrası elektriksel stimülasyonu sırasında saptanan kalp hızı değerlerinin bazal değerlere göre değişim yüzdeleri.....	54
Şekil 27: Amigdala santral nükleusunun elektriksel stimülasyonu sonrası ipsilateral posterior hipotalamusdan toplanan mikrodializ örneklerinde saptanan L-sitrülin konsantrasyonları.....	55
Şekil 28: Amigdala santral nükleusunun elektriksel stimülasyonu sonrası ipsilateral posterior hipotalamusdan toplanan mikrodializ örneklerinde saptanan L-glutamik asit konsantrasyonları.....	56

ii)Tablolar

Tablo1:Deney Grupları.....32

Tablo 2: Çalışmada kullanılan hayvan sayısı.....34

1. ÖZET

Bu çalışmada santral kardiyovasküler düzenlemede amigdalanın santral nükleusu (ASN) ile posterior hipotalamus (PH) arasında nitreerjik bir yolağın varlığını araştırmak amaçlandı.

Nitrik oksit (NO), santral ve periferel sinir sisteminde nöromodülatör olarak işlev görür ve kan basıncının (KB) düzenlenmesinde rol alır.

PH ve ASN kardiyovasküler düzenlemede rol alan, aralarında karşılıklı nöronal bağlantılar olan beyin bölgeleridir. Nitreerjik sistem bu bölgelerin kardiyovasküler fonksiyonlarını modüle eder.

ASN'nin elektriksel stimülasyonla (ES) aktive edilmesi tekrarlanabilir kardiyovasküler değişikliklere neden olur. Bu nedenle ES, ASN'de korku ve stres durumlarında ortaya çıkan kardiyovasküler yanıtın fizyolojisini incelemek için kullanılır.

Çalışmamızda yapılan kardiyovasküler deneylerle ASN'nin ES'si sırasında KB'nin arttığı saptandı. ES ile kalp hızında (KH) genellikle artış ancak bazı hayvanlarda düşüş saptandı. KB ve KH'de saptanan bu değişiklerden nitreerjik sistemin sorumlu olup olmadığını araştırmak amacıyla NO sentetaz inhibitörü olan N^G – nitro – L–arjinin metilester (L-NAME), ASN'ye veya PH'ya farklı konsantrasyonlarda (40 veya 400 nmol/100nl) uygulandı. Her iki beyin bölgesinde de ASN'nin ES'si sırasında KB'de saptanan artmanın L-NAME'nin konsantrasyonuna bağlı olarak baskılandığı bulundu. KH'deki değişimlerin (artma veya azalmanın), L-NAME'nin farklı konsantrasyonlarına göre arttığı, veya baskılandığı ya da etkilenmediği saptandı. L-NAME'nin PH'daki bu etkilerinden nitreerjik sistemin inhibe edilmesinin sorumlu olup olmadığını araştırmak amacıyla bu bölgeden mikrodializ yapıldı. Toplanan dializatlarda kromatografik sistem ile NO düzeyini dolaylı olarak gösteren L- sitrülün ve NO salınımını dolaylı olarak etkileyen L- glutamik asit düzeyleri ölçüldü. ES sonrası L- sitrülün ve L- glutamik asit miktarlarının PH'da arttığı bulundu.

Çalışmamızdan elde edilen bu verilerle; ASN ve PH gibi santral kardiyovasküler düzenlemede rolü olan iki beyin bölgesi arasında nitreerjik bir yolak olabileceği, sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Nitrik oksit, L-glutamik asit, L-sitrülin, amigdala, posterior hipotalamus

2. SUMMARY

The Nitrenergic Pathway Between the Central Nucleus of Amygdala and Posterior Hypothalamus That Has Role in the Central Regulation of Cardiovascular System

In this study we aimed to investigate the existence of a pathway between the posterior hypothalamus (PH) and central nucleus of amygdala (CNA) which has a role in the central regulation of cardiovascular system.

Nitric oxide has neuromodulator functions in central and peripheral nervous systems and has roles in the regulation of blood pressure (BP).

PH and CNA are the brain regions that have neuronal connections with each other and they play role in the regulation of cardiovascular system. The cardiovascular functions of these regions are affected by nitrenergic system.

Electrical stimulation (ES) of the CNA causes reproducible cardiovascular responses. This enables the use of ES of CNA in study of physiological responses that occur in stress conditions.

In cardiovascular experiments during the ES of CNA changes in blood pressure (increase) and heart rate (decrease or increase) were observed. The NO synthetase inhibitor L-NAME was injected in different concentrations (40 or 400 nmol/100nl) into PH or CNA. L-NAME inhibited the BP that occurred during the ES of CNA in a concentration dependent manner. The increased or decreased level of heart rate was inhibited or aggravated or unaffected by L-NAME.

Microdialysis was performed in PH. The level of L-citrulline that indicates the level of NO indirectly and L-glutamic acid that affects NO production were found to be increased after ES.

As a result we concluded that there might be a nitrenergic pathway between PH and CNA that play important roles in the central regulation of cardiovascular system.

Key Words: Nitric oxide, L-glutamic acid, L-citrulline, amygdala, posterior hypothalamus.

3. GİRİŞ ve AMAÇ

Santral amigdaloid nükleus ovoid bir yapı olup amigdaloid kompleksin dorsal merkezinde yer alır (109). ASN'nin ES ile aktive edilmesinin tekrarlanabilir kardiyovasküler değişikliklere neden olabileceği (32) ve korku durumunda ortaya çıkan kardiyovasküler yanıtların fizyolojisini incelemek için kullanılabileceği belirtilmiştir (65).

Posterior hipotalamik bölge, medial hipotalamik hücre topluluğunun kaudal bölgesinin en uç noktasını oluşturur (1). Literatürdeki veriler PH'nin kardiyovasküler düzenlemede rolü olduğunu destekler niteliktedir (151). Spencer ve ark tarafından yapılan bir çalışmada periventriküler bölgenin PH'daki kardiyovasküler değişikliklere en duyarlı bölge olduğu saptanmıştır (152).

Amigdalanın hipotalamus ile karşılıklı bağlantısının olduğu amigdalaya limbik korteksin tüm bölümlerinden uyarılar geldiği belirtilmiştir (58). Parades ve ark'nın yaptıkları incelemeler sonucunda ASN'ye uygulanan retrograd işaretleyicilerin PH'da orta yoğunlukta biriktiği, hipotalamusun periakvaduktal gri cevhere ve ASN'ye en fazla aferent yollayan kaynak olduğu gösterilmiştir. ASN'ye uygulanan retrograd işaretleyiciler PH'da orta yoğunlukta birikmiştir (117).

Tüm memeliler tarafından sentezlenebilen NO, kan damarları direncinin düzenlenmesinden, nöronlar arası iletişime kadar birçok fizyolojik olayda işlev görmektedir. Nitrik oksit sentetaz (NOS) inhibitörlerinin periferal olarak uzun süreli uygulanmasının hipertansiyon oluşmasına neden olduğu bildirilmiştir (11, 132).

İmmunhistokimya ile yapılan çalışmalarda ASN'nin kapsüler ve lateral bölümündeki hücre gövdelerinde ve dendritlerde nöronal NOS (nNOS) içeren nöronlar saptanmıştır (67). PH'da NO sentezinin inhibe edilmesiyle KB'nin arttığı gösterilmiştir (49).

Bu bilgiler göz önüne alınarak ASN ile PH arasında santral kardiyovasküler sistemin düzenlenmesinde nitrejik bir yolağın olabileceği şeklinde bir varsayım oluşturulmuş ve bu varsayım çalışmamızın amacını oluşturmuştur.

Çalışmamızda öncelikle ASN'nin elektrikselsel olarak uyarılmasıyla oluşan kardiyovasküler yanıtlar belirlenmiş ve daha sonra bu yanıtlarda ASN ile PH'daki nitrejik sistemin etkisi ve bu iki bölge arasında nitrejik yolağın varlığı araştırılmıştır.

4. GENEL BİLGİLER

4.1 Anatomi

4.1.1 Hipotalamusun Anatomisi

Hipotalamus limbik sistemin ortasına yerleşmiş olup anatomistler tarafından beynin farklı bir bölgesi sayılsa da fizyolojik açıdan limbik sistemin santral yapılarından biri olarak kabul edilir. Kelime anlamı olarak "limbik" sınır anlamına gelir. Limbik sistem beyinde hipotalamus ve hipotalamusla ilgili yapıları hatta hipotalamus ile serebral korteks arasındaki sınır bölgelerine yerleşmiş yapıları tanımlar.

Hipotalamus ve limbik sistem hakkındaki bilgilerimiz artıkça aslında bu iki yapının fonksiyonel olarak bir bütün olduğu anlaşılır. Bu nedenle limbik sistemin anlamı beyin duyguları, davranışları ve güdüleri kontrol eden tüm bazal sistem yapılarını kapsayacak şekilde genişletilmiştir. Davranış belli bir bölgenin değil, tüm sinir sisteminin fonksiyonudur. Santral sinir sisteminin bu fonksiyonları beyin bazal bölgelerine yerleşmiş subkortikal yapılar tarafından gerçekleştirilir.

Hipotalamus limbik sistemin subkortikal yapıları tarafından çevrelenmiştir. Bu yapılar: septum, paraolfaktör bölge, epitalamus, talamusun ön nükleusları, bazal ganglianın bir kısmı ve amigdaladır. Hipotalamusun limbik sistemin tüm seviyeleriyle bağlantısı vardır. Hipotalamusdan:

1-Aşağıya beyin sapına özellikle mezensefalonun retiküler formasyonuna, ponsa ve medullaya;

2- Yukarıya birçok beyin bölgelerine serebral bölgelere, diensefalon, özellikle ön talamus ve limbik kortekse;

3- İfundibulum içinde ön ve arka hipofiz fonksiyonlarını kontrol etmek üzere üç yöne sinyal gönderilir.

Hipotalamus beyin kitlesinin %1'den daha azını içermesine rağmen limbik sistemin tüm motor çıkış yollarının en önemlisidir. Vejetatif, nöroendokrin fonksiyonlarının yanında, emosyonel durumun düzenlenmesinde de rol alır. Hipotalamus ön ve arka olmak üzere iki bölgeye ayrılır. Anterior bölümde paraventriküler nükleus (PVN), medial preoptik bölge, supraoptik nükleus, infundibulum, posterior preoptik ve anterior hipotalamik bölge bulunur.

Posterior bölgede, PH, dorsomedial nükleus (DMH), perifornikal nükleus, ventromedial nükleus, mamillar cisim, arkuat nükleus, periventriküler zone, lateral hipotalamik bölge yer alır.

Hipotalamusdaki nükleuslar birbirlerinden belirgin sınırlarla ayrılmış değildir. Buradaki spesifik bir nöronun uyarılmasıyla ortaya çıkan etkinin nöronun uyarılmasıyla mı yoksa kontrol nükleusları farklı bir bölgede bulunan ve bu bölgeden geçen liflerin aktive edilmesiyle mi olduğunu tam olarak söylemek mümkün değildir. Örneğin çok sayıda lifin bulunduğu posterior ve lateral hipotalamik bölgenin uyarılmasıyla oluşan fonksiyonların farklı hipotalamik nükleuslar, hatta hipotalamus dışındaki nükleuslar tarafından kontrol edildiğine inanılmaktadır.

Hipotalamusun İşlevleri:

1-Kardiyovasküler düzenleme: Genellikle posterior ve lateral hipotalamusun uyarılmasıyla kalp hızı artar, KB yükselir. Preoptik çekirdeğin uyarılması KH ve KB'yi düşürür.

2- Anterior hipotalamus, özellikle preoptik nükleus aracılığıyla vücut ısısının; lateral hipotalamusa yerleşmiş susama merkezi ve suyun renal yoldan atılımını kontrol eden supraoptik nükleus aracılığıyla vücut suyunun düzenlenmesi gerçekleştirilir.

3- Paraventriküler nöronlar ile uterus kasılmasının ve süt salınımının düzenlenmesi.

4- Lateral hipotalamusda bulunan açlık merkezi ve ventromedial nükleuste yerleşmiş bulunan doyma merkeziyle gaztointestinal ve beslenme fonksiyonlarının düzenlenmesi.

5- Ön hipofiz bezinin fonksiyonlarının düzenlenmesi (109).

4.1.2. Posterior Hipotalamusun Anatomisi

Posterior hipotalamik bölge, boyutları küçük ve orta büyüklükte olan homojen hücre topluluğu içerir. Büyük, koyu boyanan hücrelerin sayısı azdır ve bu hücreler rostrokaudal yönde dağılmışlardır. PHB'de bulunan hücrelerin yoğunluğu çevre nükleuslardan daha azdır ve sinir lifleri rostrokaudal yönde uzanır (1).

Spencer ve ark'nın yaptığı bir çalışmada [³H] glutamat ile yapılan otoradyografi deneyleriyle PH'nın sınırlarının belirlenmesine çalışılmıştır. Üçüncü ventrikül medial sınır, mamillotalamik yolak lateral sınır olarak kabul edilmiştir. Arka sınırın mamiller

çekirdeğin arka sınırına kadar uzandığı, rostral uzanımın DMH'ya doğru olduğu belirtilmiştir. PH'da periventriküler nükleus ve posterior hipotalamik nükleus olmak üzere iki bölge belirlenmiştir. Periventriküler nükleusda bulunan hücrelerin mezensefalik santral gri maddenin devamı olduğu ve dorsomedial hatta uzanan küçük hücrelerden oluştuğu görülmüştür (152). Bu bölgede bulunan hücreler ve lifler posterior hipotalamik bölgeyi 3. ventrikülün ependimasından ayırır (1). Posterior hipotalamik nükleusda orta büyüklükteki hücreler saptanmış, rostral olarak DMH ve dorsal hipotalamik bölge ile sınırlandırılmıştır (152). PH'yı dorsal hipotalamusdan ayıran belirgin özellikler olmadığı için bu bölge PHB'nin rostral uzanımı olarak kabul edilebilir (1). Posterior hipotalamik nükleusun premamiller nükleus çevresinde periventriküler bölge ile birleştiği görülmüştür (152).

4.1.3. Amigdala ve Amigdalanın Santral Nükleusunun Anatomisi

Amigdala genellikle tek bir yapı gibi olarak düşünülse de aslında heterojen gri bir kompleks olup nöroendokrin fonksiyonların düzenlenmesinde ve viseral efektör mekanizmaların modülasyonunda rol oynar. Ayrıca entegre davranışların, korunma, beslenme, agresif davranış, üreme, öğrenme, hatırlama gibi kompleks iç içe geçmiş davranışların düzenlenmesinde işlevleri vardır (109).

Primat amigdalası temporal lobun anteromedial bölümünde, striatumun anteromedial, hipokampüsün ventral bölümünde bulunur. Yerleşim yeri primatlarla, temporal lobu yeterince gelişmemiş primat olmayan kedi, sıçan gibi canlılarla benzerdir (109). Tüm memelilerde amigdala anatomik olarak karmaşık bir yapıya sahiptir. 1981 yılında Price ve ark, sıçan, kedi ve maymunda amigdala nükleuslarının bağlantılarını, histokimyasal yapılarını araştırmışlar ve türler arasında benzerlikler bulmuşlardır (130).

Bu yüzyılın ilk yarısında farklı türlerle yapılan sitolojik incelemeler sonucunda amigdalada homojen nükleus yapısından söz etmek mümkün olmamıştır. Amigdala kendi dışında komşuluğunda bulunan çevre dokularla iç içe geçmiş çok sayıda nükleus içerir. Bu nükleusların çoğu kendi aralarında daha alt bölümlere ayrılır. Amigdala nükleuslarını fonksiyonlarına ve anatomik yapılarına göre gruplamak mümkündür. Bu amaç için kullanılan kriterlere göre farklı sınıflamalar ortaya çıkmıştır. Daha önceki yıllarda amigdala nöronları; yüzeysel kortikomedullar grup (kortikal nükleuslar, lateral olfaktör yolak, medial nükleus ve santral nükleus) ve bazolateral grup (lateral bazal,

aksesuar bazal nükleuslar) olmak üzere iki gruba ayrılmış ancak santral ve medial nükleusların anatomik ve histokimyasal olarak kortikomedüller nükleuslardan farklılık göstermesi nedeniyle farklı bir gruplandırma yapılmıştır. Bu yeni gruplandırmaya göre amigdala nükleusları üç ana gruba ayrılmıştır.

- 1- Bazolateral nükleuslar,
- 2- Korteks benzeri yüzeyel nükleuslar,
- 3- Santral-medial nükleuslar.

Santral-medial nükleuslar amigdalanın dorsomedial bölümüne yerleşmiştir ve medial ve santral olmak üzere iki tane nükleus içerir. Medial nükleus, temporal/piriform lobun dorsomedial köşesinde optik yolağın lateralinde, korteks benzeri yüzeyel nükleusların dorsalinde bulunur. Yüzeyel korteks benzeri bölümde nükleuslar dağınık olarak bulunur. Bu bölüm olfaktör ile aksesuar olfaktör yolaklardan gelen liflerin bulunduğu bir katman ve daha derine yerleşmiş hücreden zengin bir başka katmandan oluşmuştur (94).

ASN ovoid bir yapı olup amigdaloid kompleksin dorsal merkezinde yer alır. Dorsolateralde striatum, dorsomedialde amigdalayı globus pallidumdan ayıran kolinerjik projeksiyonların kaudal uzantıları tarafından sınırlandırılmıştır. Kaudal sınırları net değildir. Pratikte lateral ventrikülün temporal boynundan hücresel olarak fakir olan bir tabakayla ayrılır. Bu kolinerjik uzantı medial çekirdeğin lateraline yerleşmiştir (109).

Araştırma yapılan tüm memelilerde ASN'de bağlantıları ve hücre grupları birbirinden farklı lateral ve medial olmak üzere iki bölüm belirlenmiştir (94). Myelin boyamasıyla yapılan çalışmalar sonucunda; medial bölümün liflerden zengin olmasına karşın lateral bölümünde hiç lif bulunmadığı ve bu özelliğin iki nükleus grubunu birbirinden ayıran en önemli özellik olduğu belirtilmiştir. Küprik gümüş boyama tekniği ile yapılan çalışmalarda medial bölümdeki hücrelerin düzensiz ve birbirinden farklı miktarda boya tuttuğu, lateral bölümdeki hücrelerin ise düzenli ve eşit düzeyde boyandığı gösterilmiştir. ASN'de bulunan bu iki hücre grubunun asetilkolinesteraz ile boyanma özelliklerinin de farklı olduğu gösterilmiştir (109).

ASN'nin medial bölümü lateral hipotalamusa (24), periaquaduktal gri cevhere (55) ve dorsal vagal komplekse (54) uzanan eferentlerin ana kaynağıdır. ASN'nin lateral bölümüne, insuler korteksten (55, 178), PVN'yi de içine alan talamik nükleuslardan (100, 111) ve parabrakial nükleustan (15) kaynaklanan uyarıların büyük bir kısmı

projekte olur. Lateral bölümde insular korteks aferentleriyle bağlantısı olan, gama-amino bütirik asit (GABA) içeren nöronlar vardır. Bu nöronlar ASN'nin medial bölümüne uzanarak buradan beyin sapına giden aksonlara katılırlar (156). ASN'nin lateral bölümündeki nöronların % 40'ının tamamen sessiz olduğu ve spontan aktivitelerinin düşük olduğu saptanmıştır. GABA antagonisti bikukulin metiyodürün (BMI) bu bölgeye uygulanması nöronların ateşlenme oranını % 20 artırmıştır (169). Kortikal, amigdaloid, talamik hipotalamik ve beyin sapından gelen çok yönlü duyuşal bilgi, motivasyon bilgileri ve duyuşal ilişkili bilgi amigdala da toplanır (109). Uyarının olmadığı durumlarda amigdala da toplanan bilgilerin ASN'deki eferent lifler üzerine hiçbir etkisi olmayacaktır. Çünkü buradaki nöronlar bölgesel inhibitörlerin kontrolü altındadır. Uyarılar ASN'den projekte olan nöronları disinhibe edecek ve sonuçta hızlı otonomik yanıtlar oluşacaktır. Bu durum GABA'erjik internöronları inhibe edecek olan spesifik GABA'erjik nöron gruplarının aktivasyonu ile gerçekleşir (157).

Amigdalanın hipotalamus ile karşılıklı bağlantısı vardır. Amigdala limbik korteksin tüm bölümlerinden uyarılar alır. Frontal lobun orbital yüzeylerinden, singulat ve parahipokampal giruslardan, temporal lobun neokorteksinden, parietal, oksipital loblardan özellikle duyma ve görme asosiasyon alanlarından amigdala ya uyarılar gönderilir. Genellikle amigdalanın uyarılmasıyla KH ve KB'de artma veya azalma; gastrointestinal motilite artma veya azalma, defekasyon ve miktürasyon, piloereksiyon, bazı anterior pitüiter hormonlarının salınması, pupil dilatasyonu veya bazen konstriksiyonu gibi hipotalamusun uyarılmasına benzer yanıtlar oluşur. Bunların dışında amigdala ya uyarı gönderilmesiyle hipotalamusdan farklı olarak tonik hareketler, dönme hareketleri; koklama yutma, çiğneme, yeme hareketleri oluşabilir.

Bazı amigdala nükleuslarının uyarılması öfke, kaçma, cezalandırma, korku gibi hipotalamus uyarılmasına benzer davranışlara neden olabilir (109). Amigdala lateral ve bazolateral nükleusları aracılığıyla aldığı uyarıları hipotalamus ve beyin sapının korku ve anksiyete ilgili bölgelerine gönderir (32).

4.2. Kardiyovasküler Sistemin Santral Düzenlenmesi

Otonomik postganglionik sinirler, bölgesel düzenleyici mekanizmalar ve dolaşımdaki hormonlar kalp kasının kasılma gücünü, KH'yı ve damarların tonusunu etkileyerek kardiyovasküler fonksiyonların düzenlenmesinde rol alırlar. Otonomik

postganglionik sinirler omuriliğin medulla, torasik ve üst lomber bölgelerine yerleşmiş özel nükleusların kontrolü altındadır. Santral kardiyovasküler fonksiyonların düzenlenmesinde dört tip nöron vardır. Bunlar:

1- Kardiyovasküler fonksiyonları olan preganglionik otonomik motor nöronlar (kalbi, kan damarlarını ve adrenal medullayı kontrol eder)

2- Bu preganglionik otonomik motor nöronlara uzanan ve bunların aktivitesini düzenleyen premotor nöronlar

3- Refleks olarak kardiyovasküler fonksiyonları etkileyen primer aferent nöronlar

4- Primer aferent uyarı veya kardiyovasküler fonksiyonları düzenleyen beynin üst bölgeleriyle otonomik premotor nöronlara bağlayan inter nöronlar.

Otonomik preganglionik nöronlar parasempatik veya sempatik olabilir. Kardiyak ganglionu innerve eden vagal preganglionik nöronlar ventrolateral medullada yerleşmiştir ve kardiyak siklusla eş zamanlı olarak periferel baroreseptörlerden gelen uyarılara bağlı olarak ateşlenir. Bu nöronların eksitatör amino asitler (EAA) ile uyarıldığı ve GABA immunreaktif olduğu saptanmıştır. İmmunhistokimya ile bu bölgede serotonin varlığı gösterilmiştir (29).

Vücudun herhangi bir yerine olan kan akımı perfüzyon basıncına ve akım direncine bağlıdır. KB'nin kısa ve uzun dönem yanıtları farklı mekanizmalarla kontrol edilir. Herhangi bir bölgedeki vasküler direnç, sempatik vazomotor sinirlerin ve hormonların aktivitesinden, endotelial ve metabolik ürünlerden oluşan bölgesel faktörlerden etkilenir (28). Nöral yollardan oluşturulan kardiyovasküler yanıtlar kompleks davranışların bir parçası olarak da ortaya çıkabilir.

Egzersizle başlayan KH ve solunumdaki artış, iskelet kası kan akımını ve böbrek gibi organların vasküler yataklarını innerve eden sempatik sinirlerin aktivitesinin artmasına neden olur. Egzersizin başlamasıyla ortaya çıkan kardiyovasküler etkiler somatomotor aktivitenin artmasıyla korteksten gelen merkezi bir emrin sonucu olarak başlatılır. Kortikal bölgeden kaynaklanan uyarılar kalp ve kan damarlarına giden sempatik akımın aktivitesinin artmasına neden olur. Bu etkilere neden olan korteksten daha alt düzeylere uyarı gönderilmesine neden olan yollar bilinmese de kaudal hipotalamusdaki nöronların burada işlevleri olduğuna dair kanıtlar vardır. Bu nedenle hipotalamusdaki nöronların egzersiz sırasında oluşan somatomotor ve otonomik değişiklikleri oluşturma ihtimali yüksektir. Ancak bu bölgeye gelen uyarıların nereden

kaynaklandığı ve beynin alt seviyelerine inerken ne şekilde organize oldukları tam olarak bilinmemektedir (28).

Akut duygu durumları veya hayatı tehdit eden uyarılar belirgin kardiyovasküler değişikliklere neden olurlar. Bu durumlarda iskelet kaslarına olan kan akımı, KH ve KB artar. Splanknik, renal ve kutanöz damar yataklarında vazokonstriksiyon olur. Böylece canlı kaçmak ve savaşmak için hazır duruma gelir. Bu tip yanıtlar “feedback (geri beslenme)” düzenleyici mekanizmalar değil, “feedforward (ileri beslenme)” mekanizmalar olarak kabul edilir.

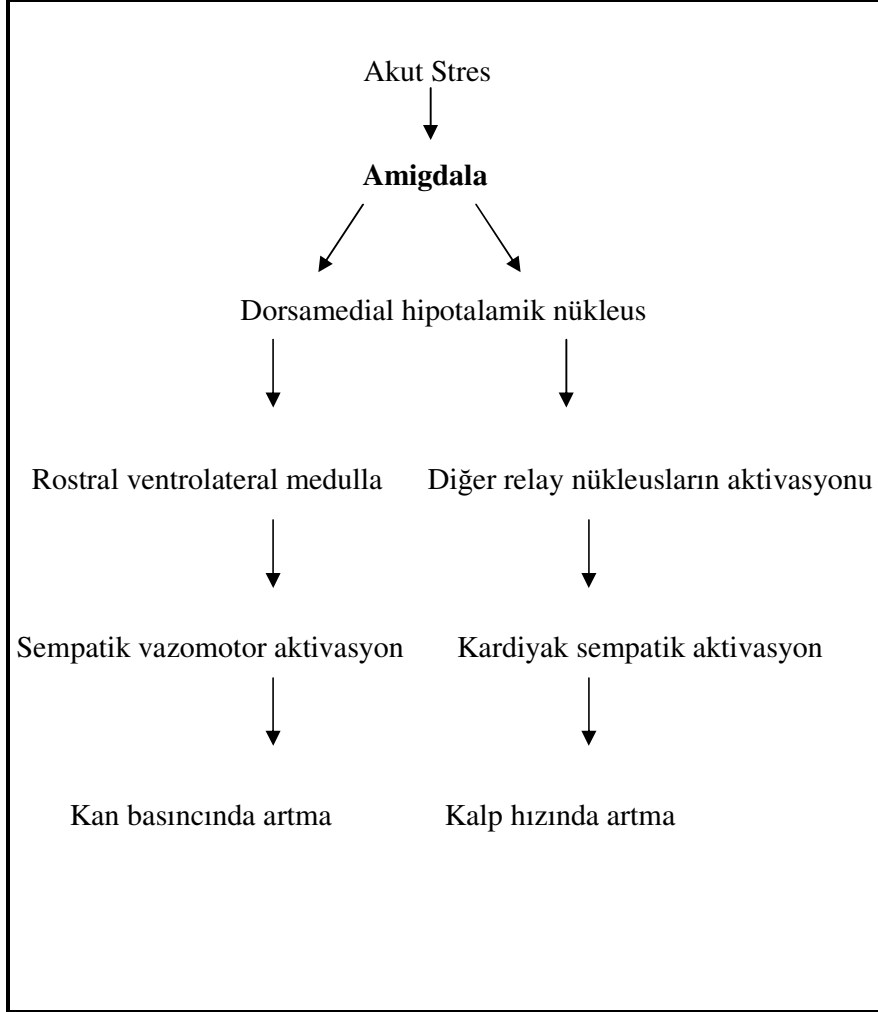
Hipotalamusun savunmayla ilgili bölümünün elektriksel olarak uyarılması yukarıda tarif edilen kardiyovasküler yanıtla benzer değişikliklere neden olur (62). Ancak bu etkilerin hipotalamusdaki nöron gövdelerinin mi yoksa amigdaladan kaynaklanan ve hipotalamusdan geçen liflerin uyarılmasıyla mı gerçekleştiği tam olarak açık değildir. Son yıllarda DMH'nin akut stres durumlarında ortaya çıkan kardiyovasküler yanıtların entegrasyonunda anahtar rol oynadığına dair kanıtlar ortaya atılmıştır (28).

DMH ve PVN'nin parvoselüler kısmının birçok bölgeye projeksiyonlar gönderdiği verdiği ve otonom sinir sistemi aktivitesini kontrol ettiği gösterilmiştir (162).

Laboratuvarımızda şimdiye kadar yapılmış olan çalışmalar, kardiyovasküler sistemin santral düzenlenmesinde, inhibitör bir amino asit olan GABA'nın hipotalamusda önemli bir nörotransmitter olduğunu göstermiştir. GABA_A reseptörleri için antagonist olan BMI'nin, intraserebroventriküler olarak uygulanmasıyla ortaya çıkan presör yanıtlar, PVN, DMH, veya ASN elektriksel lezyonlarıyla baskılanmıştır (53). Benzer şekilde, sıçanlara intraserebroventriküler olarak verilen GABA_A reseptör agonisti musimolün oluşturduğu kardiyovasküler etkiler de, DMH'nin elektriksel lezyonu ile önlenmiştir (52). Her iki çalışmanın sonucunda hipotalamusun santral kardiyovasküler düzenlemede rol aldığı gösterilmiştir.

