

METİN BERKANT BAHÇECİ

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

YÜKSEK LİSANS TEZİ

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

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**SEPSİS SIRASINDA
OLUŞTURULAN EPİLEPTİK NÖBETLERİN
KAN-BEYİN BARIYER GEÇİRGENLİĞİNE ETKİSİ**

METİN BERKANT BAHÇECİ

**DANIŞMAN
PROF. DR. MEHMET KAYA**

**SİNİRBİLİM ANABİLİM DALI
SİNİRBİLİM PROGRAMI**

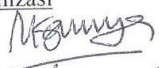
İSTANBUL-2012

TEZ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Sinirbilim Anabilim Dalı Sinirbilim Yüksek Lisans Programında Metin Berkant BAHÇECİ tarafından hazırlanan Sepsis Sırasında Oluşturulan Epileptik Nöbetlerin Kan-Beyin Bariyer Geçirgenliğine Etkisi başlıklı Yüksek Lisans tezi, yapılan tez sınavında Jürimiz tarafından başarılı bulunarak kabul edilmiştir.

15 / 02 / 2012

Tez Sınav Jürisi

<u>Ünvanı</u>	<u>Adı Soyadı (Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı)</u>	<u>İmzası</u>
1.Prof. Dr. Mehmet KAYA	İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Fizyoloji A.D.	
2.Prof. Dr. Tamer DEMİRALP	İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Fizyoloji A. D.	
3.Prof. Dr. Candan GÜRSES	İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Nöroloji A. D.	
4.Prof. Dr. Nadir ARICAN	İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Adli Tıp A. D.	
5.Yrd. Doç. Dr. Mutlu KÜÇÜK	İ. Ü. Deneysel Tıp Araş. Enst. Deney Hayv. A.D.	

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Metin Berkant BAHÇECİ

İTHAF

Annem'e...

TEŞEKKÜR

Birlikte çalışmaktan kıvanç duyduğum, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım danışman hocam Sayın Prof. Dr. Mehmet Kaya'ya;

Beni bu yüksek lisans programına başlamam için sürekli teşvik eden Sayın Prof. Dr. Candan Gürses'e;

Tez çalışmam süresinde her türlü yardımı esirgemeyen Prof. Dr. Nadir Arıcan'a;

Çalışmama katkılarından dolayı Sayın Prof. Dr. Bülent Ahışhalı ve Sayın Afife Kaya'ya teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Ayrıca yüksek lisans programının ilk gününden son gününe kadar hep yanımda olan, dostluğunu içtenlikle hissettiren canım arkadaşım Nurcan'a sonsuz sevgilerimi sunarım.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: T/4549

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	Vİİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ	İX
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Xİ
ÖZET	Xİİ
ABSTRACT.....	Xİİİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Beyinde Bariyer Tipte Damar İçermeyen Bölgeler	4
2.2. Nöronal Homeostasizde Rol Oynayan Bariyerler	4
2.2.1. Kan-Beyin Omurilik Sıvı Bariyeri.....	4
2.2.2. Kan-Beyin Bariyeri	6
2.2.2.1. Kan-Beyin Bariyerinin Özellikleri	7
2.2.2.2. Kan-Beyin Bariyerinin Karakteristik Özellikleri	9
2.2.2.3. Kan-Beyin Bariyeri Anatomisi	10
2.2.2.4. Kan-Beyin Bariyerinde Sıkı Bağlantı Yapıları	11
2.2.2.5. Kan-Beyin Bariyerinin İyon Regülasyonu.....	14
2.2.2.6. Kan-Beyin Bariyerinden Madde Taşınması.....	15
2.2.2.7. Kan-Beyin Bariyerinin Gelişimi	17
2.2.2.8. Kan-Beyin Bariyerinin Yaşla Değişimi	18
2.2.2.9. Beyinin Beslenmesi.....	18
2.2.2.10. Kan Beyin Bariyeri Nörotransmitter İlişkisi	18
2.2.2.11. Kan Beyin Bariyeri Makromolekül İlişkisi.....	19
2.2.2.12. Kan Beyin Bariyeri Nörotoksin İlişkisi.....	19
2.2.2.13. Kan Beyin Bariyeri Glial Hücre İlişkisi.....	20
2.2.2.14. Kan-Beyin Bariyeri Perisit İlişkisi	21

2.2.2.15. Kan-Beyin Bariyeri Nöron İlişkisi	23
2.2.2.16. Kan-Beyin Bariyeri Patofizyolojisi.....	23
2.3. Nörovasküler Ünite ve Özellikleri	24
2.4. Sepsis	26
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	30
3.1. Sepsis Oluşturulması:.....	30
3.2. Kateterizasyon:	31
3.3. Elektrod Yerleştirilmesi ve Nöbetlerin Değerlendirilmesi	31
3.4. Kan-Beyin Bariyeri Değerlendirilmesi	32
3.5. İmmünohistokimya	33
3.6. İstatistiksel analiz.....	34
4. BULGULAR.....	35
4.1. Arterial Kan Basıncı ve Vücut Sıcaklığındaki Değişiklikler	35
4.2. EEG Değişiklikleri.....	36
4.3. Beyin dokusunda Evans Blue Boyasının Kalitatif ve Kantitatif Değişiklikleri.....	38
4.4. İmmunohistokimyasal Boyanma Değişiklikleri	39
5. TARTIŞMA	43
ETİK KURUL KARARI	69
ÖZGEÇMİŞ	70

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1 Deney gruplarındaki hayvanların fizyolojik parametreleri	35
--	----

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1 Başlıca koroid pleksüs epitel hücreleri tarafından oluşturulan kan-beyin omurilik sıvı bariyerinin genel görünümü (Abbott ve ark. 2010).	5
Şekil 2 Koroid pleksüs epitel hücreleri tarafından oluşturulan kan-beyin omurilik sıvı bariyerinin fenestralı kapiller damar ve kapalı sıkı bağlantılara sahip epitel hücrelerinin görünümü (Kaya ve Ahishali 2011).....	6
Şekil 3 Başlıca beyin mikrodamar endotel hücrelerince oluşturulan KBB yapısı ve bu yapıya destek veren hücreler görülmektedir (Kaya ve Ahishali 2011).	7
Şekil 4 KBB’de enzimatik bariyer işlevi gören veya madde taşıyıcı olarak çalışan enzimlerin endotel hücre sitoplazmasındaki görünümleri (Cecchelli ve ark. 2007).	10
Şekil 5 KBB’deki endotel hücrelerinin temas bölgerindeki sıkı bağlantı yapılarının görünümü (Engelharth ve Sorokin 2009).	12
Şekil 6. KBB’deki endotel hücrelerinin temas bölgerindeki sıkı bağlantı yapılarının görünümü (Abbott ve ark. 2010).	12
Şekil 7 Beyin bariyer tipteki damar endotel hücrelerinde çift yönlü madde taşıma yolları (Neuwelt, 2004).	15
Şekil 8. Yağda eriyebilen maddeler ile elektriksel olarak yüklü maddelerin KBB endotel hücrelerinden taşınması. Yağda eriyebilen maddeler lipid membranlardan kolayca taşınırken elektriksel yüklü moleküllerin bu yolu kullanamadığı görülmektedir (Abbott ve ark. 2006).	16
Şekil 9. KBB’de madde taşıma mekanizmaları (Zlokovic 2011).	17
Şekil 12 Astrosit ve mikrogiliaların KBB endotel hücreleri ile ilişkisi (Cardoso ve ark. 2010).	20
Şekil 13 Perisitlerin KBB endotel hücreleri ile çok yakın temas ilişkisi (Cardoso ve ark. 2010).	21
Şekil 14. Perisitlerin KBB endotel hücreleri ile ilişkisi (Winkler ve ark. 2011).	22
Şekil 15 Patolojik koşullar sonucu KBB yetmezliği ve istenmeyen maddelerin beyine geçişi (Paolinelli ve ark. 2011)	23
Şekil 10 Nörovasküler üniteyi oluşturan hücresel elemanların görünümü (Abbott ve ark. 2006).	25

Şekil 11 Kandan beyine veya beyinden kana madde taşınmasında esas rolü üstlenen endotel hücreleri ve bu hücrelerle ilişkide olan nörovasküler ünitenin diğer elemanları görülmektedir (Cardoso ve ark. 2010).	26
Şekil 16 Çekal ligasyon perforasyon yöntemi ile sıçanda sepsis oluşturulması (Rittirsch ve ark. 2009).	30
Şekil 17 Evans Blue boyasının standart eğrisi.....	33
Şekil 18 PTZ enjekte edilmeden önce ve sonra EEG’de izlenen değişiklikler bir hayvan örneğinde detaylı olarak verilmiştir.	36
Şekil 19 Bir hayvan örneğinden alınan PTZ enjeksiyonu sonrası ortaya çıkan nöbetler sırasındaki bir EEG paterni. EEG paterni sağ ve sol hipokampus CAI bölgesine derin elektrodlar yerleştirilerek kaydedildi. Nöbet öncesi ve nöbet sırasındaki EEG amplitüdündeki değişiklikler ölçüldü. Nöbet süresi, nöbet aktivitesinin başladığı ve sona erdiği noktalar arasındaki zaman dilimi seçilerek EEG üzerinde tayin edildi.	36
Şekil 20 PTZ enjekte edilmeden önce ve sonra EEG’de izlenen değişiklikler bir septik hayvan örneğinde detaylı olarak verilmiştir.	37
Şekil 21 Bir septik hayvan örneğinden alınan PTZ enjeksiyonu sonrası ortaya çıkan nöbetler sırasındaki bir EEG paterni. EEG paterni sağ ve sol hipokampus CAI bölgesine derin elektrodlar yerleştirilerek kaydedildi. Nöbet öncesi ve nöbet sırasındaki EEG amplitüdündeki değişiklikler ölçüldü. Nöbet süresi, nöbet aktivitesinin başladığı ve sona erdiği noktalar arasındaki zaman dilimi seçilerek EEG üzerinde tayin edildi.	37
Şekil 22 Deney gruplarındaki her bir hayvan örneğinden alınan beyin yüzeyindeki Evans blue boyasının makroskopik görünümü.....	38
Şekil 23 Kontrol, ÇLP, PTZ ve ÇLP+ PTZ gruplarında hayvanların beyin dokusuna geçen EB miktarının kantitatif değerlendirilmesi. *P<0,01 kontrol grubu ile kıyaslandığında. Deney verileri; ortalama (X) ± ortalamanın standart hatası (SEM) olarak değerlendirildi. Her grupta 8 hayvan kullanıldı.	39
Şekil 24 Her bir deney grubuna ait beyin kesitlerinin hipokampus bölgelerindeki okludin immunreaktivitesi. Bar: 10µm	40
Şekil 25 Her bir deney grubuna ait beyin kesitlerinin hipokampus bölgelerindeki p-gp immunreaktivitesi. Bar: 10µm	41
Şekil 26 Her bir deney grubuna ait beyin kesitlerinin hipokampus bölgelerindeki AQP-4 immunreaktivitesi. Bar: 10µm	42

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

ABC:	ATP-Binding Cassette
AQP:	Akuaporin
BOS:	Beyin Omurilik Sıvısı
Ca ⁺² :	Kalsiyum
Cl ⁻ :	Klor
ÇLP:	Çekal Ligal Perforasyon
DETAE:	Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü
EB:	Evans Blue
GFAP:	Glial Fibriller Asidik Protein
g-GTP:	Gama-Glutamil Transpeptidaz
Glut:	Glukoz Taşıyıcısı
HADYEK:	Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
HRP:	Horse Radish Peroksidaz
IL:	Interlökin
IP:	Intra Peritoneal
K ⁺ :	Potasyum
KBB:	Kan Beyin Bariyeri
LPS:	Lipo Poli Sakkarid
MDR-1:	Mutli Drug Resistance-1
Mg ⁺² :	Magnezyum
PDGF:	Platelet Deriveted Growht Factor
PDZ:	Postsynaptic Density-95 protein - sayfa 31
p-gp:	p-glikoprotein
p-gp:	p-glikoprotein
PTZ:	Pentilentetrazol
TNF:	Tümör Nekroz Faktör

ÖZET

Bahçeci, M.B. (2011). Sepsis sırasında oluşturulan epileptik nöbetlerin kan-beyin bariyer geçirgenliğine etkisi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Sinirbilim ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Enflamasyon zemininde ortaya çıkan epileptik nöbetlerin kan beyin bariyeri'nin (KBB) fonksiyonel ve morfolojik özellikleri üzerine olan etkileri tam olarak bilinmemektedir. Bu çalışmada, çekal ligoal perforasyon (ÇLP) metodunun uygulanması ile sistemik enflamasyon oluşturulan sıçanlarda epileptik nöbetlerin KBB üzerine etkileri araştırıldı. KBB geçirgenliğindeki değişiklikleri göstermek için Evans blue (EB) boyası kullanıldı. KBB bütünlüğü ile ilgili olarak okludin, p-glikoprotein (p-gp) ve akuaporin (AQP)-4 proteinleri immünohistokimyasal metodla araştırıldı. ÇLP'nin 24. saatinde pentilentetrazol (PTZ) uygulanarak epileptik nöbetler oluşturuldu ve EEG kaydı alındı. Septik hayvanlarda arteriyel kan basıncı düşerken, PTZ uygulanan hayvanlarda arteriyel kan basıncı arttı ($P<0.01$). Sepsis oluşturulan hayvanlarda nöbetlerin şiddet ve süresinde artış olduğu tespit edildi ve bu hayvanlarda beyin bölgelerine geçen EB miktarının kontrol ve PTZ gruplarındaki artışa göre daha fazla miktarda olduğu tespit edildi ($P<0.01$). Okludin protein immünoreaktivitesi gruplar arasında farklılık göstermedi. P-gp immünoreaktivitesi PTZ ve ÇLP + PTZ gruplarında arttı ve bu gruplardaki immünoreaktivitedeki artış kontrol ve ÇLP gruplarındaki verilere göre istatistiksel olarak anlamlılık gösterdi ($P<0.05$). AQP-4 immünoreaktivitesi en fazla ÇLP grubunda arttı ve bu gruptaki immün boyanma miktarındaki artış kontrol ve ÇLP + PTZ gruplarına göre anlamlı bulundu ($P<0.01$). Bu çalışmanın sonuçları septik koşullarda daha kırılgan hale gelen bariyer tipteki beyin damar endotel hücrelerinin epileptik nöbetler sırasında aşırı derece bozularak bariyer özelliklerini yitirdiklerini göstermektedir. Sonuç olarak, sepsis sırasında ortaya çıkabilecek epileptik nöbetlere karşı septik etkileri mümkün olduğu kadar azaltmanın epileptik nöbetlerin bariyer tipteki endotel hücrelerine vereceği hasarı azaltılabileceğini söyleyebiliriz.

Anahtar Kelimeler: Sepsis, Epilepsi, Kan-beyin bariyeri, EEG

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: T/4549

ABSTRACT

Bahceci MB. (2011). The name of Thesis: The effect of epileptic seizures on the blood-brain barrier integrity in septic animals. Istanbul University, The Institute of Health Sciences, The Institute of Experimental Medicine, Department of Neuroscience, Master of Science Thesis, Istanbul

The impact of epileptic seizures that emerge under a systemic inflammatory background in sepsis on the functional and morphological features of blood-brain barrier (BBB) is not fully understood. In this study, the effects of epileptic seizures on BBB integrity in an experimental model of sepsis induced by cecal ligation and puncture (CLP) in rats. Pentilentetrazol (PTZ) was administered to induce seizures and EEG was recorded. BBB permeability was assessed by measurement of Evans blue (EB) in the brain. Immunohistochemistry for occludin, p-glycoprotein (p-gp) and aquaporin (AQP)-4 proteins was performed. Arterial blood pressure decreased in septic animals, but increased in animals treated with PTZ ($P<0.01$). The severity and duration of PTZ induced seizures were found to be increased in septic animals compared with control group. The content of EB dye in the brain increased upon PTZ treatment in septic animals compared to control group ($P<0.01$). Occludin immunoreactivity did not show any significant differences among groups. Immunoreactivity for p-gp increased in PTZ and CLP + PTZ groups compared with CLP operated animals and control ($P<0.05$). Immunostaining for AQP-4 was most intense in CLP operated rats compared with CLP + PTZ and control groups ($P<0.01$). The results of this study show that epileptic seizures lead to the disruption of BBB, the barrier-type endothelial cells of which have become more vulnerable under septic conditions. In conclusion, alleviating the functioning mechanistic processes in sepsis may reduce the damage of barrier-type endothelial cells by epileptic seizures under septic conditions.

Key Words: Sepsis, Epilepsy, Blood-Brain Barrier, EEG

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. T/4549

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Ciddi sepsis ve septik şoktaki hastaların sıklıkla ensefalopati ile ilgili klinik semptomlar sergilediği gözlenmektedir. Özellikle, septik ensefalopatinin kan-beyin bariyeri'nde (KBB) ortaya çıkan bir yetmezlik veya bozulma ile ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür (Freund ve ark. 1986; Papadopoulos ve ark. 1999; 2000). Bu konunun aydınlatılması için son yıllarda farklı modeller kullanılarak oluşturulan sepsis sırasında perivasküler ödeme neden olan KBB'de bir bozulmanın olduğu gösterilmiştir (Tsao ve ark. 2001; Esen ve ark. 2005; Brandt ve ark. 2008 a ve b; Flierl ve ark. 2010; Toklu ve ark. 2009). Sepsis sırasında, KBB bozulmasına neden olan faktörlerin başında gelen enflamatuvar ajanların hem periferde hem de beyindeki üretimlerinin artması sonucu, bu ajanların bir yandan nöronal uyarılabilirliği kolaylaştırdıkları, diğer yandan KBB'de fonksiyonel ve morfolojik değişikliklere yol açtıkları çok sayıda çalışma ile rapor edilmiştir (Tsao ve ark. 2001; Stienen ve ark. 2011; Vezzani ve ark. 2011; Auvin ve ark. 2010; Riazi ve ark. 2010; Galic ve ark. 2008; Esen ve ark. 2005; Brandt ve ark. 2008 a ve b; Flierl ve ark. 2010; Toklu ve ark. 2009). Periferik enflamasyonla KBB'nin hem fonksiyonel hem de moleküler özelliklerinin değiştirilmesi sonucu beyin damar kapiller geçirgenliğinde artış meydana gelmektedir (Huber ve ark. 2001 ve 2002). İlave olarak, enflamatuvar ajanlardan özellikle tümör nekroz faktör (TNF)-alfanın KBB geçirgenliği üzerine etkili olduğu gösterilmiştir (Mayhan 2002, Trickler ve ark. 2005). Beyindeki enflamatuvar araçların başlıca parankimal hücreler (mikroglia, astrosit ve nöron) ve KBB'nin endotel hücreleri ile koroid pleksüs epitel hücreleri tarafından salgılandığı ve aynı zamanda, bu hücrelerin sitokin reseptörlerini de eksprese ettikleri bilinmektedir.

Beyin damar kapiller endotel hücreleri tarafından KBB'nin normal koruma işlevi başlıca perisit, perivasküler mikroglia, astrosit ve bazal laminanın fizyolojik koşullarda görevini yerine getirmesine bağlıdır. Enflamasyon sırasında beyin kapiller endotel hücreleri ve parankimal hücreler tarafından salınan sitokin üretimindeki artış beyin kapiller endotel hücre yüzeyinde adezyon moleküllerinin artışına, metalloproteinaz aktivasyonuna ve araşidonik asit yıkımına neden olabilir, bu olaylar da KBB yıkımına katkı verir (Webb ve Muir 2000; Pachter ve ark. 2003; Lossinsky ve Shivers 2004).

Enflamasyonun epilepsi patogenezinde önemli bir rol oynadığı ileri sürülmüştür (Vezzani and Granata 2005; Vezzani 2005). Enflamasyon sırasında sitokin düzeylerindeki artışın nöbet eşiğini düşürdüğü ve epilepsiye meyli arttırdığı gözlenmiştir. Deneysel epilepsi modelleri ve bazı tür klinik epilepsi vakalarında enflamatuvar sitokinlerin hem plazma hem de beyin dokusunda arttığı gösterilmiştir (Vezzani and Granata 2005; Vezzani 2005). Deneysel olarak periferik bir organda oluşturulan enflamasyonun derece veya şiddetinin pentilentetrazol (PTZ) ile oluşturulan epileptik nöbetlerin daha da şiddetlenmesine sebep olduğu gösterilmiştir (Riazi ve ark. 2008 ve 2010). Kimyasal veya elektriksel olarak oluşturulan epileptik nöbetlerin deney hayvanlarının beyinde başlıca interlökin (IL)-1 beta, interlökin (IL)-6 ve TNF- alfa düzeylerinde artışa yol açtığı tespit edilmiştir (De Simoni 2000). Aynı zamanda, IL-1 beta ve TNF- alfa reseptörlerinin de epileptik nöbetler sırasında hızlı bir şekilde arttığı bilinmektedir. Enflamatuvar ajanların nöbet öncesi veya sırasında beyin parankimine enjekte edilmesinin; öncelikle bu maddelerin beyinde miktar olarak artışına ve sonuçta nöbetlerin şiddetlenmesine neden oldukları ileri sürülmüştür (Vezzani 2005). IL-1 beta'nın nöbetler öncesi uygulanması, kainik asit veya bikukulin nöbetlerinin EEG süresini ve nöbet davranışını uzattığı (Vezzani ve ark. 1999), ancak intraserebral olarak IL-1 reseptör antikoru uygulanmasının nöbet aktivitesini azalttığı gösterilmiştir (Vezzani ve ark. 2000). Sistemik enfeksiyon koşullarında, PTZ ile indüklenen nöbetlerin önemli oranda şiddetlendiği, enfekte hayvanda IL-1 beta ve TNF alfa'ya karşı kullanılan antikorların nöbete meyil artışını önlediği gösterilen bir çalışmada; IL-1 beta ve TNF alfa'nın enfeksiyonla ilişkili nöbetlere karşı beynin daha duyarlı hale gelmesinde önemli rol oynadıkları ileri sürülmüş ve özellikle TNF alfanın dolaşımdaki düzeyine bağlı olarak nöbetleri şiddetlendirici veya azaltıcı yönde çalıştığı ileri sürülmüştür (Yuhäs ve ark. 1999; 2003). Enflamatuvar ajanlardan önemli biri olan IL-1 betanın deneysel febril nöbetlerin ortaya çıkmasına önemli derecede katkı yaptığı bildirilmiştir (Dube ve ark. 2005).

Enflamasyonun neden olduğu KBB'deki bozulma sonucu beyine aşırı miktarda kan kaynaklı sitokin geçebilir ve beyinde sitokin miktarındaki artış nöbet aktivitesinin ortaya çıkması ile çok yakından ilişkili olabilir. Beyindeki enflamatuvar madde artışının KBB geçirgenliğindeki artışla ilişkili olduğu ve KBB'deki geçirgenlik artışının da hem nöbetlerin başlatılması hem de ilerletilmesinde önemli bir rolü olduğu üzerinde durulmaktadır (Seiffert ve ark. 2004; Ivens ve ark. 2007; Van Vliet ve ark. 2007;

Marchi ve ark. 2011). İlave olarak, bu konu ile ilişkili son çalışmalar KBB'deki bozulmanın epileptiform aktiviteyi indüklediğini göstermektedir (Seiffert ve ark. 2004; Oby ve Janigro 2006; Ivens ve ark. 2007; Van Vliet ve ark. 2007; Marchi ve ark. 2007). Diğer yandan, sağlıklı bir beyinde çok az miktarda üretilen sitokinlerin, birçok patolojik koşulda hızlı bir şekilde arttığı gösterilmiştir (Virta ve ark. 2002). Endojen etkilerinin yanında, bu sitokinlerden özellikle TNF- alfanın ekzojen ilavesinin amigdala-kindling'e yatkınlığı arttırmasının yanında, KBB'de hasara neden olabildiği gösterilmiştir (Minagar ve ark. 2003; Bessis ve ark. 2005). Beyin dokusuna immün sistem aracılı bir hasarın hem direkt olarak enflamasyon yoluyla, hem de indirekt olarak KBB hasarı ile epileptogeneze önemli bir katkı yaptığı ileri sürülmüştür (Kleen ve Holmes 2008; Fabene ve ark. 2008). Daha da ötesi, epileptik koşullarda lökosit-endotel adezyon mekanizmalarının araştırıldığı bir çalışmada, Fabene ve arkadaşları epileptojenik olayların ortaya çıkmasında en önemli tetikleyici faktörlerin kan damarları düzeyinde başlayabileceğini ileri sürmüş ve epileptik nöbetler sırasında arttığı bilinen intrasellüler adezyon molekülü (ICAM)-1 ve vasküler adezyon molekülü (VCAM)-1'e karşı antikor kullanımının nöbet aktivitesini önemli derecede azalttığını göstermiştir (Fabene ve ark. 2008). Anti-enflamatuvar ajan uygulanan bir çalışmada, IL-1 beta sinyal yolağının inhibe edilmesi, pilokarpın ile indüklenen epileptik nöbetlerin ve KBB yıkımının önlenmesinde önemli bir yol olduğu ileri sürülmüştür (Marchi ve ark. 2009).

Postnatal 14. günde, endotoksik enjeksiyonu sonrası ortaya çıkan enflamasyonun erişkin sıçanlarda epileptik nöbetlere meyli arttırdığı tespit edilmiştir (Galic ve ark. 2008). Deneysel kolitis modelinde, enflamasyon artışının nöbet eşiğini düşürmesi sonucu subkonvulzif dozda uygulanan PTZ'nin epileptik nöbetlere yol açtığını gösterilmiştir (Rao ve ark. 2008). Ancak, çekal ligal perforasyon (ÇLP) modelinin uygulanması sonucu ortaya çıkan septik koşullarda, oluşturulacak epileptik nöbetler sırasında KBB'nin fonksiyonel ve yapısal anlamda nasıl etkileneceği henüz bilinmemektedir.

Bu amaçla bu çalışma, Rittirsch ve arkadaşları (Rittirsch ve ark. 2009) tarafından tarif edilen ÇLP modeli uygulanarak endotoksemi oluşturulan sıçanlarda, enflamasyon zemininde epileptik nöbetlere KBB'nin hem fonksiyonel hem de yapısal anlamda nasıl bir cevap vereceğini göstermek ve ayrıca KBB cevabının davranış ve nöbet şiddeti üzerine yansımalarını değerlendirmek için planlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Beyinde Bariyer Tipte Damar İçermeyen Bölgeler

Beyindeki bazı bölgelerde bariyer özelliği ihtiva etmeyen kan damarları bulunur. Bariyer özelliğine sahip olmayan kan damarlarının bulunduğu beyin bölgeleri başlıca area postrema, median eminens, nörohipofiz, pineal bez, subfornikal organ ve lamina terminalis'tir. Bu bölgeler beyin ile perifer arasında çok sıkı temasın olduğu besin alımının düzenlenmesi ve vücut ısısının düzenlenmesi ile ilgili yapılardır (Murakami ve ark. 1990; McKinley ve ark. 2003).

