

**T.C.**  
**Ondokuz Mayıs Üniversitesi**  
**Tıp Fakültesi**  
**Fizyoloji Anabilim Dalı**

**TUTUŞMA MODELİ EPİLEPSİDE GAP JUNCTION  
BLOKERLERİNİN ANTİEPİLEPTİK İLAÇLARLA  
ETKİLEŞİMİ**

**Dr. Fatih SEFİL**

**UZMANLIK TEZİ**

**Tez Danışmanı**

**Prof. Dr. Faruk BAĞIRICI**

**SAMSUN/ 2010**

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bir bilim insanı olarak yetişmemde bana örnek olan ve yol gösteren danışman hocam Sayın Prof. Dr. Faruk BAĞIRICI'ya; tecrübelerini bizden esirgemeyen ve bilimsel düşünmeyi bizlere aşıl原因 Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Cafer MARANGOZ'a; üzerimde emeği geçen değerli hocalarım Prof. Dr. Niyazi TAŞCI, Prof. Dr. Erdal AĞAR ve Prof. Dr. Mustafa AYYILDIZ'a; tez çalışmalarımda her zaman desteğini gördüğüm Doç. Dr. Ramazan KOZAN'a; tecrübelerinden faydalandığım Doç. Dr. M. Ömer BOSTANCI'ya; tez çalışmalarımı birlikte yürüttüğüm ve her konuda bana yardımcı olan Dr. M. Dilek ACAR'a; hoşgörülerini ve manevi desteklerini esirgemeyen çalışma arkadaşlarım Dr. A. Erguvan ARIK, Dr. Gökhan ARSLAN ve Dr. Kübra ALICI'ya; zorluklara göğüs germemde her zaman yanımda olan ve hoşgörüsünü esirgemeyen sevgili eşim Dr. Nebihat SEFİL'e; ayrıca bu çalışmayı, PYO.TIP.1904.09.010 kodlu proje olarak destekleyen Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Destek Fonu'na da teşekkür ederim.

# İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
Teşekkür.....	I
İçindekiler .....	II
Tablo Listesi .....	V
Şekil Listesi.....	VI
<b>ÖZET</b> .....	<b>VIII</b>
Anahtar Kelimeler.....	IX
ABSTRACT.....	X
Key Words .....	XI
<b>1. GİRİŞ ve AMAÇ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>6</b>
2.1. Gap Junctionlar.....	6
2.1.1. Beyindeki Gap Junctionlar.....	8
2.1.2. Gap Junctionlar ve Epilepsi .....	10
2.2. Beyin Korteksi .....	12
2.2.1. Beyin Korteksindeki Hücre Tipleri.....	12
2.2.2. Beyin Korteksinin Tabakaları.....	15
2.2.3. Beyin Korteksi Piramidal Hücrelerinin Özellikleri .....	17
2.2.4. EEG ve Çözümlemesi .....	19
2.2.5. Deneysel Epilepsi Modelleri.....	22
2.3. Epilepsi .....	26
2.3.1. Epilepsi ve Epileptik Sendromların Sınıflandırılması .....	26
2.3.2. Antiepileptik İlaçlar .....	27
2.4. Tutuşma Modeli.....	33

2.4.1. Elektriksel Tutuşma .....	33
2.4.2. Kimyasal Tutuşma .....	34
<b>3. GEREÇ ve YÖNTEM .....</b>	<b>37</b>
3.1. Deney Hayvanları ve Pentilentetrazol Tutuşma Modelinin Oluşturulması ....	38
3.2. Cerrahi Operasyon .....	39
3.3. Elektrofizyolojik Kayıtların Alınması .....	42
3.4. İlaçlar ve Veriliş Yolları .....	44
3.5. Deney Grupları .....	44
3.6. İstatistiksel Analiz.....	45
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>45</b>
4.1. Karbenoksolon Doz Çalışması.....	46
4.2. Davranış Parametrelerinin Değerlendirilmesi .....	48
4.2.1. Tutuşmuş hayvanlarda 35 mg/kg PTZ'nin davranış parametrelerine Etkisi .....	48
4.2.2. Tutuşmuş hayvanlarda 300 mg/kg valproik asit proflaksisinin davranış parametrelerine etkisi.....	51
4.2.3. Tutuşmuş hayvanlarda 60 mg/kg fenitoin proflaksisinin davranış parametrelerine etkisi.....	51
4.2.4. Tutuşmuş hayvanlarda 40 mg/kg karbenoksolon proflaksisinin davranış parametrelerine etkisi .....	52
4.2.5. Tutuşmuş hayvanlarda valproik asit-karbenoksolon kombinasyonun davranış parametrelerine etkisi .....	52
4.2.6. Tutuşmuş hayvanlarda fenitoin-karbenoksolon kombinasyonun davranış parametrelerine etkisi .....	52
4.3. Elektrofizyolojik Kayıtların Değerlendirilmesi .....	53
4.3.1. Valproik asit proflaksisinin epileptiform aktiviteye etkisi .....	53
4.3.2. Fenitoin proflaksisinin epileptiform aktiviteye etkisi .....	55

4.3.3. Karbenoksolon proflaksisinin epileptiform aktiviteye etkisi.....	57
4.3.4. Valproik asit-karbenoksolon proflaksisinin epileptiform aktiviteye etkisi .....	59
4.3.5. Fenitoin-karbenoksolon proflaksisinin epileptiform aktiviteye etkisi .....	61
4.3.6. DMSO'nun epileptik aktiviteye etkisi .....	63
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>64</b>
<b>6. SONUÇ .....</b>	<b>75</b>
<b>7. KAYNAKLAR .....</b>	<b>77</b>

## TABLO LİSTESİ

	<b>Sayfa</b>
<b>Tablo I.</b> EEG dalgaları .....	21
<b>Tablo II.</b> PTZ grubu nöbet skoru ve miyoklonik jerk latensi değerleri .....	49
<b>Tablo III.</b> Gruplarda miyoklonik jerk latenslerinin ortalama ve standart hata değerleri .....	49

# ŞEKİL LİSTESİ

## Sayfa

Şekil 1: Gap junctionların fiziksel yapısı .....	7
Şekil 2: Gap junctionların elektron mikroskopik görüntüsü .....	8
Şekil 3. Beynin kortikal tabakaları .....	14
Şekil 4. Davranışların skorlandığı cam gözlem kafesi .....	38
Şekil 5. Cerrahi operasyonda ve vida elektrotların yerleştirilmesinde kullanılan malzemeler.....	39
Şekil 6. Kafatasına yerleştirilen vida elektrotlar .....	39
Şekil 7. Stereotaksik cihaz ve hayvanın yerleştirilmiş görüntüsü .....	40
Şekil 8. Vidaların yerleştirileceği koordinatların kalemle işaretlenmesi ve elektrotların yerleştirilmiş görüntüsü .....	40
Şekil 9. PowerLab veri kazanım sistemi ve bağlantıları .....	41
Şekil 10. Elektrofizyolojik kayıtların alınmasında kullanılan paket program ve kayıt anından bir görüntü .....	42
Şekil 11. Epileptik aktivitenin spike frekansı ve amplitüd değerlerinin hesaplanmasında kullanılan kayıt programının işlem pencerelerinden bir görüntü.....	42
Şekil 12. İlaçların verilme sırasını gösteren zaman çizelgesi .....	43
Şekil 13. 10, 20 ve 40 mg/kg karbenoksolonun nöbet skoruna etkileri.....	45
Şekil 14. 10, 20 ve 40 mg/kg karbenoksolonun miyoklonik jerk latenslerine etkileri	46
Şekil 15. 10, 20 ve 40 mg/kg karbenoksolonun 30 dakika süresince ortalama toplam spike sayılarına etkisi.....	46
Şekil 16. Karbenoksolon doz çalışması .....	47
Şekil 17. Tutuşma sürecinde nöbet skorunun enjeksiyon sayısına göre değişimi.....	48
Şekil 18. Tüm grupların ortalama nöbet skoru değerlerinin karşılaştırılması .....	50
Şekil 19. Tüm gruplarda miyoklonik jerk görülme yüzdeleri. ....	50
Şekil 20. Tüm gruplarda jeneralize nöbet görülme yüzdeleri .....	51

<b>Şekil 21.</b> Valproik asitin spike frekansına etkisi .....	53
<b>Şekil 22.</b> Valproik asit grubunda PTZ grubuna göre spike frekans yüzde değişimi .....	53
<b>Şekil 23.</b> Valproik asit proflaksisinin epileptiform aktiviteye etkisi.....	54
<b>Şekil 24.</b> Fenitoinin spike frekansına etkisi.....	55
<b>Şekil 25.</b> Fenitoin grubunda PTZ grubuna göre spike frekans yüzde değişimi.....	55
<b>Şekil 26.</b> Fenitoin proflaksisinin epileptiform aktiviteye etkisi .....	56
<b>Şekil 27.</b> Karbenoksolonun spike frekansına etkisi.....	57
<b>Şekil 28.</b> Karbenoksolon grubunda PTZ grubuna göre spike frekans yüzde değişimi...	57
<b>Şekil 29.</b> 40 mg/kg karbenoksolonun epileptiform aktiviteye etkisi.....	58
<b>Şekil 30.</b> Valproik asit-karbenoksolon proflaksisinin spike frekansına etkisi.....	59
<b>Şekil 31.</b> Valproik asit-karbenoksolon grubunda PTZ grubuna göre spike frekans yüzde değişimi .....	59
<b>Şekil 32.</b> 40 mg/kg karbenoksolon-300 mg/kg valproik asit kombinasyon grubunun EEG kayıtlarının PTZ, valproik asit ve 40 mg/kg karbenoksolon grupları ile karşılaştırılması.....	60
<b>Şekil 33.</b> Fenitoin-karbenoksolon proflaksisinin spike frekansına etkisi.....	61
<b>Şekil 34.</b> Fenitoin-karbenoksolon proflaksisinin grubunda PTZ grubuna göre spike frekans yüzde değişimi .....	61
<b>Şekil 35.</b> Fenitoin ve karbenoksolon-fenitoin kombinasyon grubunun EEG kayıtlarının karşılaştırılması.....	62



# TUTUŞMA MODELİ EPİLEPSİDE GAP JUNCTION BLOKERLERİNİN ANTİEPİLEPTİK İLAÇLARLA ETKİLEŞİMİ

## ÖZET

**Dr. Fatih SEFİL, Samsun/2010**

Tutuşma, başlangıçta nöbet oluşturmeyen elektriksel veya kimyasal uyarının tekrar tekrar uygulanması ve nöbet aktivitesinin artarak jeneralize nöbete dönüşmesiyle oluşturulan epilepsi modelidir. Kimyasal tutuşma oluşturmak için kullanılan en yaygın maddelerden birisi pentilentetrazoldur (PTZ).

Nöronların kontrolsüz eş zamanlı deşarjlarının epileptik nöbetlerin oluşumunda kritik öneme sahip olduğu düşünülmektedir. Bu kontrolsüz deşarjların altında yatan mekanizmalar ise henüz tam olarak belirlenememiştir. Bununla birlikte son yıllarda, hücreler arasında sinyal iletimini sağlayan gap junctionların nöronal senkronizasyonda önemli bir role sahip olduğu ileri sürülmektedir. Bu çalışma bir gap junction blokeri olan karbenoksolonun PTZ tutuşma modelindeki etkileri ve bu modelde karbenoksolonun bazı antiepileptik ilaçlarla (valproik asit ve fenitoin) etkileşimini araştırmak için planlandı.

Çalışmada 12-16 haftalık albino Wistar cinsi sıçanlar kullanıldı. Öncelikle hayvanlara haftada üç kez 35 mg/kg i.p. PTZ tutuşma gerçekleştirilene kadar verildi. Daha sonra anestezi altında tutuşmuş sıçanların kafataslarına EEG kaydı almayı sağlayacak kalıcı vida elektrotlar yerleştirildi. Cerrahiden sonra hayvanların iyileşmesi için en az beş gün beklendi.

Karbenoksolon 40 mg/kg i.p. dozunda jeneralize nöbet oluşumunu %50 oranında önledi. 20 ve 40 mg/kg karbenoksolon spike sıklığını azalttı.

Karbenoksolon-valproik asit kombinasyonu valproik asite göre sadece miyoklonik jerk oluşum yüzdesinde anlamlı bir azalmaya neden oldu. Diğer parametrelerde ise anlamlı bir fark bulunmadı.

Bütün parametreler değerlendirildiğinde karbenoksolon-fenitoin kombinasyon grubu ve fenitoin grubu arasında fark yoktu.

Sonuç olarak karbenoksolonun valproik asit ve fenitoin ile kombine edilmesi bu ilaçların tek başlarına kullanılmasından daha etkili değildir.

## **ANAHTAR KELİMELER**

1. Pentilentetrazol kindling
2. Gap junction
3. Nöronal senkronizasyon
4. Karbenoksolon
5. EEG

# **INTERACTION BETWEEN GAP JUNCTION BLOCKERS AND ANTIEPILEPTIC DRUGS IN KINDLING MODEL OF EPILEPSY**

## **ABSTRACT**

**Dr. Fatih SEFİL, Samsun/2010**

Kindling is a model of epilepsy produced by repeated administration of an initially sub-convulsive electrical or chemical stimulus that results in an increase in seizure activity, culminating in a generalized seizure. Pentylentetrazol (PTZ) is one of the most commonly used substances to form chemical kindling.

It has been proposed that abnormal synchronization of neuronal discharges have critical importance in seizures; however, the mechanisms underlying this pathologic synchrony are undefined. However in recent years, gap junctions providing intracellular signal transmission are suggested to have an essential role in neuronal synchronization. The present study was planned to investigate both the effects of carbenoxolone (a gap junction blocker) and interaction between carbenoxolone and some antiepileptic drugs (valproic acid and phenytoin) on PTZ kindling.

Wistar albino rats, 12-16 weeks old were used in the study. Firstly, animals were given PTZ 35 mg/kg, i.p. three times a week until kindling was produced. Then, permanent screw electrodes allowing EEG monitoring from conscious animals were placed into the cranium of kindled rats under anesthesia, after which animals were allowed at least five days to recover from surgery.

Carbenoxolone 40 mg/kg i.p. prevented generalized seizures by %50 in PTZ kindling seizures. Carbenoxolone 20 and 40 mg/kg i.p. decreased spike frequency.

Carbenoxolone-valproic acid combination significantly reduced the percentage of myoclonic jerk generation compared to valproic acid. Yet, there was no significant difference between carbenoxolone-valproic acid combination and valproic acid on other parameters.

There was no significant difference between carbenoxolone-phenytoin combination and phenytoin on all parameters.

The results indicate that carbenoxolone combination with valproic acid and phenytoin are not more effective than the use of these drugs alone.

## **KEY WORDS**

1. Pentylentetrazole kindling
2. Gap junction
3. Neuronal synchronization
4. Carbenoxolone
5. EEG

# 1. GİRİŞ ve AMAÇ

Dünya Sağlık Örgütü, epilepsiyi beyinde aşırı uyarılabilir hale gelmiş bir nöron topluluğunun, tekrarlayıcı karakterde, anormal deşarjlarına bağılı olarak, ani ve geçici motor, duyuşal, otonomik veya psişik olaylarla sonuçlanabilen ve beynin bir bölümünün veya tamamının fonksiyon bozukluğu olarak tanımlamıştır (Engel ve ark., 1989). Epilepsi merkezi sinir sisteminin en yaygın görülen hastalıklarından birisidir ve insan topluluğunun % 1-3'ünde görülmektedir (Hauser ve Hesdorffer, 1990).

Normalde her sinir hücresi ya kendiliğinden belli bir frekansta ya da diğer hücrelerden aldığı uyarıların cebirsel toplamına göre elektriksel deşarjlar oluşturur. Fakat bazı durumlarda bu düzen bozulur ve büyük bir nöron topluluğunun eşzamanlı (senkron) ve anormal biçimde deşarj yapmaya başlamasıyla birlikte epileptik nöbetler ortaya çıkmaya başlar. Ayrıca eşzamanlı deşarjlar, davranışta stereotip ve irade dışı paroksizmal değişimlere sebep olur. Anormal hücre deşarjlarının nedenleri arasında ise; travma, oksijen yetmezliği, tümörler, enfeksiyonlar ve metabolik bozukluklar sayılabilir. Ancak epileptik nöbetlerin yaklaşık yarısında herhangi bir neden tespit edilememiştir (Martin, 1991). Günümüzdeki epilepsi tedavileri daha çok bulguları gidermeye yöneliktir ve halen kompleks parsiyel epilepsili hastaların yaklaşık yarısında nöbetler kontrol altına alınamamaktadır (Shin ve McNamara, 1994).

Epilepsinin temel mekanizmalarını anlamak ve bu hastalığa karşı daha etkili ilaçlar geliştirmek amacıyla çok çeşitli deneysel epilepsi modelleri geliştirilmiştir. Bunlardan birisi de tutuşma (kindling) modelidir. Tutuşma, nöbet oluşturmeyen uyarının tekrarlanması ve aralıklı olarak verilmesi sonucu zamanla nöbet gelişimidir. Tutuşma modeli ilk olarak Goddard tarafından sıçan amigdalasına elektriksel uyarı verilmesiyle gözlemlenmiş ve adlandırılmıştır. Bundan sonra tutuşma modelleri kronik temporal lob epilepsisi oluşturmak için sıklıkla kullanılmıştır. (Gilbert ve Goodman, 2006; Goddard ve ark., 1969). Tutuşma modelleri iki çeşit uyarıyla oluşturulabilir. Bunlardan birincisi ve en sık kullanılanı elektriksel tutuşma modelleridir. İkincisi ise kimyasal tutuşma modelleridir. Elektriksel tutuşma sürecinde elektrik uyarısı verildiğinde önce kısa süreli lokal art deşarjlar görülür. Sonra aşamalı olarak bu art deşarjların süresinin uzadığı ve diğer beyin bölgelerine de yayıldığı ve en sonunda tüm beyni kapladığı görülür (Goddard, 1967). Elektriksel tutuşma modeli oluşturmak için

amigdala, piriform korteks, perirhinal korteks, dorsal hipokampus ve frontal korteks gibi beyin bölgeleri elektriksel uyarıyla uyarılır. İlk elektriksel uyarılarda epileptik nöbetler belirli bir alana sınırlı (fokal) iken, sonraki uyarılarda nöbetler diğer beyin bölgelerine de yayılır (jeneralizasyon). Elektriksel uyarı sadece beynin belirli bir bölgesine uygulandığı için ILAE (Uluslararası Epilepsiyle Savaş Derneği) elektriksel tutuşma modellerini ikincil (sekonder) jeneralize fokal nöbetler içerisinde kabul etmiştir (Gilbert ve Goodman, 2006).

Kimyasal tutuşma modeli, kimyasal ajanların normalde nöbet oluşturmayacak dozlarda doğrudan beyin içine verilmesiyle veya konvülsan ajanların eşik altı konsantrasyonlarda sistemik olarak defalarca uygulanmasıyla oluşturulur (Gilbert ve Goodman, 2006). Kimyasal ajanın sistemik olarak uygulanması durumunda bütün beyin etkilenebileceği için elektriksel tutuşmadan farklı olarak, özellikle pentilentetrazol (PTZ) ile oluşturulan kimyasal tutuşmada daha fazla kortikal yapı etkilendiği için, bu model primer jeneralize epilepsiye daha çok benzemektedir (Ono ve ark., 1990).

PTZ, kimyasal tutuşma modeli oluşturmak için en çok tercih edilen kimyasal maddedir. PTZ'nin etki mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte, klor kanalları ile bağlantılı GABA<sub>A</sub> reseptörlerini selektif olarak bloke ettiği ve GABA ve diğer inhibitör nörotransmitterlerin etkisini azaltarak nöronların depolarizasyonunu kolaylaştırdığı düşünülmektedir (Hansen ve ark., 2004; Sejima ve ark., 1997).

Gap junctionlar (geçit bağlantı=neksus=oluklu bağlantı) ökaryotik hücreler arasında doğrudan hücreler arası iletişimi sağlayan özelleşmiş bağlantılardır. Genellikle oluklu bağlantıların binlercesi bir araya gelerek gap junction plaklarını oluşturur. Bir neksus yarım kanal şeklindeki iki "konnekson"un birleşmesiyle oluşur. Her bir konneksonda 6 tane "konneksin" adı verilen 2,5 nm çapında 7,5 nm uzunluğundaki proteinlerden oluşmuştur (Laird, 2006; Sohl ve ark., 2005; Vinken ve ark., 2006).

Günümüze kadar, insanlarda 21 farklı konneksin geni tespit edilmiştir. Konneksinler adlandırılırken 'Cx' olarak kısaltılır ve bundan sonra gelen rakam ise kiloDalton cinsinden konneksinin moleküler kütlesini ifade eder. İskelet kası hücreleri, eritrositler ve sperm hücreleri hariç neredeyse diğer bütün hücrelerde bulunabilir. Gap junctionlar, büyüklüğü 1000 daltona kadar olan besinler, yıkım ürünleri, ikincil haberciler, katyonlar ve anyonların basit difüzyonla geçişine izin verir (Evans ve Martin, 2002; Lampe ve Lau, 2000; 2004; Sohl ve ark., 2005; Sohl ve Willecke, 2003).

Gap junctionlar, büyük nöron gruplarının eş zamanlı (senkron) salınımlarında (osilasyonlarında) görev alır ve böylece nöronal aktivitenin keskinleşmesini sağlamaktadır. Farklı frekans bantlarında olan bu eşzamanlı deşarjlar algı, hafıza ve öğrenme gibi bilişsel fonksiyonlarda rol oynarlar (Gibson ve ark., 2005; Hormuzdi ve ark., 2004) . Merkezi sinir sistemindeki geçit bağlantılarına elektriksel sinaps da denir. Elektriksel sinapslar, beyin gelişimi ve psikostimulan bağımlılık mekanizmalarında da rol oynamaktadır (McCracken ve Roberts, 2006).

Elektriksel sinapsların birçok bilişsel süreçte ve epileptik deşarjların üretilmesini sağlayan salınımlı aktivitenin senkronizasyonunda önemli bir role sahip olduğu son yıllarda yapılan çalışmalarla daha iyi anlaşılmıştır. Carlen ve ark. (2000), gap junctionların nöronal senkronizasyonda önemli bir rolü olduğunu, Gajda ve ark. (2006) ise gap junctionların epileptogenezden (epilepsi gelişimi) sorumlu olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Bir gap junction açıcı olan trimetilaminin epileptik nöbetlerin şiddetini artırdığı bulunmuştur. Nassiri-Asl ve ark. (2008), sıçanlarda akut PTZ modelinde trimetilaminin epileptik nöbetlerin şiddetini artırdığını ve bir gap junction blokeri olan kininin antiepileptik etkilerini engellediğini göstermişlerdir.

Gap junction blokajı yapan birçok kimyasal ajan ve ilaç bulunmaktadır. Bunlar arasında deneysel çalışmalarda en yaygın kullanılanlar; karbenoksolon, gliseretrik asit oktanol, kinin ve kinidindir. Günümüze kadar gap junction blokerleri in vivo ve in vitro çalışmalarda elektriksel sinapsların işleyişini araştırmak için sıklıkla kullanılmıştır. Bunlardan bazıları şu anda insanda, malarya (kinin ve meflokin), ülser hastalığı (karbenoksolon) veya kalp aritmisi (kinidin) gibi geniş yelpazedeki hastalıkların tedavisinde uzunca bir süredir kullanılmaktadır (Juszczak ve Swiergiel, 2009).

Karbenoksolon meyan kökünden elde edilen bir gliseretrik asit derivesi olup, önceleri ülser tedavisinde kullanılmıştır (Juszczak ve Swiergiel, 2009). Gliseretrik asit derivelerinin gap junction blokajını, doğrudan kanalın kendisine yapışarak yaptığı deneysel olarak gösterilmiştir (Davidson ve Baumgarten, 1988). Bununla birlikte karbenoksolon kanal yapısındaki konneksinlerde biçimsel değişikliklere neden olup kanalları bloklamaktadır (Goldberg ve ark., 1996).

Gap junction blokerlerinin epileptik nöbetleri önlediğini gösteren çok sayıda çalışma vardır. Gap junction blokerleri hipokampal doku kültürlerinde güçlü bir şekilde nöronal osilasyonları baskılamıştır. Ayrıca bikukullin, düşük magnezyum, yüksek

potastum, 4-aminopiridin ve penisilin ile oluşturulan epilepsi modellerinde de gap junction blokerlerinin antiepileptik etkileri gösterilmiştir (Bostanci ve Bagirici, 2007a; Margineanu ve Klitgaard, 2001; Strata ve ark., 1997).

Farelerde ve sıçanlarda yapılan çalışmalarda sistemik olarak verilen karbenoksolon ve kinin, antikonvülsan etkiler göstermişlerdir (Gareri ve ark., 2005; Gareri ve ark., 2004a; Gareri ve ark., 2004b; Gigout ve ark., 2006; Wambebe ve ark., 1990). Ayrıca oktanol, kinin ve karbenoksolon beyne direkt olarak uygulandığında da epileptiform aktiviteyi azaltmaktadır (Bostanci ve Bagirici, 2006; 2007a; 2007b). Diğer taraftan, bir gap junction blokeri ve antimalaryal ilaç olan meflokin ise insanlarda ve farelerde nöbetlere neden olmaktadır (Amabeoku ve Farmer, 2005; Garg ve ark., 1996; Pous ve ark., 1995).

Gareri ve ark. (2004a), DBA/2 farelerde odyojenik nöbetleri önlemek için karbenoksolonu periton içine (i.p) vermişler ve 40 mg/kg karbenoksolonun nöbetlerin vahşi koşu fazını kısalttığını göstermişlerdir. Ayrıca bu çalışmada karbenoksolonun geleneksel antiepileptiklerle etkileşimi çalışılmıştır. Karbenoksolon diazepam, gabapentin, fenobarbital, felbamat ve valproatın odyojenik nöbetleri önlemedeki etkinliğini anlamlı bir şekilde artırmıştır. Lamotrijin, fenitoin ve karbamazepinin etkinliğinde ise önemli bir değişikliğe neden olmamıştır (Gareri ve ark., 2004a).

Karbenoksolonun tutuşma modellerinde antikonvülsan etkisini gösteren çok az sayıda çalışma vardır. Sayyah ve ark. (2007), karbenoksolonu direkt olarak amigdalanın bazolateral nükleusuna vermişler ve bu çalışmada karbenoksolon art deşarj sürelerini ve jeneralize nöbet sürelerini kısalttığını göstermişlerdir

Valproik asit, absans, miyoklonik , primer jeneralize ve tedaviye dirençli fokal nöbetlerin tedavisinde kullanılabilen geniş spektrumlu bir antiepileptik ilaçtır (Gilbert ve Teskey, 2007). Epilepsi tedavisinde en sık kullanılan antiepileptik ilaçlardan biri olan valproatın (valproik asit) tedavi edici etkisinin, santral sinir sisteminde inhibitör bir nörotransmitter olan gama-aminobutirik asit (GABA) üzerinden olduğu kabul edilmektedir. Valproik asit, GABA'nın parçalanması ve yapımında rol alan bazı enzimleri etkileyerek beyinde GABA düzeyini artırmaktadır. Bu enzimlerden birisi GABA sentezinde önemli yer tutan glutamik asit dekarboksilazdır. Diğeri ise GABA'yı metabolize eden GABA aminotransferazdır. Valproik asit glutamik asit dekarboksilazı aktive ederken GABA aminotransferazı zayıf bir şekilde inhibe eder. Ayrıca valproat,



GABA'nın postsinaptik etkinliğini artırır ve nöronal membranların potasyum iletiminde artışa neden olur ve aspartatın eksitator etkisini de azaltır (Johannessen ve Johannessen, 2003; Loscher, 1999; 2002). Valproik asit, parsiyel, jeneralize tonik-klonik, miyoklonik ve absans nöbetlerde etkilidir (Rogawski ve Loscher, 2004). Tutuşma modelinde valproat etkili bir antiepileptik ilaçtır. Bu etkisini art deşarj sürelerini kısaltıp nöbetlerin şiddetini azaltarak göstermektedir. Ayrıca valproik asit kronik uygulamada da tutuşmayı engellemektedir (Dziki ve ark., 1992; Loscher ve Honack, 1993; Mori ve Ohta, 1992).

Fenitoin, parsiyel nöbetlerin tedavisinde en çok tercih edilen ilaçlardan biridir (Tunnicliff, 1996). Kimyasal olarak fenitoin zayıf bir organik asit olup, yüksek derecede lipofilik olması sayesinde nöron membranlarından kolaylıkla geçerek membrandaki voltaj bağımlı sodyum kanallarına bağlanır. Fenitoin bu kanallarının inaktivasyon sürelerini uzatarak antiepileptik etkisini gösterir. Fenitoin yüksek konsantrasyonlarda akson ve sinir sonlanmalarında kalsiyum kanallarını da inhibe edebilir. Bu etki aksonal hücre membranını stabilize eder ve akson terminallerinden nörotransmitter salınımını azaltır. (Shorvon, 2005) .

Fenitoin bazı araştırmacılar tarafından tutuşma modellerine karşı etkili bulunurken, bazı araştırmacılar fenitoini tutuşma modellerinde etkisiz bulmuştur (Lothman ve ark., 1991; McNamara ve ark., 1989; Rundfeldt ve ark., 1990; Rundfeldt ve Loscher, 1993). Hatta bazı araştırmacılar fenitoinin prokonvülsan olduğunu bile ileri sürmüşlerdir (Callaghan ve Schwark, 1980; Ebert ve ark., 1997). Krug ve arkadaşları, sıçanlarda ilk kez PTZ tutuşma modelinde fenitoinin antikonvülsan etkilerini araştırmışlardır ve fenitoinin tutuşma nöbetlerini yeterince önlemediğini ileri sürmüşlerdir (Krug ve ark., 1998). Gilbert ve ark. (2001) amigdal tutuşma modelinde fenitoinin art deşarj sürelerini kısalttığını ve nöbet skorunu düşürdüğünü göstermişlerdir.

Yapılan literatür taramalarında PTZ tutuşma modelinde, bir gap junction blokeri olan karbenoksolonun fenitoin ve valproik asit ile etkileşimini gösteren bir çalışma bulunamadı. Sunulan çalışmayla PTZ ile oluşturulan tutuşma modelinde uyanık sıçanlarda karbenoksolonun valproik asit ve fenitoin ile etkileşiminin hem elektrofizyolojik, hem de davranış parametreleri ile değerlendirilmesi amaçlandı.

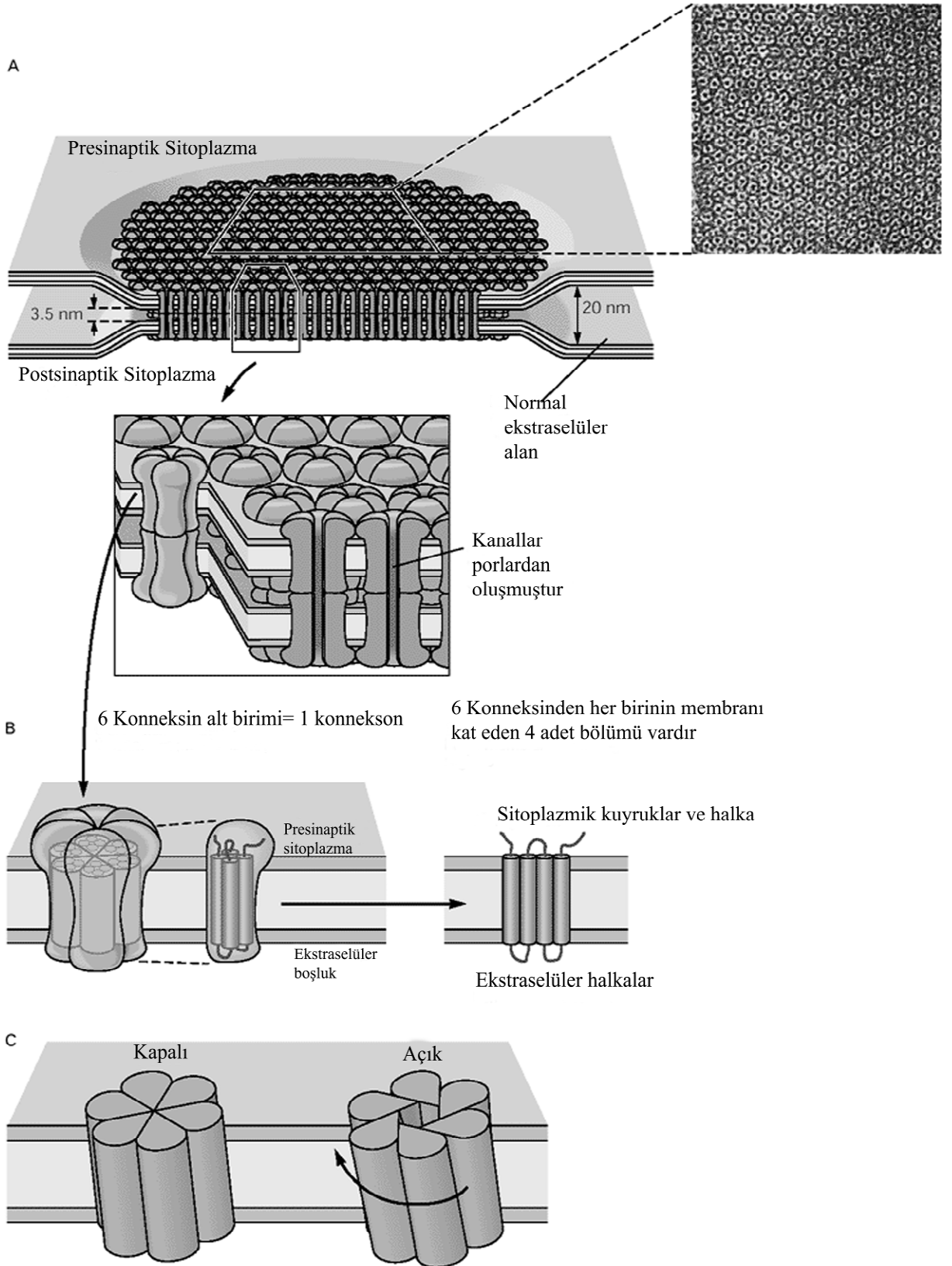
## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. GAP JUNCTIONLAR

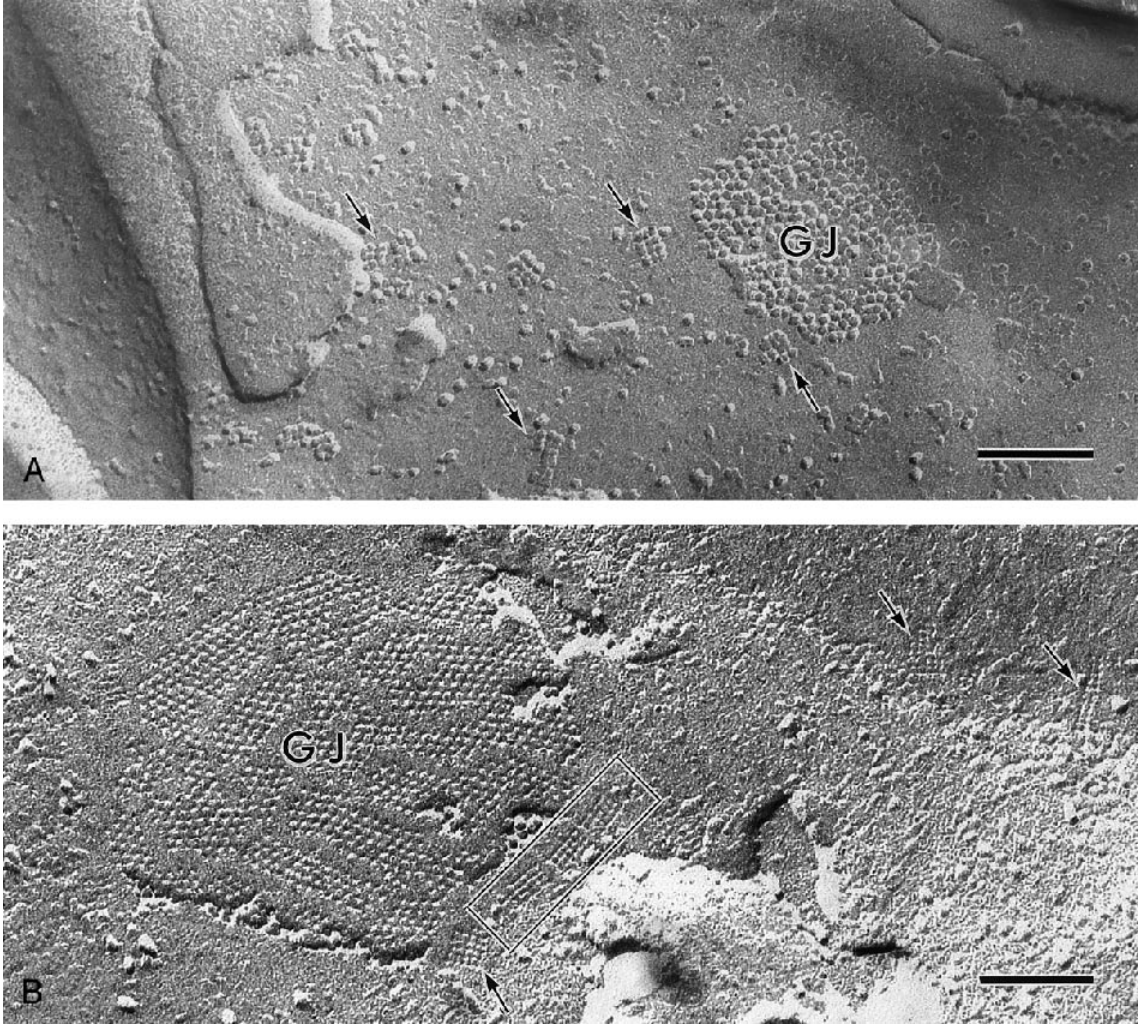
Gap junctionlar ökaryotik hücreler arasında doğrudan hücreler arası iletişimi sağlayan özelleşmiş bağlantılardır. Genellikle oluklu bağlantıların binlercesi bir araya gelerek gap junction plaklarını oluşturur. Bir neksus yarım kanal şeklindeki iki konneksunun birleşmesiyle oluşur. Kanalin yarısını bir hücre, diğer yarısını da komşu hücre yapar ve böylece kanal tamamlanır. Her bir konneksun da 6 tane konneksin adı verilen 2,5 nm çapında 7,5 nm uzunluğundaki proteinlerden oluşmuştur. Bir konneksin proteini iki ekstrasellüler halka, dört membran köprü bölgesi, üç sitoplazmik bileşenden (bir sitoplazmik halka, bir N-terminal kuyruk ve bir C-terminal kuyruk) oluşur (Şekil 1 ve 2) (Laird, 2006; Sohl ve ark., 2005; Vinken ve ark., 2006).