Bununla uyumlu olarak DMH, akut stres yanıtlarının oluşumundan sorumlu olan amigdalayı da içine alan birçok ön beyin bölgelerinden uyarılar alır. Özellikle de bazolateral amigdalanın uyarılması akut stres durumuna benzer kardiyovasküler yanıtlar oluşturur (28). Fontes ve ark'nın yaptığı bir çalışmada DMH'da oluşturulan vazomotor ve kardiyak yanıtların rostral ventrolateral medulladaki (RVLM) sinaptik geçişe bağımlı

veya bağımsız olarak inen yolaklar aracılığıyla gerçekleştirildiği gösterilmiştir (39); (Şekil 1).



Şekil 1: Akut stres durumlarında santral kardiyovasküler yanıtları oluşturulmasında rolü olduğu düşünülen yolaklar.

Egzersiz veya akut duyuşsal uyarıya eşlik eden kardiyovasküler yanıtlar KB'deki artma ile birliktedir. Bu nedenle bu koşullarda KB'yi düzenleyen baroreseptör refleks rollerinin belirlenmesi üzerinde yoğun olarak çalışılan bir konudur (89). Akut stres durumlarında aktive olan hipotalamus ve supramedüller bölgelerden inen yolakların baroreseptörleri modüle ettikleri şeklinde bir hipotez oluşturulmuştur (153).

Santral bölgelere uygulanan kolinerjik reseptör agonistlerinin ve kolinesteraz inhibitörlerinin presör ve depresör yanıtlar oluşturabildiği gösterilmiştir (3, 23, 36, 104, 112, 114, 168). Bu etkilere aracılık eden beyin bölgeleri, “posterior hipotalamus” (22, 91), “anteroventral 3. ventrikül bölgesi (97, 107), “hipokampus” (60), “lokus seruleus” (35), “RVLM’nin C1 bölgesi” (57, 158) ve “amigdaloid kompleks” (108) gibi bölgelerdir.

Amigdala kortikal, talamik ve hipotalamik nükleuslardan uzantılar almakta ve kardiyovasküler düzenlemede duyuşal bilgiler ve beyin sapı arasında koordinasyonu sağlamaktadır (2, 33, 47).

Beyin sapında ve önbeyin bölgelerinde bulunan belirli nükleuslar, doğrudan sempatik preganglionik nöronlara uzanarak sempatik premotor nöronları oluştururlar (154).

Önbeyin bölgelerinin, vazomotor aktivitenin düzenlenmesinde işlevleri vardır. PVN’de yoğun akson ve hücre gövdeleri arasındaki karmaşık etkileşme, santral kardiyovasküler düzenlemeye katkıda bulunmaktadır. PVN, ventrolateral medulla ile bağlantılıdır ve aynı zamanda buradan çıkan ve omurilikte sonlanan projeksiyonlara sahiptir (124). DMH ve PVN’nin parvoselüler kısmının birçok bölgeye uzantılar verdiği ve otonom sinir sistemi aktivitesini kontrol ettiği gösterilmiştir (162).

4.2.1. Amigdalanın Santral Nükleusunun Kardiyovasküler Düzenlemedeki Rolü

Limbik sistemin bir parçası olan amigdaloid kompleksin, hipotalamus, beyin sapı ve kardiyovasküler sistemin santral düzenlenmesinde rolü olduğu bilinen diğer pek çok beyin bölgesiyle yoğun nöronal bağlantılarının olduğu gösterilmiştir (29).

ASN beynin üst merkezlerindeki duyuşal bölgelerle KB kontrol merkezleri arasında bağlantıyı sağlayacak şekilde lokalize olmuştur. ASN birçok kortikal ve subkortikal alanlardan direkt ya da lateral ve bazolateral amigdala aracılığıyla girdiler alır. Korteksin görme, duyma merkezlerinden, olfaktör ve beslenme sistemlerinden, somatosensör korteksten, hipokampus, talamus, hipotalamus ve beyin sapının geniş bir bölgesinden gelen uyarıları sırasıyla hipotalamus ve beyin sapının KB’nin düzenlenmesinde görev yapan bölgelerine gönderir (58).

Anatomik, fizyolojik ve davranış çalışmalarıyla ASN'nin stres hormonu salınımından ve kardiyovasküler değişiklerin modülasyonundan sorumlu olduğu saptanmıştır (108, 129). Sıçanlarda ASN'nin kimyasal ve elektriksel olarak uyarılması KB'de beyin sapındaki kardiyovasküler alanların aktive edilmesine benzer değişikliklere neden olmuştur (46, 65).

ASN'leri bilateral olarak çıkarılan sıçanlarda kronik stresin neden olduğu nörojenik hipertansiyonun önlendiği gösterilmiştir (10) .

ASN'nin elektriksel veya kimyasal lezyonlarının spontan hipertansiyonu engellediği (43, 146) ve spontan hipertansiyonlu sıçanlarda (SHR) sesli uyarıların neden olduğu abartılı presör ve vazokonstriktör yanıtların şiddetinin azaldığı bulunmuştur (44, 38).

Sıçanlarda kimyasal uyarı ile yapılan çalışmalarda kardiyovasküler sistemde değişken yanıtlar bildirilmiştir. ASN'ye L- glutamik asit enjeksiyonu, anestezi altındaki sıçanlarda KB ve KH'da azalmaya, uyanık hayvanlarda ise elektriksel uyarıda olduğu gibi KB ve KH'da artışa neden olmuştur (65, 47). Anestezi altındaki hayvanlarda saptanan bu depresör etki anesteziklerin renal ve mezenterik yatakta neden olduğu depresör etkilere bağlanmıştır (140).

ASN'nin KB'nin düzenlenmesindeki rolü sadece belli bir nöronların uyarılmasıyla elde edilen çalışma sonuçlarına değil, farklı yöntemlerle yapılan çalışmalara da dayanır. Örneğin, bir stres mediyatörü olan kortikotropin-salgilayan hormonun ASN'ye enjeksiyonu KB ve KH'yı arttırmıştır (21).

Uyanık hayvan modelinde ASN'ye uygulanan L-glutamatın KB'yi ve KH'yı arttırdığı saptanmıştır (65).

Amigdaloid kompleksin, asetilkolin ve asetilkolinesteraz içerdik ve muskarinik reseptör bağlanma bölgeleri açısından zengin bir beyin bölgesi olduğu da bilinmektedir (63, 136). Kolinomimetik bir ajan olan karbakolün intraserebroventriküler olarak uygulanmasıyla ortaya çıkan presör yanıtların, ASN'nin elektrolitik lezyonları tarafından baskılandık gösterilmiştir (113).

Karbakolün amigdaloid komplekse enjeksiyonu hareketsizlik, titreme, şahlanma gibi davranışsal değişikliklere ve kardiyovasküler presör yanıtlara neden olmuştur. En ciddi kardiyovasküler presör yanıt karbakolün ASN'ye uygulanması sonrasında görülmüştür (108).

Laboratuvarımızda yapılmış olan bir çalışmada, intraserebroventriküler olarak uygulanan karbakolün yaptığı KB'deki artış ve KH'daki azalmanın, ASN'ye verilen M₁-selektif muskarinik antagonist pirenzepin ile önlendiği, metoktramin gibi M₁ reseptörlerine affinitesi çok düşük olan bir başka antagonist ile önlenemediği gösterilmiştir (6). Diğer bir çalışmada ise, ASN'nin elektriksel olarak veya karbakol mikroenjeksiyonları ile kimyasal olarak uyarılmasıyla kardiyovasküler yanıtların ortaya çıktığı gösterilmiştir. Bu etkiler non-selektif muskarinik reseptör antagonisti atropin sülfatla bloke edilmiştir. Pirenzepin ön tedavisiyle de benzer sonuçlar elde edilirken, M₂-selektif muskarinik reseptör antagonisti AF-DX116 KB yanıtlarını değiştirmemiştir (7). Bu sonuçlar ASN'de M₁ muskarinik reseptörlerinin kardiyovasküler düzenlemedeki önemini vurgulamaktadır.

Zhuo ve ark intratekal atropin enjeksiyonunun doza bağlı olarak kuyruk çekme davranışının sınırını azalttığını ve bu etkilerin ortama L-arjinin eklenmesiyle geri döndüğünü göstermiş ve spinal NO salınımının kolinerjik sistemin tonik kontrolü altında olduğunu belirtmişlerdir (182).

Retrograd ve anterograd işaretleyicilerle yapılan çalışmalarda ASN'nin nükleus traktus solitarius'a (NTS) projeksiyonlar gönderdiği gösterilmiştir. NTS, dorsal medulla oblangatada bulunan, viseral organ, baroreseptör ve kemoreseptör aferent liflerinin sonlandığı ana yapıdır. Bu nedenle NTS viseral reflekslerin entegrasyon alanıdır. Yolaklar NTS'den dorsal vagal motor nükleusda bulunan kolinerjik nöronlara ve inhibitör nöronların bulunduğu kaudal venrolateral medullaya (KVLM) ve RVLM'ye projekte olurlar. RVLM'deki nöronlar aktiftir ve torakolomber bölgede bulunan intermedialateral sempatik preganglionik nöronlara projekte olurlar. KB'deki yükselme karotid arter ve aort arkına yerleşmiş baroreseptörler tarafından vagus ve glossofarengiyal sinirler yoluyla NTS'ye ulaşır. Uyarı NTS'den KVLM'deki inhibitör nöronlara ulaşır. Bu nöronlar RVLM'deki nöronların aktivitesini azaltarak sempatik aktivitede ve KB'de azalmaya neden olur (140).

ASN'deki nöronların elektriksel olarak uyarılması RVLM'deki nöronlarda aktivasyona neden olur (46). ASN'den RVLM'ye uzanan nöronların nörotransmiteri tam olarak bilinmemektedir. Ancak yapılan farmakolojik çalışmalar burada glutamat varlığını destekler niteliktedir (135, 99).

ASN ile NTS arasındaki bağlantıyı belirlemek için elektrofizyolojik çalışmalarda yapılmıştır. NTS'deki nöronların uyarılmasının ASN'deki nöronlarda antidromik aktivasyona neden olduğu gösterilmiştir (133). NTS'nin aktivasyonu ile ASN'deki c-fos miktarı ASN ile NTS arasındaki bağlantıyı destekler şekilde artmıştır (120). İntravenöz fenilefrin enjeksiyonuyla baroreseptör mekanizmaları uyarılan sıçanlarda anterograd işaretleyicilerle yapılan izleme yöntemleriyle ASN'den orijin alan nöronların NTS'deki baroreseptör nöronlarla yakın komşuluğu olduğu gösterilmiştir. Bu sonuçlarla ASN'nin barorefleks mekanizmalara bağlı olarak KB'yi NTS seviyesinde direkt olarak etkilediği gösterilmiştir (139).

NTS'de ASN'den gelen ve burada GABA'erjik sinapslar yapan kardiyovasküler nöronların varlığı gösterilmiştir (138). Bu sonuçlar bize ASN'nin uyarılmasıyla oluşan KB değişikliklerine NTS'deki baroreseptör refleks mekanizmalardan sorumlu olan GABA'erjik nöronların baskılanmasının aracılık ettiğini düşündürür. KB'nin düzenlenmesinde ASN'den beyin sapına olan bir projeksiyon da RVLM'yedir. RVLM sempatik vazomotor nöronlara girdi gönderen başlıca yapılardan biridir. Amigdaladaki küçük bir efektör nöron grubunun RVLM'deki katekolaminerjik nöronlarla sinaps yaptığı gösterilmiştir (172).

4.2.2. Posterior Hipotalamusun Kardiyovasküler Düzenlemedeki Rolü

Posterior hipotalamik bölge, medial hipotalamik hücre topluluğunun kaudal bölgesinin en uç noktasını oluşturur (1). Ablasyon, elektriksel ve kimyasal uyarı çalışmaları, elektrofizyolojik kayıtlar, bu bölgenin uyku-uyanıklık siklusunun kontrolünde (83, 163) kardiyovasküler sistem düzenlenmesinde (22, 91, 152, 173), beyin sapından kaynaklanan hipokampal teta ritimlerinin modülasyonunda (16, 170), savunma, agresyon gibi davranışların ortaya konmasında (147, 177) işlevleri olduğunu göstermiştir. Bu kadar çeşitli fonksiyonlarının olması posterior hipotalamik bölgenin bir entegrasyon alanı olduğunu düşündürmektedir (1).

Spencer ve ark tarafından yapılan bir çalışmada periventriküler bölgenin PH'da kardiyovasküler değişikliklere en duyarlı bölge olduğu saptanmıştır. PH'daki hücrelerin uyarılmasıyla ([³H] glutamat ile) hipotansiyon ve bradikardi oluşmuş, ancak presör yanıtla rastlanmamıştır (152).

Literatürdeki diğer veriler PH'nın kardiyovasküler düzenlemede rolü olduğunu destekler niteliktedir. PH'ya uygulanan GABA, histamin, asetilkolin ve glutamatın kardiyovasküler değişikliklere neden olduğu gösterilmiştir (151).

Dampney'nin 1994 yılında yayınladığı bir derlemede lateral hipotalamus ve PH'da eksitator amino asitlerin (EAA) neden olduğu kardiyovasküler yanıtları araştıran çalışmalar incelenmiştir. Bu çalışmaların hepsinde nöron gövdelerinin EAA'larla selektif olarak uyarılmasının PVN dışında tüm hipotalamus bölgelerinde depresör yanıtlar oluşturduğu bildirilmiştir. PVN'nin uyarılmasıyla presör ve depresör yanıtlar saptanmıştır. Bu durum hipotalamustaki hücre gövdelerinin sempatoinhibitör oldukları, lateral hipotalalamus ve PH'nın ve elektriksel uyarılmasıyla gerçekleşen presör etkilerin buradaki nöronların değil, liflerin uyarılması ile oluştuğu şeklinde yorumlanmıştır. Bununla beraber bu görüşle tam olarak uyumlu olmayan görüşlerin olduğu; GABA antagonisti olan BMI'nın PH'ya enjeksiyonun KB ve KH'da yani sempatik aktivitede artmaya, GABA agonisti olan musimolün ise tam tersi etkilere neden olduğu bildirilmiştir. Tüm bu çalışmaların bizi hipotalamusta sempatoeksitator nöronların bulunduğu, strese bağlı taşikardi ve presör yanıtların oluşması için bu nöronların uyarılmasının (GABA'erjik disinhibisyon) gerekli olduğu sonucuna götürdüğü belirtilmiştir. Bununla uyumlu olarak hipotalamik hücrelerin tek hücre kayıtlarında nöronların çoğunun sempatoeksitator ateşleme özelliğine sahip olduklarının gösterildiği vurgulanmıştır (29).

Aynı derlemede hayatı tehdit eden uyarıların neden olduğu presör ve sempatoeksitator etkilerin kısmen hipotalamustaki nöronlar aracılığıyla gerçekleştiği belirtilmiştir. EAA enjeksiyonlarının neden olduğu depresör yanıtlar; sempatoeksitator nöronların PH'da dağınık olarak bulunduğu ve bu bölgeye uygulanan glutamatın sadece sempatoeksitator nöronları değil onları inhibe eden internöronları da uyardığı şeklinde açıklanmıştır. Bu nedenle dağınık olarak bulunan nöronların EAA mikroenjeksiyonlarıyla uyarılmasının her zaman için uygun bir yöntem olmayacağı belirtilmiştir (29).

Singewald ve ark PH'da bulunan GABA'erjik nöronlardan GABA salındığını ve GABA salınımının uyanık sıçanlarda KB'deki oynamalara göre değiştiğini ve GABA'erjik nöronların PH'da santral kardiyovasküler düzenlemede hipotansif bir rol üstlendiğini belirtmişlerdir (149). PH'nın sıçanlarda asetilkolinesteraz inhibitörlerinin

intratekal injeksiyonu sonrasında oluşan presör etkilerde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (20). Asetilkolinesteraz inhibitörü olan fizostigminin ya da karbakol gibi kolinerjik agonistlerin sıçanlarda PH'ya direkt olarak uygulanmasıyla artan KB'nin M₃ reseptörleri aracılığıyla gerçekleştiği saptanmıştır (20, 91).

Sıçan PH'sında 3-hemikolinyum ile asetilkolin nöronlarının boşaltılması sonucu KB'nin düşmesi, PH'da asetilkolin sentezinin normotansif ve özellikle de SHR'de santral KB'nin düzenlenmesine katıldığını desteklemektedir (23).

SHR'lerin PH'sında norepinefrin konsantrasyonunun artmış olduğu (70) ve bu bölgeye uygulanan ES'nin normotansif sıçanlara göre daha fazla presör yanıt oluşturduğu gösterilmiştir (174).

4.2.3. L-Arjinin – Nitrik Oksit Yolağı ve Kardiyovasküler Fonksiyonlardaki Rolü

Difüzyon kapasitesi yüksek bir gaz olan NO'nun fizyolojik bir “haberci” (messenger) olarak görev yaptığının saptanması 10 yıllık bir geçmişe sahiptir. NO'yu oluşturan nitrik oksit sentetazın (NOS) 3 formu bulunmuştur: “nöronal NOS” (nNOS) (17, 18), “endotelial NOS” (eNOS) (66, 80, 145) ve makrofajlarla indüklenebilir tip (iNOS) (88, 90, 176). nNOS'un santral ve periferik sinir sisteminde bulunduğu, eNOS'un ise vücuttaki tüm endotelial hücrelerde ve nöronlarda bulunduğu gösterilmiştir (115). iNOS'un ekspresyonu ise birçok hücre tipinde gerçekleşebilmektedir (105, 106).

NOS, L-arjininin guanidino grubunu oksitleyerek NO oluşmasını sağlar ve bu olay sırasında NO'ya eşit miktarda L-sitrülin oluşur (19). L-arjininin L-sitrüline dönüşümü iki basamaklı bir reaksiyonla gerçekleşir ve bu dönüşümün oluşabilmesi NADPH, FMN, flavin dinükleotit ve tetrahidrobiopterin gibi kofaktörlerin varlığına bağlıdır (18, 92). Beyinde L-sitrülinin tamamen NOS tarafından sentezlendiği kabul edilir ve L-sitrülin düzey ölçümleri NOS aktivitesinin değerlendirilmesi için uygun bir yöntemdir (73).

eNOS periferik ve santral sinir sistemi ile damar endotelinde bulunur. Hücre içinde artan Ca²⁺, kalmodulin ile kompleks oluşturarak eNOS'u aktive eder. eNOS aktivitesi ortamda Ca²⁺ varlığına bağlıdır. Bu nedenle eNOS'a yapısal anlamına gelen “*constitutive NOS*” da denir (167, 88).

iNOS endotel hücrelerinde ve makrofajlarda bulunur. iNOS oluşumu, Ca^{2+} veya başka bir moleküle bağımlı değildir. Lipopolisakkarit (LPS) ve γ -interferon, iNOS oluşumu için en önemli indükleyicilerdir. iNOS aktive olduktan sonra etkisini günlerce sürdürebilir (88).

nNOS, beyinde mikroglialar tarafından sentezlenen indüklenebilir tip NOS'dur. NMDA reseptörlerinin uyarılmasıyla beyinde NO ve buna bağlı olarak cGMP miktarının artışı saptanmıştır. NO, glutamat uyarısında bir nörotransmitter olarak görev yapmaktadır (150). Glutamat reseptör alt tipi olan NMDA reseptörünün uyarılması sonucu hücre içine giren Ca^{2+} , Ca^{+2} -kalmoduline bağımlı NOS enzimini aktive ederek ortama NO salınmasına neden olur (110). Postsinaptik sinir ucundan glutamatın salınması ile ortaya çıkan NO, presinaptik uçtan glutamatın salınmasını arttırmaktadır (150).

NOS'un tüm izoformları beyinde bulunur. Beyindeki NO'nun % 1-2'si nNOS aracılığıyla oluşur (81).

NO, düşük O_2 konsantrasyonlu ortamlarda daha stabildir. Eğer ortamda O_2 varsa NO oksitlenerek dokular için oldukça zararlı olan nitrojen dioksitine dönüşür. NO renksiz bir gazdır ve yük taşımadığı için membranlardan kolayca geçer. Diğer serbest radikallerden farklı olarak ancak yüksek konsantrasyonlarda zararlı etkileri ortaya çıkar (88, 167). NO'nun hemoglobine afinitesi O_2 'ye oranla 3000 kat fazladır. Hemoglobin kısa sürede NO'yu nitrata çevirerek etkisizleştirir. NO'nun bütün serbest radikaller gibi yarılanma ömrü çok kısa olup 2-30 sn'dir (167). Hemoglobinin yokluğunda NO, oldukça dayanıklı bir moleküldür ve beyinde uzun mesafeler ($>500 \mu m$) katedebilir.

Tiyol içeren peptidler, glutatyon gibi proteinler ve albuminin NO ile olan reaksiyonları sonucu oluşan s-nitrozotiyoller, NO'nun depolanmasını hatta kanda dolaşımını sağlayabilir. NO ve metabolitlerinin konsantrasyonlarının sürekli olarak değişmesinden her doku etkilenir (179).

NO düşük molekül ağırlığı ve hidrofobik özelliklerinden dolayı sentezlendiği bölgeden çevre hücelere difüze olabilir. Beyinde yapılan difüzyon modellerinde bir kaynaktan sentezlenen NO'nun 1-10 sn içinde ulaşabileceği alan çapı $200 \mu m$ olarak bulunmuştur. Bu ölçü 2 milyon sinaps içeren beyin hacmine denk gelir. Bu nedenle NO hücreler arası haberci olarak kabul edilir. NO'nun sentezi oldukça iyi denetlenir. nNOS aktivitesi kinazlar tarafından kataliz edilen translasyon sonrası fosforilasyon olayları ile düzenlenir (protein kinaz C, cAMP'ye bağlı protein kinaz, Ca^{+2} /kalmoduline bağlı

protein kinaz C gibi). Ayrıca NO ile Fe^{+2} -hem ara ürünleri oluşur. Kararlı feröz nitrozil kompleksleri NO oluşumunu geri-beslenme mekanizmalarıyla inhibe ederler.

NO, düz kas gevşemesi, hücre içi Ca^{2+} 'un düzenlenmesi, nörotransmitter salınımı, immunolojik yanıtların oluşması, öğrenme, hafıza, hiperaljezi gibi işlevlerden sorumlu tutulmaktadır (79).

NO'nun etkilerinin birçoğu guanilat siklazın aktivasyonu aracılığı ile ortaya çıkar. Aktif guanilat siklaz cGMP'nin oluşumunu artırır (40). Kortikal nöron kültürlerinde muskarinik reseptör uyarılarının cGMP miktarını artırdığı, NOS inhibitörleri ve hemoglobin ile cGMP yanıtlarının baskılandığı bildirilmiştir (26). Oksotremorin, arekolin ve karbakol gibi kolinerjik agonistlerin, striatumda cGMP miktarını doza bağımlı olarak artırdığı da gösterilmiştir (59). Hipokampus, talamus ve ortabeyin gibi değişik beyin bölgelerinde muskarinik reseptör agonistlerinin cGMP miktarını artırdığı bildirilmiştir (82). Son yapılan çalışmalar NO'nun cGMP'den bağımsız sinyal ileti yollarında yer aldığını göstermiştir (81).

NO, KB'nin ve bölgesel kan akımının düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır (31, 64, 103, 131). NO sadece düz kas tonusunu düzenlemekle kalmaz, santral ve periferik sinir sisteminde bir nöromodülatör olarak da işlev görür.

Bu molekülün kardiyovasküler etkileri, sadece kan damarları ve kan hücreleri üzerindeki direkt etkileriyle değil, ek olarak otonom sinir sisteminin santral ve periferik bölgelerinin aktivitesine katılan tüm nöral maddelere olan etkileriyle de gerçekleşir. NO'nun etkileri sempatik ve vagal aktiviteyi düzenleyen beyin bölgelerinde belirgindir; ek olarak NO hedef organlara otonomik nöral aktivite iletimini düzenler. NO ile otonomik fonksiyonlar arasındaki karmaşık ilişki, NO'nun sentez ve metabolizmasındaki patofizyolojik değişikliklerin dolaşımın nöronal kontrolüne direkt etki edebileceğini gösterir (179).

NOS inhibitörlerinin KB'yi artırdığı ve bunun azalmış NO oluşumuna bağlı olduğu bildirilmiştir (51, 75, 131, 181). NOS inhibitörlerinin periferik yoldan uzun süreli uygulanması hipertansiyon oluşmasına neden olmaktadır (11, 132). NO-aracılı bu etkilerin sempatik sinir sistemi ve renin-anjiyotensin-aldosteron sisteminin katılımı ile ortaya çıktığı ileri sürülmüştür (68, 85, 96, 123). NO hem noradrenaline karşı vasküler hiporeaktiviteye neden olmakta, hem de sempatik sinir uçlarından noradrenalin salıverilmesini inhibe etmektedir (164,143).

Mollace ve ark tarafından yapılan bir çalışmada; intratekal L-NAME uygulanan sıçanlarda KB ve KH'da değişiklik olmazken, LPS ile NOS indüksiyonu yapılanlarda KB ve KH'nın azaldığı saptanmıştır. Aynı çalışmada NMDA'nın intratekal enjeksiyonu LPS ve L-arjinin ile ön uygulama yapılan sıçanlarda presör yanıtları arttırmış, L-NAME uygulaması presör yanıtları baskılamıştır. Sonuç olarak L-arjinin-NO yolağını etkileyen ilaçların KB ve KH'yı değiştirebileceği vurgulanmıştır (102).

Endotoksik ve hemorajik şok durumları, anormal NO oluşumunun katkıda bulunduğu patolojik durumlar olarak düşünülmektedir (165, 69, 175, 183, 164). Hemorajik şokta kanda NO düzeyleri artmış ve ACTH'nın antişok etkilerinde de bu düzeylerin normale inmesinin katkısı olduğu bildirilmiştir (13). Aynı araştırmacı grubu NOS'un nonselektif inhibitörü, L-NAME ve selektif iNOS inhibitörü, S-metilzotioüenin sıçanda hemorajik şokta ACTH'nin kardiyovasküler etkilerini potansiyalize ettiğini saptamıştır (12). Bizim laboratuvarımızda yapılan bir araştırmada da, kolinomimetik oksotremorinin KB'yi artırıcı etkisine NO'nun aracılık ettiği gösterilmiştir (51).

NO nöronlarının dejeneratif nörolojik hastalıklardan sorumlu olduğu düşünülen eksitotoksik süreçten sorumlu olabileceği bildirilmiştir (93). NO üreten nöronların glutamat ile uyarılması sonucu ortamda artan NO'nun çevrede bulunan nöronlar için toksik olabileceği belirtilmiştir. Selektif NO inhibitörleri olan N⁰-nitro-L- arjinin ve N⁰-mono-metil-L-arjininin, glutamat reseptörleri aracılığıyla gerçekleşen hücre ölümünü önledikleri ve bu etkilerin ortama eklenen L- arjinin ile geri çevrildiği gösterilmiştir. Hücre kültürlerinde, arjinin içermeyen besi yerlerinde NMDA'nın indüklediği ölümlerin önlendiği; ortama NO donörlerinin eklenmesiyle hücre ölümlerinin arttığı gösterilmiştir (34). Bu nedenle NO nöronlarının dejeneratif nörolojik hastalıklarda önemli bir rol oynadığı düşünülen eksitotoksik etkilerden sorumlu olabileceği belirtilmiştir (13).

Biyolojik sistemlerde NO'nun duyarlılığı ve seçiciliğinin yüksek tekniklerle ölçülmesi zordur.

NO düzeyini belirlemek için kullanılan yöntemler 3 gruba ayrılır:

1-Ex situ veya indirekt yöntemlerle hemoglobin-Fe⁺²-NO ve NO-demir gibi kararlı kompleksler ya da hemoglobin-Fe⁺³, L-sitrülin, nitrat ve nitrit gibi reaksiyon ürünleri ölçülebilir. (81) İntertisyel ortamda artmış nitrit ve nitrat düzeyi artmış lokal NO üretimini gösterir. Nitrit ve nitratın özellikle de plazmada nitratın, NO'nun beyin

dışındaki dokulardan da sağlanması nedeniyle NO belirleyicisi olarak kullanılması uygun değildir. İntertisyel arjinin ve düzeylerinin ölçümü ile arjinin/sitrülin oranındaki düşme bölgesel NO üretimindeki artışı belirtir (134).

2-Floresan özellik gösteren NO'ya duyarlı indikatörlerin hücreye yerleştirilmesiyle;

3-NO'nun üretildiği ortama yerleştirilen problemlerin analiziyle NO düzeyleri belirlenebilir (81).

4.2.4. Amigdalanın Santral Nükleusu, Nitrejik Sistem ve Santral Kardiyovasküler Düzenleme

NADPH-diaforez (ND) histokimyasal teknik beyinde belli bir nöron grubunu boyamak için kullanılan bir yöntemdir. Vincent ve ark.'ları tarafından bu enzimin NOS olabileceği belirtilmiştir. Bu enzim, L-arjininden Ca^{+2} ya bağımlı NO sentezinden sorumludur. NO, guanil siklazı uyararak cGMP miktarını artırır. ND tekniği bu yolu kullanan nöronların histokimyasal olarak gösterülmesini sağlar (171).

Mc Donalds ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada santral ve anterior amigdalada saptanan büyük ND pozitif nöronların morfoloji ve dağılımı olarak bu bölgede bulunan kolinerjik nöronlarla benzerlik gösterdiği ve bu nedenle bu nöronların nörotransmitter olarak asetilkolin kullanmasının muhtemel olduğu belirtilmiştir (93).

İmmunohistokimya ile yapılan çalışmalarda ASN'nin kapsüller ve lateral bölümünde hücre gövdeleri ve dendritlerde nNOS reaktif nöronlar saptanmıştır. ASN'nin medial bölümünde 2 tip nNOS pozitif nöron saptanmıştır. Bunlardan birinci tipte nNOS'a sadece hücre gövdesinde saptanırken diğer tip nöronlarda hücre gövdesi ve dendritlerde rastlanmıştır (67).

Gelsema ve ark tarafından kardiyovasküler yanıtların oluşmasından sorumlu hücre gövdelerinin yerini belirleyebilmek için amigdalaya yapılan EEA mikrojeksiyonları sonucunda kimyasal uyarıyla, elektriksel uyarının tersine birçok bölgede hiçbir etki oluşmadığı saptanmıştır. Bu durum, sadece ES ile buradan geçen liflerin uyarılmasıyla açıklanamayacağı çünkü emosyonel uyarıyla birlikte oluşan kardiyovasküler yanıtlardan sorumlu olan nöronların amigdalanın değişik bölgelerine dağılmış durumda olduğu bu nedenle sadece belli bir bölgenin uyarılmasıyla aktive olamayacakları bildirilmiştir. Tersine, elektriksel uyarı ile aksonlar ve emosyonel uyarı

sirasındaki kardiyovasküler yanıtlardan sorumlu olan nöronların doğal uyarıya benzeyen bir biçimde uyarılmış olurlacakları bildirilmiştir (47).

