

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ-EMBRYOLOJİ
ANABİLİM DALI

**SIÇANLARDA İNTRAUTERİN OXCARBAZEPİN VE
GABAPENTİN UYGULAMASININ POSTNATAL
DÖNEMDE SUBSTANTİA NİGRA'DAKİ NÖRON
SAYISINA ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

Züleyha ERİŞGİN

**Samsun
Şubat – 2012**

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ-EMBRİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

**SIÇANLARDA İNTRAUTERİN OXCARBAZEPİN VE
GABAPENTİN UYGULAMASININ POSTNATAL
DÖNEMDE SUBSTANTİA NİGRA'DAKİ NÖRON
SAYISINA ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

Züleyha ERİŞGİN

Danışman: Yrd.Doç.Dr. Bülent AYAS

**Samsun
Şubat – 2012**

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Bu çalışma jürimiz tarafından **Histoloji ve Embriyoloji** Programında **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Süleyman KAPLAN
(Ondokuz Mayıs Üniversitesi)

Üye : Prof. Dr. Mustafa AYYILDIZ
(Ondokuz Mayıs Üniversitesi)

Üye : Prof. Dr. Ersan ODACI
(Karadeniz Teknik Üniversitesi)

Üye : Yrd. Doç. Dr. Bülent AYAS
(Ondokuz Mayıs Üniversitesi)

Üye : Yrd. Doç. Dr. M.Eyüp ALTUNKAYNAK
(Ondokuz Mayıs Üniversitesi)

Tezin Adı: Sıçanlarda İntrauterin Oxcarbazepin ve Gabapentin Uygulamasının Postnatal
Dönemde Substantia Nigra'daki Nöron Sayısına Etkilerinin Araştırılması

Tezi Teslim Eden: Züleyha Erişgin

Tez Savunma Sınav Tarihi: 03/02 /2012

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Bülent AYAS

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulu'na belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri
tarafından uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Süleyman KAPLAN
Enstitü Müdürü

TEŐEKKÜR

Doktora eğitimim süresince bilimsel desteklerinden dolayı sayın hocalarım Prof. Dr. Süleyman KAPLAN, Prof. Dr. Adnan KORKMAZ, Prof. Dr. Nusret ÇİFTCİ ve danışmanım Yrd. Doç. Dr. Bülent AYAS'a,

Tez yazımım sırasında zaman ayıran ve her türlü yardımlarını esirgemeyen sayın Prof. Dr. Mustafa AYYILDIZ'a ve yardımlarını gördüğüm sayın Prof. Dr. Abdurrahman AKSOY'a,

Doktora eğitimim sırasında bana laboratuvarında çalışma fırsatı veren ve desteğini esirgemeyen Prof. Dr. Jens R. Nyengaard'a, histolojik teknikler konusunda bilgilerinden yararlandığım sayın Helena Andersen ve Maj-Britt Lundrof'a, Dr. Fenghua Chen, Dr. Johnnie Bremholm Andersen, sevgili arkadaşım Dr. Merete Raarup ve Vicki Vallund'a, istatistiksel analizlerdeki yardımlarından dolayı Yrd. Doç. Dr. Yüksel TERZİ'ye,

OMU Tıp Fakültesi Tıbbi ve Cerrahi Araştırma Merkezi yetkilileri ve çalışanlarına, desteklerinden dolayı Bioforma yetkililerine,

Yaşamımın her döneminde bana desteklerini esirgemeyen aileme ve emeği geçen herkese teşekkürü bir borç bilirim.

Bu çalışma, PYO. TIP. 1904.10.025 numaralı proje ile OMÜ tarafından desteklenmiştir.

ÖZET

Sıçanlarda İntrauterin Oxcarbazepin ve Gabapentin Uygulamasının Postnatal Dönemde Substantia Nigra'daki Nöron Sayısına Etkilerinin Araştırılması

Bu çalışmada, farklı etki mekanizmalara sahip ikinci nesil antiepileptiklerden Oxcarbazepin (OXC) ve Gabapentin'in (GBP) gebelikteki kullanımına bağlı olarak substantia nigradaki (SN) toplam nöron sayısına etkilerini yetişkin sıçanda araştırmayı amaçlandı.

Çalışmada 21 adet hamile Wistar albino sıçandan elde edilen, 45 günlük dişi 35 adet yavru sıçan kullanıldı. Hamile sıçanlardan 7 grup oluşturuldu. İlk üç gruba gebeliğin 1 – 5., diğer üç gruba ise gebeliğin 6 – 15. günlerinde, sırasıyla OXC (100 mg/kg/gün), GBP (50 mg/kg/gün) ve Serum Fizyolojik (SF; %0,9 NaCl, 1,5 ml/gün) gavaj yoluyla verildi. SF verilenler kontrol grubu olarak değerlendirildi. Hiçbir uygulamanın yapılmadığı grup ise pür kontrol (PK) grubu olarak belirlendi.

Substantia nigra pars kompaktan sistematik rastgele örnekleme ile 5 µm kalınlığında alınan iki seri kesit çiftlerinden bir seri Nissl ve diğer seri immünohistokimyasal boyama ile boyandı. Nöron sayımı fiziksel disektör metodu kuralları doğrultusunda gerçekleştirildi. İmmünohistokimyasal çalışma için SN'deki dopaminerjik nöronları işaretleyen tirozin hidroksilaz antikoruna kullanıldı.

Kontrol gruplarından SF ve PK grupları karşılaştırıldığında, her iki uygulama dönemlerinde toplam nöron sayısının anlamlı şekilde SF grubunda az olduğu görüldü ($P<0,05$). OXC ile SF grupları karşılaştırıldığında, sadece gebeliğin 1-5. gün uygulamalarında dopaminerjik nöron sayısında anlamlı bir azalma bulundu ($P<0,05$). Nissl boyalılarda yapılan karşılaştırmalarda ise anlamlı bir fark çıkmadı ($P>0,05$). GBP verilenler ile SF grubu karşılaştırıldığında ise; gebeliğin 6-15. günlerindeki uygulamalarda toplam nöron sayısı ve dopaminerjik nöron sayısı GBP grubunda anlamlı düzeyde fazla çıktı ($P<0,05$). Gebeliğin 1-5. gün uygulamasında her iki boyama sonuçlarına göre ise GBP grubunun SF'ye göre nöron sayısı açısından bir fark bulunmadı ($P>0,05$).

Nissl boyama sonuçlarına göre OXC verilen gruplarda uygulama zamanları bakımından anlamlı bir farklılık görüldü ($P<0,05$). Benzer durum, farklı uygulama zamanlarında GBP verilen gruplarda da vardı ($P<0,05$) Bu farklılık OXC uygulananlarda nöron azalması, GBP uygulananlarda ise nöron artışı şeklindedir.

Sonuçlar, yeni nesil antiepileptiklerden OXC'nin gebeliğin farklı dönemlerindeki uygulamalarında yavru sıçan SN'sindeki nöronlar üzerine nörotoksik etkisinin olabileceğini gösterdi. GBP'nin ise nöral proliferasyonu etkilediği ve bu sonucun literatürde bildiren çalışmalarla örtüştüğü görüldü.

Züleyha ERİŞGİN, Doktora Tezi

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Samsun, Şubat 2012

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF IN UTERO EXPOSURE TO OXCARBAZEPINE AND GABAPENTIN ON THE NEURON NUMBER OF THE SUBSTANTIA NIGRA IN ADULT RATS

The aim of this study is to investigate the potential effects of in utero usage of two new generation antiepileptic drugs, namely oxcarbazepine (OXC) and gabapentin (GBP), on the total number of neurons of the substantia nigra (SN) in adult rats.

Twenty one adult Wistar albino pregnant rats were divided into seven groups. Three groups received OXC (100 mg/kg/day), GBP (50 mg/kg/day) and Saline (%0,9 NaCl, 1,5 ml/day) during the 1-5th and the other three groups during the 6-15th gestational days by gavage. While the Saline groups were evaluated as controls, one group had no treatments and was used as pure control (PC). Number analyses were made on 45 days-old female offspring (n=35).

Two series of systematic random section pairs of the SN were taken at 5 μ m, according to the physical dissector method. Nissl stained section-pairs were used to determine the total number of neurons. The dopaminergic neurons in the SN were visualized by tyrosine hydroxylase antibody.

As saline and PC groups were compared it was shown that the total number of neurons was diminished in the saline groups ($P<0,05$) for each treatment period. As for the OXC treatment groups, decline in the dopaminergic neurons were observed only in the 1-5th gestational period compared to saline ($P<0,05$). No differences were found in the comparisons made on the Nissl stained sections. In both staining methods, the GBP treatment showed no effects on the neuron numbers during the 1-5th gestational period ($P>0,05$), whereas a proliferative effect was seen in the 6-15th gestational period ($P<0,05$). On the other hand, a decrease in the 6-15th gestational period was observed when the OXC treatment groups were compared themselves on the Nissl stained sections ($P<0,05$). In contrast, the same comparison in the GBP treatment groups revealed an increase ($P<0,05$).

As a result, the OXC seems to have a neurotoxic impact in different gestational periods, while GBP has proliferative effects on the neuron number of rat SN, a result partly supported by previously reported data.

Züleyha ERİŞGİN, PhD Thesis

Ondokuz Mayıs University Samsun, February 2012

SİMGELER VE KISALTMALAR

- AEİ : Anti Epileptik İlaç
BDZ : Benzodiazepin
CBZ : Karbamazepin
DBS : Derin Beyin Stimülasyonu
DK : Değişim Katsayısı
EEG : Elektroensefalografi
FDA : Uluslararası İlaç Birliği
GABA : γ aminobutirik asit
GBP : Gabapentin
GP : Globus Pallidus
GPi : Globus Pallidus Interna
GPe : Globus Pallidus Externa
HK : Hata Katsayısı
FDA : Amerika Ulusal İlaç Birliği (Federal Drug Administration)
ILAE : Uluslararası Epilepsi ile Savaş Derneği
i.m. : Kas İçi
i.p. : Periton İçi
i.v. : Damar İçi
LMT : Lamotrijin
LVT : Levasiteram
MKA : Major Konjenital Anomali
OXC : Okskarbazepin
PB : Fenobarbütal
PHN : Post Herpetik Nöralji
PHT : Fenitoin
PK : Pür kontrol
RRA : Retro Rubral Bölge
SF : Serum Fizyolojik
SN : Substantia Nigra
SNc : Substantia Nigra Pars Kompakta
SNcm : Substantia Nigra Pars Kompakta Medial Kısım

SNcl : Substantia Nigra Pars Kompakta Lateral Kısım
SNI : Substantia Nigra Pars Lateralis
SNcv : Substantia Nigra Pars Kompakta Ventral Kısım
SNcd : Substantia Nigra Pars Kompakta Dorsal Kısım
SNr : Substantia Nigra Pars Retikularis
SRÖ : Sistemik Rastgele Örnekleme
STN : Subthalamik Nukleus
TH : Tirozin hidroksilaz
TP : Topiramet
VPA : Valproik Asit
VSD : Ventriküler Septal Defekt
VTA : Ventral Tegmental Alan
ZNS : Zonisamit

İÇİNDEKİLER

ÖZET	IV
ABSTRACT	V
SİMGELER VE KISALTMALAR	VI
İÇİNDEKİLER	VIII
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	10
1. EPİLEPSİ	10
1.1. Epilepsi ve Nöbet	10
1.2. Tarihçesi	10
1.3. İnsidansı	11
1.4. Nedenleri	11
1.5. Patofizyolojisi	12
1.6. Tanı	13
1.6.1. Elektroensefalografi (EEG)	14
1.7. Epileptik nöbetlerin sınıflandırılması	15
1.8. Tedavi	18
1.9. Antiepileptik İlaçların Etki Mekanizmaları	20
1.10. Antiepileptik İlaçlar	20
1.10.1. Karbamazepin	20
1.10.2. Valporat	23
1.10.3. Fenitoin	23
1.10.4. Fenobarbital	24
1.10.5. Gabapentin	25
1.10.6. Oxcarbazepin	27
1.11. Gebelik ve Epilepsi	29
1.12. Teratojenite	31
1.13. Bazal gangliyonlar	40
1.13.1. Bazal gangliyonların bağlantıları	42

1.13.2. Bazal Gangliyonlarda Tespit Edilen Devreler ve Transmitterler	44
1.14. Substantia Nigra	47
1.15. GABA ve GABA Reseptörleri	52
MATERYAL VE METOT	55
1. HAYVANLAR	55
1.2. İlaçların Temini ve Hazırlanması	56
2. ÖRNEKLEME ŞEKLİNİN BELİRLENMESİ	57
3. HİSTOLOJİK İŞLEMLER	60
3.1. Nötral Formalin Solüsyonunun Hazırlanması	60
3.2. Perfüzyon ve Tespit İşlemleri	60
3.3. Doku Takibi	61
3.4. Kesit Alma	62
3.5. Boyama İşlemi	62
3.5.1. Cresyl Violet Asetat Boyasının Hazırlanması	62
3.5.2. Cresyl Violet Asetat ile Boyama İşlemi	62
3.5.3. İmmünohistokimyasal Boyama Solüsyonları	62
3.5.4. İmmünohistokimyasal Boyama İşlemi	63
4. SN'in TANIMLANMASI VE SINIRLARININ BELİRLENMESİ	64
5. STEREOLOJİK UYGULAMA	67
5.1. Kesit Sayısı ve Sayım Alanlarının Örneklenmesi	68
5.2. Eşdeğer Alanlarının Bulunması ve Görüntülenmesi	68
5.3. Fiziksel Disektör ve Sayım İşlemi	69
6. İSTATİSTİKSEL ANALİZ VE HATA KATSAYISININ BULUNMASI	73

BULGULAR	75
1. PİLOT ÇALIŞMA İLE İLGİLİ GENEL GÖZLEMLER	75
2. ESAS ÇALIŞMA İLE İLGİLİ GENEL GÖZLEMLER	75
3. TOPLAM NÖRON SAYISI VE HESAPLAMALARINA AİT BULGULAR	84
4. TOPLAM NÖRON SAYISINA AİT İSTATİSTİKSEL BULGULAR	93
TARTIŞMA	98
1. UYGULAMA ESNASINDA KAŞILAŞILAN ÇEŞİTLİ DURUMLAR	99
2. AEİ'LER VE MALFORMASYON-GELİŞME GERİLİĞİ	100
3. SN VE ALT NUKLEUSLARI	103
4. SN'DE YAPILAN NÖRON SAYIM ÇALIŞMALARI	105
5. ÇALIŞMAYA AİT VERİLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ	108
SONUÇ VE ÖNERİLER	110
KAYNAKLAR	111

GİRİŞ

Epilepsi, çok eski çağlardan günümüze kadar süregelen, anormal deşarjların ortaya çıktığı veya yayıldığı nöronların somatik veya psişik fonksiyonları ile ilgili geçici bozukluklarla karakterize kronik nörolojik bir hastalıktır. Üç bin yıl öncesi Asur-Babil yazmalarında, Çin ve Hint kaynaklarında epilepsiye ait klinik durumları tanımlayıcı bilgiler bulunmaktadır. Yunancadan köken alan ‘epilamvanein’ kelimesinden gelmektedir ve antik çağlarda bu hastalık insanların korktuğı, mistik anlamlar yüklediğı ve hastaların toplumdan dışlandığı bir hastalık olarak görülmüştür. Hipokrat ise bunun beyinden gelen bir hastalık olduğunu ortaya koymuştur (Engel ve Pedley, 2008). Günümüzde yaklaşık 130 kişiden bir kişiyi etkilemektedir (Lozsadi ve ark., 2010). Avrupa’da her yıl 33.000 kişi epilepsi nedeniyle ölmektedir. Bunların 13.000’i önlenebilir niteliklidir (Cross, 2011). Türkiye’de yaklaşık 650.000, dünya da ise 60 milyon epilepsi hastası bulunmaktadır (Bartolini ve ark., 2011). Popülasyonda her on kişiden bir kişi yaşamlarının bir döneminde en az bir veya birçok kez nöbet geçirmekte ve bunların üçte birinde epilepsi gelişmektedir (Hauser, 1990).

Epilepsi ve epileptik nöbet birbirleriyle karıştırılan terimlerdir. Epileptik nöbet korteksteki artmış, hızlı ve yerel elektriksel boşalımlardan köken alır ve klinikte belli bir sürede sınırlı olarak, bilinç, davranış, duygu, hareket veya algılama fonksiyonlarında ani başlayan, kısa süreli ve geçici stereotipik değışiklik durumu olarak gözlenir. Epilepsi ise kronik olarak tekrarlayan, provoke edilmemiş nöbetlerle giden tabloyu tanımlar. Bu nedenle tek bir tetiklenmemiş nöbet epilepsi anlamına gelmez.

Epilepsinin yaşamın ilk yıllarında ve yaşlılık döneminde görülme sıklığı daha fazladır. Ancak bu genel tespit, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkeler arasında farklılık göstermektedir. Gelişmiş toplumlarda yaşlılık döneminde görülme sıklığı yaşamın ilk yıllarındakinden daha fazladır. Ancak Afrika ve Güney Amerika gibi gelişmemiş ya da gelişmekte olan bölgelerde ise genç erişkin dönemde bu oran artarken yaşlılıkta belirgin bir artış gözlenmemektedir (Lavados ve ark., 1992; Hauser ve ark., 1993; Camfield ve ark., 1996; Hauser ve ark., 1996; Tekle-Haimanot ve ark., 1997; Olafsson ve ark., 2005).

Epilepside cinsiyetler arasında istatistiksel olarak fark bulunmamaktadır. Ancak risk faktörleri değılendirildiğinde (kafa travması, merkezi sinir sistemi

enfeksiyonları, inme) erkeklerin daha çok risk altında olduğu görülmektedir (Banerjee ve Hauser, 2008)

Epilepsinin nedenleri genel olarak kafa travması, serebral beyin hastalığı, merkezi sinir sistemi enfeksiyonları ve inme sayılabilir. Epilepsi tanısı ise hasta anamnezi, elektroensefalografi (EEG) ve diğer destekleyici görüntüleme yöntemleri (tomografi, magnetik rezonans gibi) ile konulmaktadır. Vakalarının yaklaşık 2/3'ünde yapılan fizik muayene ve çeşitli laboratuvar incelemelerine rağmen bir neden saptanamamaktadır (Shin ve McNamara, 1994).

Çok sayıda yapılan insan ve hayvan çalışmalarına rağmen epilepsinin oluşum mekanizması hala tam olarak açıklanamamıştır. Ancak genel olarak nedeni, eksitator nörotransmitterler olan glutamat ve aspartat ile inhibitör nörotransmitter γ amino butirik asit (GABA) sistemleri arasındaki dengesizliğe bağlıdır. Bununla ilişkili olarak kortikal nöronların membran potansiyellerinde, membranı depolarize eden postsinaptik potansiyelin anormal şekilde uzaması ve membrandaki iyon kanallarındaki bozulmalara bağlı olarak da nöronların gruplar halinde ateşlenmesi ve etraflarındaki nöronları benzer şekilde ateşleyebilecek bir kapasiteye ulaşmasıdır (Macdonald and Mody, 2008).

Epilepsiyi tedavi etmek için yaygın olarak ilaç kullanılmaktadır. Ancak ilaç tedavisi sadece semptomatiktir, hastalığı ortadan kaldırmamaktadır. Tedavideki amaç semptomları yok etmek veya minimal düzeyde kalmasını sağlamaktır. Tedaviye başlarken hastanın bireysel özellikleri göz önünde bulundurulmalıdır. Epilepsi tedavisinde kullanılan anti-epileptik ilaçların (AEİ) tedaviyi sınırlayan yan etkilerin bulunması nedeniyle, bu ilaçlarla tedavi protokolü dikkatli bir şekilde yapılmalıdır (Beghi, 2010).

Fenobarbitallerin 1912 yılında keşfi ile AEİ'ler epilepsi tedavisinde kullanılmaya başlamıştır (Bourgeois, 2008). İlk nesil AEİ'ler fenobarbital (PB), fenitoin (PHT), benzodiazepin (BDZ), karbamazepin (CBZ) ve valproik asit (VPA)'tir. Bu ilaçlar uzun yıllar epilepsi tedavisinde başarıyla kullanılmıştır ve hala da kullanılmaktadır. Ancak oluşan yan etkiler bu ilaçlara alternatif olarak ikinci nesil AEİ'lerin keşfine sebep olmuştur. İkinci nesil AEİ'ler ise oxcarbazepin (OXC), gabapentin (GBP), levasiteram (LVT), topiramet (TP), lamotrijin'dir (LMT). İkinci nesil AEİ'ler daha iyi farmakokinetik özelliklere sahip ve daha iyi tolere edilebiliyorsa da geleneksel AEİ'lerden daha etkili değildir (Beghi, 2004, 2010; Bialer, 2005).

AEİ'ler genel olarak üç yolla etkilerini gösterirler; voltaj bağımlı iyon kanallarını etkileyerek, sinaptik inhibisyonunu arttırarak veya sinaptik eksitasyonun inhibisyonunu sağlayarak (Stefan ve Feuerstein, 2007). PHT, OXC, CBZ ve LMT sodyum kanallarını bloke ederek eksitator transmitterlerin açığa çıkmasını engeller; BDZ, PB, vigabatrin GABAerjik transmisyonu arttırırlar; GBP, GABA döngüsünü artırır; ethosüksimid T tipi kalsiyum kanallarının inhibe eder; valproik asit sodyum kanallarını bloke edip inhibitör nörotransmitter (GABA) seviyesinde artışa neden olmaktadır (Rho ve Sankar, 1999).

Epilepsi hastalığı kadın ve erkekler için aynı riskleri taşımamaktadır. Kadınlarda cinsel olgunlaşmayı, menstruel siklusu, kontraseptif kullanımını, fertilitiyi etkilemektedir (Crawfort, 2005). Dünyada 18 milyon kadın, epilepsi hastasıdır (Thomas ve ark., 2009). AEİ kullanan hastaların üçte biri üreme çağındadır ve gebe kadınların %0,3-0,7'si epilepsi hastasıdır (Adab ve ark., 2009; Kulaga ve ark., 2011).

Kadınlarda gebelik döneminde nöbet geçirmeleri hem kendilerinde hem de bebeklerinde çeşitli sorunların oluşmasına neden olmaktadır. Gebelikte hormonal değişiklikler, stres, sodyumla birlikte su tutulumu ve değişen fizyolojiye bağlı olarak kandaki ilaç düzeyindeki azalma nedeniyle nöbet geçirme sıklığı artabilir. Ancak çalışmalar epilepsi hastası olan gebelerin yarısının bu dönemde nöbet geçirmediğini ortaya koymaktadır (Thomas ve ark., 2009; Mawer ve ark., 2010). Bununla birlikte fokal epilepsisi olan ya da politerapi uygulanan epilepsi hastası kadınlarda gebelikte nöbet geçirme riski oldukça yüksektir (Thomas, 2011). Bu dönemde geçirilen nöbetler, plasentanın yapısında iskemiye neden olmaktadır ki bu durum yüksek oranda prenatal morbidite ve mortaliteye sebep olur. Prenatal iskemi beyin gelişimi üzerinde pek çok olumsuz etkiye sahiptir. Bu olumsuz etki doğum sonrası dönemde çok sayıda nörolojik hastalıklara (serebral palzi, nöronal apoptozis sonucu hipokampusun C1 ve C3 bölgesi, granüler hücre tabakası ve hilusun oluşumunda bozulmalara) neden olabilmektedir (Lima ve ark., 2010). Nöbetlerin anne ve bebek mortalite oranını artırdığı ve de gebelik süresince fötüsün gelişimini olumsuz etkilediği düşünüldüğünde bu dönemde AEİ'lerin kullanımının gerekliliği ortaya çıkmaktadır.

İlk olarak 1960'lı yıllarda AEİ kullanımına bağlı teratojenitenin ortaya çıkması, gebelikte AEİ kullanımı konusunda soru işaretlerinin oluşmasına neden olmuştur (Hauser, 2011). Sonraki yıllarda yapılan pek çok çalışma ile gebelikte AEİ kullanımının

çeşitli malformasyonlara ve ftal gelişim geriliğine neden olduğu tespit edilmiştir. AEİ'lerin özellikle ilk tirmesterda kullanımının ve doz artışının konjenital malformasyonlara yol açtığı öne sürülmüştür (Kaneko ve ark., 1999; Holmes ve ark., 2007; Frish ve ark., 2009; Okada ve ark., 2009; Ikonomidou ve Turski, 2010; Brosh ve ark., 2011; Guimaraes ve ark., 2011; Hauser, 2011; Kulaga ve ark., 2011). Prospektif ve retrospektif çalışmalara göre tek bir AEİ kullanan annelerin bebeklerinde malformasyon görülme sıklığının epilepsi hastası olup AEİ kullanmayanlara göre 2-3 kat daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Mawer ve ark., 2010). Sabers ve ark.'nın (2004) yaptığı prospektif bir çalışma ile malformasyon görülme olasılığının %5-13,5 arasında olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle bu dönemde AEİ'ler fayda ve zarar hesabı yapılarak kullanılmalıdır. Özellikle ilk nesil AEİ'ler ve bunların içinde en çok kullanılan valproik asitin doğumlardaki malformasyon oranını artırdığı gözlemlenmiştir (Sabers ve ark., 2004; Frisch ve ark., 2009; Harden ve ark., 2009; Okada ve ark., 2009; Mawer ve ark., 2010). Bu ilaçları kullanan annelerin bebeklerinde düşük doğum ağırlığı, boy-baş çevresi ve iskelet sisteminde gelişme geriliği, nöral tüp defektleri, beyin morfolojisinde değişim, IQ skorunda düşüklük, verbal, motor ve kognitif becerilerde azalma tespit edilmiştir (Perucca, 2005; Morrow ve ark., 2006; Ikonomidou ve ark., 2007; Almgren ve ark., 2009; Cohen ve ark., 2011; Meador ve ark., 2011; Shallcross ve ark., 2011). Özellikle bu durumların doza bağlı olarak arttığı ve bu artışın monoterapiye göre politerapide daha belirgin olduğu bildirilmiştir (Kim ve ark., 2007; Harden ve ark., 2009; Vajda ve ark., 2010; Holmes ve ark., 2011; Tomson ve ark., 2011). Bazı çalışmalar teratojenik etkinin folik asit kullanımı ile önlenebileceğini, bazıları da yetersiz kalacağını göstermektedir (Morrow ve ark., 2009; Jentink ve ark., 2010).

Geleneksel AEİ'lerin teratojenik ve yan etkilerinden yola çıkarak, yine nöbetler üzerine etkisi olan ve daha az yan tesiri olan ikinci nesil antiepileptikler (vigabatin, LMT, GBP, felbamat, OXC, TP, LVT, pregabalin, zonizamit, klobazam) kullanıma sunulmuştur. Bu ilaçların daha iyi tedavi profiline sahip olduğu ve daha güvenilir olduğu iddia edilmektedir (Czubak ve ark., 2008). Bu yeni nesil AEİ'lerin gebelikteki kullanımında konjenital malformasyonlar, ftal gelişim geriliği ve nöral gelişim bakımından geleneksel ilaçlara göre daha güvenli olduğu gerek klinik gerekse elektrofizyolojik çalışmalarla kısmen ortaya konmuşsa da, merkezi sinir sisteminde hüresel düzeydeki etkileri açık değildir (Meischenguiser ve ark., 2004; Sabers ve ark.,

2004; Eisenschenk, 2006; Kınay ve ark., 2008). Yeni nesil AEİ'lerin nöronal apoptosise, hücre göçünde, farklanmasında ve plastisitesinde bozulmalara yol açabileceği ileri sürülmüştür (Kim ve ark., 2007, Manent ve ark., 2007).

GBP, 1993 yılında Birleşmiş Milletler Gıda ve İlaç Organizasyonu tarafından epilepsi için kullanımı onaylanan, parsiyel ve sekonder jeneralize nöbetlerde kullanılan ikinci nesil antiepileptik bir ilaçtır (Prakash ve ark., 2008). Bu tarihten itibaren İngiltere ve 1994 yılından itibaren Amerika'da 12 yaşından büyüklerde güvenle kullanılmaktadır. GBP yapısal olarak beyinde inhibitör bir nörotransmitter olan GABA ile benzerlik göstermektedir. GABA kan-beyin bariyerini geçemezken GBP kolayca kan-beyin engelini geçebilmektedir. Antikonvülsan etkisini iyon kanallarını aktive ederek ya da nonsinaptik ortamda GABA salınımı ile gösterir. L tipi kalsiyum kanallarının alfa-2-delta alt ünitesine bağlanır ve monoamin salınımını azaltır. Başka bir çalışmada da nitrik oksit sentezini aktive eden Ca^{+2} kanalları üzerine etki gösterdiği tespit edilmiştir (McLean, 1995; Oka ve ark., 2003; Donner ve Snead, 2006; Prakash ve ark., 2008). Otoradyografik çalışmalarla beyinde özellikle korkteksin dış katmanına, serebelluma, hipokampusu bağlandığı ve beyaz cevhere ise az bağlandığı gösterilmiş ve ayrıca MR stereoskopi ile beyindeki glutamat seviyesinde %20 azalmaya neden olduğu gözlenmiştir (McLean, 1999). Yine başka bir çalışmaya göre GBP uygulamasının glutamat transport inhibisyonunun artışıyla omurilik hücre kültüründe nöron ölümünü (hücreden eksitotoksositeye neden olan glutamat kaçığının azalması ile) yavaşlattığı tespit edilmiştir (Rothstein ve Kunci, 1995; McLean, 1999). Bu glutamat salınımindaki azalma GBP'nin antikonvülsan etkisinin ve muhtemel nöroprotektif etkisinin de olabileceğini açıklamaktadır. Ayrıca bazı çalışmalara göre GBP indirekt olarak aksiyon potansiyelin ateşlenme oranını sınırlandırmaktadır. Bu durumun nöbet yayılımını önleyebileceği ve nöropatik ağrıyı kesebileceği ileri sürülmüştür (Mares ve Haugvicova, 1997; McLean, 1999). GBP'nin serbest serum seratonin seviyesinde artışa neden olduğu da gösterilmiştir (Rao ve ark., 1988). Bu artışın merkezi sinir sisteminde olup olmadığı henüz tam olarak bilinmemektedir. CBZ'nin beyinde seratonin seviyesinde artışa neden olduğu ve bununda beyindeki internöronlarda GABA salınımına neden olduğu bilinmemektedir (Ropert ve ark., 1991; Yan ve ark., 1992). GBP'nin de benzer etkilere sahip olabileceği düşünüldüğünde analjezik ve duygu-durum düzenleyici etkisi ile antiepileptik etkinliğe sahip olabileceği ileri sürülmüştür (Mclean, 1999).

GBP, suda iyi çözülebilen aminoasit özelliğinde ve iyi tolere edilebilen, etkili ve dünyada oldukça yaygın kullanılan (yaklaşık 10 milyon hasta) bir AEİ'dir (Cilio ve ark., 2001; Prakash ve ark., 2008). Amerika'da üç ve yukarı yaşlardaki çocuklarda parsiyel nöbetlerde destekleyici tedavi olarak kullanılmaktadır (Montouris, 2003). Ayrıca nöropatik ağrıda ve postherpetik nöraljide (PHN) tercih edilmektedir (Öhman ve ark., 2005). Diğer ülkelerde parsiyel nöbetlerde, nöropatik ağrıda (diabetik periferik nöropati) monoterapi olarak kullanılmaktadır (Montorius, 2003). Ayrıca duyu durum bozukluklarında da güvenilir, etkili ve tolere edilebilir olduğundan epilepsi hastalarına bu etkisi ayrı bir avantaj sağlamaktadır (Botts ve Raskind, 1999). Çünkü bu hastalarda depresyon görülme riski 4-5 kat fazla olduğundan hem anti epileptik etkisi hem de anti depresan etkisi aynı anda elde edilmektedir (Czubak ve ark., 2008).

GBP'nin gebelikte ilaç kullanım kategorisi C'dir (Montouris, 2003). Gebelik döneminde kullanımı ve teratojenite konusunda hala sınırlı sayıda ve küçük çaplı çalışmalar bulunmaktadır. Hayvan çalışmalarında özellikle farelerde teratojenik etkisinin olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmalarda fetal rezorbsiyonda artış, vücut ağırlığında azalma, iskelet sistemine ait malformasyonlarda artma görülmüştür (Prakash ve ark., 2008; Afshar ve ark., 2009). Ancak insanlarda yapılan çalışmalarda teratojenik etkisinin olmadığı ileri sürülmüştür (McLean,1999; Montouris, 2003; Hill ve ark., 2010; Nielsen ve Hviid, 2011).

OXC de yeni nesil AEİ'lerdendir. İki bin yılında Amerika Ulusal İlaç Birliği (FDA) tarafından dört yaşından büyüklerin kullanımına sunulmuştur. CBZ ile eşdeğer klinik etkiye sahip olması, yine allerji, sinir sistemi ve karaciğere ait yan etkilerinin az görülmesi OXC'nin güvenle kullanılmasını sağlamıştır. OXC (10,11-dihidro-10 oxcarbamazepin), CBZ'nin bir keto analogudur ve nötral lipofilik yapıdadır. Antikonvülsan etkisini voltaj kapılı sodyum kanallarını bloke ederek gösterir. Ayrıca potasyum iletimini artırır, glutamaterjik transmisyonu azaltır ve kalsiyum kanallarının fonksiyonlarını düzenler (Shorvon, 2000; Donner ve Snead, 2006). Yetişkinlerde ve çocuklarda parsiyel epilepside kullanılmaktadır (Beghi, 2010). En önemli avantajı diğer ilaçlarla etkileşiminin olmamasıdır, ancak hormonal kontraseptiflerin etkinliğini azaltmaktadır (Klosterskov-Jensen ve ark., 1992). Ayrıca kronik kullanımlarda hiponatremiye neden olmaktadır. Son yıllardaki çalışmalara göre gebelikte kullanıldığında ilaç serum konsantrasyonunda düşüşe bağlı olarak epileptik nöbetlerde

artışa neden olduğu gözlenmiştir (EURAP, 2006; Wegner ve ark., 2010). OXC'nin teratojenik etkisi hakkında diğer yeni nesil AEİ'lerde olduğu gibi henüz kesin bir bilgi bulunmamaktadır. Pek çok çalışma teratojenik olmadığını göstermektedir (de O Guerra ve ark., 2000; Montouris, 2005; Perucca, 2005; Nielsen ve Hviid., 2011). Ancak teratojeniteye neden olduğunu gösteren çok az da olsa çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalarda OXC'nin teratojenik etkisinin diğer geleneksel AEİ'ler ile karşılaştırıldığında çok düşük olduğu ve politerapi ile arttığı gösterilmiştir (Meischenguiser ve ark., 2003; Yerby, 2003; Montouris, 2005; Eisenschenk, 2006).

Substantia nigra (SN) mezensefalonda yer alır. Ödüllendirme, alışkanlık, bağımlılık ve hareket ile ilgili fonksiyonlarda rolü bulunan bir çekirdektir. Latince siyah madde anlamına gelmektedir ki bunun nedeni etrafındaki bölgelere göre daha koyu renkte görünmesidir. Buna dopaminerjik nöronlardaki yüksek düzeydeki melatonin neden olmaktadır. Striatum, globus pallidus (GP) ve subthalamik nukleus gibi, SN'de bazal gangliyonun bir parçasıdır. Beynin farklı kısımlarıyla doğrudan ve dolaylı bağlantıları mevcuttur. Bazal gangliyonun ana efferentlerini oluşturur. Buradaki aktivite dopaminerjik nöronlar üzerinden eksitör, GABAerjik nöronlar üzerinden inhibitör etki gösterir. AEİ'lerin eksitör uyarıyı baskılayıp inhibisyonu arttırması amaçlandığından bu alana etkileri önem arz etmektedir (Freichel ve ark., 2004).

Beyin kesitlerinde substantia nigra sanki bir band gibi görünse de aslında birbirinden farklı bağlantı ve fonksiyonlara sahip iki alt nukleustan oluşmaktadır (Tepper ve ark., 2007; Guatteo ve ark., 2009):

-Pars Kompakta (SNc)

-Pars Retikulata (SNr)

-Pars kompakta; dopaminerjik nöronların ağırlıklı olarak yer aldığı bölümdür. Yoğun melatonin nedeniyle diğer bölgelerden daha siyah görülmektedir. Bu bölümün en belirgin fonksiyonu motor kontroldür. SNc klinik olarak Parkinson, şizofreni ve madde bağımlılığı açısından büyük bir öneme sahiptir (Chinta ve Andersen, 2005).

-Pars retikulata; SN'nin en büyük parçasıdır. Rostro-caudal eksenine etrafında uzanır. SNr'de bulunan nöronların büyük çoğunluğu GABAerjik nöronlardır. Çok az sayıda dopaminerjik nöron içermektedir. SNc'den kalın dendritler buraya uzanmaktadır. SNr, SNc'deki dopaminerjik aktiviteyi kontrol eder. Ayrıca bu uzun dendritler özellikle

tirozin hidroksilaz ile yapılan immünohistokimyasal boyamalarda SNr'nin sınırlarını ayırt edebilmeyi sağlamaktadır (Nielsen ve ark., 2009).

Nöbet, içerisinde SN'ninde olduğu çeşitli beyin bağlantıları tarafından oluşturulur ve yayılır. Hayvan model epilepsisinde, striatumdan SNr'ye inhibitör GABAerjik input potansiyelizasyonu, beyindeki orjinlerinden bağımsız olarak çok çeşitli nöbet tiplerinin yayılımını baskılamaktadır (Freichel ve ark., 2004). Farklı yöntemlerle (tutuşma amygdala modeli, bölgeye doğrudan ilaç uygulamaları, kimyasallar ve maksimal elektroşok) oluşturulan deneysel epilepsi nöbetlerinde, SNr'deki inhibitör transmisyonun artışı ya da eksitator blokajı ile nöbetlerin önlendiği ya da azaldığı görülmüştür (Deransart ve ark., 2003; Freichel ve ark., 2004; Gernert ve ark., 2004; Meurs ve ark., 2006; Paz ve ark., 2007; Gale ve ark., 2008; Castillo ve ark., 2010). Amygdala tutuşma modelinde GABA sentez enzimi olan glutamik asit dekarboksilazın (GAD) sinaptozomal aktivitesinde belirgin düzeyde ve SN'deki GABA döngüsünde azalma görülmüştür. Hayvan model epilepsideki tutuşma oluşumunun altında yatan nedenin SNr'deki GABAerjik sistemden kaynaklanan bozulmaların olduğu düşünülmektedir (Gernert ve ark., 2004). Yine hayvanlarda SNr'ye GABAerjik hücre transplantasyonu (Nolte ve ark., 2008) ve STN stimülasyonu ile SNr'de GABA seviyesinde artış sağlanarak nöbet kontrolü başarılmıştır (Windels ve ark., 2005; Zhang ve ark., 2008). Hatta SNr'ye yakın bölgelere yapılan derin beyin stimülasyonu uygulamasında daha etkili sonuçlar alındığı görülmüştür (Feddersen ve ark., 2007). Bazal ganliyollar, esas efferenti olan SNr'nin aktivasyonu aracılığıyla nöbetleri (özellikle absens nöbetlerini) kontrol eden subkortikal bir sistem oluşturur. Bu durumda GABAerjik inhibisyonun önemini ortaya koymaktadır (Paz ve ark., 2007). Ancak SNr'nin nöbetleri önleyici etkisi tam olarak bilinmemektedir.

GABA beyinde önemli inhibitör nörotransmitter olmakla birlikte kemirici ve primatlarla yapılan çalışmalarda gelişen beyinde aynı zamanda eksitator etki gösterdiği ileri sürülmüştür (Fizman ve ark., 1999; Demarque ve ark., 2002; Li ve ark., 2004). Embriyonal ve neonatal dönemde trofik rolleri vardır ve parakrin etkiyle nöroblastların proliferasyonunda, göçünde ve farklılaşmasında görev alır. Hayvan çalışmalarında GABA seviyesinde artışa neden olan ya da GABA gibi etki gösteren ilaçların, prenatal dönemde hipokampal ve kortikal hiperplaziye neden olduğu ortaya konulmuştur (Manent ve ark., 2007).

Gebelikte AEİ'lerin kullanımı üzerine yapılan klinik ve deneysel çalışmalar daha çok konjenital malformasyonların, fetal büyümenin, doğum sonrası mental ve fiziksel fonksiyonların değerlendirilmesi üzerine yoğunlaşmıştır (Meischenguiser ve ark., 2004; Sabers ve ark., 2004; Eisenschenk, 2006; Czubak ve ark. 2008). Özellikle ikinci nesil AEİ'lerin kullanıldığı bu tür çalışmalarda yan etkilerin oldukça az olduğu bildirilmiştir (Perucca, 2005; Hill ve ark., 2010). Bununla birlikte nöral gelişim üzerine yapılan çalışmalar oldukça sınırlı kalmış (postnatal ilk birkaç günlük dönemde verilen ilaçların etkileri sorgulanmış) ve bu araştırmalarda ya apoptozisin varlığı ya da nöron yoğunluğundaki değişimler değerlendirilmiştir (Bittigau ve ark. 2002; 2003; Kim ve ark., 2007; Manent, 2007). Özellikle epilepsinin kontrolünde önemli etkilere sahip olan SN'nin gelişimi üzerine AEİ'lerin etkisi hala ucu açık bir konudur.

Sunulan çalışmada farklı etki mekanizmalara sahip ikinci nesil AEİ'lerden OXC ve GBP'nin sıçanlarda gebelikte kullanımına bağlı olarak bazal gangliyona ait bir nükleus olan SN'nin nöron sayısına postnatal dönemdeki etkisi araştırıldı. SN'nin tercih edilmesindeki neden, epileptik nöbetlerin baskılanmasında beyindeki önemli inhibisyon merkezlerinden birisi olmasıdır. Çalışmalarda SN'deki inhibisyon çıkışında artış ya da eksitasyonun önlenmesi ile nöbetlerin önlendiği ya da azaldığı görülmüştür (Deransart ve ark., 2003; Freichel ve ark., 2004; Gernert ve ark., 2004; Meurs ve ark., 2006; Paz ve ark., 2007; Gale ve ark., 2008; Castillo ve ark., 2010). GBP'nin inhibitörlerde artışa neden olması ve OXC'nin ise eksitasyonu baskılması sunulan çalışmada bu ilaçların tercih edilmesine neden oldu.

Bu çalışma bahsedilen etken maddelerin gebelikteki kullanımına bağlı olarak, postnatal dönemde yavru sıçanların ilgili alanda nöron sayısına etkisinin incelenmesi bakımından ilk olacaktır. Bu amaç kapsamında bu maddelerin olası teratojenik etkileri de değerlendirilebilecektir. Verilerin değerlendirilmesinde ise tarafsız nitelikteki sayım metotları kullanılacaktır. Stereolojik kantitasyon metotları ortaya koyduğu sayım teknikleri ile parametrelerin değerlendirilmesinde tarafsız nitelikte yaklaşımlar sunmakta, daha güvenilir sonuçlara ulaştırmaktadır. Bu nedenle sunulan çalışmada bu metotlardan dokudaki deformasyonlardan etkilenmeyen disektör-Cavalieri kombinasyonunun kullanılması tercih edildi.

GENEL BİLGİLER

1. EPİLEPSİ

1.1. Epilepsi ve Nöbet

Epilepsi, santral sinir sisteminde, kortikal veya subkortikal bölgelerde yer alan nöron gruplarının ani, anormal ve hipersenkronize deşarjları sonucu ortaya çıkan ve genellikle tekrarlayıcı nitelikte olan bir klinik tablodur. Yetişkinlerin yaklaşık %1'ini ve çocukların %5'ini etkilemektedir (Adab ve ark., 2009). Epilepsi her iki cinste de aynı oranda olmak üzere, bebeklikten yaşlılığa kadar yaşamın her döneminde görülmektedir. Ancak çocukluk ve 65 yaşından sonra görülme sıklığı artmaktadır (Hauser ve ark. 1993; Cockerell ve ark., 1995).

Epilepsi ve nöbet, terim olarak birbirleriyle karıştırılmaktadır. Nöbet, 'tutulma' anlamında Yunanca'dan gelen bir kelimedir. Nöbet bir semptomdur ve kontrol edilemeyen tuhaf ve keskin hareketlerin görüldüğü, birkaç saniyeden en fazla birkaç dakikaya kadar süren bir olaydır. Birçok kişi belirli koşullar altında (hipoglisemi, hipoksi, intoksikasyonlar, elektrolit bozuklukları gibi) nöbet geçirebilir (Fisher, 2005). Senkop, psikolojik kökenli konversif nöbetler, bazı kardiyak sorunlar, alkol yoksunluğu, yüksek ateşe bağlı konvülsiyonlar bazen epileptik nöbet ile karıştırılabilmektedir. Epilepsi tekrarlayan, tetiklenmemiş nöbetlerle karakterize bir bozukluğu tanımlamaktadır. Sadece tekrarlamayan tek bir nöbet epilepsi olarak kabul edilmez. Yani epilepsi bir hastalıkken, nöbet ya provoke edilmiştir ya da kendiliğinden gelişen bir durumdur (Shneker ve Fountain, 2003; Fisher ve ark., 2005).

Epileptik nöbetler çoğunlukla psikolojik kökenli nöbetlerle karıştırılmaktadır. Bazen bu iki klinik durum iç içe geçebilir. Stres epileptik nöbetleri tetikleyebilir veya epileptik nöbetler kişide psikolojik sorunlara neden olabilir. Epilepsi merkezine başvuran ayaktan takip edilen hastaların yaklaşık %17-30'nun psikolojik kökenli nöbet geçirdikleri tespit edilmiştir (Kuyk ve ark., 1997; Turner ve ark., 2011).

1.2. Tarihçesi

Epilepsinin tarihi insanlık tarihi kadar eskiye dayanır. Beşbin yıl öncesinde Mezopotamya uygarlığındaki kil tabletleri üzerinde epilepsiye ait yazılı veriler bulunmaktadır. O dönemde tasvir edilenlerin, günümüzdeki jeneralize tonik-klonik, kompleks parsiyel, absens nöbetlere karşılık geldiği anlaşılmaktadır. Antik Yunan

çağında Areteus epilepsiyi, çeşitli şekilleri olan ve korkunç bir hastalık olarak tanımlamıştır. O dönemde epilepsi hastalarının kahin olduğu ya da ruhlarına şeytan girdiğine dair bazı farklı dini görüşler olmasına rağmen, ünlü Yunan hekimi Hipokrat bunun beyinden gelen bir hastalık olduğunu söylemiştir. Yıllarca epileptik nöbetler nedeniyle pek çok insan çeşitli kısıtlamalarla karşı karşıya kalmasına rağmen, tarihte pek çok epilepsi hastası olan ünlü isme de rastlanmaktadır. Büyük İskender, Julius Sezar, Fyodor Dostoyovsky, Alfred Nobel bunlar arasındadır. Özellikle Dostoyovsky İdiyot adlı eserinde de nöbeti çok iyi bir şekilde tasvir etmiştir (Devinsky, 2003; Leppik, 2006).

