

**T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI**

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. T. Serap KARASALİHOĞLU

**YAVRU SIÇANLARDA ANTİEPİLEPTİK İLAÇ
KULLANIMININ ERİŞKİN DÖNEMDE BAZI
BİLİŞSEL VE MOTOR FONKSİYONLAR ÜZERİNE
ETKİLERİ VE BEYİNDEKİ HİSTOMORFOLOJİK
DEĞİŞİKLİKLER**

(Uzmanlık Tezi)

Dr. Mehmet AZİZOĞLU

EDİRNE-2016

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca deneyim ve bilgilerinden faydalandığım, desteklerini benden esirgemeyen, tezimin planlanması ve yürütülmesi sırasında bana yol gösteren çok değerli hocam Prof. Dr. T. Serap KARASALIHOĞLU'na;

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve desteklerini bizden esirgemeyen başta Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Betül ACUNAŞ olmak üzere, değerli hocalarım Prof. Dr. Mehtap YAZICIOĞLU, Prof. Dr. Filiz TÜTÜNCÜLER, Prof. Dr. Ülfet VATANSEVER ÖZBEK, Prof. Dr. Betül BİNER, Prof. Dr. Rıdvan DURAN, Doç. Dr. Neşe ÖZKAYIN, Yrd. Doç. Dr. Yasemin KARAL, Yrd. Doç. Dr. Nükhet ALADAĞ ÇİFTDEMİR, Yrd. Doç. Dr. Selman GÖKALP ile çalışmam süresince bana destek olan Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Ç. Hakan KARADAĞ'a, Yrd. Doç. Dr. Özgür GÜNDÜZ'e, Yrd. Doç. Dr. Ruhan TOPUZ'a, Araş. Gör. Kübra AYDEMİR'e, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Melike SAPMAZ METİN 'e ve sevgili eşim Dr. Sinem AZİZOĞLU'na gönülden teşekkür ederim.

Çalışmamızı destekleyen TUBAP birimine teşekkür ederim

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	3
EPİLEPSİNİN TANIMI.....	3
EPİLEPSİNİN ETİYOLOJİSİ	3
EPİLEPSİLERDE SINIFLANDIRMA.....	4
EPİLEPSİ TEDAVİSİ	7
ÖĞRENME VE BELLEK.....	14
HİPOKAMPÜS	18
ANTİEPİLEPTİK İLAÇLARIN BİLİŞSEL VE DAVRANIŞSAL ETKİLERİ.....	22
SIÇANLARDA BİLİŞSEL VE LOKOMOTOR AKTİVİTENİN DEĞERLENDİRİLMESİ	22
GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	25
BULGULAR.....	37
TARTIŞMA.....	56
SONUÇLAR.....	63
ÖZET	66
SUMMARY	68
KAYNAKLAR.....	70
EKLER	

SİMGE VE KISALTMALAR

AEİ	: Antiepileptik İlaç
BOS	: Beyin Omurilik Sıvısı
CA	: Cornu Ammonis (Ammon Boynuzu)
dUTP	: Terminal deoksinükleotid transferaz
EEG	: Elektroensefalografi
GABA	: Gamma Amino Bütirik Asit
ILAE	: International League Against Epilepsy (Uluslararası Epilepsi ile Savaş Derneği)
LTD	: Long Term Depression (Uzun Süreli Depresyon)
LTP	: Long Term Potentiation (Uzun Süreli Potansiyalizasyon)
NMDA	: N-Metil-D-Aspartik Asit
PVC	: Poli Vinil Klorid
SSS	: Santral Sinir Sistemi
SV2A	: Sinaptik Vezikül Protein 2A
TUNEL	: Terminal deoksinükleotid transferaz aracılı işaretleme

GİRİŞ VE AMAÇ

Epilepsi, çocukluk ve ergenlik döneminde en sık karşılaşılan nörolojik hastalıktır. Etiyolojide birçok neden sayılabilirken çocukluk çağı epilepsilerinin önemli bir kısmında da sebep bulunamamaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar ile bazı nedeni saptanamayan epilepsilerin genetik temelli olduğu gösterilmiştir (1).

Epilepsi hastalarında nöbetlerin tipi, sıklığı ve şiddeti, önceden kestirilememesi, tedavi, ilaç yan etkileri ve tedaviye uyum, psikolojik sorunlar, depresyon, anksiyete, sosyal problemler, bilişsel durum ve yaşam kalitesini etkileyen en önemli faktörler olarak ön plana çıkmaktadır (2).

Son yıllarda epilepsinin etiyopatogenezinin hızla aydınlatılması ve yapılan çalışmalar sonucunda, farklı etki mekanizması ve farmakolojik özelliği olan çok sayıda yeni antiepileptik ilaç (AEİ) kullanıma sunulmuştur (3). Eski nesil AEİ olarak bilinen fenitoin , fenobarbital, karbamazepin gibi ilaçların yerini çocukluk çağı epilepsilerinde giderek daha çok kullanılan levetirasetam, vigabatrin, zonisamid, okskarbazepin, lamotrijin, tiagabin, topiramat, gabapentin ve rufinamid gibi ilaçlar “yeni nesil antiepileptik ilaçlar” olarak bilinmektedir (4).

Antiepileptik ilaç tedavisinin amacı, hiç ya da en az yan etki ile nöbetlerin tam kontrolünü sağlamaktır. İlaç seçimi sırasında hastanın yaşı, cinsiyeti, epilepsinin sınıflamadaki yeri, nöbetin şekli, kliniği, idiyopatik veya semptomatik olması eşlik eden sistemik ve sendromik hastalıklar veya ilave organ patolojisinin olup olmaması göz önünde bulundurulmalıdır (5).

Çocukluk dönemi sürekli büyüme, gelişme ve öğrenme süreci olduğundan, bu dönem de kullanılan ilaçlar, bilişsel fonksiyonları ve lokomotor aktiviteyi kısa ve uzun vadede daha

çok etkilemektedir Bu nedenle benzer ilaçlar erişkinlerde ve çocuklarda farklı klinik yanıtlara ve yan etkilere neden olabilmektedir. Çocuklarda aktif olarak kullanılan bu ilaçlara bağlı; santral sinir sistemi, retiküloendotelial sistem ve kemik iliği, gastrointestinal sistem, hepatobiliyer sistem, deri ve kutanöz dokularda yan etkiler, motor hareket bozuklukları, uyku bozukluğu, duygu durum ve ruh hali değişikliği, gibi birçok yan etkilerinin olduğu bilinmektedir (6).

Çocukluk döneminde kullanılan AEİ'lerin uzun süreli yan etkilerini tanımlamak mümkün olmadığından ve yapılan çalışmalar kısıtlı olduğundan daha çok deneysel hayvan çalışmalarına ihtiyaç duyulmaktadır. Sıçanların bilişsel (öğrenme, uzak-yakın bellek) ve lokomotor (hareket hızı, yüzmeye hızı, birim zamanda kat ettiği yol vb.) yetileri çeşitli yöntemlerle ölçülebilmektedir. Bunlardan; Rotarot Testi ile denge ve lokomotor yetileri, Yükseltilmiş Artı Labirent testi ile anksiyete düzeyleri, Bağlamsal Korku Koşullama Testi ile uzaysal bellek ve korku bazlı bellek yetileri, Açık Alan testi ile lokomotor yetileri ve Morris Su Labirenti testi ile uzaysal bellek, lokomotor aktivite ve öğrenme yetileri değerlendirilebilir (7).

Forcelli ve ark. (8)'nın 2012 yılında yapmış olduğu bir çalışmada; yavru sıçanlara postnatal 7. günden itibaren 6 gün boyunca günde tek doz intraperitoneal olmak üzere belirli dozlarda fenobarbital, fenitoin ve lamotrijin uygulandıktan sonra erişkin dönemde öğrenme, bellek ve motor koordinasyon yetileri değerlendirilmiş.

Bilindiği gibi hipokampus, uzaysal öğrenme ve belleğin merkezidir ve spesifik uzaysal bilginin kodlanması işlevini yapar (9). Hipokampus lezyonlarının hayvanlarda ve insanlarda spontan dikkati, uzaysal öğrenmeyi ve uzaysal bellek kullanımını bozduğu gösterilmiştir. Hipokampus hayvanların davranışlarını düzenlemeleri ve kontrol etmeleri için uzaysal bilgiyi kullanmalarında önemli rol oynar (10).

Kim ve ark. (11)'nin 2007 yılında yaptığı bir çalışmada levetirasetam, topiramet ve karbamazepinin immatür rat beyinde (postnatal 7 ve 8 günlük sıçanlar) tek doz ilaç uygulaması sonrası terminal deoksiniükleotid transferaz (dUTP) aracılı işaretleme (TUNEL) yöntemi ile nörodejeneratif etkileri incelenmiştir.

Bu çalışmamızın amacı; yavru sıçanlarda erişkin döneme kadar kullanılan AEİ'lerin erişkin dönemde bilişsel ve motor fonksiyonlar üzerinde oluşturabilecekleri yan etkileri saptamaktır. Ayrıca beyinde daha çok öğrenme ve bellek ile ilgili yapılarda oluşturabilecekleri histomorfolojik değişiklikleri tespit etmektir. Böylece uygun AEİ tedavisini seçerken çalışmamızın yol gösterici olacağını düşünmekteyiz.

GENEL BİLGİLER

EPİLEPSİNİN TANIMI

Epileptik nöbet, bir grup serebral nöronun ani, anormal, aşırı veya senkronize aktivitesine bağlı olarak gelişen geçici belirti ve/veya bulgulardır. Epilepsi ise, beynin nöbet oluşturmaya yatkınlığı ile karakterize olan hastalığıdır ve bu durum nörobiyolojik, bilişsel, psikolojik ve sosyal sonuçlara neden olabilir (12). Uluslararası Epilepsi ile Savaş Derneği (ILAE)'nin tanımına göre ise; beyinde aşırı uyarılabilir hale gelmiş nöron topluluğunun, tekrarlayıcı ve anormal boşalımına bağlı olarak ani ve geçici motor, duyuşsal, otonomik ve psikolojik bir bozukluk ile sonuçlanan, beynin bir bölümünün ya da tamamının geçici fonksiyon bozukluğudur. İki veya daha fazla provoke edilmemiş nöbet epilepsi olarak tanımlanır. Febril konvülsiyonlar ve yenidoğan nöbetleri bu tanıma dâhil değildir (13).

Epileptik sendrom ise; bir arada görülen, belirti ve bulgular kümesidir. Bir hastalığın aksine bilinen tek bir etyolojisi ya da patolojisi yoktur. Bu nedenle, epileptik nöbetlerin aksine, epileptik bir sendrom tanısı doğrudan gözlem ya da video kaydının izlemi ile konulamaz. Tanı için başlangıç yaşı, etyoloji, aile öyküsü, nöbet sıklığı, beyin görüntüleme yöntemleri, presipitan faktörler ve Elektroensefalogram (EEG) gibi ek bilgiler gereklidir (14).

EPİLEPSİNİN ETİYOLOJİSİ

Epileptik nöbetler birçok serebral ve sistemik hastalığın semptomu olarak gözlenebilmektedir. Bu nedenle beyni etkileyen tüm patolojik olaylar nöbetle sonuçlanabilir. Öykü, fizik muayene ve laboratuvar tetkikleri ile çocukluk çağı epilepsilerinin %32'sinde etiyoloji saptanabilmektedir. Gelişimsel anomaliler, perinatal sorunlar, metabolik bozukluklar,

intrauterin enfeksiyonlar, febril konvülziyonlar, kafa travması, santral sinir sistemi enfeksiyonları, kanamalar, beyin tümörleri, toksinler, alkol ve madde alımı epilepsi gelişimi için risk faktörleridir. Nöbetlerin etiyolojik sınıflaması Tablo 1’de belirtilmiştir (15,16).