4.2.5. Posterior Hipotalamus, Nitretrjik Sistem ve Santral Kardiyovasküler Düzenleme

PH'da KB'nin düzenlenmesinde nitretrjik sistemin etkilerinin incelediği çalışmalar vardır. Bu çalışmalardan bazıları aşağıda özetlenmiştir:

PH'da NO sentezinin inhibe edilmesiyle KB'nin arttığı gösterilmiştir (49).

NO donörü olan molsidominin PH'ya enjeksiyonun bazal KB ve KH değerlerini değiştirmedini ancak strese bağlı artan KB ve KH'yı azalttığı bulunmuştur (61).

Song ve ark tarafından PH'da kardiyovasküler yanıtlarda NO ile adenzin A₂ reseptörleri arasındaki ilişkiyi belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada, A₂ antagonisti olan 5-N-siklopropil-karboksamidoadenzinin PH'ya enjeksiyonunun OKB ve KH'yı doza bağlı olarak düşürdüğü, L-NAME ön uygulamasıyla bu etkilerin önlenmesi saptanmıştır. Çalışmanın sonunda A₂ reseptörlerinin PH'daki etkilerinin kısmen NO aracılığıyla gerçekleşmiş olabileceği belirtilmiştir (151). Parades ve ark retrograd işaretleme yöntemleriyle yaptıkları incelemeler sonucunda hipotalamusun periaquaduktal gri cevhere ve ASN'ye en fazla aferent yollayan kaynak olduğu gösterilmiştir. ASN'ye olarak uygulanan retrograd işaretleyicilerin PH'da orta yoğunlukta biriktiği saptanmıştır (117).

Palma ve ark'nın yaptığı bir çalışmada PH'ya uygulanan fizostigmin enjeksiyonu doza bağlı olarak ortalama KB'yi artırmıştır. Bu etki skopolamin (muskarinik reseptör antagonisti) ile önlenmiştir. PH'ya L-arjinin ve NO donörü olan gliseriltrinitritin (GTN) uygulanması KB'de hiçbir değişikliğe neden olmamıştır. Bu durum bazal durumlarda NO salınımının PH'daki kardiyovasküler düzenlenmeye katılmadığını şeklinde yorumlanmıştır. L-NAME ile fizostigminin birlikte uygulanmasıyla fizostigminin neden olduğu KB'deki artış önlenmiştir. Aynı çalışmada LPS uygulanan sıçanlarda PH'ya skopolamin uygulanmasıyla KB azalırken, GTN ve L-arjinin uygulanması KB'de belirgin olarak düşüş olmuştur. Bu sonuçlar bize normotansif sıçanların PH'sında NO'nun, L-arjinin-NO yolağının aktif olup olmasına göre presör yanıtları düzenlediğini göstermektedir.

Bazal durumlarda fizostigmin ile oluşan presör yanıtlar NO aracılığıyla oluşurken NOS aktivitesinin artığı durumlarda NO'nun depresör yanıtlar oluşturduğu saptanmıştır (116).

4.2.6. L-Glutamik Asit, Nitrerjik Sistem ve Santral Kardiyovasküler Düzenleme

Glutamik asit beyin ve omurilikte bulunan eksitatör nöromedyatördür. Glutamat glutamik asidin iyonize şeklidir. Eksitatör amino asitlerden glutamat ve aspartatın nöronal aktivite üzerinde güçlü uyarıcı etkileri vardır. Glutamik asit ve iyonize şekli olan glutamat iyonu sinir uçlarında oksoglutarik asit ve glutamin ile dinamik denge halinde bulunur. Sinir ucunda, sinaps aralığına salınan glutamik asidi içeri pompalayan uptake mekanizması vardır. Glutamik asit, glutaminerjik sinir ucunda glutaminaz enziminin yardımıyla glutaminin hidrolizi sonucu oluşur. Az bir kısmı ise oksoglutaratın oksidasyon ve transaminasyonu ile sentezlenir. Sinir ucundan glutamat salınmasının Ca^{+2} 'ya bağlı olduğu gösterilmiştir. Glutamik asit, glutamin sentetaz tarafından glutamine dönüştürülüp inaktive edilir. NMDA reseptörlerinin inhibe edilmesi in vivo ortamda glutamin sentetazın aktivitesini ve glutamin miktarını artırır. NO, beyinde glutamin sentetaz aktivitesini inhibe eder ve NOS'un inhibe edilmesi glutamin sentetaz aktivitesini artırır. NO'nun bu etkilerinden NMDA reseptörleri aracılığıyla aktive olan NOS ve diğer kaynaklarından ortama salınan NO sorumludur (76).

Glutamerjik reseptörler beyinde ve omurilikte çeşitli agonist ve antagonistlere olan duyarlılıklarına göre alt tiplere ayrılır. Bunlardan biri beyinde bulunmayan sentetik bir madde olan NMDA'ya glutamattan daha duyarlı olan NMDA reseptörleridir (72). NMDA reseptörlerinin uyarılması sonucu hücre içine giren Ca^{+2} , Ca^{+2} -kalmoduline bağımlı NO sentetaz enzimini aktive ederek ortama NO salınmasını sağlar (110).

EAA reseptörleri iyonotropik (iGluR) ve metabotropik (mGluR) olmak üzere iki tiptir. EAA reseptörlerinin endojen agonisti L-glutamat ve L-aspartattır. N-metil-D-aspartik asit (NMDA), kainat, L-homosistat gibi analoglar da bu reseptörleri uyarabilmektedir.

3 tane iGluR tipi vardır: NMDA, AMPA ve kainat reseptörleri. iGluR'nin aktivasyonu doğrudan bir grup iyon kanalının açılmasına yol açar. Bu iyonlar Na^{+} , K^{+} , Ca^{+2} 'dir. Bu reseptörler aktive olduklarında Ca^{+2} ve Na^{+} hücre içine girer, K^{+}

hücre dışına çıkar. Bu reseptörlerin glisin, Mg^{+2} , Zn^{+2} ve fensiklidin bağlanma bölgeleri vardır. Ayrıca NMDAR1 ve NMDAR2 gibi reseptör alt tipleri saptanmıştır (110). NMDA reseptörlerinin doğal agonisti olan glutamat, bu reseptörleri uyararak iyon kanallarının açılmasına neden olur ve post sinaptik nöronlara Ca^{+2} ve Na^{+} girişine izin verir. Ca^{+2} kalmoduline bağlanarak NOS'u aktive eder. Ortamda artan NO soluble guanil siklazı aktive ederek cGMP miktarını artırır (76). Bu reseptörlerin santral sinir sistemi gelişiminde, programlı hücre ölümünde, long-term-potential ve plastisitede, öğrenme ile hafızada önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Beyine aşırı miktarda glutamat uygulanması, NMDA reseptörlerinin aşırı uyarılmasına bağlı olarak hücre içine fazla miktarda Ca^{+2} girer ve hücre içi Ca^{+2} 'un artmasına bağlı olarak hücre devamlı depolarize olur ve hücre ölümü gerçekleşir. Bu durumun beyin iskemisi veya hipoglisemi sonrasında gelişen nörotoksisteye benzer olduğu gösterilmiştir. Hücre kültürlerinde glutamat-NO-cGMP yolağının herhangi bir basamağının inhibe edilmesi glutamat nörotoksistesi ve hücre ölümünü engellemiştir.

Kortikostriyal, talamokortikal glutaminerjik yollarla ağrı iletiminde yer alan medulla spinalisdeki primer duyuşal nöronlardan glutamat salınır (110).

mGluR'ler pre-sinaptik ve post-sinaptik yerleşim gösterirler. G-proteini aracılığıyla sinyal iletimini sağlarlar. Bu reseptörlerin uyarılması fosfo-inozitidaz enzimini aktive eder; bu durumda diaçilgliserol ve inozitol trifosfat oluşumuna neden olarak hücre içi depolardan Ca^{+2} düzeyini artırır. Klonlama çalışmaları ile mGluR'lerinin alt tipleri olduğu gösterilmiştir (110).

Linsidomin, Na^{+} -nitroprusid, hidroksilamin gibi NO donörlerinin ve gaz NO'nun glutamat salınımını artırırken L-NAME gibi NOS inhibitörlerinin ve Na^{+} -nitroprusidin glutamat miktarını azalttığı bildirilmiştir (144). NO donörlerinin glutamat salınımı üzerine etkileri NO'nun dokudaki miktarına bağlıdır (127). Hipokampusda Na^{+} -nitroprusidin, glutamat salınımını düşük konsantrasyonlarda azalttığı ve yüksek konsantrasyonlarda artırdığı bulunmuştur. Medial ve dorsal striatumda NO'nun aspartat ve glutamat salınımını azalttığı saptanmıştır. Bu durum NMDA reseptörlerinin uyarılmasıyla artan NO'nun, glutamat ve aspartat salınımını azaltmasıyla açıklanmaktadır. Bu nedenle EAA salınımının NO tarafından modülasyonu, NO'nun endojen konsantrasyonuna bağlıdır (74).

İnhibitör amino asitlerin salınımı da NO tarafından düzenlenir. Gaz NO ve NO donörleri striatumda, hipokampüsde, bazal ön beyinde, serebrokortikal nöronlarda GABA salınımını artırmıştır. Glutamatta olduğu gibi GABA'nın da salınımı NO miktarına bağlı olarak bifazik olabilir. Hipokampüsde GABA salınımını L-NAME'in düşük konsantrasyonları artırırken, Na⁺-nitroprusidin düşük konsantrasyonları azaltmıştır (50). Tüm bu bilgiler göz önüne alınarak yüksek NO düzeyinin eksitator ve inhibitör nöronların aktivitesini artırdığı, düşük NO düzeyinin azalttığı söylenebilir (127).

NO tarafından asetilkolin salınımı komşu GABA'erjik nöronların modülatör etkisi altındadır. NO donörü olan dietilamin/nitrik oksitin 20-200 µmol/l konsantrasyonları asetilkolin salınımını artırırken, 500 µmol/l konsantrasyonları ise asetilkolin salınımını azaltmıştır (128). GABA, kolinerjik nöronda yerleşen GABA_A reseptörlerini uyararak asetilkolin salınımını azaltır. GABA salınımının inhibe edilmesi asetilkolin salınımını artırır.

NO, beyinde dopamin ve noradrenalin salınımını da düzenler (127). NO donörlerinin hipokampüsde in vitro ve in vivo ortamda noradrenalin miktarını arttırdığı saptanmıştır (87).

NO'nun histamin salınımı üzerine çift yönlü bir etkisi vardır. Bazal durumlarda kolinerjik sistem baskındır. NO tarafından salınan glutamat, asetilkolin salınımını artırır. Histaminerjik nöronlara yerleşmiş M₁ heteroreseptörlerinin asetilkolin tarafından uyarılması histamin salınımını baskılar. Bu reseptörlerin atropin tarafından inhibe edilmesiyle ortamda glutaminerjik sistem baskın hale gelir ve histaminerjik nöronlarda bulunan NMDA reseptörlerini uyararak histamin salınımını artırır (127).

4.3. Mikrodiyaliz ve Nitrerjik Sistem

İntraserebral mikrodiyaliz 1966 yılında bulunmuş ve daha sonraki yıllarda geliştirilerek yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Mikrodiyaliz tekniği canlı beyinde nörokimyasal olayları araştırmak için kullanılabilir en iyi tekniklerden biridir. Endojen moleküllerin in situ örneklenmesi beyin bölgelerine stereotaksik yöntemlerle yerleştirilen ucundaki yarı geçirgen membran içinden yapay beyin omurilik sıvısı infüzyonu yapılan problarla yapılır. Beyinde ekstrasellüler kompartmanda bulunan endojen moleküller ortamları-hücre arasındaki konsantrasyon farkına göre

membrandan geçerler. Bu teknik in vivo çalışmalarda tüm beyin bölgelerine uygulanabilir. Uyanık hayvan deney modelleri için uygun bir yöntemdir.

Toplanan sıvı enzimatik degradasyon gibi işlemlere gerek kalmadan incelenebilir. Stereotaksik cerrahi işleminden 24 saat sonra doku hasarının tamama yakın onarılmış olur. Kan beyin bariyerinin, bölgesel kan akımının, glukoz metabolizmasının cerrahi işleminden sonra 24 saat içinde düzeldiği belirtilmiştir.

Mikrodiyaliz tekniğinin sakıncaları da vardır. Bu yöntemle ancak ekstraselüler ortamda bulunan moleküller toplanabilir. Ekstraselüler kompartmanda olan ancak sinaptik seviye ulaşmayan değişiklikler saptanamaz (119).

Mikrodiyaliz yöntemini en çok beyin amino asitlerini araştırmak için kullanılmıştır. Glutamat en sık araştırılan amino asittir. İntertisyel glutamat düzeyleri beyinde amino asit metabolizmasının ara ürünü olarak değil daha sıklıkla bir nörotransmitter olarak araştırılmıştır. Ancak mikrodiyaliz yöntemiyle glutamat ölçümü tartışmalı bir konudur. Buradaki en önemli problem ölçülen glutamatın ne kadarının nörotransmitter-sinaptik glutamata gösterdiği. Glutamat nörotransmitter olması yanında beyinde nitrojen ve enerji metabolizmasının ara ürünüdür. Glutamatın membran hasarı sonucu hücre dışına çıkması ve kan-beyin bariyerinin bozulmasına bağlı olarak beyine geçişinin artması intertisyel ortamdaki düzeyini artırır. Stimülasyon deneylerini takiben glutamat düzeyinde saptanan artışın nörotransmitter havuzdan kaynaklandığı kabul edilir (166).

NO'nun nörotransmisyonunda modülatör olarak işlevini belirlemek için in vivo mikrodiyaliz ve süperfüzyon teknikleri uygulanmıştır. Ayrıca in vitro ortamda beyin kesitlerinde, sinaptozomlarda ve nöron kültürlerinde mikrodiyaliz yapılmıştır. Bu deneyler sonucunda NO donörlerinin bazal ön beyinde (125), nükleus akübensde (126) asetilkolin salınımını arttırdığı saptanmıştır. cGMP sentezinin inhibisyonu ventral striatumda ve nükleus akübensde NO donörlerinin neden olduğu asetilkolin salınımını azaltmıştır. NO cGMP üzerinden glutamat salınımını uyarır bunu da glutamat tarafından indüklenen asetilkolin salınımındaki artış takip eder (125, 126).

5. GEREÇ VE YÖNTEM

5.1. Kullanılan Deney Hayvanı:

Çalışmada 200-250 gr ağırlığında, Sprague Dawley suşu sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar 12 saat karanlık-12 saat aydınlık döngü içerisinde, sıcaklığı sabit tutulan (21 ± 3 °C) hayvan saklama odasında, 4-5 sıçan alabilen kafeslerde barındırılarak, yem ve su alımları serbest bırakıldı. Anestezi altında yapılan cerrahi hazırlık işlemlerinden sonra, deneyler uyanık hayvanlar üzerinde yapıldığından bu sırada sıçanları strese sokacak davranışlar ve girişimlerden sakınıldı. Deneylerin bitiminde hayvanlar eter anestezisi altında dekapite edildi ve derin dondurucuda saklanan kadavralar tıbbi atık çöpüne atıldı.

5.2. Stereotaksik Cerrahi

100 mg/kg ketamin, 50 mg/kg klorpromazin karışımı intraperitoneal (i.p.) verilerek anestezi uygulanan sıçanlar, stereotaksik alete (Stoelting, Model 51600, ABD) yerleştirildi. Paxinos ve Watson'ın sıçan beyin atlasından (118) alınan koordinatlara uygun olarak sağ ASN'ye elektriksel stimülasyon için bipolar elektrot (MS303 Plastics One, ABD) ve sağ PH'ya mikrodializ probu veya parankinmal kanül (Plastic One C315G, ABD) yerleştirildi. ASN için koordinatlar bregma "0" kabul edilerek 2.6 mm kaudal, 4 mm lateral ve 7.8 mm ventral; PH için kaudal 3.6 mm, lateral 0.5, ventral 8.2 olarak belirlendi. Bir grup sıçanın ASN bölgesine elektriksel uyarıyı ve parankimal enjeksiyonu birlikte yapmayı olanaklı kılan birbirine yapıştırılmış bipolar elektrot ve parankimal kanül (Plastics One, C315G-MS303, ABD) birlikte yerleştirildi. Tüm bu işlemlerin sonunda kafatası dental akrilik sement ile kapatıldı. Hayvanlar anestezinin etkisinden kurtulduktan sonra, deney gününe kadar tek başlarına kafeslerde tutuldular ve bu sürede yiyecek ve su alımları serbest bırakıldı. Mikrodializ deneyleri stereotaksik cerrahi sonrası 1 gün içinde yapıldı. Diğer gruplarda deneyler, 3-5 gün sonra yapıldı.

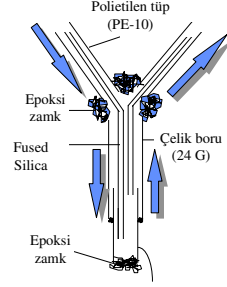
5.3. Damar Kanülünün Yerleştirilmesi ve Kan basıncı ile Kalp Hızı Değişikliklerinin İzlenmesi

Stereotaksi işleminden 3-5 gün sonra doğrudan pulsatil kan basıncı ve KH'larının ölçülebilmesi için sıçanların iliyak arterlerine damar kanülü yerleştirildi. Damar kanülleri, PE50 polietilen (Clay Adams, ABD) kanüllerin ucuna ısıtılarak tutturulmuş PE10 polietilen kanüllerden yapıldı. Damar içine yerleştirilen PE10 polietilen kanülünün uzunluğu 2 cm olacak şekilde kısaltıldı. Kısa süreli eter anestezisi altında sıçanların tek taraflı iliyak fossaları insize edildi, ven-arter-sinir paketi künt diseksiyon ile ayrıldı ve sağ iliyak artere içinde heparin / fizyolojik tuzlu su solüsyonu (500 IU/ml) bulunan damar kanülü yerleştirildi. Kanül cilt altından ilerletilerek, ensede sabitlendi. Cerrahi işlem sonunda sıçanlar pleksiglass kafeslerin içinde tek başlarına bırakılarak anestezinin etkisinden kurtulmaları için 2 saat beklendi.

Dinlenme süresinin sonunda artere yerleştirilen polietilen kanül bir başka polietilen uzatma kanülü kullanılarak kan basıncı takibi için basınç transdüseri (Grass Model P231D) aracılığıyla poligrafa (Grass Model 7) bağlandı. KH, taşograf (Grass Model 7 P44) ile kaydedildi. Kağıt hızı 10 mm / dakika olarak alındı. KB ve KH, kardiyovasküler deney gruplarında tüm deneyler boyunca kaydedildi.

5.4. Probların Hazırlanması ve Mikrodiyaliz Deneyleri:

Bu çalışmada 15 mm uzunluğunda, 24 G paslanmaz çelikten imal edilen problar kullanıldı. Probların içine, giriş ve çıkış tüplerini oluşturan silika 0.07 mm'lik tüpler (fused silica, SGE, İngiltere) yerleştirildi. Bu silika tüplerin pompaya olan bağlantısı polietilen tüplerle gerçekleştirildi. Mikrodiyaliz probunun ucuna cerrahi mikroskop altında, iç çapı 0,2 mm olan küprofan diyaliz membranı geçirilerek bütün bağlantılar epoksi yapıştırıcı ile yapıştırıldı. Probların stereotaksi cerrahisi sırasında akışı kontrol edildikten sonra sıçanlara yerleştirildi.



Küprofan Membran

Dış çap: 0.2 mm, Uzunluk: 2 mm

Şekil 2: Bir mikrodiyaliz probunun şematik gösterilmesi.

Stereotaksik cerrahiden bir gün sonra uyanık hayvan modelinde, diyalizat toplamak üzere problemlerin giriş ve çıkışlarına polietilen uzatma tüpleri takıldı. Giriş tüpüne bağlanan 500 µl'lik bir hamilton şırınga ile mikroinfüzyon pompası (KDS Scientific, ABD) yardımıyla yapay beyin omurilik sıvısı (yapay BOS) perfüzyonu 10 µl/dak akış hızında yapıldı. Çıkış borusuna bağlanan 0,5 ml'lik ependorf tüplerinde biriken diyalizat, 10 dakikalık zaman dilimlerinde toplandı. Kullanılan yBOS 2,5 mM KCl, 125 mM NaCl, 1,26 mM CaCl₂, 1,18 nM MgCl₂ ve 0.2 mM NaH₂PO₄ içerecek şekilde hazırlandı ve pH 7 'ye ayarlandı. yBOS problemlere verilmeden önce 0.4 µm'lik membran filtre ile süzüldü. Toplanan diyalizatlarda L-sitrülin ve L- glutamik asit tayini yapılmaya kadar örnekler, -70°C'de saklandı.

5.5. Kromatografik Sistem ve L-sitrülin ve L-glutamik Asit Düzeylerinin Ölçümü

Kromatografik sistem (yüksek basınçlı sıvı kromatografi, HPLC) 100 µl'lik loop ve "Rheodyn" valfden oluşan pompa (Jasco PU-980, Japonya), C18 revers faz koruyucu kolon ve çalışma kolonu (2,5 cm ve 15 cm uzunluğunda, 4,6 µm çaplı, 5 µm por çaplı nükleosil dolgulu) (Macherey Nagel, Almanya), floresan dedektör (Waters Model 420, ABD) ve bilgisayardan oluşmaktadır. Kromatogramlarda eğri altında kalan alan Borwin Chromatography (Sürüm 1.20, Fransa) adlı bilgisayar programı ile yapıldı. L-sitrülin ve L-glutamik asit analizi için -fitaldialdehid ve 3-merkaptopropionik asit ile pre-kolon türevlendirme yapıldı. Mobil faz, 2:1:1 oranında 250 mM sodyum asetat tampon

çözeltisi (pH: 6.9), deiyonize distile su ve HPLC kalitesinde metanol ile hazırlandı. Mobil faz akış hızı olarak 0.6 ml/dak seçildi. Mobil faz taze hazırlanıp degaze edilerek sisteme verildi. Örnekler ve standartlar, pre-kolon türevlendirmenin yapılmasından sonra, sisteme 12 µl hacim içinde parsiyel enjeksiyon yöntemiyle manuel olarak uygulandı. Kolon sıcaklığı olarak 25°C seçildi. Kromatogram süresi 20 dakika olarak belirlendi.

L-Arjinin – NO yolağının doğal bir ürünü olan L-sitrülin düzeyi, NO düzeylerini dolaylı olarak gösterir. Bu nedenle, bu çalışmada ilgili beyin bölgelerinden toplanan NO düzeyini belirlemek için diyalizatlarda L-sitrülin düzeyi ölçülürken beraberinde L-glutamik asit düzeyi de ölçüldü. Eksternal standart olarak L-sitrülin ve L-glutamik asit çözeltileri 0.25 µM, 0.5 µM, 1 ve 2.5 µM konsantrasyonlarında karışım olarak uygulandı.

5.6. Deney Protokolü

Stereotaksik cerrahiden sonra eter anestezisi altında sıçanların iliak arterlerine polietilen kanül yerleştirilerek bu kanüller, sıçanların ensesinden çıkarıldı. Bu işlem sonrasında serbestçe dolaşabilecekleri pleksiglas silindirlerin içine alınan sıçanların anestezinin etkisinden kurtulmaları ve buldukları ortama alışmaları için yaklaşık 2 saat beklendi. Bu arada arteriyel kanül basınç transdüseri aracılığıyla poligraf sistemine bağlanarak pulsatil KB kayıtları alınmaya başlandı ve deney boyunca ara vermeksizin kayıtlara devam edildi. KH ise sisteme bağlanan bir taşograf aracılığıyla kaydedildi. Dengelenme periyodu bitiminde her hayvanda ASN'ye 30 sn boyunca 300 µA, 1 msn'lik atım ve 80 Hz'lik frekansla ES uygulandı (1.ES). Bu uyarılar sırasında ve uyarıları takip eden 15 dakika boyunca KB ve KH değişiklikleri izlendi. Bu sürenin bitiminde kontrol grubundaki sıçanların ASN veya PH bölgelerine parankimal yBOS, L-NAME grubunda bulunan sıçanların ASN veya PH'larına 40-400 nmol/100 nl konsantrasyonlarında parankimal L-NAME enjeksiyonu yapıldı. Enjeksiyonlardan 15 dakika sonra elektriksel uyarılar tekrarlandı (2.ES) ve bu arada kayıtlara devam edilerek oluşan KB ve KH değişiklikleri izlendi.

Mikrodiyaliz deneyleri için sağ ASN'ye stereotaksik cerrahi ile bipolar elektrot ve sağ PH'ya mikrodiyaliz problemleri yerleştirildi. Mikrodiyaliz işlemlerinin

tamamlanmasından sonra ilk 24 saat içinde mikrodializ deneylerine başlandı. Deney günü, PH bölgesinden 10 dakikalık zaman dilimlerinde 2 adet bazal perfüzyon toplandıktan sonra ASN'ye, 30 sn boyunca 300 μ A, 1 msn'lik atım ve 80 Hz'lik frekansla elektriksel stimülasyon uygulandı. Uyarı sonrasında 10 dakikalık zaman dilimlerinde sağ PH'dan 3'er adet diyalizat toplandı ve bu örneklerde HPLC ile L-glutamik asit ve L- sitrülün analizi yapıldı.

Tablo 1: Deney Grupları

YAPILAN DENEYLER		
<i>MİKRODİYALİZ DENEYLERİ</i>		
L-sitrülün ve L-glutamik asit düzeylerinin araştırıldığı bölge	Elektriksel uyarı yapılan bölge	
PH	ASN	
<i>KARDİOVASKÜLER DENEYLER</i>		
Parankimal uygulamanın yapıldığı bölge	Ön uygulama maddesi	Elektriksel uyarının yapıldığı bölge
ASN	yBOS (100nL)	ASN
ASN	L-NAME (40-400nmol/100nl)	ASN
PH	yBOS (100nl)	ASN
PH	L-NAME (40-400nmol/100nl)	ASN

5.7. Histolojik Doğrulama

Deney bitiminde kanül prob ve elektrot bölgelerinin histolojik doğrulanması için sıçanlar dekapite edilerek beyinleri çıkarıldı ve %20' lik sukroz, % 4' lük formol içeren solüsyonlarda, oda sıcaklığında en az 48 saatte tespit edildi. Beyinler soğutmalı mikrotomda (Mikrom FRG, Almanya), -20° C'de, 20 dak bekletilip donmaları sağlandıktan sonra koronal düzlemde 40 µM aralıklarla kesildi ve üzeri jelatinle kaplanmış lameller üzerine aktarıldı. Kesitler tiyonin boyama yöntemi ile boyanarak ışık mikroskobunda incelendi ve hedeflenen beyin bölgelerine doğru yerleşimi olan sıçanlara ait sonuçlar değerlendirilmeye alındı.

Cerrahi işlem yapılan, deney yapılabilen ve histolojik doğrulama sonrası verileri kullanılan hayvan sayısı tablo 2 'de gösterilmiştir.

Tablo 2: Çalışmada kullanılan hayvan sayısı

DENEY GRUPLARI		Cerrahi işlem yapılan hayvan sayısı	Deney yapılabilen hayvan sayısı	Histolojik doğrulama sonrası verileri kullanılan hayvan sayısı	[(Verileri kullanılan hayvan sayısı) / (Cerrahi işlem yapılan hayvan sayısı)] x100
Mikrodiyaliz deneyleri		36	20	14	% 38
Kardiyovasküler Deneyler (damar kanülü ile kalp hızı ve kan basıncı ölçümü)	ASN'ye yBOS enjeksiyonu ve ASN'ye elektriksel stimülasyon	8	4	3	% 37
	ASN'ye L-NAME (40 nmol/100nl) enjeksiyonu ve ASN'ye elektriksel stimülasyon	9	3	3	% 33
	ASN'ye L-NAME (400 nmol/100nl) enjeksiyonu ve ASN'ye elektriksel stimülasyon	18	8	7	% 38
	PH'ya yBOS enjeksiyonu ve ASN'ye elektriksel stimülasyon	15	7	4	% 26
	PH'ya L-NAME (40 nmol/100nl) enjeksiyonu ve ASN'ye elektriksel stimülasyon	15	7	4	% 26
	PH'ya L-NAME (400 nmol/100nl) enjeksiyonu ve ASN'ye elektriksel stimülasyon	16	8	4	% 25
	Toplam	117	57	39	% 33

5.8. Verilerin İstatistiksel Analizi

Sonuçlar “ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi. Ortalama kan basıncı (OKB), “1/3 nabız basıncı + diyastolik kan basıncı” formülüne göre hesaplandı. OKB ve KH değişim yüzdeleri ise;

[(elektriksel uyarı sırasındaki değer - elektriksel uyarıdan önceki değer) / elektriksel uyarıdan önceki değer] X100

formülüne göre hesaplandı.

Deney gruplarında 1.ES ile 2.ES sırasında ölçülen KH ve OKB değerlerinin bazale göre hesaplanan yüzde değişimleri “Eşleştirilmiş verilerde *Student’ın t-testi*” ile karşılaştırıldı.

PH bölgesinden yapılan mikrodiyaliz deneylerinde bazal L-sitrülin ve L-glutamik asit konsantrasyonları ES’yi takip eden 1.,2.,3. 10’ar dakikalık zaman dilimlerinde toplanan diyalizatlarda saptanan konsantrasyonlarla Friedman testi kullanılarak karşılaştırıldı. *Post hoc* test olarak *Dunn’s testi* kullanıldı.

6. BULGULAR

6.1. ASN'ye Parankimal Uygulanan yBOS veya L-NAME'nin ASN'nin Elektriksel Uyarılması ile Oluşan Kardiyovasküler Yanıtlar Üzerine Olan Etkisi:

ASN'nin elektriksel olarak uyarılmasına bağlı olarak oluşan KB ve KH değişikliklerinde nitretrjik sistemin etkisini belirlemek amacıyla bu bölgeye L-NAME enjeksiyonu yapılarak, enjeksiyon öncesi ve sonrası ES ile oluşan kardiyovasküler yanıtlar karşılaştırıldı.