1.3. İnsidansı

Epilepsi, toplumda oldukça sık gözlenen nörolojik bir hastalıktır. Dünyada 60 milyondan fazla epilepsi hastası bulunmaktadır ve pek çok ülkede aktif epilepsi prevalansı 4-10/1000'dir. Kırsal kesimde şehre oranla prevalans daha yüksektir. Hayat standardının yüksek olduğu ülkelerde, epilepsi görülme insidansı 10-40/100.000'dir. Hayat standardının düşük olduğu ülkelerde ise 100/100.000'den fazladır. Yıllık insidans Asya'da Avrupa ülkelerine yakinken (29-60/100.000), Latin Amerika (79-190/100.000) ve Afrika'da (63-158/100.000) bu oran oldukça yüksektir. Prevalans, insidans ve etnik köken arasındaki ilişkiye bakıldığında Afrika kökenli Amerikalılarda, Kafkas kökenli Amerikalılardan daha fazla epilepsi prevalansı ve insidansı olduğu görülmektedir. Amerika ve İngiltere'de yaşayan Güney Asyalılarda epilepsi görülme insidansının ise çok daha düşük olduğu tespit edilmiştir (Bartolini ve ark., 2011).

1.4. Nedenleri

Epilepsi nedenleri her yaş döneminde farklılık gösterir. Yeni doğan ve bebeklik döneminde hipoksiye bağlı ensefalopati, merkezi sinir sistemi enfeksiyonları, travma, konjenital sinir sistemine ait malformasyonlar ve metabolik hastalıklardır. Çocukluk döneminde genellikle travma ya da sinir sistemi enfeksiyonlarına bağlı febril konvülsiyonlar nedeniyledir (Hesdorffer, 2008). Adölesan ve yetişkinlik döneminde genellikle merkezi sinir sistemindeki herhangi bir lezyona bağlı sekonder olarak ortaya çıkmaktadır. Ayrıca stres, travma, sinir sistemi enfeksiyonları, madde bağımlılığı ve alkole bağlı yoksunluk sendromu da nedenler arasındadır. İleri yaşlarda ise

serebrovasküler hastalık en yaygın nedenler arasındadır. Merkezi sinir sistemi tümörleri, kafa travması, demans gibi dejeneratif hastalıklar da epilepsiye yol açabilir (Hesdorffer, 2008).

1.5. Patofizyolojisi

Epileptik nöbetlerin patofizyolojisi tam anlamıyla bilinmemektedir. Bununla birlikte her epilepsi türü için aynı patofizyoloji geçerli değildir. Epilepside anormal deşarjların fizyolojisi genel olarak eksitatör nörotransmitterler olan glutamat ve aspartat ile inhibitör bir nörotransmitter olan GABA sistemi arasındaki dengesizliğe dayanır. GABA sisteminin baskılanması sonucu eksitatör nörotransmitter aktivitesi artar. Böylece anormal ve senkron deşarjlar ortaya çıkar (Farrell ve ark., 2008).

Epilepsi patofizyolojisi yeni geliştirilen görüntüleme yöntemleri sayesinde daha anlaşılır hale gelmektedir (Duncan, 2002). Özellikle epileptik odak hakkında bilgilerin artması epilepsinin oluşumu hakkında daha fazla bilgi edinilmesini sağlamıştır. Ancak bu konuda hala bilinmeyen pek çok nokta vardır. Örneğin epileptik odağın oluşumunda genetik faktörlerin var olup olmadığı, ya da nöbetin oluşumu için gerekli maddelerin üretimini sağlayan bazı yapısal değişiklikleri sağlayıp sağlamadığı gibi pek çok soru vardır. Bazı epileptik odakların kendiliğinden epileptojenik olduğunu ispatlayan veriler bulunmaktadır (Farrell ve ark., 2008). Epileptik odak incelendiğinde odağın hemen yanında *epileptojenik zon* adı verilen bölgenin (epileptik nöbetin başlamasını sağlayan bir tabakanın var) olduğu ve bu bölgenin çıkarılmasının nöbetin kontrolünü sağlayacağı kabul edilmektedir (Farrell ve ark., 2008). Patolojik ve moleküler teknikler ile yapılan çalışmalarla epileptojenik zon ve buradaki nöronların hem genetiği hem de nörokimyası hakkında daha fazla bilgi edinilmiştir. Özellikle ilk golgi tekniği ile yapılan çalışmalarla nöronlarda sinaptik morfolojik değişikliklerin meydana geldiğinin farkına varıldı (Farrell ve ark., 2008). Son zamanlarda genetik olarak nöronal fonksiyonlarda iyon kanallarının yapısal ve fonksiyonel değişiklik gösterdiği tespit edildi. Epileptik nöbet daha kronik hale geldikçe ve süresi uzadıkça epileptik zonda ard arda gelen değişiklikleri açıklamak için inhibisyondaki azalmayı söylemek yeterli olmamaktadır. İnhibitör internöronlardaki azalmanın şiddetini ve exitatör artışının (axonal filizlenmeden kaynaklanan yeni bir kolaylaştırılmış exitatör yolaktan kaynaklanabilir) yeni nöropatolojik görüntüleme tekniklerin ötesinde bir

teknolojiye ihtiyaç vardır (Farrell ve ark., 2008). Her bir nörondaki reseptör yoğunluğundaki değişimleri epileptik bir odaktan nasıl kaynakladığını göstermek çok zordur. Epileptojenik beyindeki internronlardaki exitasyonda ki artış ve inhibisyondaki azalmayı gösterilmiş olsa da bu durum her bir durum içinde ve durumlar arasında varyasyonludur (Farrell ve ark., 2008).

Diğer bir konu son zamanlarda yapılan çalışmalar epileptojenik zondaki astrosit artışıdır. Astrositler aktif iyon kanalları ve nöronlarla benzer nörotransmitter reseptörleri mevcuttur. Astrositler nöronal extraselüler çevrenin düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır (Farrell ve ark., 2008). alışmalar astrositlerin nöronal hiperexitabiliteye katılabileceklerini ortaya koymuştur. Epileptik odakların içersinde ve etrafındaki astrosit sayısında artış olduğu tesbit edilmiştir. Astrositler (potasyumun tamponlanması) voltaj kapılı potasyum kanalına sahiptir. Extraseller kalsiyum ve potasyum seviyesindeki dalgalanma regüler ateşleyici nöronların pace maker görevi gören patlayıcı ateşleyici nöronlara dönüştürülmesi için iyon temelli olabilir. Epilepsi duyarlılığın gelişmesi potasyum kanallarının alt nitlerindeki genetik değişimine ait yeni bulgular mevcuttur. Potasyum kanallarındaki değişim çevresel faktlerden olabilir. Extraseller potasyum klirensindeki bozulma nöronal hipereksitabiliteye neden olabilir (Farrell ve ark., 2008).

1.6. Tanı

Epilepside tanı, öncelikle hasta ve yakınlarının gözlemlerine göre klinik olarak konur. Epilepside ayırıcı tanıyı sağlamak ve epilepsi nöbetinin tipini belirlemek için ayrıntılı anamnez alınması bazen pahalı tanı yöntemlerini kullanmadan önce doğru tanı konulmasına yardımcı olmaktadır. Doğru tanı koymak hastaların pek çok sıkıntıya maruz kalmalarını önlemektedir. Hatalı bir tanı, hastaları toplumda epilepsi hastası olarak damgalanma, doğru tedavinin gecikmesi, gereksiz ve uzun süre anti epileptik kullanımı, ilaçların maddi yükü ve yan etki olasılıkları gibi pek çok sıkıntı ile karşı karşıya bırakabilmektedir. Epilepside değişken ve çok çeşitli nöbet tiplerinin görüldüğü dikkate alındığında ayırıcı tanının ne kadar önemli olduğu ortaya çıkmaktadır. Epileptik nöbetler en çok psikolojik kökenli konversif nöbetlerle ve senkopla karıştırılmaktadır (Kuyk ve ark., 1997; Bodde ve ark., 2009).

Epilepsi tanısını doğru koyabilmek için hasta ve yakınlarından alınan ayrıntılı anamnezin yanısıra çeşitli laboratuvar yöntemlerinden yararlanılmaktadır. Bu laboratuvar yöntemlerinden en yaygın olarak kullanılan yöntem elektroensefalografidir (Shneker ve Fountain, 2003).

1.6.1. Elektroensefalografi (EEG)

Elektroensefalografi (EEG), Yunanca'dan köken alan, terimsel anlam olarak beynin elektriksel resmi anlamına gelmektedir. İlk kez 1791'de Luigi Galvani tarafından keşfedilen bu yöntem 20. yüzyıldaki çalışmalara büyük bir ışık tutmuştur (Daras ve ark., 2008). 1933'te Berger konvülsiyon sırasında oluşan EEG değişimleri konusundaki gözlemlerini yayınlamıştır. Ancak bu gözlemlerin epilepside bir tanı yöntemi olarak kullanılmasında başarısız olmuştur. 1935'de Gibbs ve arkadaşları spesifik iktal ve interiktal EEG değişimlerini ortaya koymuşlardır. Bu prensip olarak beyindeki geniş bir nöron grubunun elektriksel aktivitesindeki dalgalanmanın kayıtlanması ilkesine dayanmaktadır (Nickels ve ark., 2008). EEG yıllar önce keşfedilmesine rağmen hala nöbetle karakterize hastalıkların tanısında en yaygın kullanılan tanı yöntemidir. EEG'de anormal elektrik aktivitenin görülmesi, klinik olarak düşünülen epilepsi tanısını destekler. EEG epilepsi tanısının konulması, epilepsi türünün tespiti, lokalizasyonu ve tedavinin planlanması için oldukça kullanışlı bir yöntemdir (Nickels ve ark., 2008)

EEG kafa derisine yerleştirilen metal elektrotlar yardımıyla beynin elektriksel aktivitesinin kaydedilmesiyle elde edilir. EEG dalgaları frekanslarına göre 4 ana grupta incelenmektedir (Şekil 1). Bunlar alfa dalgaları, beta dalgaları, teta dalgaları ve delta dalgalarıdır.

Alfa dalgaları: Frekansı saniyede 8-13 Hz arasında olan ritmik dalgalardır. İstirahat halinde ve gözler kapalıyken gözlenen dalgalardır. En güçlü olarak oksipital bölgeden ölçülür. Genliği 50 μ V civarındadır. Derin uyku halinde bu dalgalar ortadan kalkmaktadır (Guyton, 2007).

Beta dalgalar: Frekansı saniyede 14-80 Hz arasında olan dalgalardır. Paryetal ve frontal bölgelerden alınır. Daha çok merkezi sinir sisteminin aktif olduğu durumda kaydedilir (Guyton, 2007).

tonik-klonik (grand mal), atonik nöbetler şeklinde alt gruplara ayrılır (Engel ve ark., 2008).

Epileptik nöbetlerin sınıflandırılması pek çok kez değişik parametreler göz önünde bulundurularak yapılmıştır. Ancak şu an uluslararası geçerliliği olan sınıflandırma 1989 yılında Uluslararası Epilepsi ile Savaş Derneği (ILAE) tarafından yapılan sınıflamadır (ILEA, 1989);

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

1.1. İdyopatik (yaşa bağlı başlangıç)

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

1.2.Semptomatik

- Temporal lob epilepsisi
- Frontal lob epilepsisi
- Parietal lob epilepsisi
- Oksipital lob epilepsisi
- Çocukluk çağının kronik progresif epilepsia parsiyalis kontinuası
- Spesifik faktörlerle uyarılan nöbetlerle karakterize sendromlar

1.3. Kriptojenik

2. Jeneralize epilepsiler ve sendromlar

2.1. İdyopatik (yaşa bağlı başlangıç-yaş sırasına göre sıralanmıştır)

- Selim ailesel yenidoğan konvülsüyonları
- Selim yenidoğan konvülsüyonları
- Süt çocukluğunun selim miyoklonik epilepsisi
- Çocukluk çağı absans epilepsisi (piknolepsi)
- Jüvenil absans epilepsisi
- Jüvenil miyoklonik epilepsi (impulsif petit mal)

- Uyanırken gelen grand mal nöbetli epilepsi
- Diğer jeneralize idyopatik epilepsiler
- Belirli aktivasyon yöntemleriyle uyarılan epilepsiler

2.2. Kriptojenik veya semptomatik (yas sırasına göre)

- West sendromu (infantil spazmlar, Blitz-Nick-Salaam Kraempfe)
- Lennox-Gastaut sendromu
- Miyoklonik astatik nöbetli epilepsi
- Miyoklonik absanslı epilepsi

2.3. Semptomatik

2.3.1. Nonspesifik etyoloji

- Erken miyoklonik ensefalopati
- (Supression-burst' lu) erken infantil epileptik ensefalopati
- Diğer semptomatik jeneralize epilepsiler

2.3.2. Spesifik sendromlar

3. Fokal veya jeneralize oldukları belirlenemeyen epilepsiler

3.1. Jeneralize ve fokal konvülsiyonlu epilepsiler

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

3.2. Net jeneralize veya fokal konvülsiyon özelliği olmayanlar

4. Özel sendromlar

4.1. Duruma bağlı nöbetler (Gelegenheitsanfaelle)

- Febril konvülsiyonlar
- İzole nöbet veya izole status epileptikus
- Akut metabolik veya toksik nedenlere bağlı nöbetler

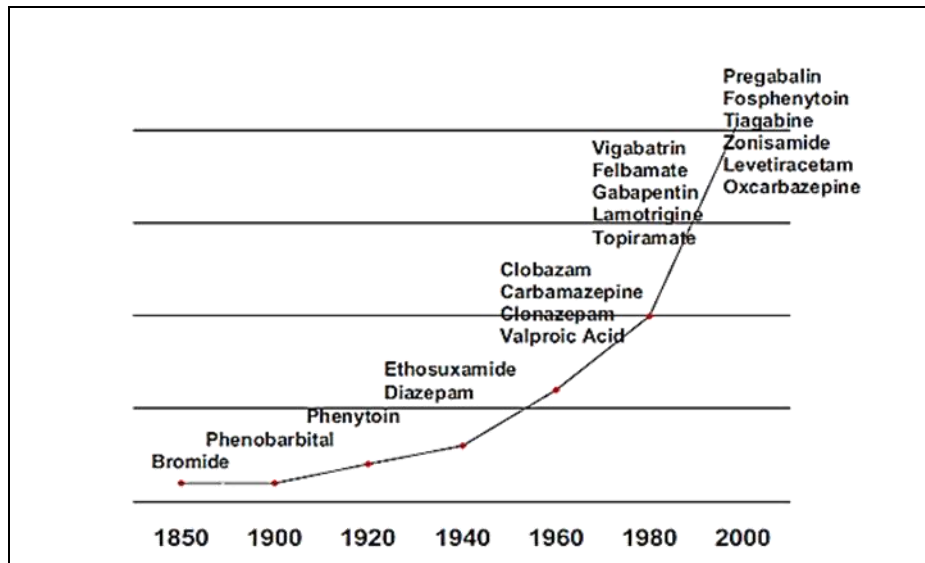
1.8. Tedavi

Epilepsi tedavisinde en yaygın kullanılan tedavi yöntemi ilaç tedavisidir. İlaç tedavisinden başka cerrahi, derin beyin stimülasyonu (DBS), nervus vagus uyarımı ve diğer alternatif tedavi yöntemlerinden de (ketojenik diyet, yoga, akupunktur vs.) yararlanılmaktadır (Feddersen ve ark., 2007; Neal ve ark., 2008). Son yıllarda yapılan pek çok çalışma ile epilepsinin tedavisi konusunda oldukça yol alınmıştır. Ancak bu tedavi yöntemleri ile epilepsiyi kökten tedavi etmek henüz mümkün değildir. Şuan kullanılan yöntemler sadece semptomatiktir (Cascino, 2005).

Epilepsiyi ilaçla tedaviye başlamadan önce altta yatan sebep, nöbet şekli, sıklığı, EEG bulguları iyi incelenerek doğru tanı konulmalıdır. AEİ'ler, merkezi sinir sistemini geçici olarak deprese eden ilaçlardır. Bu ilaçlar esas olarak merkezi sinir sistemine zarar vermeden ve solunumu deprese etmeden epileptik nöbetlerin baskılanması için kullanılırlar. AEİ'lerin seçimi epileptik nöbetlerin türüne, sıklığına, hastanın yaşına, iyi tolere edilebilme ve yan etkilerinin en az olması gibi faktörler göz önünde bulundurularak seçilmektedir (Tsur ve ark., 2008). Bu faktörler arasındaki en iyi dengeyi bulmak epilepsi tedavisinin temelini oluşturmaktadır. Bu ilaçlar genellikle uzun süreli kullanıldığı için yan etkiler göz önünde bulundurulmalıdır. En sık karşılaşılan yan etkiler arasında kemik iliği depresyonu, karaciğer tahribatı, gastrointestinal rahatsızlıklar, seksüel disfonksiyon, uyusukluk, kellik ve nefropati'dir (Petty ve ark., 2005; Ahmed ve Siddiqi, 2006). Ayrıca AEİ'leri kullanan hastalar intihar açısından da risk içermektedirler. 2008 yılında Uluslararası İlaç Birliği (FDA) bu konuya dikkati çekmiştir. Araştırmalar AEİ kullananlarda intihar riskinin sağlıklı bireylere göre 2 kat daha fazla olduğunu göstermiştir. Ayrıca bu riskin ilacın kullanılmaya başlandığı ilk haftadan 24. haftaya kadar sürdüğü tespit edilmiştir (Kalinin ve ark., 2005; Hesdorffer, 2009). AEİ kullanan hastaların %70-80'inde nöbet kontrol altına alınmaktadır. Ancak son zamanlardaki gelişmelere ve yeni anti epileptiklerin keşfine rağmen, hastaların %30'u hala ayda bir kez nöbet geçirmektedir. (Lozsadi ve ark., 2010). Bu hastalarda nöbet kontrolünü sağlamak için politerapi uygulanmaktadır. İkinci ya da üçüncü ilave AEİ eklenmesi ile bu hastaların ~ %14'ünde nöbet kontrol altına alınmaktadır (Luszczki ve ark., 2005). AEİ'lerde olması istenen özellikler;

- Etkinliğinin yüksek olması,
- Yan etkisinin az olması,
- Biyoyararlanımının iyi olması,
- Teratojenitesinin olmaması,
- Ekonomik olması,
- İlaçlarla etkileşiminin az olması,
- Nefrotoksik ve hepatotoksik olmaması,
- Çocuklar için kullanılabilir formlarının olması (şurup vs.),
- Kullanım kolaylığıdır.

AEİ'lerin tarihçesine bakıldığında Victorian döneminde epilepsi tedavisinde teropatik yaklaşım batıl inançlara dayalıydı. İlk elle tutulur kemoterapi nonspesifik antidepressanların kullanılması ile olmuştur (Rho ve Sankar, 1999). Sir Charles Locock'un 19. yüzyılın ortalarında kataminal epilepside bromürleri kullanması ve 1912'de de Hauptmann'ın fenobarbitalleri taşkın psikiyatri hastaları sedatize etmek ve epilepsili hastaları gece uyutmak amacıyla kullanımından sonra AEİ'lar epilepside kullanılmaya başlanmıştır. Ardından yapılan hayvan deneyleri çeşitli AEİ'lerin keşfine yol açmıştır (Rho ve Sankar,1999). 1937 yılında fenitoin epilepsi tedavisinde yerini almıştır. 1938'den sonra karbamazepin, valproik asit gibi AEİ'ler ortaya çıkmıştır. 1993'den itibaren 12 adet yeni AEİ geliştirilmiş ve kullanıma sunulmuştur (Şekil 2).



Şekil 2. AEİ'lerin tarihsel gelişimi (Donner ve Snead, 2002)

1.9. Antiepileptik İlaçların Etki Mekanizmaları

AEİ'lerin nöbet kontrolünü nasıl sağladığı konusunda çeşitli görüşler mevcuttur. AEİ'ların genellikle sinapslardaki iletimi engellemek suretiyle yüksek frekanslı düzensiz deşarjların primer odaktan yayılmasını bloke ettiği düşünülmektedir. AEİ'lerin nöronların uyarılma eşiğini yükselterek, refrakter periyodu uzatarak, presinaptik ve postsinaptik inhibisyonu potansiyalize ederek yaptıkları düşünülmektedir (Stefan ve Feuerstein, 2007). Çeşitli araştırmacılar antiepileptiklerin beyindeki GABA etkinliğini farklı şekilde artırarak bu etkilere yol açtığını kabul etmektedirler. Ayrıca son yıllarda antiepileptik etkiyi açıklamak amacıyla bazı mekanizmalar ortaya atılmıştır. Bunlar çeşitli biyolojik modelleri (nöronal, genetik modeller), eksitator aminoasitleri (fosforik asit türevleri, amino asit antagonistleri, beyin aspartat seviyesi), inhibitör aminoasitleri (GABA, glisin, taurin), reseptör modellerini (benzodizaepin reseptör modeli, opiyat ve nonopiyat peptid modelleri) ve iyon kanallarıyla ilgili modelleri içermektedir. AEİ'lerin etki mekanizmaları Tablo 1'de özetlenmiştir (Stefan ve Feuerstein, 2007).

1.10. Antiepileptik İlaçlar

Doksanlı yıllara kadar kullanılan ilaçlar geleneksel AEİ'ler olarak isimlendirilmektedir. Bunlar PHT, PB, BDZ, CBZ ve VPA'dır. Doksanlı yıllardan sonra kullanıma sürülen ikinci nesil ilaçlar ise GBP, OXC, LMT, LVT, TP, ZNS'tir (Tablo 2; Stefan ve Feuerstein, 2007).

1.10.1. Karbamazepin

Dünyada en yaygın kullanılan AEİ'dir. Kimyasal formülü 5H-Dibenz[b,f]azepin-5-karboksamid'dir. İminodibenzil türevidir ve yapısal olarak trisiklik anti depresanlarla benzerliği mevcuttur. Yetişkin ve çocuklarda, parsiyel ve sekonder jeneraralize nöbetlerde kullanılır (Guerreiro ve ark., 2008). Karbamazepin (CBZ), membranlardaki kapılı iyon kanallarının blokajına neden olur. Nörotransmitterlerin sinaptik etkilerini ve aşırı uyarılmış nöron membranının stabilizasyonuna neden olur.

Tablo 1. AEİ'lerin etki mekanizmaları (Stefan ve Feuerstein, 2007'den uyarlanmıştır)

AEİ'lerin etki mekanizması			
İlaçlar	Sodyum Kanal Blokajı	GABA aracılı iletinin artımı	T-tipi kalsiyum kanal blokajı
Benzodiazepinler	-	+	-
Etosüksimid	-	-	+
Felbamat	+	+	(?)
Fenitoin	+	-	-
Fenobarbital	-	+	-
Gabapentin	(+)?	+	-
Karbamazepin	+	-	-
Lamotrijin	+	-	+(?)
Levetiresetam	-	+(?)	-
Oxcarbazepin	+	-	-
Tiagabin	-	+	-
Topiramamat	+	+	-(?)
Valproik asit	+	+	+
Vigabatrin	-	+	-
Zonisamid	+	(?)	+

Tablo 2. Antiepileptik ilaçların sınıflandırılması, (Stefan ve Feuerstein, 2007'den uyarlanmıştır)

Eski Antiepileptikler	Yeni Antiepileptikler
Karbamazepin	Oxcarbazepin
Valproat	Gabapentin
Fenitoin	Lamotrijin
Fenobarbital	Levetirasetam
Klonazepam	Felbamat
Metsüksimit	Pregabalin
Primidon	Tiagabin
Klorazapat	Topiramamat
Etosüksimid	Zonisamid

Bu da sinaptik impulsların yayılımının da azalmaya yol açar (Guerreiro ve ark., 2008). CBZ L-tipi kalsiyum kanallarını bloke eder. CBZ gastrointestinal sistemden yavaş bir şekilde emilir. Biyoyararlanımı %80'dir. CBZ lipofilik özelliktedir. Kan-beyin bariyerini geçer ve fetal dokulara, amniyotik sıvıya ve anne sütüne geçer. CBZ karaciğerde biyotransformasyona uğrar. AEİ'ler ve diğer ilaçlarla olan etkileşimine bakıldığında CBZ kontraseptiflerin ve AEİ'lerden PHT, PB ve PRM'un etkinliğini azaltır. Yapılan çalışmalarda diğer AEİ'ler ile karşılaştırma yapıldığında etkinlik açısından en az yeni AEİ'ler kadar etkin olduğu ancak yan etkileri açısından dezavantajları olduğu tespit edilmiştir (Guerreiro ve ark., 2008).

CBZ kullanan hastaların hemen hemen yarısında yan etki oluşmakta ve %5 kadarı ilacı bırakmak zorunda kalmaktadır. Yan etkileri koordinasyon bozukluğu, mide bulantısı, vertigo, tremor, baş ağrısı, sedasyon, anksiyete, psikotik nöbet ve cilt döküntüleridir. Antiepileptik hipersensivite sendromu ise görülebilecek en önemli yan etkiler arasındadır. Lökopeni, nötropeni, trombositopeni ve aplastik anemi de önemli hematolojik yan etkilerdir. Hiponatremi yine görülebilecek yan etkiler arasındadır. Doza ve yaşa bağlı olarak yan etki görülme riski artmaktadır. Tiroit fonksiyon testlerini bozmakla beraber teratojenik etkisi de mevcuttur. Özellikle ilk trimesterde kullanıldığında nöral tüp defekti, majör konjenital malformasyonlar görülmektedir. Geleneksel AEİ'ler ile karşılaştırıldığında bu oranın oldukça az olduğu görülmüştür. Politerapi uygulandığında teratojenite artmaktadır. Gebelikte kullanıldığında teratojeniteyi önlemek için folik asit alınması önerilmektedir. Emziren kadınlarda güvenle kullanılabilceği açıklanmıştır (Guerreiro ve ark., 2008).

CBZ'in klinik kullanım başlangıç dozu 12 yaşından büyük çocuklarda ve yetişkinlerde 100-200 mg/gün'dür. Yetişkinlerde ortalama doz 600 - 800 mg'dir. Kontrol doz aralığı yetişkinlerde 600 mg - 1600 mg arasındadır, çocuklarda ise 10 mg/kg/günden 40 mg/kg/güne kadardır. CBZ çocuklarda daha hızlı metabolize olur ve bu nedenle daha yüksek doza ihtiyaç duyulur. Yaşlılarda ise metabolizma daha yavaş olduğundan yan etkiler açısından daha az dozda kullanılması gerekmektedir. CBZ, OXC ve trisiklik antidepresan alerjisi olan hastalarda kullanılmamalıdır. Piyasada Tegretol 200 mg, 400 mg'lık tabletler şeklinde bulunmaktadır (Bourgeois, 1995; Brodie ve ark., 1996; Schlienger ve Shear, 1998; Yerby, 2003; Guerreiro ve ark., 2008; Meador, 2008; Jentink ve ark., 2010; Nulman, 2010).

1.10.2. Valporat

Valporat (VPA) çok eski yıllardan itibaren kullanılan geleneksel AEİ'lerden bir tanesidir. VPA primer jeneralize nöbetlerde (absans, myoklonik, tonik-klonik), parsiyel nöbetlerde, neonatal nöbetlerde, ateşe bağlı nöbetlerde çocuklarda ve yetişkinlerde geniş kullanım spektruma sahiptir (Davis ve ark., 1994). VPA ayrıca bipolar affektif bozukluk, migren, nöropatik ağrıda da kullanılmaktadır. VPA'in etki mekanizması GABAerjik fonksiyonun potansiyalizasyonu, voltaj bağımlı sodyum kanallarının inhibisyonu, NMDA reseptörünün antagonizmidir. Biyoyararlanımı oldukça yüksektir. VPA'nın yarı ömrü yeni doğanlarda 20 saatten fazla iken çocuklarda monoterapide yaklaşık 11, politerapide 7 saattir. Yetişkinlerde ise 13-16 saattir. Bu durum politerapide 9 saattir. Serum proteinlerine afinitesi oldukça yüksektir (Birnbau ve ark., 2008).

VPA başlama dozu 15 mg/kg'dır. Hastanın durumuna göre haftalık 5-10 mg şeklinde artırılabilir. Primer jeneralize epilepside 10 - 20 mg/kg/gün etkilidir. Yaşlılarda dozaj daha az, çocuklarda ise daha yüksek doz kullanılmaktadır (Birnbau ve ark., 2008).

Yan etkileri açısından bakıldığında doza bağlı olarak tremor görülebilmektedir. Demans, geçici hafıza bozukluğu, letarji, konfüzyon görülebilir. Ayrıca mide bulantısı, kusma, anoreksiya da görülebilmektedir. Ayrıca kilo alımı, hepatoksisite, en ciddi yan etkisi hemorajik pankreatitistir (Asconape ve ark., 1993). Trombositopeni ve kanama bozukluğu cilt kızarıklığı ve saç kaybıda görülebilmektedir (Kis ve ark., 1999). Ayrıca teratojenik ve üreme sistemi üzerine etkisine bakıldığında hiperandrojenizime, hiperinsülinizme, polikistik overe, menstrual düzensizliğe, gebelik döneminde VPA kullanımının nöral tüp defektine, iskelet gelişiminde laterdasyona neden olduğu, ayrıca doğumdan sonra (3 yaşındaki çocuklarla yapılan çalışmalarda) düşük IQ seviyesine, mental ve kognitif becerilerde azalmaya yol açtığı gözlenmiştir (Isojarvi ve ark., 1996; Okada ve ark., 2004; Lakhanpal ve Kaur, 2007; Birnbau ve ark., 2008; Okada ve ark., 2009).

1.10.3. Fenitoin

Fenitoin (PHT) molekül formülü 5,5-Difenil-2,4-imidazolidindiondur ve 1937'den itibaren yaygın olarak kullanılan bir AEİ'dir. PHT tonik-klonik ve parsiyel

nöbetlerde, status epileptikusta etkili bir şekilde kullanılmaktadır. Absans nöbetlerde kullanılmamaktadır (Morita ve Glauser, 2008).

PHT'nin midede emilimi çok azdır ve emilimin çoğu duodenumda gerçekleşir. Biyoyararlanım yetişkinlerde ve çocuklarda oldukça iyidir, ancak 3 aya kadar bebeklerde oldukça yavaştır. Metabolitlerinin çoğu idrarla ve feçesle atılırken, çok az bir kısmı değişmeden idrarla atılır. PHT anne sütüne geçmektedir (Morita ve Glauser, 2008).

Klinik olarak yüksek ilaç konsantrasyonu isteniyorsa PHT 15-20 mg/kg dozda kullanılmaktadır. Akut nöbet durumlarında yetişkinlerde 18 mg/kg dozda kullanılmaktadır. Çocuklarda status epileptikusta aynı ya da yüksek doz kullanılabilir. PHT status epileptikusta damar içi (i.v.) kullanılabilir. Acil olmayan durumlarda, öngörülen doz 3 ya da 4'e bölünerek oral yol tercih edilmelidir. Damar içi kullanımlarda dikkat edilmesi gereken bazı hususlar vardır. PHT dextroz ile değil izotonik çözeltilerle sulandırılmalıdır. İnfüzyon 50 mg/dak'yı geçmemelidir ve geniş bir katater yardımıyla büyük venden infüzyon yapılmalıdır. İlaç emiliminin az ve çok ağrılı olması nedeniyle kas içi (i.m.) enjeksiyon tercih edilmemelidir (Morita ve Glauser, 2008).

PHT'nin yan etkileri arasında ataksi, koordinasyon bozukluğu; yemekle birlikte alındığında kusma, mide bulantısı, döküntü; uzun dönem kullanımlarda ise gingival hiperplazi, hirsütizm, akne, kemik mineral dansitesinde azalma, folat seviyesinde düşme, prolaktin seviyesinde artma ve tiroid fonksiyonlarında bozulma görülmektedir (Morita ve Glauser, 2008).

Teratojenik etkileri arasında fetal anti-epileptik sendrom yer alır. Mikrosefali, mental retardasyon kendini göstermektedir. Ayrıca yarı damak, düşük kognitif beceri ve doğumsal defektler özellikle ilk trimester uygulamalarında görülmektedir (Morita ve Glauser, 2008). Piyasada 30 mg, 100 mg'lık Dilantin tablet, Dilantin 125/5 mL süspansiyon, Fenitoin 50 mg/mL'lik enjektabl formları kullanılmaktadır (Kaneko ve ark., 1999; Morita ve Glauser, 2008)

1.10.4. Fenobarbital

1912'den beri kullanılan en eski AEİ'lerden bir tanesidir. Kimyasal formülü 5-Etil-5-fenilbarbitürik asittir. Fenobarbital (PB) anti-epileptik etkisini GABA

inhibisyonunu artırarak göstermektedir. PB, Cl iyon kanallarının açık kalma süresini uzatarak postsinaptik GABA_A reseptörüne aracılık eden Cl akımını artırır. Presinaptik olarak PB Ca⁺⁺'a bağımlı aksiyon potansiyelinin azalmasını sağlar. PB oral alındığında biyoyararlanımı % 90 iken parenteral % 89'dır ve kendisi doğrudan elimine olabilir; renal metabolitleri ise renal ve hepatik yolla olmaktadır. Yarı ömrü yaşa bağılı olarak değişmektedir. Yenidoğanlarda 100 saatten fazla iken, 1 yaşa kadar 63 saat, 5 yaşa kadar 69 saattir. Yetişkinlerde ise 80-100 saattir. Diğer AEİ'ler ile kullanıldığında CBZ ve VPA seviyesini azaltmaktadır. Oral kontraseptifler ve antikoagülanlarla ilaç etkileşimleri olmaktadır (Bourgeois, 2008).

PB absans nöbetler dışındaki jeneralize ve parsiyel nöbetlerde etkilidir. Çoğunlukla ilk tercih olarak seçilmezler. Ancak yenidoğanlarda sistemik toksik etkisinin az olması özelliğinden dolayı tercih edilebilmektedir (Bourgeois, 2008).

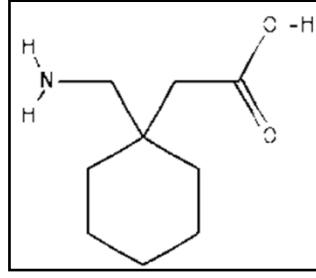
Yetişkinlerde günlük idame doz 1,5 – 4 mg/kg'dir. Çocuklarda yaklaşık 2-8 mg/kg'dir. Yarılanma ömrü uzun olduğundan günlük miktarı birkaç doza bölerek vermek çok gerekmemektedir (Bourgeois, 2008).

PB'in sistemik toksik etkisi az ancak yan etkileri oldukça fazladır. Yan etkiler doza bağılı olarak görülmektedir. Tedavinin yeni başladığı süreçte yetişkinlerde sedasyon ve uykuya meyil görülebilmektedir. Çocuklarda ise hiperaktivite ve ajitasyon, uykusuzluk, davranış bozukluğu, düşük IQ seviyesi, konsantrasyon bozukluğu görülmektedir. Yetişkinlerde doz arttıkça ataksi, uyku hali, koordinasyon bozukluğu görülmektedir. Kemik mineral metabolizmasını bozmakta ve bağ dokusu hastalıklarına neden olmaktadır (Bourgeois, 2008).

PB'in teratojenik etkisi vardır. Ancak diğer AEİ'lardan daha fazla olduğunu gösteren belirgin bir bilgi yoktur. Özellikle politerapide teratojenite riski artmaktadır ve uterin hayatta fenobarbitale maruz kalan yeni doğanlarda K vitamini bozukluğu ve çocukluk döneminde kognitif bozukluklar görülmektedir (Bourgeois, 2008; Meador, 2008; Pennell, 2008).

1.10.5. Gabapentin

1993 yılından sonra FDA tarafından onaylanan yeni AEİ'lardan bir tanesidir. GABA analogudur. Kimyasal formülü 1-(Aminometil)ikloheksilasetik asittir (Şekil 3). Amorf, kristalize, suda çözülebilir bir maddedir ve molekül ağırlığı 171,24'tür.



Şekil 3. Gabapentin (Prakash, 2008)

Gabapentinin (GBP) pek çok etkisi aydınlatılmasına rağmen antiepileptik etkisi hakkında bilinmeyen yönleri çoktur. Yapılan çalışmalarda voltaj kapılı kalsiyum kanallarının $\alpha_2\delta$ modülatör alt ünitelerine bağlandığı ve GABA'nın sentezinde artışa (GABA sentezleyen glutamik asit dekarboksilaz (GAD) enzim aktivitesinde artış ile), glutamat sentezinde ve aktif taşınmasında azalmaya (glutamatın azalması eksitotoksik etkinin azalmasına ve nöroprotektif etkiye neden olmakta), aksiyon potansiyelinde ateşlenme oranında azalma (nöbetin yayılımı engellemekte ve nöropatik ağrılarda etkili olmakta), plazma serotonin seviyesinde artışa (baş ağrısına neden olmakta ve psikolojik hastalıklarda kullanım avantajı) neden olduğu düşünülmektedir (Taylor ve ark., 1998; McLean, 1999).

GBP önce spazmolitik olarak kullanılmak üzere ortaya çıkmış 1993 yılından sonra FDA tarafından 12 yaşından büyüklerde parsiyel nöbetlerde destekleyici tedavi için önerilmiştir. Ayrıca daha sonra yapılan çalışmalar GBP'in nöropatik ağrılarda etkili olduğu tespit edilmiştir (Backonja ve ark., 1998; Rowbotham ve ark., 1998; Rice ve Manton, 2001; Fox, 2003; Montouris, 2003).

GBP ince barsaklardan emilir. Oral olarak alındığında biyoyararlanımı sınırlı ve doza bağlıdır. Plazma proteinlerine bağlanmamakta ve kan beyin bariyerini L-amino transport sistemi ile geçmektedir. GBP değişime uğramadan idrar yoluyla atılmaktadır. Yarı ömrü 7-9 saattir (McLean ve Gidal, 2008).

GBP hepatik mikrozomal enzimleri indükte ya da inhibe etmediğinden ne AEİ'lar ile ne de diğer ilaçlarla (antiasit, oral kontraseptif, lityum) etkileşimi hemen hemen yoktur (McLean ve Gidal, 2008).

GBP yeni başlangıç aşamasındaki parsiyel nöbetlerde 900-2700 mg/gün, refraktör parsiyel epilepside de 900-3600 mg/gün dozlarında etkilidir. Daha önce 2-3 ilaç denenmiş refraktör nöbetlerde 2400-3600 mg/gün dozunda etkili olmaktadır.

Çocuklarda ise refraktör parsiyel nöbetlerde ve sekonder jeneralize nöbetlerde etkilidir (McLean ve Gidal, 2008).

Dünyada 3 milyondan fazla kişi herhangi bir toksisite yaşamadan GBP'i güvenle kullanmaktadır. İntoksikasyon olduğunda öldürücü değildir ve nörolojik sekel bırakmamakta, %10 kadar yan etki görülebilmektedir. Mide bulantısı ve uykuya meyil en çok görülen yan etkilerdir. Çok nadir kilo alımı, irritabilite ve bacaklarda ödeme sebep olmaktadır. Ayrıca bir çalışmada yüksek dozda kullanımda erkek sıçanlarla noninvaziv pankreatik asiner karsinomaya neden olduğu tesbit edilmiştir. Kemiricilerde fötotoksik olduğu bulunmuştur. *In vivo* ve *in vitro* çalışmalar mutajenik olmadığını göstermiştir. GBP gebelikte kullanımı kategorisi C'dir (McLean, 1999)

GBP yeni nesil AEİ'lar ile mukayese edildiğinde (lamotrijin ve vigabatrin) oldukça ekonomik olması ve yan etkilerinin az olması nedeniyle tercih sebebidir. Piyasada Neptin®, Neurontin®, Gaptin® ticari isim altında kullanılmaktadır. 100, 300 ve 400 mg dozlarda kapsül ve 600 ve 800 mg dozlarda tablet şeklinde bulunmaktadır (McLean,1999; McLean ve Gidal, 2008; Prakash, 2008).

1.10.6. Oxcarbazepin

Oxcarbazepin (OXC) karbamazepinin keto analogudur. Kimyasal formülü 10,11-Dihidro-10-okso-5H-dibenz[b,f]azepin-5-karboksamittir. Nöbet kontrolünde CBZ ile aynı etkinliğe sahiptir, ancak yan etkilerinin az olması, soydum dışında başka laboratuvar takibe gerek olmaması, proteine düşük bağlanma, ilaçlarla etkileşiminin az olması gibi özellikleri karbamazepine alternatif olarak kullanılmasına neden olmuştur. OXC karbamazepin gibi trisiklik antidepresanlarla benzer özelliğe sahiptir. OXC'in CBZ'ye göre bir üstün tarafı da OXC'in epoksit türevlerine (epoksit karbamazepinin toksik özelliklerinden sorumludur) metabolize olmamasıdır (Stefan ve Feuerstein, 2007). Ancak antidepresan özelliğinden çok antiepileptik özelliği açısından daha yaygın kullanıma sahiptir. Tonik-klonik ve parsiyel nöbetlerde kullanılır. OXC voltaj bağlı sodyum kanallarının blokajıyla hipereksite nöron membranının stabilizasyonunu sağlar. Tekrarlayan nöronal ateşlemenin ve deşarj yayılımının inhibisyonuna neden olur. Ayrıca potasyum iletkenliğinde artırır, glutamaterjik transmisyonunda azaltır ve kalsiyum kanallarının foksiyonlarını düzenler (Stefan ve Feuerstein, 2007).

OXC oral alımlarda hızlı bir şekilde ve tamamen emilir. Besinlerle alındığında etkisi azalmaz. Farmakolojik olarak esas metaboliti olan monohidroksil türevi üzerinden etki gösterir. Oxcarbazepinin yarı ömrü 1-3 saattir, metabolitinin yarı ömrü ise 8-10 saattir. Lipofilik özellik gösterir, kolaylıkla kan-beyin bariyerine ve plasantaya geçer (Guerreiro ve Guerreiro 2008). Hepatik sitokrom P450 sistemi üzerine etkisizdir. Bu özellik OXC'nin politerapide kullanımını kolaylaştırır. Politerapide PHT'nin plazma seviyesini artırırken, oral kontraseptif etkinliğini azaltmaktadır. Diğer AEİ'ler ile yapılan karşılaştırılmalarda, VPA ve parsiyel ve jeneralize tonik klonik nöbetlerde PHT kadar etkili olduğu, CBZ ile kontrol altına alınamayan parsiyel nöbetlerde 2400 mg/gün oxcarbazepinin etkili olduğu gözlenmiştir (Guerreiro ve Guerreiro 2008).

OXC kullanımında en çok görülen yan etkiler uyku hali, baş ağrısı, mide bulantısı, baş dönmesi, çift görme, ataksi, tremor, deri döküntüsü, karın ağrısı ve hiponatremidir. Oxcarbazepin kullanımında nadirde olsa doza bağlı olarak hiponatremi görülmektedir. Hiponatremi görülmesinin nedeni antidiüretik hormon salgılamındaki bozuluktan kaynaklanmamaktadır. OXC'in böbrek toplayıcı tübüllerine doğrudan etkisi veya tübüllerin antidiüretik hormona duyarsızlaşmasındaki artış olabileceği düşünülmektedir (Guerreiro ve Guerreiro 2008).

OXC klinikte yetişkinlere 300 - 600 mg/gün dozunda başlanmaktadır. Hastanın durumuna göre yavaş ve kademeli olarak artırılmaktadır. Bu şekilde olası yan etkiler azaltılabilir. Önerilen monoterapi dozu ikiye bölünerek günlük 600-1200 mg şeklindedir. Ortalama doz 600 - 3000 mg/gün şeklindedir. Destek tedavide ise 600 mg/gün şeklinde başlanılmalıdır. Ortalama doz ise 1200 mg/gün şeklindedir (Guerreiro ve Guerreiro 2008).

Çocuklarda 8-10 mg/kg şeklinde başlanmalıdır. Ortalama idame doz 30-50 mg/kg/gündür. Sekiz yaşından büyük çocuklarda farmokokinetik yetişkinler ile aynı olduğu halde 8 yaşından küçük çocuklarda klirens daha fazladır. Bu nedenle daha fazla idame doz almaları gerekmektedir. OXC yaşlılar için en az yetişkin bireyler kadar güvenilirdir. Piyasa da Trileptal, Epsile olarak 150 mg, 300 mg, 600 mg tabletler şeklinde bulunmaktadır (McLean, 1994; Tecoma,1999; Sabers, 2000; Shorvon 2000; Patsalos ve Perucca, 2003; Stefan ve Feuerstein, 2007; Guerreiro ve Guerreiro, 2008).

1.11. Gebelik ve Epilepsi

Gebelikte epilepsi tedavisi annede oluşan nöbetin kontrolü ve teratojenik risk arasındaki dengeyi içermektedir. Epilepsi gebelik döneminde, yaygın kronik teratojenite nedenlerinden biri olmasına rağmen AEİ'lerin kullanımını zorunlu kılmaktadır (Haurser, 2011). AEİ alan hastaların yaklaşık üçte biri üreme çağındadır (Adab ve ark. 2009). Hamile kadınların ise % 0,3 kadarı epilepsi hastasıdır (Lowe, 2001). Amerika'da 1 milyondan fazla kadın epilepsi hastasıdır. İngiltere de epilepsi tedavisi gören üreme çağındaki kadın prevalansı 6,9-7,8/1000'dir. Epilepsi hastası olan kadınların hepsi ilaç tedavisini sürdürmemekle birlikte, son yapılan çalışmalar Amerika'daki epilepsili kadınların % 95'nin üreme çağlarında ilaç tedavisini sürdürdüklerini göstermektedir. Ayrıca İngiltere de yaklaşık 22.800 çocuk intrauterin hayatta AEİ'lara maruz kalarak doğmaktadır. İzlanda'da epilepsili hamile kadın prevalansı 3,3/1000'dür. İngiltere de ise 200 gebe kadından 1'i gebelik süresince AEİ'lara maruz kalmaktadır (Winterbottom ve ark., 2009).

Gebelik, epilepsili kadınlarda önemli bir karar sürecidir. Gebelik döneminde yaşanabilecek komplikasyonlar ve AEİ'lere bağlı teratojenite riski göz önüne alındığında bu riskleri en aza indirmek için gebe kalmadan önce doktora danışarak planlama yapmalıdırlar. Doğru ve etkili bir doğum kontrol yöntemi, planlı bir gebelik, AEİ'lerin optimizasyonu ve folik asit kullanımı ile bu riskler en aza indirgenebilir (Winterbottom ve ark., 2009). İngiltere'de ve Amerika'da yapılan bir çalışmaya göre gebe kadınların % 50'sinin eğitim ve sosyo-ekonomik özelliklerden bağımsız olarak plansız hamile kaldıkları tespit edilmiştir (Winterbottom ve ark., 2009). Bunun nedeni gebelik döneminde karşılaşılan riskler konusunda anne adaylarının yeterince bilgi sahibi olmaması ya da etkisiz kontraseptif yöntemi kullanmak olabilir (Yerby, 1996). AEİ'lerin bazıları hepatik sitokrom P450 sistemini indüklemektedir. Bu da cinsiyet hormonlarının primer metabolik yolağıdır ve bu AEİ'lerin hormon içeren kontraseptiflerin klirensini artırmaktadır (Tablo 3). Bazı çalışmalar progesteron içerikli kontraseptiflerin gebeliği önlemede östrojen içerikli olanlardan daha etkili olduğu gösterse de AEİ'ler ile kullanıldığında gebeliği önlemenin çok etkin olduğunu söylemek oldukça zordur. Bu nedenle bariyer (kondom, rahim içi araç v.s.) oluşturucu yöntemleri tercih etmek daha etkili olmaktadır (Krauss ve ark., 1996; Guberman,1999; Davis ve ark., 2008).