Tablo 1. Nöbetlerin etiyolojik sınıflaması (16)

I-Prenatal Faktörler

1. Genetik epilepsi
 - a) Otosomal resesif
 - b) Otosomal dominant
2. Metabolik hastalıklar
3. Konjenital yapısal anormallikler
 - a) Nörokutanoz sendromlar (Tüberoskleroz, nörofibromatozis, vb.)
 - b) SSS gelişim anormallikleri (Porencefali, AV malformasyon, vb.)
4. İntrauterin enfeksiyonlar (TORCH)
5. İntrauterin anoksi (Radyasyon, toksemi, diabetes mellitus)

II- Perinatal Faktörler

1. Hipoksi
2. Enfeksiyon
3. Sarılık
4. Prematürite

III- Postnatal Faktörler

1. SSS primer enfeksiyonları
 2. Kafa travması
 3. İntrakranyal kanamalar
 4. Serebrovasküler olaylar
 5. Hipertansif ensefalopati
 6. Ensefalopatiler
 - a) Toksik, allerjik
 - b) Metabolik (hipokalsemi, hipoglisemi, hiperkalemi, hipokalemi, hipernatremi, hiponatremi, hipomagnezemi)
 - c) Piridoksin eksikliği- bağımlılığı
 - d) Dejeneratif beyin hastalıklar
 - e) Depo hastalıkları
 - f) Mitokondriyal hastalıklar
 - g) Peroksizomal hastalıklar
-

EPİLEPSİLERDE SINIFLANDIRMA

1969 yılında ILAE bu amaçla toplanarak; yaş, etiyoloji, klinik nöbet tipi, EEG bulguları, interiktal EEG bulguları ve anatomik yapı olmak üzere 6 kritere dayanan ilk sınıflandırmayı kabul etmiştir. Bu sınıflandırma, 1981 yılında tekrar gözden geçirildi. Nöbetleri, nöbetlerin klinik özellikleri ve EEG bulgularına göre sınıflandırılması görüşü kabul edildi (Tablo 2) (17). Bu sınıflama bazı epilepsi sendromlarını kapsamadığı için ILAE 1989 yılında 1981 sınıflamasını tekrar gözden geçirerek üzerinde görüş birliği sağlanan

Uluslararası Epilepsi ve Epileptik Sendromların Sınıflaması adı altında yeni bir sınıflama daha yapmıştır (Tablo 3) (18,20). 2001 yılında ILAE çalışma grubu tarafından yeni bir sınıflama önerilmiş, fakat bunun üzerinde görüş birliği sağlanamamıştır (19).

Tablo 2. Epileptik nöbetlerin klinik ve elektroensefalografik sınıflaması ILAE-1981 (17)

I- Parsiyel (fokal) Nöbetler

- A- Basit parsiyel nöbetler (bilinç durumu bozulmaksızın)
 - 1- Motor semptomlu
 - a)Fokal Motor
 - b)Yayılan fokal motor (Jacksonian)
 - c)Versif
 - d)Postüral
 - e)Fonatuar (vokalizasyon veya konuşmanın durması)
 - 2- Somatosensoryel veya özel duysal semptomlu
 - a)Somatosensoryel
 - b)Vizüel
 - c)Odituar
 - d)Olfaktor
 - e)Gustatuar
 - f)Vertiginöz
 - 3- Otonomik Semptomlu
 - 4- Psişik Semptomlu
 - a)Disfazik
 - b)Dismnesik (örnek: deja vu)
 - c)Bilişsel (hayal durumu, zaman hissinin bozulması)
 - d)İllüzyonlar (örnek: makropsi)
 - e)Hallüsinasyonlar (örnek: müzik parçaları)
 - g)Affektif (örnek: korku öfke vb.)
- B- Kompleks Parsiyel Nöbetler (Bilinç bozukluğu ile giden)
 - 1- Basit parsiyel başlangıcı izleyen bilinç bozukluğu
 - a)Basit parsiyel özelliklerin ardından bilinç bozukluğu gelişmesi
 - b)Otomatizmalarla giden
 - 2- Bilinç durumunun başlangıçtan itibaren bozulması
 - a)Sadece bilinç bozukluğu ile giden
 - b)Otomatizmalarla giden
- C- Sekonder jeneralize nöbete dönüşen parsiyel nöbetler
 - 1- Basit parsiyel nöbetin (A) jeneralize nöbete dönüşmesi
 - 2- Kompleks parsiyel nöbetin (B) jeneralize nöbete dönüşmesi
 - 3- Basit parsiyel nöbetin kompleks parsiyel nöbete, ardından jeneralize nöbete dönüşmesi

II- Jeneralize Nöbetler

- 1- Tipik Absans Nöbetleri
 - a)Sadece bilinç bozukluğu ile giden
 - b)Hafif klonik komponentli
 - c)Atonik komponentli
 - d)Tonik komponentli
 - e)Otomatizmalı
 - f)Otonomik komponentli
- 2- Atipik Absans
- 3- Miyoklonik nöbetler (tek veya çok)
- 4- Klonik nöbetler
- 5- Tonik nöbetler
- 6- Tonik-Klonik nöbetler
- 7- Atonik nöbetler (Astatik)

III- Sınıflandırılmayan Epileptik Nöbetler (yetersiz bilgi nedeniyle)

Tablo 3. Epilepsilerin ve epileptik sendromların sınıflaması (ILAE 1989) (20)

I. Lokalizasyona Bağlı (fokal, lokal, parsiyel) Epilepsiler ve Sendromlar
1.1. İdyopatik (yaşa bağlı başlangıç)
Santrot temporal dikenli selim çocukluk çağı epilepsisi
Oksipital paroksizmal 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
II. Jeneralize Epilepsiler ve Sendromlar
2.1. İdyopatik (yaşa bağlı başlangıç-yaş sırasına göre sıralanmıştır)
Selim ailesel yenidoğan konvülsiyonları
Selim yenidoğan konvülsiyonları
Süt çocukluğunun selim miyoklonik epilepsisi
Çocukluk çağı absans epilepsisi (piknolesi)
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 (yaş 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. Spesifik olmayan etyolojili
Erken miyoklonik ensefalopati
Suppression-burst'lu erken infantil epileptik ensefalopati
Diğer semptomatik jeneralize epilepsiler
2.3.2. Spesifik sendromlar
III. Fokal veya Jeneralize Olduğu Belirlenemeyen Epilepsiler
3.1. Jeneralize ve fokal nöbetli epilepsiler
Yenidoğan konvülsiyonları
Süt çocuğunun ağır miyoklonik epilepsisi
Yavaş dalga uykusu sırasında devamlı diken-dalgali epilepsi
Edinsel epileptik afazi (Landau-Kleffner sendromu)
Diğer belirlenemeyen epilepsiler
3.2. Jeneralize veya fokal özelliği ayırt edilemeyenler (uykuda gelen grand mal nöbet olguları gibi)
IV. Özel (özgün) Sendromlar

EPİLEPSİ TEDAVİSİ

Epilepsi tedavisinde amaç, epileptik odaktan deşarjların yayılmasını önleyerek nöbet oluşumunu engellemek ve hastanın yaşam kalitesini (fiziksel, mental ve sosyal yaşam) yüksek tutmaktır (21). Bu amaçla tedavide, ilaç tedavisi, ketojenik diyet, vagal stimölasyon, epileptik fokusun cerrahi çıkarılması, fizik ve mental aktivitenin düzeltilmesi yer almaktadır (22-24).

Epilepside İlaç Tedavisi

Epilepsi tedavisinin en önemli bölümünü ilaç tedavisi oluşturur. Nöbetlerin %70-90'ı AEİ tedavisiyle kontrol altına alınırken, %10-30 kadarı ilaçlara dirençlidir. İdeal ilaç tedavisi, nöbeti en iyi şekilde kontrol eden, yan etki profili en az olan tek ilaç olmalıdır (25).

Antiepileptik ilaç tedavi prensipleri (26):

- İlaç seçimi nöbet tipine göre yapılmalı
- Tedaviye tek ilaç ile başlanmalı
- İlaçlar farmokokinetiklerinin elverdiği ölçüde seyrek aralıklarla verilmeli
- Kan düzeyinin stabil olması için ortalama 2 hafta gibi bir süre verilmeli
- Hesaplanan doza yavaş ve kademeli ulaşılmalı
- Nöbetler kontrol altına alınıncaya veya yan etkiler ortaya çıkıncaya kadar doz arttırılmadan başka bir antiepileptik ilaca geçilmemeli
- Nöbetleri kontrol altına alınmış hastalarda nedensiz ilaç değişimi yapılmamalı
- Plazma antiepileptik ilaç düzeyleri gerekmedikçe bakılmamalı
- Preperat seçiminde yaş, mental durum, ailenin sosyoekonomik düzeyi dikkate alınmalı
- Hastalar belirli aralıklar ile kontrole çağırılmalı
- İlaç kesimi 2-4. yılın sonunda, 6-12 aylık bir sürede kontrollü olarak yapılmalı
- Uygun ve etkin tedaviye rağmen nöbetleri devam eden olgularda epilepsi cerrahisi, ketojenik diyet ve vagal sinir stimölasyonu gibi alternatif tedavi uygulamaları düşünölmelidir.

Günümüzde 20'den fazla antiepileptik ilaç bulunmaktadır ve 2 ana gruba ayrılmaktadır.

Birinci kuşak (klasik) ilaçlar, yeni nesil antiepileptik ilaçlar ile kıyaslandığında genellikle daha iyi tanımlanmışlardır ve daha sınırlı etki spektrumuna sahiptirler. Yan etki profilleri ve potansiyel ilaç etkileşimleri daha iyi tanımlanmıştır (27). Klasik antiepileptik ilaçlar arasında fenitoin, fenobarbital, karbamazepin ve valproik asit bulunmaktadır (28).

Yeni nesil antiepileptik ilaçlara, klasik antiepileptik ilaçların hastaların %25-30'unda etkisiz kalması ve tolere edilemeyen yan etkilerinin olması nedeniyle ihtiyaç duyulmuştur. Son 15 yılda kullanıma girmiş olan yeni nesil antiepileptik ajanlar monoterapi şeklinde veya ek tedavi olarak kullanılabilir ve bazı dirençli epilepsilerde çok iyi etki gösterdiği bildirilmektedir (27). Levetirasetam, vigabatrin, Okskarbazepin, lamotrijin, zonisamid, lakozamid, tiagabin, topiramat, rufinamid ve gabapentin yeni nesil ilaçlardan bazılarıdır (28).

Antiepileptik ilaçların etki mekanizmaları: Birçok antiepileptik ilaç, etki mekanizmalarına göre sınıflandırılabilir. Bazı ilaçların birden çok etki mekanizması vardır. Bazıları da bilinen mekanizmalar dışında daha hafif etkinlik derecesinde de olsa başka etki mekanizmalarına sahiptir (29,30).

a) Nöron membranında yer alan voltaj bağımlı Na kanallarını bloke ederek, yüksek frekanslı tekrarlayıcı aksiyon potansiyellerinin ateşlenmesini önleyenler; karbamazepin, fenitoin, lamotrijin, okskarbazepin, sodyum valproat.

b) Gama amino butirik asite (GABA) bağımlı inhibisyonu allosterik yolla arttıranlar; fenobarbital, benzodiazepinler, topiramat.

c) Sinir sisteminde kalsiyum kanalları; dendritler, hücre gövdesi ve sinir terminalleri olmak üzere geniş bir alana yayılmıştır. Özellikle talamusta bulunan T tipi kalsiyum kanallarının jeneralize absans tipi oluşumunda rol aldığı ve bu nedenle etosüksimid gibi antiepileptik ilaçların T tipi kalsiyum kanallarını bloke ederek nöbeti engellediği düşünülmektedir (31).

d) GABA transaminaz inhibisyonu; vigabatrin, nörotransmitter olan GABA analogudur ve yıkımını sağlayan GABA transaminaz enzimini irreversibl olarak inhibe eder (30).

e) Eksitator aminoasit olan glutamatın reseptörünü bloke ederek ya da direkt etki olarak salınımını inhibe ederek etki edenler; topiramat ve lamotrijin (31).

f) Olası bir başka antiepileptik mekanizma da potasyum kanal açılımıdır. İstirahat membran potansiyeli, sinaptik uyarılara yanıt, spike frekans adaptasyonu ve nörotransmitter salınımı gibi olayları içeren nöronal eksitabilitenin kontrolünde potasyum kanalları önemli rol oynar (30).

Epilepsi tedavisinde kullanılan ilaç, kullanım alanları ve dozları Tablo 4'te sıralanmıştır (32).

