

T.C.  
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**GENETİK ABSANS EPİLEPSİLİ WAG/Rij SIÇANLARDA  
KARDİYOVASKÜLER DEĞİŞİKLİKLER ÜZERİNDE KÖK HÜCRE  
TEDAVİSİ VE KLASİK TEDAVİNİN ETKİLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

Tuğçe DEMİRTAŞ ŞAHİN

Kocaeli Üniversitesi  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin  
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Doktora Programı için Öngördüğü  
DOKTORA TEZİ  
Olarak Hazırlanmıştır.

KOCAELİ  
2016



T.C.  
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**GENETİK ABSANS EPİLEPSİLİ WAG/Rij SIÇANLARDA  
KARDİYOVASKÜLER DEĞİŞİKLİKLER ÜZERİNDE KÖK HÜCRE  
TEDAVİSİ VE KLASİK TEDAVİNİN ETKİLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

Tuğçe DEMİRTAŞ ŞAHİN

Kocaeli Üniversitesi  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin  
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Doktora Programı için Öngördüğü  
DOKTORA TEZİ  
Olarak Hazırlanmıştır.

Danışman: Prof. Dr. Tijen UTKAN

Destekleyen Kurum: TÜBİTAK (Proje Nu: 114S481)  
Etik Kurul Onay Nu: KOÜ HADYEK 3/7-2014

KOCAELİ  
2016

T.C.  
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(Tez Onay Sayfası)

Tez adı: Genetik Ataklı Epilepsili WAG/Rfj Sığırlarda Kortikovertebral  
Depozitlikler Üzerinde Koks Hücresi Tedavisi ve Klasik Tedavinin  
Etkilerinin Araştırılması

Tez yazarı: Tuğçe Demirtaş ŞATTIN

Tez savunma tarihi: 01.03.2016

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Tijen UTKAN

İş bu çalışma Jürimiz tarafından .....Tıbbi.....Farmakoloji.....  
Anabilim Dalı .....Doktora..... tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Sınavı jüri üyeleri Ünvanı Adı Soyadı	İmzası
Üye ..Prof. Dr. Feyza Anıçoğlu.....	F. Anıçoğlu.
Üye ..Prof. Dr. Güner Uluak.....	G. Uluak.
Üye Yrd. Doç. Dr. Gönül Gural Çiftçi.....	G. Gural Çiftçi.
Üye ..Doç. Dr. Ayşe Karson.....	A. Karson.
Üye ..Prof. Dr. Tijen Utkan.....	T. Utkan.

ONAY

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

...../...../20

Prof. Dr. Mustafa Yıldız  
Enstitü Müdürü

## ÖZET

### Genetik Absans Epilepsili WAG/Rij Sıçanlarda Kardiyovasküler Değişiklikler Üzerinde Kök Hücre Tedavisi ve Klasik Tedavinin Etkilerinin Araştırılması

**Amaç:** Bu çalışmada, genetik absans epilepsili WAG/Rij sıçanlarda nöral kök hücre (NKH) tedavisi ve kronik etosüksimid tedavisinin absans epilepsideki etkililiği ve gözlenebilecek olası kardiyovasküler değişiklikler üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

**Yöntem:** 2 aylık Wistar ve WAG/Rij sıçanlar; Kontrol, NKH, Sham ve Etosüksimid gruplarına ayrıldı. NKH gruplarına fetal medial gangliyonik eminens (MGE) kaynaklı NKHtransplantasyonu yapıldı ve hücrelerin farklılaşması için 3 ay süre verildi. NKH'lerin nöron, astrosit, oligodendrosit ve GABAerjik nöronlara farklılaşmaları *in vitro* olarak saptandı. Etosüksimid grupları ise 3 ay kronik etosüksimid tedavisi aldı. Süre sonunda tüm gruplarda EEG kayıtları alınarak diken dalga deşarjlarının (DDD) sayısı, ortalama süre ve toplam süresi değerlendirildi. Sonrasında gruplar 2 alt gruba ayrıldı ve 1. alt gruplarda ortalama arteriyel kan basıncı (OAB) ve kalp hızı (KH) ölçümü, 2. alt gruplarda hayvanların izole edilen torasik aortalarında *in vitro* izole organ çalışmaları yapıldı.

**Bulgular:** MGE kaynaklı NKH'lerin *in vitro* ortamda astrosit, nöron, oligodendrosit ve GABAerjik nöronlara farklılaştığı gösterildi. Etosüksimid ve NKH tedavisi WAG/Rij sıçanlarda DDD'ları kontrol ve sham gruplarına göre toplam süre, ortalama süre ve sayı açısından anlamlı olarak azalttı. WAG/Rij kontrol, NKH ve sham gruplarında OABdeğeri Wistar kontrol grubuna göre anlamlı olarak fazla bulundu. KH, Wistar etosüksimid grubunda Wistar kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldı. KCl kasılma yanıtlarında Wistar kontrol grubuna göre Wistar etosüksimid grubunda anlamlı artma, WAG/Rij kontrol grubunda anlamlı azalma saptandı. Karbakol gevşeme yanıtlarında Wistar kontrol grubuna göre WAG/Rij kontrol grubunda anlamlı artma, Wistar etosüksimid grubunda anlamlı azalma gözlemlendi. SNP yanıtlarında anlamlı bir fark bulunmadı.

**Sonuç:** NKH tedavisi, absans epilepside klasik antiepileptik tedaviye alternatif olarak umut vadetmektedir. Absans epilepsili WAG/Rij sıçanlarda ve uygulanan etosüksimid tedavisine bağlı olarak kardiyovasküler fonksiyonlarda değişiklikler gözlenmiştir.

**Anahtar Sözcükler:** Absans epilepsi, WAG/Rij sıçan modeli, nöral kök hücre, etosüksimid, vasküler reaktivite, kan basıncı, kalp hızı

## ABSTRACT

### Investigation of the Effects of Stem Cell Therapy and Conventional Treatment on Cardiovascular Changes in Genetic Absence Epileptic WAG/Rij Rats

**Objective:** In this study we investigated the efficacy of neural stem cell (NSC) and chronic ethosuximide treatment in absence epilepsy and their effects on the potentially observable cardiovascular changes in WAG/Rij rats with genetic absence epilepsy.

**Method:** We divided 2 month old Wistar and WAG/Rij rats into four groups: Control, NSC, Sham and Ethosuximide. NSCs taken from fetal medial ganglionic eminence (MGE) were transplanted to the NSC groups and we waited for 3 months for cell differentiation. We determined the cell differentiation into neurons, astrocytes, oligodendrocytes and GABAergic neurons *in vitro*. The ethosuximide groups received chronic ethosuximide treatment for 3 months. At the end of this period; the number, mean duration and total duration of spike wave discharges (SWD) were evaluated using EEG recordings. Each group was then divided into two subgroups. In the first group mean arterial blood pressure (MAP) and heart rate (HR) measurements were performed. In the second group, *in vitro* isolated organ studies were conducted on the thoracic aortas of animals.

**Results:** MGE-derived NSCs were found to differentiate into astrocytes, neurons, oligodendrocytes and GABAergic neurons *in vitro*. Ethosuximide and NSC treatment significantly reduced the number, mean duration and total duration of SWDs in WAG/Rij rats compared to control and sham groups. In WAG/Rij control, NSC and sham groups, MAP was significantly higher than Wistar control. HR in Wistar ethosuximide group was significantly lower than Wistar control group. KCl contraction responses increased in the Wistar ethosuximide and decreased in the WAG/Rij control group compared to Wistar control group. Carbachol relaxation responses significantly increased in the WAG/Rij control and decreased in the Wistar ethosuximide group compared to Wistar control group. There was no significant difference in SNP responses.

**Conclusions:** NSC treatment is a potential alternative to conventional antiepileptic drug therapy in absence epilepsy. Cardiovascular function changes have been observed in the WAG/Rij rats with absence epilepsy and as a result of ethosuximide treatment.

**Keywords:** Absence epilepsy, WAG/Rij rat model, neural stem cell, ethosuximide, vascular reactivity, blood pressure, heart rate

## TEŞEKKÜR

Tüm doktora eğitimim süresince gerek bilimsel bilgi birikimi gerekse hayat tecrübeleriyle bana sınırsız destek olan, beni yönlendirip yüreklendiren, üzerimde çok büyük emeği olan, öğrencisi olmaktan ve tanımaktan her zaman onur duyacağım değerli hocam ve danışmanım, Prof. Dr. Tijen UTKAN'a,

Doktora eğitimim ve tez çalışmalarım süresince büyük emek veren, eğitimime büyük katkıları olan ve beni yönlendiren değerli hocam, Doç. Dr. Ayşe KARSON'a,

Eğitimim boyunca desteğini ve yardımlarını esirgemeyen, tanımaktan ve birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum, güler yüzüyle beni hep motive eden değerli hocam, Prof. Dr. Nejat GACAR'a,

Teze önemli katkıları olan Yrd. Doç. Dr. Zehra Seda ÜNAL HALBUTOĞULLARI'na,

Çalışmalarım boyunca gösterdikleri sonsuz destek, anlayış ve hoşgörü için canım annem Gülay DEMİRTAŞ, canım babam Necmettin DEMİRTAŞ ve sevgili eşim Bayram ŞAHİN'e çok teşekkür ederim.

## TEZİN AŞIRMA OLMADIĞI BİLDİRİSİ

Tezimde başka kaynaklardan yararlanılarak kullanılan yazı, bilgi, çizim, çizelge ve diğer malzemeler kaynakları gösterilerek verilmiştir. Tezimin herhangi bir yayından kısmen ya da tamamen aşırma olmadığını ve bir İntihal Programı kullanılarak test edildiğini beyan ederim.

.../.../2016

Tuğçe DEMİRTAŞ ŞAHİN



## İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	iii
ÖZET	iv
İNGİLİZCE ÖZET	v
TEŞEKKÜR	vi
TEZİN AŞIRMA OLMADIĞI BİLDİRİSİ	vii
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xii
ÇİZİMLER DİZİNİ	xiv
ÇİZELGELER DİZİNİ	xvi
1. GİRİŞ	1
1.1. Epilepsi	1
1.1.1. Epilepsinin Tanımı ve Epidemiyoloji	1
1.1.2. Epilepsinin Sınıflandırılması	2
1.2. Absans Epilepsi	6
1.2.1. Absans Epilepsi Hayvan Modelleri	7
1.2.2. Genetik Absans Epilepsili WAG/Rij Sıçan Modeli	9
1.3. Absans Epilepside Patofizyoloji	11
1.3.1. Santrensefalik Teori	12
1.3.2. Kortikal Teori	13
1.3.3. Kortikoretiküler Teori	14
1.3.4. Talamik Saat Teorisi	15
1.3.5. Kortikal Odak Teorisi	16
1.4. Absans Epilepside Nörotransmitterlerin Rolü	18
1.4.1. GABA	19
1.4.2. Glutamat	20
1.4.3. Diğer Nöromodülatörler	21
1.5. Absans Epilepside İyon Kanallarının Rolü	22
1.6. Absans Epilepside İnflamasyonun Rolü	23
1.7. Absans Epilepside Antiepileptik Tedavi	24
1.7.1. Etosüksimid	24
1.7.2. Sodyum Valproat	25
1.7.3. Lamotrijin	26

1.7.4. Levetirasetam	26
1.7.5. Asetazolamid, Klonazepam, Klobazam	27
1.7.6. Zonisamid	27
1.8. Nöral Kök Hücreler (NKH)	28
1.8.1. Farklı Epilepsi Türlerinde Deneysel NKH Tedavi Yaklaşımları	30
1.9. Absans Epilepside Kardiyovasküler Değişiklikler	31
2. AMAÇ	33
3. YÖNTEM	37
3.1. Grupların Belirlenmesi	37
3.2. Fetal Medial Gangliyonik Eminens (MGE) Kaynaklı NKH'lerin İzolasyonu ve İşaretlenmesi	39
3.2.1. Fetal MGE Kaynaklı NKH İzolasyonu	39
3.2.2. NKH Nörosfer Pasajlama İşlemi	41
3.2.3. NKH Nöroküre Dondurma İşlemi	41
3.3. NKH <i>in vitro</i> Farklılaşma/Karakterizasyon Çalışmaları	42
3.3.1. NKH'lerin <i>in vitro</i> Farklılaştırılması	42
3.3.2. NKH'lerin <i>in vitro</i> Karakterizasyonu	42
3.4. Gruplara Belirlenen Tedavilerin Verilmesi	43
3.4.1. Wistar ve WAG/Rij Kontrol Grupları	43
3.4.2. Wistar ve WAG/Rij Etosüksimid Grupları	43
3.4.3. Wistar ve WAG/Rij NKH Grupları	44
3.4.4. Wistar ve WAG/Rij Sham Grupları	45
3.5. Postoperatif Bakım	45
3.6. Tüm Gruplardaki Hayvanların EEG Aktivitesi Kayıtlarının Alınması	45
3.7. Her Grubun İki Alt Gruba Ayrılması	47
3.8. OAB ve KH Ölçümü	48
3.9. <i>In vitro</i> İzole Organ Çalışmaları	49
3.9.1. İzole Torasik Aorta Preparatlarının <i>in vitro</i> Deneylere Hazırlanışı	49
3.9.2. Kasılma Yanıtları	49
3.9.2.1. KCl Kasılma Yanıtları	49
3.9.3.2. Fenilefrin Kasılma Yanıtları	50
3.9.3. Gevşeme Yanıtları	50
3.9.3.1. Karbakol Aracılı Gevşeme Yanıtları	50
3.9.3.2. SNP Aracılı Gevşeme Yanıtları	50

3.9.3.3. Papaverin Gevşeme Yanıtları	50
3.9.4. Deneylede Kullanılan Solüsyon ve İlaçlar	50
3.10. Deneyle Sonuçlarının Değerlendirilmesi	51
3.10.1. EEG Kayıtlarının Analizi	51
3.10.2. OAB ve KH Verilerinin Analizi	51
3.10.3. <i>in vitro</i> İzole Organ Çalışmalarından Elde Edilen Verilerin Analizi	51
4. BULGULAR	52
4.1. NKH'lerin Farklılaştırılması	52
4.1.1. Astrositlere Farklılaşma	52
4.1.2. Nöronlara Farklılaşma	53
4.1.3. Oligodendrositlere Farklılaşma	54
4.1.4. GABAerjik Nöronlara Farklılaşma	55
4.2. EEG'de Gözlenen DDD Aktivitesi Değişiklikleri	55
4.2.1. Wistar Sıçan Grupları	55
4.2.2. WAG/Rij Sıçan Grupları	56
4.2.2.1. WAG/Rij Sıçanlara Farklı Tedavi Uygulamalarının (Etosüksimid, NKH, Sham) Toplam DDD Süresi Üzerindeki Etkileri	56
4.2.2.2. WAG/Rij Sıçanlara Farklı Tedavi Uygulamalarının (Etosüksimid, NKH, Sham) Ortalama DDD Süresi Üzerindeki Etkileri	57
4.2.2.3. WAG/Rij Sıçanlara Farklı Tedavi Uygulamalarının (Etosüksimid, NKH, Sham) DDD Sayısı Üzerindeki Etkileri	58
4.3. OAB ve KH'nda Gözlenen Değişiklikler	59
4.3.1. OAB Değişiklikleri	60
4.3.1.1. WAG/Rij ve Wistar Kontrol Sıçanların OAB Yönünden Değerlendirilmesi	60
4.3.1.2. Wistar Sıçanlara Farklı Tedavi Uygulamalarının (Etosüksimid, NKH, Sham) OAB Üzerindeki Etkileri	60
4.3.1.3. WAG/Rij Sıçanlara Farklı Tedavi Uygulamalarının (Etosüksimid, NKH, Sham) OAB Üzerindeki Etkileri	60
4.3.2. KH Değişiklikleri	61
4.3.2.1. WAG/Rij ve Wistar Kontrol Sıçanların KH Yönünden Değerlendirilmesi	61
4.3.2.2. Wistar Sıçanlara Farklı Tedavi Uygulamalarının (Etosüksimid, NKH, Sham) KH Üzerindeki Etkileri	62

4.3.2.3. WAG/Rij Sıçanlara Farklı Tedavi Uygulamalarının (Etosüksimid, NKH, Sham) KH Üzerindeki Etkileri	62
4.4. <i>in vitro</i> İzole Organ Çalışmalarında Doku Yanıtlarındaki Değişiklikler	63
4.4.1. KCl Kasılma Yanıtları	63
4.4.2. Fenilefrin Kasılma Yanıtları	64
4.4.3. Karbakol Gevşeme Yanıtları	65
4.4.3.1. WAG/Rij ve Wistar Kontrol Sıçanların Karbakol Gevşeme Yanıtları Yönünden Değerlendirilmesi	65
4.4.3.2. Wistar Sıçanlara Farklı Tedavi Uygulamalarının (Etosüksimid, NKH, Sham)Etkileri	66
4.4.3.3. WAG/Rij Sıçanlara Farklı Tedavi Uygulamalarının (Etosüksimid, NKH, Sham)Etkileri	67
4.4.4. SNP Gevşeme Yanıtları	68
5. TARTIŞMA	72
5.1. EEG'de Gözlenen DDD Aktivitesi Değişiklikleri	72
5.2. Kardiyovasküler Değişiklikler	77
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	85
KAYNAKLAR DİZİNİ	87
ÖZGEÇMİŞ	102

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

- AMPA :  $\alpha$ -amino-3-hidroksi-5-metil-4-isoksazolpropionik asit  
BrdU: 5- bromo 2'-deoksiüridin  
BCC : Bikukulin  
Ca<sup>++</sup>: Kalsiyum  
CGE: Kaudal Gangliyonik Eminens  
CldU : Kloro deoksiüridin  
COX : Siklooksijenaz  
DAPI : 4',6-diamino-2-fenil indol  
DDD: Diken Dalga Deşarjı  
DMEM-F12 : Dulbecco's Modified Eagle Medium-F12  
EEG : Elektroensefalogram  
EGF : Epidermal Büyüme Faktörü  
FGF : Fibroblast Büyüme Faktörü  
GABA : Gama Amino Bütirik Asit  
GAERS : Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg  
GFAP : Glial Fibriler Asidik Protein  
GHB : Gamma Hidroksi Bütirat  
HCN : Hiperpolarizasyonla Aktive Edilen Siklik Nükleotid Kapılı Katyon  
IL-1 $\beta$  : İnterlökin-1 $\beta$   
IL6 : İnterlökin 6  
ILAE : International League Against Epilepsy  
KH: Kalp Hızı  
LPS : Lipopolisakkarid  
MAM : Metilazoksümetanol Asetat  
MGE : Medial Gangliyonik Eminens  
MSS : Merkezi Sinir Sistemi  
NAM : Negatif Allosterik Modülatör  
NeuN : Nöronal Nükleer Antijen  
NMDA : N-metil-D-aspartik Asit  
NO : Nitrik Oksit  
NG2 : Nörogliya-2  
NKH : Nöral Kök Hücre

OAB : Ortalama Arteriyel Kan Basıncı  
PAM : Pozitif Allosterik Modölatör  
PBS : Phosphate Buffered Saline  
PTX : Pikrotoksin  
PTZ : Pentilentetrazol  
RTN : Retiküler Talamik Nökleus  
S1po : Somatosensoryel Korteksin Perioral Bölgesi  
SH: Standart Hata  
TGF- $\beta$  : Transforme Edici Büyüme Faktörü  $\beta$   
TNF- $\alpha$  : Tümör Nekrozis Faktör Alfa  
TK : Talamokortikal  
WAG/Rij : Wistar Albino Glaxo/Rijwijk rats

## ÇİZİMLER DİZİNİ

<b>Çizim 1.1.</b> Çocukluk çağı epilepsisi: 8 yaşındaki erkek hastada gözlenen EEG paterni	7
<b>Çizim 1.2.</b> Tipik 8 Hz DDD gözlenen elektrot takılı WAG/Rij sıçan	10
<b>Çizim 1.3.</b> Jeneralize absans epilepsinin orijinine dair ileri sürülen 5 teorinin şematik gösterimi	12
<b>Çizim 1.4.</b> Anti-absans ilaçla indüklenen T tipi $Ca^{++}$ akımının azalması	26
<b>Çizim 3.1.</b> NKH izolasyon aşamasında mikroskop altında çıkarılan embriyoların görüntüleri	40
<b>Çizim 3.2.</b> NKH süreçlerinde temel aşamalar	40
<b>Çizim 3.3.</b> NKH nöroküre zıt-faz mikroskop görüntüleri	41
<b>Çizim 3.4.</b> NKH transferi için uygun koordinatların belirlenmesi ve yerleştirilen kanül yardımıyla kök hücre transferinin gerçekleştirilmesi	45
<b>Çizim 3.5.</b> EEG kaydı için tripolar elektrotların yerleştirilmesi ve EEG kayıtlarının alınması	46
<b>Çizim 3.6.</b> WAG/Rij sıçanlardan elde edilen EEG kayıt örnekleri.	47
<b>Çizim 3.7.</b> Deney ve kontrol gruplarının iki alt gruba ayrılması	48
<b>Çizim 3.8.</b> Hayvanlardan alınan kan basıncı kayıt örneği	49
<b>Çizim 4.1.</b> GFAP ve BrdU antikorlarıyla farklılaşma sonrası NKHlerin ikili immunofloresan boyamaları	52
<b>Çizim 4.2.</b> NeuN ve BrdU antikorlarıyla farklılaşma sonrası NKHlerin ikili immunofloresan boyamaları	53
<b>Çizim 4.3.</b> NG2 ve BrdU antikorlarıyla farklılaşma sonrası NKHlerin ikili immunofloresan boyamaları	54
<b>Çizim 4.4.</b> GABAR1 ve BrdU antikorlarıyla farklılaşma sonrası NKH'lerin ikili immunofloresan boyamaları	55
<b>Çizim 4.5.</b> WAG/Rij sıçan gruplarında DDD aktivitesinin toplam süre açısından değerlendirilmesi	57
<b>Çizim 4.6.</b> WAG/Rij sıçan gruplarında DDD aktivitesinin ortalama süre açısından değerlendirilmesi	58
<b>Çizim 4.7.</b> WAG/Rij sıçan gruplarında DDD aktivitesinin sayı açısından değerlendirilmesi	59

<b>Çizim 4.8.</b> Wistar ve WAG/Rij gruplarına uygulanan tedavilerin OAB üzerindeki etkileri	61
<b>Çizim 4.9.</b> Wistar ve WAG/Rij gruplarına uygulanan tedavilerin KH üzerine etkileri	63
<b>Çizim 4.10.</b> İzole torasik aorta dokularının 80 mM KCl ile elde edilen kasılma yanıtları	64
<b>Çizim 4.11.</b> İzole torasik aorta dokularında karbakol konsantrasyon-yanıt eğrileri	65
<b>Çizim 4.12.</b> Wistar ve WAG/Rij kontrol gruplarından elde edilen izole torasik aorta dokularında karbakol konsantrasyon-yanıt eğrileri	66
<b>Çizim 4.13.</b> Wistar gruplarından elde edilen izole torasik aorta dokularında karbakol konsantrasyon-yanıt eğrileri	67
<b>Çizim 4.14.</b> Wistar kontrol ve WAG/Rij gruplarından elde edilen izole torasik aorta dokularında karbakol konsantrasyon-yanıt eğrileri	68
<b>Çizim 4.15.</b> İzole torasik aorta dokularında SNP konsantrasyon-yanıt eğrileri	69



## ÇİZELGELER DİZİNİ

<b>Çizelge 1.1.</b> Epilepsi ve Epileptik Sendromların Sınıflandırılması (ILAE, 1989)	2
<b>Çizelge 1.2.</b> Nöbet Sınıflaması (ILAE, 2010)	4
<b>Çizelge 1.3.</b> Elektroklinik Sendromlar ve Diğer Epilepsiler (ILAE, 2010)	4
<b>Çizelge 1.4.</b> Absans Epilepsi Hayvan Modelleri	8
<b>Çizelge 1.5.</b> Absans Epilepside En çok Kullanılan İlaçlar	27
<b>Çizelge 3.1.</b> Deney ve Kontrol Gruplarının Düzenlenmesi	38
<b>Çizelge 4.1.</b> WAG/Rij sıçan gruplarında toplam DDD süreleri, ortalama DDD süreleri ve DDD sayıları	56
<b>Çizelge 4.2.</b> Wistar ve WAG/Rij Sıçanların OAB ve KH Değerleri	59
<b>Çizelge 4.3.</b> Torasik aorta düz kasında karbakol, SNP, papaverin ve KCl'ünEmaks değerleri	70
<b>Çizelge 4.4.</b> Torasik aorta düz kasındakarbakol ve SNP'nin PD <sub>2</sub> (-logEC <sub>50</sub> ) değerleri	71

# 1. GİRİŞ

## 1.1. Epilepsi

### 1.1.1. Epilepsinin Tanımı ve Epidemiyoloji

Uluslararası Epilepsiyle Savaş Derneği (International League Against Epilepsy-ILAE) epileptik bir nöbeti, beyindeki nöronların aşırı ve eş zamanlı aktivitesine bağlı geçici belirti ve/veya bulgu olarak; epilepsiyi ise bu durumun nörobiyolojik, bilişsel, psikolojik ve sosyal sonuçları ile birlikte epileptik nöbetlere neden olabilen bir beyin bozukluğu şeklinde tanımlamıştır (Fisher ve diğ. 2005). Epilepsi nöbetlerinin spontan olarak en az 2 kere tekrarlaması veya tekrarlama eğiliminde olması ‘epilepsi’ olarak nitelendirilirken, ‘epilepsi sendromu’ ise klinik ve elektriksel aktivite açısından karakteristik özellik gösteren, belli nöbet tiplerinin görüldüğü durumlar şeklinde tanımlamıştır. Sendromun belirlenmesinde nöbet tipi, nöbet başlangıç yaşı, elektroensefalografi (EEG) bulguları, prognoz ve tedavi yanıtının önemli rol oynadığı ileri sürülmektedir (Engel 2001, Berg ve diğ. 2010).

Epilepsi nöbetleri değişik tiplerde olabilmektedir. Serebral hemisferin sınırlı bir bölgesindeki nöronların aktivasyonu sonucunda oluşan; yüz, kol ve bacakta kasılmalarla karakterize nöbetler parsiyel (fokal) nöbetlerdir. Parsiyel nöbetlere bilinç kaybı eşlik ettiğinde kompleks parsiyel nöbetler olarak adlandırılırlar. Duyu ile ilgili nöbetler, kaynaklandığı korteks bölgesine göre karşı beden yarısında uyuşukluk, karıncalanma ya da işitsel, görsel ve tad duyusu ile ilgili halüsinasyonlar şeklinde hissedilebilen nöbetlerdir. Kusma, kızarma, terleme, göz bebeklerinde dilatasyon gibi otonomik belirtilerle ortaya çıkan nöbetler otonom nöbetler olarak ifade edilir. Jeneralize nöbetler ise (konvulsif veya non-konvulsif) aynı anda her iki hemisferden de kaynaklanır (Gale 1988, Engel 1989).

Epilepsi, tüm dünyada farklı coğrafik bölgelerde ve sosyoekonomik şartlarda yaşayan her yaştaki bireyde görülebilen bir bozukluktur. Başağrısından sonra ikinci en sık görülen kronik nörolojik durumdur. Epilepsinin prevalansı için çok farklı sonuçlar mevcuttur; gelişmiş ülkeler için ortalama 6/1000 ve Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization-WHO) protokolü ile yapılan epilepsi prevalans çalışmalarında bu oran 18.5/1000 olarak hesaplanmıştır (de Bittencourt ve diğ. 1996). Tüm dünyada yaklaşık 5 milyon insanın tanı aldığı (% 0,5-1) ve epilepsi olgularının %20-30’nde antiepileptik tedaviye rağmen nöbetlerinin kontrol altına alınamadığı bildirilmiştir (Brodie ve diğ. 1997,

Kwan ve Brodie 2000). İtalya’da yapılan son prevalans/insidans çalışmasında epilepsinin 100 binde 33,5 sıklıkta olduğu belirtilmiştir (Giussani ve diğ. 2014).

### 1.1.2. Epilepsinin Sınıflandırılması

ILAE, 1989 yılında epileptik nöbetlerdeki farklılıkları, etiyolojik faktörleri, yaş faktörünü, nöbet tipini ve EEG bulgularını göz önüne alarak epileptik sendromlar için bir sınıflandırma yapmıştır. Çizelge 1.1’de sunulmuş olan ILAE 1989 sınıflandırması semptomatolojik ve etyolojik olmak üzere 2 eksen üzerine oturtulmuştur (Comission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy, 1989). Birinci eksen temel ayrımı oluşturur:

1) Başlangıçtaki klinik ve EEG değişikliklerinin her iki beyin hemisferini birden tuttuğu jeneralize nöbetlerle seyreden epilepsilere “jeneralize epilepsiler” denir.

2) Nöbetlerin veya inceleme bulgularının lokalize bir kaynağı gösterdiği parsiyel nöbetlerle seyreden epilepsilere “lokalizasyona bağlı (fokal, lokal, parsiyel) epilepsiler” denir. Bunlar beynin belli alanlarından çıkan lokalize deşarjlardır.

3) Hastanın bir arada veya ardı ardına hem fokal hem jeneralize nöbetlerinin izlendiği ve EEG bulgularının olduğu bir başka duruma da “fokal ya da jeneralize olduğu belirlenemeyen epilepsiler” denir.

İkinci eksen etyolojiyle ilişkilidir:

1) Hereditör yatkınlık dışında bir sebebi olmayan epilepsilere “idiyopatik epilepsiler” denir. İdiyopatik epilepsilerde sıklıkla gelişme basamakları normaldir ve herhangi bir patolojik süreç tespit edilemez; ailesel özellik dikkati çeker. Nöbetler nispeten daha seyrek ve tedaviye daha iyi yanıt verir, remisyon olasılığı vardır.

2) Sebebi bulunan epilepsilere “semptomatik epilepsiler” denir. Semptomatik epilepsilerde altta yatan organik bir beyin hastalığı ve buna bağlı nörolojik bozukluk mevcuttur. Öyküde nöbete neden olabilecek bir santral sinir sistemi hastalığı, geçirilmiş kafa travması, dejeneratif hastalıklar, tümörler, enfeksiyonlar bulunur. Tedavi yanıtı değişkendir, spontan sonlanma olasılığı düşüktür.

3) Kognitif etkilenme veya nörolojik bozukluğun olabileceği ve semptomatik olduğu düşünülen ancak sebep bulunamayan epilepsilere de “kriptojenik epilepsiler” denir.

### Çizelge 1.1. Epilepsi ve Epileptik Sendromların Sınıflandırılması (ILAE, 1989)

#### 1. Lokalizasyona bağlı (fokal, lokal, parsiyel) epilepsiler ve sendromlar

### 1.1. İdiyopatik (yaşa bağılı başlangıç)

- Sentrotemporal dikenli selim çocukluk çağı epilepsisi
- Oksipital paroksizmlili çocukluk çağı epilepsisi
- Primer okuma epilepsisi

### 1.2. Semptomatik

- Temporal lob epilepsisi
- Frontal lob epilepsisi
- Pariyetal lob epilepsisi
- Oksipital lob epilepsisi
- Çocukluk çağının kronik progresif ‘epilepsia parsialis continua’sı
- Spesifik faktörlerle uyarılan nöbetlerle karakterize sendromlar

### 1.3. Kriptojenik

## 2. Jeneralize epilepsiler ve sendromlar

### 2.1. İdiyopatik (yaşa bağılı başlangıç-yaş sırasına göre sıralanmıştır)

- Selim ailesel yenidoğan konvülsiyonları
- Selim yenidoğan konvülsiyonları
- Süt çocuğunun selim miyoklonik epilepsisi
- Çocukluk çağı absans epilepsisi (piknolepsi)
- Jüvenil absans epilepsisi
- Jüvenil miyoklonik epilepsi (impulsif “petit-mal”)
- Uyanırken gelen grand-mal nöbetli epilepsi
- Diğer jeneralize idiyopatik epilepsiler
- Belirli aktivasyon yöntemleriyle uyarılan epilepsiler

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

- West sendromu
- Lenox-Gastaut sendromu
- Miyoklonik astatik nöbetli epilepsi
- Miyoklonik absanslı epilepsi

### 2.3. Semptomatik

#### 2.3.1. Nonspesifik etiyoloji

- Erken miyoklonik ensefalopati
- Supresyon “burst”lü erken infantil epileptik ensefalopati
- Diğer semptomatik jeneralize epilepsiler

#### 2.3.2. Spesifik sendromlar

## 3. Fokal ya da jeneralize olduğu belirlenemeyen epilepsiler

### 3.1. Jeneralize ve fokal konvülsiyonlu epilepsiler

- Yenidoğan konvülsiyonları
- Süt çocuğunun ağır miyoklonik epilepsisi
- Yavaş dalga uykusu sırasında devamlı diken-dalgalı epilepsi
- Edinsel epileptik afazi (Landau-Kleffner sendromu)

- Diğer belirlenemeyen epilepsiler

3.2. Net jeneralize ya da fokal konvülsiyon özelliği olmayanlar

#### **4. Özel durumlar**

4.1. Duruma bağlı nöbetler

- Febril konvülsiyonlar

- İzole nöbet ya da izole status epileptikus

- Akut metabolik veya toksik nedenlere bağlı nöbetler

---

2010'da ILAE, epilepsiler ve nöbetlerin klinik ve elektroensefalografik yeni düzenlemesini yaparak ortaya çıkış yaşına göre listeler oluşturmuş, ayrıca etyolojide yer alan 'kriptojen' kavramı yerine 'nedeni belirlenemeyen'; 'idiopatik' yerine 'genetik' kavramlarını getirmiştir (Berg ve diğ. 2010). Öte yandan 'kompleks nöbet' kavramı 'bilincin veya farkındalığın kaybolduğu nöbet' şeklinde değiştirilmiştir (Çizelge 1.2 ve 1.3).

#### **Çizelge 1.2. Nöbet Sınıflaması (ILAE, 2010)**

---

##### **1. Jeneralize Nöbetler**

###### **A. Tonik-Klonik**

###### **B. Absans**

a. Tipik absans

b. Atipik absans

c. Miyoklonik absans

d. Göz kapama miyoklonisi

###### **C. Myoklonik**

a. Miyoklonik

b. Miyoklonik atonik

c. Miyoklonik tonik

###### **D. Klonik**

###### **E. Tonik**

###### **F. Atonik**

##### **2. Fokal Nöbetler**

##### **3. Bilinmeyen**

###### **A. Epileptik Spazm**

---

#### **Çizelge 1.3. Elektroklinik Sendromlar ve Diğer Epilepsiler (ILAE, 2010)**

---

##### **A. Başlangıç yaşına göre sıralanmış elektroklinik sendromlar**

###### **1. Yenidoğan dönemi**

a) İyi huylu ailesel yenidoğan epilepsisi

b) Erken miyoklonik ensefalopati

c) Ohtahara sendromu

## **2. Süt çocukluğu**

a) Süt çocuğunun yer değiştiren fokal nöbetli epilepsisi

b) West sendromu

c) Süt çocuğunun miyoklonik epilepsisi

d) İyi huylu süt çocukluğu epilepsisi

e) Dravet sendromu

f) İlerleyici olmayan hastalıklardaki miyoklonik ensefalopati

## **3. Çocukluk çağı**

a) Febril nöbet artı (FS+) sendromlar

b) Panayiotopoulos sendromu

c) Miyoklonik atonik nöbetli epilepsi

d) Çocukluk çağının iyi huylu sentrotemporal dikenli epilepsisi

e) Otozomal dominant nokturnal frontal lob epilepsisi

f) Geç başlangıçlı çocukluk çağı oksipital epilepsisi (Gastaut tipi)

g) Miyoklonik absanslı epilepsi

h) Lennox – Gastaut sendromu

i) Uykuda sürekli diken dalgalı epileptik ensefalopati

j) Landau-Kleffner sendromu

k) Çocukluk çağı absans epilepsisi

## **4. Ergenlik çağı – Erişkinlik**

a) Juvenil absans epilepsisi

b) Juvenil miyoklonik epilepsi

c) Sadece jeneralize tonik-klonik nöbetli olan epilepsi

d) Progresif miyoklonik epilepsiler

e) İşitsel özellikleri olan otozomal dominant epilepsi

f) Diğer ailevi temporal lob epilepsileri

## **B. Yaşla ilişkisi daha az olan**

1. Değişken odaklı ailesel fokal epilepsiler

2. Refleks epilepsiler

## **C. Karakteristik özellik kümeleri**

1. Hipokampal sklerozlu meziyal temporal lob epilepsisi

2. Rasmussen sendromu

3. Hipotalamik hamartomlu jelastik nöbetler

4. Hemikonvülziyon-hemipleji-epilepsi

## **D. Yapısal- metabolik nedenlere bağlı epilepsiler**

1. Kortikal gelişim anormallikleri

2. Nörokutanöz sendromlar

3. Tümör

4. İnfeksiyon
5. Travma
6. Anjioma
7. Perinatal hasarlanma
8. İnme

#### **E. Nedeni bilinmeyen epilepsiler**

#### **F. Geleneksel olarak epilepsinin bir formu kabul edilmeyen epileptik nöbet durumları**

1. Yenidoğanın iyi huylu nöbetleri
  2. Febril nöbetler
- 

## **1.2. Absans Epilepsi**

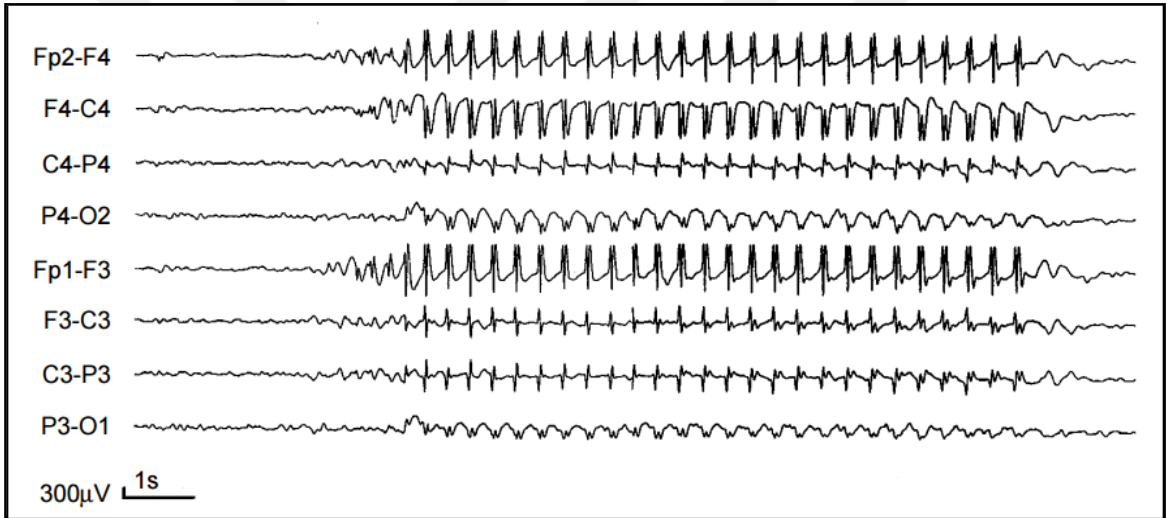
Jeneralize nöbetlerin alt sınıfında yer alan absans nöbetler ilk olarak 1705'te Poupart tarafından ve daha sonra, 1770'te Tissot tarafından 'petit accés' (minik nöbetler) olarak tanımlanmıştır. 1824 yılında ise isim Calmeil tarafından 'absans nöbetler' olarak değiştirilmiştir (Temkin 1971). Absans epilepsiler, aura ya da konvülsiyon görülmemesi ve farmakolojik profilinin farklı olması sebebiyle diğer jeneralize epilepsilerden ayrılmaktadır (Bauer 1996, Genton ve diğ. 2001).

ILAE'nin kabul ettiği tipik absanslarla seyreden dört epileptik sendrom bulunmaktadır (Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy, 1989): 1. Çocukluk çağı absans epilepsisi, 2. Jüvenil absans epilepsi, 3. Jüvenil miyoklonik epilepsi, 4. Miyoklonik absans epilepsisi.

Çocukluk çağı absans epilepsisi, tipik absans nöbetleri ile seyretmektedir ve okul yaşındaki epilepsili hastaların yaklaşık % 8'inde görülmektedir (Pavone ve diğ. 2001). Başlangıç yaşı genellikle 3-15 yaş arası olup prevelansı kızlarda biraz daha sıktır. Bu epilepsi türü, her ne kadar benign bir hastalık olarak düşünülse de birçok çocukta ciddi bilişsel ve davranışsal problemler görüldüğü rapor edilmektedir (Wirrell ve diğ. 1997, Masur ve diğ. 2013). Hastalarda çoğunlukla akademik başarısızlıkları beraberinde getiren düzenli veya arasıra ortaya çıkan dikkat eksiklikleri (Caplan ve diğ. 2008, D'Agati ve diğ. 2012, Masur ve diğ. 2013), verbal bellek, non-verbal bellek ve kısa süreli bellek bozuklukları (Henkin ve diğ. 2005, Pothion ve diğ. 2004, Bhise ve diğ. 2010), görsel-uzaysal becerilerde zayıflama (Pavone ve diğ. 2001), dil yetersizlikleri (Vanasse ve diğ. 2005), psikososyal fonksiyon bozuklukları (Conant ve diğ. 2010) ortaya çıkmaktadır.

Absans nöbetlerde temelde iki ayırıcı özellik vardır: Birincisi, klinik tabloda ani ve kısa süreli bilinç bozuklukları görülür. Bu sırada hastanın cevapsız ve hareketsiz olduğu,

boş bir şekilde baktığı gözlenir. Devam eden aktivite nöbet sırasında kesintiye uğrar, cevap verme yeteneği azalır ve mental fonksiyon bozulur. Yalnızca minimal myoklonik göz hareketleri ve perioral istem dışı hareketler kalır. Bilinç düzeyindeki azalma, nöbet sırasındaki görsel ve işitsel uyarılmış potansiyellerle de gösterilebilir. Bu potansiyeller, derin yavaş dalga uykusunda oluşan potansiyelleri anımsatmakla birlikte daha fazla ard-deşarj oluştururlar (Mirsky ve Tecce 1968, Inoue ve diğ. 1992, Meeren ve diğ. 2001). İkinci özellik; bilateral, genellikle düzenli ve simetrik, 3-4 Hz frekansında diken dalga deşarj (DDD)'larından oluşan ve tüm beyni etkileyen karakteristik paroksizmal elektriksel aktivitedir (Çizim 1.1). EEG'de gözlenen DDD'ları, kısa (2-5 sn) veya uzun (15-30 sn) süreli olabilmektedir (Panayiotopoulos 2001). Ani başlayıp ani biten DDD aktivitesini normal EEG aktivitesi takip etmektedir (Rodin ve Ancheta 1987).



**Çizim 1.1.** Çocukluk çağı epilepsisi: 8 yaşındaki erkek hastada gözlenen EEG paterni Panayiotopoulos 2001'den alınmıştır.

Absans epilepsinin altında yatan fizyopatolojik mekanizmalar ile ilgili çok çeşitli görüşler ileri sürülmekle birlikte, bu mekanizmaların iyi anlaşılabilmesi için geçerli ve güvenilir hayvan modellerine ihtiyaç duyulmaktadır.

### 1.2.1. Absans Epilepsi Hayvan Modelleri

Absans epilepsinin patogenezi ya da farmakolojik profilini aydınlatmada gerek genetik gerekse farmakolojik ajanlarla oluşturulan birçok model kullanılmaktadır. Absans epilepsinin hayvan modelleri, farmakolojik ve genetik hayvan modelleri olmak üzere 2 grupta toplanmaktadır (Çizelge 1.4). Farmakolojik modeller akut ve kronik uygulamaya



göre 2 alt gruba ayrılabilir. Akut farmakolojik modeller kimyasal maddenin tek doz sistemik uygulanması ile oluşturmaktadır. Bunlar; GABAerjik sistem üzerine etkili ajanların (penisilin, bikukulin (BCC), pentilentetrazol (PTZ), pikrotoksin (PTX), gamma hidroksi bütirat (GHB), baklofen) modelleridir. Kronik modeller ise, tekrarlayan dozlarda metilazoksimetanol asetat (MAM) veya kolesterol sentaz inhibitörü AY9944 uygulaması ile oluşturulurlar (Cortez ve diğ. 2015).

Genetik hayvan modelleri ise tek gen mutasyonları ile oluşturulan fare modelleri (letharjik, stargazer, tottering, leaner, mocha, ducky) ve poligenetik sıçan modelleri (Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg (GAERS) ve Wistar Albino Glaxo/Rijwijk rats (WAG/Rij)) olarak 2'ye ayrılmaktadır (Manning ve diğ. 2003).

Bazı kemirgen türlerinin EEG kayıtlarında da DDD gözlenmektedir. Farelerde DDD'ları resesif olarak aktarılmış ve çeşitli nörolojik bozukluklar ilişkili olan farklı mutasyonların aynı EEG fenotipine yol açtığı saptanmıştır. GAERS ve WAG/Rij sıçanlar, EEG kayıtlarında DDD aktivitesi gösteren sıçanların inbred üretimiyle elde edilmişlerdir. Bu hayvanlarda absans nöbetler dışında nörolojik bir bozukluğun olmadığı bildirilmiştir (Danober ve diğ. 1998). Diğer yandan, absans nöbetlerin insanlarda ve sıklıkla kullanılan kemirgen modellerinde genetik yatkınlığın varlığı açıkça ortaya konmuştur (Hirose ve diğ. 2005, Peeters ve diğ. 1992, Rudolf ve diğ. 2004, Gauguier ve diğ. 2004). Genetik yatkınlık göz önüne alındığında, WAG/Rij ve GAERS ırkı sıçanlar absans epilepsi çalışmalarında kullanılan iyi karakterize edilmiş, en geçerli genetik hayvan modelleridir (Depaulis ve van Luijtelaar 2006, Coenen ve van Luijtelaar 2003). Bu modeller gerek EEG, gerek davranış özellikleri ve gerekse antiepileptik ilaçlara verilen yanıtlar açısından insandaki absans nöbetlerle büyük benzerlik göstermektedirler(Depaulis ve van Luijtelaar 2006).