Tablo 3. AEİ'lerin hormonal kontraseptifler üzerine etkisi (Pennell, 2008)

Hormon seviyesini düşürenler	Hormon seviyesini etkilemeyenler
Fenobarbital Fenitoin Karbamazepin Primidon Topiramet Oxcarbazepin	Etoksümit Valporat Gabapentin Lamotrijin Tiagabin Levatisasetam Zonisamid

Araştırmalar epilepsi hastası olan gebe kadınlarda preeklamsi, sezeryan doğum, kanama ve erken doğum riskinin 2-3 kat arttığını göstermiştir (Thomas, 2009). Ancak daha sonra yapılan çalışmalarla bu komplikasyonların epilepsiden mi yoksa AEİ'ye bağlı olarak mı geliştiği konusu merak edilmeye başlanmıştır. Son zamanlarda yapılan araştırmalara göre AEİ kullanan kadınlarda preeklamsi, vaginal kanama ve erken doğum gibi komplikasyon riskinin arttığı, AEİ kullanmayan ya da nöbet geçiren kadınlarda ise komplikasyon riskinin artmadığı gözlenmiştir (Borthen ve ark., 2009; Borthen ve ark., 2011). Ayrıca epilepsi hastası olan kadınlarda postpartum depresyon insidansı yüksektir. Genel popülasyonda %10 civarında postpartum depresyon görülmektedir. Ancak yapılan bir çalışmada bu riskin epilepsi hastası olan multipar kadınlarda ve politerapi AEİ kullananlarda yüksek olduğu (%29) bulunmuştur (Galanti ve ark., 2009). Ayrıca bu çalışma epilepsi hastası olan kadınlar ve olmayanların doğum sonu çocuk bakımındaki yeterliliği konusunda yapılan başka bir çalışmayı da desteklemektedir. Bu çalışmada epilepsi hastası olan kadınların doğum sonunda çocuk bakımı konusunda yetersiz bilgi ve beceriye sahip olduğunu ortaya koymuştur (Saramma ve ark., 2011).

Gebelikte nöbet geçirme sıklığının değişken olduğu görülmektedir. Gebelik süresince hormon seviyesinde ve ilaç metabolizmasında meydana gelecek değişiklikler ile gebelikten kaynaklanan psikolojik değişikliklerin nöbet sıklığını etkileyeceği düşünülmektedir. Gebelikte vücut sıvılarında ve extraselüler sıvıdaki artış, ilaçların dağılımında değişime neden olmaktadır. Gebelikte yağ dokusunun artması yağda eriyen ilaçların eliminasyonunda azalmaya, kardiyak outputun artması hepatic kan akımında artmaya ve bu yolla eliminasyonda artmaya, böbrek kan akımında artma ise renal klirenste artmaya, maternal albümin seviyesinde azalma da proteinle taşınan ilaçların

azalmasına neden olmaktadır (Pennell, 2008). Örneğin OXC ve LMT'in gebelik döneminde serumdaki konsantrasyonunda azalma olmakta böylece nöbet riski artmaktadır.

Gebelerin %67'sinde nöbet sıklığında herhangi bir değişme olmazken %17'sinde nöbet sıklığının arttığı, %16'sında da azaldığı tespit edilmiştir. Gebelik döneminde nöbetin olması anne ve fötüs için büyük bir risk oluşturmaktadır. Özellikle jeneralize tonik-klonik nöbet üste hipoksiye, anne de ise asidoza neden olmaktadır. Tek bir jeneralize tonik klonik nöbet fötal intrakraniyal hemoraji ve ölü doğuma, kısa süreli bir tonik klonik nöbet ise fötal kalp atımlarında duraksamaya neden olmaktadır. Status epileptikus durumunda ise maternal ve fötal kayıplarla sonuçlanan çok ciddi tablolarla karşılaşılabilir. Bunun yanında, sosyal yaşamı içerisinde nöbet geçiren anne adayı pek çok travma ile karşı karşıya kalmaktadır (Chen ve ark., 2009; Tomson ve Battino, 2009; Weil ve ark., 2010).

1.12. Teratojenite

Teratojen, konjenital anomalilerin oluşmasına neden olan ya da popülasyonda anomali insidansını artıran herhangi bir ajandır. Konjenital anomalilerin nedenleri genetik faktörler ve çevresel faktörlerdir. Konjenital anomalilere neden olan çevresel faktörlerin payı %7-10 civarındadır (Cragan ve ark., 2006). İlaçların ise etkisi %2 civarındadır. Bunların içinde AEİ'lerin payı ise %6'dır. İlaçlar, enfeksiyonlar gibi çevresel faktörler genetik yapıları uyarabilir. İlaçların, kimyasalların ve diğer çevresel faktörlerin embriyonik gelişimi bozmaları ve anomali oluşumunu uyarmalarının gerçek mekanizması halen belirsizdir. İlaç ve kimyasal maddelerin olası teratojenik etkisi düşünüldüğünde üç önemli faktör göz önünde bulundurulmalıdır. Bunlar, gelişimin kritik dönemi, ilaç ya da kimyasalın dozu ve embriyonun genetik yapısıdır (Moore, 2002).

Gelişimdeki en kritik dönem hücre bölünmesinin, hücre farklılaşmasının ve morfogenezin en yoğun olduğu dönemdir. Erken gebelik döneminde abortus, embriyogenezis döneminde yapısal bozukluklar, fötal dönemde minör malformasyonlar, fonksiyonel bozukluklar, büyüme geriliği görülmektedir (Tablo 4). Beyin gelişimi için kritik dönem 3-16. haftalardadır. Ancak doğum sonrası dönemde de beyin gelişimi devam ettiği için bu dönemler de etkilenmektedir (Moore, 2002).

Tablo 4. Konjenital malformasyon oluşumu için kritik embriyolojik dönemler (Pennell, 2008)

Dokular	Malformasyon	Embriyolojik dönem
Sinir sistemi	Nöral tüp defekti	28. gün
Kalp	Ventriküler septal defekt	42. gün
Yüz	Yarık dudak, Yarık damak	36-70. gün

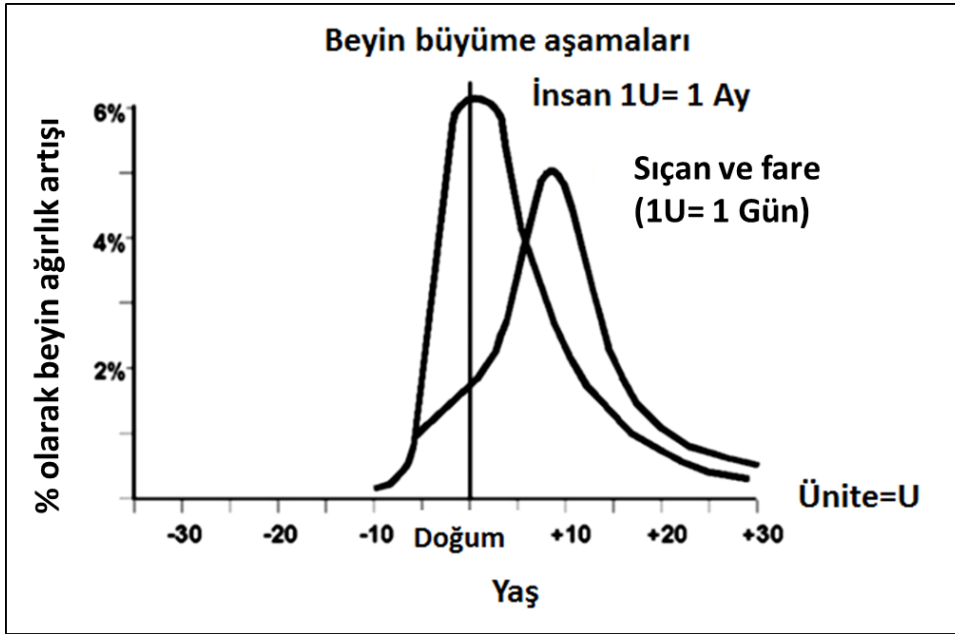
Beyin gelişimi memeliler arasında farklılık gösterebilir, beyin bölgeleri arasında gelişim açısından karşılaştırma yapmak mümkündür. Örneğin insan ve sıçanların gelişimsel dönemleri birbirinden farklı olsada anatomik ve histolojik açıdan benzer özellikler gösterdiğinden iki yapının karşılaştırmasını yapmak mümkündür (Ikonomidou ve Tursk, 2010). Deneysel çalışmalarda genellikle laboratuvar hayvanları (sıçan, fare, tavşan) kullanıldığından yapılan teratojenik ya da toksikolojik çalışmaların etkisi görmek için deney hayvanlarının da prenatal gelişimi ve bunun insandaki kaşılığı iyi bilinmelidir. İnsan ve sıçan beynine ait gelişimsel süreçler, tahmini nörogenesis dönemleri ve ağırlıkları sırasıyla şekil 4, 5, 6 ve 7’de verilmiştir (Ikonomidou ve Tursk, 2010).

Doğum																					
Doğum öncesi dönem (ay)											Doğum sonrası dönem (yıl)										
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Hücre proliferasyonu																					
Nöronların beyin ve omiriliğe göçü																					
Nöronların beyincik ve dış granüler tabakaya göçü																					
Sinaptogenezis																					
Myelinizasyon																					

Şekil 4. İnsan beyninin doğum öncesi ve sonrası gelişimsel süreci (Ikonomidou ve Tursk, 2010)

	E(1-5)	E(7-11)	E(12-22)	P(1-15)	P(16-45)
Nörolasyon					
Hücre proliferasyonu ve göçü					
Farklanma ve sinaptogenezis					
Apoptozis					
Gliogenezis					
Myelinizasyon					

Şekil 5. Sıçan beyininin doğum öncesi (E=Embriyonal dönem) ve doğum sonrası (P=Postnatal) gelişimsel süreci (Ikonomidou ve Tursk'dan, 2010)



Şekil 6. İnsan ve sıçan beyin ağırlık artışı. Her bir ünite insanlar için ayı ifade ederken, sıçanlarda günü ifade etmektedir. Oranlar her bir ünite için yetişkin ağırlığının yüzdesi beyin ağırlığının artışını göstermektedir (Ikonomidou ve Tursk, 2010)

İNSAN (HAFTA)	3,5-4	4,1-5,2	5,3-5,7	5,8-6,6	6,7-7,0	7,1-7,4	7,5-7,9	8,0-9,9	10-11,9	12-14,9	15-18,9	19-23,9	24-27,9	28-31,9	32-35,9	36-40
SIÇAN (GÜN)	E 11	E 12	E 13	E 14	E 15	E 16	E 17	E 18	E 19	E 20	E 21-22	P 0-3	P 4-7	P 8-11	P 12-15	P 16-19
Omirlilik																
Medulla																
Pons																
Serebellum																
Mesensefalon tegmentum																
Mesensefalon tektum																
Talamus																
Hipotalamus																
Pallidum																
Striatum																
Amigdala																
Neokorteks, limbik korteks																
Entorinal korteks																
Subikulum																
Hipokampus CA1-3																
Hipokampus dentate granüle hücreler																

Şekil 7. İnsan ve siçanda tahmini nörogen eziş dönemleri (E=Doğum öncesi dönem, P=Doğum sonrası dönem) (Ikonomidou ve Tursk, 2010).

İlaç kullanımı gebelik sürecinde önemli konulardan birisidir. Bu nedenle FDA hekimlerin güvenli ilaç yazmalarını sağlamak amacıyla ilaçların olası teratojenite riskine göre bir kategori oluşturmuştur. Ülkemizde ve dünyada da kullanılan yaygın sınıflama şekli, Tablo 5’de verilmiştir.

Tablo 5. FDA’ye göre ilaç kategorileri (İskit, 2007’den uyarlanmıştır)

Kategori	Açıklama	İlaçlar
A	Gebelerde en güvenilir ilaçlardır. Kontrollü araştırmalarda bu ilaçların fötüse zararlı olduğu gösterilememiştir	Vitaminler (B vit), Levotiroksin, Liotironin, Folik asit
B	Deney hayvanlarında teratojenik etki gösterilmemişse de gebe kadınlarda yapılmış kontrollü çalışmalar eksiktir ya da deney hayvanlarında teratojen etki gösterilmiş ancak gebe kadınlarda yapılan kontrollü çalışmalarla bu etki doğrulanmamıştır. Gerekirse bu kategorideki ilaçlar rahatlıkla kullanılabilir.	Ampisilin, Azitromisin, eritromisin, Amoksisilin, Famotidin, Lansoprazol Difenhidramin, Parasetamol, Prednizolon Asilsistein, İnsülin
C	Deney hayvanlarında teratojen etki gösterilmiştir, ancak gebe kadınlarda yapılmış klinik deneyim yetersizdir ya da gebe kadınlarda ve deney hayvanlarında ilaç incelenmemiştir. Bu kategorideki ilaçlar potansiyel riski karşılayacak terapötik yarar öngörülüyorsa kullanılabilir	Adrenalin, Prokain, Katakenezol
D	Bu kategorideki ilacın insanda fötüs üzerinde zararlı etkisi kanıtlanmıştır. Ancak gebede terapötik yararı fötüste beklenen zararından fazla ise ve yaşamı tehdit eden bir durumun tedavisinde alternatif olarak kullanılması zorluyorsa yaratabileceği olası riskler anne adayına detaylarıyla anlatılarak kullanılabilir (yarar-zarar oranı dikkate alınmalıdır)	Opipramol, İmipramin, Diazepam, ACE inhibitörleri, Diüretikler, Kortizon Antidiabetikler, Karbimazol, Tetrasiklinler Aminoglikozidler, Sulfonamidler Narkotik analjezikler, Kanser ilaçları Aspirin, İyot, Yüksek doz Vitamin D
X	Deney hayvanları ve gebelerde incelemeler, ilacın fötüse kesin zararını göstermiştir (teratojenik). Gebelerde terapötik yararı fötüste olan zararına göre ihmal edilebilir. Bu kategorideki ilaçlar gebelerde ve gebe kalma olasılığı bulunanlarda hiçbir biçimde kullanılmaz.	Etanol, Oral antikoagülanlar Bazı hormonlar (östrojen, testosteron), Oral kontraseptifler, MMR (Kızamık, kızamıkçık, kabakulak) aşısı, Kinin Simvastatin, Atorvastatin, Antiviral ilaçlar, Talidomid, Yüksek doz vitamin K ve Vitamin A

Epilepsi hastası kadınların %90’ı sağlıklı bebeklere sahipken, gebelikte AEİ kullanımı konjenital malformasyonlara, minör anomalilere, kognitif bozukluklara, erken doğum, düşük doğum ağırlığı ve düşük APGAR skoruyla doğuma neden olduğu bilinmektedir. Özellikle 1960’larda ilk AEİ ‘ler ve konjenital anomalilerin arasındaki

ilişkiye işaret etmesi klinisyenlerin bu konuya dikkatini çekmesiyle başladı (Hauser, 2011; Roberts ve ark., 2011).

Konjenital anomaliler majör ve minör anomaliler olarak iki grupta incelenir. Minör anomaliler arasında kısa parmak, saç anomalileri, düşük kulak, geniş burun duvarı, geniş filtrum ve dudak yapısında anomalilerdir. Bu anomaliler 5 yaşına kadar kaybolur ancak parmak yapısındaki anomaliler kalıcıdır. Epilepsili kadınların bebeklerinde minor anomaliler genel popülasyona göre 2,5 kat daha fazla görülmektedir. Major anomaliler ise AEİ kullanılmadığında hemen hemen genel popülasyonla aynı oranda risk içermektedir. Bu yaklaşık olarak %1,2-3,2 civarındadır. AEİ kullanıldığında bu risk %3-9'a çıkmaktadır. AEİ'lerin politerapi uygulamalarıyla risk %6,5-18'e kadar çıkmaktadır (Kaplan ve ark., 2007; Meador, 2008; Harden ve ark. 2009). FDA'ye göre AEİ'leri gebelikte kullanım kategorileri ise Tablo 6'da, genel popülasyon ve epilepsi hastası olan kadınların bebeklerinde malformasyon görülme yüzdeleri ise Tablo 7'de verilmiştir.

AEİ'lerin gebelikte kullanımı ve konjenital malformasyonlar arasındaki ilişki yapılan pek çok çalışma ile ortaya konulmuştur. Özellikle ilk nesil AEİ'ler olan CBZ, VPA, PHT, PB'lerin doza bağlı kullanımların konjenital malformasyonlara neden olduğu bilinmektedir (Nulman, 2010). Yapılan pekçok çalışma ile AEİ'lerin neden olduğu spesifik konjenital anomaliler konusunda bilgi edilmiştir. Örneğin PHT ve FB'in konjenital kalp defektleri ile yarı damak ve dudağa neden olduğu, VPA ve CBZ'in ise nöral tüp defektine neden olduğu bilinmektedir (Beghi ve ark., 2002). Teratojenik dozun altında kullanımlarda da doğum sonrası dönemde çeşitli kognitif ve davranışsal bozukluklara neden olmaktadır. Doz ve ilaç sayısının artması konjenital anomalilerinde artışına neden olmaktadır. AEİ ile monoterapide en yüksek oranda konjenital malformasyonlar PRM %14,3, VPA %11,1, PHT %9,1, CBZ %5,7 ve PB %5,1'dir (Kaneko ve ark., 1999).

VPA primer jeneralize nöbetlerde etkili ve nöbet kontrol başarısı oldukça yüksek bir ilaçtır. AEİ olarak kullanımın yanında psikiyatrik hastalıklarda ayrıca bipolar affektif bozuklukta (manik epizotta) kullanılmaktadır. VPA özellikle ilk trimesterde kullanıldığında konjenital malformasyonlara neden olmaktadır. VPA'nın monoterapi kullanımlarında, diğer AEİ'lerle karşılaştırıldığında daha çok MKA'ya neden olduğu ve bu durumun politerapi kullanımlarında daha da arttığı gözlenmiştir. Monoterapide

düşük doz kullanımlarda bile bazı vakalarda malformasyonlara rastlanmaktadır (Morrow ve ark., 2006; Vajda ve ark., 2006). İlk trimesterde uygulandığında %2 kadar nöral tüp defektine neden olmaktadır (Okada ve ark., 2009).

Tablo 6. AEİ'lerin kategorisi (Sethi ve ark. 2010'dan uyarlanmıştır)

Yaygın kullanılan AEİ	FDA kategorisi	Riskler
Karbamazepin	C	Kardiyak Malformasyonlar
Gabapentin	C	Monoterapide herhangi bir MKA riski yok
Lamotrijine	C	MKA riski yok
Levatisasetam	C	Pilor stenozu (lamotrijinle politerapide); spina bifida (politerapi valproat ve karbamazepin ile)
Oxcarbazepine	C	Ürogenital malformasyon
Fenobarbital	D	Kardiyak malformasyon MKA artırır.
Fenitoin	D	Bradikardi, hipotansyon; fetal hidantoin sendromu
Topiramet	C	Hipospadias; yarık damak ve dudak
Valproat	D	Kardiyak malformasyon; hipospadiyas; nöral tüp defekti; spina bifida MKA artırır

Tablo 7. Majör malformasyonların görülme oranı (Pennell, 2008)

Malformasyonlar	Genel popülasyon (%)	Epileptik annelerin bebekleri (%)
Konjenital kalp hast.	0,5	1,5-2
Yarık damak /dudak	0,15	1,4
Nöral tüp defekti	0,06	1-3,8 (Valporat)
Ürogenital defektler	0,07	1,7

Ayrıca kardiyovasküler, iskelet, ürogenital sisteme ait anomaliler ve kraniyofasiyal anomaliler görülmektedir (Semczuk ve ark., 2010; Charlton ve ark., 2011). Prenatal dönemde VPA'ya maruz kalan annelerin bebeklerinde daha sonraki dönemlerde gelişme geriliği, kognitif gerilik, düşük IQ seviyesi, hiperaktivite, motor fonksiyonlarda bozulma, adaptasyonda zorluk ve sözel yetenekte azalma görülmektedir (Meador ve ark., 2009; Cohen ve ark., 2011; Meador ve ark., 2011; Shallcross ve ark., 2011). Kuzey Amerika AEİ ve gebelik kayıtlarına göre ilk trimesterde diğer AEİ'lerde MKA görülme oranı %2,8 iken VPA kullanıldığında bu oran %10,7'e yükselmektedir. Avustralya'da epilepsi ve gebelik kayıtlarına göre VPA monoterapisinde MKA görülme oranı %16 iken diğer AEİ'lerde %2,4'dir. Ayrıca kayıtlara göre doza bağlı olarak MKA görülme oranı artmaktadır. VPA <1100 mg dozlarda kullanıldığında >1100 mg doz uygulamalarından daha az MKA'ya rastlanmıştır (Vajda ve ark., 2004; Pennel, 2008).

CBZ çok yaygın kullanılan AEİ'lerden biridir. Epilepsinin yanı sıra bipolar affektif bozuklukta mani evresinde kullanılmaktadır. İlk trimesterde uygulandığında MKA'ya neden olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Jentink ve ark., 2010). Ancak CBZ'in gebelikteki teratojenitesi hakkında hala çelişkili bilgiler bulunmaktadır. Örneğin İngiltere'deki gebelik kayıtları CBZ'nin MKA riskini artırmadığını, genel popülasyon ile aynı olduğunu ve diğer AEİ'lerle mukayese edildiğinde monoterapide diğer geleneksel AEİ'lerden daha az risk taşıdığını ifade etmektedir (Morrow ve ark., 2006; Jentink ve ark., 2010). Aynı şekilde Amerikan Nöroloji Akademisi ve Amerikan Epilepsi Topluluğu'nun verileri de CBZ'nin MKA'yı artırmadığı yönündedir. CBZ'nin dozuna bağlı malformasyon riskinin arttığını gösteren çok çalışma yoktur (Harden ve ark., 2009). CBZ'in %1 oranında spina bifidaya neden olduğu bulunmuştur (Rosa, 1991). CBZ'nin teratojenik etkisinin politerapide daha fazla olduğu tesbit edilmiştir. CBZ'nin nöral tüp defektine yol açtığı bazı çalışmalarla ortaya konulsa da, çoğunlukla yarı damak ve dudakta neden olduğu tespit edilmiştir (Hernandez-Diaz ve ark., 2007; Hill ve ark., 2010). Başka bir çalışma ise CBZ ile yarı damak arasında belirgin bir ilişki bulamamıştır (Jentink ve ark., 2010). CBZ'nin gebelik döneminde metabolizması değişeceğinden metaboliti olan 10,11-epoksit seviyesi artmaktadır. Epoksit toksik bir maddedir ve amniyotik sıvıda toplanacağı için fötüs için fötotoksik olabilmektedir. Föetal epoksit hidralaz seviyesi ise genetik olarak tesbit edilebilmektedir. Düşük lenfosit

epoksit hidralaz seviyesi ftal antiepileptik sendromu ile yakından ilişkilidir (Lowe, 2001). Ayrıca yapılan son çalışmalar uterin hayatta doza baēlı CBZ'ye maruz kalan çocuklarda motor fonksiyonlarda azalma, adapte olmakta zorlandıkları ve sözel yeteneklerinde azalma gözlenmiştir (Cohen ve ark., 2011; Meador ve ark., 2011).

PHT'nin 1975 yılında büyüme geriliēi, mikrosefali, mental retardasyon ve pek çok daha hafif düzeyde anomalilerle ftal hidantoin sendromu diye tanımlanan bir tabloya neden olduēu düşünülmüştür. Daha sonra yapılan çalışmalar bunun sadece PHT ile ilgili olmadığı, prenatal dönemde diēer AEİ'lere maruz kalan bebeklerde de aynı tablo görülünce isimlendirme ftal antiepileptik sendromu olarak deēiřtirilmiřtir. İlk trimesterde PHT kullanımına baēlı MKA oranı %3,4 ile %10,7'dir. Çalışmalarda prenatal dönemde PHT'e maruz kalmak çocukluk döneminde kognitif becerilerde geriliēe sebep olmaktadır. Ayrıca PHT'in yarık damak ve dudaēa neden olduēuna dair çalışmalarda mevcuttur (Holmes ve ark., 2001; Vajda ve ark., 2004; Morrow ve ark., 2006; Puho ve ark., 2007).

PB, konjenital kardiyak malformasyonlara neden olmaktadır (Harden ve ark., 2009). Kanada da küçük bir grupla (n=14) yapılan araştırmaya göre total majör malformasyon oranı %14,2'dir. Kardiyovasküler malformasyonların görülme oranı ise %7,1 bulunmuştur. Başka bir çalışmada (n=77) ise malformasyon oranı %6,5 bulunmuştur (Holmes ve ark., 2004; Brosh ve ark., 2011). Ayrıca uterin hayatta PB'ye maruz kalan erkeklerde kognitif yeteneklerde azalma tespit edilmiştir (Reinisch ve ark., 1995).

OXC, yeni nesil bir AEİ olup, OXC'ne baēlı malformasyon görülme oranı yaklaşık %2,4 civarında olduēu görülmüştür. Yapılan bir çalışmaya göre 248 kadına gebelik döneminde OXC monoterapi olarak uygulandıēında 6 MKA vakasına rastlanmıştır (Montouris, 2005). Ancak OXC politerapide kullanıldıēında malformasyon riski artmaktadır. Ellibeş kadın üzerinde yapılan diēer bir çalışmada 35 monoterapi uygulanan grupta MKA'ya rastlanmamıştır. Politerapi uygulanan grupta ilk trimesterde PB ile birlikte kullanılan bir gebelikte kardiyak malformasyona rastlanmıştır (Meischenguiser ve ark., 2004). Geniş çaplı prospektif bir çalışmada 393 yenidoēandan 11'inde MKA görülmüştür (Nielsen ve Hviid, 2011). Yapılan bir hayvan alışamasında ise 6-18. gebelik günlerinde farelere tolere edilebilen en yüksek doz olan 1100

mg/kg/gün uygulanmış ve MKA kontrol grubunda %5, OXC grubunda ise %8 oranında görülmüştür (Bennett ve ark., 2006).

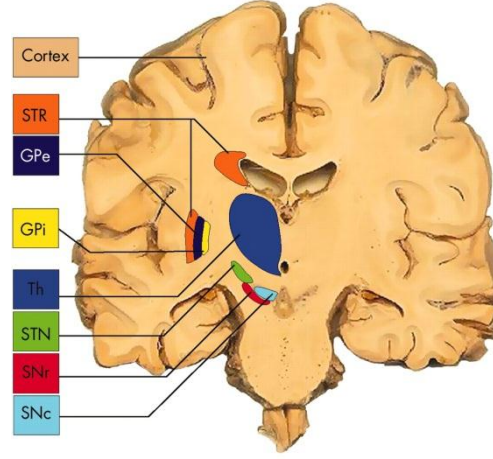
GBP de OXC gibi yeni nesil bir AEİ olup antiepileptik kullanımı yanında nöropatik ağrılarda da kullanılmaktadır. GBP'nin gebelikte kullanımı ve teratojenik etkisi konusunda çok fazla çalışma bulunmamaktadır. Ya da yapılan çalışmalar küçük gruplarla sınırlı kaldığı için genel bir yorumlama yapmak zor olabilmektedir. 1994 yılında yapılan bir hayvan çalışmasında gebeliğin 6-15. günlerinde 3 ayrı doz uygulanmıştır. Tavşanlara uygulanan en yüksek doz olan 3000 mg/kg/gün ve fare ve sıçanlara uygulanan 1500 mg/kg/gün dozlarda herhangi bir teratojenik etki gözlenmemiştir (Petrere ve Anderson, 1994). Rodentlerle yapılan diğer bir çalışmada ise intrauterin hayatta GBP'ye maruz bırakılan yeni doğanlarda kemikleşmede gecikme, hidroüreter, hidronefroz gözlenmiştir. Ayrıca gestasyon 1-6. ve 7-12. günlerindeki uygulamalarda fetal rezorbsiyon, yeni doğanda boy ve kiloda azalma tespit edilmiştir (Prakash ve ark., 2008). Ancak bunu destekleyen çok fazla deneysel çalışma bulunmamaktadır.

GBP uygulamasına maruz kalan (politerapi ve monoterapi karışık) 44 gebeden sadece 2 tanesinde MKA'ya rastlanmıştır (Montouris, 2003). Bunlardan bir tanesi unilateral renal agenezi (16. Haftada PB değiştirilmiş), diğeri ise (valproik asit ile politerapi uygulanmış) hipospadiastır. Diğer bir çalışmada ise 31 adet monoterapi uygulamasında sadece bir yeni doğanda ventriküler septal defekt tespit edilmiştir (Morrow ve ark., 2005). Şimdiye kadar yapılan çalışmalara göre gebelikte uygulanan GBP'nin toplumdaki genel popülasyon veya tüm epileptik kadınların doğumlarında görülebilecek kadar malformasyona neden olduğu bulunmuştur (McLean, 1995; Hill ve ark., 2010; Nielsen ve Hviid, 2011).

1.13. Bazal gangliyonlar

Substantia Nigra (SN), vücudun motor fonksiyonunda görev yapan ve subkortikal yerleşimli bir çekirdek grubu olan bazal gangliyonları oluşturan en büyük parçadır. Bazal gangliyonları oluşturan çekirdekler şunlardır (Şekil 8):

- Nucleus (N.) Caudatus
- Nucleus Lentiformis
 - Putamen
 - Globus pallidus
- Substantia Nigra
- Nucleus Subthalamicus



Şekil 8. Bazal gangliyonlar. STR; striatum, GPe; Globus pallidus externa, GPi; Globus pallidus interna, Th; Talamus, STN; Subtalamik çekirdek, SNr; Substantia nigra pars reticulata, SNc; Substantia nigra pars kompakta (Pereira ve Aziz, 2006)

Bu nukleuslar, beyin sapının motor nukleusları, kortikospinal sistem ve serebellum ile birlikte hareketlerin düzenlenmesini sağlar. Motor sistemlerin diğer bileşenlerinden farklı olarak bazal gangliyonlar ile omurilik arasında direkt aferent ve eferent bağlantılar yoktur. Bazal gangliyonların ana girişi neokorteksten gelir ve çıkışları da talamus üzerinden frontal loba, özellikle prefrontal ve premotor kortekslere dağılır (Kurt, 2010).

Nukleus kaudatus ile putamen telensefalonun aynı kısmından teşekkül eder. Bundan dolayı, benzer hücre yapılarına sahiptirler ve ön tarafta bu iki nukleus birleşmektedir. Bazal gangliyonların giriş kapısı olan bu nukleusların ikisine birden striatum adı verilir. Globus pallidus diensefalondan teşekkül eder. Biri iç, diğeri dış olmak üzere iki segmentten meydana gelmiştir. İç segment bazal gangliyonların ana çıkış kapısıdır. Globus pallidus putamenin medyalinde ve internal kapsülün lateral kısmında bulunur. Mercek şeklinde bir yapı meydana getirdikleri için putamen ile globus pallidusun ikisine birden lentiküler nukleus da denir. C harfi şeklinde olan nukleus kaudatus lateral ventrikülün yan tarafında ve internal kapsülün medyalinde bulunur. Genel olarak bazal gangliyonların bir parçası kabul edilen subtalamik nukleus diensefalon ile mezensefalonun sınırında ve bazal bölgede bulunur. Bu nukleusta glutamatın nörotransmitter olduğu sanılmaktadır (Kurt, 2010).

1.13.1. Bazal gangliyonların bağlantıları

Bazal gangliyonların kendine özgü ayrı giriş ve çıkış yolları vardır. Bazal gangliyonlara gelen bütün aferent yollar striatumda sonlanırlar. Ana eferentler de globus pallidusun iç segmenti ile substantia nigranın pars retikülata kısmından kaynaklanırlar (Şekil 9). Ayrıca, nukleuslar arası bağlantıların da özel bir yapısı vardır.

-Aferent bağlantılar (Giriş)

Striatum, beyin korteksi, talamusun intralaminar nukleusları, rafe nukleusları ve substantia nigradan aferent lif almaktadır (Şekil 9-A).

Korteksten kortikostriatum uzantılarıyla gelen giriş en önemlisidir. Duyu, motor ve asosiyasyon korteksleri dahil beyin korteksinin hemen her tarafı striatuma akson verir. Bu aksonlardan glutamik asidin serbestlendiği sanılmaktadır. Aferentler topoğrafik organizasyon gösterirler. Yani, neokorteksin her bölgesi striatumun farklı bir kısmına lif vermektedir. Özet olarak, neokorteksin ön kısımları striatumun ön kısmına, arka (posterior) kısımları da arka kısmına aferent gönderir. Bununla birlikte, beyin korteksinin fonksiyon bakımından birbirleriyle ilgili ve ara bağlantılı bölgelerinden gelen aferentlerin striatumda iç içe sonlandıkları da görülür. Bu da striatumun belli bir bölgeden gelen bilgiyi integre ettiğini gösterir (Marangoz, 2010). Korteksin hemen her tarafından lif gelmesi striatumun motor kontrolün yanında diğer fonksiyonlarla da ilgili olduğunu anlatır. Striatuma gelen liflerin ikinci önemli kaynağı talamusun intralaminar nukleuslarıdır. Genel olarak sentromedyal nukleustan kaynaklanan uzantılar putamende sonlanırlar (talamo-striatal yol). Sentromedyal nukleus motor korteksten giriş aldığı için, motor korteks bu yol üzerinden bazal gangliyonları etkileyebilmektedir.

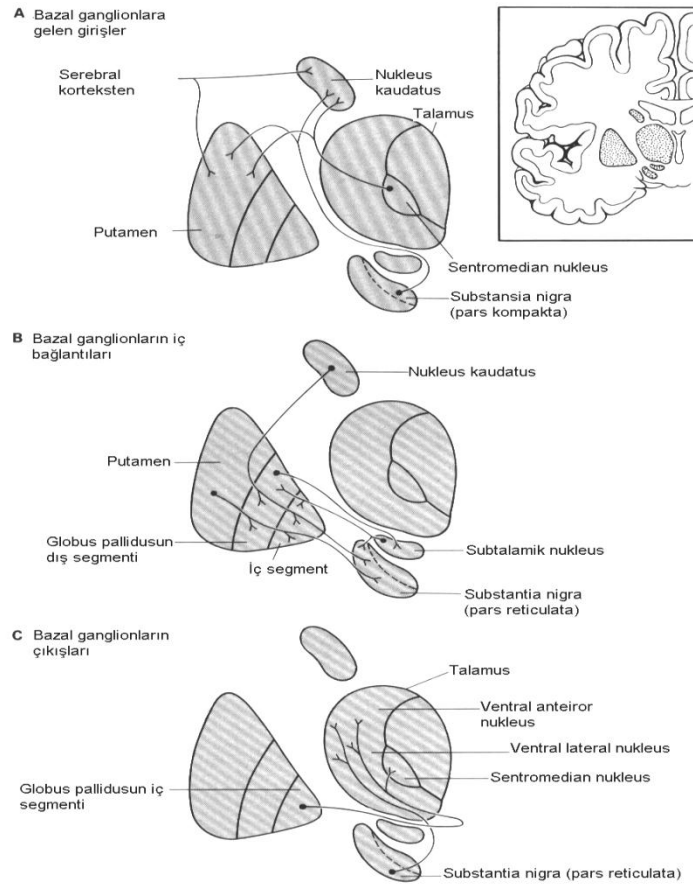
Striatuma gelen üçüncü grup aferent substantia nigranın pars kompakta bölgesinden başlayan dopaminerjik lifleri ihtiva etmektedir (nigrostriatal yol). Bu önemli yol da topoğrafik organizasyon göstermektedir. Striatumun dördüncü girişi beyin sapının dorsal raphe sisteminden kaynaklanan rafestriatal yoldur (Marangoz, 2010).

-Nukleuslar arası bağlantılar (İç bağlantılar)

Nukleus kaudatus ile putamende bulunan hücreler globus pallidusun her iki segmentine ve substantia nigranın pars retikülata bölgesine akson verirler (Şekil 9-B).

Kortikostriyal, striatopallidal ve striatonigral yollar topoğrafik organizasyon gösterdikleri için, beyin korteksinin belli bölgeleri striatum yoluyla globus pallidus ile substantia nigranın belli kısımlarını etkilemektedir.

Globus pallidus ve substantia nigra ile subtalamik nukleus arasında yoğun bağlantı sağlanmıştır. Globus pallidusun dış segmentinden çıkan liflerin hemen hepsi subtalamik nukleusa uzanmaktadır. Subtalamik nukleus'tan çıkan aksonlar da globus pallidus'un her iki segmenti ile substantia nigranın pars retikülata kısmına topoğrafik bir dağılım gösterirler. İç bağlantılardan sadece subtalamik nükleustan çıkan lifler eksitatördür. Diğerleri GABA-erjik ve inhibitördür. Subtalamik nukleus motor ve premotor kortekslerden de direkt ve topoğrafik organizasyon gösteren girişler almaktadır. O halde, motor korteks subtalamik nukleus yoluyla da bazal gangliyonların çıkışını kontrol edip düzenleyebilir (Marangoz, 2010).



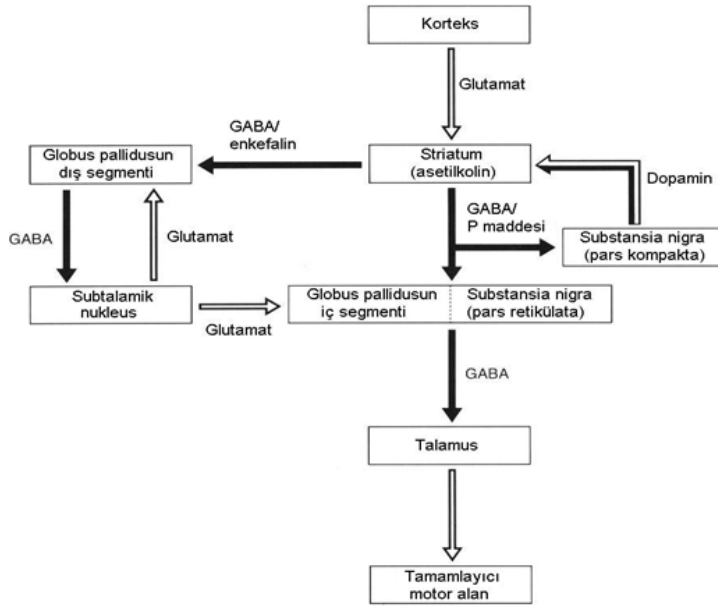
Şekil 9. Bazal gangliyonların önemli bağlantıları. A. Hemen hemen, bütün aferent girişler kaudat ve putamene gelir. B. İç bağlantılar topoğrafik bir organizasyon gösterir. C. Bazal gangliyonlar, ana eferentlerini talamusa verirler (Marangoz, 2010).

-Eferent bağlantılar (çıkış)

Bazal gangliyonlardan ayrılan eferentlerin kaynağı, esas olarak globus pallidusun iç segmenti ile substantia nigranın pars retikülata kısmıdır. Bu kısımlardan ayrılan lifler, talamusun ventrolateral ve ventroanterior nukleuslarına yayılırlar. Ayrıca, globus pallidusun iç segmenti talamusun sentromedyan nukleusuna da akson verir. Globus pallidustan talamusa uzanan lifler iki demetin içinde seyrederek. Bunlardan biri ansa lenticularis diğeri de lenticular fasciculus'dur. İki demet talamusa yaklaşınca birleşmektedir (Marangoz, 2010). Talamusun, bazal gangliyonlardan giriş alan ventroanterior ve ventrolateral kısımları premotor ve prefrontal kortekslere akson verirler. Böylece bazal gangliyonların çıkışı korteksin en uzak noktalarına kadar ulaşmış olur. Bazal gangliyonlar bu yol sayesinde kortikobulbar ve kortikospinal sistemler gibi inisiyatif yolları etkileyebilir. Sıralanan ana aferent sistemlere ilave olarak son yıllarda globus pallidustan beyin sapına ve habenula'ya (pallidohabenula yolu); substantia nigranın pars retikülata kısmından superior kollikulusa uzanan liflerin varlığı da gösterilmiştir (Marangoz, 2010).

1.13.2. Bazal Gangliyonlarda Tespit Edilen Devreler ve Transmitterler

Bazal gangliyonlarda bulunan fonksiyonel devreler ve bu devrelerdeki transmitterler, Şekil 10'da görülmektedir. Korteksten neostriatuma gelen giriş uyarıcıdır ve glutamat nöronlarından kaynaklanmaktadır. Bazal gangliyonlarda bilgi akışı direkt ve dolaylı yol diye adlandırılan iki paralel sistemde gerçekleşir. Bazal gangliyonlarla ilgili patolojik bir durumu anlamak için bu yolları bilmek gerekir. Genel olarak direkt yol talamustan bilgi akışını artırırken, dolaylı yol talamustan bilgi akışını azaltır (Marangoz, 2010). Sağlıklı bir insanda bu iki yoldaki aktivite birbirini dengelemektedir. Bu yollardan biri striatumdan globus pallidusun iç segmenti ile substantia nigranın pars retikülata kısmına uzanan direkt yoldur. Bu yol daha sonra talamusa geçer. İkinci yol striatumdan globus pallidusun dış segmentine ve bu yapı üzerinden subtalamik nukleusa geçen dolaylı yoldur. Bu yol daha sonra globus pallidusun çeşitli kısımlarına ve substantia nigraya ulaşır (Marangoz, 2010).



Şekil 10. Bazal ganglionlardaki direkt ve dolaylı yollarda bulunan transmitterler. Koyu oklar inhibitör, açıklar ise eksitator yolları göstermektedir (Marangoz, 2010)

-Bazal ganglionlardaki direkt ve dolaylı yollarda bulunan disinhibisyonun (inhibisyonun inhibisyonu) mekanizması:

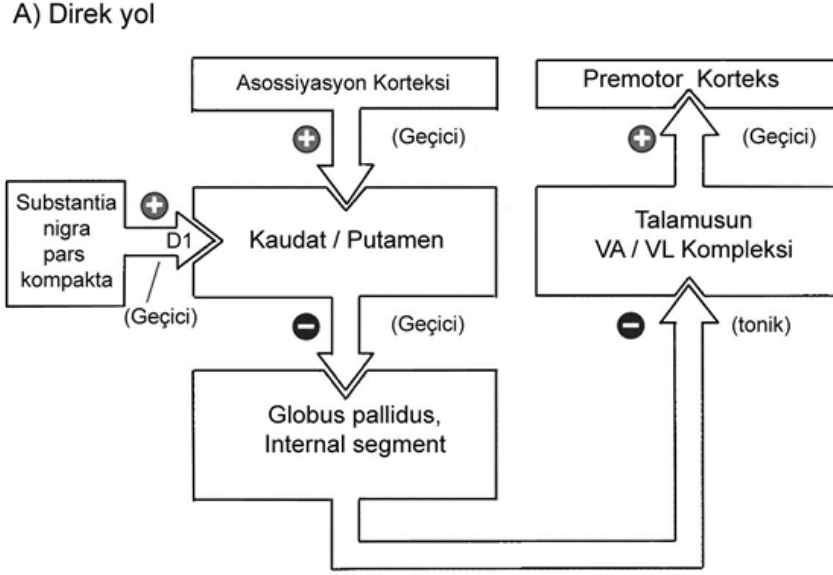
A. Direkt yol: Bu yol beyin korteksinden başlayarak, striatuma ulaşır. Striatumdan substantia nigra pars retikülata ve globus pallidusun iç segmentine (GPI) geçer. Sonra bu iki bölgeden talamusa ve talamustan da beyin korteksine geri döner (Şekil 11).

Diğer alanlardan giriş olmazsa, globus pallidusun iç segmenti ile substantia nigranın retikülata kısmında bulunan nöronlar tonik aktivite göstererek talamusta inhibisyona sebep olur ve talamustan kortekse olan uyarıcı çıkışı azaltırlar.

Direkt yol uyarılırsa, beyin korteksinin glutamat üreten nöronları striatumdaki nöronları uyarırlar. Striatumun GABA'erjik olan bu nöronları globus pallidusun iç segmenti ile substantia nigra retikülata nöronlarında inhibisyona yol açar. Striatumdaki nöronlar uyarılınca GPI ve SNr nöronlarında talamusa olan inhibitör etkisi zayıflar (buna disinhibisyon denir).

Özet olarak, direkt yolun uyarılması, talamustan beyin korteksine olan uyarıcı çıkışı artırır. Substantia nigranın kompakta kısmında (SNc) üretilen dopamin

striatumdaki nöronların D1 reseptörlerini etkileyerek direkt yoldaki aktiviteyi artırır (Marangoz, 2010).

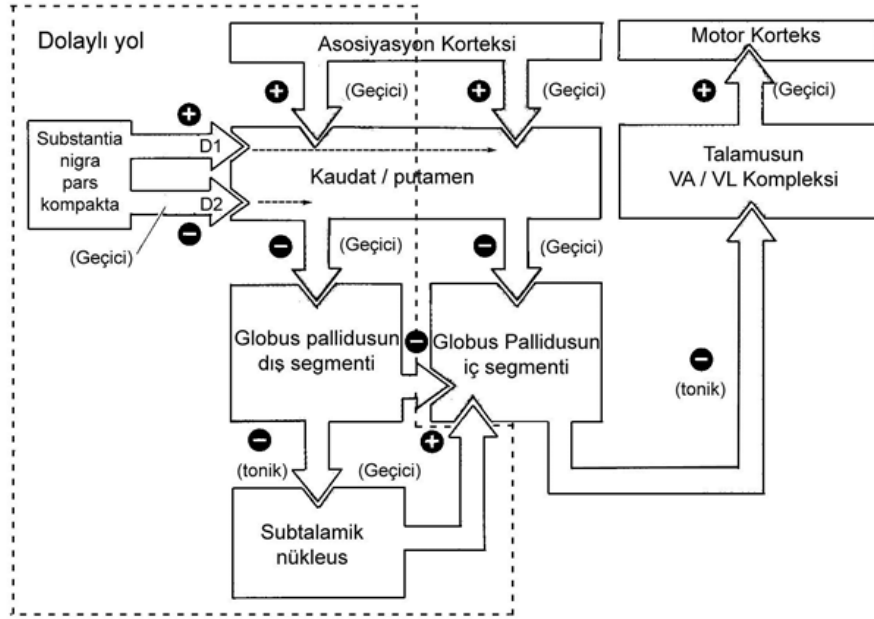


Şekil 11. Bazal ganglionlardaki direkt yol (Marangoz, 2010)

B. Dolaylı yol: Direkt yolda olduğu gibi, beyin korteksindeki glutamaterjik nöronlardan başlayan bu yol, sırasıyla striatuma, globus pallidus eksternaya (GPe), subtalamik nukleusa (ST), globus pallidus internaya, talamusa ve oradan da beyin korteksine geri döner (Şekil 12). Direkt yoldan farklı olarak, striatumun çıkışı, globus pallidusun iç segmentine değil, dış segmentindedir. GABA ihtiva eden bu yol inhibitördür. GPe'den ST'ye akson veren nöronlar da GABA'erdiktir. Bu pallidosubtalamik lifler aşırı ölçüde spontan aktivite gösterirler ve aktif olduklarında subtalamusta inhibisyona yol açarlar. Striatum GPe'de inhibisyon yapınca, GPe'nin ST'ye olan inhibitör etkisi zayıflar (ST'de disinhibisyon). İnhibitör baskıdan kurtulan glutamaterjik ST nöronları GPi nöronlarını uyarır. GPi nöronları da talamusta inhibisyona yol açar (Tepper, 2007)

Özet olarak, dolaylı yol uyarıldığında, talamusta aktivite ve talamustan kortekse çıkış azalır ve bunun sonucu olarak korteksin aktivitesi de zayıflar. Dopamin striatum nöronlarını D2 reseptörleri yoluyla etkileyerek dolaylı yolda inhibisyona yol açar (Marangoz, 2010).