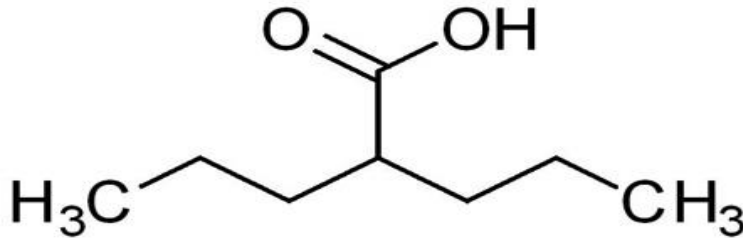
Tablo 4. Antiepileptik ilaçlar (32)

İlaç	Etki mekanizması	Nöbet tipleri	Doz	Yan etkileri
Fenobarbital	GABA'yı artırır, Glutamat aktivitesini azaltır	Generalize tonik/klonik, Parsiyel, Status Epileptikus	3-5 mg/kg/gün 2 doz	Hiperaktivite, iritabilite, dikkat eksikliği, uyku bozukluğu, Stevens-Johnson sendromu, bilişsel işlevlerde bozukluk
Fenitoin	Na kanal blokajı	Fokal, Generalize tonik/klonik Status Epileptikus	5-10 mg/kg/gün 2 doz	Hirşutizm, diş eti hipertrofisi, ataksi, döküntü, Stevens-Johnson sendromu, nistagmus, bulantı, kusma, hematolojik bozukluklar, osteomalazi, folat eksikliği
Valproik asit	Na ve Ca kanal blokajı, GABA'yı artırır	Generalize tonik/klonik Absans, Miyoklonik, Parsiyel	10-60 mg/kg/gün 2 doz	Bulantı, kusma, iştahsızlık, uyku hali, amenore, tartı alımı, saç dökülmesi, hepatotoksisite, kemik iliği supresyonu
Karbamazepin	Na kanal blokajı	Parsiyel, Generalize tonik/klonik	10-20 mg/kg/gün 2-3 doz	Baş dönmesi, uyku hali, diplopi, ataksi karaciğer disfonksiyonu, kemik iliği supresyonu, döküntü, Stevens-Johnson sendromu, aritmi, uygunsuz ADH salgısı
Benzodiazepinler	GABA'yı artırır	Absans, Miyoklonik, Akinetik nöbetler, Parsiyel, Lennox-Gastaut, İnfantil Spazm	Klonazepam: 0,001-0,2 mg/kg/gün Klobazam: 0,1-0,8 mg/kg/gün 1-2 doz	Uyku hali, iritabilite, davranış bozuklukları, depresyon, hipersalivasyon
Lamotrigin	Na ve Ca kanal blokajı	Diğer ilaçlara yanıtız tüm konvülsiyonlar	VA (+) 1-5 mg/kg/gün VA (-) 5-15 mg/kg/gün 2 doz	Döküntü, baş dönmesi, ataksi, uyku hali, diplopi, baş ağrısı, kusma, Stevens-Johnson sendromu
Topiramat	Na kanal blokajı, GABA'yı artırır, Glutamat aktivitesini azaltır	Diğer ilaçlara yanıtız tüm konvülsiyonlar	5-9 mg/kg/gün 1-2 doz	Ataksi, dikkat bozukluğu, somnolans, böbrek taşı, terleme azlığı, tartı kaybı
Vigabatrin	GABA'yı artırır	İnfantil spazm, Diğer ilaçlara yanıtız konvülsiyonlar	50-150 mg/kg/gün 2 dozda	Hiperaktivite, ajitasyon, uyku hali, tartı alımı, optik nörit
Levetirasetam	Hücre içi Ca salınımını azaltır, Ca kanal blokajı	Generalize tonik/klonik Miyoklonik, parsiyel	5-60 mg/kg/gün 2 doz	Baş dönmesi, uyku hali, baş ağrısı, yorgunluk
Okskarbazepin	Na kanal blokajı	Parsiyel, Generalize tonik/klonik	10-40 mg/kg/gün 2 doz	Baş dönmesi, sedasyon, yorgunluk, hiponatremi

GABA: Gama amino bütirik asit, **VA:** Valproik asit.

Sodyum valproat/Valproik asit: Valproik Asit (*N-dipropylacetic acid* veya *2-propylpentanoic acid*) (Şekil 1) geniş spektrumlu bir antiepileptiktir (33,34). Farmakolojik etkilerini; artmış GABAerjik ileti, eksitator amino asitlerin salınımının (glutamat, aspartat) ve/veya etkilerinin azaltılması, voltaj bağımlı Na kanallarının inhibisyonu, dopaminerjik ve serotoninerjik iletinin ayarlanması gibi birçok farklı mekanizma ile gerçekleştirmektedir (33). Aynı zamanda eksitator bir amino asit olan β -hidroksi bütirik asit salınımını azalttığı, glutamatın NMDA (N-Metil-D-Aspartik Asit) reseptör aracılıksitasyonunu azalttığı ve voltaj-bağımlı Na kanallarının inhibisyonu ile hücre zarı uyarılabilirliği üzerine doğrudan etki gösterdiği saptanmıştır (33,35). Plazma proteinlerine %90 oranında bağlanmakta ve beyin omurilik sıvısına (BOS) %60 oranında geçebilmektedir. Büyük bir kısmı konjugasyon, mitokondriyal β -oksidasyon ve sitokrom P450-bağımlı mekanizmalar ile metabolize edilir. Eliminasyon yarı ömrü 9-18 saattir (33). Sodyum valproatın suda çözünürlüğü oldukça yüksektir (36).

Kullanıma bağılı görülen en sık yan etkiler; bulantı, kusma, karın ağrısı, sindirim bozuklukları, kabızlık, çok nadiren ishal ve sedasyon, bilişsel fonksiyonlarda çok hafif dereceli etkilenme, doz ile ilişkili olarak ortaya çıkabilen ince tremor (en yaygın görülen nörolojik yan etkisidir), baş ağrısı, trombositopeni, tartı alımı, kan amonyak düzeyinde artış, plazma karnitin seviyelerinde düşüklüktür (33). Nadir görölmelerine rağmen valproik asit ile ilgili önemli yan etkiler arasında, teratojenite (spina bifida) ve idiyosenkrazik karaciğer toksisitesi bulunmaktadır. Yüksek riskli hastaların tanımlanması idiyosenkrazik karaciğer toksisitesinin insidansını oldukça azaltmıştır (33,34). Çoklu ilaç tedavisi alan 2 yaşından küçük çocuklarda sodyum valproata bağılı karaciğer toksisite riski 1/600-1/800 arasındadır. Genel hasta grubunda ise risk 1/20000'dir (33).



Şekil 1. Valproik asitin kimyasal yapısı (37)

Levetirasetam: Levetirasetam ((S)-a-ethyl-2-oxo-1-pyrrolidine-acetamide), Pirasetamın S-enantiomeridir (Şekil 2) (29). N tipi yüksek voltajlı aktive kalsiyum kanallarını parsiyel olarak bloke eder. Böylece nöronal yapılardan kalsiyum salınımını azaltırken, aynı zamanda GABA ve glisin kanallarının negatif allosterik düzenleyici etkilerini de tersine çevirir (38, 39). Diğer AEİ’de olmayan bir özelliği, presinaptik düzeyde sinaptik vezikül proteini 2A’ya (SV2A) spesifik olarak bağlanmasıdır ve bu proteinin ekzositoz işlevini modüle etmesidir (38, 39). AEİ olarak 1999’da FDA (Food and Drug Administration) onayı almış olup, 2000 yılından beri kullanılmaktadır. İlk olarak klasik antiepileptik ilaçlara direnç gösteren, parsiyel nöbetli (sekonder jeneralizasyon olan veya olmayan) erişkin hastalarda kullanılmaya başlanmıştır (40). Diğer antiepileptiklere ek ilaç olarak dirençli parsiyel nöbetlere, semptomatik ve idiyopatik jeneralize konvulzif nöbetlere etkilidir (39). Migren (30), post hipoksik miyokloniler (31), beyin tümörlerine bağlı gelişen nöbetlerin tedavisi (41) ve nonkonvulzif status epileptikusta etkinliği bildirilmiştir (42). Oral alımından sonra tam olarak emilir (39). Biyoyararlanımı gıda alımından etkilenmez ancak emilim oranını yavaşlatmaktadır. Karaciğer enzimleri tarafından metabolize olmaz, karaciğer enzimlerinin aktivitesini etkilemez ve plazma proteinlerine bağlanma oranı düşük olduğundan, diğer antiepileptik ilaçlarla alındığında etkileşime girmez (29). Kararlı durum plazma konsantrasyonuna 2 gün içinde ulaşmaktadır (29). Plazma proteinlere bağlanma oranı düşüktür (%10’un altında) (29,40,43). Alınan miktarının % 66-76’sı değişmeden idrar ile atılmakta ve % 27’si aktif olmayan metabolitlere dönüşmektedir (29,43). Eliminasyon yarılanma ömrü 7 saattir, fakat böbrek yetmezliğinde uzamaktadır.

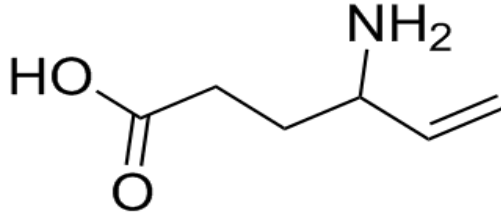
Genel olarak yan etkiler tedavi başlangıcının ilk 5 ayında görülmektedir. Başlıca yan etkileri, yorgunluk hissi, uyuklama, motor koordinasyon bozukluğu, sinirlilik ve ajitasyon şeklinde merkezi sinir sistemine ait bulgulardır. Davranış sorunları, ataksi, başağrısı, halsizlik, baş dönmesi ve nistagmus görülebilir (29). Davranışsal problemler ile ilgili yan etkilerinde pridoksin (vitamin B6) ile beraber kullanılması etkili bulunmuştur (44). Depresyon, uyku hali, yorgunluk ve davranışsal anormallikler, saldırganlık, sinirlilik ve kişilik değişikliği gibi nöropsikiyatrik yan etkiler görülebilir (44,45). Bir çocukta psikoz bildirilmiştir (46). Kalp, karaciğer ve sindirim sistemini etkileyecek ciddi olumsuz yan etkiler (ölüm veya hastan yatışı gerektirecek kadar) bildirilmemiştir (47). Tartı kaybı görülebilir (48).



Şekil 2. Levetirasetamın kimyasal yapısı (49)

1.5. Vigabatrin: Vigabatrin (gama-vinyl-GABA) (Şekil 3), GABA'nın vinil eklenmiş analogu olup çeşitli deneysel epilepsi modellerinde antikonvülzan olarak etkinliği saptanmış bir ilaçtır (50). Etki mekanizması, GABA-transaminazın (GABA-T) doza bağlı enzim inhibisyonu ve dolayısıyla inhibe edici nörotransmitter olan, GABA düzeylerinde artışa bağlanmaktadır. Kısa ve uzun süreli kontrollü klinik çalışmalar, vigabatrinin konvansiyonel ilaçlara dirençli epilepsi hastalarında ek tedavi olarak ya da infantil spazmlarda (West Sendromu) monoterapi olarak verildiğinde nöbet sıklığını azalttığını göstermiştir. Etkinliği kompleks parsiyel nöbetleri olan hastalarda özellikle belirgindir (51). Vigabatrin suda kolaylıkla çözünür, oral alımdan sonra hızla absorbe edilir, gıdalar absorpsiyonunu etkilemez. Plazma proteinlerine bağlanmaz. Plazma doruk konsantrasyonuna yaklaşık 2 saatte ulaşır. Plazma eliminasyon yarılanma ömrü gençlerde 5–8 saat, yaşlılarda 12–13 saattir. Vigabatrin hepatik sitokrom P450 enzimlerini indüklemey ve yaygın olarak metabolize olmaz. Tek doz uygulamasından 24 saat sonra, dozun % 70'i idrarla değişmeden atılır.

Vigabatrin ile tedavi edilen hastalarda sıklıkla görme alanı bozuklukları bildirilmiştir. Bu bozukluklar vigabatrin tedavisinden aylar, hatta yıllar sonra ortaya çıkabilir. Kontrollü klinik araştırmalarda, vigabatrin tedavisi sırasında hastaların yaklaşık %50'sinde istenmeyen etkiler ortaya çıkmıştır. Erişkinlerdeki başlıca istenmeyen etkiler merkezi sinir sistemiyle ilişkilidir ve sedasyon, somnolans, yorgunluk ve konsantrasyon bozuklukları türündedir. Buna karşılık, çocuklarda eksitasyon veya ajitasyon olguları sık görülmektedir. Bu istenmeyen etkilerin sıklığı genellikle tedavinin başlangıcında daha fazladır ve sonraları azalır (51).