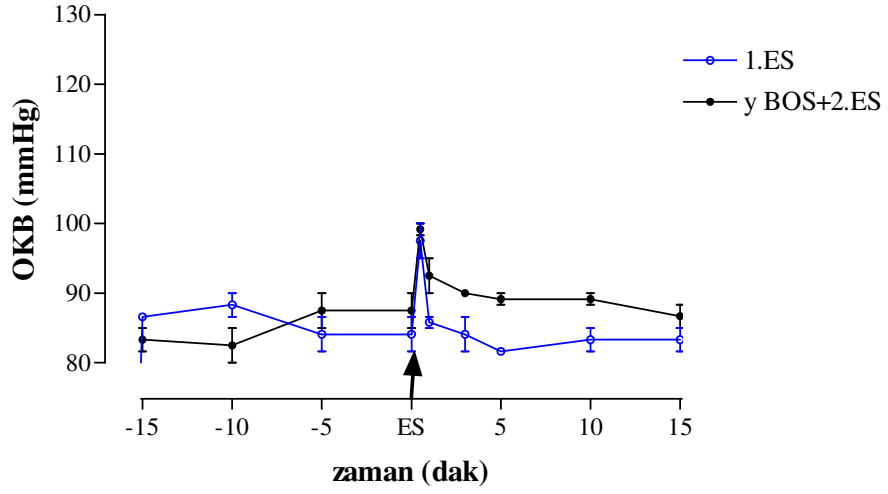
ASN'lerine bipolar elektrot ve parankimal kanül, iliak arterlerine damar kanülü yerleştirilen sıçanların bazal KH ve KB değerleri ölçüldükten sonra 1.ES uygulandı ve en az 15 dak'lık izleme süresinden sonra parankimal yoldan yBOS veya 40 – 400 nmol/100 nl L-NAME uygulandı.

L-NAME öncelikle 3, 6, 9, 30 nmol/100 nl (her bir konsantrasyon için n=2) konsantrasyonlarında uygulandı, ancak ES ile oluşan kardiyovasküler parametrelerde belirgin bir değişiklik olmadığı görülünce L-NAME dozu artırılarak 40-400 nmol'e yükseltildi.

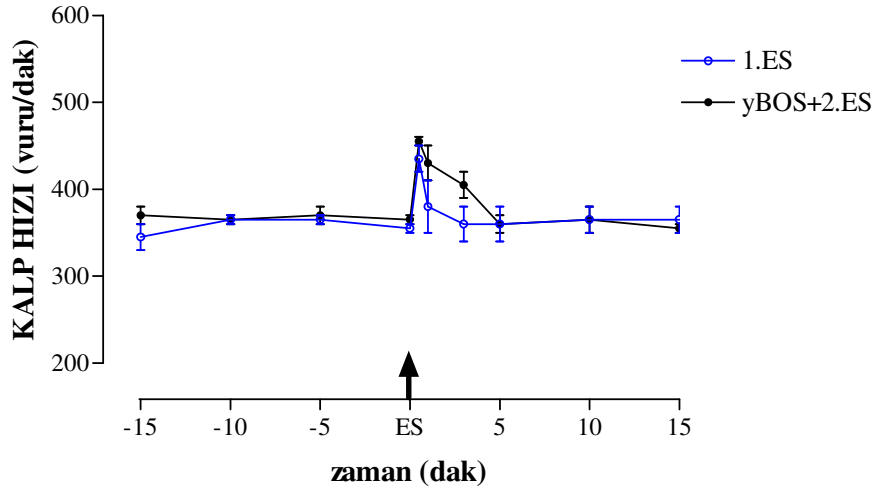
yBOS'un ASN bölgesine parankimal olarak uygulanmasının bazal OKB ve KH değerlerinde anlamlı bir değişiklik yapmadığı gözlemlendi (Şekil 3 ve 4).

Bu grupta 1. ES sırasında OKB'nin 84.1 ± 1 mm Hg'dan 97.5 ± 2.3 mmHg'ya, KH'nin ise 365 ± 4 vuru/dak'dan 437 ± 14 vuru/dak'ya yükseldiği saptandı. ES'yi takip eden 1. dak'da OKB 85.5 ± 0.7 , 3. ve 5. dakikalarda sırasıyla 84.4 ± 2.3 ve 81.8 mmHg olarak kaydedildi. KH, ES'den sonraki 1. dak'da 380 ± 28 , 3 ve 5. dak'lar 360 ± 19 vuru/dak olarak belirlendi.

yBOS enjeksiyonu sonrasında uygulanan ES (2. ES) sırasında OKB 87 ± 2.1 'den 99 ± 0.5 mmHg'ya yükseldi ve ES'yi takip eden 1. dak'da 92.2 ± 1.5 , 3. dak'da 90.2 ± 1.1 mmHg; 5.,10., ve 15. dak'larda 86.9 ± 0.8 mmHg olarak bulundu. KH, 2. ES sırasında 368 ± 5 vuru/dak'dan 450 ± 4 vuru/dak'ya yükseldi. KH, ES'yi takip eden 1. dakikada 428 ± 18 , 3. dak'da 410 ± 17 ; 5., 10., ve 15. dakikalarda sırasıyla 363 ± 9 , 443 ± 5.5 , 370 ± 13 vuru/dak olarak bulundu. yBOS enjeksiyonunun ES sonrasında OKB ve KH değerlerinde farklılık oluşturmadığı saptandı (Şekil 3 ve 4).

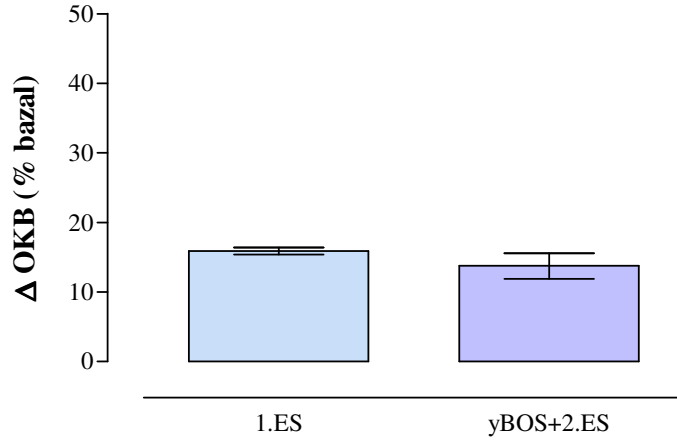


Şekil 3: Amigdalanın santral nükleusuna yapay beyin omurilik sıvısı (yBOS, 100nl) enjeksiyonu öncesi uygulanan elektriksel stimülasyon (1.ES) ile enjeksiyon sonrası uygulanan elektriksel stimülasyon (2.ES) sırasında ölçülen ortalama kan basıncı (OKB) değerleri (n=3).

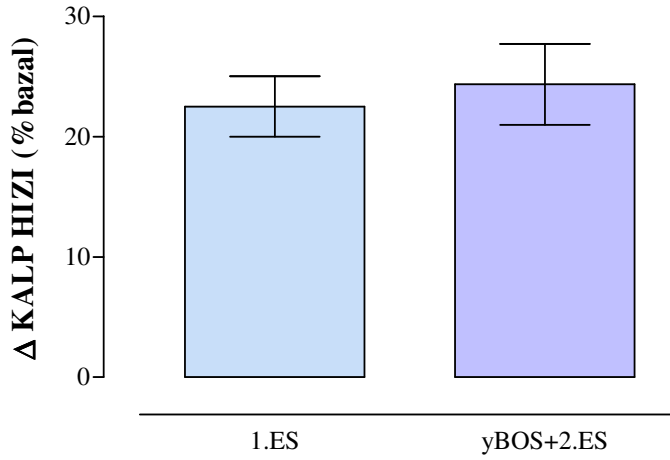


Şekil 4: Amigdalanın santral nükleusuna yapay beyin omurilik sıvısı (yBOS, 100nl) enjeksiyonu öncesi uygulanan elektriksel stimülasyon (1.ES) ile enjeksiyon sonrası uygulanan elektriksel stimülasyon (2.ES) sırasında ölçülen kalp hızı değerleri (n=3).

1.ES'nin uygulanmasıyla OKB bazal değerlere göre $\% 15.9 \pm 0.5$, yBOS enjeksiyonundan sonra uygulanan 2.ES ile $\% 13.8 \pm 1.9$; KH değeri ise 1. ES sırasında $\% 22.5 \pm 3.5$, 2.ES sırasında $\% 24.4 \pm 3.7$ arttı (Şekil 5 ve 6). OKB ve KH için 1. ve 2. ES sırasında saptanan bazale göre $\%$ değişim değerleri birbirleriyle karşılaştırıldıklarında aralarındaki farkın istatistiksel olarak birbirlerinden anlamlı olmadığı saptandı.



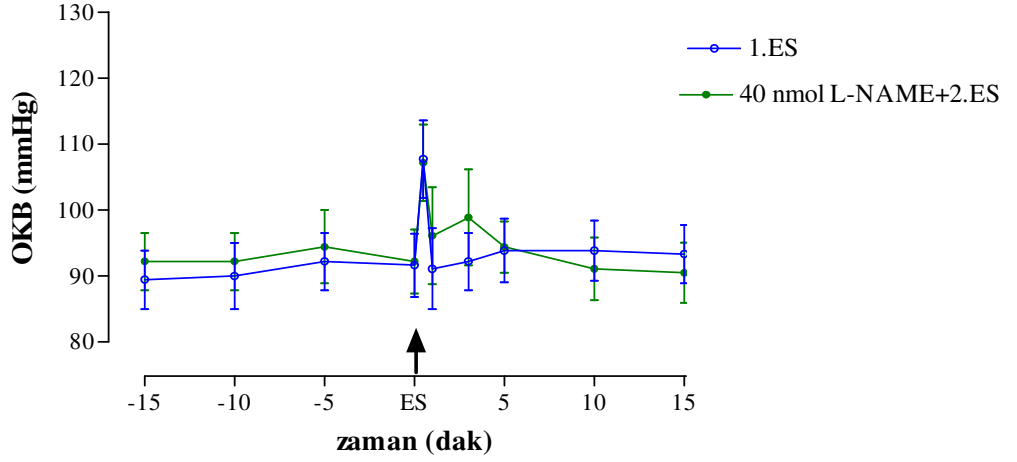
Şekil 5: Amigdalanın santral nükleusuna yapay beyin omurilik sıvısı (yBOS, 100nl) enjeksiyonu öncesi uygulanan elektriksel stimülasyon (1.ES) ile enjeksiyon sonrası uygulanan elektriksel stimülasyon (2.ES) sırasında saptanan ortalama kan basıncı (OKB) değerlerinin bazal değerlere göre değişim yüzdesi (n=3).



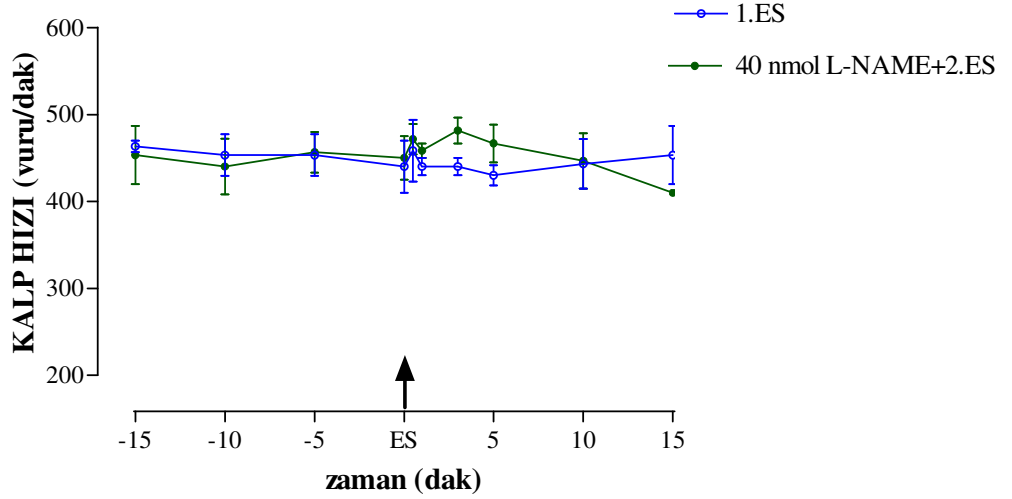
Şekil 6: Amigdalanın santral nükleusuna yapay beyin omurilik sıvısı (yBOS, 100nl) enjeksiyonu öncesi uygulanan elektriksel stimülasyon (1.ES) ile enjeksiyon sonrası uygulanan elektriksel stimülasyon (2.ES) sırasında saptanan kalp hızı değerlerinin bazal değerlere göre değişim yüzdesi (n=3).

L-NAME'nin 40 nmol/100nl konsantrasyonlarında uygulandığı grupta 1.ES öncesi OKB ve KH değerleri sırasıyla 91.6 ± 4.8 mmHg, 440 ± 51.9 vuru/dak iken, bu değerler ES sırasında 107.7 ± 5.8 mmHg ve 458.3 ± 35.6 vuru/dak'ya yükseldi. OKB, ES'yi takip eden 3 dakika içinde 93.8 ± 4.8 mmHg, KH ise 440 ± 10 vuru/dak değerlerine düştü.

L-NAME öncesi OKB 92.2 ± 4.3 mmHg, KH 453 ± 33.3 vuru/dak olarak ölçüldü. L-NAME uygulamasını takip eden 5., 10., 15. (2.ES'den önce) dak'larda OKB değerleri sırasıyla 92.2 ± 4.3 , 94.4 ± 5.5 , 92.2 ± 4.8 mmHg; KH için bu değerler sırasıyla 440 ± 32.1 , $456,6 \pm 23.3$, 450 ± 25.1 vuru/dak olarak saptandı. ES sırasında OKB 107.1 ± 5.8 , KH 471 ± 17.4 vuru/dak'ya yükseldi. ES sonrası 3 dakika içinde bu değerler OKB için 98.8 ± 7.2 mmHg, KH için 481.6 ± 14.8 vuru/dak bulundu (Şekil 7 ve 8).

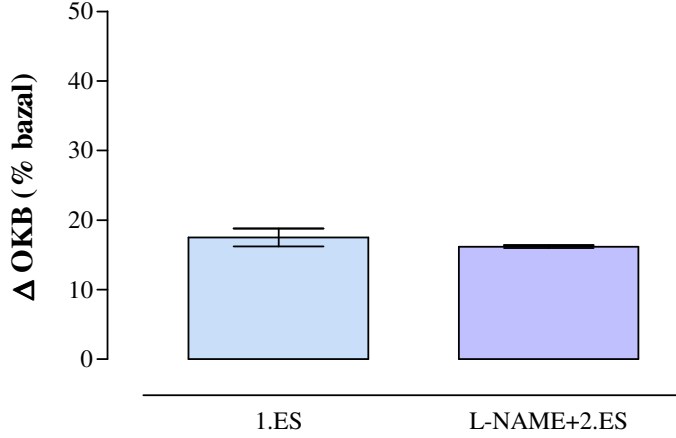


Şekil 7: Amigdalanın santral nükleusuna N^G – nitro – L – arjinin metilester (L-NAME, 40 nmol/100nl) enjeksiyonu öncesi uygulanan elektriksel stimülasyon (1.ES) ile enjeksiyon sonrası uygulanan elektriksel stimülasyon (2.ES) sırasında ölçülen ortalama kan basıncı (OKB) değerleri (n=3).

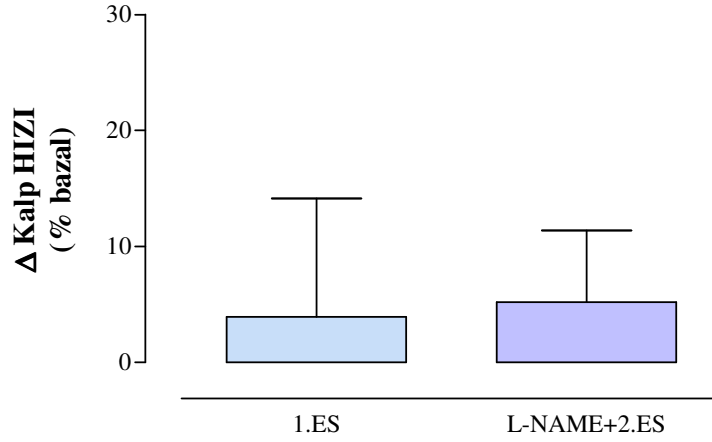


Şekil 8: Amigdalanın santral nükleusuna N^G – nitro – L – arjinin metilester (L-NAME, 40 nmol/100nl) enjeksiyonu öncesi uygulanan elektriksel stimülasyon (1.ES) ile enjeksiyon sonrası uygulanan elektriksel stimülasyon (2.ES) sırasında ölçülen kalp hızı değerleri (n=3).

Bu grupta 1. ES sırasında OKB bazale göre $\% 17.5 \pm 1.3$, KH $\% 3.9 \pm 10.2$ artarken, 40 nmol L-NAME sonrası yapılan 2. ES ile OKB bazale göre $\% 16.2 \pm 0.2$, KH $\% 5.5 \pm 8.7$ arttı (Şekil 9 ve 10).



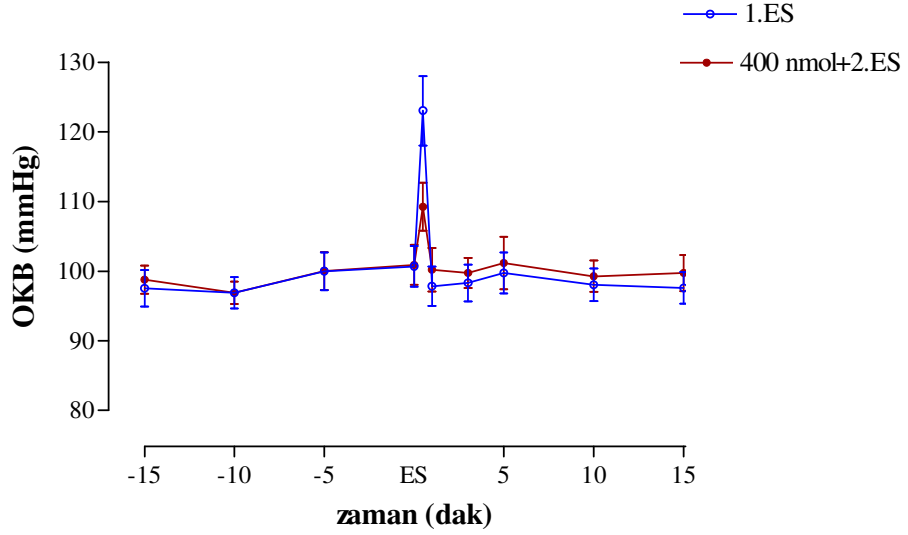
Şekil 9: Amigdalanın santral nükleusuna N^G – nitro – L – arjinin metilester (L-NAME, 40 nmol/100nl) enjeksiyonu öncesi uygulanan elektriksel stimülasyon (1.ES) ile enjeksiyon sonrası uygulanan elektriksel stimülasyon (2.ES) sırasında saptanan ortalama kan basıncı (OKB) değerlerinin bazal değerlere göre değişim yüzdesi (n=3).



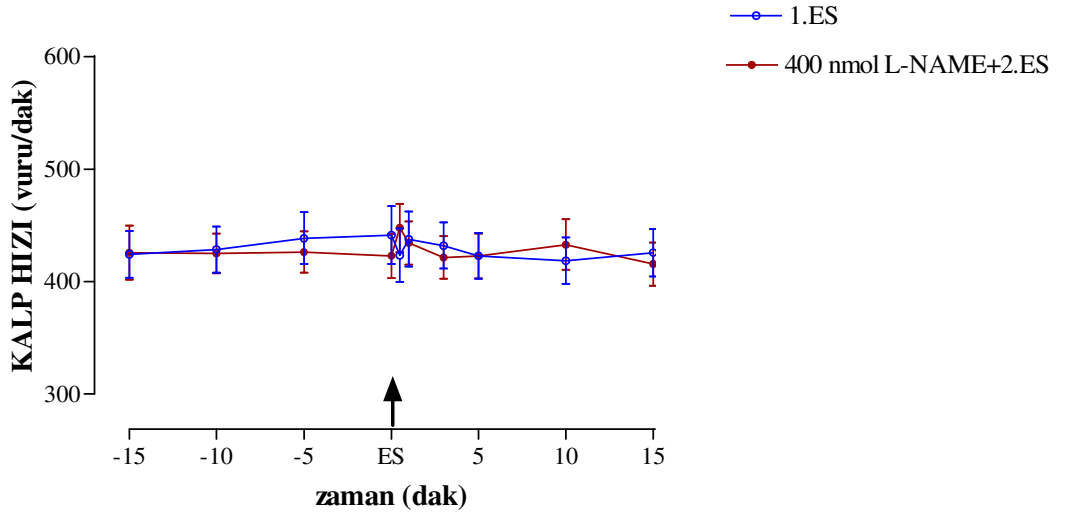
Şekil 10: Amigdalanın santral nükleusuna N^G – nitro – L – arjinin metilester (L-NAME, 40 nmol/100nl) enjeksiyonu öncesi uygulanan elektriksel stimülasyon (1.ES) ile enjeksiyon sonrası uygulanan elektriksel stimülasyon (2.ES) sırasında saptanan kalp hızı değerlerinin bazal değerlere göre değişim yüzdesi (n=3).

ASN'ye 40 nmol/100 nl olarak uygulanan L-NAME eneksiyonları sonunda 2.ES sırasında oluşan kardiyovasküler parametrelerde ait verilerle 1.ES ait değerlerin birbirine benzer bulunması nedeniyle n=3 iken L-NAME'in daha yüksek (400nmol/100 nl'lik) konsantrasyonun uygulanmasına geçildi.

400 nmol/100 nl L-NAME uygulanan grupta 1.ES öncesi 99.9 ± 2.8 mmHg olan OKB ES sırasında 120.7 ± 4.8 mmHg; KH ise 1.ES öncesi 456.6 ± 22.6 vuru/dak, ES sırasında 427.5 ± 25.8 vuru/dak olarak ölçüldü. Bu grupta L-NAME uygulamasından önce OKB ve KH değerleri sırasıyla 98.7 ± 2 mmHg, 425.7 ± 23.9 vuru/dak olarak saptandı. OKB, enjeksiyonu takip eden 5. ve 10. dak'larda sırasıyla 100.8 ± 2.8 ve 101.3 ± 2.8 mmHg; KH ise 432.5 ± 17.4 ve 435.8 ± 17.1 vuru/dak olarak ölçüldü. Enjeksiyondan 15 dak sonra (2.ES'den önce) OKB 100.9 ± 3 iken ES (2.ES) sırasında 111.3 ± 3 mmHg'ye, KH ise 435 ± 16.8 vuru/dak'dan 460 ± 19.4 vuru/dak'ya yükseldi. ES'yi takip eden 3. dakikada OKB 100.5 ± 2.1 mmHg, KH ise 431.6 ± 17.3 vuru/dak olarak bulundu (Şekil 11 ve 12).

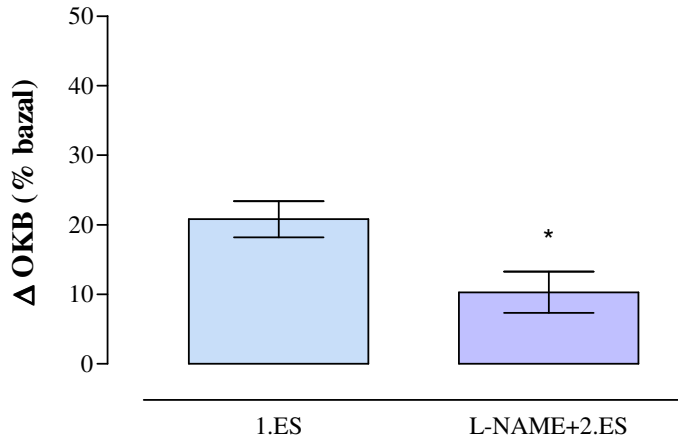


Şekil 11: Amigdalanın santral nükleusuna N^G – nitro – L – arjinin metilester (L-NAME, 400 nmol/100nl) enjeksiyonu öncesi uygulanan elektriksel stimülasyon (1.ES) ile enjeksiyon sonrası uygulanan elektriksel stimülasyon (2.ES) sırasında ölçülen ortalama kan basıncı (OKB) değerleri (n=7).

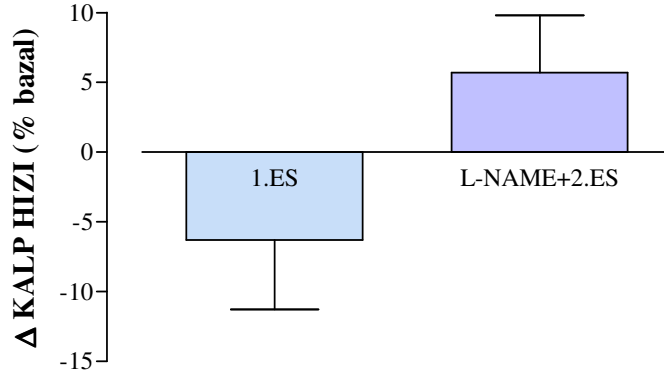


Şekil 12: Amigdalanın santral nükleusuna N^G – nitro – L – arjinin metilester (L-NAME, 400 nmol/100nl) enjeksiyonu öncesi uygulanan elektriksel stimülasyon (1.ES) ile enjeksiyon sonrası uygulanan elektriksel stimülasyon (2.ES) sırasında ölçülen kalp hızı değerleri (n=7).

L-NAME'nin 400 nmol/100 nl uygulandığı bu grupta, 1. ES sırasında OKB bazale göre % 20.8 ± 2.6 artarken, KH % 6.3 ± 0.5 azaldı. 400 nmol/100 nl L-NAME uygulaması sonrası 2. ES ile OKB bazale göre % 10.31 ± 3 , KH % 5.7 ± 4.1 arttı. OKB'deki 1. ve 2. ES sırasında saptanan değişikliklerin bazale göre % değişim değerleri birbirleriyle karşılaştırıldıklarında aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın ($p < 0.05$, *Student'in t testi*) olduğu bulunmuştur. KH değişim yüzdelerinde istatistiksel bir anlamlılık saptanmadı (Şekil 13 ve 14).



Şekil 13: Amigdalanın santral nükleusuna N^G – nitro – L – arjinin metilester (L-NAME, 400 nmol/100nl) enjeksiyonu öncesi uygulanan elektriksel stimülasyon (1.ES) ile enjeksiyon sonrası uygulanan elektriksel stimülasyon (2.ES) sırasında saptanan ortalama kan basıncı (OKB) değerlerinin bazal değerlere göre değişim yüzdesi. *: $p < 0.05$, eşleştirilmiş verilerde *Student'in t testi* ($n=7$).



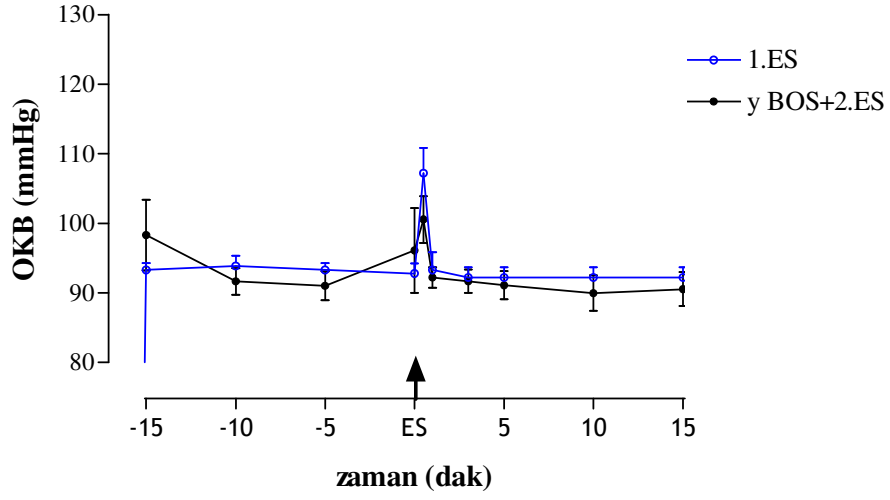
Şekil 14: Amigdalanın santral nükleusuna N^G – nitro – L – arjinin metilester (L-NAME, 400 nmol/100nl) enjeksiyonu öncesi, uygulanan elektriksel stimülasyon (1.ES) ile enjeksiyon sonrası uygulanan elektriksel stimülasyon (2.ES) sırasında saptanan kalp hızı değerlerinin bazal değerlere göre değişim yüzdesi (n=7).