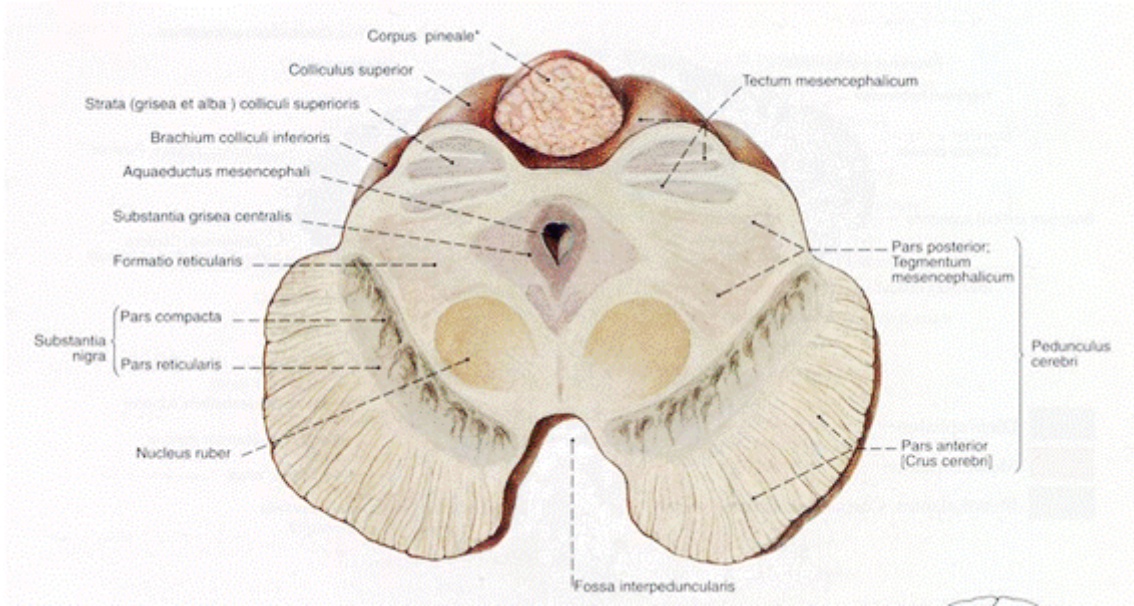
B) Direk ve dolaylı yollar



Şekil 12. Bazal ganglionlardaki direk ve dolaylı yol (Marangoz, 2010)

1.14. Substantia Nigra

SN ortabeyinde uzanır ve bu bölgenin en büyük çekirdeğidir. Sağda ve solda olmak üzere iki adettir (Şekil 13).



Şekil 13. Substantia nigra (Putz ve Pabst, 1994)

Ödüllendirme, alışkanlık, bağımlılık ve hareket ile ilgili fonksiyonlarla bir çekirdektir. Latincede siyah madde anlamına gelmektedir. Bunun nedeni dopaminerjik nöronlardaki yüksek düzeydeki melatonin nedeniyle etrafındaki bölgelere göre daha koyu renkte görünmesidir. SN ventralde yer alan pars retükulata (SNr) ve dorsalde yerleşen pars kompaktadan (SNc) oluşmaktadır. Ancak bu sınıflama daha farklı şekil de de yapılmaktadır. İki alt grup yerine 3 alt gruba da ayrılabilir. Pars lateralis bazı kaynaklara göre 3. alt grup olarak nitelendirilirken, bazılarında kompaktanın alt grubu şeklinde kabul edilmektedir. Yapılan çalışmalarda çoğunlukla sadece iki alt grup kabul edilmektedir. (Paxinos ve Watson, 2007; Nielsen ve ark., 2009). SNc ve SNr aynı girdilere sahipken, çoğunlukla farklı çıktı ve farklı nörokimyasallar içeren değişik tipte nöronlardan oluşur (Tepper ve ark., 2007).

Sıçanlarda SN'nin postnatal (P) gelişimi şöyle olmaktadır; P1. günde SNc ve SNr birbirinden belirgin bir şekilde ayırt edilemez. TH (+) nöronlarla kalın bir lif pleksusu SN boyunca dağılmaktadır. P7. güne kadar SN'nin ventralinde TH (+) nöronlarda belirgin bir azalma görülmekle birlikte dopaminerjik SNc ve dopaminerjik olmayan SNr birbirinden daha belirgin bir şekilde ayrılabilir. P14. güne kadar SN'nin ana hatları yetişkindeki seviyeyi kazanır. P14. güne kadar SNc ve SNr'deki TH (+) nöronlarda azalma olmakla birlikte, SNl'de değişme olmamaktadır. TH (+) nöronların proksimal ve distal dendritlerin çapında ise P1. günden P14. güne kadar yavaş bir artış sözkonusudur. Genel olarak P1. günde TH (+) nöronların morfolojisi hemen hemen yetişkindeki ana hatlara sahiptir ve dendritik gelişimi net bir şekilde gözlenebilmektedir. Dendritler non-variközdür ve biraz daha fazla dallanmıştır, ayrıca bazı ventral yönelimli uzun dendritlerin SNr'yi geçerek crus serebriye uzandığı görülür. Postnatal dönemde sıçan SN'sinde en belirgin değişim hücresel yapının düzenlenmesinde görülmektedir. Morfolojik değişimler daha yavaştır ve P14. günde yetişkin SN'sine benzer morfolojik, fizyolojik ve farmakolojik özellikler kazandığı gözlenmektedir (Tepper ve ark., 1994).

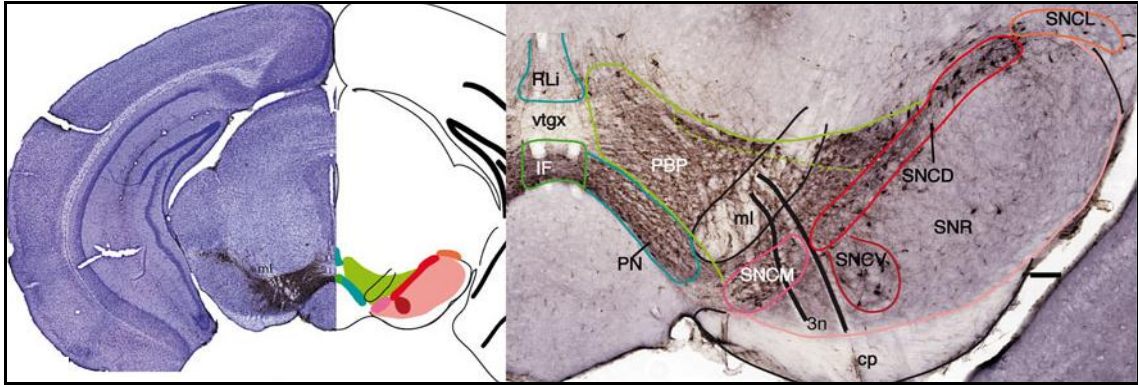
SNc, çoğunlukla dopaminerjik nöronlardan oluşmaktadır ve dopaminerjik nöronlarda var olan melatonin nedeniyle diğer bölgelerden ve SNr'den daha koyu görünmektedir. 4 alt segmentten oluşmaktadır (Fu ve ark., 2011). Bunlar (Şekil 14);

-Medial parça (SNcm)

-Ventral parça (SNcv)

-Lateral parça (SNcl)

-Dorsal parça (SNcd)



Şekil 14. SN ve alt segmentlerinin görüntüsü (Fu ve ark., 2011)

SNC ve alt segmentleri makroskopik olarak birbirinden ayırt edilebilmektedir. Bu bölgedeki dopaminerjik nöronlar büyüklükleri açısından birbirinden farklıdır. SNCm küçük dopaminerjik nöronlara sahiptir. Buradaki nöronların çapı $<15 \mu\text{m}$ olurken, SNCd'de orta boyutta ($15\text{--}21 \mu\text{m}$) dopaminerjik nöron bulunmaktadır. SNCv ve SNcl ise orta büyüklükte ve büyük çapta nöronları içermektedir ($21\text{--}27\mu\text{m}$) (Fu ve ark., 2011).

Dopaminerjik nöronlar yine bu alanda Retrorubral bölgede (RRA) ve ventral tegmental bölgede (VTA) de bulunmaktadır. SNC'deki dopaminerjik nöronlar A9 hücre grubu olarak isimlendirilirken, diğer bölgelerdeki nöronlar ise sırasıyla VTA'da A10 hücre grubu, RRB'de ise A8 hücre grubu olarak isimlendirilir (Fu ve ark., 2011).

Son zamanlarda yapılan histogenetik ve immünohistokimyasal çalışmalarla SNC'de farklı nöron tiplerine rastlanılmıştır. Bunlar:

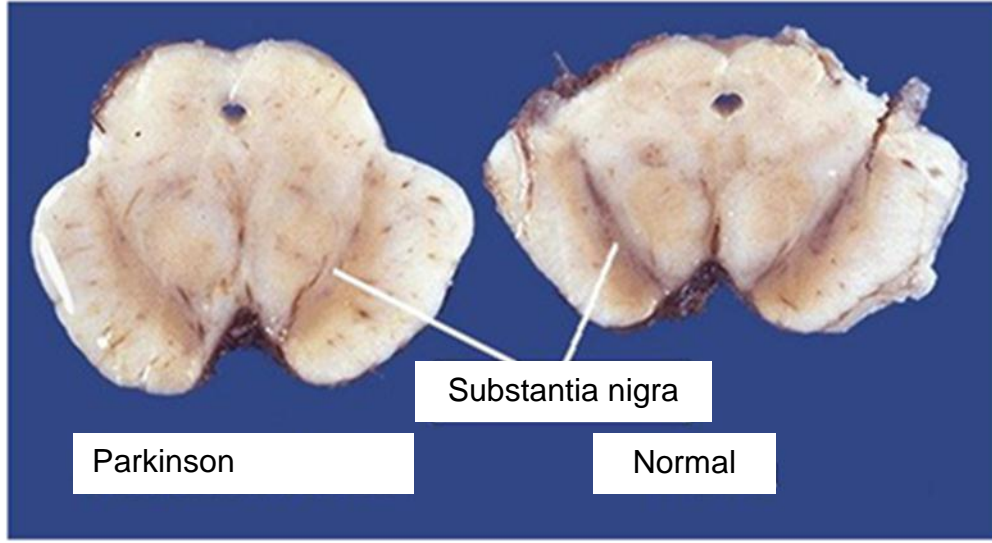
- Dopaminerjik nöron (TH (+)/GABA (-)),
- GABAerjik nöron (TH (-)/GABA (+)) ve
- Dopaminerjik/GABAerjik nöronlardır (TH(+)/GABA (+))

SNC'de dopaminerjik nöronların sayıca daha baskın olduğu da ortaya konulmuştur. Ayrıca yapılan bir hücre kültürü çalışmasında SNC'deki hücre popülasyonunun %57'si dopaminerjik, %31'i GABAerjik nöronlar olduğu tespit edilmiştir (Kim ve ark., 1997). SNC'nin aferentleri pedunkulopontin tegmental nükleus, lateral habenula, globus pallidus ve amygdaladır. Efferentleri (en bilinen projeksiyonu) nigrostriatal projeksiyondur. SNr'ye de eferentleri mevcuttur. Striatum korteksten tüm

bilgileri alır ve ilgili bilgilerin tasnifini yapar. SNe'deki dopaminerjik input striatumdaki outputu böylece düzenlemektedir (Tepper, 2007).

SNe'nin fonksiyonu motor kontrol üzerinedir. Ancak SNe'nin direkt bir etkisi söz konusu değildir. Striatum üzerinden indirekt bir etki söz konusudur ve bu etki SNe'de bulunan dopaminerjik nöronlardaki dejenerasyonla kendini gösteren Parkinson hastalığındaki motor fonksiyon bozukuları ile net bir şekilde görülebilir. Ayrıca SNe'nin fonksiyonu ince motor kontrol üzerinedir. Bazı hayvan çalışmalarında SNe'de lezyon oluşturulduktan sonra ince motor kontrolde bozulmalar gözlenmiştir (Pioli ve ark., 2008). Ayrıca SNe uyarana karşı öğrenilmiş yanıtı da içerir. Yeni bir uyarana karşı karşılaşıldığında nigrostriatal yolda dopaminerjik aktivite artmaktadır. Tekrar eden uyarana karşısında ise bunun azaldığı gözlenmektedir. Yine davranışsal bir uyarana karşısında ödül varlığında bu stimülasyon devam etmektedir. Bu durum bağımlılığın mekanizmasını anlaşılır kılmaktadır (Wong ve ark., 2006; See ve ark., 2007). Dopamin ve madde bağımlılığı yakın ilişki içersindedir ve yapılan bazı çalışmalarla da serotonin içeren nöronların, dopaminerjik nöronların etkisini azaltıcı etkiye sahip olduğu ortaya konulmuştur. Bu uyarıcı maddelerin yan etkisini ortadan kaldırmak için yeni tıbbi tedavilerin bulunmasında yardımcı olmaktadır (Rothman ve Baumann, 2006). SNe'nin ayrıca hafıza ve öğrenme ile ilgili olduğunu gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (Da Cunha ve ark., 2003). Ayrıca SNe'nin uyku düzenlemesinde önemli bir yere sahip olduğu ortaya konulmuştur (Lima ve ark., 2007).

SNe klinikte bazı hastalıkların gelişiminde önemli rol sahiptir. Bunlardan en yaygın olarak bilinen Parkinson hastalığı ve şizofrenidir. Parkinson SNe'deki dopaminerjik nöronların ölümüne bağlı gelişen nörodejeneratif bir hastalıktır (Şekil 15). Kendisini tremor, akinezya, bradikinezya, postür bozukluğu, uyku bozukluğu ve yorgunluk ile kendini gösterir. SNe'deki dopaminerjik nöronların yarısından fazlasında kayıp olduğunda ancak bu belirtiler görülmektedir (Şekil 15). Parkinson hastalığının nedeni hala tam olarak bilinmemektedir. Ancak yapılan çalışmalarda dopaminerjik nöronlarda alpha-synuclein agregasyonu, kalbine bağlı hücre Ca^{++} seviyesinde artış ve dopamin transport sisteminde yavaşlama görülmektedir (Jankovic, 2008).



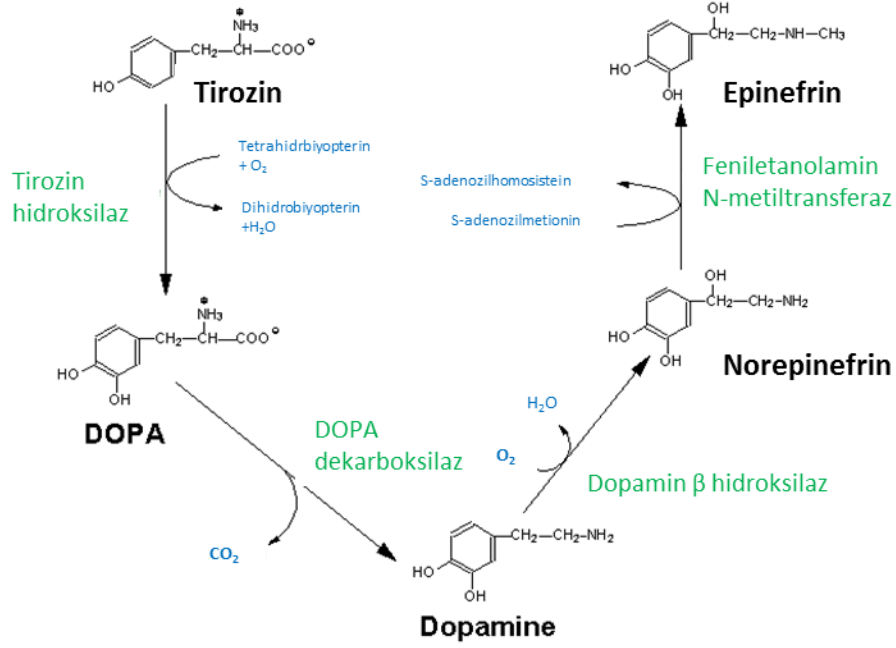
Şekil 15. Sağlıklı insanlardaki ve Parkinson hastalığında SN'nin görünüşü

(<http://www.gwc.maricopa.edu/class/bio201/parkn/jcadis51.htm>)

Şizofreni hastalığında ise tersi durum söz konusudur. Burada SNc'deki dopamin seviyesinde artış gözlenmektedir. Tam olarak nedeni hala bilinmeyen şizofreni hastalığında üzerinde durulan ve hala tartışmalı hipotezlerden biri dopaminerjik hipotezdir ve hala tedavide kullanılan dopamin antagonisti ilaçlar ile başarılı bir tedavi sağlanmaktadır (Perez-Costas ve ark., 2012).

Dopamin omurgalılarda merkezi sinir sisteminde bulunan bir katekolamin nörotransmitterdir. Ventral tegmental alan ve SNc'de üretilir. Ayrıca hipotalamustan bir nörohormon olarak da salgılanır. Dopamin tirozin amino asitinin bir türevidir. Tirozin tirozin hidroksilaz ile DOPA'ya dönüştürülür. DOPA dekarboksilaz DOPA'dan karbondioksiti uzaklaştırarak Dopamin oluşturulur (Şekil 16). Dopamin daha sonra norepinefrin ve epinefrin prokürsörü olarak görev alır (Nagatsu, 1995)

SNr bazal gangliyonlardaki önemli işlem merkezlerinden bir tanesidir. SNr'deki GABAerjik nöronlar bazal gangliyonlardaki son işlem bilgilerini talamusa ve superior kollikulusa taşır. Ayrıca SNr'nin en önemli fonksiyonlarından birisi de SNc'deki dopaminerjik aktiviteyi düzenlemektir. SNr'deki GABAerjik nöronlar spontan aksiyon potansiyelini oluşturabilmektedir. Bu aksiyon potansiyelinin ateşlenme oranı subtalamik nükleus tarafından eksitator inputlar ile düzenlenmektedir. Ancak yapılan çalışmalarla aksiyon potansiyelinin daha çok otonomik olduğu tespit edilmiştir (Gernert ve ark., 2004; Lee ve ark., 2011).



Şekil 16. Dopamin biyosentezi

(<http://www.bio.davidson.edu/Courses/Molbio/MolStudents/spring2003/Siegenthaler/Dopaminesite.htm>)

SNr'deki nöronların çoğunluğu GABAerjik nöronlardır. Yapılan bazı hücre kültürü çalışmalarında SNr'deki nöronların %66'sının GABAerjik, %16'sının dopaminerjik olduğu görülmüştür (Kim, 1997). GABA beyindeki önemli inhibitör transmitterdir ve yapılan pek çok çalışma ile SNr ve nöbet kontrolü arasındaki önemli bağlantıyı ortaya koymuştur (Castillo, 2010).

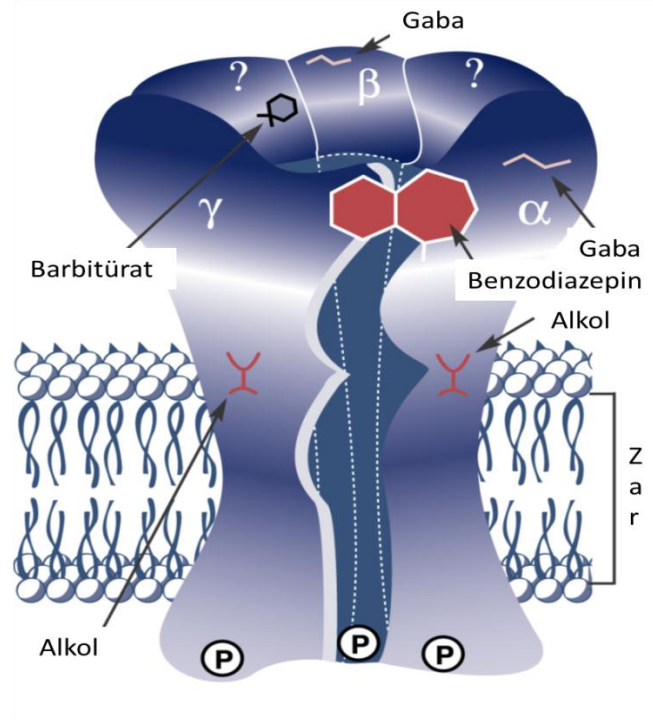
SNr ana inputu striatumdan alır. Bu iki yolla olmaktadır; direkt yolda striatumdan SNr'ye doğrudan bağlantı mevcuttur. İndirekt yolda ise bağlantı striatumdan GPe'ye, GPe'den STN'ye (GABAerjik), STN'den SNr (glutamaterjik)'yedir. Yani striatum SNr üzerinde inhibisyonu direkt yol üzerinden yaparken, eksitasyonu indirekt yol üzerinden yapmaktadır. SNr'nin efferenti talamus ve superior kollikulustur (Tepper ve ark., 2007)

1.15. GABA ve GABA Reseptörleri

GABA (γ -amino bütirik asit), GABAerjik nöronlarda glutamattan glutamik asit dekarboksilaz (GAD) ile üretilir ve sinaptik veziküllerle salınır. GABA'nın salınımı

veziküler olduğu gibi nöron ve glialardan nonveziküler şekilde de salınır. Geri emilimi ise nöron ve glialardaki GABA taşıyıcıları (GAT) ile olmaktadır. GABA beyinde hemen hemen tüm bölgede bulunan primer inhibitör transmitterdir. Sinaptik inhibisyon GABA'nın presinaptik uçtan salınması ile geçici olarak postsinaptik reseptörlerde aktivasyona neden olarak sağlanmaktadır. Ekstraselüler ortamda azalan GABA miktarı, tonik inhibisyonla sonuçlanan ekstrasinaptik ortamda GABA reseptörlerinin aktivasyonuna neden olmaktadır (Markwardt ve Overstreet-Wadiche, 2008). GABAerjik uyarımın spesifik etki ve mekanizması farklı özelliklere sahip olan 3 tip GABA reseptörüne bağlıdır. Bu reseptörler $GABA_A$, $GABA_B$ ve $GABA_C$ reseptörleridir. $GABA_A$ ve $GABA_B$ reseptörleri yaygın olarak tüm beyinde bulunurken, $GABA_C$ reseptörleri $GABA_A$ reseptörleri gibi iyon geçirgenliğine sahipken farklı farmakolojik özelliklere sahiptir ve beyinde az miktarda bulunmaktadır. $GABA_B$ reseptörleri presinaptik ve postsinaptik bölgede G proteinine bağlı olarak bulunur. $GABA_A$ reseptörleri ise ligand kaplı iyon kanallarıdır. Bu direkt membran hiperpolarizasyonuna neden olan hızlı sinaptik inhibisyonu sağlar. Sinaptik inhibisyon primer olarak aksonun başlangıç segmenti, soma ve dendrit üzerindeki GABAerjik sinapslarla oluşturulur. $GABA_A$ reseptörleri çoğunlukla Cl^- ve az miktarda HCO_3^- geçirgen iyon kanallarıdır. Nöronların Cl^- kanalının açılması, hücrenin hiperpolarize olmasına neden olur. Böylece hücre daha zor uyarılabilir hiperpolarize hale gelir. GABA'nın inhibitör nörotransmitter olarak bu şekilde rol oynamaktadır (Ge ve ark., 2006; Markwardt ve Overstreet-Wadiche, 2008).

$GABA_A$ reseptörleri 5 alt protein ünitesinden oluşmaktadır. 2 α , 2 β ve 1 γ alt protein ünitelerinden oluşmaktadır. Ekstraselüler ortam tarafında protein çubukların yuvarlak uç kısımları ve bu kısımlar arasındaki içyüz bölgesi GABA ve benzodiazepinlerin bağlandığı bölgedir. Dış hücre membranı ile sarılan proteinlerin silindirik şeklinde olan kısmı ise anesteziklerin, nörosteroidlerin ve alkolün bağlandığı bölgedir. Bu 5 alt ünitenin bileşerek oluşturduğu kompleksin orta kısmı ise iyon geçişinin olduğu kanalı oluşturmaktadır (Şekil 17) (Hevers and Lüddens, 1998).



Şekil 17. GABA_A alt üniteleri ve ligant kaplı iyon kanal kompleksi (Mihic ve Harris, 1997)

MATERYAL-METOD

1. HAYVANLAR

Deneyler için 21 adet gebe Wistar albino sıçandan elde edilen, 45 günlük dişi 35 adet Wistar albino sıçan kullanıldı. Hayvanlar Ondokuz Mayıs Üniversitesi (OMÜ) Tıbbi ve Cerrahi Araştırma Merkezi'nden temin edildi. Hamile sıçanlardan her grupta 3 adet olacak şekilde 7 grup oluşturuldu. Ancak 2. grupta 4 ve 7. grupta 2 adet gebe sıçan kullanıldı (Tablo 8). İlk üç gruba gebeliğin 1 – 5., diğer üç gruba ise gebeliğin 6 – 15. günlerinde, sırasıyla OXC (100 mg/kg/gün), GBP (50 mg/kg/gün) ve Serum Fizyolojik (SF; %0,9 NaCl, 1,5 ml/gün) gavaj yoluyla verildi. SF verilenler kontrol grubu olarak değerlendirildi. Hiçbir uygulamanın yapılmadığı grup ise pür kontrol grubu olarak belirlendi.

Tablo 8. Çalışmadaki gruplara göre kullanılan gebe sıçan sayısı

Uygulanan maddeler / Uygulama günleri	GABAPENTİN	OXCARBAZEPİ N	SF KONTRO L	PÜR KONTRO L
1-5. Günler	4	3	3	2
6-15.Günler	3	3	3	

Yavru sıçanlar elde edildikten sonra gruplar şu şekilde oluşturuldu;

- 1. grup (G-1):** Gebeliğin 1 – 5. günleri, OXC 100 mg/kg/gün doza maruz kalan hamile sıçanlardan elde edilen 5 adet yavru sıçan,
- 2. grup (G-2):** Gebeliğin 1 – 5. günleri, GBP 50 mg/kg/gün doza maruz kalan hamile sıçanlardan elde edilen 5 adet yavru sıçan,
- 3. grup (G-3):** Gebeliğin 1 – 5. günleri, serum fizyolojik 1,5 ml/gün doza maruz kalan hamile sıçanlardan elde edilen 5 adet yavru sıçan,
- 4. grup (G-4):** Gebeliğin 6 – 15. günleri, OXC 100 mg/kg/gün doza maruz kalan hamile sıçanlardan elde edilen 5 adet yavru sıçan,
- 5. grup (G-5):** Gebeliğin 6 – 15. günleri, GBP 50 mg/kg/gün doza maruz kalan hamile sıçanlardan elde edilen 5 adet yavru sıçan,

6. grup (G-6): Gebeliğin 6 – 15. günleri, serum fizyolojik 1,5 ml/gün doza maruz kalan hamile sıçanlardan elde edilen 5 adet yavru sıçan.

7. grup (G-7): Tüm gebelik süresince hiçbir uygulamaya maruz kalmayan hamile sıçanlardan elde edilen 5 adet yavru sıçan.

OMÜ Cerrahi Araştırma Merkezi'nden elde ettiğimiz 21 adet dişi sıçan ve çiftleştirmede kullanılacak olan erkek sıçanlar 2 gün ayrı kafeslerde tutuldu. Sonrasında dişi ve erkek sıçanlar bir gece aynı kafese alınarak çiftleşmeleri sağlandı. Çiftleşmeden sonraki gün vajinal plak görülen sıçanlar hamile olarak değerlendirildi (gebeliğin 0. günü). Gebe sıçanlar her grup için ayrı ayrı kafeslere alındı.

Hamile sıçanlar standart plastik kafeslerde, sıcaklığı $22^{\circ}\text{C} \pm 1$ olan odalarda tutuldu. Dozaj dönemleri olan gebeliklerinin ilk 1-5. ve 6-15. günlerinde günlük olarak tartıldı ve ağırlıklarına göre ilaç dozaj ayarlamaları yapıldı. İlaçlar SF ile hazırlanarak her gün aynı saatte gavaj yoluyla verildi. Kontrol grubundakilere sadece SF verilirken pür kontrol grubundaki sıçanlara ise hiçbir işlem yapılmadı. Yavru sıçanlar yine sıcaklığı $22^{\circ}\text{C} \pm 1$ olan odalarda postnatal 15. güne kadar anneleriyle birlikte olmak üzere postnatal 45. güne kadar tutuldu ve bu süre boyunca ilave herhangi bir işlem yapılmadı. Kırkbeşinci günün sonunda yavru dişi sıçanlar buldukları ortamda perfüze edildi. Hayvanlara uygulanan tüm işlemler OMÜ Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu kararına ve yönergesine uygun etik kurallar doğrultusunda gerçekleştirildi.

1.2. İlaçların Temini ve Hazırlanması

Çalışmada kullanılan etken maddeler Biofarma İlaç San. ve Tic. A.Ş.'den (Türkiye) temin edildi. Toz halde temin edilen bu maddeler aşağıdaki şekilde hazırlandı (Petrere ve Anderson, 1994; Fox ve ark., 2003; Cansu ve ark., 2010);

Oxcarbazepin: Sıçanlar günlük olarak tartıldı ve OXC uygulanan gruplara (G-1 ve G-4) 100 mg/kg/gün verilecek şekilde uygulama dozu hesaplanarak 1,5 ml SF ile sulandırılıp gavaj yoluyla verildi.

Gabapentin: Sıçanlar günlük olarak tartıldı ve GBP uygulanan gruplara (G-2 ve G-5) 50 mg/kg/gün verilecek şekilde uygulama dozu hesaplanarak 1,5 ml SF ile sulandırılıp gavaj yoluyla verildi.

2. ÖRNEKLEME STRATEJİSİNİN BELİRLENMESİ

Stereolojik çalışmalarda etkili ve tarafsız sonuçlar elde edebilmenin en önemli aşamalardan birisi de örnekleme stratejisidir. Uygun örnekleme stratejisi ile elde edilmek istenen parametreye etkin ve daha ekonomik şekilde ulaşılabilmektedir. Bu nedenle asıl çalışmamızdan önce uygun örnekleme stratejisini elde edebilmek için pilot çalışmalar yapıldı. Kullanacağımız hayvan, kesit sayısı, kesit alanları ve nöron sayımı seviyesindeki örneklemler ile ilgili stratejiler ilgili literatür çerçevesinde gerçekleştirildi (Gundersen ve Østerby, 1981; Gundersen ve Jensen,1987; Gundersen ve ark., 1999).

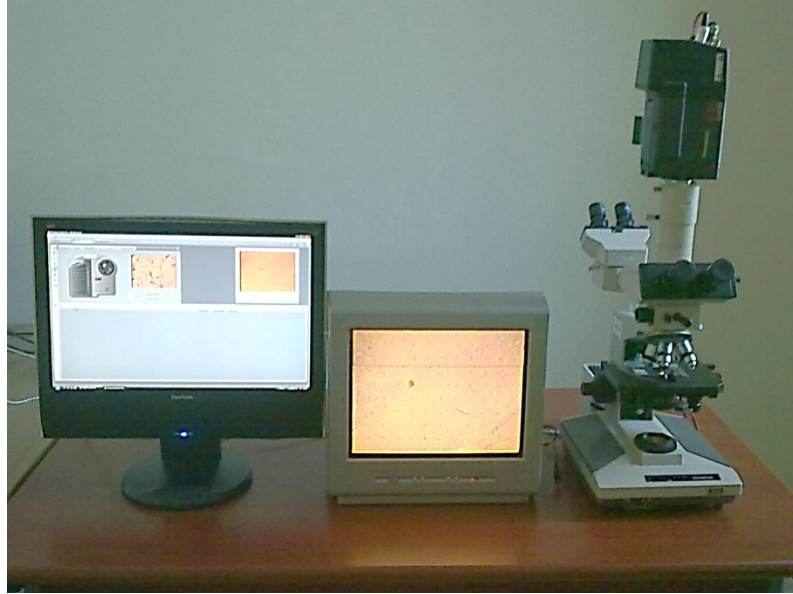
Literatürde $\sim 0,05$ 'lik bir hata katsayısı elde etmede her grup için yaklaşık 5 adet hayvan kullanmanın yeterli olduğu belirtilmiştir (Cruz-Orive ve Weibel, 1990). Bu nedenle her bir grupta 5 adet hayvan kullanıldı. Yine literatürler ışığında makul bir hata katsayısı elde edebilmek için yaklaşık 7-10 kesit almanın ve yaklaşık 100 kadar partikül saymanın yeterli olacağı belirtilmiştir (Gundersen ve Jensen,1987; Pakkenberg ve Gundersen, 1988; Gundersen ve ark., 1999).

Çalışmamızı fiziksel disektör kurallarına göre belirlediğimizden dolayı her bir bloktan 7-10 kesit çifti elde etmeyi amaçladık. Kesit kalınlığı ise nukleustaki nöronların çapına göre ayarlandı. Çalışma alanındaki küçük nöronların çapı 10-15 μm olduğundan disektör yüksekliği disektör sayım kuralı gereği (Sterio, 1984), sayımı söz konusu olan objelerin yüksekliklerinin yarısından fazlası olmamalıdır. Bu nedenle kesit kalınlığı 5 μm olarak belirlendi. Daha sonra blok haline getirilen beyin dokusu içerisindeki SN'den $\sim 7-10$ kesit çifti elde edecek şekilde kesit örnekleme oranı belirlenmeye çalışıldı. Bu amaçla her gruptan birer blok alınarak SN'den sistematik rasgele örnekleme (SRÖ) ile 5 μm 'lik koronal kesit çiftleri alındı. Bu işleme tüm SN tükeninceye kadar devam edildi. G-1, G-2, G-3 ve G-6'ya ait hayvanlarda SRÖ ile her 45. kesit, G-5 ve G-7'ye ait hayvanlarda ise SRÖ ile her 55. kesit, G-4'e ait hayvan içinse her 35. kesit çiftlerinin alınmasının uygun olacağı tespit edildi. Böylece kesit örnekleme oranı olan "k" değeri G-1, G-2, G-3 ve G-6 için 45; G-5 ve G-7 için 55, G-4 için ise 35 olmuştur.

Kesit seviyesinde örnekleme stratejisi belirlendikten sonra ikinci aşama ise SN'ye ait her bir kesitte alan örneklemesinin yapılması ve sayım çerçevesinin büyüklüğünün tespit edilmesidir. Bu, literatürdeki örnekleme (Pakkenberg ve Gundersen, 1988; Gundersen ve ark., 1999) stratejilerine göre belirlendi. Buna göre

kesit alanları SRÖ ile en az 50 adım olacak şekilde taranır. Her adımda yaklaşık 3-4 tanecik sayılacak şekilde sayım çerçevesinin büyüklüğü ayarlanır ve toplam olarak 100-200 adet taneciğin sayımı sağlanır. Ancak çalışma alanı olan SNe'deki nöronların seyrek yerleşim göstermesi nedeniyle, bu kadar tanecik rakamına ulaşabilmek için yaklaşık 100 kesit alanı elde etmek gerekti. Bu nedenle kesit alanları 50 adım yerine 100 olacak şekilde tarandı.

Çalışmada kullanılan alan örnekleme şekli Korkmaz ve ark. (2000) tarafından geliştirilen uygulamaya göre ve ilgili çalışmada belirtilen esaslara göre yapıldı. Kesit alanlarının örnekleme ve nöron sayım işlemi bilgisayar ortamında gerçekleştirildi. Bunun için görüntü yakalama kartı (Pinnacle, Studio Movie Box Plus 710) olan bir bilgisayar (Pentium Core-2 Duo) ve buna bağlı bir mikroskop (Olympus BH-2, Japonya) ve kamera sisteminden (Panasonic F10 CCD) oluşan bir düzenek kullanıldı (Şekil 18).



Şekil 18. Kesit alanlarının örnekleme, eşdeğer görüntü alanlarının kaydedildiği ve sayımın yapıldığı mikroskop ve bilgisayar düzeni. SNe'ye ait kesit çiftlerinden örnek kesitte, sol SNe'ye ait görüntü 3,2x objektif aracılığıyla monitöre düşürüldü. Örneklenen alan büyük büyütmede (40x objektif büyütmesi) görüntülendi ve kaydedildi. Bu alanın gözlem kesitindeki eşdeğer alanı da bulunarak kaydedildi. Daha sonra bu görüntüler bilgisayarda eş zamanlı görüntülenerek sayım gerçekleştirildi

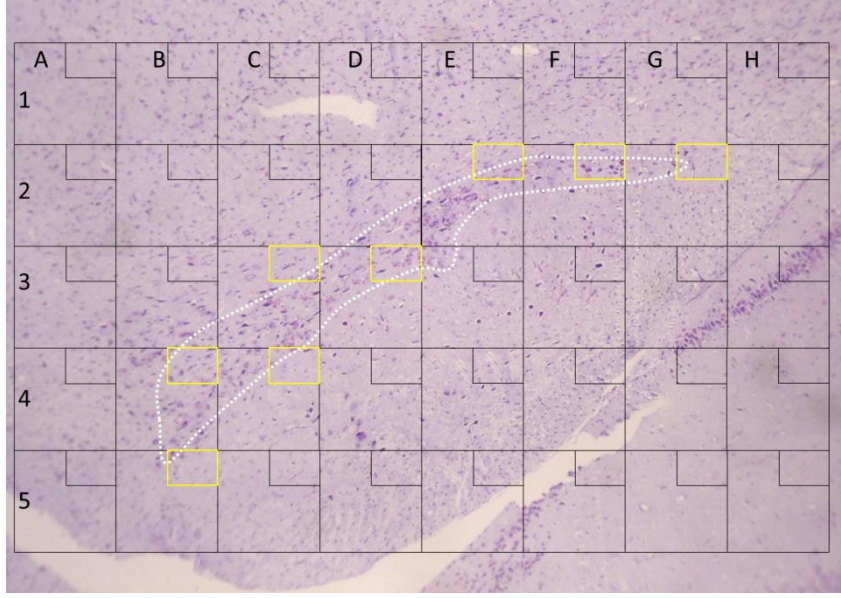
SNe'de sayım yapılacak alanları belirleyebilmek için, örneklenen SNe'ye ait kesitlerin tek tarafındaki (örneğin sol taraf) toplam alan, nokta sayımı ile tespit edildi (Gundersen ve ark., 1988a). Bu işlem için, bir hayvana ait kesit çiftlerinden birinin

izdüşümü monitöre düşürüldü ve monitör üzerine yerleştirilen asetat nokta sondası ile SNc'ye düşen toplam nokta sayısı hesaplandı. Toplam SNc alanı, SNc izdüşümlerine düşen toplam nokta sayısının her bir noktanın temsil ettiği alan ($180 \times 180 \mu\text{m}^2$) ile çarpılmasıyla elde edildi. Örneğin, G-2'deki bir hayvanın örneklenen sol SN'ye ait izdüşümlerin toplam alanı $3.402.000 \mu\text{m}^2$ hesaplanmıştır. Yaklaşık 100 alan saymak istediğimizden hesaplanan değer 100'e bölündü. $3.402.000 \mu\text{m}^2/100= 34.020 \mu\text{m}^2$ değeri bulundu. Bu değer yaklaşık $190 \times 190 \mu\text{m}^2$ 'lik bir alanı ifade eder (x ve y düzlemlerindeki değer). Doku seviyesindeki bu değer küçük büyütme (3,2x objektif büyütmesi) göre asetat üzerinde $2,6 \times 2,6 \text{ cm}^2$ 'lik bir alanı temsil etmektedir. Asetata $2,6 \times 2,6 \text{ cm}^2$ ebatında kareler içeren bir şablon oluşturuldu. Sonraki aşamada sayımın yapılacağı büyütmede (40x objektif büyütmesi) sayım çerçevesinin ölçüleri belirlendi. $70 \times 100 \mu\text{m}^2$ 'lik alana sahip bir sayım çerçevesinin yeterli olacağı tespit edildi. Bu sayım çerçevesi 3,2x objektif büyütmede $0,95 \times 1,35 \text{ cm}^2$ 'ye denk gelir ve sayımın yapılacağı fiziksel disektör alanlarını temsil eder. Bu küçük kareler asetattaki $2,6 \times 2,6 \text{ cm}^2$ 'lik karelerin sağ üst köşelerine çizildi (Şekil 19).

	A	B	C	D	E	F	G	H
1								
2								
3								
4								
5								

Şekil 19. Tüm gruplarda kullanılan alan örnekleme asetatının çizimi

Hazırlanan bu asetat, kesitlerdeki SNc izdüşümleri üzerine rasgele atılarak ilgili yapıya ait alanların örneklenmesi gerçekleştirildi (Şekil 20).



Şekil 20. Sol SNc'ye ait bir izdüşümde kesit alanlarının örneklenmesi. Sarı renkli alanlar örneklenen alanlardır

3. HİSTOLOJİK İŞLEMLER

Tespit işlemi için fosfatla tamponlanmış %10'luk nötral formalin çözeltisi kullanıldı (Bancroft ve Stevens, 1996).

3.1. Nötral Formalin Solüsyonunun Hazırlanması

Formaldehit (~%37)	100 ml
Na ₂ HPO ₄ (anhidroz)	6,5 g
NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O	4,0 g
Distile su	900 ml

Solüsyonun pH'sı 7,0 olacak şekilde ayarlanarak kullanıma hazır hale getirildi.

3.2. Perfüzyon ve Tespit İşlemleri

Doğumlarından perfüze edildikleri 45. güne kadar OMÜ Tıbbi ve Cerrahi Araştırma Merkezinde bakılan sıçanların perfüzyon işlemleri yine aynı yerde

gerçekleştirildi. Sıçanlara işlemden önce Ketalar[®] (100 mg/kg) ve Rhompun[®] (10 mg/kg) intraperitoneal verilerek derin anestezi sağlandı. Sıçanların anestezi düzeyleri ekstremitelere refleksi ile kontrol edildi ve kiloları kaydedildi. Daha sonra göğüs kafesleri keskin bir makas ile açıldı. Akciğerlere zarar vermeden kalp ortaya çıkarıldı. Kanül ile sol ventriküle girilerek 0,5 ml heparin intrakardiyak verildi. Hemen sonrası yaklaşık 35 °C sıcaklığındaki SF verilerek sağ atriuma bir kesi atıldı ve kanın buradan dışarı akması sağlandı. Sağ atriumdan gelen sıvı berraklaşınca kadar her bir hayvana ~50-100 ml SF verildi. Ardından 35 °C sıcaklığındaki %10'luk nötral formalin solüsyonu yaklaşık 100-150 ml verilerek intrakardiyak perfüzyon işlemi tamamlandı. Perfüzyon sonrası beyinler beyin saplarıyla birlikte çıkarıldı ve tartıldı. Çıkarılan beyinler aynı fiksatif içerisinde en az 48 saat bekletildi. Daha sonra beyinlerin frontal 1/3'lük kısımları, beyin saplarıyla birlikte koronal yönde kesilerek uzaklaştırıldı ve geri kalan doku rutin doku takip işlemine alındı.

3.3. Doku Takibi

Tespit solüsyonundan çıkartılan dokular bir gece akar suda yıkandıktan sonra Tablo 9'da belirtilen doku takip işleminden geçirildi.

Tablo 9. Doku takip işlemine ait basamaklar

DOKU TAKİP MATERYALLERİ	SÜRE
% 70 Alkol	1 +1 saat
% 80 Alkol	1 +~16 saat
% 96 Alkol	1,5 + 1,5 saat
Absolu alkol	1,5 + 1,5 saat
Kloroform	1 + 1 saat
Kloroform+Paraplast [®]	1 + 1 saat
Paraplast [®]	~16 saat
Paraplast [®]	1 saat
Paraplast [®]	1 saat
Paraplast [®]	1 saat
Gömme (Paraplast [®])	

3.4. Kesit Alma

Paraplast® blokları haline getirilen her bir SN'den, SRÖ ile rotary mikrotom (Thermo Shandon, İngiltere) kullanılarak koronal yönde 5 µm kalınlığında kesit çiftleri alındı. Örnelemeye SN henüz gelmeden başlandı ve tüm yapı tükenene kadar kesit alma işlemine devam edildi. Bir kesit çifti Nissl boyaması, diğer kesit çifti ise immünohistokimyasal boyamada kullanılmak üzere ardı ardına iki kesit çifti biçiminde disektör çiftleri alındı. Sonrasında kesitlerin ~40 – 45°C'lik sıcak su havuzunda açılması sağlandı. Her bir kesit çifti ayrı adhezivli lamlara (Marienfeld, Histobond) alındı. Daha sonra etüvde 1 saat bekletilerek dokuların lama yapışması sağlandı.

3.5. Boyama İşlemleri

Çalışmada Cresyl violet asetat ile Nissl boyaması ve anti-TH primer antikoru kullanarak immünohistokimyasal boyama gerçekleştirildi.

3.5.1. Cresyl Violet Asetat Boyasının Hazırlanması

0,1 g Cresyl violet asetat 100 ml distile su ile çözüldü. Bu solüsyona da 10-15 damla %10'luk asetik asit damlatılarak kullanıldı (Bancroft ve Stevens, 1996).

3.5.2. Cresyl Violet Asetat ile Boyama İşlemi

Kesit çiftleri deparafinizasyon işleminin ardından Cresyl violet asetat solüsyonu içerisinde ~10 dk. bekletildi. Daha sonrasında %96'lık alkolle dokuların diferansiyasyonu kontrollü bir şekilde gerçekleştirildi. Ardından iki kez absöü alkolde ve iki kez de ksilende 10'ar dakika tutuldu. Son basamak olarak bir saat kadar ksilende bekletilerek Entellan® ile kapatıldı

3.5.3. İmmünohistokimyasal Boyama Solüsyonları

İmmünohistokimyasal boyama işlemlerinde kullanılan solüsyonlar aşağıdaki şekilde hazırlandı;

TBS Buffer (Tris Buffer Saline):

Tris (Sigma)	6,06 g
NaCl	7,0 g
Distile Su	1000 ml

TEG Buffer (Tris Egta):

Tris (Sigma)	1,211 g
EGTA (Merck)	0,3 g
Distile su	1000 ml

Tampon solüsyonu 1:

BSA (Santa Cruz Biotech.)	% 0,1
Triton-X (Sigma)	% 0,3
TBS	100 ml

Tampon solüsyonu 2:

Tris (Sigma)	5,0 g
Distile su	1000 ml

3.5.4. İmmünohistokimyasal Boyama İşlemi

İmmünohistokimyasal boyamada primer antikor olarak anti-TH rabbit poliklonal antikorunu (1:1000, Millipore, Billerica, Massachusetts, USA), sekonder antikor olarak ise anti-rabbit HRP IgG (1:200, Dako, Glostrup, Denmark) kullanıldı. Kromojen olarak da 3,3'-diaminobenzidin tetra hidroklorit (DAB, Labvision, Thermo Fisher Scientific Inc., Michigan, USA) ile hücrelerdeki immun reaktivite görüntülendi. Sadece sekonder antikor uygulanan preparatlar negatif kontrol olarak değerlendirildi. İmmünohistokimyasal boyama işlemlerine ait basamaklar Tablo 10'da ayrıntılı olarak verilmiştir.