Şekil 3. Vigabatrinin kimyasal yapısı (52)

Ketojenik Diyet

Epilepsi tedavisinde diyet şekilleri uzun yıllardır bilinmektedir. Ketojenik diyetin modern kullanımı ilk kez Paris’li doktor bir çift olan Guelpa ve Marie tarafından uygulanmıştır. Bu tedavi şekli inatçı kompleks myoklonik epilepsilerde ve tonik klonik konvülziyonlarda kullanılmaktadır (53). Ketojenik diyet karbonhidrat ve proteinden fakir yağdan zengindir. Kalorinin çoğu yağlardan karşılanır. Çocukların yaşları büyüdükçe bu diyet toleransları da tadı kötü olduğu için azalır. Epilepsi tedavisinde ketojenik diyetin etki mekanizması tam olarak aydınlatılamamış olsa da inhibitör nörotransmitter olan GABA’yı artırarak etki ettiğini gösteren bulgular vardır (53).

Vagal Sinir Stimülasyonu

Son yıllarda “vagus siniri stimülasyonu” adı verilen boyun bölgesine yerleştirilen küçük bir stimülatörün kullanıldığı yöntem de dirençli epilepsi tedavisinde kullanılmaktadır. Bu teknikte sol vagus siniri çevresine bir elektrod takılır. Bu elektrottan belli aralıklarla ayarlanmış uyarılar verilir (54).

Pahalı bir yöntemdir ve henüz hangi epilepsi tipinde daha etkili olduğu bilinmemektedir. Ayrıca çalışmaların çoğu erişkin döneme aittir, çocuk yaş grubunu kapsayan çalışmalara ihtiyaç vardır (54,55).

Epileptik Odağın Cerrahi Çıkarılması

Epileptik hastaların yaklaşık %25’inde uygun antiepileptik ilaç kullanımına rağmen nöbetler kontrol altına alınamamaktadır. Bu durum ilaç tedavisine dirençli epilepsi olarak adlandırılır. Bu hastalar arasında bir grup hasta epilepsi cerrahisi adayı olarak belirlenmektedir (56).

Bir hastanın epilepsi cerrahisine aday olabilmesi için medikal tedavi seçeneklerinin uygun doz ve sürelerde denenmiş olması ve bütün tedavilere rağmen ayda birden çok nöbet geçirmesi ön koşuldur. Bazı özel epileptik sendromlarda genel olarak ilaç tedavisine yanıt alınamazken cerrahi tedavi ile iyi sonuçlar alındığı kesinlik kazanmıştır. Bunlar medial temporal lob epilepsisi ve belirli bir nedene bağlı parsiyel epilepsilerdir (56).

ÖĞRENME ve BELLEK

Beyin, nöronlardan ve bunların birbiri ile oluşturduğu sinapslardan meydana gelir. Deneyimlerimizden ve çevremizden elde edilen bilgileri depolama görevi vardır. Nöronal sistem tüm olayları duyu organlarımızla algılayarak bir tepki verir. Duyu organları bilgileri omurilikteki sinir hücreleri sayesinde sinir sistemine iletirler. Önceki bilgilerle, yeni bilgilerin birleşmesi sinir hücrelerinin oluşturduğu ağlar ile olur (57).

Öğrenme

Bilinçli ya da bilinçsiz olarak kişilerin etkileşimde bulundukları yaşantılar ve deneyimler sonucunda, sinir sistemi tarafından elde edilen bilgilerin ve davranıştaki değişikliklerin izlenmesi işlemidir. Bununla birlikte öğrenmenin nasıl meydana geldiği konusunda ortaya atılan farklı görüşler, bazı kuramların doğmasına neden olmuştur (58).

Öğrenmenin doğasını ve doğurduğu sonuçları açıklamaya yönelik ortaya atılan bu kuramlar;

- Bilişsel kuram
- Duyuşsal kuram
- Davranışçı kuram
- Nörofizyolojik ya da beyin temelli kuram olarak sıralanabilir.

Bilişsel kuram; daha çok anlama, algılama, düşünme gibi olayları inceler. Öğrenmenin doğrudan gözlemlenemeyen zihinsel bir süreç olduğunu savunur ve öğrenmenin zihinsel süreçleriyle ilgilenir.

Duyuşsal kuram; öğrenmenin sağlıklı benlik gibi duyuşsal sonuçları ile ilgilenir.

Davranışçı kuram; davranışta gözlemlenen bir değişimdir. Öğrenmenin edimsel sonuçlarıyla ilgilenir. Uyarıcı ile davranış arasında kurulan bağ sonucu öğrenme gerçekleşir ve pekiştirme ile davranış değişimi meydana gelir.

Nörofizyolojik kuram; öğrenmeyi biyokimyasal bir değişim olarak açıklanmaktadır. Öğrenme süreci sonucunda nöronlarda yeni aksonların oluştuğu kabul edilir (58).

Bilgi işleme sürecinin güçlü olması, nöronların oluşturduğu ağ sayısının fazla oluşu ile

orantılıdır. Yapılan araştırmalara göre öğrenmeyi etkileyen etmenleri şöyle sıralayabiliriz; bellek, çevre, uyku süreci, motivasyon, dikkat, çeşitli duygular, beslenme alışkanlıkları (58).

Bellek

Öğrenilen konuları, geçmiş yaşantıları, bilgileri ve bunların geçmiş ile ilişkisini bilinçli olarak zihinde saklama ve hatırlama yetisidir. Belleği hücresel boyutta incelediğimizde nöron demetlerinin ateşlenmesi olarak tanımlanabilir. Bellek; edinilen bilgileri kaydeder, inceler, depolar. İstenildiğinde geri çağırarak yararlanmaya olanak sağlar. Bellek olmasaydı, insanlar her bilgiyi yeniden öğrenmek zorunda olacaktı (57,59).

İnsanların öğrendikleri bilgilerin bazıları hemen kaybolur, bazıları ise zihinde aylar, yıllar boyunca kalır. Bellekte bilgilerin uzun süre kalması tekrarlama ile mümkündür. Beynimiz kazanılan bilgileri belleğimize aktarırken, belirli benzer özelliklere göre sınıflandırır. Bu nedenle belleğin sınıflandırılması bilginin saklanma süresine ve saklanan bilginin tipine göre yapılır.

Bilginin saklanma süresine göre bellek;

- Kısa süreli bellek
- Uzun süreli bellek olarak sınıflandırılır.

Uzun süreli bellek ise saklanan bilginin tipine göre

- Deklaratif bellek
- Non-deklaratif bellek olarak sınıflandırılır (57,59).

Kısa süreli bellek: Bilginin geçici bir süre için saklanmasından sorumludur. Sürekli çevre ile etkileşim halinde bulunan birey, duyu reseptörleri aracılığıyla uyarıcıları algılar. Bireyin gördüğü, duyduğu, tattığı ya da hissettiği şeyler içeriğini oluşturmaktadır. İki bileşeni vardır.

Anlık bellek: Bilginin alındığı andan itibaren akılda aktif bir şekilde tutulmasından sorumludur. Şu anki dikkatimizin odaklandığı bilgiyi tutar. Kapasitesi çok azdır, tekrarlama yapılmadığı takdirde 30 saniyeden kısa sürelidir.

Çalışan bellek: Anlık bellekteki bilgi aktif bir şekilde tekrarlanırsa, tutulma süresi uzayabilir (dakikalarca). Anlık belleğin bu şekilde uzatılmış şekline “çalışan bellek” (working memory) adı verilir. Kısa süreli bellekteki bilgi sürekli tekrar edilirse, uzun süreli belleğe aktarılmış olur. Kısa süreli belleğin oluşumunda sinapslardaki kimyasal değişiklikler

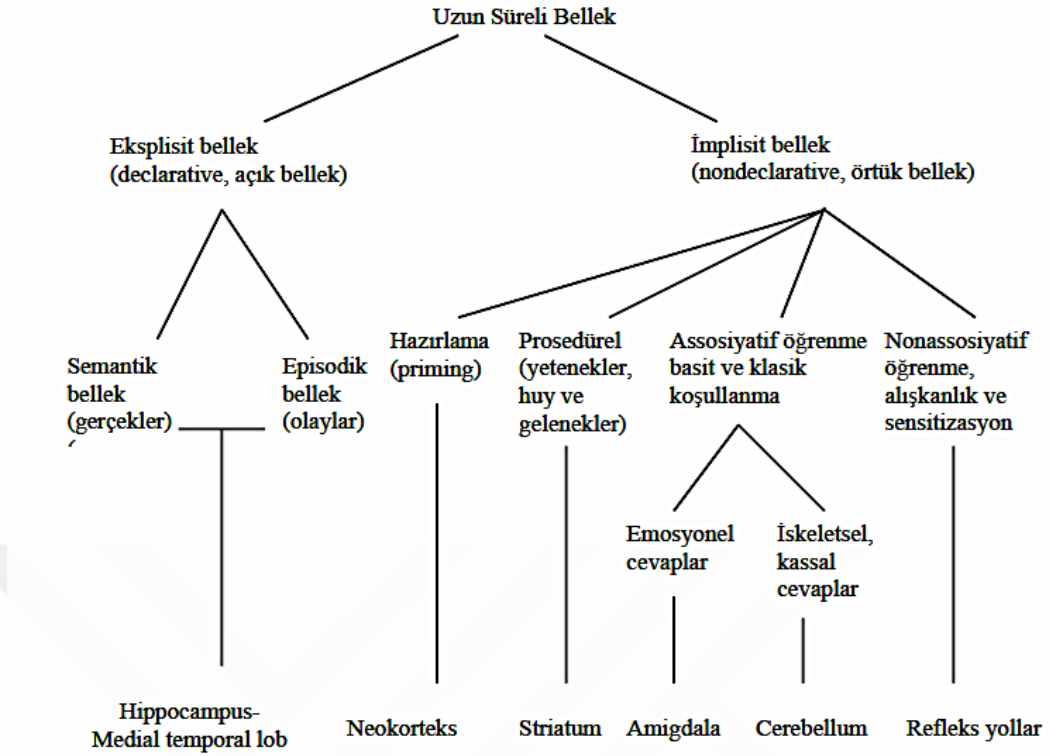
rol oynamaktadır. Kısa süreli bellekteki bilgiler bir süre hipokampüste saklandıktan sonra uzun süreli belleğe aktarılmaktadır (57,58,60).

Uzun süreli bellek: Burada bilgiler daha uzun süre saklanır, depolanır, istenildiğinde geri çağırılabilir. Uzun süreli bellekte sınırsız bir kapasite vardır. Bilgilerimizi ömür boyu saklayabiliriz ve potansiyel olarak bu bilgilere ulaşabiliriz. Genellikle uzun süreli bellekte sözcükler işitildikleri seslerle birlikte değil, taşıdıkları anlamları ile saklanmaktadır. Ayrıca uzun süreli bellekte ses, koku ve görüntülerin saklanması da mümkündür. Edinilen bilgilerin saklanması beynimizde nöronal bağlantılardaki kalıcı fonksiyonel, biyokimyasal ve yapısal değişikliklerle mümkün olmaktadır (57,58,60).

Bilginin kısa süreli bellekten uzun süreli belleğe aktarılış şeklinde farklılıklar vardır. Buna göre, uzun süreli bellek; nondekleratif bellek (prosedürel) ve deklaratif bellek olarak sınıflandırılır. Deklaratif bellek, epizodik bellek veya otobiyografik bellek olarak çeşitli şekillerde adlandırılabilir. Hayvan modellerinin kullanıldığı bellek araştırmalarında ise epizodik bellek isminin kullanılması daha uygun olmaktadır (61).