6.2. PH'ya Parankimal Uygulanan yBOS veya L-NAME'in ASN'nin Elektriksel Uyarılması ile Oluşan Kardiyovasküler Yanıtlar Üzerine Olan Etkisi

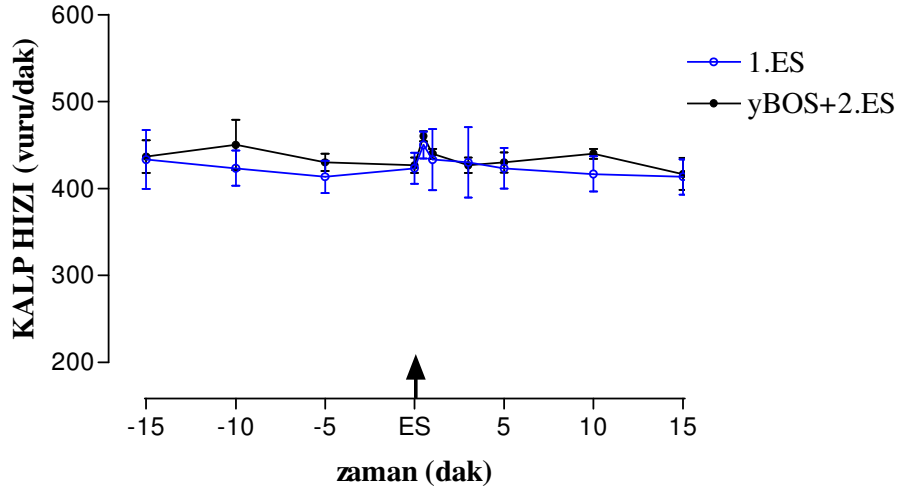
L-NAME'in PH'ya uygulanmasının bazal KB ile KH ve elektriksel uyarıyla ortaya çıkan kardiyovasküler yanıtlar üzerindeki etkilerini araştırmak amacıyla deneyler yapıldı. Stereotaksik cerrahi ile ASN bölgesine bipolar elektrot, PH bölgelerine parankimal kanül yerleştirilen sıçanların deney günü bazal KH ve KB değerleri kaydedildikten sonra ES uygulandı (1.ES). 1. ES sonrası sıçanların PH bölgelerine 40 nmol/100 nl veya 400 nmol/100nl L-NAME uygulandı. 15 dak boyunca KB ve KH değerleri kaydedildikten sonra 2. ES verilerek L-NAME'nin ES sırasında oluşan KH ve OKB üzerine etkisi araştırıldı.

yBOS'un PH'ya parankimal olarak uygulanmasının bazal OKB ve KH değerlerinde anlamlı bir değişikliğe neden olmadığı saptandı.

yBOS grubuna ait OKB ve KH değerleri ve ES'ler sırasında bu parametrelerde saptanan değişiklikler şekil 15 ve 16'da gösterilmektedir. yBOS enjeksiyonu bu değerlerde anlamlı bir değişiklik yapmamıştır.



Şekil 15: Posterior hipotalamusa parankimal yapay beyin omurilik sıvısı (yBOS, 100nl) enjeksiyonu öncesi amigdalanın santral nükleusunun elektriksel stimülasyonu (1.ES) ile enjeksiyon sonrası elektriksel stimülasyonu (2.ES) sırasında ölçülen ortalama kan basıncı (OKB) değerleri (n=4).

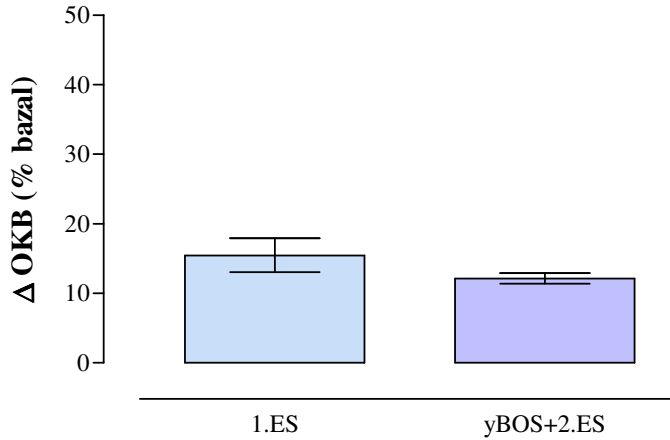


Şekil 16: Posterior hipotalamusa parankimal yapay beyin omurilik sıvısı (yBOS, 100nl) enjeksiyonu öncesi amigdalanın santral nükleusunun elektriksel stimülasyonu (1.ES) ile enjeksiyon sonrası elektriksel stimülasyonu (2.ES) sırasında ölçülen kalp hızı değerleri (n=4).

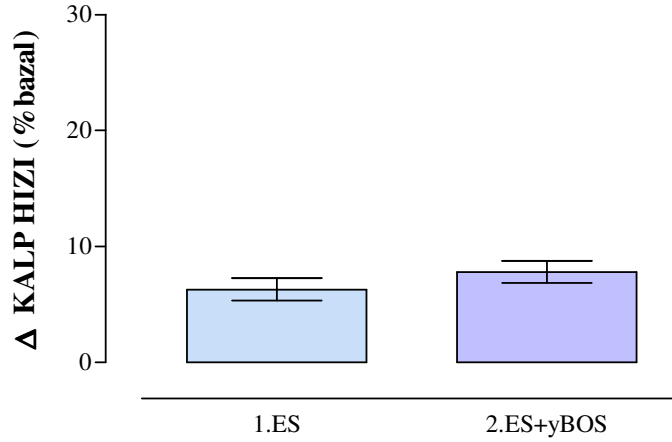
Bu grupta 1. ES sırasında OKB 92.6 ± 1.4 mm Hg'dan 107.2 ± 3.6 mmHg'ya KH ise 423 ± 17.6 vuru/dak değerinden 450 ± 15 vuru/dak'ya yükseldi. ES'yi takiben 1. dak'da OKB 92.9 ± 2.3 , 3. ve 5. dak'larda 92.1 ± 1.1 mm Hg olarak kaydedildi. KH, ES'den sonraki 1. dak'da 432.1 ± 34 , 3. dak'da 431 ± 39 , 5. dak'da 422.8 ± 22 mmHg olarak ölçüldü.

yBOS enjeksiyonu sonrasında uygulanan ES (2.ES) sırasında OKB 95 ± 2.8 103.3 ± 4.6 mmHg; OKB ES'yi takip eden 1. dak'da 92.2 ± 1.1 , 3. dak'da 91.6 ± 1.4 , 5.,10., ve 15. dak'larda sırasıyla 91.6 ± 1.8 , 89.8 ± 2.4 , 90.6 ± 2 mmHg olarak ölçüldü. KH, 2. ES sırasında 426.6 ± 8.8 vuru/dak'dan 460 ± 5.7 vuru/dak'ya yükseldi. ES'yi takip eden 1. dak'da 438 ± 4.7 , 3.dak'da 424 ± 4.8 , 5., 10., ve 15. dak'larda sırasıyla 430 ± 11 , 440 ± 5 , 416.8 ± 16.5 vuru/dak olarak bulundu. yBOS enjeksiyonunun ES sonrasında OKB ve KH değerlerinde farklılık oluşturmadığı saptandı.

1. ES'nin uygulanmasıyla OKB bazal değerlere göre $\% 15.7 \pm 2.4$, yBOS enjeksiyonundan 15 dak sonra uygulanan 2.ES ile $\% 12.1 \pm 1.3$ arttı. KH değeri ise 1. ES sırasında $\% 6.3 \pm 1$, 2.ES sırasında $\% 7.8 \pm 1$ arttı (Şekil 17 ve 18).

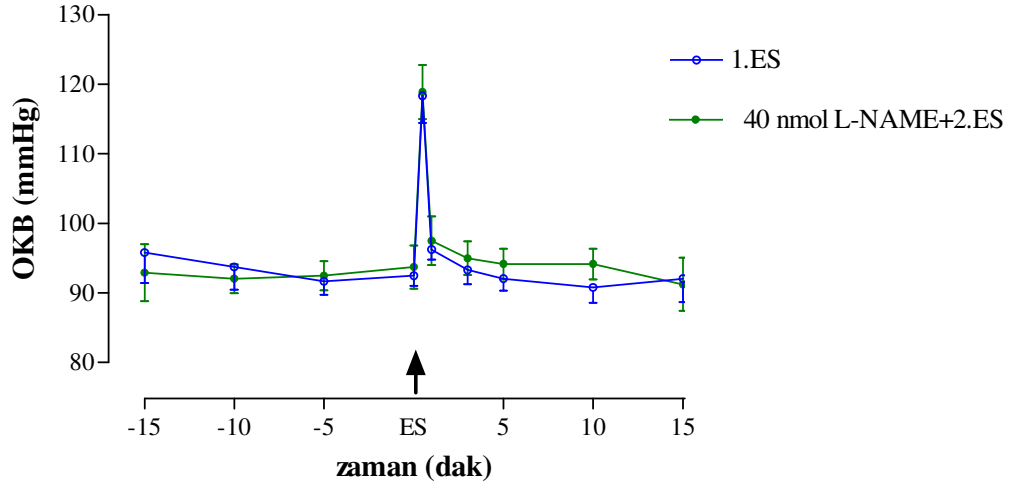


Şekil 17: Posterior hipotalamusa parankimal yapay beyin omurilik sıvısı (yBOS, 100nl) enjeksiyonu öncesi amigdalanın santral nükleusunun elektriksel stimülasyonu (1.ES) ile enjeksiyon sonrası elektriksel stimülasyonu (2.ES) sırasında saptanan ortalama kan basıncı (OKB) değerlerinin bazal değerlere göre değişim yüzdesi (n=4).

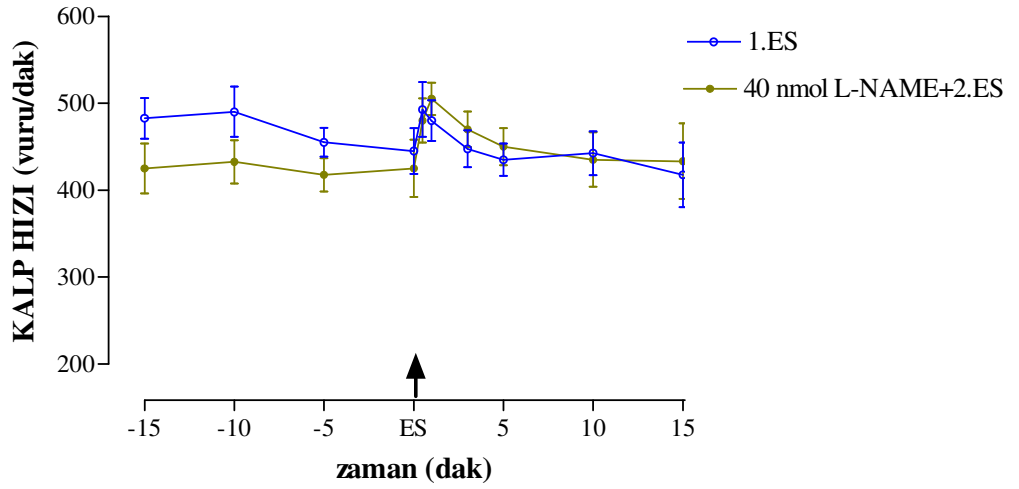


Şekil 18: Posterior hipotalamusa parankimal yapay beyin omurilik sıvısı (yBOS, 100nl) enjeksiyonu öncesi amigdalanın santral nükleusunun elektriksel stimülasyonu (1.ES) ile enjeksiyon sonrası elektriksel stimülasyonu (2.ES) sırasında saptanan kalp hızı değerlerinin bazal değerlere göre değişim yüzdesi (n=4).

40 nmol L-NAME uygulanan grupta 1.ES öncesi OKB 92.4 ± 1.4 mmHg, KH 445 ± 26 vuru/dak iken 1. ES sırasında OKB 118 ± 4.7 mmHg'ya, KH ise 492 ± 31 atım/dak'ya yükseldi. ES bitiminden 3 dakika sonra OKB 96.2 ± 1.4 mmHg, KH 486 ± 23 vuru/dak olarak ölçüldü. Enjeksiyonu takip eden 5. dakikada OKB 92 ± 4.1 , 10. ve 15. dakikalarda 93.7 ± 3 mmHg; KH, 5. dakikada 432.5 ± 24.9 , 10. dakikada 417 ± 19.3 , 15. dakikada 425 ± 33 vuru/dak olarak bulundu. 2. ES'den önce OKB 93.7 ± 3 mmHg, KH ise 425 ± 33 vuru/dak iken 2.ES sırasında OKB 122 ± 4 mmHg'ya, KH ise 480 ± 25.5 vuru/dak'ya yükseldi. Bu grupta L-NAME enjeksiyonunun bazal OKB ve KH değerlerinde anlamlı bir değişiklik yapmadığı saptandı (Şekil 19 ve 20).

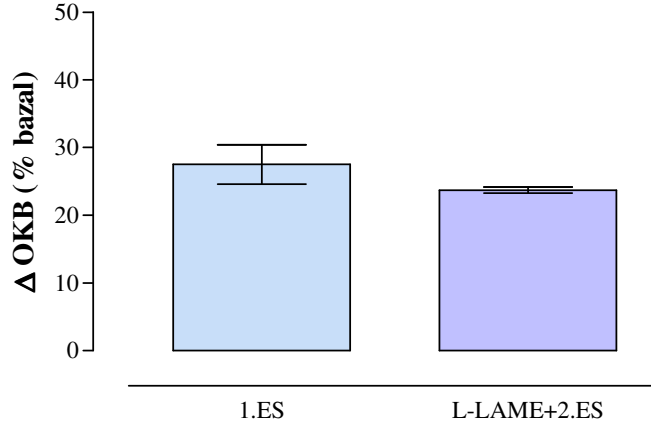


Şekil 19: Posterior hipotalamusa parankimal N^G – nitro – L – arjinin metilester (L-NAME, 40 nmol/100nl) enjeksiyonu öncesi amigdalanın santral nükleusunun elektriksel stimülasyonu (1.ES) ile enjeksiyon sonrası elektriksel stimülasyonu (2.ES) sırasında ölçülen ortalama kan basıncı (OKB) değerleri (n=4).

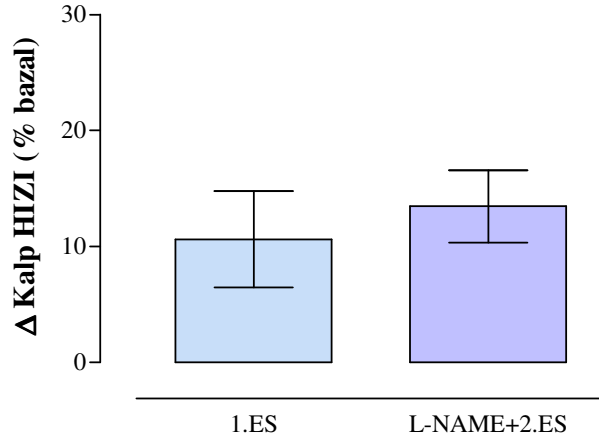


Şekil 20: Posterior hipotalamusa parankimal N^G – nitro – L – arjinin metilester (L-NAME, 40 nmol/100nl) enjeksiyonu öncesi amigdalanın santral nükleusunun elektriksel stimülasyonu (1.ES) ile enjeksiyon sonrası elektriksel stimülasyonu (2.ES) sırasında ölçülen kalp hızı değerleri (n=4).

Bu grupta 1. ES'nin uygulanmasıyla OKB'nin bazal değerlere göre $\% 27.5 \pm 2.9$, parankimal L-NAME enjeksiyonundan sonra uygulanan 2.ES ile $\% 23.7 \pm 0.5$ arttığı saptandı. KH değerinde ise 1. ES sırasında $\% 10.6 \pm 4.1$, 2.ES sırasında $\% 13.5 \pm 3.1$ artış saptandı (Şekil 21 ve 22).

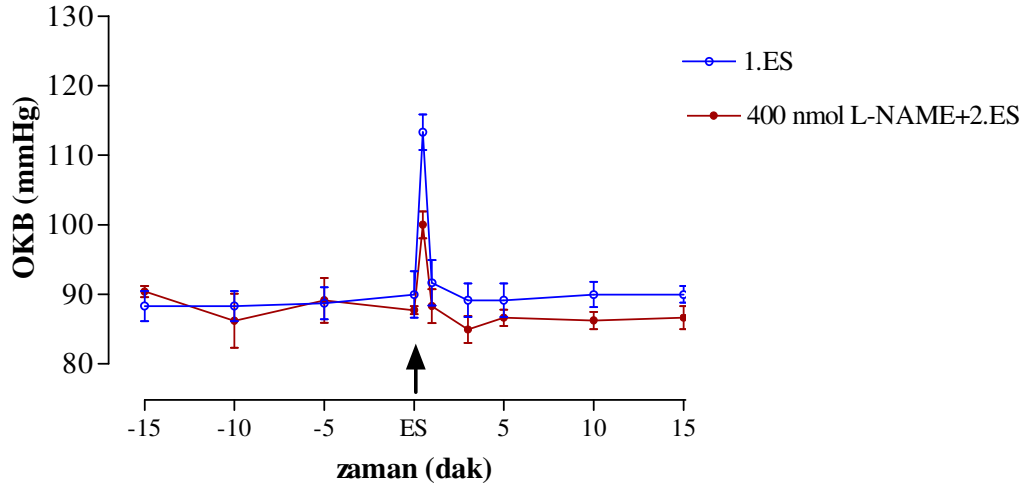


Şekil 21: Posterior hipotalamusa parankimal N^G – nitro – L – arjinin metilester (L-NAME, 40 nmol/100nl) enjeksiyonu öncesi amigdalanın santral nükleusunun elektriksel stimülasyonu (1.ES) ile enjeksiyon sonrası elektriksel stimülasyonu (2.ES) sırasında saptanan ortalama kan basıncı (OKB) değerlerinin bazal değerlere göre değişim yüzdesi (n=4).

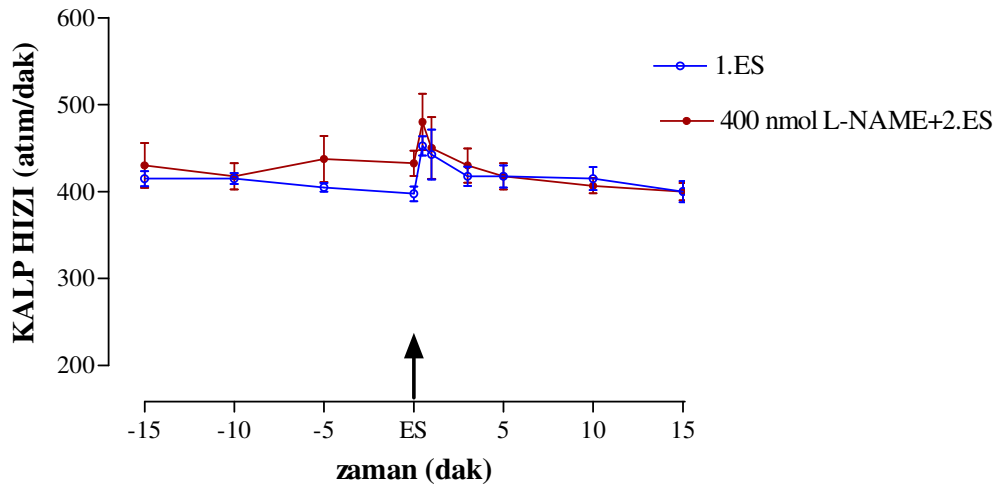


Şekil 22: Posterior hipotalamusa parankimal N^G – nitro – L – arjinin metilester (L-NAME, 40 nmol/100nl) enjeksiyonu öncesi amigdalanın santral nükleusunun elektriksel stimülasyonu (1.ES) ile enjeksiyon sonrası elektriksel stimülasyonu (2.ES) sırasında saptanan kalp hızı değerlerinin bazal değerlere göre değişim yüzdesi (n=4).

L-NAME'nin 400 nmol/100 nl uygulandığı grupta 1.ES öncesi KH ve OKB değerleri sırasıyla 397.5 ± 3.5 vuru/dak ve 89.9 ± 2.5 mmHg iken, bu değerler ES sırasında 452.5 ± 11.1 vuru/dak ve 113.3 ± 4.9 mmHg'ye yükseldi. L-NAME öncesi OKB 90 ± 1.2 mmHg, KH 400 ± 12.2 vuru/dak, L-NAME uygulamasını takip eden 5., 10., 15. (2. ES'den önce) dak'larda OKB değerleri sırasıyla 86.2 ± 3.9 , 89.1 ± 3.2 , 87.7 ± 1 mmHg; KH için bu değerler 5.,10., 15. (2. ES'den önce) dak'larda sırasıyla 415 ± 6.5 , 405 ± 5 , 432.5 ± 8.5 olarak saptandı (Şekil 23 ve 24). 2. ES sırasında OKB 100 ± 3 mmHg, KH 480 ± 9 vuru/dak olarak ölçüldü.

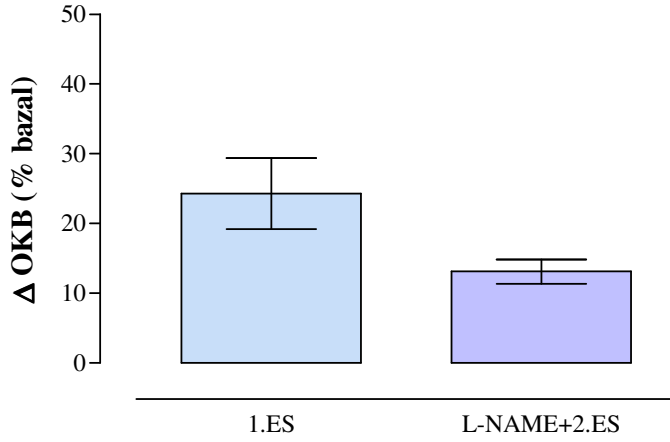


Şekil 23: Posterior hipotalamusa parankimal N^G – nitro – L – arjinin metilester (L-NAME, 400 nmol/100nl) enjeksiyonu öncesi amigdalanın santral nükleusunun elektriksel stimülasyonu (1.ES) ile enjeksiyon sonrası elektriksel stimülasyonu (2.ES) sırasında ölçülen ortalama kan basıncı (OKB) değerleri (n=4).

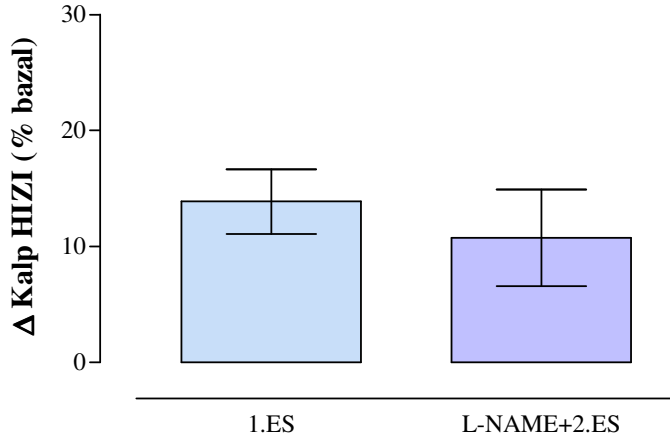


Şekil 24: Posterior hipotalamusa parankimal N^G – nitro – L – arjinin metilester (L-NAME, 400 nmol/100nl) enjeksiyonu öncesi amigdalanın santral nükleusunun elektriksel stimülasyonu (1.ES) ile enjeksiyon sonrası elektriksel stimülasyonu (2.ES) sırasında ölçülen kalp hızı değerleri (n=4).

L-NAME'nin 400 nmol/100 nl uygulandığı bu grupta, 1. ES sırasında OKB bazale göre % 26 ± 4.5 , KH % 13.9 ± 2.8 artarken, L-NAME uygulaması sonrası 2. ES ile OKB bazale göre % 14 ± 1.6 , KH % 10.4 ± 4.2 artmış olarak bulundu. OKB ve KH için 1. ve 2. ES sırasında saptanan bazale göre % değişim değerleri birbirleriyle karşılaştırıldıklarında aralarındaki farkın istatistiksel olarak birbirlerinden anlamlı olmadığı saptandı (OKB için $p=0.59$, KH için $p=0.36$; eşleştirilmiş verilerde Student'ın t testi), (Şekil 25 ve 26).



Şekil 25: Posterior hipotalamusa parankimal N^G – nitro – L – arjinin metilester (L-NAME, 400 nmol/100nl) enjeksiyonu öncesi amigdalanın santral nükleusunun elektriksel stimülasyonu (1.ES) ile enjeksiyon sonrası elektriksel stimülasyonu (2.ES) sırasında saptanan ortalama kan basıncı (OKB) değerlerinin bazal değerlere göre değişim yüzdesi. $p=0.59$, eşleştirilmiş verilerde Student'ın t testi ($n=4$).



Şekil 26: Posterior hipotalamusa parankimal N^G – nitro – L – arjinin metilester (L-NAME, 400 nmol/100nl) enjeksiyonu öncesi amigdalanın santral nükleusunun elektriksel stimülasyonu (1.ES) ile enjeksiyon sonrası elektriksel stimülasyonu (2.ES) sırasında saptanan kalp hızı değerlerinin bazal değerlere göre değişim yüzdesi (n=4).

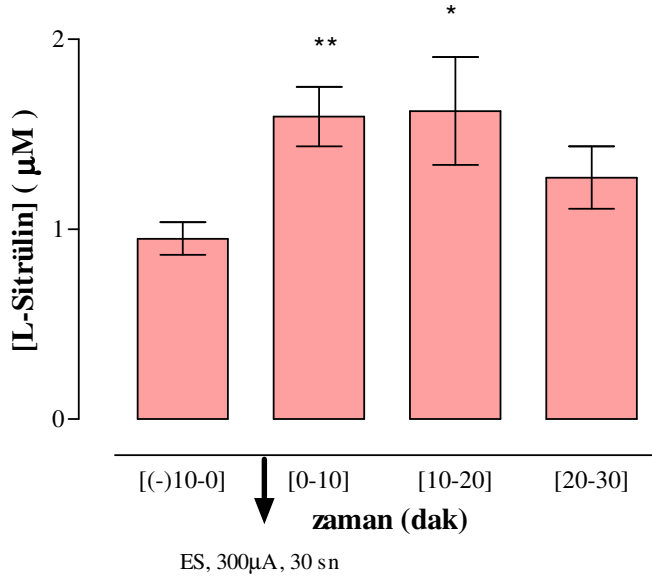
6.3. Amigdalanın Santral Nükleusana Uygulanan Elektriksel Uyarılar Önce ve Sonrasında PH'dan Toplanan Diyalizatlarda Ölçülen Ekstraselüler L-sitrülin ve L-glutamik Asit Düzeyleri

Prob ve elektrot yerleşiminin histolojik olarak doğrulandığı sıçanların sağ PH bölgesindeki ekstraselüler L-sitrülin düzeyi $1.0 \pm 0.1 \mu\text{M}$ olarak saptandı. Bu değer ES sonrası [0 - 10] dakika aralığında toplanan örnekte $1.6 \pm 0.2 \mu\text{M}$ düzeyine yükseldi. Benzer şekilde sağ PH'da toplanan bazal perfüzlarda L-glutamik asit düzeyi $0.8 \pm 0.1 \mu\text{M}$ olarak bulundu ve sağ ASN'nin elektriksel olarak uyarılması ile bu değer [0 - 10] dakikada $1.3 \pm 0.2 \mu\text{M}$ 'a yükseldi (Şekil 27).

Elektriksel uyarıyı takip eden [10 – 20] zaman aralığında L-sitrülin düzeyi 1.6 ± 0.3 , L-glutamik asit düzeyi $1.4 \pm 0.2 \mu\text{M}$ olarak saptandı. L- sitrülin ve L- glutamik asit düzeyleri elektriksel uyarıyı takip eden [20 – 30] dakikalarda sırasıyla 1.3 ± 0.2 , $1.2 \pm 0.2 \mu\text{M}$ olarak ölçüldü (Şekil 27 ve 28) .

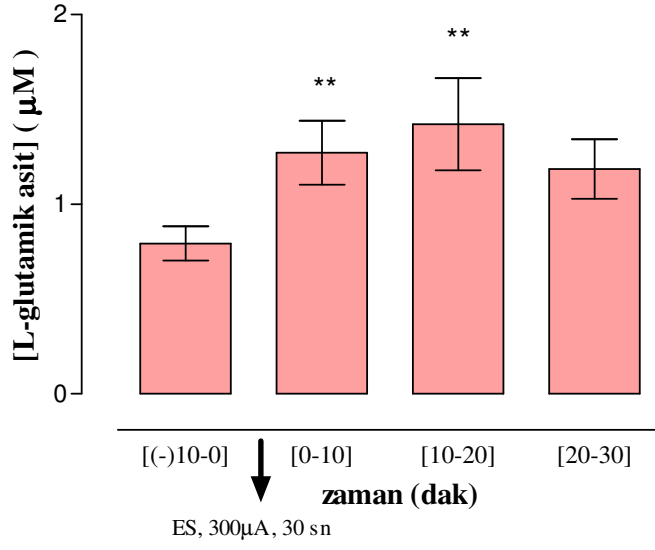
Elektriksel uyarıyı takip eden [0 - 10] zaman dilimlerinde L-sitrülin düzeyindeki artışın ES öncesi L-sitrülin düzeyi ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulundu ($p < 0.01$, *Friedman testi*). Benzer şekilde [10-20] zaman aralığında

saptanan L-sitrülin düzeyi ES öncesi bazal değerlerden istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$, *Friedman testi*) saptandı. ES sonrası L-sitrülin düzeyinde saptanan artışın ES sonrası [20 – 30] dakikalar arasında da devam etmesine rağmen bu zaman diliminde ölçülen L- sitrülünün miktarı bazal değerlerden istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermedi (Şekil 27).



Şekil 27: Amigdala santral nükleusunun elektriksel stimülasyonu (ES) sonrası ipsilateral posterior hipotalamusdan toplanan mikrodiyaliz örneklerinde saptanan L-sitrülin konsantrasyonu. *: $p < 0.05$, bazal değere göre, *Friedman testi*, *post hoc Dunn's testi*. **: $p < 0.01$, bazal değere göre, *Friedman testi*, *post hoc Dunn's testi* ($n=14$).

L- glutamik asit düzeyinin ES'yi takiben [0 - 10], [10 - 20] zaman dilimlerinde bazal değerlere göre istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.001$, *Friedman testi*) artış gösterdiği bulundu. ES'yi takip eden 20 - 30 dakikalar arasında da L-glutamik asit düzeyi bazal değerden daha yüksek ölçüldü ancak bu iki değer arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (Şekil 28).



Şekil 28: Amigdala santral nükleusunun elektriksel stimülasyonu (ES) sonrası ipsilateral posterior hipotalamusdan toplanan mikrodializ örneklerinde saptanan L-glutamik asit konsantrasyonu. **: $p < 0.01$, bazal değere göre, Friedman testi, post hoc Dunn's testi ($n=14$).