#### **Çizelge 1.4. Absans Epilepsi Hayvan Modelleri**

<b>Farmakolojik Hayvan Modelleri</b>	<b>Türü</b>
<b>Akut Farmakolojik Hayvan Modelleri</b>	
Penisilin	Kedi
Düşük Doz BCC	Sıçan
Düşük Doz PTZ	Sıçan
Düşük Doz PTX	Sıçan

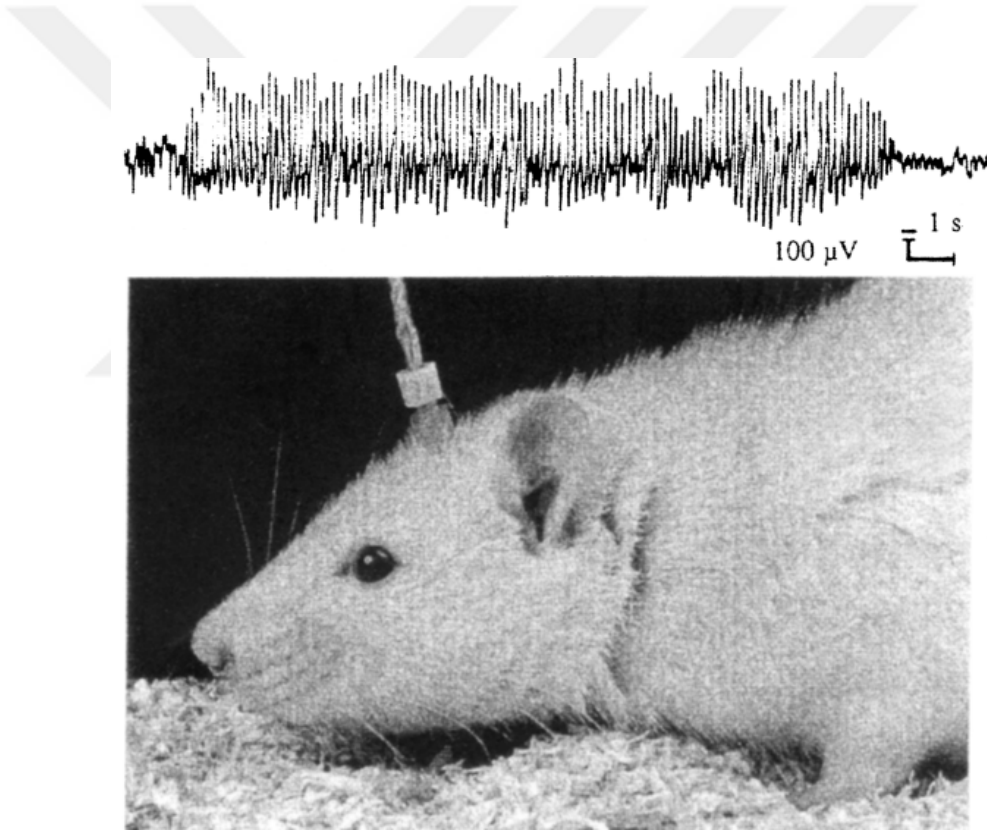
GHB	Sıçan
Baklofen	Sıçan
<b>Kronik Farmakolojik Hayvan Modelleri</b>	
AY-9944	Sıçan
MAM-AY	Sıçan
<b>Genetik Fare Modelleri</b>	<b>Kromozom ve ilişkili gen ürünü (Tek gen mutasyonları)</b>
Letarjik (lh/lh)	2. Kromozom, Ca <sup>++</sup> kanalı, β4 altbirimi
Stargazer (stg/stg)	15. Kromozom, Ca <sup>++</sup> kanalı, γ2 altbirimi
Tottering (tg/tg)	8. Kromozom, Ca <sup>++</sup> kanalı, α1a altbirimi
Leaner (tg la//tg la)	8. Kromozom, Ca <sup>++</sup> kanalı, α1a altbirimi
Mocha (mh/mh)	10. Kromozom, adaptor benzeri protein kompleksi AP-3, α1a altbirimin δ altbirimi
Ducky (du/du)	9. Kromozom Ca <sup>++</sup> kanalı, α2δ2a altbirimi
<b>Genetik (Poligenetik) Sıçan Modelleri</b>	
GAERS	
WAG/Rij	

### 1.2.2. Genetik Absans Epilepsili WAG/Rij Sıçan Modeli

WAG/Rij sıçanlar çocukluk çağı absans epilepsisi olarak ifade edilen ve tipik absans nöbetler ile seyreden epilepsi türünün iyi karakterize edilmiş ve en geçerli genetik hayvan modellerinden biridir (Depaulis ve van Luijtelaar 2006, Crunelli ve Leresche 2002, Panayiotopoulos 1997). İlk olarak 1924 yılında A.L. Bacharach tarafından outbred Wistar sıçanlardan inbred olarak üretilip sonrasında İngiltere'deki Glaxo laboratuvarları tarafından

üretilmeye devam etmiştir. Daha sonra REPGO/TNO Radyobiyojik Enstitüsü tarafından Rijswijk, Hollanda’da koruma altına alınmıştır (Sarkisova ve van Luijtelaar 2011).

Tüm dişi ve erkek 6 aylık WAG/Rij sıçanların kortikal EEG’lerinde ortalama 5 sn süren (1-30 sn), 7-10 Hz frekansında insandakine benzer şekilde DDD’ları görülmektedir (Çizim 1.2). DDD’ları, WAG/Rij sıçanlar doğduktan 2-3 ay sonra kortikal EEG’de görülmeye başlanmaktadır. Daha erken yaşlarda ise DDD’ları EEG’de görülmemektedir. Bu deşarjlar saatte yaklaşık 16-18, günde 300-400 adet görülmektedir. WAG/Rij sıçanlardaki bu nöbetlere yüzde miyoklonik jerkler, bıyıkların seyirmesi, solunumda hızlanma, kafa sallama hareketi ve sıklıkla göz seyirmeleri eşlik etmektedir. Uyanıklık, yavaş-dalga uykusu ve REM gibi uyanıklık düzeyleri DDD’ların görülme sıklığını etkilemektedir (Coenen ve van Luijtelaar 2003).



**Çizim 1.2.** Tipik 8 Hz DDD gözlenen elektrot takılı WAG/Rij sıçan Coenen ve van Luijtelaar 2003’den alınmıştır.

WAG/Rij sıçanların, insanda görülen absans epilepsiye benzeyen geçerli bir model olmalarını sağlayan iki özelliği daha vardır:

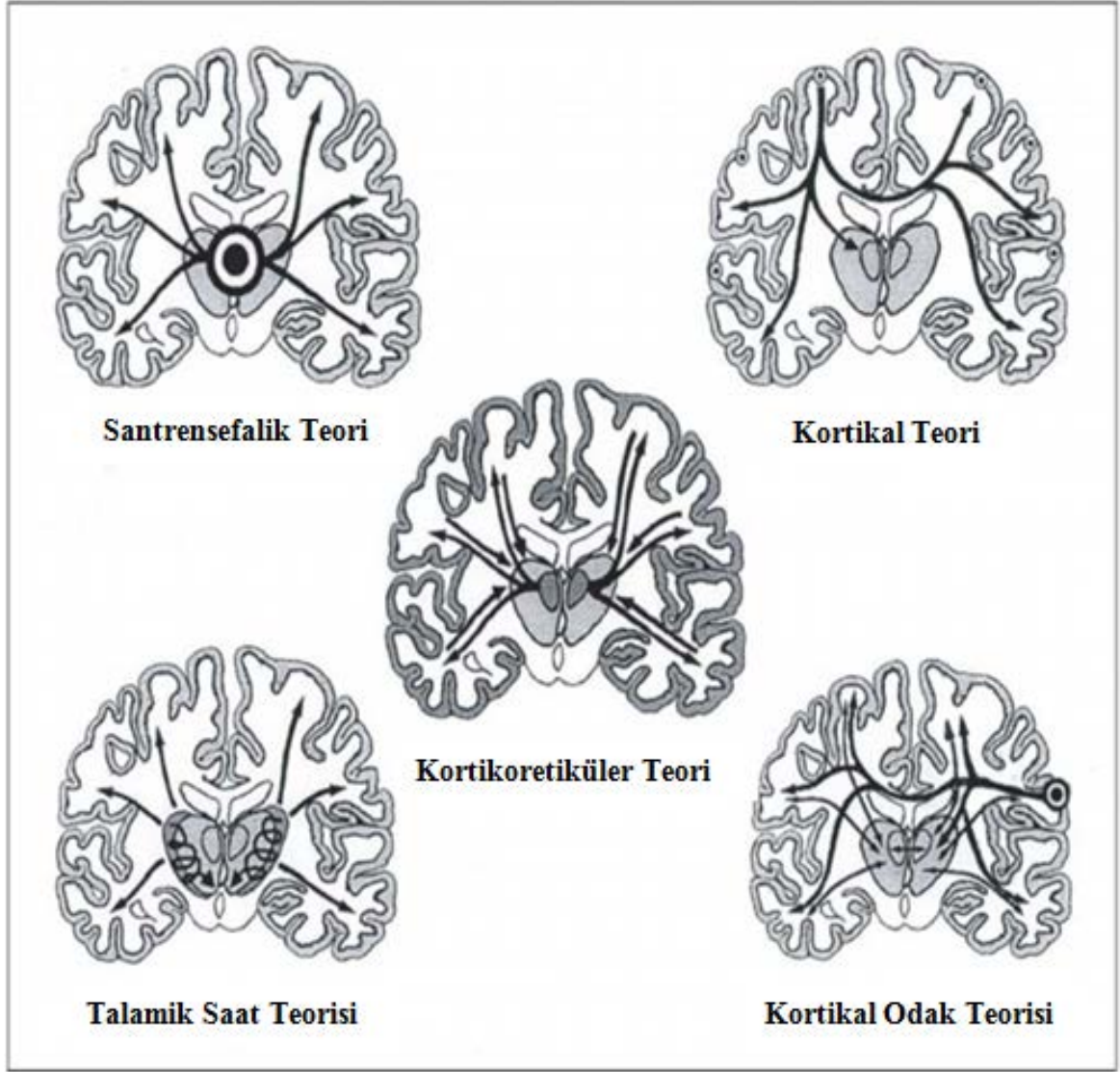
1) Düşük voltajlı T tipi  $Ca^{++}$  kanallarını kodlayan gen ekspresyonlarının non-epileptik kontrol sıçanlarına göre değiştiği gösterilmiştir (Broicher ve diğ. 2008). Bu kanalları

kodlayan genlerin absans epilepsili hastalarda da mutasyona uğradığı ortaya konmuştur (Vitko ve diğ. 2007, Arias-Olguin ve diğ. 2008).

2) WAG/Rij sıçanlarda talamo-kortikal sistemdeki GABA<sub>A</sub> reseptör alt birim ekspresyonundaki lokal varyasyonlar gösterilmiştir (Liu ve diğ. 2007). Absans epilepsili hastalarda da GABA<sub>A</sub> reseptör alt birimini kodlayan genlerde mutasyon olduğu tespit edilmiştir (Bowser ve diğ. 2002, Kang ve McDonald 2004).

### **1.3. Absans Epilepside Patofizyoloji**

Bugüne kadar jeneralize absans epilepsinin patofizyolojisini açıklamaya çalışan 5 ana teori ileri sürülmüştür (Çizim 1.3). 1954'te ileri sürülen 'santrensefalik teoriye' göre absansta gözlenen DDD'ları talamusun orta hattındaki subkortikal odaktan köken almıştır. Bu görüş 1991'de talamik saat teorisi ile geliştirilmiş ve retiküler talamik nükleusun korteksi etkileyerek deşarjların sorumlusu olduğu ileri sürülmüştür. Diğer yandan başka araştırmacılar, 'kortikal teoride' deşarjların oluşumunda korteksin esas role sahip olduğu düşüncesini savunmuşlardır. 1968'de ileri sürülen 'kortikoretiküler teoride' ise, DDD'ların talamokortikal mekanizmalarla ilişkili olduğu ve ritmik salınımların korteks aşırı uyarılabilir duruma geçtiğinde DDD'lara dönüştüğü gösterilmiş, bu görüş 2002'de epileptik sıçanlarda yapılan başka bir çalışmada talamokortikal ağın DDD oluşumunda gerekli olduğunun gösterilmesiyle desteklenmiştir. Daha sonra DDD'ların non-lineer asosiyasyon sinyal analizlerinin yapılmasıyla deşarjların somatosensoryel korteksin perioral bölgesindeki (S1po) odaktan kaynaklandığı ileri sürülmüştür. 'Kortikal odak teorisi' olarak ifade edilen bu görüşe göre nöbet aktivitesi bu odaktan hızlıca tüm kortekse yayılmakta, nöbetin ilk anlarında korteks talamusu yönetirken, devamında korteks ve talamusun karşılıklı etkileşimi ile deşarjların korunup amplifiye edilmesi sağlanmaktadır. Bu teori, hem kortikal hem de talamik teoriler arasında bir köprü kurmaktadır.



**Çizim 1.3.** Jeneralize absans epilepsinin orijinine dair ileri sürülen 5 teorinin şematik gösterimi

### 1.3.1. Santrensefalik Teori

1941’de Jasper ve Kershman absans nöbet geçiren hastaların EEG analizini yaptıklarında nöbetlerin her iki hemisferde ani başlayıp sonlanan hemisfer içi yüksek senkronize diken-dalga aktivitesi ile karakterize olduğunu görmüşler ve bu nöbetlerin kortikal orijinli olduklarına dair herhangi bir kanıt olmadığı için ‘subkortikal orijine’ sahip olduğunu ileri sürmüşlerdir (Jasper ve Kershman 1941). Bu varsayımsal subkortikal odak, her iki hemisferi de eş zamanlı olarak etkilemektedir. 1942’de Morison ve Dempsey’ nin spesifik talamokortikal bağlantıları göstermesi böyle bir odağın varlığını desteklemiştir (Morison ve Dempsey 1942). Aynı çalışmacılar, talamusun intralaminar

çekirdeklerinden köken alan nonspesifik difüz bağlantılara sahip ikinci bir talamokortikal ileti sisteminin varlığını da göstermişlerdir. Bu sistemin tüm korteksi etkilemekle birlikte absans epilepsili hastalarda DDD'ların en çok gözlemlendiği frontal ve paryetal alanlarda etkili olduğu ileri sürülmüştür.

Bu bulgular 1947'de diken-dalga paterni için ilk deneysel modelin geliştirilmesine yol açmıştır (Jasper ve Droogleever Fortuyn 1947). Bu 'talamik stimülasyon modeli'nde hafif anestesi altındaki kedilerin intralaminar çekirdeklerine uyarı verildiğinde bilateral senkronize diken-dalga EEG paterni oluştuğu görülmüş ve bu uyarıların absans nöbetlerine benzer davranışsal tepkilere yol açtığı da gözlenmiştir (Hunter ve Jasper 1949). Böylece beyin uygun durumda olduğunda, absans nöbetlerin talamusun orta hattının uyarımı ile taklit edilebileceği fikri doğmuştur.

Penfield, bu bilinci koordine etmesi gereken difüz nöral sistemi 'santrensefalik sistem' olarak ifade etmiştir (Penfield 1952). Bu sistemin 'beyin sapı' ve 'diensefalon'da yer aldığı ileri sürülmüştür. Santrensefalik sistem, ani bilinç kaybı ile seyreden ve bilateral diken-dalga aktivitesi ile karakterize jeneralize nöbetlerden sorumlu tutulmuştur. Nöbetler bir süreliğine 'santrensefalik teori' adı altında 'santrensefalik nöbet' olarak ifade edilmeye başlanmıştır (Penfield ve Jasper 1954).

### **1.3.2. Kortikal Teori**

Absans nöbetlerin santral orijinli olduğu hipotezi destek bulmaya devam ederken Gibbs ve Gibbs nöbetlerin oluşumunda ana role sahip yapının korteks olduğunu ileri sürmüşlerdir. 1952'de diken-dalga aktivitesinin diffüz (ya da yaygın) kortikal işlemlere bağlı olarak kortekste oluştuğu görüşünü ortaya atmışlardır (Gibbs ve Gibbs 1952). Diğer yandan hasta bulguları santrensefalik teorinin geçerliliği hakkında ciddi şüpheler doğurmuştur. 1953'te Bennett, absans epilepsili hastaların korteksi besleyen karotid arterine konvülsif ilaç olan PTZ injeksiyonu yapıldığında jeneralize diken-dalga aktivitesi oluştuğunu göstermiştir (Bennett 1953). Diğer yandan aynı injeksiyon diensefalon ve beyin sapını besleyen vertebral artere yapıldığında aynı cevabı doğurmamıştır. Gloor, bu bulguları hastalarda ve kedilerde yaptığı çalışmalarla doğrulamıştır (Gloor 1968, Gloor 1969). PTZ'nin hastalara tek taraflı intrakarotid injeksiyonu, klinik olarak absansa benzeyen jeneralize bilateral senkronize DDD'ların ortaya çıkmasına yol açmıştır. Diğer yandan intravertebral injeksiyon, bu nöbet deşarjlarının zayıflamasına sebep olmuştur. Santrensefalik teori çatısı altında Penfield ve Jasper tarafından ileri sürülen kortikal bir

lezyon ya da elektriksel uyarının absans nöbete yol açmasının imkansızlığı görüşünü Bancaud çürütmüştür (Bancaud 1969). Hastalardan alınan derin kayıtlar, nöbet sırasında oluşan deşarjların özellikle frontal lobdaki bir lezyonun çevresinden, korteksten kaynaklandığını göstermiştir. Bu gözlemler, frontal korteksteki fokal deşarjların hızlıca tüm kortekste kortikokortikal yolaklar aracılığıyla DDD oluşturduğuna dair 'kortikal teori'yi açığa çıkarmıştır.

Kortikal teorinin taraftarları (Lüders ve diğ. 1984, Niedermeyer 1972) klinik gözlemlerinden yola çıkarak absans epilepsinin kortikal bir anormallikten kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir. Onlara göre talamus yalnızca normal fizyolojik talamokortikal etkileşimleri sağlamakla görevlidir. Diken-dalga aktivitesi ilk olarak mezofrontal kortekste meydana gelip hızlıca diğer kortikal bölgelere yayılım göstermektedir (Niedermeyer 1996). Bu görüş, jeneralize nöbetlerin derin elektrot kayıtlarıyla tespit edilen fokal orijinin tespit edilmesi ve aynı elektrotların uyarılması sonucu nöbetlerin ortaya çıkma olasılığına dayanmıştır. Özetle Bancaud, Lüders ve diğ., Niedermeyer, 'kortikal teori' çatısı altında absans epilepsinin oluşumunda korteksin çok daha önemli bir rolü olduğunu savunmuşlardır.

### **1.3.3. Kortikoretiküler Teori**

Gloor, DDD'ların oluşumunda kortikoretiküler mekanizmaların rol oynadığını ileri sürmüştür. Ona göre, absans nöbetlerin meydana gelmesinde hem korteksin hem de beyin sapı ve talamusun retiküler sisteminin katkısı vardır (Gloor 1968, Gloor 1969). 'Kortikoretiküler teori' olarak ifade edilen bu görüş, daha sonra Prince ve Farrell'in yeni bir hayvan modeli geliştirmesiyle destek bulmuştur (Prince ve Farrell 1969). Bu çalışmacılar kedilerde penisilin uygulanmasının jeneralize bilateral senkronize DDD'ları indüklediğini göstermişlerdir. Bu 'kedi-penisilin jeneralize epilepsi modeli' insandaki primer absans epilepsi modeli olarak düşünülmüştür (Gloor ve diğ. 1990). Epileptik deşarjların korteksin anormal cevaplarından mı yoksa talamustan gelen anormal yayılımlardan mı kaynaklandığı sorusunun cevabı yapılan deneylerle bulunmuştur. Buna göre, penisilin difüz kortikal uygulanması DDD oluşumunu indüklerken, talamusa injeksiyonu DDD oluşumuna yol açmamıştır. Bu bulgulardan yola çıkarak DDD oluşumundan korteksin uyarılabilirliğinin artırılmasının sorumlu olduğu ileri sürülmüştür. Bu aşırı uyarılabilir epileptojenik durumda korteks, aferent talamokortikal uyarılara DDD oluşturarak cevap vermektedir. DDD oluşumu için hem talamusun hem de korteksin varlığı

gerekmektedir. Yapılan başka bir çalışmada kortikal ve talamik nöronlardan alınan eş zamanlı kayıtlarda ateşlemenin kortekste talamustan daha önce başladığı gösterilmiştir (Avoli ve diğ. 1983). Böylece korteksin ilk önce diken-dalga aktivitesindeki paroksizmal salınımları başlatıp, ikincil olarak talamusla etkileştiği ortaya konmuştur. Birkez salınım harekete geçtiğinde talamus ve korteks birbirini tetiklemektedir.

Kortikoretiküler teori, hala en çok kabul görülen absans teorilerinden biri olmakla beraber, korteks ve talamusun nöbet oluşumuna görece katkısı ve mekanizmanın tam olarak aydınlatılmamış olması teorisinin olumsuz yanlarındandır. Bununla birlikte kedipenisilin modelinin insandaki absans için ne ölçüde geçerli bir model olduğu da tartışmaya açıktır. Modelin en önemli dezavantajı, DDD oluşumunun korteksin uyarılabilirliğinin artırılmasının farmakolojik olarak indüklenmesi sonucu meydana gelmesi göz önünde bulundurulduğunda, korteksin rolünün fazlaca vurgulanmış olmasıdır.

#### **1.3.4. Talamik Saat Teorisi**

Buzsaki, 1991'de spontan DDD'ların(yüksek voltajlı içcikler) talamokortikal mekanizmasını spesifik bir sıçan türü olan Fischer 344 sıçanlarda araştırmıştır. Korteks yokluğunda talamik yüksek voltajlı içciklerin oluşumunun devam ettiğini, talamik lezyon oluşturulan hayvanlarda ise kortikal içciklerin kaybolduğunu gözlemlemiştir. Özellikle retiküler talamik nükleusta yapılan lezyonların bu yüksek voltajlı içcikleri baskıladığı gösterilmiştir. Serbestçe hareket eden sıçanlardan alınan kayıtlarda kortikal hücrelerin ve talamokortikal relay hücrelerinin EEG dikenini ile senkronize olarak ateşlendiği bununla birlikte retiküler talamik nükleustaki nöronların yavaş dalga komponenti boyunca ateşlendiği görülmüştür. Lokal yüksek voltajlı içciklerin alan potansiyellerinin talamusta korteksten daha önce başladığının görüldüğü ve talamusta ateşlenen ritmik hücre sayısının deşarjların EEG'de görünür olmasından önce hızla arttığı ileri sürülmüştür. Bu gözlemler sonucu Buzsaki, bu 'talamik saat'in deşarjların sorumlusu olduğunu ortaya atmıştır (Buzsaki 1991). Bu talamik saatte en önemli rolün retiküler talamik nükleus olduğu düşünülmüştür. Az sayıda retiküler talamik hücrelerin ateşlenmesinin, daha fazla talamokortikal relay hücrelerin ateşlenmesine yol açtığı ve bunun da çok daha fazla sayıda retiküler talamik hücrelerin uyarılmasına sebep olduğu gözlenmiştir. Retiküler talamik ve talamokortikal hücreler arasındaki farklı iletiler aracılığıyla çok daha fazla sayıda hücre, tüm talamik ağ ritmik deşarjlara katılincaya kadar salınımların her bir döngüsüyle daha da uyarılır duruma gelmiştir. Böylece EEG'de görülen ritmik epileptik deşarjların intratalamik



ağdaki anormal ritmik salınımlardan kaynaklandığı ileri sürülmüş ve santrensefalik görüş yeniden gündeme getirilmiştir.

Daha sonra GAERS ve WAG/Rij sıçanlarda yapılan başka çalışmalar da Buzsaki'nin hipotezini desteklemiştir. Önce, GAERS'lerde retiküler talamik nükleusta yapılan selektif lezyonların DDD'ları baskıladığı gösterilmiştir (Avanzini 1992). Daha sonra hem WAG/Rij (Inoue ve diğ. 1993) hem GAERS'lerde (Seidenbecher 1998) EEG'de gözlenen dikenlerle eşzamanlı ateşlenen talamokortikal nükleus hücrelerinin neokortikal hücre ateşlenmesinin birkaç milisaniye önünde gittiği bulunmuştur. Bu bulgular talamokortikal relay hücrelerinin kortikal hücreleri tetiklediğini ortaya koyarak talamusun kortikal deşarjların oluşumunda rol oynadığı görüşünü desteklemiştir.

### **1.3.5. Kortikal Odak Teorisi**

2002 yılında WAG/Rij sıçanlar üzerinde gerçekleştirilen, absans nöbetlerin patognomik bulgusu olan DDD aktivitesinin başlama ve gelişim özelliklerinin non-linear asosiasyon analiz yöntemiyle incelendiği çalışmada, S1po'nde bulunan hücre topluluğunun DDD aktivitesinin başlamasında anahtar rol oynadığının gösterilmesi ile 'kortikal odak teorisi' öne sürülmüştür (Meeren ve diğ. 2002). Diğer kortikal alanlardan alınan kayıtlarda bu odak alanını takiben elektrot uzaklığına bağlı olarak artan gecikmelerle DDD oluşumu gözlenmiştir. Ortalama korteks yayılım hızının 1.5 m/s olduğu ileri sürülmüştür. Fonksiyonel olarak birbirine bağlı kortikal ve talamik alanların birbirini etkilediği görülmüş ve bu iki yönlü bağlantıların yönünün tek bir nöbet boyunca değişebildiği gözlenmiştir. Bununla beraber nöbetin ilk 500 milisaniyesinde kortikal odağın talamusu yönettiği ortaya konmuştur. Nöbetin devamında ise korteks ve talamus ilişkisinin öngörülemez biçimde iki yönlü de olabileceği gösterilmiştir.

Tüm bu sonuçlar, DDD oluşumunda talamusun primer yönetici kaynak olduğu görüşü ile uyumsuzdur. Daha önceki çalışmalarda gösterilen sıçanlarda talamik birimlerin kortikal birimleri yönettiği yönündeki bulgular bu çalışmalarda alınan kortikal kayıtların perioral bölgelerden görece uzak bölgelerde alınmasıyla açıklanmıştır. Bu şekilde düşünüldüğünde kortikotalamik ilişkilerdeki zaman farklarının olması mantıklı bulunmuştur. Kortikal odak teorisinde ise jeneralize DDD oluşumunda ana aktör kortikal odaktır. Diğer yandan bilateral jeneralize DDD'ların oluşumunun, anatomik ve fonksiyonel olarak sağlam bir kortikotalamik ağın nöbetlerin yayılması için uygun durumda bulunmasıyla mümkün olduğu ileri sürülmüştür. Bu uygun durumda, kortikal piramidal

hücreler ile TK relay hücreleri ve RTN hücreleri yüksek frekanslı aksiyon potansiyeli patlamaları üretmeye eğilimli halde bulunmaktadır. İlk önce kortikal odakta normal ya da epileptik diken oluşumu gerçekleşmektedir. Uyarıcı hücreler arasındaki bağlar kuvvetli olduğunda, eğer kortikal ağ yeterli inhibisyonla kontrol edilemiyorsa, bu ağ 'kaçak' uyarım oluşumuna aşırı duyarlı hale gelmektedir (Luhmann ve diğ. 1995). Bu 'kaçak' durumda birkaç piramidal hücrenin senkronize olarak ateşlenmesi, diğer uyarıcı hücrelerde hızlı bir uyarıma neden olmaktadır. Bu uyarım nöronları tetikleyerek epileptik bir diken oluşumuna yol açar. İlk oluşan öncü diken önce S1po'de sınırlı bir alanda görünür. Sonra hızlıca tüm kortekse yayılıp jeneralize deşarjlar şeklini alır. Bu ilk olay, sağlam bir talamokortikal ağda dikenlerin birbiri ardına diken-dalga aktivitesine çevirilmesi sürecini başlatır. İlk birkaç döngüde kortikal odak talamusu yönlendirip tetiklerken, sonrasında korteks ve talamus birbirini tetikleyip deşarjları amplifiye ederek sürdürmeye devam ederler. Kortekste bu diken-dalga aktivitesinin hızlı oluşumu, kısa aralıklı intrakortikal lifler ve uzun aralıklı asosiyasyon liflerine sahip bir grup hücreye bağlıdır. Bu hücreler diğer kortikal alanlarla da geniş bağlantılar yapmaktadır. Bu sayede kallosal lifler aracılığıyla aktivitenin hemisferler arası hızlı dağılımı sağlanmış olmaktadır. Bu aşamadan sonra aktivitenin yayılımı tekrar lokal ağ aracılığıyla gerçekleşmeye devam etmektedir. Bu doğrultuda DDD'ların yayılım paterninin lokal ve uzak yayılımların bir kombinasyonu şeklinde gerçekleştiği ortaya konmuştur. WAG/Rij sıçanlarda yapılan çalışmada intrakortikal GABAerjik inhibisyonun bozulması sıçanların intrakortikal ağını böyle bir yayılıma oldukça açık hale getirmiştir (Luhmann ve diğ. 1995). Özellikle S1po'de bozulma burada varolduğu düşünülen kortikal odağın diken oluşumuna oldukça hazır hale gelmesine yol açmıştır. Bu kortikal odak, deşarjların baş tetikleyicisi olmakla birlikte, sonrasında korteks ve talamus arasında meydana gelen etkileşimler kortikal odak teorisini kortikal ve kortikoretiküler teorilerin bir sentezi durumuna getirmiştir.

Kortikal odak teorisini, daha sonrasında yapılan farmakolojik (Manning ve diğ. 2004, Gurbanova 2006), hücrel (Stnikova ve diğ. 2011), nörokimyasal ve elektrofizyolojik (Lüttjohann ve diğ. 2011) temelli ardışık çalışmalar desteklemiştir. Biri absans epilepsi tedavisinde ilk seçenekler içinde bulunan (etosüksimid), diğeri ise absans nöbetleri şiddetlendirdiği bilinen (fenitoin) iki anti-epileptik ilacın sistemik, intrakortikal ve talamik uygulamalarının sonuçları oldukça ilginçtir. T tipi kalsiyum blokleri olan etosüksimidin intratalamik uygulamaları DDD aktivitesi üzerine anlamlı bir etki oluşturmazken (ki bu kanalların talamusta yaygın olması nedeniyle talamik çekirdeklerin ilacın primer etki yeri olduğu öngörülmüştür), S1po bölgesine uygulanması DDD aktivitesini baskılamıştır

(Manning ve diğ. 2004). Fenitoin ile gerçekleştirilen çalışmada da paralel bulgulara ulaşılmıştır; bir sodyum kanal blokeri olan fenitoin, sistemik uygulandığında DDD aktivitesini arttırmış, S1po'ne uygulandığında DDD aktivitesini baskılamıştır (Gurbanova ve diğ. 2006) S1po'ndeki hücrel değişiklikleri araştıran bir grup araştırmacı, WAG/Rij sıçanlar ve non-epileptik kontrol sıçanlarda nöron ve glial hücrelerin somatosensoryel ve singular kortikal bölgelerdeki dansitesini ölçmüşlerdir. WAG/Rij sıçanların bu bölgelerde daha az sayıda glial hücre ve glia-nöron indeksine ve motor kortekste daha az sayıda nörona sahip oldukları gösterilmiştir (Sitnikova ve diğ. 2011). Somatosensoryel korteksin derin tabakalarının DDD'ların tetiklenmesinde anahtar role sahip oldukları göz önünde bulundurulduğunda, araştırmacılar glia-nöron etkileşimlerinin bu bölgede bozulmasının, primer epileptik fokustaki patolojik süreçlerin altında yatan mekanizmalardan biri olabileceğini ileri sürmüşlerdir. WAG/Rij'larda yapılan başka bir çalışma da S1po bölgesinin derin tabakalarında uyarılabilirliğin aşırı artmış olduğunu ortaya koyarak bu bulguları desteklemiştir (Lüttjohann ve diğ. 2011).

Dahası, absans epilepsinin diğer genetik modeli olan GAERS sıçanlarda gerçekleştirilen deneysel çalışmaların yanısıra absans epilepsili insanlarda görüntüleme ve elektrofizyolojik kayıt yöntemlerine dayalı klinik çalışmalar bu yaklaşımı doğrular niteliktedir (Polack ve diğ. 2009, Caplan ve diğ. 2009, Chipaux ve diğ. 2011).

#### **1.4. Absans Epilepside Nörotransmitterlerin Rolü**

Absans epilepside tipik olarak gözlenen DDD'ları tetikleyen ve başlamasına sebep olan beyin bölgesinin tam olarak neresi olduğu tartışmalı olmakla birlikte, bu deşarjlardan genel olarak kortiko-talamo-kortikal döngünün sorumlu olduğu kabul edilmektedir (Meeren ve diğ. 2005). Bu anatomik özellik nörokimyasal açıdan GABAerjik ve glutamaterjik sistemin önemini de ortaya koymaktadır. Eksitatör piramidal hücreler, diğer internöronları da inhibe eden farklı tipte GABAerjik nöronlarla çevrilidir. Absans epilepside önemli rol oynayan diğer iki hücre tipi talamusun ventral bazal bölgesinde bulunan talamokortikal (TK) ve retiküler talamik nükleustaki (RTN) nöronlardır. TK hücreleri kortekse projekte olan glutamaterjik nöronlardır, RTN ise birbirlerini ve TK hücreleri inhibe eden GABAerjik nöronlardan oluşmaktadır. Tüm bu hücreler, birbirleriyle oldukça yoğun sinaptik bağlantılar yaparak; intrakortikal, kortiko-talamo-kortikal ve intratalamik döngüler meydana getirirler (Zheng ve diğ. 2012). Talamus ve korteks karşılıklı eksitatör glutamaterjik yollar aracılığıyla birbiriyle bağlantılıdır. Bu yollar

glutamaterjik eksitator kollateraller ile GABAerjik RTN'a projekte olmuşlardır. GABAerjik RTN, talamus hücrelerine GABAerjik projeksiyonlar gönderir. Kortikal hücreler de çeşitli GABAerjik internöronlarla çevrilidir. Bu yüzden her iki nörotransmitter sisteminin iyonotropik ve metabotropik reseptörleri korteks ve talamusta yaygın olarak bulunmaktadır. Bu bilgiler doğrultusunda söylenebilir ki hem GABAerjik hem de glutamaterjik birleşikler DDD oluşumunu önemli ölçüde etkileme potansiyeline sahiptir ve yapılan çalışmalarla da hem GABA hem glutamatın absans epilepsideki rolü ortaya konmuştur.

#### 1.4.1. GABA

Memeli serebral korteksinde toplam nöron popülasyonunun yaklaşık %20'sinin GABA salıveren nöronlardan oluştuğu bilinmektedir (Freund ve Buzsaki 1996, Ascoli ve diğ. 2008). Santral sinir sisteminin ana inhibitör nörotransmitteri olan GABA, temel olarak iyonotropik GABA tip A ( $GABA_A$ ) reseptörü aracılığıyla klor ve bikarbonat iyonlarının geçirgenliğini artırarak hareket eder (Dreifuss ve diğ. 1969 ve Kaila 1994). Serebral korteksin fonksiyonu, organizasyonu ve gelişimi için kritik rollere sahip olan GABA'nın absans epilepsideki rolü, birçok *in vivo* farmakolojik çalışmalarla araştırılmıştır. Yapılan çalışmalarda sistemik olarak uygulanan vigabatrin (GABA-transaminaz inhibitörü), tiagabin (GABA-reuptake blokörü) ve baklofenin ( $GABA_B$  agonisti), WAG/Rij (Budde ve Pape 2009, Coenen ve diğ. 1995) ve GAERS sıçanlarda (Bouwman ve diğ. 2007, Liu ve diğ. 1992) DDD'ları artırdığı gösterilmiştir. İlginç olarak tüm bu ajanların epilepsinin diğer konvülsif tiplerinde hem hayvan modellerinde hem de epilepsili hastalarda antiepileptik özelliklere sahip olduğu iyi bilinmektedir. Bununla birlikte bu GABAerjik agonistlerin lokal uygulanmaları halinde uygulandıkları bölgeye göre DDD'ları azalttığı GAERS'lerde ortaya konmuştur (Bernasconi ve diğ. 1992, Liu ve diğ. 1991). Lokal injeksiyon çalışmaları WAG/Rij sıçanlarda da yapılmıştır. Bikukulinin ( $GABA_A$  antagonisti) talamusa injeksiyonu, DDD'ları alevlendirmiştir (Staak ve diğ. 2001). Diğer yandan WAG/Rij sıçanların frontoparyetal kortekslerinde yapılan *in vitro* elektrofizyolojik çalışmada absans epilepside korteksin aşırı uyarılabilirliğinin GABAerjik inhibisyonun etkinliğinin azalmasına bağlı olabileceğini göstermişlerdir (Luhmann ve diğ. 1995). Bu çalışmalar GABA'nın talamusta DDD'ları tetikleyici, kortekste ise azaltıcı role sahip olduğunu açıkça ortaya koymuştur.

Kortikal odak teorisinin öne sürülmesinden sonra bu gelişmeler ışığı altında kortekste GABA<sub>A</sub> reseptörünün rolü de merakla araştırılmaya başlanmıştır. WAG/Rij ve non-epileptik kontrol sıçanlarda yapılan bir çalışma bu açıdan çok değerlidir. Bu çalışmada araştırmacılar, parvalbumin (sinir sisteminde GABA<sub>A</sub> reseptörlerinde bulunan spesifik protein) pozitif nöronların sayısının WAG/Rij sıçanların somatosensoryel kortekslerinde kontrollere göre 2 kat daha az olduğu bulmuştur (Liu ve diğ. 2007). Bir diğer grup, WAG/Rij sıçanların somatosensoryel korteksindeki GABA<sub>B</sub> reseptör altbirim ekspresyonu ve lokalizasyonunun, aynı yaştaki non-epileptik kontrol sıçanlara göre azaldığını ortaya koymuştur (Merlo ve diğ. 2007). Diğer taraftan, allopregnanolon ve ganaksolon (GABA<sub>A</sub> reseptörlerinin pozitif allosterik modülatörleri (PAM)) WAG/Rij sıçanlarda S1po'ne lokal olarak enjekte edildiklerinde DDD'larda doza bağımlı bir azalma olduğu tespit edilmiştir. Bunun tersine, aynı enjeksiyonlar talamusa yapıldığında doza bağımlı bir artış ortaya konmuştur (Citraro ve diğ. 2006). Yapılan tüm bu farmakolojik ve nörokimyasal çalışmalar; absans epilepside kortekste (özellikle S1po) GABA<sub>A</sub> reseptör nöronların sayı ve aktivitelerinin azaldığını, GABA<sub>A</sub> reseptörünün yetersizliğinin DDD oluşumundaki rolünü açıkça ortaya koymaktadır.

#### **1.4.2. Glutamat**

Hem iyonotropik hem de metabotropik glutamat reseptörleri DDD oluşumunun kontrolünde rol oynamaktadırlar. Ligand kapılı iyonotropik glutamat reseptörleri iyon kanalı yapısındadırlar ve  $\alpha$ -amino-3-hidroksi-5-metil-4-isoksazolpropionik asit (AMPA) (AMPA), N-metil-D-aspartik asit (NMDA) ve Kainat reseptörleri olarak 3 alt gruba ayrılırlar. Son yıllarda bu reseptörlerin birçok selektif agonist ve antagonist geliştirilmiştir. Bu reseptörlerin antagonistlerinin epileptik aktivite meydana geldiğinde beyin bölgelerindeki artmış uyarılabilirliği azaltabileceği ileri sürülmüştür. Bu antagonistlerin sistemik uygulamadan veya hedef bölgeye yapılan lokal kortikal enjeksiyonlardan sonra DDD'ları baskılayacağı öngörülmüştür. WAG/Rij'larda yapılan prelinik çalışmalarda DDD'ları baskılamada NMDA antagonistlerinin oldukça güçlü, Kainat reseptör antagonistlerinin daha az güçlü ve AMPA reseptör antagonistlerinin orta derecede role sahip olduğu ortaya konmuştur (Kaminski ve diğ. 2001, Jakus ve diğ. 2004). Kainat reseptör antagonistleri topiramatin hem GAERS'lerde (Depaluis ve van Luijteleaer 2006) hem de klinik çalışmalarda (Bergey 2005) NMDA reseptörünün allosterik modülatörü

remasemidin (van Luijtelaar ve Coenen 1995) ve AMPA reseptör antagonisti talampanelin (Kaminski ve diğ. 2001) WAG/Rij sıçanlarda DDD'ları baskıladığı gösterilmiştir.

Diğer yandan nörokimyasal bir çalışmada 6 aylık WAG/Rij ve non-epileptik sıçanlar karşılaştırıldığında korteks ve talamusun da içinde olduğu 5 ayrı beyin bölgesinde glutamat düzeyinde bir değişiklik olmadığı fakat WAG/Rij sıçanların somatosensoryel kortekslerinde NMDA ve AMPA reseptör yapılarında bozulmanın olduğu gösterilmiş (van Rijn ve diğ. 1996), bu bulgular başka bir çalışmacı grubunun WAG/Rij sıçanların somatosensoryel kortekslerinde Wistar'lara göre NMDA reseptörlerinin NR<sub>2B</sub> alt biriminde azalma olduğunu göstermesiyle desteklenmiştir (Karimzadeh ve diğ. 2013). Bu reseptörlerin ekspresyonunun azalması, GABAerjik internöronların glutamat tarafından uyarılmasını azaltmıştır (Monnerie ve diğ. 2010). Böylece GABA salınımının azalmasına bağlı olarak kortikal inhibisyonun baskılanması DDD'ların oluşumunu artırmıştır.

Metabotropik glutamat reseptörleri, iyonotropik reseptörlerden daha sonra keşfedilen G protein kenetli reseptörlerdir. Bu reseptörler, transdüksiyon mekanizmaları ve farmakolojik özelliklerine göre 3 alt gruba ayrılırlar: Grup 1 (mGlu1 ve mGlu5), grup 2 (mGlu2, mGlu3), grup 3 (mGlu4, 6, 7 ve 8) (Pin ve Duvoisin 1995, De Blasi ve diğ. 2001). Bu reseptörlerin agonist ve antagonistlerinin yan etki profillerinden dolayı daha çok PAM ve negatif allosterik modülatörleri (NAM) geliştirilmiştir. mGlu1 reseptörleri talamik relay nöronlarında oldukça fazla sentezlenmektedir (Baude ve diğ. 1993, Ferraguti ve diğ. 2008, Godwin ve diğ. 1996). 8 aylık WAG/Rij sıçanlarda selektif mGlu1 PAM'ü SYN119'un doza bağımlı sistemik injeksiyonu, DDD sayısında doza bağımlı bir azalmaya yol açarken aynı reseptörlerin NAM'ü DDD görülme sıklığında doza bağımlı bir artmaya yol açmıştır (Ngomba ve diğ. 2011a). Aynı doğrultuda mGlu 5 PAM'ü WAG/Rij'lerde DDD sıklığında doza bağımlı bir azalmaya yol açmıştır (D'amore ve diğ. 2013). Diğer yandan Grup 2 reseptörlerinin agonistleri ve grup 3 reseptörlerinin PAM'leri DDD'ları artırırken grup 2 reseptörlerinin antagonistleri DDD'ları baskılamıştır (Ngomba ve diğ. 2005, 2008, 2011b, 2011c, Budde ve diğ. 2005). Bu tablo, grup 1 PAM'leri ile grup 2 ve grup 3 antagonistlerinin anti-absans ilaç gibi davrandığını ortaya koymuştur. Bu farklılık reseptörlerin yerleşimlerinin presinaptik (grup 1) veya postsinaptik (grup 2 ve 3) olmasından kaynaklanmaktadır.

Yapılan bu nörokimyasal ve farmakolojik çalışmalar, glutamaterjik aşırımın DDD oluşumundaki rolünü açıkça ortaya koymaktadır.

### **1.4.3. Diğer Nöromodülatörler**

DDD oluşumundan sorumlu kortiko-talamo-kortikal ağın diğer kortikal ve sensoryel girdilerden, önbeyin ve beyin sapı aferentlerinden, lokal kortikal devrelerden etkilenmesi farklı birçok nöromodülatörün WAG/Rij sıçanlarda DDD oluşumunu etkilemesine yol açmaktadır. Bu noktadaki rolleri önemli ölçüde ortaya konmasa da; asetilkolin (Berdiev ve diğ. 2007), serotonin ve dopamin gibi monoaminler (Midzyanovskaya ve diğ. 2006, Birioukova ve diğ. 2005) opioid ailesindeki nöropeptidler (Lason ve diğ. 1994, Przewlocka ve diğ. 1996) NPY gibi bazı peptid hormonlar ve nitrik oksit (NO) gibi gazlar (Przewlocka ve diğ. 1996) direkt ya da indirekt olarak kortiko-talamo-kortikal ağdaki aktiviteyi etkileyerek DDD oluşumuna katkıda bulunmaktadır.