Deklaratif bellek: Bilinçli bellek olarak da adlandırılabilir. Olaylar, kavramlar, yüzler, müzik, kelime hatırlama ve bunları bilinçli bir şekilde yapma gibi yetiler deklaratif belleğe aittirler. Deklaratif bellekte bilgi kodlanır, depolanır, geri çağırılır ve unutulur. Deklaratif belleğin fonksiyonlarında medyal temporal lob önemli rol oynamaktadır. Bu lob, bilginin öğrenilmesinde ve uzun süreli belleğe iletilmesinde büyük öneme sahiptir. Uzaysal öğrenme de deklaratif belleğin bir parçasıdır. Kısaca, bir ipucu ile bir obje arasındaki ilişkiyi öğrenmek olarak tanımlanabilir. Görüntüler ve uzaysal ilişkilere karşılık gelen bellek görsel uzaysal bellek ya da sadece uzaysal bellek olarak adlandırılabilir. Bu tip belleğin sorumlu olduğu bir duruma araba ile yön bulma örnek olarak verilebilir (62).

Non-dekleratif bellek: İşlemsel bellek olarak da adlandırılır. Geçmişteki tecrübelerle dayanarak bireyin davranışlarını etkileyen bellektir. Ancak bilinçli olarak bu davranış değişikliklerinin farkına varılamaz. Bilinçsiz ve otomatiktir. Motor becerilerin edinilmesiyle ilgilidir. Araba kullanmak, bisiklete binmek, bir müzik aleti kullanmak işlemsel bellek ile ilgilidir. Bir kez öğrenildikten sonra davranışlar otomatik olarak gerçekleşir (Şekil 4) (60,63).



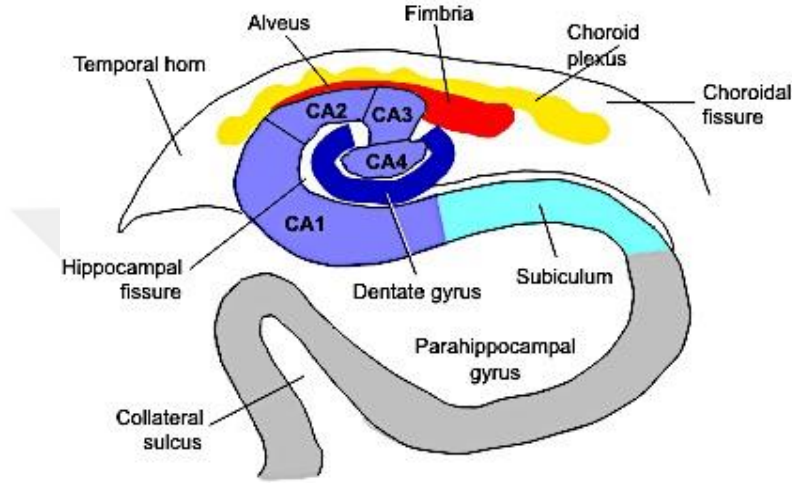
Şekil 4. Uzun süreli belleğin sınıflandırılması ve ilgili beyin bölümleri (63)

Öğrenme ve bellek bir bütün olarak işler. Belleğin oluşumu sırasında bir çok beyin bölgesi aktive olur (64). Öğrenme ve bellekten sorumlu beyin yapıları frontal, parietal, oksipital ve temporal loblar, hipokampus ve limbik sistemin diğer yapıları arasındaki nöronal ağlardır. Anlık bellekteki bilgileri uzun süreli belleğe aktarılmasında hipokampus, parahipokampal korteks kısımları hipokampusün diensefalon ile bağlantıları ve talamus önemli görevler yapar. Talamus, bellek ile ilgili bilgileri, prefrontal korteks aracılığıyla ön beyine gönderir. Burası kodlanmış bilgilerin depolandığı alandır. Ancak son zamanlarda yapılan çalışmalar ile, assosiyasyon bölgelerinde değişik bellek alanlarının bulunduğu ve her alanın değişik bir bilgiyi kodladığı gösterilmiştir (65).

Hipokampus limbik “ödülleme” ve “cezalandırma” sisteminden çıkan yolların en önemlilerinden biri olduğu için, yeni bilgilerin depolanmasında önemlidir. Ağrı veya huzursuzluğa neden olan uyaranlar ve düşünceler limbik cezalandırma merkezlerini; haz, mutluluk ve ödülleme duygusu limbik ödülleme merkezlerini uyarır (66). Amigdala (amigdaloid nukleus kompleksi) unkuş ve parahipokampus arasında yerleşmiş medial temporal lob yapılarından birisidir. Amigdalanın insan ve hayvan çalışmalarında özellikle korkunun öğrenilmesi ve diğer duygusal işlemlerde koşullu deneyimlerin ve korku yanıtının oluşumunda, belleğin depolanması ve bilginin kazanımında rolü olduğu gösterilmiştir (67).

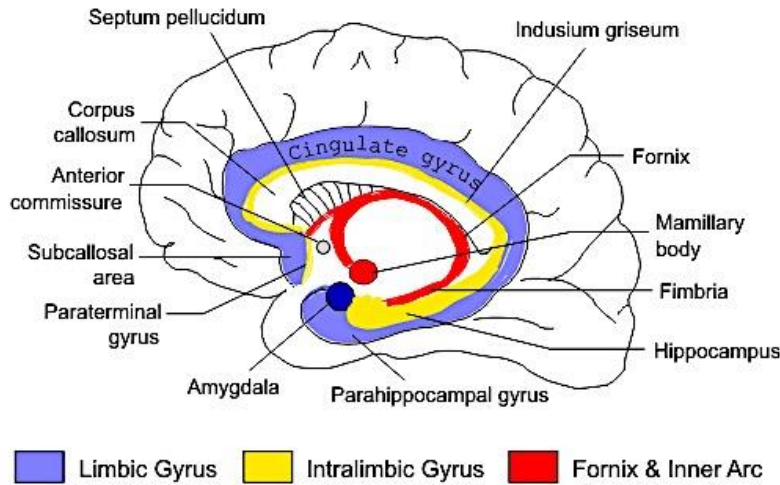
HİPOKAMPÜS

Hipokampüs, beynin medial temporal lobunda bulunan, lateral ventrikülün alt boynuz tabanı boyunca uzanır. Bellek ve yön bulmada önemli rolü olan beyin bölgesidir (68). Şekil olarak denizatına benzediği için yunanca denizati anlamına gelen hipokampüs (Yunanca: hippos = at, kampos = deniz) adı verilmiştir (Şekil 5) (69,70).



Şekil 5. Hipokampüs ve Limbik yapı (70)

Hipokampüsün dış yüzü koç boynuzuna benzediğinden dolayı Cornu Ammonis (CA) adı ile anılmıştır. Hücre yapısındaki değişikliklerden dolayı 4 alana bölünen bu kısımlar CA1, CA2, CA3 ve CA4 olarak adlandırılmıştır (69). CA1 subikuluma, CA4 ise dentat girusa en yakın yapıdır (Şekil 5) (69,70).



Şekil 6. Hipokampüs Anatomisi (70)

Hipokampus, kendine bağı temporal ve parietal lob ile birlikte hipokampal yapıyı oluşturur. Bu yapı serebral korteks, amigdala, hipotalamus, septum, mamiller cisimler gibi limbik sistem bölgeleriyle dolaylı olarak bağlantılıdır (Şekil 6) (69,70).

Histomorfolojik Yapı

Hipokampus histolojik olarak ince ve birbiriyle bağlantılı pek çok tabakadan oluşur. Bu tabakalar literatürlerde yazardan yazara değişmekle birlikte genel olarak görüş birliğine varılan 7 tabaka vardır. Histolojik olarak; ventriküler yüzeyden başlayarak dışa doğru, hipokampüse ait tabakalar şu şekilde sıralanır (69):

Alveus: En derindeki tabakadır. Ventrikül yüzeyine komşudur. Subikulum ve hipokampüse ait piramidal hücre aksonlarını içerir. Hipokampusün en önemli çıktısı (output) olan fimbria/fornikse uzanan aksonlar alveustan geçerler (69).

Stratum oriens: Esas olarak piramidal hücrelerin bazal dendritleri ile internöronların yerleştiği tabakadır. Buradaki çoğu nöron aksonları alveus liflerine katılır. Diğer hücre aksonları ise, en derinde yer alan stratum molekülareye dek uzanır (69).

Stratum pyramidalis: Karakteristik olarak bu tabakada büyük piramidal ve golgi tip II hücreleri çoğunluktadır. Piramidal hücrelerin esas olarak gövdeleri bu tabakada bulunur. Piramidal hücrelerin tabanı hipokampusün ventriküler yüzeyine dönüktür ve bazal-apikal dendritleri komşu tabakalara (str. lusidum) kadar uzanır. Aksonları ise stratum oriensden geçerek alveus liflerine katılırlar. Bu tabakada yosunsu lifler ile yapılan sinapslar vardır. Pek çok internöronun hücre gövdesi burada bulunur. Hipokampüse asıl şeklini veren buradaki piramidal hücrelerin dizilimidir (69).

Stratum lusidum: Hipokampusün en ince tabakalarından birisidir. Sadece CA3 bölgesinde bulunur. Hücresel yönden yoğundur ve çoğunlukla motor tip piramidal hücrelerden oluşur. CA3 alanındaki piramidal hücreler ile dentat gyrusun granüler hücreleri arasında bağlantı sağlayan yosunsu lifler de içerir. Diğer canlılara göre insanlarda daha belirgin olup CA1 ile CA2 alanlarında bulunmaz (69).

Stratum radiatum: Stratum oriense benzer yapıdadır. Septal ve komissural lifler içerir. Ayrıca schaffer kollateral lifleri içerir ki bunlar CA3'den CA1'e projeksiyon lifleridir.

Bu bölgede yüzeyde bulunan bazı internöronlar da bulunur. (basket hücreleri, radial trilineer hücreler vb.) (69).

Stratum lakünozum: İnce bir tabakadır ve bu da schaffer kollateral lifleri içerir. Ancak süperfisyal tabakadan entorinal kortekse uzanan bazı perforan lifler de içerirler. Çok ince olduğu için çoğu zaman stratum molekülare ile birlikte anılırlar ve “stratum lakünozum-molekülare” adıyla tek tabaka olarak da adlandırılırlar (69).

Stratum molekülare: En yüzeyel tabakadır. Burada da perforan lifler ve piramidal hücrelerin apikal dentritleri bulunur. Burası bazı yazarlar tarafından “stratum molekülare” adı altında tek bir tabaka olarak kabul edilirken, bazı kaynaklarda ise bir üst maddede belirtildiği gibi 6. ve 7. tabakaları birleştirerek “stratum lakünozum molekülare” ismiyle tek tabaka olarak da incelenmektedir (69).

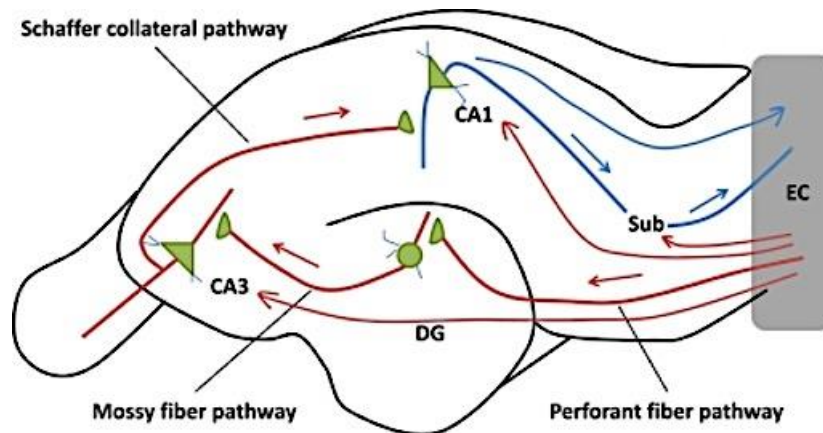
Hipokampal Yolaklar

Hipokampus’un 3 ana yolağı vardır (Şekil 7) (71,72).

Perforant yolak: Entorinal korteksten gelen aksonlar, CA4 alanı hariç bütün hipokampüse dağılır ve dentat giyruşa geçer.

Yosunsu (Mossy) lifler yolağı: Gyrus dentatus’taki granüler hücrelerin hipokampusün CA3 alanındaki piramidal hücrelerine projekte olan aksonlarını içerir.

Schaffer kollateralleri: Hipokampusün CA3 alanındaki pyramidal hücrelerinin CA1 alanındaki piramidal hücrelerinde sonlanan eksitator kollaterallerini içerir (71).