2.2. Nöronal Homeostasizde Rol Oynayan Bariyerler

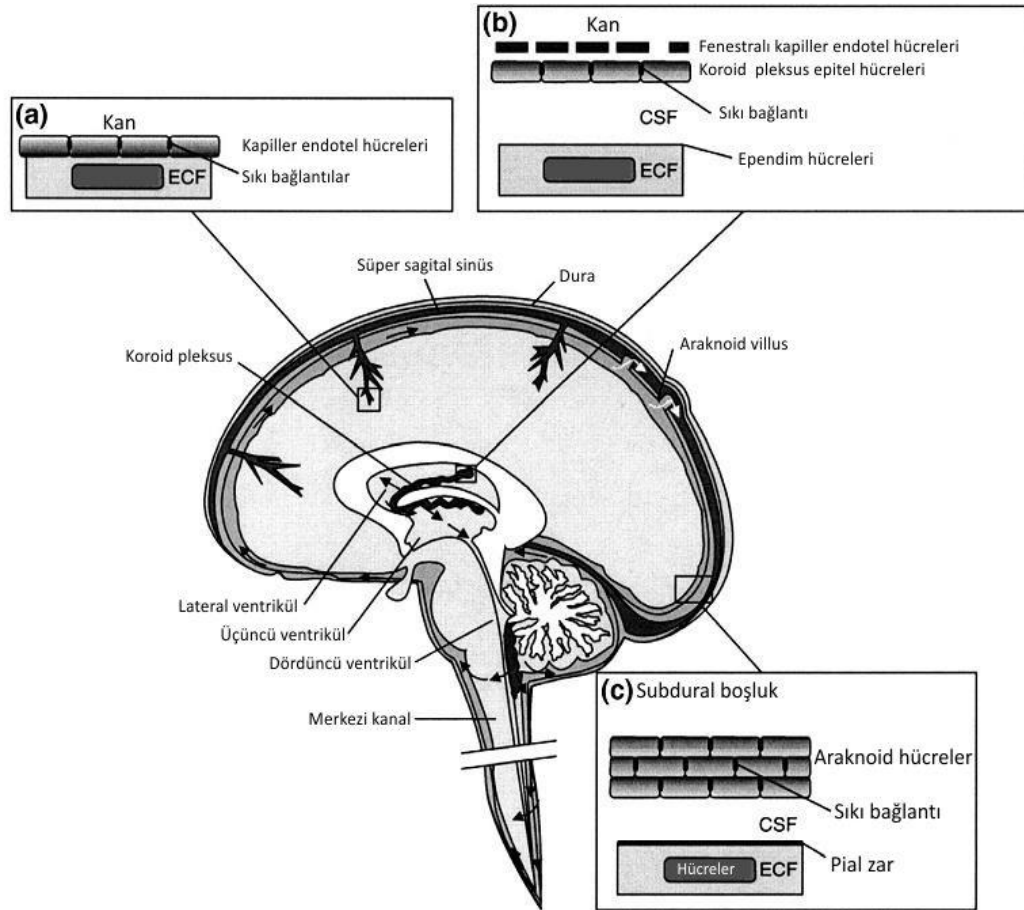
Beyindeki bariyer sistemleri başlıca kan-beyin bariyeri (KBB), kan-beyin omurilik sıvı ve kan ile avasküler araknoid epitelyum arasındaki bariyerlerden ibarettir. Bu üç bariyer aslında fiziksel (sıkı bağlantılar), metabolik ve aynı zamanda madde taşıma bariyeri olma özellikleri gösterir. Ancak, beyindeki damarsal yapının bariyer fonksiyonu ve geçirgenlik özellikleri düşünüldüğünde akla ilk gelen yapı, öncelikle endotel hücreleri tarafından oluşturulan KBB'dir.

Özellikle KBB fizyolojik ve patolojik koşullarda modüle edilebilen dinamik bir bariyer olma niteliği taşır (Abbott ve ark. 2010). Beyinde ideal bir nöronal ortamın sağlanması için gerekli olan homeostatik dengenin korunmasında yukarıda tanımlandığı üzere endotelial KBB'nin yanında epitelyal kan-beyin omurilik sıvı bariyer sistemi de iş görmektedir (Pardridge 1999; Sugiyama ve ark. 1999).

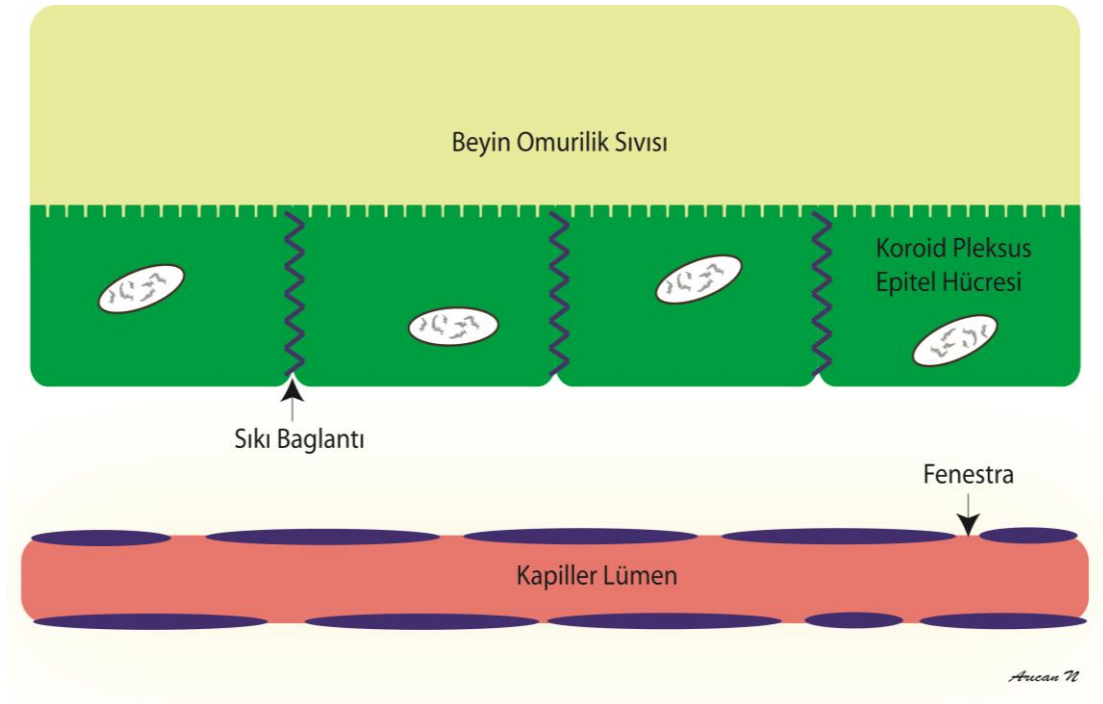
2.2.1. Kan-Beyin Omurilik Sıvı Bariyeri

Kan-beyin omurilik sıvı bariyeri koroid pleksüsteki epitel hücrelerince oluşturulur ve bu hücreler arasındaki sıkı bağlantı yapıları sayesinde bu bölgeden parasellüler geçiş önlenir. Kan-beyin omurilik sıvı bariyerinin genel ve detaylı görünümü Şekil 1 ve 2'de görülmektedir. Ancak, koroid pleksüsteki endotel hücreleri fenestral özelliklere sahip olmalarının yanında sıkı bağlantı yapıları içermezler ve bu durum burada bulunan endotel hücresine aşırı bir geçirgenlik özelliği verir (Smith ve ark. 2004). Sonuç olarak, koroid pleksus ve araknoid zar kan ile beyin omurilik sıvısı arasında morfolojik bir bariyer yapısı oluşturur ve bir bariyer görevi üstlenir. Araknoid zar genelde hidrofilik maddelere geçirgen değildir. Beyin omurilik sıvısının başlıca

üretildiği koroid pleksusta, kapiller endotel hücreleri fenestral özelliğe ve kesikli bir bazal membrana sahiplerdir ve bu endotel hücreleri aralarında küçük maddelerin serbestçe geçişine izin veren açıklıklar veya porlar içerirler. Ancak, BOS yüzeyine bakan ve ependim hücreleri olarak bilinen tek sıra epitel hücreleri sahip oldukları sıkı bağlantı yapıları ile birbirlerine sıkı bir şekilde bağlanarak kan-beyin omurilik sıvı bariyerini oluşturur ve bu yapı sayesinde makromolekülerin kandan beyin omurilik sıvısına geçişi önlerir (Abbott 2005).



Şekil 1 Başlıca koroid pleksüs epitel hücreleri tarafından oluşturulan kan-beyin omurilik sıvı bariyerinin genel görünümü (Abbott ve ark. 2010).

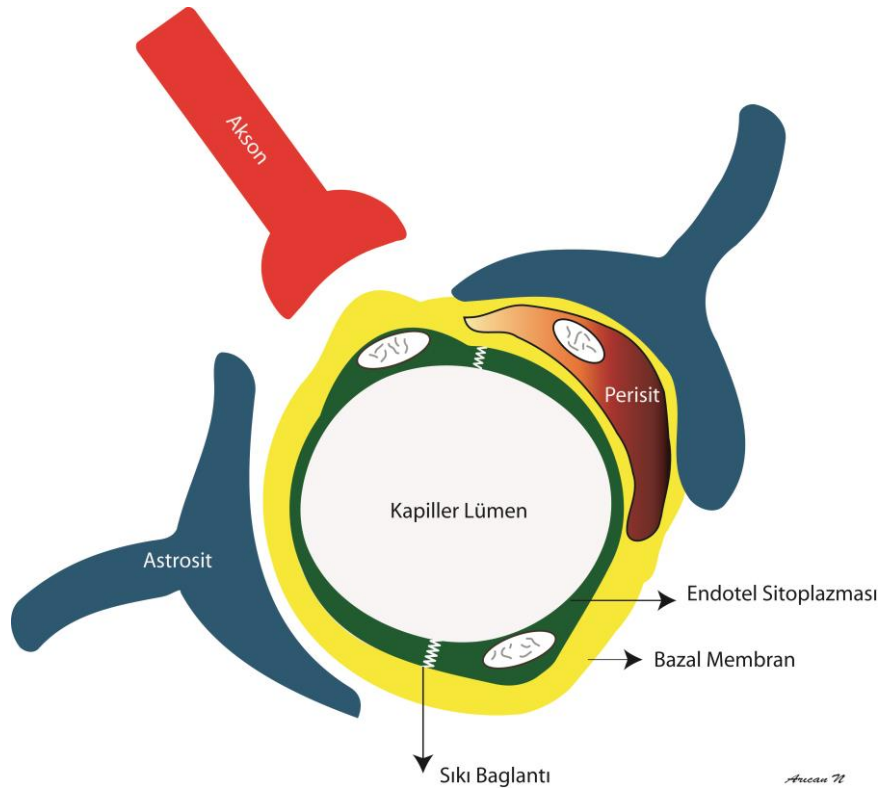


Şekil 2 Koroid pleksüs epitel hücreleri tarafından oluşturulan kan-beyin omurilik sıvı bariyerinin fenestralı kapiller damar ve kapalı sıkı bağlantılara sahip epitel hücrelerinin görünümü (Kaya ve Ahishali 2011).

2.2.2. Kan-Beyin Bariyeri

Kan-beyin bariyeri (KBB) kavramı 19. yüzyılın sonlarında Alman mikrobiyolog Paul Ehrlich tarafından ortaya atılmış ve bu araştırmacı Tripan mavisini intravenöz yolla hayvanlara enjekte ettiğinde, beyin hariç diğer organların boyandığını görmüştür (Davson ve Segal 1995). Sonraki yıllarda, Ehrlich'in öğrencisi Edwin Goldman ise beyin omurilik sıvısına (BOS) enjekte ettiği bir boya ile sadece beyin parankiminin boyandığını, vücudun diğer bölümlerinin boyanmadığını gözleyerek KBB varlığını iyice teyit etmiştir (Davson ve Segal 1995). Broman, 1940 yılında KBB'nin beyin kapiller endotel hücrelerinin özelleşmiş bir şekli olduğunu açıklamıştır (KBB Kitabı). 1960'lı yıllarda elektron mikroskobun biyolojide kullanılmasını takiben, KBB varlığını göstermek için Horseradish peroksidaz (HRP) belirtecini kullanan Reese ve Karnovsky sistemik olarak enjekte edilen bu maddenin beyin parankimine geçmediğini, intra ventriküler enjeksiyonla beyin omurilik sıvısına enjekte edilen HRP'nin ise beyin ekstrasellüler sıvısına ulaşarak astrosit ayak sonlanmalarına kadar vardığı ve bazal membranın arkasına kadar geçtiğini göstermişlerdir (Davson ve Segal 1995). Sonuçta, bu deneyler, kandan beyin parankimine maddelerin serbest hareketini sınırlayan

yapının KBB olduğunu teyit etmiştir. Daha sonra, periferik organların mikrodamarları ile karşılaştırıldığında KBB'yi oluşturan yapıların farklı ve oldukça özel donanımlı olduğu gösterilmiştir (Stewart ve Wiley 1981). Beyin damar endotel hücreleri tarafından oluşturulan KBB'ye perisit, astrosit ve nöron gibi komşu hücreler destek verirler (Şekil 3).



Şekil 3 Başlıca beyin mikrodamar endotel hücrelerince oluşturulan KBB yapısı ve bu yapıya destek veren hücreler görülmektedir (Kaya ve Ahishali 2011).

2.2.2.1. Kan-Beyin Bariyerinin Özellikleri

Morfolojik olarak başlıca beyin kapiller endotel hücreleri tarafından oluşturulan KBB, kan-beyin omurilik sıvı bariyerinden 1000 kat daha büyüktür (Pardridge 2006). Bu yapı yaklaşık olarak total beyin volümünün % 0,1'ini oluşturur. Yetişkin bir insandaki beyin kapiller damar ağında yaklaşık 100 milyar kapiller, toplamda 650 km uzunluk ve 12-18 m²'lik total kapiller yüzey alanı mevcuttur (Schlageter ve ark. 1999). Çapları 5 ila 100 mikron arasından değişen beyindeki mikrodamarların yaklaşık %95'i KBB özelliğindedir ve bir kapiller damarın ortalama lümen çapı 4-10 mikron arasında değişir. Bu nedenle beyindeki mikrodamarların %95'den fazlasının bariyer tipte olmasından dolayı, beyin kapillerinin kelime karşılığı yaklaşık olarak KBB anlamına

gelir. Bir kapiller damarın bir nörona uzaklığı yaklaşık 8-10 nm kadar olduğundan hemen hemen her nöronun bir kapiller damara sahip olduğu tahmin edilir (Pardridge 2003).

KBB olarak isimlendirilen ve beyin mikrodamarlarının en önemli elemanı olan endotel hücreleri, kan ile beyin arasında madde taşınmasını kontrol eden oldukça özelleşmiş yapılara sahiptir (Engelhardt 2003; Cecchelli ve ark. 2007). Endotel hücrelerindeki bu özelleşmiş yapılar; başlıca tek veya çift yönlü çalışan taşıyıcı sistemler, maddelerin endotel hücresi içinden geçerken bu maddeleri metabolize eden metabolik işleve sahip bir enzimatik bariyer ve özellikle endotel hücrelerinin sıkı bağlantı yapılarının oluşturduğu bir fiziki bariyerden oluşmaktadır (Abbott ve ark. 2006 ve 2010).

Aynı zamanda KBB, beyni kanda dolaşan zararlı maddelerden ve toksinlerden korurken, nöronal hücre fonksiyonları için gerekli besinlerin geçişine izin veren özelleşmiş karmaşık hücresel bir sisteme sahiptir. Periferik kapillerlerin hücre içine veya hücreler arası alana madde geçişine nisbeten izin vermesinin aksine KBB, beyin parankimindeki glial veya nöronal hücrelere madde geçişini sahip olduğu hem metabolik “enzim” hem de fiziksel “sıkı bağlantılar” nitelikteki bariyerler sayesinde çok sıkı bir şekilde kontrol eder. Bunun sonucu olarak, KBB’nin fizyolojik koşullarında terapötiklerin etkin dozda beyine geçişi mümkün olamamaktadır.

KBB, kan damarı ile beyin dokusu arasında bir sınır teşkil eder. KBB sadece, su ve yağda eriyebilen küçük molekül ağırlığına sahip maddelerin konsantrasyon gradientleri ölçüsünce serbest geçişine müsaade ederken, 400-700 Dalton’dan daha büyük moleküllerin ve suda eriyen maddelerin beyine geçişini engeller (Pardridge 1999, 2003, 2005, 2006, 2007). Bu nedenle KBB, nöronal homeostazisin korunmasında en etkili yapı olarak iş görmektedir (Bernacki ve ark. 2008).

Genel Olarak Kan-Beyin Bariyeri:

1. Beyni, başta yüklü iyon ve toksik maddelerin yol açabileceği zararlı etkilerden korur,
2. Beyni periferik kaynaklı hormon ve nörotransmitterlerden korur,

3. Nöronal ve glial kaynaklı hücreler için uygun bir hücreler arası ortam sağlar,
4. Nöron ve glial hücreler için gerekli olan oksijen ve besin maddelerinin sağlanması için yeterli miktarda beyin kan akımı düzenlenmesine salgıladığı bazı lokal hormonlarla katkı verir.

Fonksiyonel Olarak Kan-Beyin Bariyeri:

1. Bariyer özelliklerine sahip beyin damar endotel hücreleri,
2. Perisitler,
3. Astrositler,
4. Mikroglia,
5. Nöronlardan oluşur.

2.2.2.2. Kan-Beyin Bariyerinin Karakteristik Özellikleri

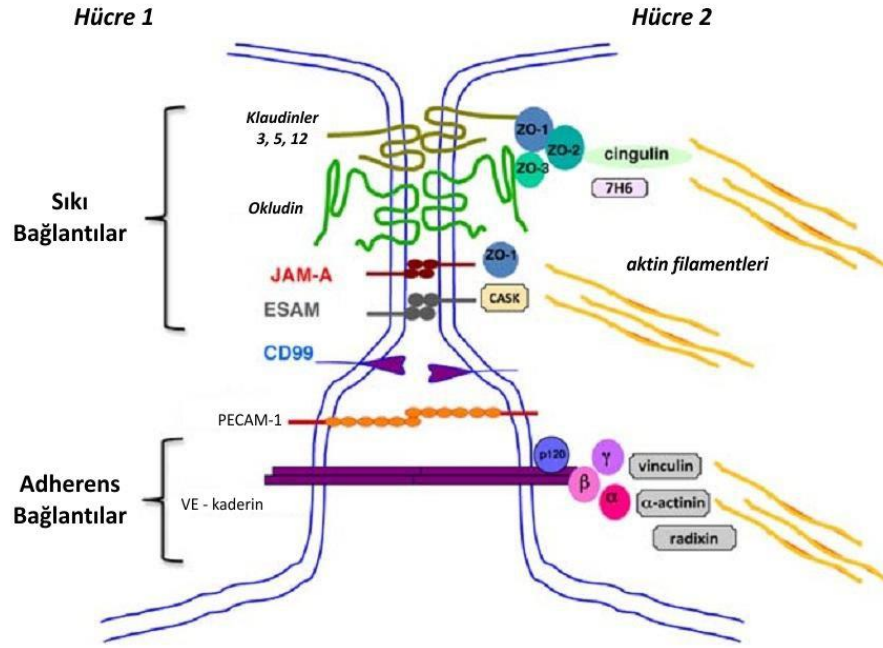
Beyinde bariyer tipteki endotel hücre sitoplazmasında ve zarında bol miktarda enzimatik veya taşıyıcı işleve sahip polipeptid veya protein yapıda enzimler vardır (Şekil 4). Beyindeki bariyer tip endotel hücrelerinde bulunan gama-glutamil transpeptidaz (g-GTP), glukoz taşıyıcı (Glut)-1 ve endotel bariyer antijeni'nin (EBA) en önemli spesifik bariyer belirteçleri olduğu bilinmektedir. g-GTP, Glut-1, Na^+ - K^+ -ATPaz ve alkalen fosfataz gibi birçok enzim ve taşıyıcı proteinlerin KBB endotel hücrelerinde varlığı gösterilmiştir. Aynı zamanda tek yönlü çalışarak potansiyel toksik maddeleri kana geri gönderen p-glikoprotein (p-gp) gibi pompalara da sahiptir (Löscher ve Potschka 2005; Begley 2004).

yapılan laminin 4 ve 5, astrositlerce yapılan laminin 1, 2 ve kollagen 4 ten ibarettir (Perlmutter ve Chui 1990). Bazal membranın nörovasküler ünitenin en önemli parçası olduğu düşünülmektedir.

Fenestra yapısı ihtiva etmeyen bariyer tipteki beyin damar endotel hücreleri yok denecek kadar az sayıda pinositotik veziküle sahiptir. Bariyer tipteki endotel hücreleri aralarında sıkı bağlantı yapıları oluşturur ve bu sıkı bağlantı bölgelerinde oldukça yüksek elektriksel dirence sahiptir (Petty ve Lo 2002; Abbott ve ark. 2006; Stewart 2000; Hawkins ve Davis 2005; Kniesel ve Wolburg 2000). Bariyer tipteki endotel hücreleri aynı zamanda hem taşıyıcı proteinleri hem de reseptörleri yapar. Bu taşıyıcı proteinlerin başında glukoz taşıyıcısı (Glut)-1, sodyum ve potasyum iyonların taşınmasında iş gören $\text{Na}^+ - \text{K}^+ \text{-ATPaz}$ ve bazı makromoleküllerin taşınmasında iş gören insulin ve transferrin gibi reseptörleri yapar.

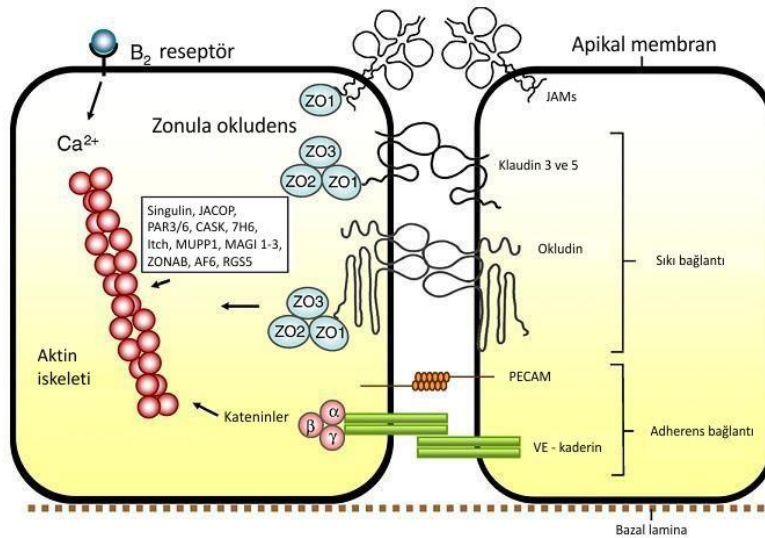
2.2.2.4. Kan-Beyin Bariyerinde Sıkı Bağlantı Yapıları

KBB'nin sıkı bağlantı yapıları Şekil 5'da şematize edilmiştir. Endotel hücreleri adherens ve sıkı bağlantı yapıları olarak adlandırılan özelleşmiş moleküler yapılara sahiptir. Adherens bağlantılar hücre-hücre temasını sağlar ve hücrenin olgunlaşma ve korunmasında iş görür. Sıkı bağlantı yapıları ise iyon ve solut geçişini düzenleyen parasellüler geçişi kontrol eder. Her iki bağlantı hücre içi sinyalleri taşır ve endotel hücre fonksiyonuna katkı sağlar (Bazzoni ve Dejana 2004; Dejana 2004; Gonzalez-Mariscal ve ark. 2008; Wallez ve Huber 2008; Dejana ve ark. 2009; Matter ve Balda 2003; Huber ve ark. 2001).



Şekil 5 KBB'deki endotel hücrelerinin temas bölgelerindeki sıkı bağlantı yapılarının görünümü (Engelharth ve Sorokin 2009).

Çok sayıda kan kaynaklı makromolekül ve polar maddelerin beyin parankimine ulaşmasını beyin kapiller endoteli, koroid pleksus epiteli ve araknoid epitel hücreleri arasında yerleşik sıkı bağlantı yapıları engeller. Beyin kapiller endotel hücreleri arasındaki sıkı bağlantı proteinleri başlıca okludin ve klaudinlerden oluşur. Adherens ve sıkı bağlantı proteinleri birbirleri ile etkileşim halinde bulunur (Şekil 6).



Şekil 6. KBB'deki endotel hücrelerinin temas bölgelerindeki sıkı bağlantı yapılarının görünümü (Abbott ve ark. 2010).

Bu etkileşimde okludin ve klaudinler sitoplazmaya ZO-1, ZO-2, ZO-3 gibi regülatör bağlantı proteinleri ve singulin ile bağlanmıştır. TJ yapıları içinde ayrıca bağlantı adezyon molekülleri bulunur. Adheren bağlantılar içinde bulunan kaderin proteinleri hücreler arasında bir köprü oluşturur ve bağlayıcı proteinler α (alfa), β (beta), γ (gama) katenin ile sitoplazmaya bağlanırlar (Şekil 5 ve 6).

Okludin ile klaudinler dört temel transmembran üniteye sahipken, bağlantı adezyon molekülleri tek transmembran bölgeye sahiptir. 65 kDa'luk bir ağırlığa sahip olan okludin'in, insan ve kemirgenlerde amino asit dizilimi %90 homoloji gösterir. Okludin proteinin C-sonlanması en çok ZO-1 regülatör proteini ile bağlanır, F-aktin ile direkt ilişki de bulunur (Şekil 5 ve 6). Ca^{++2} bağımsız bir bağlayıcı yapıştırıcı protein özelliğindedir (Şekil 5 ve 6). Okludin'in membrandaki varlığı ve yoğunluğu elektriksel direnç artışı ile paraleldir (Förster 2008; Huber ve ark. 2001). Klaudin, sıkı bağlantı yapısındaki parasellüler geçişi önlemek için komşu endotel hücredeki aynı yapıya bağlanır. Hücre içinde ise ZO-1, ZO-2 ve ZO-3 'ün PDZ (postsynaptic density-95 protein) bölgesi ile bağlanır. Klaudin'in bilinen 20 izoformu bulunmaktadır (Abbott ve ark. 2010). Deneysel alerjik ensefalomyelitis ve glioblastome multiforme'de TJ içinde selektif olarak "klaudin-3" kaybı söz konusudur. Bu kayıp KBB'de bariyer bütünlüğünün bozulması ve fonksiyonel bir bariyer olma özelliğinin yitirilmesiyle sonuçlanmaktadır. Beyin kapiller damar endotel hücre sıkı bağlantıları içinde klaudin-1 ve 5 etkinliği en iyi bilinen proteinlerdir (Abbott ve ark. 2010).

Sıkı bağlantı yapısında bulunan immünglobulin süper ailesinin bir üyesi olan bağlantı adezyon molekülleri genelde lökosit göçünü düzenler. Epitel ve endotel hücre sıkı bağlantılarında bulunan 43 kDa'luk glikozile bir proteindir. Bu protein, üç farklı yapısal bölgeye sahip olup, iki değişebilir immünglobulin bölgesi içeren 215 amino asitlik ekstrasellüler bölge; klasik tip II PDZ bağlayan özellikte 45 amino asitlik kısa bir intrasellüler kuyruktan oluşur. Normal koşullarda bağlantı adezyon molekülleri lökositlerin damar duvarından geçişini engellerken, enflamasyon ve enfeksiyon durumlarında bu hücrelerin mikrodamar dokusundan dokuya daha kolay geçtiği görülmektedir (Bazzoni ve ark. 2000).

Singulin sadece sıkı bağlantı yapısı bulunan endotel ve epitel hücrelerinde bulunur. 140 ve 160 kDa'luk iki izoforma sahip olan singulin'in globüler başı ZO-2,

ZO-3, AF6, JAM, F-aktin ve myozin ile etkileşir (Şekil 5 ve 6). Singulin'in aşırı yapımı ZO-1'in lokalizasyonunun bozulmasına neden olduğu için, normal koşullarda singulin ve ZO-1 arasındaki etkileşimin çok iyi düzenlendiği varsayılmaktadır. Primer hücre iskelet proteini olan aktin de hücre içinde TJ proteinleri ile etkileşerek parasellüler geçirgenliğin kontrolünde önemli bir modülatör görevi üstlenmektedir.