Günümüze kadar farelerde 20, insanlarda 21 ayrı konneksin geni tespit edilmiştir. Konneksinler adlandırılırken 'Cx' olarak kısaltılır ve bundan sonra gelen rakam ise kiloDalton cinsinden konneksinin moleküler kütleini ifade eder. İskelet kası hücreleri, eritrositler ve sperm hücreleri hariç neredeyse diğer bütün hücrelerde bulunabilir. Geçit bağlantılar büyüklüğü 1000 daltona kadar olan besinler, yıkım ürünleri, ikincil haberci, katyonlar ve anyonların basit difüzyonla geçişine izin verir (Evans ve Martin, 2002; Lampe ve Lau, 2000; 2004; Sohl ve ark., 2005; Sohl ve Willecke, 2003).

Önceleri gap junctionların sinir hücreleri arasındaki haberleşmeyi sağlamada kimyasal sinapslara göre işlevsel olarak daha basit yapılar olduğu düşünülürdü. Memelilerdeki işlevsel önemi uzun yıllar anlaşılmasına rağmen yeni elektrofizyolojik gelişmeler sayesinde (moleküler klonlama, transgenik uygulamalar, doku hazırlama ve hücre görüntüleme teknikleri gibi) elektriksel sinapsların rolü daha iyi anlaşılmaya başlamıştır (Bennett Murphy, 1977).



**Şekil 1:** Gap junctionların fiziksel yapısı (Kandel ve Siegelbaum, 2000)



Şekil 2: Gap junctionların elektron mikroskobik görüntüsü: Bar =0,1 µm (Gartner ve Hiatt, 2002)

### 2.1.1. Beyindeki Gap Junctionlar

Gap junctionlar beyindeki nöronların ve glial hücrelerin büyük çoğunluğunda bulunur. Nöronlar arasındaki geçit bağlantıları ilk kez elektrofizyolojik kayıtlarla tanımlanmış ve daha sonra elektron mikroskobisi ve dondurup kırma metotlarıyla morfolojik olarak gösterilmiştir. Elektriksel sinapsların varlığı ilk önceleri tatlı su istakozunda dev motor sinapslarda, sıçan ve kedilerde mezensefalik trigeminal, vestibüler ve inferior olivar çekirdeklerden alınan tek hücre kayıtlarıyla gösterilmiştir. Daha sonraları merkezi sinir sisteminin birçok bölgesindeki geçit bağlantılarının yapısı ve fizyolojik özellikleri hakkında birçok çalışma yapılmıştır (Connors ve Long, 2004; Furshpan ve Potter, 1959b; Korn ve ark., 1973; Nagy ve ark., 2004).

Önceleri memeli beyinde nöronların sadece diğer nöronlarla elektriksel sinaps yaptığı düşünülmekteydi. Ancak günümüzde lokus seruleus, beyincik Bergmann ve

Purkinje nöronlarının glial hücrelerle de elektriksel olarak haberleştiği bilinmektedir. Elektriksel sinapslar kimyasal sinapslarla birlikte bulunabilir (Alvarez-Maubecin ve ark., 2000; Hormuzdi ve ark., 2004; Pakhotin ve Verkhratsky, 2005).

Gap junctionlar (nöronları bağlayan gap junctionlar elektriksel sinapslar olarak da isimlendirilmektedir) bitişik iki hücre membranı arasında kanal oluşturan yapılardır. Gap junctionlar hücreler arasında direkt elektriksel iletişimi mümkün kılar (McCracken ve Roberts, 2006; Sohl ve ark., 2005).

Elektriksel sinapsların porları 16-20 Angström (Å) kadardır. Bu genişlik inozitol-1.4.5-trifosfat ve cAMP gibi ikincil habercilerin geçişine bile izin verir. Kırmızı balık (goldfish)'ta işitme nöronları ile Mauthner hücreleri arasında mikst (karışık) denen farklı bir gap junction keşfedilmiştir. Karışık sinapslar memeli merkezi sinir sisteminin birçok bölgesinde kimyasal ve elektriksel haberleşmeyi tek bir sinaptik noktada sağlayabilir. İki taraflı akıma izin veren elektriksel sinapslar nöronal ağ içinde rastgele dağılmamıştır. Yapılan çalışmalar bu bağlantıların özellikle aynı tür hücreler arasında olduğunu ve rastgele bir bağlantı kurulmadığını ve oluşan nöronal ağların güçlü sayısal işlem kapasitesine sahip olduğunu göstermiştir (Connors ve Long, 2004; Fricker ve Miles, 2001; Furshpan ve Potter, 1959a; Gibson ve ark., 2005; Hestrin ve Galarreta, 2005; Pereda ve ark., 2004; Smith ve Pereda, 2003; Sohl ve ark., 2005).

Merkezi sinir sisteminde hipokampus, neokorteks, bazal gangliyonlar, serebellum, inferior olivar nükleus, suprakiazmatik nükleus, pedinkülopontin nükleus ve talamik retiküler nükleusta elektriksel sinapslar bulunmuştur. Dentritlerin kendi arasında ve dentritler ile GABAerjik nöronların gövdeleri arasında geçit bağlantıları bulunmaktadır. Gap junctionların hipokampustaki piramidal hücre aksonlarını birleştirdiği bile ileri sürülmüştür (Fukuda ve Kosaka, 2003; Fukuda ve ark., 2006; Landisman ve ark., 2002; Schmitz ve ark., 2001; Simon ve ark., 2005).

Geçit bağlantı kanalları bir orkestra şefi gibi nöronların eşzamanlı olarak deşarj yapmalarını sağlayabilir. Elektriksel sinapslar büyük nöron gruplarının eş zamanlı salınımlarında (osilasyonlarında) görev alır ve böylece nöronal aktivitenin keskinleşmesini sağlamaktadırlar. Farklı frekans bantlarında olan bu eşzamanlı deşarjlar algı, hafıza ve öğrenme gibi bilişsel fonksiyonlarda rol oynarlar (Gibson ve ark., 2005; Hormuzdi ve ark., 2004).

### 2.1.2. Gap Junctionlar ve Epilepsi

Epilepsi, nöronların anormal eş zamanlı deşarjları sonucu oluşan ve tekrarlayan nöbetlerle karakterize bir hastalıktır. Genel olarak epileptik nöbetler, uyarıcı ve duraklatıcı sistemler arasındaki dengenin, uyarıcı sistemlerin aktivitelerinin artışı yönünde bozulması sonucunda meydana gelir.

Gap junctionların epileptik deşarjların yayılmasındaki rolü üzerine çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Kedilerde yapılan morfolojik bir çalışmaya göre deneysel epilepsi modelinde geçit bağlantılarının sayıca arttığı gösterilmiştir. Bazı çalışmalarda serebral korteks, hipokampus, striatum ve serebellumdaki inhibitör GABAerjik internöronların birbirleriyle çok sayıda bağlantı yaptığı gösterilmiştir. Ayrıca birçok beyin bölgesinde GABAerjik internöronlarda konneksin 36 (Cx36) bulunmaktadır. Cx36 proteini genetik olarak bulunmayan farelerde nöronal senkronizasyonun azaldığı gösterilmiştir (Bennett Murphy, 1977; Bennett ve Zukin, 2004; Deans ve ark., 2001; Galarreta ve Hestrin, 2001; Vaquero ve ark., 1978).

Geçit bağlantıların birçok bilişsel süreçte ve epileptik deşarjların üretilmesini sağlayan salınımlı aktivitenin senkronizasyonunda önemli bir role sahip olduğu son yıllarda yapılan çalışmalarla daha iyi anlaşılmaktadır. Elektriksel sinapslar, hafıza, beyin gelişimi ve psikostimulan bağımlılık mekanizmalarında da rol oynamaktadır (McCracken ve Roberts, 2006).

Gap junctionlar sadece nöronlar arasında değil, glial hücreler arasında da bulunmaktadır. Uzunca bir süre glial hücrelerin nöronlardan daha az önemli olduğu düşünülse de nöronal ağın çalışmasında önemli bir rol oynamaktadır.

Beyinde glial hücrelerinin sayıca en fazla tipi olan astrositler nöronal eksitabilitenin sürdürülmesi için gerekli olan ekstrasellüler  $K^+$  konsantrasyonunu ayarlar, nöronlara glutamat ve GABA'nın nöronal sentezi için gereken glutamini temin eder ve postsinaptik nöronların aşırı eksitasyonunu önlemek için glutamati sinaptik yarıklardan uzaklaştırır. Ayrıca astrositler nöronal sinaptik aktivite için serebral sıvıdaki dinamik değişiklikleri düzenler ve beyin pH homeostazisini sürdürürler (Amzica, 2002; Iacobas ve ark., 2007b; Koehler ve ark., 2006; Sonnewald ve Kondziella, 2003; Wolf ve Kirchhoff, 2008).

Oligodendrositler aksonu miyelin kılıfla izole eder böylece aksiyon potansiyelinin yayılma hızını etkiler. Astrosit ve oligodendrositlerin her ikisi de sadece

aynı hücreler arasında değil aynı zamanda astrosit ve oligodendrositleri birbirine bağlayan gap junctionlar oluşturur. Buna 'panglial sinsityum' denir. Böylece bu sinsityum içerisinden iyonlar, metabolitler ve sinyal molekülleri beyni baştan sona kat eder (Iacobas ve ark., 2007b).

Gliyal gap junctionlar glutamat ve  $K^+$  iyonunun dağılmasına yardımcı olur, böylece nöronal eksitabiliteyi etkiler ve serebrovasküler regülasyon ve astrositik glutamat salınımına karışan sinyal moleküllerinin yayılmasını sağlarlar (Amzica, 2002).

Astrositler arasındaki gap junctionlar binlerce genin ekspresyonunu regüle eden moleküllerin yayılmasını sağlayan devasa ağların oluşmasına da neden olur. Bu yüzden glial gap junctionların blokajı nöronal eksitabiliteyi ve serebral kan akımını etkileyebilir veya gen ekspresyonunun bir sonucu olarak uzun süreli etkilere bile neden olabilir (Iacobas ve ark., 2007b).

Gap junction blokerleri hipokampal doku kültürlerinde güçlü bir şekilde nöronal osilasyonları baskılamıştır. Ayrıca bikukullin, düşük magnezyum, yüksek potasyum, 4-aminopiridin ve penisilin ile oluşturulan epilepsi modellerinde de gap junction blokerlerinin antiepileptik etkileri gösterilmiştir (Bostanci ve Bagirici, 2007a; Margineanu ve Klitgaard, 2001; Strata ve ark., 1997).

## **2.2. BEYİN KORTEKSİ**

Genellikle beyni en dıştan saran beyin korteksi, birkaç milimetre kalınlığında, 3-6 sıra hücre tabakası içeren özelleşmiş bir yapıdır. İnsan beyni kâinatta bilinen en karmaşık maddesel organizasyondur. Beyin korteksi, duyuların algılanması ve değerlendirilmesinde, bellek oluşumunda, hareketlerin planlanması ve eş zamanlı yürütülmesinde, değişik duyuşal girdiler arasında ilişkilerin kurularak kararların verilmesinde ve iç dengenin korunmasında (homeostazis) en üst kontrol noktası olarak işlev görür (Purves ve ark., 2001).

### **2.2.1. Beyin Korteksindeki Hücre Tipleri**

Beyin korteksinde hücre tipleri, hücre gövdelerinin biçimsel özelliklerine, dendritlerin uzunluk ve dağılımları ile akson dallanma ve sonlanma bölgelerine göre sınıflandırılmıştır (Barr ve Kiernan, 1988; Colonnier, 1968). En çok kabul gören sınıflandırmaya göre kortekste; yıldızsı (granüler) hücreler, işsi (fusiform) hücreler, Martinotti hücreleri, Cajal'ın horizontal hücreleri ve piramidal hücreler bulunmaktadır.

#### **2.2.1.1. Yıldız hücreleri (Granüler hücreler)**

Küçük gövdeli çok kutuplu (multipolar) hücrelerdir. Dendritler hücreden ayrılır ayrılmaz dallanma yaparlar. Dendritler, yaklaşık olarak 3-5 µm kalınlığındadır. Dendritik dallanmalar, 200-400 µm çaplı bir dağılım gösterirler. Aksonlar genellikle büyük bir dendritten çıkarak uzanır ve komşu hücre gövdeleri ile yüzeysel dendritik tabakalarda sonlanırlar. Küçük bir kısmı ise beyin kabuğu dışındaki bölgelere doğru uzantılar gönderirler. Bu hücrelerin bazıları uyarıcı, bazıları ise duraklatıcı niteliktedir. Uyarıcı (eksitator) olan hücrelerin aksonları genellikle piramidal hücrelerin tepe dendritlerine paralel ve birçok sinaps yaparak ilerlerken korteks yüzeyine dik bir seyir izlerler. Uyarıcı olan tipleri transmitter olarak nöropeptidleri (CCK, VIP) kullanırken, duraklatıcı olanlar ise GABA salgırlarlar.

#### **2.2.1.2. İşsi hücreler (Fusiform hücreler)**

Hücre gövdeleri iş şeklinde olan bu hücrelerin iki sivri ucundan birer dendrit çıkar ve bunlar dallanırlar. Aksonlarının bir kısmı yüzeysel tabakalarda sonlanır. Geri kalan



büyük çoğunluğu ise geriye doğru dönen dallar oluşturduktan sonra beyin korteksinin dışına çıkarlar.

#### **2.2.1.3. Martinotti Hücreleri**

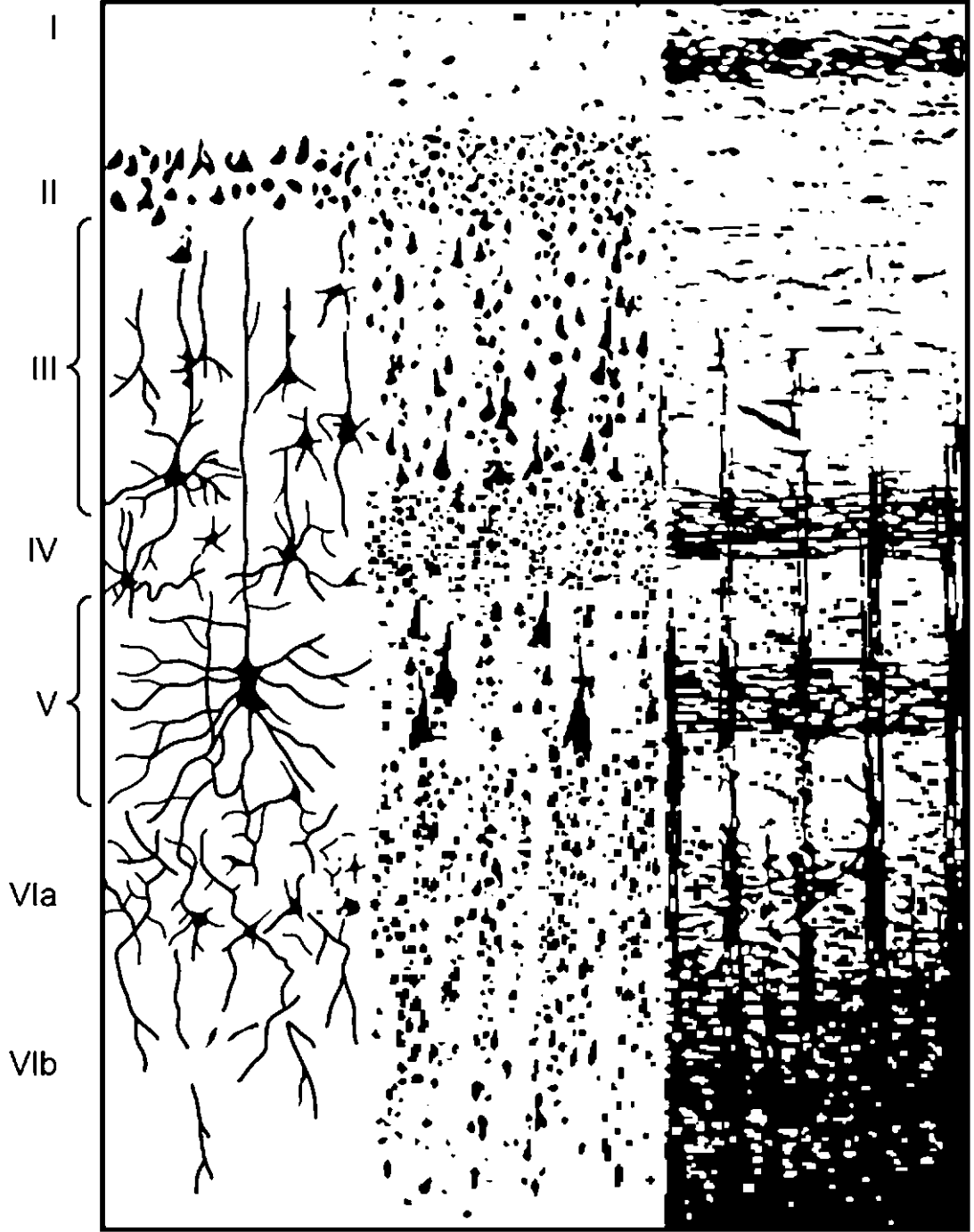
Bu hücrelerin en önemli özelliği aksonlarının doğrudan beyin korteksi yüzeyine doğru yönelmiş olmasıdır.

#### **2.2.1.4. Cajal'ın Horizontal Hücreleri**

Beyin kabuğunun en dış ve yüzeysel tabakasında bulunan bu hücrelerin aksonları beyin kabuğu yüzeyine paralel olarak seyreder (Colonnier, 1968).

#### **2.2.1.5. Piramidal Hücreler**

Korteksin ana hücreleridirler. Özellikleri “Piramidal Hücrelerin Morfolojik ve Fizyolojik Özellikleri” alt başlığıyla, aşağıda ayrıntılı olarak açıklanmıştır (Schmidt, 1989).



Şekil 3. Beynin kortikal tabakaları (Guyton ve Hall, 2006)

**I. Moleküler tabaka**

**II. Dış granüler tabaka**

**III. Dış piramidal tabaka**

**IV. İç granüler tabaka**

**V. İç (dev) piramidal hücre tabakası**

**VI. İğsi (fusiform) hücre tabakası**

## 2.2.2. Beyin Korteksinin Tabakaları

Memelilerdeki beyin korteksi “yeni korteks” anlamına gelen “neokorteks” yapısındadır. Archicortex olarak bilinen “eski korteks” ise memeli beyinde hipokampus bölgesinin yapısına verilen isimdir (Andrew,1991). Memeli neokorteksinin altı tabakası vardır. Bölgeler arasında bazı farklar bulunsa da genellikle bu altı tabakalı yapı tüm beyin korteksi boyunca korunmaktadır. Bu tabakalardan bazıları alt tabakalara da ayrılabilirler. Beyin korteksinin kalınlığı farklı bölgelerde 1.3 ile 4.5 mm arasında değişebilmektedir (Barr ve Kiernan, 1988; Colonnier, 1968).

Beyin korteksi tabakaları, pia materden aşağıya doğru şu şekilde sıralanır (Barr ve Kiernan, 1988; Colonnier, 1968) (Şekil 3).

**I. Moleküler tabaka:** Pia mater’in hemen altından başlayan bu tabakanın ortalama kalınlığı 250 µm kadardır. Hücreleri küçüktür ve diğer tabakalara göre daha gevşek bir düzenlenme gösterir. II, III ve IV. tabakalardaki piramidal hücrelerin dikey dendritleri ve bazı akson uçları bu tabakada sonlanır. Cajal’ın horizontal hücreleri ve dağınık yıldız hücreleri de nadiren bu tabakada bulunabilir. Bu tabaka esas olarak korteksin sinaptik bir alanıdır (Barr ve Kiernan, 1988; Colonnier, 1968; Marangoz, 1978).

**II. Dış granüler tabaka:** Moleküler tabakaya göre daha kalın bir tabakadır ve daha yoğun hücre içerir. Hücrelerin şekli piramidal olduğundan buraya “küçük piramidal hücre tabakası” da denir. Yıldız hücreleri de bu tabakada bulunur. Bu bölgeden çıkan dikey dendritler moleküler tabakada sonlanırlar. Aksonlar hücrelerin taban bölümlerinden çıkar ve genellikle V. ve VI. tabakalarda sonlanırlar. Az da olsa bazı aksonlar beyin kabuğunu terk ederek ak maddeye geçebilirler. IV. tabakada bulunan granüler hücrelerin ve bazı piramidal hücrelerin aksonları ile geriye dönen yan dallar (recurrent collaterals) ve birleştirici lifler (asosiyasyon lifleri) bu tabakada sonlanırlar.

**III. Dış piramidal tabaka:** Bu tabaka aslında dış granüler tabakanın devamı niteliğindedir. Bu yüzden ilk bakışta ayırt edilmesi güçtür. En önemli ayırt edici özellik bu tabakadaki piramidal hücrelerin daha büyük çaplı olmasıdır. Hücrelerin tepe bölgeleri beyin kabuğu yüzeyine doğru yönelmiştir. Tepe (apikal) dendritleri, I. tabakanın sinaptik alanına doğru giderler. Yatay dendritler ise aynı tabaka içinde kolonlar arasında bir uzanım gösterirler. Bu tabakanın alt kısmında bulunan hücreler talamustan gelen özgül girişleri alır. Alt tabakalardan gelen bazı aksonlar da bu tabakada sinaps yaparlar. III. tabakadan çıkan götürücü liflerin bir kısmı V. ve VI.

tabakalarda sonlanırken, diğerleri korteks altı yapılara ve diğer beyin korteksi bölgelerine kadar uzanmaktadır (Barr ve Kiernan, 1988).

**IV. İç granüler tabaka:** Bu tabaka küçük çaplı ve sıkıca paketlenmiş multipolar hücrelerden oluşmuştur. Bu nedenle hücrelere granül hücreleri adı verilir. Aksonları kısadır ve büyük bir çoğunlukla beyin kabuğu içinde sonlanırlar. Üst kısımlara gidenler I ve II. tabakalarda sonlanırken, alt kısımlara doğru gidenler V ve VI. tabakalarda sonlanırlar. Dendritleri aynı tabakada dallanarak dağılır. Özgül talamo-kortikal getirici bağlantıların büyük bir çoğunluğu bu hücrelerin üzerinde sonlanır. Bu tabakada bulunan bir diğer hücre tipi yıldızlı hücrelerdir ve onların dendritleri de aynı tabaka içinde dallanma gösterir. Aksonları ise III. tabakaya çıkarak burada sonlanırlar. Yıldızlı hücrelerin kısa olan aksonları V. ve VI. tabakalardaki hücrelerin bu tabakaya uzattığı dendritlerle sinaps yaparlar. Beyin kabuğunun girişlerini alan esas bölgesi bu IV. tabakadır. Bu tabaka beyin kabuğunun bazı bölgelerinde iyi gelişmemiştir ve bundan dolayı bu bölgelere “agranüler korteks” adı verilmektedir (Barr ve Kiernan, 1988).

**V. İç (dev) piramidal hücre tabakası:** Bu tabakadaki hücreler esas olarak büyük piramidal hücrelerdir. Tabaka içindeki tüm hücreler büyük değildir. Ancak en büyük piramidal hücreler (Betz’in dev piramidal hücreleri de dahil olmak üzere) bu tabakada bulunduğu için, bu bölge “dev piramidal hücre tabakası” adıyla anılır. Büyük piramidal hücrelerin dendritik dalları I. tabakaya kadar yükselerek orada geniş bir dallanma gösterirler (Barr ve Kiernan, 1988). Hücrenin taban bölümünde çıkan uzun akson ya korteks altı merkezlere uzanır ya da aynı ve karşı taraf beyin korteksinde bulunan asosiyasyon ve komissural merkezlere gider. Omuriliğe inen liflerin önemli bir kısmı V. tabakada bulunmaktadır ve bunların büyük bir çoğunluğu medulladaki piramidal bölgeden geçer (Coulter ve ark., 1976; Murray ve Coulter, 1981; Nudo ve Masterton, 1990). Bu aksonların oluşturduğu rekurrent kollateraller geriye doğru dönüp III, II ve I. tabakalarda sonlanırlar. V ve VI. tabakalar korteksin ana çıkış tabakalarıdır. Piramidal yolu oluşturan aksonların hücre gövdeleri daha çok bu tabakada bulunur. Bu tabakada ayrıca yıldız ve Martinotti hücreleri de bulunmaktadır (Barr ve Kiernan, 1988).

**VI. İğsi (fusiform) hücre tabakası:** Hücrelerin iğ şeklinde olmasından dolayı bu ad verilir. Dendritler hücrenin bir veya her iki ucundan da çıkarak, hücreyi terk ettikten sonra dallanırlar. Bazıları hiç dallanmadan birinci tabakaya kadar uzanır. Diğerleri genellikle V. tabakaya geçmez. Akson çoğunlukla korteksi terk eder ve ayrılmadan önce

dönücü yan dallar (recurrent collaterals) verir. Bu tabakanın içte kalan VIb kısmı ak madde ile kaynaşmış durumdadır (Marangoz, 1978). V ve VI. tabakaların filogenetik olarak yüzeysel tabakalardan daha eski oldukları kabul edilir. V ve VI. tabakalara intragranüler, I ve IV tabakalara ise supragranüler tabakalar denir. V ve VI. Tabakalar ontogenik olarak da eskidirler. Bunlar telensefalonun nöral tüpünün germinal epitelinden göç eden ilk kortikal nöroblastlardan oluşmuşlardır. II, III ve IV. tabakaları oluşturmaya yönelik nöroblastlar intragranüler tabakaların içinden geçerler (Barr ve Kiernan, 1988). Kortikal tabakaların her birinde bulunan en yoğun hücre tipi aksonları kortekste dallanan kısa aksonlu nöronlardır. Bu kısa aksonlu hücrelerin uzun aksonlu hücrelere oranla sayıları beyin korteksinin filogenetik gelişimine paralel olarak artmış ve insan beyninde maksimum miktara ulaşmıştır. Başlıca kısa aksonlu hücreler; Golgi Tip-II, Martinotti ve I. tabakada bulunan Cajal'ın horizontal hücreleridir (Mountcastle ve Poggio, 1974).

### **2.2.3. Beyin Korteksi Piramidal Hücrelerinin Özellikleri**

#### **2.2.3.1. Morfolojik Özellikleri**

Piramidal hücreler beyin korteksinin esas giriş ve çıkış terminalleridir. Hücre gövdelerinin biçimi piramide benzediği için bu isimle anılırlar. Hücre gövdeleri üç yüzlü bir piramit, yüzeyleri de üçgen veya yamuk biçimlidir. Piramidin tepe kısmı beyin kabuğunun dış yüzeyine doğru bakar ve bu kısımdan dendritler çıkar. Dendritler dikey veya yatay olarak seyredebilir. Taban kısmı ise korteksin taban kısmına doğrudur ve bu kısımdan hücrenin aksonu çıkar. Aksonlar beyin ve omuriliğin değişik bölgelerine uzanabilir.

Hücreden çıkan yatay dendritler hücrenin köşe bölümlerinden çıkıp dallanırlar. Tepeden çıkan dendritler ise beyin kabuğunun en dış tabakasına kadar uzanır ve burada yüzeye paralel birçok dala ayrılır. Çapları 5-20 µm arasında değişen bu dendritler, sinir sistemindeki en kalın ve en uzun (2mm'ye kadar) dendritlerdir (Martin ve Jessell, 1991). Dikey dendritler ve onlardan ayrılan yatay dallar çok sayıda "sinaptik diken" denen özelleşmiş postsinaptik bölge taşırlar. Yatay dendritler daha incedir (6-8 µm) ve sayıca dikey dendritler kadar sinaptik diken taşımazlar (Shepherd, 1974). Piramidal hücreler üzerinde sonlanan sinapsların büyük bir çoğunluğu, geniş bir sinaptik aralığa

sahip olan bu sinaptik dikenler aracılığıyla kurulur. Hücre gövdesinde sonlanan sinapslar sayıca azdır ve bunların sinaptik aralıkları da oldukça dardır.

Piramidal hücreler boyutlarına göre büyük, orta ve küçük olarak üç gruba ayrılırken, aksonlarının hedeflerine göre de asosiyasyon ve projeksiyon hücreleri olarak adlandırılırlar. Aksonlar hücrenin taban kısmından çıkar ve çoğu zaman kollateraller denen yan dallara ayrılır. Bunlar iki tiptir. a) Kısa yatay kollateraller: Aksonların alt seviyelere inerken çeşitli seviyelerde verdikleri yan dallardır. Uzunlukları 1mm kadar olabilmektedir. b) Dönücü (rekürrent) kollateraller: Aksondan ayrıldıktan sonra geriye doğru, korteksin üst tabakalarına çıkarlar. Dallanma dereceleri, yükselme seviyeleri ve dallandıkları alanın genişliği oldukça değişkenlik gösterir. Bazı piramidal hücrelerin aksonları korteksten ayrılmadan geriye dönerek yüzey tabakalarındaki diğer hücrelerin dendritleri ile bağlantı yaparlar. Korteksten ayrılan aksonların neredeyse tamamı dönücü yan dallar verirler.

Piramidal hücrelerin gövdeleri 15x10 µm'den, 120x90 µm arasında değişen boyutlarda olabildiği gibi, motor korteksteki dev piramidal hücreler (Betz hücreleri) çok daha büyük olabilmektedir. Akson çapları da genellikle hücre gövdesi ile orantılıdır ve 1 µm'den 20 µm'ye kadar değişebilir (Barr ve Kiernan, 1988; Biedenbach ve ark., 1986)

### **2.2.3.2. Fizyolojik Özellikleri**

Medullada bulunan piramis bölgesinin uyarılması, buradan geçen piramidal hücre aksonlarını uyararak, piramidal hücrelerde ters yönlü (antidromik) bir cevap oluşmasını sağlar. Yüzeysel uyarılma, önce akson dallarını uyarmakta, buradan da hücre gövdesi uyarılmaktadır. Piramidal sistem inisiyatif piramidal hücre aksonlarından oluşur. Hızlı ve yavaş iletim yapan iki temel lif grubu içerir. Bu lif demetindeki hızlı aksonlar distal kasları ve fazik hareketleri yönetirken, ileti hızı düşük olan küçük aksonlar ise proksimal ekstremite kaslarını ve dolayısıyla tonik hareketleri yönetmekten sorumludurlar. Böylece piramidal hücre aksonları liflerin ileti hızlarına göre yavaş (~20m/s) ve hızlı (~60m/s) olarak iki gruba ayrılmışlardır. İleti hızı yüksek aksonların genellikle korteksin V. tabakasından, düşük hızlı liflerin ise daha yüzeysel tabakalardan kaynaklandıkları da gösterilmiştir (Towe ve ark., 1964).

Piramidal yolların medulladan uyarılmasıyla kortekste yüzey potansiyelleri oluşturulabilir (Lance ve Manning, 1954). Duyusal ve motor korteksten alınan

kayıtların incelenmesi, korteks yanıtının iki ana bileşenden oluştuğunu ortaya koymuştur (Jabbur ve Towe, 1961). Kısa latensli olan ilk bileşen ( $\alpha$  bileşeni) hızlı piramidal nöronlardan kaynaklanır ve ileti hızı 55 m/s civarındadır. Uzun latensli olan ikinci bileşen ( $\beta$  bileşeni) ise yavaş piramidal nöronlardan kaynaklanır ve ileti hızı ortalama olarak 17-25 m/s civarındadır. Beta bileşeninin süresi alfa bileşeninden daha uzundur. Bu sonuçlar başka çalışmalarla da desteklenmesine rağmen, beta bileşeninin yavaş piramidal nöronlara ait olamayacağı gösterilmiştir (Stone, 1972). Beta dalgası 200 Hz'lik tekrarlı uyarımdan sonra kaybolmaktadır. Ayrıca, beta dalgasının latensi de yavaş piramidal hücrelerden doğrudan ölçülen latens değerleriyle uyumlu değildir. Bu dalganın kaynağı olarak iki olasılık ortaya konmuştur:

1. Verilen elektriksel uyarı medyal lemniskusa yayılmaktadır.
2. Dorsal kolon çekirdeklerinde bulunan ve medyal lemniskusun köken aldığı hücreler, piramidal hücrelerin kollaterallerinden giden uyarımlar sonucu aktive edilmektedirler.