Şekil 7. Hipokampal Yolaklar (72)

İlk olarak 1973'te Bliss ve Lomo bu yolların herhangi birisinden kalkan yüksek frekanslı bir uyarının, hedef hipokampus hücresinin eksitator postsinaptik potansiyelinde saatlerce hatta günlerce devam eden amplitüd artışına neden olduğunu göstermişlerdir. Yani hipokampüsteki yolların yüksek frekanslı uyarılması sinaptik etkinlikte uzun süreli bir artışa neden olur. Sinaptik etkinlikteki bu artışa, uzun süreli potansiyalizasyon (LTP) denir (71,73). Başka bir deyişle LTP sinaptik yolların elektriksel stimülasyonuna bağlı olarak sinaptik şiddetin değişmesidir. Daha sonra LTP'nin çeşitli neokortikal alanlar da dahil olmak üzere beyinin diğer bölgelerinde de olduğu gösterilmiştir. Fakat en sık olarak hipokampüste çalışılmıştır. LTP'nin uzun süre saklanabilen bellek oluşumlarına uygun zamansal özellikler gösteren ilk ve tek sinaptik plastisite örneği olması nedeniyle bellekte rolü olduğu düşünülmektedir (73).

Uzun etkili potansiyalizasyon oluşumunun erken ve geç olmak üzere iki fazı bulunmaktadır.

Erken fazı; 1 ile 3 saat arası devam eder. Bu fazda yeni protein sentezi bulunmaz.

Geç fazı; en az 24 saat sürer, yeni protein ve RNA sentezi meydana gelir (71).

Uzun etkili potansiyalizasyon oluşuktan sonra tam olarak bilinmeyen mekanizmalarla postsinaptik hücreden, presinaptik uçta etki oluşturan bazı geri dönen haberci moleküller salınır. Bu moleküller presinaptik uçta glutamat salınımını arttırmaları ve hala uyarı geliyormuş gibi aynı uyarı için glutamat salgısı devam eder. Yani LTP bir kez olduğu takdirde kendi kendini devam ettirmektedir (71,73).

Diğer bir sinaptik plastisite formu olan uzun süreli depresyon (LTD) ise uzamış düşük frekanslı aktivitenin sinaptik şiddette kalıcı azalmaya neden olmasıdır. Sinaptik sensivitede azalma meydana gelir. LTP'nin zıttıdır. İlk olarak hipokampüste gösterilmiştir. Daha sonra giyrus dentatusta, çeşitli kortikal alanlarda ve serebellumda çalışılmıştır (73).

Hipokampusün Öğrenme ve Bellek Üzerindeki Rolü

Bilindiği gibi hipokampus, uzaysal öğrenme ve belleğin merkezidir ve spesifik uzaysal bilginin kodlanması işlevini yapar (9).

Sıçanlar ve fareler gibi hayvan türlerinin davranışlarını düzenlemede uzaysal bilgiyi kullanma eğilimleri vardır. Hipokampus ve ilgili yapıların (entorhinal korteks, subiculum gibi) uzaysal bilgiyi kullanmayı gerektiren öğrenme ve bellek testlerindeki rolü pek çok çalışmada araştırılmıştır. Hipokampus lezyonlarının hayvanlarda ve insanlarda spontan dikkati, uzaysal öğrenmeyi ve uzaysal bellek kullanımını bozduğu gösterilmiştir. Hipokampus hayvanların davranışlarını düzenlemeleri ve kontrol etmeleri için uzaysal bilgiyi

kullanmalarında önemli rol oynar (10).

Uzaysal öğrenme, hipokampüste NMDA reseptör aracılığı ile oluşan LTP sayesinde olur (74). Hipokampus CA1 bölgesi nöronları da uzaysal öğrenme ve bellek için gereklidir. CA1 bölge nöronları entorinal korteksten veya CA3 bölgesinden bilgileri alır ve işler. Hipokampus CA3 bölgesi lezyonlu ancak CA1 bölgesi sağlam farelerin su labirenti deneyinde öğrenme sürecinde başarılı oldukları ancak bilginin geri çağırıldığı retansiyon (probe) testinde amaçsızca yüzdükleri görülmüştür. Dolayısıyla sağlam bir CA3 ve CA1-CA3 bağlantısı referans bellek için gereklidir (9).

Araştırmalar entorinal korteksten gelen bilgilerin CA1'in uzaysal ateşlenmesi için yeterli olduğunu göstermektedir. CA1 bölgesi bir "hata dedektörü" gibi çalışır, CA3 bölgesi ve entorinal korteksten aldığı bilgi arasındaki uyumsuzluğu arar ve böylece depolanan bilgi düzeltilir (9). Dış çevreden gelen duyuşsal bilgiler kortikal bağlantılar yardımı ile hipokampus ve amigdalaaya yönelir . Hipokampus ile frontal korteks arasındaki bağlantılar da bilgi işlem sürecinde ve bilişsel fonksiyonlarda önemli rol oynamaktadır (75).

ANTİEPİLEPTİK İLAÇLARIN BİLİŞSEL VE DAVRANIŞSAL ETKİLERİ

Antiepileptik ilaçlar nöronal uyarılabilirliği baskılayarak veya inhibitör nörotransmisyon oluşturarak bilişsel fonksiyonları etkiler. Çoklu antiepileptik tedavi alan hastalarda bilişsel fonksiyonlarda bozulma riski artmaktadır. Antiepileptik tedavi alan hastalarda en sık görülen bilişsel yan etkiler; dikkatsizlik, sedasyon, somnolans, uykusuzluk ve baş dönmesidir. Depresif bilişsel yan etkiler sıklıkla erişkin hastalarda görülür, çocuklarda daha çok ve hiperaktivite görüldüğü bildirilmektedir (76,77).

SIÇANLARDA BİLİŞSEL VE LOKOMOTOR AKTİVİTENİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Siçanların bilişsel ve lokomotor yetilerinin değerlendirilmesinde bugüne dek tanımlanmış çok sayıda hayvan davranış deneyi (HDD) modeli mevcuttur. HDD'leri ile siçanlarda anksiyete, otonom fonksiyonlar, öğrenme, bellek ve lokomotor aktivite gibi birçok yetinin değerlendirilmesi yapılabilmektedir. Bilimsel yeterlilik ölçütlerinin tümüne aynı anda sahip olan bir HDD modeli yoktur ve bu modellerin çoğu %100 kesinlikte sonuç sağlayamamaktadır (78). Davranış deneylerinin siçanların nöromotor gelişiminin tamamlandığı 80-85. günlerden sonra yapılması önerilmektedir (79).

Tüm HDD'nin $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$ sıcaklığında, 12 saatlik gece-gündüz döngüsünün sağlandığı bir odada ses, ışık, sıcaklık ve bekleme koşullarının standardize edildiği ortamlarda yapılması

önerilmektedir. Bu standardizasyonun sağlanabilmesi için tüm hayvan gruplarının deney alanına deney gününden birkaç gün önce getirilmesi ve ortama alıştırılması gerekliliği bildirilmiştir (78). Tüm sıçanlar aynı sürede annelerinden ayrılmalı, benzer şekilde beslenmeli ve benzer sayıda sıçan aynı kafese konmalıdır. Böylece nöromotor gelişimlerini etkileyebilecek diğer faktörler mümkün olduğunca azaltılmalıdır. Davranış deneyi modelini uygulayan araştırmacının da her grup için aynı kişi olması, aynı renk giysi giymesi, aynı parfümü kullanması, her zaman aynı yerde durması gibi faktörlere de dikkat edilmelidir (78).

Sıçanlarda bilişsel ve motor yetilerin değerlendirilmesi amacıyla pek çok farklı düzenek kullanılmaktadır. Bunlardan bazıları, Morris Su Labirenti, Rotarod, Bağlamsal Korku Koşullanma , Yükseltilmiş Artı Labirent ve Açık Alan düzeneğidir (78).

Morris Su Labirenti Testi

İlk olarak 1981 yılında Prof. Richard Morris tarafından (80) tanımlandığından bu yana kemirgenlerin öğrenme ve bellek çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır (81). Genellikle silindirik seklinde bir tank kullanılır ve içi 21- 26°C sıcaklıkta su ile doldurulur, oda sıcaklığı $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de sabit tutulur (78). Su tankının içine su yüzeyinin 1-2,5 cm kadar altına hayvan tarafından görülemeyecek şekilde kare veya daire şeklinde bir yükselti yerleştirilir.

Su tankı sanal olarak 4 kadrana ayrılır. Bir kadrana gizli yükselti sabit olarak yerleştirilir. Her gün sıçanlar sırasıyla farklı kadrandan yüzleri su tankının duvarına dönük şekilde bırakılırlar ve gizlenmiş sabit yükseltiyi bulmaları beklenir. Suya her bırakıldıklarında yükseltiyi bulmaları için beklenen süre eşit olmalıdır ve bu süre 30-180 saniye arasında belirlenebilir. Eğer gizli yükselti bulunamaz ise deneyi uygulayan kişi tarafından sıçan yönlendirilerek gizli yükseltiyi bulması sağlanır. Yükselti üzerinde bekleme süresi her sıçan için eşit olmak üzere 3 saniye ile 30 saniye arasında belirlenebilir. Gün geçtikçe sıçanların gizli yükseltinin yerini öğrenerek daha kısa sürede bulmaları beklenir. Deneyler 5 ile 13 gün arasında sürdürülebilmektedir. Deneyin son gününde yükselti yerinden çıkarılır ve eskiden yükseltinin bulunduğu yerde sıçanların ne kadar süre geçirdikleri değerlendirilir (78,82).

Rotarod Performans Testi

Rotarod Performans Testi, hayvanların denge, motor koordinasyon ve performanslarının değerlendirildiği bir testtir. Cihazın çalışma prensibi, hayvanların belirli bir yükseklikte (25 cm) ve belirli bir hızla elektrik enerjisiyle dönen (10 devir/dakika) mil (rod) üzerinde belli bir süre içerisinde yürüyebilmesi veya aşağıya düşmemesi esasına dayanır (83).

Rotarod Performans Testinde kullanılan cihazda birbirine bitişik 4 kabin

bulunmaktadır. Bu kabinlerin genişliği 10 cm, yüksekliği 45 cm ve derinliği 30 cm'dir. Hayvan aşağı düşmemek için milin döndüğü yönün tersi yönünde yürümeye çalışır (83).

Sağlıklı bir hayvan normal şartlarda belli bir süre çubuk üzerinde düşmeden kalabilmektedir. Hayvanlarda motor koordinasyonla ilgili sistemlerin bozulması durumunda hayvan yürümeyi bırakır ve düşer. Aşağı düşen hayvanlar aynı şekilde tekrar alınıp dönen mil üzerine konulur. Üç kez yürüme hakkı verilen hayvanın yere düştüğü anda süre durdurulur ve mil üzerinde kalabildiği en uzun süre kaydedilir. Bu şekilde hayvanın mil üzerinde en uzun durabilme süresi belirlenerek, bu değer Rotarod Performans değeri olarak kaydedilir (83).

Bağlamsal Korku Koşullanma Testi

Amigdala'nın anksiyete bozukluklarında ve anksiyete ve korku bazlı bellek oluşumundaki rolü bazı çalışmalar ile gösterilmiştir (84,85). Bağlamsal Korku Koşullanma Testi sıçanlarda korku bazlı (amigdala bazlı) belleği değerlendirmek için kullanılan davranışsal bir testtir (86).

Düzenek, tabanında birbirine paralel dizilmiş, elektrikli şok cihazına bağlı çelik tellerin bulunduğu ve duvarlarında görsel öğelerin yer aldığı kafesten oluşmaktadır. Tavanda ise aydınlatma amaçlı beyaz ışık bulunmaktadır.

Testin 1. Gününde hayvan görsel objelerin olduğu kafese alınarak 7 dakika boyunca gözlemlenir ve 2. , 4. ve 6. dakikalarda 0,5 mA (1 saniye) elektrik şoku verilir.

Testin 2. gününde ise hayvan aynı kafese konulur. Şok uygulanmaz ve 5 dakika boyunca gözlemlenir. Bu süreçte hayvanın donma süreleri kayıt altına alınır. Bu şekilde hayvanların korku bazlı belleği değerlendirilir.