### 1.5. Absans Epilepside İyon Kanallarının Rolü

Absansdaki DDD'lerin oluşumu için kortikal piramidal, TK ve RTN hücrelerinin varlığının gerekli olduğunun ortaya konmasıyla çalışmalar özellikle TK ve RTN hücrelerinin rolünün araştırılmasına yol açmıştır. TK hücreler, RTN veya kortikal odakta başlayan salınımsal aktivite için intrinsik yatkınlığa sahiptir. T tipi  $Ca^{++}$  akımı ve hiperpolarizasyonla aktive edilen siklik nükleotid-kapılı katyon (HCN) kanalları tarafından üretilen  $I_h$  akımı, TK hücrelerdeki salınımların aksiyon potansiyellerini birlikte kontrol etmektedir. HCN kanalları, membran potansiyeli hiperpolarize olduğunda içeri doğru katyon akımı oluşturarak T tipi  $Ca^{++}$  kanallarıyla birlikte DDD'lerin oluşumunda salınımların başlamasında etkili olmaktadır (Budde ve Pape 2009).

Daha önce yapılan çalışmalarda T tipi  $Ca^{++}$  kanallarının kortiko-talamo-kortikal sistemde oldukça fazla ekspresyonunun olması, bu döngünün devamlılığında önemli rol oynayabileceğini düşündürmektedir (Khosravani ve Zamponi 2006, Cheong ve Shin 2013). *In situ* hibridizasyon çalışmaları bu kanalların  $Ca(v)3.1$ ,  $Ca(v)3.2$  ve  $Ca(v)3.3$  alt tiplerinin mRNA ekspresyonlarının korteksin tüm tabakalarında ve talamusta yaygın olduğunu göstermiştir (Liu ve diğ. 2011, Talley ve diğ. 1999). T tipi  $Ca^{++}$  kanallarına spesifik genlerin ekspresyonunun ve T tipi  $Ca^{++}$  akımının WAG/Rij sıçanların talamik çekirdeklerinde kontrollere göre daha yüksek olduğu bulunmuştur (Broicher ve diğ. 2007, 2008). GAERS'lerde yapılan bir çalışmada da  $Ca(v)3.1$ ,  $Ca(v)3.2$  kanal alt tiplerinin RTN'da arttığı gösterilmiş ve T tipi  $Ca^{++}$  akımının artmasının talamik nöronların ateşlenmesi ve ağ salınımlarının artmasında rol oynadığı ileri sürülmüştür (Tsakiridou ve diğ. 1995). Bu bulgular absans epilepside T tipi  $Ca^{++}$  kanallarının aşırı aktif olduğunu açıkça göstermektedir. T tipi  $Ca^{++}$  kanal blokörü etosüksimid, absans epilepside en çok

kullanılan ilaçlardan biridir. Ayrıca T tipi  $Ca^{++}$  kanalları, antiinflamatuar ilaçlar tarafından etkilenmektedir. Siklooksijenaz (COX) inhibitörü indometazin T tipi  $Ca(v)3.1$  kanallarını bloke ettiği *in vitro* olarak gösterilmiş ve WAG/Rij sıçanlarda DDD'ları baskıladığı bildirilmiştir (Rimoli ve diğ. 2009).

Diğer yandan L tipi  $Ca^{++}$  kanallarının da DDD oluşumunda rol oynadığı ileri sürülmektedir. Fakat T-tipi kanallardan farklı olarak L tipi  $Ca^{++}$  kanal blokörlerinin DDD'ları artırdığı gösterilmiştir (Zhou vd., 2006). İlginç şekilde, bu kanalları sitokinler de etkilemektedir. IL-1 $\beta$ 'nın L tipi  $Ca^{++}$  kanallarının por oluşturan alt birim proteinin ekspresyonunu azalttığı ve bu voltaj kapılı kanaldan aşırı  $Ca^{++}$  girişini engellediği gösterilmiştir (van Luijtelaar ve diğ. 2000).

WAG/Rij sıçanların kortekslerinde yapılan biyokimyasal analizler, HCN kanallarının HCN1 alt birim proteininin düzeyinde kontrollere göre önemli ölçüde azalma göstermiştir (Strauss ve diğ. 2004). WAG/Rij sıçanlarda Patch clamp yöntemiyle alınan kayıtlarda sıçanların kortikal piramidal nöronlarındaki  $I_h$  aktivasyonunun hızlı komponentinin nonpileptik sıçanlara göre 4 kat yavaşladığı gözlenmiştir. Bu neokortikal HCN1 fonksiyonunun kaybı, HCN1 alt birim proteininin WAG/Rij sıçanlarda özellikle kortikal odağın olduğu bölgede kontrollere göre önemli ölçüde azalmasından dolayı kortikal uyarılabilirliğin artmasına katkıda bulunmaktadır. Yapılan farklı çalışmalarda da kortikal odağın bulunduğu alandaki HCN1 kanallarının yoğunluğunun somatodendritik uyarılabilirliği belirlediği ve bu dendritik HCN1 kanallarındaki azalışın DDD'ları artırdığı gösterilmiştir (Strauss ve diğ. 2004, Kole ve diğ. 2007, Schridde ve diğ. 2006, Bazyan ve diğ. 2013).

Yapılan tüm bu çok yönlü çalışmalar, iyon kanallarının DDD oluşumundaki rolüne dikkat çekmektedir.

## **1.6. Absans Epilepside İnflamasyonun Rolü**

Son zamanlarda absans nöbet-inflamasyon ilişkisini aydınlatmaya yönelik çalışmalar yapılmaya başlanmıştır. WAG/Rij sıçanlarda yapılan bir çalışmada, interlökin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), interlökin 6 (IL6) ve tümör nekrozis faktör alfa (TNF- $\alpha$ ) gibi sitokinlerin akut olarak absans epileptik aktiviteyi artırdığı gösterilmiştir. Sistemik ya da icv lipopolisakkarit (LPS) uygulanması veya proinflamatuvar sitokinlerin sistemik injeksiyonu, DDD'ları injeksiyondan sonraki saatler ve günler içinde akut olarak artırmıştır. Kortikal immün yanıtların bu sitokinleri aktive ederek lokal nöronal uyarılabilirliği artırdığı ve bunun da



DDD'ların artmasına yol açtığı ileri sürülmüştür (Kovacs ve diğ. 2006, van Luijtelaar ve diğ. 2012).

Öte yandan absans nöbetlerle inflamasyon arasındaki güçlü bağlantı, WAG/Rij sıçanlarla birlikte farklı hayvan modellerinde de ortaya koymuştur (Akin ve diğ. 2011, Kovacs ve diğ. 2014, Russo ve diğ. 2014) Bir grup çalışmacı GAERS'lerde yaptığı deneylerde IL-1 $\beta$ 'nın DDD oluşumuna katkısı olduğunu göstermiştir (Akin ve diğ. 2011). Diğer taraftan LPS verilmesinin santral sinir sisteminde proinflamatuvar sitokinlerle birlikte siklooksijenaz-2 (COX-2) düzeyinin artışına yol açtığı, bununla birlikte kortiko-talamo-kortikal ağda uyarılabilirliği artırdığı ve WAG/Rij sıçanlarda epileptik nöbetleri kötüleştirdiği ileri sürülmüştür. Bu doğrultuda yapılan çalışma bulguları da WAG/Rij sıçanlarda absans epileptik aktivitenin arttığını ortaya koymuştur (Kovacs ve diğ. 2011, Russo ve diğ. 2013, 2014). COX inhibitörünün (indometazin ve /veya etorikoksib aracı) WAG/Rij ve GAERS sıçanlarda absans nöbetleri azalttığı ve LPS bağımlı prokonvülsan etkileri blokladığı gösterilmiştir (Citraro ve diğ. 2015, Kovacs ve diğ. 2014, Rimoli ve diğ. 2009).

Bu bulgular proinflamatuvar sitokinlerin rol oynadığı nöroinflamatuvar süreçlerin absans epilepsi patogeneğinde önemli yere sahip olduğunu ve antiinflamatuvar tedavilerin DDD'ları baskıladığını açıkça ortaya koymaktadır.

## **1.7. Absans Epilepside Antiepileptik Tedavi**

Tipik absans epilepsinin genellikle teşhisi ve tedavisi kolay olmakla birlikte tedavide sınırlı sayıda ilaç kullanılmaktadır. Nöbetlerinin birinci sıra tedavisinde etosüksimid ve valproik asit tek başına veya kombine olarak tercih edilmekle birlikte, nöbetlere lamotrijin ve levetirasetam da iyi cevap vermektedir (Çizelge 1.5). Bununla birlikte epilepsinin diğer türlerinde kullanılan beyinde GABAerjik aşırımı güçlendiren vigabatrin, tiagabin gibi bazı GABA-mimetik ilaçlar ve antikonvulsif etkinliğe sahip karbamazepin, fenitoin gibi antiepileptik ilaçlar absans nöbetleri kötüleştirmekte ve DDD'ları şiddetlendirmektedir (Coenen ve diğ. 1995, Cocito ve Primavera 1998, Knake ve diğ. 1999, Depaulis ve van Luijtelaar 2006, Lerman 1986, Bauer 1996, Genton ve diğ. 2001).

### **1.7.1. Etosüksimid**

Tipik absans nöbetlere karşı en sık kullanılan ilaçtır. Yapılan klinik bir çalışmada etosüksimidle tedavi edilen hastaların %70'inde nöbetlerin tamamen kontrol altına alındığı gösterilmiştir (Blomquist ve Zetterlund 1985). Daha sonra absans epilepsili hastalarda yapılan diğer klinik çalışmalar, etosüksimidin etkinlik ve yan etki profili açısından üstünlüğünü açıkça ortaya koymuştur (Glauser ve diğ. 2010, 2013). Etosüksimid, talamik hücrelerde voltaja bağımlı T-tipi  $Ca^{++}$  kanallarını bloke ederek düşük voltajla aktive edilen  $Ca^{++}$  akımını azaltır (Çizim 1.4) (Coulter ve diğ. 1989). Öte yandan nöron membranının voltaja bağımlı sodyum kanallarını bloke etmezler veya GABAerjik etkinliği artırmazlar (Kayaalp 2012).

Başlıca yan etkileri şunlardır:

Gastrointestinal bozukluklar: Bulantı, kusma ve iştahsızlık şeklinde ortaya çıkarlar. Santral sinir sistemi ile birlikte en sık görülen yan etkilerdir.

Santral sinir sistemi belirtileri: Daha çok psikişik belirtiler şeklindedir. Uyuşukluk, letarji, öfori oluşturabilir. Parkinson sendromu belirtileri, baş ağrısı, fotofobi ve baş dönmesi gibi nörolojik bozukluklar da yapabilir. Toksik psikoz oluşturabilir.

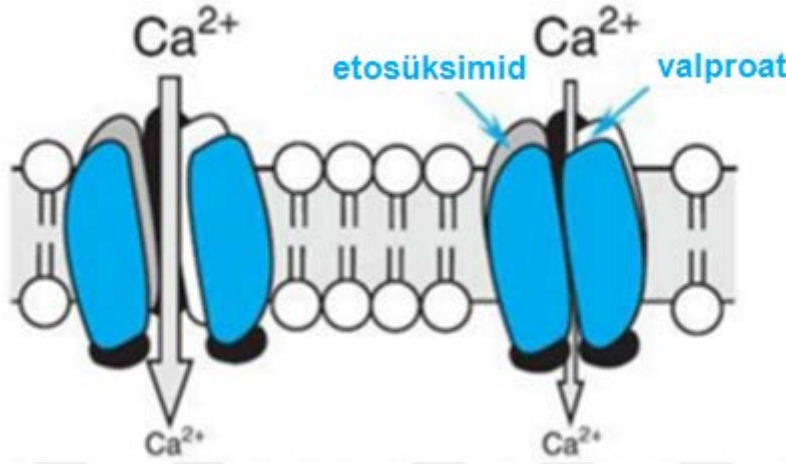
Alerjik belirtiler: Ürtikerden Stevens-Johnson sendromuna kadar değişen derecede cilt döküntüleri, eozinofili, lupus eritematosus, lökopeni, trombositopeni, pansitopeni ve aplastik anemi yapabilir. Yaptığı kemik iliği depresyonu fatal olabilir (Kayaalp 2012).

### **1.7.2. Sodyum Valproat**

Absans nöbetlere karşı sıklıkla kullanılır, tek başına etkilidir. Yapılan klinik bir çalışmada hastaların %88-%95'inde nöbetlerin baskılandığı gösterilmiştir (Covanis ve diğ. 1982). Sodyum valproat, etosüksimid gibi talamik hücrelerde T tipi  $Ca^{++}$  akımında azalma meydana getirir (Çizim 1.4) (Kelly ve diğ. 1990). Nöronlarda voltaja bağımlı  $Na^{+}$  kanallarının inaktivasyondan tekrar aktif hale gelme süresini azaltır. Deney hayvanlarında GABA transaminaz (GABA-T) enzimini inhibe ederek GABA yıkımını azaltır ve sinaptaki düzeyini yükseltir. GABA'nın nöronal ve glial uptake'ini inhibe ettiği de gösterilmiştir. Nöron membranındaki potasyum kanallarını direkt etkisi ile açarak hiperpolarizasyon yaptığı da gösterilmiştir (Brunton ve diğ. 2011).

En sık görülen yan etkileri bulantı, kusma, diyare gibi gastrointestinal bozukluklardır. Sedasyon ve uyuşukluk hali oluşturabilir. Trombosit agregasyonunu inhibe edebildiği için kanama zamanını uzatabilir. Seyrek de olsa lökopeni,

pansitopeni, ketoasidoz, hiperamonyemi ve buna bağılı ensefalopati ve pankreatit yapabilir. Ayrıca nadiren fatal hepatite yola açtığı da bilinmektedir (Kayaalp 2012).



**Çizim 1.4.** Anti-absans ilaçla indüklenen T tipi  $Ca^{++}$  akımının azalması

### 1.7.3. Lamotrijin

Lamotrijinin hastaların %50-%56'sında absans nöbetleri kontrol altına aldığı fakat immün reaksiyonlara yol açtığı rapor edilmiştir (Frank ve diğ. 1999). Daha sonraki başka bir çalışma, lamotrijinin etkisi daha geç başlamakla birlikte absans nöbetleri baskılamada sodyum valproatla eşdeğer olduğunu ileri sürmektedir (Coppola ve diğ. 2004). Lamotrijin nöronların voltaja bağımlı hızlı  $Na^+$  kanallarını inhibe ederek hızlı deşarj yapan nöronların membranını stabilize edip deşarjları durdurur (Xie ve diğ. 1995).

En sık görülen yan etkisi cilt döküntüleridir. Bazen anjiyoödem, Stevens-Johnson sendromu, toksik epidermal nekroliz gibi ciddi döküntülü durumlara yola açabilir. Ayrıca baş ağrısı, baş dönmesi, bulantı, kusma, uyuklama, görme bulanıklığı ve diplopi görülen yan etkilerindedir. Nadiren kemik iliğini baskılayabilir, aplastik anemi, trombositopeni, pansitopeni yapabilir (Kayaalp 2012).

### 1.7.4. Levetirasetam

Yapılan klinik çalışmalarda levetirasetamın yeni tanı konan hastalarda absans nöbetleri %50 azalttığı gösterilmiştir (Verrotti ve diğ. 2008). Etki mekanizması henüz anlaşılamamıştır. Voltaja bağımlı  $Na^+ / Ca^{++}$  veya GABA/glutamat aracılı nörotransmisyon

üzerine etkisi ile ilgili herhangi bir kanıt yoktur. Yalnızca sinaptik vezikül proteini olan SV2A'ya bağlanarak antiepileptik etki gösterdiği ileri sürülmüştür (Rogawski ve Bazil 2008).

En sık görülen yan etkileri sedasyon ve baş dönmesidir (Brunton ve diğ. 2011).

### 1.7.5. Asetazolamid, Klonazepam, Klobazam

Diğer epilepsi türlerinde kullanılan antiepileptiklerden asetazolamid, klonazepam ve klobazam, absans epilepside kullanılan ikinci sıra ilaçlardır (Hitiris ve Brodie 2005). Absansdaki etkinlikleri tartışmalı olmakla birlikte ancak diğer tedavilere yardımcı ilaç olarak kullanılırlar (Panayiotopoulos 2001).

En çok sedasyon, uyuşukluk, baş dönmesi, ataksi gibi santral yan etkilere yol açarlar (Kayaalp 2012).

### 1.7.6. Zonisamid

Bazı çalışmacılar tarafından absans nöbetlere etkili olduğu ileri sürülmekle birlikte (Wilfong ve Schultz 2005) etkinlik ve tolere edilebilirliğini değerlendiren yeterince klinik çalışma yoktur. Sodyum valproat gibi voltaja bağımlı T tipi  $Ca^{++}$  akımını azaltır ve voltaja bağımlı  $Na^{+}$  kanallarının inaktivasyon süresini uzatır. En sık görülen yan etkileri uykusuzluk, yorgunluk, ataksi ve anoreksiyadır (Brunton ve diğ. 2011).

**Çizelge 1.5.** Absans Epilepside En çok Kullanılan İlaçlar

İlaç	Etkinlik	Etki Mekanizması	Başlıca Yan Etkiler
Etosüksimid	Hastaların %70'inde tamamen kontrol sağlamıştır.	Talamik hücrelerdeki düşük voltajlı T tipi $Ca^{++}$ kanallarını bloke eder.	Bulantı, başağrısı, uyuşukluk, alerjik belirtiler
Sodyum Valproat	Hastaların %88-90'ında nöbetleri baskılamıştır.	Voltaja bağımlı T tipi $Ca^{++}$ ve $Na^{+}$ kanallarını bloke eder. Beyindeki GABA	Bulantı, kusma, sedasyon, hepatit

		düzelelerini azaltır.	
Lamotrijin	Hastaların %50-56'sında nöbetleri baskılamıştır.	Voltaja bağımlı Na <sup>+</sup> kanallarını bloke eder.	Cilt döküntüsü, uyuşukluk, başağrısı, baş dönmesi
Levetirasetam	Hastaların %50'sinde nöbetleri azaltmıştır.	Sinaptik vezikül proteini modülasyonu yapar.	Baş dönmesi, sedasyon

### 1.8. Nöral Kök Hücreler (NKH)

Erişkin beyninin kendini yenileme kabiliyetinin varlığı ilk olarak 1960'larda sıçan beyninin mitotik aktivitesini gösteren Joseph Altman tarafından keşfedilmiştir (Altman 1962). Bu aşamadan sonra nörogenez kanaryalarda (Goldman ve Nottebohm 1983), kemirgenlerde (Reynolds ve Weiss 1992) ve insanlarda da (Eriksson 1998, Sanai, 2004) ispatlanmıştır. Bu buluşlar sonrasında izole edilen kendini yenileme kabiliyeti olan multipotent hücreler NKH olarak isimlendirilmiştir (Reynolds 1992, Doetsch 1999, Laywell 2000). Nöral kök/öncül hücreler beyin gelişimi esnasında ve yetişkin memeli beyinde kendini yenileme kabiliyeti olan ve *in vitro*'da nöron, astrosit ve oligodentrositlere farklılaşabilen hücrelerdir (McKay 1997, Gage 2000). Sinir sisteminin dejenere veya hasarlanmış bölgelerinde yeniden çoğalabilme yeteneğine sahiptirler. Seri olarak transplante edilebilir, kendi kendilerini yenileyebilir ve aynı potansiyel ve özellikleri taşıyan yeni hücreler üretebilirler. Nörogenez beyinde öncelikli olarak subventriküler zon ve subgranüler zonda meydana gelmektedir (Eriksson 1998, Johansson 1999, Kukekov 1999, Sanai 2004).

Memeli merkezi sinir sisteminde (MSS) yer alan nöron ve nöroglial hücreler aynı öncül NKH'lerden köken almaktadır (Ellis 2004, Parker 2005). Bu hücreler farklılaşmamış hücreler olarak, sinir sisteminin az bulunan ilksel (primordial) hücreleridir.

NKH'lerin taşınması gereken özellikler şu şekilde belirlenmiştir:

1- Multipotent hücreler olmalı ve sinir sistemi hücrelerinden nöron, astrosit ve oligodendrositlerin bütün alt tiplerine farklılaşabilmelidir,

2- Sinir sistemi hücre tiplerine farklılaşabilme ve sinir sisteminin hasarlanmış bölgelerinde yeniden çoğalabilme yeteneğinde olmalıdır,

3- Kendi kendini yenileyebilir olmalı, aynı potansiyel ve özellikleri taşıyan yeni hücreler üretebilme yeteneğinde olmalıdır.

NKH'lerin kendilerini yenileme ve farklılaşabilmelerinde kullandıkları hücre içi düzenleyiciler; transkripsiyon faktörleri, epigenetik kontroller ve küçük RNA düzenleyicileri ve ek olarak kök hücre mikroçevresinden gelen dış sinyallerdir (Shi 2008). Epidermal büyüme faktörü (EGF), transforme edici büyüme faktörü  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), fibroblast büyüme faktörü (FGF) reseptör tirozin kinazların hücre dışı ligandlarıdır ve NKH'lerin çoğalmalarında kritik rolleri vardır. EGF reseptörü subventriküler zon gibi nörojenik bölgelerde ifade olmaktadır (Kornblum 2007).

1992'lerde Reynold, Weiss ve arkadaşları erişkin ve embriyonik farelerin merkezi sinir sistemlerinden, EGF varlığında büyük miktarlarda küreler (sferler) elde etmişler ve bunları nörosfer (nöroküreler) olarak isimlendirmişlerdir. Bu nöroküreler nöron ve glialardan oluşmakta olup, yüksek oranda arafilament proteini nestini ifade eden ve nöroepitelyal hücrelerle ilişkili hücreler bulundurmaktadır. Bütün bu nörosferlerin tekli hücrelerden oluştuğu, tekli hücre süspansiyonları haline getirilen bu sferlerin yeni nöron ve glia içeren yeni nöroküreler geliştirebildikleri gösterilmiştir. Bu nöroküre üreten hücrelerin kök hücre özelliklerini taşıdıkları, kendini yenileyebilen, multipotent hücreler oldukları kanıtlanmıştır (Kornblum 2007).

Erişkin beyninden kök hücreleri izole edip büyötmek için Reynolds ve Weiss nöroküre assay olarak bilinen serum yoksun kültür sistemlerini geliştirmişlerdir. Bu yöntemle toplanan hücrelerde primer olarak farklılaşmış MSS hücrelerinin sağkalımı mümkün olmayıp; çok az sayıda EGF uyumlu hücreler aktif çoğalmaya devam ederek farklılaşmamış hücrelerden oluşan nöroküreleri oluşturmaktadır. Bu küreler ayrıştırıldıklarında ikincil küreler yapabilen veya farklılaşmaya teşvik edildiklerinde MSS'nin birincil hücre tipleri nöron, astrosit ve oligodentrositlere farklılaşabilen hücreler elde edilebilmektedir. EGF, FGF veya her iki mitojen birlikte kullanılarak farklılaşmamış MSS öncülleri elde edilebilmektedir (Gritti 1995 1996 1999, Reynolds and Weiss 1996).

Nöral kök/progenitor hücreler beyin hasarlarının tamirinde öncelikli olarak kullanılan alternatif hücre kaynaklarıdır, bu özelliklerine ek olarak immünbaskılayıcı(Einsteinet ve diğ. 2007), immüdüzenleyici ve nöroprotektif etkileri de gösterilmiştir. Kesin olarak bilinen o ki; beyin hasarları sonrası hücresel (eritrosit, lökosit ve makrofajlar) ve çözünebilir (trombin, plazmin vb. plazma proteinleri) inflamatuvar

bileşenler kan yoluyla beyine girebilmekte ve sitotoksik sitokinlerle kemokinler buna aracılık etmektedirler (Hartl ve diğ. 1996, Matsuoet ve diğ. 1994, Power ve diğ. 2003). Sistemik olarak (intravenöz ve intratekal) enjekte edilen NKH'lerin MSS nörolojik hastalıklarında nöroprotektif ve anti-inflamatuar etkileri farelerde gösterilmiştir (Ben-Hur ve diğ. 2003, Pluchinoet ve diğ. 2003, 2005). Hasarlı ve kayıp hücrelerin yerine yeni hücrelerin eklenerek mikroçevreye uyumlu olarak hücrelerin farklılaşmasına yönelik çalışmalar da yapılmaktadır. Nöral progenitör hücrelerin sistemik veya intraparenkimal verilmesiyle iskemik hasarlı bölgeye göç ettiği ve mikroçevredeki birçok hücre tipiyle ilişkide olduğu saptanmıştır. İntraserebral hasar oluşturulmuş farelerde NKH'lerin santral sinir sistemi dokusunu uyardığı tespit edilmiştir (Joeang 2003). Benzer olarak akut orta beyin arter tıkanıklığıyla oluşturulan inme modelinde NKH'ler ile hasar tamirinin gerçekleştiği gösterilmiştir (Chu 2004). Ek olarak NKH'lerin inflamasyon hücreleriyle iletişim halinde olduğu ve inflamasyon hasarına karşı beyini koruduğu rapor edilmiştir (Martino 2006, Pluchino 2005).

Kök hücrelerin hasarlı bölgeye çeşitli kemotaktik faktörlerle göç ettiği bilinmektedir. Bakteriyal kollajenaz indüklü intraserebral hasar sonrası NKH enjeksiyonunun hasarlı alanda anti-apoptotik ve anti-inflamatuar etkiyi tetiklediği gösterilmiştir. Paralel olarak aynı araştırmacılar NKH enjeksiyonu sonrası proinflamatuvar sitokinlerden TNF-alfa ve IL-6'nın hem beyinde hemde sekonder lenfoid organlarda azaldığını saptamışlardır (Lee 2007).

Tüm bu özelliklerinden dolayı NKH transplantasyonu Parkinson (Newman ve Bakay 2008), Huntington (Clelland ve diğ. 2008, Lee ve diğ. 2005) ve fokal epilepsiler (Raedt ve diğ. 2007) gibi beyin, doku/hücre kaybı veya hasarı olan nörolojik hastalıkların tedavisinde alternatif bir tedavi yöntemi olarak görülmektedir.

### **1.8.1. Farklı Epilepsi Türlerinde Deneysel NKH Tedavi Yaklaşımları**

Epilepsinin farklı türlerinde NKH transplantasyonu ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. Bir grup çalışmacı, genetik olarak tasarlanmış GABA üreten hücreleri, sıçanlara amigdala kindling uyarısından hemen önce bilateral olarak santral piriform kortekse vermiştir. Kindling uyguladıktan sonra gözlenen nöbet eşiğinin kontrol sıçanlara göre anlamlı olarak arttığını ortaya koymuşlardır (Gernert ve diğ. 2002). Başka bir çalışmada farelerden elde edilen embriyonik medyal gangliyonik eminensden (MGE)köken alan farklılaşmamış prekürsör hücreler kullanılmıştır. Bu hücreler Kv1.1 epileptik mutant farelere bilateral

transplantasyonla kortekse nakledilmiştir. Kortekste olgun GABAerjik internöronlara farklılaştığı gösterilmiştir. Çalışmada korteksteki piramidal hücrelerin inhibitor post sinaptik akımları analiz edilerek, bu hücrelerde GABA aracılı inhibisyonun arttığı ve spontan elektrografik nöbetlerin süre ve frekanslarının azaldığı gösterilmiştir (Baraban ve diğ. 2009). Farklı bir grup araştırmacı sıçanlarda i.p. kainik asit injeksiyonuyla status epileptikus oluşturduktan sonra fetal lateral gangliyonik eminesten elde edilen farklılaşmamış prekürsör hücreleri hipokampüse transplante etmiştir. Hücrelerin GABAerjik internöronlara farklılaşabildiğini ve spontan rekürren motor nöbetlerin frekanslarının azaldığını ortaya koymuşlardır (Hattiangandy ve diğ. 2008). Aynı ekip yine sıçanlarda i.p. kainik asit injeksiyonuyla status epileptikus oluşturduktan sonra fetal MGE'den elde edilen farklılaşmamış kök hücreleri yine hipokampüse transplante etmiş ve *in vitro* olarak hücrelerin olgun nöronlara, oligodendrositlere, astrositlere ve GABA salıveren internöronlara farklılaşabildiğini göstermişlerdir. Transplantasyondan 3 ay sonra, spontan rekürren motor nöbetlerin sıklık ve süresinde azalma olduğunu ortaya koymuşlardır (Waldau ve diğ. 2010). NKH'lerin embriyonik MGE'den elde edilen GABAerjik internöronlara farklılaşabilme yeteneğine sahip olması, onları epilepside hücre nakli için ideal bir donör haline getirmiştir.

### **1.9. Absans Epilepside Kardiyovasküler Değişiklikler**

Epilepsili hastalarda nöbetlerin kardiyak hız ve ritmi otonomik nöronal disfonksiyona yol açarak etkiledikleri ve tekrarlayan nöbetlerin kardiyak fonksiyonda büyük zararlar meydana getirerek ciddi klinik sonuçlar doğurduğu bilinmektedir. Özellikle epilepside ani, beklenmeyen ölümün olası sebeplerinden birinin kardiyak aritmiler olduğu ileri sürülmesi kardiyovasküler fonksiyonların araştırılmasına sebep olmuştur (Jay ve Leestma 1981). Birçok epilepsi türünde kardiyovasküler fonksiyonlarla ilgili çalışmalar yapılmakla birlikte bugüne kadar absans epilepsili insan ve hayvan modellerinde kardiyovasküler fonksiyonların araştırılmasına yönelik yapılan çalışmalar sınırlı sayıdadır.

Bugüne kadar yapılan çalışmalar daha çok GABAerjik nörotransmisyonun santral kardiyovasküler regülasyon üzerindeki rolüne odaklanmıştır. WAG/Rij ve GAERS'lerde yapılan çalışmalar özellikle amigdala ve hipotalamustaki GABAerjik inhibisyonun ortalama arteriyel kan basıncı (OAB) ve kalp hızı (KH) regülasyonunda önemli rol oynadığını ortaya koymuştur (Karson ve diğ. 1999, Aker ve Onat 2002, Yananli ve diğ. 2008). Son yapılan bir çalışmada ise GAERS'lerde kontrollere göre kardiyak



elektrofizyolojinin değiştiği, kalp hızının düştüğü gösterilmiş ve bu değişikliklerin kardiyak HCN kanal ekspresyonlarında azalmaya bağlı olduğunu ileri sürülmüştür (Powell ve diğ. 2014). Bu çalışmalarla birlikte yeni yapılacak çalışmalarla absans epilepside kardiyovasküler değişikliklerin irdelenmesi ve altta yatan mekanizmaların aydınlatılmasına ihtiyaç vardır.



## 2. AMAÇ

2002 yılında Meeren ve arkadaşlarının (Meeren ve diğ. 2002) DDD'ları tetikleyen ve başlamasına sebep olan beyin bölgesinin S1po'nde bulunan hücre topluluğu olduğunu ileri sürmesi ve sonrasında bu deşarjlardan genel olarak kortiko-talamo-kortikal döngünün sorumlu olduğunun kabul edilmesi (Meeren ve diğ. 2005), absans nöbetlerin altında yatan mekanizmalar ve bunlara yönelik tedavilerin araştırılmasında hedef bölgenin seçimi noktasında dönüm noktası olmuştur. Diğer taraftan bu bulgular nörokimyasal açıdan GABAerjik sistemin önemine dikkat çekmiştir. GABAerjik agonistlerin lokal uygulanmaları halinde uygulandıkları bölgeye göre DDD'ları azalttığı GAERS'lerde ortaya konmuştur (Bernasconi ve diğ. 1992, Liu ve diğ. 1991). Diğer yandan WAG/Rij sıçanların frontoparyetal kortekslerinde yapılan *in vitro* çalışmalarda absans epilepside korteksin aşırı uyarılabilirliğinin GABAerjik inhibisyonun etkinliğinin azalmasına bağlı olabileceği gösterilmiştir (Luhmann ve diğ. 1995). Bu çalışmalar GABA'nın kortekste DDD'ları baskılayıcı role sahip olduğunu açıkça ortaya koymuştur.

Bu doğrultuda yapılan çalışmalarda WAG/Rij ve non-epileptik kontrol sıçanlarda yapılan bir çalışmada parvalbumin (sinir sisteminde GABAerjik internöronlarda bulunan spesifik protein) pozitif nöronların sayısının WAG/Rij sıçanların somatosensoryel kortekslerinde kontrollere göre 2 kat daha az olduğu bulunmuştur (Liu ve diğ. 2007). Bir diğer grup, WAG/Rij sıçanların somatosensoryel korteksindeki GABA<sub>B</sub> reseptör altbirim ekspresyonu ve lokalizasyonunun, aynı yaştaki non-epileptik kontrol sıçanlara göre azaldığını ortaya koymuştur (Merlo ve diğ. 2007).

Yapılan tüm bu farmakolojik ve nörokimyasal çalışmalar; absans epilepside kortekste (özellikle S1po) GABAerjik nöronların sayı ve aktivitelerinin azaldığını, GABAerjik inhibisyonun yetersizliğinin DDD oluşumundaki rolünü açıkça ortaya koymaktadır, fakat S1po'deki değişiklikler bununla sınırlı değildir. Bir grup araştırmacı, WAG/Rij sıçanlar ve non-epileptik kontrol sıçanlarda nöron ve glial hücrelerin somatosensoryel ve singular kortikal bölgelerdeki dansitesini ölçmüşlerdir. WAG/Rij sıçanların bu bölgelerde daha az sayıda glial hücre ve glia-nöron indeksine ve motor kortekste daha az sayıda nörona sahip oldukları gösterilmiştir (Sitnikova ve diğ. 2011). Somatosensoryel korteksin derin tabakalarının DDD'ların tetiklenmesinde anahtar role sahip oldukları göz önünde bulundurulduğunda, glia-nöron etkileşimlerinin bu bölgede bozulmasının, primer epileptik fokusdaki patolojik süreçlerin altında yatan mekanizmalardan biri olduğu da düşünülebilir.

Kortikal odak teorisini destekleyen tüm bu çalışmalar, absans epilepsinin primer jeneralize bir epilepsi olduğu şeklindeki görüşün sorgulanmasına yol açmış ve S1po'e düşük frekanslı elektriksel uyarı gibi bölgesel uygulamaların yer aldığı tedavi yaklaşımlarının önünü açmıştır (Sadighi ve diğ. 2013). Diğer bir yaklaşım ise NKH tedavisidir. NKH transplantasyonu Parkinson (Newman ve Bakay 2008), Huntington (Clelland ve diğ. 2008, Lee ve diğ. 2005) ve fokal epilepsiler (Raedt ve diğ. 2007) gibi beyin, doku/hücre kaybı veya hasarı olan nörolojik hastalıkların tedavisinde alternatif bir tedavi yöntemi olarak görülmektedir. Embriyonik MGE'den elde edilen NKH'lerin, GABAerjik internöronlara farklılaşabilme yeteneğine sahip olması (Waldau ve diğ. 2010) onları epilepside hücre nakli için ideal bir donör haline getirmiştir. Özellikle absans epilepside meydana gelen nöbetlerin GABAerjik internöron sayılarının azalması ve fonksiyonel inhibisyon kaybı ile bağlantılı olması, nöbetlerin GABA salıveren veya GABAerjik nörona farklılaşabilen hücre nakli ile engellenmesi fikrine dikkat çekmiştir.

Diğer yandan NKH'lerin inflamasyon hücreleriyle iletişim halinde olduğu ve inflamasyon hasarına karşı beyni koruduğu bildirilmiştir (Martino ve Pluchino, 2006; Pluchino ve diğ. 2005). Absans nöbetlerle inflamasyon arasındaki güçlü bağlantının çeşitli hayvan modellerinde ortaya konması (Akin ve diğ. 2011, Kovacs ve diğ. 2014, Russo ve diğ. 2014) ile NKH'lerin antiinflamatuvar etkileri göz önüne alındığında terapötik potansiyele sahip olabilecekleri düşünülmektedir.

Daha önce yapılan çalışmalarda T tipi  $Ca^{++}$  kanallarının kortiko-talamo-kortikal sistemde oldukça fazla ekspresyonunun olması, bu döngünün devamlılığında önemli rol oynayabileceğini düşündürmektedir (Khosravani ve Zamponi, 2006; Cheong ve Shin, 2013). Diğer taraftan antiinflamatuvar tedavinin bu iyon kanallarını etkileyebileceği ve WAG/Rij'larda DDD'ları baskıladığı bildirilmiştir (Rimoli ve diğ. 2009). IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  gibi proinflamatuvar sitokinlerin beyinde glial hücreler tarafından sentezlenmesi ve sitokinlerle, klasik nörotransmitterlerin arasında fonksiyonel etkileşim olduğunun gözlenmesi (Kovacs ve diğ. 2006) kortikal genetik immün cevabın lokal nöronal eksitabilitiyi, LPS, IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  aracılığıyla artırabileceği ve bunun DDD oluşumunda ve absans nöbetlerin tetiklenmesinde rol oynayabileceği düşünülmektedir. Ayrıca, proinflamatuvar sitokinlerin eNOS ekspresyonunu azaltarak endotelial disfonksiyona ve kardiyovasküler komplikasyonlara neden olduğu bilinmektedir (Zhang ve diğ. 2009).

Bugüne kadar genetik absans epilepsili WAG/Rij sıçanlarda farmakolojik, elektrofizyolojik, nörokimyasal çalışmalar ve davranış çalışmaları üzerinde yoğunlaşmıştır. Fakat absans epilepsisi ile kardiyovasküler sistem arasındaki ilişki

yeterince araştırılmamıştır. Ayrıca absans epilepsi tedavisinde kullanılan etosüksimidin birçok sistem üzerindeki etkisi iyi bilinmekle birlikte kardiyovasküler sistem üzerindeki etkisi ile ilgili yeterli sayıda çalışma yapılmamıştır.

Yukarıdaki bilgiler ışığında, NKH'lerin WAG/Rij epilepsili hayvanlarda epileptik odak olarak tespit edilmiş olan S1po'ne uygulamalarının, bu hücrelerin GABAerjik ve glial farklılaşma potansiyelleri ve antiinflamatuvar etkileri dikkate alınarak absans nöbet gelişimini engelleyebileceği öngörülebilir. Genetik absans epilepsili WAG/Rij sıçanlara NKH transplantasyonu daha önce yapılmamıştır. NKH tedavisinin klasik antiepileptik tedaviden üstün olabileceği birkaç önemli noktanın üzerinde durmak gerekir. Bunlardan ilki bilinen antiepileptik tedavilerin epileptik nöbetleri baskımlarken epileptogeneze etkili olmamalarıdır. NKH hücrel farklılaşma yoluyla kalıcı bir etki potansiyeli taşımaktadır. Bir diğer önemli nokta klasik antiepileptiklerin yol açabileceği sistemik yan etkilerin bölgesel etkinliğe sahip NKH tedavisi ile ortaya çıkmayacağına öngörülmesidir.

Sistemik antiepileptiklerin çoğu iyon kanalları üzerine etkilidir. Yapılan çalışmalar iyon kanalları, inflamasyon ve nöronal hipereksitabilite arasında karmaşık ilişkiyi göstermektedir. İyon kanallarının santral sinir sistemine ek olarak kardiyovasküler ve immün sistem fonksiyonlarındaki rolü de düşünüldüğünde bu ilaçların kognitif, emosyonel, kardiyovasküler ve inflamatuvar yan etkilerinin ortaya çıkması olasıdır. Buna karşın antiepileptik ilaç çalışmalarında bu etkiler yeterince dikkate alınmamıştır.

Bugüne dek yapılan çalışmaların tümü gözönüne alındığında, bu çalışmada genetik absans epilepsili WAG/Rij sıçanlarda fetal NKH tedavisi ve kronik etosüksimid tedavisinin absans epilepsideki etkililiği ve her iki tedavi şeklinin epileptogenez süreci ve gözlenebilecek olası kardiyovasküler değişiklikler üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Bu amaçla:

- 1- NKH'lerin *in vitro* ortamda astrosit, oligodendrosit, nöron ve GABAerjik nöronlara farklılaşabilme durumları immünfloresan yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir.
- 2- Genetik absans epilepsili WAG/Rij ve Wistar sıçanlara NKH transplantasyonu yapılmış ve GABAerjik aşırımın hücre transplantasyonu ile güçlendirilmesinin sağlanmasının DDD oluşumu ve absans nöbet üzerine etkisi EEG kayıtları alınarak incelenmiştir.
- 3- Genetik absans epilepsili WAG/Rij ve Wistar sıçanlara T tipi  $Ca^{++}$  kanalı blokeri etosüksimid tedavisi kronik olarak uygulanmış, DDD oluşumu ve absans nöbet üzerine etkisi EEG kayıtları alınarak incelenmiştir.

- 4- Her iki tedavi şeklinin absans nöbet oluşumu üzerine etkileri karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.
- 5- Genetik absans epilepsili WAG/Rij ve Wistar sıçanlarda OAB ve KH saptamak amacıyla bazal değerler ölçülmüş ve her iki tedavi şeklinin OAB ve KH üzerine etkisi değerlendirilmiştir.
- 6- Genetik absans epilepsili WAG/Rij ve Wistar sıçanlarda izole organ banyosu yöntemi kullanılarak vasküler düz kas reaktivitesi değişiklikleri incelenmiş her iki tedavi şeklinin bu değişiklikler üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir.



### 3. YÖNTEM

#### 3.1. Grupların Belirlenmesi

Çalışmada Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Birimi'nden (DETAB) temin edilen 2 aylık, 100-150 gr ağırlığında toplam 160 adet olmak üzere; 80 adet Wistar Albino ırkı erkek sıçan, 80 adet genetik absans epilepsili WAG/Rij ırkı erkek sıçan kullanılmıştır. 12 saatlik karanlık aydınlık döngüsünde tutulan sıçanlara tüm deneyler boyunca hiçbir şekilde su ve yem kısıtlaması yapılmamıştır. Çalışmada kullanılacak hayvanlar her ana grupta 20 hayvan olacak şekilde Çizelge 3.1'deki gibi 8 deney grubuna ayrılmıştır.

Bu çalışma Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Etik Kurulu'nun KOÜ HADYEK 3/7-2014 numaralı onayı ile yapılmıştır. Ayrıca TÜBİTAK (Proje Nu: 114S481) tarafından desteklenmiştir.

**Çizelge 3.1.** Deney ve Kontrol Gruplarının Düzenlenmesi

<b>Grup No</b>	<b>Grup Adı</b>	<b>Uygulanan Tedavi</b>
<b>Grup 1</b>	<b>Wistar Kontrol Grubu</b>	Bu hayvanlara 3 ay boyunca yalnızca yem ve içme suyu verilmiştir. Herhangi bir tedavi almamışlardır.
<b>Grup 2</b>	<b>Wistar Etosüksimid Grubu</b>	Bu hayvanlara 3 ay boyunca içme suyuna katılacak şekilde etosüksimid (300 mg/kg/gün) verilmiştir.
<b>Grup 3</b>	<b>Wistar NKH Grubu</b>	Bu hayvanlara 2 aylıkken S1po bölgesine intrakortikal NKH transplantasyonu yapılmıştır.
<b>Grup 4</b>	<b>Wistar Sham Grubu</b>	Bu hayvanlar Wistar NKH grubunun sham grubudur. Herhangi bir tedavi almamışlardır.
<b>Grup 5</b>	<b>WAG/Rij Kontrol Grubu</b>	Bu hayvanlara 3 ay boyunca yalnızca yem ve içme suyu verilmiştir. Herhangi bir tedavi almamışlardır.
<b>Grup 6</b>	<b>WAG/Rij Etosüksimid Grubu</b>	Bu hayvanlara 3 ay boyunca içme suyuna katılacak şekilde etosüksimid (300 mg/kg/gün) verilmiştir.
<b>Grup 7</b>	<b>WAG/Rij NKH Grubu</b>	Bu hayvanlara 2 aylıkken S1po bölgesine intrakortikal NKH transplantasyonu yapılmıştır.
<b>Grup 8</b>	<b>WAG/Rij Sham Grubu</b>	Bu hayvanlar WAG/Rij NKH grubunun sham grubudur. Herhangi bir tedavi almamışlardır.