2.2.2.5. Kan-Beyin Bariyerinin İyon Regülasyonu

KBB sadece nöronal fonksiyonların düzgün yürütülebilmesi için çevresel stabiliteyi sağlamakla kalmaz aynı zamanda sahip olduğu iyon kanalları ve taşıyıcı proteinleri yardımıyla sinaptik sinyal fonksiyonların optimal düzeyde sağlanacağı iyonik geçişleri düzenler. Böylece K^+ plazma konsantrasyonu 4,5 mM iken, beyin omurilik sıvı ve beyin intersitisiyel sıvısında 2,5-2,9 mM civarında tutulur. Plazma, K^+ iyonları yemek, egzersiz gibi durumlarda veya kimi patolojilerde değişir. Sonuç olarak, KBB ve kan-beyin omirilik sıvı bariyerleri başta potasyum (K^+), kalsiyum (Ca^{+2}), magnezyum (Mg^{+2}) ve klor (Cl^-) gibi negatif ve pozitif yüklü iyonların beyin ekstrasellüler ortamdaki konsantrasyonlarının düzenlenmesinde önemli rol oynar.

ABC (ATP-Binding Cassette) taşıyıcıları sınıfında iş gören en önemli proteinlerin başında p-glikoprotein (p-gp) ve çoklu ilaca direnç protein (MDR1) gelmektedir. P-gp endotel hücrelerinin luminal tarafında yapılırken, MDR-1 hem luminal hem de abluminal tarafta yapılır (Cecchelli ve ark. 2007; Abbott ve ark. 2010). Beyin endotel hücreleri aynı zamanda birçok aminoasit ve glikoz gibi pekçok esansiyel besin maddesi için solut taşıyıcı proteinleri de yapar. Bu solut taşıyıcı proteinler iki yönlü iş görebilir. Bunlar başlıca organik anyon ve organik katyon taşıyıcı proteinleridir ve ağırlıklı olarak luminal membrana yerleşiktirler (Abbott ve ark. 2010; Zhang ve ark. 2002). Bariyer tipteki beyin kapiller endotel hücreleri aynı zamanda alkalın fosfataz ve gama glutamil transpeptidaz gibi metabolik enzimleri de içerir (Banks 2006; Begley ve Brightman 2003; Abbott ve ark. 2006).

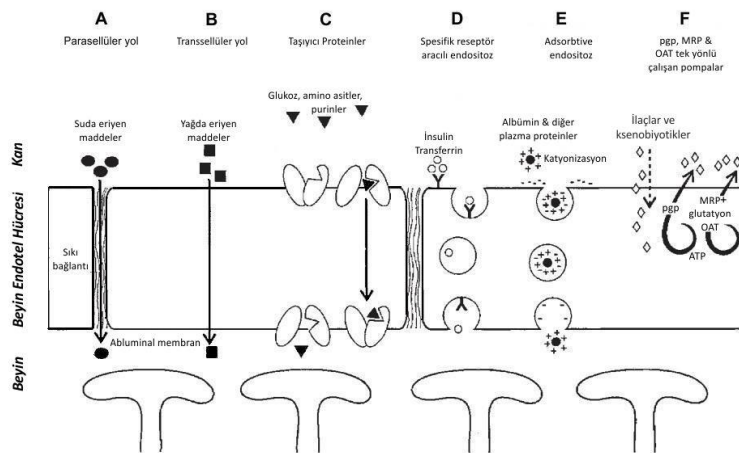
Bariyer tipteki endotel hücre zarında azda olsa su kanalı olarak aquaporin (AQP)-4 bulunur ve astrosit ayak sonlanmalarında AQP-4 yapımı azaldığı zaman su transferinde esas sorumluluğu endotel kaynaklı AQP-4 alır (Amiry-Moghaddam ve ark. 2004; Albertini ve Bianchi 2010; Zelenina 2010). Endotel hücreleri sahip oldukları bu yapılar sayesinde sıkı bir bariyer işlevine sahip olur ve böylece kan ile beyin arasındaki madde taşınmasını sıkı bir şekilde kontrol ederler. Beyin kapiller endotel hücrelerinin

sahip olduğu taşıyıcı proteinler bu hücrelerin özellikle luminal tarafında bulunarak başlıca nörotoksik maddelerin beyne girişini önler ve tedavi için kullanılan ilaçların beyne geçişini oldukça sınırlarlar. Bu sınırlama %95-98 gibi oldukça yüksek oranlarda seyredir (Pardridge 1999, 2005 ve 2007; Cecchelli ve ark. 2007; Abbott ve ark. 2010; Warren ve ark. 2009).

2.2.2.6. Kan-Beyin Bariyerinden Madde Taşınması

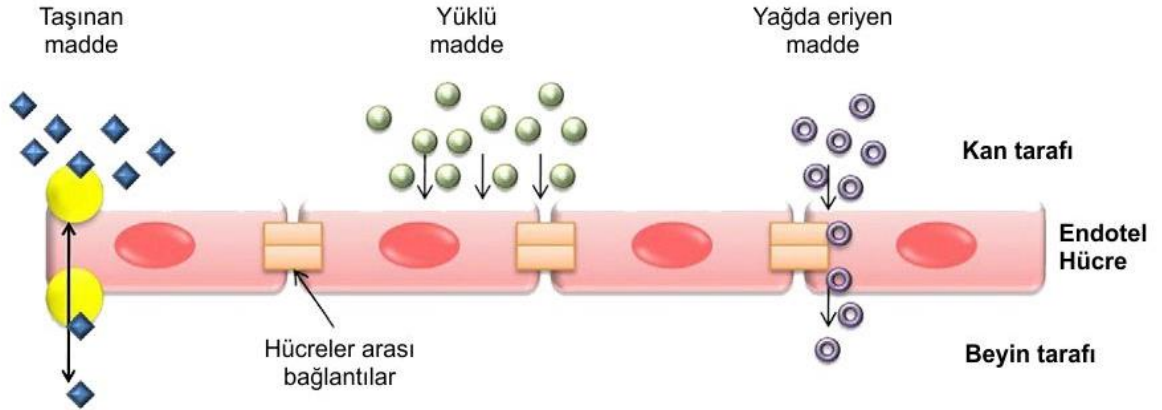
Kan dolaşımındaki maddelerin KBB'den geçişi ve beyin parankimine girişi birçok faktöre bağlıdır. Bunlardan KBB'ye ait faktörler başlıca; maddenin molekül ağırlığı, molekülün konformasyonel değişim kabiliyeti, hücrenin enzimatik sabitliği, hücresel sekresyon, akıma karşı afinite (p-gp), hidrojen bağlayıcı potansiyeller, taşıyıcılara karşı afinite sayılabilir (Huber ve ark. 2001). Diğer faktörler ise başlıca sistemik enzimatik sabitlik, plazma protein bağlayıcıların afinitesi, beyin kan akımı ve mevcut patolojik koşulların etkisi olarak söylenebilir (Huber ve ark. 2001). Bariyer tipteki endotel hücrelerinde bulunan taşıma sistemleri genellikle bu hücrelerin luminal yüzünde bulunup kan ürünleri ile temas halindedir ve bu sayede beyindeki ihtiyaca bağlı olarak gerekli olan maddenin taşınmasını gerçekleştirirler. Beyinde yapılan birçok madde ve artık ürünlerin kana geçişine izin veren sistemler ise endotel hücrelerinin beyin parankimine bakan abluminal yüzünde bulunur.

Beyinde bariyer tipteki endotel hücreleri madde taşıma işlevini başlıca; basit difüzyon, kolaylaştırılmış difüzyon, primer aktif taşıma, sekonder aktif taşıma, kaveolar veziküler taşıma yollarından birini veya birkaçını kullanarak gerçekleştirir (Şekil 7).



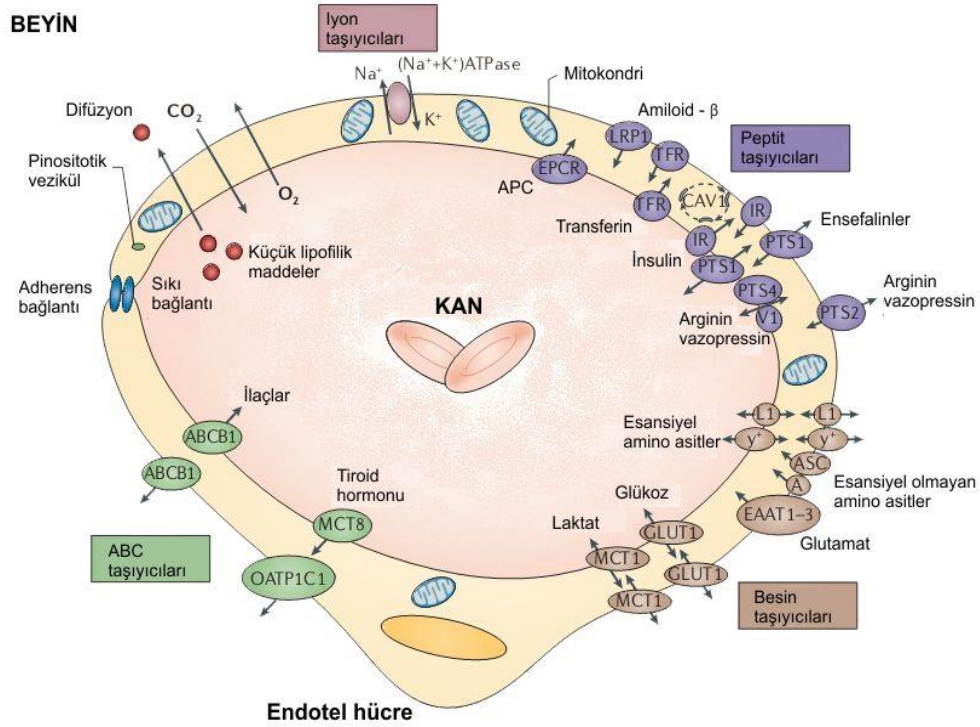
Şekil 7 Beyin bariyeri tipteki damar endotel hücrelerinde çift yönlü madde taşıma yolları (Neuwelt, 2004).

Diğer taraftan bir maddenin KBB'den taşınmasında başlıca o maddenin yağda çözünürlüğü, difüzyon yeteneği, molekül ağırlığı ve elektrik yükü oldukça önemlidir (Şekil 8).



Şekil 8. Yağda eriyebilen maddeler ile elektriksel olarak yüklü maddelerin KBB endotel hücrelerinden taşınması. Yağda eriyebilen maddeler lipid membranlardan kolayca taşınırken elektriksel yüklü moleküllerin bu yolu kullanamadığı görülmektedir (Abbott ve ark. 2006).

Beyinde bariyer tipteki damar endotel hücreleri iki yönlü çalışarak ihtiyaç duyulan maddeleri beyin tarafına ve atılması gereken maddeleri de kan damarı lümenine taşımak için besin maddesi, peptid, iyon ve ABC gibi çok sayıda özelleşmiş taşıyıcı veya yapılara sahiptir (Şekil 9).



Şekil 9. KBB’de madde taşıma mekanizmaları (Zlokovic 2011).

Şekil 9’da gösterilen bu taşıyıcılardan özellikle ABC taşıyıcıları fizyolojik koşullarda KBB, beyne terapötik ilaçların geçişinde hız sınırlayan ve bu ilaçların etkin tedavi dozunda beyne ulaşmasını engelleyen en önemli bir faktörlerdir (Grant ve ark. 1998).

2.2.2.7. Kan-Beyin Bariyerinin Gelişimi

Kemirgen beyinde mikrodamarlar oluşurken bunların bariyer özellikleri 16-17. embriyonik günde tamamlanır. Kapiller damarların endotel hücrelerinde bariyer özelliklerinin tamamlanmasında başlıca vasküler endotelial faktör ve reseptörleri ile anjiyopöietinler rol oynar (Risau ve Wolburg 1990; Mancuso ve ark. 2008; Tam ve Watts 2010; Davis ve Yancopoulos 1999; Lindahl ve ark. 1997; Armulik ve ark. 2010; Daneman ve ark. 2010). Son çalışmalarda astrosit ve perisitlerin bariyer oluşumuna katkı verdiği gösterilmektedir (Risau ve Wolburg 1990; Mancuso ve ark. 2008; Tam ve Watts 2010; Davis ve Yancopoulos 1999; Lindahl ve ark. 1997; Armulik ve ark. 2010; Daneman ve ark. 2010).

2.2.2.8. Kan-Beyin Bariyerinin Yaşla Değişimi

Beynin olgunlaşmasında rol oynayan en önemli faktörlerden birini KBB oluşturur. KBB'nin seçici geçirgen özelliği vücut gelişimi sırasında değişebilir (Stonestreet ve ark. 2000). KBB tam olarak oluşuktan sonra özellikle prenatal dönemde ve postnatal dönemin ilk evrelerinde daha az geçirgendir, bu durum gelişmekte olan beyni nöronal fonksiyonları bozacak faktörlerden de korur. Diğer taraftan erişkin kemirgenlerde, KBB'nin hormonal kontrol altında olduğu ileri sürülmüştür (Ziylan ve ark. 1988).

Kortikosteroidlerin KBB yapısı üzerine etki ederek genelde koruyucu işleve sahip oldukları gösterilmiştir (Stonestreet ve ark. 2000). Traser olarak Evans mavisinin kullanıldığı bir çalışmada, KBB'nin gebe olmayan dişi sıçanlar ile gebe sıçanlar arasında anlamlı fark göstermediği tespit edilmiştir (Oztas ve ark. 1993). Sonuç olarak, KBB'deki geçirgenlik özellikleri canlının gelişim süreci, yaş ve hormonal etkiler ile değişebilmektedir.

2.2.2.9. Beynin Beslenmesi

Beyin normal ihtiyaçlarını gidermek için temelde ihtiyacı olan besin maddelerini depolama yeteneğine sahip değildir. Bu nedenle beyin ihtiyacı olan besin maddelerine hızlıca ulaşması için kapiller damarlar yardımcı olur ve bu yapıların zarları üzerinde bol miktarda spesifik taşıyıcılar mevcuttur. Bu taşıyıcılar özellikle embriyonel gelişim sürecinde endotel hücre zarında kendilerine ait özgün bölgelere yerleşirler. Nöronların beyin ihtiyacının karşılanmasında endotel hücrelerinden sonra astrositler ayak sonlanmaları ile önemli iş görür (Abbott 2005). Ayrıca beyin parankimindeki hücrelerin beslenmesi için perisit, mikroglia ve sinir terminalleri de beyin kapiller damar endotel hücreleriyle sıkı bir şekilde bağlantıya geçerek madde taşınmasında önemli rol oynarlar. Sonuç olarak, beyindeki bariyerler bir yandan beyin parankimi için stabil bir mikroçevre sağlarken diğer yandan onu kimyasal zararlı etki ve hasarlardan etkin şekilde korumaya çalışır.

2.2.2.10. Kan Beyin Bariyeri Nörotransmitter İlişkisi

Beyinde nöronları uyarıcı yönde etkilediği bilinen glutamat nörotransmitteri plazmada yüksek düzeylerde bulunur. KBB hasarının gerçekleştiği birçok patolojik koşulda KBB'nin açık olması sonucu plazma glutamatın kontrolsüz ve aşırı düzeyde beyin parankimine akışı nörotoksisiteye veya nöronların aşırı uyarılmasına neden olur.

Glutamat hem beyinde hem de periferde bulunduğundan, KBB'nin en önemli görevlerinden biri iki sistemin nörotransmitterlerini ayrı tutmak ve çapraz geçişi önlemektir (Abbott ve ark. 2010; Bernacki ve ark. 2008).

2.2.2.11. Kan Beyin Bariyeri Makromolekül İlişkisi

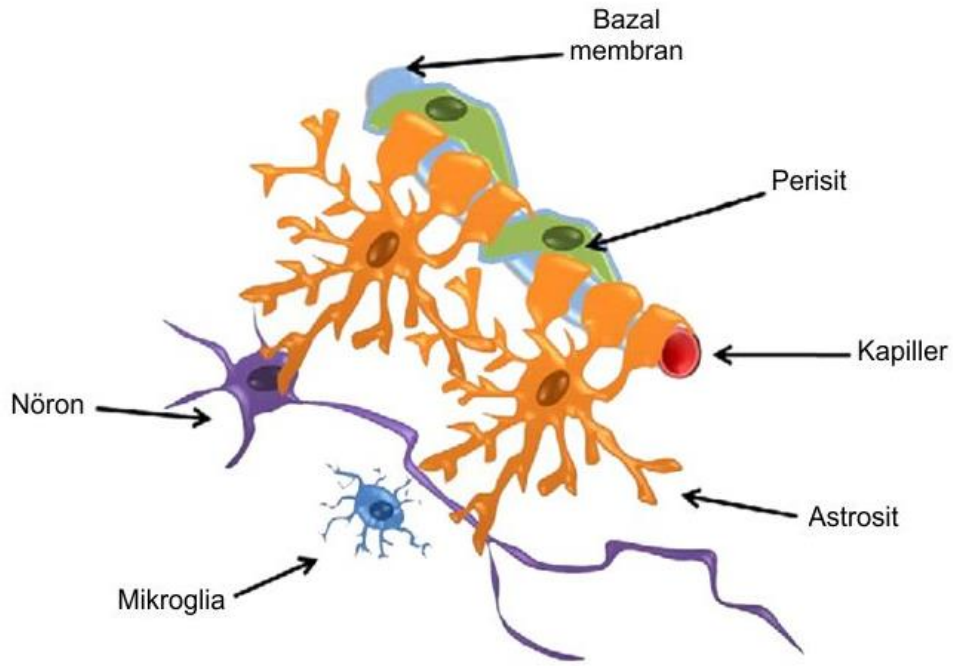
Normal koşullarda sağlam bir KBB birçok makromolekülün beyine girişine engel olur. Beyin omurilik sıvısındaki protein içeriği plazmaya göre oldukça düşüktür ve proteinlerin kompozisyonu birbirinden farklıdır. Albumin, protrombin, plazminojen gibi plazma proteinleri normal koşullarda KBB sayesinde beyin dokusuna ancak fizyolojik etkilerini göstermek için oldukça düşük miktarda taşınabilir (Abbott ve ark. 2010). Normal koşullarda beyine geçemeyen albumin, trombin ve plazmin gibi büyük molekül ağırlıklı birçok plazma proteini, KBB'nin yetmezliğe düşmesi sonucu beyin parankimine aşırı miktarda geçerek başta epileptogenez olmak üzere beyinde birçok patolojik soruna neden olur (Abbott ve ark. 2010; Ivens ve ark. 2007; Friedman ve ark. 2009).

2.2.2.12. Kan Beyin Bariyeri Nörotoksin İlişkisi

KBB'nin en önemli işlevlerinden biri kanda dolaşan nörotoksinlerin beyin parankimine ulaşmasına engel olmasıdır. Nörotoksinler başlıca birçok protein, endojen metabolit, diyet yoluyla alınan ksenobiyotik, ağır metaller ve çevresel kaynaklı maddeler olabilir. Bu maddeler bariyer tipteki endotel hücrelerinin özellikle luminal tarafına yerleşik ve tek yönlü çalışan ABC (ATP-binding cassette transporters) taşıyıcıları olarak adlandırılan pompalar tarafından damar lümenine geri gönderilir. Bu pompaların başında p-gp olarak isimlendirilen bir aktif pompa gelir ve bu pompa nörotoksinleri damar lümenine ATP enerji bağımlı yolla pompalar. Yetişkin bir insanın beyinde bulunan nöronlar herhangi bir toksik etki ve zedelenme karşısında köklü bir rejenerasyon yeteneğine sahip olmadıklarından, sağlıklı her insanın beyinde doğumdan başlayarak yaşam boyunca sabit hızla süren bir nöron ölümü söz konusu olup bu durum daha düşük hızla seyreden bir nöroenezis ile göreceli olarak kompanse edilmeye çalışılsa da yeterli olmamaktadır (Abbott 2005). Sonuç olarak KBB yetmezliğe düşünce beyinde nörotoksik maddelerin artışı söz konusu olmakta ve nörotoksik maddeler nöron ölümünün hızlanmasına, beyin fonksiyonlarında da belirgin ölçüde bozulmaya neden olur (Abbott 2005).

2.2.2.13. Kan Beyin Bariyeri Glial Hücre İlişkisi

Astrositlerin KBB'nin oluşturulması ve bütünlüğünün korunmasında önemli rol oynadığı üzerinde durulmaktadır (Janzer ve Raff 1987). Özellikle glial kaynaklı faktörlerin hem KBB yapımında hem de korunmasında önemli işleve sahip oldukları gösterilmiştir (Hori ve ark. 2004; Lee ve ark. 2003; Wosik ve ark. 2009). Astrositler, KBB endotel hücrelerinin %90'dan fazlasını kuşatarak onlara hem anatomik hem de fonksiyonel destek veren hücrelerdir (Şekil 12).



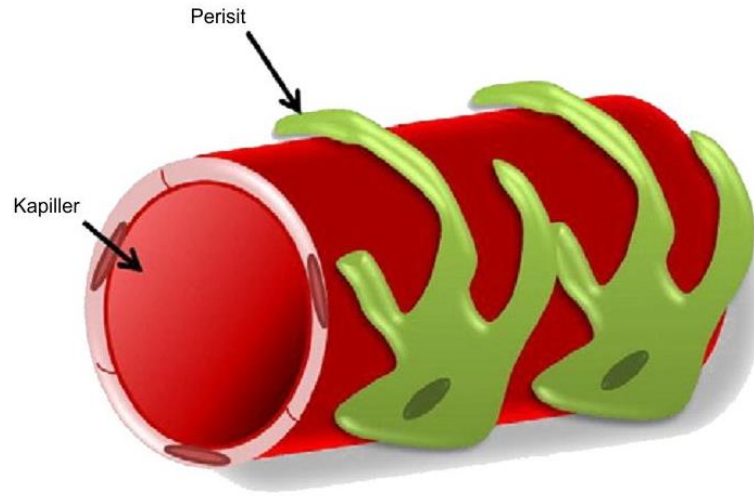
Şekil 10 Astrosit ve mikrogiliaların KBB endotel hücreleri ile ilişkisi (Cardoso ve ark. 2010).

Astrositler Şekil 12'de ifade edildiği gibi beyindeki potasyum (K^+) iyonlarının fazlasını kana atarak, anormal K^+ varlığı ile nöronal aktivasyon sonucu oluşabilecek epilepsi kaynaklı nörolojik bozuklukların önlenmesine ve beyin doku hücreler arası alanının pH kontrolünün sağlanmasına yardım ederler (Sá Santos ve ark. 2005). Bu hücreler aynı zamanda vaskülogenez veya anjiyogenez sırasında KBB'nin gelişmesi ve korunmasında önemli role sahiptir (Miller 1999; Neuwelt ve ark. 2008; Sá Santos ve ark. 2005). Astrositler özellikle ayak sonlanmaları aracılığıyla endotel hücrelerine gönderdikleri sinyallerle, TJ yapılarını etkileyerek KBB'nin sağlamlığını korumasına katkıda bulunurlar (Neuwelt 2004). Astrositlerin sitoplazmasında mikrofilament

yapıdaki glial fibriller asidik proteinin (GFAP) varlığı bu hücrelerin tanınmasında yaygın olarak kullanılır. Astrositik aktivite belirteci olarak GFAP miktarı kullanılmaktadır (Eng ve Ghirnikar 1994). GFAP boyanmasındaki artışın, ödemden dolayı glial filament demetlerinin ayrılmasından veya sentezindeki artıştan dolayı olduğu düşünülmektedir (Eng ve Ghirnikar 1994). Ancak, astrosit-endotel arasındaki ilişki henüz çok iyi bilinmemektedir ve yeni çalışmalarla aydınlatılmaya çalışılmaktadır.

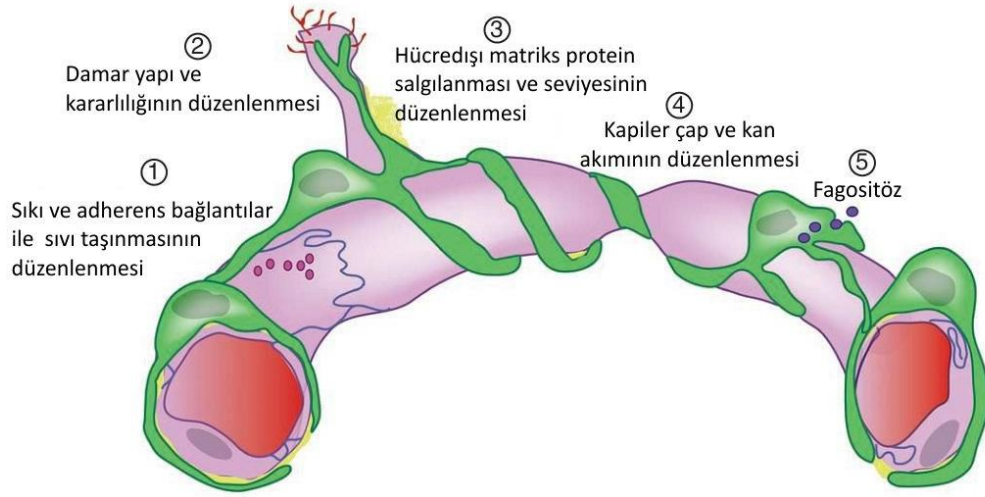
2.2.2.14. Kan-Beyin Bariyeri Perisit İlişkisi

Endotel hücreleri ile aynı bazal membranı paylaşan perisitler, KBB'nin korunmasına iş görürler (Lindahl ve ark. 1997; Peppiatt ve ark. 2006; Nakagawa ve ark. 2007). Beyindeki mikrodamarların abluminal tarafında bolca bulunan ve bazal lamina tarafından kuşatılan perisitler, beyin parankiminin kapiller ağı üzerinde serpiştirilmiş halde bulunur (Şekil 13).



Şekil 11 Perisitlerin KBB endotel hücreleri ile çok yakın temas ilişkisi (Cardoso ve ark. 2010).

Neredeyse endotel hücrelerini örtecek şekilde kapillerin dışını kapatırlar. Bir perisit hücresi 5-6 endotel hücrelerini örtmeye veya kuşatmaya çalışır. Sonuç olarak, perisitler, endotel ile yakın ilişkiye girerek beynin savunulmasında KBB'nin ikinci bir hattı gibi iş görür ve sıklıkla astrositlerle temas halinde bulunarak endotel hücrelerine destek olacak şekilde aşağıda belirtilen birçok görevi üstlenir (Şekil 14).



Şekil 12. Perisitlerin KBB endotel hücreleri ile ilişkisi (Winkler ve ark. 2011).

Perisitlerin endotel hücre çoğalmasını, canlılığını, göçünü, farklılaşmasını ve damarsal dallanmayı düzenlediği ileri sürülmüştür (Hellström ve ark. 2001). Perisitlerin aynı zamanda beyin mikrodamarlarının kasılmasında aracı bir rol oynadığı ileri sürülmüştür (Yemisci ve ark. 2009). Perisitler başta endotel hücreleri olmak üzere komşu hücrelerle ilişkide etkilerini otokrin veya parakrin yolu kullanarak sağlarlar (Yemisci ve ark. 2009).