Tablo 10. İmmünohistokimyasal boyama işlem basamakları

YAPILAN İŞLEMLER	SÜRELER
Kesitler etüvde bekletildi	15-20 dakika
Ksilen	2x15 dakika
Absolu Alkol	10 dakika
%96 Alkol	10 dakika
%80 Alkol	10 dakika
%70 Alkol	10 dakika
Distile su	5 dakika
H ₂ O ₂ blokaj	30 dakika
TEG buffer ile antijenlerin açığa çıkarılması	750 W mikrodalgada 10 dakika
Tampon solüsyonu 1	3x 5 dakika
Primer antikor	1 saat
Tampon solüsyonu 1	3x5 dakika
Sekonder antikor	1 saat
TBS	3x5 dakika
Kromojen	10 dakika
%70 Alkol	10 dakika
%80 Alkol	10 dakika
%96 Alkol	10 dakika
Absolu Alkol	10 dakika
Ksilen	2x10 dakika
Ksilen	1 saat
Entellan®	Kapama

4. SN'İN TANIMLANMASI VE SINIRLARININ BELİRLENMESİ

Stereolojik çalışmalardaki önemli aşamalardan bir tanesinde, kesitler halindeki yapının her kesit seviyesinde sınırlarının doğru bir şekilde belirlenmesi ve sayım yapılacak objenin doğru olarak tanımlanmasıdır (Gundersen,1992; Howard ve Reed, 1998).

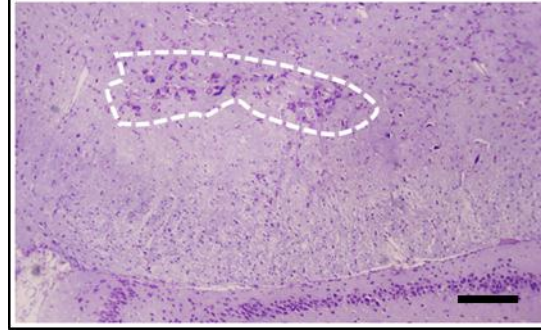
SN'de gövde çaplarına göre büyük, orta ve küçük olmak üzere 3 tip nöron bulunur. Genellikle nigral hücreler 3-5 primer dendrite sahiptir ve dağınık bir şekilde dallanır. Bazı nöronlardaki dendritler ince dikensi şekildedir. Küçük çaplı nöronlar her alanda bulunur ve ince dendritleri yönelimleri farklı olan küçük dendritik alanları oluştururlar. Bu nöronlara ara nöron adı verilmektedir. Orta büyüklükteki hücreler SNC'de bulunur. Nigroneostriatal yolu oluşturdukları kabul edilen bu dopaminerjik nöronlar, SNC'ye dik olan uzun dendritlerini SNr'ye gönderirler. Bu nöronların dendritlerinin çoğu SNC'de kalır. Bu hücrelerin aksonları medio-dorsal yönelim gösterirler. Kollaterasyonları yoktur. Büyük çaplı ve orta büyüklükteki nöronlar SNr'de bulunurlar. Dorso-medial yüzdeki hücreler rostro-kaudale doğru yönelim gösterir ve kabaca SNC'ye dik seyrederek. Peripedinküler alandakiler ise crus serebriye paralel seyredecek şekilde belirgin bir yönetime sahiptirler. Bazı SNr hücreleri akson kollateralleri gösterirken diğerleri kendi uzunlukları boyunca dallanmadan kalırlar. Aynı tipteki büyük ve orta çaplı hücreler pars lateralede de bulunur. Bu hücreler crus serebriye paralel olacak şekilde SNr'ye ventral dendritler gönderirler. Ancak daha kısa olan bazı dendritleri SNr'de kalır. Genel olarak SN tabaka şeklinde bir yapılaşma gösterir. En üstteki hücresel tabaka SNC, ikincisi pars retikulata'nın dorso-medial alanıdır ve burada pars kompakta ile retikülatanın dendritleri rostro-kaudal ve dorso-ventral yönelim gösterirler. Üçüncü tabaka ise tüm alanlardaki dendritlerin crus serebriye paralel yöneldiği peripedinküler alandır (Juraska ve ark., 1977).

İnsan fötüsü SN'sinde yapılan çalışmalarda yaklaşık 12. embriyonik haftada dopaminerjik (TH pozitif) nöronların varlığı gösterilmişken, alt nukleusların ayırımı yapılamamaktadır. Ancak 19. embriyonik haftadan sonra alt nukleusların ayırımı yapılabilmektedir (Aubert ve ark., 1997).

SN, medial sulkustan lateral sulkusa kadar crus serebrinin alt kenarında yerleşmiş durumdadır. Kaudal diensefalon seviyesinde tüm mesensefalon boyunca süperior serebral pedinkulun rostralinde sonlanır. Dorsolateralinde farklı yönelimli kuyruk kısmı bulunmaktadır.

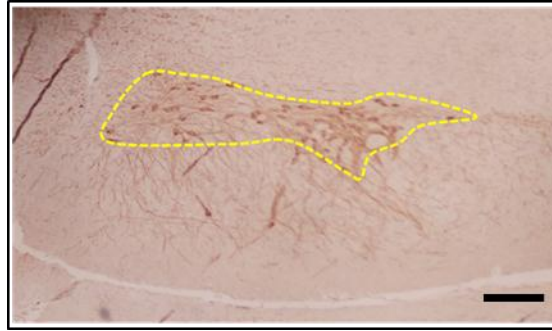
Alt nukleuslarından SNC'deki hücreler daha yıldızsı şekillidir ve Nissl boyaması ile diğer bölgedeki nöronlardan daha yoğun boyanırlar. Buradaki nöronların koronal düzlemde çapı yaklaşık 20-50 µm'dir. SNC'de dorsal yerleşimli nöronların dendritleri medio-lateral yönelim gösterirken, ventral yerleşimli nöronların dendritleri

ventro-dorsal yönelimlidirler (Nielsen ve ark., 2009). SNr'deki nöronlar ise daha yuvarlak ve çapları daha küçüktür. Ayrıca buradaki nöronlar Nissl boyamada SNc'dekiler kadar yoğun boyanmamakta ve daha seyrek bir dağılım göstermektedir (Şekil 21).



Şekil 21. SNc'ye ait profil kesikli çizgilerle gösterilmiştir (Nissl boyama, Bar: 300 µm)

İmmünohistokimyasal boyamada SNc'de bulunan dopaminerjik nöronların TH (+) boyanması ve bu nöronlara ait kalın dendritlerin SNr'ye uzanan görüntülerinin preparatlarda rahatlıkla seçilebilmesi SN'nin ve alt nukleuslarının sınırlarını belirlemede kolaylık sağlamaktadır (Şekil 22).



Şekil 22. SNc'ye ait profil kesikli çizgilerle gösterilmiştir (TH boyaması, 3,2x obj. büyütme, Bar: 300 µm)

Nissl boyama yapılan kesitlerde nöron ayrımı yapılmaksızın tüm nöronlar sayılırken, immünohistokimyasal boyama yapılan kesitlerde ise SNc'deki tüm TH (+) nöronlar sayıldı.

Stereolojik sayımlarda sayılan objenin iyi tanımlanması gerekmektedir. Çalışmadaki sayım objesi nöron olduğundan sayılan hücrenin nöron olup olmadığını belirlemeye yönelik bir takım ayırt edici kriterler dikkate alındı. Bu kriterlere uyan

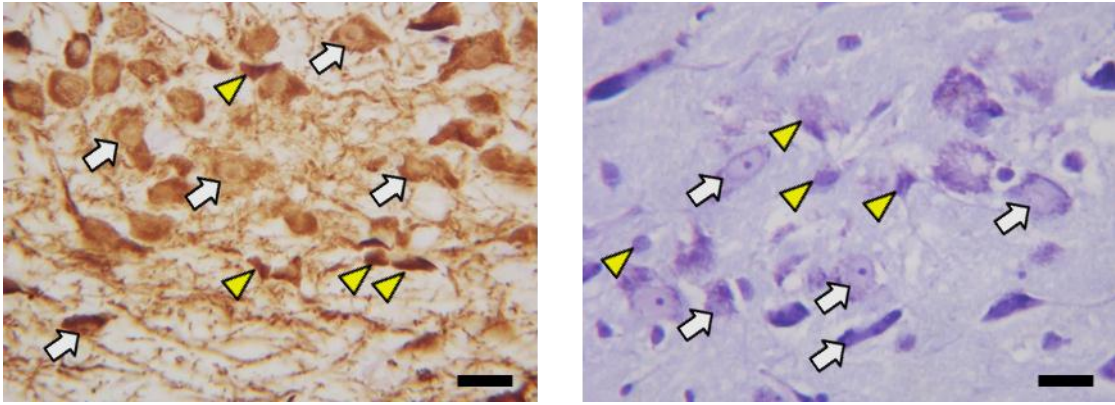
objeler nöron olarak değerlendirilirken, uymayanlar sayıma dahil edilmedi. Bu kriterler (Braendgaard ve ark., 1990; Bjungn ve Gundersen, 1993):

-Çekirdek boyutu ve kromatin dağılımı: Nöron ile glianın çekirdeklerinin boyutları farklıdır. Nöron çekirdekleri glia çekirdeklerine oranla daha büyüktür. Nöronun çekirdeği ökromatiktir.

-Sitoplazma ve sitoplazmik görüntü: Nöronlar çekirdeklerinin etrafında boyanmış belirgin bir sitoplazmaya sahiptir ve Nissl cisimciği içerirler. Glialarda böyle bir durum gözlenmez.

-Çekirdekçiği: Nöronların belirgin bir çekirdekçiği mevcuttur.

Yukarıda belirtilen kriterlere göre; ökromatik büyük bir çekirdeği, belirgin bir sitoplazması ve Nissl cisimciği olan ile sitoplazması seçilemeyen ancak belirgin bir çekirdekçiği olan objeler nöron olarak değerlendirildi (Şekil 23).



Şekil 23. Nöron sayımında esas alınan sayım kriterlerine uyan örnekler. Soldaki örnek immünohistokimyasal boyamaya (TH) ait, sağdaki ise Nissl boyamaya aittir. Sayımda nöron çekirdekleri esas alındığından nöron çekirdek izdüşümleri değerlendirildi. Ok (beyaz) ile gösterilenler nöron tanımlama kriterlerine uyarken, ok başı (sarı renkli) ile gösterilenler uymamaktadır (Bar: 25 µm)

5. STEREOLOJİK UYGULAMA

Stereolojik sayım, SN'nin alt nükleuslarından biri olan SNc'de gerçekleştirildi. Bu işlem yerine getirilirken Pakkenberg ve Gundersen (1988) tarafından tanımlanan disektör-Cavalieri metodu kullanıldı. Bu uygulamanın esası obje yoğunluğu (N_v) ile referans hacminin (V_{ref} , objelerin yer aldığı hacim) aynı kesitlerden elde edilmesine dayanır. Yani fiziksel disektörler ile elde edilen obje yoğunluğu (N_v), Cavalieri metodu ile elde edilen ilgili yapının hacmi ile çarpılması sonucu toplam hücre sayısı elde edilir;

$$N = N_v \times V_{ref}$$

5.1. Kesit Sayısı ve Sayım Alanlarının Örneklenmesi

Stereolojik sayımın ilk aşamasını oluşturan kesit örnekleme oranı pilot çalışmadaki gruplara göre belirlendi. SRÖ ile G-1, G-2, G-3, G-6 'da 45., G-5 ve G-7'de 55., G-4'te ise 35. kesit çiftleri alındı. Kesit çiftleri, eşzamanlı görüntülemek için kullanılan yaklaşımın gereği olarak (Ayas, 2005) aynı lam üzerine yanyana gelecek şekilde alındı (Şekil 24 A).

SNC'ye ait alanların örneklenmesi, görüntü yakalama kartı aracılığıyla monitöre düşürülen görüntülerde gerçekleştirildi (Şekil 24 A1). Yine pilot çalışmada ölçüleri belirlenen örnekleme asetatı bu monitöre yerleştirildi ve SNC'ye ait izdüşümlerle rasgele kesişmesi sağlandı. Alanların örneklediği bu aşama mikroskobun 3,2x objektifi aracılığıyla gerçekleştirildi. Bu uygulama ile kesit çiftlerinin birisindeki (örnek kesiti) SNC'nin sol kısmının bir bütün olarak görüntülenmesi sağlandı ve kesitteki yapıya ait izdüşümün örneklenmesi gerçekleştirildi. Böylece asetattaki küçük alanlar sayım alanları olarak belirlenmiş oldu (Şekil 24 A2).

5.2. Eşdeğer Alanlarının Bulunması ve Görüntülenmesi

Sayım alanları 3,2x objektifinde belirlendikten sonra SNC'nin bulunduğu bu konumdaki referans noktaları tespit edildi. Bunun için yakınlarındaki damar, sulkus gibi belirleyici yerler tespit edilerek not edildi. Monitördeki görüntülerin aynısı aynı zamanda, kullanılan görüntü yakalama kartının ara yüzünde de görüntülenmektedir (Şekil 24 B1). Ancak bu ara yüz küçük olduğundan örnekleme işlemi monitör üzerinde gerçekleştirildi. Bilgisayar ara yüzündeki görüntü sadece kayıt amaçlı kullanıldı.

Sonraki aşamada örneklenen sayım alanları sırasıyla monitördeki asetatın orta noktasına getirildi ve 40x objektif büyütmesine geçilerek elde edilen görüntüler resim formatında kaydedildi (Şekil 24 B2). Mikroskop tablasına dokunulmadan tekrar 3,2x objektife geçilerek gözlem kesitinde de bulunabilecek bir referans noktası (kan damarı, belirgin bir nöron, sulkus gibi) belirlendi. Mikroskoba bağlı aparatın ışıklı okunun ucu bu referans noktasına getirildi (Şekil 24 C1). Bundan sonra mikroskop tablası bu okun ucu ile gözlem kesitinde belirlenen aynı referans noktasına getirilinceye kadar hareket ettirildi. Daha sonra 40x objektife geçilerek örnek kesitinde elde edilen görüntünün

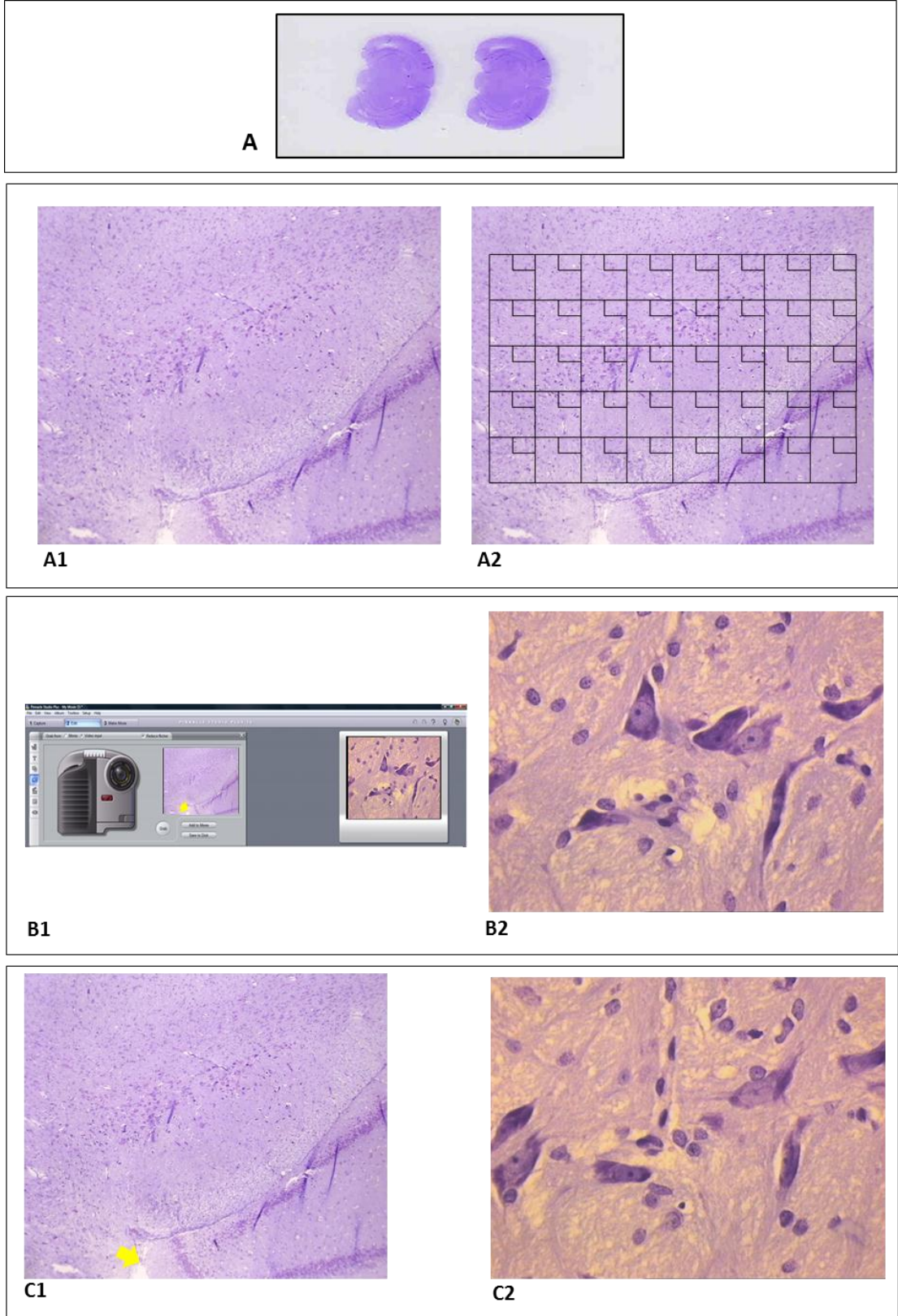
eşdeğer görüntüsü gözlem kesitinde de elde edildi ve bu görüntüde resim olarak kaydedildi (Şekil 24 C2).

Ardı sıra gelen alanları görüntülemek için yine 3,2x objektife geçildi ve belirlenen referanslara göre SNc profili eski koordinatlarına getirildi. İkinci sayım alanı tekrar monitörde orta noktaya getirilerek yukardaki adımlar yinelenerek diğer örneklenen alanların referans ve gözlem kesitine ait eşdeğer görüntüleri elde edildi. Bu işlem aynı şekilde tüm preparatlara uygulandı.

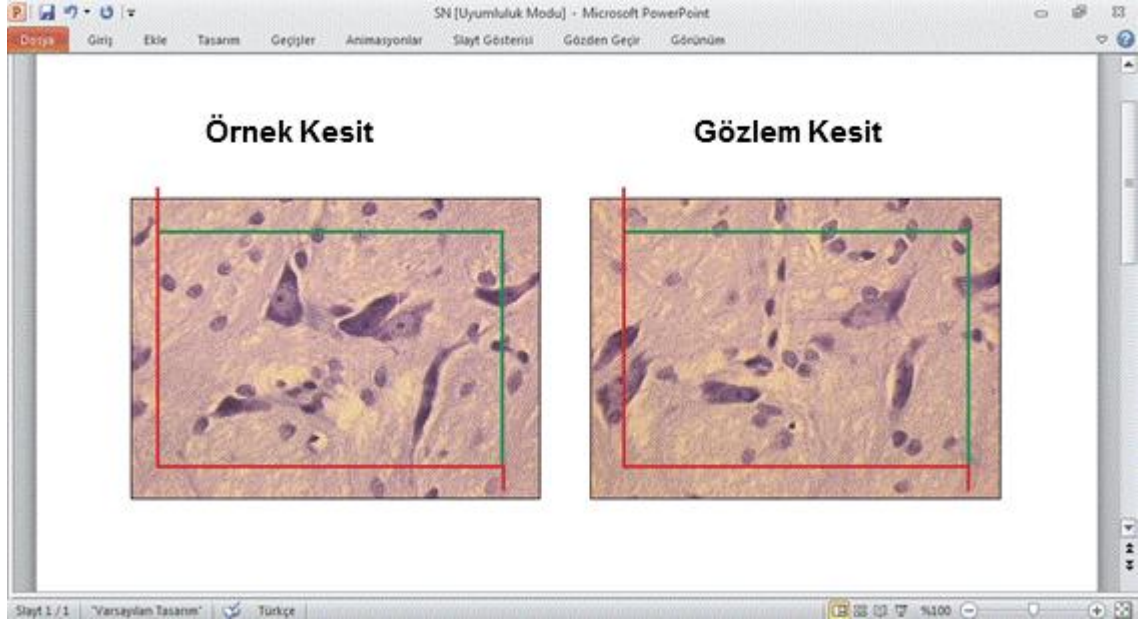
5.3. Fiziksel Disektör ve Sayım İşlemi

Sayım işlemi bilgisayarda gerçekleştirildi. Bunun için PowerPoint® programından yararlanıldı. Disektörü oluşturan eş değer alanlara ait görüntüler bu programda yan yana gelecek şekilde yerleştirildi. Doku seviyesinde 70 x 100 µm² ebatındaki sayım çerçevemiz örnek kesitine ait görüntü üzerine düşürüldü (Şekil 25). Sayım, tarafsız sayım çerçevesi (Gundersen, 1977) kuralları doğrultusunda gerçekleştirildi. Buna göre örnek kesitinde yer alıp gözlem kesitinde yer almayan nöron izdüşümleri sayıldı. Bu izdüşümlerden sayım çerçevesinin sol ve alt kenarı ile bunların uzantılarına düşenler sayım dışı bırakıldı, sağ ve üst kenarı ile çerçevenin içersine düşen izdüşümler sayıma dahil edildi.

Gundersen (1986), Pakkenberg ve Gundersen'nin (1988) önerileri doğrultusunda çalışmanın etkinliğini artırmak için disektör çiftlerinin yönleri ters çevrilerek de kullanıldı. Böylece gözlem kesiti örnek kesit olarak alınırken, örnek kesiti gözlem kesiti olarak değerlendirildi. Yani uygulamaya örneklemenin bir katı kadar ilave farklı alanlar örneklenmiş gibi katkıda bulunmaktadır. Böylece elde ettiğimiz toplam nöron sayısına ait hata katsayısının düşürülmesi sağlandı.



Şekil 24. Kesit çiftlerinden birinde SNc izdüşümlerinin örneklenmesi ve eş değer alanlarının bulunup görüntülenmesi



Şekil 25. Disektör çiftlerine ait eşdeğer alanların eşzamanlı görüntülenip değerlendirilmesi işlemi PowerPoint® programında gerçekleştirildi. Sayım işlemi, örnek kesitinde olup gözlem kesitinde olmayan ayrıca tarafsız sayım çerçevesinin sağ ve üst (yeşil ile gösterilen) köşesi ile içine düşen nöron izdüşümleri sayılarak gerçekleştirildi. Çalışmanın etkinliğini artırmak için bu işlem gözlem kesitinde (bu durumda örnek kesiti konumuna geçmiş olmakta) olup, örnek kesitinde (bu durumda gözlem kesiti) olmayanlar sayıldı.

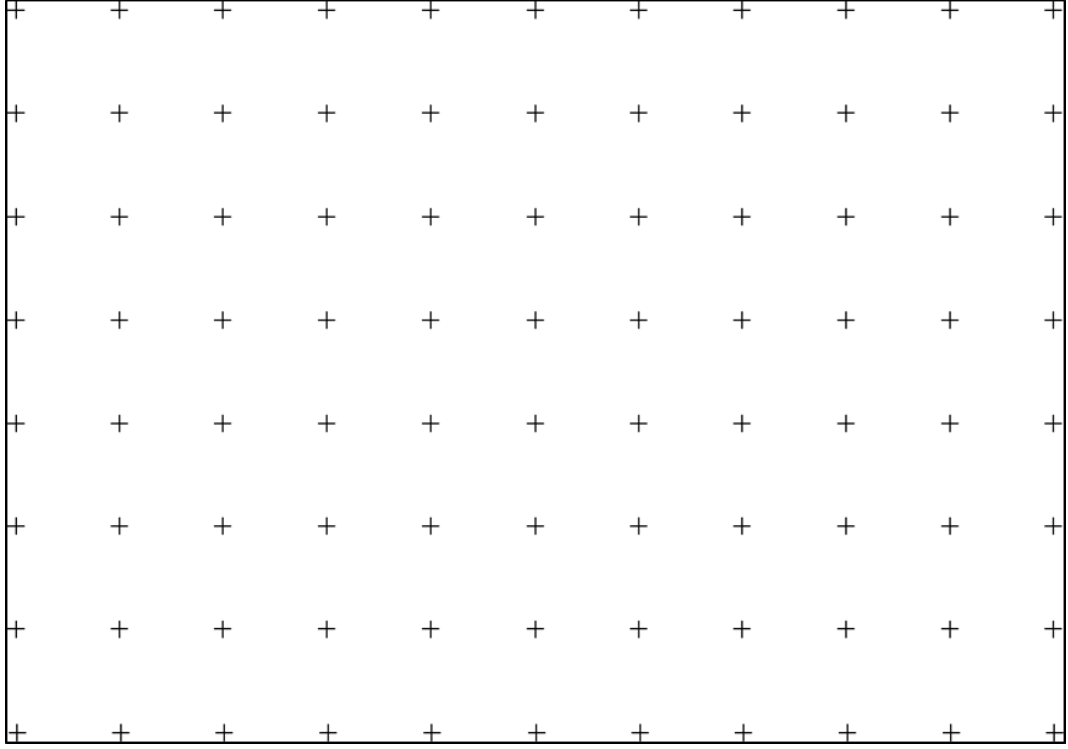
Sonuç olarak bu şekilde elde edilen nöron sayısı (ΣQ^-) belirlendi. Sayım işlemi disektör-Cavalieri uygulaması (Pakkenberg ve Gundersen 1988) prensiplerine göre gerçekleştirildiğinden, obje yoğunluğu (N_v) ile referans hacminin (V_{ref}) aynı kesitlerden elde edilmesi gerekmektedir. Yani fiziksel disektörle hesaplanan obje yoğunluğu (N_v), Cavalieri metodu ile de ilgili yapının hesaplanan hacminin çarpılması sonucu toplam hücre sayısı elde edilir ($N = N_v \times V_{ref}$). Bu yaklaşım ile her iki değer aynı kesitten elde edildiğinden dokuda meydana gelen deformasyon toplam hücre sayısı hesaplamasını etkilememektedir. Ayrıca kesit kalınlığının ölçümünü de gerektirmemesi kullanılan yöntemin en önemli avantajlarından biridir. Böylece toplam nöron sayısı (N) şu şekilde hesaplanmış olur;

$$N = N_v \times V_{ref} = [\Sigma Q^- / t \times \Sigma a (\text{çerçeve})] \times [t \times k \times a/p \times \Sigma P]$$

Pay ve payda da aynı kesitten elde edildiğinden t (kesit kalınlığı) değeri sadeleşir ve böylece formül şu şekilde olur;

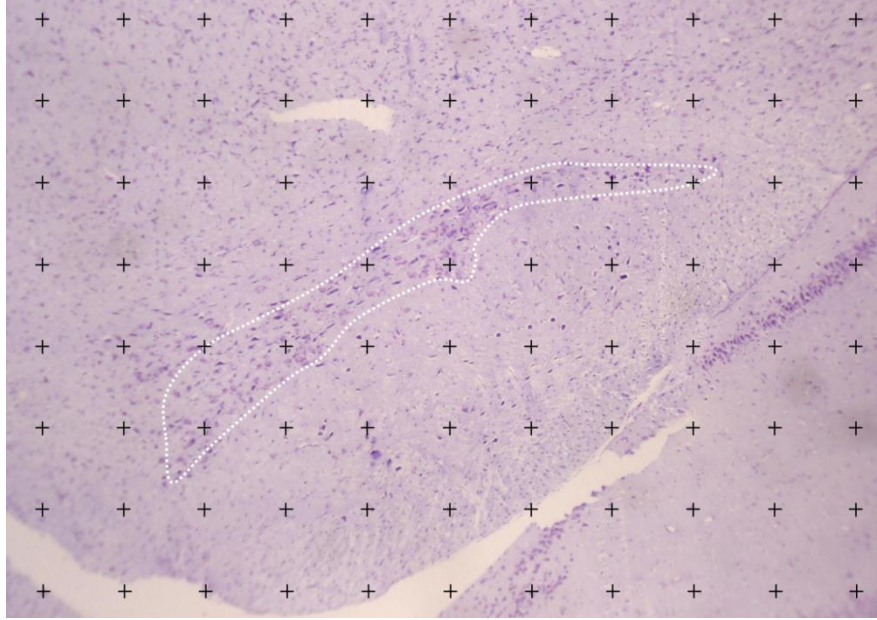
$$N = \bar{Q} \times \sum P \times k \times \frac{a/p}{a \text{ (çerçeve)}}$$

Disektör-Cavalieri yönteminde referans hacmin hesabı için noktalar içeren asetat şablon kullanıldı (Şekil 26). Sayım alanlarına sırasıyla rasgele düşürülen bu asetattki her bir nokta doku seviyesinde $32.400 \mu\text{m}^2$ 'lik alanı temsil etmektedir (a/p). Her bir alanda (a) sayılan objelerin ortalaması \bar{Q} ile ifade edilmektedir. 'k' kesitler arası mesafeyi gösterirken $\sum P$, SNe izdüşümlerine düşen toplam nokta sayısını temsil eder.



Şekil 26. Disektör-Cavalieri kombinasyonunda V_{ref} hesaplanmasında kullanılan noktali asetat şablonu. Bu şablon mikroskopun 3,2x büyütmesinde kullanıldı. SNe izdüşümlerine rasgelelen toplam nokta sayısı $\sum P$ ile gösterildi. Bu hesaplama için örneklenen çiftlerin sadece bir tanesi kullanıldı. Her notkanın temsil ettiği alan (doku seviyesinde $32.400 \mu\text{m}^2$) a/p ile gösterildi.

Hazırlanan bu asetat kesitlerdeki SNc izdüşümlerine rasgele düşürülerek ilgili yapıya ait nokta sayımı gerçekleştirildi (Şekil 27).



Şekil 27. Noktalı asetatın SNc izdüşümünü içeren bir kesitte uygulanması

6. İSTATİSTİKSEL ANALİZ VE HATA KATSAYISININ BULUNMASI

Gruplardan elde edilen ortalama toplam nöron sayılarının karşılaştırılmasında, gruplar arası farklılığı değerlendirmek için varyans analizlerinden ANOVA testi kullanıldı. Bu testi uygulamadan önce verilere ait normallik testi Shapiro-Wilk, homojenlik testleri ise Levene ile gerçekleştirildi. Verilerin karşılaştırılmasında çoklu ve ikili karşılaştırma testlerinden Tukey HSD ve Student – t testleri kullanıldı. SRÖ ile elde edilen kesit ve alanlardan sayımlarla hesapladığımız toplam nöron sayısına ait hata katsayısı yani HK değerinin hesaplanmasında Gundersen ve ark. 1999'da güncelleyerek ortaya koyduğu formül kullanıldı. HK değerinin bu referansa göre hesaplanması, hangi parametrelerin yer aldığı, bu parametrelerin nasıl oluştuğu, bir sıçanda yapılan nöron sayımı sonrasında ilgili HK değerinin nasıl belirlendiği ve sonuçta toplam nöron sayısının nasıl hesaplandığına ait detaylar Tablo 11'de gösterilmiştir.

Tablo 11. Nissl ile boyanmış G-2'ye ait 2 no'lu sıçanın sol SNe'de her bir kesitte sayılan nöron sayısı, toplam nöron sayısı ve ilgili hata katsayısının hesaplanması

Kesit No, i	Q_i^-	$Q_i^- \times Q_i^-$	$Q_i^- \times Q_{i+1}^-$	$Q_i^- \times Q_{i+2}^-$
1	10	100	120	210
2	12	144	252	348
3	21	441	609	798
4	29	841	1102	580
5	38	1444	760	646
6	20	400	340	360
7	17	289	306	221
8	18	324	234	144
9	13	169	104	0
10	8	64	0	0
11	0	0	0	0
TOPLAM	$\Sigma Q^- = 186$	A = 4216	B = 3827	C = 3307
HK (ΣQ^-)	$= \frac{\sqrt{\Sigma Q^- + [(3x(A - \Sigma Q^-) - (4xB) + C)/240]}}{\Sigma Q^-} = \frac{\sqrt{186 + [(3x(4216 - 186) - (4x3827) + 3307)/240]}}{186} = 0.07$			

1. k (kesit örnekleme oranı)45
2. a/p, μm^2 32 400
3. a (çerçeve), μm^2 7 000
4. \bar{Q} (disektör başına düşen izdüşüm sayısı)0,686916
5. ΣP (SNe izdüşümlerine düşen toplam nokta sayısı)130

Toplam Nöron Sayısı,;
$$N = \bar{Q} \times \Sigma P \times k \times \frac{a/p}{a \text{ (çerçeve)}}$$

$$N = \sim 18600$$

* HK'nin hesaplanmasında her i. kesitte sayılan nöron çekirdeklerinin sayısı esas alınır. Burada kullanılan formülde 4 değişken yer alır; ΣQ^- , A, B ve C. ΣQ^- , her hayvanda SNe'nin yer aldığı kesit serisinde sayılan toplam çekirdek sayısını; A, serideki her kesitte sayılan çekirdek sayılarının kareleri toplamını ($Q_i^- \times Q_i^-$); B, her kesitteki toplam Q^- 'nin peşisıra gelen kesitteki ile çarpımlarının toplamını ($Q_i^- \times Q_{i+1}^-$); ve C, seride yer alan her kesitteki toplam Q^- 'nin kendisinden iki sıra sonra gelen kesitteki toplam Q^- ile çarpımlarının toplamını ifade eder ($Q_i^- \times Q_{i+2}^-$)

BULGULAR

1. PİLOT ÇALIŞMA İLE İLGİLİ GÖZLEMLER

Esas çalışmaya geçmeden önce çalışmanın ilk basamağı sıçanların gebe bırakılması oldu. Her grup için etik kurul kararıyla birer adet sıçan kullanıldı. Çalışmanın başında literatür ışığında ilaç dozajı OXC ve GBP için 100 mg/kg/gün olarak belirlendi. İlk kullanımda OXC uygulanan G-1 (1-5. günler) ve kontrol gruplarında gebelik elde edildi. Ancak OXC'un uygulandığı G-4 (6-15. günler) ve GBP'nin uygulandığı G-2 (1-5. günler) ile G-5 (6-15. günler) gruplarında gebelik elde edilemedi. İkinci denemede OXC uygulanan G-4'de (6-15. günler) gebelik elde edilirken G-2 (GBP, 1-5. günler) ve G-5 (GBP, 6-15. günler) gruplarında yine gebelik oluşmadı. Bu nedenle GBP uygulanan bu gruplarda ilaç uygulama dozu 50 mg/kg/gün'e düşürüldü. Bu doz seviyesinde gebelik oluştuğu için bu grupların dozaj ayarlaması yeniden düzenlenmiş oldu.

Kesit örnekleme aşamasında G-4 (OXC, 6-15. günler) için kesit örnekleme oranı diğer gruplara göre düşük olduğu görüldü. Bu gruptaki hayvanların beyin ağırlıkları ve hacimlerinin de daha az olması, diğer gruplara göre düşük bir kesit örnekleme oranı elde edilmesine neden olduğu gözlemlendi.

Histolojik çalışma aşamalarında ve stereolojik uygulamalarda herhangi bir sorun yaşanmadı.

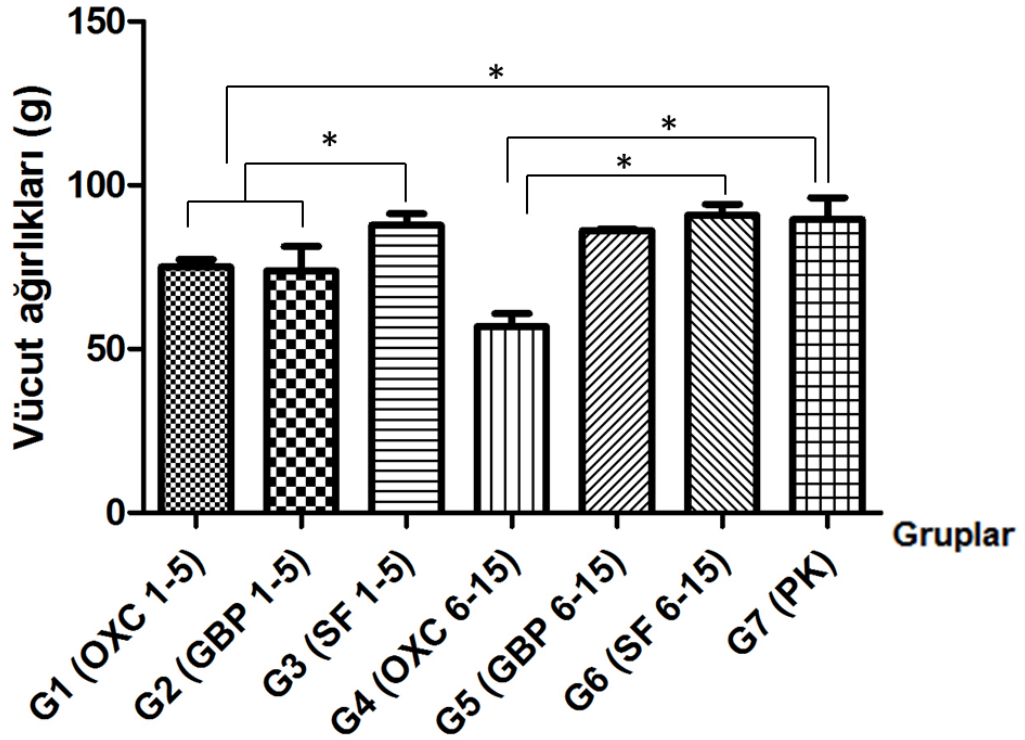
2. ESAS ÇALIŞMA İLE İLGİLİ GENEL GÖZLEMLER

Esas çalışmada her grup için etik kurul kararı ile 3'er sıçan (G-2'de dört sıçan) gebelik için kullanıldı. İlaç verdiğimiz dönemlerde G-4'teki (OXC, 6-15.günler) sıçanların diğer sıçanlara göre daha saldırgan oldukları gözlemlendi. Bununla birlikte G-4'teki sıçanlardan birisi ilaç verme döneminde öldü. Ayrıca G-1'deki (OXC, 1-5.günler) sıçanlardan birisi gebeliğin erken döneminde (19. gün) doğum yaptı ve yavrularını yedi. Diğer grupların doğumu zamanında gerçekleşti. Tüm gruplardaki yavrularda belirgin bir malformasyon gözlenmedi. Doğan yavru sıçanların sayısı ve cinsiyetleri Tablo 12'de verilmiştir. Sunulan çalışmada G-4'te dişi yavru sıçanların sayısı diğer gruplara göre oransal olarak yüksek olmakla birlikte elde edilen yavru sayısı da daha az oldu.

Tablo 12. Yavru sığanların sayı ve cinsiyetleri

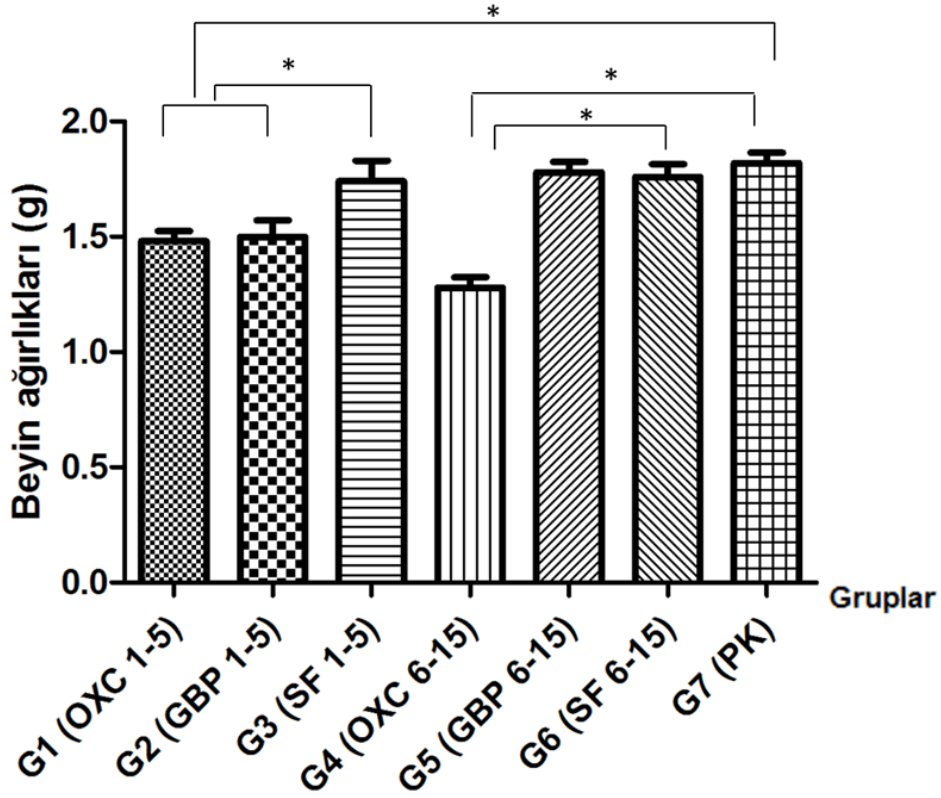
Gruplar	Dişi yavru sayısı	Erkek yavru sayısı	Toplam yavru sayısı
G-1 (OXC, 1-5.günler)	5	6	11
G-2 (GBP, 1-5.günler)	5	7	12
G-3 (SF, 1-5.günler)	7	3	10
G-4 (OXC, 6-15.günler)	5	1	6
G-5 (GBP, 6-15.günler)	5	3	8
G-6 (SF, 6-15.günler)	5	7	12
G-7 (PK)	5	5	10

Çalışmada kullanılan 45 günlük dişi yavru sığanlara ait ortalama vücut ağırlıkları standart sapmaları ile birlikte Şekil 28 ve 29’da sırasıyla verildi.



Şekil 28. Gruplara ait ortalama vücut ağırlıkları

* $P < 0,05$ (Tukey testi)



Şekil 29. Gruplara ait ortalama beyin ağırlıkları

* P<0,05 (Mann-Whitney U)

Gruplar arasında vücut ağırlıkları dikkate alındığında G-1, G-2 ve G-4'deki sıçanların ağırlıkları kontrol gruplarına göre daha düşük çıkmıştır (Şekil 29, P<0,05). Beyin ağırlıkları bakımından yine G-1, G-2 ve G-4'deki sıçanların ağırlıkları kontrol gruplarına göre anlamlı olarak az bulundu (Şekil 30, P<0,05). G-5'deki sıçanların ise kontrol gruplarına göre hem vücut, hem de beyin ağırlıkları açısından anlamlı bir farklılık yoktur (Şekil 28 ve 29, P>0,05).

Boyama aşamasında kesitler, Cresyl violet asetat boyaması ve immünohistokimyasal yöntemler ile ayrı ayrı boyandı. Örneklenen tüm kesit serilerinde SNC'nin sınırları immünohistokimyasal boyama ile rahatlıkla tanımlanabildi (Şekil 30). Ancak Nissl kesitlerinde bu işlem kolay olmadı. Bunun için TH (+) olan ilgili seri kesitlerinden yararlanarak bu zorluk aşıldı (Şekil 31). İmmünohistokimyasal boyama yapılan kesitlerde sadece işaretli dopaminerjik nöronlar sayıldığından sayım işlemi esnasında herhangi bir sorun yaşanmadı. Nissl boyama yapılan kesitlerde ise nöron izdüşümü tanımlama kriterleri göz önünde bulundurularak sayım işlemi gerçekleştirildi.

Sayma işlemi sol SNc'de gerçekleştirildi. SRÖ'ye göre SNc'den alınan kesit çiftlerinde yine SRÖ'ye göre alanların örnekleme, örnekleme alanlarının ve eş değer alanların eş zamanlı olarak görüntülenip kaydedilmesi ile değerlendirilmesi yaklaşık 4 saat sürdü. İmmünohistokimyasal boyama yapılan kesitlerde de benzer işlemler uygulandı. Bu işlem de yaklaşık 4 saat sürdü. Sonuç olarak bir grupta boyama yapılmış kesitlerin stereolojik analizi ortalama 7-8 saat sürmüştü.

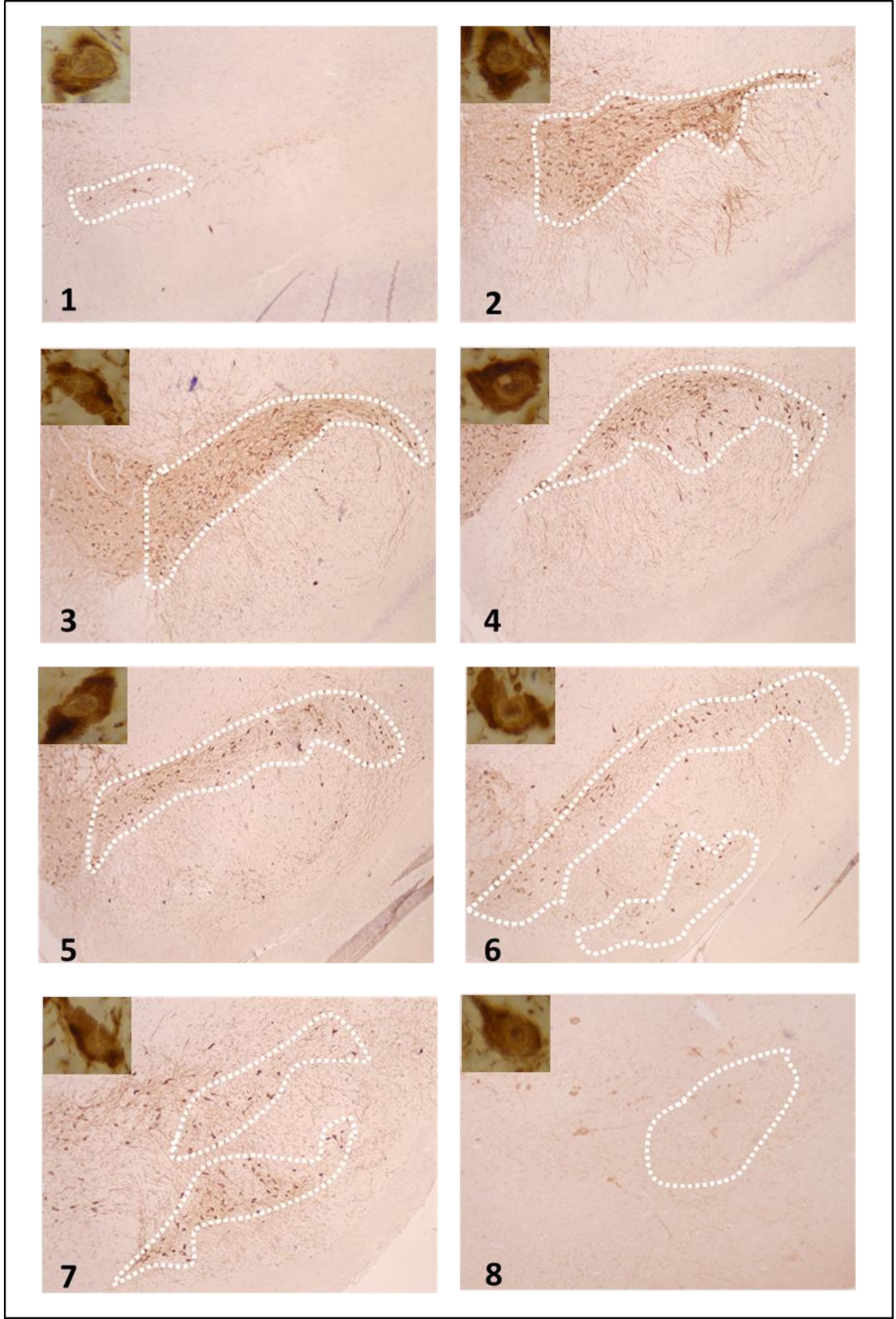
Gruplara ait her bir sıçan için elde edilen toplam kesit sayısı ve sayım alanları boyama şekline göre Tablo 13-26'da sırasıyla verilmiştir. Bu tablolardaki toplam alan sayısı değerleri, örnek ve gözlem kesitleri sayım aşamasında karşılıklı yer değiştirildikleri için, örnekleme alan sayısının iki katı değerinde olan çalışılan alan sayısını temsil etmektedir.