Test 2 farklı şekilde gerçekleştirilebilir. Hayvanın yerleştirildiği kafesin duvarlarındaki görsel ipuçları sabit bırakılarak testin gerçekleştirildiği durumda bağlamsal korku koşullanmadan bahsedilir ve bu testte amigdala ve hipokampus fonksiyonları test edilir. Hayvanın, içine konduğu kafesi hatırlaması beklenmektedir ve bu nedenle ilk gün şok verilirken sunulan çevresel ipuçları, şok uygulamaksızın donma sürelerinin kaydedildiği ikinci gün de değiştirilmez. Testin diğer şekli, çevresel ipuçları değiştirilerek yapılmasıdır ki, bu durumda sadece amigdala fonksiyonu test edilir. Testin bu şeklinde, birinci gün şok uygulamaları sesli bir uyarının ardından verilir; ikinci gün kafesin duvarlarındaki görsel ipuçları ve zemin değiştirilir, sesli uyarak aynı şekilde verilir, ancak sesli uyarının ardından elektriksel şok uygulanmaz (87).

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışma 2014-2015 tarihleri arasında Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Nörolojisi Bilim Dalı tarafından yürütülmüş olup, Trakya Üniversitesi Deney Hayvanları Birimi, Farmakoloji Anabilim Dalı Davranış Laboratuvarı ve Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında 20 kontrol ve 60 çalışma grubu olmak üzere toplam 80 adet sıçan üzerinde gerçekleştirildi.

Trakya Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 29.08.2014 tarih ve 2014/08 sayılı oturumda 2014/08/03 karar no.su ile onaylandı. (Ek-1) Çalışmamız İyi Laboratuvar Uygulamaları Kılavuzu ve Hayvan Etiği Evrensel İlkelerine uygun olarak gerçekleştirildi. Bu çalışma Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından TÜBAP-2014/107 kayıt numarası ile desteklendi (Ek-2).

Çalışma ve kontrol grubu için Wistar Albino türü toplam 80 adet yavru sıçan Trakya Üniversitesi Deney Hayvanları Birimi'nden alındı. Yavru sıçanlar postnatal 24 (adölesan dönem için yaklaşık 10,5 sıçan günü: 1 insan yılı, süt çocukluğu dönemi için 42,4 sıçan günü: 1 insan yılı) (88) günlerinde annelerinden ayrılarak çalışmaya dahil edildi. Sıçanlar; veteriner kontrolünde her gün temizliği yapılan, havalandırması ve kliması olan, gece-gündüz ritmi otomatik olarak ayarlanan, nemi ölçülen bir odada, her kafeste 4 sıçan olacak şekilde kafeslere 1-20 arası numara verilerek barındırıldı.

Çalışmaya alınmadan önce bütün sıçanlar ağırlıkları tartılarak kuyrukları daha önceden belirlenmiş renkli numaralandırma sistemine uygun olarak (kontrol grubu kırmızı, levetirasetam grubu siyah, sodyum valproat grubu yeşil, vigabatrin grubu pembe) toksik olmayan boyalar ile boyandı. Sıçanlar verilecek ilaçlara (kontrol grubu: K levetirasetam grubu:L , vigabatrin grubu: V sodyum valproat grubu:N) ve cinsiyetlere (kontrol dişi grubu:

KD levetirasetam dişi grubu: LD , vigabatrin dişi grubu: VD sodyum valproate dişi grubu: ND, kontrol erkek grubu: KE levetirasetam erkek grubu: LE , vigabatrin erkek grubu: VE sodyum valproat erkek grubu: NE) göre 10 erkek ve 10 dişi olacak şekilde gruplara ayrıldı.

Postnatal 12. hafta (erişkin dönemi) (88) olana kadar haftalık tartı takibi ile günlük iime sularına suda ozunurlukleri iyi olan belirli dozlarda oral levetirasetam (Keppra 100 mg/ml oral solüsyon-UCB pharma), sodyum valproat (Depakin oral solüsyon 200 mg/ml- Sanofi Aventis) ve vigabatrin (Sabril 500 mg tablet-Sanofi Aventis) eklendi. Günlük su tüketimleri ve beslenme durumları gözlemlendi.

Genellikle ilaçların akut etkilerinin değerlendirildiği çalışmalarda ilaçlar intraperitoneal yol ile veya gavaj yolu ile uygulanmıştır. Bu ilaç uygulama yöntemlerinin birden fazla kişi ile yapılması, travmatik yöntemler olması ve kronik dönemde uygulanabilirliğinin zor olması, hayvanlarda davranış testlerinde uzun dönemde olumsuz etki oluşturabileceğini duşundurmuştur.

İlaç dozları çocuklarda kullanılan ve oncelki çalışmalarda kullanılan tedavi edici maksimum ilaç dozları olacak şekilde belirlendi (32). Hayvanların haftalık tartı alımı takip edildi. 100 gr ağırlığındaki sıçanın günlük su tüketiminin 10-12 ml kadar olması (88, 89) göz önünde bulundurularak ve haftalık tartılarına göre ilaç doz uygulaması günlük iime sularına katılarak yapıldı. Günlük su tüketimleri takip edildi. Çalışma sürecinde hastalanma ve ölüme bağlı gruplarda eksilme gözlemlenmedi.

Çalışmadaki gruplar ve ilaç dozları aşağıdaki gibidir;

Kontrol Grubu (K)

10 erkek (KE) ve 10 dişi (KD) sıçandan oluşmaktadır. Bu gruba ilaç uygulaması yapılmadı.

Levetirasetam Grubu (L)

10 erkek (LE) ve 10 dişi (LD) sıçandan oluşmaktadır. Postnatal 24. günden itibaren 12 haftalık olana kadar günlük iime sularına yaklaşık 65 mg/kg/gün olacak şekilde levetirasetam eklendi (ocuklarda 5-60 mg/kg/gün).

Sodyum Valproat Grubu (N)

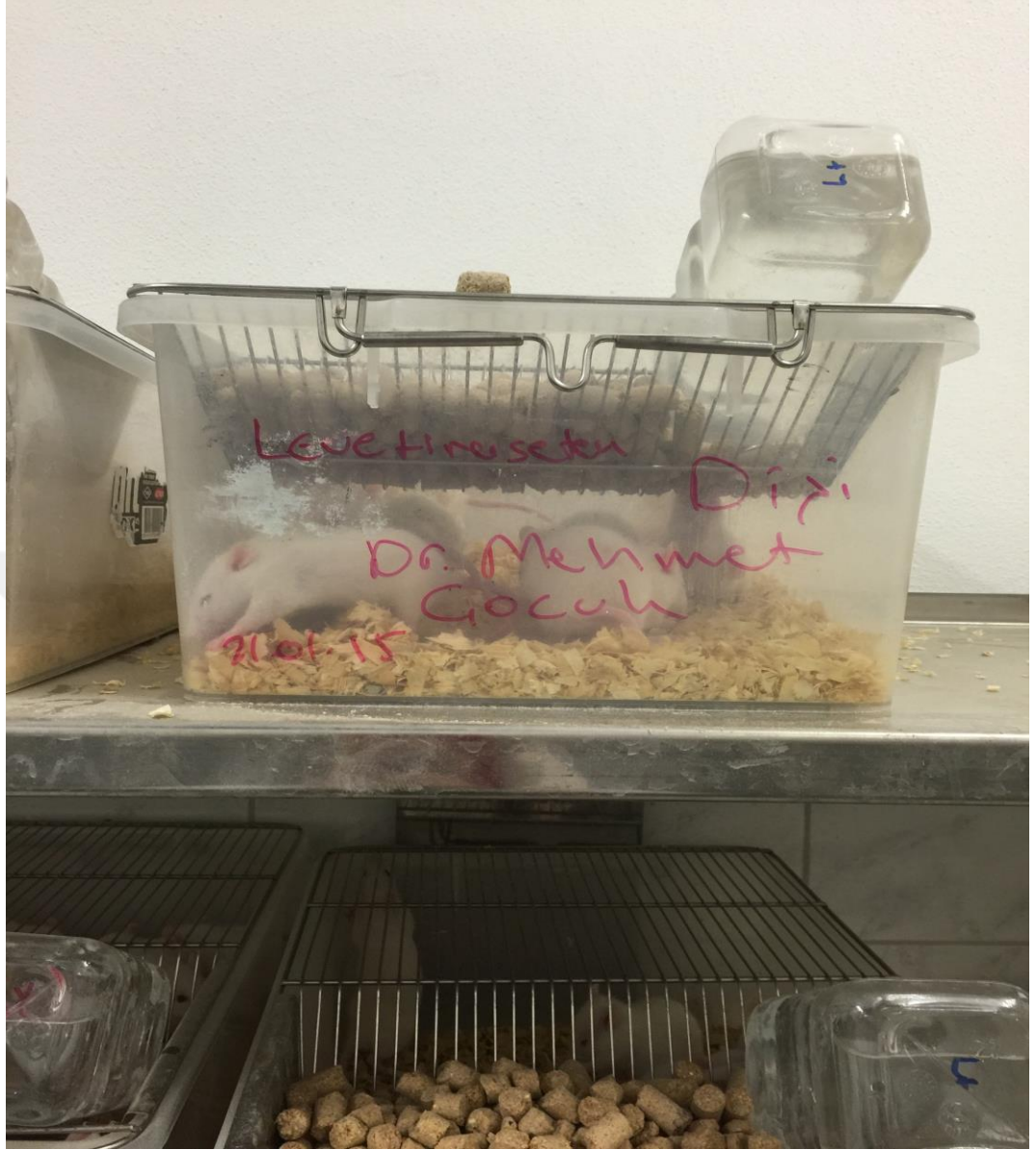
10 erkek (NE) ve 10 dişi (ND) sıçandan oluşmaktadır. Postnatal 24. günden itibaren 12 haftalık olana kadar günlük iime sularına yaklaşık 50 mg/kg/gün olacak şekilde sodyum valproat eklendi (ocuklarda 10-50 mg/kg/gün)

Vigabatrin Grubu (V)

10 erkek (VE) ve 10 dişi (VD) sıçandan oluşmaktadır. Postnatal 24. günden itibaren 12 haftalık olana kadar günlük içme sularına yaklaşık 100 mg/kg/gün olacak şekilde vigabatrin eklendi. (çocuklarda 50-100 mg/kg/gün)

Sıçanlar postnatal 13. Haftalarında (ilaç kesilmesinden 1 hafta sonra) Trakya Üniversitesi Deney Hayvanları Birimi'nden alınarak deneylerin yapılacağı Farmakoloji Anabilim Dalı Davranış Laboratuvarı bölümüne alındı.

Çalışmada sıçanların barınmasını ve beslenmesini sağlayacak özelliklere sahip, eni 36 cm, boyu 60 cm ve derinliği 36 cm olan, şeffaf PVC (poli vinil klorür) özelliğinde (Şekil 8), 16 adet kafes kullanıldı. Kafeslerin üzerine sıçanların beslenebilmeleri için yem ve su konulabilecek özellikteki metal yemlikler yerleştirildi. Yemliklerdeki su ve yem miktarı her gün kontrol edilerek yenilendi.



Şekil 8. Sıçanların barındırıldığı kafesler

SIÇANLARA UYGULANAN TESTLER

Sıçanlara öğrenme ve bellek fonksiyonlarının değerlendirilmesi amaçlı Morris Su Labirenti Testi, korku bazlı bellek değerlendirmesi için Bağlamsal Korku Koşullanma Testi, lokomotor aktivite ve denge fonksiyonlarının değerlendirilmesi amaçlı Rotarod Performans Testi uygulanmıştır.

Sıçanlarda Morris Su Labirenti Testi İle Öğrenme ve Belleğin Değerlendirilmesi

Sıçanlarda öğrenme ve bellek fonksiyonlarının değerlendirildiği Morris Su Labirenti; dışarıdan ışık almayan ve içinde paravan olan bir oda içerisinde kendine ait ısınma düzeneği olan ($22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5$ olacak şekilde) çapı 1,5 metre, derinliği 45 cm olan içi su dolu silindir

şeklinde bir su tankı ve içinde su yüzeyinin 1,5-2 cm. kadar altında saklı bulunan bir platformdan ibarettir (Şekil 9).