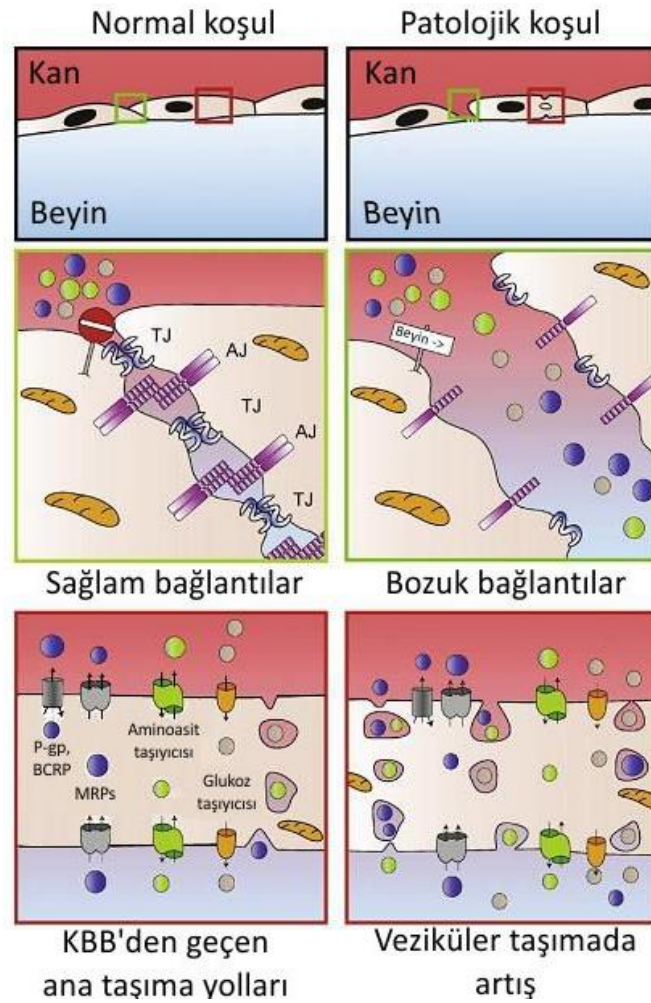
Perisitler KBB fonksiyonu ve anjiyogenez üzerine olan etkilerini başlıca TGF- β , ANG-1 ve 2, PDGF (Platelet derived growth factor) ve sfingozin-1 fosfat gibi faktörlerle gerçekleştirir (Dore-Duffy ve ark. 2000). Perisitler anjiyogenez üzerine etki ederken kapiller damar çapının belirlenmesinde de etkin rol oynarlar (Nag 2003; Peppiatt ve ark. 2006; Ramsauer 2002). Perisitler KBB'nin fonksiyonel çalışmasını destekleyen immunmodülatör maddeler salgırlar (Miller 1999). Perisitler aynı zamanda beyinde fagositoz görevi görür ve beyine ulaşan kan kaynaklı proteinleri fagosit eder (Miller 1999). Fagositik kapasite ve yetenekleri ile beyin ekstrasellüler sıvısını temizlemenin yanında, immün yanıtla da ilgilenecek KBB'de ikinci bir savunma hattı oluştururlar. Bu işlevlerin sonucu olarak, nöronlar için homeostatik bir ortamın sağlanmasında başlıca iş gören KBB'ye katkı verirler. Diğer yandan, KBB yetmezliğini ortaya çıkaran hipoksi ve travmaya cevap olarak perisitlerin kapiller yataktan uzaklaştıkları bilinmektedir.

2.2.2.15. Kan-Beyin Bariyeri Nöron İlişkisi

Nörovasküler ünitenin bir üyesi olarak bu yapıdaki diğer hücrelerle direkt veya dolaylı bir şekilde bağlantı halinde bulunur. Ancak, KBB üzerine olan fizyolojik veya patofizyolojik etkileri hakkında detaylı bir bilgi mevcut değildir.

2.2.2.16. Kan-Beyin Bariyeri Patofizyolojisi

Normal koşullarda sıkı bir bariyer görevi gören KBB patolojik koşullarda fizyolojik işlevini yitirmekte ve bunun sonucu olarak kan kaynaklı istenmeyen maddeler aşırı miktarda beyin parankimine geçmektedir. KBB'nin patolojik bir koşulda yıkılması ile kan kaynaklı maddeler ya sıkı bağlantıların açılmasıyla parasellüler yolu kullanarak ve/veya pinositotik vezikül sayısındaki artış sonucu transsellüler yolu kullanarak beyine geçerler (Şekil 15).



Şekil 13 Patolojik koşullar sonucu KBB yetmezliği ve istenmeyen maddelerin beyine geçişi (Paolinelli ve ark. 2011)

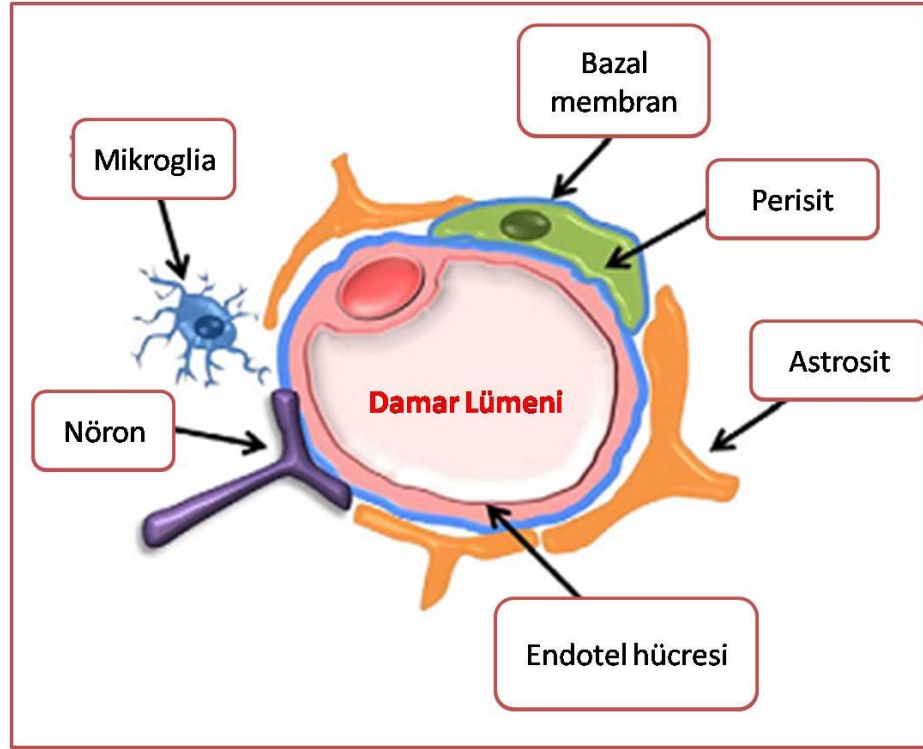
Bu patolojik koşulların başında akut veya kronik hipertansiyon, radyasyon, hiperosmolar solusyonlar, iskemi, enfeksiyon, travmatik beyin hasarı, ensefalomiyelitis gelmekte ve bunlar KBB geçirgenliğinde artışa neden olmaktadır. Patolojik koşullardaki çeşitli faktörler ilaçların biyoyararlanımındaki değişikliklere, yani KBB'yi temelde etkileyerek protein taşıyıcıları, reseptör yeri ve enzimlerdeki değişikliklere neden oldukları için ilaçların geliştirilmesinde dikkate alınmalıdır (Kaya ve ark 2004; Kucuk ve ark. 2002; Arıcan ve ark 2006; Blackwell ve Christman 1996; Tetzlaff ve ark. 2003). Sonuç olarak KBB'deki spesifik değişiklikler TJ'ların açılması, kaveolar aracılı pinositik aktivite artışı, bazal membran stabilitesinin azalması, hastalık veya toksinlerin neden olduğu besin taşınımındaki değişiklikler ve por oluşumu ilacın biyoyararlanımını azaltabilir veya artırabilir.

KBB'yi açmak ve istenen süre açık tutup tekrar kapatmak özellikle nörodejeneratif hastalıkların tedavisi için hayati anlamda önemlidir. Bu amaçla, son yıllarda yapılan çalışmalarda, KBB geçirgenliği hiperosmolar mannitol kullanılarak büyük oranda arttırılırken magnezyum tedavisi ile düzeltilmeye çalışılmıştır (Kaya ve ark. 2004; Neuwelt ve ark. 1979). Ayrıca, fizyolojik koşullarda KBB'yi özellikle endojen fizyolojik etkili maddelerle açma konusunda çok sayıda çalışma mevcuttur (Zhang ve ark. 2007; Sanovich ve ark. 1995). Bahsi geçen bu endojen maddelerin başında eikosanoidler, serbest radikaller, histamin, bradikinin, serotonin, sitokinler, platelet aktive eden faktör, kompleman faktörler, araşidonik asit ve metabolitleri sayılabilir.

Diğer yandan, KBB yıkımının MSS patolojilerinde anahtar rol oynadığı ortaya konulmuştur. KBB çalışmaları gittikçe artan yoğunlukta fizyologlar, patologlar, nörologlar ve nörobilimciler tarafından ilgi odağı haline gelmiştir. Normal koşullarda başlıca KBB tarafından sağlanan nöronal homeostazis, enflamasyon, sepsis, beyin tümörleri, hipertansiyon, epilepsi gibi birçok patolojik koşulda KBB'nin yetmezliğe düşmesi halinde bozulur.

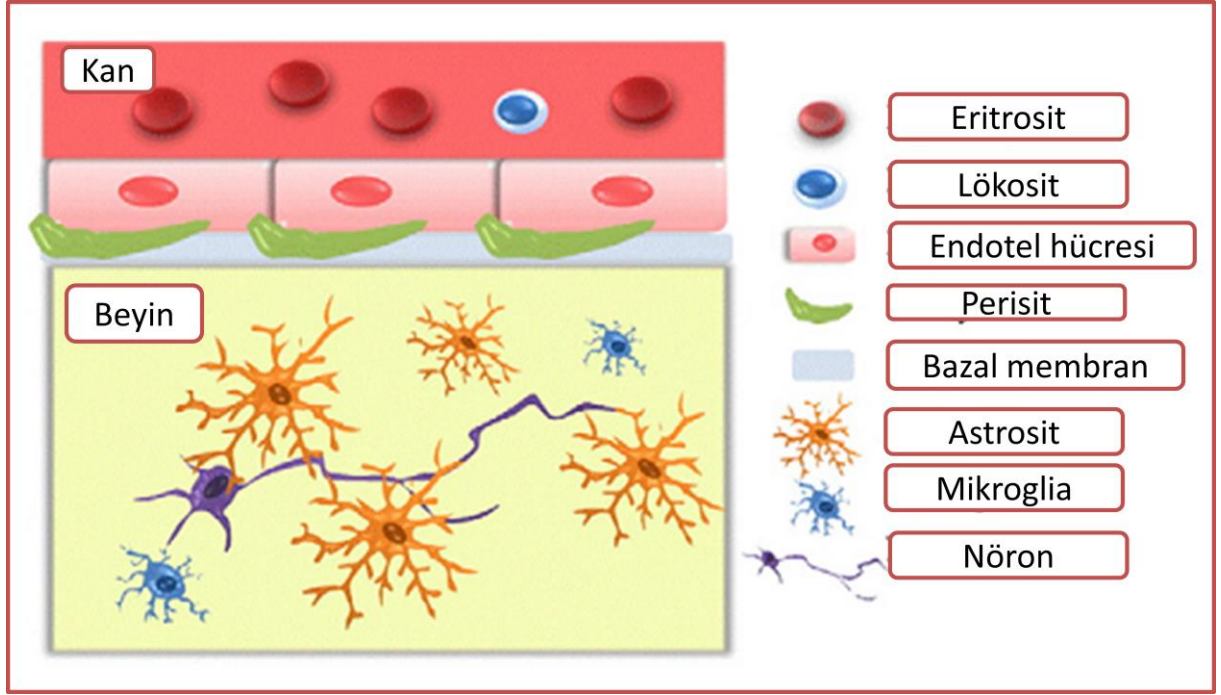
2.3. Nörovasküler Ünite ve Özellikleri

Nörovasküler ünite oldukça özelleşmiş hücreler topluluğundan oluşur ve bu hücreler başlıca kapiller endotel, perisit, astrosit ve nöronlardan ibarettir (Şekil 10).



Şekil 14 Nörovasküler üniteyi oluşturan hücresel elemanların görünümü (Abbott ve ark. 2006).

Endotel hücreleri özellikle perisitler ile ortak bir bazal membranı paylaşır, astrosit ayakları ve nöronlar bu bazal membranla temas halindedirler (Abbott ve ark. 2006; Hawkins ve Davis 2005; Wolburg ve ark. 2009). Beyinde bariyer tipteki damarların endotel hücreleri bir difüzyon bariyer özelliğinden sorumlu olup ekstrasellüler matriks ile nörovasküler ünitenin diğer hücresel elemanları ile karşılıklı konuşma ve haberleşme halindedir (Bernacki ve ark. 2008). Bu haberleşme bariyer tipteki endotel hücrelerinin morfolojisini, biyokimyasını ve fonksiyonunu etkiler ve bu endotel hücrelerini vücudun diğer bölümlerindeki endotel hücrelerinden ayırır (McCarty 2009; Paolinelli ve ark. 2011). Sonuç olarak, nörovasküler ünitenin tüm yapıları sürekli bir etkileşim halinde çalışarak KBB yapısının sağlam bir şekilde işlev görmesini sağlar (Şekil 11).



Şekil 15 Kandan beyine veya beyinden kana madde taşınmasında esas rolü üstlenen endotel hücreleri ve bu hücrelerle ilişkide olan nörovasküler ünitenin diğer elemanları görülmektedir (Cardoso ve ark. 2010).

2.4. Sepsis

Ciddi sepsis ve septik şok, kontrol edilemeyen bir enfeksiyon ile karakterize edilen bir patoloji olup beyin dahil tüm organları etkiler. Özellikle yoğun bakım ünitelerinde antibiyotik kullanımına rağmen klinik bakterial enfeksiyonlarda en önemli ölüm nedenlerinden biri septik şokun sıklığıdır. Septik şok koşullarında monosit, makrofaj ve diğer lökosit hücreleri tarafından salgılanan (Morrison ve Ryan 1987; Glauser ve Zanetti 1991; Billiau ve Vandekerckhove 1991) ve kana verilen başta tümör nekroz faktör (TNF)-alpha ve interlökin (IL)-1 olmak üzere bol miktarda sitokin septik şokun patogeneğinde önemli rol oynar (Alexander ve ark. 2008; Billiau ve Vandekerckhove 1991; Calandra ve ark. 1990; Tsao ve ark. 2001; Van Furth ve ark. 1996). Ağır sepsis sonucu ortaya çıkan septik ensefalopati yoğun bakım ünitelerinde görülen en yaygın ensefalopati formu olup dikkat ve konsantrasyon bozukluğundan nöbetlerin ortaya çıkmasına, KBB yıkımı ve komaya kadar giden ağır bir tabloya neden olur (Davies 2002; Basler ve ark. 2002; Ari ve ark. 2006; Flierl ve ark. 2010).

Sepsis sırasında ortaya çıkan mekanizmaları öğrenmek için hem bir bakteriyel endotoksin olan lipopolisakkarid (LPS) hem de çekal ligasyon ve perforasyon (ÇLP)

modelleri hayvanlar üzerinde uygulanmaktadır. LPS'nin periferik enjeksiyonu sonucunda hem perifer hem de beyinde özellikle mikrogliyalarda IL-1 beta, IL-6 ve TNF-alfanın gen ve protein yapımında artışa neden olduğu bildirilmiştir (van Dam ve ark. 1992; Gatti ve Bartfai 1993; Breder ve ark. 1994; Quan ve ark. 1999).

Hayvan modellerinde LPS uygulanmasının KBB'yi küçük veya büyük molekül ağırlıklı traserlere karşı geçirgen hale getirdiği gösterilmiştir (Rosenberg ve ark. 2007; Gaillard ve ark. 2003; Nooteboom ve ark. 2002; Boje 1995 ve 1996; Shukla ve ark. 1995; Temesvari ve ark. 1993; Mayhan 1998). ÇLP uygulanan hayvan modellerinde oluşturulan septik koşullarda yine KBB'nin yıkıldığı bilinmektedir (Clawson ve ark. 1966; Toklu ve ark. 2009; Esen ve ark. 2005; Avtan ve ark. 2011). Ancak, septik koşullarda KBB yıkımına neden olan hücresel olaylar henüz çözümlenememiştir. Bu konuda yapılan ilk çalışmalarda KBB yıkımına neden olan olayların başında endotel hücrelerinde pinositotik vazikül artışı gösterilirken (Clawson ve ark. 1966), sepsis sırasında beyin mikrodamarları ve astrosit ayaklarında ödem yanında endotel hücre zarında haraplanmalar tespit edilmiş ancak bu koşullarda sıkı bağlantı yapılarının sağlam kaldığını gösterilmiştir (Papadopoulos ve ark. 1999).

Sepsis sırasında KBB'nin yıkılmasıyla toksik maddelerin ve kan kaynaklı enflamatuar hücrelerin beyne geçtiği beyinde enflamasyonun başlamasına ve nöronal hasara neden oldukları ileri sürülmüştür (Jacob ve ark. 2011; Nishioku ve ark. 2009). Septik ensefalopati sırasında görülen KBB'deki bozulmaya TNF-alfa dahil olmak üzere kandaki miktarı artmış sitokinlerin neden olduğu bildirilmiştir (Tsao ve ark. 2001; Alexander ve ark. 2008; Chesler ve Reiss 2002).

Nöron ve glial hücrelerin IL-1 beta kaynağı oldukları bilinmektedir (Benveniste 1992; Bartfai ve Schultzberg 1993; Hopkins ve Rothwell 1995). Aynı zamanda, periferik kaynaklı TNF-alfa ve IL-1 beta'nın KBB'den geçtiği bilinmektedir. IL-6'nın astrositlerde aşırı miktarda yapıldığı transgenik fare modelinde gliosis, nörodejenerasyon, anjiyogenez artışı, epileptogenezin ortaya çıkışı ve KBB'de bozulma olduğu çok sayıda araştırmacı tarafından rapor edilmiştir (Chambel ve ark. 1993; Chiang ve ark. 1994; Brett ve ark. 1995).

Epilepsi, dünyada 50 milyon üzerinde insanı ilgilendiren önemli bir sağlık problemi olup bunlardan 5 milyonu ayda en az bir kere nöbet geçirmektedir (Porter 1988). Kronik enflamatuar problemlere sahip hastalarda nöbet sıklığının normal

populasyondan daha fazla olduğu ileri sürülmüştür (Kidd ve Urban 2001). Nöbetler sırasında hemen sitokin salgılamaya başlayan mikrogliya ve astrositlerin beyindeki proenflamatuvar sitokin kaynakları olduğu ve aynı zamanda sitokin reseptörlerinin de beyinde başlıca glia ve nöronlarda bulunduğu bildirilmiştir (Vezzani 2005).

Yukarıda detaylı olarak anlatıldığı üzere, KBB normal şartlar altında kan kaynaklı madde ve immün hücrelerin beyine geçişini kontrol ederken, nöbetlerin dahil olduğu birçok patolojik koşulda bu kontrolü kaybeder. Özellikle KBB bütünlüğünde meydana gelen bir yetmezlik ve enflamasyonun tetiklenmesi epilepsi dahil birçok nörolojik patolojinin ortaya çıkmasında önemli rol oynar (Ravizza ve ark. 2011; Vezzani ve ark. 2011; Krizanac-Bengez ve ark. 2004).

Rasmussen ensefaliti kronik beyin enflamasyonu sırasında mikrogliya, astrosit, KBB endotel hücreleri ve periferik immün hücrelerin aktive oldukları gösterilmiştir (Rasmussen ve ark. 1958). Nöbetleri olan bazı hastalarda immün sistem aktivasyonu ile elde edilen bilgiler ile otoimmün hastalıklarda nöbetlerin sıklığında artış gözlenmiş, immün ve enflamatuvar mekanizmaların epilepsinin bazı tiplerinde önemli role sahip oldukları ileri sürülmüştür (Vezzani ve Granata 2005; Aarli 2000).

Beyinde başlıca astrositler tarafından yapılan AQP-4, KBB'nin endotel hücreleri üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Astrositlerde AQP-4 yapımı azaldığında su transferinde sorumluluğu endotel hücreleri tarafından yapılan AQP-4 alır (Amiry-Moghaddam ve ark. 2004; Albertini ve Bianchi 2010). Endotel hücrelerinde yapılan AQP-4 miktarı normalde çok azdır ve bu yapı endotel hücrelerinin hem luminal hem de abluminal bölgelerine dağılmıştır (Nagelhus ve ark. 1998 ve 2004; Kobayashi ve ark. 2001; Amiry-Moghaddam ve ark. 2003).

Su moleküllerinin hem beyine girişi hem de çıkışını sağlayan AQP-4 miktarındaki değişikliklerle hücre içi ve dışı alanların su miktarındaki oynamalar epileptik nöbetlere meyili arttırır (Agre ve ark. 2002; Papadopoulos ve ark. 2004). Hipotonik bir etki ile hücre dışı volümdeki bir azalma hipereksitabiliteye ve epileptogeneze neden olurken hiperosmolar etki ile nöbetler azalır (Hsu ve ark. 2007; Dudek ve ark. 1990; Roper ve ark. 1992; Pan ve Stringer 1996; Traynelis ve Dingledine 1989; Chebabo ve ark. 1995). Normal beyinde AQP-4 intakt KBB için kritik bir faktör olarak iş görmez, ancak herhangi bir patolojik koşulda KBB üzerine oldukça önemli

etkiler yapabilir (Badaut J, Ashwal S 2011, 819). Artmış AQP-4 mRNA yapımı KBB hasarı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Vizuete ve ark. 1999).

Sonuç olarak, KBB'yi oluşturan beyin kapiller endotel hücreleri normal koşullarda nöronal homeostazisi koruyarak başta nöronlar olmak üzere beyin parankiminde bulunan diğer hücrelerin fizyolojik koşullarda çalışmasını sağlar. Ancak, etkili bir patolojik koşulda KBB'nin sıkı bariyer niteliğini yitirmesi nöronal homeostatik çevrenin bozulmasına ve bunun sonucu olarak başta albumin ve kan kaynaklı potasyum iyonlarının beyine aşırı girişine sebep olur, bu maddeler de nöronal aktiviteyi değiştirebilirler (Seiffert ve ark. 2004; Tomkins ve ark. 2007).

Epileptogenezde enflamatuar olayların rolünü ortaya çıkarabilmek ve özellikle enflamatuar koşullar altındaki KBB ile epileptogenez arasındaki ilişkiyi belirlemek için birçok deneysel epilepsi modeli çalışılmıştır (De Simoni ve ark. 2000; Turrin ve Rivest 2004; Kaya ve ark. 2008). Diğer taraftan, beyinde immün aracılı hasarın epileptogenezin ortaya çıkmasına önemli bir katkı vermekte ve bu işi hem direkt enflamatuar etki ile hem de KBB'yi bozarak yapmaktadır (Kleen ve Holmes 2008). Böylece enflamatuar koşullardan etkilenen bir KBB yapısının epileptik nöbetlere vereceği yanıt ortaya çıkacak beyin hasarı ciddiyeti bağlamında önemli olacaktır. Daha da ötesi, septik koşullarda oluşturulan epileptik nöbetlere KBB'nin vereceği cevapta transsellüler ve/veya parasellüler yollardan hangilerinin ön plana geçtiğini öğrenmek KBB'yi kontrol etmede önemli olacaktır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada 200-250 gram ağırlığında 64 Sprague Dawley genç erişkin dişi sıçan kullanıldı. Hayvanlar İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü'nden temin edildi. Deneyler başlıca; kontrol, sepsis, pentilentetrazol (PTZ) ve sepsis + PTZ gruplarından oluşturuldu. Her grupta 2 alt parametre incelenmiş ve 8 hayvan EEG ile immünohistokimyasal değerlendirme, 8 hayvan da KBB geçirgenliğindeki değişiklikleri göstermek için kullanılmıştır. Hayvanların diyet programları ve bakımı İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü'nde (DETAE) gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimince desteklenmiş (Proje No: 4549) ve İstanbul Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun (HADYEK) 97/2009 no'lu kararıyla onaylanmıştır.

3.1. Sepsis Oluşturulması:

Rittirsch ve arkadaşları tarafından önerilen çekal ligal perforasyon (ÇLP) metodu uygulanarak sıçanlarda sepsis oluşturuldu (Şekil 16; Rittirsch 2009).



Şekil 16 Çekal ligasyon perforasyon yöntemi ile sıçanda sepsis oluşturulması (Rittirsch ve ark. 2009).

Bu işlem için kloral hidrat (360 mg/kg, I.P.) anestezisini takiben hayvanın batin bölgesi %70'lik alkollü pamukla temizlendikten sonra aseptik koşullarda açılarak çekum açığa çıkarıldı. Bu aşamada mezenterik damarların kanatılmamasına özen gösterildi. Çekum ligasyonunu takiben, ağır sepsis oluşturmak için çekum ile çekal valfa oldukça yakın bir noktadan bağlandı ve yeşil renkli enjektör iğnesiyle (18 G) çekum iki taraflı delinerek bir miktar barsak içeriği dışarı çıkarıldı. Takiben çekum tekrar batına yerleştirildi ve iç dış deri dikilerek kapatıldı. Serum fizyolojik (37°C'de 100 gram vücut ağırlığına 5 ml) hayvanın sırt bölgesinden deri altına subkutan olarak enjekte edildi ve hayvanlar kafeslerine alınarak takip edildiler. Kontrol grubundaki hayvanlara ise ÇLP oluşturulmadan sadece batin bölgesi açıldı ve takiben kapatıldı.

3.2. Kateterizasyon:

Sıçanların sistemik arteriyel kan basıncını ölçmek için sağ femoral artere bir kateter yerleştirilerek kateterden alınan sinyal yükseltici (trandüser) aracılığıyla kan basıncı monitorize edildi. Madde enjeksiyonu ve kan örneklemeleri için sağ femoral ven kateterize edildi.

3.3. Elektrod Yerleştirilmesi ve Nöbetlerin Değerlendirilmesi

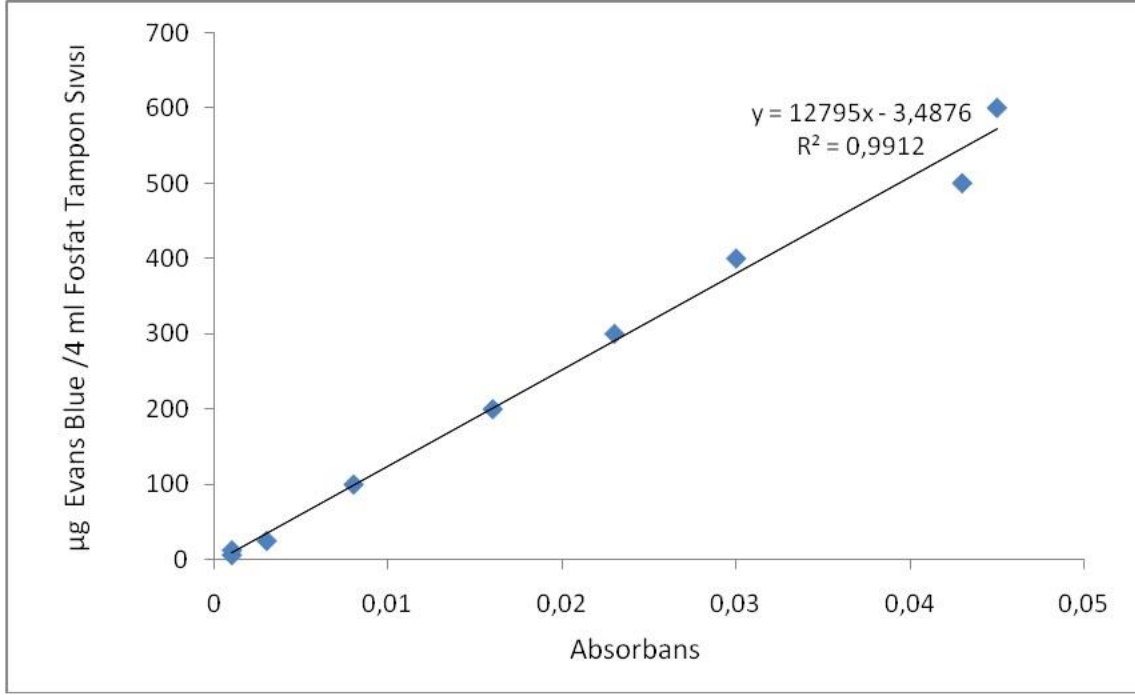
Aseptik koşullar altında kloral hidrat (360 mg/kg, i.p.) ile anestezi edilen hayvanın kafası stereotaksi (Stereotact, World Precision Instruments, Inc., USA) aletine sabitlendi ve kafa derisi orta hat üzerinde açıldı. Paxinos sıçan beyin atlasına göre stereotaksik ölçümler sonucu (bregmadan anterior: -3.8 mm, lateral: $\pm$ 2.0 mm, dorsal: -3.0 mm) sağ ve sol hipokampus CA1 bölgesine bipolar elektrodları yerleştirmek için ve dişçi turu ile birer adet 0.8 mm çapında sag ve sol taraf kafatası kemiğinde delik açıldı. Toprak ve referans kayıt elektrodu işlevi görmek üzere 1 mm çapında bir adet delik bregmanın önünde (Bregmadan anterior: 1.0 mm; Lateral: 2.5 mm) açıldı ve bu deliğe 1.2 mm çapında bir vida yerleştirildi. İkinci vida ise elektrodların kafatası kemiğine sabit kalması için (Bregmadan anterior: -7.0 mm; Lateral: 2.0 mm) yerleştirildi. Sağ ve sol hipokampus CA1 bölgesinden derin doku EEG kayıtlaması yapmak için, teflon kaplı paslanmaz çelik telden yapıli bipolar elektrodlar (teflonlu dış çapı: "0.011 inch" 260 μ m; iletken iç çapı: "0.08 inch" 200 μ m; A-M Systems, Inc. #791900, Carlsborw WA, USA) kullanıldı. Takiben elektrod uçları mini usb soketine bağlandı ve hemen dişçi dolgu materyeli ile kafatası kemiğine sabitlendi. Elektrodların mini usb soketine bağlanması sırasında asla lehimleme metodu uygulanmadı. Böylelikle lehimleme

esnasında ısının tel üzerinden yumuşak dokuya zarar vermesi engellenmiş oldu. Her adımda EEG monitor üzerine sinyal iletisi olup olmadığı test edildi ve elektrodların elektriksel akımı mini usb sokete aktardıkları teyit edildi. Elektrodların yerleştirme işlemi tamamlanınca kafatası derisi kapatılma sırasında lokal analjezik (2 ml/kg, bupivacaine s.c.) uygulandı ve hayvanlar kafeslerine konuldu.