Tablo 13. G-1'de (OXC 1-5. günler) Nissl boyama yapılan sıçanların sol SNc'lerinde örnekleme toplam sayım alanı ve kesit sayıları

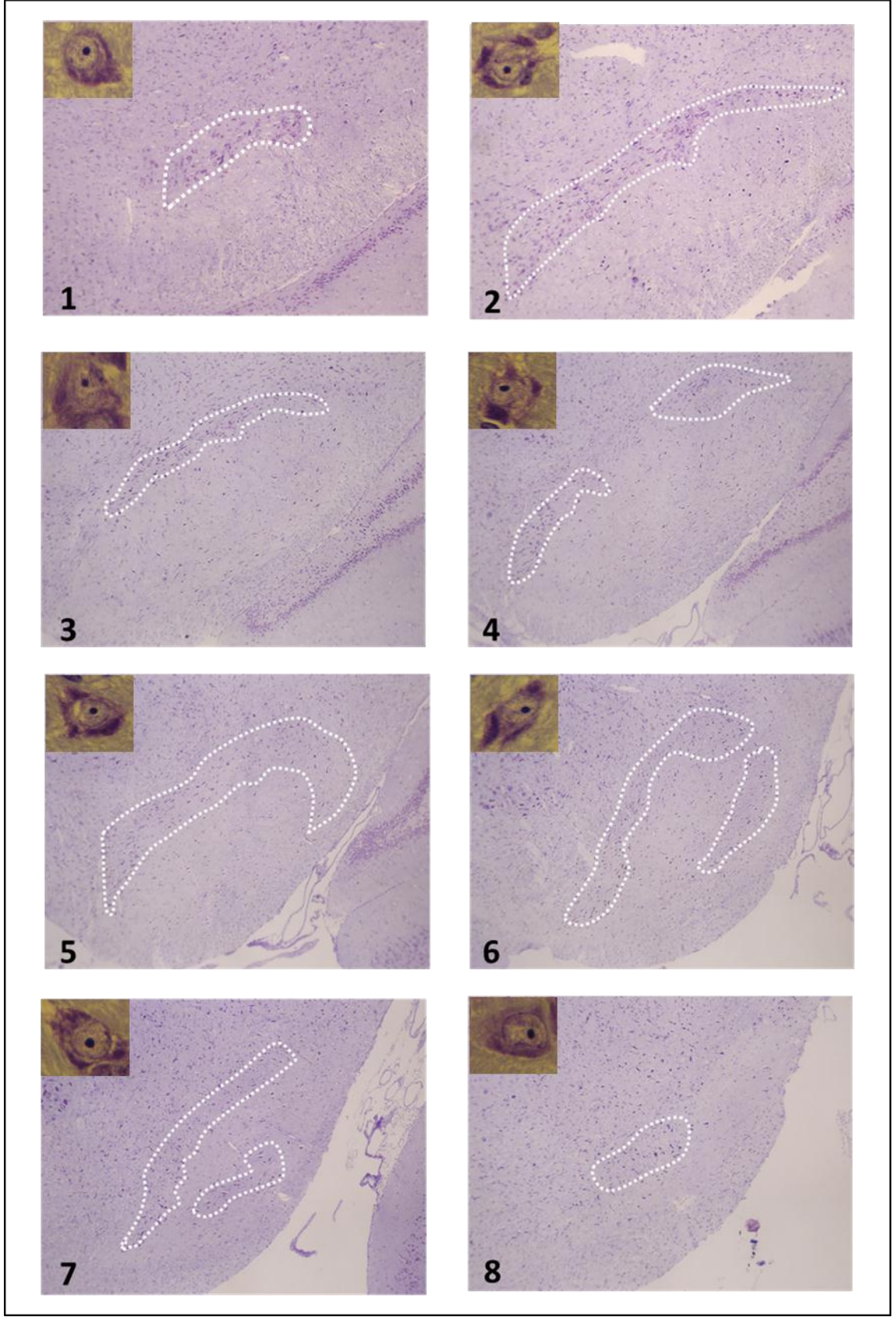
G-1	Hayvan No		1	2	3	4	5
	Parametreler						
SOL SNc (immün)	Kesit Sayısı		7	8	8	7	10
	Sayım Alanı		224	214	194	218	206

Tablo 14. G-2'de (GBP 1-5. günler) Nissl boyama yapılan sıçanların sol SNc'lerinde örnekleme toplam sayım alanı ve kesit sayıları

G-2	Hayvan No		1	2	3	4	5
	Parametreler						
SOL SNc (immün)	Kesit Sayısı		9	10	7	7	8
	Sayım Alanı		240	252	240	258	120



Şekil 30. SNc'den SRÖ ile rostro-kaudal düzlemde alınmış (1'den 8'e doğru) TH (+) boyalı kesit serileri. İlgili nukleusun sınırları noktalarla gösterilmiştir.



Şekil 31. SNc'den SRÖ ile rostro-kaudal düzlemde alınmış (1-8) Nissl boyalı kesit serileri. İlgili nukleusun sınırları noktalarla gösterilmiştir.

Tablo 15. G-3’de (SF 1-5. günler) Nissl boyama yapılan sıçanların sol SNc’lerinde örneklenen toplam sayım alanı ve kesit sayıları

G-3	Hayvan No	1	2	3	4	5
	Parametreler					
SOL SNc (immün)	Kesit Sayısı	8	8	8	8	8
	Sayım Alanı	196	200	198	210	196

Tablo 16. G-4’de (OXC 6-15. günler) Nissl boyama yapılan sıçanların sol SNc’lerinde örneklenen toplam sayım alanı ve kesit sayıları

G-4	Hayvan No	1	2	3	4	5
	Parametreler					
SOL SNc (immün)	Kesit Sayısı	9	9	8	10	9
	Sayım Alanı	182	218	204	204	212

Tablo 17. G-5’de (GBP 6-15. günler) Nissl boyama yapılan sıçanların sol SNc’lerinde örneklenen toplam sayım alanı ve kesit sayıları

G-5	Hayvan No	1	2	3	4	5
	Parametreler					
SOL SNc (immün)	Kesit Sayısı	10	10	9	8	10
	Sayım Alanı	226	196	188	246	210

Tablo 18. G-6’da (SF 6-15. günler) Nissl boyama yapılan sıçanların sol SNc’lerinde örneklenen toplam sayım alanı ve kesit sayıları

G-6	Hayvan No	1	2	3	4	5
	Parametreler					
SOL SNc (immün)	Kesit Sayısı	8	8	8	8	8
	Sayım Alanı	178	190	178	232	200

Tablo 19. G-7’de (PK) Nissl boyama yapılan sıçanların sol SNc’lerinde örneklenen toplam sayım alanı ve kesit sayıları

G-7	Hayvan No	1	2	3	4	5
	Parametreler					
SOL SNc (immün)	Kesit Sayısı	8	8	8	8	8
	Sayım Alanı	202	216	198	202	196

Tablo 20. G-1’de (OXC 1-5. günler) immunohistokimyasal boyama yapılan sıçanların sol SNc’lerinde örneklenen toplam sayım alanı ve kesit sayıları

G-1	Hayvan No	1	2	3	4	5
	Parametreler					
SOL SNc (immün)	Kesit Sayısı	7	7	8	8	7
	Sayım Alanı	154	164	160	176	202

Tablo 21. G-2’de (GBP 1-5. günler) immunohistokimyasal boyama yapılan sıçanların sol SNc’lerinde örneklenen toplam sayım alanı ve kesit sayıları

G-2	Hayvan No	1	2	3	4	5
	Parametreler					
SOL SNc (immün)	Kesit Sayısı	9	8	7	7	8
	Sayım Alanı	216	234	200	192	166

Tablo 22. G-3’de (SF 1-5. günler) immunohistokimyasal boyama yapılan sıçanların sol SNc’lerinde örneklenen toplam sayım alanı ve kesit sayıları

G-3	Hayvan No	1	2	3	4	5
	Parametreler					
SOL SNc (immün)	Kesit Sayısı	9	9	9	9	9
	Sayım Alanı	202	200	198	200	236

Tablo 23. G-4’de (OXC 6-15. günler) immunohistokimyasal boyama yapılan sıçanların sol SNc’lerinde örneklenen toplam sayım alanı ve kesit sayıları

G-4	Hayvan No	1	2	3	4	5
	Parametreler					
SOL SNc (immün)	Kesit Sayısı	10	9	7	10	9
	Sayım Alanı	192	198	106	198	200

Tablo 24. G-5’de (GBP 6-15. günler) immunohistokimyasal boyama yapılan sıçanların sol SNc’lerinde örneklenen toplam sayım alanı ve kesit sayıları

G-5	Hayvan No	1	2	3	4	5
	Parametreler					
SOL SNc (immün)	Kesit Sayısı	10	10	10	9	10
	Sayım Alanı	230	284	228	168	210

Tablo 25. G-6’da (SF 6-15. günler) immunohistokimyasal boyama yapılan sıçanların sol SNc’lerinde örneklenen toplam sayım alanı ve kesit sayıları

G-6	Hayvan No	1	2	3	4	5
	Parametreler					
SOL SNc (immün)	Kesit Sayısı	8	8	8	7	8
	Sayım Alanı	138	222	200	182	204

Tablo 26. G-7’de (PK) immunohistokimyasal boyama yapılan sıçanların sol SNc’lerinde örneklenen toplam sayım alanı ve kesit sayıları

G-7	Hayvan No	1	2	3	4	5
	Parametreler					
SOL SNc (immün)	Kesit Sayısı	8	8	8	8	8
	Sayım Alanı	200	200	198	204	190

3. TOPLAM NÖRON SAYISI VE HESAPLAMALARINA AİT BULGULAR

Disektör-Cavalieri tekniği ile SNe'deki toplam nöron sayısının hesaplanmasında kullanılan örnekleme değerleri, bunların doku ve asetat düzeyindeki karşılıkları ve büyütme oranları, Nissl ve immünohistokimyasal boyama için sırasıyla Tablo 28'de toplu olarak gösterilmiştir. Kesit örnekleme oranı G-1, G-2, G-3 ve G-6'da aynı olurken bu değer G-4, G-7 ve G-5'de farklı çıkmıştır. Tüm gruplar için alan örnekleme oranı aynı değerdedir. Tabloda doku seviyesindeki adım alanı ve sayım çerçevesi ebatlarının farklı büyütme oranlarındaki değerlerinin kullanılan asetatteki değerler ile tamamen örtüştüğü görülecektir. Bu özellik, kullandığımız alan örnekleme ve sayım uygulamasının (Korkmaz ve ark., 2000) gereklerinden biridir.

Tablo 27. G-1, G-2, G-3, G-4, G-5, G-6, G-7 gruplarının toplam nöron sayılarının hesaplamaları için kullanılan parametreler

Parametreler	Tüm Gruplar
Doku Seviyesinde Adım Aralığı (μm^2)	190 x 190
Adım Aralığının Örnekleme Asetatındaki Eşdeğeri (cm^2)	2,6 x 2,6
Doku Seviyesinde Sayım Çerçevesi alanı (μm^2)	70 x 100
Sayım Çerçevesi Alanının Örnekleme Asetatında Eşdeğeri (cm^2) (Örnekleme Aşamasında Kullanılan Küçük Çerçeveler)	0,95x1,35

Tablo 28 ile 41 arasında hem Nissl, hem de immünohistokimyasal boyama yapılan örneklenmiş kesitlerden, Cavalieri metoduyla elde edilen her bir gruba ait toplam nokta sayıları (ΣP), disektör çifti sayıları ve sayılan nöron sayıları (ΣQ) ayrı ayrı verilmiştir.

Tablo 28. Cavalieri uygulamasında Nissl boyama yapılan G-1 (OXC 1-5. günler) için toplam nokta (ΣP), disektör çifti ve sayılan nöron sayıları (ΣQ)

G-1	Hayvan No	1	2	3	4	5
	Parametreler					
SOL SNe (Nissl)	Disektör çifti	224	214	194	218	206
	Sayılan nöron sayısı (ΣQ)	141	147	189	143	178
	Nokta sayısı (ΣP)	127	130	115	130	117

Tablo 29. Cavalieri uygulamasında Nissl boyama yapılan G-2 (GBP 1-5. günler) için toplam nokta (ΣP), disektör çifti ve sayılan nöron sayıları (ΣQ^-)

G-2	Hayvan No	1	2	3	4	5
	Parametreler					
SOL SNC (Nissl)	Disektör çifti	240	252	240	258	120
	Sayılan nöron sayısı (ΣQ^-)	168	186	158	216	129
	Nokta sayısı (ΣP)	141	147	189	143	178

Tablo 30. Cavalieri uygulamasında Nissl boyama yapılan G-3 (SF 1-5. günler) için toplam nokta (ΣP), disektör çifti ve sayılan nöron sayıları (ΣQ^-)

G-3	Hayvan No	1	2	3	4	5
	Parametreler					
SOL SNC (Nissl)	Disektör çifti	196	200	198	210	196
	Sayılan nöron sayısı (ΣQ^-)	168	145	164	156	161
	Nokta sayısı (ΣP)	138	135	164	133	131

Tablo 31. Cavalieri uygulamasında Nissl boyama yapılan G-4 (OXC 6-15. günler) için toplam nokta (ΣP), disektör çifti ve sayılan nöron sayıları (ΣQ^-)

G-4	Hayvan No	1	2	3	4	5
	Parametreler					
SOL SNC (Nissl)	Disektör çifti	182	218	204	204	212
	Sayılan nöron sayısı (ΣQ^-)	140	164	122	129	115
	Nokta sayısı (ΣP)	136	136	124	141	139

Tablo 32. Cavalieri uygulamasında Nissl boyama yapılan G-5 (GBP 6-15. günler) için toplam nokta (ΣP), disektör çifti ve sayılan nöron sayıları (ΣQ^-)

G-5	Hayvan No	1	2	3	4	5
	Parametreler					
SOL SNC (Nissl)	Disektör çifti	226	196	188	246	210
	Sayılan nöron sayısı (ΣQ^-)	208	209	217	152	196
	Nokta sayısı (ΣP)	140	120	118	140	131

Tablo 33. Cavalieri uygulamasında Nissl boyama yapılan G-6 (SF 6-15. günler) için toplam nokta (ΣP), disektör çifti ve sayılan nöron sayıları (ΣQ^-)

G-6	Hayvan No	1	2	3	4	5
	Parametreler					
SOL SNC (Nissl)	Disektör çifti	178	190	178	232	200
	Sayılan nöron sayısı (ΣQ^-)	123	152	128	158	157
	Nokta sayısı (ΣP)	114	132	119	135	137

Tablo 34. Cavalieri uygulamasında Nissl boyama yapılan G-7 (PK) için toplam nokta (ΣP), disektör çifti ve sayılan nöron sayıları (ΣQ^-)

G-7	Hayvan No	1	2	3	4	5
	Parametreler					
SOL SNC (Nissl)	Disektör çifti	202	216	198	202	196
	Sayılan nöron sayısı (ΣQ^-)	155	160	164	159	140
	Nokta sayısı (ΣP)	135	145	130	132	130

Tablo 35. Cavalieri uygulamasında immunohistokimyasal boyama yapılan G-1 (OXC 1-5. günler) için toplam nokta (ΣP), disektör çifti ve sayılan nöron sayıları (ΣQ^-)

G-1	Hayvan No	1	2	3	4	5
	Parametreler					
SOL SNC (immun)	Disektör çifti	154	164	160	176	202
	Sayılan nöron sayısı (ΣQ^-)	128	95	81	98	110
	Nokta sayısı (ΣP)	114	129	124	135	149

Tablo 36. Cavalieri uygulamasında immunohistokimyasal boyama yapılan G-2 (GBP 1-5. günler) için toplam nokta (ΣP), disektör çifti ve sayılan nöron sayıları (ΣQ^-)

G-2	Hayvan No	1	2	3	4	5
	Parametreler					
SOL SNC (immun)	Disektör çifti	216	234	200	192	166
	Sayılan nöron sayısı (ΣQ^-)	183	147	120	183	144
	Nokta sayısı (ΣP)	142	178	141	110	105

Tablo 37. Cavalieri uygulamasında immunohistokimyasal boyama yapılan G-3 (SF 1-5. günler) için toplam nokta (ΣP), disektör çifti ve sayılan nöron sayıları (ΣQ^-)

G-3	Hayvan No	1	2	3	4	5
	Parametreler					
SOL SNC (immün)	Disektör çifti	202	200	198	200	236
	Sayılan nöron sayısı (ΣQ^-)	151	142	148	140	185
	Nokta sayısı (ΣP)	130	131	114	151	130

Tablo 38. Cavalieri uygulamasında immunohistokimyasal boyama yapılan G-4 (OXC 6-15. günler) için toplam nokta (ΣP), disektör çifti ve sayılan nöron sayıları (ΣQ^-)

G-4	Hayvan No	1	2	3	4	5
	Parametreler					
SOL SNC (immün)	Disektör çifti	192	198	106	198	200
	Sayılan nöron sayısı (ΣQ^-)	97	110	86	105	109
	Nokta sayısı (ΣP)	138	142	128	125	132

Tablo 39. Cavalieri uygulamasında immunohistokimyasal boyama yapılan G-5 (GBP 6-15. günler) için toplam nokta (ΣP), disektör çifti ve sayılan nöron sayıları (ΣQ^-)

G-5	Hayvan No	1	2	3	4	5
	Parametreler					
SOL SNC (immün)	Disektör çifti	230	284	228	168	210
	Sayılan nöron sayısı (ΣQ^-)	114	142	130	100	102
	Nokta sayısı (ΣP)	148	143	118	135	146

Tablo 40. Cavalieri uygulamasında immunohistokimyasal boyama yapılan G-6 (SF 6-15. günler) için toplam nokta (ΣP), disektör çifti ve sayılan nöron sayıları (ΣQ^-)

G-6	Hayvan No	1	2	3	4	5
	Parametreler					
SOL SNC (immün)	Disektör çifti	138	222	200	182	204
	Sayılan nöron sayısı (ΣQ^-)	115	110	124	115	154
	Nokta sayısı (ΣP)	100	122	129	129	136

Tablo 41. Cavalieri uygulamasında immunohistokimyasal boyama yapılan G-7 (PK) için toplam nokta (ΣP), disektör çifti ve sayılan nöron sayıları (ΣQ^-)

G-7	Hayvan No	1	2	3	4	5
	Parametreler					
SOL SNC (immün)	Disektör çifti	200	200	198	204	190
	Sayılan nöron sayısı (ΣQ^-)	105	102	107	108	110
	Nokta sayısı (ΣP)	144	158	135	141	137

Yukarıda verilen tablolardaki veriler kullanılarak her bir gruptaki hem Nissl hem de immünohistokimyasal boyama yapılan hayvanlara ait hesaplanan toplam nöron sayısı (N) ve hata katsayıları (HK) Tablo 42-55’de ayrı ayrı verilmiştir.

Tablo 42. G-1’de (OXC 1-5.günler) Nissl boyama yapılan sıçanlara ait toplam nöron sayıları (N), nöron sayısı hesaplamalarına ait hata katsayısı (HK)

G-1	Hayvan No	1	2	3	4	5	Ortalama
	Parametreler						
SOL SNC (Nissl)	Nöron Sayısı (N)	16651	18600	23336	16669	21057	19262
	Nöron Sayısına ait hata katsayısı (HK)	0,08	0,08	0,07	0,08	0,07	0,08

Tablo 43. G-2’de (GBP 1-5. günler) Nissl boyama yapılan sıçanlara ait toplam nöron sayıları (N), nöron sayısı hesaplamalarına ait hata katsayısı (HK)

G-2	Hayvan No	1	2	3	4	5	Ortalama
	Parametreler						
SOL SNC (Nissl)	Nöron Sayısı (N)	21578	21984	18237	23890	23510	21840
	Nöron Sayısına ait hata katsayısı (HK)	0,07	0,07	0,08	0,06	0,08	0,07

Tablo 44. G-3’de (SF 1-5.günler) Nissl boyama yapılan sıçanlara ait toplam nöron sayıları (N), nöron sayısı hesaplamalarına ait hata katsayısı (HK)

G-3	Hayvan No	1	2	3	4	5	Ortalama
	Parametreler						
SOL SNC (Nissl)	Nöron Sayısı (N)	24637	20386	22945	20579	22413	22192
	Nöron Sayısına ait hata katsayısı (HK)	0,07	0,08	0,07	0,08	0,08	0,08

Tablo 45. G-4’de (OXC 6-15.günler) Nissl boyama yapılan sıçanlara ait toplam nöron sayıları (N), nöron sayısı hesaplamalarına ait hata katsayısı (HK)

G-4	Hayvan No	1	2	3	4	5	Ortalama
	Parametreler						
SOL SNC (Nissl)	Nöron Sayısı (N)	16948	16575	12013	14444	12215	14439
	Nöron Sayısına ait hata katsayısı (HK)	0,08	0,08	0,09	0,08	0,09	0,08

Tablo 46. G-5’de (GBP 6-15.günler) Nissl boyama yapılan sıçanlara ait toplam nöron sayıları (N), nöron sayısı hesaplamalarına ait hata katsayısı (HK)

G-5	Hayvan No	1	2	3	4	5	Ortalama
	Parametreler						
SOL SNC (Nissl)	Nöron Sayısı (N)	32801	32575	34673	22021	31126	30639
	Nöron Sayısına ait hata katsayısı (HK)	0,07	0,06	0,06	0,08	0,07	0,07

Tablo 47. G-6’da (SF 6-15. günler) Nissl boyama yapılan sıçanlara ait toplam nöron sayıları (N), nöron sayısı hesaplamalarına ait hata katsayısı (HK)

G-6	Hayvan No	1	2	3	4	5	Ortalama
	Parametreler						
SOL SNC (Nissl)	Nöron Sayısı (N)	16408	21995	17824	19150	22400	19555
	Nöron Sayısına ait hata katsayısı (HK)	0,08	0,09	0,09	0,07	0,08	0,08

Tablo 48. G-7’de (PK) Nissl boyama yapılan sıçanlara ait toplam nöron sayıları (N), nöron sayısı hesaplamalarına ait hata katsayısı (HK)

G-7	Hayvan No	1	2	3	4	5	Ortalama
	Parametreler						
SOL SNC (Nissl)	Nöron Sayısı (N)	26371	27343	27411	26450	23639	26243
	Nöron Sayısına ait hata katsayısı (HK)	0,07	0,07	0,07	0,08	0,07	0,07

Tablo 49. G-1’de (OXC 1-5.günler) immunohistokimyasal boyama yapılan sıçanlara ait toplam nöron sayıları (N), nöron sayısı hesaplamalarına ait hata katsayısı (HK)

G-1	Hayvan No	1	2	3	4	5	Ortalama
	Parametreler						
SOL SNc (immün)	Nöron Sayısı (N)	19736	15564	13075	15657	16900	16186
	Nöron Sayısına ait hata katsayısı (HK)	0,08	0,1	0,1	0,1	0,09	0,1

Tablo 50. G-2’de (GBP 1-5.günler) immunohistokimyasal boyama yapılan sıçanlara ait toplam nöron sayıları (N), nöron sayısı hesaplamalarına ait hata katsayısı (HK)

G-2	Hayvan No	1	2	3	4	5	Ortalama
	Parametreler						
SOL SNc (immün)	Nöron Sayısı (N)	22940	23291	17621	21837	18972	20932
	Nöron Sayısına ait hata katsayısı (HK)	0,07	0,08	0,09	0,07	0,08	0,08

Tablo 51. G-3’de (SF 1-5.günler) immunohistokimyasal boyama yapılan sıçanlara ait toplam nöron sayıları (N), nöron sayısı hesaplamalarına ait hata katsayısı (HK)

G-3	Hayvan No	1	2	3	4	5	Ortalama
	Parametreler						
SOL SNc (immün)	Nöron Sayısı (N)	20241	19373	17748	22016	21226	20121
	Nöron Sayısına ait hata katsayısı (HK)	0,08	0,08	0,08	0,08	0,07	0,08

Tablo 52. G-4’de (OXC 6-15.günler) immunohistokimyasal boyama yapılan sıçanlara ait toplam nöron sayıları (N), nöron sayısı hesaplamalarına ait hata katsayısı (HK)

G-4	Hayvan No	1	2	3	4	5	Ortalama
	Parametreler						
SOL SNc (immün)	Nöron Sayısı (N)	11294	12780	16824	10739	11654	12658
	Nöron Sayısına ait hata katsayısı (HK)	0,1	0,09	0,1	0,09	0,09	0,09

Tablo 53. G-5’de (GBP 6-15.günler) immunohistokimyasal boyama yapılan sıçanlara ait toplam nöron sayıları (N), nöron sayısı hesaplamalarına ait hata katsayısı (HK)

G-5	Hayvan No	1	2	3	4	5	Ortalama
	Parametreler						
SOL SNc (immün)	Nöron Sayısı (N)	18674	18202	17128	20457	18053	18503
	Nöron Sayısına ait hata katsayısı (HK)	0,09	0,08	0,08	0,09	0,09	0,09

Tablo 54. G-6’da (SF 6-15.günler) immunohistokimyasal boyama yapılan sıçanlara ait toplam nöron sayıları (N), nöron sayısı hesaplamalarına ait hata katsayısı (HK)

G-6	Hayvan No	1	2	3	4	5	Ortalama
	Parametreler						
SOL SNc (immün)	Nöron Sayısı (N)	17357	12591	16659	16978	21384	16994
	Nöron Sayısına ait hata katsayısı (HK)	0,09	0,09	0,08	0,09	0,08	0,09

Tablo 55. G-7’de (PK) immunohistokimyasal boyama yapılan sıçanlara ait toplam nöron sayıları (N), nöron sayısı hesaplamalarına ait hata katsayısı (HK)

G-7	Hayvan No	1	2	3	4	5	Ortalama
	Parametreler						
SOL SNc (immün)	Nöron Sayısı (N)	19246	20513	18572	19003	20192	19505
	Nöron Sayısına ait hata katsayısı (HK)	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09

Materyal ve Metot kısmında, ~7-10 adet kesit çifti ile yaklaşık 100 sayım alanının stereolojik çalışmalar için yeterli (Gundersen ve ark., 1999) olacağı belirtildi. Sunulan çalışmadaki örnekleme şekli ile elde edilen kesit sayıları ve sayım alanları verilerine (Tablo 13–26) bakıldığında bu sayı ile uyumlu sonuçların elde edildiği görülmektedir. Tablo 56 ve 57’de çalışmada kullanılan tüm grupların sol SNc’lerindeki ortalama toplam nöron sayıları ile bunlara ait hata ve değişim katsayıları verilmiştir. Bu değerler incelendiğinde örneklemenin uygun olduğu görülecektir.

Tablo 56. Nissl boyama yapılan G-1, G-2, G-3, G-4, G-5, G-6, G-7'lerde SNc'ye ait ortalama toplam nöron sayıları (N±SS), hata katsayıları (HK) ve değişim katsayıları (DK)

SOL SNc (Nissl)			
Gruplar	N±SS	HK	DK
G-1 (OXC, 1-5. günler)	19262 ± 2907	0,08	0,1
G-2 (GBP, 1-5. günler)	21840 ± 2240	0,07	0,1
G-3 (SF, 1-5. günler)	22192 ± 1765	0,08	0,07
G-4 (OXC, 6-15. günler)	14439 ± 2328	0,08	0,1
G-5 (GBP, 6-15. günler)	30639 ± 4980	0,07	0,1
G-6 (SF, 6-15. günler)	19555 ± 2604	0,08	0,1
G-7 (PK)	26243 ± 1534	0,07	0,05

Tablo 57. İmmunohistokimyasal boyama yapılan G-1, G-2, G-3, G-4, G-5, G-6, G-7'lerde SNc'ye ait ortalama toplam nöron sayıları (N±SS), hata katsayıları (HK) ve değişim katsayıları (DK)

SOL SNc (İmmun)			
Gruplar	N±SS	HK	DK
G-1 (OXC, 1-5. günler)	16186 ± 2421	0,1	0,1
G-2 (GBP, 1-5. günler)	20932 ± 2511	0,08	0,1
G-3 (SF, 1-5. günler)	20121 ± 1659	0,08	0,08
G-4 (OXC, 6-15. günler)	12658 ± 2445	0,09	0,1
G-5 (GBP, 6-15. günler)	18503 ± 1228	0,09	0,06
G-6 (SF, 6-15. günler)	16994 ± 3119	0,09	0,1
G-7 (PK)	19505 ± 818	0,08	0,04

4. TOPLAM NÖRON SAYISINA AİT İSTATİSTİKSEL BULGULAR

İstatistiksel karşılaştırma yapılmadan önce, verilerin normal dağılım gösterip göstermediği ve varyansların homojenliği sırasıyla Shapiro-Wilk ve Levene testleri ile kontrol edildi. Bu testlere ait sonuçlar Tablo 58, 59 ve 60'da verilmiştir. Tüm gruplardaki verilerin normal dağılım gösterdiği ($P>0,05$) ve varyansların homojen olduğu ($P>0,05$) gözlemlendi.

Tablo 58. Nissl boyama yapılan G-1, G-2, G-3, G-4, G-5, G-6, G-7'ye ait verilerin normallik testi

Günler	Shapiro-Wilk Testi		
	İstatistik	df	P
G-1	,758	5	,065
G-2	,870	5	,265
G-3	,888	5	,346
G-4	,848	5	,190
G-5	,814	5	,105
G-6	,864	5	,243
G-7	,911	5	,476

df: serbestlik derecesi, P: olasılık değerleri

Tablo 59. İmmunohistokimyasal boyama yapılan G-1, G-2, G-3, G-4, G-5, G-6, G-7'ye ait verilerin normallik testi

Günler	Shapiro-Wilk Testi		
	İstatistik	df	P
G-1	,867	5	,256
G-2	,960	5	,808
G-3	,974	5	,899
G-4	,957	5	,785
G-5	,729	5	,069
G-6	,969	5	,869
G-7	,929	5	,589

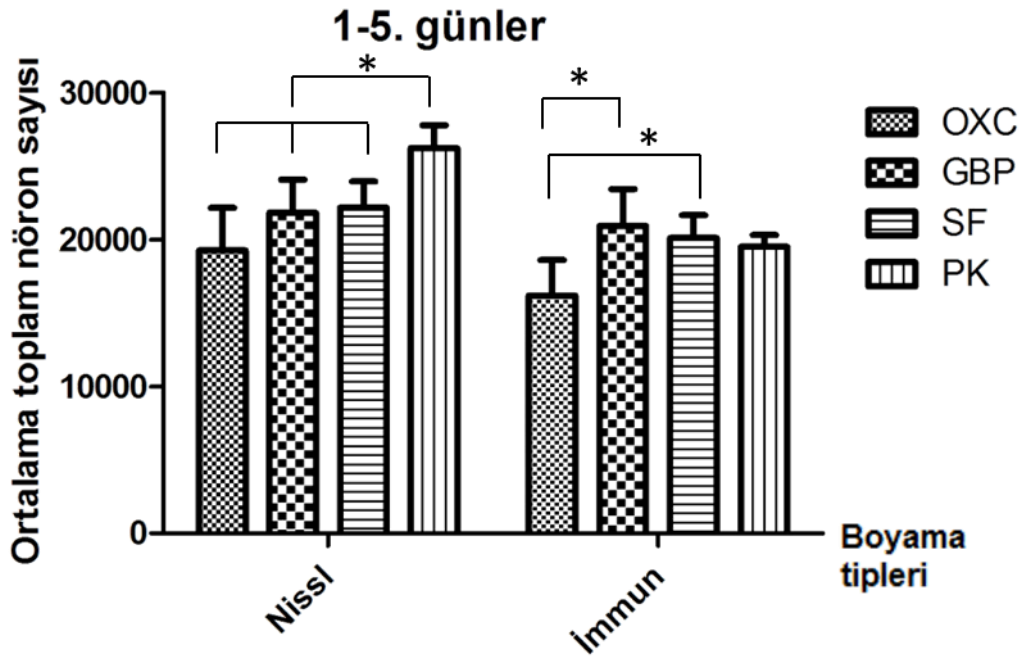
df: serbestlik derecesi, P: olasılık değerleri

Tablo 60. Grup varyanslarının homojenlik testi

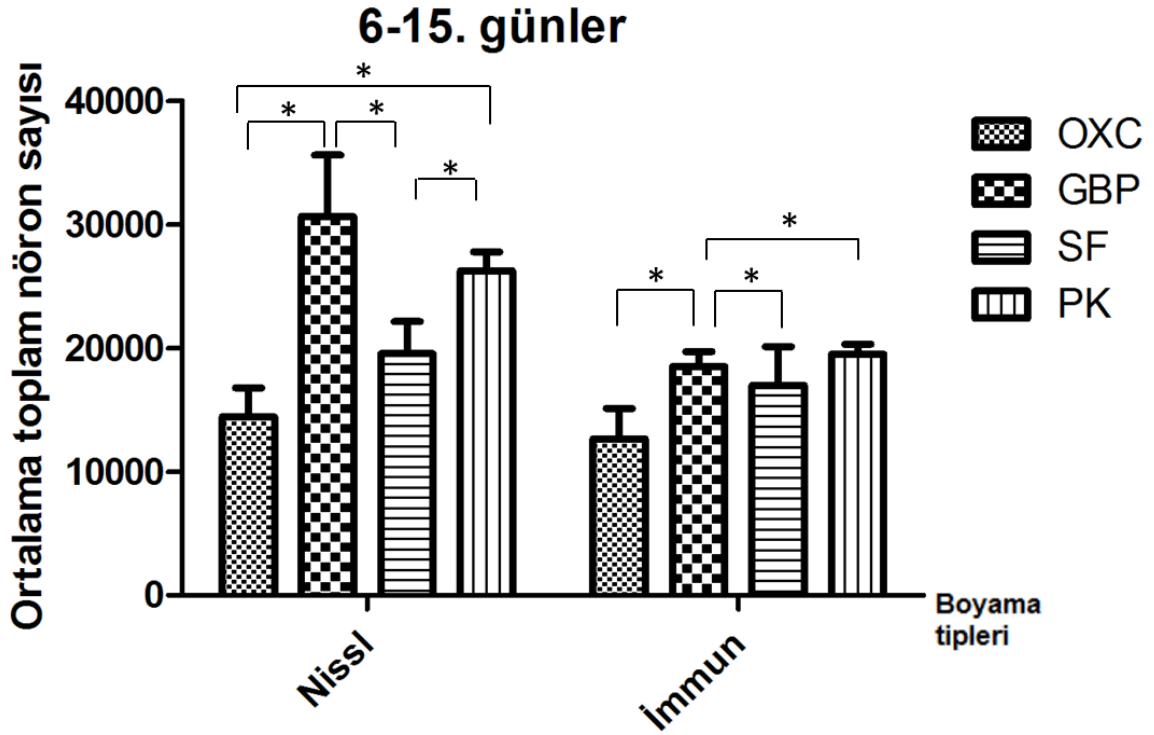
Günler	Levene İstatistiği	df1	df2	P
1-5. günler Nissl	1,149	3	16	,360
1-5. günler immün	1,952	3	16	,162
6-15. günler Nissl	1,507	3	16	,251
6-15. günler immün	,912	3	16	,457

df1, df2: serbestlik dereceleri, P: olasılık değerler

Veriler normal dağılım gösterdiği için, gruplar arasındaki farklılık ANOVA testi ile değerlendirildi. Test sonucuna göre gebeliğin 1-5. ve 6-15. günlerindeki gerek Nissl, gerekse immünohistokimyasal boyama yapılam tüm gruplarda verilerin en az birisinin diğerlerinden farklı olduğu ($P < 0,01$) görüldü. Hangi gruplar arasında farklılık olduğunu belirlemek için çoklu karşılaştırma testlerinden Tukey HSD testi kullanıldı. Bu teste ait sonuçlar şekil 32 ve 33’de sırasıyla verilmiştir.



Şekil 32. Gebeliğin 1-5. günlerindeki uygulama gruplarının ortalama toplam nöron sayılarının karşılaştırılması, (* $P < 0,05$).



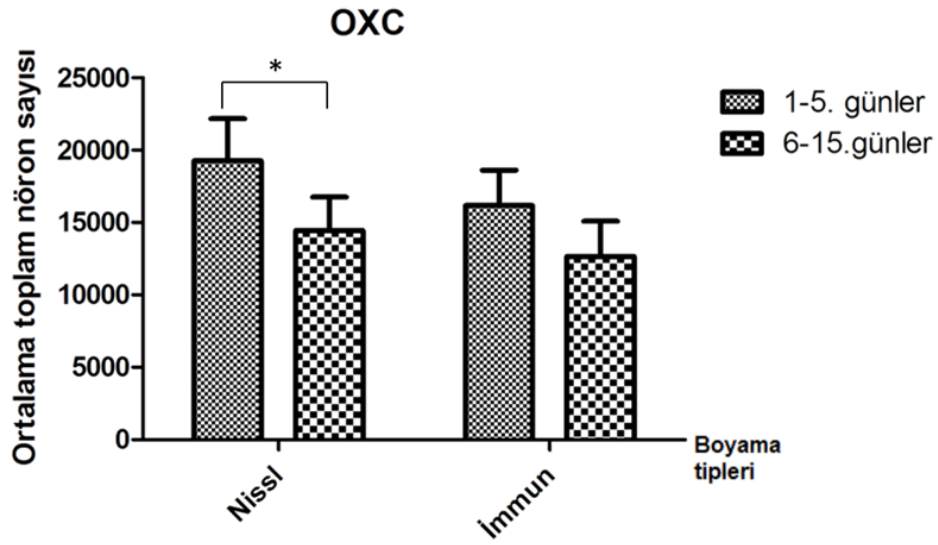
Şekil 33. Gebeliğin 6-15. günlerindeki uygulama gruplarının ortalama toplam nöron sayılarının karşılaştırılması, (* $P < 0,05$).

Gebeliğin 1-5. günlerinde OXC (G-1), GBP (G-2), SF (G-3) verilen ve PK (G-7) gruplarının Nissl boyama yapılanların hücre sayısı sonuçları karşılaştırıldığında; G-1, G-2 ile G-3 grupları arasında nöron sayısı bakımından anlamlı bir farklılık gözlenmezken ($P > 0,05$) bu üç grupta G-7 arasında anlamlı bir fark bulundu ($P < 0,05$). Yine aynı gruplara immünohistokimyasal boyama yapıldığında; G-1, G-2 ve G-3'ün sonuçları ile G-7 arasında bir fark yokken ($P > 0,05$), G-1'in G-2 ve G-3 ile arasında hücre sayısı bakımından anlamlı düzeyde fark bulundu ($P < 0,05$).

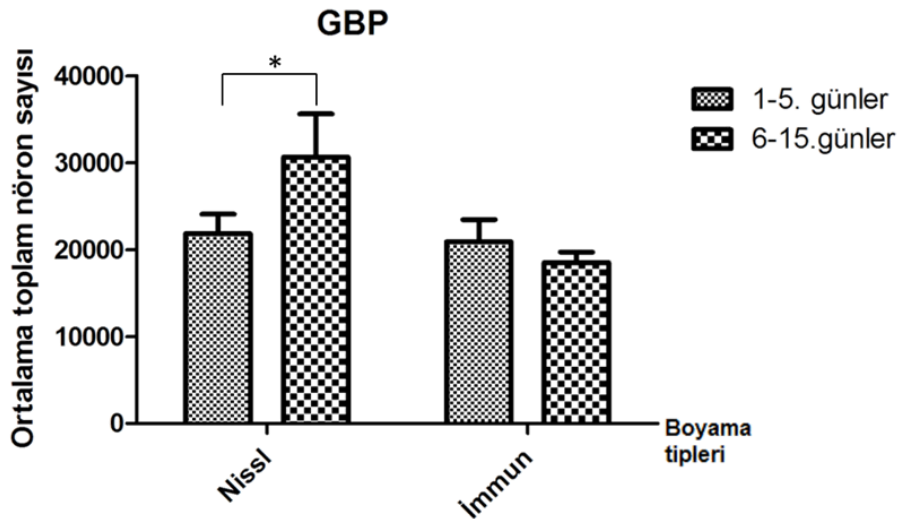
Gebeliğin 6-15. günlerinde OXC (G-4), GBP (G-5), SF (G-6) uygulanan ve PK (G-7) gruplarının Nissl boyama yapılanlara ait nöron sayım sonuçları incelendiğinde; G-4 ile G-6 arasında anlamlı bir fark yokken ($P > 0,05$), G-4 ile G-5 ve G-7 arasında anlamlı bir farklılık gözlemlendi ($P < 0,05$). G-5 ile G-6 arasında anlamlı bir farklılık varken G-7 ile arasındaki fark anlamlı düzeyde değildi ($P < 0,05$). Ayrıca kontrol gruplarından G-6 ile G-7 arasında anlamlı bir fark bulundu ($P < 0,05$). İmmünohistokimyasal boyama yapılan aynı grupların nöron sayım sonuçları karşılaştırıldığında; G-4 ile G-6 ve G-7 arasında anlamlı bir fark yokken ($P > 0,05$), G-4 ile G-5 arasında hücre sayısı

bakımından anlamlı bir farklılık gözlemlendi ($P < 0,05$). G-5 ile G-6 ve G-7 arasındaki farklılık anlamlı düzeydeyken, G-6 ile G-7 arasında anlamlı düzeyde bir fark bulunmadı ($P > 0,05$).

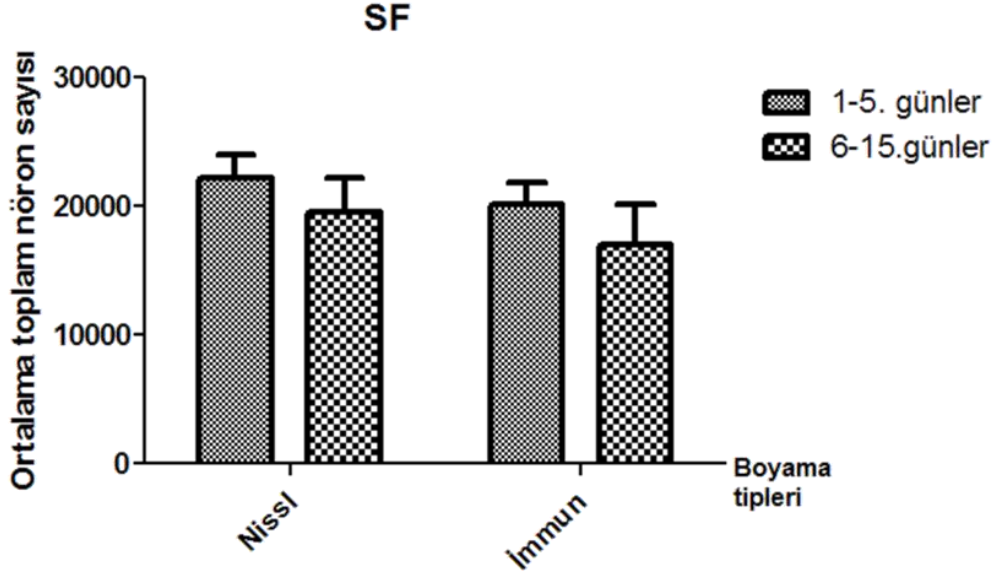
Aynı boyama yapılan grupları uygulama dönemlerine göre (gebeliğin 1-5. ve 6-15. günleri) karşılaştırmak için ikili karşılaştırma testlerinden Student-t testi kullanıldı. Varyansların homojen dağılım göstermesi nedeniyle bu test tercih edildi. Şekil 34, 35, 36'da bu teste ait sonuçlar sırasıyla verildi. Sonuçların $P < 0,05$ göre anlamlı olduğu kabul edildi.



Şekil 34. OXC uygulamasının farklı uygulama günlerine göre karşılaştırılması, (* $P < 0,05$).



Şekil 35. GBP uygulamasının farklı uygulama günlerine göre karşılaştırılması, (* $P < 0,05$).



Şekil 36. SF uygulamasının farklı uygulama günlerine göre karşılaştırılması, (* $P < 0,05$).

İmmünohistokimyasal boyama yapılan kesitlerden elde edilen sonuçlara bakıldığında, tüm gruplarda gebeliğin 1-5. ve 6-15. günleri arasındaki uygulamalar aynı etken madde açısından karşılaştırıldığında, toplam nöron sayısı bakımından anlamlı bir farklılık gözlenmedi ($P > 0,05$). Nissl boyama sonuçlarına göre ise; yine uygulama zamanları bakımından karşılaştırıldığında OXC verilen gruplar arasında anlamlı bir farklılık görüldü ($P < 0,05$). Benzer durum, farklı uygulama zamanlarında GBP verilen gruplardaki karşılaştırmada da gözlendi ($P < 0,05$) Bu farklılık OXC uygulananlarda nöron azalması, GBP uygulananlarda ise nöron artışı şeklinde oldu. SF grupları için yine uygulama dönemlerine göre karşılaştırıldığında her iki boyama sonuçlarına göre toplam nöron sayısı bakımından anlamlı bir farklılık bulunmadı ($P > 0,05$).

TARTIŞMA

Gebelikte antiepileptiklerin kullanımı üzerine yapılan klinik ve deneysel çalışmalar, daha çok konjenital malformasyonların, fetal büyümenin, doğum sonrası mental ve fiziksel fonksiyonların değerlendirilmesi üzerine yoğunlaşmıştır. Özellikle konvansiyonel antiepileptiklerin teratojenik etkileri ortaya konmuştur. Bununla birlikte ikinci nesil antiepileptiklerin daha iyi tedavi profiline sahip olduğu ve daha az yan etkilere neden olduğu iddia edilmektedir (Hill ve ark., 2010). Gebelerde ise teratojenik etkileri bakımından farklı sonuçlar elde edilmiş, sınırlı sayıdaki çalışmalarda konvansiyonel ilaçlara göre daha az oranda malformasyonlara neden oldukları bildirilmiştir (Meischenguiser ve ark, 2004; Czubak A. ve ark. 2008). Bununla birlikte nöral gelişim ile ilgili çalışmaların ise sınırlı sayıda olduğu ve bu araştırmalarda ya apoptosisin varlığı veya nöron yoğunluğundaki değişimler değerlendirilmiştir (Bittique 2002, 2003; Ara'ujo, 2004).

Her ne kadar gebelikte kullanılan ikinci nesil antiepileptiklerin konjenital malformasyonlar, fetal gelişim geriliği ve beyin gelişimi bakımından daha güvenli olduğu gerek klinik gerekse elektrofizyolojik çalışmalarla kısmen ortaya konmuşsa da, merkezi sinir sistemindeki hüresel düzeydeki etkilerine yönelik çalışmalar sınırlıdır (Meischenguiser ve ark., 2004; Sabers ve ark., 2004; Eisenschenk S., 2006; Kınay ve ark., 2008).