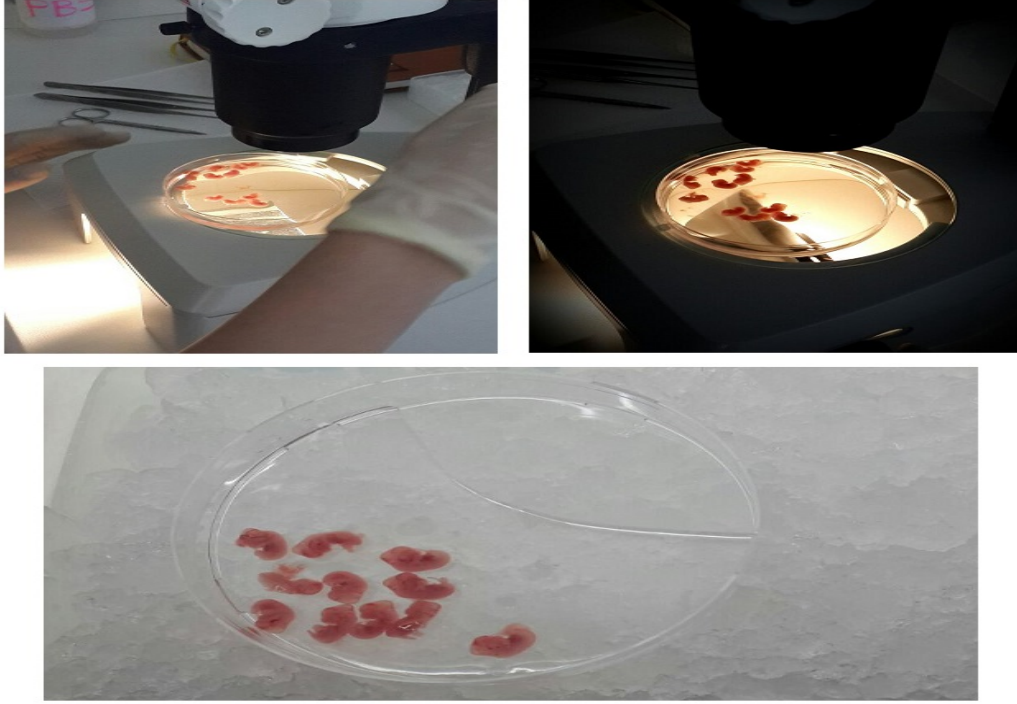
## 3.2. Fetal Medial Gangliyonik Eminens (MGE) Kaynaklı NKH'lerin İzolasyonu ve İşaretlenmesi

### 3.2.1. Fetal MGE Kaynaklı NKH İzolasyonu

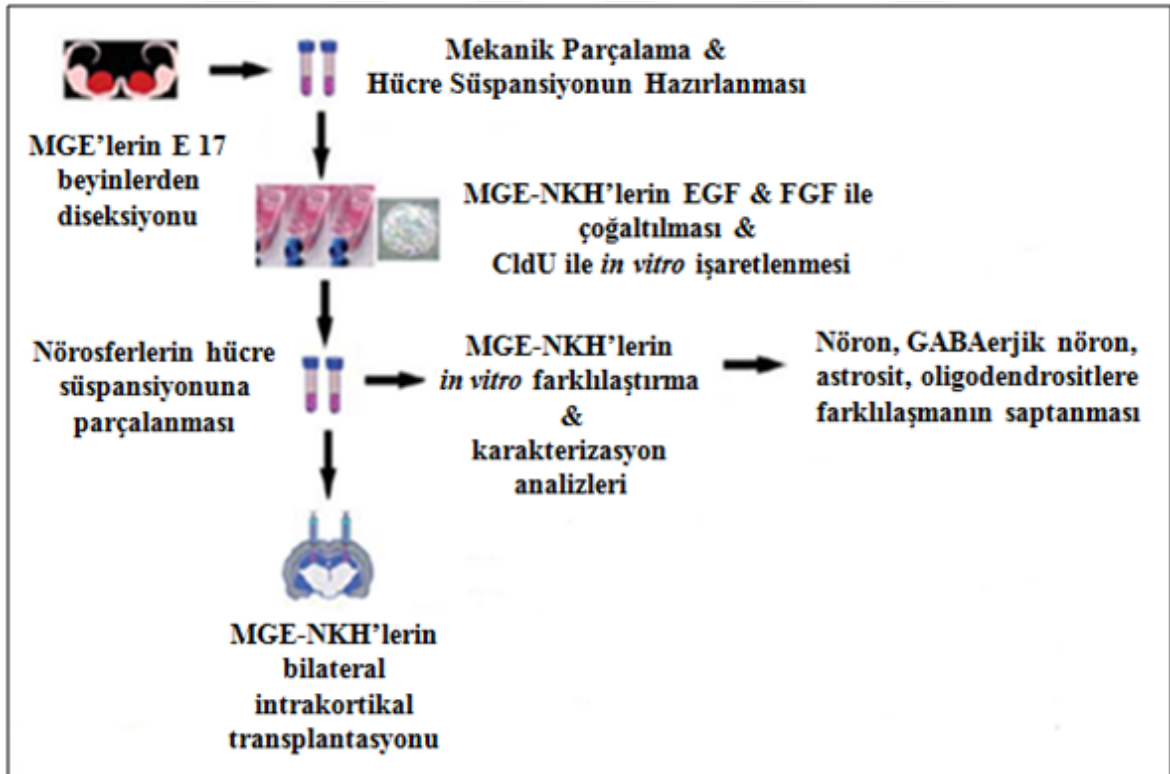
Derin anestezi verilen gestasyonun 17. gününde (E17) olan Wistar Albino gebe sıçanların uteruslarından sezeryan kesitleriyle fetüsler %2 glikozlu phosphate buffered saline (PBS) içerisinde laboratuvara getirilmiştir (Çizim 3.1). Öncesinde gestasyonun 14, 17 ve 18. günlerinde alınan örnekler değerlendirilerek en uygun günün 17. gün olduğu saptanmıştır. Herbir fetüsün beyni çıkarılarak mikroskop altında iki serebral hemisfer ayrılarak, herbir hemisferin primitif serebral korteksinin dış duvarından dikkatlice kesiler alınıp MGE'in lokalize olduğu bilinen bazal önbeyin çıkarılmıştır. Doku parçaları *Dulbecco's modified Eagle Medium-F12* (DMEM-F12) besiyeri içinde bistüri ve pastör pipeti ile çoğalma besiyeri eklenerek mekanik olarak parçalanmış, E17 MGE dokuları tekli hücre süspansiyonu haline getirilmiştir. Hücre canlılığı trypan blue boyası ile test edilmiştir. Hücreler; B27 eklentisi (Invitrogen Grand Island, USA), glutamax (Invitrogen, Grand Island, USA), fibroblast büyüme faktörü (FGF), epidermal büyüme faktörü (EGF), %1 pen/strep (Gibco Invitrogen, Grand Island, USA) ve nöral çoğalma eklentileri ile içeren DMEM-F12 çoğalma besiyeriyle (Gibco Invitrogen, Grand Island, USA) süspansiyon kültüre uygun kültür kaplarına, uygun yoğunlukta ekilmişlerdir.

NKH çoğalma besiyerine 5-bromo-2'-deoksiüridin (BrdU) analogu, kloro deoksiüridin (CldU; 10 ng/ml) eklenerek 5 gün 37 C<sup>0</sup> ve %5CO<sub>2</sub>' li inkübatörde kültüre edilerek yeni oluşan hücrelerin CldU ile işaretlenmesi sağlanmıştır (Çizim 3.2).





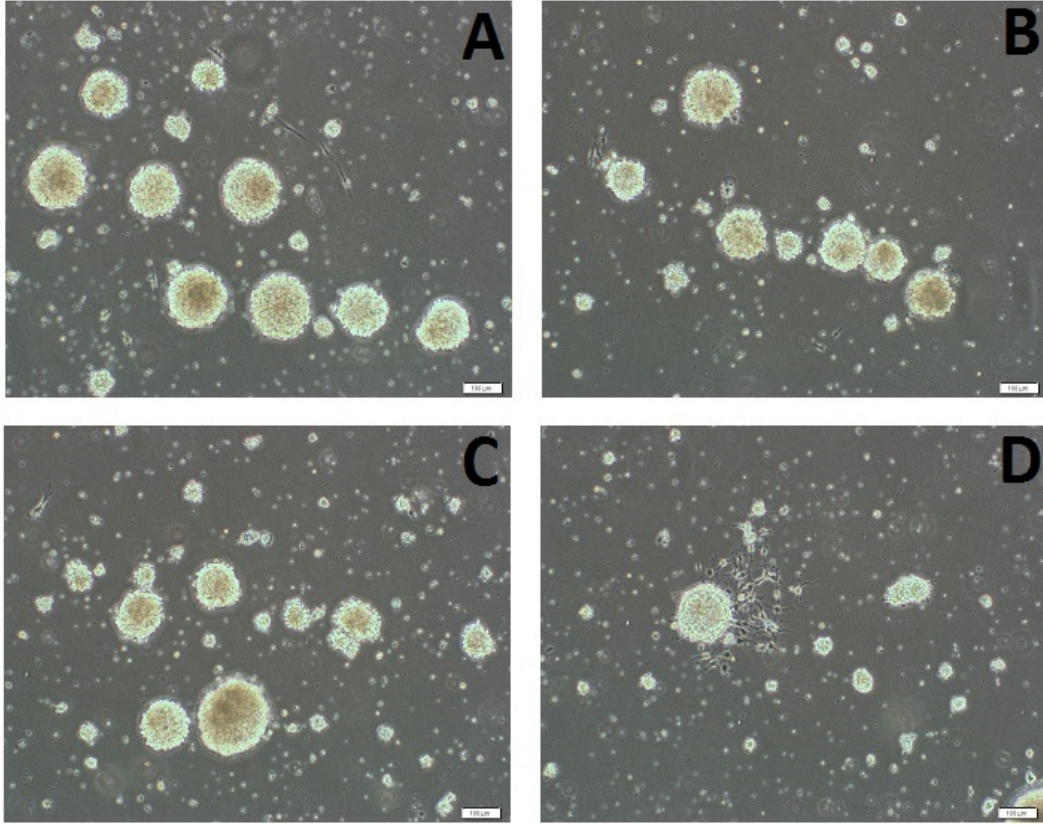
**Çizim 3.1.** NKH izolasyon aşamasında mikroskop altında çıkarılan embriyoların görüntüleri



**Çizim 3.2.** NKH süreçlerinde temel aşamalar (Waldau ve diğ. 2010'dan modifiye edilmiştir).

### 3.2.2. NKH Nörosfer Pasajlama İşlemi

İlk kültürde (P0) 7. günde nöroküreler istenilen 100 µm'lik boyuta ulaştıktan sonra besiyeriyle birlikte santrifüj tüplerine alınmıştır. 1000 rpm'de 2 dk santrifüj sonrası süpernatant uzaklaştırılıp ve 1 ml accutase enzimi ile hücreler tekli hücre süspansiyonu haline getirilmiş ve çoğalma besiyeriyle  $2 \times 10^4$  hücre/ml olacak şekilde yeni kültür kaplarına çoğalma besiyeri ile ekilerek alt kültürlenme yapılmıştır. Her alt kültürlenme işlemi ekim sonrası 7-10. günlerde, nörosferler yaklaşık 100 mikrometrelik yeterli büyüklüğe ulaştıklarında canlılıklarının devamını sağlamak ve çoğaltmak için tekrarlanmıştır (Çizim 3.3).



**Çizim 3. 3.** NKH nöroküre zıt-faz mikroskop görüntüleri

**A-C;** Pasaj 0 (P0) 6.gün **D;** P0 7.gün farklılaşmaya alınmadan kültür tabanına yapışıp farklılaşan sfer görüntüsü. 20x büyütme

### 3.2.3. NKH Nöroküre Dondurma İşlemi

Deney aşamasında o an için kullanılmayacak veya fazla olan nörosferler besiyerleri ile nazikçe 50 ml'lik falkon tüplerine alınıp 90 g'de 5 dk santrifüj edilmiştir. Üstte kalan

kısım nazikçe uzaklaştırılmış ve 900 µl taze besiyeri yavaşça hücrelere eklenerek dondurma tüplerine alınan hücrelerin üzerine yavaşça 100 µl dimetil sülfoksit (DMSO) eklenmiştir. İzopropanol içeren dondurma kaplarına alınarak -80°C buzdolabına kaldırılmıştır. Böylece kademeli olarak donan hücreler 24 saat sonra -196 °C azot tankı içerisine alınıp saklanmıştır.

### **3.3. NKH *in vitro* Farklılaşma/Karakterizasyon Çalışmaları**

#### **3.3.1. NKH'lerin *in vitro* Farklılaştırılması**

Hücrelerin nöron, astrosit ve oligodentrosit ve GABAerjik nöronlara farklılaşabildiklerinin gösterilip karakterize edilebilmesi için farklılaşma aşamalarında hücrelerin çoğalacağı kültür kaplarının yüzeyi destekleyici proteinlerle kaplanmıştır. Nöroküreler farklılaşmaya alınmadan önce; birinci aşamada 6 gözlü kültür kaplarına, etanol ile temizlenmiş ve UV ışık altında 20 dk steril edilmiş lameller yerleştirilmiştir. Herbir kuyunun üzeri kaplanacak şekilde yaklaşık 2 ml steril su ile sulandırılmış poly-L-ornithine (20µg/ml) (sigma) ile 1 saat 37 °C inkübatörde bekletilmiş sonrasında poly-L-ornithine uzaklaştırılmış ve kültür kapları steril su ile yıkanmıştır. İkinci aşamada üzerilerine yine steril su ile sulandırılan laminin (10µg/ml) eklenip, 2 saat 37 °C inkübatörde bekletilmiştir. Bekleme işlemi sonrası laminin de uzaklaştırılarak PBS ile kuyular yıkanmış ve kültür kapları ve lameller ekime hazır hale getirilmiştir.

NKH'ler, 1000 hücre/ml yoğunlukta olacak şekilde laminin ve poly-L-ornithine kaplı lameller içeren kültür kaplarına NKH farklılaşma besiyeri ile ekilmiştir. Besiyerinde yeterli konsantrasyonda NKH'lerin farklılaşmadan nöroküre olarak kalmasını sağlayan FGF ve heparin besiyerinden çekilmiştir. DMEM-F12 bazal besiyeri (Gibco Invitrogen, Grand Island, USA), N2 eklentisi (invitrogen Grand Island, USA), B27 eklentisi (invitrogen Grand Island, USA), glutamax (Invitrogen, Grand Island, USA), %1 pen/strep (Gibco Invitrogen, Grand Island, USA) ve retinoik asid (Sigma, Saint Louis, USA) eklenerek farklılaştırma besiyeri hazırlanmıştır. Hücreler farklılaştırma besiyeriyle kültüre edilmiştir. 2-3 günde bir kültür ortamındaki besiyeri tazelenmiştir. Nörojenik farklılaşmaya yönlendirilen hücrelerin kültürün 7. günü zıt-faz mikroskopta farklılaştıkları saptandıktan sonra hücreler öncelikle PBS ile iki defa yıkanmış, yıkama işlemlerini takiben hücreler metanol ile 10 dk -20°C'de fikse edilmiştir.

#### **3.3.2. NKH'lerin *in vitro* Karakterizasyonu**

Hücrelerin karakterize edilmesi için uygun antikorlar kullanılarak immünfloresan boyamalar gerçekleştirilmiştir. Antikor boyamaları ikili immunfloresan boyamalar olarak yapılmıştır. Lameller farklılaşmış nöronların boyanması için nöronal nükleer antijen (NeuN) antikoru, oligodentrositlerin boyanması için nöroglia-2 (NG2), astrositlerin boyanması için glial fibriler asidik protein (GFAP) antikorlarıyla, GABAerjik nöronlar için GABAR1 antikoruyla boyanırken, her bir antikora ek olarak CldU ile işaretlenmiş hücrelerin saptanması için ikincil boyamaları BrdU antikoruyla gerçekleştirilmiştir.

Tip I kollajen kaplı lameller kültür besiyeri uzaklaştırılarak soğuk PBS ile 3 kere yıkanıp, -20°C'de 10 dakika süresince metanol ile fiksasyon işlemi yapılmıştır. Hücreler PBS ile yıkandıktan sonra primer antikorların özgün olmayan yerlere bağlanmasını önlemek amacıyla %1,5 normal blok serum içeren PBS'de 30 dakika süreyle inkübe edilip, uygun dilüsyon oranlarında primer antikorlar eklenmiştir. Bu işlemden sonra 4°C'de 1 gece ve oda sıcaklığında 2 saat süreyle inkübe edilerek PBS ile 3 kez yıkandıktan sonra uygun floresan işaretli sekonder antikorlarla oda sıcaklığında 1 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında örneklerin kuruması beklenip 4',6-diamino-2-fenil indol (DAPI) ile kapatılmıştır. Aynı yöntem negatif kontroller için de uygulanmış fakat primer antikor yerine PBS kullanılmıştır. Boyanmış örnekler, floresan mikroskop altında incelenmiştir.

### **3.4. Gruplara Belirlenen Tedavilerin Verilmesi**

#### **3.4.1. Wistar ve WAG/Rij Kontrol Grupları**

Bu gruplardaki hayvanlara 3 ay süresince yem ile birlikte yalnızca içme suyu verilmiş ve başka hiçbir tedavi almamışlardır.

#### **3.4.2. Wistar ve WAG/Rij Etosüksimid Grupları**

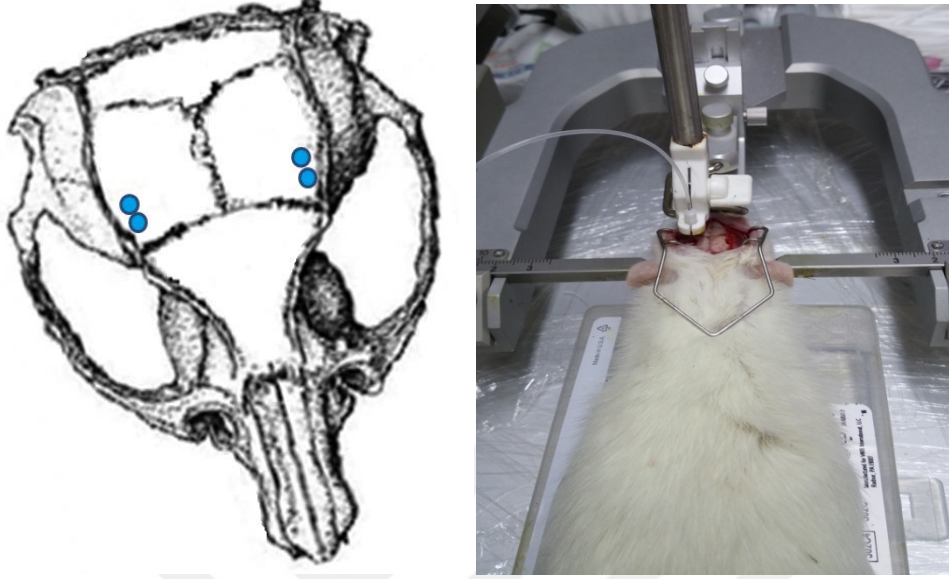
Bu gruplardaki hayvanlar 3 ay süresince kronik etosüksimid (Sigma) tedavisi almışlardır. Bir grup çalışmacı daha önce Wistar Albino ve WAG/Rij sıçanlara etosüksimidi 300 mg/kg/gün dozunda ve içme suyuna katarak vermiştir (Blumenfeld ve diğ. 2008). Bu araştırmacılar, etosüksimid dozunu sıçanlara farklı dozlar vererek yaptıkları pilot çalışmalarla belirlemişlerdir. Buna göre en iyi tolere edilen ve yan etki ortaya çıkarmayan dozu 300 mg/kg/gün olarak saptamışlardır. Sonrasında yapılan diğer çalışmalarda da aynı şekilde etosüksimid uygulanmıştır (Sarkisova ve diğ. 2010, van Luijtelaar ve diğ. 2013). Bu çalışmada da yukarıda sayılan çalışmalara paralel olarak önce

pilot çalışma yapılarak laboratuvarımızda sıçanların günlük ortalama su tüketim hacimleri belirlenmiştir (Wistar sıçanlarda 25 ml/gün, WAG/Rij sıçanlarda 20 ml/gün). Sıçanların ağırlıkları her hafta başında düzenli olarak tartılıp herbir gruba ait haftalık ortalama ağırlık belirlenmiştir. Sıçanlar her kafese 2'şerli olacak şekilde yerleştirilmişlerdir. Böylece günlük doz 300 mg/kg olacak şekilde ortalama ağırlık ve günlük su tüketim hacmi göz önünde bulundurularak verilecek etosüksimid miktarı hesaplanmıştır. Böylece Wistar ve WAG/Rij Etosüksimid gruplarına 3 ay süre boyunca kronik etosüksimid tedavisi (300 mg/kg/gün, içme suyuna katarak) uygulanmıştır. Hayvanların içme suyu şişeleri her gün değiştirilmiştir.

### **3.4.3. Wistar ve WAG/Rij NKH Grupları**

Hayvanlar ketamin / ksilazin (90 mg/kg / 12 mg/kg, ip) anestezisi altında stereotaksik çerçeveye yerleştirilerek, kulakları ve dişlerinden sabitleştirilmiştir. Kafa derisi insizyonundan sonra lambda ve bregma ortaya çıkarılmıştır. Hayvanların beyinlerinde NKH transferinin yapılacağı S1po bölgesinde Paxinos ve Watson'un sıçan beyin atlasına uygun olarak her iki hemisferde 2 farklı noktaya bilateral kanül (koordinatlar: AP -1,4 mm, L  $\pm$  4,7 mm, V -2 mm; AP -2.1 mm, L  $\pm$  4,7 mm, V -2 mm) yerleştirilmiştir ve her bir noktaya 1  $\mu$ l kültür besiyerinde yaklaşık 100000 işaretli hücre 0.5  $\mu$ l/ dk hızla Hamilton enjektörü yardımıyla transplante edilmiştir (Çizim 3.4). Herbir enjeksiyondan sonra kanül beyinden çıkarılmadan önce infüzyonun gerçekleşebilmesi için 6-8 dk beklenmiştir. Hücreler enjekte edilirken farklılaştırma besiyeri ile verilmiştir. Verilen hücreler nöron, oligodendroist, glia ya da GABAerjik nörona henüz farklılaşmamış NKH'lerdir.

AB



**Çizim 3.4.** NKH transferi için uygun koordinatların belirlenmesi (A) ve yerleştirilen kanül yardımıyla kök hücre transferinin gerçekleştirilmesi (B)

#### 3.4.4. Wistar ve WAG/Rij Sham Grupları

Cerrahi işlemin etkisini değerlendirmek için oluşturulan sham gruplarına 3.4.3.'te belirtilen NKH gruplarında uygulanan işlemlerin tümü aynı şekilde NKH içermeyen besiyeri verilerek uygulanmıştır.

#### 3.5. Postoperatif Bakım

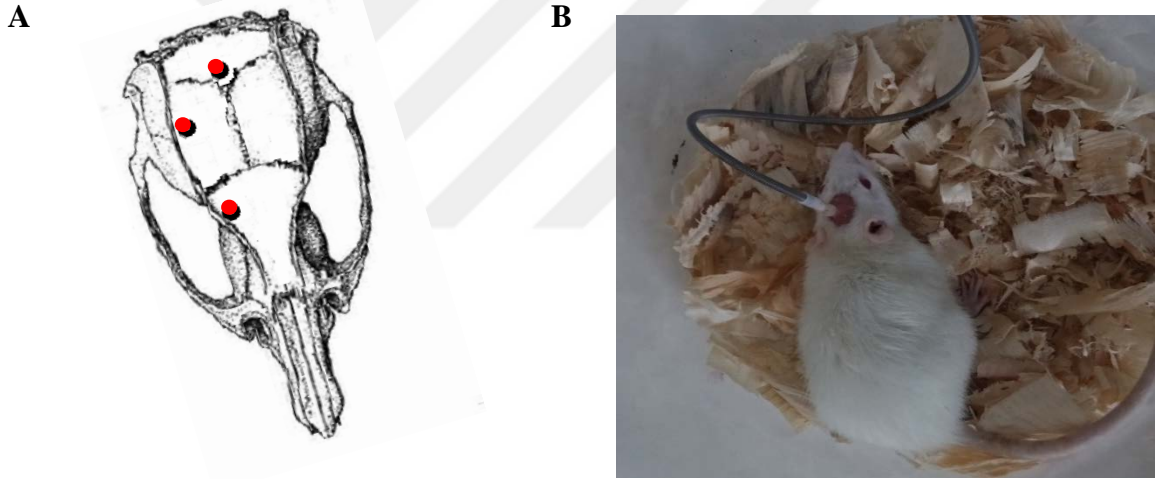
Deney hayvanlarına postoperatif dönemde analjezik tedavi verilmiştir. Analjezik amaçlı 0.05-0.1 mg/kg buprenorfin intraperitoneal yolla günde 3 kez uygulanmıştır. Deney hayvanlarına postoperatif dönemde 3 ay boyunca Kocaeli Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Birimi'nde (KOÜ DETAB) bakılmıştır.

#### 3.6. Tüm Gruplardaki Hayvanların EEG Aktivitesi Kayıtlarının Alınması

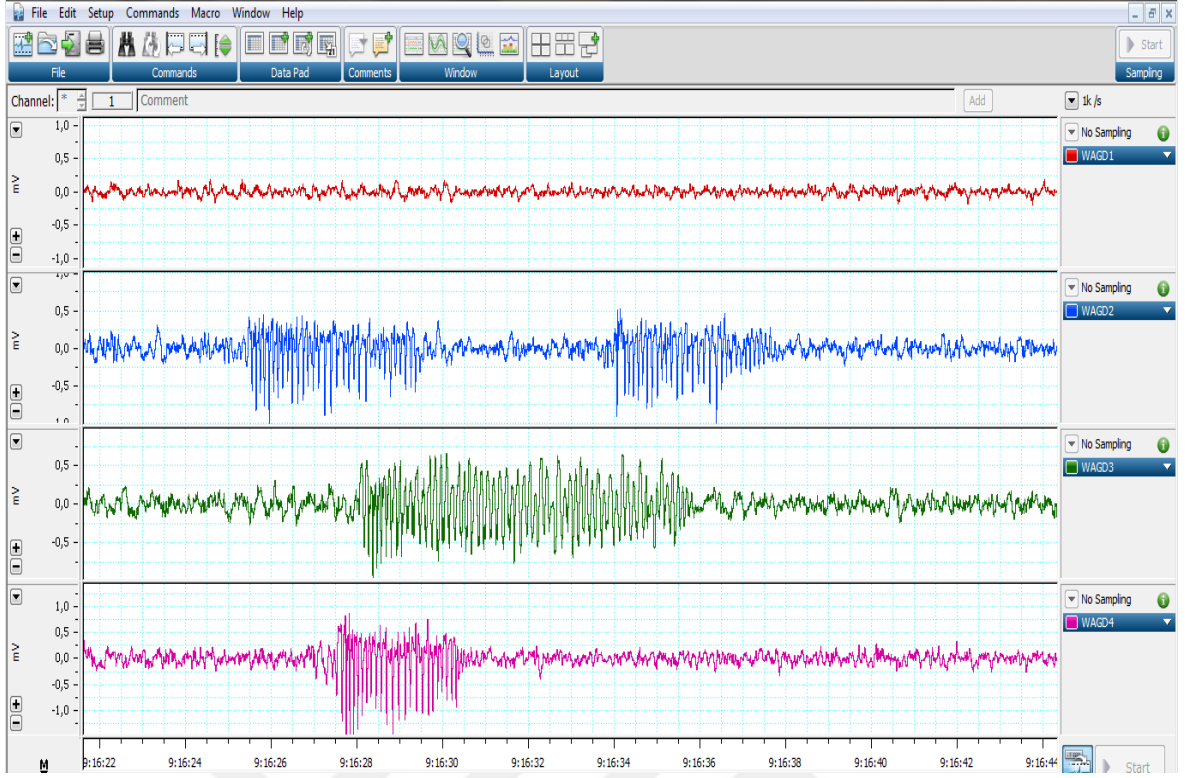
Hayvanların 3 aylık tedavi süresinden sonra tüm deney gruplarındaki 5 aylık hayvanlara ketamin (90 mg/kg-ip) ve ksilazin (12 mg/kg-ip) anestezisi altında, stereotaksi



yardımlarıyla koordinatları Paxinos ve Watson atlasına uygun olarak kayıt elektrotları yerleştirilmiştir (Çizim 3.5A). EEG kaydı için tripolar elektrot koordinatları, AP +2.0, L -3.5 (frontal bölge), AP -6.0, L -2.0 (pariyeto-oksipital bölge) ve referans elektrodu serebellum üzerinde olacak şekilde düzenlenmiştir. Elektrotlar yerleştirildikten sonra dental akrilik yardımıyla kafatasına sabitlenmiş ve sıçanlar 1 hafta süreyle iyileşme periyoduna bırakılmıştır. Stereotaksik cerrahiden sonraki 1 haftalık iyileşme döneminin ardından tüm gruplardaki sıçanlardan sessiz ve aydınlık ortamda saat 09:00-12:00 arasında 1'er saatlik süreyle bazal EEG kaydı alınmış (Çizim 3.5B) ve bu kayıtlar her gün aynı saatte ardışık 3 gün süreyle tekrarlanmıştır. İlk günün kayıtları alıştırma olarak kabul edilip 2. ve 3. gün kayıtlarının ortalama değerleri değerlendirilmeye alınmıştır. Bazal olarak kaydedilen kortikal EEG'de sıçanlarda gözlenen DDD'ların (Çizim 3.6) sayısı, süre ve ortalama süresi değerlendirilmiştir.



**Çizim 3.5.** EEG kaydı için tripolar elektrotların yerleştirilmesi (A) ve EEG kayıtlarının alınması (B)

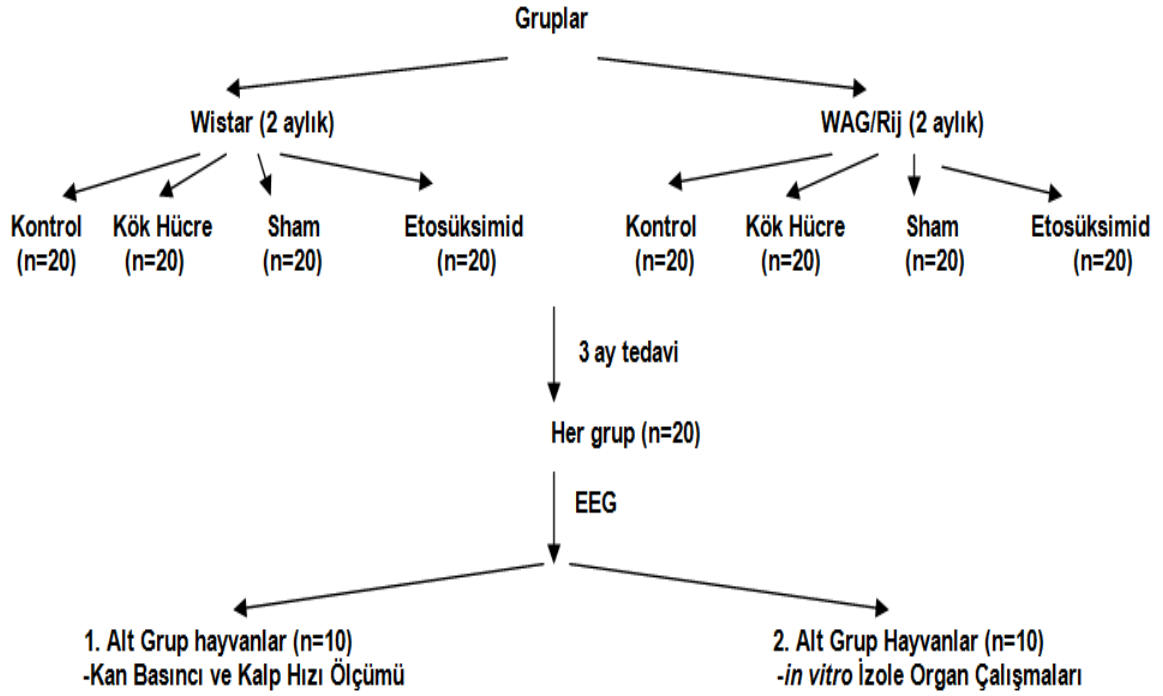


**Çizim 3.6.** WAG/Rij sıçanlardan elde edilen EEG kayıt örnekleri  
Son 3 kayıta bazal EEG aktivitesi ile birlikte DDD aktiviteleri izlenmektedir.

### 3.7. Her Grubun İki Alt Gruba Ayrılması

Her grup kendi içinde n=10 olacak şekilde 1. ve 2. grup olmak üzere iki alt gruba ayrılmıştır (Çizim 3.7). Birinci alt gruptaki hayvanların OAB ve KH'ı ölçülürken diğer alt grulardaki hayvanlarda *in vitro* izole organ çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

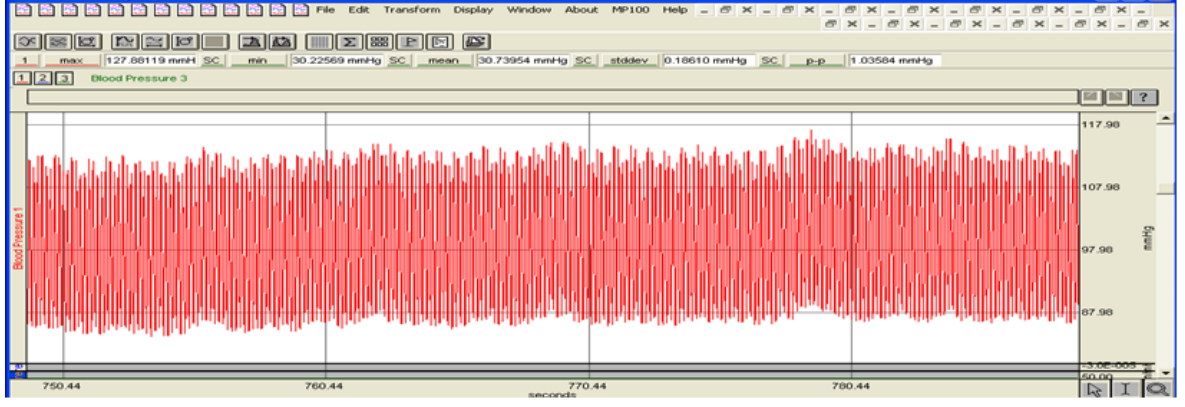




**Çizim 3.7.** Deney ve kontrol gruplarının iki alt gruba ayrılması

### 3.8. OAB ve KH Ölçümü

Hafif eter anestezisi altında, hayvanların femoral arterleri kataterize edilerek heparinli serum fizyolojik (0.5 U/L) ile doldurulmuş bir polietilen kateter (P10/P50, Plastic One) hayvanların iliak arterlerine kadar ilerletilmiştir. Kateter damara sabitlendikten sonra diğer ucu deri altından geçirilerek enseden çıkarılmıştır. Daha sonra hayvanlar dinlenmeleri için Plexiglas gözlem kafeslerine (25 X 25 X 30 cm) alınmıştır. 1 saatlik dinlenme döneminden sonra kateterin uzantısı kan basıncı kaydını gerçekleştirmek üzere basınç transduseri (FT03) aracılığıyla MP100 veri toplama sistemine (Biopac Systems, Inc, CA, USA) bağlanmıştır. 1 saatlik bazal kan basıncı kayıtları alınmıştır (Çizim 3.8). OAB, 1/3 nabız basıncı + diastolik basınç olarak hesaplanarak değerlendirilmiştir ve KH değerleri hesaplanmıştır.



**Çizim 3.8.** Hayvanlardan alınan kan basıncı kayıt örneği

### 3.9. *In vitro* İzole Organ Çalışmaları

#### 3.9.1. İzole Torasik Aorta Preparatlarının *in vitro* Deneylere Hazırlanışı

Eter anestezisi altında hayvanların torasik aorta dokuları çıkarılıp, Kreb's solüsyonuna (118 mM NaCl, 4.71 mM KCl, 1.05 mM MgCl<sub>2</sub>, 1.33 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 25 mM NaHCO<sub>3</sub>, 2.7 mM CaCl<sub>2</sub>, 5.6 mM Glukoz) yerleştirilmiştir. Etrafındaki dokular hızlıca uzaklaştırılıp temizlendikten sonra, izole torasik aorta dokuları, 4-5 mm'lik halkalar şeklinde kesilerek organ banyolarına asmak üzere hazırlanmıştır. Kreb's solüsyonu ile dolu 20 ml'lik organ banyolarına bir ucu organ askısına diğer ucu force transducera (FT03) bağlanarak yerleştirilmiştir. Dokular, 37 °C sıcaklık, 7.4 pH'ta muhafaza edilmiş ve %95 O<sub>2</sub> ve %5 CO<sub>2</sub>'lik gaz karışımı ile sürekli gazlandırılmıştır. Damar halkaları deneye başlamadan önce 1 g ön gerim altında, her 15 dakikada bir yıkanacak şekilde 1 saat dinlenme periyoduna bırakılmıştır. Dokulardaki gerim değişiklikleri 4 kanallı bilgisayarlı veri toplama sistemi (TDA-94 Commat İletişim, Polywin 95 ver 1,0) aracılığıyla izometrik olarak ölçülmüştür.

#### 3.9.2. Kasılma Yanıtları

##### 3.9.2.1. KCl Kasılma Yanıtları

Dinlenme periyodundan sonra, Wistar ve WAG/Rij kontrol ve deney gruplarından elde edilen damar dokularından ilk olarak KCl (80 mM) kasılma yanıtları elde edilmiştir. KCl uygulanması hem deney sırasında spontan kasılmaları önlemek hem de kasılma yanıtlarının değerlendirilmesinde kullanılmak amacıyla yapılmıştır. Daha sonra dokuların

yıkınması ile KCl dokulardan uzaklaştırılmıştır. Elde edilen kasılma yanıtları mg olarak değerlendirilmiştir.

### **3.9.3.2. Fenilefrin Kasılma Yanıtları**

Wistar ve WAG/Rij deney ve kontrol gruplarından elde edilen dokularda kümülatif fenilefrin ( $10^{-8}$ - $10^{-4}$  M) kasılma yanıtları elde edilmiştir. Kasılma yanıtlarının %80-85'ini oluşturan submaksimal fenilefrin konsantrasyonu saptanmıştır. Daha sonra dokular bu konsantrasyonda ( $10^{-6}$ - $3.10^{-6}$  M) kasılmıştır.

### **3.9.3. Gevşeme Yanıtları**

#### **3.9.3.1. Karbakol Aracılı Gevşeme Yanıtları**

Submaksimal fenilefrin ( $10^{-6}$ - $3.10^{-6}$  M) konsantrasyonu ile kasılan dokulardan endotele bağımlı karbakol aracılı kümülatif ( $10^{-8}$ - $10^{-5}$  M) gevşeme yanıtları elde edilmiştir.

#### **3.9.3.2. Sodyum Nitroprussiyat (SNP) Aracılı Gevşeme Yanıtları**

Dokular yıkandıktan sonra 30 dk dinlenme periyodu verilmiştir. Daha sonra yine submaksimal fenilefrin konsantrasyonu ile kasılan dokulardan endotelden bağımsız SNP aracılı kümülatif ( $10^{-9}$ - $10^{-4}$  M) gevşeme yanıtları elde edilmiştir. Gevşeme yanıtları, submaksimal konsantrasyondaki fenilefrinle oluşturulan kasılmanın yüzdesi olarak değerlendirilmiştir.

#### **3.9.3.3. Papaverin Gevşeme Yanıtları**

Karbakol aracılı gevşeme yanıtlarının ardından dokularda  $10^{-4}$  M papaverin gevşeme yanıtları alınmıştır.

### **3.9.4. Deneylede Kullanılan Solüsyon ve İlaçlar**

Deneylede besleyici solüsyon olarak Krebs solüsyonu, ilaç olarak fenilefrin hidroklorür (Sigma), karbakol (karbamilkolin) hidroklorür (Sigma) sodyum nitroprussiyat (Sigma), papaverin hidroklorür (Sigma) kullanılmıştır. Tüm ilaçlar distile su içinde çözülüp, distile su ile seyreltilerek istenen konsantrasyonda günlük olarak hazırlanmıştır.

### **3.10. Deney Sonuçlarının Değerlendirilmesi**

#### **3.10.1. EEG Kayıtlarının Analizi**

Bazal olarak kaydedilen kortikal EEG’de sıçanlarda gözlenen DDD’ların sayısı, toplam süre ve ortalama sürelerinin değerlendirilmesinde gruplar arasındaki karşılaştırmalar tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile yapılmıştır. Gruplar arası anlamlılıklar post hoc Tukey testi ile değerlendirilmiştir. Veriler ortalama  $\pm$  standart hata (SH) olarak sunulmuştur. Gruplar arasındaki istatistiksel anlamlılık ölçütü  $p < 0.05$  olarak kabul edilmiştir.

#### **3.10.2. OAB ve KH Verilerinin Analizi**

Alınan bazal kan basıncı kayıtlarından OAB ve KH hesaplanmış ve bu veriler ortalama  $\pm$  SH olarak ifade edilmiştir. Verilerin istatistiksel analizi tek yönlü varyans analizi (ANOVA) post hoc Tukey testi ile değerlendirilmiştir.  $p < 0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

#### **3.10.3. *in vitro* İzole Organ Çalışmalarından Elde Edilen Verilerin Analizi**

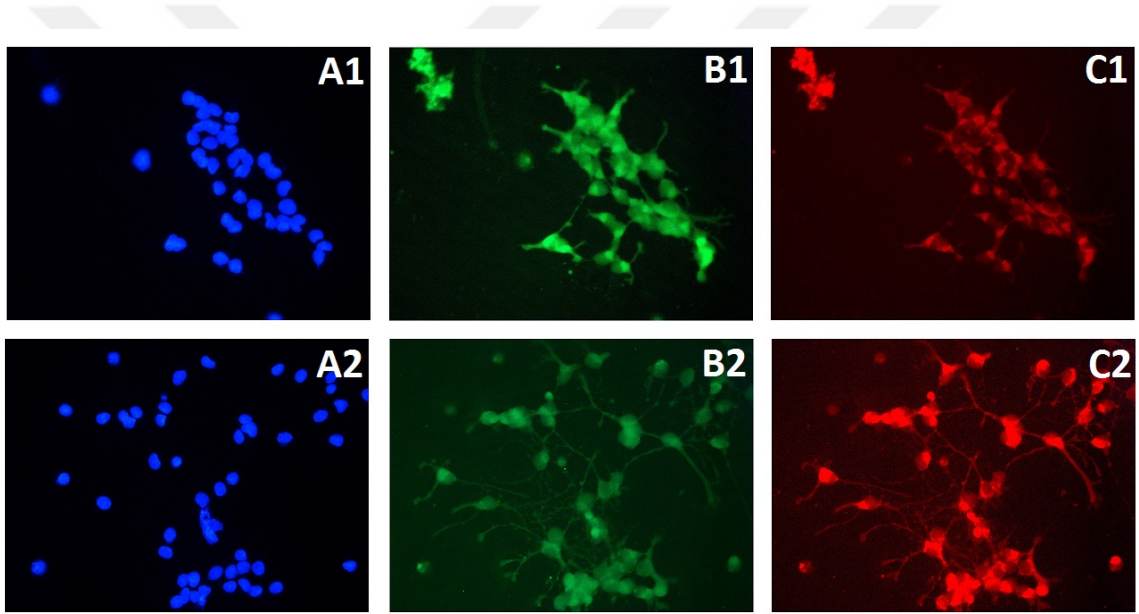
Agonistlerin etkilerini değerlendirmek için konsantrasyon yanıt eğrilerinden  $pD_2$  (oluşan maksimum yanıtın %50’sini oluşturan maksimum konsantrasyonun  $-\log$ aritma değeri) ve  $E_{maks}$  (maksimum yanıtı oluşturan konsantrasyon) değerleri hesaplanmıştır. Sonuçlar ortalama  $\pm$  SH olarak değerlendirilmiştir. İstatistiksel karşılaştırma tek yönlü varyans analizi (ANOVA) post hoc Tukey testi ile değerlendirilmiştir.  $p < 0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

## 4. BULGULAR

### 4.1. NKH'lerin Farklılaştırılması

#### 4.1.1. Astrositlere Farklılaşma

NKH'lerin astrositlere farklılaştığının gösterilmesi için GFAP ve BrdU antikoruna ile yapılan ikili immünofloresan boyama sonucu, antikorların pozitif olduğu gözlenmiştir. (Çizim 4.1). GFAP pozitifliği, NKH'lerin astrosit yönünde farklılaşmasının gerçekleştiğini göstermiştir. Böylece MGE kaynaklı NKH'lerin astrositlere farklılaşabildiği saptanmıştır. BrdU pozitifliği CldU ile işaretlenmiş hücreleri belirtmektedir.

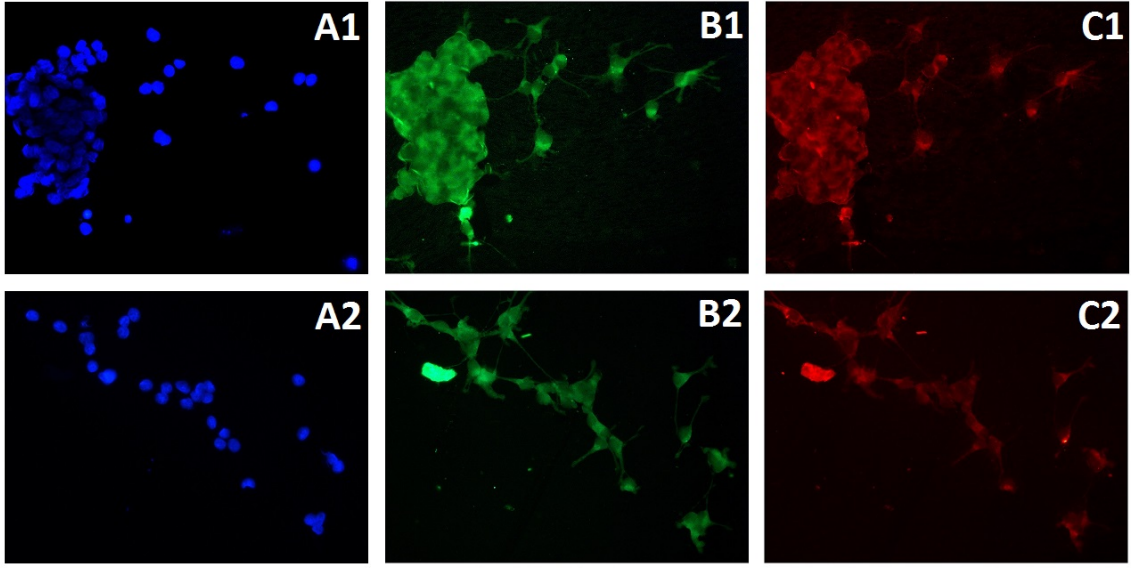


**Çizim 4.1.** GFAP ve BrdU antikorlarıyla farklılaşma sonrası NKH'lerin ikili immunofloresan boyamaları

A1-A2; DAPI mavi (çekirdek boyası), B1-B2; BrdU yeşil, C1-C2; GFAP antikoruna kırmızı, Büyütme 40x

#### 4.1.2. Nöronlara Farklılaşma

NKH'lerin astrositlere farklılaştığının gösterilmesi için NeuN ve BrdU antikoru ile yapılan ikili immünfloresan boyama sonucu, antikorların pozitif olduğu gözlenmiştir. (Çizim 4.2). NeuN pozitifliği, NKH'lerin nöron yönünde farklılaşmasının gerçekleştiğini göstermiştir. Böylece MGE kaynaklı NKH'lerin nöronlara farklılaşabildiği saptanmıştır. BrdU pozitifliği CldU ile işaretlenmiş hücreleri belirtmektedir.