Elektrodların yerleştirilmesinden sonra, hayvanlar tam uyanık hale gelince (6 saat sonra) PTZ ve ÇLP + PTZ gruplarındaki hayvanların hem EEG kaydı hem de video monitorizasyon kaydına başlandı ve hayvanlara 70 mg/kg PTZ intraperitoneal (IP) yolla verilerek nöbetler oluşturuldu. PTZ verilmesinden itibaren 60 dakika süresince hem EEG (Micromed System, İtalya) hem de video monitorizasyon kaydı alındı. Deney sonunda Video EEG monitorizasyon kaydı incelenerek spontan tekrarlayıcı nöbetlerin şiddet ve süresi tayin edildi. Aynı zamanda, Video kayıta klinik karşılığına bakılıp Racine sınıflamasına göre skorlama yapıldı (I-V; Racine,1972).

3.4. Kan-Beyin Bariyeri Değerlendirilmesi

KBB geçirgenliği, intravenöz yolla verilen Evans blue (EB; %2, 5 ml/kg) boyasının beyindeki miktarının ölçülmesiyle tayin edildi. EB boyası verildikten 30 dakika sonra, sıçanlara serum fizyolojik solüsyonu (%0.9 NaCl, pH 7.4, 200 ml) ile yaklaşık 15 dakika transkardiyak perfüzyon yapıldı. Dekapitasyonu takiben beyin çıkarılarak sağ ve sol beyin korteksi ile sağ ve sol hipokampus olmak üzere 4 bölgeye ayrıldı; her bölge önceden daraları alınmış alüminyum folyolarda, hassas terazide tartılarak net doku ağırlıkları hesaplandı. Her bölgeye ait doku parçası 2.5 ml fosfat tamponunda (PBS pH 7.4) homojenize edildikten sonra proteini çöktürmek için eşit miktarda %60'lık triklorasetik asit eklenerek 2 dakika vortekslendi. Örnekler 30 dakika 4°C'de soğutulduktan sonra, 14.000 g'de 10 dakika santrifüj edilerek, süpernatanttaki boya konsantrasyonu spektrofotometre kullanılarak 620 nm dalga boyunda ölçüldü. EB, hazırlanan standart eğriye karşı “µg EB/mg beyin dokusunda” olarak hesaplandı (Şekil 17).



Şekil 17 Evans Blue boyasının standart eğrisi

3.5. İmmünohistokimya

Kontrol, sepsis, PTZ ve sepsis + PTZ gruplarındaki hayvanların beyin bölgelerindeki okludin, mdrl-1 (p-gp) ve akuaporin (AQP)-4 proteinleri immünohistokimyasal yöntemle araştırıldı. Bu amaçla deney sonunda hayvanlar yüksek dozda kloral hidrat (720 mg/kg) ile anestezi edildi ve takiben 200 ml 0.1 M fosfat tamponlu %4 paraformaldehit fiksatif ile sol ventrikülden perfüzyon fiksasyon uygulaması yapıldı. Fiksasyon sonrasında beyinler çıkarılıp, aynı fiksatifte 4°C’de bir gece tutulduktan sonra parafine gömüldü. 3 mikron kalınlığındaki beyin kesitleri üzerinde endotel hücre sıkı bağlantılarında bulunan okludin, endotel plazma membranında ve özellikle astrositik ayak sonlanmalarında bulunan p-gp ve başlıca astrositik ayak sonlanmalarında bulunan ve bir su kanalı proteini olan AQP-4 proteinlerinin immünoreaktivitesi araştırıldı.

Bu amaçla kesitler suya indirildikten sonra endojen peroksidaz inhibisyonu için %3 hidrojen peroksit inkübasyonu yapıldı. Okludin için proteaz enzimi (Sigma; 37°C’lik etüvde 5–7 dakika); p-gp için tris-EDTA tamponu içinde mikrodalga ve AQP-4 için sitrat tampon içinde düdüklü tencere (1 Atmosfer basınç) uygulamaları ile antijen iyileştirme işlemi gerçekleştirildi.

Nonspesifik antikor bağlantılarını önlemek amacıyla blok solüsyonu uygulamasının ardından poliklonal tavşan anti-okludin antikor (1/50, 2 saat; Invitrogen, USA), monoklonal fare p-gp antikor (1/50, 4 °C’de bir gece; ABCAM, UK) ve poliklonal tavşan anti-AQP-4 antikor (1/100, 2 saat; Millipore, San Francisco, USA) ile primer antikor inkübasyonları yapıldı. Takiben bağlanan antikorları işaretlemek üzere biyotinlenmiş sekonder antikor ve streptavidin peroksidaz solüsyonlarını içeren deteksiyon kiti (Skytek, USA) kullanıldı ve aminoetil karbazol kromojeni uygulaması yapıldı. Ardından kesitler, karşıt boyama için Mayer Hematoksilen nükleus boyası ile boyandı. Negatif kontroller için komşu eş kesitlere primer antikor uygulaması yapılmaksızın aynı işlemler yapıldı. Işık mikroskopuna monte edilmiş dijital bir kamera (Nikon, Coolpix 4500) aracılığıyla beyin kesitlerinde hipokampus ve serebral korteksin parietal bölgesinden görüntüler alındı. Her hayvandan en az 100 kapillerde bilgisayar görüntü analiz programı (Image Pro Plus 6.0 software, Media Cybernetics Inc.) ile immünoreaktivite analiz edilerek antikorların immün boyanma şiddetleri tespit edildi.

3.6. İstatistiksel analiz

İstatistiksel analiz için SPSS (Statistical Package for Sociel Sciencis 11.0 ver.) bilgisayar programı kullanıldı. Verilerin genel anlamlılığını değerlendirmek için tek yönlü varyans analizini (one way ANOVA) takiben Turkey ve Wilcoxon testleri kullanıldı. $P < 0.05$ değerleri anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Arterial Kan Basıncı ve Vücut Sıcaklığındaki Değişiklikler

Deney gruplarındaki hayvanların ortalama arteriyel kan basıncı ve rektal sıcaklık değişiklikleri Tablo 1’de verilmiştir. ÇLP grubundaki hayvanların ortalama arteriyel kan basıncı değerleri azaldı, kontrol ve PTZ grubu başlangıç kan basıncı değerleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($P<0.05$). PTZ ve ÇLP + PTZ gruplarındaki hayvanların PTZ verildikten sonra ortaya çıkan nöbetler sırasındaki ortalama arteriyel kan basıncı değerleri hem başlangıç kan basıncı hem de kontrol ve sepsis gruplarındaki hayvanların kan basıncı değerleri ile karşılaştırıldığında anlamlı artışlar gözlemlendi (Tablo 1; $P<0.01$). ÇLP ve ÇLP + PTZ gruplarındaki hayvanların rektal sıcaklık değerleri kontrol ve PTZ gruplarına göre kıyaslandığında arttı (Tablo 1; $P<0.05$).

Gruplar	n	Arteriyel Kan Basıncı (mmHg)		Vücut sıcaklığı (°C)
		Başlangıç	Nöbetler sırasında	
Kontrol	8	105,25±2,79	-	36,87±0,33
ÇLP	8	93,62±3,53 [#]	-	38,08± 0,44 [#]
PTZ	8	108,00±3,76	149,75±4,98*	36, 56±0,36
ÇLP+PTZ	8	91,29±4,89	160,43±11,31*	38,00±0,43

Tablo 1 Deney gruplarındaki hayvanların fizyolojik parametreleri

Deney verileri; ortalama ($\bar{X}$) ± ortalamanın standart hatası (SEM) olarak değerlendirildi. ÇLP grubundaki hayvanların arteriyel kan basınçları kontrol ve PTZ grubundaki hayvan sonuçları ile kıyaslandığında [#] $p<0.05$.

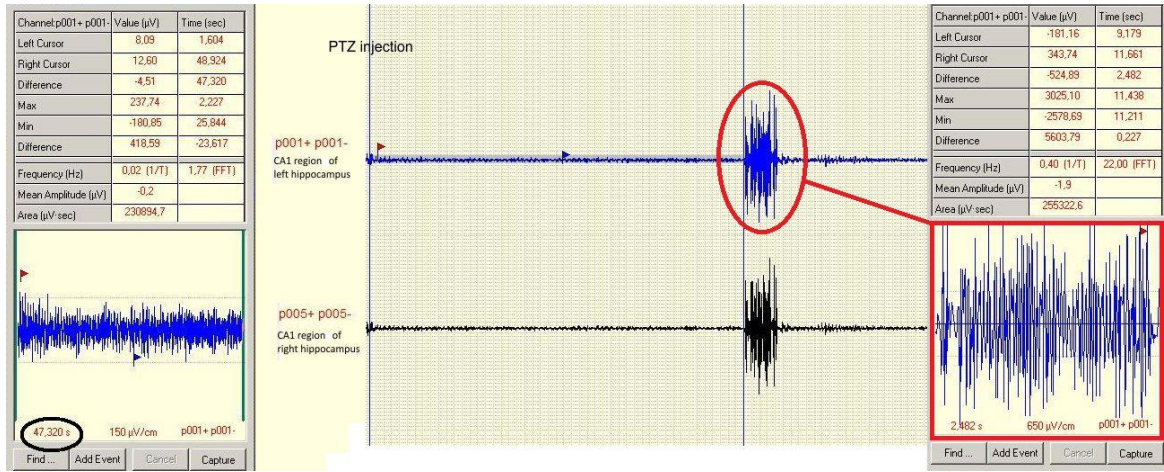
PTZ enjeksiyon sonrasında gözlenen kan basıncı artışı başlangıç değerlerle karşılaştırıldığında * $p<0.01$.

ÇLP grubundaki hayvanların rektal sıcaklıkları kontrol ve PTZ grubundaki hayvanların verileri ile kıyaslandığında [#] $p<0.05$.

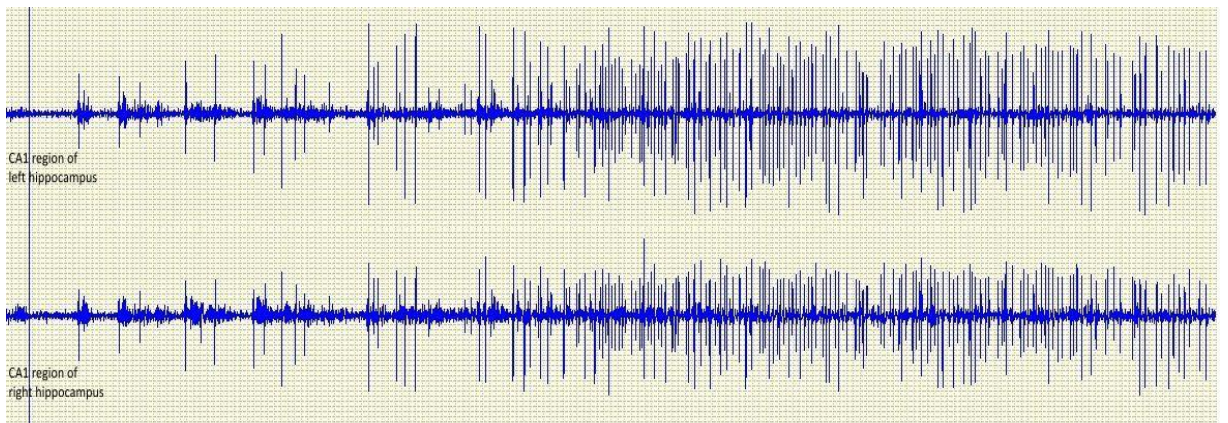
n: Her grupta kullanılan hayvan sayısı.

4.2. EEG Değişiklikleri

PTZ grubundaki hayvanların EEG paternleri incelendiğinde, PTZ enjeksiyonunu takiben 11 ile 47 saniye arasında değişen süreler içinde nöbet aktiviteleri başladı. PTZ enjekte edilmeden önce ve sonra EEG’de izlenen değişiklikler bir hayvan örneğinde detaylı olarak verilmiştir (Şekil 18 ve 19). Bu hayvanda nöbet sırasında ortaya çıkan EEG amplitüd değerlerinin nöbet öncesi değerlere göre 13.40 kat arttığı tespit edildi. EEG ve monitorizasyon kaydı yapılan bu gruptaki 5 hayvanda ortalama nöbet geçirme süreleri 7.84 ± 0.51 dakika ve Racine skorlamasına göre ortalama nöbet şiddetleri 4.1 ± 0.32 idi.

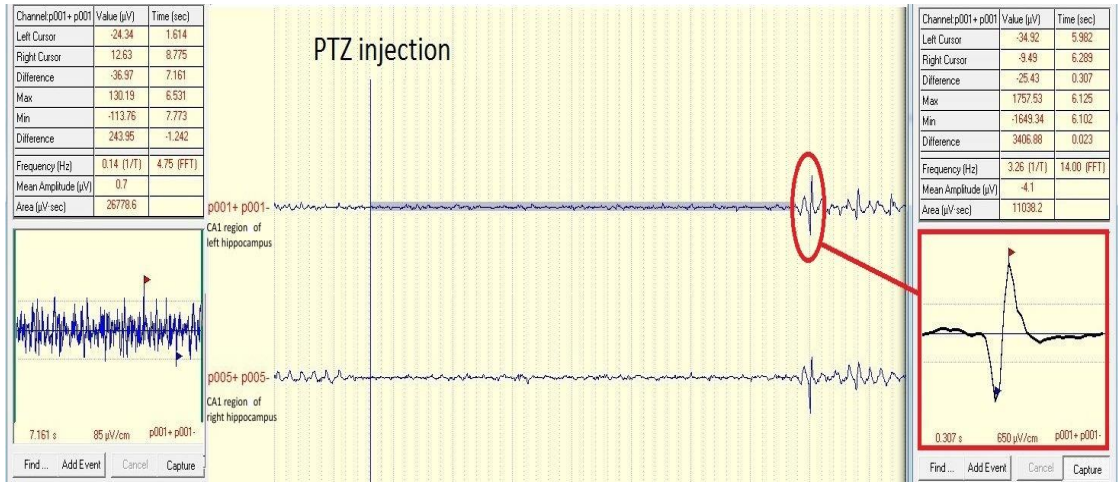


Şekil 18 PTZ enjekte edilmeden önce ve sonra EEG’de izlenen değişiklikler bir hayvan örneğinde detaylı olarak verilmiştir.

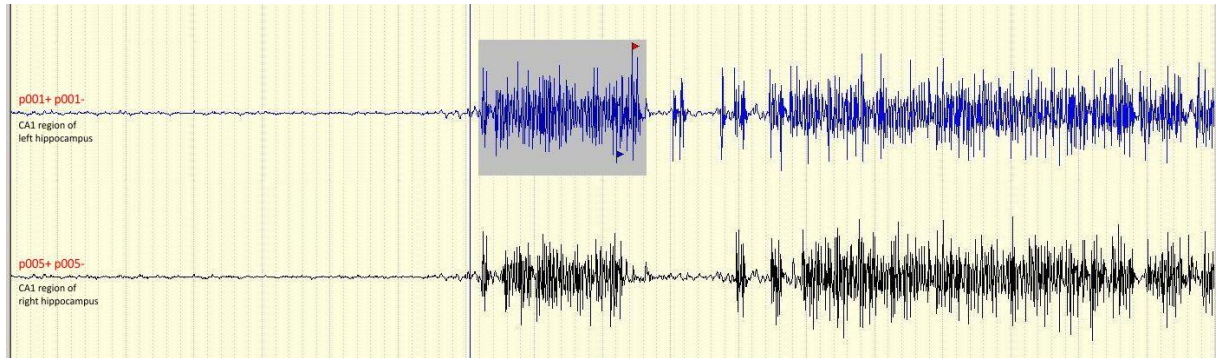


Şekil 19 Bir hayvan örneğinden alınan PTZ enjeksiyonu sonrası ortaya çıkan nöbetler sırasındaki bir EEG paterni. EEG paterni sağ ve sol hipokampus CA1 bölgesine derin elektrodlar yerleştirilerek kaydedildi. Nöbet öncesi ve nöbet sırasındaki EEG amplitüdündeki değişiklikler ölçüldü. Nöbet süresi, nöbet aktivitesinin başladığı ve sona erdiği noktalar arasındaki zaman dilimi seçilerek EEG üzerinde tayin edildi.

ÇLP + PTZ grubundaki hayvanların EEG paternleri incelendiğinde, PTZ enjeksiyonunu takiben 7 ile 33 saniye arasında değişen süreler içinde nöbet aktiviteleri başladı. Septik hayvanlara PTZ enjekte edilmeden önce ve enjeksiyonu takiben EEG’de izlenen değişiklikler bir hayvan örneğinde detaylı olarak verilmiştir (Şekil 20 ve 21). Bu hayvanda nöbet sırasında ortaya çıkan EEG amplitüd değerlerinin nöbet öncesi değerlere göre 14.01 kat arttığı tespit edildi. Bu grupta EEG ve monitorizasyon kaydı yapılan 5 hayvanda ortalama nöbet geçirme süreleri $11,89 \pm 1,15$ dakika olarak bulundu ve bu değerler PTZ grubundaki hayvanlardan elde edilen değerler ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($P < 0.01$). ÇLP + PTZ grubundaki hayvanlar Racine skalasına göre 4.2 ± 0.74 şiddetinde nöbet geçirdiler.



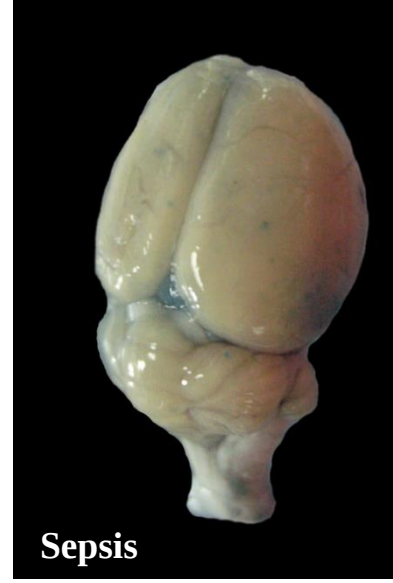
Şekil 20 PTZ enjekte edilmeden önce ve sonra EEG’de izlenen değişiklikler bir septik hayvan örneğinde detaylı olarak verilmiştir.



Şekil 21 Bir septik hayvan örneğinden alınan PTZ enjeksiyonu sonrası ortaya çıkan nöbetler sırasındaki bir EEG paterni. EEG paterni sağ ve sol hipokampus CAI bölgesine derin elektrodlar yerleştirilerek kaydedildi. Nöbet öncesi ve nöbet sırasındaki EEG amplitüdündeki değişiklikler ölçüldü. Nöbet süresi, nöbet aktivitesinin başladığı ve sona erdiği noktalar arasındaki zaman dilimi seçilerek EEG üzerinde tayin edildi.

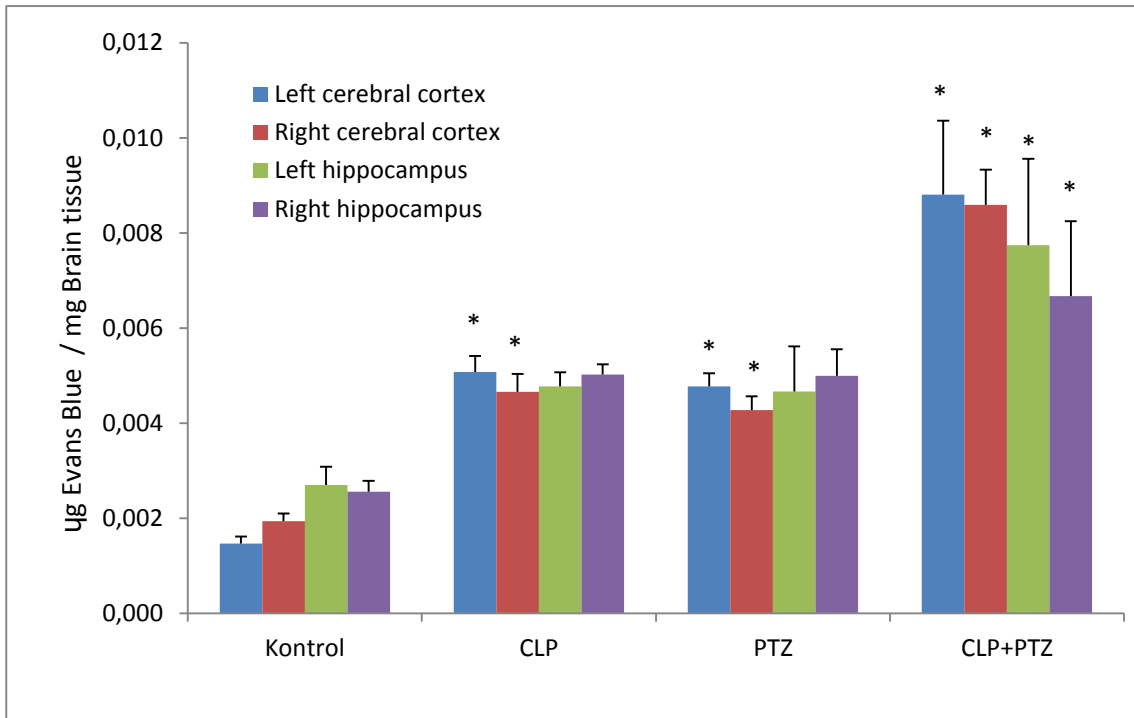
4.3. Beyin dokusunda Evans Blue Boyasının Kalitatif ve Kantitatif Değişiklikleri

Deney gruplarındaki hayvanların makroskopik olarak EB boya görünüşleri şekil 22’de verilmiştir. Kontrol grubundaki hayvanların beyinlerinde belirgin bir mavi boyanma izlenmezken, sepsis ve PTZ gruplarındaki hayvanların beyinlerinde belirgin bir EB boyanması izlendi ve boyanma şiddeti en fazla sepsis + PTZ grubundaki hayvanlarda gözlemlendi.



Şekil 22 Deney gruplarındaki herbir hayvan örneğinden alınan beyin yüzeyindeki Evans blue boyasının makroskopik görünümü

Deney gruplarındaki hayvanların beyin dokusuna geçen EB boyası miktarı beyin sağ ve sol serebral korteks ile sağ ve sol hipokampus bölgelerinde kantitatif metod kullanılarak ölçüldüğünde (Şekil 23), ÇLP ve PTZ grubundaki hayvanların sağ ve sol serebral korteksinden elde edilen EB boyası arttı ve bu artmış boyası miktarı kontrol grubundakiler ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.01$; Şekil 23). Diğer yandan, beyin dokusuna geçen EB boyası miktarının ÇLP + PTZ grubunda en fazla olduğu ve bu gruptan elde edilen boyası miktarlarının kontrol ÇLP ve PTZ gruplarındaki boyası miktarları ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi ($p<0.01$; Şekil 23).

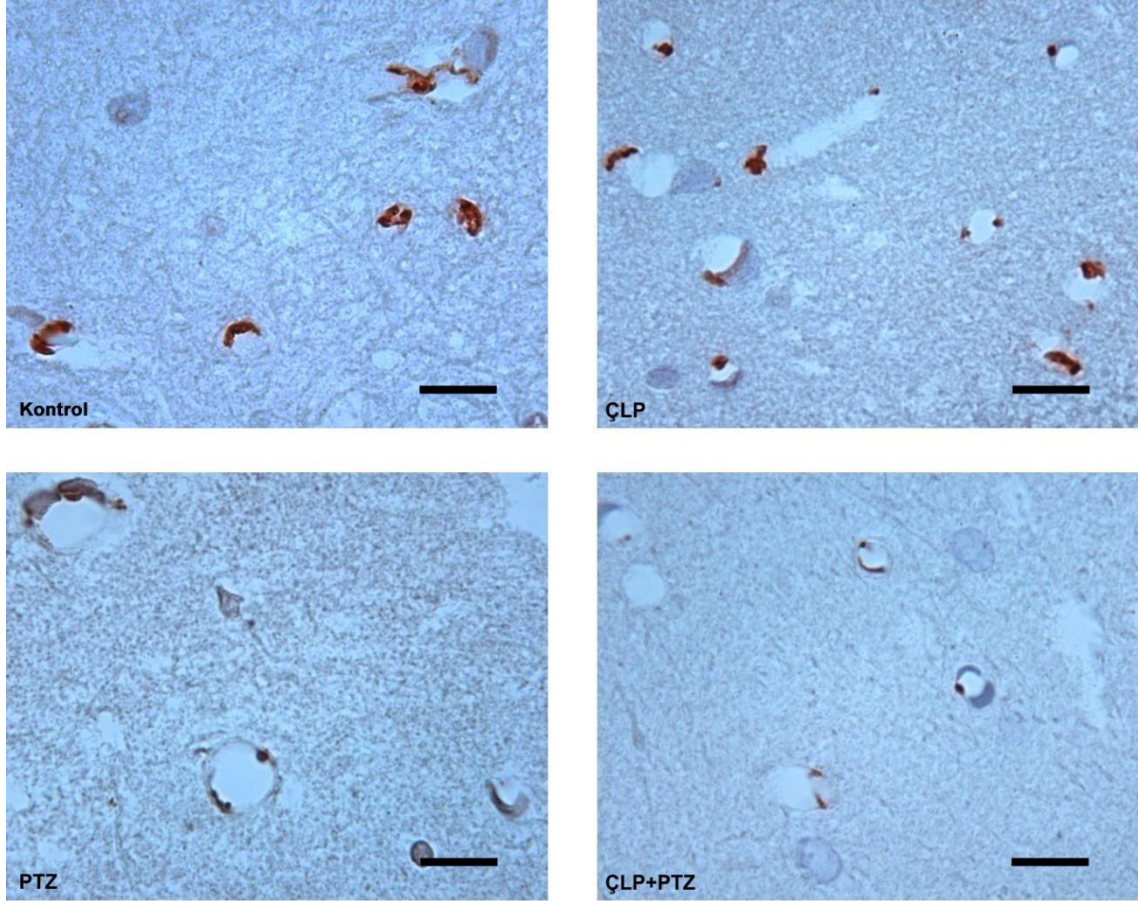


Şekil 23 Kontrol, ÇLP, PTZ ve ÇLP+ PTZ gruplarında hayvanların beyin dokusuna geçen EB miktarının kantitatif değerlendirilmesi. * $P<0,01$ kontrol grubu ile kıyaslandığında. Deney verileri; ortalama (X) $\pm$ ortalamanın standart hatası (SEM) olarak değerlendirildi. Her grupta 8 hayvan kullanıldı.