Sunulan çalışma ile farklı etki mekanizmalarına sahip ikinci nesil antiepileptiklerden sıklıkla kullanılan, OXC ve GBP'ye intrauterin yaşamda maruz kalan sıçan SN'sindeki nöron sayısının postnatal dönemde nasıl etkilendiği stereolojik metotlarla araştırıldı. Bu amaçla ilaç uygulama periyodu bakımından sıçanlarda pre-implantasyon ve implantasyon ile nörogenез öncesi dönemleri kapsayan gebeliğin ilk 1.-5. günleri ile, organogenezis dönemini kapsayan 6.-15. günleri içeren gruplar oluşturuldu (Petrere ve Anderson, 2002; Ikonomidou ve Tursk, 2010). SN'nin tercih edilmesindeki neden ise epileptik nöbetlerin baskılanmasında beyindeki önemli inhibisyon merkezlerinden birisi olmasıdır. Çalışmada hem tüm nöronların, hem de dopaminerjik nöronların sayılması için sırasıyla Nissl boyası ve TH antikoru kullanıldı. TH antikoru SNC'deki dopaminerjik nöronları işaretlediğinden tercih edildi. Çalışmaya SN'nin alt nukleuslarından SNr'yi dahil edilmemesinin nedeni bu alt nukleustaki nöron

dağılımının oldukça seyrek olması ve homojen dağılım göstermemesidir. Bu da SNC için yapılan örnekleme stratejisine uymamaktadır.

Çalışmada OXC ve GBP kullanmamızın temel nedenleri ise toplumda yaygın kullanılan (aynı zamanda gebelikte de) ve farklı etki mekanizmasına sahip AEİ'ler olmasıdır. GBP, GABA analogu gibi etki etmekte ve ortamda GABA seviyesinde artışa neden olarak antiepileptik etkisini göstermektedir. GABA beyin gelişiminde önemli eksitator etkiye sahip bir nörotransmitterdir (Manent ve ark., 2007). Farmakolojik ajanların nörotransmitterlerle etkileşimleri, gelişimin kritik dönemlerinde fütüste kalıcı defektlerin gelişimine neden olabilmektedir. GBP aynı zamanda beyinde kalsiyum kanallarının aktivitesini de etkilemektedir. OXC ise voltaj duyarlı sodyum kanallarını etkileyerek beyin dokusunda inhibisyona neden olmakta (Schmutz ve ark., 1994; White, 1999), ayrıca beyinde glutamat salınımını inhibe etmektedir (Woolf ve Manion, 1999).

1. UYGULAMA ESNASINDA KAŞILAŞILAN ÇEŞİTLİ DURUMLAR

Sunulan çalışmada OXC (100 mg/kg/gün) verilen gruplardan sadece gebeliğin 6.-15. ilaç uygulama günlerinde sıçanlarda gebelik oluşmadı (vajinal plak görülenler dahil). Bunun üzerine anne sıçan olarak daha önce gebe kalmışlarda tekrar uygulama yapıldığında ise gebelik elde edildi. Bunun olası nedenleri şu şekilde sıralanabilir (Akdağ, 2010);

- Daha önce doğum yapmamış sıçanlarda denenmesi
- İlaçların veya kullanılan dozajın implantasyonu etkilemesi
- Gebeliğin erken dönemlerinde düşüğün olması
- Kış aylarında çiftleşmeye bırakılmış olması

Gebeliğin 6.-15. günlerinde OXC uygulanan sıçanların diğer ilaç uygulanan gruplardan ve kontrollerden daha saldırgan oldukları tespit edildi. Bununla birlikte bu gruptaki sıçanların diğer gruplardakilere göre daha az kilo aldığı gözlemlendi. Gebeliğin 6.-15. günlerde OXC uygulanan gruptaki bir sıçan öldü. İlacın kronik dozda ve uzun dönemde uygulanması bu sonuca neden olabilir. Ayrıca 1.-5. gebelik günlerinde ilaç uygulanan gruptaki sıçanlardan biri erken doğum yaptı ve yavrularını yedi. Gebeliğin 1.-5. gün GBP uygulamamızda ise gebelik oldukça zor elde edildi. Yukarıda

sıralanan kriterler göz önüne alındığında, muhtemelen bu ilaç erken dönemde gebeliğin oluşumunu engellemekte veya rezorpsiyona neden olabilmektedir. Nitekim 6.-15. gebelik günlerindeki uygulamalarda aynı etken madde verilen sıçanlarda benzer bir problemle karşılaşılmadı. GBP ile yapılan çalışmalarda fetal rezorpsiyonun olabileceği bildirilmiştir (Prakash ve ark., 2008; Afshar ve ark., 2009).

Prakash ve ark. (2008) fareler üzerine yaptığı çalışmada, gebeliğin 1.-6. ve 7.-12. günlerdeki GBP 0, 113, 326, 452 mg/kg/gün doz uygulamalarında fetal rezorpsiyon bakımından istatistiksel olarak belirgin bir artış tespit etmişlerdir. Fetal rezorpsiyonun doz artışıyla birlikte arttığı ve en yüksek oranda gebeliğin 1.-6. günlerde 452 mg/kg/gün uygulanan grupta görüldüğü tespit edildi. Bu bulgular, sunulan çalışmadaki 1.-5. gebelik döneminde 100 mg/kg/gün ve 50 mg/kg/gün dozların uygulandığı gruplarda gebelik elde etmede yaşanan zorlukları açıklar niteliktedir.

Başka bir hayvan çalışmasında Afshar ve ark. (2009) gebe Balb/c farelere GBP'yi (25 mg/kg ve 50 mg/kg dozlarda) gebeliğin ilk 15 günü i.p. yoldan uygulamışlar. Gebeliğin 18. gününde yapılan incelemede her iki deney grubunda kontrole göre fetal rezorpsiyonda artış tespit edilmiştir. Benzer dozaj ve uygulama zamanlarını içeren çalışmamızda da fetal rezorpsiyonun görülmesi, bahsedilen çalışmadaki durumla örtüşmektedir. Hayvan çalışmalarında da görüleceği gibi, GBP gebeliğin erken döneminde önemli derecede fetal rezorpsiyona neden olabilmektedir.

2. AEİ'LER VE MALFORMASYON-GELİŞME GERİLİĞİ

Sunulan çalışmada belirgin bir majör konjenital malformasyona gözlenmezken, ilaç uygulama gruplarında (gebeliğin 6-15. gün GBP uygulaması hariç) kilo alımında ve beyin ağırlığında azalma tespit edildi ($P<0,05$). Bu durum Petrere ve Anderson'un (2002) yaptığı çalışma ile kısmen örtüşmektedir. Fare, sıçan ve tavşan üzerinde yapılan bu çalışmada fare ve sıçanlara gebeliğin 6.-15. günlerinde 500, 1000 ve 3000 mg/kg/gün, tavşanlara ise gebeliğin 6.-18. günlerinde 60, 300, 1500 mg/kg/gün GBP uygulanmıştır. Farelerde 1500 mg/kg ve sıçanlarda 3000 mg/kg'ye kadar, tavşanlarda ise 60 ve 300 mg/kg'ye kadar gebelerde herhangi bir yan etki gözlemlenmemiştir. 1500 mg/kg dozda bir adet tavşanın öldüğü, 4 tanesinin düşük yaptığı, yem tüketiminin ve kilo alımının azaldığı tespit edilmiştir. Ancak fetal rezorpsiyon konusunda herhangi bir bilgi bulunmamaktadır (Petrere ve Anderson, 2002).

Benzer bir hayvan çalışması Prakash ve ark. (2008) tarafından yapılmıştır. Fare üzerinde yaptıkları çalışmada gebeliğin 1.-6., 7.-12. ve 13.-17. günlerinde GBP 0, 113, 326, 452 mg/kg/gün dozlar i.p. olarak uygulanmıştır. 7.-12. ve 13.-17. günlerdeki uygulamalarda büyüme geriliği görülmüş, ayrıca çene yapısındaki bozukluk, sivri burun, açık göz, katarakt, kısa kalın boyun ve rudimeter uzuvlar şeklinde majör konjenital anomali görülmüştür. Bu sonuçlar, büyüme geriliği hariç, sunulan çalışma ile Petre ve Anderson (2002) çalışmasıyla örtüşmemektedir.

Yine başka bir hayvan çalışmasında Afshar ve ark. (2009) gebe Balb/c farelere GBP'yi (25 mg/kg ve 50 mg/kg dozlarda) gebeliğin ilk 15 günü i.p. yoldan uygulamışlar. Benzer dozaj ve uygulama günleri içermesine rağmen sunulan çalışmadan farklı olarak bu çalışmada da konjenital malformasyonlar görülmüştür. Makroskopik malformasyonlar olarak anensefali, uzuv defektleri, çene yapısında bozulma, omurga defektleri ve büyüme geriliği gibi durumlar sayılabilir. İskelet sistemine ait malformasyonlar ise kemikleşmede gecikme, skolyoz, kaftasında ve mandibular hipoplazi şeklindedir.

OXC ile yapılan hayvan çalışmaları incelendiğinde; Tecoma (1999), sıçanlarda teratojenitenin 250-300 mg/kg/gün'den 500 mg/kg'a kadar ki dozlarda görüldüğünü ifade etmektedir. Doza bağlı olarak postnatal dönemde gelişme geriliği görüldüğü de bildirmektedir (Tecoma,1999).

Bennett ve ark. (1996) yaptığı çalışmada ise OXC'yi gebe SWV (Swiss-Vancouver) farelere gebeliğin 6. gününden 18. gününe kadar diyetle vermiştir. Tolere edilebilen en yüksek doz olan 1100 mg/kg/gün uygulandığında malformasyon oranı kontrol gurubunda %5 iken, OXC'de %8 bulunmuştur. Ayrıca PB ile birlikte uygulandığında (45 mg/kg/gün) MKA oranı, monoterapi OXC uygulaması kadar bulunmuştur (Bennett ve ark.,1996).

Sunulan çalışmada ise kronik uygulama dozu olan 100 mg/kg/gün OXC'nin farklı gebelik dönemlerindeki uygulamalarında herhangi bir malformasyon görülmedi. Ancak beyin ve vücut ağırlıkları açısından değerlendirildiğinde kontrol gruplarına göre anlamlı bir azalma tespit edildi ($P<0,05$). Özellikle OXC verilen gebeliğin 6.-15. günlerindeki ilaç uygulama grubunda beyin ve vücut ağırlığında belirgin bir azalma gözlemlendi. Postnatal dönemde görülen bu durum Tecoma'nın (1999) sonuçları ile paralellik göstermektedir. Bunun muhtemel nedeni, iskelet sistemine ait gelişme geriliği

(Babayiğit ve ark., 2006; Cansu ve ark., 2008) ya da nörotoksik bir etki olabilir (Araujo ve ark., 2004).

OXC ile yapılan insan çalışmalarında ise; Friis ve ark. (1993) 12 gebelikten 9'unda normal doğum, 3'ünde düşük tespit etmiştir. Rabinowicz ve ark.'nın (2002) yaptığı çalışmada 42 gebelikten (25 monoterapi ve 17 politerapi uygulaması yapılan) PB ile politerapiye maruz kalan bir bebekte ventriküler septal defekt görülmüştür. Lassiter ve ark.'nın (2004) OXC'un monoterapi uygulandığı 75 gebe kadın üzerinde yapılan çalışmada, 5 yenidoğanda majör konjenital anomaliye (yarık damak, fasiyal dimorfizm, 3 parmak, kafa ve gövdede orantısızlık, mesane anomalileri) rastlanmıştır. Meischenguiser ve ark. (2004), Arjantin veri tabanlı yaptığı epidemiyolojik bir çalışmada, intrauterin hayatta OXC maruz kalan 55 bebekten 20'si politerapiye, 35'i ise monoterapiye maruz bırakılmıştır. Bu olgulardan sadece PB ile politerapiye maruz kalan bir bebekte kardiyak malformasyonlar görülmüştür. Sabers ve ark. (2004), 1996-2000 yılları arasında Danimarka'da yaptığı prospektif çalışmaya göre toplam 147 gebeden, OXC kullanan 37 gebelikten 2'sinde ventriküler septal defekt (VSD) gözlenmiştir.

Montouris (2005)'un veri tabanlarından düzenlediği çalışmaya göre; OXC'un monoterapi kullanıldığı 248 gebe kadın ve politerapi kullanıldığı 61 kadına ait verilerde, malformasyon görülme oranı monoterapi alanlarda %2,4 (6/248) iken, politerapi alanlarda % 6,6 (4/61) olduğu bildirilmiştir. Buna göre OXC'nin gebelikte monoterapi kullanımı sonucu teratojenite riskinin normal toplum popülasyonu ile aynı olduğu, politerapi kullanımlarda ise teratojenite oranının arttığı ileri sürülmektedir. Eisenschenk (2006), gebeliklerinde OXC kullanan 2 klinik olgu üzerinde yaptığı derlemeye göre her iki (gebelerin bir tanesinde OXC'u dozunu 1050 mg/kg kadar arttırmış) vakada teratojenite görülmediği ve yenidoğanların 3 yaşa kadar izlendiği ve herhangi bir bilişsel bir bozukluk gözlenmediğini ifade etmektedir. Kınay ve ark. (2008) gebelik öncesi, gebelik sırasında ve sonrasında izledikleri OXC kullanan 5 kadın üzerinde yaptıkları prospektif çalışmada yenidoğanların hiçbirinde konjenital malformasyon saptanmamıştır, ancak hastaların tümünde gebelik döneminde nöbet sıklığında artış gözlenmiştir.

Nielsen ve Hviid (2011)'in Danimarka veri tabanlı, 1996-2008 yılları arasında 837.795 canlı doğum üzerinde yaptıkları incelemede, intrauterin dönemde (ilk trimester)

yeni nesil AİE'lere maruz kalmış 1.532 canlı doğumun 49'unda (%3,2) MKA görülmüştür. OXC'ye maruz kalan 393 yenidoğandan 11'inde (%2,8) MKA görülmüştür. AEİ'ye maruz kalmayan yenidoğanlarda MKA görülme oranı ise % 2,4'tür.

GBP ile yapılan insan çalışmalarında ise; Montouris (2003)'un GBP gebelik kayıtlarına göre sonuçlarını sunduğu çalışmasında; 51 gebelikten 6'sı spontan düşükle (politerapi uygulanan), 1 tanesi elektif düşükle, 3 tanesi ikiz doğumla sonuçlanmıştır. Diğer kalan 38 yeni doğanların cinsiyetleri arasındaki oranlara bakıldığında %55,3'ü kız ve %44,7'si erkektir. Yenidoğanların %77,2'si zamanında doğmuştur. Erken doğumlar genelde 34-36. haftalarda gerçekleşmiştir. Yirmidokuz yenidoğanın kilolarına ait bilgilere göre çok düşük doğum ağırlıklı yenidoğan bulunmamakla birlikte, 6 yenidoğanın düşük doğum ağırlıklı olduğu bildirilmiştir. Üç yenidoğanda konjenital anomali tespit edilmiştir. Bunlardan 2'si majör konjenital anomali iken, biri minör konjenital anomalidir. GBP ve VPA politerapi uygulanmış olgulardan biri hipospadias ile doğmuştur. Diğer olguda 16. haftaya kadar GBP kullanılmış, kalan zamanda PB ile devam edilmiş ve bu yenidoğanında tek böbrek ile doğduğu bildirilmiştir. Minor malformasyon ile doğan olguda ise GBP ve LMT ile politerapi uygulanmış ve sol dış kulakta malformasyon ve çene bölgesinde küçük çıkıntı tespit edilmiştir. GBP'nin monoterapi uygulanan 11 yenidoğanda herhangi bir malformasyon görülmemiştir.

Guttuso ve ark. (2010), hiperemezis gravidarum için ortalama 1.843 mg (1200–3000 mg) GBP kullanan 7 gebede yaptığı araştırmada, iki gebelikte MKA'ya rastlanmıştır. Sekizinci haftada kullanılmaya başlanan gebelikte (IVF uygulaması ile gebelik sağlanmış) omurilikte malformasyon gözlenirken diğer 9. haftada kullanılmaya başlananda ise gebelikte hidronefroz gözlenmiştir. Morrow ve ark. (2006), İngiltere Gebe Kayıt Sistemi'nden derlediği bilgilere göre 2.598 gebeden 35'i monoterapi olarak GBP kullanmıştır ve sadece 1 yenidoğanda ventriküler septal defekt rastanmış.

3. SN VE ALT NUKLEUSLARI

SN, bazal gangliyonlarda yer alan en büyük nukleuslardan bir tanesidir. Son zamanlarda Parkinson, şizofreni, madde bağımlılığı ve epilepsi konusunda fizyolojik, histopatolojik ve stereolojik çalışmalarla elde edilen yeni bulgular SN'nin önemini ortaya koymaktadır (Freiche ve ark., 2004; Stark ve Pakkenberg, 2004; See ve ark.,

2007). SN'de çalışılırken bölgenin anatomik özellikleri konusunda daha fazla bilgiye ihtiyaç duyulmaktadır. Literatürde fizyolojisi hakkında pek çok bilgi bulunmasına karşın, anatomik yapısı ve sınırları hakkında fazla ayrıntılı bilgi bulunmamaktadır (Damier ve ark., 1999; Freichel ve ark., 2004; Paz ve ark., 2007; Tepper ve ark., 2007; Nielsen ve ark., 2009; Fu ve ark., 2011).

Literatürde çoğunlukla SN'nin, temel olarak SNc ve SNr olmak üzere 2 alt nukleustan oluştuğu söylenmektedir (Standring, 2005; Tepper ve ark., 2007; Nielsen ve ark., 2009). Alt nukleusları konusunda da farklı bilgiler bulunmaktadır. Şöyle ki, bazı kaynaklar üçüncü bir alt nukleus olarak SN-l (pars lateralis)'den bahsederken (Juraska, 1977; Paxinos ve Watson, 2007) bazıları bunu SNc'nin alt nukleusu olarak kabul etmektedir (Fu ve ark., 2011).

Dopaminerjik nöronları belirlemek için TH (tiroksin hidroksilaz) ile yapılan immünohistokimyasal boyamalarla, bu nöronların yoğun olarak bulunduğu SNc'nin sınırlarını tespit etmek kolay olmaktadır. Ayrıca bu boyama ile SNc'den SNr'ye uzanan kalın dendritlerin gözlenebilmesiyle, SNr'nin sınırları da kolaylıkla belirlenebilmektedir. Ancak SN-l'de SNc'dekilere benzeyen TH (+) nöronların olması tüm kesitlerde SNc'den SN-l'yi ayırt edilebilmeyi güçleştirmektedir. Özellikle Nissl boyama yöntemi ile SN-l'nin sınırlarını belirleyebilmek çok güçtür. Juraska (1977) ile Paxinos ve Watson (2008), sıçanlarda SN-l'yi SN'nin üçüncü bir alt nukleusu kabul etmektedir. Bununla birlikte Paxinos ve Watson (2007) sıçanlarda SNc'yi medial, ventral ve dorsal olmak üzere olmak üzere 3 alt nukleusa da ayırmaktadır. Ayrıca Paxinos ve Watson'un da yer aldığı çalışmada Fu ve ark. (2011), farelerde yaptığı immünoflüoresan ve immünohistokimyasal çalışma ile liflerin yönelimi ve nöronların özelliklerine göre SN-l'yi SNc'nin bir alt nukleusu olarak kabul etmektedir.

Baquet ve ark. (2005) farelerde TH ile yaptığı immünohistokimyasal ve stereolojik çalışmada sadece iki alt nukleustan bahsetmekte ve SN-l'ye ait bilgi bulunmamaktadır. Nair-Roberts ve ark. (2009) immünohistokimyasal boyama ile SN-l'yi SNc'nin alt nukleusu olarak almamış ve SNc, SNr, ventral ve lateral bölümlerde sayım gerçekleştirmiştir. Ancak bu çalışmada medial kısımla ilgili hiçbir bilgi bulunmamaktadır. Damier ve ark. (1999) diğer klasik çalışmalardan farklı olarak TH yerine kalbindin ile gerçekleştirdiği immünohistokimyasal çalışmada protein yerleşimine göre SNc'yi 6 alt bölgeye ayırmaktadır. Nielsen ve ark. (2009), kobaylarda (guinea pig) yaptığı immünohistokimyasal ve stereolojik çalışmada SN'yi iki bölgede incelemiştir.

SN-1 konusunda hiçbir bilgi bulunmamaktadır. Gibb ve Lees (1991) insan beyininde yaptığı immünohistokimyasal (TH) ve hematoksilin-eosin boyamalarda SN-1'yi SNc'ye dahil etmemiş ve ayrı bir alt nükleus olarak kabul etmiştir.

Sunulan çalışmada sıçan beyin dokusu kesitlerinde immünohistokimyasal ve Nissl boyamalar yapıldı. SNc'deki Nissl boyama yapılan kesitlerde tüm nöronları, immünohistokimyasal boyama yapılan kesitlerde ise yalnızca TH (+) olan dopaminerjik nöronlar sayıldı. SN'nin sınırları belirlenirken Paxinos ve Watson (2007) ve Fu ve ark. (2011) kullandığı kriterler göz önüne alındı. SN-1'de TH (+) dopaminerjik nöronların olması ve bunların SNc'dekiler ile benzerlik göstermesi, ayrıca Nissl boyama ile SN-1'nin sınırlarını ayırmadaki güçlük nedeniyle bu alt nükleus da SNc'deki sayıma dahil edildi.

4. SN'DE YAPILAN NÖRON SAYIM ÇALIŞMALARI

Sunulan çalışmada, fiziksel disektör-Cavalieri kombinasyonu kullanarak SNc'de nöron sayımı gerçekleştirildi. Parafin bloklardan SRÖ ile 5 µm kalınlığında fiziksel disektör yönteminin gerekleri doğrultusunda kesitler alındı. Nissl boyama yapılan kesitlerde SNc'deki tüm nöronlar sayılırken, immünohistokimyasal boyama yapılan kesitlerde ise TH (+) nöronlar sayıldı.

45 günlük dişi sıçanların sol SNc'deki toplam nöron sayısı; gebeliğin 1.-5. ve 6.-15. günlerinde SF uygulanan ve Nissl boyama yapılan kontrol gruplarında (G-3 ve G-6) toplam nöron sayıları sırasıyla 22.192 ve 19.555, hiçbir uygulama yapılmayan PK grubunda (G-7) ise 26.243 olarak hesaplandı. TH (+) nöron sayılarına ait verilere bakıldığında; gebeliğin 1.-5. günlerindeki SF uygulanan kontrol grubunda (G-3) toplam nöron sayısı 20.121, gebeliğin 6.-15. günlerindeki uygulamasında (G-6) 16.994 ve PK'da (G-7) ise 19.505 olarak hesaplandı.

Kullandığımız stereolojik yöntem ile SNc'de nöron sayımının yapıldığı çok fazla çalışma bulunmamaktadır. Çoğunlukla optik disektör ya da optik parçalama yöntemi ile sadece TH (+) nöronların sayımının yapıldığı çalışmalar bulunurken, Nissl boyama ile SNc'deki nöron sayımına yönelik iki çalışma tespit edildi. İnsanda yapılan çalışmada fiziksel disektör-Cavalieri yöntemi ile Alzheimer'lı hastalarda SNc'de nöron sayımı yapılmış, 56 yaşındaki 11 kadın ve 13 erkekte oluşan kontrol grubundaki SNc'ye ait nöron sayısı 160.163 bulunmuştur (Kemppainen ve ark., 2002). Diğer

çalışma ise yetişkin sıçanlarda optik disektör ile yapılmıştır (Oorshot ve ark., 1996). Plastik kesitlerle yapılan bu çalışmada sağ SNC'deki nöron sayısı 7.200 olarak bildirilmiştir.

Bu nukleusta yapılan araştırmaların çoğunu Parkinson hastalığına yönelik çalışmalar oluşturmaktadır. Bu amaçla günümüzde denek olarak transjenik fare, Rhesus maymun, Göttingen minipig kullanılmakta veya insanda postmortem çalışmalar tercih edilmektedir (Pakkenberg ve ark., 1995; Emborg ve ark., 1998; Stark ve Pakkenberg, 2004; Orb ve ark., 2004; Nielsen ve ark., 2009). Sıçan SNC'sinde yapılan çalışmalar oldukça sınırlıdır.

German ve Manaye (1993) tek taraflı sıçan SNC'sinde bilgisayar yardımı ile üç boyutlu oluşturulan görüntülerle, SNC'deki TH (+) nöronların sayısını 10.500 olarak bulmuştur. Banerjee ve ark. (2007), yetişkin sıçanlarda invert mikroskop ile (10x objektif) yaptığı sayımda TH (+) nöron sayısını tek taraflı 8.370 olarak tespit etmiştir. Ahmad ve ark. (2008), 70 günlük erkek sıçanlardaki SNC'de sayım yapmıştır. Optik parçalama yöntemi ile her iki hemisferdeki toplam TH (+) nöronların sayısını 8.000 olarak hesaplamıştır. Nair-Robersts ve ark. (2008), optik parçalama yöntemi ile (frozen kesitlerde her iki hemisferde) sıçan SNC'sindeki TH (+) nöron sayısını 15.000 olarak hesaplamıştır. Scott ve ark.'da (2007) yine sıçanlarda, frozen kesit olarak optik parçalama yöntemiyle (her iki hemisferde) SNC'deki nöron sayısını 8.000 olarak bulmuştur.

Çalışmalar karşılaştırıldığında sonuçların birbirinden farklı olduğu görülmektedir. Ayrıca sunulan çalışmadaki nöron sayısı da diğer çalışmaların sonuçlarından farklıdır. Şöyle ki, Scott ve ark. (2007) ile Ahmad ve ark. (2008) optik parçalama yöntemi ile iki taraflı SNC'deki nöron sayısını yaklaşık 8.000 olarak hesaplamıştır. Ancak German ve Manaye (1993), Oorshot (1996), Banerjee ve ark. (2007), Nair-Robersts ve ark. (2008) ise birbirine yakın sonuçlar bulmuşlardır. Bu sonuçlar Ahmad ve ark. (2008) ile Scott ve ark.'nın (2007) sonuçlarından hemen hemen iki katı fazladır. Sunulan çalışmaya ait sonuçlar ise diğer çalışmaların en yükseğinden 2 kat daha fazla çıktı. Bunun bir nedenin SNC'nin tüm alt nukleuslarının ve SN-l'nin sayıma dahil edilmesinden kaynaklanmış olabilir.

Yapılan diğer çalışmalardaki nöron sayıları değerlendirildiğinde ise en bariz farklılık Scott ve ark. (2007) ve Ahmad ark. (2008) ile Nair-Robersts ve ark.'nın (2008) sonuçları arasında görülmektedir. Şöyleki; çalışmalarını yetişkin erkek sıçanlardan elde

edilen frozen kesitlerde gerçekleştirdiler. Her iki hemisferde bulunan SNc'deki TH (+) nöronlarını optik disektör yöntemiyle saymışlardır. Buna rağmen Scott ve ark. (2007) ile Ahmad ve ark.'nın (2008) sonuçları Nair-Roberts ve ark.'nın (2008) sonucundan yarı yarıya az olduğu görüldü.

Literatürdeki çalışmalarda tarafsız stereolojik yaklaşımlar kullanılmasına rağmen birbirinden farklı sonuçların elde edilmesi, uygulamalardaki bazı hatalardan kaynaklanıyor olabilir. Olası hata kaynaklarını şu şekilde sıralayabiliriz (Ayas, 2005);

- Uygulama kusurları: Teorik olarak tarafsızlığı kanıtlanmış stereolojik metotların uygulama kurallarına uyulmaması sonucu ortaya çıkar.
- Hücre tanımlamaları: Kullanılan hücre tanımlama kriterlerindeki farklılıklardan ve hücre tanımlamasını zorlaştıran etkenlerden (gömme ortamı, boyama gibi) kaynaklanır.
- Kesit deformasyonu: Bu etki kalın kesitlerin kullanıldığı optik disektör çalışmalarında ortaya çıkmaktadır.

Scott ve ark. (2007) ve Ahmad ark. (2008) ile Nair-Roberts ve ark.'nın (2008) sonuçlarının farklı çıkmasının nedenleri yukarıda sayılan hata kaynaklarından dolayı olabilir. Özellikle kalın kesitlerin kullanıldığı optik disektör ve optik parçalama çalışmalarında kesit defromasyonu etkisi görülmektedir (Dorph-Petersen ve ark., 2001) Örneğin sayım yapılan bölgede meydana gelecek olan büzüşme ne kadar çok ise hücre sayısı lehindeki yükseklik örnekleme oranı o kadar fazladır ya da tam tersi durumda söz konusu olabilmektedir. Oorshot'da (1996) yaptığı çalışmada optik disektör tekniğini kullanmıştır. Sunulan çalışmada kullanılan fiziksel disektör yöntemi için böyle bir etki söz konusu değildir (Dorph-Petersen ve ark., 2001).

Ayrıca SNc'de yapılan çalışmaların çoğunluğunda immünohistokimyasal boyama kullanılmaktadır. Boyamada iyi sinyalin alınamaması ya da boyama kalitesinin iyi olmaması hücre tanımlamalarında sorunlara neden olabilmektedir. Özellikle optik disektör yöntemi için alınan kalın kesitlerdeki bu tür çalışmalarda bu sorunlarla karşılaşılabilir. Şöyleki; antikorun tüm kesit kalınlığı boyunca ilgili yapılara ulaşamaması nedeniyle immunoreaktivite gelişmeyebilir. Bu durum hücrelerin tanımlanmasını zorlaştırabilir. Bu da sonuçları doğrudan etkileyecektir.

5. ÇALIŞMAYA AİT VERİLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Kontrol olarak kullanılan gruplardan SF ve PK grupları karşılaştırıldığında; Nissl boyama yapılanlarda her iki uygulama dönemi açısından bu iki grup arasında anlamlı farklılık çıkmıştır ($P<0,05$). Bu anlamlılık SF'de nöron sayısında azalma şeklindedir. Bu durum muhtemelen, PK grubu sıçanların diğer gruplar ile aynı yaş döneminde ve çevresel şartlar altında olmalarına rağmen ilaç uygulama zamanlarında aynı fiziksel etkilere (stres gibi) maruz kalmamalarıyla açıklanabilir. Zaten süre uzadıkça nöron sayısındaki azalmanın artması da (gebeliğin 1-5. ile 6-15. günlerindeki uygulamalarında sırasıyla ~%15 ve ~%26 azalma) buna işaret etmektedir. Nitekim Lemaire ve ark. (2000) ile Charil ve ark. (2010) prenatal stresin sıçanlarda hücre proliferasyonunu inhibe edici etkisi olduğunu bildirmektedirler. Prenatal stres, hipotalamo-hipofiz-adrenal bez aksını etkileyerek maternal ve plasental stres hormonları olan kortikotropin salgılatıcı faktörün ve kortizolün artışına neden olmaktadır. Bu da fetal kan kortizol seviyesinin yükselmesine neden olmaktadır. Fetal kortizoldeki bu anormal artış, beyin gelişiminde gecikmelere neden olabilmektedir. Bu etkinin sonuçları hipokampusta açıkça ortaya koyulmuştur (Avishai-Eliner et al., 2002; Van Den Hove ve ark. 2006).

Veriler değerlendirilirken denek gruplarıyla aynı fiziksel etkilere maruz kalan kontrol grubunun kullanılması, sonuçların karşılaştırılmasında daha anlamlı sonuçlar verecektir. Bu nedenle kontrol grubu olarak sadece SF gruplarıyla veriler karşılaştırıldı.

Buna göre; gebeliğin 1-5. günlerinde GBP, OXC ve SF uygulanan grupların Nissl boyama yapılanları arasında toplam nöron sayıları açısından anlamlı bir farklılık çıkmadı ($P>0,05$). SF ile OXC grupları karşılaştırıldığında, %20 oranında (yaklaşık 4000 nöron) OXC lehine, toplam TH (+) nöron sayısı bakımından bir azalma söz konusudur ($P<0,05$). GBP grubu ile SF arasında ilgili nöronlar bakımından anlamlı farklılık yoktur ($P>0,05$). Sonuç olarak intrauterin 1.-5. günlerde OXC uygulamasının dopaminerjik nöron sayısı bakımından olumsuz bir etkisi gözükmemektedir.

Gebeliğin 6.-15. günlerinde OXC ile SF uygulanan, hem Nissl boyalı, hem de TH (+) boyalı gruplar karşılaştırıldığında toplam nöron sayısı bakımından anlamlı bir farklılık bulunmadı ($P>0,05$). Aynı dönem GBP ile SF uygulanan grupları karşılaştırdığımızda ise, toplam nöron sayısında GBP uygulaması lehine anlamlı bir artış tespit edildi ($P<0,05$). Aynı gruplar TH (+) nöronlar bakımından

değerlendirildiğinde; yine GBP grubundaki nöron sayısında SF'ye göre anlamlı bir artış gözlemlendi ($P < 0,05$). Sonuç olarak gebeliğin 6.-15. günlerindeki uygulamalarda OXC'nin SNc'deki nöron sayısı üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi yoktur. Gebeliğin 6.-15. gün GBP uygulamasının ise nöron sayısında artışa neden olduğu, bu artışın da daha çok dopaminerjik olmayan nöronlar üzerinde gerçekleştiği görülmektedir.

Literatürde OXC'nin intraselüler ATP'de azalma ve serbest radikallerde artışa neden olup hücrel stresine sebebiyet vererek hücrelerin apoptosise uğramalarına neden olduğu bildirilmektedir (Ambrosio ve ark., 2000; Araujo ve ark., 2004). Sunulan çalışmada gebeliğin 1.-5. gün uygulamasında dopaminerjik (TH +) nöronlarda gözlenen toplam nöron sayısındaki azalma bu etki ile açıklanabilir. Ancak bu uygulama dönemi nörogenezin çok yoğun olarak gerçekleştiği peryottan önceki dönemi kapsadığı için bu etkinin nasıl gerçekleştiğini açıklamak güçtür. Muhtemel nöroprogenitör hücreler üzerinden bu etki gerçekleşmiş olabilir. Bu konuda daha ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Gebeliğin 6.-15. günlerini kapsayan GBP uygulamasında ise nöron sayısı bakımından SF grubuna göre bir artış söz konusudur ($P < 0,05$). GBP, merkezi sinir sistemine GABA analogu olarak etki edebilen bir bileşiktir. GABA amino transaminaz inhibitörüdür ve GABA'nın metabolize olmasını engelleyerek hücrelerarası ortamda GABA konsantrasyonunun artmasını sağlar. GABA konsantrasyonundaki bu artış muhtemel nörotrofik etkiyle beyin volümünde artmaya neden olabilir (Frisch ve ark., 2009). Ayrıca GBP'nin glutamat transport inhibisyonu artırarak nöron ölümünü (hücrede eksitotoksisteye neden olan glutamat kaçağının azalması ile) yavaşlattığı bildirilmiştir (Mc Lean, 1999). Bununla birlikte gelişen beyinde temel eksitatör nörotransmitterlere etki göstererek nöroblastların migrasyonunu etkiler (Manent ve ark., 2007). Ayrıca nöral progenitör hücreler ve immatür nöronlar üzerindeki depolarize etkisi ile hücre içi kalsiyum konsantrasyonlarının artmasına neden olur. Bu artış bahsedilen hücrelerin hücre döngüsünü etkileyerek proliferasyonlarını tetiklemektedir (Fiszman ve ark., 1999; Li ve ark., 2004; Ge ve ark., 2006). GBP'nin bu etkileri sunulan çalışmada nörogenez döneminde (gebeliğin 6.-15. günleri) görülen nöron sayısındaki artışı açıklar niteliktedir.

SONUÇ VE ÖNERİLER

1- Sunulan çalışmada gebe sıçanlarda OXC (100 mg/kg/gün) ve GBP'nin (50 mg/kg/gün) implantasyon öncesi (1.-5. günler) ve nörogenez dönemlerini (6.-15. günler) kapsayan uygulamalarında, yavru sıçanlar üzerine belirgin teratojenik bir etkisi görülmemiştir.

2- GBP'nin sıçanların gebeliğin implantasyon öncesi ile OXC'nin implantasyon öncesi ve nörogenez dönemlerindeki uygulamalarında, yavru sıçanlarda kilo alımında ve beyin ağırlığında azalmaya neden olduğu saptandı.

3- Gebeliğin implantasyon öncesi döneminde GBP uygulamasının sıçanlarda fetal rezorbsiyona neden olabileceği düşünülmektedir.

4- OXC'nin gebe sıçanlara implantasyon öncesi dönemde verilmesi, SNc'deki dopaminerjik nöron sayısında azalmaya neden olduğu gözlemlendi.

5- GBP'nin gebe sıçanlara nörogenez döneminde uygulanması SNc'deki toplam nöron sayısında artışa neden olduğu bulundu. Benzer durum dopaminerjik nöronlar için de geçerlidir.

6- Benzer deneysel çalışmalar epileptik gebe sıçanlarda da yapılarak aynı ve farklı etkilerin var olup olmadığı ve mekanizmasının aydınlatılması gerekmektedir. Böylece hem sağlıklı nesillerin doğmasına hem de teratojenite ve epilepsi tedavi protokollerinin geliştirilmesine önemli katkı sağlanacaktır.

KAYNAKLAR

- Adab N, Tudur Smith C, Vinten J, Williamson PR, Winterbottom JB. Common antiepileptic drugs in pregnancy in women with epilepsy. *The Cochrane Collaboration*. 2009; 4: 1- 19.
- Afshar M, Hassanzadeh-Taheri MM, Moallem SA, Tamizi A, Golalipour MJ. Teratogenic effects of gabapentin on the skeletal system of Balb/C mice fetuses. *Neurosciences (Riyadh)*. 2009; 14(3): 239-44.
- Ahmad SO, Park JH, Radel JD, Levant B. Reduced numbers of dopamine neurons in the substantia nigra pars compacta and ventral tegmental area of rats fed an n-3 polyunsaturated fatty acid-deficient diet: A stereological study. *Neuroscience Letters*. 2008; 438: 303-307.
- Ahmed SN, Siddiqi ZA. Antiepileptic drugs and liver disease. *Seizure*. 2006; 15: 156-164.
- Akdağ F. Deney hayvanlarının üretimi. Aksoy A, Kolbakır F, Hökelek M. Editör(ler). *Laboratuar hayvanları'nda*. Samsun Ondokuzmayıs Üniversitesi Yayınları. 2010; 132: 281.
- Almgren M, Kallen B, Lavebratt C. Population-based study of antiepileptic drug exposure in utero-influence on head circumference in newborns. *Seizure*. 2009; 4: 1526.
- Ambrosio AF, Silva AP, Araujo I, Malva JO, Soares-da Silva P, Carvalho AP, Carvalho CM. Neurotoxic/neuroprotective profile of carbamazepine, oxcarbazepine and two new putative antiepileptic drugs, BIA 2-093 and BIA 2-024. *J. Eur. Pharmacol*. 2000; 406: 191–201.
- Araújo IM, Ambrósio AF, Leal EC, Verdasca MJ, Malva JO, Silva PS, Carvalho AP, Carvalho CM. Neurotoxicity Induced by Antiepileptic Drugs in Cultured Hippocampal Neurons: A Comparative Study between Carbamazepine, Oxcarbazepine, and Two New Putative. *Antiepileptic Drugs, BIA 2-024 and BIA 2-093. Epilepsia*. 2004; 45(12): 1498–1505.
- Asconapé JJ, Penry JK, Dreifuss FE, Riela A, Mirza W. Valproate-associated pancreatitis. *Epilepsia*. 1993; 34: 177-183.
- Aubert I, Brana C, Pellevoisin C, Giros B, Caille I, Carles D, Vital C, Bloch B. Molecular Anatomy of the Development of the Human Substantia Nigra. *The Journal of Comp. Neur*. 1997; 379: 72–87.
- Aumann TD, Gantois I, Egan K, Vais A, Tomas D, Drago J, Horne MK, Florey H. SK channel function regulates the dopamine phenotype of neurons in the substantia nigra pars compacta. *Experimental Neurology*. 2008; 213: 419–430.

- Avishai-Eliner S, Brunson KL, Sandman CA, Baram TZ. Stressed-out or in (utero)? Trends Neurosci. 2002; 25: 518–524.
- Ayas B. Postnatal gelişim sürecinde sıçan koklear nukleusundaki nöron sayısının fiziksel fraksiyonlama metodu ile belirlenmesi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Samsun, Doktora Tezi, 2005.
- Babayigit A, Dirik E, Bober E, Cakmakçı H. Adverse effects of antiepileptic drugs on bone mineral density. *Pediatr Neurol.* 2006; 35: 177-181.
- Backonja M, Beydoun A, Edwards KR, Schwartz SL, Fonseca V, Hes M, LaMoreaux L, Garofalo E. Gabapentin for the treatment of painful neuropathy in patients with diabetes mellitus. *J. Am. Med. Assoc.* 1998; 280: 1831–1836.
- Bancroft JD, Stevens A. Theory and practice of histological techniques. Fourth Edition, Churchill Livingstone. 1996.
- Banerjee PN, Hauser WA, Engel J, Pedley TA. Epidemiology of Epilepsy. In: Ergel J, Pedley TA, editors. *Epilepsy A Comprehensive Textbook*, 2. Edition, Volume 1, USA; Wolters Kluwer/ Lippincott Williams&Wilkins. 2008.
- Banerjee R, Sreetama S, Saravanan KS, Dey SN, Mohanakumar KP. Apoptotic Mode of Cell Death in Substantia Nigra Following Intranigral Infusion of the Parkinsonian Neurotoxin, MPP+ in Sprague-Dawley Rats: Cellular, Molecular and Ultrastructural Evidences. *Neurochem Res.* 2007; 32: 1238–1247.
- Bartolini E, Bell GS, Sander JW. Multicenter challenges in epilepsy. *Epilepsy & Behavior.* 2011; 20: 428–434.
- Baquet ZC, Bickford P, Jones KR. Brain-Derived Neurotrophic Factor Is Required for the Establishment of the Proper Number of Dopaminergic Neuron in the Substantia Nigra Pars Compacta. *The Journal of Neuroscience.* 2005; 25(26): 6251-6259.
- Beghi E, Annegers JF and Collaborative Group for the Pregnancy. Pregnancy Registries in Epilepsy. *Epilepsia.* 2002; 42(11): 1422–1425.
- Beghi E. Efficacy and tolerability of the new antiepileptic drugs: comparison of two recent guidelines. *Lancet Neurol.* 2004; 3: 618-621.
- Beghi E. Treating epilepsy across its different stages. *Ther. Adv. Neurol. Disord.* 2010; 3(2): 85-92.
- Bennett GD, Amore BM, Finnell RH, Wlodarczyk B, Kalhorn TF, Skiles GL, Nelson SD, Slattey JT. Teratogenicity of carbamazepine-10, 11-epoxide and oxcarbazepine in the SWV Mouse. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1996; 279(3): 1237-1242.

- Bialer M. The pharmacokinetics and interactions of new antiepileptic drugs: an overview. *Ther Drug Monitor*. 2005; 27: 722-726.
- Birnbaum AK, Marino SE, Bourgeois BFD. Valproate. Wyllie E, editor. In *Wyllie's Treatment of Epilepsy, Principle and Practise*, 5.Edition, USA; Wolters Kluer/Lippincott Williams&Wilkins, 2008; 622-626.
- Bittigau P, Sifringer M, Genz K, Reith E, Pospischil D, Govindarajalu S, Dzietko M, Pesditschek S, Mai I, Dikranian K, Olney JW, Ikonomidou C. Antiepileptic drugs and apoptotic neurodegeneration in the developing brain. *PNAS*. 2002; 99(23): 15089-15094.
- Bittigau P, Sifringer M, Ikonomidou C. Antiepileptic drugs and apoptosis in the developing brain. *Ann NY Acad Sci*. 2003; 993: 103-114.
- Bjung R, Gundersen HJG. Estimate total number of neurons and glial and endothelial cells in the rat spinal cord by means of optical disector. *The Journal of Comparative Neurology*. 1993; 328: 406-414.
- Bodde NMG, Brooks JL, Baker GA, Boon PAJM, Hendriksen JGM, Mulder OG, Aldenkamp AP. Psychogenic non-epileptic seizures—Definition, etiology, treatment and prognostic issues: A critical review. *Seizure*. 2009; 18: 543-553.
- Borthen I, Eide M, Veiby G, Daltveit A, Gilhus N. Complications during pregnancy in women with epilepsy: population-based cohort study. *BJOG*. 2009; 116: 1736-1742.
- Borthen I, Eide M, Daltveit A, Gilhus N. Obstetric outcome in women with epilepsy: a hospital-based, retrospective study. *BJOG*. 2011; 118: 956-965.
- Botts R, Raskind J. Gabapentin and lamotrigine in bipolar disorder. *Am. J. Health-Syst. Pharm*. 1999; 56: 1939-44.
- Bourgeois BFD. Important pharmacokinetic properties of antiepileptic drugs. *Epilepsia*. 1995; 36(5): 1-7.
- Bourgeois BFD. Phenobarbital and Primidone. Wyllie E, editor. In *Wyllie's Treatment of Epilepsy, Principle and Practise*, 5.Edition, USA; Wolters Kluer/Lippincott Williams&Wilkins, 2008; 648-654.
- Braendgaard H, Evans E, Howard CV, Gundersen HJG. The total number of neurons in the human neocortex unbiasedly estimated using optical disectors. *Journal of Microscopy*. 1990; 157: 285-304.
- Brodie MJ, Ditcher MA. Antiepileptic drug. *J. N. Engl. Med*. 1996; 334:168-175.

- Brosh K, Matok I, Sheiner E, Koren G, Wiznitzer A, Gorodischer R, Levy A. Teratogenicity determinations of first trimester exposure to antiepileptic medications. *J. Popul. Ther. Clin. Pharmacol.* 2011; 18: 89-98.
- Cabello CR, Thune JJ, Pakkenberg H, Pakkenberg B. Ageing of substantia nigra in humans: cell loss may be compensated by hypertrophy. *Neuropathology and Applied Neurobiology.* 2002; 28: 283–291.
- Camfield CS, Camfield PR, Gordon K. Incidence of epilepsy in childhood and adolescence: a population –based study in Nova Scotia from 1977 to 1985. *Epilepsia.* 1996; 37(1): 19-23.
- Cansu A, Erdogan D, Serdaroglu A, Take G, Coskun ZK, Gurgun SG. Histologic and morphologic effects of valproic and oxcarbazepine on rat uterine and ovarian cells. *Epilepsia.* 2010; 51(1): 98-107.
- Cansu A, Yesilkaya E, Serdaroglu A, Hırfanoğlu TL, Çamurdan O, Gülbahar Ö, Gücüyener K, Cinaz P. Evaluation of bone turnover in Epileptic Children Using Oxcarbazepine. *Pediatric Neurology.* 2008; 39: 266-271.
- Cascino GD. When drugs and surgery don't work. *Epilepsia.* 2008;49- 9:79-84.
- Castillo CG, Mendoza S, Saavedra J, Giordano M. Lack of effect of intranigral transplants of a GABAergic cell line on absence seizures. *Epilepsy & Behavior.* 2010; 18; 358–365.
- Charil A, Laplante DP, Vaillancourt C, King S. Prenatal stress and brain development. *Brain research reviews.* 2010; 56-79.
- Charlton R, Weil J, Cunnington M, Ray S, Vries C. Comparing the General Practice Research Database and the UK Epilepsy and Pregnancy Register as Tools for Postmarketing Teratogen Surveillance: Anticonvulsants and the Risk of Major Congenital Malformations. *Drug Safety.* 2011; 34(2): 157-171.
- Chen YH, Chiou HY, Lin HC, Lin HL. Affect of seizures during gestation on pregnancy outcomes in women with epilepsy. *Arch. Neurol.* 2009; 66(8): 979-984.
- Chinta SJ, Andersen JK. Dopaminergic neurons. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology.* 2005; 37: 942–946.
- Cilio MR, Bolanos AR, Liu Z, Schmid R, Yang Y, Stafstrom CE, Mikati MA, Holmes GL. Anticonvulsant action and long-term effects of gabapentin in the immature brain. *Neuropharmacology.* 2001; 40: 139-147.
- Cockerell OC, Johnson AL, Sander WAS, Shorvon SD. Prognosis of epilepsy: a review and further analysis of the first nine years of the British National general practice study of epilepsy, a prospective population-based study. *Epilepsia.* 1997; 38: 31–46.