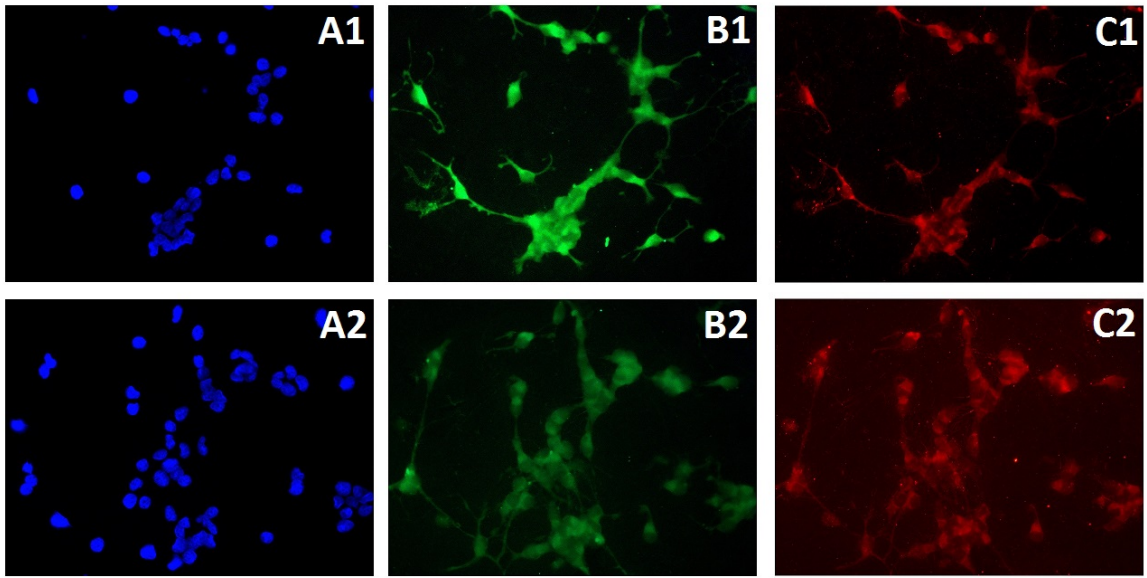


**Çizim 4.2.** NeuN ve BrdU antikorlarıyla farklılaşma sonrası NKH'lerin ikili immunofloresan boyamaları

A1,A2; DAPI mavi (çekirdek boyası), B1-B2; BrdU yeşil, C1-C2; NeuN antikoru kırmızı, Büyütme 40x

### 4.1.3. Oligodendrositlere Farklılaşma

NKH'lerin oligodendrositlere farklılaştığının gösterilmesi için NG2 ve BrdU antikoru ile yapılan ikili immünfloresan boyama sonucu antikorların pozitif olduğu gözlenmiştir (Çizim 4.3). NG2 pozitifliği, NKH'lerin oligodendrosit yönünde farklılaşmasının gerçekleştiğini göstermiştir. Böylece MGE kaynaklı NKH'lerin oligodendrositlere farklılaşabildiği saptanmıştır. BrdU pozitifliği CldU ile işaretlenmiş hücreleri belirtmektedir.



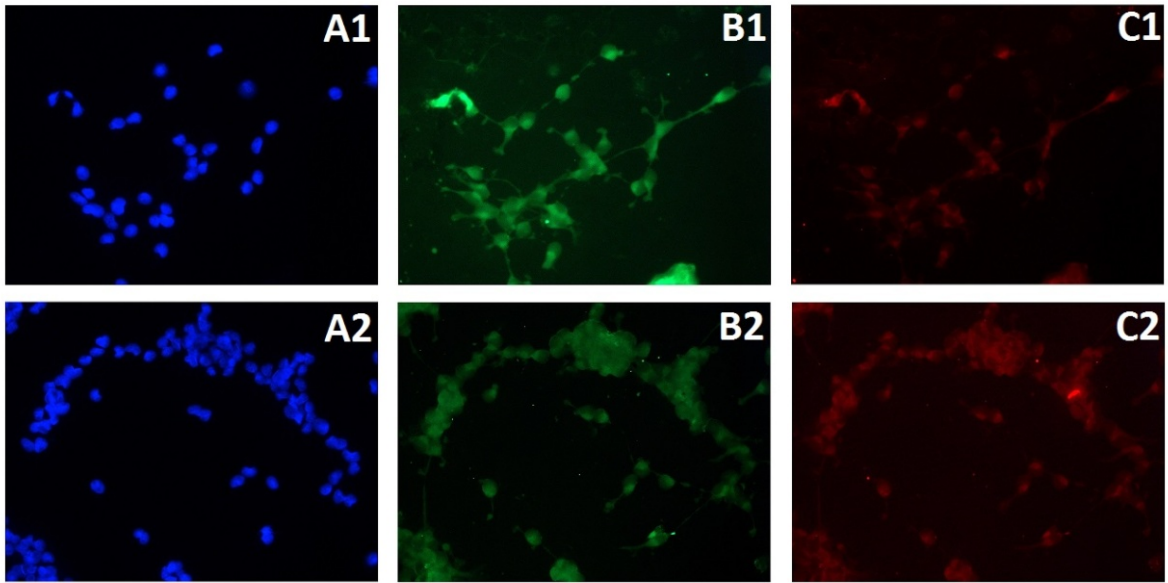
**Çizim 4.3.** NG2 ve BrdU antikorlarıyla farklılaşma sonrası NKH'lerin ikili immunofloresan boyamaları

A1,A2; DAPI mavi (çekirdek boyası), B1-B2; BrdU yeşil, C1-C2; NG2 antikoru kırmızı, Büyütme 40x



#### 4.1.4. GABAerjik Nöronlara Farklılaşma

NKH'lerin GABAerjik nöronlara farklılaştığının gösterilmesi için GABAR1 ve BrdU antikorları ile yapılan ikili immunofloresan boyama sonucu, antikorların pozitif olduğu gözlenmiştir (Çizim 4.4). GABAR1 pozitifliği, NKH'lerin GABAerjik nöron yönünde farklılaşmasının gerçekleştiğini göstermiştir. Böylece MGE kaynaklı NKH'lerin GABAerjik nöronlara farklılaşabildiği saptanmıştır. BrdU pozitifliği CldU ile işaretlenmiş hücreleri belirtmektedir.



**Çizim 4.4.** GABAR1 ve BrdU antikorlarıyla farklılaşma sonrası NKH'lerin ikili immunofloresan boyamaları

A1,A2; DAPI mavi (çekirdek boyası), B1-B2; BrdU yeşil, C1-C2; GABAR1 antikorlu kırmızı, Büyütme 40x

#### 4.2. EEG'de Gözlenen DDD Aktivitesi Değişiklikleri

Tüm gruplardan ardışık 3 gün, 1'er saat süreyle alınan EEG kayıtlarından elde edilen DDD aktivitesi analizinde ilk gün alıştırma olarak kabul edilmiş ve 2. ve 3. gün aktivitesi analiz edilmiştir. Herbir gruptaki 20 hayvana elektrot takılmış fakat bazı hayvanların kayıt elektrotlarının erken düşmesi nedeniyle n sayısı 16-19 olarak değerlendirmeye alınmıştır.

##### 4.2.1. Wistar Sıçan Grupları



Wistar kontrol, Wistar etosüksimid, Wistar NKH ve Wistar sham gruplarının EEG kayıtlarında herhangi bir DDD aktivitesi gözlenmemiştir.

#### 4.2.2. WAG/Rij Sıçan Grupları

WAG/Rij kontrol, WAG/Rij etosüksimid, WAG/Rij NKH ve WAG/Rij sham gruplarının EEG kayıtlarında tespit edilen EEG kayıtlarında tespit edilen DDD aktivitesinin toplam süre, ortalama süre ve sayıları değerlendirildiğinde gruplardan elde edilen sonuçlar ortalama  $\pm$  SH şeklinde sunulmuştur (Çizelge 4.1).

**Çizelge 4.1.** WAG/Rij sıçan gruplarında toplam DDD süreleri, ortalama DDD süreleri ve DDD sayıları

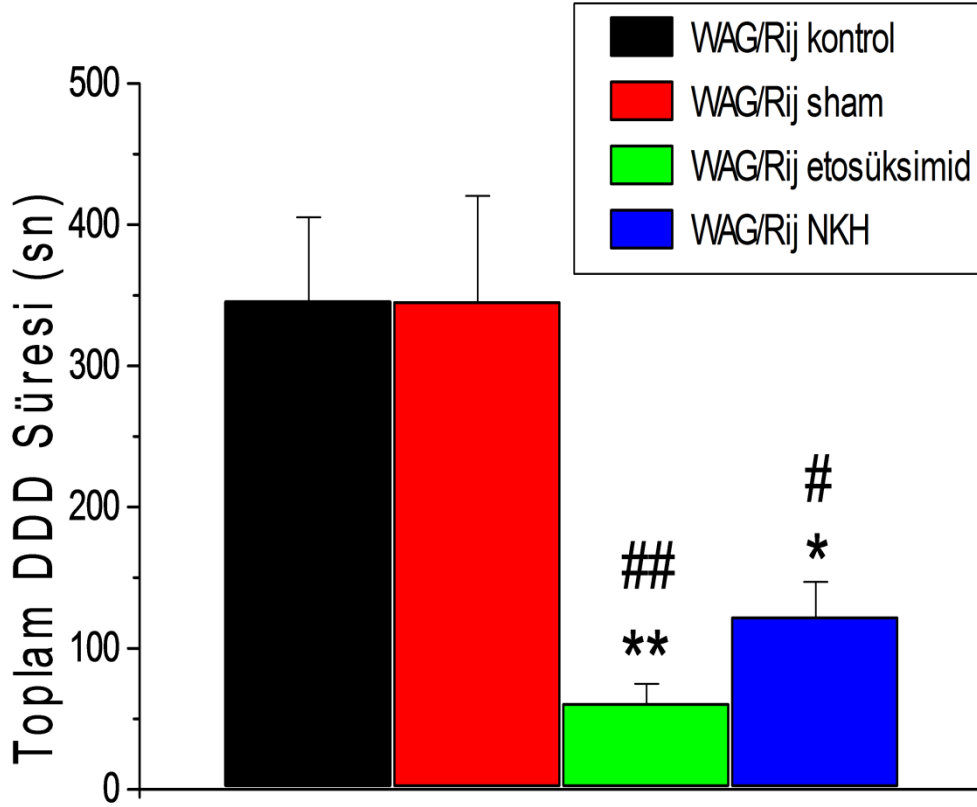
Grup Parametre	WAG/Rij kontrol	WAG/Rij sham	WAG/Rij etosüksimid	WAG/Rij NKH
Toplam DDD süresi (sn) / saat	346,40 $\pm$ 58,87	345,90 $\pm$ 74,52	61,28 $\pm$ 13,60**	122,60 $\pm$ 24,33*
Ortalama DDD süresi (sn) / saat	6,17 $\pm$ 0,35	5,46 $\pm$ 0,35	3,12 $\pm$ 0,41****	4,41 $\pm$ 0,50*
DDD sayısı / saat	54,29 $\pm$ 8,58	57,82 $\pm$ 8,81	12,47 $\pm$ 2,54***	24,59 $\pm$ 5,13*

\*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001, \*\*\*\*p<0.0001 WAG/Rij kontrol grubuna göre, n=16-19. Veriler ortalama  $\pm$  SH olarak ifade edilmiştir.

##### 4.2.2.1. WAG/Rij Sıçanlara Farklı Tedavi Uygulamalarının (Etosüksimid, NKH, Sham) Toplam DDD Süresi Üzerindeki Etkileri

WAG/Rij sıçanlarda toplam DDD süreleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (F(3,65)=8.222, p=0,0001). Buna göre WAG/Rij sıçanlarda toplam DDD süreleri açısından WAG/Rij etosüksimid tedavi grubunda hem kontrol hem de sham grubuna göre anlamlı olarak azalma tespit edilmiştir (p<0.01). Toplam DDD süresi NKH

tedavi grubunda da hem kontrol ve hem de sham grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır ( $p<0.05$ ). Kontrol ve sham grupları arasında ve ayrıca etosüksimid ve NKH tedavi grupları arasında ise anlamlı fark bulunmamıştır (Çizim 4.5).

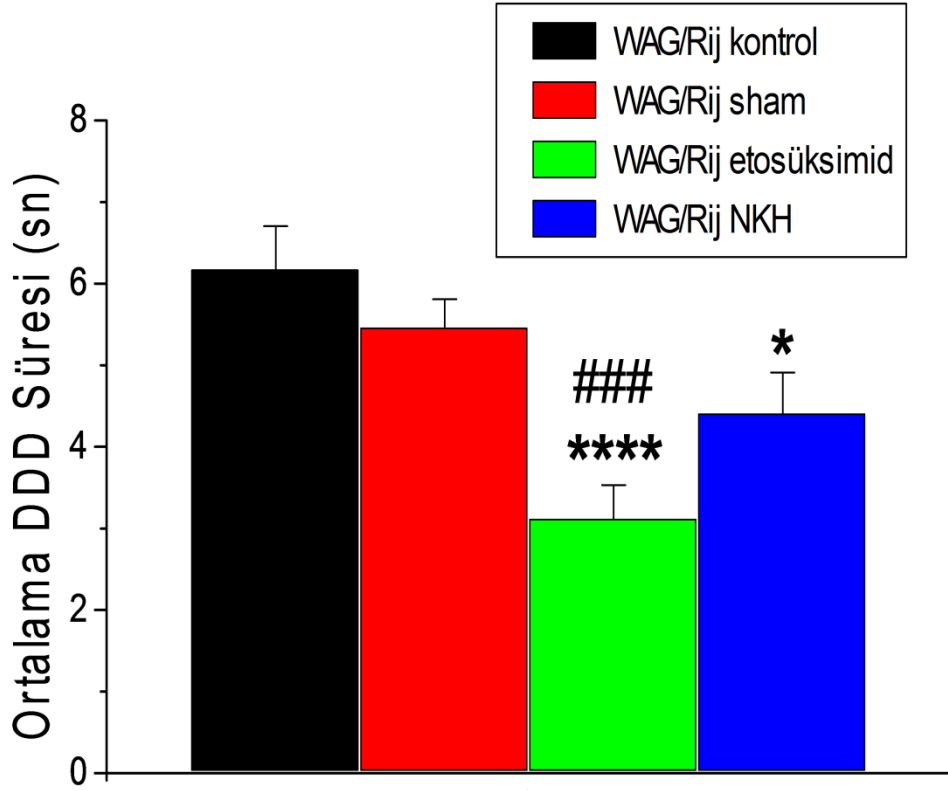


**Çizim 4.5.** WAG/Rij sıçan gruplarında DDD aktivitesinin toplam süre açısından değerlendirilmesi

\* $p<0.05$  ve \*\* $p<0.01$  kontrol grubuna göre, # $p<0.05$  ve ## $p<0.01$  sham grubuna göre,  $n=16-19$ . Elde edilen değerler ortalama  $\pm$  SH olarak ifade edilmiştir.

#### 4.2.2.2. WAG/Rij Sıçanlara Farklı Tedavi Uygulamalarının (Etosüksimid, NKH, Sham) Ortalama DDD Süresi Üzerindeki Etkileri

WAG/Rij sıçanlarda ortalama DDD süreleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ( $F(3,65)=10.76$ ,  $p<0,0001$ ). DDD'ları ortalama süre açısından değerlendirildiğinde etosüksimid tedavi grubu kontrol grubuna ( $p<0.0001$ ) ve sham grubuna ( $p<0.001$ ) göre anlamlı olarak azalmıştır. NKH tedavi grubu ise kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır ( $p<0.05$ ). Kontrol ve sham grupları arasında ve ayrıca etosüksimid ve NKH tedavi grupları arasında anlamlı fark bulunmamıştır (Çizim 4.6).

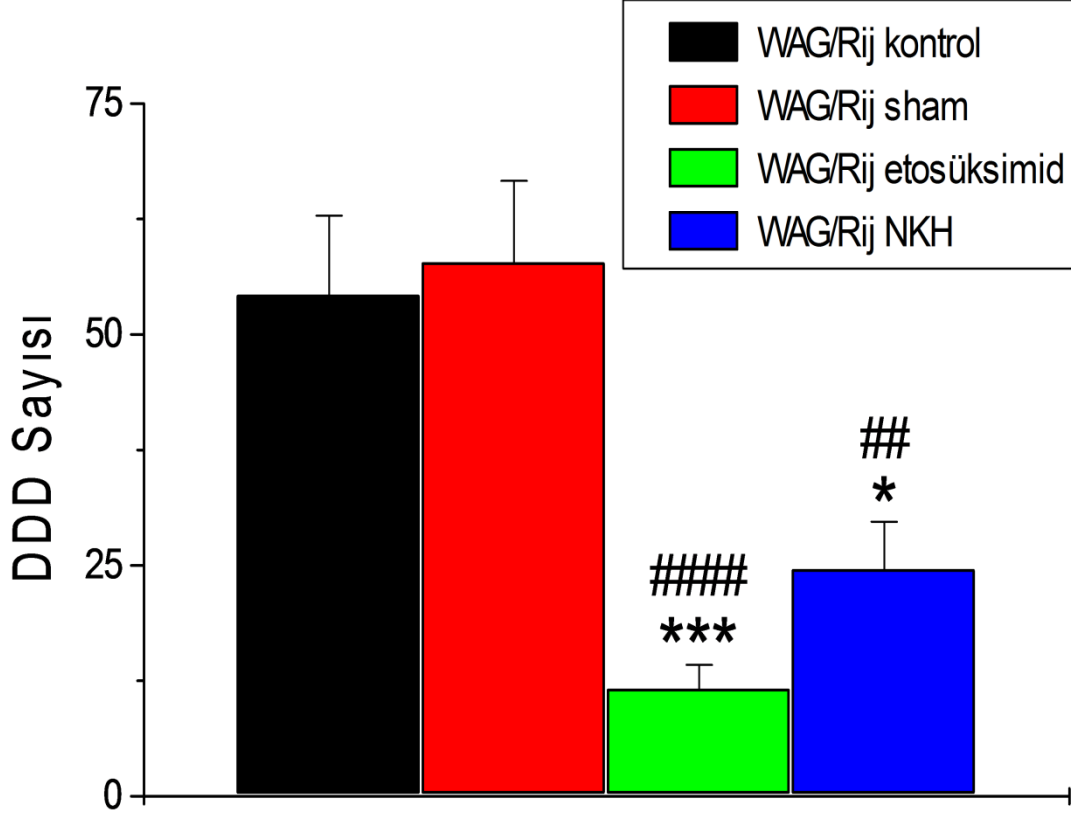


**Çizim 4.6.** WAG/Rij sıçan gruplarında DDD aktivitesinin ortalama süre açısından değerlendirilmesi

\* $p < 0.05$  ve \*\*\*\* $p < 0.0001$  kontrol grubuna göre, #### $p < 0.001$  sham grubuna göre,  $n = 16-19$ . Elde edilen değerler ortalama  $\pm$  SH olarak ifade edilmiştir.

#### 4.2.2.3. WAG/Rij Sıçanlara Farklı Tedavi Uygulamalarının (Etosüksimid, NKH, Sham) DDD Sayısı Üzerindeki Etkileri

WAG/Rij sıçanlarda DDD sayısı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ( $F(3,65) = 10.28$ ,  $p < 0.0001$ ). DDD aktivitesinin sayısı değerlendirildiğinde etosüksimid tedavi grubu kontrol grubuna ( $p < 0.001$ ) ve sham grubuna ( $p < 0.0001$ ) göre anlamlı olarak azalmıştır. NKH tedavi grubu ise kontrol ( $p < 0.05$ ) ve sham ( $p < 0.01$ ) gruplarına göre anlamlı olarak azalmıştır. Kontrol ve sham grupları arasında ve ayrıca etosüksimid ve NKH tedavi grupları arasında anlamlı fark bulunmamıştır (Çizim 4.7).



**Çizim 4.7.** WAG/Rij sıçan gruplarında DDD aktivitesinin sayı açısından değerlendirilmesi

\* $p < 0.05$  ve \*\*\* $p < 0.001$  kontrol grubuna göre, ## $p < 0.01$  ve #### $p < 0.0001$  sham grubuna göre,  $n=16-19$ . Elde edilen değerler ortalama  $\pm$  SH olarak ifade edilmiştir.

### 4.3. OAB ve KH'nda Gözlenen Değişiklikler

Tüm Wistar ve WAG/Rij gruplarından elde edilen OAB ve KH değerleri ortalama  $\pm$  SH şeklinde sunulmuştur (Çizelge 4.2).

**Çizelge 4.2.** Wistar ve WAG/Rij Sıçanların OAB ve KH Değerleri

GRUP	OAB (mmHg)	KH (atım/dk)
Wistar kontrol grubu (n=10)	99,10 $\pm$ 0,89	352,80 $\pm$ 8,09
Wistar etosüksimid grubu (n=10)	95,20 $\pm$ 1,46	313,80 $\pm$ 9,25**

<b>Wistar NKH grubu (n=8)</b>	99,38 ± 1,17	359,00 ± 6,85
<b>Wistar sham grubu (n=8)</b>	97,75 ± 1,53	356,25 ± 6,79
<b>WAG/Rij kontrol grubu (n=9)</b>	112,22 ± 1,90***	368,00 ± 6,86
<b>WAG/Rij etosüksimid grubu (n=8)</b>	105,75 ± 2,10	373,25 ± 6,76
<b>WAG/Rij NKH grubu (n=8)</b>	108,25 ± 1,68**	376,25 ± 2,99
<b>WAG/Rij sham grubu (n=8)</b>	108,00 ± 1,36**	383,25 ± 4,74

\*\*p<0.01 ve \*\*\*p<0.001 Wistar kontrol grubuna göre. Değerler ortalama ± SH olarak ifade edilmiştir.

#### **4.3.1. OAB Değişiklikleri**

##### **4.3.1.1. WAG/Rij ve Wistar Kontrol Sıçanların OAB Yönünden Değerlendirilmesi**

WAG/Rij kontrol grubundan elde edilen OAB değerlerinde Wistar kontrol grubuna göre anlamlı bir artış (p<0.001) saptanmıştır (Çizim 4.8).

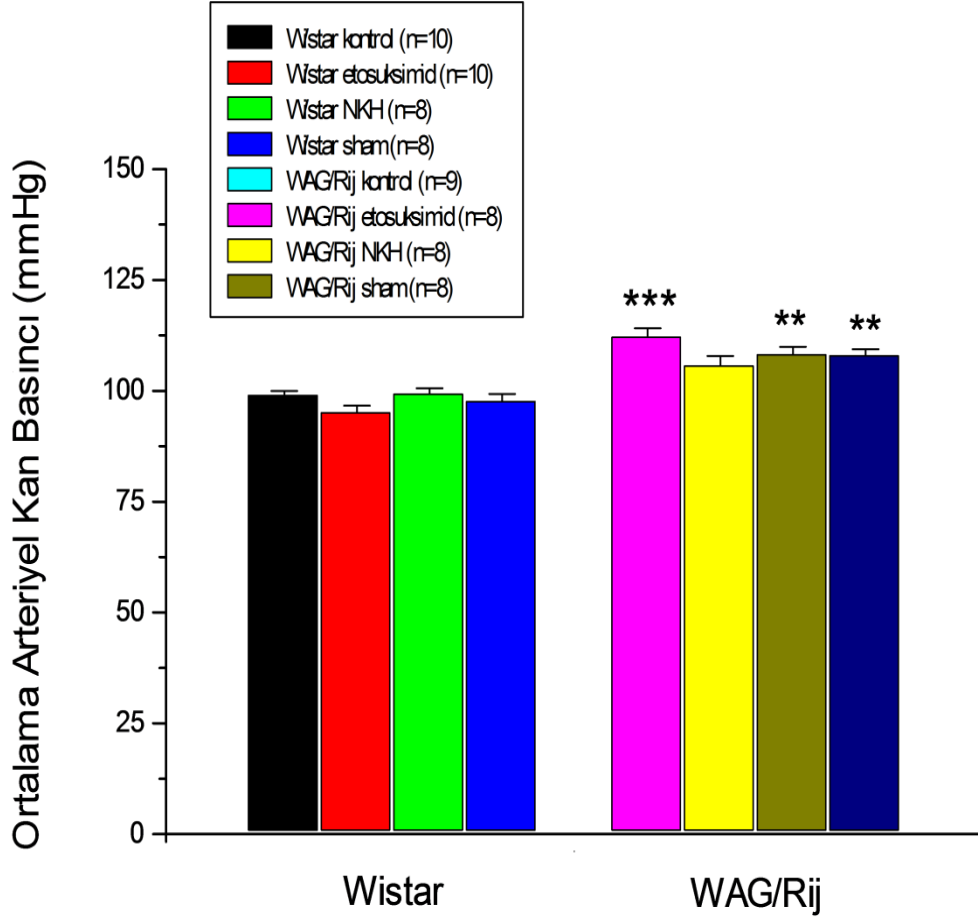
##### **4.3.1.2. Wistar Sıçanlara Farklı Tedavi Uygulamalarının (Etosüksimid, NKH, Sham) OAB Üzerindeki Etkileri**

Etosüksimid tedavisi, NKH tedavisi ve sham uygulanan Wistar sıçanların OAB değerlerinde Wistar kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı bir fark saptanmamıştır (Çizim 4.8).

##### **4.3.1.3. WAG/Rij Sıçanlara Farklı Tedavi Uygulamalarının (Etosüksimid, NKH, Sham) OAB Üzerindeki Etkileri**

NKH tedavisi ve sham uygulanan WAG/Rij sıçanların OAB değerlerinin Wistar kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı saptanmıştır (p<0.01). Bununla birlikte WAG/Rij etosüksimid, WAG/Rij NKH ve WAG/Rij sham grupları WAG/Rij kontrol

grubu ile karşılaştırıldığında OAB değerlerinde anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir (Çizim 4.8).



**Çizim 4.8.** Wistar ve WAG/Rij gruplarına uygulanan tedavilerin OAB üzerindeki etkileri

\*\*  $p < 0.01$  ve \*\*\*  $p < 0.001$  Wistar kontrol grubuna göre. Elde edilen değerler ortalama  $\pm$  SH olarak ifade edilmiştir.

#### 4.3.2. KH Değişiklikleri

##### 4.3.2.1. WAG/Rij ve Wistar Kontrol Sıçanların KH Yönünden Değerlendirilmesi

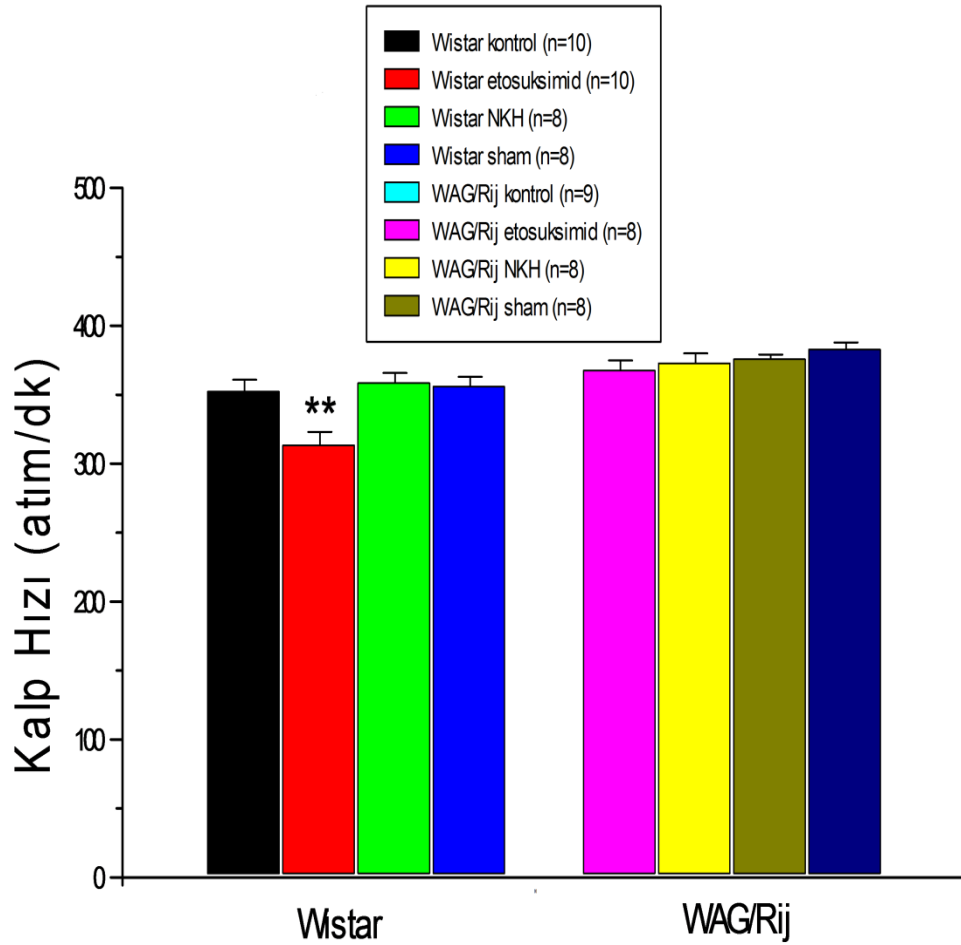
WAG/Rij kontrol grubundan elde edilen KH değerlerinde Wistar kontrol grubuna göre anlamlı bir değişiklik saptanmamıştır (Çizim 4.9).

#### **4.3.2.2. Wistar Sıçanlara Farklı Tedavi Uygulamalarının (Etosüksimid, NKH, Sham) KH Üzerindeki Etkileri**

Etosüksimid tedavisi uygulanan Wistar sıçanlarda KH değerleri Wistar kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır ( $p<0.01$ ). Diğer yandan NKH tedavisi ve sham uygulanan Wistar sıçanların KH değerleri ise Wistar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir fark saptanmamıştır (Çizim 4.9).

#### **4.3.2.3. WAG/Rij Sıçanlara Farklı Tedavi Uygulamalarının (Etosüksimid, NKH, Sham) KH Üzerindeki Etkileri**

Etosüksimid tedavisi, NKH tedavisi ve sham uygulanan WAG/Rij sıçanların KH değerleri Wistar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir değişiklik bulunmamıştır. Bununla birlikte WAG/Rij etosüksimid, WAG/Rij NKH ve WAG/Rij sham grupları WAG/Rij kontrol grubu ile karşılaştırıldığında KH değerlerinde anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir (Çizim 4.9).



**Çizim 4.9.** Wistar ve WAG/Rij gruplarına uygulanan tedavilerin KH üzerine etkileri

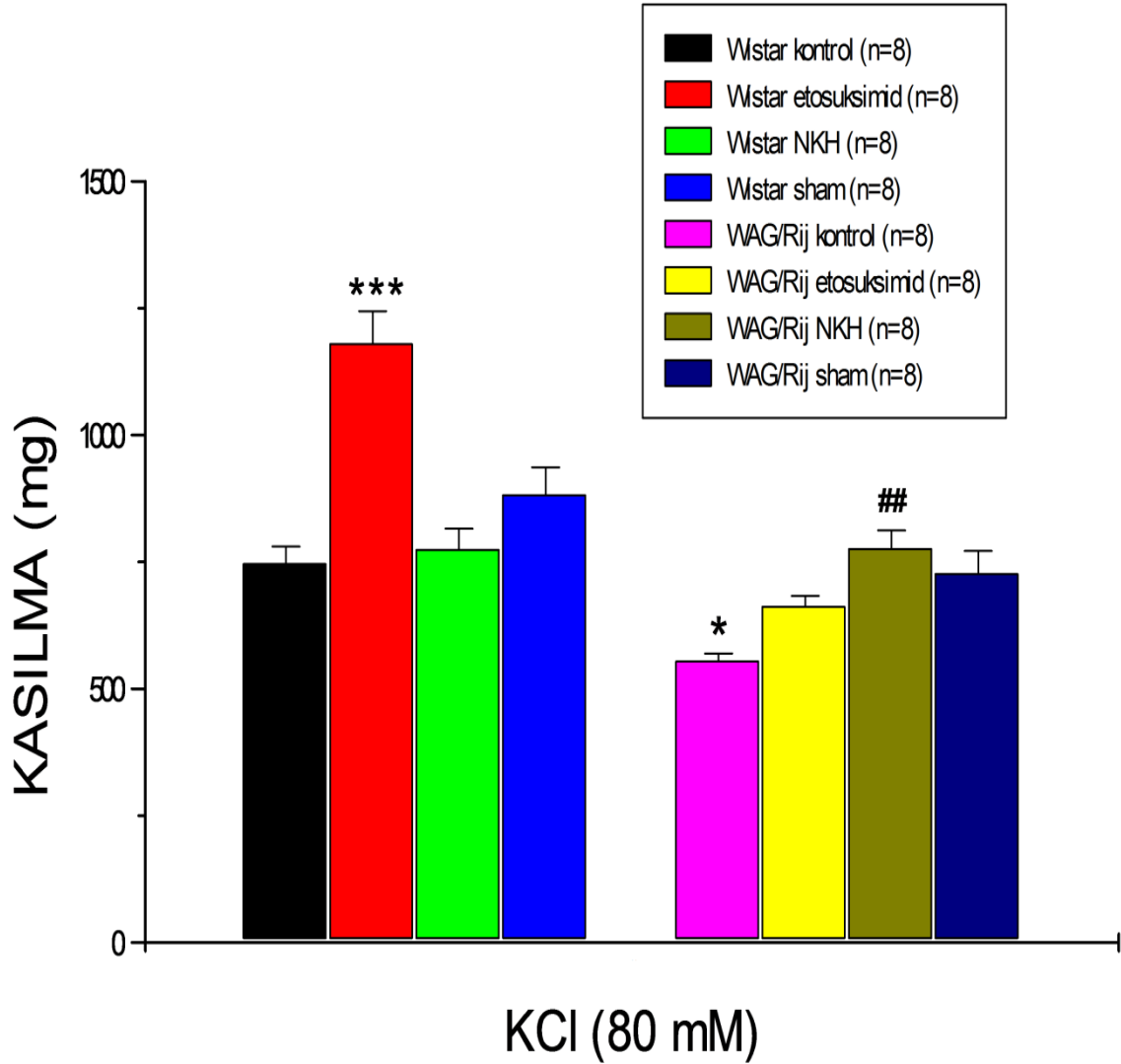
\*\*  $p < 0.01$ , Wistar kontrol grubuna göre. Elde edilen değerler ortalama  $\pm$  SH olarak ifade edilmiştir.

#### 4.4. *in vitro* İzole Organ Çalışmalarında Doku Yanıtlarındaki Değişiklikler

##### 4.4.1. KCl Kasılma Yanıtları

İzole torasik aorta dokularından 80 mM KCl ile elde edilen kasılma yanıtlarında gruplar arasında anlamlı değişiklik saptanmıştır ( $p < 0.0001$ ). Buna göre Wistar etosüksimid grubunda kasılma yanıtı Wistar kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmıştır ( $p < 0.001$ ). WAG/Rij kontrol grubunda ise kasılma Wistar kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır ( $p < 0.05$ ). WAG/Rij gruplarında ise WAG/Rij NKH grubundaki kasılmanın WAG/Rij kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı ( $p < 0.01$ ) saptanmıştır (Çizim 4.10).





**Çizim 4.10.** İzole torasik aorta dokularının 80 mM KCl ile elde edilen kasılma yanıtları

\*  $p < 0.05$  ve \*\*\*  $p < 0.001$ , Wistar kontrol grubuna göre; ##  $p < 0.01$ , WAG/Rij kontrol grubuna göre. Elde edilen değerler ortalama  $\pm$  SH olarak ifade edilmiştir.

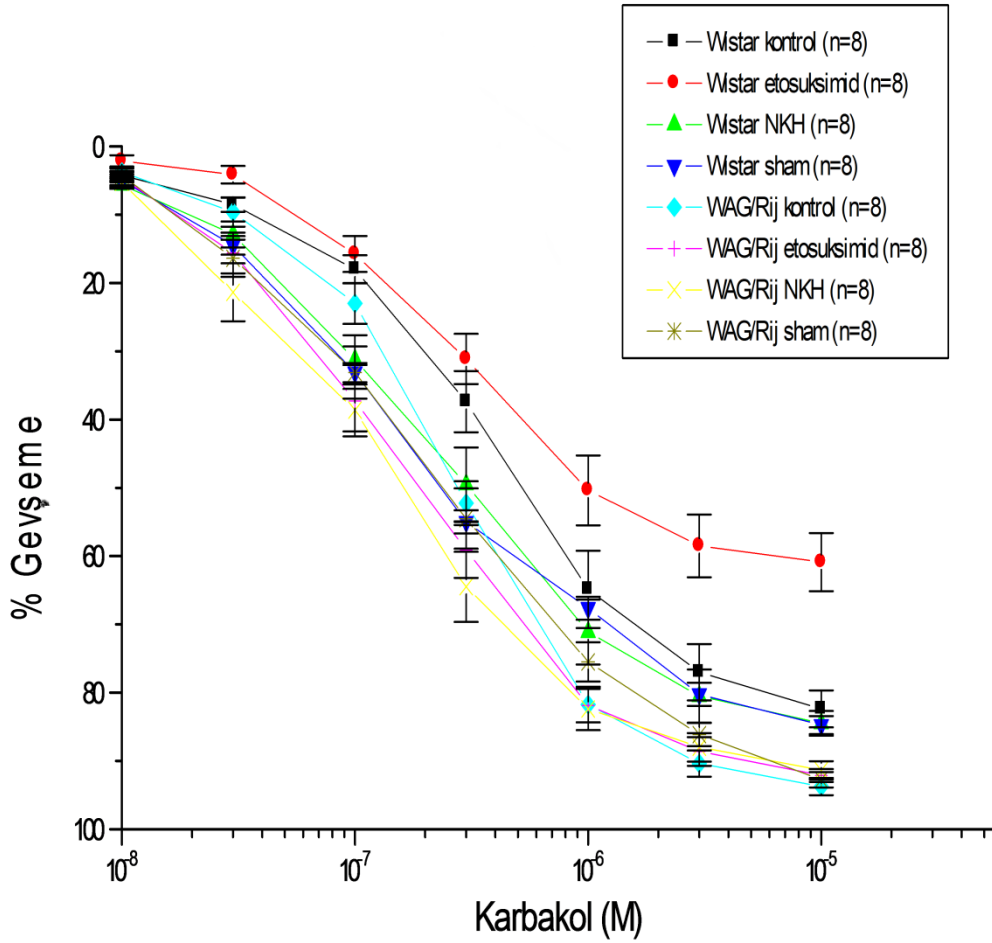
#### 4.4.2. Fenilefrin Kasılma Yanıtları

Tüm gruptaki izole torasik aorta dokuları artan fenilefrin konsantrasyonlarında kasılarak ( $10^{-8}$ - $10^{-4}$ ) kümülatif konsantrasyon-yanıt eğrisi elde edilmiş ve her grup için bir submaksimal fenilefrin konsantrasyonu belirlenmiştir. Sonrasında dokular bu submaksimal fenilefrin konsantrasyonu ( $10^{-6}$ - $3 \cdot 10^{-6}$ ) ile kasılmıştır. Buna göre Wistar etosüksimid grubunda fenilefrin kasılma yanıtları Wistar kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmış ( $p < 0.05$ ), diğer tüm grupta ise yanıtların Wistar kontrol grubundan farklı olmadığı saptanmıştır.

#### 4.4.3. Karbakol Gevşeme Yanıtları

Submaksimal fenilefrin konsantrasyonu ( $10^{-6}$ - $3 \cdot 10^{-6}$ ) ile kasılan dokulardan kasılma dengeye ulaştıktan sonra, kümülatif konsantrasyonda karbakol ( $10^{-8}$ - $10^{-5}$ ) ile konsantrasyona bağlı gevşeme yanıtları alınmıştır (Çizim 4.11). Gevşeme yanıtları  $E_{maks}$  ve  $pD_2$  üzerinden değerlendirilmiştir (Çizelge 4.3. ve Çizelge 4.4).

Ayrıca karbakol yanıtları ile maksimum yanıt elde edildikten sonra  $10^{-4}$  M papaverin ile (%100) maksimum gevşeme yanıtları elde edilmiştir.



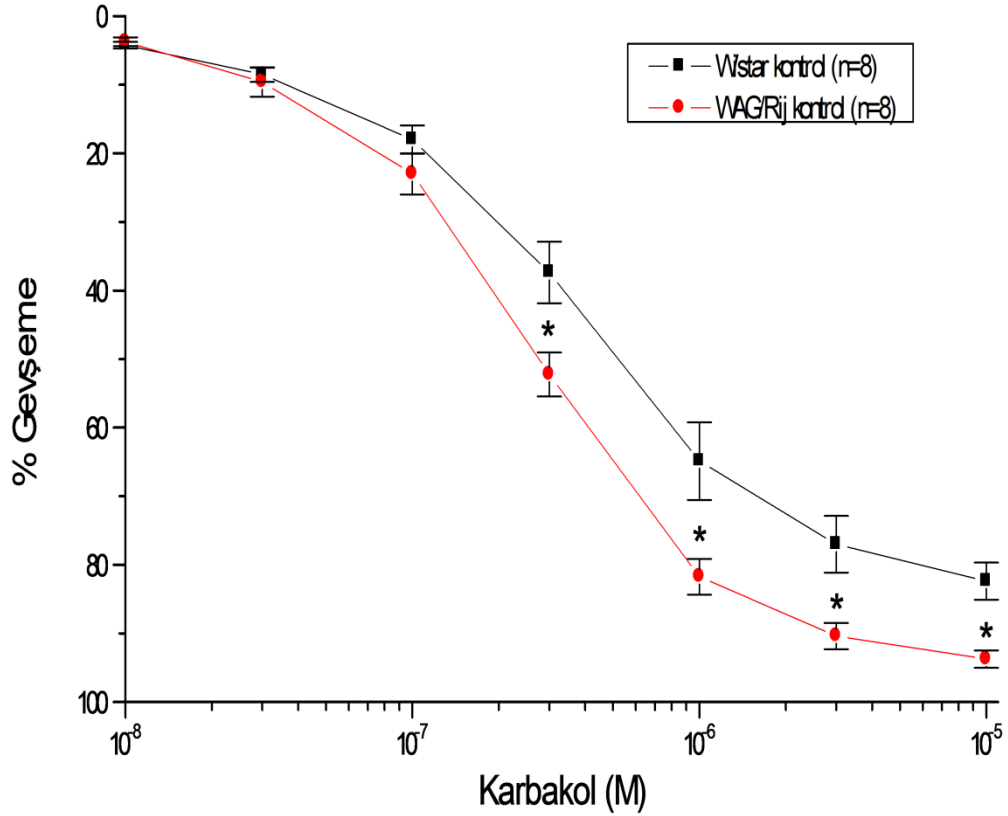
**Çizim 4.11.** İzole torasik aorta dokularında karbakol konsantrasyon-yanıt eğrileri

Elde edilen değerler ortalama  $\pm$  SH olarak ifade edilmiştir.

##### 4.4.3.1. WAG/Rij ve Wistar Kontrol Sıçanların Karbakol Gevşeme Yanıtları Yönünden Değerlendirilmesi

WAG/Rij kontrol grubundaki sıçanların izole torasik aorta dokularında karbakol gevşeme yanıtlarının Wistar kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı ( $p < 0.05$ ),

konsantrasyon-yanıt eğrisinin sola kaydığı,  $pD_2$  değerinin değişmediği, Emaks değerinin ise anlamlı olarak arttığı saptanmıştır (Çizim 4.12, Çizelge 4.3. ve Çizelge 4.4).