4.4. İmmunohistokimyasal Boyanma Değişiklikleri

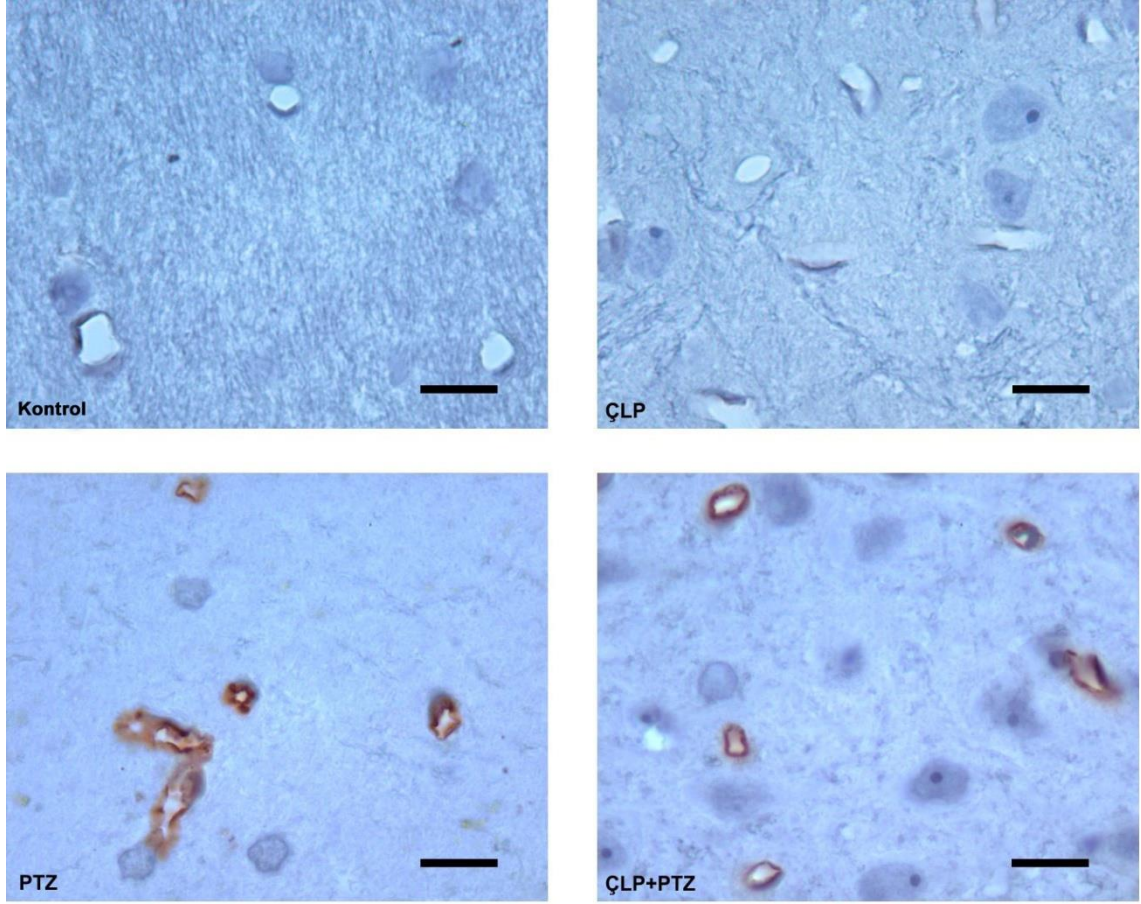
Kontrol, ÇLP, PTZ ve ÇLP + PTZ gruplarındaki hayvanlardan alınan beyin kesitlerinin hipokampus bölgesindeki mikrodamarlarda bir sıkı bağlantı proteini olan okludin immün boyanması şekil 24'te görülmektedir. İmaj analiz yöntemi ile yapılan incelemede PTZ ve ÇLP + PTZ gruplarındaki hayvanlardan alınan beyin kesitlerindeki

okludin immün boyanmasında azalma görülmesine karşın gruplar arası karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı.



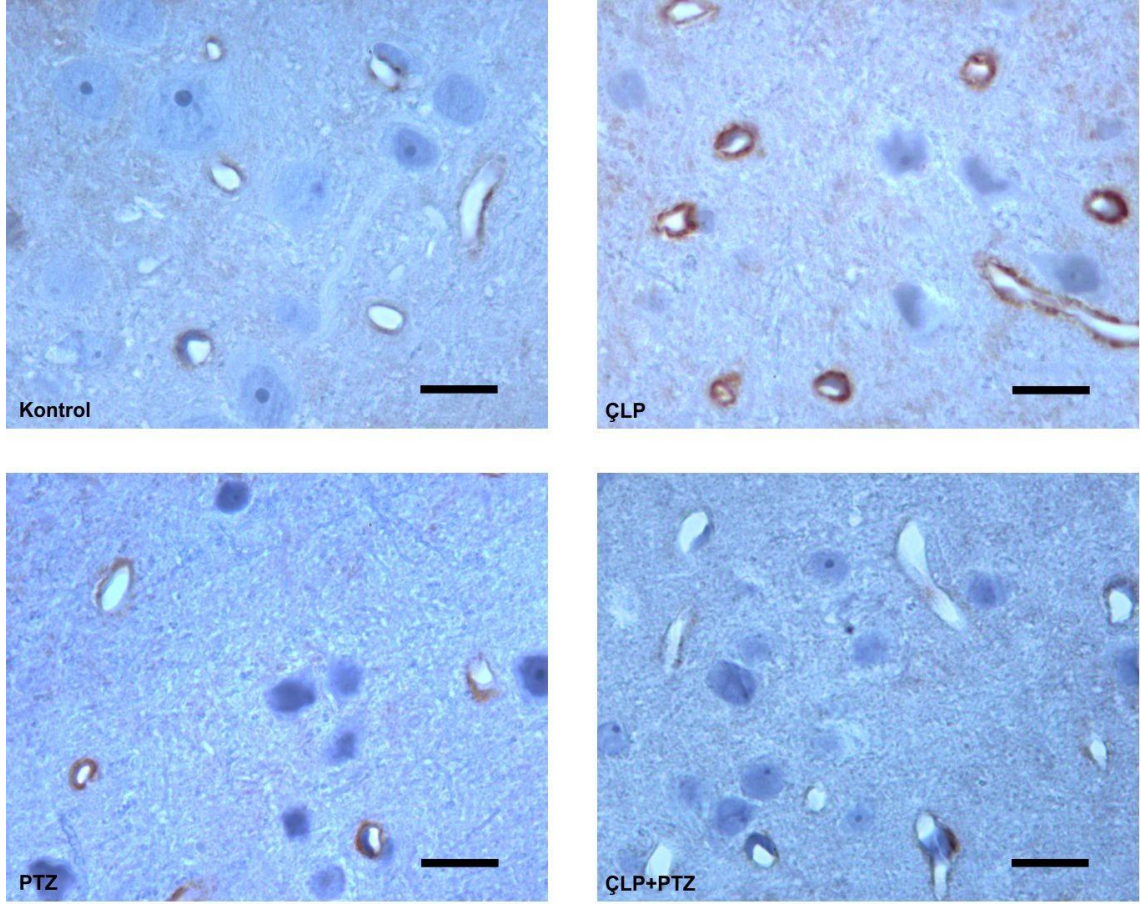
Şekil 24 Herbir deney grubuna ait beyin kesitlerinin hipokampus bölgelerindeki okludin immunreaktivitesi. Bar: 10µm

Kontrol, ÇLP, PTZ ve ÇLP + PTZ gruplarındaki hayvanlardan alınan beyin kesitlerinin hipokampus bölgesindeki mikrodamarların çevresindeki astrosit ayak sonlanmalarında bulunan p-gp immün boyanması Şekil 25'te görülmektedir. İmaj analiz yöntemi ile yapılan incelemelerde tüm gruplardaki hayvanlardan alınan beyin kesitlerindeki p-gp immün boyanmasının PTZ ve ÇLP + PTZ gruplarında arttığı tespit edildi. Gruplar arası istatistiksel karşılaştırmalarda, PTZ ve ÇLP + PTZ gruplarındaki immün boyanma miktarındaki artışın kontrol ve ÇLP gruplarındaki boyanmalara göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi ($p < 0.05$).



Şekil 25 Herbir deney grubuna ait beyin kesitlerinin hipokampus bölgelerindeki p-gp immunreaktivitesi. Bar: 10µm

Deney gruplarındaki hayvanlardan alınan beyin kesitlerinin parietal korteks bölgesindeki mikrodamarları kuşatan astrosit ayak sonlanmalarında AQP-4 immün boyanması görülmektedir (Şekil 26). İmaj analiz yöntemi ile yapılan incelemelerde tüm gruplardaki hayvanlardan alınan beyin kesitlerindeki AQP-4 immün boyanmasının en fazla ÇLP grubunda ve az bir miktar da PTZ grubunda arttığı tespit edildi. Gruplar arası istatistiksel karşılaştırmalarda, ÇLP grubundaki immün boyanma miktarındaki artışın kontrol ve ÇLP + PTZ gruplarındaki verilere karşı anlamlı olduğu bulundu ($p<0.01$). Diğer gruplar arasında istatistiksel bir farklılık gösterilemedi.



Şekil 26 Herbir deney grubuna ait beyin kesitlerinin hipokampus bölgelerindeki AQP-4 immunreaktivitesi. Bar: 10µm

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, septik koşullar sırasında PTZ ile oluşturulan epileptik nöbetlerin şiddeti, süresi ve KBB geçirgenliği üzerine etkileri araştırıldı. Bu çalışmanın en önemli sonuçları septik koşullar altında oluşturulan epileptik nöbetlerin KBB geçirgenliğini aşırı miktarda arttırdığını göstermektedir. Epileptik nöbetler öncesi hayvanlarda oluşturulan sepsisin başta beyin kapiller endotel hücrelerini etkilemesi sonucu KBB bütünlüğünde neden olduğu yetmezliğin nöbetler sonrası daha da ağırlaştığı görülmektedir. Aynı zamanda, normal hayvanlarda gözlenen epileptik nöbetlerin şiddet ve süresinin sepsis sırasında oluşturulan epileptik nöbetler sırasında değiştiği ve septik hayvanlarda nöbet şiddetinin arttığı ve nöbet süresinin de uzadığı tespit edildi.

Sepsis oluşturulan hayvanlarda ortalama arterial kan basıncı KBB'yi bozacak değerlere ulaşmadı. Ancak, nöbet aktivitesi gözlenen normal ve septik hayvanların ortalama arteriyel kan basınçlarında ortaya çıkan değişikliklerin KBB bütünlüğünü bozacak bir potansiyele ulaştığı görüldü. Önceki çalışmalar, ortalama arteriyel kan basıncının 60 mmHg'nın altına inmesi veya normal basınç değerine en az 50 mmHg eklenecek şekilde yükselmesi durumunda KBB geçirgenlik artışının söz konusu olduğunu bildirmektedir (Ishikawa ve ark. 1983; Johansson ve Linder 1978; Mayhan ve ark. 1987). Sonuç olarak, ortalama arteriyel kan basıncının nöbet oluşturulan gruplarda aşırı artışının, yukarıda belirtildiği üzere tek başına KBB yıkımını sağlayacak bir potansiyele sahip olduğunu söyleyebiliriz.

Rektal yolla ölçülen vücut sıcaklık değerlerinin sadece septik koşullarda yükseldiği tespit edildi. Diğer gruplara nazaran, sepsis oluşturulan hayvanlarda yüksek değerlere ulaşan vücut sıcaklığının, bize uygulanan bu deneysel yöntemin uygun işlediğini ve hayvanların sepsis evresindeki koşulları sağladığını (arterial kan basıncında düşme ve vücut sıcaklığında artış) düşündürmektedir. Tek başına hipertermik koşulun KBB geçirgenliğini arttırdığını gösteren çalışmanın aksine (Sharma ve ark. 2010), çalışmamızda septik koşullarda artmış vücut sıcaklık değerlerinin KBB bütünlüğünü bozacak düzeyin oldukça altında olduğunu söyleyebiliriz. Bu ifademiz, 40°C'nin altındaki vücut sıcaklık değerlerinin beyin damar geçirgenliğini tek başına arttıracak düzeyde olmadığını gösteren birçok çalışma ile desteklenmektedir (Katsumura ve ark. 1995; Ohmoto ve ark. 1996). Sonuç olarak, sepsis nedeni ile vücut sıcaklığında

kaydedilen artışın, tek başına KBB geçirgenliğini arttırmadığı, fakat KBB bütünlüğünü bozacak özellikteki birçok faktörün yapımına katkı verdiğini söylemek mümkün görünmektedir.

Bu çalışmada sepsik koşula ilaveten epileptik nöbetler sırasında da KBB'nin açılması sonucu kan kaynaklı eksitator nitelikte birçok aminoasitin yanında çok sayıda toksik madde de beyine geçer ve bu maddeler beyinde nöronal homeostazın bozulması ve nöronlarda aşırı uyarılmaya neden olur. Böylece beyine aşırı miktarda geçen kan kaynaklı birçok madde epileptogenezi tetikleyerek nöbetlerin hem daha şiddetli hem de sürelerinin uzamasına neden olabilir. Bu durum çok sayıda araştırmacının bulguları ile paralellik göstermektedir (Semmler ve ark. 2008; Alexander ve ark. 2008; Wratten 2008; Hofer ve ark. 2008; Sharshar ve ark. 2005; Piazza ve ark. 2007; Handa ve ark. 2008; Toklu ve ark. 2008). Beyin kaynaklı proenflamatuvar ajanların özellikle nörovasküler ünite arasındaki fonksiyonel bağlantıda önemli rol oynadıkları birçok araştırı tarafından gösterilmiştir (Ban ve ark. 1991; Benveniste 1992; De Simoni ve Immeri 1998). Daha da ötesi, çok sayıda çalışmada enflamatuvar maddelerin yapımını indükleyen birçok deneysel koşulda, yapımı artan bu enflamatuvar ajanların hem nöbet eşiğini azalttığı hem de nöbetlerin neden olduğu nöron hasarını daha da ağırlaştırdığı gösterilmiştir (Vezzani ve Rüegg 2011; Rao ve ark. 2008; Auvin ve ark. 2007; Galic ve ark. 2008).

Beyinde üretilen veya beyin dokusuna geçen periferik kaynaklı enflamatuvar sitokinlerin epilepsi patogenezindeki rolünü ortaya koymak için yapılan çalışmalarda, IL-1 alfanın temporal lop epilepsili insan otopsi beyinde arttığı, hayvan çalışmalarında ise IL-1 beta veya alfa, IL-6 ve TNF-alfa düzeylerinin arttığı bildirilmiştir (Minami ve ark. 1991; Sheng ve ark. 1994; Plata-Salaman ve ark. 2000; De Simoni ve ark. 2000). Beyin enfeksiyonu sonrasında nöbetlerin ortaya çıkma riskinin 5-15 yıl devam ettiği ileri sürülmüştür (Annegers ve ark. 1988). LPS enjeksiyonu sonrası yapımı artan sitokinlerin farede klonik nöbet eşiğini düşürdüğü gösterilmiştir (Sayyah ve ark. 2003). IL-1 betanın deneysel febril nöbetlerin ortaya çıkışına katkı sağladığı bilinmektedir (Dube ve ark. 2005; Vezzani 2005).

Diğer taraftan, sepsis sırasında görülen beyindeki enflamasyonun nörodejeneratif hastalıklar için bir risk faktörü olduğu ve beyindeki enflamasyondan immün etkili hücre olarak da adlandırılan mikrogliyal hücrelerin başlıca rol oynadığı ileri

sürülmektedir (Teeling ve Perry 2009; Wüllner ve Klockgether 2003). Ayrıca plazma düzeyi artan sitokinlerin de KBB yetmezliği sonucu beyine geçmeleriyle beyin enflamasyonunda rol oynayabilirler (Combrinck ve ark. 2002). Bunların yanında enflamatuar kan hücreleri direkt olarak KBB endotel hücrelerini etkileyip beyin parakimine geçmeleri sonucu beyinde enflamatuar olayları etkilerler. Septik koşullarla ilişkili olarak beyinde enflamatuar olayların tetiklenmesi ise nöronal aktivasyona neden olan olayları başlatabilir.

KBB normal şartlar altında kan kaynaklı madde ve immün hücrelerin beyine geçişini kontrol ederken, nöbetlerin dahil olduğu birçok patolojik koşulda bu kontrolü kaybeder (Zucker ve ark. 1983). Özellikle KBB bütünlüğünde meydana gelen bir yetmezlik ve enflamasyonun tetiklenmesi epilepsi dahil birçok nörolojik patolojinin ortaya çıkmasında önemli rol oynar (Krizanac-Bengez ve ark. 2004; Ravizza ve ark. 2011).

Son yıllarda epileptogenez sırasında KBB’de meydana gelen inflamatuvar olayların rolü Fabene ve arkadaşları tarafından ortaya konulmuş ve damarsal enflamatuar mekanizmalar ve lökosit-endotel adezyonunun nöbetlerin ve epilepsinin patogenezeine katkı yapabildiği gösterilmiştir (Fabene ve ark. 2008). TNF-alfa ve IL-1 betanın PTZ nöbetleri ile ilgisini ortaya çıkarmak için yapılan bir çalışmada *Shigella dysenteriae* enjekte edilen farelerde PTZ ile oluşturulan nöbetlerin daha şiddetli olduğu ve KBB’nin yıkıldığı, ancak anti-TNF alfa ve IL-1 beta antikor uygulanması ile hayvanlarda bir iyileşme gözlenmediği tespit edilmiştir (Yuhas ve ark. 1999). Enflamasyonun epilepsinin sebebi olduğu kadar sonucu olarak da ortaya çıktığı ileri sürülmüştür (Vezzani ve Rüegg 2011).

Tek başına septik koşul veya epileptik nöbetler sırasında KBB yıkıldığı ve bu yıkımdan kapiller endotel hücrelerindeki transsellüler yoldaki artışın ve/veya sıkı bağlantılardaki açılmanın sorumlu olduğu çok sayıda araştırmacı tarafından gösterilmiştir (Flierl ve ark. 2010; Nishioku ve ark. 2009; Tsao ve ark. 2001; Ballabh ve ark. 2004; Papadopoulos ve ark. 2000; Ahishali ve ark. 2010; Gurses ve ark. 2009, Petito ve ark. 1977; Nitsch ve ark. 1986). Tek başına sepsis ve septik koşullarda oluşturulan epileptik nöbetler sırasında, KBB’nin endotel hücrelerinde bir TJ proteini olan okludin’in immün boyanmasında nisbi bir azalma gözlemlendi. Ancak, kapiller yapı üzerinde bulunan bu proteinin boyanma şiddetinde bir azalma olmakla birlikte, hala o bölgede görev

yaptığını ve sıkı bir TJ yapısına hala destek verdiğini söyleyebiliriz. Sonuç olarak sepsis ve/veya PTZ ile oluşturulan nöbetler sırasındaki KBB geçirgenlik artışından TJ'ların açılması ile aktiflenen parasellüler yoldan ziyade, bariyer tipteki endotel hücrelerinde pinositotik vezikül sayısındaki artış ile ifade edilen transsellüler yolun aktif olarak sorumlu olduğunu söyleyebiliriz.

Normal koşullar altında başlıca astrosit ayak sonlanmalarında bulunan p-gp, az miktarda beyin kapiller endotel hücresi ve nöronda bulunur. Aksine, p-gp'nin özellikle dirençli epileptik insan beyin dokusu ve deneysel epileptik hayvan modellerindeki beyin dokusunda yapımı arttığı bilinmektedir (Löscher ve ark. 2011; Pekcec ve ark. 2009; Volk ve ark. 2004). Çalışmamızda PTZ ile oluşturulan nöbetler sırasında p-gp'nin kapiller endotel hücre duvarının yanında özellikle endotel hücre duvarına komşu astrosit ayaklarında aşırı miktarda arttığı gösterildi. Bu bulgularımız önceki çalışmalarla paralellik göstermektedir. Status epileptikus sonrası sıçan hipokampus kapiller endotel hücrelerinde p-gp yapımının iki kat arttığı gösterilmiştir (Bankstahl ve Löscher 2008).

P-gp'nin nöbetler sırasında beyin kapiller endotel hücreleri, astrositler ve nöronlarda yapımında artış gösterilmiştir (Lazarowski ve ark. 2004; Volk ve ark. 2004; Volk ve Löscher 2005; Bankstahl 2008). Aksine, pilokarpin ile nöbetler oluşturulduktan sonra 24. saate kadar p-gp'nin hipokampus, amigdala ve piriform kortekste azaldığı gösterilmiş ve bu azalmaya akut nöbetler sırasında hipokampusta yapımı artan IL-1beta, IL-6, and TNF-alfa neden olabileceği ileri sürülmüştür (Kuteykin-Teplyakov ve ark. 2009). Bulgularımızdan özellikle septik hayvanlarda nöbetlerin oluşturulmasını takiben p-gp'nin yine artış gösterdiği ancak normal hayvanlardaki nöbetler sırasında gözlenen değerlere ulaşamadığı tespit edildi. Septik koşullarda p-gp yapımının arttığı veya azaldığı ile ilgili olarak literatür bilgisi tartışmalıdır. P-gp'nin TNF alfa, IL-2, IL-4 ve IFN-gamma gibi sitokinlerin serbestlemesi ile ilişkili olabileceği ileri sürülmüş ve farede LPS ile oluşturulan septik şok sırasında verapamil serum TNF alfa ve IFN-gama düzeylerini azalttığı gösterilmiştir (Heemskerk ve ark. 2008). LPS enjekte edilen sıçanlarda ilk 6.saatte beyin Mdr1 düzeylerinde azalma olurken 24.saatte normal düzeylere geldiği bildirildi (Wang ve ark. 2005).

Septik hayvanların beyin AQP-4 immünoreaktivitesindeki artışın, bu hayvanlara PTZ verildikten sonra ortaya çıkan nöbetlerin daha şiddetli ve uzun süre seyretmesinde

önemli bir rol oynadığını söyleyebiliriz. Bu bulgularımız, su moleküllerinin hem beyine girişi hem çıkışını sağlayan AQP-4 miktarındaki değişikliklerle hücreiçi ve dışı alanların su miktarındaki oynamalar epileptik nöbetlere meyili arttırdığını bildiren çalışmalarla paralellik göstermektedir (Agre ve ark. 2002; Binder ve ark. 2004; Papadopoulos ve ark. 2004; Eid ve ark. 2005; Binder ve Steinhäuser 2006). AQP-4 ile KBB ilişkisine gelince normal beyinde AQP-4 intakt KBB için kritik bir faktör olarak iş görmez, ancak herhangi bir patolojik koşulda KBB üzerine oldukça önemli etkiler yapabilir (Badaut ve ark. 2011). Artmış AQP-4 mRNA yapımı BBB hasarı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Vizuete ve ark. 1999). Ancak AQP-4 ile ilgili verilerimiz özellikle ÇLP + PTZ grubunda en şiddetli KBB yıkımı gerçekleşirken bu grupta AQP-4 düzeyinde herhangi bir artış söz konusu olmadı. Ancak, tek başında septik koşulda AQP-4 yapımındaki aşırı artışın yanında KBB yıkımı orta düzeyde gerçekleşti. AQP-4 ile ilgili verilerimiz, AQP-4 immünoreaktivitesindeki değişikliklerin KBB bütünlüğünden ziyade epileptogenez üzerine etki yaptığını göstermektedir.

Sonuç olarak, KBB'yi oluşturan beyin kapiller endotel hücreleri normal koşullarda nöronal homeostazisi koruyarak başta nöronlar olmak üzere beyin parankiminde bulunan diğer hücrelerin fizyolojik koşullarda çalışmasını sağlar. KBB'yi hasarlayan ağır bir septik koşul bir yandan beyinde immün aracılı bir hasarı aktifleyerek diğer yandan albumin gibi bir çok proteini ve kan kaynaklı potasyum gibi bir çok iyonun beyine aşırı miktarda girişine neden olarak epileptogenezin ortaya çıkmasına önemli bir katkı verir. Aynı zamanda septik koşul sırasında ortaya çıkan nöbetler sonucu KBB hasarı oldukça şiddetli olarak ortaya çıkar.

KAYNAKLAR

- Aarli, J. A. (2000). Epilepsy and the immune system. *Archives of Neurology*, **57**, 1689-1692.
- Abbott, N.J. (2000). Inflammatory mediators and modulation of blood-brain barrier permeability. *Cell Mol Neurobiol.* **20(2)**, 131-147.
- Abbott, N.J. (2005). Dynamics of CNS barriers: evolution, differentiation, and modulation. *Cell Mol Neurobiol.* **25(1)**, 5-23.
- Abbott, N.J., Patabendige, A.A., Dolman, D.E., Yusof, S.R., Begley, D.J. (2010). Structure and function of the blood-brain barrier. *Neurobiol Dis.*, **37(1)**, 13-25.
- Abbott, N.J., Ronnback, L., Hansson, E. (2006). Astrocyte-endothelial interactions at the blood-brain barrier. *Nat Rev Neurosci.*, **7**, 41-53.
- Agre, P., King, L.S., Yasui, M., Guggino, W.B., Ottersen, O.P., Fujiyoshi, Y., Engel, A., Nielsen, S. (2002). Aquaporin water channels-from atomic structure to clinical medicine. *J Physiol.* **542**, 3-16.
- Ahishali, B., Kaya, M., Orhan, N., Arican, N., Ekizoglu, O., Elmas, I., Kucuk, M., Kemikler, G., Kalayci, R., Gurses. C. (2010). Effects of levetiracetam on blood-brain barrier disturbances following hyperthermia-induced seizures in rats with cortical dysplasia. *Life Sciences*, **87(19-22)**, 609-619.
- Albertini, R., Bianchi, R. (2010). Aquaporins and glia. *Curr Neuroparmacol.*, **8(2)**, 84-91.
- Alexander, J.J., Jacob, A., Cunningham, P., Hensley, L., Quigg, R.J. (2008). TNF is a key mediator of septic encephalopathy acting through its receptor, TNF receptor-1. *Neurochem Int.*, **52**, 447-456.
- Amiry-Moghaddam, M., Otsuka, T., Hurn, P.D., Traystman, R.J., Haug, F.M., Froehner, S.C., Adams, M.E., Neely, J.D., Agre, P., Ottersen, O.P., Bhardwaj, A. (2003) An alpha-syntrophin-dependent pool of AQP4 in astroglial end-feet confers bidirectional water flow between blood and brain. *Proc Natl Acad Sci USA*, **100**, 2106-2111.
- Amiry-Moghaddam, M., Xue, R., Haug, F.M., Neely, J.D., Bhardwaj, A., Agre, P., Adams, M.E., Froehner, S.C., Mori, S., Ottersen, O.P. (2004). Alpha-syntrophin deletion removes the perivascular but not endothelial pool of aquaporin-4 at the blood-brain barrier and delays the development of brain edema in an experimental model of acute hyponatremia. *FASEB Journal*, **18**, 542-544.