7. TARTIŞMA

Santral kardiyovasküler düzenlemede rolü olan ASN ve PH gibi iki beyin bölgesi arasında nitreerjik bir yolağın varlığını araştırmak amacıyla yapılan bu çalışmada, kardiyovasküler ve mikrodiyaliz deneyleri yapılmıştır. Öncelikle ASN'nin elektriksel olarak uyarılmasıyla oluşan kardiyovasküler yanıtlar belirlenmiş ve daha sonra bu yanıtlarda ASN ile PH'daki nitreerjik sistemlerin etkisi, daha sonra da bu iki bölge arasında nitreerjik bir yolağın varlığı araştırılmıştır. Kardiyovasküler deneylerle ASN'nin ES'si sırasında kalp hızı (arttığı veya azaldığı) ve kan basıncının (arttığı) değiştiği gösterilmiştir. Bu etkilerden nitreerjik sistemin sorumlu olup olmadığını araştırmak amacıyla NO sentetaz inhibitörü olan L-NAME, ASN'ye farklı dozlarda enjekte edilmiş ve ES sırasında oluşan kardiyovasküler parametrelerdeki değişikliklerin L-NAME'nin dozuna bağlı olarak inhibe edildiği gösterilmiştir. Aynı amaçla PH'ya farklı dozlarda yapılan L-NAME enjeksiyonları sonrasında ASN'nin ES'si ile oluşan kardiyovasküler yanıtların L-NAME'nin dozuna bağlı olarak değiştiği saptanmıştır. L-NAME'nin bu etkilerinden PH'da ES ile aktive olan nitreerjik sistemin inhibe edilmesinin sorumlu olup olmadığını araştırmak amacıyla PH'dan mikrodiyaliz yapılmıştır. Bu deneylerde NO düzeyini dolaylı olarak gösteren L- sitrülün miktarları araştırılmış ve düzeyinin ES ile arttığı gösterilmiştir. Kardiyovasküler deneyler ve bunların verilerini destekleyen mikrodiyaliz deneyleri sonucunda ASN'ye uygulanan ES'nin PH'daki nitreerjik sistemi aktive ettiği ve bu iki bölge arasında santral kardiyovasküler düzenlenmeyle ilgili bir yolak olabileceği sonucuna varılmıştır. Ayrıca bu uyarılar sırasında PH'da L- sitrülünle birlikte, beyin ve omurilikte eksitator nöromedyator olan ve ortama NO salınımını dolaylı olarak etkileyen L-glutamik asit düzeyinin de arttığı belirlenmiştir.

Literatürde amigdalanın ES'sinin davranışsal ve otonomik değişikliklere neden olduğu, KH ve KB'de değişikliklere yol açtığı ve bu iki parametrenin korku durumunda ortaya çıkan kardiyovasküler yanıtları incelemek için kullanılabileceği (32), ASN'nin ES ile aktive edilmesinin tekrarlanabilir, koşullanmış kardiyovasküler değişikliklere neden olabileceği belirtilmiştir (65). Bizim bu çalışmamızda da ASN'nin ES'si ile oluşan kardiyovasküler etkileri belirlemek amacıyla ASN'ye 300 µA, 30 saniye ES uygulanmıştır. ASN'nin ES'si sırasında tüm gruplarda kan basıncının arttığı ve ES'nin

kesilmesiyle tamamen eski değerlerine döndüğü gözlenmiştir. KH, ES ile deneklerin çoğunda artmış ancak bazı deneklerde azalmıştır. KH'nin ES sırasında bazal değerlere göre yaklaşık % 20 ile % - 5 oranında değişmiştir. Bizim verilerimizle uyumlu olarak Telliöğlü ve ark'nın yaptığı bir çalışmada (161) ASN'ye uygulanan 300 µA ES ile OKB'de bazale göre % 19'luk artış saptanırken, KH'de genelde artma fakat bazı deneklerde azalma saptanmıştır. Bu deneylerin sonunda KH ve KB'de her zaman birbirine paralel olmayan, bazen birbirinden tamamen zıt yönde değişimlerin saptanması beyinde KB ve KH'nin farklı merkezler tarafından kontrol edilebileceği şeklinde yorumlanmıştır.

Ohta ve ark tarafından yapılan bir çalışmada amigdalooid kompleksin değişik bölgelerine parankimal olarak uygulanan karbakolle en güçlü kardiyovasküler presör yanıtların ASN'ye yapılan enjeksiyonlarla gerçekleştiği, bazal ve medial nükleuslara yapılan enjeksiyonların ASN enjeksiyonlarına göre daha hafif presör yanıtlara neden olduğu gösterilmiştir. Yine aynı çalışmada karbakolün medial nükleus ile ASN arasına enjekte edildiği deneklerde bradikardi saptanmıştır. Bazal ve medial nükleuslara yapılan uygulamalar sonrasında bazı deneklerde bradikardi, bazılarında taşikardi saptanmıştır (108). Bu bilgiler ışığında amigdalanın farklı bölgelerinin uyarılmasıyla birbirine benzer KB değişikleri saptanırken, KH'nin uyarılan bölgeye ve deneklere göre değişebileceği sonucuna varılabilir. Ayrıca bu farklılıklar kalp hızı ve kan basıncının, santral olarak birbirinden bağımsız olarak düzenlendiği şeklinde de açıklanabilir. Bu yorumu destekler biçimde Özkutlu ve ark'nın yaptığı bir çalışmada ASN'nin elektriksel ablasyonu sonrasında intratekal uygulanan karbakolün neden olduğu presör yanıtlar belirgin olarak baskılanırken, bradikardinin önlenmediği saptanmıştır (113).

ASN'de ES ile ortaya çıkan kardiyovasküler etkilerden sadece ASN'deki nöronların uyarılmasının değil, elektriksel aktivitesinin beynin diğer bölgelerine yayılmasının sorumlu olabileceği düşünülebilir. Bu konuya açıklık getirebilecek iki alışma Ohta (108) ve Iwata (65) tarafından yapılmıştır. Bu çalışmalarda nöron gövdelerini aktive eden L-glutamik asit ile ASN'ye yapılan kimyasal uyarının, kardiyovasküler parametrelerde ES'nin etkilerine benzer etkilere neden olduğu gösterilmiştir. Bu sonuçlar ASN'de ES ile ortaya çıkan kardiyovasküler etkilerden bu bölgedeki nöron gövdelerinin eksitasyonunun sorumlu olduğu şeklinde yorumlanmıştır (108, 65).

Bizim çalışmamızda ASN'in ES'si sırasında ortaya çıkan kardiyovasküler değişikliklerde nitrejik sistemin rolünü belirlemek amacıyla ASN'ye parankimal yBOS (100 nl) veya L-NAME injeksiyonu (40-400 nmol/100 nl) yapılarak ES'ler tekrarlanmıştır. L-NAME öncelikle 3, 6, 9, 30 nmol/100 nl dozlarında uygulanmış, ancak ES ile oluşan kardiyovasküler parametrelerde belirgin bir değişiklik olmadığı görülünce L-NAME dozları artırılarak 40-400 nmol/100 nl'ye yükseltilmiştir. ASN'ye 40 nmol/100 nl olarak uygulanan L-NAME eneksiyonları sonunda 2.ES sırasında oluşan kardiyovasküler parametrelerde ait verilerle 1.ES ait değerlerin birbirine benzer bulunması nedeniyle n=3 iken L-NAME'in daha yüksek (400nmol/100 nl'lik) konsantrasyonun uygulanmasına geçilmiştir. yBOS uygulamasıyla ES'nin neden olduğu kardiyovasküler yanıtlarda hiçbir değişiklik olmazken, 40 nmol L-NAME'nin ES sırasında oluşan KB'deki artışın azaldığı, 400 nmol L-NAME ile bu etkinin istatistiksel olarak anlamlı düzeylere ulaştığı saptanmıştır.

Bu deneylerimizde ASN'ye yapılan yBOS ve L-NAME injeksiyonlarının bazal kardiyovasküler parametreleri değiştirmedeği görülmüştür. Bu durum NO'nun ASN'de bazal (tonik) kan basıncının düzenlenmesinde rolü olmadığı şeklinde yorumlanabilir. Ohta ve ark'nın yaptığı bir çalışmada nitrejik sistemden farklı olarak ASN'ye karbakol uygulanmasının KB'yi artırdığı bulunmuş ve kolinerjik sistemin ASN'de bazal KB'nin düzenlenmesinde rol aldığı belirtilmiştir. Aynı çalışmada bizim çalışmamıza benzer şekilde ASN'ye yapılan serotonin ve noradrenalin infüzyonunun hiçbir etki oluşturmadığı bu sistemlerin santral bazal KB düzenlenmesinde rolü olmadığı vurgulanmıştır (108).

Biz elde ettiğimiz bu verilerle ES ile amigdaladaki nitrejik sistemin aktive olduğunu ve ortama NO salındığını, diğer bir ifadeyle burada NO nöron gövdelerinin bulunduğu söyleyebiliriz. Literatürde amigdalada nitrejik nöronların varlığı gösterilmiştir. Mc Donalds ve ark'nın yaptığı bir çalışmada santral ve anterior amigdalada büyük ND pozitif nöronlar saptanmıştır (93). İmmunohistokimya ile yapılan başka bir çalışmada ASN'in kapsüler ve lateral bölümündeki hücre gövdeleri ve dendritlerde nNOS reaktif nöronlar saptanmıştır. ASN'in medial bölümünde 2 tip nNOS pozitif nöron saptanmıştır. Bunlardan birinci tipte nNOS'a sadece hücre gövdesinde saptanırken diğer tip nöronlarda hücre gövdesi ve dendritlerde rastlanmıştır (67). Daha önceden de tartıştığımız gibi çalışmamızda ES ile amigdaladaki nöronlar ve lifler

birlikte uyarılmış olabilir. Aynı konu literatürde ES'nin kullanıldığı çalışmalarda da tartışılmıştır. L-glutamik asit gibi eksitator bir madde olan DL-homosistein (DLH) ile amigdalanın ES ile kardiyovasküler değişiklikler oluşturulan bölgelerin daha az oranda uyarıldığı gözlemlenmiş ve bu sonuca dayanarak beynin her bölgesinin DLH'ya duyarlı olmadığını ya da ES ile bu bölgeden geçen liflerin, DLH'yla ise seçici olarak sadece hücre gövdelerinin uyarılmış olabileceği belirtilmiştir. Ancak beynin bu bölgesinden geçen liflerin sayısının oldukça az olduğu ve kardiyovasküler etkilerden sorumlu olan nöronların amigdalada dağınık olarak bulunduğu bu nedenle ES'nin hücre gövdelerini ve buradan geçen eferent lifleri uyarmada kimyasal uyarıdan daha etkili olduğu sonucuna varılmıştır (47).

Bu bilgilerle yapmış olduğumuz bu çalışmada ASN'deki kardiyovasküler etkileri araştırmak için kimyasal uyarı yerine ES'nin kullanılmış olmasının daha doğru bir seçim olduğu, ancak ES ile ASN'deki nöron gövdeleriyle birlikte buradan geçen liflerinde de uyarılmış olma olasılığının göz önünde bulundurulması gerektiği sonucuna varılabilir.

Çalışmamızda L-NAME'nin yüksek dozlarıyla bile ES sırasında oluşan kardiyovasküler etkilerinin tamamen önlenmemiş olması buradan geçen liflerin uyarıldığını ve/veya ASN'de ES ile sadece nitrejik nöronlarının değil, ASN'de bulunan kolinerjik sistem gibi diğer sistemlerin de uyarılmış olabileceğini düşündürür. Bu düşünceyi destekler biçimde Aslan ve ark'nın yaptıkları bir çalışmada ASN'nin ES'si ile oluşan kardiyovasküler etkilerin M₁ kolinerjik reseptör antagonisti pirenzepin tarafından önlendiğini ve bu nedenle ES sırasında ASN'deki kolinerjik sistemin aktive olduğunu belirtmişlerdir (6). Ayrıca ASN ve medial amigdaloïd nükleuslarda GABA'erjik nöronların bulunduğu ve bu nöronlarının GABA ile inhibe edilebildiği gösterilmiştir (14). Ortamda yüksek miktarda bulunan NO'nun eksitator ve inhibitör nöronların aktivitesini artırdığı, düşük düzeyinin azalttığı bilgisinden yola çıkarak (127) deneylerimizde ASN'nin ES ile uyarılması sırasında saptanan kardiyovasküler değişikliklerden, NO ve L-glutamik asitin artmasıyla düzeyi değişen GABA'nında sorumlu olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

Çalışmamızın asıl amacı santral kardiyovasküler düzenlemede ASN ile PH arasında nitrejik bir yolağın varlığını araştırmak olduğu için PH'ya yBOS veya 40-400 nmol/100 nl L-NAME ön uygulamaları yapılmış; ASN'nin ES'si ile PH'daki nitrejik

sistemin etkilenip etkilenmediği ve bu etkilerin kardiyovasküler parametrelere yansıyor yansımadağı araştırılmıştır. Bu bölgeye yapılan yBOS ve L-NAME'nin 40-400 nmol'lük dozları bazal KH ve KB değerlerini değiştirmemiştir. Bu sonuç PH'daki NO'nun bazal kardiyovasküler düzenlemelere katılmadığını şeklinde yorumlanmıştır.

Bu yorumu destekleyen bir alışma Palma ve ark tarafından yapılmıştır. Bu alışmada PH'ya uygulanan fizostigminin doza bağlı olarak KB'yi artırdığı ve bu artışın skopolamin (muskarinik reseptör antagonisti) ile önlendiği gösterilmiştir. Ancak PH'ya L-arjinin ve NO donörü olan GTN'nin uygulanması KB'de hiçbir değişikliğe neden olmamıştır. Bu bulgularla bazal NO salınımının PH'daki kardiyovasküler düzenlenmeye katılmadığını sunucuna varılmıştır (116).

Çalışmamızda yBOS n uygulaması ASN'nin ES'sinin neden olduğu KH ve KB değerlerini değiştirmezken, L-NAME'nin her iki dozu da ES sırasında oluşan KB'deki artışı azaltmıştır. L-NAME'nin 40 nmol'lk dozu ES'nin neden olduğu KH değişimini etkilememiş, 400 nmol L-NAME KH değişimini azaltmıştır. Bu verilerle, kardiyovasküler sistemin santral düzenlemesinde ASN ile birlikte PH'nın da rolü olduğu ve PH'nın ASN'den gelen kardiyovasküler uyarılara verilen yanıtını etkileyebildiği, bu nedenle bu iki merkez arasında nitrerjik sisteminde rol aldığı bir yolak olduğunu söylemek mümkündür.

Amigdalanın hipotalamus ve beynin diğer bölgeleriyle olan bağlantılarının belirlendiği literatür verileri vardır. Amigdalanın hipotalamus ile karşılıklı bağlantısının olduğu amigdalaya limbik korteksin tüm bölümlerinden uyarılar geldiği saptanmıştır (89). Parades ve ark'nın yaptıkları incelemeler sonucunda ASN'ye uygulanan retrograd işaretleyicilerin PH'da orta yoğunlukta biriktiği; hipotalamusun periaquaduktal gri cevhere ve ASN'ye en fazla aferent yollayan kaynak olduğu gösterilmiştir (117).

Davis tarafından yazılan derlemede amigdalanın tüm beyin bölgelerinden bazolateral ve lateral nükleuslar aracılığıyla işlenmiş bilgi aldığı ve bu bilgilerin sırasıyla ASN'ye buradan da hipotalamus ve beyin sapının korku ve anksiyete ile ilgili bölgelerine gönderildiği belirtilmiştir (32). ASN'den lateral hipotalamusa olan direkt projeksiyonların sempatik sinir sisteminin aktivasyonundan, ASN ile vagusun dorsal motor çekirdeğine olan projeksiyonun korku ve anksiyete sırasında ortaya çıkan otonom değişikliklerden, ASN'den parabrakial nükleusa olan projeksiyonların ise korku sırasında oluşan solunum değişikliklerinden sorumlu olduğu belirtilmiştir. Korku

sirasında oluşan yüz mimiklerinden ASN'nin trigeminal ve fasyal motor nöronlara olan direkt projeksiyonlarının uyarılması sonucu olabileceği bildirilmiştir (32).

Çalışmamızda ASN'ye uygulanan ES'nin neden olduğu kardiyovasküler yanıtlarda PH'ya yapılan L-NAME enjeksiyonları ile istatistiksel anlamlılık oluşturacak kadar değişiklik meydana gelmemesi ES ile nitretrjik nöronlar dışında diğer nöronların da aktive olmasıyla açıklanabilir. Song ve ark tarafından yapılan bir çalışmada, PH'ya yapılan GABA, histamin, asetilkolin ve L-glutamik asit enjeksiyonlarının kardiyovasküler parametrelerde değişikliklere neden olduğu gösterilmiştir (151). Sıçan PH'sında 3-hemikolinyum ile asetilkolin nöronlarının boşaltılması kan basıncının düşmesi ile sonuçlanmıştır. Bu çalışmanın sonunda, normotansif sıçanlarda ve SHR'de asetilkolinin PH'da santral KB'nin düzenlenmesinde rolü olduğu belirtilmiştir (23).

Brezenoff ve Martin tarafından yapılan bir çalışmada sıçanlarda asetilkolinesteraz inhibitörü olan fizostigmin ya da karbakolün PH'ya direkt olarak uygulanmasıyla KB'nin arttığı ve bu artışın M₃ reseptörleri aracılığıyla gerçekleştiği belirtilmiştir (20).

Çalışmamızda PH'ya yapılan L-NAME enjeksiyonları ile ASN'ye uygulanan ES'nin neden olduğu kardiyovasküler yanıtların belirgin olarak değişmemesi, ASN'nin PH dışında kardiyovasküler düzenlemede görev alan beynin diğer bölgelerini doğrudan uyarımış olmasından da kaynaklanabilir.

ASN'nin santral kardiyovasküler düzenlemede görev yapan medullaya yerleşmiş olan NTS'ye oradan da sırasıyla KVLM ve RVLM'ye projekte olduğu bildirilmiştir (140). NTS'in aktivasyonu ile ASN'deki c-fos miktarının artması, ASN ile NTS arasındaki bağlantıyı destekler niteliktedir (120).

Retrograd ve anterograd işaretleyicilerle yapılan çalışmalarla ASN'nin NTS'ye direkt projeksiyonlar gönderdiği gösterilmiştir. Nörofonksiyonel deneylerle ASN'nin NTS'deki baroreseptör nöronlara direkt projekte olduğu ve KB'deki değişikliklerle bu nöronların aktive olduğu gösterilmiştir (139).

ASN ile NTS arasındaki bağlantı elektrofizyolojik çalışmalarla da araştırılmıştır. NTS'deki nöronların uyarılmasının ASN'deki nöronlarda antidromik aktivasyona neden olduğu (133) ve ASN'den orijin alan NTS'ye projekte olan nöronların baroreseptör nöronlarla yakın koşullarının olduğu saptanmıştır. Bu sonuçlarla ASN'in barorefleks

mekanizmalara bağlı olarak KB'yi NTS seviyesinde direkt olarak etkilediği gösterilmiştir (139).

Kan basıncının dzenlenmesinde ASN'den beyin sapına olan bir diğer projeksiyonda RVLM'dir. ASN'deki nronların elektriksel olarak uyarılmasının RVLM'deki nronlarda aktivasyona neden olduğu gösterilmiştir (46).

Omurilikte vazomotor sempatik nronlara uyarı gnderen başlıca nronlar RVLM'daki nronlardır. Amigdaladaki kucuk bir efektör nron grubunun RVLM'deki katekolaminerjik nronlarla sinaps yaptığı gösterilmiştir (172). Ancak yapılan farmakolojik calışmalar burada L-glutamik asit varlığını da destekler niteliktedir (135, 99).

PH'da, ASN gibi santral KB'nin dzenlenmesinde rol alan beyin bglgelerinden biridir ve bu nedenle santral KB'nin dzenlenmesi ile ilgili mekanizmaların araştırıldığı birçok calışmanın odağını oluşturmuştur (152). SHR'lerin PH'sında norepinefrin konsantrasyonunun artmış olduğu saptanmıştır (70). Diğer bir calışmada SHR'ın PH'larının ES'si normotensif sıçanlara göre daha fazla presör yanıt oluşturmuştur (174). PH'nın sıçanlarda asetilkolinesteraz inhibitörlerinin intratekal enjeksiyonu sonrasında oluşan presör etkilerde önemli bir rol oynadığı belirtilmiştir (20).

Calışmamızda PH'dan toplanan mikrodiyaliz örneklerinde ASN'nin ES sonrasında ortamdaki NO miktarını dolaylı olarak gösteren L-sitrülin ile birlikte L-glutamik asit düzeyi ölçülmüş ve miktarında artış saptanmıştır. Bu nedenle ASN'nin ES'nin PH'da glutaminerjik ve nitrerjik sistemleri birlikte aktivite ettiği söylenebilir. Mikrodiyaliz deneyleri sırasında kardiyovasküler ölçümler teknik zorluklar nedeniyle yapılamamış ancak ES sırasında EEG kayıtları alınarak uyarının deneklere ulaştığından emin olunmuştur.

Ohta ve ark'nın yaptığı calışma L-glutamik asidin PH'da kardiyovasküler etkileri olduğu gösterilmiştir. Bu calışmada intravenöz yoldan yüksek dozda uygulanan L-glutamik asit kardiyovasküler parametrelerde değişiklik oluşurmazken posterior hipotalamik bölgeye yapılan mikroenjeksiyonlar doza bağımlı olarak KH ve KB'yi artırmıştır. Benzer şekilde PH'nın ES'si bu bölgeye L-glutamik asit uygulanmasına benzer kardiyovasküler yanıtlar oluşturmuştur (70). Bizim calışmamızdaki kardiyovasküler ve mikrodiyaliz deney sonuçlarını literatürdeki calışmalarda birlikte değerlendirecek olursak ASN'nin ES'si ile PH'da artan L-glutamik asit ve NO

miktarının kardiyovasküler depresör etkilerden sorumlu olabileceği söylenebilir. L-glutamik asit, NMDA reseptörlerinin doğal agonistidir. Bu reseptörleri uyarak iyon kanallarının açılmasına neden olur ve post sinaptik nöronlara Ca^{+2} girişine izin verir. Ca^{+2} , kalmoduline bağlanarak NOS'u aktive eder ve ortamda NO miktarı artar (76). Meeker ve ark'nın yaptığı bir çalışmada hipotalamusun tüm bölgelerinde mGluR NMDA ve non-NMDA reseptörleri bulunmuştur (95). Bu bilgileri göz önüne alırsak bizim deneyimizde NO ve L-glutamik asidin birlikte yükselmesi, L-glutamik aside bağlı NMDA reseptörlerinin uyarılması ve buna bağlı olarak NO üretiminin artması şeklinde yorumlanabilir. NO donörlerinin L-glutamik asit salınımı üzerine etkileri NO'nun dokudaki miktarına bağlıdır (127).

ES'yi takip eden ilk 10 ve 20 dakikalık zaman dilimlerinde L-glutamik asit ve L-sitrülin düzeylerinde bazal değerlere göre aynı oranda (% 60) artış göstermesi bu iki amino asidin PH'da birbirlerine bağımlı bir şekilde arttığı şeklinde yorumlanabilir. Loke ve ark tarafından ES sırasında oluşan hipotalamik vazodilatasyondan NO'nun sorumlu olabileceği belirtilmiştir (86). Uyanık sıçanlarda insidomin, Na^{+} -nitroprusid, hidrosilamin gibi NO donörlerinin ve gaz NO'nun L-glutamik asit salınımını artırırken, L-NAME gibi NOS inhibitörlerinin ve Na^{+} -nitroprusidinin L-glutamik asit miktarını azalttığı bildirilmiştir (144). Hipokampüsde Na^{+} -nitroprusidin, L-glutamik asit salınımını düşük konsantrasyonlarda azalttığı, yüksek konsantrasyonlarda artırdığı saptanmıştır. Medial ve dorsal striatumda NMDA reseptörlerinin uyarılmasıyla artan NO, aspartat ve L-glutamik asit salınımını azaltmıştır. Bu nedenle EAA salınımının modülasyonunun NO'nun endojen konsantrasyonuna bağlı olduğu bildirilmiştir (74).

İnhibitör amino asitlerin salınımı da NO tarafından düzenlenir. Gaz NO ve NO donörlerinin, striatumda, hipokampüsde, bazal ön beyinde, serebrokortikal nöronlarda GABA salınımını arttırdığı saptanmıştır. L-glutamik asidin olduğu gibi GABA'nında salınımı NO miktarına bağlı olarak bifazik olabilir. Hipokampüsde GABA salınımını L-NAME'in düşük konsantrasyonları artırırken Na -nitroprusidin düşük konsantrasyonları azaltmıştır (50). Tüm bu bilgiler göz önüne alınarak artmış NO düzeyinin eksitator ve inhibitör nöronların aktivitesini artırdığı, NO düzeyinin düştüğü durumlarda ise ters etkilerin ortaya çıktığı sonucuna varılabilir (127). Deneylerimizde ASN'nin uyarılması ile PH'da NO ile L-glutamik asit düzeyinde saptanan artma miktarına bağlı olarak bu bölgedeki GABA'erjik nöronlarda etkilenmiş olabilir. Ancak bu nöronların

deneylerimizde ES sırasında oluşan KB ve KH değerlerini ne yönde etkilediğini söylemek mümkün değildir.

NO'nun cGMP üzerinden L-glutamik asit salınımını uyarmasının bir sonucu da L-glutamik asit tarafından indüklenen asetilkolin salınımındaki artıştır (125, 126). NO donörlerinin bazal ön beyinde (125), nükleus akübensde (126) asetilkolin salınımını artırdığı saptanmıştır. NO tarafından asetilkolin salınımı komşu GABA'erjik nöronların da modülatör etkisi altındadır. Ayrıca histamin, noradrenalin serotonin salınımında NO tarafından düzenlenir. Beyinde NO'nun dopamin ve noradrenalin salınımını düzenlediği belirtilmiştir (127). NO donörlerinin hipokampüsde in vitro ve in vivo ortamda noradrenalin miktarını artırdığı saptanmıştır (87). NO'nun histamin salınımı üzerine çift yönlü bir etkisi vardır. NO tarafından salınan L-glutamik asidin, asetilkolin salınımını artırarak M₁ heteroreseptörlerinden histamin salınımının baskılanmasına neden olduğu, atropin ile bu reseptörlerin inhibe edilmesiyle histamin nöronlarındaki NMDA reseptörlerinin L-glutamik asit tarafından uyarılarak ortamda histamin miktarının arttığı saptanmıştır. Bu nedenle mikrodializ deneylerimizde ASN'nin ES'si sonrası PH'da nitreerjik ve glutaminerjik sistemlerin birlikte aktive olduğunun gösterilmesi ES sırasında oluşan kardiyovasküler etkilerden sadece bu iki sistemin sorumlu olduğu göstermez. Kolinerjik, serotonerjik, adrenerjik, histaminerjik sistemlerin de bu etkilerde rolü olabileceği göz önünde tutulmalıdır.

ASN'in karbakol ile uyarılması durma, titreme, araştırma, şahlanma, donup kalma gibi davranışsal değişikliklere (108), elektriksel olarak uyarılmasının korku durumunda ortaya çıkan yüz mimiklerini kontrol eden fasyal motor nöronların aktivasyonuna neden olduğu saptanmıştır (4). Bu motor etkiler ASN'de nörotransmitter salınımının değişmesinin (çoğunlukla artmasının) bir sonucudur. Asetilkolin, serotonin, noradrenalin, ve dopamin bu tip yanıtlara neden olan nörotransmitterlerdir (166). Bizim çalışmamızda ASN'in ES'si sırasında hayvanlarda hareketsizlik, donma, çiğneme ve baş sallama gibi davranışsal değişiklikler oluşmuştur. Bu motor etkiler amigdalanın uyarılmasının beyin sapındaki modülatör etkilerini ve ASN'nin ES'si ile nitreerjik nöronlar dışında kolinerjik, serotonerjik gibi diğer nöronların aktive olduğu görüşünü destekler niteliktedir.

Çalışmamızı kullandığımız yöntemler açısından değerlendirecek olursak, öncelikle deneylerin neden uyanık hayvanlarda yapılması şu şekilde açıklanabilir;

Mogenson ve Calerasu tarafından yapılan bir çalışmada uretan anestezisi altındaki sıçanlarda ASN'nin medial nükleusunun ES ile uyarılması sonucunda presör, alfa-kloraloz anestezisi altındaki sıçanlarda depresör yanıtların ortaya çıktığı gösterilmiştir (101). Galeno ve Brody tarafından yapılan bir başka çalışmada uyanık hayvanlarda ASN'nin ES sırasında renal ve mezenterik vazokonstriksiyonla birlikte presör yanıtlar, taşikardi; uratan anestezisi altındaki sıçanlarda ise depresör yanıtlar oluşmuştur. ASN'in ES ile uyarılması sonucu kardiyovasküler parametrelerde saptanan bu farklılıklar anesteziğin santral sinir sistemindeki depresan etkilerine, kullanılan anesteziğin ve uyarılan bölgelerle uyarı parametrelerinin farklı olmasına bağlanmıştır (44). Anestezik maddelerin ES üzerine olan bu etkileri ortadan kaldırmak için deneylerimiz uyanık hayvanlarda yapılmıştır.

Ayrıca mikrodiyaliz deneyleri de uyanık hayvan deney modelleri için uygun bir yöntemdir. Bu yöntemle toplanan sıvı enzimatik degradasyon gibi işlemlere gerek kalmadan incelenebilir. Mikrodiyaliz işlemi için yapılan stereotaksik cerrahi işleminden 24 saat sonra doku hasarının tamamen yakınının onarıldığı, kan beyin bariyerinin, bölgesel kan akımının, glukoz metabolizmasının 24 saat içinde düzeldiği belirtilmiştir (119). Bu nedenle bizim çalışmamızda cerrahi işlemden 24 saat sonra deney hayvanlarında tam iyileşme sağlandığı kabul edilerek mikrodiyaliz deneylerine başlanmıştır.