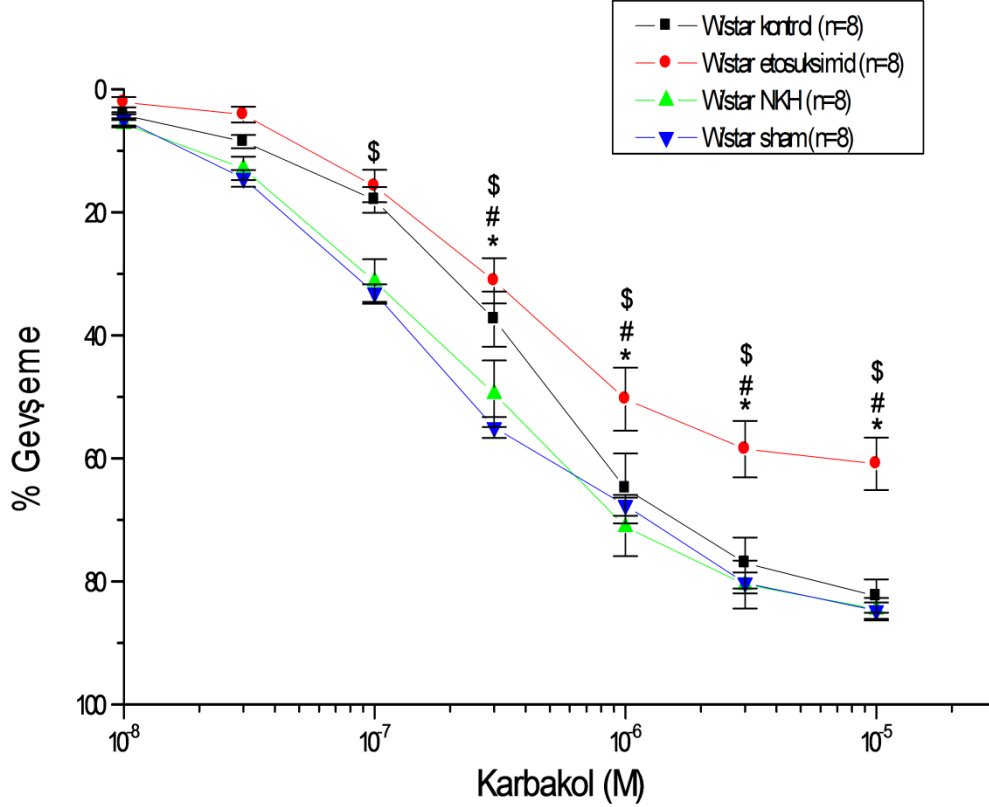
**Çizim 4.12.** Wistar ve WAG/Rij kontrol gruplarından elde edilen izole torasik aorta dokularında karbakol konsantrasyon-yanıt eğrileri

\*  $p < 0.05$ , Wistar kontrol grubuna göre. Elde edilen değerler ortalama  $\pm$  SH olarak ifade edilmiştir.

#### 4.4.3.2. Wistar Sıçanlara Farklı Tedavi Uygulamalarının (Etosüksimid, NKH, Sham) Etkileri

Etosüksimid tedavisi alan Wistar sıçanların izole torasik aorta dokularında karbakol gevşeme yanıtlarının Wistar kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığı ( $p < 0.05$ ), konsantrasyon-yanıt eğrisinin sağa kaydığı,  $pD_2$  değerinin değişmediği, Emaks değerinin ise anlamlı olarak azaldığı saptanmıştır. Bununla birlikte Wistar NKH ve Wistar sham

grupları Wistar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında gevşeme yanıtlarında anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir. (Çizim 4.13, Çizelge 4.3. ve Çizelge 4.4).

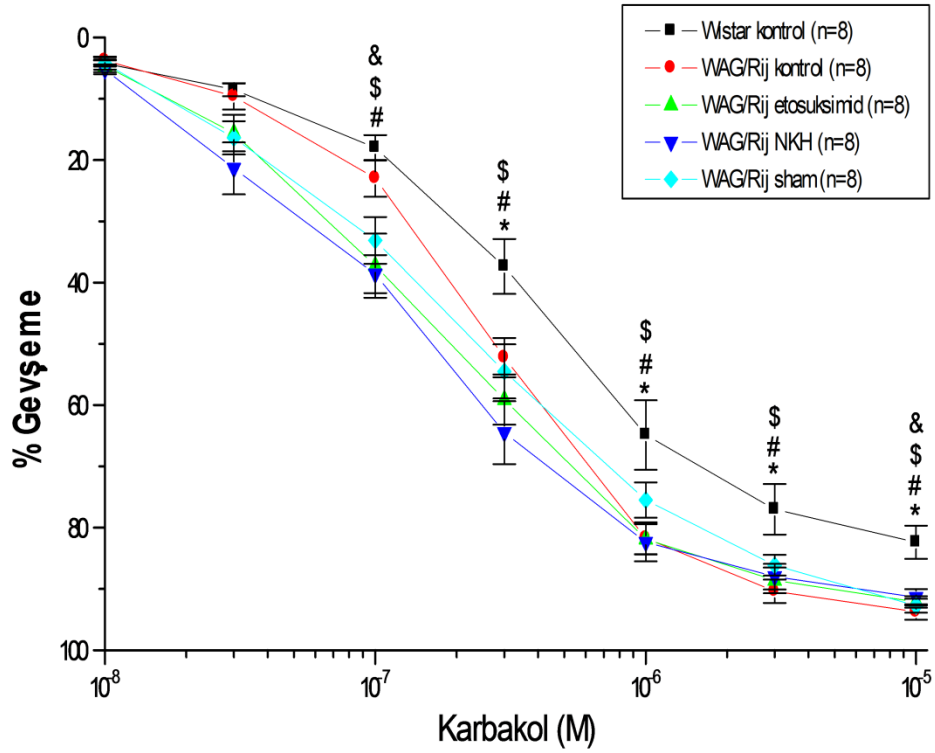


**Çizim 4.13.** Wistar gruplarından elde edilen izole torasik aorta dokularında karbakol konsantrasyon-yanıt eğrileri

\*  $p < 0.05$ , Wistar kontrol grubuna göre, #  $p < 0.05$ , Wistar NKH grubuna göre, \$  $p < 0.05$ , Wistar sham grubuna göre. Elde edilen değerler ortalama  $\pm$  SH olarak ifade edilmiştir.

#### 4.4.3.3. WAG/Rij Sıçanlara Farklı Tedavi Uygulamalarının (Etosüksimid, NKH, Sham) Etkileri

Etosüksimid tedavisi, NKH tedavisi ve sham uygulanan WAG/Rij sıçanların izole torasik aorta dokularında karbakol gevşeme yanıtlarının Wistar kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı ( $p < 0.05$ ), konsantrasyon-yanıt eğrisinin sola kaydığı,  $pD_2$  değerinin değişmediği, Emaks değerinin ise anlamlı olarak arttığı saptanmıştır. Bununla birlikte WAG/Rij etosüksimid, WAG/Rij NKH ve WAG/Rij sham grupları WAG/Rij kontrol grubu ile karşılaştırıldığında gevşeme yanıtlarında anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir. (Çizim 4.14, Çizelge 4.3. ve Çizelge 4.4).

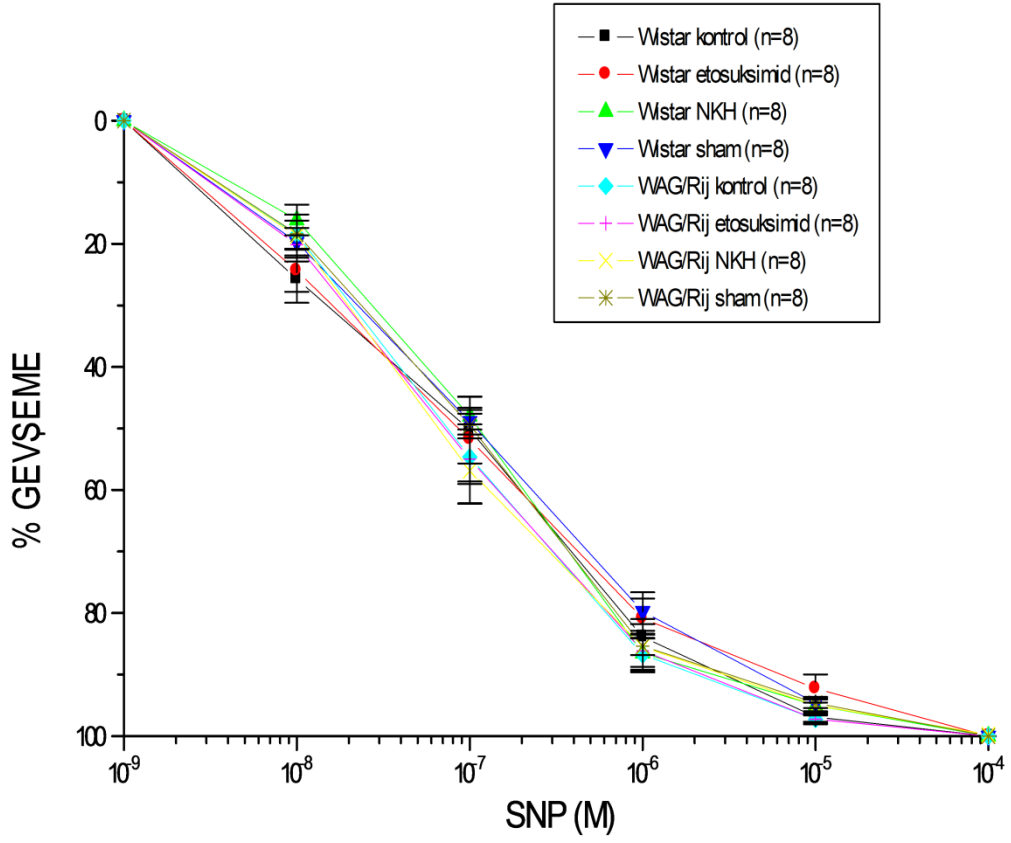


**Çizim 4.14.** Wistar kontrol ve WAG/Rij gruplarından elde edilen izole torasik aorta dokularında karbakol konsantrasyon-yanıt eğrileri

\*  $p < 0.05$ , WAG/Rij kontrol grubuna göre; #  $p < 0.05$ , WAG/Rij etosüksimid grubuna göre, \$  $p < 0.05$ , WAG/Rij NKH grubuna göre; &  $p < 0.05$ , WAG/Rij sham grubuna göre. Elde edilen değerler ortalama  $\pm$  SH olarak ifade edilmiştir.

#### 4.4.4. SNP Gevşeme Yanıtları

Tüm gruplardaki İzole torasik aorta dokuları submaksimal fenilefrin konsantrasyonu ( $10^{-6}$ - $3 \cdot 10^{-5}$ ) ile kasılmıştır. Kasılma dengeye ulaştıktan sonra, kümülatif konsantrasyonda SNP ( $10^{-9}$ - $10^{-4}$ ) ile konsantrasyona bağlı gevşeme yanıtları alınmıştır (Çizim 4.15). Gevşeme yanıtları  $E_{maks}$  ve  $pD_2$  üzerinden değerlendirilmiştir (Çizelge 4.3. ve Çizelge 4.4). SNP ile elde edilen gevşeme yanıtlarında gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark saptanmamıştır.



**Çizim 4.15.** İzole torasik aorta dokularında SNP konsantrasyon-yanıt eğrileri

Elde edilen değerler ortalama  $\pm$  SH olarak ifade edilmiştir.

**Çizelge 4.3.** Torasik aorta düz kasında karbakol, SNP ve papaverin (% fenilefrin) ile KCl'ün (mg) Emaks değerleri

GRUP	Karbakol	SNP	Papaverin	KCl
<b>Wistar kontrol</b>	82,36 ± 2,70	100,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00	747,13 ± 33,08
<b>Wistar etosüksimid</b>	60,88 ± 4,25***	100,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00	1180,75 ± 63,18***
<b>Wistar NKH</b>	84,50 ± 1,81	100,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00	774,88 ± 40,75
<b>Wistar sham</b>	84,75 ± 1,33	100,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00	883,13 ± 53,48
<b>WAG/Rij kontrol</b>	93,75 ± 1,26**	100,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00	555,13 ± 14,23*
<b>WAG/Rij etosüksimid</b>	92,13 ± 0,93*	100,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00	662,75 ± 20,23
<b>WAG/Rij NKH</b>	91,38 ± 1,34*	99,75 ± 0,25	100,00 ± 0,00	777,13 ± 35,20##
<b>WAG/Rij sham</b>	92,75 ± 1,13*	100,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00	727,38 ± 44,30

\*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001 Wistar kontrol grubuna göre ve ##p<0.01 WAG/Rij kontrol grubuna göre. Tüm gruplar için n=8.

Değerler karbakol, SNP ve papaverin için  $10^{-6}$ - $3.10^{-6}$  M fenilefrin yüzdesi, KCl için mg olarak verilmiş ve ortalama ± SH olarak ifade edilmiştir.

**Çizelge 4.4.** Torasik aorta düz kasındakarbakol ve SNP'nin PD<sub>2</sub> (-logEC<sub>50</sub>) değerleri

<b>GRUP</b>	<b>Karbakol</b>	<b>SNP</b>
<b>Wistar kontrol grubu (n=8)</b>	6,43 ± 0,07	7,02 ± 0,13
<b>Wistar etosüksimid grubu (n=8)</b>	6,52 ± 0,07	7,09 ± 0,15
<b>Wistar NKH grubu (n=8)</b>	6,66 ± 0,11	6,92 ± 0,06
<b>Wistar sham grubu (n=8)</b>	6,81 ± 0,05	6,96 ± 0,04
<b>WAG/Rij kontrol grubu (n=8)</b>	6,59 ± 0,04	7,06 ± 0,15
<b>WAG/Rij etosüksimid grubu (n=8)</b>	6,83 ± 0,09	7,13 ± 0,08
<b>WAG/Rij NKH grubu (n=8)</b>	6,86 ± 0,07	7,15 ± 0,13
<b>WAG/Rij sham grubu (n=8)</b>	6,65 ± 0,05	6,99 ± 0,13

Değerler ortalama ± SH olarak ifade edilmiştir.



## 5. TARTIŞMA

Çalışmamızda MGE kaynaklı NKH'lerin *in vitro* ortamda astrosit, nöron, oligodendrosit ve GABAerjik nöronlara farklılaştığı gösterilmiştir. WAG/Rij sıçanlara uygulanan etosüksimid ve NKH tedavisinin DDD'ları kontrol ve sham gruplarına göre toplam süre, ortalama süre ve sayı açısından anlamlı olarak azalttığı ortaya konmuştur. Kontrol ve sham grupları arasında ise bu parametreler açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır. Kardiyovasküler değişiklikler değerlendirildiğinde OAB değerlerinde WAG/Rij sıçanlarda kontrol grubu, NKH tedavisi ve sham uygulanan gruplarda Wistar kontrol grubuna göre anlamlı artış saptanmıştır. Diğer yandan Wistar sıçanlarda etosüksimid tedavisi, NKH tedavisi ve sham uygulanan grupların OAB değerleri Wistar kontrol grubundan farklı bulunmamıştır. KH değişikliklerine bakıldığında yalnızca Wistar sıçanlara uygulanan etosüksimid tedavisinin KH'nı Wistar kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalttığı saptanmış, diğer gruplar arasında ise KH açısından anlamlı fark bulunmamıştır. Gruplar kardiyovasküler düz kas reaktivitesi değişiklikleri yönünden de değerlendirilmiştir. Buna göre KCl kasılma yanıtlarında Wistar etosüksimid grubunda Wistar kontrol grubuna göre anlamlı artma, WAG/Rij kontrol grubunda ise anlamlı olarak azalma saptanmıştır. Karbakol aracılı endotele bağımlı gevşeme yanıtlarında WAG/Rij kontrol grubunda Wistar kontrol grubuna göre anlamlı artma gözlenmiştir. Diğer yandan Wistar etosüksimid grubunda ise Wistar kontrol grubuna göre endotele bağımlı gevşeme yanıtlarında azalma olduğu ortaya konmuştur. SNP aracılı endotelden bağımsız gevşeme yanıtlarında gruplar arasında anlamlı bir fark ortaya çıkmamıştır.

### 5.1. EEG'de Gözlenen DDD Aktivitesi Değişiklikleri

T tipi  $Ca^{++}$  kanalları, absans epilepsinin patogenezinde önemli bir yer tutmaktadır. Bu kanallar karakteristik olarak düşük voltajla aktive edilen voltaja bağımlı  $Ca^{++}$  kanallarıdır. Bugüne kadar bilinen 3 tip T tipi  $Ca^{++}$  kanalı ortaya konmuştur:  $Ca_v3.1$ ,  $Ca_v3.2$  ve  $Ca_v3.3$ . Bunlar sırasıyla,  $\alpha 1G$ ,  $\alpha 1H$  ve  $\alpha 1I$  olmak üzere farklı genler tarafından kodlanan  $\alpha 1$  alt birim proteini içermektedirler [Perez-Reyes, 2003].  $Ca_v3.1$ ,  $Ca_v3.2$  ve  $Ca_v3.3$  kanalları talamokortikal döngüde oldukça fazla eksprese edilmektedirler (Talley ve diğ. 1999).  $Ca_v3.1$  özellikle TK bölgelerde eksprese edilirken,  $Ca_v3.2$  ve  $Ca_v3.3$  RTN'daki GABAerjik nöronlarda oldukça fazla bulunmaktadır [Broicher ve diğ. 2008].

Absans epilepside ortaya çıkan DDD'ların oluşum ve yayılmasında talamokortikal ağın kritik bir rol oynadığı hem insandaki absans epilepside hem de farklı hayvan modellerinde gösterilmiştir (Crunelli ve Leresche, 2002). Birçok çalışmada düşük voltajla aktive edilen (T tipi) nöronal  $Ca^{++}$  kanallarının dinlenim membran potansiyeline yakın bir durumdayken  $Ca^{++}$  dikenleri oluşturmaya yatkınlıklarının bir sonucu olarak nöronların ateşlenmesi ve osilasyonların oluşumuna katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Llinas ve Yarom 1981, Carbone ve Lux 1984, Huguenard ve Prince 1992, Perez-Reyes 2003). T tipi nöronal  $Ca^{++}$  kanallarının bu özellikleri, absans epilepsideki rollerinin aydınlatılmasında prelinik ve klinik çalışmalar ortaya konmasına yol açmıştır. GAERS sıçanlarda yapılan çalışmalarda T tipi  $Ca^{++}$  akımının (Tsakiridou ve diğ. 1995) ve  $Ca_v3.2$  mRNA ekspresyonunun (Talley ve diğ. 2000) RTN'da arttığı bulunmuştur. absans nöbetlerin başlangıcından önce talamik T tipi akımın artışı SNAP-25 proteini eksik hayvan modelinde de gösterilmiştir (Zhang ve diğ. 2004). Diğer yandan çocukluk çağı absans epilepsisi olan hastalarda *CACNA1H* geninde ( $Ca_v3.2$ 'yi kodlayan gen) mutasyon olduğu bulunmuştur (Chen ve diğ. 2003, Liang ve diğ. 2006, 2007). Yapılan başka çalışmalarda  $Ca_v3.1$  kanalı eksik farelerin farmakolojik ajanlarla DDD oluşumuna dirençli olduğu (Kim ve diğ. 2001), farelerde  $Ca_v3.1$  kanalının aşırı ekspresyonunun karakteristik absans fenotipi oluşumuna öncülük ettiği gösterilmiştir (Ernst ve diğ. 2009).

T tipi  $Ca^{++}$  kanallarının bu çalışmalar ışığında absans epilepside ortaya konan rolü, etosüksimid ve sodyum valproat gibi bu kanalları blokladığı gösterilen ilaçların nöbetlerin baskılanmasında etki mekanizmasını açıklamaktadır. Bizim çalışmamızda, 2 aylık WAG/Rij sıçanlara verilen 3 aylık kronik oral etosüksimid tedavisi (300 mg/kg/gün), nöbetleri kontrollere göre tamamen olmasa da oldukça baskılamış; nöbetlerin sayısı, toplam süre ve ortalama süresini kontrollere göre anlamlı ölçüde azaltmıştır. Bulgularımız, daha önce WAG/Rij sıçanlarda erken, kronik (doğumdan sonra 21. günden 5. aya kadar), ve bizim uyguladığımız dozda (300 mg/kg/gün) uygulanan etosüksimid tedavisinin absans nöbet gelişimini tamamen baskıladığını elektrofizyolojik ve moleküler düzeyde gösteren Blumenfeld ve diğ.'nin (2008) çalışmasıyla kısmen uyumludur. Aynı doğrultuda daha sonra yapılan diğer bir çalışmada, Sarkisova ve diğ. (2010), 21 günlük WAG/Rij sıçanlara uzun süreli kronik etosüksimid (300 mg/kg/gün) tedavisi (5 aya kadar) uygulamışlar, yine DDD'ların ortalama süre ve sayılarının ilacın kesilmesinden 47 gün sonrasına kadar kalıcı olarak baskılandığını ortaya koymuşlardır. Bizim çalışmamızda etosüksimid tedavisinin nöbetleri baskılasa da tamamen bloklamama sebebi, tedaviye nöbetler henüz ortaya çıkmaya başlamış veya ortaya çıkmak üzere iken (2 aylıkken) başlanmış olması olarak

yorumlanabilir. Bizim bulgularımızı destekleyen başka bir çalışmada, Russo ve diğ. (2010) yaklaşık 1,5 aylık WAG/Rij sıçanlara 15 hafta boyunca (5 aylık olana kadar) kronik etosüksimid tedavisi (80 mg/kg/gün) uygulamış ve DDD'ların sayı, toplam süre ve ortalama sürelerinin kontrol sıçanlara göre anlamlı ölçüde baskılandığını ortaya koymuştur.

Bulgularımız, nöbetler başlamadan önce veya başlamak üzere iken başlanan erken ve kronik etosüksimid tedavisinin, absans epilepsi gelişimini hastalığın elektroensefalografik fenotipini (DDD aktivitesinin toplam süre, sayı, ortalama süre) değiştirerek anlamlı olarak baskılandığını göstermiştir. Özellikle talamik nöronlarda T tipi  $Ca^{++}$  akımını bloke ettiği gösterilen etosüksimidin (Gören ve Onat, 2007) farklı jeneralize epilepsi modellerinde etkili olmamasına rağmen (Karler ve diğ. 1989, Gilbert ve Teskey, 2007), çalışmamızda anti absans özellik gösterdiğinin ortaya konması, T tipi  $Ca^{++}$  akımının diğer epilepsi türlerinden farklı olarak absans epilepside önemli rol oynadığı yönündeki düşünceleri desteklemektedir. Bulgularımız, etosüksimidin absans nöbetleri baskılamakta etkili olduğu yaygın görüşünü doğrulamaktadır.

DDD'ların oluşması ve sürdürülmesi için gerekli olan korteks ve talamusun farklı nükleusları arasındaki etkileşimler tam olarak aydınlatılamamakla birlikte, absans epilepsi hayvan modellerinde DDD'ların birbirine bağlı sağlam bir kortiko-talamo-kortikal ağ zemininde meydana geldiği bilinmektedir (Huguenard ve McCormick 2007, Lüttjohann ve diğ. 2013, Seidenbecher ve Pape 2001). DDD'ların WAG/Rij sıçanlarda özellikle S1po bölgesinden köken aldığı (Meeren ve diğ. 2002, van Luijtelaar ve diğ. 2011) ve GAERS'lerde derin kortikal tabakalardaki nöronlar tarafından başlatıldığı açıkça ortaya konmuştur (Polack ve diğ. 2007). Bizim çalışmamızda 2 aylık WAG/Rij sıçanların nöbetlerin başlatıldığı yer olarak ifade edilen S1po bölgesine Paxinos ve Watson'un sıçan beyin atlasına uygun olarak her iki hemisferde 2 farklı noktaya uygulanacak şekilde NKH transplantasyonu yapılmış ve 3 ay sonunda EEG'de gözlenen DDD oluşumunun kontrollere göre sayı, süre ve toplam süre açısından anlamlı olarak azaldığı gösterilmiştir.

DDD'ların oluşumuna kortiko-talamo-kortikal ağın farklı kısımlarının katkısını araştırmayı amaçlayan farklı çalışmalar yapılmıştır. GAERS sıçanlarda DDD'larının tüm neokorteksin fonksiyonel inaktivasyonu ile baskılandığı gösterilmiştir (Vergnes ve diğ. 1989). WAG/Rij sıçanlarda ise korteksin subgranüler tabakalarına fenitoin ve S1po bölgesinin yüzeyine lidokain gibi inaktive edici ilaçların mikro infüzyonunun yapılması (Gurbanova ve diğ. 2006, Sitnikova ve van Luijtelaar 2004) DDD'ları suprese etmiştir. Ayrıca GAERS'lerde S1po bölgesine etosüksimid infüzyonu DDD sayısında ani ve dramatik bir düşüşe yol açmıştır. Bu veriler etosüksimidin sistemik uygulanması ile

karşılaştırıldığında (Manning ve diğ. 2004, Polack ve Charpier 2009b) bu bölgenin DDD'ların oluşumu ve başlatılmasındaki rolünün son derece spesifik ve önemli olduğu hipotezini desteklemiştir. Polack ve diğ. (2009a), GAERS sıçanlarda motor kortekste nöronal aktivitenin Na<sup>+</sup> kanal blokleri tetrodotoksinin topikal uygulanması ile bloklanmasının DDD oluşumunu etkilemediğini, bunun aksine aynı uygulama somatosensoryel korteksin fasiyal bölgesindeki nöronları fonksiyonel olarak etkisizleştirdiğinde DDD'ların ortadan kalktığını göstermiştir. Bu çalışma DDD oluşumunda korteksin somatosensoryel bölgesinin etkin rol oynadığını ortaya koyma açısından önemlidir. Ayrıca diğer iki farmakolojik çalışma DDD'ların başlatılmasında somatosensoryel korteksin selektivitesini açıkça ortaya koymuştur: Etosüksimid veya AMPA antagonislerinin infüzyonu motor kortekse değil yalnızca somatosensoryel kortekse uygulandıklarında etkili olmuşlardır (Manning ve diğ. 2004, Citraro ve diğ. 2006). Bu açıdan DDD'ların başlatılmasında genetik hayvan modellerinde somatosensoryel korteks dışında başka bir beyin bölgesi şimdiye kadar sorumlu tutulmamıştır. Bizim çalışmamız da yukarıda sayılan tüm bu çalışmalara paralel olarak WAG/Rij sıçanlarda NKH'lerin özellikle S1po bölgesine transplantasyonu sonucu DDD oluşumunu baskıladığını göstererek bu bölgenin absans epilepside DDD oluşumunda anahtar role sahip olduğunu açıkça ortaya koymaktadır. Ayrıca, sistemik uygulamalar yerine bölgesel uygulamaların gelecekte tercih edilebilecek tedavi yöntemi olarak geliştirilebileceği düşünülmektedir. Bu bağlamda NKH'lerin bölgesel olarak uygulanması aracılığı ile DDD oluşumunun baskılanmasının altında yatan olası mekanizmaların önde gelenleri, zayıflamış GABAerjik aşırımın yeniden güçlendirilmesi ve/veya nöroinflamasyonun azalmasının sağlanmasıdır.

Epilepside hem hayvan modellerinde hem insanda GABA nöron kaybı söz konusu olabilmektedir. Temporal lob epilepsili hastalarda özellikle hipokampüste spesifik internöron kaybı olabildiği gibi beyin hasarı geçirip limbik epilepsi geliştiren hastalarda da aynı durum söz konusudur (de Lanerolle NC ve diğ. 1989, Andrioli ve diğ. 2007, Swartz ve diğ. 2006). Bu bulgular farmakolojik olarak indüklenen temporal lob epilepsisi farklı hayvan modellerinde de tekrarlanmıştır (Buckmaster ve Jongen-Relo 1999, Kobayashi ve Buckmaster 2003). Yaygın ve önemli derecede internöron kaybının varlığının kortekste sinaptik inhibisyonda azalma ve kompensatuar cevap olarak ortaya çıktığı varsayılan internöron akson dallanması ve GABA reseptör alt birim yapısında değişiklik ile bağlantılı olduğu gösterilmiştir (Hunt ve diğ. 2010). Absans epilepside de GABA'nın rolü araştırılmış; özellikle somatosensoryel kortekste GABAerjik nöron kaybının ve GABAerjik reseptörlerin ekspresyonlarında azalmanın gösterilmesiyle kortekste

DDD'ların oluşumu ve başlatılmasından sorumlu bölge olarak düşünülen S1po'nde GABAerjik aşırımın azaldığı ortaya konmuştur (Liu ve diğ. 2007 ve Merlo ve diğ. 2007).

Kemirgenler, primatlar ve insanlarda GABAerjik nöronların büyük çoğunluğunun embriyonik telensefalonda ventral lateral ventrikülün iki geçici bölgesinden köken aldığı bilinmektedir: MGE ve kaudal gangliyonik eminens (CGE) (Hansen ve diğ. 2013 ve Ma ve diğ. 2013). MGE'in parvalbumin, somatostatin, nöronal NOS eksprese eden GABAerjik inhibitör nöronların primer kaynağı olduğu gösterilmiştir (Butt ve diğ. 2005, Alvarez-Dolado ve diğ. 2006, Flames ve diğ. 2007). Bizim çalışmamızda da, bu çalışmalarla uyumlu olarak WAG/Rij sıçanlara transplante edilen NKH'lerin nakledilmeden önce *in vitro* ortamda astrosit, oligodendrosit, nöron ve ayrıca GABAerjik nöronlara farklılaştığı gösterilmiştir. Her iki hemisferde iki farklı noktaya transplante edilen bu hücrelerin ayrıca daha önce juvenil veya yetişkin fare beynine nakledildikten sonra göç yeteneklerini sürdürdükleri ve transplantasyonu takiben tek enjeksiyon bölgesinden 5 mm uzağa kadar göç yapabildikleri gösterilmiştir. (Hunt ve diğ. 2013). Ayrıca yapılan elektrofizyolojik çalışmalar, nakledilen MGE hücrelerinin enjeksiyonlarını takiben bir hafta içinde sinaptik olarak alıcı döngülerle bütünleştiklerini ortaya koymuştur (Alvarez-Dolado ve diğ. 2006, Baraban ve diğ. 2009). Bu bulgulardan yola çıkarak birçok farklı epilepsi hayvan modelinde MGE hücre greftleri nakledilmiş ve nöbet sıklığında (Baraban ve diğ. 2009), nöbetle ilişkili inflamasyonda (Waldau ve diğ. 2010) ve nöbet duyarlılığında (Calcagnotto ve diğ. 2010) anlamlı olarak azalmaya yol açtıkları ve nöbetleri baskıladıkları (Hunt ve diğ. 2013) gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda da fetal MGE kaynaklı NKH'lerin absans epilepsili WAG/Rij sıçanlara transplantasyonu DDD oluşumunu toplam süre, ortalama süre ve sayı yönünden anlamlı olarak azaltmıştır. Ayrıca çalışmamız absans epilepsili Stargazer fare modelinde neonatal görsel kortekse transplante edilen MGE kaynaklı NKH'lerin absans nöbetleri azalttığını gösteren çalışma ile son derece uyumludur (Hammad ve diğ. 2015). Sonuçta çalışmamız, MGE kaynaklı NKH'lerin WAG/Rij sıçanlarda absans nöbetleri baskıladığını açıkça ortaya koymuştur. Elde edilen bu bulgular absans epilepside S1po bölgesinde GABAerjik aşırımın azaldığı, DDD oluşumundan somatosensoryel kortekste GABAerjik nöron aktivitesinde azalmanın sorumlu olabileceği yönündeki bulguları desteklemekte ve GABAerjik aşırımın NKH tedavisi ile artırılmasının mümkün olabileceğini düşündürmektedir.

Diğer yandan çalışmamızda NKH'lerin WAG/Rij sıçanlara farklılaşmadan verildiği (her ne kadar *in vitro* ortamda GABAerjik nöronlara farklılaştığı gösterilse de) göz önünde bulundurulduğunda, verdiğimiz NKH tedavisinin DDD'ları azaltmasının altında yatan

olası ikinci bir mekanizma olabileceği düşüncesi de akla gelmektedir. Absans epilepsi patogenezinde inflamasyonun rolü olduğu ile ilgili son zamanlarda yapılan çalışmalar gün geçtikçe artmaktadır (Akin ve diğ. 2011, Kovacs ve diğ. 2014, Russo ve diğ. 2014). Dahası NKH'lerin nöroprotektif ve antiinflamatuvar özelliklerinin olduğu birçok çalışmada ortaya konmuştur (Ben-Hur ve diğ. 2003, Pluchino et ve diğ. 2003, 2005). Bu bulgulardan yola çıkarak NKH'lerin absans epilepside DDD oluşumunun altında yatan olası mekanizmalardan biri olduğu düşünülen nöroinflamasyonu antiinflamatuvar özellikleri sayesinde baskılayarak nöbetleri azaltabileceği de akla gelmektedir. Bu iki olası mekanizmanın nöbetleri baskılamanın altında yatan mekanizma/mekanizmalar olup olmadığını belirleyebilmek için de şüphesiz ki daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Bütün bu bulgulara ek olarak, sham grubunda DDD oluşumu kontrollerden farklı bulunmamıştır. Bu bulgumuz, yalnızca cerrahi işlemin DDD oluşumunda olumlu ya da olumsuz bir etkisinin bulunmadığını, NKH tedavisinin DDD oluşumuna etkisinin cerrahi işlemle bağımsız olduğunu açıkça ortaya koymaktadır.

Son olarak WAG/Rij sıçanlarda DDD oluşumu üzerinde kronik sistemik etosüksimid tedavisi ile santral NKH tedavisinin etkileri birlikte değerlendirildiğinde, her iki tedavi şeklinin de DDD'ları toplam süre, ortalama süre ve sayı yönünden azalttığı görülmektedir. Etosüksimidin DDD'ları baskılamada daha etkili olduğu izlenimi edinilse de nöbetleri baskılamada her iki grup arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Bununla birlikte uzamış ilaç tedavisinin ciddi yan etkilere yol açabildiği ve kayda değer sayıda hastada ilaçlara direnç gelişmesinin meydana geldiği (Seneviratne ve diğ. 2012) göz önünde bulundurulduğunda absans epilepside NKH tedavisi yeni ve alternatif bir tedavi şekli olarak umut vaatmektedir.

## **5.2. Kardiyovasküler Değişiklikler**

Çalışmamızda sıçanların OAB ve KH değerleri ölçülmüştür. Bulgularımıza göre etosüksimid tedavisi alan Wistar sıçanların OAB değerlerinde Wistar kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı bir fark saptanmamıştır. Yapılan bir çalışmada Cav3.1. geni eksik farelerle kontroller arasında OAB açısından bir fark bulunmamıştır (Svenningsen ve diğ. 2014). Diğer bir çalışmada ise bu kez Cav3.2 geni silinmiş farelerle kontroller OAB yönünden karşılaştırılmış yine anlamlı bir fark bulunmamıştır (Harraz ve diğ. 2015). Yapılan bu çalışmalar T tipi  $Ca^{++}$  kanallarının kan basıncı regülasyonunda direkt bir etkisinin olmadığını göstermektedir. Bizim çalışmamız da bu bulguları destekleyerek, T

tipi  $Ca^{++}$  kanallarının farmakolojik olarak kronik etosüksimidle non-spesifik blokajının OAB üzerine doğrudan bir etkisinin olmadığını ortaya koymuştur. Bununla birlikte etosüksimid tedavisi uygulanan Wistar sıçanlarda KH değerleri Wistar kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır. T tipi  $Ca^{++}$  kanalların KH regülasyonu üzerindeki etkisini inceleyen sınırlı çalışma olsa da yapılan bir çalışma, Cav3.1 geni silinmiş farelerde KH'nın, kontrollere göre azaldığını göstermiş ve Cav3.1 T tipi kanalların pacemaker aktivite ve atriyoventriküler iletimi etkileyerek KH regülasyonunda rol oynayabileceğini ortaya koymuştur (Mangoni ve diğ. 2006). Bizim çalışmamız da, Wistar sıçanlarda etosüksimidin KH'nı azalttığını ortaya koyduğundan bu bulguları destekleyerek T tipi kanalların KH'nda rolünün olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca Wistar sıçanlarda etosüksimid tedavisinin KH'nda azalmaya yol açtığı halde OAB üzerine etkisinin olmaması, artmış periferik direncin refleks bradikardi ile kompanse edildiğini öne süren (Svenningsen ve diğ. 2014) çalışma sonuçlarıyla uyumludur. Diğer yandan NKH'lerin kontrollere göre OAB veya KH üzerinde bir etkisinin olmaması, periferik kardiyovasküler etkilere yol açmadığını ortaya koymaktadır. Aynı şekilde cerrahi işlem de tek başına kardiyovasküler değişikliklere yol açmamıştır.

Diğer yandan WAG/Rij sıçanlarda Wistar kontrollere göre OAB değerlerinde anlamlı bir artış gözlenirken KH'nda iki grup arasında bir fark bulunmamıştır. Bulgularımız daha önce GAERS'lerin bazal OAB'nın Wistar sıçanlardan anlamlı olarak yüksek olduğunu ortaya koyan fakat KH'nda bir değişiklik saptanmayan çalışma ile son derece uyumludur (Yananlı ve diğ. 2008). Çalışmamızın ortaya koyduğu WAG/Rij sıçanlarda OAB'nda gözlenen bu artış çevre koşullarının değişimine uyum sağlamaya yönelik sekonder bir etki ya da bu hayvanlarda gözlenen nöbetlere bağlı olabilir. Yine de bu hayvanlarda OAB'nın neden yüksek olduğunun araştırılmasına yönelik ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. Bununla birlikte etosüksimid tedavisinin WAG/Rij sıçanlarda WAG/Rij kontrollere göre OAB ve KH üzerinde etkisinin olmadığı gözlenmiştir. Wistar sıçanlarda da OAB değerlerinde etosüksimid tedavisinin bir etkisinin olmaması, T tipi  $Ca^{++}$  kanal blokajının OAB'na doğrudan bir katkısı olmadığı yönündeki görüşümüzü destekler niteliktedir. Ayrıca NKH tedavisi ve sham uygulamasının da WAG/Rij sıçanlarda OAB ve KH değerlerinde değişikliğe yol açmadığı gösterilmiştir. Bu bulgular, NKH tedavisinin absans epilepside kardiyovasküler fonksiyonlarda stabiliteyi bozmadığını açıkça ortaya koymaktadır. Aynı şekilde cerrahi işlemin tek başına söz konusu fonksiyonlara bir etkisinin olmadığı anlaşılmaktadır.

Çalışmamızda, tüm gruplardaki sıçanlardan izole edilen torasik aorta dokuları, submaksimal konsantrasyonda fenilefrin ile kasılmış, sonrasında endotele bağımlı ve endotelden bağımsız düz kas gevşeme cevapları elde edilmiştir. Endotele bağımlı yanıtlara bakıldığında elde edilen bulgularımıza göre; WAG/Rij kontrol grubundaki sıçanlarda karbakol ile indüklenen NO aracılı endotele bağımlı gevşeme yanıtları, Wistar kontrol grubundaki sıçanlara göre anlamlı olarak artmıştır. Bununla birlikte, etosüksimid tedavisi alan Wistar sıçanlarda yanıtların Wistar kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığı saptanmış, Wistar NKH ve Wistar sham gruplarında ise Wistar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında gevşeme yanıtlarında anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir.

Diğer yandan etosüksimid tedavisi, NKH tedavisi ve sham uygulanan WAG/Rij sıçanlarda ise karbakol ile indüklenen NO aracılı endotele bağımlı gevşeme yanıtları, Wistar kontrol grubuna göre anlamlı olarak artarken, WAG/Rij kontrol grubu ile karşılaştırıldıklarında yanıtlarda anlamlı bir değişiklik söz konusu olmamıştır. SNP ile indüklenen endotelden bağımsız gevşeme yanıtlarında ve papaverine bağlı gevşeme yanıtlarında ise gruplar arasında anlamlı olarak fark bulunmamıştır.

Bilindiği gibi endotelial fonksiyonu değerlendirmek için fiziksel ya da farmakolojik bir uyaran ile vazomotor yanıtlara bakılması gerekmektedir. Bu amaçla en çok kullanılan uyaranlar karbakol, asetilkolin ve NO donörü olan SNP'dir. Endotel haraplandığında düz kas hücrelerinde direkt etkiyle kasılmaya sebep olan asetilkolin ve karbakol, endoteli sağlam bir damarda NO/cGMP yolağının aktive edilmesi ile vazodilatasyona aracılık eder (Furchgott ve Zawadzki 1980). Karbakolün damar endotelinden NO salınımına yol açması, guanilat siklaz enzimini aktive eder ve cGMP'nin hücre içinde artmasına sebep olur. cGMP artışı ise hücre içi kalsiyum miktarında azalmaya neden olan farklı mekanizmalarla düz kas hücrelerinde gevşeme meydana getirmektedir (Denninger ve Marletta 1999).

Bizim bulgularımıza göre, WAG/Rij kontrol grubundaki endotele bağımlı gevşemenin Wistar kontrol grubuna göre anlamlı olarak fazla olması, absans epilepsili WAG/Rij sıçanların torasik aorta dokusunda NO sentez ve/veya salıverilmesinin artması ya da NO'in düz kasa difüzyonunun artması, vasküler düz kasın NO'e yanıt verebilirliğinde artma veya düz kasın gevşeme mekanizmalarında bir artışın söz konusu olması gibi olası mekanizmaların devreye girdiğini düşündürmektedir. Bununla birlikte T tipi  $Ca^{++}$  kanal blokeri olan etosüksimid tedavisi almış Wistar sıçanlardaki endotele bağımlı gevşeme yanıtlarında Wistar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında görülen dramatik azalma sayılan mekanizmaların ters yönde işlediğini akla getirmektedir. Wistar sıçanlarda etosüksimid tedavisi, bilinmeyen bir mekanizma ile torasik aorta düz kasında NO sentez



ve/veya saliverilmesini azaltmış, vasküler düz kasın NO'e yanıt verebilirliğinde azalmaya yol açmış veya NO'in düz kasa difüzyonunun azalması ya da düz kasın gevşemesinde bozulmaya yol açarak vasküler düz kas reaktivitesinin azalmasına sebep olmuş olabilir. İlginç olarak WAG/Rij sıçanlarda etosüksimid tedavisi ise WAG/Rij kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, endotele bağımlı gevşeme yanıtlarında herhangi bir azalmaya yol açmamış, vasküler düz kas reaktivitesi üzerinde WAG/Rij sıçanlarda etosüksimid tedavisinin bir etkisi olmamıştır. NKH tedavisi ve sham uygulamasına bağlı yanıtlar ise her iki sıçan türündeki kendi kontrolleri ile karşılaştırıldıklarında endotele bağımlı gevşeme cevapları kontrolden farklı bulunmamış, vasküler düz kas reaktivitesi üzerinde herhangi bir etki meydana getirmemişlerdir.

Diğer yandan bulgularımıza göre NO donörü olan SNP ile indüklenen endotelden bağımsız gevşeme yanıtlarında tüm gruplarda anlamlı bir fark olmaması, torasik aorta dokusunun NO'e yanıt verebilirliğinin değişmediğini, cGMP oluşumunda ve NO/cGMP yolağının işleyiş mekanizmalarında bir bozukluk olmadığını göstermektedir. Ayrıca papaverin gevşeme yanıtlarında da gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmaması, düz kas gevşeme mekanizmalarında bir değişiklik ya da bozulma olmadığını düşündürmektedir. Bu durumda Wistar kontrol grubuna göre WAG/Rij sıçanlarda torasik aorta düz kasında endotele bağlı gevşeme yanıtlarında gözlenen artmanın ya da etosüksimid tedavisine bağlı olarak Wistar sıçanlarda meydana gelen NO aracılı gevşemenin azalmasının torasik aorta düz kasının NO'e cevap verebilirliğinin artması ya da azalması veya cGMP üretimi ile ilgili mekanizmalarda bozukluğa bağlı olmadığı fakat NO sentez, saliverilme ve/veya yıkımında artma veya azalmadan kaynaklanabileceği akla gelmektedir.

Spesifik olmayan T tipi  $Ca^{++}$  kanal blokeri olarak kabul edilen etosüksimidin bugüne kadar *in vitro* ortamda vasküler düz kas reaktivitesi üzerindeki etkisi değerlendirilmemiştir. Çalışmamız, bu açıdan son derece özgündür. Bununla birlikte vasküler yapıda 2 tip (Cav3.1 ve Cav3.2) T tipi  $Ca^{++}$  kanallarının varlığı gösterilmiştir (Abd El-Rahman ve diğ. 2012, Ball ve diğ. 2009, Hansen 2013, Kuo ve diğ. 2010). L tipi kalsiyum kanallarının vasküler tonus üzerindeki rolü ve L tipi kalsiyum kanal blokajının klinik yararları bugün oldukça iyi bilinmekle birlikte T tipi kalsiyum kanallarının vasküler tonus üzerindeki rolü yeterince aydınlatılmamış ve yapılan çalışmalarda elde edilen bulguların çelişkili olduğu görülmektedir. Yapılan bir grup çalışmada, T tipi  $Ca^{++}$  kanallarının kemirgen ve insanlardaki kan damarlarında eksitasyon-kontraksiyon sürecinde rol oynadığı ileri sürülmektedir (Hansen ve diğ. 2001, Abd El-Rahman ve diğ. 2012, Ball ve diğ. 2009, Hansen ve diğ. 2011, Navarro-Gonzalez ve diğ. 2009). Diğer yandan son zamanlarda

yapılan bir çalışma, perfüze fare renal efferent arteriyollerinde T tipi voltaj kapılı kanallarının yüksek konsantrasyonda potasyum ile ortaya çıkan depolarizasyonla indüklenen kalsiyum girişini takiben endotele bağımlı vazodilatasyona katkıda bulunduğunu ileri sürmüştür (Poulsen ve diğ. 2011). Bu çalışmada yüksek konsantrasyonda potasyumun yarattığı depolarizasyon, vasküler düz kastaki kalsiyum kanallarını aktive ederek hücre içi kalsiyumun artmasına yol açmış ve kasılma yanıtı meydana getirmiştir. Fakat Cav3.2. kanalına yüksek selektivite gösteren T tipi kanal antagonisti NiCl<sub>2</sub>, depolarizasyon sonrası spontan vazodilatasyonları bloklamıştır. Fakat gevşemelerin L-NAME uygulamasına bağlı olarak ve eNOS geni silinmiş farelerde inhibe olmasıyla T tipi kanal aracılı vazodilatasyonun endotelial NO üretimine bağlı olduğu ileri sürülmüştür. Cav3.2. T tipi kanalının benzer rolü, Cav3.2. aktivasyonu ve kalsiyum ile indüklenen eNOS aktivasyonuna bağlı endotele bağımlı mekanizmalar aracılığı ile oluşan vazodilatör cevapların oluştuğunun gösteren çalışmalarla ortaya konmuştur ((Figuroa ve diğ. 2007, Chen ve diğ. 2003, Harraz ve diğ. 2014). Cav3.2 geni silinmiş farelerde asetilkolin ve SNP cevaplarına koroner damarların bozulmuş gevşeme yanıtları, T tipi kanalların Ni<sup>2+</sup> ile akut blokajının kontrol hayvanlarda gevşemeleri önlemesi bizim bulgularımızla kısmen uyumludur (Chen ve diğ. 2003). Bizim çalışmamızda da Wistar sıçanlarda etosüksimid, karbakol ile indüklenen endotele bağımlı gevşeme yanıtlarında kontrollere göre azalma meydana getirmiştir.