- Annegers, J.F., Hauser, W.A., Beghi, E., Nicolosi, A., Kurland, L.T. (1988). The risk of unprovoked seizures after encephalitis and meningitis. *Neurology*, **38(9)**, 1407-1410.
- Ari, I., Kafa, I.M., Kurt, M.A. (2006). Perimicrovascular edema in the frontal cortex in a rat model of intraperitoneal sepsis. *Experimental Neurology*, **198(1)**, 242-249.
- Arıcan, N., Kaya, M., Yorulmaz, C., Kalaycı, R., Ince, H., Kucuk, M., Fıncancı, S.K., Elmas, I. (2006). Effect of hypothermia on blood-brain barrier permeability following traumatic brain injury in chronically ethanol-treated rats. *Int J Neurosci.*, **116(11)**, 1249-1261.
- Armulik, A., Genové, G., Mäe, M., Nisancioglu, M.H., Wallgard, E., Niaudet, C., He, L., Norlin, J., Lindblom, P., Strittmatter, K., Johansson, B.R., Betsholtz, C. (2010). Pericytes regulate the blood–brain barrier. *Nature*, **468(7323)**, 557-561
- Auvin S., Shin D., Mazarati A., Sankar R. (2010). Inflammation induced by LPS enhances epileptogenesis in immature rat and may be partially reversed by IL1RA. *Epilepsia*, **51 Suppl 3**, 34-38.
- Auvin, S., Shin, D., Mazarati, A., Nakagawa, J., Miyamoto, J., Sankar, R. (2007). Inflammation exacerbates seizure-induced injury in the immature brain. *Epilepsia*, **48 Suppl 5**, 27-34.
- Avtan, S.M., Kaya, M., Orhan, N., Arslan, A., Arıcan, N., Toklu, A.S., Gürses, C., Elmas, I., Kucuk, M., Ahishali, B. (2011). The effects of hyperbaric oxygen therapy on blood-brain barrier permeability in septic rats. *Brain Res.* **1412**, 63-72.
- Badaut, J., Ashwal, S., Adami, A., Tone, B., Recker, R., Spagnoli, D., Ternon, B., Obenaus, A. (2011). Brain water mobility decreases after astrocytic aquaporin-4 inhibition using RNA interference. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, **31(3)**, 819-831.
- Ballabh, P., Braun, A., Nedergaard, M. (2004). The blood-brain barrier: an overview: structure, regulation, and clinical implications. *Neurobiology of Disease*, **16(1)**, 1-13.
- Ban, E., Milon, G., Prudhomme, N., Fillion, G., Haour, F. (1991). Receptors for interleukin-1 (alpha and beta) in mouse brain: mapping and neuronal localization in hippocampus. *Neuroscience*, **43(1)**, 21-30.
- Banks, W.A. (2006). The CNS as a target for peptides and peptide-based drugs. *Exp. Opin. Drug Deliv.*, **3**, 707-712.
- Bankstahl, J.P., Löscher, W. (2008). Resistance to antiepileptic drugs and expression of P-glycoprotein in two rat models of status epilepticus. *Epilepsy Research*, **82(1)**, 70-85.

- Bartfai, T., Schultzberg, M. (1993). Cytokines in neuronal cell types. *Neurochemistry International*, **22(5)**, 435-444.
- Basler, T., Meier-Hellmann, A., Bredle, D., Reinhart, K. (2002). Amino acid imbalance early in septic encephalopathy. *Intensive Care Medicine*, **28(3)**, 293-298.
- Bazzoni, G., Dejana, E. (2004). Endothelial cell-to-cell junctions: molecular organization and role in vascular homeostasis. *Physiol Rev.*, **84**, 869-901.
- Bazzoni, G., Martinez-Estrada, O.M., Orsenigo, F., Cordenonsi, M., Citi, S., Dejana, E. (2000). Interaction of junctional adhesion molecule with the tight junction components ZO-1, cingulin, and occludin. *J Biol Chem.*, **275(27)**, 20520-20526.
- Begley, D. J. (2004). ABC transporters and the blood-brain barrier. *Curr Pharm Des.*, **10(12)**, 1295-1312.
- Begley, D.J., Brightman, M.W. (2003). Structural and functional aspects of the blood-brain barrier. *Prog. Drug Res.*, **61**, 39-78.
- Benveniste, E.N. (1992). Inflammatory cytokines within the central nervous system: sources, function, and mechanism of action. *American Journal of Physiology*, **263(1 Pt 1)**, C1-16.
- Bernacki, J., Dobrowolska, A., Nierwinska, K., Malecki, A. (2008). Physiology and pharmacological role of the blood-brain barrier. *Pharmacol Rep.*, **60**, 600-622.
- Bessis, A., Bernard, D., Triller, A. (2005). Tumor necrosis factor- α and neuronal development. *Neuroscientist*, **11(4)**, 277-281.
- Billiau, A., Vandekerckhove, F. (1991). Cytokines and their interactions with other inflammatory mediators in the pathogenesis of sepsis and septic shock. *European Journal of Clinical Investigation*, **21(6)**, 559-573.
- Binder, D.K., Oshio, K., Ma, T., Verkman, A.S., Manley, G.T. (2004). Increased seizure threshold in mice lacking aquaporin-4 water channels. *Neuroreport*, **15**, 259-262.
- Binder, D.K., Steinhäuser, C. (2006). Functional changes in astroglial cells in epilepsy. *Glia*, **54(5)**, 358-368.
- Blackwell, T.S., Christman, J.W. (1996). Sepsis and cytokines: current status. *Br J Anaesth.*, **77(1)**, 110-117.
- Boje, K.M.K. (1995). Cerebrovascular permeability changes during experimental meningitis in the rat. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **274**, 1199-1203.

- Boje, K.M.K. (1996). Inhibition of nitric oxide synthase attenuates blood–brain barrier disruption during experimental meningitis. *Brain Res.*, **720**, 75-83.
- Brandt, C.T., Holm, D., Liptrot, M., Ostergaard, C., Lundgren, J.D., Frimodt-Møller, N., Skovsted, I.C., Rowland, I.J. (2008). Impact of bacteremia on the pathogenesis of experimental pneumococcal meningitis. *J Infect Dis.*, **197(2)**, 235-44.
- Brandt, C.T., Simonsen, H., Liptrot, M., Søgaaard, L.V., Lundgren, J.D., Ostergaard, C., Frimodt-Møller, N., Rowland, I.J. (2008). In vivo study of experimental pneumococcal meningitis using magnetic resonance imaging. *BMC Med Imaging.*, **8**, 1.
- Breder, C.D., Hazuka, C., Ghayur, T., Klug, C., Huginin, M., Yasuda, K., Teng, M., Saper, C.B. (1994). Regional induction of tumor necrosis factor alpha expression in the mouse brain after systemic lipopolysaccharide administration. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **91(24)**, 11393-11397.
- Brett, F.M., Mizisin, A.P., Powell, H.C., Campbell, I.L. (1995). Evolution of neuropathologic abnormalities associated with blood-brain barrier breakdown in transgenic mice expressing interleukin-6 in astrocytes. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, **54(6)**, 766-775.
- Calandra, T., Baumgartner, J.D., Grau, G.E., Wu, M.M., Lambert, P.H., Schellekens, J., Verhoef, J., Glauser, M.P. (1990). Prognostic values of tumor necrosis factor/cachectin, interleukin-1, interferon-alpha, and interferon-gamma in the serum of patients with septic shock. *Swiss-Dutch J5 Immunoglobulin Study Group. Journal of Infectious Diseases*, **161(5)**, 982-987.
- Campbell, I.L., Abraham, C.R., Masliah, E., Kemper, P., Inglis, J.D., Oldstone, M.B., Mucke, L. (1993). Neurologic disease induced in transgenic mice by cerebral overexpression of interleukin 6. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **90(21)**, 10061-10065.
- Cardoso, F.L., Brites, D., Brito, M.A. (2010). Looking at the blood-brain barrier: molecular anatomy and possible investigation approaches. *Brain Res Rev.*, **64(2)**, 328-363.
- Cecchelli, R., Berezowski, V., Lundquist, S., Culot, M., Renftel, M., Dehouck, M.P., Fenart, L. (2007). Modelling of the blood–brain barrier in drug discovery and development. *Nature Reviews Drug Discovery*, **6**, 650-661.

- Chebabo, S.R., Hester, M.A., Aitken, P.G., Somjen, G.G. (1995). Hypotonic exposure enhances synaptic transmission and triggers spreading depression in rat hippocampal tissue slices. *Brain Res.*, **695**, 203-216.
- Chesler, D.A., Reiss, C.S. (2002). The role of IFN-gamma in immune responses to viral infections of the central nervous system. *Cytokine Growth Factor Review*, **13(6)**, 441-454.
- Chiang, C.S., Stalder, A., Samimi, A., Campbell, I.L. (1994). Reactive gliosis as a consequence of interleukin-6 expression in the brain: studies in transgenic mice. *Developmental Neuroscience*, **16(3-4)**, 212-221.
- Clawson, C.C., Hartmann, J.F., Vernier, R.L. (1966). Electron microscopy of the effect of gram-negative endotoxin on the blood-brain barrier. *The Journal of Comparative Neurology*, **127(2)**, 183-198.
- Combrinck, M.I., Perry, V.H., Cunningham, C. (2002). Peripheral infection evokes exaggerated sickness behaviour in pre-clinical murine prion disease. *Neuroscience*, **112(1)**, 7-11.
- Daneman, R., Zhou, L., Kebede, A.A., Barres, B.A. (2010). Pericytes are required for blood–brain barrier integrity during embryogenesis. *Nature*, **468(7323)**, 562-566.
- Davies, D.C. (2002). Blood-brain barrier breakdown in septic encephalopathy and brain tumours. *Journal of Anatomy.*, **200(6)**, 639-646.
- Davis, S., Yancopoulos, G.D. (1999). The angiopoietins: Yin and Yang in angiogenesis. *Curr Top Microbiol Immunol.*, **237**, 173-185.
- Davson, H., Segal, M.B. (Ed.). (1995). *The blood brain-barrier. In: Physiology of the CSF and of the Blood-Brain Barrier*. New York CRC; 49-91.
- De Simoni, M.G., Imeri, L. (1998). Cytokine-neurotransmitter interactions in the brain. *Biological Signals and Receptors*, **7(1)**, 33-44.
- De Simoni, M.G., Perego, C., Ravizza, T., Moneta, D., Conti, M., Marchesi, F., De Luigi, A., Garattini, S., Vezzani, A. (2000). Inflammatory cytokines and related genes are induced in the rat hippocampus by limbic status epilepticus. *Eur. J. Neurosci.*, **12(7)**, 2623-2633.
- Dejana, E. (2004). Endothelial cell–cell junctions: happy together. *Nat RevMol Cell Biol.*, **5**, 261-270.

- Dejana, E., Tournier-Lasserre, E., Weinstein, B.M. (2009). The control of vascular integrity by endothelial cell junctions: molecular basis and pathological implications. *Dev Cell.*, **16**, 209-221.
- Dore-Duffy, P., Owen, C., Balabanov, R., Murphy, S., Beaumont, T., Rafols, J.A. (2000). Perycite migration from the vascular wall in response to traumatic brain injury. *Microvasc Res.*, **60**, 55-69.
- Dubé, C., Vezzani, A., Behrens, M., Bartfai, T., Baram, T.Z. (2005). Interleukin-1 β contributes to the generation of experimental febrile seizures. *Annals of Neurology*, **57(1)**, 152-155.
- Dudek, F.E., Obenaus, A., Tasker, J.G. (1990). Osmolality-induced changes in extracellular volume alter epileptiform bursts independent of chemical synapses in the rat: importance of non-synaptic mechanisms in hippocampal epileptogenesis. *Neurosci Lett.* **120**, 267-270.
- Eid, T., Lee, T.S., Thomas, M.J., Amiry-Moghaddam, M., Bjørnsen, L.P., Spencer, D.D., Agre, P., Ottersen, O.P., de Lanerolle, N.C. (2005). Loss of perivascular aquaporin 4 may underlie deficient water and K⁺ homeostasis in the human epileptogenic hippocampus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **102(4)**, 1193-1208.
- Eng, L.F., Ghirnikar, R.S. (1994). GFAP and astrogliosis. *Brain Pathol.*, **4(3)**, 229-237.
- Engelhardt B, Sorokin L. (2009). The blood-brain and the blood-cerebrospinal fluid barriers: function and dysfunction. *Semin Immunopathol.*, **31(4)**, 497-511.
- Engelhardt, B. (2003). Development of the blood–brain barrier. *Cell Tissue Res.*, **314**, 119-129.
- Esen F, Erdem T, Aktan D, Orhan M, Kaya M, Eraksoy H, Cakar N, Telci L. (2005). Effect of magnesium sulfate administration on blood-brain barrier in a rat model of intraperitoneal sepsis: a randomized controlled experimental study. *Crit Care.* **9(1)**, R18-23.
- Fabene, P.F., Navarro Mora, G., Martinello, M., Rossi, B., Merigo, F., Ottoboni, L., Bach, S., Angiari, S., Benati, D., Chakir, A., Zanetti, L., Schio, F., Osculati, A., Marzola, P., Nicolato, E., Homeister, J.W., Xia, L., Lowe, J.B., McEver, R.P., Osculati, F., Sbarbati, A., Butcher, E.C., Constantin, G. (2008). A role for leukocyte-endothelial adhesion mechanisms in epilepsy. *Nat Med.*, **14(12)**, 1377-83.

- Flierl, M.A., Rittirsch, D., Huber-Lang, M.S., Stahel, P.F. (2010). Pathophysiology of septic encephalopathy--an unsolved puzzle. *Critical Care Medicine*, **14(3)**, 165.
- Förster, C. (2008). Tight junctions and the modulation of barrier function in disease. *Histochemistry and Cell Biology*, **130(1)**, 55-70.
- Francis, K., van Beek, J., Canova, C., Neal, J.W., Gasque, P. (2003). Innate immunity and brain inflammation: the key role of complement. *Expert Reviews in Molecular Medicine*, **5(15)**, 1-19.
- Freund, H.R., Muggia-Sullam, M., LaFrance, R., Holroyde, J., Fischer, J.E. (1986). Regional brain amino acid and neurotransmitter derangements during abdominal sepsis and septic encephalopathy in the rat. The effect of amino acid infusions. *Arch Surg.*, **121(2)**, 209-216.
- Friedman, A., Kaufer, D., Heinemann, U. (2009). Blood-brain barrier breakdown-inducing astrocytic transformation: novel targets for the prevention of epilepsy. *Epilepsy Res.*, **85(2-3)**, 142-149.
- Gaillard, P.J., de Boer, A.B., Breimer, D.D. (2003). Pharmacological investigations on lipopolysaccharide-induced permeability changes in the blood-brain barrier in vitro. *Microvascular Research*, **65(1)**, 24-31.
- Galic, M.A., Riazi, K., Heida, J.G., Mouihate, A., Fournier, N.M., Spencer, S.J., Kalynchuk, L.E., Teskey, G.C., Pittman, Q.J. (2008). Postnatal inflammation increases seizure susceptibility in adult rats. *J Neurosci.* **28(27)**, 6904-6913.
- Gatti, S., Bartfai, T. (1993). Induction of tumor necrosis factor-alpha mRNA in the brain after peripheral endotoxin treatment: comparison with interleukin-1 family and interleukin-6. *Brain Research*, **624(1-2)**, 291-294.
- Glauser, M.P., Zanetti, G., Baumgartner, J.D., Cohen, J. (1991). Septic shock: pathogenesis. *Lancet*, **338(8769)**, 732-736.
- Gonzalez-Mariscal, L., Tapia, R., Chamorro, D. (2008). Crosstalk of tight junction components with signaling pathways. *Biochim Biophys Acta*, **1778**, 729-756.
- Grant, G.A., Abbott, N.J., Janigro, D. (1998). Understanding the Physiology of the Blood-Brain Barrier: in Vitro Models. *News Physiol Sci.*, **13**, 287-293.
- Gurses, C., Ekizoglu, O., Orhan, N., Ustek, D., Arican, N., Ahishali, B., Elmas, I., Kucuk, M., Bilgic, B., Kemikler, G., Kalayci, R., Karadeniz, A., Kaya, M. (2009). Levetiracetam decreases the seizure activity and blood-brain barrier permeability in pentylenetetrazole-kindled rats with cortical dysplasia. *Brain Res.*, **1281**, 71-83.

- Handa, O., Stephen, J., Cepinskas, G. (2008). Role of eNOS-derived nitric oxide (NO) in activation and dysfunction of cerebrovascular endothelial cells during early onsets of sepsis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.*, **295**, H1712-1719.
- Hawkins, B.T., Davis, T.P. (2005). The blood–brain barrier/neurovascular unit in health and disease. *Pharmacol Rev.*, **57**, 173-185.
- Heemskerk, S., Wouterse, A.C., Russel, F.G., Masereeuw, R. (2008). Nitric oxide down-regulates the expression of organic cation transporters (OCT) 1 and 2 in rat kidney during endotoxemia. *European Journal of Pharmacology*, **584(2-3)**, 390-397.
- Hellström, M., Gerhardt, H., Kalén, M., Li, X., Eriksson, U., Wolburg, H., Betsholtz, C. (2001). Lack of pericytes leads to endothelial hyperplasia and abnormal vascular morphogenesis. *J Cell Biol.*, **153(3)**, 543-553.
- Hofer, S., Bopp, C., Hoerner, C., Plaschke, K., Faden, R.M., Martin, E., Bardenheuer, H.J., Weigand, M.A. (2008). Injury of the blood brain barrier and up-regulation of ICAM-1 in polymicrobial sepsis. *J Surg Res.*, **146**, 276-281.
- Hopkins, S.J., Rothwell, N.J. (1995). Cytokines and the nervous system. I: Expression and recognition. *Trends in Neurosciences*, **18(2)**, 83-88.
- Hori, S., Ohtsuki, S., Hosoya, K., Nakashima, E., Terasaki, T. (2004). A pericyte-derived angiopoietin-1 multimeric complex induces occludin gene expression in brain capillary endothelial cells through Tie-2 activation in vitro. *J. Neurochem.*, **89(2)**, 503-513.
- Hsu, M.S., Lee, D.J., Binder, D.K. (2007). Potential role of the glial water channel aquaporin-4 in epilepsy. *Neuron Glia Biology*, **3(4)**, 287-97.
- Huber, J.D., Egleton, R.D., Davis, T.P. (2001). Molecular physiology and pathophysiology of tight junctions in the blood-brain barrier. *Trends Neurosci.*, **24(12)**, 719-725.
- Huber, J.D., Hau, V.S., Borg, L., Campos, C.R., Egleton, R.D., Davis, T.P. (2002). Blood-brain barrier tight junctions are altered during a 72-h exposure to lambda-carrageenan-induced inflammatory pain. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.*, **283(4)**, H1531-537.
- Ishikawa, T., Funatsu, N., Okamoto, K., Takeshita, H., McDowall, D.G. (1983). Blood-brain barrier function following drug-induced hypotension in the dog. *Anesthesiology*, **59(6)**, 526-531.

- Ivens, S., Kaufer, D., Flores, L.P., Bechmann, I., Zumsteg, D., Tomkins, O., Seiffert, E., Heinemann, U., Friedman, A. (2007). TGF-beta receptor-mediated albumin uptake into astrocytes is involved in neocortical epileptogenesis. *Brain*, **130**(Pt 2), 535-547.
- Jacob, A., Brorson, J.R., Alexander, J.J. (2011). Septic encephalopathy: inflammation in man and mouse. *Neurochemistry International*, **58**(4), 472-476.
- Janzer, R.C., Raff, M.C. (1987). Astrocytes induce blood-brain barrier properties in endothelial cells. *Nature*, **325**, 253-257.
- Ji, K.A., Eu, M.Y., Kang, S.H., Gwag, B.J., Jou, I., Joe, E.H. (2008). Differential neutrophil infiltration contributes to regional differences in brain inflammation in the substantia nigra pars compacta and cortex. *Glia*, **56**(10), 1039-1047.
- Johansson, B.B., Linder, L.E. (1978). Cerebrovascular permeability to protein in the rat during nitrous oxide anaesthesia at various blood pressure levels. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*, **22**(4), 463-466.
- Katsumura, H., Kabuto, M., Hosotani, K., Handa, Y., Kobayashi, H., Kubota, T. (1995). The influence of total body hyperthermia on brain haemodynamics and blood-brain barrier in dogs. *Acta Neurochirurgica (Wien)*, **135**(1-2), 62-69.
- Kaya, M., Gurses, C., Kalayci, R., Ekizoglu, O., Ahishali, B., Orhan, N., Oku, B., Arican, N., Ustek, D., Bilgic, B., Elmas, I., Kucuk, M., Kemikler, G. (2008). Morphological and functional changes of blood-brain barrier in kindled rats with cortical dysplasia. *Brain Res.* **1208**, 181-191.
- Kaya, M., Ahishali, B. (2011). Assessment of permeability in barrier type of endothelium in brain using tracers: evans blue, sodium fluorescein, and horseradish peroxidase. *Methods Mol Biol.*, **763**, 369-382.
- Kaya, M., Gulturk, S., Elmas, I., Kalayci, R., Arican, N., Kocyildiz, Z.C., Kucuk, M., Yorulmaz, H., Sivas, A. (2004). The effects of magnesium sulfate on blood-brain barrier disruption caused by intracarotid injection of hyperosmolar mannitol in rats. *Life Sci.*, **76**(2), 201-212.
- Kidd, B.L., Urban, L.A. (2001). Mechanism of inflammatory pain. *Br. J. Anaesth.* **87**(1), 3-11.
- Kleen, J.K., Holmes, G.L. (2008). Brain inflammation initiates seizures. *Nature Medicine*, **14**(12), 1309-1310.

- Kniesel, U., Wolburg, H. (2000). Tight junctions of the blood–brain barrier. *Cell Mol Neurobiol.*, **20**, 57-76.
- Kobayashi, H., Minami, S., Itoh, S., Shiraishi, S., Yokoo, H., Yanagita, T., Uezono, Y., Mohri, M., Wada, A. (2001). Aquaporin subtypes in rat cerebral microvessels. *Neuroscience Letters*, **297**, 163-166.
- Krizanac-Bengez, L., Mayberg, M.R., Janigro, D. (2004). The cerebral vasculature as a therapeutic target for neurological disorders and the role of shear stress in vascular homeostatis and pathophysiology. *Neurol Res.*, **26(8)**, 846-853.
- Kucuk, M., Kaya, M., Kalayci, R., Cimen, V., Kudat, H., Arican, N., Elmas, I., Korkut, F. (2002). Effects of losartan on the blood-brain barrier permeability in long-term nitric oxide blockade-induced hypertensive rats. *Life Sci.*, **71(8)**, 937-946.
- Kuteykin-Teplyakov, K., Brandt, C., Hoffmann, K., Löscher, W. (2009). Complex time-dependent alterations in the brain expression of different drug efflux transporter genes after status epilepticus. *Epilepsia*, **50(4)**, 887-897.
- Lazarowski, A., Ramos, A.J., García-Rivello, H., Brusco, A., Girardi, E. (2004). Neuronal and glial expression of the multidrug resistance gene product in an experimental epilepsy model. *Cellular and Molecular Neurobiology*, **24(1)**, 77-85.
- Lee, S.W., Kim, W.J., Choi, Y.K., Song, H.S., Son, M.J., Gelman, I.H., Kim, Y.J., Kim, K.W. (2003). SSeCKS regulates angiogenesis and tight junction formation in blood-brain barrier. *Nat. Med.*, **9(7)**, 900-906.
- Lee, T.S., Eid, T., Mane, S., Kim, J.H., Spencer, D.D., Ottersen, O.P., de Lanerolle, N.C. (2004). Aquaporin-4 is increased in the sclerotic hippocampus in human temporal lobe epilepsy. *Acta Neuropathol.*, **108(6)**, 493-502.
- Lindahl, P., Johansson, B.R., Levéen, P., Betsholtz, C. (1997). Pericyte loss and microaneurysm formation in PDGF-B-deficient mice. *Science*, **277**, 242-245.
- Lossinsky, A.S., Shivers, R.R. (2004). Structural pathways for macromolecular and cellular transport across the blood-brain barrier during inflammatory conditions. *Histol Histopathol.* **19(2)**, 535-564.
- Löscher, W., Luna-Tortós, C., Römermann, K., Fedrowitz, M. (2011). Do ATP-Binding Cassette Transporters Cause Pharmacoresistance in Epilepsy? Problems and Approaches in Determining which Antiepileptic Drugs are Affected. *Current Pharmaceutical Design*, **17(26)**, 2808-2828.

- Löscher, W., Potschka, H. (2005). Blood-brain barrier active efflux transporters: ATP-binding cassette gene family. *NeuroRx*, **2**(1), 86-98.
- Löscher, W., Potschka, H. (2005). Role of drug efflux transporters in the brain for drug disposition and treatment of brain diseases. *Prog Neurobiol*. **76**(1), 22-76.
- Mancuso, M.R., Kuhnert, F., Kuo, C.J. (2008). Developmental angiogenesis of the central nervous system. *Lymphat Res Biol*. **6**, 173-180.
- Manley, G.T., Fujimura, M., Ma, T., Noshita, N., Filiz, F., Bollen, A.W., Chan, P., Verkman, A.S. (2009). Aquaporin-4 deletion in mice reduces brain edema after water intoxication and ischemic stroke, *Nat. Med.*, **6**, 159-163.
- Marchi N, Angelov L, Masaryk T, Fazio V, Granata T, Hernandez N, Hallene K, Diglaw T, Franic L, Najm I, Janigro D. (2007). Seizure-promoting effect of blood-brain barrier disruption. *Epilepsia*, **48**(4), 732-742.
- Marchi, N., Fan, Q., Ghosh, C., Fazio, V., Bertolini, F., Betto, G., Batra A., Carlton, E., Najm, I., Granata, T., Janigro, D. (2009). Antagonism of peripheral inflammation reduces the severity of status epilepticus. *Neurobiol Dis.*, **33**(2), 171-181.
- Marchi, N., Tierney, W., Alexopoulos, A.V., Puvenna, V., Granata, T., Janigro, D. (2011). The etiological role of blood-brain barrier dysfunction in seizure disorders. *Cardiovasc Psychiatry Neurol.*, **2011**, 482415.
- Matter, K., Balda, M.S. (2003). Functional analysis of tight junctions. *Methods*, **30**, 228-234.
- Mayhan, W.G. (2002). Cellular mechanisms by which tumor necrosis factor-alpha produces disruption of the blood-brain barrier. *Brain Res.*, **927**(2), 144-52.
- Mayhan, W.G. (1998). Effect of lipopolysaccharide on the permeability and reactivity of the cerebral microcirculation: role of inducible nitric oxide synthase. *Brain Res.*, **792**(2), 353-357.
- Mayhan, W.G., Faraci, F.M., Heistad, D.D. (1987). Mechanisms of protection of the blood-brain barrier during acute hypertension in chronically hypertensive rats. *Hypertension*, **9**(6Pt2), 101-105.
- McCarty, J.H. (2009). Cell adhesion and signaling networks in brain neurovascular units. *Curr Opin Hematol*, **16**, 209-214.
- McKinley, M.J., R.M. McAllen, P. Davern, M.E. Giles, J. Penschow, N. Sunn, A. Uschakov, Oldfield B.J. (2003). The sensory circumventricular organs of the mammalian brain. *Adv. Anat. Embryol. Cell Biol.*, **172:III–XII**, 1-122, back cover.