Her iki durumda da beta dalgası, medyal lemniskus kaynaklıdır. Nitekim medyal lemniskusun kesilmesi, beta dalgasının ortadan kalkmasıyla sonuçlanmıştır (Stone, 1972). Stone'a göre,  $\alpha$  cevabı V. tabakada bulunan piramidal hücrelerin yanıtlarıdır. Daha önceki çalışmalarda kaydedilen negatif potansiyeller olan  $N_1$  ve  $N_2$  yanıtları ise sırasıyla hızlı ve yavaş piramidal hücrelerin cevaplarıdır (Takahashi, 1965).

#### **2.2.4. EEG ve Çözümlemesi**

Beyinde nöronlar arasındaki iletimden kaynaklanan sürekli bir elektriksel aktiviteden söz edilebilir ve bu aktiviteyi elektrotlar aracılığıyla kafatasından kaydedebiliriz. Elde edilen kayda elektroensefalogram (EEG) denir. Nöron topluluklarının aktivitelerini, direkt olarak beyin korteksinin yüzeyinden elektrotlarla kaydetme işlemine de elektrokortikogram (ECoG) denir. Epilepsi ile ilgili çalışmalarda EEG ve ECoG en yaygın kullanılan metotlardır. Ayrıca, tek bir nöronun aktivitesini gözlemlemek için de mikro elektrotlar kullanılarak tek hücre (intraselüler veya ekstraselüler) kayıtları da alınabilir. EEG deneysel hayvan modellerinde kullanılarak bazı hastalıkların fizyopatolojisini aydınlatmada, uykunun çeşitli safhalarını birbirinden ayırmada, koma gibi çeşitli organik beyin hasarlarını ve epilepsi gibi nörolojik hastalıkları teşhis etmede ve tedaviye yanıt oranlarını tespit etmede kullanılabilir.

EEG kaydı için iki tip elektrot kullanılır. Bunlardan biri aktif elektrottur ve kayıt alınacak aktif alana yerleştirilir. Diğer elektrot, aktif elektrottan uzak bir bölgeye, potansiyeli sıfır olarak kabul edilen bir alana (kulak memesi gibi) konulur. Bu elektrotta referans (indifferent) elektrot adı verilir. Klinikte EEG kaydı yapılırken beynin çeşitli yerlerine çok sayıda aktif elektrot yerleştirilir. Bütün kayıtlarda ya bir aktif elektrot ile bir referans elektrot arasındaki potansiyel farkı ölçülür (monopolar kayıt) veya iki aktif elektrotun arasındaki potansiyel farkı yazdırılır (bipolar kayıt). Kaydedici elektrotlar genellikle belli bir şemaya göre frontal, parietal, oksipital ve temporal lobların üzerinde kafatasına yerleştirilir (Schmidt, 1989).

Önceleri EEG dalgalarının korteksteki nöronların aksiyon potansiyellerinin toplamı olduğu sanılmıştı. Daha sonra, derin anestezide ve hipokside aksiyon potansiyellerinin kaybolduğu, fakat yavaş EEG potansiyellerinin devam ettiği görülmüştür. EEG dalgalarının oluşumunda aksiyon potansiyellerinin de katkısı vardır fakat bu çok azdır. Kaydedilen kaba potansiyellerin büyük çoğunluğunu dikine olarak yerleşmiş bulunan piramidal hücrelerin aynı anda aktive edilmeleri sonucu görülen postsinaptik potansiyeller meydana getirmektedir. Bu potansiyeller ortaya çıkıp cebirsel toplama tabii tutulurken hücre dışı alandan geçen akım EEG potansiyelini ortaya çıkarır. Kaba potansiyellerin gerçek şekli ve biçimi postsinaptik potansiyellerin yerine ve şekline bağlıdır (Schmidt, 1989).

Normal bir insanda saçlı deriden kaydedilen potansiyellerin frekansı genel olarak 1 ile 30 Hz; yükseklikleri ise 20-100 mikrovolt ( $\mu V$ ) kadardır. Kafatası ve deri, EEG dalgalarının yüksekliğini azaltıcı bir etki gösterir. EEG dalgalarının hem frekansı hem de yüksekliği oldukça karmaşık bir yapıdadır ve çeşitli şartlarda değişebilir. Bununla birlikte EEG dalgaları frekanslarına göre beş büyük gruba ayrılmaktadır (Miller ve ark., 1992; Timofeeva ve Gordon, 2001).

Görünüşlerine göre EEG'de diken ve dalga diye iki ayrı yapı ayırt edilir. Dikenin süresi 1/12 saniye veya daha azdır. Dalgalar ise, süresi 1/8 saniyeden fazla olan yavaş dalga (teta ve delta gibi); ve süresi 1/12 saniye ile 1/5 saniye arasında olan keskin dalga diye ikiye ayrılırlar. Deneysel olarak meydana getirilen fokal epilepside görülen ilk anormallik, EEG'de yüksek voltajlı intermiten negatif dalgaların belirlenmesidir. Bu dalgalara interiktal dikenler denir. Çünkü bunlar insan EEG'sinde



gerçek nöbetlerin arasında görülen dalgalara benzerler. İnteriktal dalgalara sıklaştınca bu dalgaları uzun süreli, bir yavaş negatif dalga izler (Kandel ve Siegelbaum, 2000).

**Tablo I.** EEG dalgaları: Beyinden kaydedilen EEG’lerde ortaya çıkan temel 5 dalga bandı.

<b><u>Dalga Adı</u></b>	<b><u>Frekansı (Hz)</u></b>
Delta	0.5-4
Teta	4-8
Alfa	8-13
Beta	13-30
Gama	30-50

#### **2.2.4.1. Delta ve Teta dalgaları**

Sağlıklı erişkinde uykunun çeşitli safhalarında görülen yüksek genlikli dalgalardır. Teta dalgası ayrıca hipokampus aktivitesi ile yakından ilişkilidir ve singulat korteks ve septum gibi diğer bazı beyin bölgelerinden de kaydedilmiştir.

Teta dalgalarının, yavaş (kolinerjik veya atropine duyarlı; 4-7 Hz) teta ve hızlı (atropine dirençli; 7-9 Hz) teta olmak üzere iki bileşeni bulunduğu bildirilmiştir (Timofeeva ve Gordon, 2001). Bu farmakolojik farklılıklar, bu dalgaların oluşumunda farklı nöronal yolların etkili olduğunu göstermektedir.

Hipokampus ve singulat kortekste daha fazla gözlenen yavaş teta aktivitesinin medyal septum ve Broca diyagonal bandında bulunan kolinerjik liflerle yönetildiği düşünülmektedir (Keita ve ark., 2000; Timofeeva ve Gordon, 2001).

#### **2.2.4.2. Alfa dalgaları**

Bazı hastalıklarda EEG’nin değiştiğini gösteren Hans Berger’in isminden dolayı Berger ritmi de denir. Normal bir insanda, sessiz ve sakin bir odada gözler kapalı, zihnen ve bedenen tam istirahatta iken kaydedilir. Parietal ve özellikle oksipital bölgede daha belirgindir. Uykuda kaybolur.

Uyku sırasında gözlenen uyku içcikleri de yine alfa aralığına (7-14 Hz) denk düşen dalgalar olup, genlikleri alfa dalgalarına oranla daha yüksektir. Alfa bandının oluşumunda, beyin sapı, önbeyin ve talamusun çeşitli bölgeleri karmaşık bir işbirliği içindedir (Timofeeva ve Gordon, 2001).

### **2.2.4.3. Beta ritmi**

Normal olarak insanda frontal bölgede daha belirgindir. Uyarılar ve aşırı zihin aktivitesi olduğunda daha yoğundur. Beta ritmi EEG'nin en küçük genlikli ve yüksek frekanslı dalgalarıdır (Ferri ve ark., 2001; Schmidt, 1989). Ayrıca bu dalgalar, uyku halinde azalma ve zihinsel rahatlık halinin bozulması durumlarında da ortaya çıkar.

### **2.2.4.4. Gama ritmi**

30 Hz üzerinde yer alan dalgalar genellikle gama aktivitesi olarak adlandırılır. Özellikle insanda yapılan deneyler, 40 Hz'lik aktivitenin bilişsel işlevlerde ve duyuşsal bilginin bütünleştirilmesinde (entegrasyonunda) önemli olduğunu ortaya koymuştur. Üst düzey zihinsel faaliyetlere eşlik eden gama salınımları (osilasyonları) hayvanlarda da gözlenmektedir (Hestrin ve Galarreta, 2005).

Deney hayvanlarında bu dalgaların dikkat, dikkate bağılı hareketsizlik, odaklı uyanıklık, duyuşsal algılama ve paradoksik uyku ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Ferri ve ark., 2001). Genel olarak gama ritminin bazal önbeyin kolinerjik yolları ve beyin sapı–talamokortikal kolinerjik yolları ile düzenlendiğı kabul edilmektedir (Timofeeva ve Gordon, 2001).

### **2.2.5. Deneysel Epilepsi Modelleri**

Normalde her sinir hücresi ya kendiliğinden belli bir frekansta ya da diğere hücrelerden aldığı uyarıların cebirsel toplamına göre elektriksel deşarjlar oluşturur. Fakat bazı durumlarda bu düzen bozulur ve büyük bir nöron topluluğunun eşzamanlı (senkron) ve anormal biçimde deşarj yapmaya başlamasıyla birlikte epileptik nöbetler ortaya çıkmaya başlar. Ayrıca eşzamanlı deşarjlar, davranışta stereotip ve irade dışı paroksizmal değışimlere sebep olur. Anormal hücre deşarjlarının nedenleri arasında ise; travma, oksijen yetmezliğı, tümörler, enfeksiyonlar ve metabolik bozukluklar sayılabilir. Ancak epileptik nöbetlerin yaklaşık yarısında herhangi bir neden tespit edilememiştir (Martin, 1991). Günümüzdeki epilepsi tedavileri daha çok bulguları gidermeye yöneliktir ve halen kompleks parsiyel epilepsili hastaların yaklaşık yarısında nöbetler kontrol altına alınamamaktadır (Shin ve McNamara, 1994).

Epilepsinin temel mekanizmalarını anlamak ve bu hastalığa karşı daha etkili ilaçlar geliştirmek amacıyla çok çeşitli deneysel epilepsi modelleri geliştirilmiştir. Bunların büyük bir bölümü, klinik epileptik sendromların deneysel epilepsi modelleri olarak kabul edilmektedir. Ve bu deneysel modeller epilepsi sendromlarının özel alt tiplerinin patofizyolojisini gün ışığına çıkarmak için kullanılmaktadırlar. Bu nedenle, deneysel epilepsi modelleri, klinik çalışmaların yanı sıra, epilepsi araştırmalarında da önemli bir yer tutmaktadır. Deneysel epilepsi modelleri şu şekilde sınıflandırılabilir:

### **2.2.5.1. Basit Parsiyel Epilepsinin Akut Modelleri**

Bu gruptaki modellerin, insanda travma veya hematom sonucu görülen epileptik boşalımlarla aynı temel mekanizmaya sahip olduğu kabul edilmektedir.

a) Yüzeysel epileptik madde uygulamaları: Penisilin (Walker ve ark., 1946), bikukullin (Campbell ve Holmes, 1984), pikrotoksin (Usunoff ve ark., 1969), striknin (Fisher, 1989), kolinerjik (Ferguson ve Jasper, 1971) ve antikolinerjik maddeler (Daniels ve Spehlmann, 1973; Tan ve ark., 1978) akut fokal epilepsi oluşturmak için kullanılır.

b) Akut elektriksel uyarı (Fisher, 1989)

c) GABA kesilmesi (Brailowsky ve ark., 1988; Brailowsky ve ark., 1987)

d) Neokorteks ve hipokampus dilimleri (McCormick ve ark., 1985; Schwartzkroin ve ark., 1983)

### **2.2.5.2. Basit Parsiyel Epilepsinin Kronik Modelleri**

a) Beyin kabuğuna metal uygulanması: Yüzeysel olarak beyne verilen alüminyum, kobalt, nikel (Kopeloff, 1960), krom, kalay, tungsten, bizmut, kadmiyum, titanyum, demir, cıva, vanadyum, tantal (Chusid ve Kopeloff, 1962; Willmore ve ark., 1978), berilyum, kurşun (Chusid ve Kopeloff, 1962) ve çinko (Donaldson ve ark., 1971) basit parsiyel kronik epilepsi oluşturmak için günümüze kadar kullanılmış olan maddelerdir.

b) Sıcaklık (temperature) modeli (Hanna ve Stalmaster, 1973)

c) Beynin belli bir alanı soğutularak fokal epilepsi oluşturulabilmektedir.

d) Sistemik fokal model (Remler ve Marcussen, 1986): Beyin dokusunun bir bölümüne ışınım verilmesi yoluyla oluşturulabilir.

### **2.2.5.3. Kompleks Parsiyel Epilepsi Modelleri**

Kompleks parsiyel nöbetler genel olarak amigdaller, hipokampus, temporal neokorteks gibi yapıları kapsayan limbik lobdan kaynaklanır.

- a) Kainik asit modeli (Faingold ve Browning, 1987)
- b) Tetanos toksini modeli (Carrea ve Lanari, 1962)
- c) Prepriform korteks modeli: “Fırtınalar alanı” olarak da anılan Prepriform kortekse bikukullin, kainik asit, glutamat, aspartat ve NMDA verilmesiyle çift taraflı klonik motor nöbetler oluşturulur (Piredda ve Gale, 1986).
- a) Tutuşma (tutuşma) modeli (Alonso-Deflorida ve Delgado, 1958)
- b) Beyin dilimleri modeli (Wong ve ark., 1984)

### **2.2.5.4. Petit Mal Epilepsi Modelleri**

- a) Talamusun uyarılması (Hunter ve Jasper, 1949)
- b) Çift taraflı odak modeli (Fisher ve Prince, 1977)

Beyin korteksinin her iki tarafına yaygın olarak konvülsan maddeler verilerek oluşturulur.

- c) Sistemik penisilin modeli (Prince ve Farrell, 1969)
- d) Gama-Hidroksi Bütirat (GHB) Modeli (Snead, 1988)
- e) Opioid peptid modeli (Snead ve Bearden, 1980)
- f) Genetik model: Wistar ve Sprague-Dawley sıçanlarının sayıca % 30 kadarı spontane olarak epilepsi nöbetleri geçirmeye genetik olarak yatkınlık göstermektedir (Coenen ve Van Luijtelaar, 1987).

### **2.2.5.5. Grand Mal (Jeneralize Tonik Klonik) Epilepsi Modelleri**

Büyük nöbet diye adlandırılan bu epilepside EEG frekansı 10 Hz kadar olan aynı ana rastlayan bilateral ritmik deşarjlar ve miyoklonik kasılmalar gözlenir (Gloor ve Fariello, 1988).

- a) Genetik Modeller: Işığa duyarlı babun modeli (Meldrum, 1984); Farelerde sesle oluşturulan (odyojenik) epilepsi modeli (Fisher, 1989); Paytak fare modeli (Seyfried ve Glaser, 1985); Epileptik fare (E1) modeli (Suzuki, 1976); Genetik olarak epilepsiye yatkın sıçan modeli (Fisher, 1989)
- b) Maksimal elektroşok (MES) modeli (Fisher, 1989)

- c) Sistemik konvulsanlarla oluşturulan modeller: Pentilentetrazol, penisilin (Bo ve ark., 1984; Kozan ve ark., 2008), begmerid, bikukullin, pikrotoksin, homosistin ve eksitatör aminoasitler verilerek oluşturulur (Bağırıcı ve Bostancı, 2001) .
- d) Metabolik bozukluklar sonucu oluşan epilepsi modelleri: Hipoksi, hipoglisemi, üremi, ilaç kesilmesi ve yüksek sıcaklık gibi durumlarda meydana gelen epileptik nöbetlerdir (Bağırıcı ve Bostancı, 2001).

#### **2.2.5.6. Status Epileptikus Modelleri**

- a) Lityum pilokarpin modeli (Laird, 1989)
- b) Kobalt homosistin modeli (Freed, 1985)
- c) Elektriksel modeller (Vicedomini ve Nadler, 1987)

Bazı konvülsan maddeler birden fazla epilepsi modeli oluşturabilir. Ancak, epilepsi konusunda akla gelen tüm sorulara cevap alabileceğimiz tek bir model yoktur. Bununla birlikte, modeller üzerinde yapılan çalışmaların ancak o modeli ilgilendiren temel mekanizmaları aydınlayabileceği akılda tutulmalıdır. Ayrıca, epilepsi modellerinin değerlendirilmesinde modellerin, insanlarda ortaya çıkan klinik epilepsilerin aynısı olmadığı da göz önünde bulundurulmalıdır (Marangoz, 1997).

## **2.3. EPİLEPSİ**

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ=WHO) epilepsiyi beyinde aşırı uyarılabilir hale gelmiş bir nöron topluluğunun, tekrarlayıcı karakterde, anormal deşarjlarına bağılı olarak, ani ve geçici motor, duyuşal, otonomik veya psişik olaylarla sonuçlanabilen ve beynin bir bölümünün veya tamamının fonksiyon bozukluğu olarak tanımlamıştır (Engel ve ark., 1989).

Epilepsi merkezi sinir sisteminin en yaygın görülen hastalıklarından birisidir ve insan topluluğunun % 1-3'inde görülmektedir (Hauser ve Hesdorffer, 1990). Her on kişiden birisi hayatının bir döneminde en azından bir sefer epileptik nöbet geçirmektedir ve Dünya'da 50 milyon kişi bu hastalıktan muzdariptir. Bu sayı kadınlardaki meme kanseri ve erkeklerdeki akciğer kanserine neredeyse denktir (Haslam, 2007).

Epilepsi tanısının konulabilmesi için epileptik nöbetlerin tekrarlayıcı karakter kazanması ve bu özelliğini yıllarca devam ettirmesi gerekmektedir. Kafa travmaları, inme, beyindeki hemorajiler, merkezi sinir sistemini etkileyen bazı enfeksiyonlar (menenjit, ansefalit veya abse gibi), beyin damarlarındaki bazı yapısal bozukluklar, genetik faktörler, doğum travmaları ve tümörler belli başlı epilepsi nedenleri arasında yer alır. Neredeyse vakaların % 70'inde altta yatan neden bilinmemektedir (Bruton, 1988; Engel ve ark., 1989; Ettinger, 1994).

### **2.3.1. Epilepsi ve Epileptik Sendromların Sınıflaması**

Epilepsi ve epileptik sendromların sınıflandırılması epileptik hastaların teşhis ve tedavi yaklaşımlarının belirlenmesinde önemli yer tutmaktadır. Epileptik nöbetlerin değerlendirilmesinde ilk önce yapılması gereken nöbetin fokal başlangıçlı mı, yoksa jeneralize mi olduğunu belirlemektir. Fokal nöbetler motor veya duyuşal semptomlarla karakterize olabilmekte ve başın veya gözlerin bir tarafa doğru çevrilmesi veya yüzde veya ekstremitelerde başlayan tek taraflı klonik hareketler veya spesifik olarak bir bölgeye lokalize parestezi veya ağrı gibi duyuşal bozukluk şeklinde görülebilmektedir. Motor nöbetler fokal veya jeneralize ve tonik-klonik, tonik, klonik, miyoklonik ve atonik tipte olabilmektedir. Tonik nöbetler artmış tonus veya rijidite ile karakterizedir. Atonik nöbetler ise flaksidite veya nöbet sırasında hareketin olmamasıyla kendini gösterir.

Uluslararası Epilepsiyle Savaş Birliği'nin (International League Against Epilepsy, ILAE) 1981 yılında yayınladığı sınıflandırma sistemine göre epileptik nöbetler parsiyel ve jeneralize olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır.

### **1.Parsiyel (fokal, lokal) nöbetler:**

- A. Basit: motor, somatosensör, otonomik, psişik
- B. Kompleks
  - a. Başlangıçta bilinç kaybı ile beraber
  - b. Basit parsiyeli takiben bilinç kaybı
- C. Parsiyel nöbetlerden Jeneralize Tonik-Klonik'e geçen (JTK)
  - a. Basitten JTK'e geçen
  - b. Kompleksten JTK'e geçen

### **2. Jeneralize nöbetler (konvülsif ya da konvülsif olmayan)**

- A. Absans nöbetleri
  - a. Tipik absans nöbetleri (petit-mal)
  - b. Atipik absans nöbetleri
- B. Miyoklonik (ritmik spazmlı silkinme ve sıçramalar)
- C. Klonik (sadece klonik spazmlarla karakterize)
- D. Tonik (sadece kas tonusunda artış ile karakterize)
- E. Tonik-klonik (tonus artışını izleyen klonik kasılmalar)
- F. Atonik ( tüm kas tonusunun ani olarak kaybı)
- G. Kombinasyonları

### **3. Sınıflandırılmayan epileptik nöbetler**

#### **2.3.2. Antiepileptik İlaçlar**

##### **2.3.2.1.Valproik asit**

Valproik asit, absans, miyoklonik , primer jeneralize ve tedaviye dirençli fokal nöbetlerin tedavisinde kullanılabilen geniş spektrumlu bir antiepileptik ilaçtır (Gilbert ve Teskey, 2007). Epilepsi tedavisinde en sık kullanılan antiepileptik ilaçlardan biri olan valproatın tedavi edici etkisinin, santral sinir sisteminde inhibitör bir nörotransmitter olan gama amino butirik asit (GABA) üzerinden olduğu kabul edilmektedir. Valproik asit, GABA'nın parçalanması ve yapımında rol alan bazı enzimleri etkileyerek beyinde GABA düzeyini artırmaktadır. Bu enzimlerden birisi GABA sentezinde önemli yer

tutan glutamik asit dekarboksilazdır. Diğeri ise GABA'yı metabolize eden GABA aminotransferazdır. Valproik asit glutamik asit dekarboksilazı aktive ederken GABA aminotransferazı zayıf bir şekilde inhibe eder. Ayrıca valproat, GABA'nın postsinaptik etkinliğini artırır, nöronal membranların potasyum iletiminde artışa neden olur ve aspartatın eksitator etkisini de azaltır (Johannessen ve Johannessen, 2003; Loscher, 1999; 2002).

Oral olarak alındıktan sonra hızlı ve tama yakın emilir. Emilim miktarı yiyeceklerden etkilenmez. Plazmada en yüksek konsantrasyonuna ulaşma süresi 2-8 saattir ve yarılanma ömrü ise 8-18 saattir. Hızlı bir şekilde vücuda dağılır ve santral sinir sistemine dakikalar içinde ulaşır. Yaklaşık %90 oranında plazma proteinlerine bağlanır. Karaciğerde konjugasyon ve oksidasyon ile metabolize olur. Bazı yıkım ürünlerinin antikonvülsan etkinliği vardır. Karaciğerde enzim induksiyonu yapmaz. Ancak diğer ilaçların metabolizmasını sağlayan enzimleri inhibe ederek kan düzeylerini yükseltebilir. İdrar ve gaita yolu ile atılır (Loscher, 1978).

En sık görülen yan etkiler gastrointestinal sistem yan etkileridir. İştah kaybı, hazımsızlık, midede yanma hissi, bulantı ve kusma gibi belirtilerdir. Kilo alımı ve saç dökülmesi görülmektedir. Bu yan etkiler ilacın kesilmesini gerektirmez ancak özellikle selenyum ve çinko içeren multivitamin kombinasyonları ile profilaktik tedaviyi gerektirebilir. Bilişsel yetenekleri fazla etkilememekle birlikte ataksi, tremor ve sedasyon gibi nörolojik yan etkiler tedavinin gidişi sırasında ortaya çıkabilmektedir. Antipsikotiklerle kombine olarak kullanıldığında sedasyon ve somnolans görülebilir. Valproik asit karaciğer fonksiyon testlerinde geçici yükselmelere neden olabilir. Valproat ile ilgili pankreatit tablosu nadir görülmektedir. Bu yan etki genellikle tedavinin ilk 6 ayı içinde ortaya çıkmaktadır. Hematolojik yan etkiler içinde en çok trombositopeni ortaya çıkmaktadır. Valproat teratojenite potansiyeli olan bir ilaçtır. Gebeliğinin ilk üç ayında valproat kullanan kadınların bebeklerinde % 1-2 oranında nöral tüp defektleri görülebilmektedir. Yan etkiler içinde sedasyon, baş ağrısı ve irritabilite en fazla saptanan belirtilerdir (Barnes ve ark., 1996; Robert ve Guibaud, 1982; Zarate ve ark., 1999).

Lityum ve karbamazepin gibi ilaçlar valproatın yan etkilerini artırabilir. Valproat fenobarbitalin karaciğerdeki metabolizmasını inhibe ederek kan düzeyini % 25-125 oranında arttırabilir. Valproik asit karbamazepinle birlikte kullanıldığında nörotoksisite



açısından risk taşımaktadır. Valproat total fenitoin ve plazma proteinlerine bağlı fenitoin konsantrasyonlarını azaltmaktadır. Ayrıca karaciğerde fenitoinin yıkımını azaltarak da fenitoin konsantrasyonunu artırır. Fenitoin ise hepatik metabolizmayı artırarak valproatın konsantrasyonunu azaltmaktadır.

Valproat ve lityum birlikte kullanıldığında tremor en sık görülen yan etkilerden biridir. Klasik antipsikotik ilaçlarla bir arada kullanıldığı zaman hastalarda sedasyon düzeyinde artma ve antipsikotiklerin ekstrapiramidal yan etkilerinde artışa neden olmaktadır. Klozapin ve valproat kombinasyonu sıklıkla sedasyona neden olur ve nadiren konfüzyon görülür.

Valproat, gabapentin, lamotrijin ve topiramet gibi yeni antiepileptik ilaçlarla birlikte kullanıldığında genellikle iyi tolere edilmektedir. Ancak, valproat lamotrijinin metabolizmasını inhibe eder. Bu yüzden doz ayarlanması bu etki göz önüne alınarak yapılmalıdır.

Valproat, monoamin oksidaz inhibitörleri, trisiklikler, seçici serotonin geri-alım inhibitörleri gibi antidepresan ilaçlarla birlikte güvenilir biçimde kullanılabilmeyle birlikte amitriptilin serum valproat konsantrasyonunda artışa neden olmaktadır. Aynı zamanda valproat da trisikliklerin metabolizmalarını inhibe ederek kan düzeylerinin artmasına neden olmaktadır. Fluoksetin ile birlikte kullanıldığında serum valproat konsantrasyonu artmaktadır (Shorvon, 2005).

### **2.3.2.2. Fenitoin**

Fenitoin ilk olarak 1938 de klinikte kullanılmaya başlanmıştır. Bundan sonra fenitoin parsiyel ve sekonder jeneralize nöbetlerin tedavisinde kullanılan başlıca birinci kuşak antiepileptik ilaç olagelmiştir. O zamanlar potasyum bromid ve fenobarbital de fenitoine benzer etki göstermelerine rağmen daha az sedasyon yaptığı için fenitoin daha çok tercih edilmiştir. Fenobarbital kullanılmaya devam edilmiştir, ancak neredeyse 100 senedir reçete edilen bromidler kullanımdan kaldırılmıştır. Şu anda birçok alternatif ilaç vardır ve fenitoinin kullanımı azalmıştır. Yine de hem ucuz hem de güçlü antiepileptik etkileri olması sayesinde dünyanın birçok yerinde hala ilk tercih olarak düşünülmektedir. Son 50 yıldır epilepsi tedavisinde muazzam etkileri vardır ve epilepsi tedavisinde klinik ve deneysel ilaç geliştirilmesi için iyi bir örnektir.

Fenitoin, trigeminal nevralji, nöropatik ağrı, bazı kardiyak aritmiler, migren, paroksizmal koreoatetoz ve miyotoni gibi hasatlıkların tedavisinde de kullanılmaktadır.

Fenitoinin (5,5'-difenilhidantoin) serbest asit formu (molekül ağırlığı 252,3) ve sodyum tuzu formu (molekül ağırlığı 274,3) vardır. Fenitoin beyaz bir katı kristaldir. pKa'sı 8,3-9,2 olan zayıf bir asittir. pH'si 12 civarında olan parenteral formu da bulunmaktadır. Yüksek sıcaklık ve nem ilacın oral biyoyararlanımını azaltabileceği için fenitoin kapsüllenmiştir.

Fenitoin sinir hücre membranında bulunan voltaj bağımlı sodyum kanallarına bağlanır ve bu kanallarının inaktivasyon sürelerini uzatır. Fenitoinin antiepileptik etkisi daha çok bu mekanizma üzerindedir.

Fenitoin yüksek konsantrasyonlarda akson ve sinir sonlanmalarında kalsiyum kanallarını da inhibe edebilir. Bu etki aksonal hücre membranını stabilize eder ve akson terminallerinden nörotransmitter salınımını azaltır.

Fenitoin genelde hastalara sodyum tuzu şeklinde verilir. Bu form mide-barsak kanalından oldukça yavaş emilir. Mideden emilim göreceli olarak yavaştır çünkü mide pH sinde fenitoin çok az çözünebilmektedir. İnce barsaklarda yüksek pH çözünebilirliği ve emilimi artırmaktadır. İnce barsak hastalıklarında olduğu gibi, yiyecekler de fenitoinin emilimini değiştirmektedir. Normal sağlıklı bir kişide oral biyoyararlanım %95 civarındadır. Fenitoinin gastrointestinal kanalda çözünmesini engelleyen bütün faktörler emilimi geciktirir veya engeller. Absorbsiyon kişiden kişiye veya aynı kişide farklı zamanlarda ortada belirgin bir neden olmaksızın değişkenlik gösterebilmektedir. Gebelik emilimi azaltır. Yeni doğanlarda ise emilim zayıf ve düzensizdir.

Fenitoin bütün vücuda dağılır. Dağılım hacmi 0.5-0.8 l/kg'dir. Beyinde plazmaya göre biraz daha yüksek konsantrasyonlarda bulunur. Beyinde ise beyaz cevherde gri cevhere göre daha yüksek konsantrasyonlarda bulunur.

Fenitoin P-glikoprotein aracılığıyla beyin dışına taşınır. %70-90 oranında plazma proteinlerine bağlanır. Fenitoinin beyin-omurilik sıvısındaki düzeyleri plazmadaki serbest fenitoinle eşittir. Bazı asidik ilaçlar (salisilatlar ve valproat gibi) ve belli endojen maddeler (yağ asitleri, bilirubin) fenitoini plazma proteinlerine bağlanma yerlerinden uzaklaştırır. Ancak bu etki nadiren klinik öneme sahiptir.

Fenitoin büyük oranda karaciğer P450 karma oksidaz sistemiyle metabolize edilir ve normal dozlarda bu iş %90 oranında izoform CYP2C9 etkinliği iledir. CYP2C9 genindeki mutasyonlar yavaş metabolizmaya neden olur.

Fenitoin metabolitlerinin hiçbiri antikonvülsan etkiye sahip değildir. Bu metabolitler böbrekten itrah edilir. İdrarda en çok bulunan fenitoin metaboliti p-hidroksifenitoinidir.

Düşük oranda fenitoin metabolizmasında otoindüksiyon olur. Fenitoinin vücuttan uzaklaştırılması ve yarı ömrü kişiden kişiye ve plazma düzeylerine göre değişiklik gösterebilir. Yüksek plazma konsantrasyonlarında yarı ömrü daha uzun olacaktır ve vücuttan uzaklaştırılması enzim sistemlerinin doygunluğa erişmesinden dolayı uzun olacaktır.

Yeni doğanlarda fenitoin eliminasyonu yavaş, çocuklarda ise erişkinlere göre daha hızlıdır. Yaşlılarda ise genç erişkinlere göre biraz daha yavaştır. Ciddi karaciğer yetmezliğinde fenitoinin dozu azaltılmalıdır. Böbrek yetmezliğinde fenitoin düzeyleri düşer. Hemodiyaliz fenitoin düzeylerini pek etkilemez. Gebelikte fenitoin metabolizması artmıştır, fenitoinin yarı ömrü kısalmıştır ve toplam plazma düzeyi düşmüştür (Shorvon, 2005).

Fenitoinin en sık görülen yan etkileri nörolojik yan etkileridir. İlk olarak gelişen nörolojik yan etki nistagmustur. Ataksi, dizartri ve diskinezi sık görülen nörolojik yan etkilerdir. Uykusuzluk, sinirlilik ve tremor da görülebilir. Plazma fenitoin düzeyi 40 mg/ml'nin üstüne çıkarsa deliryum ve koma görülebilir (Zaatreh ve ark., 2001). Uzun süre kullanıldığında diş eti hiperplazisi genelde ilk 6 ay içinde görülür (Miranda ve ark., 2001). Uzun süreli fenitoin alan hastalarda folat eksikliğine bağlı olarak hiperkrom makrositer anemi ve nadiren agranülositoz (granülosit eksikliği) gözlemlenebilir. Yüksek doz fenitoin kullanımı hiperglisemi ve glukozüriye (idrarla glukoz atılması) neden olabilir. Tiroid fonksiyonlarında bir bozukluğa neden olmaksızın serum total ve serbest T4 düzeylerini düşürebilir. Çocuklarda raşitizm yetişkinlerde osteomalazi uzun süre fenitoin kullanımına bağlı olarak gelişebilir. Bu yüzden uzun sürecek fenitoin tedavisinde raşitizm ve osteomalazi gelişimini önlemek için hastalara D vitamini desteği verilmelidir. Hırşutizm (anormal kıllanma) %5 oranında görülebilir (O'Brien ve ark., 2001; Patsalos ve ark., 2002).

Aç karnına alınırsa bulantı-kusma ve epigastrik ağrıya neden olabilir. Fenitoine bağlı deri döküntüsü görülebilir. Bazen ciddi ekfoliyatif cilt lezyonları da görülebilir. İlaç ateşi, lenfadenopati ve eozinofili bu tabloya eşlik edebilir (Wlaz ve ark., 1996).

Fenitoin, valproat, pirimidon, etosüksümit ve karbamazepin gibi ilaçların plazmadaki konsantrasyonlarını enzim indüksiyonu yoluyla azaltır. Fenobarbitalin plazma düzeylerine etkisi değişkendir. İzonyazit, kloramfenikol, dikumarol, sülfonamidler, tioridazin, fenilbütazon ve simetidin gibi ilaçlar da fenitoinin plazma konsantrasyonunu yükseltirler. Farmakolojik dozlarda alkol ve folat alınması fenitoin düzeyini azaltır (Wlaz ve ark., 1996).

## 2.4. TUTUŞMA MODELİ

Tutuşma, nöbet oluşturmeyan uyarının tekrarlanması ve aralıklı olarak verilmesi sonucu zamanla nöbet gelişimidir. Tutuşma sekonder jeneralizasyonla birlikte olan kompleks parsiyel nöbet için iyi bir modeldir. Tutuşma, geleneksel olarak kısa ve düşük yoğunluktaki elektriksel uyarıyla oluşturulmaktadır (Gilbert ve Goodman, 2006; Goddard ve ark., 1969).

### 2.4.1 Elektriksel Tutuşma

Tutuşma ilk olarak Goddard tarafından sıçan amigdaliasına elektriksel uyarı verilmesiyle gözlemlenmiş ve ilk kez adlandırılmıştır. Goddard'ın bu çalışmasında başlangıçta, elektrik uyarısı kısa süreli lokal art deşarjlar üretmiştir. Sonra aşamalı olarak bu art deşarjların süresinin uzadığı ve diğer beyin bölgelerine de yayıldığı ve en sonunda tüm beyni kapladığı görülmüştür (Goddard, 1967).