Diğer yandan son zamanlarda yapılan bir çalışma, periferik direnci yüksek mezenterik arterlerde Cav3.1. T tipi Ca<sup>++</sup> kanallarının NO oluşumunu stimüle ederek endotele bağımlı vazodilatasyona katkıda bulunduğunu açıkça ortaya koymuştur (Svenningsen ve diğ. 2014). Bu çalışmada Cav3.1. geni silinmiş ve kontrol hayvanların izole mezenterik arterleri, yüksek potasyum iyon konsantrasyonu içeren çözelti ile voltaja bağımlı kalsiyum kanallarını aktive etmek için stimüle edilmiştir. Depolarizasyon sonrası meydana gelen dilatasyonların L-NAME uygulamasına bağlı olarak ve eNOS geni silinmiş farelerde inhibe olduğu ve vazodilatasyonun T tipi kanalların açılmasını gerektiren depolarizasyon ile indüklenen eNOS aktivasyonundan kaynaklandığı ileri sürülmüştür. Bu çalışmada Cav3.1. kanallarının endotele bağımlı etkisinin, e-NOS aracılı olduğu, Cav3.1. ve eNOS'un birlikte lokalize olup ve Cav3.1 geni silinmiş farelerde azalmış kalsiyum girişinin depolarizasyon sonrası kontrollere göre üretimi azalmış, NO ve cGMP oluşumuna öncülük ettiği gösterilmiştir. Depolarizasyon, Cav3.1. kanallarının açılmasına ve kanalların açılması da, NO-cGMP yolağının aktive olmasına yol açmıştır. Fakat aynı çalışmada K<sup>+</sup> kasılması sonrası damarların asetilkoline bağlı gevşemesinde Cav3.1. geni silinmiş ve

kontrol fareler arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Bu açıdan bizim bulgularımızdaki farklılık birçok sebebe bağlı olabilir. İlk olarak, T tipi  $Ca^{++}$  kanal aktivitesinin bozulması, T tipi  $Ca^{++}$  kanal blokeri olan farmakolojik bir ajanla meydana gelmiştir. Bu ajanın hangi spesifik T tipi kanalı (alt tip) inhibe ettiği henüz gösterilmemiştir ve kanalın bloke edilmesi kronik tedavi verilmesi yolu ile sağlanmıştır. Ayrıca çalışılan damar, torasik aortadır ve kontraksiyonlar alfa reseptör agonisti fenilefrin ile sağlanmıştır. Fakat sonuçta bulgularımız etosüksimidin diğer bir deyişle T tipi  $Ca^{++}$  kanal blokajının Wistar sıçanlarda torasik aortada endotele bağlı gevşeme yanıtlarını bozarak NO üretimi veya salıverilmesinde azalmaya yol açtığını, dolayısıyla T tipi  $Ca^{++}$  kanallarının endotele bağımlı NO-aracılı vazodilatasyona katkıda bulunduğu fikrini desteklemektedir.

Bulgularımıza göre WAG/Rij sıçanlarda endotele bağımlı NO aracılı vazodilatasyonun Wistar sıçanlara göre anlamlı olarak fazla olması ise oldukça ilginçtir. Bu hayvanların torasik aorta dokularında bilinmeyen bir mekanizma ile NO üretimi veya salıverilmesinde artış olasılığını düşündürmektedir. Absans epilepside T tipi  $Ca^{++}$  kanallarının beyindeki hiperaktivasyonu bilindiğinden (Tsakiridou ve diğ. 1995, Talley ve diğ., Broicher ve diğ. 2007, 2008) T tipi  $Ca^{++}$  kanallarının aktivasyonunun NO üretimini artırarak endotele bağımlı NO aracılı vazodilatasyona katkıda bulunduğu yönündeki yukarıda bahsedilen görüşlerden yol çıkarak, beyinle sınırlı olmayıp, WAG/Rij sıçanlardaki endotele bağımlı NO-aracılı artmış vazodilatasyon, T tipi  $Ca^{++}$  kanallarının torasik aorta dokularında da hiperaktivasyona sahip olabileceği düşüncesini akla getirmektedir. Absans epilepside T tipi  $Ca^{++}$  kanallarının vasküler yapıdaki varlığı, dağılımı, lokalizasyonu, vasküler tonus üzerindeki rolü henüz çalışılmasa da bulgularımızdan yola çıkarak ortaya sürdüğümüz bu varsayımın ileriki çalışmalarda üzerine gitmek isabetli olacaktır. Diğer yandan bu varsayımdan hareket ettiğimizde etosüksimid tedavisi alan WAG/Rij sıçanlarda endotele bağımlı NO aracılı vazodilatasyonun WAG/Rij kontrol grubuna göre farklı olmasını da irdelemek gerekmektedir. Sonuçta verilen etosüksimid tedavi dozunda, sıçanların damarlarındaki T tipi  $Ca^{++}$  kanallarının blokajının ne oranda olduğu bilinmemektedir. Öte yandan, T tipi  $Ca^{++}$  kanallarının aktivasyonundan farklı bilinmeyen bir mekanizmanın WAG/Rij sıçanlarda meydana gelen endotele bağımlı NO-aracılı aşırı vazodilatasyondan sorumlu olduğu düşünülebilir. Verilen NKH tedavisi veya sham uygulamasının da WAG/Rij sıçanlardaki vasküler reaktivite üzerinde farklı bir etkisi olmamıştır.

Çalışmamızda Wistar sıçanlarda etosüksimid tedavisinin izole torasik aorta dokularından yüksek konsantrasyonda (80 mM) KCl ile elde edilen depolarizasyona bağlı

kasılma yanıtlarında kontrollere göre artış saptanması da ilginçtir. Daha önce Cav3.1. geni silinmiş fareler ile kontroller karşılaştırıldığında yüksek KCl'e bağlı vazokonstriksiyonun fare mezenterik arterler (Svenningsen ve diğ. 2014, Bjorling ve diğ. 2013) ve terminal arteriyollerinde değişmediği (Bjorling ve diğ. 2013) bununla birlikte aynı çalışmada Cav3.1. geni silinmiş farelerde L tipi  $Ca^{++}$  kanal blokeri nifedipin ve nifedipinle birlikte Cav.3.2-spesifik blokeri  $NiCl_2$ 'ün KCl'e bağlı kasılma yanıtlarında bir farklılık olmadığı, böylece Cav3.1 veya Cav3.2. T tipi  $Ca^{++}$  kanallarının nifedipine-duyarsız yüksek KCl'e bağlı  $Ca^{++}$  girişine bağlı kasılmalarından sorumlu olmadığı, kasılmaların esas sorumlusunun L tipi  $Ca^{++}$  kanalları olduğu ileri sürülmüştür (Bjorling ve diğ. 2013). Diğer bir çalışmada yüksek konsantrasyonda KCl ile kasılmanın sıçan aortasında L tipi  $Ca^{++}$  kanal blokerleri (verapamil ve nifedipin) ve hem T tipi hem L tipi kanalları bloke eden ilaçlar (efonidipin ve mibefradil) varlığında kontrollere göre azaldığı fakat kasılmalarda kendi aralarında bir fark olmadığı, diğer yandan mezenterik arterlerde ise efonidipin ve mibefradil yanıtlarında verapamil ve nifedipine göre oldukça düşüş olduğu gözlenmiştir (Ball ve diğ. 2009). Bu çalışmalar, KCl'e bağlı kasılmaların büyük oranda L tipi  $Ca^{++}$  kanallarına bağlı olduğunu, vasküler dokuya bağlı olarak T tipi kanalların da kasılmaya katkıda bulunduğunu göstermektedir. Bizim çalışmamızda bu çalışmalardan farklı olarak T tipi  $Ca^{++}$  kanal blokajı *in vitro* ortamda değil, *in vivo* ortamda kronik olarak uygulanarak gerçekleşmiştir. Yukarıdaki çalışmalarla uyumlu olarak beklenen T tipi  $Ca^{++}$  kanal blokajına bağlı olarak KCl ile indüklenen depolarizasyona bağlı  $Ca^{++}$  girişinden kaynaklanan kasılmanın kontrole göre azalması veya kontrolden farklı bulunmaması iken, kasılmanın kontrolden anlamlı olarak fazla olması, vasküler tonusa L tipi  $Ca^{++}$  kanalların katkısını düşündürmektedir. Etosüksimidle yapılan kronik T tipi  $Ca^{++}$  kanal blokajının kompensatuar mekanizmaları harekete geçirerek voltaja bağımlı L tipi  $Ca^{++}$  kanallarının upregülasyonuna yol açarak kasılmaların kontrollerden fazla olmasına yol açtığı akla gelmektedir. WAG/Rij sıçanlarda ise KCl'e bağlı kasılmanın Wistar kontrol grubuna göre azalmasının altında yatan mekanizma bilinmemekle birlikte, WAG/Rij sıçanların damarlarında aşırı T tipi  $Ca^{++}$  kanalı aktivasyonu olduğu varsayımından hareket edilecek olursa, WAG/Rij sıçanlarda depolarizasyona bağlı kasılmada T tipi kanalların gölgesinde kalan L tipi kanalların depolarizasyona bağlı hücre içine  $Ca^{++}$  girişine yeterince aracılık edemediği ve kasılmanın buna bağlı olarak Wistar kontrollerden az olduğu düşünülmektedir. Diğer yandan WAG/Rij sıçanlarda etosüksimid tedavisine bağlı yanıtlar, Wistar kontrollerden farklı bulunmamıştır. Bu bulgu yine kronik T tipi kanal blokajının, L tipi kanalların upregülasyonuna yola açarak kasılmaların Wistar kontrollere benzer olmasına sebep olmuş

olabilir. Ayrıca WAG/Rij sıçanlarda NKH tedavisinin KCl'e bağı kasılmaları, WAG/Rij kontrollere göre neden artırdığı da bilinmemektedir. NKH'lerin WAG/Rij sıçanlarda torasik aorta yapısındaki  $Ca^{++}$  kanallarının aktivasyonuna ve depolarizasyonla indüklenen hücre içine  $Ca^{++}$  girişine bağı kasılmada nasıl bir rol oynadığı aydınlatılabilmiş değildir.



## 6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Çalışmamızda genetik absans epilepsili WAG/Rij sıçanlara uygulanan iki farklı tedavi şeklinin (etosüksimid ve NKH tedavisi) absans epilepside gözlenen DDD oluşumu üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Uygulanan kronik etosüksimid tedavisi, DDD'ları kontrol ve sham gruplarına göre toplam süre, ortalama süre ve sayı açısından anlamlı olarak azaltmıştır. Diğer yandan WAG/Rij sıçanlara ilk kez uygulanan MGE kaynaklı NKH tedavisi de, DDD'ları kontrol ve sham gruplarına göre toplam süre, ortalama süre ve sayı açısından anlamlı ölçüde baskılamıştır. Çalışmamızda NKH'lerin DDD'ları baskılamasının altında yatan olası iki farklı mekanizmanın olabileceği ileri sürülmüştür. Bunlardan ilki absans epilepside özellikle S1po bölgesi ve kortekste azalmış GABAerjik aşırımın NKH'ler sayesinde güçlendirilmesinin sağlanmasıdır. Bu doğrultuda bulgularımız, MGE kaynaklı NKH'lerin *in vitro* ortamda astrosit, nöron, oligodendrosit ve GABAerjik nöronlara farklılaştığını göstermiştir. Fakat bu hipotezin desteklenmesi ve DDD'ların baskılanmasının altında yatan mekanizmanın GABAerjik aşırımın güçlendirilmesinin sağlanması olduğunun söylenebilmesi için, henüz farklılaşmamış olarak sıçanlara verilen NKH'lerin *in vivo* ortamda da GABAerjik nöronlara farklılaştığının gösterilmesine yönelik çalışmaların yapılması gerekmektedir. Diğer yandan DDD'ların baskılanmasında ikinci olası mekanizma olarak düşünülen nöroinflamasyonun NKH'ler aracılığı ile azalıp azalmadığının daha ileri çalışmalar yardımıyla araştırılmasına ihtiyaç vardır. Çalışmamız ayrıca cerrahi müdahalenin DDD'ların baskılanmasında tek başına bir etkisinin olmadığını ortaya koymuştur.

Bugüne kadar absans epilepside kardiyovasküler değişiklikler üzerine yapılmış çok az sayıda çalışma vardır. Bizim çalışmamız literatürdeki bu eksikliğin farkına vararak Wistar ve WAG/Rij sıçanlardaki kardiyovasküler farklılıkları irdelemiş ve uygulanan iki farklı tedavi şeklinin bu sıçanlarda kardiyovasküler değişiklikler üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Bu amaçla sıçanların OAB, KH değerleri ölçülmüş ve vasküler düz kas reaktiviteleri değerlendirilmiştir. Wistar sıçanların OAB değerlerinde gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmemiş, WAG/Rij sıçanların OAB değerleri, Wistar kontrol grubuna göre anlamlı olarak fazla bulunmuştur. Ayrıca NKH tedavisi ve sham uygulanan WAG/Rij sıçanların da OAB değerleri Wistar kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmıştır. WAG/Rij sıçanların kan basınçlarındaki artışın altında yatan sebeplerin yeni çalışmalarla irdelenmesi gerekmektedir. Bu artışın nöbetlerle ilişkili olup olmadığına yönelik daha ileri çalışmaların yapılması önerilmektedir. Grupların KH'ları değerlendirildiğinde yalnızca

Wistar sıçanlara uygulanan etosüksimid tedavisinin KH'nı Wistar kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalttığı saptanmış, diğer gruplar arasında ise KH açısından anlamlı fark bulunmamıştır.

Gruplar kardiyovasküler düz kas reaktivitesi değişiklikleri yönünden de değerlendirilmiştir. Buna göre KCl kasılma yanıtlarında Wistar etosüksimid grubunda Wistar kontrol grubuna göre anlamlı artma, WAG/Rij kontrol grubunda ise anlamlı olarak azalma saptanmıştır. Karbakol aracılı endotele bağımlı gevşeme yanıtlarında WAG/Rij kontrol grubunda Wistar kontrol grubuna göre anlamlı artma gözlenmiştir. Diğer yandan T tipi  $Ca^{++}$  kanal blokeri etosüksimidin Wistar sıçanlarda kontrol grubuna göre endotele bağımlı gevşeme yanıtlarını bozduğu ortaya konmuştur. İki farklı soyda farklı yanıtların alınması ilaca yanıtlarda bireysel/genetik farklılıkların olabileceğini düşündürmektedir. NO aracılı bu yanıtların olası mekanizmalarının ve T tipi kanalların vasküler tonus ve absans epilepsideki vasküler reaktivite üzerindeki etkilerinin irdelenmesi için daha ileri çalışmaların yapılması gerekmektedir. SNP aracılı endotelden bağımsız gevşeme yanıtlarında gruplar arasında anlamlı bir fark ortaya çıkmamıştır.

Sonuç olarak NKH tedavisi absans epilepsi tedavisinde klasik antiepileptik tedaviye alternatif olarak umut vadetmektedir. Ayrıca absans epilepside kardiyovasküler fonksiyonlarda değişiklikler gözlenmekte ve bu değişikliklerin irdelenmesi için daha çok çalışma yapılması gerekmektedir.

## KAYNAKLAR

Abd El-Rahman RR, Harraz OF, Brett SE ve diğ. Identification of L- and T-type Ca<sup>2+</sup> channels in rat cerebral arteries: role in myogenic tone development. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2012; 304(1):H58–H71.

Adickes ED, Folkerth RD, Sims KL. Use of perfusion fixation for improved neuropathologic examination. *Arch Pathol Lab Med*. 1997; 121(11): 1199-1206.

Aker R, Onat FY. Cardiovascular regulation through hypothalamic GABAA receptors in a genetic absence epilepsy model in rat. *Epilepsia*. 2002; 43:107–114.

Akin D, Ravizza T, Maroso M. ve diğ. IL-1 $\beta$  is induced in reactive astrocytes in the somatosensory cortex of rats with genetic absence epilepsy at the onset of spike-and-wave discharges, and contributes to their occurrence. *Neurobiol Dis*. 2011; 44: 259–269.

Akman O, Karson A, Aker, RG ve diğ. Perirhinal cortical kindling in rats with genetic absence epilepsy. *Neurosci Lett*. 2010; 479(1): 74-78.

Altman J. Autoradiographic study of degenerative and regenerative proliferation of neuroglia cells with tritiated thymidine. *Exp Neurol*. 1962; 5: 302-18.

Alvarez-Dolado M, Calcagnotto ME, Karkar KM ve diğ. Cortical inhibition modified by embryonic neural precursors grafted into the postnatal brain. *J Neurosci*. 2006; 26: 7380–7389.

Andrioli A, Alonso-Nanclares L, Arellano JI ve diğ. Quantitative analysis of parvalbumin-immunoreactive cells in the human epileptic hippocampus. *Neuroscience*. 2007; 149: 131–143.

Arias-Olguín II, Vitko I, Fortuna M ve diğ. Characterization of the gating brake in the I-II loop of Ca(v)3.2 T-type Ca(2+) channels. *J Biol Chem*. 2008; 283(13): 8136-8144.

Ascoli GA, Alonso-Nanclares L, Anderson SA ve diğ. Petilla terminology: Nomenclature of features of GABAergic interneurons of the cerebral cortex. *Nat Rev Neurosci*. 2008; 9: 557–568.

Avanzini G, De Curtis M, Marescaux C, Panzica F, Spreafico R, Vergnes M. Role of the thalamic reticular nucleus in the generation of rhythmic thalamocortical activities subserving spike and waves. *J Neural Transm Suppl*. 1992; 35: 85-95.

Avoli M, Gloor P, Kostopoulos G, Gotman J. An analysis of penicillin-induced generalized spike and wave discharges using simultaneous recordings of cortical and thalamic single neurons. *J Neurophysiol*. 1983; 50: 819-837.

Ball CJ, Wilson DP, Turner SP ve diğ. Heterogeneity of L- and T-channels in the vasculature: rationale for the efficacy of combined L- and T-blockade. *Hypertension*. 2009; 53(4):654–660.

Bancaud J. Physiopathogenesis of generalized epilepsies of organic nature (stereoencephalographic study). Gastaut H, Jasper HH, Bancaud J, Waltregny A (Ed). *The Physiopathogenesis of the Epilepsies*. Charles C Thomas Publisher, Springfield, 1969.

Baraban SC, Southwell DG, Estrada RC ve diğ. Reduction of seizures by transplantation of cortical GABAergic interneuron precursors into Kv1.1 mutant mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009; 106: 15472-15477.

Baude A, Nusser Z, Roberts JD ve diğ. The metabotropic glutamate receptor (mGluR1 alpha) is concentrated at presynaptic membrane of neuronal subpopulations as detected by immunogold reaction. *Neuron*. 1993; 11: 771-787.

Bauer J. Seizure-inducing effects of antiepileptic drugs: a review. *Acta Neurol Scand*. 1996; 94: 367-377.



- Bazyan AS, van Luijckelaar G. Neurochemical and behavioral features in genetic absence epilepsy and in acutely induced absence seizures. *ISRN Neurol.* 2013; 875834: 1-48.
- Bergey GK. Evidence-based Treatment of Idiopathic Generalized Epilepsies with New Antiepileptic Drugs. *Epilepsia.* 2005; 46 (Suppl 9): 161-168.
- Ben-Hur T, Einstein O, Mizrachi-Kol R ve diğ. Transplanted multipotential neural precursor cells migrate into the inflamed white matter in response experimental autoimmune encephalomyelitis. *Glia.* 2003; 41: 73–80.
- Bennett FE. Intracarotid and intravertebral metrazol in petit mal epilepsy. *Neurology.* 1953; 3: 668-673.
- Berdiev RK, Chepurinov SA, Veening JG ve diğ. The role of the nucleus basalis of Meynert and reticular thalamic nucleus in pathogenesis of genetically determined absence epilepsy in rats: a lesion study. *Brain Res.* 2007; 1185: 266-274.
- Berg AT, Berkovic SF, Brodie MJ ve diğ. Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005-2009. *Epilepsia.* 2010; 51: 676-685.
- Bernasconi R, Lauber J, Marescaux C ve diğ. 1992. Experimental absence seizures: potential role of gamma-hydroxybutyric acid and GABA-B receptors. *J Neural Transm Suppl.* 1992; 35: 155-177.
- Bhise VV, Burack GD, Mandelbaum DE. Baseline cognition, behavior, and motor skills in children with new-onset, idiopathic epilepsy. *Dev Med Child Neurol.* 2010; 52: 22-26.
- Birioukova LM, Midzyanovskaya IS, Lensu S ve diğ. Distribution of D1-like and D2-like dopamine receptors in the brain of genetic epileptic WAG/Rij rats. *Epilepsy Res.* 2005; 63: 89-96.
- Bjorling K, Morita H, Olsen MF ve diğ. Myogenic tone is impaired at low arterial pressure in mice deficient in the low-voltage-activated Ca(V) 3.1 T-type Ca(2+) channel. *Acta Physiol (Oxf).* 2013; 207(4):709-20.
- Blomquist HK, Zetterlund B. Evaluation treatment in typical absence seizures. The roles of long-term EEG monitoring and ethosuximide. *Acta Paediatr Scand.* 1985; 74: 409-415.
- Blumenfeld H, Klein JP, Schridde U ve diğ. Early treatment suppress the development of spike-wave epilepsy in a rat model. *Epilepsia.* 2008; 49: 400-409.
- Bouwman BM, Suffczynski P, Midzyanovskaya IS ve diğ. The effects of vigabatrin on spike and wave discharges in WAG/Rij rats. *Epilepsy Res.* 2007; 76: 24-40.
- Bowser DN, Wagner DA, Czajkowski C ve diğ. Altered kinetics and benzodiazepine sensitivity of a GABAA receptor subunit mutation [ $\gamma$ 2(R43Q)] found in human epilepsy. *PNAS.* 2002; 99(23): 15170–15175.
- Brodie MJ, Shorvon SD, Canger R ve diğ. Commission on European Affairs: appropriate standards of epilepsy care across Europe: ILEA. *Epilepsia.* 1997; 38: 1245-1250.
- Broicher T, Kanyshkova T, Meuth P ve diğ. Correlation of T-channel coding gene expression, IT, and the low threshold Ca<sup>2+</sup> spike in the thalamus of a rat model of absence epilepsy. *Mol Cell Neurosci.* 2008; 39: 384-399.
- Broicher T, Seidenbecher T, Meuth P ve diğ. T-current related effects of antiepileptic drugs and a Ca<sup>2+</sup> channel antagonist on thalamic relay and local circuit interneurons in a rat model of absence epilepsy. *Neuropharmacology.* 2007; 53: 431-446.
- Brunton LL, Chabner BA, Knollmann BC (Ed) Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. 12. Baski, McGraw-Hill, New York, 2011.

- Buckmaster PS, Jongen-Re<sup>ˆ</sup>lo AI. Highly specific neuron loss preserves lateral inhibitory circuits in the dentate gyrus of kainate-induced epileptic rats. *J Neurosci.* 1999; 19: 9519–9529.
- Budde T, Pape HC. Thalamic Neurons and Networks Related to Absence Epilepsy. Schwartzkroin PA (Ed). *Encyclopedia of Basic Epilepsy Research.* Oxford: Academic Press, 2009.
- Budde T, Caputi L, Kanyshkova, T ve diğ. Impaired regulation of thalamic pacemaker channels through an imbalance of subunit expression in absence epilepsy. *J. Neurosci.* 2005; 25: 9871-9882.
- Butt SJB, Fuccillo M, Nery S ve diğ. The temporal and spatial origins of cortical interneurons predict their physiological subtype. *Neuron.* 2005; 48: 591–604.
- Buzsáki G. The thalamic clock: emergent network properties. *Neuroscience.* 1991; 41: 351-364.
- Calcagnotto ME, Ruiz LP, Blanco MM ve diğ. Effect of neuronal precursor cells derived from medial ganglionic eminence in an acute epileptic seizure model. *Epilepsia.* 2010; 51 Suppl 3:71-5.
- Carbone E, Lux HD. A low voltage-activated, fully inactivating Ca channel in vertebrate sensory neurones. *Nature.* 1984; 310: 501–502.
- Caplan R, Levitt J, Siddarth P ve diğ. Frontal and temporal volumes in Childhood Absence Epilepsy. *Epilepsia.* 2009; 50(11): 2466-2472.
- Caplan R, Siddarth P, Stahl L ve diğ. Childhood absence epilepsy: behavioral, cognitive, and linguistic comorbidities. *Epilepsia.* 2008; 49: 1838-1846.
- Chelland CD, Barker RA, Watts C. Cell therapy in Huntington disease. *Neurosurg Focus.* 2008; 24(3-4): E9.
- Chen CC, Lamping KG, Nuno DW ve diğ. Abnormal coronary function in mice deficient in alpha1H T-type Ca<sup>2+</sup> channels. *Science.* 2003; 302 (5649):1416–1418.
- Chen Y, Lu J, Pan H ve diğ. Association between genetic variation of CACNA1H and childhood absence epilepsy. *Ann Neurol.* 2003; 54: 239 –243.
- Cheong E, Shin HS. T-type Ca<sup>2+</sup> channels in normal and abnormal brain functions. *Physiol Rev.* 2013; 93: 961-992.
- Chipaux M, Charpier S, Polack PO. Chloride-mediated inhibition of the ictogenic neurones initiating genetically-determined absence seizures. *Neuroscience.* 2011; 192: 642-6451.
- Chu K, Kim M, Park KI ve diğ. Human neural stem cells improve sensorimotor deficits in the adult rat brain with experimental focal ischemia. *Brain Res.* 2004; 1016: 145–53.
- Citraro R, Russo E, Di Paola ED ve diğ. Effects of some neurosteroids injected into some brain areas of WAG/Rij rats, an animal model of generalized absence epilepsy. *Neuropharmacology.* 2006; 50: 1059-1071.
- Citraro R, Leo A, Marra R ve diğ. Antiepileptogenic effects of the selective COX-2 inhibitor etoricoxib, on the development of spontaneous absence seizures in WAG/Rij rats. *Brain Res Bull.* 2015; 113 : 1–7.
- Cocito L, Primavera A. Vigabatrin aggravates absences and absence status. *Neurology.* 1998; 51: 1519-1520.
- Coenen AM, van Luijtelaar EL. Genetic animal models for absence epilepsy: a review of the WAG/Rij strain of rats. *Behav Genet.* 2003; 33: 635-655.
- Coenen AM, Blezer EH, van Luijtelaar EL. Effects of the GABA-uptake inhibitor tiagabine on electroencephalogram, spike-wave discharges and behaviour of rats. *Epilepsy Res.* 1995; 21: 89-94.

- Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy. Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes. *Epilepsia*. 1989; 30: 389-99.
- Conant LL, Wilfong A, Inglese C ve diğ. Dysfunction of executive and related processes in childhood absence epilepsy. *Epilepsy Behav*. 2010; 18: 414-423.
- Coppola G, Auricchio G, Federico R ve diğ. Lamotrigine versus valproic acid as first-line monotherapy in newly diagnosed typical absence seizures: an open-label, randomized, parallel-group study. *Epilepsia*. 2004; 45: 1049-1053.
- Cortez MA, Kostopoulos GK, Carter Snead III O. Acute and chronic pharmacological models of generalized absence seizures. *J Neurosci Methods*. 2015; S0165-0270(15)00325-8.
- Coulter DA, Huguenard JR, Prince DA. Characterization of ethosuximide reduction of low-threshold calcium current in thalamic neurons. *Ann Neurol*. 1989; 25: 582-593.
- Covanis A, Gupta AK, Jeavons PM. Sodium valproate: monotherapy and polytherapy. *Epilepsia*. 1982; 23: 693-720.
- Crunelli, V Leresche N. Childhood absence epilepsy: genes, channels, neurons and networks. *Nat. Rev. Neurosci*. 2002; 3: 371- 382.
- D'Amore V, Santolini I, van Rijn CM ve diğ. Potentiation of mGlu5 receptors with the novel enhancer, VU0360172, reduces spontaneous absence seizures in WAG/Rij rats. *Neuropharmacology*. 2013; 66: 330-338.
- Danober L, Deransart C, Depaulis A ve diğ. Pathophysiological mechanisms of genetic absence epilepsy in the rat. *Prog Neurobiol*. 1998; 55(1): 27-27.
- D'Agati E, Cerminara C, Casarelli L ve diğ. Attention and executive functions profile in childhood absence epilepsy. *Brain Dev*. 2012; 34: 812-817.
- De Blasi A, Conn PJ, Pin J ve diğ. Molecular determinants of metabotropic glutamate receptor signaling. *Trends Pharmacol. Sci*. 2001; 22: 114-120.
- de Bittencourt PR, Adamolekun B, Bharucha N ve diğ. Epilepsy in the tropics: I. Epidemiology, socioeconomic risk factors, and etiology. *Epilepsia*. 1996; 37(11): 1121-1127.
- Denninger JW, Marletta MA. Guanylate cyclase and the NO/cGMP signaling pathway. *Biochim Biophys Acta*. 1411. 1999; 334-350.
- de Lanerolle NC, Kim JH, Robbins RJ ve diğ. Hippocampal interneuron loss and plasticity in human temporal lobe epilepsy. *Brain Res*. 1989; 495: 387-395.
- Depaulis A, van Luijtelaar G. Genetic models of absence epilepsy in the rat. Pitkänen A, Schwartzkroin P, Moshe S (Ed). *Models of Seizures and Epilepsy*. Elsevier, Amsterdam, 2006.
- Doetsch F, Caille I, Lim DA ve diğ. Subventricular zone astrocytes are neural stem cells in the adult mammalian brain. *Cell*. 1999; 97(6): 703-16.
- Dreifuss JJ, Kelly JS, Krnjević K. Cortical inhibition and  $\gamma$ -aminobutyric acid. *Expl Brain Res*. 1969; 9: 137-154.
- Einstein O, Fainstein N, Vaknin I ve diğ. Neural precursors attenuate autoimmune encephalomyelitis by peripheral immunosuppression. *Ann Neurol*. 2007; 61: 209-218.
- Ellis P, Fagan BM, Magness ST ve diğ. SOX2, a persistent marker for multipotential neural stem cells derived from embryonic stem cells, the embryo or the adult. *Dev Neurosci*. 2004; 26(2-4): 148-165.

- Engel J. Seizures and epilepsy. F.A. Davis Company, Philadelphia, 1989.
- Engel J. A Proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizures and with epilepsy: report of the ILAE task force on classification and terminology. *Epilepsia*. 2001; 42(6): 796–803.
- Eriksson PS, Perfilieva E, Bjork-Eriksson T ve diğ. Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nat Med*. 1998; 4(11): 1313-7.
- Ernst WL, Zhang Y, Yoo JW ve diğ. Genetic enhancement of thalamocortical network activity by elevating alpha 1g-mediated low-voltage-activated calcium current induces pure absence epilepsy. *J. Neurosci*. 2009; 29, 1615–1625.
- Ferraguti F, Crepaldi L, Nicoletti F. Metabotropic glutamate 1 receptor: current concepts and perspectives. *Pharmacol. Rev*. 2008; 60: 536-581.
- Flames N, Pla R, Gelman DG ve diğ. Delineation of multiple subpallial progenitor domains by the combinatorial expression of transcriptional codes. *J Neurosci*. 2007; 27: 9682–9695.
- Figuroa XF, Chen CC, Campbell KP ve diğ. Are voltage-dependent ion channels involved in the endothelial cell control of vasomotor tone? *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2007; 293(3):H1371–H1383.
- Fisher RS, van Emde Boas W, Blume W ve diğ. Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). *Epilepsia*. 2005; 46(4): 470-472.
- Frank LM, Enlow T, Holmes GL ve diğ. Lamictal (lamotrigine) monotherapy for typical absence seizures in children. *Epilepsia*. 1999; 40: 973-979.
- Freund TF, Buzsáki G. Interneurons of the hippocampus. *Hippocampus*. 1996; 6: 347–470.
- Furchgott RF, JV Zawadzki. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*. 1980; 288(5789): 373–376.
- Gage FH. Mammalian neural stem cells. *Science*. 2000; 287(5457): 1433-1438.
- Gale K. Progression and generalization of seizure discharge: anatomical and neurochemical substrates. *Epilepsia*. 1988; 29 (Suppl 2) :15-34.
- Gauguier D, van Luijtelaar G, Bihoreau MT ve diğ. Chromosomal mapping of genetic loci controlling absence epilepsy phenotypes in the WAG/Rij rat. *Epilepsia*. 2004; 45: 908-915.
- Genton P, Guerrini R, Perucca E. Tiagabine in clinical practice. *Epilepsia*. 2001; 42(S3): 42-45.
- Gernert M, Thompson KW, Löscher W ve diğ. Genetically engineered GABA-producing cells demonstrate anticonvulsant effects and long-term transgene expression when transplanted into the central piriform cortex of rats. *Exp Neurol*. 2002; 176(1): 183-192.
- Gibbs FA, Gibbs EL. Atlas of Electroencephalography. Addison Wesley Publishers, 1952.
- Gilbert TH, Teskey GC. Conventional anticonvulsant drugs in the guinea-pig kindling model of partial seizures: effects of repeated administration. *Exp Brain Res*. 2007; 178: 115-125.
- Giussani G, Cricelli C, Mazzoleni F ve diğ. Prevalence and incidence of epilepsy in Italy based on a nationwide database. *Neuroepidemiology*. 2014; 43(3-4): 228-232.
- Glauser TA, Cnaan A, Shinnar S ve diğ. Ethosuximide, valproic acid, and lamotrigine in childhood absence epilepsy. *N Engl J Med*. 2010; 362: 790-799.

- Glaser TA, Cnaan A, Shinnar S ve diğ. Ethosuximide, valproic acid, and lamotrigine in childhood absence epilepsy: initial monotherapy outcomes at 12 months. *Epilepsia*. 2013; 54: 141-155.
- Gloor P. Generalized cortico-reticular epilepsies: some considerations on the pathophysiology of generalized bilaterally synchronous spike and wave discharge. *Epilepsia*. 1968; 9: 249-263.
- Gloor P. Neurophysiological bases of generalized seizures termed centrencephalic. Gastaut H, Jasper HH, Bancaud J, Waltregny A (Ed). *The Physiopathogenesis of the Epilepsies*. Charles C Thomas Publisher, Springfield, 1969.
- Gloor P, Avoli M, Kostopoulos G. Thalamocortical relationships in generalized epilepsy with bilaterally synchronous spike-and-wave discharge. Avoli M, Gloor P, Kostopoulos G, Naquet R (Ed). *Generalized Epilepsy: Neurobiological Approaches*. Mass: Birkhäuser, Boston, 1990.
- Godwin DW, Van Horn SC, Eiriir A ve diğ. Ultrastructural localization suggests that retinal and cortical inputs access different metabotropic glutamate receptors in the lateral geniculate nucleus. *J. Neurosci*. 1996; 16: 8181-8192.
- Goldman SA, Nottebohm F. Neuronal production, migration, and differentiation in a vocal control nucleus of the adult female canary brain. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1983; 80(8): 2390-2394.
- Gören MZ, Onat F. Ethosuximide: from bench to bedside. *CNS Drug Rev*. 2007; 13: 224-239.
- Gritti A, Cova L, Parati EA ve diğ. Basic fibroblast growth factor supports the proliferation of epidermal growth factor-generated neuronal precursor cells of the adult mouse CNS. *Neurosci Lett*. 1995; 185: 151-154.
- Gritti A, Frolichsthal Schoeller P, Galli R ve diğ. Epidermal and fibroblast growth factors behave as mitogenic regulators for a single multipotent stem cell-like population from the subventricular region of the adult mouse forebrain. *J Neurosci*. 1999; 19: 3287-3297.
- Gritti A, Parati EA, Cova L ve diğ. Multipotent stem cells from the adult mouse brain proliferate and self-renew in response to basic fibroblast growth factor. *J Neurosci*. 1996; 16: 1091-1100.
- Gurbanova AA, Aker R, Berkman K. ve diğ. Effect of systemic and intracortical administration of phenytoin in two genetic models of absence epilepsy. *Br J Pharmacol*. 2006; 148(8): 1076-1082.
- Hammad M, Schmidt SL, Zhang X ve diğ. Transplantation of GABAergic Interneurons into the Neonatal Primary Visual Cortex Reduces Absence Seizures in Stargazer Mice. *Cereb Cortex*. 2015; 25(9):2970-9.
- Hansen DV, Lui JH, Flandin P ve diğ. Non-epithelial stem cells and cortical interneuron production in the human ganglionic eminences. *Nat Neurosci*. 2013; 16: 1576–1587.
- Hansen PB. Functional and pharmacological consequences of the distribution of voltage-gated calcium channels in the renal blood vessels. *Acta Physiol (Oxf)*. 2013;207: 690-699.
- Hansen PB, Jensen BL, Andreassen D ve diğ. Differential expression of T- and L-type voltage-dependent calcium channels in renal resistance vessels. *Circ Res*. 2001; 89(7):630–638.
- Hansen PB, Poulsen CB, Walter S ve diğ. Functional importance of L- and p/q-type voltage-gated calcium channels in human renal vasculature. *Hypertension*. 2011; 58 (3):464–470.
- Harraz OF, Brett SE, Welsh DG ve diğ. Nitric oxide suppresses vascular voltage-gated T-type Ca<sup>2+</sup> channels through cGMP/PKG signaling. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2014; 306(2):H279–H285.
- Harraz OF, Brett SE, Zechariah A ve diğ. Genetic ablation of CaV3.2 channels enhances the arterial myogenic response by modulating the RyR-BKCa axis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2015; 35(8):1843-51.

- Hartl R, Schurer L, Schmid-Schonbein GW ve diğ. Experimental antileukocyte interventions in cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1996; 16: 1108–19.
- Hattiangady B, Rao MS, Shetty AK. Grafting of striatal precursor cells into hippocampus shortly after status epilepticus restrains chronic temporal lobe epilepsy. *Exp Neurol.* 2008; 212: 468-481.
- Hattiangady B, Shuai B, Cai J ve diğ. Increased dentate neurogenesis after grafting of glial restricted progenitors or neural stem cells in the aging hippocampus. *Stem Cells.* 2007; 25: 2104–2117.
- Henkin Y, Sadeh M, Kivity S ve diğ. Cognitive function in idiopathic generalized epilepsy of childhood. *Dev Med Child Neurology.* 2005; 47: 126-132.
- Hirose S, Mitsudome A, Okada M. ve diğ. Epilepsy genetic study group Japan. *Epilepsia.* 2005; 46(S1): 38-43.
- Hitiris N, Brodie MJ. Evidence-based treatment of idiopathic generalized epilepsies with older antiepileptic drugs. *Epilepsia.* 2005; 46(Suppl 9): 149-153.
- Huguenard JR, McCormick DA. Thalamic synchrony and dynamic regulation of global forebrain oscillations. *Trends Neurosci.* 2007; 30: 350–356.
- Huguenard JR, Prince DA. A novel T-type current underlies prolonged Ca<sup>2+</sup>-dependent burst firing in GABAergic neurons of rat thalamic reticular nucleus. *J Neurosci.* 1992; 12:3804 –3817.
- Hunt RF, Girskis KM, Rubenstein JL ve diğ. GABA progenitors grafted into the adult epileptic brain control seizures and abnormal behavior. *Nat Neurosci.* 2013; 16: 692–697.
- Hunt RF, Scheff SW, Smith BN. Regionally localized recurrent excitation in the dentate gyrus of a cortical contusion model of posttraumatic epilepsy. *J Neurophysiol.* 2010; 103: 1490–1500.
- Hunter J, Jasper HH. Effects of thalamic stimulation in unanaesthetized animals. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1949; 1: 305-324.
- Inoue M, Duysens J, Vossen JMH, Coenen AML. Thalamic multiple unit activity underlying spike-wave discharges in anesthetized rats. *Brain Res.* 1993; 612: 35-40.
- Inoue M, van Luijckelaar EL, Vossen JM ve diğ. Visual evoked potentials during spontaneously occurring spike-wave discharges in rats. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1992; 84: 172-179.
- Lavdas A, Grigoriou M, Pachnis V ve diğ. The medial ganglionic eminence gives rise to a population of early neurons in the developing cerebral cortex. *J Neurosci.* 1999; 19(18): 7881-7888.
- Jakus R, Graf M, Ando RD ve diğ. Effect of two noncompetitive AMPA receptor antagonists GYKI 52466 and GYKI 53405 on vigilance, behavior and spike-wave discharges in a genetic rat model of absence epilepsy. *Brain Res.* 2004; 1008: 236-244.
- Jasper HH, Droogleever Fortuyn J. Experimental studies on the functional anatomy of petit mal epilepsy. *Res Publ Assoc Res Nerv Ment Dis.* 1947; 26: 272-298.
- Jasper HH, Kershman J. Electroencephalographic classification of the epilepsies. *Arch Neurol Psychiatry.* 1941; 45: 903-943.
- Jay GW, Leestma JE. Sudden death in epilepsy: a comprehensive review of the literature and proposed mechanisms. *Acta Neurol Scand.* 1981; 63(suppl 82): 1-66.
- Jeong SW, Chu K, Jung KH ve diğ. Human neural stem cell transplantation promotes functional recovery in rats with experimental intracerebral hemorrhage. *Stroke.* 2003; 34: 2258–63.

- Johansson CB, Svensson M, Wallstedt L ve diğ. Neural stem cells in the adult human brain. *Exp Cell Res.* 1999; 253(2), 733-6.
- Kaila K. Ionic basis of GABAA receptor channel function in the nervous system. *Prog Neurobiol.* 1994; 42: 489-537.
- Karler R, Murphy V, Calder LD ve diğ. Pentylentetrazol kindling in mice. *Neuropharmacology.* 1989; 28: 775-780.
- Kamiski RM, Van Rijn CM, Turski WA ve diğ. AMPA and GABA(B) receptor antagonists and their interaction in rats with a genetic form of absence epilepsy. *Eur. J. Pharmacol.* 2001; 430: 251-259.
- Kang J, Macdonald RL. The GABAA receptor  $\gamma 2$  subunit R43Q mutation linked to childhood absence epilepsy and ebrile seizures causes retention of  $\alpha 1\beta 2\gamma 2S$  receptors in the endoplasmic reticulum. *J. Neurosci.* 2004; 24(40): 8672-8677.
- Karimzadeh F, Soleimani M, Mehdizadeh M ve diğ. Diminution of the NMDA receptor NR2B subunit in cortical and subcortical areas of WAG/Rij rats. *Synapse.* 2013; 67(12): 839-846.
- Karson AB, Aker R, Ates N ve diğ. Cardiovascular effects of intracerebroventricular bicuculline in rats with absence seizures. *Epilepsy Res.* 1999; 34:231-239.
- Kayaalp SO (Ed) Akılcı Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Pelikan Yayıncılık, Ankara, 2012.
- Kelly KM, Gross RA, Macdonald RL. Valproic acid selectively reduces the low-threshold (T) calcium current in rat nodose neurons. *Neurosci Lett.* 1990; 116: 233-238.
- Khosravani H, Zamponi, GW. Voltage-gated calcium channels and idiopathic generalized epilepsies. *Physiol Rev.* 2006; 86: 941-966.
- Kim D, Song I, Keum S ve diğ. Lack of the burst firing of thalamocortical relay neurons and resistance to absence seizures in mice lacking alpha(1G) T-type  $Ca^{2+}$  channels. *Neuron.* 2001; 31, 35-45.
- Knake S, Hamer HM, Schomburg U ve diğ. Tiagabine-induced absence status in idiopathic generalized epilepsy. *Seizure.* 1999; 8: 314-317.
- Kobayashi M, Buckmaster PS. Reduced inhibition of dentate granule cells in a mouse model of temporal lobe epilepsy. *J Neurosci.* 2003; 23: 2440-2452.
- Kole M.H, Bräuer AU, Stuart GJ. Inherited cortical HCN1 channel loss amplifies dendritic calcium electrogenesis and burst firing in a rat absence epilepsy model. *J Physiol.* 2007; 578: 507- 525.
- Kornblum HI. Introduction to Neural Stem Cells. *Stroke.* 2007; 2(38): 810-816.
- Kovacs Z, Kékesi KA, Szilagyı N ve diğ. Facilitation of spike-wave discharge activity by lipopolysaccharides in Wistar Albino Glaxo/Rijswijk rats. *Neuroscience.* 2006; 140: 731-742.
- Kovacs Z, Czurko A, Kekesi, KA ve diğ. Intracerebroventricularly administered lipopolysaccharide enhances spike-wave discharges in freely moving WAG/Rij rats. *Brain Res Bull.* 2011; 85: 410-416.
- Kovacs Z, Dobolyi A, Juhasz G ve diğ. Lipopolysaccharide induced increase in seizure activity in two animal models of absence epilepsy WAG/Rijand GAERS rats and Long Evans rats. *Brain Res Bull.* 2014; 104: 7-18.
- Kukekov VG, Laywell ED, Suslov O ve diğ. Multipotent stem/progenitor cells with similar properties arise from two neurogenic regions of adult human brain. *Exp Neurol.* 1999; 156(2), 333-44.
- Kuo IY, Ellis A, Seymour VA ve diğ. Dihydropyridine-insensitive calcium currents contribute to function of small cerebral arteries. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2010; 30: 1226-1239.