- Cohen MJ, Meador KJ, Browning N, Baker GA, Smith JC, Kalayjian LA, Kanner A, Liporace JD, Pennell PB, Privitera M, Loring DW. Fetal antiepileptic drug exposure: Motor, adaptive and emotional/behavioral functioning at age 3 years. *Epilepsy & Behavior*. 2011; 22: 240–246.
- Cragan JD, Fieadman JM, Holmes LB, Uhl K, Green NS, Riley L. Ensuring safe and effective use of medication during pregnancy: Planning and prevention through preconception care. *J. Matern. Child. Health*. 2006; 10: 129-135.
- Crawford P. Best Practice Guidelines for the management of women with epilepsy. *Epilepsia*. 2005; 46(9): 117–124.
- Cross HJ. Epilepsy in the WHO European region: Fostering epilepsy care in Europe. *Epilepsia*. 2011; 52(1): 185–197.
- Cruz-Orive LM, Weibel ER. Recent stereological methods for cell biology: A brief survey. *J. Am. (Lung Cell Mol.) Physiol.* 1990; 258: 148–156.
- Czubak A, Nowakowska E, Kus K, Sadowski C, Matschay A. Effect of gabapentin on cognitive processes in rats not exposed and exposed to tobacco smoke during fetal life. *Human & Experimental Toxicology*. 2008; 27: 883–894.
- Da Cunha C, Wietzikoski S, Wietzikoski EC, Miyoshi E, Ferro MA, Anselmo-Franci JA, Canteras NS. "Evidence for the substantia nigra pars compacta as an essential component of a memory system independent of the hippocampal memory system.". *Neurobiol. Learn. Mem.* 2003; 79 (3): 236–242.
- Damier P, Hirsch EC, Agid Y, Graybiel M. The substantia nigra of human brain I. Nigrosomes and the nigral matrix, a compartmental organization based on calbindin dk28 immunohistochemistry. *Brain*. 1999; 122: 1421-1436.
- Daras MD, Bladin PF, Eadie MJ, Millett D. Epilepsy: Historical Perspectives In: Egel J, Pedley TA, editors. *Epilepsy A Comprehensive Textbook*, 2.Edition, Volume 1, USA; Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins. 2008; 18-19.
- Davis R, Peters DH, McTavish D. Valproic acid, A reappraisal of its pharmacological properties and clinical efficacy in epilepsy. *Drug*. 1994; 47(2): 332-372.
- Davis AR, Pack AM, Kritzer J, Yoon A, Camus A. Reproductive history, sexual behavior and use of contraception in women with epilepsy. *Contraception*. 2008; 77: 405–409.
- De O Guerra M, de Oliveira LE, Peters VM. Pre-embryo development in rats treated with oxcarbazepine in the first four days after insemination. *Rev. Assoc. Med. Bras.* 2000; 46(4): 346-53.

- Demarque M, Represa A, Becq H, Khalilov I, Ben Ari Y, Aniksztejn L. Paracrine intercellular communication by Ca²⁺ and SNARE – independent release of GABA and glutamate prior to synapse formation. *Neuron*. 2002; 36: 1051-1061.
- Deransart C, Hellwig B, Heupel-Reuter M, L'eger JF, Heck D, Lücking CH. Single-unit Analysis of Substantia Nigra Pars Reticulata Neurons in Freely Behaving Rats with Genetic Absence Epilepsy. *Epilepsia*. 2003; 44(12): 1513–1520.
- Devinsky O. Religious experiences and epilepsy. *Epilepsy & Behaviour*. 2003; 4: 76-77.
- Donner EJ, Snead OC. III. New Generation Anticonvulsants for the Treatment of Epilepsy in Children. *NeuroRx*. 2006; 3(2): 170-180.
- Dorp-Petersen KA, Nyengaard JR, Gundersen HJG. Tissue shrinkage and unbiased stereological estimation of particle number and size. *Journal of Microscopy*. 2001; 204: 232–246.
- Duncan JS. Neuroimaging methods to evaluate the etiology and consequences of epilepsy. *Epilepsy Res*. 2002; 50: 131-140.
- Eisenschenk S. Treatment with oxcarbazepine during pregnancy. *The Neurologist*. 2006; 12: 249-254.
- Emborg ME, Ma SY, Mufson EJ, Levey AI, Taylor MD, Brown WD, Holden JE, Kordower JH. Age-related declines in nigral neuronal function correlate with motor impairments in Rhesus monkeys. *J. Comp Neurol*. 1998; 401: 253–265.
- Engel J, Pedley TA. What's epilepsy? In: Engel J, Pedley TA, editors. *Epilepsy A Comprehensive Textbook*, 2. Edition, Volume1, USA; Wolters Kluwer/Lippincott Williams&Wilkins. 2008; 1.
- Engel J, JR., Williamson PD, Berg AT, Wolf P. Classification of epileptic seizures, In: Engel J, Pedley TA, editors. *Epilepsy A Comprehensive Textbook*, 2. Edition, Volume1, USA; Wolters Kluwer/Lippincott Williams&Wilkins. 2008; 511
- EURAP Study Group. Seizure control and treatment in pregnancy: observations from the EURAP epilepsy pregnancy registry. *Neurology*. 2006; 66(3): 354-60.
- Farrell MA, Blümcke I, Khanlou N, Vinters HV. General neuropathology of epilepsy. In: Engel J, Pedley TA, editors. *Epilepsy A Comprehensive Textbook*, 2. Edition, Volume1, USA; Wolters Kluwer/Lippincott Williams&Wilkins. 2008; 103-117.
- Feddersen B, Vercueil L, Noachtar S, David O, Depaulis A, Deransart C. Controlling seizures is not controlling epilepsy: A parametric study of deep brain stimulation for epilepsy. *Neurobiology of Disease*. 2007; 27: 292-300.

- Fisher RS, van Emde Boas W, Blume W, Elger C, Genton P, Lee P, Egel J. Epileptic Seizure and Epilepsy: Definition Proposed by The International League Against Epilepsy (ILAE) and International Bureau for Epilepsy (IBE). *Epilepsia*. 2005; 46(4): 470-472.
- Fiszman ML, Borodinsky LN, Neale JH. GABA induces proliferation of immature cerebellar granule cells grown in vitro. *Developmental Brain Research*. 1999; 15: 1-8.
- Freichel C, Ebert U, Potschka H, Löscher W. Amygdala-kindling does not induce a persistent loss of GABA neurons in the substantia nigra pars reticulata of rats. *Brain Res*. 2004; 1025: 203-209.
- Friis ML, Kristensen O, Boas J, Dalby M, Deth SH, Gram L, Mikkelsen M, Pedersen B, Sabers A, Worm-Petersen J. Therapeutic experiences with 947 epileptic outpatients in oxcarbazepine treatment. *Acta Neurol Scand*. 1993; 87(3): 224-227.
- Frisch C, Hu"sch K, Angenstein F, Kudin A, Kunz W, Elger CE, Helmstaedter C. Dose-dependent memory effects and cerebral volume changes after in utero exposure to valproate in the rat. *Epilepsia*. 2009; 50(6): 1432-1441.
- Fox A, Gentry C, Patel S, Kesingland A, Bevan S. Comparative activity of the anti-convulsants oxcarbazepine, carbamazepine, lamotrigine and gabapentin in a model of neuropathic pain in the rat and guinea-pig. *Pain*. 2003; 105: 355-362.
- Fu Y, Yuan Y, Halliday G, Ruszná'k Z, Watson C, Paxinos G. A cytoarchitectonic and chemoarchitectonic analysis of the dopamine cell groups in the substantia nigra, ventral tegmental area, and retrorubral field in the Mouse. *Brain Struct Funct*. 2011. DOI 10. 007/s00429-011-0349-2.
- Galanti M, Newport JD, Pennell PB, Titchner D, Newmanb M, Knight BT, Zachary NS. Postpartum depression in women with epilepsy: Influence of antiepileptic drugs in a prospective study. *Epilepsy & Behavior*. 2009; 16: 426-430.
- Gale K, Proctor M, Veliskova J, Nehlig A. Basal Ganglia and Brainstem anatomy and physiology. In: Egel J, Pedley TA, editors. *Epilepsy A Comprehensive Textbook*, 2.Edition, Volume1, USA; Wolters Kluwer/Lippincott Williams&Wilkins. 2008; 371.
- Ge S, Pradhan DA, Ming G, Song H. GABA sets the tempo for activity dependent adult neurogenesis. *TRENDS in Neurosciences*. 2006; 30(1).
- German DC, Manaye KF. Midbrain dopaminergic neurons (nuclei A8, A9, and A10), Three-dimensional reconstruction in the rat. *J. Comp. Neural*. 1993; 331: 297-309.

- Gernert M, Fedrowitz M, Wlaz P, Löscher W. Subregional changes in discharge rate, pattern and drug sensitivity of putative GABAergic nigral neurons in the kindling model of epilepsy. *J. Eur. Neuroscience*. 2004; 20: 2377-2386.
- Gibb WRG, Lees AJ. Anatomy, pigmentation, ventral and dorsal subpopulations of the substantia nigra, and differential cell death in Parkinson's disease. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*. 1991; 54: 388-396.
- Gopinath M, Sarma PS, Thomas SV. Gender-specific psychosocial outcome for women with epilepsy. *Epilepsy & Behavior*. 2011; 20: 44-47.
- Guatteo E, Cucchiaroni ML, Mercuri NB. Substantia nigra control of basal ganglia nuclei. *J. Neural. Transm. Suppl*. 2009; 73: 91-101.
- Guberman A. Hormonal contraception and epilepsy. *Neurology*. 1999; 53: 340.
- Guerreiro CMA, Guerreiro MM. Carbamazepin and Oxcarbazepin. Wyllie E, editor. In *Wyllie's Treatment of Epilepsy, Principle and Practise*, 5th Edition, USA; Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins, 2008; 614-618.
- Guimaraes FP, Krahe TE, Medina AE. Early valproic acid exposure alters functional organization in the primary visual cortex. *Experimental Neurology*. 2011; 228: 138-148.
- Gundersen HJG. Notes on the estimation of the numerical density of arbitrary profiles: The edge effect. *Journal of Microscopy*. 1977; 111: 219-223.
- Gundersen HJG, Østerby R. Optimizing sampling efficiency of stereological studies in biology: or 'Do more less well!'. *J. Microsc.* 1981; 121: 65-73.
- Gundersen HJG. Stereology of arbitrary particles. A review of unbiased number and size estimators and the presentation of some new ones, in memory of William R. Thompson. *Journal of Microscopy*. 1986. 143: 3-45.
- Gundersen HJG, Jensen EBV. The efficiency of systematic sampling in stereology and its prediction. *Journal of Microscopy*. 1987; 147: 229-263.
- Gundersen HJG, Bendtsen TF, Korbo L, Marcussen N, Møller A, Nielsen K, Nyengaard JR, Pakkenberg B, Sørensen FB, Vesterby A, West MJ. Some new, simple and efficient stereological methods and their use in pathological research and diagnosis. *Acta Pathologica Microbiologica Et Immunologica Scandinavica*, 1988a; 96: 379-394.
- Gundersen HJG. Stereology: the fast lane between neuroanatomy and brain function-or still only a tightrope? *Acta Neurologica Scandinavica*. 1992; 137: 8-13.
- Gundersen HJG, Jensen EBV, Kieu K, Nielsen J. The efficiency of systematic sampling in stereology-reconsidered. *Journal of Microscopy*. 1999; 193: 199-211.

- Guttuso Jr. T, Robinson LK, Amankwah KS. Gabapentin use in hyperemesis gravidarum: A pilot study. *Early Human Development*. 2010; 86: 65–66.
- Guyton, A.C. *Textbook of Medical Physiology*, 11. Edition. London, Saunders Comp. 2007; 764.
- Harden CL, Meador KJ, Pennell PB. American Academy of Neurology: American epilepsy society. Practice parameter update: management issues for women with epilepsy focus on pregnancy (an evidence based review): teratogenesis and perinatal outcomes. *Neurology*. 2009; 73(2): 133-141.
- Hauser WA. Status epilepticus: epidemiologic considerations. *Neurology*. 1990; 40: 9-13.
- Hauser WA, Annegers JF, Kurland LT. Incidence of epilepsy and unprovoked seizures in Rochester, Minnesota: 1935-1984. *Epilepsia*. 1993; 34(3): 453-468.
- Hauser WA, Annegers JF, Rocca WA. Descriptive epidemiology of epilepsy: contributions of population-based studies from Roschester, Minnesota. *Mayo Clin. Proc.* 1996; 71(6): 576-586.
- Hauser WA. Antiepileptic drugs in pregnancy: refinement of risk estimates. *The Lancet Neurol*. 2011; 10(7): 592-593.
- Hernandez-Diaz S, Smith CR, Wyszynski DF, Holmes LB. Risk of major malformations among infants exposed to carbamazepine during pregnancy. *Birth Defects Res. A. Clin. Mol. Teratol*. 2007; 17: 357.
- Hesdorffer DC. Risk factors, In: Ergel J, Pedley TA, editors. *Epilepsy A Comprehensive Textbook*, 2.Edition, Volume1, USA; Wolters Kluwer/Lippincott Williams&Wilkins. 2008; 57-63.
- Hesdorffer DC, Kanner AM: The FDA alert on suicidality and antiepileptic drugs: fire or false alarm? *Epilepsia* 2009; 50: 978-86.
- Hevers W, Lüddens H. The diversity of GABAA receptors. Pharmacological and electrophysiological properties of GABAA channel subtypes. *Mol Neurobiol*. 1998 Aug;18(1):35-86.
- Hill DS, Wlodarczyk BJ, Palacios AM, Finnell RH. Teratogenic effects of antiepileptic drugs. *Expert Rev. Neurother*. 2010; 10(6): 943–959.
- Holmes LB, Harvey EA, Coull BA. The teratogenicity of anticonvulsant drugs. *N.Engl. J.Med*. 2001; 344: 1132-1138.
- Holmes LB, Wyszynski DF, Lieberman E. The Antiepileptic Drug Pregnancy Registry: a 6-year experience. *Arch Neurol* 2004; 61: 673–78.

- Holmes GL, Harden C, Liporace J, Gordon J. Postnatal concerns in children born to women with epilepsy. *Epilepsy & Behavior*. 2007; 11: 270–276.
- Holmes LB, Mittendorf R, Shen A, Smith CR, Hernandez-Diaz S. Fetal Effects of Anticonvulsant Polytherapies Different Risks From Different Drug Combinations. *Arch Neurol*. 2011; 68(10): 1275-81.
- Howard CV, Reed MG. *Unbiased Stereology, Three-dimensional measurement in microscopy*. First edition, UK; BIOS scientific publishers. 1998.
- <http://www.gwc.maricopa.edu/class/bio201/parkn/jcadis51.htm>, 2012
- <http://www.bio.davidson.edu/Courses/Molbio/MolStudents/spring2003/Siegenthaler/Dopaminesite.htm>, 2012
- Ikonomidou C, Scheer I, Wilhelm T, Juengling FD, Titzee K, Stoverc B, Lehmkuhl U, Koch S, Kassubek J. Brain morphology alterations in the basal ganglia and the hypothalamus following prenatal exposure to antiepileptic drugs. *Journal of European Pediatric Neurology*. 2007; 11: 297-301.
- Ikonomidou C, Turski L. Antiepileptic drugs and brain development. *Epilepsy Research*. 2010; 88(1): 11-22.
- ILEA. Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes. Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy". *Epilepsia* 30 (4): 389–99. 1989.
- İskit AB. Gebe hastada ilaç seçimi. *STED*. 2007; 16(1): 15-17
- Isojarvi JI, Laatikainen TJ, Pakarinen AJ. Polycystic ovaries and hyperandrogenism in women taking valproate for epilepsy. *J. N. Eng. Med.*1993; 19: 1383-1388.
- Jankovic J. Parkinson's disease: clinical features and diagnosis. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*. 2008; 79: 368–376.
- Jentink J, Dolk HD, Loane MA, Morris JK, Wellesley D, Garne E. Intrauterine exposure to carbamazepine and specific congenital malformations: systematic review and case-control study. *BMJ*. 2010; 341: 6581.
- Jentink J, Bakker MK, Nijenhuis CM, Wilffert B, de Jong-van den Berg LTW. Does folic acid use decrease the risk for spina bifida after in utero exposure to valproic acid? *Pharmacoepidemiology and drug safety*. 2010; 19: 803–807.
- Juraska JM, Wilson CJ, Groves PM. The substantia nigra of the rat: a Golgi study. *J Comp Neurol*. 1977; 172(4): 585-600.
- Kaaja R, Hiilesmaa V. Major malformations in offspring of women with epilepsy. *Neurology*. 2003; 60: 575–579.

- Kalinin VV, Polyanskiy DA. Gender differences in risk factors of suicidal behaviour in epilepsy. *Epilepsy Behav.* 2005; 6: 424-429.
- Kaneko S, Battino D, Andermann E, Wada K, Kan R, Takeda A, Nakane Y, Ogawa Y, Avanzini G, Fumarola C, Granata T, Molteni F, Pardi G, Minotti L, Canger R, Dansky L, Oguni M, Lopes-Cendes I, Sherwin A, Andermann F, Seni H, Okada M, Teranishi T. Congenital malformations due to antiepileptic drugs. *Epilepsy Research.* 1999; 33: 145–158.
- Kaplan PW, Norwitz ER, Ben-Menachem E. Obstetric risk for women with epilepsy during pregnancy. *Epilepsy Behaviour.* 2007; 11: 183-291.
- Kemppainen N, Roytta M, Collan Y, Ma SY, Hinkka S, Rinne JO. Unbiased morphological measurements show no neuronal loss in the substantia nigra in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol.* 2002; 103: 43–47.
- Kınay D, Ataklı D, Sarı H, Yüksel B, Arpacı B. Epilepsi Hastası Kadınlarda Gebelikte Okskarbazepin Kullanımı. *Epilepsi.* 2008; 14(2): 145-150.
- Kim KM, Nakajima S, Nakajima Y. Dopamin and GABA receptors in cultured substantia nigra neurons: correlation of electrophysiology and immunohistochemistry. *Neuroscience.* 1997; 78(3): 759–769.
- Kim J, Kondratyev A, Gale K. Antiepileptic Drug-Induced Neuronal Cell Death in the Immature Brain: Effects of Carbamazepine, Topiramate, and Levetiracetam as Monotherapy versus Polytherapy. *JPET.* 2007; 323: 165–173.
- Kis B, Szupera Z, Mezei Z. Influence of valproate monotherapy on platelet activation and hematologic values. *Epilepsia.* 1999; 40: 186-189.
- Klostervskov-Jensen P, Saano V, Haring P, Scenstrup B, Menge GP. Possible interaction between oxcarbazepine and an oral contraceptive. *Epilepsia.* 1992; 33: 1149–1152.
- Korkmaz A, Çiftçi N, Boşnak M, Açar E. A simplified application of systematic field sampling and low-cost video recording set up for viewing disector pairs - exemplified in the rat cochlear nucleus. *Journal of Microscopy.* 2000; 200: 269–276.
- Krauss GL, Brandt J, Campbell M. Antiepileptic medication and oral contraceptive interactions: a national survey of neurologist and obstetricians. *Neurology.* 1996; 46: 1534-1539.
- Kulaga S, Sheehy O, Zargarzadeh AH, Moussally K, Be' rard A. Antiepileptic drug use during pregnancy: Perinatal outcomes. *Seizure.* 2011; 20: 667–672.
- Kurt A. Bazal ganglionlar. Gövsa FG, editör. *Sistematik Anatomi. X. Baskı, İzmir, Güven kitabevi.* 2010; 745-747.

- Kuyk J, Leijten F, Meinardt H, Spinhovens Ph, Dycko Van R. The diagnosis of psychogenic non-epileptic seizures: a review. *Seizure*. 1997; 6: 243-253.
- Lakhanpal D, Kaur G. Valproic Acid Alters GnRH-GABA Interactions in Cycling Female Rats. *Cell Mol Neurobiol*. 2007; 27: 1069–1083.
- Lassiter A, Mamie M-M, Cid-Rufaza J. Pregnancy outcomes with oxcarbazepine (Trileptal) therapy: a review of Novartis safety database. *Epilepsia*. 2004; 45: 130.
- Lavados J, Germain L, Morales A. A descriptive study of epilepsy in district of El Salvador, Chile 1984-1988. *Acta. Neurol. Scand*. 1992; 85(49): 249-256.
- Lee CR, Witkovsky P, Rice ME. Regulation of substantia nigra pars reticulata GABAergic neuron activity by H₂O₂ via flufenamic acid-sensitive channels and KATP channels
- Lemaire V, Koehl M, Le Moal M, Abrous DN, Prenatal stress produces learning deficits associated with an inhibition of neurogenesis in the hippocampus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2000; 97: 11032–11037.
- Leppik I.O. *Epilepsy; A Guide to Balancing your life*, Shulman L., American Academy of Neurology (AAN) Quality of Life Guides, Shulman L.M., American Academy of Neurology Quality of Life Guides, 1.bask1, Newyork; Demos Medical Publishing, 2006, XII-XIII.
- Li S, Park MS, Kim MO. Prenatal alteration and distribution of the GABAB1 and GABAB2 receptor subunit mRNAs during rat central nervous system development. *Developmental Brain Research*. 2004; 150: 141– 150.
- Lima MMS, Andersen ML, Reksidler AB, Vital MABF, Tufik S The Role of the Substantia Nigra Pars Kompakta in Regulating Sleep Patterns in Rats. *PLoS ONE*. 2007; 2(6): 513.
- Lima DC, do Vale TG, Arganaraz GA, Varella VPP, Filho RF, Cavalheiro EA, Mazzacoratti MGN, Amado D. Behavioral evaluation of adult rat exposed in utero to maternal epileptic seizures. *Epilepsy and Behavior*. 2010; 18: 45-49.
- Lowe SA. Anticonvulsants and drugs for neurological disease. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology*. 2001; 15(6): 863-876.
- Lozsadi DA, Oertzen JV, Cock HR. *Epilepsy: Recent Advance*. *J. Neurol*. 2010; 257: 1946-1951.
- Luquin MR, Saldise L, Guillén J, Belzunegui S, Sebastián WS, Izal A, Garrido P, Vázquez M. Does increased excitatory drive from the subthalamic nucleus

contribute to dopaminergic neuronal death in Parkinson's disease? *Experimental Neurology*. 2006; 201: 407–415.

Luszczkia JJ, Andresb MM, Czuczwar SJ. Synergistic interaction of gabapentin and oxcarbazepine in the Mouse maximal electroshock seizure model—an isobolographic analysis. *Journal of European Pharmacology*. 2005; 515: 54 – 61.

Macdonald RL, Mody I. GABA_A and GABA_B receptor-mediated inhibitory synaptic transmission. Wyllie E, editör. In *Wyllie's Treatment of Epilepsy, Principle and Practise*, 5.Edition, USA; Wolters Kluwer/Lippincott Williams&Wilkins, 248-249.

Manent JB, Jorquera I, Mazzucchell I, Depaulis A, Emilio Parucca, Ben- Ari Y, Represa A. Fetal Exposure to GABA –Acting Antiepileptic drug generates hippocampal and cortical dysplasias. *Epilepsia*. 2007; 48(4): 684-693.

Marangoz C. Bazal Gangliyonlar. Yayınlanmamış Ders Notları. Ondokuzmayıs Üniversitesi Tıp. Fak. 2010; 91-102.

Mares P, Haugvicova R. Anticonvulsant action of gabapentin during postnatal development in rats. *Epilepsia*. 1997; 38: 893-896.

Markwardt S, Overstreet-Wadiche L. GABAergic signalling to adult-generated neurons. *J Physiol*. 2008; 586(16): 3745–3749.

Mawer G, Briggs M, Baker GA, Bromley R, Coyle H, Eatock J, Kerr L, Kini U, Kuzmyshcheva L, Lucas SB, Wyatt L, Clayton-Smith J. Pregnancy with epilepsy: Obstetric and neonatal outcome of a controlled study. *Seizure*. 2010; 19: 112–119.

McLean MJ, Schmutz M, Wamil AW, Olpe HR, Portet C, Feldmann KF. Oxcarbazepine: mechanisms of action. *Epilepsia*. 1994; 35 (3): 5–9.

McLean MJ. Gabapentin in the Management of Convulsive Disorders. *Epifepsia*.1999; 40(6): 39-50.

Meador KJ, Baker GA, Finnell RH. In utero antiepileptic drug exposure: fetal death and malformations. *Neurology*. 2006; 67: 407-412.

Meador K. Effects of in utero anitepileptic drug exposure. *Epilepsy Cur*. 2008; 8(6): 143-147.

Meador KJ, Pennell PB, Harden CL, Gordon JC, Tomson T, Kaplan PW, Holmes GL, French JA, Hauser WA, Wells PG, Cramer JA; HOPE Work Group. Pregnancy registries in epilepsy: a consensus statement on health outcomes. *Neurology*. 2008; 71: 1109-1117.

- Meador K, Reynolds MW, Crean S, Fahrbach K, Probst C. Pregnancy outcomes in women with epilepsy: a systematic review and meta-analysis of published pregnancy registries and cohorts. *Epilepsy Res.* 2008; 81: 1–13.
- Meador KJ, Baker GA, Browning N, Smith JC, Cantrell DTC, Chen M, Kalyjian LA, Kanner A, Liporace JD, Pennell PG, Privitera M, Loring DW. Cognitive function at 3 years after fetal exposure to antiepileptic drugs. *J. N. Eng. Med.* 2009; 360(16): 1597-1605.
- Meador KJ, Baker GA, Browning N, Cohen MJ, Clayton-Smith J, Kalayjian LA, Kanner A, Liporace JD, Pennell B, Privitera M, Loring DW. Foetal antiepileptic drug exposure and verbal versus non-verbal abilities at three years of age. *Brain* 2011; 134; 396–404.
- Meischenguiser R, Giano CHD, Ferrarob SM. Oxcarbazepine in pregnancy: clinical experience in Argentina. *Epilepsy & Behavior.* 2004; 5; 163–167.
- Meurs A, Clinckers R, Ebinger G, Michotte Y, Smolders I. Substantia Nigra Is an Anticonvulsant Site of Action of Topiramate in the Focal Pilocarpine Model of Limbic Seizures. *Epilepsia.* 2006; 47(9): 1519–1535.
- Mihic SJ, Harris RA. GABA and the GABA A receptor. *Alcohol Health & Research World.* 1997; 21(2): 127–131.
- Montouris G. Gabapentin exposure in human pregnancy: results from the Gabapentin Pregnancy Registry. *Epilepsy Behav* 2003; 4: 310-7.
- Montouris G. Safety of the newer antiepileptic drug oxcarbazepine during pregnancy. *Curr. Med. Res. Opin.* 2005; 21: 693–701.
- Moore KL, Persaud TVN. Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi. Türkçe 1. Baskı. İstanbul; Nobel Kitabevi. 2002; 181-183.
- Morita DA, Glauser TA. Phenytoin and Fosphenytoin. Wyllie E, editör. In *Wyllie's Treatment of Epilepsy, Principle and Practise*, 5. Edition, USA; Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins, 2008; 630-643.
- Morrow J, Russell A, Guthrie E, Parsons L, Robertson I, Waddell R, Irvin B, McGivern RC, Morrison PJ, Craig J. Malformation risks of antiepileptic drugs in pregnancy: a prospective study from the UK Epilepsy and Pregnancy Register. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* 2006; 77: 193-198.
- Morrow JI, Hunt SJ, Russell AJ, Smithson WH, Parsons L, Robertson I, Waddell R, Irvin B, Morrison PJ, Craig JJ. Folic acid and major congenital malformations in offspring of women with epilepsy: a prospective study from the UK Epilepsy and Pregnancy Register. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* 2009; 80: 506–511.

- Nagatsu T. Tyrosine hydroxylase: human isoforms, structure and regulation in physiology and pathology. *Essays Biochem.* 1995; 30: 15-35.
- Nair-Roberts RG, Chatelain-Badia SD, Benson E, White-Cooper H, Bolam JC, Ungless MA. Stereological estimates of dopaminergic, GABAergic and glutamatergic neurons in the ventral tegmental area, substantia nigra and retrorubral field in the rat. *Neuroscience.* 2008; 152(4-2): 1024–1031.
- Neal EG, Chaffe H, Schwartz RH, Lawson MS, Edwards N, Fitzsimmons G, Whitney A, Cross JH. The ketogenic diet for the treatment of childhood epilepsy: a randomised controlled trial. *Lancet Neurology.* 2008; 7(6): 471-472.
- Nickels KC, Cascino GD. Application of electroencephalography in the diagnosis of epilepsy. Wyllie E, editor. *Wyllie's Treatment of Epilepsy, Principle and Practice*, 5th Edition, USA; Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins, 2008; 93-94.
- Nielsen DM, Hviid A. Newer-Generation Antiepileptic Drugs and the Risk of Major Birth Defects. *JAMA.* 2011; 305(19): 1996-2002.
- Nielsen MS, Sørensen JC, Bjarkam JR. The substantia nigra pars compacta of the *Gottingen minipig*: an anatomical and stereological study. *Brain Struct. Funct.* 2009; 213: 481–488.
- Nolte MW, Löscher W, Herden C, Freed WJ, Gernert M. Benefits and risk of intranigral transplantation of GABA-producing cells subsequent to the establishment of kindling-induced seizures. *Neurobiology of Disease.* 2008; 31: 342-354.
- Nulman I. Carbamazepine in pregnancy. *BMJ.* 2010; 341:6582
- Oka M, Itoh Y, Wada M, Yamamoto A, Fujita T. Gabapentin blocks L type and P/Q-type Ca²⁺ channels involved in depolarization-stimulated nitric oxide synthase activity in primary cultures of neurons from mouse cerebral cortex. *Pharm Res* 2003; 20: 897-899.
- Okada A, Kurihara H, Aoki Y, Bialer M, Fujiwara M. Amide modification of valproic acid reduces skeletal teratogenicity in mice. *Birth Defects Research.* 2004; 71(B): 47–53.
- Okada A, Noyori H, Yagen B, Shimshoni JA, Bialer M, Fujiwara M. Anticonvulsant profile and teratogenic evaluation of potent new analogues of a valproic acid urea derivative in NMRI mice. *Birth Defects Research.* 2009; 86(B): 394–401.
- Olafsson E, Ludvigsson P, Gudmundsson G. Incidence of unprovoked seizures and epilepsy in Iceland and assessment of the epilepsy syndrome classification: a prospective study. *Lancet Neurol.* 2005; 4(10): 627-634.

- Oorschot DE. Total number of neurons in the neostriatal, pallidal, subthalamic, and substantia nigral nuclei of the rat basal ganglia: a stereological study using the cavalieri and optical disector methods. *J Comp Neurol.* 1996; 366(4): 580-99.
- Orb S, Wieacker J, Labarca C, Fonck C, Lester HA, Schwarz J. Knockin mice with Leu9^{Ser} α 4-nicotinic receptors: substantia nigra dopaminergic neurons are hypersensitive to agonist and lost postnatally. *Physiological Genomics.* 2004; 18: 299-307.
- Öhman I, Vitols S, Tomson T. Pharmacokinetics of Gabapentin during Delivery, in the Neonatal Period, and Lactation: Does a Fetal Accumulation Occur during Pregnancy? *Epilepsia.* 2005; 46(10): 1621–1624.
- Pakkenberg B, Gundersen HJG. Total numbers of neurons and glial cells in human brain nuclei estimated by disector and fractionator. *J. Microsc.* 1988; 150: 1–20.
- Palac S, Meador KJ. Antiepileptic Drugs and Neurodevelopment: An Update. *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.* 2011; 11: 423–427.
- Patsalos PN, Perucca E. Clinically important drug interaction in epilepsy; general features and interactions between antiepileptic drugs. *Lancet Neurology.* 2003; 2: 347-356.
- Paxinos G, Watson C. *The rat brain in stereotaxic coordinates.* 7. Edition, USA; Elsevier. 2007.
- Paz JT, Chavez M, SAILLET S, Deniau JM, Charpier S. Activity of ventral medial halamic neurons during absence seizures and modulation of cortical paroxysms by the nigrothalamic pathway. *The journal of neuroscience.* 2007; 27(4): 929-941.
- Pennell PB. Antiepileptic drugs during pregnancy: what is known and which AEDs seem to be safest? *Epilepsia.* 2008; 49(9): 43-55.
- Pennell PB. Treatment of Epilepsy During Pregnancy. Wyllie E (editör). In *Wyllie's Treatment of Epilepsy, Principle and Practise*, 5. Edition, USA; Wolters Kluwer/Lippincott Williams&Wilkins, 2008; 559.
- Pennell PB, Hovinga CA. Antiepileptic drug therapy in pregnancy I: gestasyon-induced effects on AED pharmacokinetics. *Int. Rev. Neurobiology.* 2008; 83: 227-240.
- Pereira EAC, Aziz TZ. Parkinson's disease and primate research: past, present, and future. *Postgraduate Medical Journal.* 2006; 82: 293-299.
- Perez-Costas E, Melendez-Ferro M, Rice MW, Conley RR, Roberts RC. Dopamine pathology in schizophrenia: analysis of total and phosphorylated tyrosine hydroxylase in the substantia nigra. *Front Psychiatry.* 2012; 3: 31.

- Perucca E. Birth defects after prenatal exposure to antiepileptic drugs. *Lancet Neurol.* 2005; 4: 781–86.
- Petrere JA, Anderson JA. Developmental Toxicity Studies in Mice, Rats, and Rabbits with the Anticonvulsant Gabapentin. *Fundam. Appl. Toxicol.* 1994; 23: 585–589.
- Petty SJ, Paton LM, O'Brien TJ. Effect of antiepileptic medication on bone mineral measures. *Neurology.* 2005; 65: 1358-1365.
- Pioli, EY, Meissner W, Sohr R, Gross CE, Bezard E, Bioulac BH. "Differential behavioral effects of partial bilateral lesions of ventral tegmental area or substantia nigra pars kompakta in rats.". *Neuroscience.* 2008; 153(4): 1213–1224.
- Prakash, Prabhu LV, Rai R, Pai MM, Yadav SK, Madhyastha S, Goel RK, Singh G, Nasar MA. Teratogenic effects of the anticonvulsant gabapentin in mice. *J. Singapore Med.* 2008; 49(1): 47–53.
- Puho EH, Szunyogh M, Metneki J. Drug treatment during pregnancy and isolated orofacial clefts in Hungary. *J. Cleft Palate Craniofac.* 2007; 44: 194-202.
- Putz R, Pabst R. Mesencephalon, Arıncı K (Çeviri editörü). *Sobotta İnsan Anatomisi Atlası, I.cilt baş, boyun ve üst ekstremiteler, 4. Baskı, İstanbul, Beta basın ve yayın dağıtım A.Ş., 1994; 287*
- Rabinowicz A, Meischenguiser R, Ferraro SM, D'Giano CH, Carrazana EJ. Single center, 7-year experience of oxcarbazepine exposure during pregnancy. *Epilepsia.* 2002; 43(7): 208-209.
- Rao ML, Clarenbach P, Vahlensieck M, Kraitschmar S. Gabapentin augments whole blood serotonin in healthy young men. *J. Neurol. Transm.* 1988; 73: 129-34.
- Reinisch JM, Sanders SA, Mortensen EL, Rubin DB. In utero exposure to phenobarbital and intelligence deficits in adult men. *JAMA.* 1995; 274: 1518–1525.
- Rice ASC, Manton S, Postherpetic Neuralgia Study Group. Gabapentin in postherpetic neuralgia: a randomised, double blind, placebo controlled study. *Pain.* 2001; 94: 215–224.
- Rho JM, Sankar R. Progress in Epilepsy Research; The Pharmacologic Basis of Antiepileptic Drug Action. *Epilepsia.* 1999; 40(11): 1471-1483.
- Roberts JI, Metcalfe A, Abdulla F, Wiebe S, Hanson A, Federico P, Jetté N. Neurologists' and neurology residents' knowledge of issues related to pregnancy for women with epilepsy. *Epilepsy & Behavior.* 2011; 22: 358–363.

- Rogawski MA, Löscher W. The neurobiology of antiepileptic drugs. *Nat. Rev. Neurosci.* 2004; 5: 553—564.
- Ropert N, Guy N. Serotonin facilitates GABAergic transmission in the CA1 region of rat hippocampus in vitro. *J. Physiol. (Lond).* 1991; 441: 121-36.
- Rosa FW. Spina bifida in infants of women treated with carbamazepine during pregnancy. *J. N. Engl. Med.* 1991; 324: 674-677.
- Rothman RB, Baumann MH. Balance between Dopamine and Serotonin Release Modulates Behavioral Effects of Amphetamine-Type Drugs. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2006; 1074: 245–260.
- Rothstein JD, Kunczi RW. Neuroprotective strategies in a model of chronic glutamate mediated motor neuron toxicity. *J. Neurochem.* 1995; 65: 643-51.
- Rowbotham M, Harden N, Stacey B. Gabapentin for the treatment of postherpetic neuralgia. *J. Am. Med. Assoc.* 1998; 280: 1837–42.
- Sabers A, Gram L. Newer anticonvulsants: comparative review of drug interactions and adverse effects. *Drugs.* 2000; 60(1): 23-33.
- Sabers A, Dam M, Rogvi-Hansen B, Boas J, Sidenius P, Laue Friis M, Alving J, Dahl M, Ankerhus J, Mouritzen Dam A. Epilepsy and pregnancy: lamotrigine as main drug used. *Acta Neurol Scand.* 2004; 109: 9-13.
- Samren EB, van Dujin CM, Christianses GC. Antiepileptic drug regimens and major congenital abnormalities in the offspring. *Ann. Neurol.* 1999; 46: 739-746.
- Saramma PP, Sarma PS, Thomas SV. Women with epilepsy have poorer knowledge and skills in child rearing than women without epilepsy. *Seizure.* 2011(in press).
- See RE, Elliott JC, Feltenstein MW. The role of dorsal vs ventral striatal pathways in cocaine-seeking behavior after prolonged abstinence in rats. *Psychopharmacology.* 2007; 194: 321–331.
- Semczuk-Sikora A, Czuczwar S, Semczuk A, Kwaśniewska A, Semczuk M. Valproic acid transfer across human placental cotyledon during dual perfusion in vitro. *Ann. Agric. Environ. Med.* 2010; 17: 153–157.
- Sethi NK, Wasterlain A, Harden CL. Pregnancy and epilepsy. *The journal of family practice.* 2010; 59(12): 675-679.
- Schlienger RG, Shear NH. Antiepileptic drug hypersensitivity syndrome. *Epilepsia.* 1998; 39(7): 3-7.
- Schmutz M, Brugger F, Gentsch C, McLean M, Olpe M. Oxcarbazepine: preclinical profile and putative mechanism of action. *Epilepsia.* 1994; 35 (5): 5–9.

- Scott AS, Diaz NM, Ahmad SO. Stereological analysis of cell number and size during postnatal development in the rat substantia nigra. *Neuroscience Letters*. 2007; 419: 34-37.
- Shallcross R, Bromley RL, Irwin B, Bonnett LJ, Morrow J, Baker GA. Child development following in utero exposure: levetiracetam vs sodium valproate. *Neurology*. 2011; 25; 76(4): 383-389.
- Shin C, McNamara JO. Mechanism of epilepsy. *Annual Review of Medicine*. 1994; 45: 379- 389.
- Shneker BF, Fountain NB. *Epilepsy. Dis Mon*. 2003; 49(7): 426-78.
- Shorvon S. Oxcarbazepine: a review. *Seizure*. 2000; 9: 75–79.
- Standring S. *Gray's Anatomy: The Anatomical basis of clinical practice*. 39 Edition. USA, Elsevier Churchill Livingstone, 2005; 419-429.
- Stark AK, Pakkenberg B. Histological changes of the dopaminergic nigrostriatal system in aging. *Cell Tissue Res*. 2004; 318: 81–92.
- Stefan H, Feuerstein TJ. Novel anticonvulsant drugs. *Pharmacology & Therapeutics*. 2007; 113: 165–183.
- Sterio DC. The unbiased estimation of number and sizes of arbitrary particles using the disector. *Journal of Microscopy*. 1984; 134: 127–136.
- Taylor CP, Gee NS, Su T-Z, Kocsis JD, Welty DF, Brown JP, Dooley DJ, Boden P, Singh L. A summary of the mechanistic hypotheses of gabapentin pharmacology. *Epilepsy Res*. 1998; 29: 233–249.
- Tecoma ES. Oxcarbazepine. *Epilepsia*. 1999; 40 (5): 37–46.
- Tekle-Haimanot R, Forsgren L, Ekstedt J. Incidence of epilepsy in rural central Ethiopia. *Epilepsia*. 1997; 38(5): 541-546.
- Tepper JM, Damlama M, Tren F. Postnatal changes in the distribution and morphology of rat substantia nigra dopaminergic neurons. *J. Neuroscience*. 1994; 60(2): 469-477.
- Tepper JM, Abercrombie ED, Bolam JP. Basal ganglia macrocircuits. *Progress in Brain Research*. 2007; 160: 3-7.
- Thomas SV, Sindhu K, Ajaykumar B, Devi PB, Sujamol J. Maternal and obstetric outcome of women with epilepsy. *Seizure*. 2009; 18: 163–166.
- Thomas SV. Managing epilepsy in pregnancy. *Neurol. India*. 2011; 59: 59-65.

- Tomson T, Battino D. Pregnancy and epilepsy: what should we tell our patients? *J. Neurol.* 2009; 256: 856–862.
- Tomson T, Battino D, Bonizzoni E, Craig J, Lindhout D, Sabers A, Perucca E, Vajda F. Dose-dependent risk of malformations with antiepileptic drugs: an analysis of data from the EURAP epilepsy and pregnancy registry. *Lancet Neurol.* 2011; 10: 609–617.
- Turner K, Piazzini, Chiesa V, Barbieri V, Vignoli A, Gardella E, Tisi G, Scarone S, Canevini MP, Gambini O. Patients with epilepsy and patients with psychogenic non-epileptic seizures: Video-EEG, clinical and neuropsychological evaluation. *Seizure.* 2011; 20: 706-710.
- Tsur GV, O'dell C, Shinnar S. Initiation and discontinuation of antiepileptic drugs, . Wyllie E, editor. In *Wyllie's Treatment of Epilepsy, Principle and Practise*, 5.Edition, USA; Wolters Kluwer/Lippincott Williams&Wilkins,2008; 527-537.
- Vajda F, Lander C, O'Brien T. Australian pregnancy registry of women taking antiepileptic drugs. *Epilepsia.* 2004; 45: 1466.
- Vajda FJ, Hitchcock A, Graham J. Foetal malformations and seizure control: 52 months data of the Australian Pregnancy Register. *J. Eur. Neurol.* 2006; 13: 645-654.
- Vajda FJE, Hitchcock AA, Graham J, O'Brien TJ, Lander CM, Eadie MJ. The teratogenic risk of antiepileptic drug polytherapy. *Epilepsia.* 2010; 51(5): 805–810.
- Yan Q-S, Mishra PK, Burger RL, Bettendorf AF, Jobe PC, Dailey JW. Evidence that carbamazepine and antiepilepsirine may produce a component of their anticonvulsant effects by activating serotonergic neurons in genetically epilepsy-prone rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1992; 261: 652-659.
- Yerby MS. Contraception, pregnancy and lactation in women with epilepsy. *Baillieres Clin. Neurol.* 1996; 5(4): 887-908.
- Yerby MS. Clinical care of pregnant women with epilepsy; neural tube defects and folic acid supplementation. *Epilepsia.* 2003; 44(3): 33-40.
- Van Den Hove DLA, Steinbusch HWM, Scheepens A, Van De Berg WJD, Kooiman LAM, Boosten BJB, Prickaerts J, Blanco CE. Prenatal Stress and neonatal rat brain development. *Neuroscience.* 2006; 137: 145–155.
- Wegner I, Edelbroek P, de Haan GJ, Lindhout D, Sander JW. Drug monitoring of lamotrigine and oxcarbazepine combination during pregnancy. *Epilepsia.* 2010; 51(12): 2500–2502.

- Weil S, Deppe C, Noachtar S. The Treatment of Women With Epilepsy. *Dtsch Arztebl Int.* 2010; 107(45): 787–93.
- White HS. Comparative anticonvulsant and mechanistic profile of the established and newer antiepileptic drugs. *Epilepsia.* 1999; 40: 2-10.
- Windels F, Carcenac c, Poupard A, Savasta M. Pallidal origin of GABA release within the Substantia nigra pars reticulata during high-frequency stimulation of the Subthalamic nucleus. *The Journal of Neuroscience.* 2005; 25(20): 5079-5086.
- Winterbottom J, Smyth R, Jacoby A, Baker G. The effectiveness of preconception counseling to reduce adverse pregnancy outcome in women with epilepsy: What's the evidence? *Epilepsy & Behaviour.* 2009; 14: 273-279.
- Woolf CJ, Manion RJ. Neuropathic pain: Aetiology, symptoms, mechanisms and management. *Lancet.* 1999; 353: 1959-1964.
- Wong DF, Kuwabara H, Schretlen DJ, Bonson KR, Zhou Y, Nandi A, Brasic JR, Kimes AS, Maris MA, Kumar A, Contoreggi C, Links J, Ernst M, Rousset O, Zukin S, Grace AA, Lee JS, Rohde C, Jasinski DR, Gjedde A, London ED. Increased occupancy of dopamine receptors in human striatum during cue-elicited cocaine craving. *Neuropsychopharmacology.* 2006; 31: 2716–2727.
- Zhang B, Chu J, Zhang J, Ma Y. Change of extracellular glutamate and GABA-Aminobutyric acid in Substantia nigra and globus pallidus during electrical stimulation of Subthalamic nucleus in epileptic rats. *Stereotactic and Funct. Neurosurg.* 2008; 86: 208-215.

ÖZGEÇMİŞ

1981 yılında Samsun'da doğdum. İlköğretim, lise ve üniversite eğitimimi Samsun'da tamamladım. Ondokuzmayıs Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu Hemşirelik bölümünü 2003 yılında dönem birincisi olarak bitirdim. 2005 yılında OMÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün açmış olduğu yüksek lisans sınavını kazandım. Bilimsel hazırlık programını başarı ile tamamladıktan sonra Histoloji- Embriyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimime başladım. Bu esnada 2007 yılında Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün açmış olduğu doktora sınavını kazanarak Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı'nda doktora eğitimime başladım. Doktora eğitimim sırasında OMÜ'nün açmış olduğu Erasmus sınavını kazanarak, 2008-2009 yılları arasında doktora eğitimime bir yıl kadar Danimarka'da Aarhus Üniversitesinde devam ettim. İngilizce bilmekteyim ve halen resmi bir kurumda devlet memuru olarak çalışmaktayım.