- Miller, D.W. (1999). Immunobiology of the blood-brain barrier. *J Neurovirol.*, **5**(6), 570-578.
- Minagar A, Ostanin D, Long AC, Jennings M, Kelley RE, Sasaki M, Alexander JS. (2003). Serum from patients with multiple sclerosis downregulates occludin and VE-cadherin expression in cultured endothelial cells. *Mult Scler.*, **9**(3), 235-238.
- Minami, M., Kuraishi, Y., Satoh, M. (1991). Effects of kainic acid on messenger RNA levels of IL-1 beta, IL-6, TNF alpha and LIF in the rat brain. *Biochem Biophys Res Commun.* **176**(2), 593-598.
- Morrison, D.C., Ryan, J.L. (1987). Endotoxins and disease mechanisms. *Annual Review of Medicine*, **38**, 417-432.
- Murakami, N., Sakata, Y., Watanabe, T. (1990). Central action sites of interleukin-1 beta for inducing fever in rabbits. *J. Physiol.*, **428**, 299-312.
- Nag, S. (2003). Morphology and molecular properties of cellular components of normal cerebral vessels. *Methods Mol Med.*, **89**, 3-36.
- Nagelhus, E.A., Mathiisen, T.M., Ottersen, O.P. (2004). Aquaporin-4 in the central nervous system: cellular and subcellular distribution and coexpression with KIR4.1. *Neuroscience*, **129**(4), 905-913.
- Nagelhus, E.A., Veruki, M.L., Torp, R., Haug, F.M., Laake, J.H., Nielsen, S., Agre, P., Ottersen, O.P. (1998). Aquaporin-4 water channel protein in the rat retina and optic nerve: polarized expression in Muller cells and fibrous astrocytes. *J Neurosci.*, **18**, 2506-2519.
- Nakagawa, S., Deli, M.A., Nakao, S., Honda, M., Hayashi, K., Nakaoke, R., Kataoka, Y., Niwa, M. (2007). Pericytes from brain microvessels strengthen the barrier integrity in primary cultures of rat brain endothelial cells. *Cell. Mol. Neurobiol.*, **27**, 687-694.
- Neuwelt, E., Abbott, N.J., Abrey, L., Banks, W.A., Blakley, B., Davis, T., Engelhardt, B., Grammas, P. (2008). Strategies to advance translational research into brain barriers. *Lancet Neurol.*, **7**(1), 84-96.
- Neuwelt, E.A. (2004). Mechanisms of disease: the blood-brain barrier. *Neurosurgery*, **54**(1), 131-140.
- Neuwelt, E.A., Maravilla, K.R., Frenkel, E.P., Rapaport, S.I., Hill, S.A., Barnett, P.A. (1979). Osmotic blood-brain barrier disruption. Computerized tomographic monitoring of chemotherapeutic agent delivery. *J Clin Invest.*, **64**(2), 684-688.

- Nishioku, T., Dohgu, S., Takata, F., Eto, T., Ishikawa, N., Kodama, K.B., Nakagawa, S., Yamauchi, A., Kataoka, Y. (2009). Detachment of brain pericytes from the basal lamina is involved in disruption of the blood-brain barrier caused by lipopolysaccharide-induced sepsis in mice. *Cellular and Molecular Neurobiology*, **29**(3), 309-316.
- Nitsch, C., Goping, G., Klatzo, I. (1986). Pathophysiological aspects of blood-brain barrier permeability in epileptic seizures. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, **203**, 175-189.
- Nooteboom, A., Van Der Linden, C.J., Hendriks, T. (2002). Tumor necrosis factor- α and interleukin-1 β mediate endothelial permeability induced by lipopolysaccharide-stimulated whole blood. *Crit Care Med.*, **30**(9), 2063-2068.
- Oby, E., Janigro, D. (2006). The blood-brain barrier and epilepsy. *Epilepsia*, **47**(11), 1761-1774.
- Ohmoto, Y., Fujisawa, H., Ishikawa, T., Koizumi, H., Matsuda, T., Ito, H. (1996). Sequential changes in cerebral blood flow, early neuropathological consequences and blood-brain barrier disruption following radiofrequency-induced localized hyperthermia in the rat. *International Journal of Hyperthermia*, **12**(3), 321-334.
- Oldendorf, W.H., Brown, W.J. (1975). Greater number of capillary endothelial cell mitochondria in brain than in muscle. *Proc Soc Exp Biol Med.*, **149**, 736-738.
- Oztas, B., Kaya, M., Camurcu, S. (1993). Influence of pregnancy on blood-brain barrier integrity during seizures in rats. *Pharmacol Res.*, **28**, 317-323.
- Pachter, J.S., de Vries, H.E., Fabry, Z. (2003). The blood-brain barrier and its role in immune privilege in the central nervous system. *J Neuropathol Exp Neurol.*, **62**(6), 593-604.
- Pan, E., Stringer, J.L. (1996). Influence of osmolality on seizure amplitude and propagation in the rat dentate gyrus. *Neurosci Lett.*, **207**, 9-12.
- Paolinelli, R., Corada, M., Orsenigo, F., Dejana, E. (2011). The molecular basis of the blood brain barrier differentiation and maintenance. Is it still a mystery? *Pharmacol Res.*, **63**(3), 165-171.
- Papadopoulos, M.C., Lamb, F.J., Moss, R.F., Davies, D.C., Tighe, D., Bennett, E.D. (1999). Faecal peritonitis causes oedema and neuronal injury in pig cerebral cortex. *Clin Sci (Lond).*, **96**(5), 461-466.

- Papadopoulos, M.C., Verkman, A.S. (2007). Aquaporin-4 and brain edema. *Pediatr Nephrol.*, **22(6)**, 778-84.
- Papadopoulos, M.C., Davies, D.C., Moss, R.F., Tighe, D., Bennett, E.D. (2000). Pathophysiology of septic encephalopathy: a review. *Critical Care Medicine*, **28(8)**, 3019-3024.
- Papadopoulos, M.C., Manley, G.T., Krishna, S., Verkman, A.S. (2004). Aquaporin 4 facilitates the reabsorption of excess fluid in vasogenic brain edema. *FASEB J*, **18**, 1291-1293.
- Pardridge, W.M. (2006). *Introduction to the Blood–Brain Barrier: Methodology, Biology and Pathology*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Pardridge, W.M. (1999). Blood-brain barrier biology and methodology. *J Neurovirol.*, **5**, 556-569.
- Pardridge, W.M. (1999). Non-invasive drug delivery to the human brain using endogenous blood-brain barrier transport systems. *Pharmaceutical Science & Technology Today*, **2(2)**, 49-59.
- Pardridge, W.M. (2003). Blood-brain barrier drug targeting: the future of brain drug development. *Mol Interv.*, **3(2)**, 90-105.
- Pardridge, W.M. (2005). The blood-brain barrier: bottleneck in brain drug development. *NeuroRx.*, **2(1)**, 3-14.
- Pardridge, W.M. (2007). Blood-brain barrier delivery. *Drug Discovery Today*, **12(1-2)**, 54-61.
- Pekcec, A., Unkrüer, B., Stein, V., Bankstahl, J.P., Soerensen, J., Tipold, A., Baumgärtner, W., Potschka, H. (2009). Over-expression of P-glycoprotein in the canine brain following spontaneous status epilepticus. *Epilepsy Research*, **83(2-3)**, 144-151.
- Peppiatt, C.M., Howarth, C., Mobbs, P., Attwell, D. (2006). Bidirectional control of CNS capillary diameter by pericytes. *Nature*, **443**, 700-704.
- Perlmuter, L.S., Chui, H.C. (1990). Microangiopathy, the vascular basement membrane and Alzheimer's disease: a review. *Brain Res. Bull.*, **24**, 677-686.
- Petito, C.K., Schaefer, J.A., Plum, F. (1977). Ultrastructural characteristics of the brain and blood-brain barrier in experimental seizures. *Brain Research*, **127(2)**, 251-267.
- Petty, M.A., Lo, E.H. (2002). Junctional complexes of the blood-brain barrier: permeability changes in neuroinflammation. *Prog. Neurobiol.*, **68**, 311-323.

- Piazza, O., Russo, E., Cotena, S., Esposito, G., Tufano, R. (2007). Elevated S100B levels do not correlate with the severity of encephalopathy during sepsis. *Br J Anaesth.*, **99**, 518-521.
- Plata-Salamán, C.R., Ilyin, S.E., Turrin, N.P., Gayle, D., Flynn, M.C., Romanovitch, A.E., Kelly, M.E., Bureau, Y., Anisman, H., McIntyre, D.C. (2000). Kindling modulates the IL-1 β system, TNF- α , TGF- β 1, and neuropeptide mRNAs in specific brain regions. *Brain Research Molecular Brain Research*, **75(2)**, 248-258.
- Porter, R.J. (1988). Therapy of epilepsy. *Curr. Opin. Neurol. Neurosurg.*, **1**, 206-211.
- Quan, N., Stern, E.L., Whiteside, M.B., Herkenham, M. (1999). Induction of pro-inflammatory cytokine mRNAs in the brain after peripheral injection of subseptic doses of lipopolysaccharide in the rat. *Journal of Neuroimmunology*, **93(1-2)**, 72-80.
- Ramsauer, M., Krause, D., Dermietzel, R. (2002). Angiogenesis of the blood-brain barrier in vitro and the function of cerebral pericytes. *FASEB J.*, **16**, 1274-1278.
- Rao, R.S., Medhi, B., Saikia, U.N., Arora, S.K., Toor, J.S., Khanduja, K.L., Pandhi, P. (2008). Experimentally induced various inflammatory models and seizure: understanding the role of cytokine in rat. *Eur Neuropsychopharmacol.*, **18(10)**, 760-767.
- Rasmussen, T., Olsewski, J., Lloyd-Smith, D. (1958). Focal seizures due to chronic localized encephalitis. *Neurology*, **8**, 435-445.
- Ravizza, T., Balosso, S., Vezzani, A. (2011). Inflammation and prevention of epileptogenesis. *Neuroscience Letters*, **497(3)**, 223-230.
- Riazi, K., Galic, M.A., Pittman, Q.J. (2010). Contributions of peripheral inflammation to seizure susceptibility: cytokines and brain excitability. *Epilepsy Res.*, **89(1)**, 34-42.
- Riazi, K., Galic, M.A., Kuzmiski, J.B., Ho, W., Sharkey, K.A., Pittman, Q.J. (2008). Microglial activation and TNF α production mediate altered CNS excitability following peripheral inflammation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **105(44)**, 17151-17156.
- Risau, W., Wolburg, H. (1990). Development of the blood-brain barrier. *Trends Neurosci.*, **13**, 174-178.
- Rittirsch, D., Huber-Lang, M.S., Flierl, M.A., Ward, P.A. (2009). Immunodesign of experimental sepsis by cecal ligation and puncture. *Nat Protoc.*, **4(1)**, 31-36.
- Roper, S.N., Obenhaus, A., Dudek, F.E. (1992). Osmolality and nonsynaptic epileptiform bursts in rat CA1 and dentate gyrus. *Ann Neurol.*, **31**, 81-85.

- Rosenberg, G.A., Estrada, E.Y., Mobashery, S. (2007). Effect of synthetic matrix metalloproteinase inhibitors on lipopolysaccharide-induced blood-brain barrier opening in rodents: Differences in response based on strains and solvents. *Brain Research*, **1133**(1), 186-192.
- Sá Santos, S., Fonseca, L.L., Monteiro, M.A., Carrondo, M.J., Alves, P.M. (2005). Culturing primary brain astrocytes under a fully controlled environment in a novel bioreactor. *J Neurosci Res.*, **79**(1-2), 26-32.
- Saadoun, S., Tait, M.J., Reza, A., Davies, D.C., Bell, B.A., Verkman, A.S., Papadopoulos M.C. (2009). AQP4 gene deletion in mice does not alter blood-brain barrier integrity or brain morphology. *Neuroscience*, **161**(3), 764-772.
- Sanovich, E., Bartus, R.T., Friden, P.M., Dean, R.L., Le, H.Q., Brightman, M.W. (1995). Pathway across blood-brain barrier opened by the bradykinin agonist, RMP-7. *Brain Res.*, **705**(1-2), 125-135.
- Sayyah, M., Javad-Pour, M., Ghazi-Khansari, M. (2003). The bacterial endotoxin lipopolysaccharide enhances seizure susceptibility in mice: involvement of proinflammatory factors: nitric oxide and prostaglandins. *Neuroscience*, **122**(4), 1073-1080.
- Schlageter, K.E., Molnar, P., Lapin, G.D., Groothuis, D.R. (1999). Microvessel organization and structure in experimental brain tumors: microvessel populations with distinctive structural and functional properties. *Microvasc Res.*, **58**, 312-328.
- Seiffert, E., Dreier, J.P., Ivens, S., Bechmann, I., Tomkins, O., Heinemann, U., Friedman, A. (2004). Lasting blood-brain barrier disruption induces epileptic focus in the rat somatosensory cortex. *Journal of Neuroscience*, **24**(36), 7829-7836.
- Semmler, A., Hermann, S., Mormann, F., Weberpals, M., Paxian, S.A., Okulla, T., Schafers, M., Kummer, M.P., Klockgether, T., Heneka, M.T. (2008). Sepsis causes neuroinflammation and concomitant decrease of cerebral metabolism. *J Neuroinflammation*, **5**, 38.
- Sharma, H.S., Zimmermann-Meinzingen, S., Sharma, A., Johanson, C.E. (2010). Cerebrolysin attenuates blood-brain barrier and brain pathology following whole body hyperthermia in the rat. *Acta Neurochirurgica Supplementum*, **106**, 321-325.
- Sharshar, T., Hopkinson, N.S., Orlikowski, D., Annane, D. (2005). Science review: the brain in sepsis—culprit and victim. *Crit Care*, **9**, 37-44.

- Sheng, J.G., Boop, F.A., Mrak, R.E., Griffin, W.S. (1994). Increased neuronal beta-amyloid precursor protein expression in human temporal lobe epilepsy: association with interleukin-1 alpha immunoreactivity. *Journal of Neurochemistry*, **63**(5), 1872-1879.
- Shukla, A., Dikshit, M., Srimal, R.C. (1995). Nitric oxide modulates blood–brain barrier permeability during infections with an inactivated bacterium. *Neuroreport*, **6**(12), 1629-1632.
- Smith, D.E., Johanson, C.E., Keep, R.F. (2004). Peptide and peptide analog transport systems at the blood–CSF barrier. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **56**, 1765-1791.
- Stewart, P.A., Wiley, M.J. (1981). Structural and histochemical features of the avian blood-brain barrier. *J Comp Neurol.*, **202**(2), 157-167.
- Stewart, P.A. (2000). Endothelial vesicles in the blood–brain barrier: are they related to permeability? *Cell. Mol. Neurobiol.*, **20**, 149-163.
- Stienen, M.N., Haghikia, A., Dambach, H., Thöne, J., Wiemann, M., Gold, R., Chan, A., Dermietzel, R., Faustmann, P.M., Hinkerohe, D., Prochnow, N. (2011). Anti-inflammatory effects of the anticonvulsant drug levetiracetam on electrophysiological properties of astroglia are mediated via TGFβ1 regulation. *Br J Pharmacol.*, **162**(2), 491-507.
- Stonestreet, B.S., Sadowska, G.B., McKnight, A.J., Patlak, C., Petersson, K.H. (2000). Exogenous and endogenous corticosteroids modulate blood-brain barrier development in the ovine fetus. *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol.*, **279**, 468-477.
- Sugiyama, Y., Kusuhara, H., Suzuki, H. (1999). Kinetic and biochemical analysis of carrier-mediated efflux of drugs through the blood-brain and blood-cerebrospinal fluid barriers: importance in the drug delivery to the brain. *J Control Release.*, **62**, 179-186.
- Tam, S.J., Watts, R.J. (2010). Connecting vascular and nervous system development: angiogenesis and the blood–brain barrier. *Annu Rev Neurosci.*, **33**, 379-408.
- Teeling, J.L., Perry, V.H. (2009). Systemic infection and inflammation in acute CNS injury and chronic neurodegeneration: underlying mechanisms. *Neuroscience*, **158**(3), 1062-1073.
- Temesvari, P., Abraham, C.S., Speer, C.P., Kovacs, J., Megyeri, P. (1993). Escherichia coli 0111:B4 lipopolysaccharide given intracisternally induces blood–brain barrier opening during experimental neonatal meningitis in piglets. *Pediatr. Res.*, **34**(2), 182-186.

- Tetzlaff, K., Shank, E.S., Muth, C.M. (2003). Evaluation and management of decompression illness--an intensivist's perspective. *Intensive Care Med.*, **29(12)**, 2128-2136.
- Toklu, H.Z., Uysal, M.K., Kabasakal, L., Sirvanci, S., Ercan, F., Kaya, M. (2009). The effects of riluzole on neurological, brain biochemical, and histological changes in early and late term of sepsis in rats. *J Surg Res.*, **152(2)**, 238-248.
- Tomkins, O., Friedman, O., Ivens, S., Reiffurth, C., Major, S., Dreier, J.P., Heinemann, U., Friedman, A. (2007). Blood-brain barrier disruption results in delayed functional and structural alterations in the rat neocortex. *Neurobiol Dis.*, **25(2)**, 367-377.
- Traynelis, S.F., Dingledine, R. (1989). Role of extracellular space in hyperosmotic suppression of potassium-induced electrographic seizures. *J Neurophysiol.*, **61**, 927-938.
- Trickler, W.J., Mayhan, W.G., Miller, D.W. (2005). Brain microvessel endothelial cell responses to tumor necrosis factor-alpha involve a nuclear factor kappa B (NF-kappaB) signal transduction pathway. *Brain Res.*, **1048(1-2)**, 24-31.
- Tsao, N., Hsu, H.P., Wu, C.M., Liu, C.C., Lei, H.Y. (2001). Tumour necrosis factor-alpha causes an increase in blood-brain barrier permeability during sepsis. *Journal of Medical Microbiology*, **50(9)**, 812-821.
- Turrin, N.P., Rivest, S. (2004). Innate immune reaction in response to seizures: implications for the neuropathology associated with epilepsy. *Neurobiol. Dis.*, **16**, 321-334.
- van Dam, A.M., Brouns, M., Louisse, S., Berkenbosch, F. (1992). Appearance of interleukin-1 in macrophages and in ramified microglia in the brain of endotoxin-treated rats: a pathway for the induction of non-specific symptoms of sickness? *Brain Research*, **588(2)**, 291-296.
- van Furth, A.M., Roord, J.J., van Furth, R. (1996). Roles of proinflammatory and anti-inflammatory cytokines in pathophysiology of bacterial meningitis and effect of adjunctive therapy. *Infection and immunity*, **64(12)**, 4883-4890.
- van Vliet, E.A., da Costa Araújo, S., Redeker, S., van Schaik, R., Aronica, E., Gorter, J.A. (2007). Blood-brain barrier leakage may lead to progression of temporal lobe epilepsy. *Brain*, **130(Pt 2)**, 521-34.

- Vangilder, R.L., Rosen, C.L., Barr, T.L., Huber, J.D. (2011). Targeting the neurovascular unit for treatment of neurological disorders. *Pharmacol Ther.*, **130(3)**, 239-47.
- Vezzani, A., Aronica, E., Mazarati, A., Pittman, Q.J. (2011). Epilepsy and brain inflammation. *Exp Neurol.* 2011 Oct 1. [Epub ahead of print]
- Vezzani, A., Conti, M., De Luigi, A., Ravizza, T., Moneta, D., Marchesi, F., De Simoni, M.G. (1999). Interleukin-1 β immunoreactivity and microglia are enhanced in the rat hippocampus by focal kainate application: functional evidence for enhancement of electrographic seizures. *J Neurosci.*, **19(12)**, 5054-5065.
- Vezzani, A., Moneta, D., Conti, M., Richichi, C., Ravizza, T., De Luigi, A., De Simoni, M.G., Sperk, G., Andell-Jonsson, S., Lundkvist, J., Iverfeldt, K., Bartfai, T. (2000). Powerful anticonvulsant action of IL-1 receptor antagonist on intracerebral injection and astrocytic overexpression in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, **97(21)**, 11534-11539.
- Vezzani, A. (2005). Inflammation and epilepsy. *Epilepsy Currents*, **5(1)**, 1-6.
- Vezzani, A., Granata, T. (2005). Brain inflammation in epilepsy: experimental and clinical evidence. *Epilepsia*, **46**, 1724-1743.
- Vezzani, A., Rüegg, S. (2011). General conclusions. *Epilepsia* **52 Suppl 3**, 52-53.
- Vezzani, A., Rüegg, S. (2011). The pivotal role of immunity and inflammatory processes in epilepsy is increasingly recognized: introduction. *Epilepsia*, **52 Suppl 3**, 1-4.
- Virta M, Hurme M, Helminen M. (2002). Increased plasma levels of pro- and anti-inflammatory cytokines in patients with febrile seizures. *Epilepsia*, **43(8)**, 920-923.
- Vizuete, M.L., Venero, J.L., Vargas, C., Llundain, A.A., Echevarria, M., Machado, A., Cano, J. (1999). Differential upregulation of aquaporin-4 mRNA expression in reactive astrocytes after brain injury: potential role in brain edema. *Neurobiol. Dis.*, **6**, 245-258.
- Volk, H.A., Burkhardt, K., Potschka, H., Chen, J., Becker, A., Löscher, W. (2004). Neuronal expression of the drug efflux transporter P-glycoprotein in the rat hippocampus after limbic seizures. *Neuroscience*, **123(3)**, 751-759.
- Volk, H.A., Löscher, W. (2005). Multidrug resistance in epilepsy: Rats with drug-resistant seizures exhibit enhanced brain expression of p-glycoprotein compared with rats with drug-responsive seizures. *Brain*, **128(pt 6)**, 1358-1368.

- Volk, H.A., Potschka, H., Löscher, W. (2004). Increased expression of the multidrug transporter P-glycoprotein in limbic brain regions after amygdala-kindled seizures in rats. *Epilepsy Research*, **58(1)**, 67-79.
- Wallez, Y., Huber, P. (2008). Endothelial adherens and tight junctions in vascular homeostasis, inflammation and angiogenesis. *Biochim Biophys Acta*, **1778**, 794-809.
- Wang, J.H., Scollard, D.A., Teng, S., Reilly, R.M., Piquette-Miller, M. (2005). Detection of P-glycoprotein activity in endotoxemic rats by ^{99m}Tc-sestamibi imaging. *Journal of Nuclear Medicine*, **46(9)**, 1537-1545.
- Warren, M.S., Zerangue, N., Woodford, K., Roberts, L.M., Tate, E.H., Feng, B., Li, C., Feuerstein, T.J., Gibbs, J., Smith, B., de Morais, S.M., Dower, W.J., Koller, K.J. (2009). Comparative gene expression profiles of ABC transporters in brain microvessel endothelial cells and brain in five species including human. *Pharmacol Res.*, **59(6)**, 404-413.
- Webb, A.A., Muir, G.D. (2000). The blood-brain barrier and its role in inflammation. *J Vet Intern Med.*, **14(4)**, 399-411.
- Winkler, E.A., Bell, R.D., Zlokovic, B.V. (2011). Central nervous system pericytes in health and disease. *Nat Neurosci.*, **14(11)**, 1398-405.
- Wolburg, H., Noell, S., Mack, A., Wolburg-Buchholz, K., Fallier-Becker, P. (2009). Brain endothelial cells and the glio-vascular complex. *Cell Tissue Res.*, **335**, 75-96.
- Wosik, K., Cayrol, R., Dodelet-Devillers, A., Berthelet, F., Bernard, M., Moumdjian, R., Bouthillier, A., Reudelhuber, T.L., Prat, A. (2009). Angiotensin II controls occludin function and is required for blood brain barrier maintenance: relevance to multiple sclerosis. *J. Neurosci.*, **27(34)**, 9032-9042.
- Wratten, M.L. (2008). Therapeutic approaches to reduce systemic inflammation in septic-associated neurologic complications. *Eur J Anaesthesiol.*, **Suppl.**, **42**, 1-7.
- Wüllner, U., Klockgether, T. (2003). Inflammation in Parkinson's disease. *J Neurol.*, **250 Suppl 1**, I35-138.
- Yemisci, M., Gursoy-Ozdemir, Y., Vural, A., Can, A., Topalkara, K., Dalkara, T. (2009). Pericyte contraction induced by oxidative-nitrative stress impairs capillary reflow despite successful opening of an occluded cerebral artery. *Nat Med.*, **15(9)**, 1031-1037.

- Yuhas Y, Weizman A, Ashkenazi S. (2003). Bidirectional concentration-dependent effects of tumor necrosis factor alpha in *Shigella dysenteriae*-related seizures. *Infect Immun.*, **71**(4), 2288-2291.
- Yuhas, Y., Shulman, L., Weizman, A., Kaminsky, E., Vanichkin, A., Ashkenazi, S. (1999). Involvement of tumor necrosis factor alpha and interleukin-1beta in enhancement of pentylenetetrazole-induced seizures caused by *Shigella dysenteriae*. *Infection and Immunity*, **67**(3), 1455-1460.
- Zelenina, M. (2010). Regulation of brain aquaporins. *Neurochemistry International*, **57**(4), 468-488.
- Zhang, E.Y., Knipp, G.T., Ekins, S., Swaan, P.W. (2002). Structural biology and function of solute transporters: implications for identifying and designing substrates. *Drug Metab Rev.*, **34**, 709-750.
- Zhang, H., Gu, Y.T., Xue, Y.X. (2007). Bradykinin-induced blood-brain tumor barrier permeability increase is mediated by adenosine 5'-triphosphate-sensitive potassium channel. *Brain Res.*, **1144**, 33-41.
- Zhou, J., Kong, H., Hua, X., Xiao, M., Ding, J., Hu, G. (2008). Altered blood–brain barrier integrity in adult aquaporin-4 knockout mice. *Neuroreport*, **19**, 1-5.
- Ziylan, Y.Z., LeFauconnier, J.M., Bernard, G., Bourre, J.M. (1988). Effect of dexamethasone on transport of alpha-aminoisobutyric acid and sucrose across the blood-brain barrier. *J Neurochem.*, **51**(5), 1338-1342.
- Zlokovic, B.V. (2011). Neurovascular pathways to neurodegeneration in Alzheimer's disease and other disorders. *Nat Rev Neurosci.*, **12**(12), 723-738.
- Zucker, D.K., Wooten, G.F., Lothman, E.W. (1983). Blood-brain barrier changes with kainic acid-induced limbic seizures. *Exp Neurol.*, **79**, 422-33.

ETİK KURUL KARARI



T.C
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU



Sayı: 108

27/ 08/2009

Sn. Prof. Dr. Mehmet KAYA
İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi

Karar No: 97
Başvuru Tarihi: 28/07/2009

Sorumluluğunu üstlendiğiniz, YLÖ Metin Berkant BAHÇECİ'ye ait "Sepsis sırasında oluşturulan epileptik nöbetlerin kan-beyin bariyer geçirgenliğine etkisi" isimli projeniz Kurulumuz tarafından incelenmiş ve Etik Kurul ilkelerine uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Alev A. KAYMAZ
İ. Ü. HADYEK Başkanı

Prof. Dr. Müjdat UYSAL
Üye

Prof. Dr. Gülderen ŞAHİN
Üye

Prof. Dr. Nuriye AKEV
Üye

Doç. Dr. Alper YILMAZ
Üye

Doç. Dr. Mehmet YALTIRIK
Üye

Uzm. Vet. Hek. Fatma TEKELİ
Üye

Avukat Safiye ALTUN
Üye

Mak. Müh. Seyfettin AVCI
Üye

İstanbul Üniversitesi
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı
İstanbul Üniversitesi Rektörlüğü 34119 Beyazıt-İSTANBUL
TEL : (0 212) 440 00 00/ 10013
E mail : hadyek@istanbul.edu.tr

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Metin Berkant	Soyadı	Bahçeci
Doğ.Yeri	Antalya	Doğ.Tar.	14.10.1977
Uyruğu	T.C.	TC Kim No	25564190844
Email	berkant.bahceci@gmail.com	Tel	216.346 34 00

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora	-	
Yük.Lis.	-	
Lisans	Yıldız Teknik Üniversitesi	2005
Lise	Antalya Lisesi	1999

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Genel Müdür	Bilkosis Medikal Ltd. Şti.	2000 -
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	İyi	İyi	İyi	-	Proficiency / BC

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı			
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Özel İlgi Alanları (Hobileri):