1972'de Racine tutuşma nöbetlerinin davranış skorlamasını yapmıştır. Bu skorlamaya göre;

**Evre 1:** Yüz seğirmeleri

**Evre 2:** Baş sallama

**Evre 3:** Tek taraflı ön ayak klonusu

**Evre 4:** Şahlanma; genellikle bilateral klonustan sonra olur.

**Evre 5:** Şahlanma ve düşme (Racine, 1972)

Evre 1 ve 2 nöbetler insanda gözlenen kompleks parsiyel veya limbik nöbetleri taklit eder, sonraki evreler ise sekonder jeneralize tonik-klonik nöbetlere yol açan limbik nöbetlerle ilişkilidir. Evre 4 veya 5 nöbetler esnasında ön veya arka ayakların klonik veya tonik aktivitesi insandaki motor nöbetleri temsil etmektedir (Racine ve Burnham, 1984).

Tutuşma sürecinde parsiyel nöbetler gittikçe jeneralize nöbetlere dönüşür, latens gittikçe kısalır ve tam tutuşma geliştiğinde jeneralize tonik-klonik nöbetler elektriksel stimülasyondan hemen sonra gözlemlenir (Fisher, 1989).

## 2.4.2 Kimyasal Tutuşma

Kimyasal tutuşmadaki nöbetler de elektriksel tutuşmada olduğu gibi, tekrarlayan uyarılarla elektrografik ve davranışsal olarak kademeli bir gelişim gösterir. Ancak kimyasal tutuşmada elektriksel uyarıdan ziyade kaynak sinirsel devrelerin kimyasal bir ajanla uyarılmasıdır (Gilbert ve Goodman, 2006).

Elektriksel tutuşmada olduğu gibi kimyasal tutuşmada da davranışsal nöbetlerin derecesi git gide artar, nöbet eşiği giderek düşer ve nöbeti meydana getiren uyarana karşı duyarlılık artarak devam eder.

Kimyasal tutuşma eksitator ajanların düşük dozlarda doğrudan beyin içine verilmesiyle oluşturulabilir. Ya da çoğu zaman, konvülsan ajanların eşik altı konsantrasyonlarda sistemik olarak uygulanmasının defalarca tekrarlanmasıyla oluşturulur (Gilbert ve Goodman, 2006).

Sıçanlarda amigdalaya fokal elektrik uyarını verildiğinde diğer nöbet oluşturan uyarılara karşı sıçanların kalıcı olarak duyarlı hale geldiği gözlemlenmiştir (Alkol yoksunluğu, konvülsan kimyasal ajanların uygulanması gibi). Benzer bir şekilde eşiğ altı dozlarda tekrar tekrar konvülsan ajanların sistemik olarak veya direkt beyne verilmesi sonucunda standart elektriksel uyarı ile tutuşma modeli oluşturmak için gereken elektriksel stimlasyon çok daha azdır (Cain, 1986; Racine, 1978; Uemura ve Kimura, 1990; Wasterlain, 1989; Wlaz ve ark., 1998). Eşiğ altı kimyasal ve elektriksel uyarılar benzer anatomik yolları aktive ediyor gibi görünmektedir. Kimyasal tutuşma modelleri epileptogenezin temel mekanizmalarını anlamak, elektriksel tutuşmanın kimyasal ve moleküler substratlarını araştırmak ve antikonvülsan ilaçların ayırımını yapmak için kullanılmaktadır.

Çoğu epilepsi modelinden farklı olarak tutuşma modeli kalıcı ve progresiftir ve önemli bir doku hasarı olmaksızın nöbet duyarlılığında kalıcı bir artışa neden olmaktadır. Tutuşma modeli klinik epilepsi modelinin iyi bir karşılığıdır. Çünkü elektrografik ve davranışsal bulgular insandaki kompleks parsiyel nöbetleri çok iyi taklit etmektedir (Gilbert ve Goodman, 2006).

Elektriksel ve kimyasal tutuşma, sekonder jeneralizasyonla birlikte olan kompleks parsiyel nöbetlere özgü modellerdir. Sekonder jeneralizasyonla birlikte olan kompleks parsiyel nöbetler ilaç tedavisine en dirençli nöbetlerdir. Sonuç olarak yeni bir

antiepileptik ilacın geliştirilmesi tutuşmanın altında yatan mekanizmalara bağlıdır (Loscher, 1993; McNamara, 1984).

Uluslararası epilepsiyle savaş derneğinin (ILAE) 1981 de yapmış olduğu sınıflamaya göre elektriksel tutuşma nöbetleri sekonder jeneralizasyonla seyreden kompleks parsiyel nöbetlere karşılık gelir. ILAE bu terimi sekonder jeneralizasyonlu fokal nöbetler olarak değiştirmiştir (Bradford, 1995; Engel, 2001; Fisher, 1989; McNamara, 1984).

Elektriksel tutuşma modeli için kullanılan bu tanımlama konvülsan ajanların beyin içine mikroenjeksiyonuyla oluşturulan kimyasal tutuşma modelleri için de kullanılabilir.

Kimyasal ajanın sistemik olarak uygulanması durumunda bütün beyin etkilenebileceği için elektriksel tutuşmadan farklı bir sınıflama olabilir. Özellikle PTZ ile oluşturulan kimyasal tutuşmada daha fazla kortikal yapı etkilenmektedir ve daha çok bu model primer jeneralize epilepsiye benzemektedir (Ono ve ark., 1990). Kemirgenler kimyasal tutuşma çalışmalarında en çok tercih edilen deney hayvanlarıdır. Genç erişkin sıçanlar ve fareler en çok tercih edilenleridir. Ancak ginea piglerde ve tavşanlarda da kimyasal tutuşma modeli oluşturulmuştur (Diehl ve ark., 1984; Girgis, 1981).

Tipik bir kimyasal tutuşma modelinde konvülsan bir madde eşik altı konsantrasyonlarda ve belirli zaman aralıklarında hayvanlara enjekte edilir. Deneklerin davranışları ve nöbet aktiviteleri gözlemlenir. Kimyasal tutuşmanın gelişim hızı uygulanan maddenin dozuna, veriliş yoluna, tedavinin süresine ve ardışık enjeksiyonların yapılma sıklığına göre değişiklik göstermektedir. Tutuşmanın gelişimi belirli sayıdaki enjeksiyonlardan sonra hayvanların gösterdiği klonik nöbetlerin sayısı, klonik nöbetlerin oluşması için gereken enjeksiyon sayısı ve ortalama nöbet skoruna göre nitelendirilir. Kimyasal tutuşma modelinde konvülsan ajanlar genellikle eşik altı konsantrasyonlarda sistemik olarak verilir. Konvülsan madde hayvanlara intraperitoneal, deri altı veya gavaj ile 24-72 saat aralıklarla verilir. Kimyasal tutuşma modelinde tekrarlayan enjeksiyonlarda beyin aktivitesinin elektrografik olarak kaydedilmesi rutin olarak uygulanmamaktadır. Elektrografik olarak kimyasal tutuşma sürecinin gösterilmesi sadece davranış skorlaması yapılmasından daha objektiftir ve kantitatifdir. Ancak her seferinde beyin aktivitesinin kaydedilmesi yoğun iş gücü gerektirir. Kimyasal tutuşma modelinde kullanılabilen parametreler gözlenen

davranışların skorlanması, bazı davranışların frekansları ve davranışsal cevapların başlama latensi, davranışın süresi ve konvülsif cevap için gereken enjeksiyon sayısıdır (Gilbert ve Goodman, 2006).

Kimyasal tutuşma modeli oluşturmak için merkezi sinir sistemi üzerine farklı etkileri olan çeşitli konvülsan ajanlar sistemik olarak kullanılmaktadır.

### **Kimyasal tutuşma modeli oluşturmak için sistemik olarak kullanılan konvülsan ajanlar (Gilbert ve Goodman, 2006)**

#### **1. GABAerjik antagonistler**

PTZ

Beta karbolin

Pikrotoksin

Bikukullin

#### **2. Nörotoksik ajanlar**

Endosülfan

Lindan

Dieldrin

Trimetilprofan

#### **3. Lokal anestezikler**

Lidokain

Kokain

Kimyasal tutuşma modeli oluşturmada en sık kullanılan ajan pentilentetrazoldür (PTZ). PTZ klor kanalları ile bağlantılı GABA<sub>A</sub> reseptörlerini selektif olarak bloke eder. Ayrıca PTZ, GABA ve diğer inhibitör nörotransmitterlerin etkisini azaltarak nöronların depolarizasyonunu kolaylaştırmaktadır (Hansen ve ark., 2004; Sejima ve ark., 1997).



### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

#### 3.1. DeneY Hayvanları ve PTZ Tutuşma Modelinin Oluşturulması

Çalışmada, ağırlıkları  $200 \pm 50$  g olan 12–16 haftalık albino Wistar cinsi dişi ve erkek sıçanlar kullanıldı. Hayvanlar Ondokuz Mayıs Üniversitesi Cerrahi Araştırma Merkezi'nden temin edildi. Deneylere başlamadan önce Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi DeneY Hayvanları Etik Kuruluna müracaat edilerek izin alındı (OMÜ HAYDEK/2008-48) ve deneY süresince etik kurallara uyuldu.

Tutuşmanın oluşturulması için haftanın üç günü (Pazartesi-Çarşamba-Cuma) 35 mg/kg pentilentetrazol intraperitoneal olarak hayvanlar tutuşana kadar verildi. Enjeksiyonu takiben hayvanlar 35x35x35 cm boyutlarındaki cam gözlem kafeslerinde otuzar dakika boyunca gözlemlendi (Şekil 4). Hayvanların nöbet davranışları W. Fisher ve H. Kittner'in yaptığı çalışmaya göre skorlandı (Fischer ve Kittner, 1998). Bu skorlamaya göre;

**Evre 0:** Nöbet aktivitesi yok

**Evre 0.5:** Zayıf baş sallama

**Evre 1:** Kulak, yüz ve göz kapağı seğirmeleri

**Evre 1.5:** Ön ekstremitelerde ılımlı klonik aktivite

**Evre 2:** Miyoklonik vücut jerkleri, yükselme olmaksızın klonik ön ekstremitte konvülsiyonları

**Evre 2.5:** Sık klonik ön ekstremitte konvülsiyonları, kısa süreli (tam olmayan) yükselme

**Evre 3:** Tam yükselme ile birlikte ciddi bilateral ön ekstremitte klonusu ( $\geq 10$  sn) (Kanguru pozisyonu)

**Evre 3.5:** Ciddi bilateral ön ekstremitte klonusuna ek olarak yükselme ve düşme

**Evre 4:** Yükselme-düşme epizotları veya sıçramalarla birlikte jeneralize klonik konvülsiyonlar

**Evre 4.5:** Düzelme refleksinin kaybı ile birlikte jeneralize klonik-tonik nöbetler (ön ekstremitenin tonik ekstensiyonu)

**Evre 5:** Generalize klonik-tonik nöbetler ve status epileptikus ( $\geq 2$  dakika)

Evre 3 veya daha şiddetli beş nöbet geçiren hayvanlar tutuşmuş olarak kabul edildi. 27 enjeksiyondan sonra tutuşmayan hayvanlar deneY gruplarından çıkarıldı. Tutuşan hayvanların her birinin kafatasına kalıcı vida elektrotlar yerleştirildi.



**Şekil 4.** Davranışların skorlandığı cam gözlem kafesi

### **3.2. Cerrahi operasyon**

Tam tutuşan hayvanlar cerrahi operasyona alındı. Uyanık hayvanların beyin aktivitelerini kaydedebilmek için kafataslarına kalıcı vida elektrotlar (Şekil 6 ve 8) monte edildi. Bunun için hayvanlar operasyondan 12 saat önce aç bırakılarak operasyon koşullarına hazırlandı. Ertesi gün hayvanlar 100 mg/kg Ketamin HCl-10 mg/kg Ksilazin kombinasyonu ile anesteziye alındı. Her bir hayvanın kafası stereotaksik alete yerleştirildi. Kafa derisi rostro-kaudal doğrultuda 3 cm uzunluğunda bir insizyonla açıldı. İnsizyonun ardından frontal ve oksipital korteks üzerini örten kafatası, üzerindeki fasya ve tendon uzantılarından arındırıldı. Daha sonra, bir tur motoru aracılığıyla kafatası üzerine 1 mm çapında, 1 mm derinliğinde 4 adet delik açıldı. Bu deliklere paslanmaz çelikten yapılmış vida elektrotlar yerleştirildi (Şekil 6, 7 ve 8).



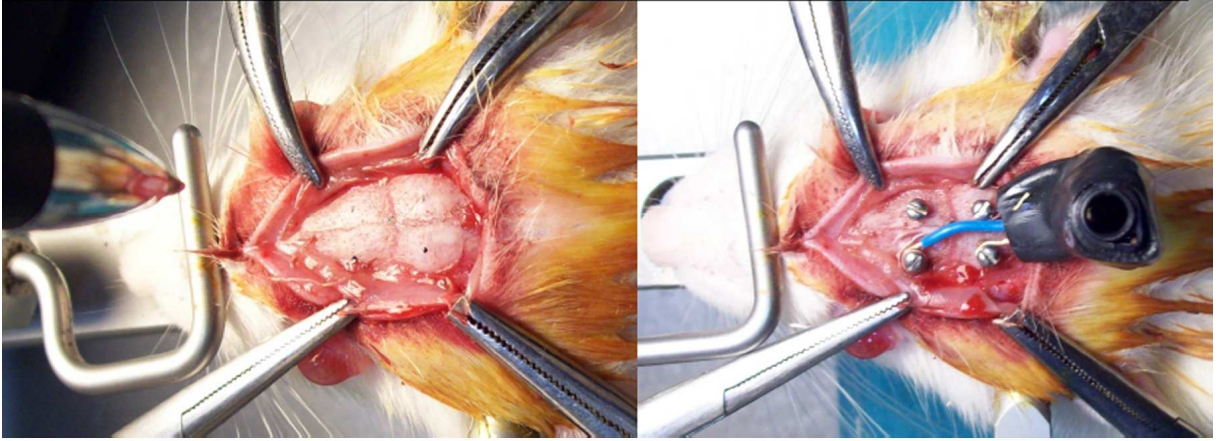
Şekil 5. Cerrahi operasyonda ve vida elektrotların yerleştirilmesinde kullanılan malzemeler.



Şekil 6. Kafatasına yerleştirilen vida elektrotlar



**Şekil 7.** Stereotaksik cihaz ve hayvanın yerleştirilmiş görüntüsü



**Şekil 8.** Vidaların yerleştirileceği koordinatların kalemle işaretlenmesi ve elektrotların yerleştirilmiş görüntüsü

Vidalar sıçan beyin atlasından elde edilen koordinatlara göre sabitlendi (Şekil 8). (Paxinos ve Watson, 1982)

1. Bregma noktasının 4 mm anteriorunda orta çizginin 3 mm sol laterali, (pozitif elektrot, primer motor alan üzerine)
2. Bregma noktasının 4 mm posteriorunda orta çizginin 3 mm sol laterali, (negatif elektrot, medyal paryetal asosiyasyon korteksi üzerine)
3. Bregma noktasının 4 mm posteriorunda orta çizginin 3 mm sağ laterali, (toprak elektrotu)
4. Bregma noktasının 4 mm anteriorunda, orta çizginin 3 mm sağ laterali (akriliğin elektrodu daha sağlam bir şekilde tutması için bu deliğe serbest bir vida yerleştirildi.)

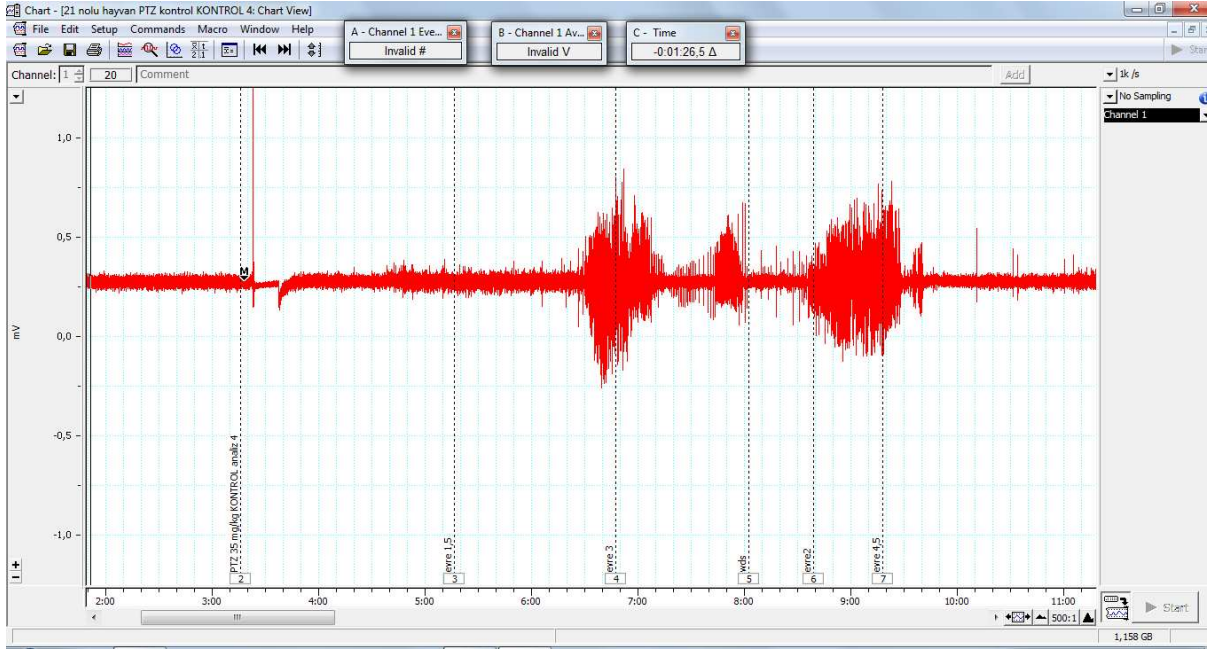
### 3.3. Elektrofizyolojik Kayıtların Alınması

EEG kaydı almak için vidalanan elektrotlar ince kablolar aracılığıyla küçük bir fiş (3 pinli) bağlandı (Şekil 6). Vidalar ve fiş, dental akrilik kullanılarak kafatasına tespit edildiler (Şekil 8) Operasyondan sonra hayvanların her biri ayrı kafese konularak 5 gün süreyle iyileşmesi beklendi.

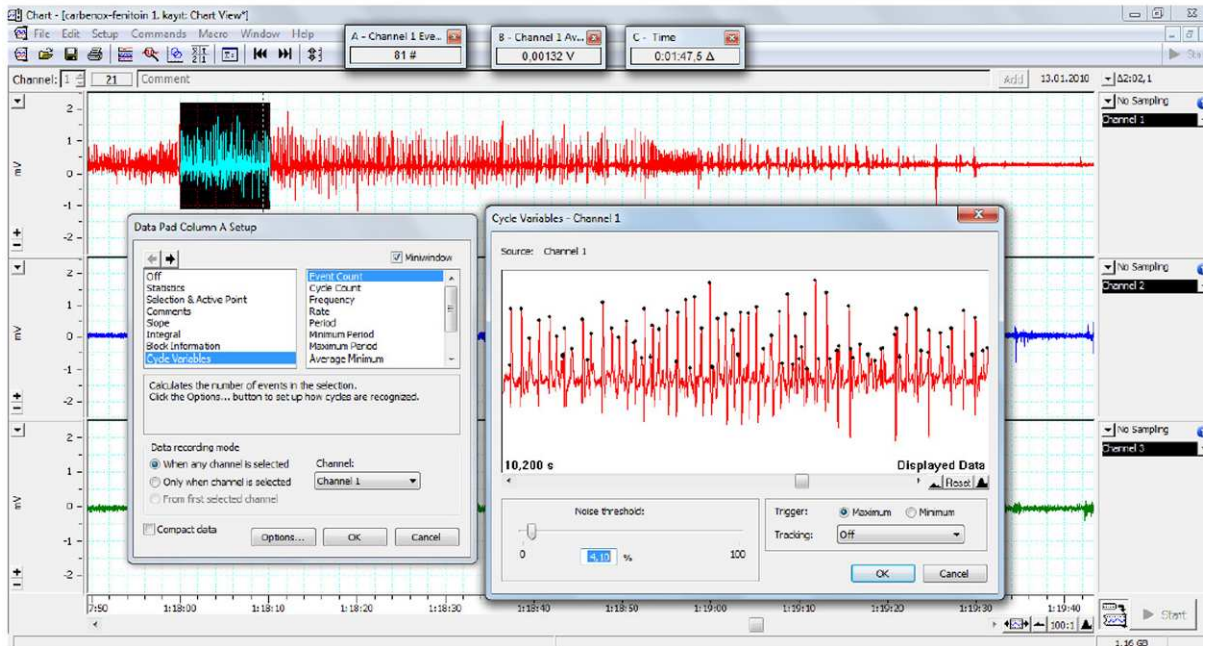


Şekil 9. PowerLab veri kazanım sistemi ve bağlantıları.

İyileşme periyodu sonunda hayvanlar kafalarına yerleştirilen küçük bir fiş aracılığıyla PowerLab (AD Instruments) veri kazanım sistemine bağlandı (Şekil 9). Böylece beynin elektriksel aktivitesi Chart 5.1.1 programı kullanılarak bilgisayar ortamına aktarıldı. Bu yazılımın makro özellikleri sayesinde birer dakikalık dilimlere ayrıldı. Her bir dakika başına düşen spike sayısı ve spike'ların ortalama amplitüdüleri (peak-to-peak) bu yazılımın özellikleri sayesinde otomatik olarak hesaplatıldı (Şekil 10 ve 11).



Şekil 10. Elektrofizyolojik kayıtların alınmasında kullanılan paket program ve kayıt anından bir görüntü



Şekil 11. Epileptik aktivitenin spike frekansı ve amplitüd değerlerinin hesaplanmasında kullanılan kayıt programının işlem pencerelerinden bir görüntü.

### 3.4. İlaçlar ve Veriliş Yolları

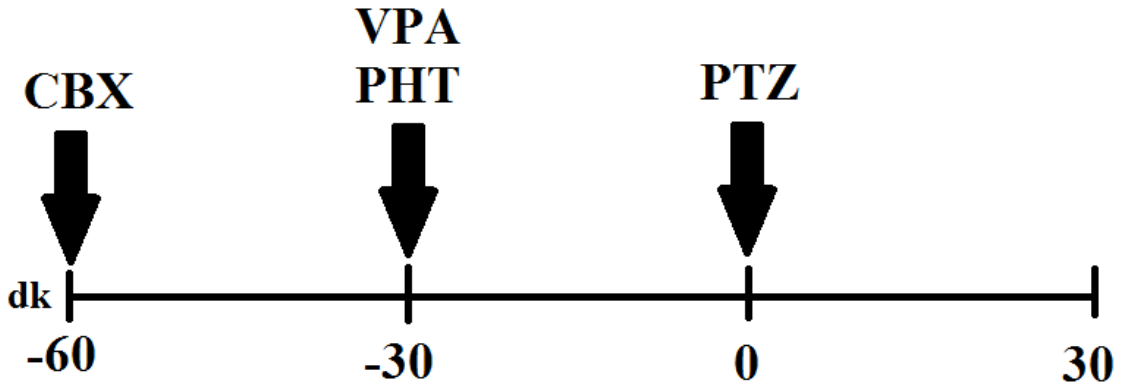
**Pentilentetrazol (PTZ):** Serum fizyolojikte çözüldü. 35 mg/kg dozunda periton içine (i.p.) enjeksiyon yoluyla verildi.

**Karbenoksolon (CBX):** Serum fizyolojikte çözüldü. 10, 20 ve 40 mg/kg dozlarında i.p verildi.

**Valproik asit (VPA):** Distile suda çözüldü. 300 mg/kg i.p. dozunda verildi.

**Fenitoin (PHT):** %3' lük dimetil sülfoksitte (DMSO) en küçük hacimde çözüldü. 60 mg/kg i.p. dozunda verildi.

Pentilentetrazol, karbenoksolon, valproik asit ve fenitoin Sigma-Aldrich Co<sup>®</sup> den temin edildi.



**Şekil 12.** İlaçların verilme sırasını gösteren zaman çizelgesi. Karbenoksolon (CBX) PTZ verilmesinden 60 dakika önce, valproik asit (VPA) ve fenitoin (PHT) ise 30 dakika önce verildi. EEG kaydı PTZ verildikten 30 dakika sonra sonlandırıldı.

### 3.5. Deney Grupları

Deneyler tutuşmuş hayvanlarda yapıldı. Bütün gruplarda EEG kaydı ile eş zamanlı olarak davranış skorlaması da yapıldı. Fenitoin ve valproik asit PTZ enjeksiyonundan 30 dakika önce, karbenoksolon ise PTZ enjeksiyonundan 60 dakika önce verildi (Şekil 12) .

**1. Kontrol grubu:** Tutuşmuş hayvanlardan herhangi bir madde uygulaması yapılmadan 30 dakika süre ile EEG kaydı alındı. (n = 6)

**2. Pentilentetrazol grubu:** 35 mg/kg intraperitoneal (i.p.) PTZ enjeksiyonunu takiben 30 dakika süre ile EEG kaydı alındı (n = 6)

**3. Karbenoksolon grupları:** 35 mg/kg i.p. PTZ enjeksiyonundan 60 dakika önce

Karbenoksolon 10 mg/kg (n = 6)

Karbenoksolon 20 mg/kg (n = 6)

Karbenoksolon 40 mg/kg (n = 6) i.p. verildi. 40 mg/kg karbenoksolon en etkin doz olarak belirlendi ve etkileşim deneylerinde bu doz kullanıldı.

**4. Fenitoin grubu:** 35 mg/kg i.p. PTZ enjeksiyonundan 30 dakika önce 60 mg/kg dozunda i.p. yolla verildi (n = 6).

**5. Valproik asit grubu:** 35 mg/kg i.p. PTZ enjeksiyonundan 30 dakika önce valproik asit 300 mg/kg i.p. (n = 6) dozunda verildi.

**6. Karbenoksolon-Valproik asit grubu** (n = 6)

Karbenoksolon 40 mg/kg i.p. verildikten 30 dakika sonra valproik asit 300 mg/kg, 60 dakika sonra ise PTZ 35 mg/kg i.p. yolla enjekte edildi.

**7. Karbenoksolon-Fenitoin grubu** (n = 6)

Karbenoksolon 40 mg/kg i.p. olarak verildikten 30 dakika sonra Fenitoin 60 mg/kg i.p., 60 dakika sonra ise PTZ 35 mg/kg i.p. yolla enjekte edildi.

**8. DMSO grubu (n=6)**

Fenitoin DMSO'da çözüldüğü için PTZ'den 30 dakika önce %3' lük DMSO i.p yolla verildi.

### **3.6. İstatistiksel Analiz**

Araştırmadan elde edilen veriler kodlandıktan sonra SPSS 16.0 paket programında bilgisayara aktarıldıktan sonra analiz edildi. Veriler değerlendirilirken sürekli değişkenler ortalama  $\pm$  standart sapma ve frekans veriler ise sayı (%) ile ifade edildi. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ile değerlendirildi. Normal dağılıma uyan iki grup karşılaştırmalarında t testi kullanıldı. Normal dağılıma uyan verilerin gruplar arasında farklı olup olmadığı tek yönlü ANOVA+LSD Post hoc testi ile değerlendirildi. Normal dağılıma uymayan karşılaştırmalarda ise Mann-Whitney U testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi tüm testler için  $p < 0.05$  olarak kabul edildi.

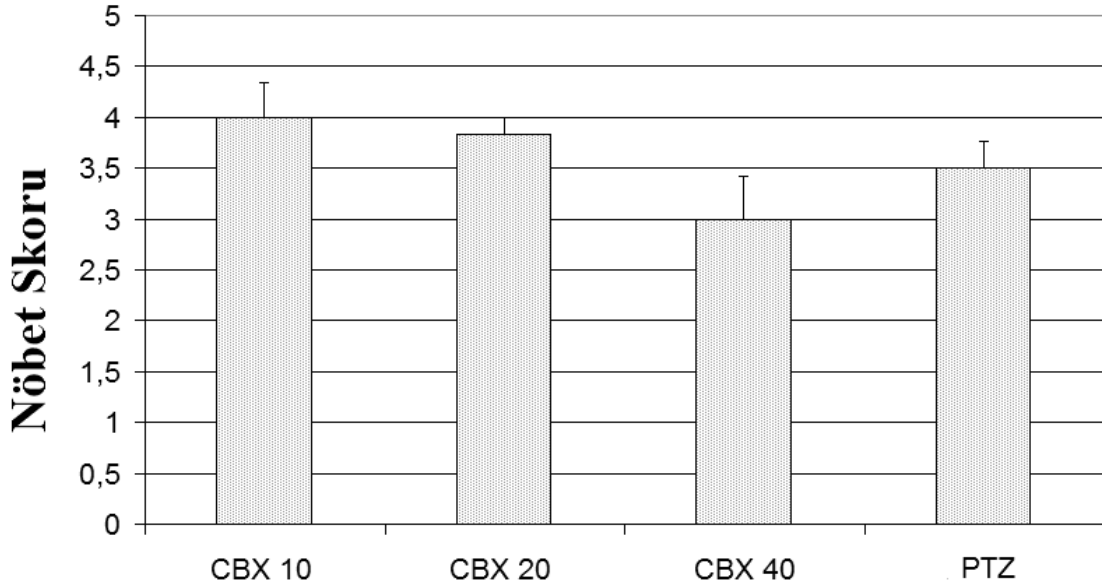


## 4. BULGULAR

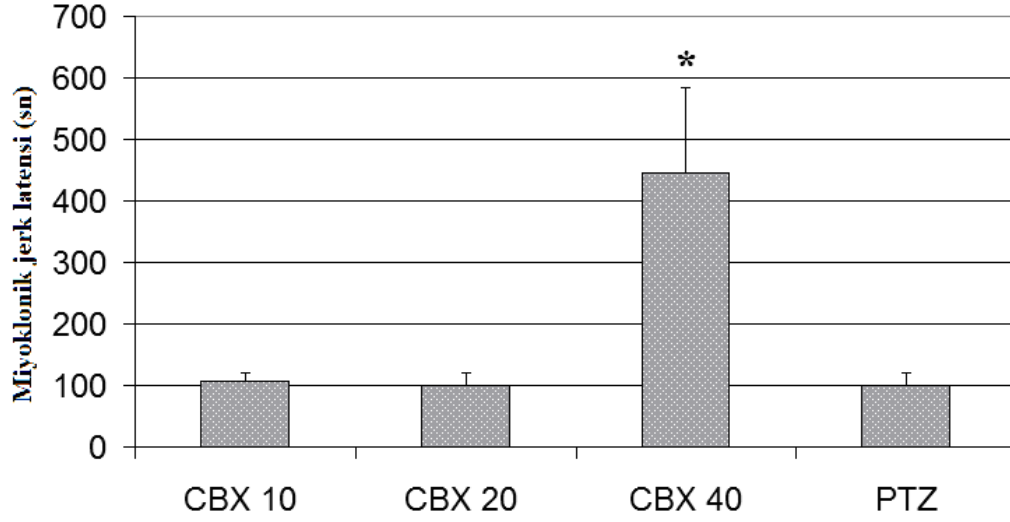
### 4.1. Karbenoksolon doz çalışması

Karbenoksolon 10, 20 ve 40 mg/kg i.p. dozunda PTZ enjeksiyonundan 60 dakika önce verildi.

30 dakikalık elektrofizyolojik kayıtlarda karbenoksolon 20 mg/kg ve 40 mg/kg dozlarında spike sayısını anlamlı bir şekilde azalttı (Şekil 15) ( $p<0.05$ ). 40 mg/kg karbenoksolon grubunda miyoklonik jerk latensleri belirgin bir şekilde uzadı ( $p<0.05$ ) (Şekil 14). Bu verilere göre 40 mg/kg karbenoksolon etkin antiepileptik doz olarak belirlendi. 40 mg/kg karbenoksolon jeneralize nöbetleri (evre 3 ve üzeri) %50 oranında önledi. Diğer karbenoksolon gruplarında ve PTZ grubunda ise jeneralize nöbetler tüm deneklerde gözlemlendi.

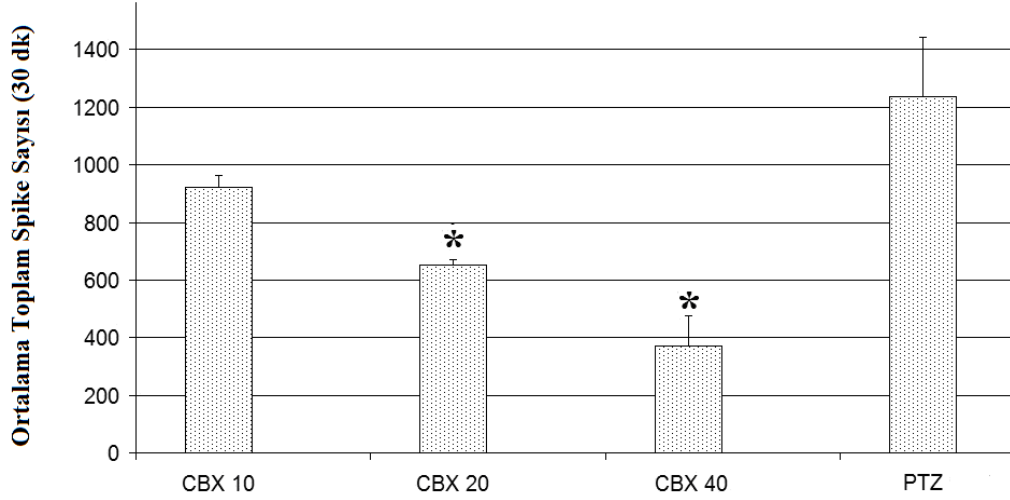


Şekil 13. 10, 20 ve 40 mg/kg karbenoksolonun (CBX) nöbet skoruna etkileri



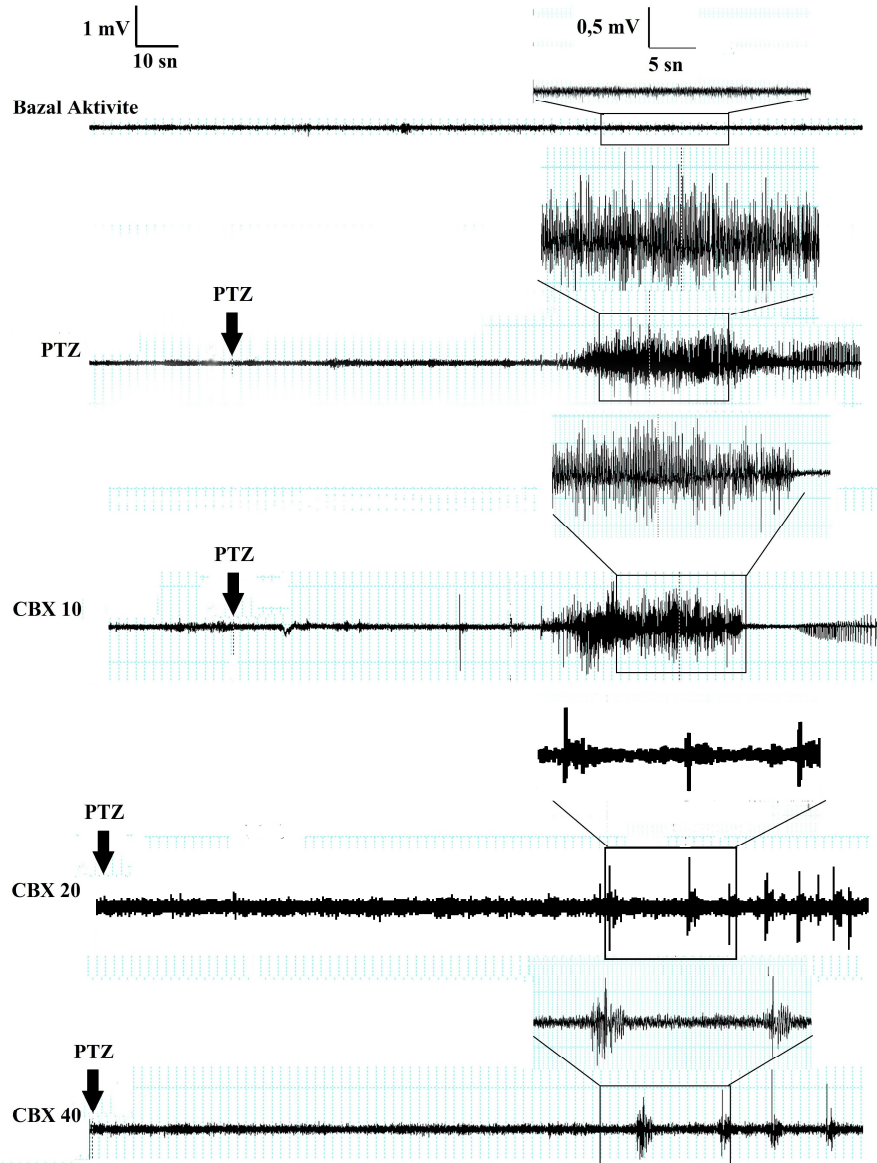
**Şekil 14.** 10, 20 ve 40 mg/kg karbenoksolonun miyoklonik jerk latens süresine etkileri (\* p <0.05)

40 mg/kg karbenoksolon 10,20 mg/kg karbenoksolon ve PTZ gruplarına göre miyoklonik jerk latens sürelerini anlamlı bir şekilde uzattı (p<0.05) (Şekil 14).