Mikrodiyaliz yöntemi en çok beyin aminoasitleri araştırmak için kullanılmıştır. Ancak bu tekniğinin dezavantajları vardır. Bu yöntemle sadece ekstraselüler ortamda bulunan moleküller toplanır. Ekstraselüler kompartımda olan ancak sinaptik seviyeye ulaşmayan değişiklikler belirlenemez (119). Ayrıca mikrodiyaliz yöntemiyle L-glutamik asit ölçümü tartışmalı bir konudur. Buradaki en önemli problem ölçülen L-glutamik asitin ne kadarının nörotransmitter-sinaptik L-glutamik asit gösterdiğidir. L-glutamik asit nörotransmitter olması yanında beyinde nitrojen ve enerji metabolizmasının ara ürünüdür. L-glutamik asit membran hasarı sonucu hücre dışına çıkması ve kan-beyin bariyerinin bozulmasına bağlı olarak beyine geçişinin artması intertisyel ortamdaki düzeyini artırır. Stimülasyon deneylerini takiben L-glutamik asit düzeyinde saptanan artışın nörotransmitter havuzdan kaynaklandığı kabul edilir. Belli nöronal yolların elektriksel ve kimyasal olarak uyarılması sonrası terminal bölgedeki L-glutamik asit ve GABA düzeylerinin bazale göre değişiminin

belirlenmesi nöronal salınımı araştırmak için doğru bir yöntemdir. Ancak tekrar belirtmek gerekir ki bu deneylerde salınan GABA ve L-glutamik asitin glia yerine nöronlardan kaynaklandığını kanıtlayacak kesin bilgiler yoktur. Tüm dezavantajlarına rağmen bu yaklaşım aktive edilmiş nörotransmisyona bağlı artmış ekstraselüler amino asit düzeyini araştırmak için kullanılabilir en uygun yaklaşım gibi görölmektedir (166).

Bizim çalışmamızda mikrodializ deneylerinde NO miktarındaki değişim ortamdaki L-sitrülin miktarını ölçerek saptandı. Beyinde L-sitrülinin tamamen NOS tarafından sentezlendiği kabul edilir ve L-sitrülin düzeyi ölçümlerinin NOS aktivitesinin değerlendirilmesi için uygun bir yöntem olduğu bildirilmiştir (73). NOS, L-arjininin guanidino grubunu oksitleyerek NO oluşmasını sağlar ve bu olay sırasında NO'ya eşit miktarda L-sitrülin oluşur (19). Literatürdeki çalışmaların çoğunda intertisyel arjinin ve sitrülin düzeyleri birlikte ölçülmüş ve NO üretimindeki artış, arjinin/sitrülin oranındaki düşme ile gösterilmiştir (134). Bizim PH'dan topladığımız diyalizatlardan sadece L-sitrülin düzeyinin ölçülmesinin nedeni yukarıda bahsedildiği gibi L-sitrülinin beyinde tamamen NO sentez ürünü olmasındadır. Bu nedenle L-sitrülinin beyin dışında sadece NO senteziyle değil diğer kaynaklardan da sağlandığı ortamlarda arjinin/sitrülin oranlarındaki değişimine göre NO değişiminin belirlenmesi daha uygun olabilir.

Petrov ve ark tarafından yapılan bir çalışmada ASN'nin ASN'nin ES'si ile uyarı yapılan elektrodun çevresindeki nöronların nükleuslarında ve medial amigdaloit nükleuste c-fos ekspresyonunda artma olduğu gösterilmiştir (121). Bu nedenle bizim deneylerimizde ASN'ye yaptığımız ES ile çevredeki nöronları da uyarılmış olma ihtimalimiz yüksektir. Ayrıca ES ile ASN'de NO artışına neden olduğumuzu ve NO'nun beyinde uzun mesafeler (>500 µm) kat edebileceği bilgisini de (179) göz önüne alırsak bu ihtimal daha da artar. Böyle bir durumda ASN'nin ES'sinin neden olduğu kardiyovasküler parametrelerin bu bölgeye yapılan L-NAME enjeksiyonları ile tamamen inhibe edememiş olmamıza L-NAME'nin 100 nl'lik hacimlerinin ES ve NO'nun etkilediği tüm çevre beyin nükleuslarına ulaşamadığı şeklinde de bir açıklama getirilebilir.

ASN'ye ve PH'ya uyguladığımız 400 nmol'lük L-NAME konsantrasyonlarının yüksek olmasına eleştiri yapılabilir. Ancak çalışmamızdaki L-NAME'nin yüksek konsantrasyonları literatürde uygulanan parankimal L-NAME enjeksiyon dozları

araştırılarak yapılmıştır. Saad ve ark'nın yaptığı bir çalışmada 40 µmg L-NAME median preoptik nükleusa µl'lik hacimlerle verilmiştir (137). Chen ve ark'nın yaptığı bir başka çalışmada L-NAME'nin 500 nmol/500 nl konsantrasyonları hipotalamusun paraventriküler nükleusuna uygulanmıştır (27).

Çalışmamızda deneyler için cerrahi işlem yapılan hayvanların ancak % 33'nün verileri kullanılabilmiştir. Bunun nedeni çalışmamızdaki teknik zorluklardır. Bunlar şu şekilde sıralanabilir:

- 1- İpsilateral yerleştirilen ASN elektrodu ile PH mikrodiyaliz probunun veya parankimal kanülün kafatası dışında birbirlerine yakın olmaları stereotaksik cerrahiye, ES uygulamalarını, parankimal enjeksiyonları ve mikrodiyaliz işlemlerini güçleştirmiştir.
- 2- PH orta hatta çok yakın olduğu için stereotaksi uygulanırken çoğu hayvanda sağıtal sinüsün kanaması mikrodiyaliz probunun ve parankimal kanüllerin tıkanma ve hayvanların cerrahi sonrası dönemlerde ölüm riskini artırmıştır.
- 3- Mikrodiyaliz problemleri bizim tarafımızdan elle hazırlandığı için doğru olarak yapılabilmeleri belli bir deneyimin kazanılmasını gerektirmiştir.
- 4- Mikrodiyaliz membranı oldukça ince ve yumuşak olduğu için beyin dokuları içinden geçerken kıvrılma bu nedenle istenmeyen bir bölgeden mikrodiyaliz yapma ve tıkanma olasılığı artmıştır. Ayrıca problemlerin bir kısmı cerrahi işlemden sonra dinlenme periyodu sırasında hayvanlar tarafından hasarlandığı için kullanılamamıştır.
- 5- Uyanık hayvanlarda kardiyovasküler kayıtlar alınırken KH ve KB değerleri çevreden gelen uyaranlardan etkilenmiş normal değerlere ulaşmak beklendiği için kayıt süreleri uzamıştır buda deney standartları dışına çıkmamıza neden olmuştur.
- 6- Damar kanülünün yerleştirilmesi sırasında daha önce anestezi uygulanmış hayvanlara eter gibi uygulanması zor ve riskli olan bir anestezi maddeyle 2. kez anestezi yapılması anesteziye bağlı ölüm oranını artırmıştır.

Çalışmamızdan ASN ve PH gibi santral kardiyovasküler düzenlemede rolü olan, aralarında karşılıklı nöronal bağlantıların bulunduğu gösterilmiş bu iki beyin bölgesi arasında nitrejik bir yolak olduğu, bu yolağın ES ile deneysel olarak yaratılan korku ve stres durumlarında ortaya çıkan kardiyovasküler değişikliklerden sorumlu olduğu sonuçları çıkarılabilir.

8. SONUÇLAR

1-ASN'nin elektriksel olarak uyarılması ile kardiyovasküler etkiler ortaya çıkmaktadır.

2-ASN'nin ES'si KB'yı artırmaktadır.

3-ASN'nin ES'sinin KH üzerine olan etkisi değişkendir. ES sırasında KH'de artma veya düşme olmaktadır.

4-yBOS'un ASN'ye parankimal olarak 100 nl'lik hacimde uygulanması bazal KH ve KB değerlerinde bir değişiklik yapmamaktadır.

5-Ayrıca bu hacimlerde uygulanan yBOS, ASN'nin ES sırasında ortaya çıkan KH ve OKB değerlerini değiştirmemektedir.

6-ASN'ye 40 nmol/100 nl konsantrasyonunda parankimal olarak uygulanan L-NAME bazal KB ve KH'yı etkilememektedir.

7-ASN'ye 40 nmol/100 nl miktarında parankimal olarak uygulanan L-NAME ASN'nin ES'si sırasında ortaya çıkan KH ve KB değerlerini değiştirmemektedir.

8-ASN'ye 400 nmol/100 nl konsantrasyonunda parankimal yoldan uygulanan L-NAME bazal KB ve KH değerlerini etkilememektedir.

9-ASN'ye 400 nmol/100 nl miktarında parankimal olarak uygulanan L-NAME ASN'nin ES'si sırasında ortaya çıkan KH ve KB değerlerini değiştirmektedir. KB'deki artışı istatistiksel olarak anlamlı bir biçimde baskılamaktadır. KH üzerine olan etkiler ise ES sırasında saptanan düşüşün yükselmesi yönündedir.

10-yBOS'un PH'ya parankimal olarak 100 nl'lik hacimde uygulanması bazal KH ve KB değerlerinde ve ASN'nin ES'si sırasında saptanan KH ve OKB değerlerini değiştirmemektedir.

11-PH'ya 40 nmol/100 nl konsantrasyonunda parankimal olarak uygulanan L-NAME bazal KB ve KH'yı etkilememektedir.

12-PH'ya 40 nmol/100 nl miktarında parankimal olarak uygulanan L-NAME ASN'nin ES'si sırasında artan KH değerini daha da yükseltmektedir. KB'de ES sırasında saptanan yükselme L-NAME enjeksiyonu sonrası azalmaktadır. L-NAME'in KH ve KB üzerine olan bu etkileri istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde değildir.

13-PH'ya 400 nmol/100 nl konsantrasyonunda parankimal yoldan enjekte edilen L-NAME bazal KB ve KH değerlerini etkilememektedir.

14-PH'ya 400 nmol/100 nl miktarında parankimal olarak uygulanan L-NAME ASN'nin ES'si sırasında ortaya çıkan KH ve KB değerlerini değiştirmektedir. Bu değişiklik KB ve KH'deki artışın baskılaması şeklinde olmaktadır.

15-ASN'nin ES'si PH'daki L-glutamik asit düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı artış yapmaktadır.

16-ASN'nin ES'si PH'daki L- sitrölin düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı artış yapmaktadır.

.

9. KAYNAKLAR

1. Abrahamson E.E., Moore R.Y.: The posterior hypothalamic area: chemoarchitecture and afferent connections. *Brain Res.*, 889(1-2): 1-22, 2001.
2. Allen G.V., Cechetto D.F.: Functional and anatomical organization of cardiovascular pressor and depressor sites in the lateral hypothalamic area. II Ascending projections. *J. Comp. Neurol.*, 330: 421-38, 1993.
3. Ally A., Hara Y. & Murayama S.: Cardiovascular effects of central administration of the cholinomimetics in the anesthetized cats. *Neuropharmacology*, 32(2): 185-93, 1993.
4. Applegate C.D., Kapp B.S., Underwood M.D., McNall C.L.: Autonomic and somatomotor effects of amygdala central nucleus stimulation in awake rabbits. *Physiol. Behav.*, 31(3): 353-60, 1983.
5. Armstrong W.E., Warach S., Hatton G.I., McNeill H.: Subnuclei in the rat hypothalamic paraventricular nucleus: a cytoarchitectural, horseradish peroxidase and immunocytochemical analysis. *Neuroscience*, 5(11): 1931-58, 1980.
6. Aslan N., Gören Z., Onat F., Oktay Ş.: Carbachol-induced pressor responses and muscarinic M₁ receptors in the central nucleus of amygdala in conscious rats. *Eur. J. Pharmacol.*, 333: 63-7, 1997.
7. Aslan N., Gören Z., Özkutlu U., Onat F., Oktay Ş.: Modulation of the pressor response elicited by carbachol and electrical stimulation of the amygdala by muscarinic antagonists in conscious rats. *Br. J. Pharmacol.*, 121: 35-40, 1997.
8. Bagetta G., Corasaniti M.T., Melino G., Paoletti A.M., Finazzi-Agro A., Nistico G.: Lithium and tacrine increase the expression of nitric oxide synthase mRNA in the hippocampus of rat. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 197(3): 1132-9, 1993.
9. Bagetta G., Massoud R., Rodino P., Federici G., Nistico G.: Systemic Administration of lithium chloride and tacrine increases nitric oxide synthase activity in the hippocampus of rats. *Eur. J. Pharmacol.*, 237(1): 61-4, 1993.

10. Baklavadzhyan O.G., Pogosyan N.L., Arshakyan A.V., Darbinyan A.G., Khachatryan A.V., Nikogosyan T.G.: Studies of the role of the central nucleus of the amygdala in controlling cardiovascular functions. *Neurosci. Behav. Physiol.*, 30(2): 231-6, 2000.
11. Baylis C., Mitruka B., Deng A.: Chronic blockade of nitric oxide synthesis in the rat produces systemic hypertension and glomerular damage. *J. Clin. Invest.*, 90: 278-81, 1992.
12. Bazzani C., Bertolini A., Guarini S.: Inhibition of nitric oxide synthases enhances the effect of ACTH in hemorrhagic shock. *Life Sci.*, 61(19): 1889- 97, 1997.
13. Bazzani C., Guarini S., Bini A., Ricigliano G.M., Cainazzo M.M., Tomasi A., Bertolini A.: Adrenocorticopin normalizes the blood levels of nitric oxide in hemorrhagic shocked-rats. *Eur. J. Pharmacol.*, 336(1): 15-21, 1997.
14. Ben Ari Y., Kanazawa I., and Zigmond R.E.: Regional distribution of glutamate decarboxylase and gaba within the amygdaloid complex and stria terminalis system of the rat. *J. Neurochem.*, 26(6): 1279-83, 1976.
15. Bernard J.F., Huang G.F., Besson J.M.: Nucleus centralis of the amygdala and the globus pallidus ventralis: electrophysiological evidence for an involvement in pain processes. *J. Neurophysiol.*, 68(2): 551-69, 1992.
16. Bland B.H., Konopacki J., Kirk I.J., Oddie S.D., Dickson C.T.: Discharge patterns of hippocampal theta-related cells in the caudal diencephalon of the urethan-anesthetized rat. *J. Neurophysiol.*, 74(1): 322-33, 1995.
17. Bredt D.S. and Synder S.H.: Isolation of nitric oxide synthase, a calmodulin-requiring enzyme. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 87: 682-5, 1990.
18. Bredt D.S., Hwang P.M., Glatt C.E., Lowenstein C., Reed R.R. and Synder S.H.: Cloned and expressed nitric oxide synthase structurally resembles cytochrome P-450 reductase. *Nature*, 351: 714-8, 1991.
19. Bredt D.S., Synder S.H.: Nitric oxide in the nervous system. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 63:175-195, 1994.

20. Brezenoff H.E., Xiao Y.F.: Acetylcholine in the posterior hypothalamic nucleus is involved in the elevated blood pressure in the spontaneously hypertensive rat. *Life Sci.*, 45(13): 1163-70, 1989.
21. Brown M.R., Gray T.S.: Peptide injections into the amygdala of conscious rats: effects on blood pressure, heart rate and plasma catecholamines. *Regul. Pept.*, 21(1-2): 95-106, 1988.
22. Buccafusco J.J., Brenezoff H.E.: Pharmacological study of a cholinergic mechanism within the rat posterior hypothalamic nucleus which mediates a hypertensive response. *Brain Res.*, 165: 295-310, 1979.
23. Buccafusco J.J.: The role of central cholinergic neurons in the regulation of blood pressure and in experimental hypertension. *Pharmacol. Rev.*, 48(2):179-211, 1996.
24. Cassell M.D., Gray T.S., Kiss J.Z.: Neuronal architecture in the rat central nucleus of the amygdala: a cytological, hodological, and immunocytochemical study. *J. Comp. Neurol.*, 246(4): 478-99, 1986.
25. Cassell M.D., Gray T.S.: The amygdala directly innervates adrenergic (C1) neurons in the ventrolateral medulla in the rat. *Neurosci. Lett.*, 97: 163-8, 1989.
26. Castoldi A.F., Manzo L., Costa L.G.: Cyclic GMP formation induced by muscarinic receptors is mediated by nitric oxide synthesis in rat cortical primary cultures. *Brain Res.*, 610: 57-61, 1993.
27. Chen K.K., Chang L.S.: Involvement of L-arginine/nitric oxide pathway at the paraventricular nucleus of hypothalamus in central neural regulation of penile erection in the rat. *Int. J. Impot. Res.*, 14(3): 139-45, 2002.
28. Dampney R.A., Coleman M.J., Fontes M.A., Hirooka Y., Horiuchi J., Li Y.W., Polson J.W., Potts P.D., Tagawa T.: Central mechanisms underlying short- and long-term regulation of the cardiovascular system. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 29(4): 261-8, 2002.
29. Dampney R.A.: Functional organization of central pathways regulating the cardiovascular system. *Physiol. Rev.*, 74: 323-64, 1994.

30. Danielsen E.H, Magnuson D.J., Gray T.S.: Central amygdaloid nucleus innervation of dorsal vagal complex in rat: a Phaseolus vulgaris leucoagglutinin lectin anterograde tracing study. *Brain Res. Bull.*, 22: 705-15, 1989.
31. Das S., Kumar K.N.: Nitric oxide: its identity and role in blood pressure control. *Life Sci.*, 57: 1547-56, 1995.
32. Davis M.: The role of the amygdala in emotional learning. *International Review of Neurobiology*, 36: 225-66, 1994.
33. Davis M.D., Rainnie D., Cassel M.: Neurotransmission in the rat amygdala related to fear and anxiety. *Trends Neurol. Sci.*, 17: 208-14, 1994.
34. Dawson V.L., Dawson T.M., London E.D., Brecht D.S., and Snyder S.H.: Nitric oxide mediates glutamate neurotoxicity in primary cortical cultures. *Proc. Natn. Acad. Sci.*, 88: 6368-71, 1991.
35. De Luca L.A., Franci C.R., Saad W.A., Camargo L.A.A. & Antunes-Rodrigues J.: Natriuresis induced by cholinergic stimulation of locus cereleus in the rat. *Physiol. Beh.*, 47: 605-10, 1990.
36. de Wildt D.J., Porsius A.J.:The influence of physostigmine on sympathetic outflow and haemodynamics by an action upon the pontomedullary region of the cat. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.*, 253(1): 40-51, 1981.
37. Fasier A.A., Calaresu F.R., Mogenson G.J.: Pathway mediating hypotension elicited by stimulation of the amygdala in the rat. *Am. J. Physiol.*, 228: 1358-66, 1975.
38. Folkow B., Hallback-Nordlander M., Martnev J., Nordborg C.: Influence of amygdala lesions on cardiovascular responses to altering stimuli on behaviour and on blood pressure development in spontaneously hypertensive rats. *Acta Physiol. Scand.*, 116: 133-40, 1982.
39. Fontes M.A., Tagawa T., Polson J.W., Cavanagh S.J., Dampney R.A.: Descending pathways mediating cardiovascular response from dorsomedial hypothalamic nucleus. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 280(6): 2891-901, 2001.

40. Forstermann U., Mulsh A., Bohme E., and Busse R.: Stimulation of soluble guanylate cyclase by an acetylcholine-induced endothelium-derived factor from rabbit and canine arteries. *Circ. Res.*, 58: 531- 8, 1986.
41. Foster A.C., Fagg G.E.: Neurobiology. Taking apart NMDA receptors. *Nature*, 1-7;329(6138): 395-6, 1987.
42. Galeno T.M., Van Hoesen G.W., Brody M.J.: Central amygdaloid nucleus lesion attenuates exaggerated hemodynamic responses to noise stress in spontaneously hypertensive rat. *Brain Res.*, 291: 249-59, 1984.
43. Galeno T.M., Van Hoesen G.W., Maixner W., Johnson A.K., Brody M.J.: Contribution of the amygdala to the development of spontaneous hypertension. *Brain Res.*, 246(1): 1-6, 1982.
44. Galeno T.M., Brody M.J.: Hemodynamic responses to amygdaloid stimulation in spontaneously hypertensive rats. *Am. J. Physiol.*, 245: R281-6, 1984.
45. Gallagher M., Kapp B.S., Frysinger R.C., Rapp P.R.: Beta-Adrenergic manipulation in amygdala central nucleus alters rabbit heart rate conditioning. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 12(3): 419-26, 1980.
46. Gelsema A.J., Agarwal S.K., Calaresu F.R.: Cardiovascular responses and changes in neural activity in the rostral ventromedullary medulla elicited by electrical stimulation of the amygdala of the rat. *J. Auton. Nerv. Syst.*, 27: 91-100, 1989.
47. Gelsema A.J., Mc Kittrick D.J., Calaresu F.R.: Cardiovascular responses to chemical and electrical stimulation of amygdala in rats. *Am. J. Physiol.*, 253: R712- 8, 1987.
48. Gelsema AJ, Roe MJ, Calaresu FR. Neurally mediated cardiovascular responses to stimulation of cell bodies in the hypothalamus of the rat. *Brain Res.*, 482(1): 67-77, 1989.
49. Gerova M, Masanova C, Pavlasek J.: Inhibition of NO synthase in the posterior hypothalamus increases blood pressure in the rat. *Physiol. Res.*, 44(2):131-134, 1995.
50. Getting S.J., Segieth J., Ahmad S., Biggs C.S., Whitton P.S.: Biphasic modulation of GABA release by nitric oxide in the hippocampus of freely moving rats in vivo. *Brain Res.*, 717(1-2): 196-9, 1996.

51. Gören M.Z., Akıcı A., Karaalp A., Aker R., Oktay Ş.: The role of nitric oxide in the reversal of hemorrhagic shock by oxotremorine. *Eur. J. Pharm.*, 428: 261- 7, 2001.
52. Gören M.Z., Aslan N., Berkman K., Şan T., Oktay Ş., Onat F.: Role of paraventricular and dorsomedial nuclei of the hypothalamus and central nucleus of the amygdala on mucimol-induced cardiovascular responses. *Fundam. Clin. Pharmacol.*, 11: 408-15, 1997.
53. Gören Z., Aslan N., Berkman K., Oktay Ş., Onat F.: Role of amygdala and hypothalamus on GABA antagonist bicuculine-induced cardiovascular responses in conscious rats. *Brain Res.*, 722:18-24, 1996.
54. Gray T.S., Magnuson D.J.: Neuropeptide neuronal efferents from the bed nucleus of the stria terminalis and central amygdaloid nucleus to the dorsal vagal complex in the rat. *J. Comp. Neurol.*, 262(3): 365-74, 1987.
55. Gray T.S., Magnuson D.J.: Peptide immunoreactive neurons in the amygdala and the bed nucleus of the stria terminalis project to the midbrain central gray in the rat. *Peptides*, 13(3): 451-60, 1992.
56. Guarini S., Bini A., Bazzani C., Ricigliano G.M., Cainazzo M.M., Tomasi A., Bertolini A.: Adrenocorticotropin normalizes the blood levels of nitric oxide in hemorrhage-shocked rats. *Eur. J. Pharmacol.*, 336(1): 15-21, 1997.
57. Guiliano R., Ruggiero D.A., Morrison S., Ernsberger P. & Reiss D.J.: Cholinergic regulation of arterial pressure by the C1 area of the rostral ventrolateral medulla. *J. Neurosci.*, 9: 923- 42, 1989.
58. Guyton A.C.: Behavioral Functions of the Brain: The Limbic System, Role of Hypothalamus, and Control of Vegetative Functions of the Body. *Textbook of Medical Physiology*. s.676-97. 7th edition Igaku- Shoin/Saunders International Edition West Washington Square Philadelphia PA 19105, 1986.
59. Hanley M.R., Iversen L.L.: Muscarinic cholinergic receptors in rat corpus striatum and regulation of guanosine cyclic 3',5' monophosphate. *Mol. Pharmacol.*, 14: 246-55, 1978.

60. Haruta K., Iguchi A., Matsubara T., Itoh K., Chen C.L., Yoshida S., Terada R., Kanashiro M., Suzuki O., Nishimura H. & Sakamoto N.: Stimulation of muscarinic cholinergic neurons in the hippocampus evokes a pressure response with bradycardia. *Life Sci.*, 5: 427-33, 1992.
61. Hashiguchi H., Ye S.H., Ross-Cisneros F., Alexander N.: Central nitric oxide donors attenuate cardiovascular and central norepinephrine responses to stress. *Am. J. Physiol.*, 272(5 Pt 2): R1447-53, 1997.
62. Hilton S.M.: Ways of viewing the central nervous control of the circulation-old and new. *Brain Res.*, 87(2-3): 213-9, 1975.
63. Hoover D.B., Muth E.A. & Jacobowitz D.M.: Mapping of the distribution of acetylcholine acetyltransferase and acetylcholinesterase in discrete areas of rat brain. *Brain Res.*, 153: 295-306, 1978.
64. Ignarro L.J., Buga G.M., Wood K.S., Byrns R.E., Chaudhuri G.: Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 84: 9265-9, 1987.
65. Iwata J., Chida K., Le Douarin J.E.: Cardiovascular responses elicited by stimulation of neurons in the central amygdaloid nucleus in awake but not anesthetized rats resemble conditioned emotional responses. *Brain Res.*, 418(1): 183-8, 1987.
66. Jansen S.P., Shimouchi A., Quertermous T., Bloch D.B. and Bloch K.D.: Cloning and expression of a DNA encoding human endothelium-derived relaxing factor/ nitric oxide synthase. *J. Biol. Chem.*, 267: 14519-22, 1992.
67. Joo K.M., Chung Y.H., Shin C.M., Lee Y.J., Cha C.I.: Region-specific alterations of neuronal nitric oxide synthase (nNOS) expression in the amygdala of the aged rats. *Brain Res.*, 999(2): 231-6, 2004.
68. Jover B., Henzi A., Ventre F., Dupont M., Mmran A.: Sodium and angiotensin in hypertension induced by long-term nitric oxide blockade. *Hypertension*, 21: 944-8, 1993.
69. Julou-Schaeffer C., Gray G.A., Fleming I., Schott C., Parratt JR., Stoclet J.C.: Loss of vascular responsiveness induced by endotoxin involves L-arginine pathway. *Am. J. Physiol.*, 259:1038-1043, 1990.

70. Juskevich J.C., Robinson D.S., Whitehorn D.: Effect of hypothalamic stimulation in spontaneously hypertensive and Wistar-Kyoto rats. *Eur. J. Pharmacol.*, 51(4): 429-39, 1978.
71. Kaehler S.T., Singewald N., Sinner C., Philippu A.: Nitric oxide modulates the release of serotonin in the rat hypothalamus. *Brain Res.*, 835(2): 346-9, 1999.
72. Kayaalp O.: Rasyonel tedavi yönünden Tıbbi Farmakoloji. 8. Basım, 1.Cilt, s:760-761, Hacettepe Taş, Ankara, 1998.
73. Keilhoff G., Reiser M., Stanarius A., Aoki E., Wolf G.: Citrulline immunohistochemistry for demonstration of NOS activity in vivo and in vitro. *Nitric Oxide*, 4(4): 343-53, 2000.
74. Kendrick K.M., Guevara-Guzman R., de la Riva C., Christensen J., Ostergaard K., Emson P.C.: NMDA and kainate-evoked release of nitric oxide and classical transmitters in the rat striatum: in vivo evidence that nitric oxide may play a neuroprotective role. *Eur. J. Neurosci.*, 8(12): 2619-34, 1996.
75. Klabunde R.E., Ritger R.C., Helgren M.C.: Cardiovascular actions of inhibitors of endothelium-derived relaxing factor (nitric oxide) formation/release in anesthetized dogs. *Eur. J. Pharmacol.*, 199(1): 51-9, 1991.
76. Kosenko E., Llansola M., Montoliu C., Monfort P., Rodrigo R., Hernandez-Viadel M., Erceg S, Sanchez-Perez A.M., Felipo V.: Glutamine synthetase activity and glutamine content in brain: modulation by NMDA receptors and nitric oxide. *Neurochem. Int.*, 43(4-5): 493-9, 2003.
77. Krettek J.E., Price J.L.: A description of the amygdaloid complex in the rat and cat with observations on intra-amygdaloid axonal connections. *J. Comp. Neurol.*, 178(2): 255-80, 1978.
78. Krettek J.E., Price J.L.: Amygdaloid projections to subcortical structures within the basal forebrain and brainstem in the rat and cat. *J. Comp. Neurol.*, 178(2): 225-54, 1978.
79. Kuo P.C. and Schroeder R.A.: The emerging multifaceted roles of nitric oxide. *Ann. Surg.*, 221: 220-35, 1995.

80. Lamas S., Marsden P.A., Li G.K., Tempst P. and Mitchel T.: Endothelial nitric oxide synthase:molecular cloning and characterization of a distinct constitutive enzyme isoform. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 89: 6348-52, 1992.
81. Ledo A., Frade J., Barbosa R.M., Laranjinha J.: Nitric oxide in brain: diffusion, targets and concentration dynamics in hippocampal subregions. *Mol. Aspects Med.*, 25(1-2): 75-89, 2004.
82. Lenox R.H., Kant G.J. and Meyerhoff J.L.: Regional sensitivity of cyclic AMP and cyclic GMP in rat brain to central cholinergic stimulation. *Life Sci.*, 26: 2201-9, 1980.
83. Lin J.S., Sakai K., Vanni-Mercier G., Jouvét M.: A critical role of the posterior hypothalamus in the mechanisms of wakefulness determined by microinjection of muscimol in freely moving cats. *Brain Res.*, 479(2): 225-40, 1989.
84. Lisa M., Filippelli A., Marmo E., Wible J.H. Jr, Di Micco J.A.: Microinjection of muscimol into posterior hypothalamus blocks cardiovascular response to experimental stress in rats. *Pharmacol. Res.* 21 Suppl 1:9-10, 1989.
85. Liu Y., Tsuchihashi T., Kagiya S., Matsumura K., Abe I., Fujishima M.: Central and peripheral mechanisms involved in hypertension induced by chronic inhibition of nitric oxide synthase in rats. *J. Hypertension*, 16: 1165-73, 1998.
86. Loke K.E., Sobey C.G., Dusting G.J., Woodman O.L.: Cholinergic neurogenic vasodilatation is mediated by nitric oxide in the dog hindlimb. *Cardiovasc. Res.*, 28(4): 542-7, 1994.
87. Lonart G., Wang J., Johnson K.M.. Nitric oxide induces neurotransmitter release from hippocampal slices. *Eur. J. Pharmacol.*, 220(2-3): 271-2, 1992.
88. Lowenstein C.J., Giatt C.S., Bredt D.S. and Synder S.H.: Cloned and expressed macrophage nitric oxide synthase contrast with the brain enzyme. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 89: 6711-5, 1992.
89. Ludbrook J.: Reflex control of blood pressure during exercise. *Annu. Rev. Physiol.*, 45: 155-68, 1983.
90. Lyons C.R., Orloff G.J. and Cunningham J.M.: Molecular cloning and functional expression of an inducible nitric oxide synthase from a murine macrophage cell line. *J. Biol. Chem.*, 267: 6370-4, 1992.