- Kwan P1, Brodie MJ. Early identification of refractory epilepsy. *N Engl J Med.* 2000; 342(5): 314-319.
- Laso W, Przewlocka B, Van Luijtelaaar G ve diğ. Proenkephalin and prodynorphin mRNA level in brain of rats with absence epilepsy. *Neuropeptides.* 1994; 27: 343-347.
- Laywell ED, Rakic P, Kukekov VG ve diğ. Identification of a multipotent astrocytic stem cell in the immature and adult mouse brain. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000; 97(25): 13883-8.
- Lee ST, Chu K, Jung KH ve diğ. Intravenous administration of human neural stem cells induces functional recovery in Huntington's disease rat model. *Neurosci Res.* 2005; 52(3): 243-249.
- Lee ST, Chu K, Jung KH ve diğ. Anti-inflammatory mechanism of intravascular neural stem cell transplantation in haemorrhagic stroke. *Brain.* 2007; 131(Pt 3): 616-29.
- Liang J, Zhang Y, Chen Y ve diğ. Common polymorphisms in the CACNA1H gene associated with childhood absence epilepsy in Chinese Han population. *Ann Hum Genet.* 2007; 71:325-335.
- Liang J, Zhang Y, Wang J ve diğ. New variants in the CACNA1H gene identified in childhood absence epilepsy. *Neurosci Lett.* 2006; 406:27-32.
- Liu XB, Coble J, van Luijtelaaar G ve diğ. Reticular nucleus-specific changes in alpha3 subunit protein at GABA synapses in genetically epilepsy-prone rats. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007; 104: 12512-12517.
- Liu, XB, Murray KD, Jones EG. Low-threshold calcium channel subunit Ca(v) 3.3 is specifically localized in GABAergic neurons of rodent thalamus and cerebral cortex. *J Comp Neurol.* 2011; 519: 1181-1195.
- Liu Z, Vergnes M, Depaulis A ve diğ. Evidence for a critical role of GABAergic transmission within the thalamus in the genesis and control of absence seizures in the rat. *Brain Res.* 1991; 545: 1-7.
- Liu Z, Vergnes M, Depaulis A ve diğ. Involvement of intrathalamic GABAB neurotransmission in the control of absence seizures in the rats. *Neuroscience.* 1992; 48: 87-93.
- Llina's R, Yarom Y. Electrophysiology of mammalian inferior olivary neurones in vitro. Different types of voltage-dependent ionic conductances. *J Physiol.* 1981; 315: 549-567.
- Luhmann HJ, Mittmann T, van Luijtelaaar G ve diğ. Impairment of intracortical GABAergic inhibition in a rat model of absence epilepsy. *Epilepsy Res.* 1995; 22: 43-51.
- Lüders H, Lesser RP, Dinner DS, Morris HH III. Generalized epilepsies: a review. *Cleve Clin Q.* 1984; 51: 205-226.
- Lüttjohann A, Schoffelen JM, van Luijtelaaar G. Peri-ictal network dynamics of spike-wave discharges: phase and spectral characteristics. *Exp Neurol.* 2013; 239: 235-247.
- Lüttjohann A, Zhang S, de Peijper R ve diğ. Electrical stimulation of the epileptic focus in absence epileptic WAG/Rij rats: assessment of local and network excitability. *Neuroscience.* 2011; 188: 125-34.
- Ma T, Wang C, Wang L ve diğ. Subcortical origins of human and monkey neocortical interneurons. *Nat Neurosci.* 2013; 16: 1588-1597.
- Mangoni ME, Traboulsie A, Leoni AL ve diğ. Bradycardia and slowing of the atrioventricular conduction in mice lacking CaV3.1/alpha1G T-type calcium channels. *Circ Res.* 2006; 98(11):1422-1430.
- Manning JP, Richards DA, Bowery NG. Pharmacology of absence epilepsy. *Trends Pharmacol Sci.* 2003; 24(10): 542-549.
- Manning JPA, Richards DA, Leresche N ve diğ. Cortical-area specific block of genetically determined absence seizures by ethosuximide. *Neuroscience.* 2004; 123: 5-9.



- Marini C, Scheffer I, Crossland K. Genetic architecture of idiopathic generalized epilepsy: clinical genetic analysis of 55 multiplex families. *Epilepsia*. 2004;45:467–478.
- Martino G, Pluchino S. The therapeutic potential of neural stem cells. *Nat Rev Neurosci*. 2006; 7: 395-406.
- Masur D, Shinnar S, Cnaan A ve diğ. Childhood Absence Epilepsy Study Group. Pretreatment cognitive deficits and treatment effects on attention in childhood absence epilepsy. *Neurology*. 2013; 81: 1572-1580.
- McKay R. Stem cells in the central nervous system. *Science*. 1997; 276(5309): 66-71.
- Meeren H, van Luijtelaar G, Lopes de Silva F ve diğ. Evolving concepts on the pathophysiology of absence seizures: the cortical focus theory. *Arch Neurol*. 2005; 62: 371-376.
- Meeren HK, Pijn JP, Van Luijtelaar EL ve diğ. Cortical focus derives widespread corticothalamic networks during spontaneous absence seizures in rats. *J Neurosci*. 2002; 22: 1480-1495.
- Meeren HK, van Cappellan van Walsum AM, van Luijtelaar EL ve diğ. Auditory evoked potentials from auditory cortex, medial geniculate nucleus, and inferior colliculus during sleep-wake states and spike-wave discharges in the WAG/Rij rat. *Brain Res*. 2001; 898: 321-331.
- Merlo D, Mollinari C, Inaba Y ve diğ. Reduced GABA-B receptor subunit expression and paired-pulse depression in a genetic model of absence seizures. *Neurobiol Dis*. 2007; 25: 631-641.
- Midzyanovskaya IS, Kuznetsova GD, van Luijtelaar EL ve diğ. The brain 5HTergic response to an acute sound stress in rats with generalized (absence and audiogenic) epilepsy. *Brain Res Bull*. 2006; 69: 631-638.
- Mirsky AF ve Tecce JJ. The analysis of visual evoked potentials during spike-wave EEG activity. *Epilepsia*. 1968; 9: 211-220.
- Monnerie H, Hsu FC, Coulter DA ve diğ. Role of the NR2A/2B subunits of the N-methyl-D-aspartate receptor in glutamate-induced glutamic acid decarboxylase alteration in cortical GABAergic neurons in vitro. *Neuroscience*. 2010; 171: 1075-1090.
- Morison RS, Dempsey EW. A study of thalamocortical relations. *Am J Physiol*. 1942; 135: 281-292.
- Navarro-Gonzalez MF, Grayson TH, Meaney KR ve diğ. Non-L-type voltage-dependent calcium channels control vascular tone of the rat basilar artery. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2009; 36(1):55–66.
- Newman MB, Bakay RA. Therapeutic potentials of human embryonic stem cells in Parkinson's disease. *Neurotherapeutics*. 2008; 5: 237-251.
- Niedermeyer E. Primary (idiopathic) generalized epilepsy and underlying mechanisms. *Clin Electroencephalogr*. 1996; 27: 1-21.
- Niedermeyer E. The Generalized Epilepsies: A Clinical Electroencephalographical Study. Charles C Thomas Publisher, Springfield, 1972.
- Ngomba RT, Ferraguti F, Badura A ve diğ. Positive allosteric modulation of metabotropic glutamate 4 (mGlu4) receptors enhances spontaneous and evoked absence seizures. *Neuropharmacology*. 2008; 54: 344-354.
- Ngomba RT, Santolini I, Biagioni F ve diğ. Protective role for type-1 metabotropic glutamate receptors against spike and wave discharges in the WAG/Rij rat model of absence epilepsy. *Neuropharmacology*. 2011a; 60: 1281-1291.
- Ngomba RT, Santolini I, Salt T ve diğ. Metabotropic glutamate receptors as potential targets for the treatment of absence epilepsy. *Epilepsia*. 2011b; 52: 1211-1222.

Ngomba RT, Santolini I, Molinaro G ve diğ. Protective role for type-1 metabotropic glutamate receptors against spike and wave discharges in the WAG/Rij rat model of absence epilepsy. *Neuropharmacology*. 2011c; 60: 1281- 1291.

Ngomba RT, Biagioni F, Casciato S ve diğ. The preferential mGlu2/3 receptor antagonist, LY341495, reduces the frequency of spike-wave discharges in the WAG/Rij rat model of absence epilepsy. *Neuropharmacology*. 2005; 49: 89-103.

Panayiotopoulos CP. Absence epilepsies. Engel JJ, Pedley TA (Ed) *Epilepsy: a comprehensive textbook*. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 1997.

Panayiotopoulos CP. Treatment of typical absence seizures and related epileptic syndromes. *Paediatr Drugs*. 2001; 3: 379-403.

Parker MA, Anderson JK, Corliss DA ve diğ. Expression profile of an operationally-defined neural stem cell clone. *Exp Neurol*. 2005; 94(2): 320-332.

Pavone P, Bianchini R, Trifiletti RR ve diğ. Neuropsychological assessment in children with absence epilepsy. *Neurology*. 2001; 56: 1047-1051.

Peeters BW, Kerbusch JM, Coenen AM ve diğ. Genetics of spike-wave discharges in the electroencephalogram (EEG) of the WAG/Rij inbred rat strain: a classical mendelian crossbreeding study. *Behav Genet*. 1992; 22: 361-368.

Penfield W. Epileptic automatisms and the centrencephalic integrating system. *Res Publ Assoc Res Nerv Ment Dis*. 1952; 30: 513-528.

Penfield WG, Jasper HH. *Epilepsy and the Functional Anatomy of the Human Brain*. Little Brown & Co, Boston, 1954.

Perez-Reyes E. Molecular physiology of low-voltage-activated t-type calcium channels. *Physiol Rev*. 2003; 83:117–161.

Pin JP, Duvoisin R. The metabotropic glutamate receptors: structure and functions. *Neuropharmacology*. 1995; 34: 1-26.

Pleasure SJ, Anderson S, Hevner R ve diğ. Cell migration from the ganglionic eminences is required for the development of hippocampal GABAergic interneurons. *Neuron*. 2000; 28: 727–740.

Pluchino S, Quattrini A, Brambilla E ve diğ. Injection of adult neurospheres induces recovery in a chronic model of multiple sclerosis. *Nature*. 2003; 422: 688–94.

Pluchino S, Zanotti L, Rossi B ve diğ. Neurosphere-derived multipotent precursors promote neuroprotection by an immunomodulatory mechanism. *Nature*. 2005; 436: 266–271.

Polack PO, Guillemain I, Hu E ve diğ. Deep layer somatosensory cortical neurons initiate spike-and-wave discharges in a genetic model of absence seizures. *J Neurosci*. 2007; 27: 6590–6599.

Polack PO, Mahon S, Chavez M ve diğ. Inactivation of the somatosensory cortex prevents paroxysmal oscillations in cortical and related thalamic neurons in a genetic model of absence epilepsy. *Cereb Cortex*. 2009a; 19(9): 2078-91.

Polack PO, Charpier S. Ethosuximide converts ictogenic neurons initiating absence seizures into normal neurons in a genetic model. *Epilepsia*. 2009b; 50: 1816–1820.

Pothion S, Bizot JC, Trovero F ve diğ. Strain differences in sucrose preference and in the consequences of unpredictable chronic mild stress. *Behav Brain Res*. 2004; 155: 135-146.

- Poulsen CB, Al-Mashhadi RH, Cribbs LL ve diğ. T-type voltage-gated calcium channels regulate the tone of mouse efferent arterioles. *Kidney Int.* 2011; 79(4):443–451.
- Powell KL, Jones NC, Kennard JT ve diğ. HCN channelopathy and cardiac electrophysiologic dysfunction in genetic and acquired rat epilepsy models. *Epilepsia.* 2014. 55(4):609-20.
- Power C, Henry S, Del Bigio MR ve diğ. Intracerebral hemorrhage induces macrophage activation and matrix metalloproteinases. *Ann Neurol.* 2003; 53: 731–42.
- Prince DA, Farrell D. “Centrencephalic” spike-wave discharges following parenteral penicillin injections in the cat. *Neurology.* 1969; 19: 309-310.
- Przewlocka B, Laso W, Turchan J ve diğ. Anatomical and functional aspects of mu opioid receptors in epileptic WAG/Rij rats. *Epilepsy Res.* 1998; 29: 167-173.
- Przewlocka B, Laso W, van Luijtelaaar G ve diğ. The role of nitric oxide in genetic model of absence epilepsy in rats. *Neurosci. Res. Comm.* 1996; 2: 125-131.
- Raedt R, Van Dycke A, Vonck K ve diğ. Cell therapy in models for temporal lobe epilepsy. *Seizure.* 2007; 16: 565-578.
- Rao MS, Hattiangady B, Rai KS ve diğ. Strategies for promoting anti-seizure effects of hippocampal fetal cells grafted into the hippocampus of rats exhibiting chronic temporal lobe epilepsy. *Neurobiol Dis.* 2007; 27: 117-132.
- Reynolds BA, Tetzlaff W, Weiss S. A multipotent EGF-responsive striatal embryonic progenitor cell produces neurons and astrocytes. *J Neurosci.* 1992; 12: 4565-4574.
- Reynolds BA, Weiss S. Generation of neurons and astrocytes from isolated cells of the adult mammalian central nervous system. *Science.* 1992; 255(5052): 1707-1710.
- Rimoli MG, Russo E, Cataldi M ve diğ. T-type channel blocking properties and antiabsence activity of two imidazo[1,2-b]pyridazine derivatives structurally related to indomethacin. *Neuropharmacology.* 2009; 56(3): 637-646.
- Rodin E, Ancheta O. Cerebral electrical fields during petit mal absences. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1987; 66: 457-466.
- Rogawski MA, Bazil CW. New molecular targets for antiepileptic drugs: alpha(2)delta, SV2A, and K(v)7/KCNQ/M potassium channels. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2008; 8: 345-352.
- Rudolf G, Bihoreau MT, Godfrey RF ve diğ. Polygenetic control of idiopathic generalized epilepsy phenotypes in the genetic absence rats from Strasbourg (GAERS). *Epilepsia.* 2004; 45: 301-308.
- Russo E, Andreozzi F, Iuliano R ve diğ. Early molecular and behavioral response to lipopolysaccharide in the WAG/Rij rat model of absence epilepsy and depressive-like behavior, involves interplay between AMPK, AKT/mTOR pathways and neuroinflammatory cytokine release. *Brain Behav Immun.* 2014; 42: 157–168.
- Russo E, Citraro R, Donato G ve diğ. mTOR inhibition modulates epileptogenesis, seizures and depressive behavior in a genetic rat model of absence epilepsy. *Neuropharmacology.* 2013; 69: 25–36.
- Russo E, Citraro R, Scicchitano F ve diğ. Comparison of the antiepileptogenic effects of an early long-term treatment with ethosuximide or levetiracetam in a genetic animal model of absence epilepsy. *Epilepsia.* 2010; 51(8):1560-9.
- Sadighi M, Shahabi P, Oryan S ve diğ. Effect of low frequency electrical stimulation on spike and wave discharges of perioral somatosensory cortex in WAG/Rij rats. *Pathophysiology.* 2013; 20(3): 171-176.

- Sanai N, Tramontin AD, Quinones-Hinojosa A ve diğ. Unique astrocyte ribbon in adult human brain contains neural stem cells but lacks chain migration. *Nature*. 2004; 427(6976): 740-4.
- Sarkisova KY, Kuznetsova GD, Kulikov MA ve diğ. Spike-wave discharges are necessary for the expression of behavioral depression-like symptoms. *Epilepsia*. 2010; 51(1): 146-160.
- Sarkisova K, van Luijckelaar G. The WAG/Rij strain: A genetic model of absence epilepsy with comorbidity of depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2011; 35(4): 854-876.
- Schridde U, Strauss U, Bräuer AU ve diğ. Environmental manipulations early in development alter seizure activity, Ih and HCN1 protein expression later in life. *Eur J Neurosci*. 2006; 23: 3346-3358.
- Seidenbecher T, Pape HC. Contribution of intralaminar thalamic nuclei to spike-and-wave-discharges during spontaneous seizures in a genetic rat model of absence epilepsy. *Eur J Neurosci*. 2001; 13: 1537-1546
- Seidenbecher T, Staak R, Pape H-C. Relations between cortical and thalamic cellular activities during absence seizures in rats. *Eur J Neurosci*. 1998; 10: 1103- 1112.
- Seneviratne U, Cook M, D'Souza W. The prognosis of idiopathic generalized epilepsy. *Epilepsia*. 2012; 53:2079-2090.
- Shetty AK. Progenitor cells from the CA3 region of the embryonic day 19 rat hippocampus generate region-specific neuronal phenotypes in vitro. *Hippocampus*. 2004; 14: 595-614.
- Shetty AK, Rao MS, Hattiangady B. Behavior of hippocampal stem/progenitor cells following grafting into the injured aged hippocampus. *J Neurosci Res*. 2008; 86: 3062-3074.
- Shetty AK, Zaman V, Hattiangady B. Repair of the injured adult hippocampus through graft-mediated modulation of the plasticity of the dentate gyrus in a rat model of temporal lobe epilepsy. *J Neurosci*. 2005; 25: 8391-8401.
- Shi Y, Sun G, Zhao C ve diğ. Neural stem cell self-renewal. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2008; 65, 43-53.
- Sitnikova E, Kulikova S, Birioukova L ve diğ. Cellular neuropathology of absence epilepsy in the neocortex: a population of glial cells rather than neurons is impaired in genetic rat model. *Acta Neurobiol Exp (Wars)*. 2011; 71: 263-268.
- Sitnikova E, van Luijckelaar G. Cortical control of generalized absence seizures: effect of lidocaine applied to the somatosensory cortex in WAG/Rij rats. *Brain Res*. 2004; 1012: 127-137.
- Staak R, Pape HC. Contribution of GABA(A) and GABA(B) receptors to thalamic neuronal activity during spontaneous absence seizures in rats. *J Neurosci*. 2001; 21(4):1378-84.
- Strauss U, Kole MH, Bräuer AU ve diğ. An impaired neocortical Ih is associated with enhanced excitability and absence epilepsy. *Eur J Neurosci*. 2004; 19: 3048-3058.
- Svenningsen P, Andersen K, Thuesen AD ve diğ. T-type Ca(2+) channels facilitate NO-formation, vasodilatation and NO-mediated modulation of blood pressure. *Pflugers Arch*. 2014; 466(12):2205-14.
- Swartz BE, Houser CR, Tomiyasu U ve diğ. Hippocampal cell loss in posttraumatic human epilepsy. *Epilepsia*. 2006; 47: 1373-1382.
- Talley EM, Cribbs LL, Lee JH ve diğ. Differential distribution of three members of a gene family encoding low voltage-activated (T-type) calcium channels. *J Neurosci*. 1999; 19: 1895-1911.
- Talley EM, Solo' rzano G, Depaulis A ve diğ. Low voltage-activated calcium channel subunit expression in a genetic model of absence epilepsy in the rat. *Brain Res Mol Brain Res*. 2000; 75: 159 -165.

- Temkin O. *The Falling Sickness. A History of Epilepsy from the Greeks to the Beginnings of Modern Neurology* (2. Baskı). Johns Hopkins Press, Baltimore, 1971.
- Tsakiridou E, Bertollini L, de Curtis M ve diğ. Selective increase in T-type calcium conductance of reticular thalamic neurons in a rat model of absence epilepsy. *J Neurosci*. 1995; 15: 3110-3117.
- Vanasse CM, Be'land R, Carmant L ve diğ. Impact of childhood epilepsy on reading and phonological processing abilities. *Epilepsy Behav*. 2005; 7: 288–296.
- van Luijtelaar ELJM, Coenen AML. Effects of remacemide and its metabolite FPL 12495 on spike-wave discharges, Electroencephalogram and behaviour in rats with absence epilepsy. *Neuropharmacology*. 1995, 34; 419-425.
- van Luijtelaar ELJM, Wiaderna D, Elants C ve diğ. Opposite effects of T- and L-type Ca<sup>2+</sup> channels blockers in generalized absence epilepsy. *Eur J Pharmacol*. 2000; 406: 381-389.
- van Luijtelaar, G, Lyashenko S, Vastyanov R ve diğ. Cytokines and absence seizures in a genetic rat model. *Neurophysiology*. 2012; 43: 478–486.
- van Luijtelaar G, Mishra AM, Edelbroek P ve diğ. Anti-epileptogenesis: Electrophysiology, diffusion tensor imaging and behavior in a genetic absence model. *Neurobiol Dis*. 2013; 60: 126-138.
- van Luijtelaar G, Sitnikova E, Lüttjohann A. On the origin and suddenness of absences in genetic absence models. *Clin EEG Neurosci*. 2011; 42: 83–97.
- van Rijn CM, van Raay-Selten A, Willems E ve diğ. Endogenous amino acid neurotransmitters in the brains of rats with and without spike-wave discharges. *Epilepsia*. 1996; 37 (S4): 136.
- Vergnes M, Marescaux C, Lannes B ve diğ. Interhemispheric desynchronization of spontaneous spike-wave discharges by corpus callosum transection in rats with petit mal-like epilepsy. *Epilepsy Res*. 1989; 4: 8–13.
- Verrotti A, Cerminara C, Domizio S ve diğ. Levetiracetam in absence epilepsy. *Dev Med Child Neurol*. 2008; 50: 850-853.
- Vitko I, Bidaud I, Arias JM ve diğ. The I–II loop controls plasma membrane expression and gating of Cav3.2 T-Type Ca<sup>2+</sup> channels: A paradigm for childhood absence epilepsy mutations *JNeurosci*. 2007; 27(2): 322-330.
- Waldau B, Hattiangady B, Kuruba R ve diğ. Medial Ganglionic Eminence-Derived Neural Stem Cell Grafts Ease Spontaneous Seizures and Restore GDNF Expression in a Rat Model of Chronic Temporal Lobe Epilepsy. *Stem Cells*. 2010; 28: 1153–1164.
- Wilfong A, Schultz R. Zonisamide for absence seizures. *Epilepsy Res*. 2005; 64: 31-34.
- Wirrell EC, Camfield CS, Camfield PR ve diğ. Long-term psychosocial outcome in typical absence epilepsy: sometimes a wolf in sheeps' clothing. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 1997; 15: 152–158.
- Wu YY, Mujtaba T, Rao MS (2002). Isolation of stem and precursor cells from fetal tissue. *Methods Mol Biol*. 2002; 198: 29–40.
- Xie X, Lancaster B, Peakman T ve diğ. Interaction of the antiepileptic drug lamotrigine with recombinant rat brain type IIA Na<sup>+</sup> channels and with native Na<sup>+</sup> channels in rat hippocampal neurones. *Pflugers Arch*. 1995; 430: 437-446.
- Yananli HR, Terzioğlu B, Goren MZ ve diğ. Extracellular hypothalamic gamma-aminobutyric acid (GABA) and L-glutamic acid concentrations in response to bicuculline in a genetic absence epilepsy rat model. *J Pharmacol Sci*. 2008;106(2):301-9.

Zhang H, Park Y, Wu J ve diğ. Role of TNF-alpha in vascular dysfunction. *Clin Sci (Lond)*.2009; 116(3): 219-230.

Zhang Y, Vilaythong AP, Yoshor D ve diğ. Elevated thalamic low-voltage-activated currents precede the onset of absence epilepsy in the SNAP25-deficient mouse mutant coloboma. *J Neurosci*. 2004; 24: 5239 – 5248.

Zheng TW, O'Brien TJ, Morris MJ ve diğ. Rhythmic neuronal activity in S2 somatosensory and insular cortices contribute to the initiation of absence-related spike-and-wave discharges. *Epilepsia*. 2012; 53: 1948-1958.

Zhou C, Tai C, Ye HH ve diğ. Interleukin-1 beta downregulates the L-type Ca<sup>2+</sup> channel activity by depressing the expression of channel protein in cortical neurons. *J Cell Physiol*. 2006; 206: 799-806.



## ÖZGEÇMİŞ

### 1. Bireysel Bilgiler

**Adı Soyadı:** Tuğçe Demirtaş Şahin

**Doğum Yeri ve Tarihi:** İzmit, 31.08.1987

**Uyruğu:** T.C.

**Medeni Durumu:** Evli

**Çalıştığı Kurum:** Kocaeli Üniversitesi

**İletişim Adresi ve Telefonu:** Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Umuttepe Kampüsü, KOCAELİ/İZMİT 0262 303 72 60

### 2. Eğitim

**2011-2016:** Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji-Doktora

**2005-2010:** Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi-Lisans (ANKARA)

**2007-2008:**Erasmus Değişim Programı-Lisans:L'université du Droit et de la Sante de Lille 2, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques (FRANSA)

**2001-2005:** Kocaeli Anadolu Lisesi

**Yabancı dili:** İngilizce, Fransızca

### 3. Ünvan

Araştırma Görevlisi, Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı 2011-

### 4. Mesleki Deneyim

**03/2010-05/2010:**İDE İlaç Danışmanlık Eğitim ANKARA

#### Stajlar:

**08/2009- 09/2009:**NOVARTİS/ Üretim- Katı Formlar Kurtköy-İSTANBUL

**07/2008- 08/2008:**Tradiphar S.A Lille/FRANSA

**02/2010- 05/2010:**Üner Eczanesi ANKARA

**07/2007- 08/2007:**Körfez Eczanesi KOCAELİ

## 5. Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

Türk Farmakoloji Derneği

## 6. Bilimsel Etkinlikler

### Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

1.Şahin TD, Karson A, Balcı F, Yazır Y, Bayramgürler D, Utkan T. TNF-alpha inhibition prevents cognitive decline and maintains hippocampal BDNF levels in the unpredictable chronic mild stress rat model of depression. *Behav Brain Res.* 2015; 292:233-40.

2.Demirtaş T, Utkan T, Karson A, Yazır Y, Bayramgürler D, Gacar N. The link between unpredictable chronic mild stress model for depression and vascular inflammation? *Inflammation.* 2014; 37(5):1432-8.

3. Karson A, Demirtaş T, Bayramgürler D, Balcı F, Utkan T. Chronic Administration of Infliximab (TNF- $\alpha$  Inhibitor) Decreases Depression and Anxiolytic Behaviour in Rat Model of Chronic Mild Stress. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2013; 112: 335-340.

4. Mutlu O, Gümürlü E, Ulak G, Komsuoğlu Çelikyurt İ, Akar F, Bektaş E, Demirtaş T, Kır HM, Musul MM, Erden F. Antidepressant-Like Activity of Agomelatine in the Mouse Unpredictable Chronic Mild Stress Model. *Drug Develop Res*, 2013; 74: 203-215.

### Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (*Proceedings*) basılan bildiriler

1. Demirtaş T, Utkan T, Gocmez SS, Karson A. Effects of chronic etanercept, a TNF inhibitor, on cognitive dysfunction in cafeteria diet-fed rats. *European Neuropsychopharmacology, Volume 25, Supplement 2, September 2015, Page S342-S343.* 28th ECNP Congress 29 August-1 September, 2015, Amsterdam, Hollanda. (Poster Sunumu)

2. Demirtaş T, Arkan S, Karson A, Utkan T. Effect of chronic etanercept (a TNF- $\alpha$  inhibitor) treatment on depressive-like behaviour in aged rats. *European Neuropsychopharmacology, Volume 25, Supplement 2, September 2015, Page S241-S242.* 28th ECNP Congress 29 August-1 September, 2015, Amsterdam, Hollanda. (Poster Sunumu)

3. Demirtaş T, Yazır Y, Utkan T, Karson A, Bayramgürler D. Penile constitutive nitric oxide synthase expression in depressed rats exposed to unpredictable chronic mild stress: role of inflammation. *European Neuropsychopharmacology, Volume 25, Supplement 2, September 2015, Page S563.* 28th ECNP Congress 29 August-1 September, 2015, Amsterdam, Hollanda. (Poster Sunumu)

4. Gocmez S, Demirtaş T, Aksoz E, Utkan T, Gacar N. Protective effects of an extract of propolis in scopolamine-induced cognitive impairment in rats. *European*



*Neuropsychopharmacology, Volume 25, Supplement 2, September 2015, Page S286.* 28th ECNP Congress 29 August-1 September, 2015, Amsterdam, Hollanda. (Poster Sunumu)

**5.** Yazir Y, **Demirtas T**, Gocmez SS, Utkan T, Gacar N. Effect of resveratrol on penile neuronal and endothelial nitric oxide synthase expression in chronic unpredictable mild stress depression model. *European Neuropsychopharmacology, Volume 25, Supplement 2, September 2015, Page S572.* 28th ECNP Congress 29 August-1 September, 2015, Amsterdam, Hollanda. (Poster Sunumu)

**6.** Utkan T, **Demirtas T**, Aksoz E, Arkan S. Chronic etanercept treatment exerts antidepressant-like effect in cafeteria diet-fed rats. *European Neuropsychopharmacology, Volume 25, Supplement 2, September 2015, Page S264.* 28th ECNP Congress 29 August-1 September, 2015, Amsterdam, Hollanda.(Poster Sunumu)

**7.** Aksoz E, Gocmez SS, **Demirtas T**, Utkan T. Protective effects of metformin in scopolamine-induced cognitive impairment in rats. *European Neuropsychopharmacology, Volume 25, Supplement 2, September 2015, Page S350-S351.* 28th ECNP Congress 29 August-1 September, 2015, Amsterdam, Hollanda.(Poster Sunumu)

**8.** Utkan T, Yazir Y, **Demirtas T**, Karson A. Effects of etanercept on vascular dementia in aged rats. *European Neuropsychopharmacology, Volume 25, Supplement 2, September 2015, Page S591.* 28th ECNP Congress 29 August-1 September, 2015, Amsterdam, Hollanda.(Poster Sunumu)

**9.** **Sahin TD**, Utkan T, Aksoz E, Karson A. Etanercept Treatment Prevents Emotional Memory Deficits of Cafeteria Diet-Fed Rats. *Biological Psychiatry, Volume 77, Supplement S, May 2015, Page 338.* 70th Biological Psychiatry Congress 14-16 May, 2015, Toronto, Kanada. (Poster Sunumu)

**10.** **Sahin TD**, Utkan T, Aksoz E, Karson A. Effect of Etanercept, a TNF-alpha Inhibitor, on Depressive-Like Behavior in Cafeteria Diet-Fed Rats. *Biological Psychiatry, Volume 77, Supplement S, May 2015, Page 133.* 70th Biological Psychiatry Congress 14-16 May, 2015, Toronto, Kanada. (Poster Sunumu)

**11.** Utkan T, Yazir Y, **Sahin TD**, Karson A. The Relationship Between Ageing-Induced Dementia and Inflammation. *Biological Psychiatry, Volume 77, Supplement S, May 2015, Page 333.* 70th Biological Psychiatry Congress 14-16 May, 2015, Toronto, Kanada. (Poster Sunumu)

**12.** **Demirtas T**, Utkan T, Yazir Y, Karson A, Balci F, Bayramgurler D. Infliximab rescues cognitive impairment induced by unpredictable chronic mild stress in a rat model of depression. *European Neuropsychopharmacology, Volume 24, Supplement 2, October 2014, Page S321-S322.* 27th ECNP Congress 18-21 October, 2014, Berlin, Almanya.(Poster Sunumu)

**13. Demirtaş T**, Gacar G, Gacar N, Utkan T, Akpınar B, Unal ZS, Yazir Y, Karaöz E. Resveratrol effects on mesenchymal stem cell proliferation and differentiation. *Proceedings of the 6th European Congress of Pharmacology, July 2012, Page 19-23*. 6th EPHAR Congress. 17-20 July. Granada, İspanya(Poster Sunumu)

**14. Demirtaş T**, Gacar G, Utkan T, Gacar N, Akpınar B, Karaoz E, Utkan Z. Potential of resveratrol in anticancer therapy. *Proceedings of the 6th European Congress of Pharmacology, July 2012, Page 25-28*. 6th EPHAR Congress. 17-20 July. Granada, İspanya(Poster Sunumu)

**15. Mutlu O**, Ulak G, Celikyurt I, Akar F, **Demirtaş T**, Bektaş E, Erden F. Effect of haloperidol on MK-801-induced memory deterioration in the Morris water maze and radial-arm maze tests in mice. *Proceedings of the 6th European Congress of Pharmacology, July 2012, Page 239-242*. 6th EPHAR Congress. 17-20 July. Granada, İspanya(Poster Sunumu)

**16. Mutlu O**, Ulak G, Gumuslu E, Çelikyurt İ, Akar F, Bektaş E, **Demirtaş T**, Kır HM, Musul M, Erden F. Antidepressant-like activity of agomelatine in the Mouse unpredictable chronic mild stressed model. *Proceedings of the 6th European Congress of Pharmacology, July 2012, Page 243-246*. 6th EPHAR Congress. 17-20 July. Granada, İspanya(Poster Sunumu)

**17. Celikyurt İK**, Mutlu O, Ulak G, Akar FY, Bektaş E, **Demirtaş T**, Tanyeri P, Erden F. Effects of haloperidol on memory in naïve and MK-801-injected mice in passive avoidance and elevated plus maze tests. *European Neuropsychopharmacology, Volume 22, Supplement 2, October 2012, Page S344*. 25th ECNP Congress 13-17 October, 2012, Viyana, Avusturya (Poster Sunumu)

### **Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler**

**1. Demirtaş T**, Utkan T, Karson A, Yazır Y, Bayramgürler D. Gacar N. Öngörülemeyen Kronik Hafif Stres Uygulanmış Sıçanlarda Vasküler Düz Kas Reaktivitesi ve Kan Basıncı Değişiklikleri Üzerinde İnflksimabın Etkilerinin Araştırılması. 22. Ulusal Farmakoloji Kongresi, s101. 4-7 Kasım 2013, Antalya (Sözlü Sunum)

**2. Demirtaş T**, Karson A, Yazır Y, Utkan T, Balcı F, Bayramgürler D. İnflksimabın Öngörülemeyen Kronik Hafif Stres Uygulanmış Sıçanlarda Bozulmuş Bilişsel Fonksiyonlar Üzerindeki Etkisinin Araştırılması. 22. Ulusal Farmakoloji Kongresi, s324. 4-7 Kasım, 2013, Antalya (Poster Sunumu)

**3. Aksöz E**, Göçmez SS, **Demirtaş T**, Utkan T. Skopolaminle indüklenmiş hafıza bozukluğunda metforminin etkileri. 23. Ulusal Farmakoloji Kongresi, s325. 7-10 Eylül, 2015, Ankara. (Poster Sunumu)

**4. Göçmez SS**, Aksöz E, **Demirtaş T**, Utkan T. Propolis ekstresinin sıçanlarda skopolaminin bozduğu kognitif fonksiyonlar üzerine etkileri. 23. Ulusal Farmakoloji Kongresi, s353. 7-10 Eylül, 2015, Ankara. (Poster Sunumu)

5. Utkan T, **Demirtaş Şahin T**, Arkan S, Karson A, Ateş N. Genetik absans epilepsi modelinde yaşa bağlı öğrenme-bellek bozukluklarında TNF-alfa inhibitörü etanerseptin etkilerinin araştırılması. 23. Ulusal Farmakoloji Kongresi, s356. 7-10 Eylül, 2015, Ankara. (Poster Sunumu)

6.**Demirtaş Şahin T**, Utkan T, Aksoz E, Arkan S. Kafeterya diyetle beslenen obez sıçanlarda TNF-alfa inhibitörü etanerseptin depresyon-benzeri davranış üzerindeki etkilerinin araştırılması. 23. Ulusal Farmakoloji Kongresi, s360. 7-10 Eylül, 2015, Ankara. (Poster Sunumu)

7.**Demirtaş Şahin T**, Utkan T, Aksoz E, Karson A. Etanerseptin (TNF-alfa inhibitörü) kafeterya diyetle beslenen obez sıçanlarda bozulmuş kognitif fonksiyonlar üzerindeki etkilerinin araştırılması. 23. Ulusal Farmakoloji Kongresi, s361. 7-10 Eylül, 2015, Ankara. (Poster Sunumu)

8. Utkan T, **Demirtaş Şahin T**. Kafeterya diyetle beslenen obez sıçanlarda vasküler düz kas reaktivitesi üzerinde TNF- $\alpha$  inhibitörü etanerseptin etkilerinin araştırılması. 23. Ulusal Farmakoloji Kongresi, s310. 7-10 Eylül, 2015, Ankara. (Poster Sunumu)

## **Burslar**

**11/2014-02/2016** : TÜBİTAK Doktora Bursu, Genetik absans epilepsili WAG/Rij sıçanlarda kardiyovasküler değişiklikler üzerinde kök hücre tedavisi ve klasik tedavinin etkilerinin araştırılması (Proje No: SBAG 114S481)

## **Ödüller**

1- Yayın Teşvik Ödülü (01/2016, Kocaeli Üniversitesi)

2- Burs Ödülü (08/2015, 28th European college of neuropsychopharmacology (ECNP) Congress, Amsterdam/HOLLANDA) ‘Penile constitutive nitric oxide synthase expression in depressed rats exposed to unpredictable chronic mild stress: role of inflammation’ adlı çalışma

3- Burs Ödülü (08/2015, 28th European college of neuropsychopharmacology (ECNP) Congress, Amsterdam/HOLLANDA) ‘Effect of chronic etanercept (a TNF- $\alpha$  inhibitor) treatment on depressive-like behaviour in aged rats’ adlı çalışma

4- Burs Ödülü (08/2015, 28th European college of neuropsychopharmacology (ECNP) Congress, Amsterdam/HOLLANDA) ‘Effects of chronic etanercept, a TNF- $\alpha$  inhibitor, on cognitive dysfunction in cafeteria diet-fed rats’ adlı çalışma

5- Burs Ödülü (08/2015, 28th European college of neuropsychopharmacology (ECNP) Congress, Amsterdam/HOLLANDA) ‘Chronic etanercept treatment exerts antidepressant-like effect in cafeteria diet-fed rats’ adlı çalışma

**6-** Burs Ödülü (08/2015, 28th European college of neuropsychopharmacology (ECNP) Congress, Amsterdam/HOLLANDA) ‘Effects of etanercept on vascular dementia in aged rats’ adlı çalışma

**7-** Burs Ödülü (08/2015, 28th European college of neuropsychopharmacology (ECNP) Congress, Amsterdam/HOLLANDA) ‘Effect of resveratrol on penile neuronal and endothelial nitric oxide synthase expression in chronic unpredictable mild stress depression model’ adlı çalışma

**8-**Burs Ödülü (10/2014, 27th European college of neuropsychopharmacology (ECNP) Congress, Berlin/ALMANYA) ‘Infliximab rescues cognitive impairment induced by unpredictable chronic mild stress in a rat model of depression’ adlı çalışma

### **Destekli Projeler**

**1-**Genetik absans epilepsili WAG/Rij sıçanlarda kardiyovasküler değişiklikler üzerinde kök hücre tedavisi ve klasik tedavinin etkilerinin araştırılması (TÜBİTAK, 01/11/2014-devam ediyor, Proje No: SBAG 114S481) Bursiyer

**2-** Genetik absans epileptik WAG/Rij sıçanlarda kognitif ve behevoral fonksiyonlar üzerinde kök hücre tedavisi ve klasik tedavinin etkilerinin araştırılması (Kocaeli Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi, 01/10/2014-devam ediyor, Proje No: 2014/082) Yardımcı Araştırmacı

**3-**Genetik absans epileptik WAG/Rij sıçanlarda behevoral ve kognitif fonksiyonlar üzerinde TNF-alfa inhibitörlerinin etkilerinin araştırılması.(Kocaeli Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi, 17/09/2015-devam ediyor, Proje No: 2015/033) Yardımcı Araştırmacı



T.C.  
**KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ**  
**HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU**



<b>PROJE NO:</b> 2014 /12 <b>BAŞVURU BİLGİLERİ</b>	<b>ARAŞTIRMANIN ADI</b>	Genetik absans epilepsili Wag/Rij sıçanlarda kardiyovasküler değişiklikler üzerinde kök hücre tedavisi ve klasik tedavinin etkilerinin araştırılması
	<b>SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ADI KURUMU</b>	Prof. Dr. Tijen UTKAN /KOU Tıp Fak
	<b>YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR</b>	Prof. Dr. Erdal KARAÖZ, Yrd. Doç.Dr. Ayye KARSON, Arş.Gör. Tuğçe DEMİRTAŞ, Uzm. Bio. Zehra Seda ÜNAL HALBUTOĞULLARI, Doç. Dr. Yusufhan YAZER

<b>DEĞERLENDİRİLEN BELGE</b>	<b>ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ ve EKLERİ</b>	X
------------------------------	--------------------------------------	---

<b>KARAR BİLGİLERİ</b>	Yukarıda başvuru bilgileri bulunan araştırma projesi Kocaeli Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesine dayanarak gerekece, amaç, yaklaşım ve yöntemler açısından incelenmiş olup, araştırmanın yürütülmesinin etik açıdan uygun olduğu kararlaştırılmıştır.	
	<b>KARAR NO:</b> KOU HADYEK 3/7-2014	<b>KARAR TARİHİ:</b> 25.03.2014

<b>ETİK KURUL ÜYELERİ</b>			
<b>ÜNVANI/ADI SOYADI ETİK KURUL GÖREVİ</b>	<b>BİRİMİ</b>	<b>TOPLANTIYA KATILMA</b>	<b>KARARA KATILMA İMZA</b>
Prof. Dr. İlhan TARKUN Başkan	Kocaeli Üniversitesi (KOU) Tıp Fakültesi İç Hastalıkları AD	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Doç. Dr. Mine ŞEHİRALTI Başkan Vekili, Raportör	KOU Tıp Fakültesi Tıp Tarihi ve Deontoloji AD	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Prof. Dr. Tijen UTKAN Üye	KOU Deney Hayvanları Araştırma Birimi, Tıp Fakültesi Farmakoloji AD	<input type="checkbox"/> Katıldı <input checked="" type="checkbox"/> Katılmadı	
Doç. Dr. Ülkem CİLASUN Üye	KOU Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi AD	<input type="checkbox"/> Katıldı <input checked="" type="checkbox"/> Katılmadı	
Yrd. Doç. Dr. Fevzi UÇKAN Üye	KOU Fen-Edebiyat Fakültesi Genel Biyoloji AD	<input type="checkbox"/> Katıldı <input checked="" type="checkbox"/> Katılmadı	
Prof. Dr. Zafer CANTÜRK Üye	KOU Tıp Fakültesi Genel Cerrahi AD	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Prof. Dr. Güner ULAK Üye	KOU Tıp Fakültesi Farmakoloji AD	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Prof. Dr. Helda YARDIMOĞLU YILMAZ Üye	KOU Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD	<input type="checkbox"/> Katıldı <input checked="" type="checkbox"/> Katılmadı	
Doç. Dr. Murat KASAP Üye	KOU Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Veteriner Hekim Cüneyt Özer Üye	KOU Deney Hayvanları Araştırma Birimi	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Veteriner Hekim Akın Ziya ÜNAL Üye	Hayvan Hekimleri Derneği Veterinerler Odası	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Asiye ASLAN Üye	Emekli Öğretmen	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	

## Tez Denetleme Listesi

Tez, aşağıdaki denetimler yapılarak tamamlanmıştır.

- Kapak ve iç kapak sayfalarında BİLİM UZMANLIĞI ya da DOKTORA şeklinde elde edilen unvanlar yazıldı (Kapak sayfasına danışman adı yazılmamalıdır).
- Kapak sayfasına mezun olunan PROGRAMIN (Anabilim dalının değil) adı yazıldı.
- Tez kapağı sırt kısmına kılavuzda belirtilen çizimde (yazının yönüne dikkat!) ad, program, yıl yazıldı.
- Onay sayfası uygun çizimde hazırlandı (kazanılan unvanlar BİLİM UZMANLIĞI ya da DOKTORA olmalıdır) imzalatıldı (Enstitü Müdürü'nün imzası da gereklidir, imzaların aynı renk kalemle atılmasına dikkat edilmelidir).
- Dizinler kılavuzda belirtildiği gibi sıralandı.
- Ön sayfalara i, ii, iii şeklinde Roma rakamları konuldu.
- Sayfa numaraları kılavuzda belirtildiği şekilde konuldu.
- Sayfa düzeni kılavuzda belirtildiği şekilde yapıldı.
- Ana metin yazı boyutu 12 olacak biçimde basıldı.
- Dipnot yazı boyutu 10 olacak şekilde basıldı.
- Ana metin satır aralığı 1.5 olacak şekilde yazıldı.
- Kaynaklar abecesel sıralamaya göre yazıldı.
- Kaynak gösterme ilkelerine ve yazım kurallarına uyuldu.
- Ekler kılavuzda belirtildiği gibi verildi.

..... / ..... / 2016

Danışman

İmza