**Şekil 15.** 10, 20 ve 40 mg/kg karbenoksolonun 30 dakika süresince ortalama toplam spike sayılarına etkisi (\* p <0.05)

Karbenoksolon 20 mg/kg ve karbenoksolon 40 mg/kg grupları PTZ grubuna göre spike sayılarında anlamlı bir azalmaya neden oldu (p<0.05) (Şekil 15,16).



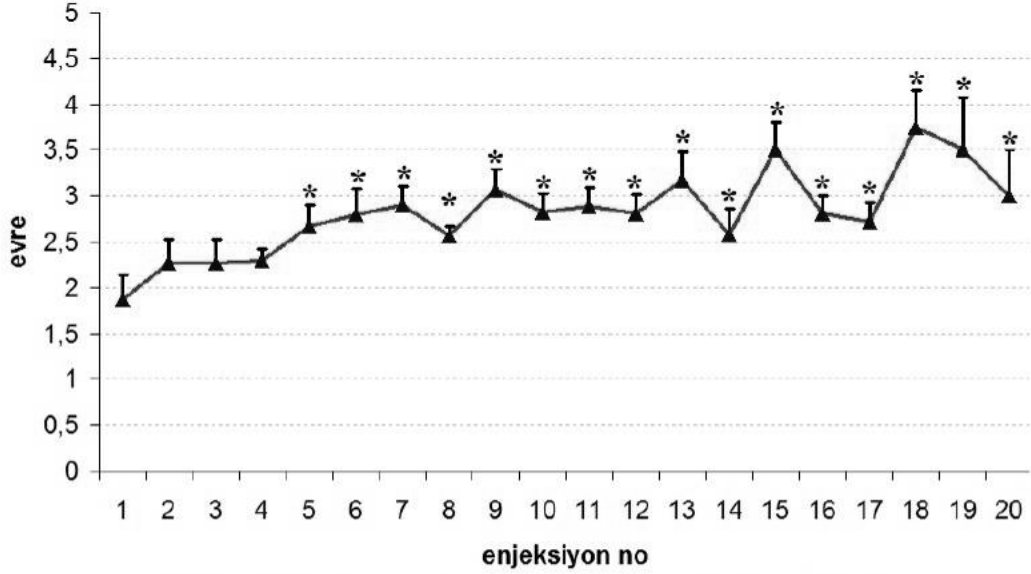
**Şekil 16.** Karbenoksolon doz çalışması: Karbenoksolon 10,20 ve 40 mg/kg dozlarında PTZ enjeksiyonundan 60 dakika önce verildi. Şekilde üçer dakikalık EEG kayıtları görülmektedir. PTZ'nin verildiği yerler oklar ile işaretlendi.

- A. Bazal Aktivite: Tutuşmuş hayvanların bazal aktivite kayıtlarından bir görüntü.
- B. PTZ: Tutuşmuş hayvanlarda 35 mg/kg PTZ verildikten sonraki EEG kaydı
- C. CBX 10: Karbenoksolon 10 mg/kg PTZ enjeksiyonundan 60 dakika önce verildi.
- D. CBX 20: Karbenoksolon 20 mg/kg PTZ enjeksiyonundan 60 dakika önce verildi.
- E. CBX 40: Karbenoksolon 40 mg/kg PTZ enjeksiyonundan 60 dakika önce verildi.

20 ve 40 mg/kg i.p. karbenoksolon proflaksisi PTZ grubuna göre spike sayısını azalttı (Şekil 16).

## 4.2. Davranış parametrelerinin değerlendirilmesi

Nöbet davranışının değerlendirilmesinde miyoklonik jerk latensleri ve nöbet evreleri kullanıldı. Miyoklonik jerk latensi, PTZ verildikten sonra ilk miyoklonik jerk görülene kadar geçen süreyi gösterir. Evreleme yöntemi gereç ve yöntem bölümünde anlatıldı. Hayvanlar ortalama  $15.6 \pm 0.6$  enjeksiyon sonra tutuştu.



Şekil 17. Tutuşma sürecinde nöbet skorunun enjeksiyon sayısına göre değişimi (\* p < 0.05).

Tutuşma sürecinde ilk PTZ enjeksiyonları ile karşılaştırıldığında 5. PTZ enjeksiyonlarından itibaren nöbet evrelerinde anlamlı bir artış oldu ( $p < 0.05$ ) (Şekil 17).

### 4.2.1. Tutuşmuş hayvanlarda 35 mg/kg PTZ'nin davranış parametrelerine etkisi

Bu gruptaki bütün hayvanlara PTZ 35 mg/kg i.p yoldan verildi. PTZ enjeksiyonunu takiben 30 dakika boyunca hayvanlar gözlemlenip davranışları skorlandı. Eş zamanlı olarak PowerLab veri kazanım sistemi ile EEG kayıtları da alındı.

**Tablo II.** PTZ grubu nöbet skoru ve miyoklonik jerk latensi değerleri

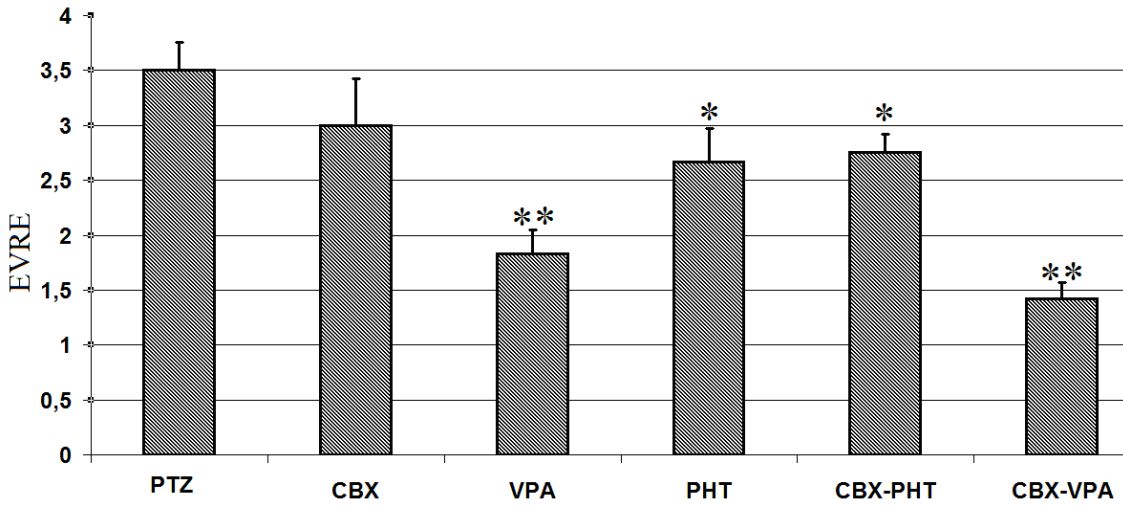
Hayvan no	Evre	Miyoklonik jerk latensi (sn)
1	4	60
2	3	70
3	3	150
4	4,5	180
5	3	60
6	3,5	80
ORTALAMA	3,5	100

35 mg/kg PTZ grubunda hayvanların hepsinde jeneralize nöbetler ve miyoklonik jerkler görüldü (Tablo II).

**Tablo III.** Gruplarda miyoklonik jerk latenslerinin ortalama ve standart hata değerleri (\*p <0.05)

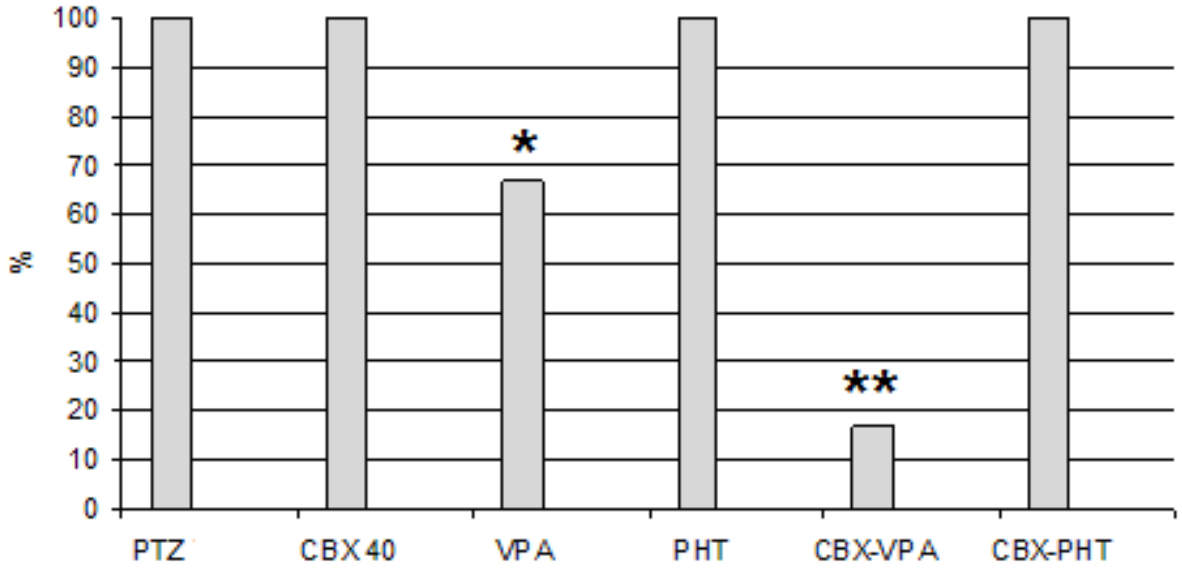
<b>GRUP</b>	<b>Ortalama (Sn)</b>	<b>Standart Hata (S.E.)</b>
PTZ	100	21,13449
CBX 40	445,6667*	139,2996
VPA	145,5	21,71213
PHT	121,3333	23,20728
CBX-VPA	191	Yok
CBX-PHT	309*	93,51542

Valproik asit grubunda 6 hayvandan 2'sinde miyoklonik jerk görülmedi. Valproik asit-karbenoksolon kombinasyon grubunda 6 hayvandan sadece 1 tanesinde miyoklonik jerk görüldü. Bu yüzden karbenoksolon-valproik asit kombinasyonunda miyoklonik jerk latensine ait standart hata hesaplanamadı. 40 mg/kg karbenoksolon ve karbenoksolon-fenitoin kombinasyonu miyoklonik jerk latensini anlamlı şekilde uzattı (Tablo III) (\*p <0.05).



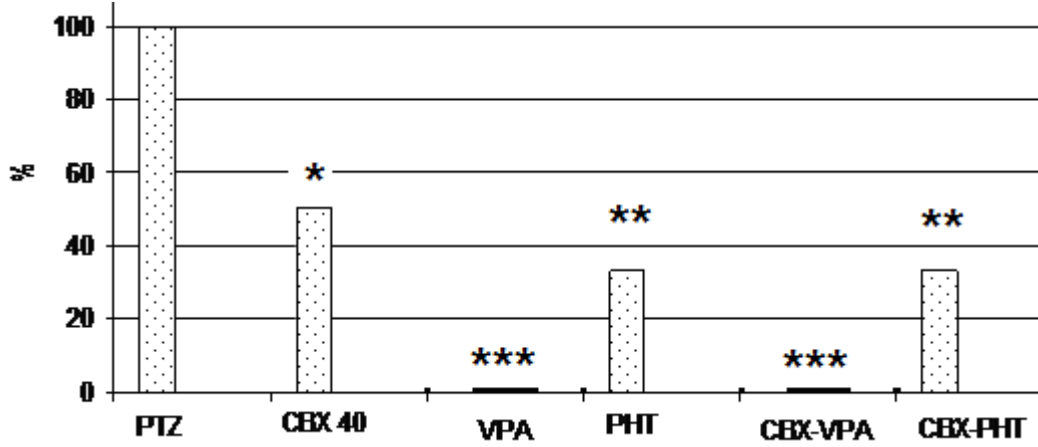
Şekil 18. Tüm grupların ortalama nöbet skoru değerlerinin karşılaştırılması (\* p <0.05,\*\*p<0.01)

Valproik asit, fenitoin, karbenoksolon-valproik asit ve karbenoksolon-fenitoin PTZ'ye göre nöbet skorunu anlamlı şekilde azalttı. (Şekil 18).



Şekil 19. Tüm gruplarda miyoklonik jerk görülme yüzdeleri. (\* p <0.05,\*\*p<0.01)

Karbenoksolon-valproik asit kombinasyonu miyoklonik jerkleri yaklaşık %83,3 oranında önledi. 300 mg/kg Valproik asit verilen grupta miyoklonik jerkler yaklaşık %33,3 oranında önlendi. Diğer gruplarda ise miyoklonik jerkler deneklerin tamamında görüldü (Şekil 19).



Şekil 20. Tüm gruplarda jeneralize nöbet (Evre 3 ve üzeri) görülme yüzdeleri (\* p <0.05, \*\*p<0.01 , \*\*\*p<0.001)

Valproik asit ve valproik asit-karbenoksolon gruplarında deneklerin hiçbirinde jeneralize nöbet gözlenmedi. Fenitoin ve fenitoin-karbenoksolon gruplarında jeneralize nöbetler yaklaşık %66,7 oranında önledi. 40 mg/kg karbenoksolon ise jeneralize nöbetleri %50 oranında önledi. PTZ grubunda deneklerin tamamında jeneralize nöbet gözlemlendi (Şekil 20).

#### 4.2.2. 300 mg/kg i.p. valproik asit proflaksisinin davranış parametrelerine etkisi

Bu gruptaki hayvanlara valproik asit PTZ enjeksiyonundan 30 dakika önce 300 mg/kg i.p. yoldan verildi. 300 mg/kg valproik asit PTZ grubuna göre nöbet evrelerini anlamlı bir şekilde düşürdü (p<0.01). Valproat jeneralize nöbet gelişimini tamamen önledi. Hayvanların yaklaşık %66,7'sinde miyoklonik jerk gözlemlendi. (Şekil 18,19,20).

#### 4.2.3. 60 mg/kg ip fenitoin proflaksisinin davranış parametrelerine etkisi

Bu gruptaki hayvanlara fenitoin PTZ enjeksiyonundan 30 dakika önce 300 mg/kg i.p yoldan verildi. 60 mg/kg fenitoin, PTZ grubuna göre nöbet evrelerinde anlamlı azalmaya neden oldu (p<0.05). Deneklerin yaklaşık %66,67'sinde jeneralize nöbet görülmedi. Hayvanların hepsinde miyoklonik jerk gözlemlendi (Şekil 18,19,20).

#### **4.2.4. 40 mg/kg i.p. karbenoksolon profilaksisinin davranış parametrelerine etkisi**

Hayvanların hepsinde miyoklonik jerk gözlemlendi. Miyoklonik jerk latensleri istatistiksel olarak anlamlı şekilde artmıştır ( $p<0.05$ ) (Tablo III, Şekil 18,19,20).

#### **4.2.5. Valproik asit-karbenoksolon profilaksisinin davranış parametrelerine etkisi**

300 mg/kg Valproik asit-40 mg/kg karbenoksolon kombinasyonu PTZ grubuna göre nöbet evrelerini anlamlı bir şekilde düşürdü ( $p<0.01$ ). Hayvanların sadece yaklaşık %16,67'sinde miyoklonik jerk gözlemlendi. (Şekil 18,19,20).

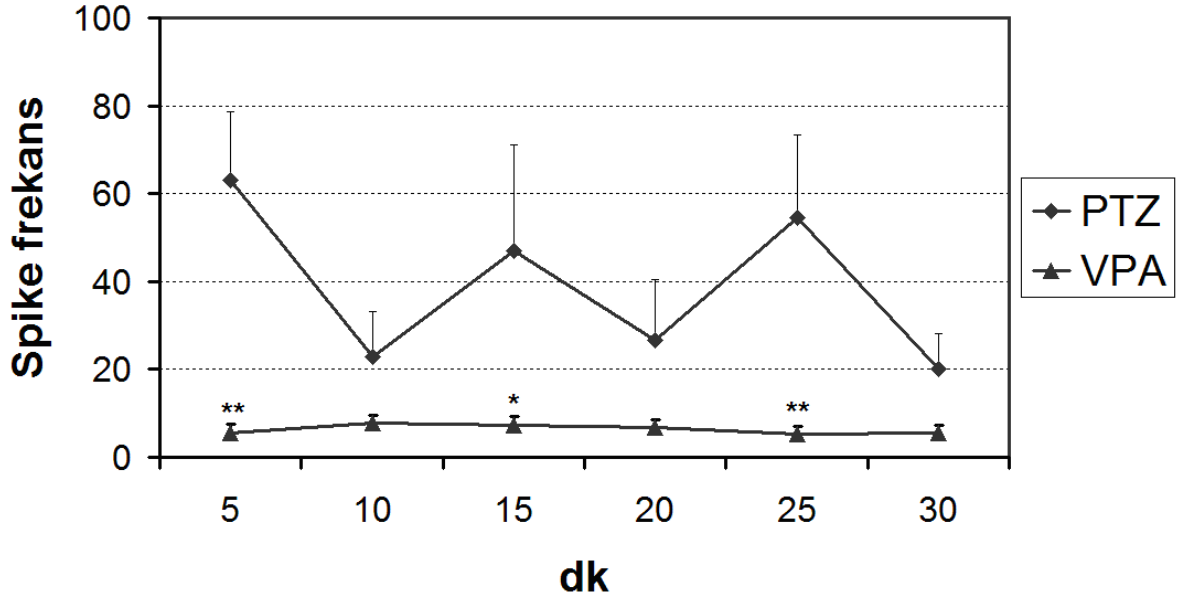
#### **4.2.6. Fenitoin-karbenoksolon profilaksisinin davranış parametrelerine etkisi**

60 mg/kg Fenitoin-40 mg/kg karbenoksolon kombinasyonu, PTZ grubuna göre nöbet evrelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalmaya neden oldu ( $p<0.05$ ). Hayvanların hepsinde miyoklonik jerk gözlemlendi. Miyoklonik jerk latensini de anlamlı bir şekilde uzattı ( $p<0.05$ ) (Tablo III, Şekil 18,19,20).

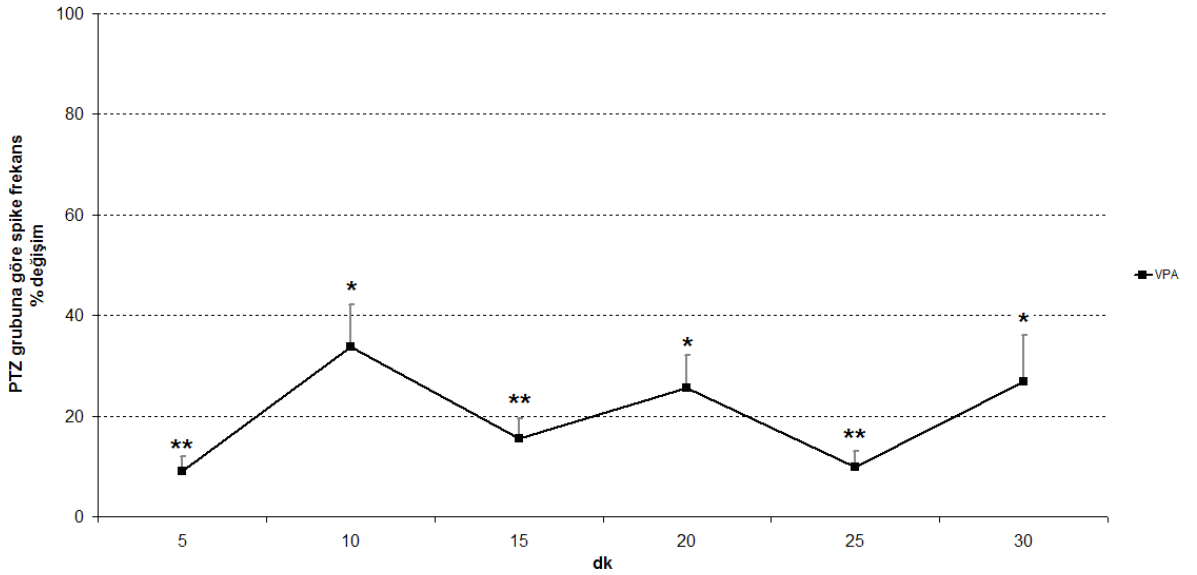


### 4.3. Elektrofizyolojik kayıtların değerlendirilmesi

#### 4.3.1. Valproik asit proflaksisinin epileptiform aktiviteye etkisi

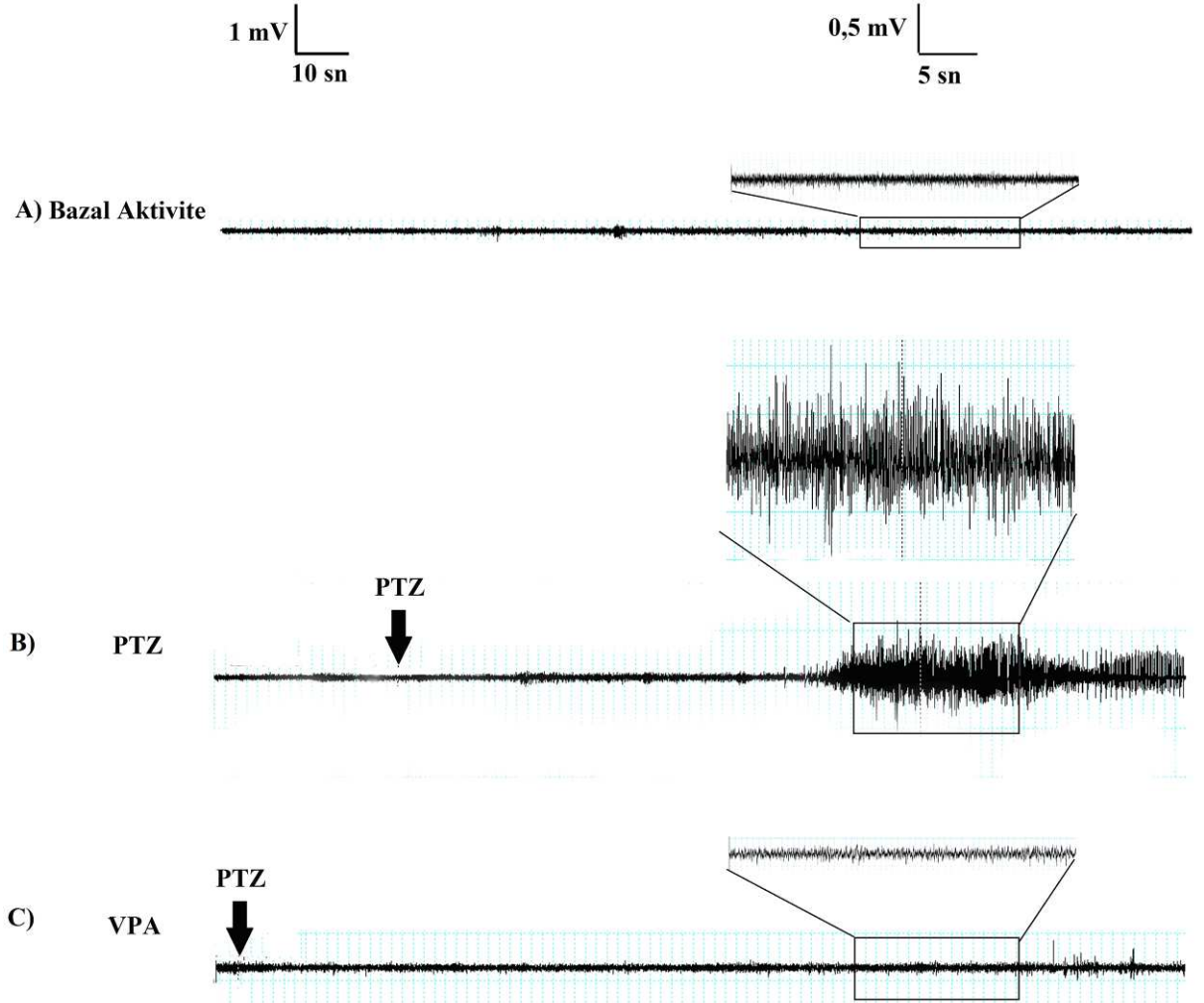


Şekil 21. Valproik asitin spike frekansına etkisi. (\* p < 0.05, \*\* p < 0.01)



Şekil 22. Valproik asit grubunda PTZ grubuna göre spike frekans yüzde değişimi. (\* p < 0.05, \*\* p < 0.01)

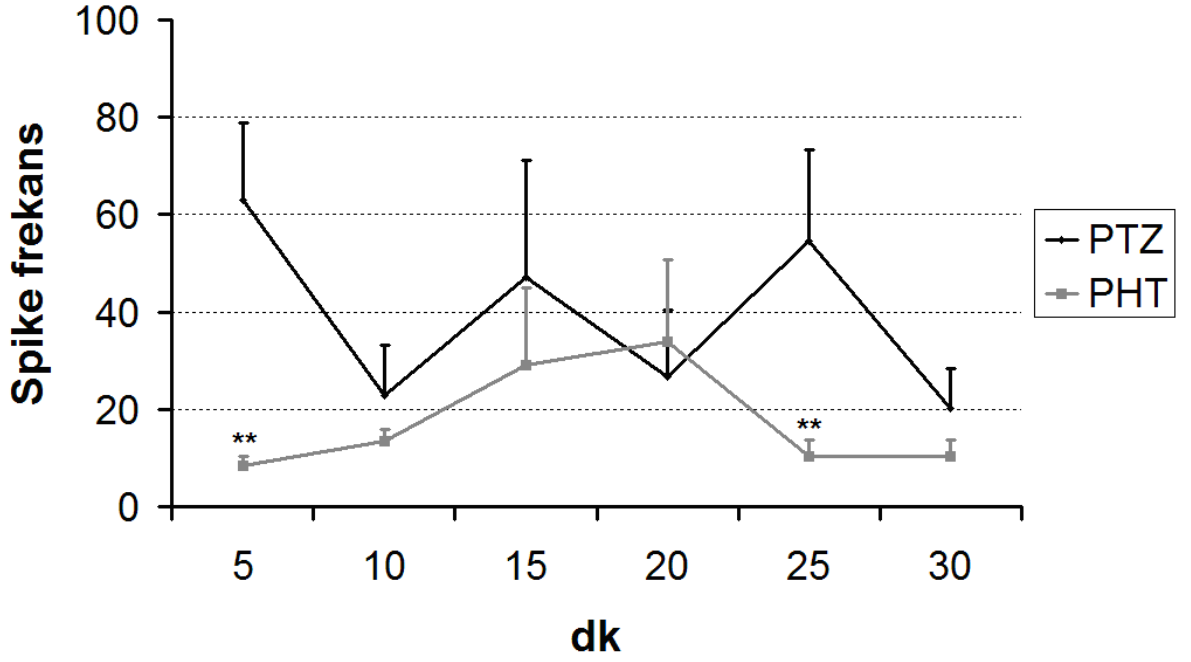
Valproik asit 5. 15. ve 25. dakikalarda spike frekansını azalttı. Valproik asit grubunda bütün dakikalarda PTZ grubuna göre spike frekansının yüzde değişimi tüm dakikalarda anlamlıydı (Şekil 21 ve 22).



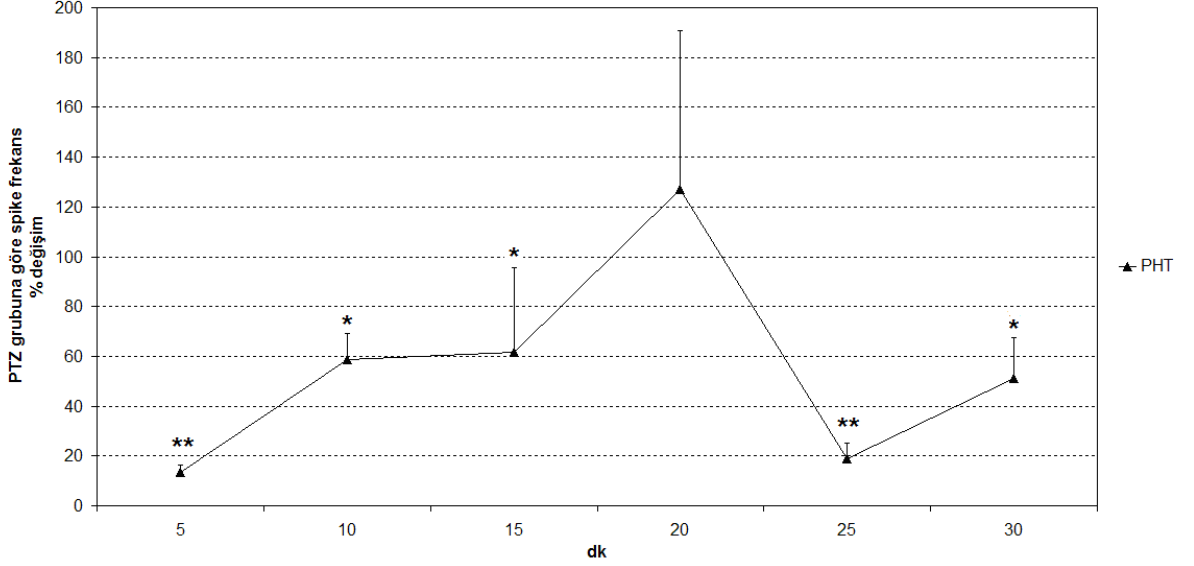
**Şekil 23.** Valproik asit profilaksisinin epileptiform aktiviteye etkisi. PTZ'nin verildiği yerler oklar ile işaretlendi.

- A. Bazal Aktivite: Tutuşmuş hayvanların bazal aktivite kayıtlarından bir görüntü.
- B. PTZ: Tutuşmuş hayvanlarda 35 mg/kg PTZ verildikten sonraki EEG kaydı
- C. VPA: Valproik asit 300 mg/kg PTZ enjeksiyonundan 30 dakika önce verildi.

#### 4.3.2. Fenitoin proflaksisinin epileptiform aktiviteye etkisi

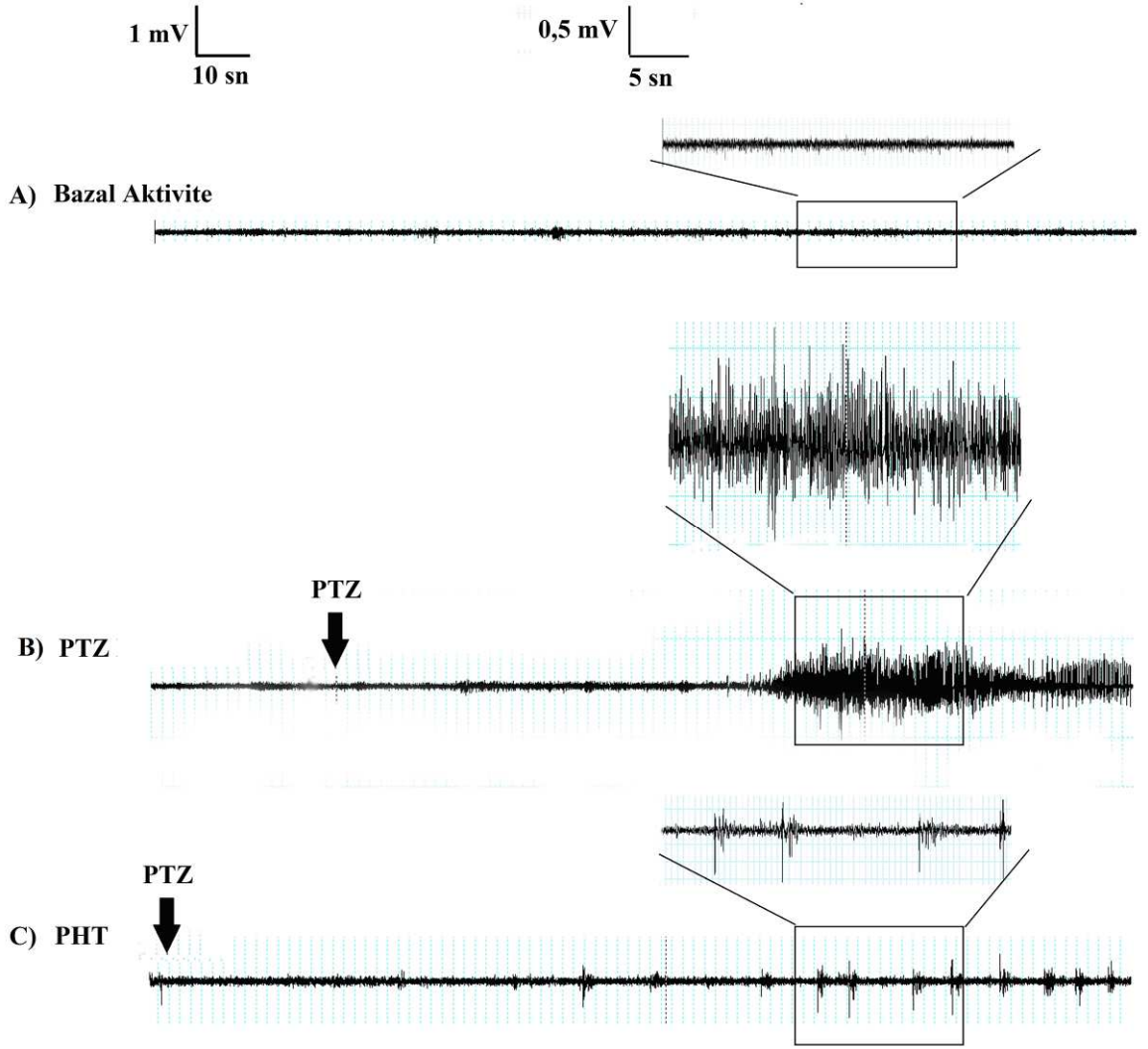


Şekil 24. Fenitoinin spike frekansına etkisi. (\*\*p<0.01)



Şekil 25. Fenitoin grubunda PTZ grubuna göre spike frekans yüzde değişimi. (\*p<0.05,\*\*p<0.01)

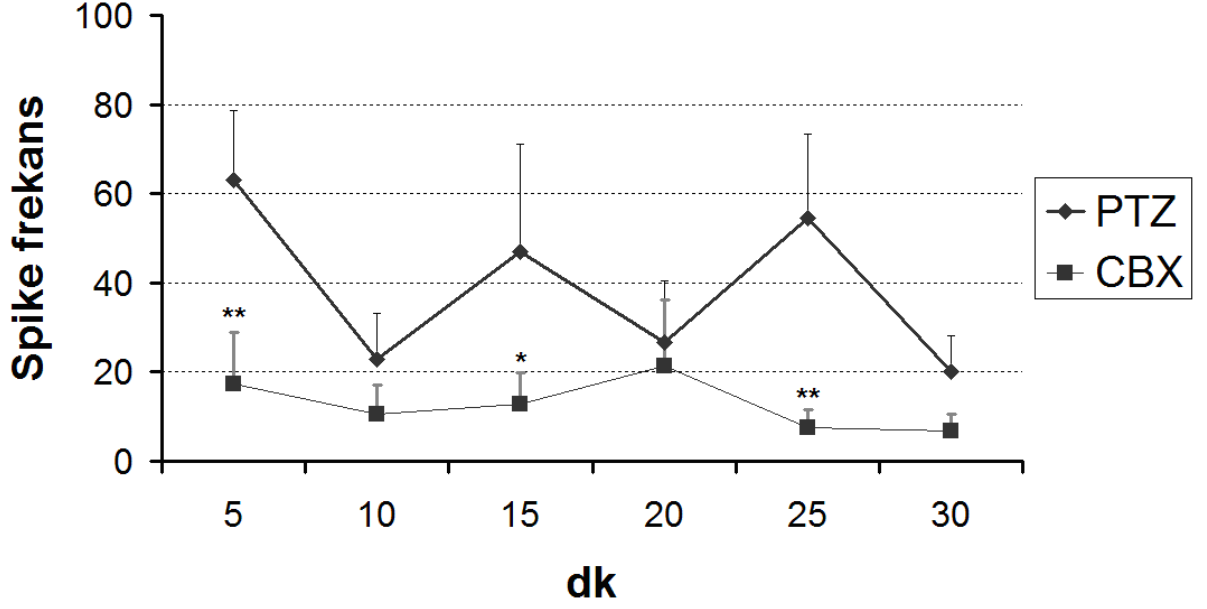
Fenitoin 5. ve 25. dakikalarda spike frekansını PTZ grubuna göre anlamlı şekilde azalttı Fenitoinin PTZ grubuna göre spike frekans % değişimi 5, 10, 15, 25,30. dakikalarda anlamlıydı (Şekil 24 ve 25).