91. Martin J.R.: Pressor response to posterior hypothalamic administration of carbachol is mediated by muscarinic M3 receptor. *Eur. J. Pharmacol.*, 215: 83-91, 1992.
92. Mayer B.: Biochemistry and molecular pharmacology of nitric oxide synthases. Nitric oxide in the nervous system. s. 21-42, SR Vincent ed Academic Press, San Diego, 1995.
93. McDonalds A.J., Payne D.R., Mascagni F.: Identification of putative nitric oxide producing neurons in rat amygdala using NADPH-diaphorase histochemistry. *Neuroscience*, 15(1)1: 97-106, 1993.
94. McDonalds A.J.: Cortical pathways to mammalian amygdala. *Progress in Neurobiology*, 55(3): 257-332, 1998.
95. Meeker R.B., Greenwood R.S., Hayward J.N.: Glutamate receptors in the rat hypothalamus and pituitary. *Endocrinology*, 134(2): 621-9, 1994.
96. Melaragno M.G., Fink G.D.: Role of ANG II in hypertension produced by chronic inhibition of nitric oxide synthase in conscious rats. *Am. J. Physiol.*, 271: 806-11, 1996.
97. Menani J.V., Saad W.A., Camargo L.A., Renzi A., De Luca Junior L.A., Colombari E.: The anteroventral third ventricle (AV3V) region is essential for pressor, dipsogenic and natriuretic responses to central carbachol. *Neurosci. Lett.* 113(3): 339-44, 1990.
98. Mithcell H.H., Shonle H.A. and Grindley H.S.: The origin of nitrates in urine. *J. Biol. Chem.*, 24: 461-90, 1916.
99. Miura M., Takayama K., Okada J.: Difference in sensitivity of cardiovascular and respiratory control neurons in the subretrofacial nucleus to glutamate receptor subtype agonist in SHR, WKY and cats. *J. Auton. Nerv. Syst.*, 36: 1-12, 1991.
100. Moga M.M., Weis R.P., Moore R.Y.: Efferent projections of the paraventricular thalamic nucleus in the rat. *J. Comp. Neurol.*, 359(2): 221-38, 1995.
101. Mogenson G.J., Calaresu F.R.: Cardiovascular responses to electrical stimulation of the amygdala in the rat. *Exp. Neurol.* 39(1): 166-80, 1973.

102. Mollace V., De Francesco E.A., Nistico G.: Evidence that pharmacological manipulations of central L-arginine-NO pathway influence blood pressure and heart rate in rats. *Neurosci. Lett.*, 137(1): 87-90, 1992.
103. Moncada S., Palmer R.M., Higgs E.A.: Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol. Rev.*, 43: 109-42, 1991.
104. Murugaian J., Sundaram K., Sapru H.: Cholinergic mechanism in the ventrolateral medullary area. *Brain Res.*, 501(2): 335-63, 1989.
105. Nathan C. and Xie Q.W. Regulation of biosynthesis of nitric oxide. *J. Biol. Chem.*, 269(19): 13725-8, 1994b.
106. Nathan C. and Xie Q.W.: Nitric oxide synthases: roles, tolls and controls. *Cell*, 23;78(6): 915-8, 1994a.
107. Nattie E.E. & Li A.H.: Ventral medulla sites of muscarinic receptor subtypes involved in cardiorespiratory control. *J Appl Physiol*, 69: 33-41, 1990. *Nitric Oxide*, 4(4):343-53, 2000.
108. Ohta H., Watanabe S., Ueki S.: Cardiovascular changes induced by chemical stimulation of the amygdala in rats. *Brain Res. Bull.*, 26(4): 575-81, 1991.
109. Olmos Jose De, Beltramino A.C., Alheid G.: Amigdala and extended amygdala of rat: A cytoarchitectonical, fibroarchitectonical, and chemoarchitectonical survey. *The rat nervous system*. s. 509-603. Elsevier, USA, 2004.
110. Onat F: Santral Sinir Sistemine Giriş. Ed: Bökesoy T.A., Çakıcı İ., Melli M.: *Türk Farmakoloji Derneği, Farmakoloji Ders Kitabı*. s: 232-3, Gazi Kitabevi, Ankara, 2000.
111. Ottersen O.P., Ben-Ari Y.: Afferent connections to the amygdaloid complex of the rat and cat. I. Projections from the thalamus. *J. Comp. Neurol.*, Sep15;187(2): 401-24,1979.
112. Ozawa H. & Uematsu T.: Centrally mediated cardiovascular effects of intracisternal application of carbachol in anesthetized rats.. *Jpn. J. Pharmacol.*, 26: 339-46, 1976.

113. Özkutlu U., Çoşkun T., Onat F., Yeğen B.Ç., Oktay Ş.: Cardiovascular effects of the centrally active cholinomimetics in conscious and anesthetized rats: The role of the amygdala. *Brain Res.*, 37: 569-73, 1995.
114. Özkutlu U., Onat F., Aslan N.A. & Oktay Ş.: Central muscarinic M₂ cholinceptors involved in cholinergic hypertention. *Eur. J. Pharmacol.*, 250: 349-54, 1993.
115. Paakkari I. and Lindsberg P.: Nitric oxide in the central nervous system. *Ann. Med.*, 27: 369-77, 1995.
116. Palma E., Muscoli C., Mancuso E., Sculco F., Sacco I., Alecce W., Costa N., Colica C., Cristiano D., Rotiroti D., Mollace V.: The role of nitrinergic connections in central cardiovascular responses mediated by physostigmine infused into posterior hypothalamus. *Neurosci. Lett.*, 368(1): 112-5, 2004.
117. Paredes J., Winters R.W., Schneiderman N., McCabe P.M.: Afferents to the central nucleus of the amygdala and functional subdivisions of the periaqueductal gray: neuroanatomical substrates for affective behavior. *Brain Res.*, 887(1): 157-73, 2000.
118. Paxinos & Watson: *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. 4 th Edition, Academic Press, USA, 1998.
119. Pepicelli O., Raiteri M., Fedele E.: The NOS/sGC pathway in the rat central nervous system: a microdialysis overview. *Neurochem. Int.*, 45(6): 787-9, 2004.
120. Petrov T., Jhamandas J.H., Krukoff T.L.: Connectivity between brainstem autonomic structures and expression of c-fos following electrical stimulation of the central nucleus of the amygdala in rat. *Cell Tissue Res.*, 283(3): 367-74, 1996.
121. Petrov T., Jhamandas J.H., Krukoff T.L.: Electrical stimulation of the central nucleus of the amygdala induces fos-like immunoreactivity in the hypothalamus of the rat: a quantitative study. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 22(1-4): 333-40, 1994.
122. Petrov T., Krukoff T.L., Jhamandas J.H.: Branching projections of catecholaminergic brainstem neurons to the paraventricular hypothalamic

- nucleus and the central nucleus of the amygdala in the rat. *Brain Res.*, 609(1-2): 81-92, 1993.
123. Pollock D.M., Polakowski J.S., Divish B.J., Opgenorth T.J.: Angiotensin blockade reverses hypertension during long-term nitric oxide synthase inhibition. *Hypertension*, 21: 660-6, 1993.
124. Porter J.P., Brody M.J.: Spinal vasopressin mechanisms of cardiovascular regulation. *Am. J. Physiol.*, 251: 510-27, 1986.
125. Prast H, Philippu A.: Release of endogenous acetylcholine in the hypothalamus of conscious rats. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.*, 346(1): 1-3, 1992.
126. Prast H., Fischer H., Werner E., Werner-Felmayer G., Philippu A.: Nitric oxide modulates the release of acetylcholine in the ventral striatum of the freely moving rat. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.*, 352(1): 67-73, 1995.
127. Prast H., Philippu A.: Nitric oxide as modulator of neuronal function. *Prog Neurobiol.*, 64(1): 51-68, 2001.
128. Prast H., Tran M.H., Fischer H., Philippu A.: Nitric oxide-induced release of acetylcholine in the nucleus accumbens: role of cyclic GMP, glutamate, and GABA. *J. Neurochem.*, 71(1): 266-73, 1998.
129. Prewitt C.M., Herman J.P.: Hypothalamo-pituitary-adrenocortical regulation following lesions of central nucleus of amygdala. *Stres*, 1(4): 263-80, 1997.
130. Price J.L., Amaral D.G.: An autoradiographic study of the projections of the central nucleus of the monkey amygdala. *J. Neurosci.*, 1(11): 1242-59, 1981.
131. Rees D.D., Palmer R.M., Moncada S.: Role of endothelium-derived nitric oxide in the regulation of blood pressure. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 86(9): 3375-8, 1989.
132. Ribeiro M.O., Antunes E., de Nucci G., Lovisolo S.M., Zatz R.: Chronic inhibition of nitric oxide synthesis. A new model of arterial hypertension. *Hypertension*, 20(3): 298-303, 1992.

133. Rogers R.C., Fryman D.L.: Direct connections between the central nucleus of the amygdala and the nucleus of the solitary tract: an electrophysiological study in the rat. *J. Auton. Nerv. Syst.*, 22(1): 83-7, 1988.
134. Rooyackers O.: Microdialysis to investigate tissue amino acid kinetics. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*, 8(1): 77-82, 2005.
135. Ross C.A., Ruggiero D.A., Park D.H., Joh T.H., Sved A.F., Fernandez-Pardal J., Saavedra J.M., Reis D.J.: Tonic vasomotor control by the rostral ventromedial medulla: Effect of electrical or chemical stimulation of the area containing C1 adrenaline neurons on arterial pressure, heart rate, and plasma catecholamines and vasopressin. *J. Neurosci.*, 4(2): 474-94, 1984.
136. Rotter A., Birdsall N.J., Burgen A.S., Field P.M., Hulme E.C. and Raisman G.: Muscarinic receptors in the central nervous system of the rat. I. Technique for autoradiographic localization of the binding of [3H] propylbenzilylcholine mustard and its distribution in the forebrain. *Brain Res.*, 180(2): 141-65, 1979.
137. Saad W.A., Guarda I.F., Camargo L.A., Santos T.A., Guarda R.S., Saad W.A., Simoes S., Rodrigues J.A.: Role of nitric oxide of the median preoptic nucleus (MnPO) in the alterations of salivary flow, arterial pressure and heart rate induced by injection of pilocarpine into the MnPO and intraperitoneally. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 36(7): 897-905, 2003.
138. Saha S., Batten T.F.C., Henderson Z.A.: Gabaergic projection from the central nucleus of the amygdala to the nucleus of the solitary tract: A combined anterograde tracing and electron microscopic immunohistochemical study. *Neuroscience*, 99: 613-26, 2000.
139. Saha S., Drinkhill M.J., Moore J.P., Batten T.F.C.: Central nucleus of amygdala projections to rostral ventrolateral medulla neurones activated by decreased blood pressure. *Eur. J. Neurosci.* 21(7): 1921-30, 2005.
140. Saha S.: Role of the central nucleus of the amygdala in the control of blood pressure: Descending pathways to medullary cardiovascular nuclei. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology.*: 32: 450-6, 2005.
141. Saper C.B., Loewy A.D., Swanson L.W., Cowan W.M.: Direct hypothalamo-autonomic connections. *Brain Res.*, 26;117(2): 305-12, 1976.

142. Sawchenko P.E., Swanson L.W.: Immunohistochemical identification of neurons in the paraventricular nucleus of the hypothalamus that project to the medulla or to the spinal cord in the rat. *J Comp Neurol.*, 205(3): 260-72, 1982.
143. Schwartz P., Diem R., Dun N.J., Förstermann U.: Endogenous and exogenous nitric oxide inhibits norepinephrine release from rat heart sympathetic nerves. *Circ. Res.*, 77: 841-8, 1995.
144. Segieth J., Getting S.J., Biggs C.S., Whitton P.S.: Nitric oxide regulates excitatory amino acid release in a biphasic manner in freely moving rats. *Neurosci. Lett.*, 200(2): 101-4, 1995.
145. Sessa W.C., Harrison J.K., Barber C.M., Zeng D., Durieux M.E., D'angelo D.D., Lynch K. and Peach M.J.: Molecular cloning and expression of a cDNA encoding endothelial cell nitric oxide synthase. *J Biol Chem*, 267: 15274-6, 1992.
146. Sharma N.B., Gelselma A.J.M.: Central nucleus of the amygdala and the development of hypertension in spontaneously hypertensive rat. *Am. J. Physiol.*, 268: R1117-7, 1995.
147. Shekhar A., DiMicco J.A.: Defense reaction elicited by injection of GABA antagonists and synthesis inhibitors into the posterior hypothalamus in rats. *Neuropharmacology*, 26(5): 407-17, 1987.
148. Shiosaka S., Tohyama M., Takagi H., Takahashi Y., Saitoh Y., Sakumoto T., Nakagawa H., Shimizu N.: Ascending and descending components of the medial forebrain bundle in the rat as demonstrated by the horseradish peroxidase-blue reaction. I. Forebrain and upper brain stem. *Exp. Brain Res.*, 39(4): 377-88, 1980.
149. Singewald N., Guo L., Philippu A.: Release of endogenous GABA in the posterior hypothalamus of the conscious rat; effects of drugs and experimentally induced blood pressure changes. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.*, 347(4): 402-6, 1993.
150. Snyder S.H.: Nitric oxide: First in a new class of neurotransmitters. *Science* 257: 494-6, 1992.
151. Song M.S., Shin K.A., Kang J.S., Lee C.H., Shin I.C., Lee S.J., Koh H.C.: The involvement of nitric oxide on the adenosine A(2) receptor-induced

- cardiovascular inhibitory responses in the posterior hypothalamus of rats. *Neurosci. Lett.*, (1): 41-5, 2002.
152. Spencer S.E., Sawyer W.B., Loewy A.D.: L-glutamate mapping of cardioresponsive areas in the rat posterior hypothalamus. *Brain Res.* 12;511(1): 149-57, 1990.
153. Spyer K.M.: Annual review prize lecture. Central nervous mechanisms contributing to cardiovascular control. *J. Physiol.*, 474(1): 1-19, 1994.
154. Strack A.M., Sawyer W.M., Platt K.B., Loewy A.D.: CNS cell groups regulating the sympathetic outflow to adrenal gland as revealed by transneuronal cell body labeling with pseudorabies virus. *Brain Res.*, 491(2): 274-9, 1989.
155. Sun N, Roberts L., Cassell M.D.: Rat central amygdaloid nucleus projections to the bed nucleus of the stria terminalis. *Brain Res. Bull.*, 27(5): 651-62, 1991.
156. Sun N., Cassell M.D.: Intrinsic GABAergic neurons in the rat central extended amygdala. *J. Comp. Neurol.*, 330(3): 381-404, 1993
157. Sun N., Yi H., Cassell M.D.: Evidence for a GABAergic interface between cortical afferents and brainstem projection neurons in the rat central extended amygdala. *J. Comp. Neurol.* 340(1): 43-64, 1994.
158. Sundaram K., Krieger A.J. & Sapru H.: M2 muscarinic receptors mediate pressure responses to cholinergic agonists in the ventro lateral medullary pressor area. *Brain Res.*, 449(1-2): 141-9, 1988.
159. Swanson L.W., Kuypers H.G.: The paraventricular nucleus of the hypothalamus: cytoarchitectonic subdivisions and organization of projections to the pituitary, dorsal vagal complex, and spinal cord as demonstrated by retrograde fluorescence double-labeling methods. *J. Comp. Neurol.*, 194(3): 555-70, 1980.
160. Takayama K., Okada J., Miura M.: Evidence that neurons of the central amygdaloid nucleus directly project to the site concerned with circulatory and respiratory regulation in the ventrolateral nucleus of the cat: a WGA-HRP study. *Neurosci Lett.*, 109(3): 241-6, 1990.

161. Tellioglu T, Aslan N, Goren Z, Onat F, Oktay S. Role of the AV3V region in the pressor responses induced by amygdala stimulation.: *Eur. J. Pharmacol.* 336(2-3): 163-8, 1997.
162. Ter Horst G.J., Luiten P.G.: The projections of the dorsomedial hypothalamic nucleus in the rat. *Brain. Res. Bull.*, 16(2): 231-48, 1986.
163. Ter Horst G.J., Luiten P.G.: Phaseolus vulgaris leuco-agglutinin tracing of intrahypothalamic connections of the lateral, ventromedial, dorsomedial and paraventricular hypothalamic nuclei in the rat. *Brain Res. Bull.*, 18(2): 191-203, 1987.
164. Thiernemann C., Szabo C., Mitchell J.A., Vane J.R.: Vascular hyporeactivity to vasoconstrictor agents and hemodynamic decompensation in hemorrhagic shock is mediated by nitric oxide. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 90(1): 267-71, 1993.
165. Thiernemann C., Vane J.: Inhibition of nitric oxide synthesis reduces the hypotension induced by bacterial lipopolysaccharides in the rat in vivo. *Eur J Pharmacol*, 182(3): 591-5, 1990.
166. Timmerman W., Westerink B.H.: Brain microdialysis of GABA and glutamate: what does it signify? *Synapse*, 27(3): 242-61, 1997.
167. Türköz Y., Özerot. E.: Nitrik oksitin etkileri ve patolojik rolleri *J. of Tur.Öz. Med. Cen.*, 4: 453-61, 1997.
168. Varagic V.: The action of eserine on the blood pressure of the rat. *Br. J. Pharmacol.*, 10(3): 349-53, 1955.
169. Veinante P., Freund-Mercier M.J.: Intrinsic and extrinsic connections of the rat central extended amygdala: an in vivo electrophysiological study of the central amygdaloid nucleus. *Brain Res.*, 794(2): 188-98, 1998.
170. Vertes R.P., Kocsis B.: Brainstem-diencephalo-septohippocampal systems controlling the theta rhythm of the hippocampus. *Neuroscience.*, 81(4): 893-926, 1997.
171. Vincent SR, Kimura H. Histochemical mapping of nitric oxide synthase in the rat brain. *Neuroscience.*, 46(4): 755-84, 1992.

172. Wallace D.M., Magnuson D.J., Gray T.S.: Organization of amygdaloid projections to brainstem dopaminergic, noradrenergic, and adrenergic cell groups in the rat. *Brain Res. Bull.*, 28(3): 447-54, 1992.
173. Wible J.H. Jr, Luft F.C., DiMicco J.A.: Hypothalamic GABA suppresses sympathetic outflow to the cardiovascular system. *Am. J. Physiol.*, 254(4 Pt 2): R680-7, 1988.
174. Winternitz S.R., Wyss J.M., Oparil S.: The role of the posterior hypothalamic area in the pathogenesis of hypertension in the spontaneously hypertensive rat. *Brain Res.*, 324(1): 51-8, 1984.
175. Wright C.E., Rees D.D., Moncada S.: Protective and pathological roles of nitric oxide in endotoxin shock. *Cardiovasc. Res.*, 26(1): 48-57, 1992.
176. Xie Q.W., Cho H.J., Calaycay J., Mumford R.A., Swiderek K.M., Lee T.D., Ding A., Toso R. and Nathan C.: Cloning and characterization of inducible nitric oxide synthase from mouse macrophages. *Science*, 10;256(5054): 225-8, 1992.
177. Yardley C.P., Hilton S.M.: The hypothalamic and brainstem areas from which the cardiovascular and behavioural components of the defence reaction are elicited in the rat. *J. Auton. Nerv. Syst.*, 15(3): 227-44, 1986.
178. Yasui Y., Breder C.D., Saper C.B., Cechetto D.F.: Autonomic responses and efferent pathways from the insular cortex in the rat. *J Comp Neurol.*, 303(3): 355-74, 1991.
179. Zanzinger J.: Role of nitric oxide in the neural control of cardiovascular function. *Cardiovasc Res.*, 43(3): 639-49, 1999.
180. Zardetto-Smith A.M., Gray T.S.: Organization of peptidergic and catecholaminergic efferents from the nucleus of the solitary tract to the rat amygdala. *Brain Res Bull.*, 25(6): 875-87, 1990.
181. Zatz R., de Nucci G.: Effects of acute nitric oxide inhibition on rat glomerular microcirculation. *Am. J. Physiol.*, 261: 360-3, 1991.
182. Zhuo M., Meller S.T., Gebhart G.F.: Endogenous nitric oxide is required for tonic cholinergic inhibition of spinal mechanical transmission. *Pain*, 54(1): 71-8, 1993.

183. Zingarelli B., Squadrito F., Altavilla D., Calapai G., Campo G.M., Calo M., Saitta A., Caputi A.P.: Evidence for a role of nitric oxide in hypovolemic hemorrhagic shock. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 19(6): 982-6, 1992.

10. ÖZGEÇMİŞ

Dr. Hazan Bayraktar Özyurt

Çamlık Sokak, Çam Apt., No :19/A, D:7,
Küçükyalı, 81570, İstanbul.

E – Mail: aogyurt@superonline.com

Tel: 0216- 366 37 29

Cep Tel: 0532 455 99 01

39 yaşında, evli,

EĞİTİM

1985 – 1992	Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi
1994 – 1997	Şişli Etfal Hastanesi, Radyasyon Onkolojisi Bölümü – İstanbul asistan doktor

YABANCI DİL

İngilizce

DİPLOMA VE SERTİFİKALAR

Temmuz 1992	Tıp Fakültesi Diploması
Temmuz 1997	Educational Comission for Foreign Graduates (ECFMG) Certificate
Aralık 1997	Radyasyon Onkolojisi Uzmanlık Diploması
Kasım 1999	İşyeri Hekimliği Sertifikası

İŞ DENEYİMİ

1993 Ocak – 1993 Temm	Ayancık Sağlık Ocağı – Ayancık – Sinop pratisyen doktor
1993 Temm – 1994 Ocak	Tepecik Sağlık Ocağı – Büyükçekmece – İstanbul pratisyen doktor
1994 Ocak – 1997 Aralık	Şişli Etfal Hastanesi, Radyasyon Onkolojisi Bölümü – İstanbul asistan doktor
1998 Mart – 2006 Haz.	Lütfi Kırdar Eğitim ve Araştırma Hastanesi,Radyasyon Onkolojisi Bölümü – İstanbul uzman doktor
2001 Eylül – 2006t Haz.	Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji Anabilim Dalı – Haydarpaşa – İstanbul araştırma görevlisi, aynı bölümde Ocak 2000 tarihinden itibaren doktora öğrencisi

YURT DIŞI İŞ DENEYİMLERİ

1999 Ocak – 1999 Mayıs	Loyola University Radiation Oncology Department – Chicago – USA Loyola Üniversitesi Radyasyon Onkolojisi Bölümü misafir doktor
------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

TIBBİ KURSLAR

1996 Kasım	Basic Clinical Radiobiology (ESTRO Teaching Course)- İzmir
1999 Haziran	Molecular Oncology For Radiotherapy (ESTRO Kursu) – İzmir
2000 Nisan	Medical Oncology Course of ESMO (medikal onkoloji kursu), Antalya
2000 Aralık	Prostat Kanserinde Eğitim Kursu (Rad. Onk. Derneği, Eğitim Kursu), İstanbul
2001 Ekim	EORTC Radiotherapy Group Meeting, İngiltere

TIBBİ KONGRELERE ve SEMPOZYUMLARA KATILIM

1997 Nisan	12.Ulusal Kanser Kongresi – Antalya
1997 Ekim	2. UludağOnkoloji Sempozyumu
1998 Ekim	3.Ulusal Radyasyon Onkolojisi Kongresi, İstanbul
2000 Mart	4.Ulusal Radyasyon Onkolojisi Kongresi, Uludağ – Bursa
2000 Mayıs	5.Onkolojide Sorunlar ve Güncel Çözümler
2000 Eylül	Congress of ESTRO (Avrupa Radyasyon Onkolojisi Kongresi), İstanbul
2001 Nisan	Ulusal Kanser Kongresi – İstanbul.

YAYIN ve BİLDİRİLER

YAYINLAR

Martı A, Tezcan Y, Mayadağlı A, **Özyurt H**, İncekara O. Lokal ileri evre nasofarenks kanserlerinde neoadjuvan kemoradyoterapinin sağkalım üzerine etkileri.Şişli Etfal Hastanesi Tıp Bülteni 1998;

Özgen Z, Mayadağlı A, **Özyurt H**, Özden S, İncekara O. Lokal ileri evre Küçük hücre dışı akciğer kanserinde neoadjuvan kemoterapi ve radyoterapi uygulanan hastaların retrospektif analizi. Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıp Dergisi 2001, cilt:41, sayı:2, sayfa:52-57.

Mayadağlı A, Özgen Z, **Bayraktar H**, Kahraman AN, İncekara O. Postmenopozde meme kanserli hastaların retrospektif değerlendirilmesi. Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıp Dergisi 2001, volüm:31, sayı:1, sayfa:26-34.

Mayadağlı A, Kahraman A.N, Özgen Z, **Bayraktar H**, İncekara O. Serviks kanseri olgularımızın tedavi sonuçları . Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıp Dergisi 2001, volüm:31, sayı:2, sayfa:28-34.

KONGRE BİLDİRİLERİ

H.Bayraktar, O.Kızılkaya, H. Erkal, Ö Aksakal,A.Mayadağlı, O. İncekara.İleri evre mesane kanserlerinde modifiye radyoterapi sonuçları. 2.Ulusal Radyasyon Onkolojisi Kongresi, Ürgüp, oral sunu.

Özgen Z, **Bayraktar H**, Taş Ö, Mayadağlı A, Tezcan Y, Tuvay E, Peksu S, İncekara O. Dukes C Kolon Kanseri Olgularında Kemoterapi Sonuçları. 12. Ulusal Kanser Kongresi, Antalya, 1997, poster No: 321.

Bayraktar H, Özgen Z, Mayadağlı A,Taş Ö,Kızılkaya O, Tezcan Y, Erkal H, Tuvay E, İncekara O. İleri Evre Hipernefroma Vakalarında Radyoterapi sonuçları. 12. Ulusal Kanser Kongresi, Antalya, 1997, poster No: 67.

Tezcan Y, Mayadağlı A,Taş Ö, Özgen Z, **Özyurt H**, Erkal H, Kızılkaya O, İncekara O. Testis Tümörlü Olguların Retrospektif Analizi. 12. Ulusal Kanser Kongresi, Antalya, 1997, poster No: 54.

Tezcan Y, Erkal H, Kızılkaya O, Mayadağlı A, **Özyurt H**, Özgen Z, Taş Ö,İncekara O. Rektum kanserli 60 hastanın Tedavi sonuçları. 12. Ulusal Kanser Kongresi, Antalya, 1997, poster No: 328.

Özgen Z, **Özyurt H**, Özden S, Genç A, Mayadağlı A. Erkek meme Kanserli Olguda Eş Zamanlı Doku Sarkomu. Dr Lütfi Kırdar Eğitim ve Araştırma Hastanesi Onkoloji Günleri, İstanbul, 2001.

Özden S, Özgen Z, Martı A, Özşeker N, Öztürk N, Yılmaz B, **Bayraktar H**, Mayadağlı A. Yüksek BED değeriyle tedavi edilen serviks karsinomlu hastalarda rektal komplikasyon. Dr Lütfi Kırdar Eğitim ve Araştırma Hastanesi Onkoloji Günleri, İstanbul, 2001.

Ozyurt H, Terzioğlu B, Oktay S, Goren MZ. The role of the nitric oxide in the cardiovascular responses elicited by central nucleus of amiygdala.2nd National Congress of Neuroscience, Bursa, 2003. Abstract book, page 33, number: 114.

A.Karaalp, E İskender, HR Yananlı, **HB Özyurt**, AE Özkaynakçı, C Aypak, F Onat.Terapötik ilaç izlem laboratuvarında ölçülen toksik antiepileptik ilaç düzeyleri. Ulusal Toksikoloji ve Klinik Toksikoloji Sempozyumu, 2003, İzmir, poster no: 9



Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne;

Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji Anabilim Dalı** çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından **Doktora tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi : 18 / 07 / 2006

Tez Danışmanı : Prof.Dr.Şule OKTAY
Üniversitesi : Marmara

Üye : Prof.Dr.Kemal BERKMAN
Üniversitesi : Marmara

Üye : Prof.Dr.Meral KEYER UYSAL
Üniversitesi : Marmara

Üye : Prof.Dr.Öner SÜZER
Üniversitesi : İstanbul

Üye : Doç.Dr.M.Zafer GÖREN
Üniversitesi : Marmara

ONAY

Yukarıdaki jüri kararı Enstitü Yönetim Kurulu'nun / / 2006 tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof.Dr.Sevim ROLLAS
Müdür



MARMARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
DENEY HAYVANLARI ARAŞTIRMA ETİK KURULU
PROJE ONAY FORMU

PROJENİN ADI: Amigdala'nın santral nükleusunun uyarılmasına yanıt olarak çıkan kardiyovasküler yanıtlar ve posterior hipotalamusda L-glutamat ve ve L-sitrülin düzeylerinde oluşan değişikliklerin incelenmesi
PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ: Yrd. Doç. Dr. M. Zafer Gören
PROJEDEKİ ARAŞTIRICILAR: Hazan Bayraktar Özyurt
ONAY TARİHİ VE ONAY SAYISI : 15.01.2003 – 01.2003.mar

Sayın Dr. Hazan Özyurt,

Deney Hayvanları Araştırma Etik Kurulu'na vermiş olduğunuz başvurunuza istinaden "Amigdala'nın santral nükleusunun uyarılmasına yanıt olarak çıkan kardiyovasküler yanıtlar ve posterior hipotalamusda L-glutamat ve ve L-sitrülin düzeylerinde oluşan değişikliklerin incelenmesi" isimli projenin, halen devam etmekte olan 11.2002. mart-16.04.2002 onay tarihli projenin devamı olduğu anlaşılmış ve *Deney Hayvanları Araştırma Etik Kurulu*" tarafından etik bir sorun görülmemiştir.

Çalışmalarınızda başarılar dileriz.

Prof. Dr. Berrak Yeğen

Deney Hayvanları Araştırma Etik Kurulu Başkanı

Not: Deneylerin yapılması sırasında ortaya çıkan zorluklar, deney protokolünde yapılması gereken değişiklikler, "Deney Hayvanları Araştırma Etik Kurulu'na" bildirilmelidir. Bütün yazışmalarda, proje onay tarihi ve onay sayısı belirtilmelidir.