**Şekil 26.** Fenitoin proflaksisinin epileptiform aktiviteye etkisi. PTZ'nin verildiği yerler oklar ile işaretlendi.

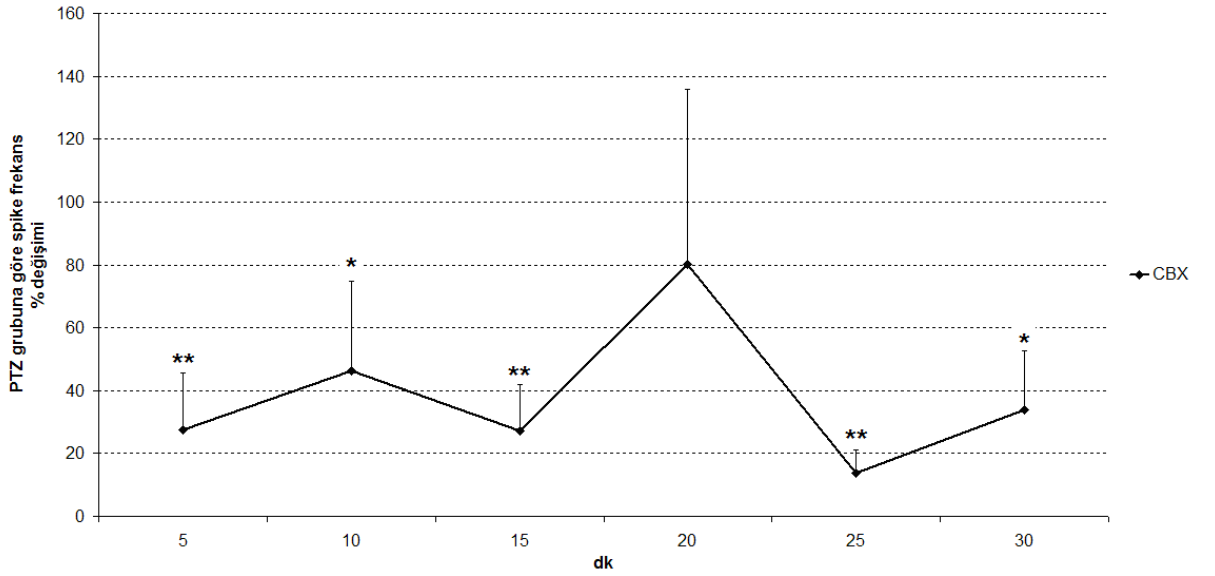
- A. Bazal Aktivite: Tutuşmuş hayvanların bazal aktivite kayıtlarından bir görüntü.
- B. PTZ: Tutuşmuş hayvanlarda 35 mg/kg PTZ verildikten sonraki EEG kaydı
- C. PHT : Fenitoin 60 mg/kg PTZ enjeksiyonundan 30 dakika önce verildi.

### 4.3.3. 40 mg/kg Karbenoksolon profilaksisinin epileptiform aktiviteye etkisi



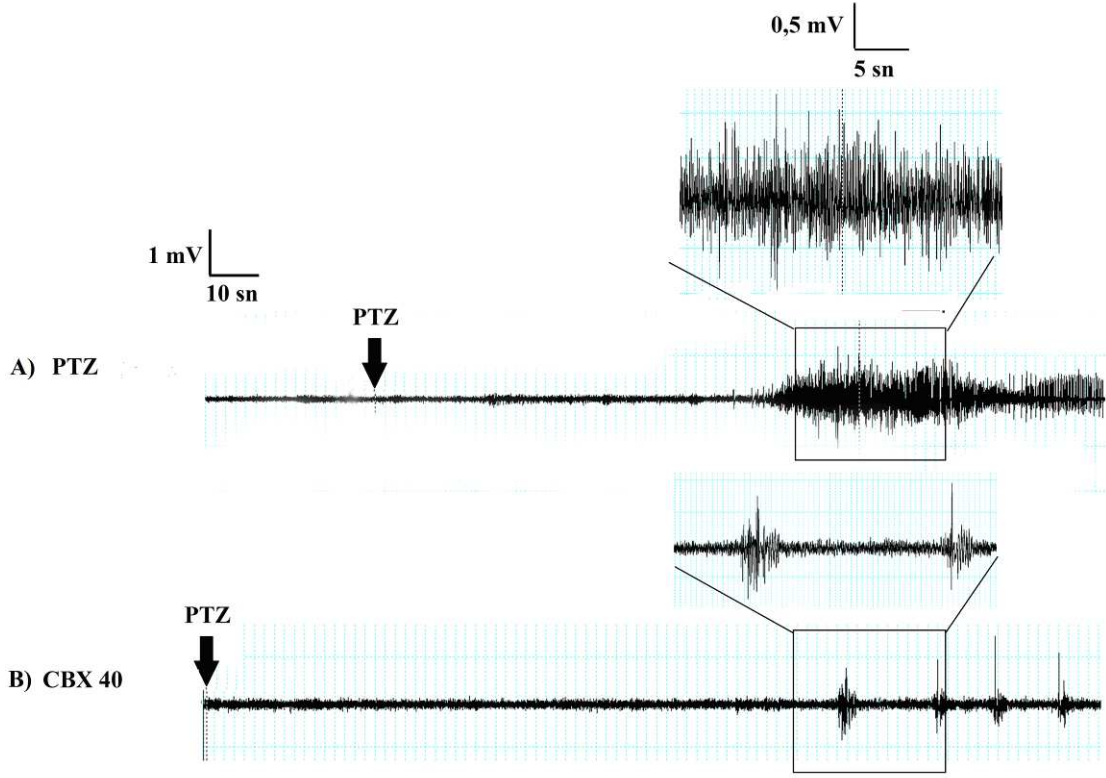
Şekil 27. Karbenoksolonun spike frekansına etkisi. (\*p < 0.05, \*\*p < 0.01)

40 mg/kg karbenoksolon PTZ grubuna göre 5. 15. ve 25. dakikalarda spike frekansını anlamlı şekilde azalttı.



Şekil 28. Karbenoksolon grubunda PTZ grubuna göre spike frekans yüzde değişimi. (\*p < 0.05, \*\*p < 0.01)

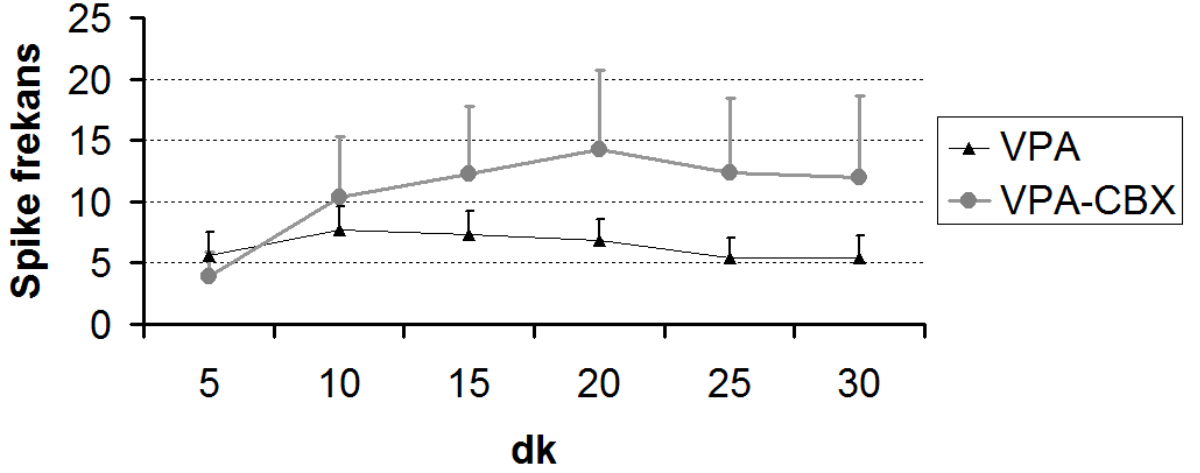
Karbenoksolonun PTZ grubuna göre spike frekans yüzde değişimi 5, 10, 15, 25,30. dakikalarda anlamlıydı (şekil 28).



şekil 29. 40 mg/kg karbenoksolon'un antiepileptik etkisi. PTZ'nin verildiği yerler oklar ile işaretlendi.

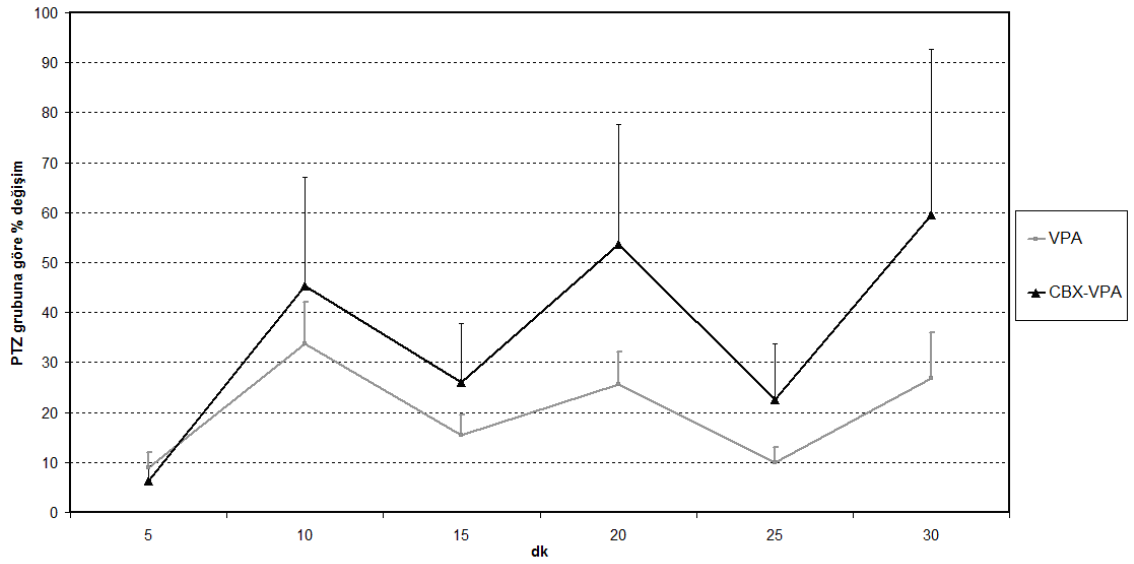
- A. PTZ: Tutuşmuş hayvanlarda 35 mg/kg PTZ verildikten sonraki EEG kaydı
- B. CBX 40: Karbenoksolon 40 mg/kg PTZ enjeksiyonundan 60 dakika 6nce verildi

#### 4.3.4. Valproik asit-karbenoksolon proflaksisinin epileptiform aktiviteye etkisi



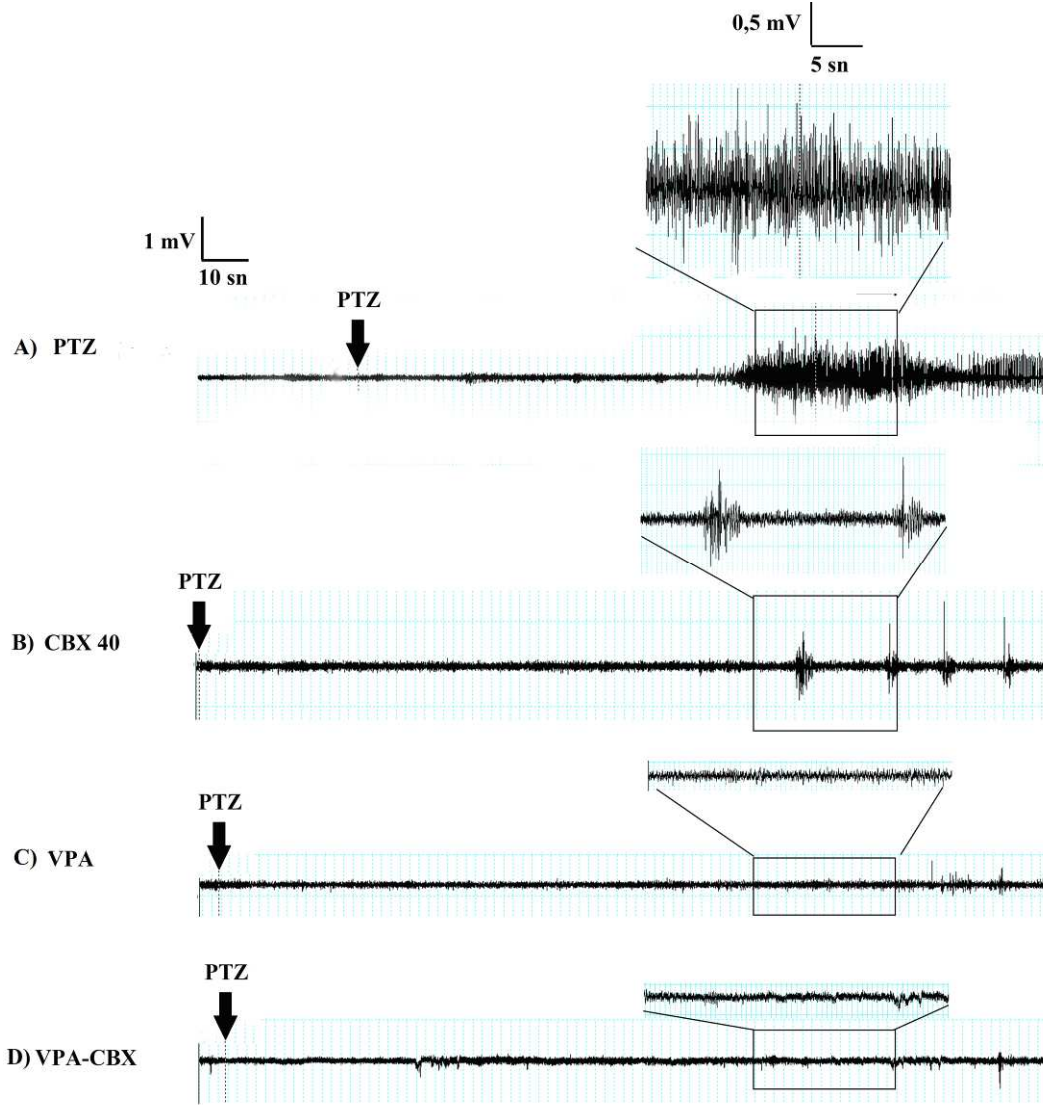
Şekil 30. Valproik asit-karbenoksolon proflaksisinin spike frekansına etkisi.

Spike frekans değerleri açısından karbenoksolon-valproik asit kombinasyonu ile valproik asit arasında anlamlı fark yoktur.



Şekil 31. Valproik asit-karbenoksolon grubunda PTZ grubuna göre spike frekans yüzde değişimi.

Karbenoksolon-valproik asit ile valproik asit grubu arasında PTZ grubuna göre spike frekans yüzde değişimi açısından anlamlı fark yoktu.

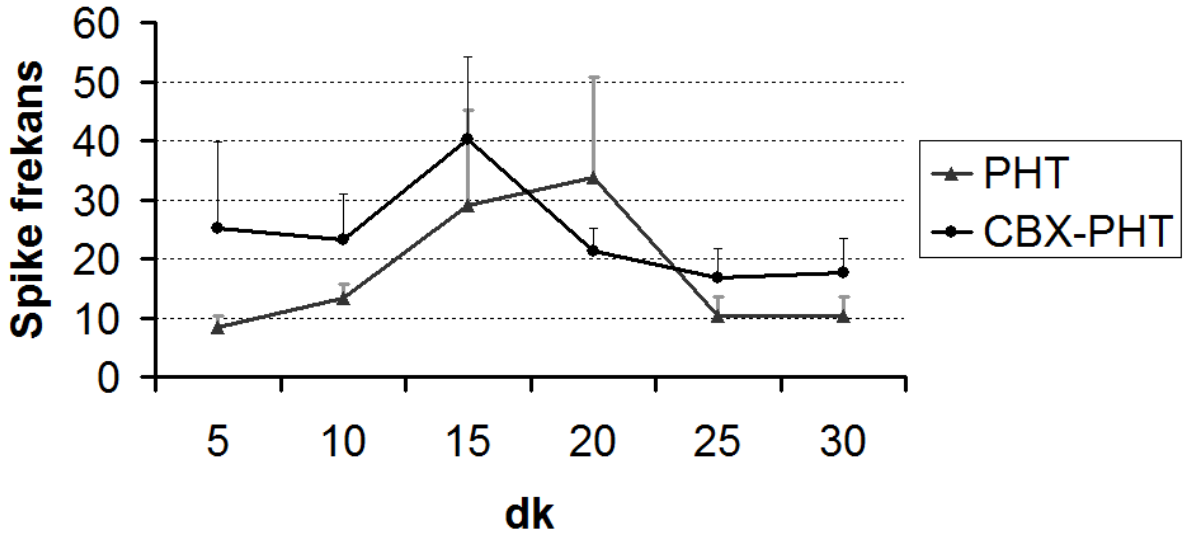


**Şekil 32.** 40 mg/kg karbenoksolon-300 mg/kg valproik asit kombinasyon grubunun EEG kayıtlarının PTZ, valproik asit ve 40 mg/kg karbenoksolon grupları ile karşılaştırılması. PTZ'nin verildiği yerler oklar ile işaretlendi.

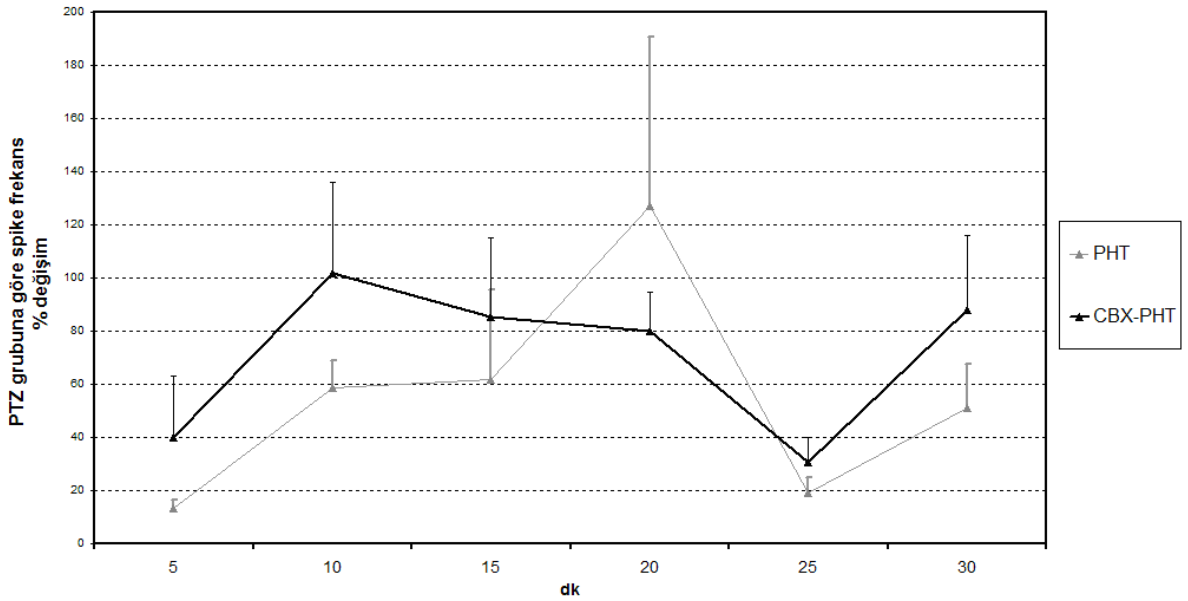
- A. PTZ: Tutuşmuş hayvanlarda 35 mg/kg PTZ verildikten sonraki EEG kaydı
- B. CBX 40: Karbenoksolon 20 mg/kg PTZ enjeksiyonundan 60 dakika önce verildi
- C. VPA: Valproik asit 300 mg/kg PTZ enjeksiyonundan 30 dakika önce verildi.
- D. VPA-CBX: Karbenoksolon 40 mg/kg PTZ enjeksiyonundan 60 dakika önce, valproik asit 300 mg/kg PTZ enjeksiyonundan 30 dakika önce verildi.



#### 4.3.5. Fenitoin-karbenoksolon profilaksisinin epileptiform aktiviteye etkisi

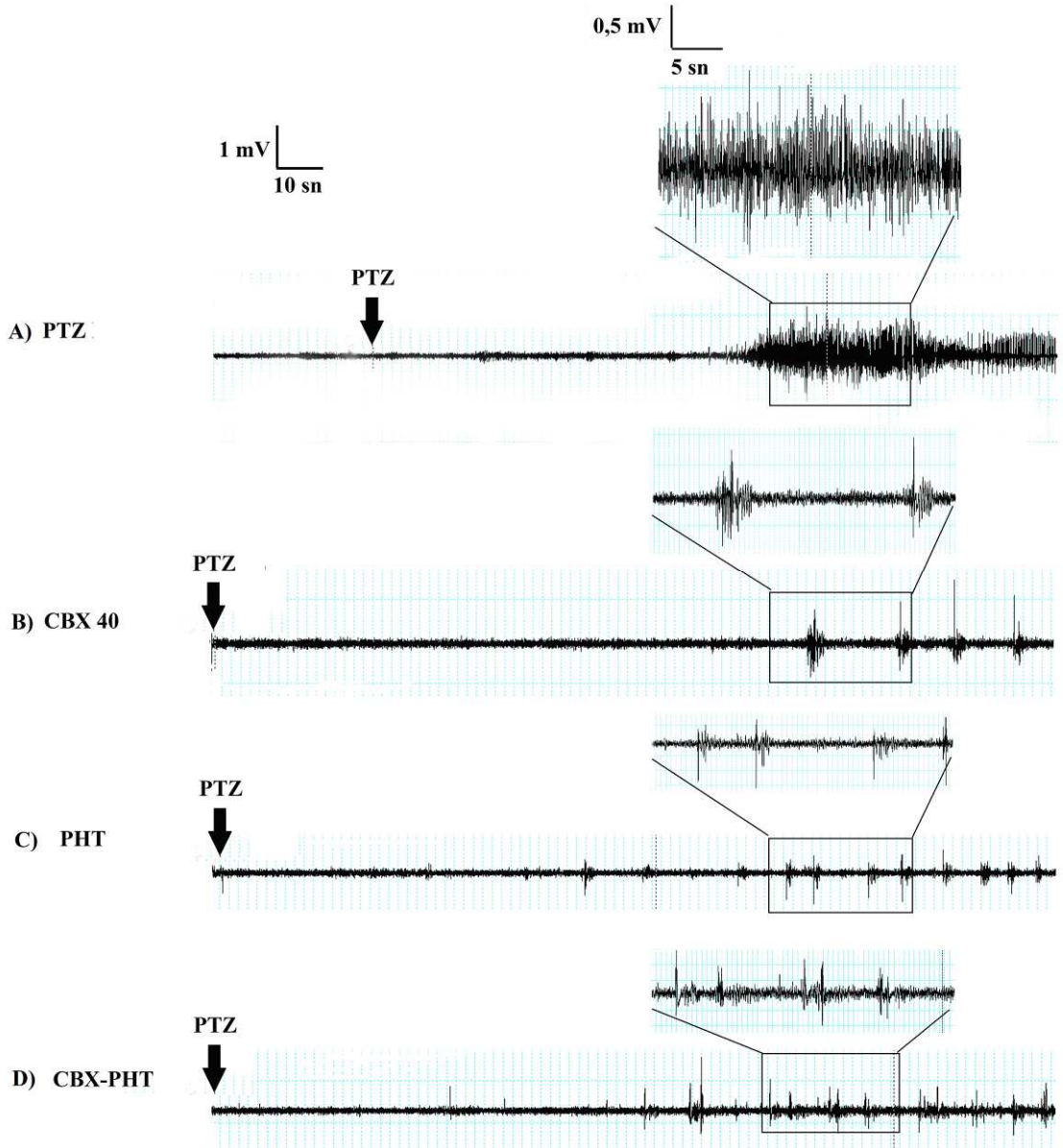


Şekil 33. Fenitoin-karbenoksolon profilaksisinin spike frekansına etkisi.



Şekil 34. Fenitoin-karbenoksolon profilaksisin grubunda PTZ grubuna göre spike frekans yüzde değişimi. Karbenoksolon-fenitoin kombinasyonu ile fenitoinin spike frekans değerleri arasında anlamlı fark yoktu.

Karbenoksolon-fenitoin kombinasyonu ile fenitoin arasında PTZ grubuna göre spike frekans yüzde değişimi açısından anlamlı fark yoktu.



**Şekil 35.** Fenitoin ve karbenoksolon-fenitoin kombinasyon grubunun EEG kayıtlarının karşılaştırılması. PTZ'nin verildiği yerler oklar ile işaretlendi.

- A. PTZ: Tutuşmuş hayvanlarda 35 mg/kg PTZ verildikten sonraki EEG kaydı
- B. CBX 40: Karbenoksolon 40 mg/kg PTZ enjeksiyonundan 60 dakika önce verildi
- C. PHT : Fenitoin 60 mg/kg PTZ enjeksiyonundan 30 dakika önce verildi.
- D. CBX-PHT : Karbenoksolon 40 mg/kg PTZ enjeksiyonundan 60 dakika önce, fenitoin 60 mg/kg PTZ enjeksiyonundan 30 dakika önce verildi.

#### **4.3.6. DMSO'nun epileptik aktiviteye etkisi**

%3'lük DMSO PTZ'den 30 dakika önce fenitoinin çözüldüğü en küçük hacimde i.p. yolla verildi. DMSO PTZ grubu ile karşılaştırıldığında epileptiform aktivitede anlamlı bir değişikliğe neden olmadı.

## 5. TARTIŞMA

Epilepsi, nöronların anormal eş zamanlı deşarjları sonucu oluşan ve tekrarlayan nöbetlerle karakterize bir hastalıktır. Genel olarak epileptik nöbetler, uyarıcı ve duraklatıcı sistemler arasındaki dengenin, uyarıcı sistemlerin aktivitelerinin artışı yönünde bozulması sonucunda meydana gelir. Antiepileptik ilaçların %70'i hücre membranındaki iyon kanalları, GABAerjik veya glutamaterjik sistemleri etkileyerek epileptik nöbetleri önler. Ancak epilepsi hastalarının yaklaşık % 30'unda nöbetler mevcut ilaçlarla kontrol altına alınamamaktadır. Bu nedenle yeni antiepileptik ilaçların geliştirilmesine ihtiyaç vardır (Jacobs ve ark., 2001; Sander, 2003).

Sunulan çalışma, PTZ ile oluşturulan tutuşma modelinde, bir gap junction blokeri olan karbenoksolonufenitoin ve valproik asit ile etkileşimini gösteren ilk çalışmadır. Bu çalışmayla uyanık sıçanlarda karbenoksolon, valproik asit ve fenitoinin PTZ tutuşma modelindeki etkileri ve bu modelde karbenoksolon ile valproik asit ve fenitoinin etkileşimi hem elektrofizyolojik, hem de davranışsal parametreler ile değerlendirildi.

Tutuşma; nöbet oluşturmeyen uyarının tekrarlanması ve aralıklı olarak verilmesi sonucu zamanla nöbet gelişimidir (Gilbert ve Goodman, 2006; Goddard ve ark., 1969). PTZ tutuşma modeli birçok araştırmacı tarafından deneysel epilepside kullanılmıştır (Schilling ve ark., 2006; Tian ve ark., 2009). Bu model ilk kez Mason ve Cooper tarafından sıçanlarda tanımlanmıştır (Mason ve Cooper, 1972). Uluslararası epilepsiyle savaş derneğinin (ILAE) 1981 de yapmış olduğu sınıflamaya göre elektriksel tutuşma nöbetleri sekonder jeneralizasyonla seyreden kompleks parsiyel nöbetlere karşılık gelir. Ancak PTZ tutuşma modelindeki epileptik nöbetler daha çok primer jeneralize nöbetlere benzemektedir (Engel, 2001).

Kimyasal tutuşma modeli oluşturmak için kullanılan konvülsan maddenin şu kriterleri karşılaması gerekir: 1. Eşik altı uyarının tekrar tekrar uygulanmasıyla birlikte davranışsal cevabın gittikçe artması gerekir, 2. Uygulanan kimyasal maddenin vücuttan eliminasyonu için yeterli süre verildikten sonra enjeksiyon tekrarlandıkça davranışsal ve elektrografik cevabın daha çabuk olması gerekir, 3. Uygulanan kimyasal maddenin elektriksel tutuşmayı kolaylaştırıcı etkisi bulunmalıdır. PTZ bu kriterleri büyük ölçüde karşılamaktadır. PTZ tutuşma modelinde tutuşma sürecinde hayvanlar henüz tutuşmamışken elektrot takmaya ihtiyaç yoktur, tutuşturma deneyleri esnasında ölüm

oranı azdır ve laboratuvar ortamında kolaylıkla tekrarlanabilir (Gilbert ve Goodman, 2006). Bu nedenlerden dolayı tutuşma modeli oluşturmak için PTZ'yi tercih ettik.

PTZ, klor kanalları ile bağlantılı GABA<sub>A</sub> reseptörlerini selektif olarak bloke eder (Olsen, 1981), GABA ve diğer inhibitör nörotransmitterlerin etkisini de azaltarak nöronların depolarizasyonunu kolaylaştırır ve epileptik deşarjların üretilmesine ve yayılmasına neden olur (Hansen ve ark., 2004; Sejima ve ark., 1997).

Elektrografik olarak kimyasal tutuşma sürecinin gösterilmesi sadece davranış skorlaması yapılmasından daha objektiftir ve kantitatifdir. Bu yüzden çalışmamızda tutuşmuş uyanık hayvanlarda EEG kaydı ile eşzamanlı şekilde davranış skorlaması yaparak daha güvenilir veriler elde etmiş olduk. Kimyasal tutuşma modelinde kullanılabilen parametreler; gözlenen davranışların skorlanması, bazı davranışların frekansları ve davranışsal cevapların başlama latensi, davranışın süresi ve konvülsif cevap için gereken enjeksiyon sayısıdır (Gilbert ve Goodman, 2006). Bu çalışmada tutuşan hayvanların her birinin kafatasına elektrot yerleştirip, bütün denekler için deney süresince EEG kaydı aldık ve nöbet skoru, miyoklonik jerk latensi ve jeneralize nöbet görülme yüzdelerini tüm gruplarda belirledik. Ayrıca EEG kayıtları sayesinde spike frekans değerlerini ve PTZ grubuna göre spike frekans yüzde değişimini tüm gruplarda belirledik.

PTZ ile tam oluşturulmuş tutuşmada esas olarak neokorteksin etkilendiği düşünülmektedir. PTZ nöbetlerinden sonra serebral korteks ve hipokampusta c-Fos (Birçok genin ekspresyonunu düzenleyen transkripsiyon faktörü olan AP-1'in alt ünitesini kodlayan hızlı erken gendir. Bu genin büyüme faktörü gibi sinyal molekülleri ile ekspresyonu uyarılır.) ekspresyonunda artış görülmektedir. PTZ ile epileptik nöbet oluşturulan elektrofizyolojik bir çalışmada neokorteksin derin tabakalarında hipereksitabilite (aşırı uyarılabilirlik) artışı görülmüştür (Andre ve ark., 1998; Barkai ve ark., 1994).

Çoğu epilepsi modelinden farklı olarak tutuşma modeli kalıcı ve progresiftir. Önemli bir doku hasarı olmaksızın nöbet duyarlılığında kalıcı bir artışa neden olmaktadır (Gilbert ve Goodman, 2006). Tutuşma modeli klinik epilepsi modelinin iyi bir karşılığıdır. Çünkü elektrografik ve davranışsal bulgular insandaki kompleks parsiyel nöbetleri çok iyi taklit etmektedir (Gilbert ve Goodman, 2006). Elektriksel ve kimyasal tutuşma, sekonder jeneralizasyonla birlikte olan kompleks parsiyel nöbetlere

özgü modellerdir (Loscher, 1993). Sekonder jeneralizasyonla birlikte olan kompleks parsiyel nöbetler ilaç tedavisine en dirençli nöbetlerdir. Sonuç olarak yeni bir antiepileptik ilacın geliştirilmesi tutuşmanın altında yatan mekanizmalara bağlıdır (McNamara, 1984).

Parenteral yolla uygulandığında PTZ, fare, sıçan, kedi ve tavşanlarda konvülsan etkilere sahiptir (Clow ve ark., 1989; Guzman ve ark., 2005; Johnson ve Bickford, 1957; Rehni ve Singh, 2009). Tutuşma modeli oluşturmak için PTZ normal hayvanlarda nöbet oluşturmayacak dozda verilir (Loscher ve ark., 1991). Akut PTZ nöbetlerinde nöbetin şiddeti PTZ'nin verilme şekline ve dozuna göre değişiklik göstermektedir. 45 mg/kg tek doz uygulandığında dakikalar içinde güçlü ve hızlı jeneralize nöbetler görülür. 75 mg/kg ve üzeri dozlarda ise başlangıçta miyoklonik jerkler gözlemlenir ve sonrasında kesintisiz jeneralize tonik-klonik nöbetler görülür (Rosenberg ve ark., 1985). 30 mg/kg gün aşırı intraperitoneal verildiğinde ilk iki hafta boyunca hafif şiddette nöbetler görülür, sonraki iki hafta aşikar nöbetler görülür ve 4-6. haftalarda çok şiddetli nöbetler görülür. Aylar, hatta aradan bir yıl geçtiğinde bile PTZ ile tutuşmuş hayvanlara PTZ enjekte edildiğinde tekrar tekrar nöbet geçirdiği görülmüştür. (Corda ve ark., 1991).

PTZ, tutuşma modeli oluşturmak için birçok araştırmacı tarafından farklı dozlarda, farklı aralıklarla ve farklı şekillerde uygulanmıştır (Cain, 1981; Diehl ve ark., 1984; Fischer ve Kittner, 1998; Getova ve ark., 1998; Karler ve ark., 1989). Biz yaptığımız çalışmada Fisher ve Kittner'in yaptığı çalışmaya uygun olarak hayvanlara haftanın üç günü (Pazartesi-Çarşamba-Cuma) pentilentetrazolu 35 mg/kg dozunda intraperitoneal olarak tutuşma gerçekleşene kadar verdik (Fischer ve Kittner, 1998). Nöbet evresinin enjeksiyon sayısına bağlı gelişimine baktığımızda, özellikle 5. enjeksiyondan itibaren nöbet skoru anlamlı bir şekilde arttı. Hayvanlar ortalama 15,6 enjeksiyondan sonra tutuştu.

Valproik asit; GABA'nın sentezinde ve yıkımında görev alan bazı enzimleri etkileyerek beyinde GABA düzeyini arttırmaktadır. GABA sentezinde önemli yer tutan glutamik asit dekarboksilaz aktivitesini arttırmakta ve metabolizmasında görev alan GABA aminotransferazı zayıf bir şekilde inhibe etmektedir. Ayrıca valproik asit GABA'nın geri alımını inhibe ederek sinaptik boşlukta GABA konsantrasyonunda artışa neden olur. Aynı zamanda valproat, GABA'nın postsinaptik etkinliğini

arttırmakta, nöronal membranlar üzerine direkt etkiye bulunarak potasyum iletiminde artışa neden olmaktadır. Ayrıca valproik asit, voltaja duyarlı Na<sup>+</sup> kanallarını inhibe ederek de antiepileptik etki gösterebilir (Johannessen ve Johannessen, 2003; Loscher, 1999; 2002). Tutuşma modelinde valproat etkili bir antiepileptik ilaçtır. Art deşarj sürelerini kısaltır ve nöbetlerin şiddetini azaltır. Valproik asit kronik uygulamada da tutuşmayı engellemektedir (Dziki ve ark., 1992; Loscher ve Honack, 1993; Mori ve Ohta, 1992).

PTZ ile tutuşmuş sıçanlarda 200 mg/kg i.p valproik asit 40 mg/kg PTZ ile eş zamanlı olarak uygulandığında hayvanların yarısında hafif şiddette nöbetler görülmüştür (Li ve ark 2004). Li ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada sadece nöbet davranışı skorlanmıştır. Silver ve ark. (1991) ise sıçanlarda 100,200 ve 400 mg/kg valproik asitin doza bağlı olarak amigdal tutuşma modelindeki nöbet skorunu azalttığını ve art deşarj sürelerini de kısalttığını göstermişlerdir. Benzer şekilde, Gilbert ve ark., (2002) ginea piglerde elektriksel uyarıdan 30 dakika önce verilen 200 ve 300 mg/kg i.p. valproatın doza bağımlı olarak amigdal tutuşma nöbetlerinin art deşarj sürelerini kısalttığını ve nöbet skorunu azalttığını göstermişlerdir. Nacar (2008) penisilin modeli epilepside valproatın 300 mg/kg i.p. dozunu en etkin doz olarak bulmuştur. Bu bilgiler ışığında yaptığımız çalışmada valproik asiti PTZ' den 30 dakika önce 300 mg/kg dozunda i.p. yolla verdik.

Sunulan çalışmada valproik asit jeneralize nöbetleri tamamen önledi. Miyoklonik jerk oluşumunu yaklaşık olarak %33,3 oranında önledi. Nöbet skoru ve spike sıklığını da anlamlı bir şekilde azalttı. Bu sonuçlar valproik asitin PTZ tutuşma nöbetlerine karşı etkili olduğunu göstermektedir. Li ve ark. (2004), PTZ ile tutuşmuş sıçanlarda valproik asitin glutamat ve aspartat salınımını azalttığını göstermişlerdir. Epilepside eksitator ve inhibitör nörotransmitterlerin arasındaki dengenin bozulması önemli rol oynamaktadır (Li ve ark. 2004). Muhtemelen valproik asit, sinaptik boşlukta inhibitör ve eksitator nörotransmitter dengesini sağlayarak PTZ tutuşma nöbetlerini önlemektedir.

Fenitoin parsiyel nöbetlerin tedavisinde en çok tercih edilen ilaçlardan biridir (Tunnicliff, 1996). Fenitoin zayıf bir organik asittir ve yüksek derecede lipofilik olması sayesinde hücre membranlarından kolaylıkla geçer. Fenitoinin en önemli etki mekanizması voltaja bağımlı sodyum kanallarını bloklamaktır. Voltaja duyarlı sodyum

kanalları aksiyon potansiyellerinin oluşumu ve yayılmasında rol oynar. Fenitoin bu kanalları geciktirerek epileptik aktivitenin yayılmasını engeller (Bazil ve Pedley, 1998; Courtney ve Etter, 1983; Tunnicliff, 1996).

Fenitoin bazı araştırmacılar tarafından tutuşma modellerine karşı etkili bulunurken, bazı araştırmacılar fenitoini tutuşma modellerinde etkisiz bulmuştur (Lothman ve ark., 1991; McNamara ve ark., 1989; Rundfeldt ve ark., 1990; Rundfeldt ve Loscher, 1993). Hatta bazı araştırmacılar fenitoinin prokonvülsan olduğunu bile ileri sürmüşlerdir (Callaghan ve Schwark, 1980; Ebert ve ark., 1997). Bunun sebebi, uyarının şekline, cinsiyete, genetik farklılıklara, uyarının yoğunluğuna ve tutuşma için uygulanan elektriksel uyarı sayısına göre cevabın değişebildiğidir (Ebert ve ark., 1994; Loscher ve ark., 1998; Loscher ve Rundfeldt, 1991; McNamara, 1989; Rundfeldt ve ark., 1990). Fenitoinin epileptik aktivite üzerine değişken etkisi, Losher ve Rundfeldt'in yaptığı bir çalışmayla da desteklenmektedir. Losher ve Rundfeldt, fenitoinin antikonvülsan etkilerini amigdal-tutuşma oluşturulmuş sıçanlarda denemiştir. Fenitoin, sıçanların bir kısmında etkili bulunurken, diğer bir kısmında etkisiz bulunmuştur ve sıçanları fenitoine duyarlı ve fenitoine dirençli olmak üzere iki gruba bölmüşlerdir (Loscher ve Rundfeldt, 1991).

Gilbert ve ark. amigdal tutuşma modelinde fenitoini elektriksel uyarıdan 30 dakika önce i.p. yolla 50 ve 70 mg/kg dozlarında vermişlerdir. Fenitoin her iki dozda da amigdal tutuşma nöbetlerini önlemiştir. 50 ve 70 mg/kg i.p dozlar arasında art deşarj sürelerini kısaltmada anlamlı bir fark bulmamışlardır. Ayrıca bu çalışmada fenitoinin her iki dozda da plazma düzeylerinin eşit olduğunu göstermişlerdir. Bununla paralel olarak birçok araştırmacı tarafından fenitoin i.p. yolla 60 mg/kg dozunda uygulanmıştır (Kubova ve ark., 1996; Mares, 1994 ; Strejcková ve Mares, 1983). Bu yüzden çalışmamızda fenitoini 60 mg/kg dozunda PTZ'den 30 dakika önce verdik.

Krug ve arkadaşları, sıçanlarda ilk kez PTZ tutuşma modelinde fenitoinin antikonvülsan etkilerini araştırmışlardır ve fenitoinin tutuşma sürecini baskılamadığını göstermişlerdir (Krug ve ark., 1998). Bizim yaptığımız çalışmada ise tutuşmuş hayvanlara PTZ den 30 dakika önce sadece bir kez fenitoin verildi. Krug ve arkadaşları ise tutuşma sürecinde her PTZ enjeksiyonundan 60 dakika önce 10 mg/kg fenitoin vermiştir. Yaptığımız çalışmada fenitoin jeneralize tonik-klonik nöbet oluşumunu PTZ grubuna göre yaklaşık %66,7 oranında azalttı. Nöbet skorunu, spike frekansını ve spike



frekans yüzde değişimini PTZ grubuna göre anlamlı bir şekilde azalttı. Fenitoin, miyoklonik jerk latenslerinde ise anlamlı bir uzamaya neden olmadı. Bu sonuçlar, fenitoinin PTZ tutuşma modelinde etkili olduğunu göstermektedir.

Gap junctionlar, ökaryotik hücreler arasında doğrudan iletişimi sağlayan özelleşmiş bağlantılardır. Gap junctionlar, bitişik iki hücre membranı arasında kanal oluşturan yapılardır (Laird, 2006; Sohl ve ark., 2005; Vinken ve ark., 2006). Gap junctionlar hücreler arasında direkt elektriksel iletişimi mümkün kılar (McCracken ve Roberts, 2006; Sohl ve ark., 2005). Gap junction kanalları insanda, neokortikal ağların senkronizasyonunda rol almaktadır. GABAerjik internöronların birbirleriyle çok sayıda bağlantı yaptığı gösterilmiştir. Ayrıca birçok beyin bölgesinde GABAerjik internöronlarda konneksin 36 (Cx36) bulunmaktadır ve Cx36 proteini genetik olarak bulunmayan farelerde nöronal senkronizasyonun azaldığı gösterilmiştir (Bennett Murphy, 1977; Bennett ve Zukin, 2004; Deans ve ark., 2001; Galarreta ve Hestrin, 2001; Vaquero ve ark., 1978).

Gap junction blokerleri hipokampal doku kültürlerinde nöronal osilasyonları güçlü bir şekilde baskılamıştır (Han ve ark., 1996). Ayrıca bikukullin (Samoilova ve ark., 2003), düşük magnezyum (Kohling ve ark., 2001), yüksek potastum (Margineanu ve Klitgaard, 2001), 4-aminopiridin (Medina-Ceja ve ark., 2008) ve penisilin ile oluşturulan epilepsi modellerinde de gap junction blokerlerinin antiepileptik etkileri gösterilmiştir (Bostanci ve Bagirici, 2007a). Bir çalışmada bikukullin, GABA<sub>A</sub> reseptör agonisti olan muscimolun kas gevşetici etkisini ortadan kaldırmıştır. Hosseinzadeh ve Nassiri-Asl bu çalışmada, bir gap junction blokeri olan karbenoksolonun, depolarizasyon dalgalarının gap junction blokajı veya GABAerjik sistemin inhibisyonu sayesinde durdurulduğunu ileri sürmüştür (Hosseinzadeh ve Nassiri Asl, 2003). Bir gap junction açıcı olan trimetilamin epileptik nöbetlerin şiddetini artırmaktadır. Nassiri-Asl ve ark. (2008), sıçanlarda akut PTZ modelinde trimetilaminin epileptik nöbetlerin şiddetini artırdığını göstermişlerdir. Bu çalışmada trimetilamin, bir gap junction blokeri olan kininin antiepileptik etkilerini engellemiştir.

Geçit bağlantı kanalları, nöronların eşzamanlı olarak deşarj yapmalarını sağlar. Elektriksel sinapslar, büyük nöron gruplarının eş zamanlı salınımlarında görev alır ve böylece nöronal aktivitenin keskinleşmesini sağlarlar (Gibson ve ark., 2005; Hormuzdi ve ark., 2004). Kedilerde yapılan morfolojik bir çalışmaya göre deneysel epilepsi

modelinde geçit bağlantılarının sayıca arttığı gösterilmiştir. Bazı çalışmalarda serebral korteks, hipokampus, striatum ve serebellumdaki inhibitör GABAerjik internöronların birbirleriyle çok sayıda bağlantı yaptığı gösterilmiştir. Ayrıca epilepsi cerrahisi sonucu çıkarılan temporal lob doku örneklerinde Cx43 seviyelerinin yükseldiği tespit edilmiştir (Bennett Murphy, 1977; Bennett ve Zukin, 2004; Deans ve ark., 2001; Galarreta ve Hestrin, 2001; Vaquero ve ark., 1978). Glial gap junctionlar ise glutamatın ve K<sup>+</sup> iyonunun dağılmasına yardımcı olur ve nöronal eksitabliteyi artırır. Astrositler ile oligodendrositleri birbirlerine bağlayan gap junctionlar, iyonlar, metabolitler ve sinyal moleküllerinin beyni baştan sona kat etmesini sağlar. Buna panglial sinsityum denir (Amzica, 2002; Hosseinzadeh ve Nassiri Asl, 2003; Iacobas ve ark., 2007a; Koehler ve ark., 2006; Sonnewald ve Kondziella, 2003; Wolf ve Kirchhoff, 2008).

Gap junction blokajı yapan birçok kimyasal ajan ve ilaç bulunmaktadır (Karbenoksolon, oktanol, kinin, meflokin, halotan vb). Günümüze kadar gap junction blokerleri in vitro çalışmalarda elektriksel sinapsların işleyişini araştırmak için sıklıkla kullanılmıştır. Bunlardan bazıları şu anda insanda, malarya, ülser hastalığı veya kalp aritmisi gibi geniş yelpazedeki hastalıkların tedavisinde uzunca bir süredir kullanılmaktadır (Juszczak ve Swiergiel, 2009).

Karbenoksolon meyan kökünden elde edilen bir gliseretnik asit derivesi olup önceleri ülser tedavisinde kullanılmıştır (Juszczak ve Swiergiel, 2009). Gliseretnik asit derivelerinin gap junction blokajını, doğrudan kanalın kendisine yapışarak yaptığı deneysel olarak gösterilmiştir (Davidson ve Baumgarten, 1988). Ayrıca karbenoksolon, kanal yapısındaki konneksinlerde biçimsel değişikliklere de neden olur (Goldberg ve ark., 1996).

Gap junction blokerlerinin epileptik nöbetleri önlediğini gösteren çok sayıda çalışma vardır. Farelerde ve sıçanlarda yapılan çalışmalarda sistemik olarak verilen karbenoksolon ve kinin, antikonvülsan etkiler göstermişlerdir (Gareri ve ark., 2005; Gareri ve ark., 2004a; Gareri ve ark., 2004b; Gigout ve ark., 2006; Wambebe ve ark., 1990). Gareri ve ark. (2004b) genetik olarak epilepsiye yatkın sıçanlarda (GEPRs) i.p. yolla verilen 10, 20 ve 30 mg karbenoksolonun doza bağımlı olarak nöbetleri azalttığını göstermişlerdir. Gareri ve ark. (2004a) DBA/2 farelerde odyojenik nöbetleri önlemek için karbenoksolonu i.p yoldan odyojenik uyarıdan 60 dakika önce 10, 15, 20 ve 30 mg/kg, i.p dozlarında vermişler ve odyojenik nöbetlerin tonik-klonik fazını doza

bağımlı olarak önlediğini, yine odyojenik uyarıdan 60 ve 180 dakika önce verilen 40 mg/kg i.p. karbenoksolonun odyojenik nöbetlerin vahşi koşu fazını kısalttığını göstermişlerdir.

Lan L ve arkadaşlarının (2007a ve 2007b) yaptığı sadece özetine ulaşabildiğimiz iki çalışmada karbenoksolonun PTZ tutuşma modelindeki etkilerine bakılmıştır. Bu çalışmalardan birisinde karbenoksolonu tutuşmuş hayvanlara 3 gün süre ile 10 mg/kg ip dozunda vermişler ve karbenoksolonun spontan nöbetleri azalttığını göstermişler. Sonrasında ise hayvanlarda GFAP-Li, Fos-Li ve NMDAR-Li nöronlarını immunhistokimyasal olarak arttığını göstermişler. Diğer çalışmada ise yine 10 mg/kg ip karbenoksolonun ritmik spikeleri ve dalga komplekslerini azalttığını göstermişlerdir. Ancak bizim çalışmamızda ise 10 mg/kg karbenoksolon etkisiz bulunmuştur. Bunun sebebi Li ve arkadaşlarının karbenoksolonu üç gün süre ile kullanmaları olabilir. Ayrıca Lan L ve arkadaşları PTZ'yi her gün vermiştir. Biz ise haftanın sadece üç günü 35 mg/kg PTZ vererek tutuşma modeli oluşturduk. Ding ve arkadaşları (2006) karbenoksolonu 10 ve 20 mg/kg dozlarında PTZ tutuşma modeli oluşmadan önce vermişler ve doza bağımlı şekilde nöbet latensinin uzadığını göstermişlerdir. 20 mg/kg karbenoksolon nöbet skorunu da azaltmıştır. Ayrıca Ding ve arkadaşlarının (2006) yaptığı çalışmada 10 ve 20 mg/kg dozlarında hipokampusta Cx32 ekspresyonunda artışa neden olmuştur.

Sunulan çalışmada karbenoksolon, PTZ tutuşma modelinde PTZ'den 60 dakika önce 10,20 ve 40 mg/kg i.p. dozlarında verildi. 20 ve 40 mg/kg karbenoksolon spike sıklığını azalttı. 10 ve 20 mg/kg karbenoksolon jeneralize nöbetleri önlemedi ve miyoklonik jerk latenslerinde anlamlı bir değişikliğe neden olmadı. Ayrıca 40 mg/kg karbenoksolon miyoklonik jerk latensini anlamlı şekilde uzattı. Ding ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise 10 ve 20 mg/kg karbenoksolon nöbet latensini uzatmıştır. Ancak Ding ve arkadaşlarının yaptığı bu çalışma Çince yazılmış olduğu ve tam metnine ulaşamadığımız için kendi sonuçlarımızla karşılaştırma yapmak için elimizde yeterli veri yoktu.

Hosseinzadeh ve Aslın yaptığı çalışmada ise farelerde akut PTZ modelinde karbenoksolon 100, 200 ve 300 mg/kg ip olarak kullanılmış ve 300 mg/kg en etkili bulunmuş. Ancak bu dozlarda karbenoksolonun motor aktiviteyi azalttığını da görmüşlerdir (Hosseinzadeh ve Asl). CBX sistemik uygulandığında ataksi, takipne,

taşikardi ve kusma gibi yan etkilere neden olabilir (Juszczak ve Swiergiel, 2009). Karbenoksolon 7-35 mg/kg doz aralığında sıçanlara sistemik olarak uygulandığında stereotipik hareketleri azalttığı gözlenmiştir (Juszczak ve Swiergiel, 2009).. Ayrıca 100 mg/kg ve üzeri dozlarda karbenoksolon farelerde motor koordinasyonda azalma, sedasyon ve kas gevşetici etkiye neden olmaktadır (Hosseinzadeh ve Nassiri Asl, 2003). Bu yan etkilerinden dolayı karbenoksolonu daha yüksek dozlarda kullanmaktan çekindik.

Oktanol, kinin ve karbenoksolon beyne direkt olarak uygulandığında epileptiform aktiviteyi azaltmaktadır (Bostanci ve Bağırıcı, 2006; 2007a; b; Dougalis ve ark., 2004; Gajda ve ark., 2005; Grenier ve ark., 2003; Nilsen ve ark., 2006; Sayyah ve ark., 2007). Bostanci ve Bağırıcı (2006,2007a,2007b) penisilinle oluşturulan deneysel epilepsi modelinde intraserebroventriküler (i.c.v.) yolla verilen oktanol, karbenoksolon ve kininin spike frekansını ve nöbet skorunu azalttığını göstermişlerdir.

Bir gap junction açıcı olan trimetilamin epileptik nöbetlerin şiddetini artırmaktadır. Nassiri-Asl ve ark. (2008), sıçanlarda akut PTZ modelinde trimetilaminin epileptik nöbetlerin şiddetini artırdığı ve bir gap junction blokeri olan kininin antiepileptik etkilerini engellediğini göstermişlerdir.

Sunulan çalışma PTZ tutuşma modelinde karbenoksolonun valproik asit ve fenitoin ile etkileşimini hem elektrofizyolojik hem de davranışsal parametrelerle gösteren ilk çalışmadır.

PTZ tutuşma modelinde karbenoksolonun antikonvülsan etkilerini gösteren çok az sayıda çalışma vardır. Ayrıca elektriksel tutuşma modelinde karbenoksolonun epileptik aktiviteye etkilerini gösteren çalışma sayısı da azdır. Sayyah ve ark., amigdala tutuşma modelinde karbenoksolonu direkt olarak amigdalanın bazolateral nükleusuna vermişlerdir. Bu çalışmada karbenoksolon art deşarj sürelerini ve jeneralize nöbet sürelerini kısaltmıştır (Sayyah ve ark., 2007).

Karbenoksolon spike sıklığını ve spike frekans yüzde değişimini anlamlı bir şekilde azalttı ve miyoklonik jerk latenslerini de önemli ölçüde uzattı. Ancak nöbet evrelerinde önemli bir azalmaya neden olmadı. Bununla birlikte PTZ grubunda tüm deneklerde jeneralize nöbet (Evre 3 ve üzeri) görülürken 40 mg/kg karbenoksolon verilen grupta deneklerin sadece %50 sinde jeneralize nöbet görüldü. Bu sonuçlara göre karbenoksolon, PTZ tutuşma modelinde jeneralize nöbet yüzdesi, spike frekansı, spike

frekans yüzde değişimi ve miyoklonik jerk latensleri değerlendirildiğinde önemli bir antikonvülsan etkiye sahiptir.

Sunulan çalışmada 300 mg/kg valproik asit verilen sıçanların yaklaşık %66,7'sinde miyoklonik jerk gözlemlenirken 40 mg/kg karbenoksolon ile kombine edince bu oran %16,7'ye gerilemiştir. Valproat-karbenoksolon kombinasyonu, özellikle miyoklonik jerk görölme yüzdesinde önemli bir azalmaya neden oldu. Ancak diğer parametreler değerlendirildiğinde valproik asit ve karbenoksolon-valproik asit kombinasyon grupları arasında önemli bir fark yoktu.

Fenitoin-karbenoksolon kombinasyonu miyoklonik jerk latensini fenitoine göre anlamlı şekilde uzatmıştır. Ancak diğer parametreler değerlendirildiğinde ise iki grup arasında anlamlı bir fark yoktu.

Gareri ve ark., DBA/2 farelerde odyojenik nöbetleri önlemek için karbenoksolonu i.p yoldan vermişlerdir ve 40 mg/kg karbenoksolonun nöbetlerin vahşi koşu fazını kısalttığını görmüşlerdir. Ayrıca bu çalışmada karbenoksolonun geleneksel antiepileptiklerle etkileşimi çalışılmıştır. Karbenoksolon diazepam, gabapentin, fenobarbital, felbamat ve valproatın odyojenik nöbetlerde antiepileptik etkinliğini anlamlı bir şekilde artırmıştır. Lamotrijin, fenitoin ve karbamazepinin etkinliğinde ise önemli bir değişikliğe neden olmamıştır (Gareri ve ark., 2004a). Bizim alışmamızda ise karbenoksolon PTZ tutuşma nöbetlerinde valproatın etkinliğini sadece miyoklonik jerk görölme yüzdesinde bir azalmaya neden olarak artırdı. Karbenoksolon fenitoin ile kombine edildiğinde sadece miyoklonik jerk latensinde uzamaya neden olarak fenitoinin etkinliğinde artışa neden oldu. Ancak her iki ilaç için diğer parametreler değerlendirildiğinde bir potensiyelizasyondan söz etmek mümkün değildir. Gareri ve ark., (2004a), diazepam, fenobarbital, felbamat ve valproik asitin, fenitoin, karbamazepin ve lamotrijine göre daha spesifik mekanizmaları (GABA transmisyonu, NMDA reseptörleri ve voltaja bağımlı kalsiyum kanalları üzerinden) kullandığını ve fenitoin, lamotrijin ve karbamazepin membran stabilizasyonu yaptığı için karbenoksolonun bu ilaçların etki gücünü artırmada daha zayıf olduğunu ileri sürmüşlerdir. Ayrıca karbenoksolonun bu etkisinin farmakokinetik etkileşime bağlı olmadığını göstermişlerdir. Sunulan alışmada Gareri ve arkadaşlarının yaptığı çalışmadan farklı olarak karbenoksolon, valproik asit ve fenitoinin antiepileptik etkisine potensiyelizasyon düzeyinde bir katkıda bulunmamıştır.

Sunulan çalışma PTZ tutuşma modelinde karbenoksolonun valproik asit ve fenitoinle etkileşimini gösteren ilk çalışmadır. Karbenoksolon valproik asit ve fenitoin ile kombine edildiğinde bu ilaçların tek başlarına kullanılmasından daha etkili olmadığı ortaya konulmuştur.

## 6. SONUÇ

Çalışmamızdan elde edilen sonuçlara göre;

- I.** PTZ grubunda 35 mg/kg PTZ enjeksiyonu takiben ortalama 100±21 saniye sonra miyoklonik jerkler görülmeye başladı ve bütün deneklerde jeneralize nöbetler görüldü.
- II.** Karbenoksolon PTZ tutuşma modelinde 40 mg/kg i.p. dozu 10 ve 20 mg/kg dozlarına göre etkili bulunmuştur.
- III.** Bu çalışma PTZ tutuşma modelinde karbenoksolonun valproik asit ve fenitoin ile etkileşimini gösteren ilk çalışmadır.
- IV.** 40 mg/kg karbenoksolon PTZ grubuna göre
  - i. Jeneralize nöbetleri %50 oranında önledi.
  - ii. Miyoklonik jerk latensini anlamlı şekilde uzattı.
  - iii. Spike frekansını 5, 15 ve 25. dakikalarda anlamlı şekilde azalttı.
  - iv. 5, 10, 15, 25 ve 30. dakikalarda spike frekans yüzde değişiminde azalmaya neden oldu.
- V.** 300 mg/kg valproik asit PTZ grubuna göre
  - i. Jeneralize nöbetleri tamamen önledi.
  - ii. Miyoklonik jerkleri yaklaşık %33,3 oranında önledi.
  - iii. Spike frekansını 5, 15 ve 25. dakikalarda anlamlı şekilde azalttı.
  - iv. Bütün dakikalarda spike frekans yüzde değişiminde azalmaya neden oldu.
  - v. Valproik asit nöbet skorunu da anlamlı bir şekilde azalttı.
- VI.** 60 mg/kg fenitoin PTZ grubuna göre
  - i. Jeneralize nöbetleri yaklaşık olarak %66,7 oranında önledi.
  - ii. Spike frekansını 5 ve 25. dakikalarda anlamlı şekilde azalttı.
  - iii. 5, 10, 15, 25 ve 30. dakikalarda spike frekans yüzde değişiminde azalmaya neden oldu.
  - iv. Nöbet skorunu da anlamlı şekilde düşürdü.

**VII. Karbenoksolon-valproik asit kombinasyonu**

- i. Jeneralize nöbetleri tamamen önledi
- ii. PTZ grubuna göre miyoklonik jerk oluşumunu yaklaşık %83,3 oranında azalttı. Karbenoksolon valproatın miyoklonik jerkleri önleyici etkisine %50 oranında katkıda bulunmuştur.
- iii. Diğer parametreler değerlendirildiğinde karbenoksolon-valproik asit kombinasyonu ile valproik asit grubu arasında fark yoktur.

**VIII. Karbenoksolon-fenitoin kombinasyonu**

- i. Jeneralize nöbetleri yaklaşık olarak %66,7 oranında önledi.
- ii. PTZ grubuna göre nöbet skorunu anlamlı şekilde azalttı.
- iii. PTZ grubuna göre miyoklonik jerk latensini de anlamlı şekilde uzattı.
- iv. Bütün parametreler değerlendirildiğinde karbenoksolon-fenitoin kombinasyonu ile fenitoin grubu arasında fark yoktur.



## 7. KAYNAKLAR

- Alonso-Deflorida, F., Delgado, J.M., 1958. Lasting behavioral and EEG changes in cats induced by prolonged stimulation of amygdala. *Am J Physiol*, 193 223-229.
- Alvarez-Maubecin, V., Garcia-Hernandez, F., Williams, J.T., Van Bockstaele, E.J., 2000. Functional coupling between neurons and glia. *J Neurosci*, 20 4091-4098.
- Amabeoku, G.J., Farmer, C.C., 2005. Gamma-aminobutyric acid and mefloquine-induced seizures in mice. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 29 917-921.
- Amzica, F., 2002. In vivo electrophysiological evidences for cortical neuron-glia interactions during slow (<1 Hz) and paroxysmal sleep oscillations. *J Physiol Paris*, 96 209-219.
- Andre, V., Pineau, N., Motte, J.E., Marescaux, C., Nehlig, A., 1998. Mapping of neuronal networks underlying generalized seizures induced by increasing doses of pentylenetetrazol in the immature and adult rat: a c-Fos immunohistochemical study. *Eur J Neurosci*, 10 2094-2106.
- Andrew, R.J., 1991. *Neural and Behavioural Plasticity: The Use of the Chick as a Model*. Oxford University Press, 536–554.
- Bağırıcı, F., Bostancı, M., 2001. Kalsiyum kanal blokerleri ve deneysel epilepsi. *O.M.Ü. Tıp Dergisi*, 18 135-149.
- Barkai, E., Grossman, Y., Gutnick, M.J., 1994. Long-term changes in neocortical activity after chemical kindling with systemic pentylenetetrazole: an in vitro study. *J Neurophysiol*, 72 72-83.
- Barnes, G.L., Jr., Mariani, B.D., Tuan, R.S., 1996. Valproic acid-induced somite teratogenesis in the chick embryo: relationship with Pax-1 gene expression. *Teratology*, 54 93-102.
- Barr, M.L., Kiernan, J.A., 1988. *The human nervous system*. Lippincott Company, 5 224-230
- Bazil, C.W., Pedley, T.A., 1998. Advances in the medical treatment of epilepsy. *Annu Rev Med*, 49 135-162.
- Bennett Murphy, L., 1977. In *Handbook of Physiology*. Williams and Wilkins, Baltimore, Maryland,, 1 357–416

- Bennett, M.V., Zukin, R.S., 2004. Electrical coupling and neuronal synchronization in the Mammalian brain. *Neuron*, 41 495-511.
- Biedenbach, M.A., De Vito, J.L., Brown, A.C., 1986. Pyramidal tract of the cat: axon size and morphology. *Exp Brain Res*, 61 303-310.
- Bo, G.P., Fonzari, M., Scotto, P.A., Benassi, E., 1984. Parenteral penicillin epilepsy: tolerance to subsequent treatments. *Exp Neurol*, 85 229-232.
- Bostanci, M.O., Bagirici, F., 2006. The effects of octanol on penicillin induced epileptiform activity in rats: an in vivo study. *Epilepsy Res*, 71 188-194.
- Bostanci, M.O., Bagirici, F., 2007a. Anticonvulsive effects of carbenoxolone on penicillin-induced epileptiform activity: an in vivo study. *Neuropharmacology*, 52 362-367.
- Bostanci, M.O., Bagirici, F., 2007b. Anticonvulsive effects of quinine on penicillin-induced epileptiform activity: an in vivo study. *Seizure*, 16 166-172.
- Bradford, H.F., 1995. Glutamate, GABA and epilepsy. *Prog Neurobiol*, 47 477-511.
- Brailowsky, S., Kunimoto, M., Menini, C., Silva-Barrat, C., Riche, D., Naquet, R., 1988. The GABA-withdrawal syndrome: a new model of focal epileptogenesis. *Brain Res*, 442 175-179.
- Brailowsky, S., Menini, C., Silva-Barrat, C., Naquet, R., 1987. Epileptogenic gamma-aminobutyric acid-withdrawal syndrome after chronic, intracortical infusion in baboons. *Neurosci Lett*, 74 75-80.
- Bruton, C.J., 1988. *The neuropathology of temporal lobe epilepsy*. New York: Oxford UP.,
- Cain, D.P., 1981. Transfer of pentylenetetrazol sensitization to amygdaloid kindling. *Pharmacol Biochem Behav*, 15 533-536.
- Cain, D.P., 1986. The transfer phenomenon in kindling. In *Kindling 3*. Ed. J.A. Wada. New York: Raven Press, 231-248.
- Callaghan, D.A., Schwark, W.S., 1980. Pharmacological modification of amygdaloid-kindled seizures. *Neuropharmacology*, 19 1131-1136.
- Campbell, A.M., Holmes, O., 1984. Bicuculline epileptogenesis in the rat. *Brain Res*, 323 239-246.
- Carlen, P.L., Skinner, F., Zhang, L., Naus, C., Kushnir, M., Perez Velazquez, J.L., 2000. The role of gap junctions in seizures. *Brain Res Brain Res Rev*, 32 235-241.

- Carrea, R., Lanari, A., 1962. Chronic effect of tetanus toxin applied locally to the cerebral cortex of the dog. *Science*, 137 342-343.
- Chusid, J.G., Kopeloff, L.M., 1962. Epileptogenic effects of pure metals implanted in motor cortex of monkeys. *J Appl Physiol*, 17 697-700.
- Clow, A., Davidson, J., Glover, V., Halket, J.M., Milton, A.S., Sandler, M., Watkins, P.J., 1989. Isatin and tribulin concentrations are increased in rabbit brain but not liver following pentylenetetrazole administration. *Neurosci Lett*, 107 327-330.
- Coenen, A.M., Van Luijtelaar, E.L., 1987. The WAG/Rij rat model for absence epilepsy: age and sex factors. *Epilepsy Res*, 1 297-301.
- Colonnier, M., 1968. Synaptic patterns on different cell types in the different laminae of the cat visual cortex. An electron microscope study. *Brain Res*, 9 268-287.
- Connors, B.W., Long, M.A., 2004. Electrical synapses in the mammalian brain. *Annu Rev Neurosci*, 27 393-418.
- Corda, M.G., Orlandi, M., Lecca, D., Carboni, G., Frau, V., Giorgi, O., 1991. Pentylenetetrazol-induced kindling in rats: effect of GABA function inhibitors. *Pharmacol Biochem Behav*, 40 329-333.
- Coulter, J.D., Ewing, L., Carter, C., 1976. Origin of primary sensorimotor cortical projections to lumbar spinal cord of cat and monkey. *Brain Res*, 103 366-372.
- Courtney, K.R., Etter, E.F., 1983. Modulated anticonvulsant block of sodium channels in nerve and muscle. *Eur J Pharmacol*, 88 1-9.
- Daniels, J.C., Spehlmann, R., 1973. The convulsant effect of topically applied atropine. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 34 83-87.
- Davidson, J.S., Baumgarten, I.M., 1988. Glycyrrhetic acid derivatives: a novel class of inhibitors of gap-junctional intercellular communication. Structure-activity relationships. *J Pharmacol Exp Ther*, 246 1104-1107.
- Deans, M.R., Gibson, J.R., Sellitto, C., Connors, B.W., Paul, D.L., 2001. Synchronous activity of inhibitory networks in neocortex requires electrical synapses containing connexin36. *Neuron*, 31 477-485.
- Diehl, R.G., Smialowski, A., Gotwo, T., 1984. Development and persistence of kindled seizures after repeated injections of pentylenetetrazol in rats and guinea pigs. *Epilepsia*, 25 506-510.

- Ding, M.-P., Xu, L.-L., Bao, Y.-Y. , 2006. Effects of carbenoxolone on upregulation of connexin 32 in hippocampus of pentylenetetrazole kindled rats Chinese Pharmaceutical Journal 41 (3), pp. 182-185
- Donaldson, J., St Pierre, T., Minnich, J., Barbeau, A., 1971. Seizures in rats associated with divalent cation inhibition of  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP'ase}$ . Can J Biochem, 49 1217-1224.
- Dougalis, A., Lees, G., Ganellin, C.R., 2004. The sleep inducing brain lipid cis-oleamide (cOA) does not modulate serotonergic transmission in the  $\text{CA}_1$  pyramidal neurons of the hippocampus in vitro. Neuropharmacology, 46 63-73.
- Dziki, M., Honack, D., Loscher, W., 1992. Kindled rats are more sensitive than non-kindled rats to the behavioural effects of combined treatment with MK-801 and valproate. Eur J Pharmacol, 222 273-278.
- Ebert, U., Cramer, S., Loscher, W., 1997. Phenytoin's effect on the spread of seizure activity in the amygdala kindling model. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 356 341-347.
- Ebert, U., Rundfeldt, C., Loscher, W., 1994. Sex differences in the anticonvulsant efficacy of phenytoin in amygdala-kindled rats. Brain Res, 638 45-52.
- Engel, J., Jr., 2001. A proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizures and with epilepsy: report of the ILAE Task Force on Classification and Terminology. Epilepsia, 42 796-803.
- Engel, J., Plum, F., Gilman, S., Martin, J.B., 1989. Causes of human epilepsy. In: Seizures and Epilepsy. Philadelphia, 112-134.
- Ettinger, A.B., 1994. Structural causes of epilepsy. Neurologie Clinics, 12 41 -56.
- Evans, W.H., Martin, P.E., 2002. Gap junctions: structure and function (Review). Mol Membr Biol, 19 121-136.
- Faingold, C.L., Browning, R.A., 1987. Mechanisms of anticonvulsant drug action. I. Drugs primarily used for generalized tonic-clonic and partial epilepsies. Eur J Pediatr, 146 2-7.
- Ferguson, J.H., Jasper, H.H., 1971. Laminar DC studies of acetylcholine-activated epileptiform discharge in cerebral cortex. Electroencephalogr Clin Neurophysiol, 30 377-390.

- Ferri, R., Cosentino, F.I., Elia, M., Musumeci, S.A., Marinig, R., Bergonzi, P., 2001. Relationship between Delta, Sigma, Beta, and Gamma EEG bands at REM sleep onset and REM sleep end. *Clin Neurophysiol*, 112 2046-2052.
- Fischer, W., Kittner, H., 1998. Influence of ethanol on the pentylenetetrazol-induced kindling in rats. *J Neural Transm*, 105 1129-1142.
- Fisher, R.S., 1989. Animal models of the epilepsies. *Brain Res Brain Res Rev*, 14 245-278.
- Fisher, R.S., Prince, D.A., 1977. Spike-wave rhythms in cat cortex induced by parenteral penicillin. I. Electroencephalographic features. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 42 608-624.
- Freed, W.J., 1985. Selective inhibition of homocysteine-induced seizures by glutamic acid diethyl ester and other glutamate esters. *Epilepsia*, 26 30-36.
- Fricker, D., Miles, R., 2001. Interneurons, spike timing, and perception. *Neuron*, 32 771-774.
- Fukuda, T., Kosaka, T., 2003. Ultrastructural study of gap junctions between dendrites of parvalbumin-containing GABAergic neurons in various neocortical areas of the adult rat. *Neuroscience*, 120 5-20.
- Fukuda, T., Kosaka, T., Singer, W., Galuske, R.A., 2006. Gap junctions among dendrites of cortical GABAergic neurons establish a dense and widespread intercolumnar network. *J Neurosci*, 26 3434-3443.
- Furshpan, E.J., Potter, D.D., 1959a. Slow post-synaptic potentials recorded from the giant motor fibre of the crayfish. *J Physiol*, 145 326-335.
- Furshpan, E.J., Potter, D.D., 1959b. Transmission at the giant motor synapses of the crayfish. *J Physiol*, 145 289-325.
- Gajda, Z., Szupera, Z., Blazso, G., Szente, M., 2005. Quinine, a blocker of neuronal cx36 channels, suppresses seizure activity in rat neocortex in vivo. *Epilepsia*, 46 1581-1591.
- Galarreta, M., Hestrin, S., 2001. Electrical synapses between GABA-releasing interneurons. *Nat Rev Neurosci*, 2 425-433.
- Gareri, P., Condorelli, D., Belluardo, N., Citraro, R., Barresi, V., Trovato-Salinaro, A., Mudo, G., Ibbadu, G.F., Russo, E., De Sarro, G., 2005. Antiabsence effects of

- carbenoxolone in two genetic animal models of absence epilepsy (WAG/Rij rats and lh/lh mice). *Neuropharmacology*, 49 551-563.
- Gareri, P., Condorelli, D., Belluardo, N., Gratteri, S., Ferreri, G., Donato Di Paola, E., De Sarro, A., De Sarro, G., 2004a. Influence of carbenoxolone on the anticonvulsant efficacy of conventional antiepileptic drugs against audiogenic seizures in DBA/2 mice. *Eur J Pharmacol*, 484 49-56.
- Gareri, P., Condorelli, D., Belluardo, N., Russo, E., Loiacono, A., Barresi, V., Trovato-Salinaro, A., Mirone, M.B., Ferreri Ibbadu, G., De Sarro, G., 2004b. Anticonvulsant effects of carbenoxolone in genetically epilepsy prone rats (GEPRs). *Neuropharmacology*, 47 1205-1216.
- Garg, M.R., Gopinathan, N., Kshirsagar, N.A., 1996. Mefloquine induced grand mal seizure in a case of uncomplicated falciparum malaria. *J Assoc Physicians India*, 44 750.
- Gartner, L.P., Hiatt, J.L., 2002. *Text and Atlas of Histology*. 2. Ed.
- Getova, D., Froestl, W., Bowery, N.G., 1998. Effects of GABA<sub>B</sub> receptor antagonism on the development of pentylenetetrazol-induced kindling in mice. *Brain Res*, 809 182-188.
- Gibson, J.R., Beierlein, M., Connors, B.W., 2005. Functional properties of electrical synapses between inhibitory interneurons of neocortical layer 4. *J Neurophysiol*, 93 467-480.
- Gigout, S., Louvel, J., Pumain, R., 2006. Effects in vitro and in vivo of a gap junction blocker on epileptiform activities in a genetic model of absence epilepsy. *Epilepsy Res*, 69 15-29.
- Gilbert, T.H., Bharadia, V., Teskey, G.C., 2001. Conventional anticonvulsant drugs in the guinea-pig kindling model of partial seizures: effects of acute phenytoin. *Exp Brain Res* 140, 469-478.
- Gilbert, T.H., Corley, S.M., Teskey, G.C., 2002. Conventional anticonvulsant drugs in the guinea pig kindling model of partial seizures: effects of acute phenobarbital, valproate, and ethosuximide. *Exp Brain Res* 146, 336-344.
- Gilbert, M.E., Goodman, J.H., 2006. Chemical Kindling. Eds: Pitkänen, A., Philip, A., Solomon, L. M. ,*Models of Seizures and Epilepsy* Elsevier Academic Press Chapter 31 379-391.

- Gilbert, T.H., Teskey, G.C., 2007. Conventional anticonvulsant drugs in the guinea-pig kindling model of partial seizures: effects of repeated administration. *Exp Brain Res* 178, 115-125.
- Girgis, M., 1981. Electrical versus cholinergic kindling. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 51 417-425.
- Gloor, P., Fariello, R.G., 1988. Generalized epilepsy: some of its cellular mechanisms differ from those of focal epilepsy. *Trends Neurosci*, 11 63-68.
- Goddard, G.V., 1967. Development of epileptic seizures through brain stimulation at low intensity. *Nature*, 214 1020-1021.
- Goddard, G.V., McIntyre, D.C., Leech, C.K., 1969. A permanent change in brain function resulting from daily electrical stimulation. *Exp Neurol*, 25 295-330.
- Goldberg, G.S., Moreno, A.P., Bechberger, J.F., Hearn, S.S., Shivers, R.R., MacPhee, D.J., Zhang, Y.C., Naus, C.C., 1996. Evidence that disruption of connexon particle arrangements in gap junction plaques is associated with inhibition of gap junctional communication by a glycyrrhetic acid derivative. *Exp Cell Res*, 222 48-53.
- Grenier, F., Timofeev, I., Steriade, M., 2003. Neocortical very fast oscillations (ripples, 80-200 Hz) during seizures: intracellular correlates. *J Neurophysiol*, 89 841-852.
- Guyton, A.C., Hall, J.E., 2006. *Textbook of Medical Physiology* 11. ed., Chapter 47 Somatic Sensations: I. General Organization, the Tactile and Position Senses 591.
- Guzman, D.C., Vazquez, I.E., Mejia, G.B., Garcia, E.H., del Angel, D.S., Olguin, H.J., 2005. Effect of pentylentetrazole and carbodiimide on oxidation stress markers in rat brain. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 96 512-513.
- Han, D., Perez-Velazquez, J.L., Zhang, L., Carlen P.L. (1996). Electrical interactions between neurons after tetanic stimulation-induced epileptiform activity in rat hippocampal–parahippocampal slice. *Soc. Neurosci.*, 26, 2103.
- Hanna, G.R., Stalmaster, R.M., 1973. Cortical epileptic lesions produced by freezing. *Neurology*, 23 918-925.
- Hansen, S.L., Sperling, B.B., Sanchez, C., 2004. Anticonvulsant and antiepileptogenic effects of GABA<sub>A</sub> receptor ligands in pentylentetrazole-kindled mice. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 28 105-113.

- Haslam, R.H.A., 2007. The nervous system. Eds: Johnstone MV. Nelson Textbook of Pediatrics 18th ed. Philadelphia: WB Saunders Co 2457-2475.
- Hauser, W.A., Hesdorffer, D.C., 1990. Epilepsy: Frequency, causes and consequences. Demos, New York.,
- Hestrin, S., Galarreta, M., 2005. Electrical synapses define networks of neocortical GABAergic neurons. Trends Neurosci, 28 304-309.
- Hormuzdi, S.G., Filippov, M.A., Mitropoulou, G., Monyer, H., Bruzzone, R., 2004. Electrical synapses: a dynamic signaling system that shapes the activity of neuronal networks. Biochim Biophys Acta, 1662 113-137.
- Hosseinzadeh, H., Nassiri Asl, M., 2003. Anticonvulsant, sedative and muscle relaxant effects of carbenoxolone in mice. BMC Pharmacol, 3 3.
- Hunter, J., Jasper, H.H., 1949. Effects of thalamic stimulation in unanaesthetised animals; the arrest reaction and petit mal-like seizures, activation patterns and generalized convulsions. Electroencephalogr Clin Neurophysiol, 1 305-324.
- Iacobas, D.A., Iacobas, S., Spray, D.C., 2007a. Connexin43 and the brain transcriptome of newborn mice. Genomics, 89 113-123.
- Iacobas, D.A., Iacobas, S., Spray, D.C., 2007b. Connexin-dependent transcellular transcriptomic networks in mouse brain. Prog Biophys Mol Biol, 94 169-185.
- Jabbur, S.J., Towe, A.L., 1961. Analysis of the antidromic cortical response following stimulation at the medullary pyramids. J Physiol, 155 148-160.
- Jacobs, M.P., Fischbach, G.D., Davis, M.R., Dichter, M.A., Dingledine, R., Lowenstein, D.H., Morrell, M.J., Noebels, J.L., Rogawski, M.A., Spencer, S.S., Theodore, W.H., 2001. Future directions for epilepsy research. Neurology, 57 1536-1542.
- Johannessen, C.U., Johannessen, S.I., 2003. Valproate: past, present, and future. CNS Drug Rev, 9 199-216.
- Johnson, D.A., Bickford, R.G., 1957. The effect of thiopental sodium and pentylenetetrazole on the cortical and subcortical response to photic stimulation in the cat. Electroencephalogr Clin Neurophysiol, 9 251-262.
- Juszczak, G.R., Swiergiel, A.H., 2009. Properties of gap junction blockers and their behavioural, cognitive and electrophysiological effects: animal and human studies. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 33 181-198.



- Kandel, E.R., Siegelbaum, S.A., 2000. Overview of Synaptic Transmission. Principles of Neural Science 4. ed Eds Kandel, E. R., Schwartz, J. H., Jessell, T. M. 179.
- Karler, R., Murphy, V., Calder, L.D., Turkanis, S.A., 1989. Pentylentetrazol kindling in mice. *Neuropharmacology*, 28 775-780.
- Keita, M.S., Frankel-Kohn, L., Bertrand, N., Lecanu, L., Monmaur, P., 2000. Acetylcholine release in the hippocampus of the urethane anaesthetised rat positively correlates with both peak theta frequency and relative power in the theta band. *Brain Res*, 887 323-334.
- Koehler, R.C., Gebremedhin, D., Harder, D.R., 2006. Role of astrocytes in cerebrovascular regulation. *J Appl Physiol*, 100 307-317.
- Kohling, R., Gladwell, S.J., Bracci, E., Vreugdenhil, M., Jefferys, J.G., 2001. Prolonged epileptiform bursting induced by 0-Mg(2+) in rat hippocampal slices depends on gap junctional coupling. *Neuroscience* 105, 579-587.
- Kopeloff, L.M., 1960. Experimental epilepsy in the mouse. *Proc Soc Exp Biol Med*, 104 500-504.
- Korn, H., Sotelo, C., Crepel, F., 1973. Electronic coupling between neurons in the rat lateral vestibular nucleus. *Exp Brain Res*, 16 255-275.
- Kozan, R., Sefil, F., Bagirici, F., 2008. Anticonvulsant effect of carnosine on penicillin-induced epileptiform activity in rats. *Brain Res*, 1239 249-255.
- Krug, M., Becker, A., Grecksch, G., Pfeiffer, A., Matthies, R., Wagner, M., 1998. Effects of anticonvulsive drugs on pentylentetrazol kindling and long-term potentiation in freely moving rats. *Eur J Pharmacol*, 356 179-187.
- Kubova, H., Mares, P., 1991. Anticonvulsant effects of phenobarbital and primidone during ontogenesis in rats. *Epilepsy Res.*, 10 : 148-155.
- Laird, D.W., 2006. Life cycle of connexins in health and disease. *Biochem J*, 394 527-543.
- Laird, H.E., 2nd, 1989. The genetically epilepsy-prone rat. A valuable model for the study of the epilepsies. *Mol Chem Neuropathol*, 11 45-59.
- Lampe, P.D., Lau, A.F., 2000. Regulation of gap junctions by phosphorylation of connexins. *Arch Biochem Biophys*, 384 205-215.
- Lampe, P.D., Lau, A.F., 2004. The effects of connexin phosphorylation on gap junctional communication. *Int J Biochem Cell Biol*, 36 1171-1186.

- Lan, L., Wang, B.-X., Zhao, X., Duan, L., Cao, R., Liu, Y., Rao, Z.-R., 2007. Effect of carbenoxolone on expression of Fos, NMDAR2 and GFAP in the hippocampus of pentylenetetrazo-kindled epileptic rats, *Chinese Journal of Contemporary Pediatrics* 9 (5), pp. 465-468
- Lan, L., Zhao, X., Lan, Y., Duan, L., Cao, R., Liu, Y., Rao, Z., 2007. Effect of carbenoxolone on behavior and electroencephalogram of PTZ-kindled epileptic rats, *Journal of Xi'an Jiaotong University (Medical Sciences)* 28 (6), pp. 627-630
- Lance, J.W., Manning, R.L., 1954. Origin of the pyramidal tract in the cat. *J Physiol*, 124 385-399.
- Landisman, C.E., Long, M.A., Beierlein, M., Deans, M.R., Paul, D.L., Connors, B.W., 2002. Electrical synapses in the thalamic reticular nucleus. *J Neurosci*, 22 1002-1009.
- Li, Z.P., Zhang, X.Y., Lu, X., Zhong, M.K., Ji, Y.H., 2004. Dynamic release of amino acid transmitters induced by valproate in PTZ-kindled epileptic rat hippocampus. *Neurochem Int* 44, 263-270.
- Loscher, W., 1978. Serum protein binding and pharmacokinetics of valproate in man, dog, rat and mouse. *J Pharmacol Exp Ther*, 204 255-261.
- Loscher, W., 1993. Basic aspects of epilepsy. *Curr Opin Neurol Neurosurg*, 6 223-232.
- Loscher, W., 1999. Valproate: a reappraisal of its pharmacodynamic properties and mechanisms of action. *Prog Neurobiol*, 58 31-59.
- Loscher, W., 2002. Basic pharmacology of valproate: a review after 35 years of clinical use for the treatment of epilepsy. *CNS Drugs*, 16 669-694.
- Loscher, W., Cramer, S., Ebert, U., 1998. Limbic epileptogenesis alters the anticonvulsant efficacy of phenytoin in Sprague-Dawley rats. *Epilepsy Res*, 31 175-186.
- Loscher, W., Honack, D., 1993. Effects of the competitive NMDA receptor antagonist, CGP 37849, on anticonvulsant activity and adverse effects of valproate in amygdala-kindled rats. *Eur J Pharmacol*, 234 237-245.
- Loscher, W., Honack, D., Fassbender, C.P., Nolting, B., 1991. The role of technical, biological and pharmacological factors in the laboratory evaluation of anticonvulsant drugs. III. Pentylenetetrazole seizure models. *Epilepsy Res*, 8 171-189.

- Loscher, W., Rundfeldt, C., 1991. Kindling as a model of drug-resistant partial epilepsy: selection of phenytoin-resistant and nonresistant rats. *J Pharmacol Exp Ther*, 258 483-489.
- Lothman, E.W., Williamson, J.M., VanLandingham, K.E., 1991. Intraperitoneal phenytoin suppresses kindled responses: effects on motor and electrographic seizures. *Epilepsy Res*, 9 11-18.
- Marangoz, C., 1978. Beyin korteksinde bulunan piramidal nöron tipleri ve bunların deşarj şekli ile elektrokortikogram arasındaki ilişki. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Erzurum
- Marangoz, C., 1997. Deneysel epilepsi modelleri. *O.M.Ü. Tıp Dergisi* 14 147-186.
- Mares, P., 1994. Effect of phenytoin on cortical epileptic foci in cerveau isolé rats. *Physiol Res*. 43(1):45-9
- Margineanu, D.G., Klitgaard, H., 2001. Can gap-junction blockade preferentially inhibit neuronal hypersynchrony vs. excitability? *Neuropharmacology*, 41 377-383.
- Martin, J.H., 1991. The collective electrical behavior of cortical neurons: The electroencephalogram and the mechanisms of epilepsy. In: *Principles of Neural Science* (Ed.)s, Kandel, E.R., Schwartz, J.H., Jessell, T.M. 3rd Ed., New York, Elsevier Science Publishing, 777-791.
- Martin, J.H., Jessell, T.M., 1991. Anatomy of the somatic sensory system. In: *Principle of neural science* Ed.(s), Kandel, E.R., Schwarz, J.H., Jessel, T.M. Elsevier, New York 353-366.
- Mason, C.R., Cooper, R.M., 1972. A permanent change in convulsive threshold in normal and brain-damaged rats with repeated small doses of pentylenetetrazol. *Epilepsia*, 13 663-674.
- McCormick, D.A., Connors, B.W., Lighthall, J.W., Prince, D.A., 1985. Comparative electrophysiology of pyramidal and sparsely spiny stellate neurons of the neocortex. *J Neurophysiol*, 54 782-806.
- McCracken, C.B., Roberts, D.C., 2006. Neuronal gap junctions: expression, function, and implications for behavior. *Int Rev Neurobiol*, 73 125-151.
- McNamara, J.O., 1984. Kindling: an animal model of complex partial epilepsy. *Ann Neurol*, 16 72-76.

- McNamara, J.O., 1989. Development of new pharmacological agents for epilepsy: lessons from the kindling model. *Epilepsia*, 30 Suppl 1 S13-18; discussion S64-18.
- McNamara, J.O., Rigsbee, L.C., Butler, L.S., Shin, C., 1989. Intravenous phenytoin is an effective anticonvulsant in the kindling model. *Ann Neurol*, 26 675-678.
- Meldrum, B., 1984. GABAergic agents as anticonvulsants in baboons with photosensitive epilepsy. *Neurosci Lett*, 47 345-349.
- Medina-Ceja, L., Cordero-Romero, A., Morales-Villagran, A., 2008. Antiepileptic effect of carbenoxolone on seizures induced by 4-aminopyridine: a study in the rat hippocampus and entorhinal cortex. *Brain Res* 1187, 74-81.
- Miller, J.W., Snyder, A.Z., Coben, L.A., Prensky, A.L., 1992. Clinical electroencephalography and related techniques. In: *Clinical Neurology*, Ed., Joynt R.J., Lippincott, Philadelphia,
- Miranda, J., Brunet, L., Roset, P., Berini, L., Farre, M., Mendieta, C., 2001. Prevalence and risk of gingival enlargement in patients treated with nifedipine. *J Periodontol*, 72 605-611.
- Mori, N., Ohta, S., 1992. Comparison of anticonvulsant effects of valproic acid entrapped in positively and negatively charged liposomes in amygdaloid-kindled rats. *Brain Res*, 593 329-331.
- Mountcastle, V.B., Poggio, G.F., 1974. Structural organization and general physiology of thalamotelencephalic systems. In: *Medical Physiology*, Ed., Mountcastle, V.B. Mosby Comp 227-253.
- Murray, E.A., Coulter, J.D., 1981. Organization of corticospinal neurons in the monkey. *J Comp Neurol*, 195 339-365.
- Nagy, J.I., Dudek, F.E., Rash, J.E., 2004. Update on connexins and gap junctions in neurons and glia in the mammalian nervous system. *Brain Res Brain Res Rev*, 47 191-215.
- Nacar, T., 2008. Penisilin Modeli Deneysel Epilepside Farklı Antikonvulsan Ajanların Etkileri : Elektrofizyolojik Bir Çalışma. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Doktora Tezi.
- Nassiri-Asl, M., Zamansoltani, F., Zangivand, A.A., 2008. The inhibitory effect of trimethylamine on the anticonvulsant activities of quinine in the

- pentylentetrazole model in rats. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 32 1496-1500.
- Nilsen, K.E., Kelso, A.R., Cock, H.R., 2006. Antiepileptic effect of gap-junction blockers in a rat model of refractory focal cortical epilepsy. *Epilepsia*, 47 1169-1175.
- Nudo, R.J., Masterton, R.B., 1990. Descending pathways to the spinal cord, III: Sites of origin of the corticospinal tract. *J Comp Neurol*, 296 559-583.
- O'Brien, T.J., Meara, F.M., Matthews, H., Vajda, F.J., 2001. Prospective study of local cutaneous reactions in patients receiving i.v. phenytoin. *Neurology*, 57 1508-1510.
- Olsen, R.W., 1981. The GABA postsynaptic membrane receptor-ionophore complex. Site of action of convulsant and anticonvulsant drugs. *Mol Cell Biochem*, 39 261-279.
- Ono, J., Vieth, R.F., Walson, P.D., 1990. Electrocorticographical observation of seizures induced by pentylentetrazol (PTZ) injection in rats. *Funct Neurol*, 345-352.
- Pakhotin, P., Verkhatsky, A., 2005. Electrical synapses between Bergmann glial cells and Purkinje neurones in rat cerebellar slices. *Mol Cell Neurosci*, 28 79-84.
- Patsalos, P.N., Froscher, W., Pisani, F., van Rijn, C.M., 2002. The importance of drug interactions in epilepsy therapy. *Epilepsia*, 43 365-385.
- Paxinos, G., Watson, C. (1982). *The Rat Brain in the Stereotaxic Coordinates*. Academic Press, Sydney, New York, London.
- Pereda, A.E., Rash, J.E., Nagy, J.I., Bennett, M.V., 2004. Dynamics of electrical transmission at club endings on the Mauthner cells. *Brain Res Brain Res Rev*, 47 227-244.
- Piredda, S., Gale, K., 1986. Role of excitatory amino acid transmission in the genesis of seizures elicited from the deep prepiriform cortex. *Brain Res*, 377 205-210.
- Pous, E., Gascon, J., Obach, J., Corachan, M., 1995. Mefloquine-induced grand mal seizure during malaria chemoprophylaxis in a non-epileptic subject. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 89 434.
- Prince, D., Farrell, D., 1969. "Centrencephalic" spike-wave discharges following parenteral penicillin injection in the rat. *Neurology*, 19 309-310.

- Purves, D., Augustine, G.J., Fitzpatrick, D., Katz, L.C., LaMantia, A.S., McNamara, J.O., Williams, S.M., 2001. Sinauer Associates Inc. Publishers. Neuroscience, 2
- Racine, R., 1978. Kindling: the first decade. *Neurosurgery*, 3 234-252.
- Racine, R.J., 1972. Modification of seizure activity by electrical stimulation. I. After-discharge threshold. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 32 269-279.
- Racine, R.J., Burnham, W.M., 1984. The kindling model. In: Wheal, H. And Schwartzkroin P., ed., *Electrophysiology of epilepsy*. London, Academic Press, 153-171.
- Rehni, A.K., Singh, N., 2009. Reversal of pentylenetetrazole-induced seizure activity in mice by nickel chloride. *Indian J Pharmacol*, 41 15-18.
- Remler, M.P., Marcussen, W.H., 1986. Systemic focal epileptogenesis. *Epilepsia*, 27 35-42.
- Robert, E., Guibaud, P., 1982. Maternal valproic acid and congenital neural tube defects. *Lancet*, 2 937.
- Rogawski, M.A., Loscher, W., 2004. The neurobiology of antiepileptic drugs. *Nat Rev Neurosci*, 5 553-564.
- Rosenberg, H.C., Tietz, E.I., Chiu, T.H., 1985. Tolerance to the anticonvulsant action of benzodiazepines. Relationship to decreased receptor density. *Neuropharmacology*, 24 639-644.
- Rundfeldt, C., Honack, D., Loscher, W., 1990. Phenytoin potently increases the threshold for focal seizures in amygdala-kindled rats. *Neuropharmacology*, 29 845-851.
- Rundfeldt, C., Loscher, W., 1993. Anticonvulsant efficacy and adverse effects of phenytoin during chronic treatment in amygdala-kindled rats. *J Pharmacol Exp Ther*, 266 216-223.
- Sander, J.W., 2003. The epidemiology of epilepsy revisited. *Curr Opin Neurol*, 16 165-170.
- Samoilova, M., Li, J., Pelletier, M.R., Wentlandt, K., Adamchik, Y., Naus, C.C., Carlen, P.L., 2003. Epileptiform activity in hippocampal slice cultures exposed chronically to bicuculline: increased gap junctional function and expression. *J Neurochem* 86, 687-699.

- Sayyah, M., Rezaie, M., Haghighi, S., Amanzadeh, A., 2007. Intra-amygdala all-trans retinoic acid inhibits amygdala-kindled seizures in rats. *Epilepsy Res*, 75 97-103.
- Schilling, M., Wetzel, W., Grecksch, G., Becker, A., 2006. Pentylentetrazole kindling affects sleep in rats. *Epilepsia*, 47 2075-2082.
- Schmidt, R.F., 1989. Integrative functions of the central nervous system. *Human physiology*, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 2nd Ed 124-165.
- Schmitz, D., Schuchmann, S., Fisahn, A., Draguhn, A., Buhl, E.H., Petrasch-Parwez, E., Dermietzel, R., Heinemann, U., Traub, R.D., 2001. Axo-axonal coupling. a novel mechanism for ultrafast neuronal communication. *Neuron*, 31 831-840.
- Schwartzkroin, P.A., Turner, D.A., Knowles, W.D., Wyler, A.R., 1983. Studies of human and monkey "epileptic" neocortex in the in vitro slice preparation. *Ann Neurol*, 13 249-257.
- Sejima, H., Ito, M., Kishi, K., Tsuda, H., Shiraishi, H., 1997. Regional excitatory and inhibitory amino acid concentrations in pentylentetrazol kindling and kindled rat brain. *Brain Dev*, 19 171-175.
- Seyfried, T.N., Glaser, G.H., 1985. A review of mouse mutants as genetic models of epilepsy. *Epilepsia*, 26 143-150.
- Shepherd, G.M., 1974. *The synaptic organization of the brain*. Oxford University Press, London, 288-328.
- Shin, C., McNamara, J.O., 1994. Mechanism of epilepsy. *Annu Rev Med*, 45 379-389.
- Shorvon, S.D., 2005. *Handbook Of Epilepsy Treatment: Forms, Causes and Therapy in Children and Adults*. Blackwell Publishing, 2nd ed
- Silver, J.M., Shin, C., McNamara, J.O., 1991. Antiepileptogenic effects of conventional anticonvulsants in the kindling model of epilepsy. *Ann Neurol* 29, 356-363.
- Simon, A., Olah, S., Molnar, G., Szabadics, J., Tamas, G., 2005. Gap-junctional coupling between neurogliaform cells and various interneuron types in the neocortex. *J Neurosci*, 25 6278-6285.
- Smith, M., Pereda, A.E., 2003. Chemical synaptic activity modulates nearby electrical synapses. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 100 4849-4854.
- Snead, O.C., 3rd, 1988. gamma-Hydroxybutyrate model of generalized absence seizures: further characterization and comparison with other absence models. *Epilepsia*, 29 361-368.

- Snead, O.C., 3rd, Bearden, L.J., 1980. Anticonvulsants specific for petit mal antagonize epileptogenic effect of leucine enkephalin. *Science*, 210 1031-1033.
- Sohl, G., Maxeiner, S., Willecke, K., 2005. Expression and functions of neuronal gap junctions. *Nat Rev Neurosci*, 6 191-200.
- Sohl, G., Willecke, K., 2003. An update on connexin genes and their nomenclature in mouse and man. *Cell Commun Adhes*, 10 173-180.
- Sonnewald, U., Kondziella, D., 2003. Neuronal glial interaction in different neurological diseases studied by ex vivo <sup>13</sup>C NMR spectroscopy. *NMR Biomed*, 16 424-429.
- Stone, T.W., 1972. Cortical responses to pyramidal tract stimulation in the rat. *Exp Neurol*, 35 492-502.
- Strata, F., Atzori, M., Molnar, M., Ugolini, G., Tempia, F., Cherubini, E., 1997. A pacemaker current in dye-coupled hilar interneurons contributes to the generation of giant GABAergic potentials in developing hippocampus. *J Neurosci*, 17 1435-1446.
- Strejcková, A., Mares, P., 1983. Effect of diphenylhydantoin on unit activity in a cortical epileptogenic focus in the rat. *Neuropharmacology*, Mar;22(3):353-7
- Suzuki, J., 1976. Paroxysmal discharges in the electroencephalogram of the E1 mouse. *Experientia*, 32 336-338.
- Takahashi, K., 1965. Slow and fast groups of pyramidal tract cells and their respective membrane properties. *J Neurophysiol*, 28 908-924.
- Tan, U., Senyuva, F., Marangoz, C., 1978. Electroencephalographic effects of topically applied scopolamine. *Epilepsia*, 19 223-232.
- Tian, F.F., Zeng, C., Guo, T.H., Chen, Y., Chen, J.M., Ma, Y.F., Fang, J., Cai, X.F., Li, F.R., Wang, X.H., Huang, W.J., Fu, J.J., Dang, J., 2009. Mossy fiber sprouting, hippocampal damage and spontaneous recurrent seizures in pentylenetetrazole kindling rat model. *Acta Neurol Belg*, 109 298-304.
- Timofeeva, O.A., Gordon, C.J., 2001. Changes in EEG power spectra and behavioral states in rats exposed to the acetylcholinesterase inhibitor chlorpyrifos and muscarinic agonist oxotremorine. *Brain Res*, 893 165-177.



- Towe, A.L., Patton, H.D., Kennedy, T.T., 1964. Response Properties of Neurons in the Pericruciate Cortex of the Cat Following Electrical Stimulation of the Appendages. *Exp Neurol*, 10 325-344.
- Tunncliffe, G., 1996. Basis of the antiseizure action of phenytoin. *Gen Pharmacol*, 27 1091-1097.
- Uemura, S., Kimura, H., 1990. Common epileptic pathway in amygdaloid bicuculline and electrical kindling demonstrated by transferability. *Brain Res*, 537 315-317.
- Usunoff, G., Atsev, E., Tchavdarov, D., 1969. On the mechanisms of picrotoxin epileptic seizure (macro- and micro-electrode investigations). *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 27 444.
- Vaquero, J., Oya, S., Manrique, M., Lozano, A.P., Bravo, G., 1978. Cytological alterations in alumina cream experimental epilepsy. *Acta Neurochir (Wien)*, 42 235-243.
- Vicedomini, J.P., Nadler, J.V., 1987. A model of status epilepticus based on electrical stimulation of hippocampal afferent pathways. *Exp Neurol*, 96 681-691.
- Vinken, M., Vanhaecke, T., Papeleu, P., Snykers, S., Henkens, T., Rogiers, V., 2006. Connexins and their channels in cell growth and cell death. *Cell Signal*, 18 592-600.
- Walker, A.E., Johnson, H.C., Case, T.J., Kollros, J.J., 1946. Convulsive Effects of Antibiotic Agents on the Cerebral Cortex. *Science*, 103 116.
- Wambebe, C., Sokomba, E., Amabeoku, G., 1990. Effect of quinine on electroshock and pentylenetetrazol-induced seizures in mice. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 14 121-127.
- Wasterlain, C.G., Morin, A.M., Fujikawa, D.G., and Bronstein, J.M. , 1989. Chemical Kindling In The Clinical Relevance of Kindling. Ed. Bolowig, T.G. Trimble, M.R. New York: John Wiley, 35–53.
- Willmore, L.J., Sybert, G.W., Munson, J.B., 1978. Recurrent seizures induced by cortical iron injection: a model of posttraumatic epilepsy. *Ann Neurol*, 4 329-336.
- Wlaz, P., Ebert, U., Potschka, H., Loscher, W., 1998. Electrical but not chemical kindling increases sensitivity to some phencyclidine-like behavioral effects induced by the competitive NMDA receptor antagonist D-CPPene in rats. *Eur J Pharmacol*, 353 177-189.

- Wlaz, P., Rolinski, Z., Czuczwar, S.J., 1996. Influence of D-cycloserine on the anticonvulsant activity of phenytoin and carbamazepine against electroconvulsions in mice. *Epilepsia*, 37 610-617.
- Wolf, F., Kirchhoff, F., 2008. Neuroscience. Imaging astrocyte activity. *Science*, 320 1597-1599.
- Wong, R.K., Traub, R.D., Miles, R., 1984. Epileptogenic mechanisms as revealed by studies of the hippocampal slice. In: Schwartzkroin, P.A. and Wheal, M.V. Editors. *Electrophysiology of epilepsy* Academic Press, London, 253–275.
- Zaatreh, M., Tennison, M., D'Cruz, O., Beach, R.L., 2001. Anticonvulsants-induced chorea: a role for pharmacodynamic drug interaction? *Seizure*, 10 596-599.
- Zarate, C.A., Jr., Tohen, M., Narendran, R., Tomassini, E.C., McDonald, J., Sederer, M., Madrid, A.R., 1999. The adverse effect profile and efficacy of divalproex sodium compared with valproic acid: a pharmacoepidemiology study. *J Clin Psychiatry*, 60 232-236.