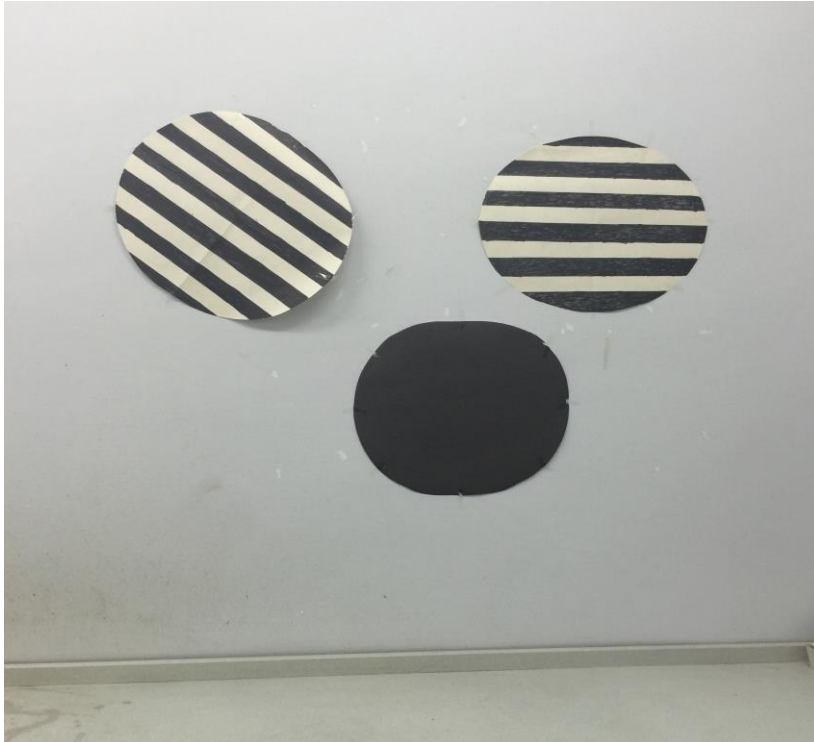
Şekil 9. Düzenegın bulunduğu oda, Morris Su Labirenti ve paravan

Platform; eğitim yüzdürmelerinin (trials) yapıldığı ilk 5 gün boyunca içi su dolu tankın içerisinde suyun yaklaşık 1,5-2 cm altında sabit bir noktada ve yükseltide olacak şekilde bırakıldı (Şekil 10).



Şekil 10. Morris Su Labirenti ve Platform

Su tankının bulunduğu odanın duvarlarında deneyler boyunca sabit olan çevresel ipuçları asılı bırakıldı ve sıçanların bunlara bakarak platformu bulmaları sağlandı (Şekil 11).



Şekil 11. Duvarlardaki Çevresel İpuçları

İlk aşamada hayvanların test ortamını tanıması amaçlı belirli bir süre boyunca platform olmadan alıştırma yüzmeleri gerçekleştirildi.

Eğitim yüzdürmelerinde sıçanlar her gün, günde 4 eğitim olmak üzere önceden belirlenmiş ve su tankında işaretlenmiş farklı yönlerden su tankının içine yüzleri su tankının duvar kısmına bakacak şekilde bırakıldılar (Tablo 5).

Tablo 5. Sıçanların deney boyunca bırakıldığı yönler

GÜN	EĞİTİM 1	EĞİTİM 2	EĞİTİM 3	EĞİTİM 4
1	N	E	SE	NW
2	SE	N	NW	E
3	NW	SE	E	N
4	E	NW	N	SE
5	N	SE	E	NW
6 (RETANSİYON)	NE			

N: Kuzey, E: Doğu, S: Güney, W: Batı. SE: Güney Doğu NW: Kuzey Batı NE: Kuzey Doğu

Sıçanların 60 saniye içinde saklı platformu bulmaları beklendi. Platformu bulduktan sonra platform üzerinde 15 saniye kalmalarına izin verildi ve sonra su tankından alınıp, kurularak kafeslerine bırakıldılar. 60 saniye içinde platformu bulamayan sıçanlara yardım edilerek platformu bulmaları sağlandı ve 15 saniye platform üzerinde kalmalarına izin verildi. Bu şekilde havuz içinde görünmez platformun yeri öğretildi. 5 gün boyunca sıçanların gösterdikleri performans kamera ve bilgisayar sistemi ile kayıt altına alınarak bu süreçte deneklerin öğrenme yetilerini değerlendirecek eğriler elde edildi. 6. gün yapılan uzun süreli belleğin değerlendirildiği hatırlama testinde (probe test/retansiyon testi) platform su tankından çıkarıldı ve sıçanlar daha önce suya bırakılmadıkları yönden (kuzeydoğu) bırakılarak sadece bir defa 60 saniye süreyle yüzdürüldüler.

Su tankı üzerine odanın tavanında belirli bir yükseklikte yerleştirilmiş bir video kamera aracılığı ile deney verileri bilgisayara aktarıldı, Noldus Ethovision XT 11.0 yazılımı tarafından analiz edilerek aşağıda belirtilen parametreler hesaplandı:

Eğitim yüzdürmeleri (ilk 5 gün) sırasında ölçülen parametreler:

- Platformu bulana kadar geçen süre
- Platforma olan ortalama uzaklık
- Deneklerin yüzme hızı
- Havuz duvarına 10 cm mesafede yüzme süresi ve yüzdesi (Tigmotaksi).

Retansiyon testi (6. gün) yüzdürmeleri sırasında ölçülen parametreler:

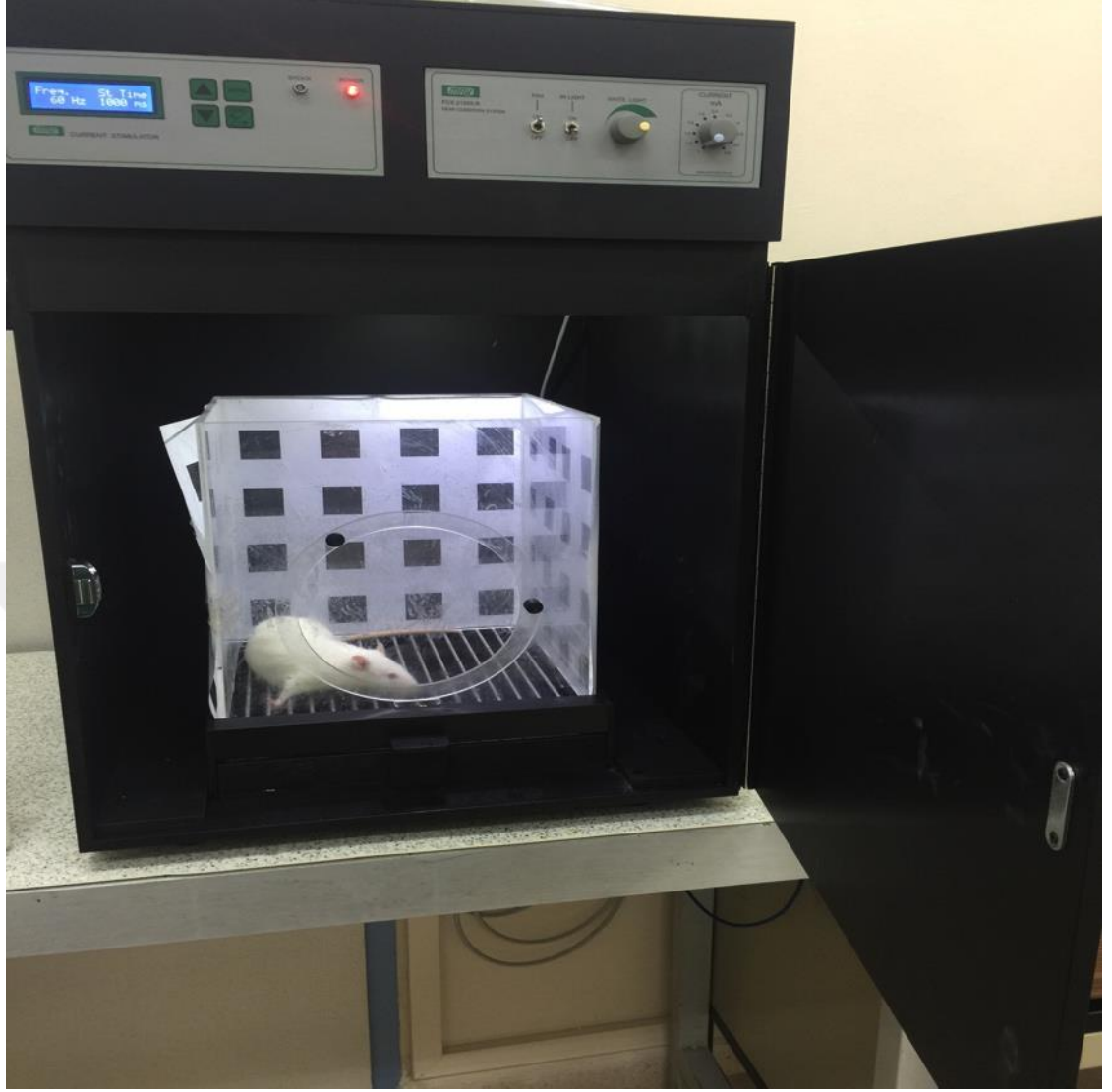
- Hedef kadranda (güneybatı) geçirilen süre
- Platforma olan ortalama uzaklık
- Deneklerin yüzme hızı
- Havuz duvarına 10 cm mesafede yüzme süresi ve yüzdesi (Tigmotaksi).

Platforma daha çabuk ulaşma veya daha kısa mesafe yüzerek platformu bulma, platformun yerinin öğrenildiğinin göstergesidir. 5 günlük bir eğitimde, her gün yapılan denemelerde elde edilen skorların toplanması da genel bir bellek parametresi olarak kullanılabilir.

Sıçanlarda Bağlamsal Korku Koşullanma Testi İle Belleğin Değerlendirilmesi

Bağlamsal Korku Koşullanma Testi sıçanlarda korku bazlı (amigdala bazlı) belleği değerlendirmek için kullanılan davranışsal bir testtir.

Düzeneğin dış kısmı siyah mat pleksiglas malzemeden, iç kısmı şeffaf pleksiglas malzemeden üretilmiş olup 27 cm. genişliğinde 27 cm. derinliğinde ve 34 cm yüksekliğindedir. Şeffaf pleksiglas iç bölümünün ağız kısmında 16 cm. çapında daire şeklinde kapısı mevcuttur. Tabanında birbirine paralel dizilmiş şok cihazının bağlı çelik tellerin bulunduğu ve duvarlarında görsel öğelerin yer aldığı kafesten oluşmaktadır. Metal taban kısmı elektrik bağlantısı ile bağlıdır ve şok buradan uygulanmaktadır. Tavanda ise aydınlatma amaçlı beyaz ışık bulunmaktadır (Şekil 12).



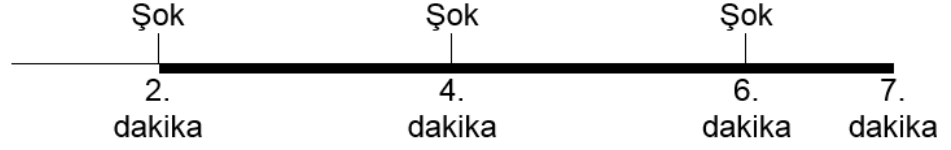
Şekil 12. Bağlamsal Korku Koşullanma Testi Düzeneği

Testin 1. Gününde hayvanlar sırayla görsel objelerin olduğu kafese alınarak gözlemlendi. Testin 2. , 4. ve 6. dakikalarında 0,5 mA (1 sn) elektrik şoku verildi. 7. dakikasını dolduran hayvan düzenekten çıkarılarak tekrar kafesine yerleştirildi (Şekil 13).

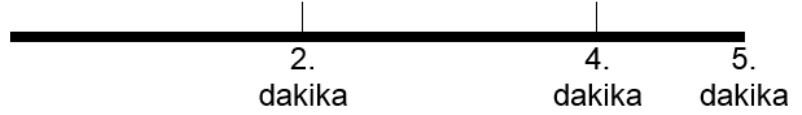
Testin 2. gününde ise hayvan aynı kafes ve düzeneğe tekrar yerleştirildi. 5 dakika boyunca şok uygulanmadan gözlemlendi (Şekil 13).

Bu süreçte hayvanın aynı düzeneğe ve görsel objelere karşı korkuya bağlı donma süreleri kayıt edildi ve deney verileri olarak bilgisayara aktarıldı. Noldus Ethovision XT 11.0 yazılımı tarafından analiz edilerek hayvanların korku bazlı belleği değerlendirildi.

1. Gün



2. Gün



Şekil 13. Sıçanlara uygulanan şok süreleri (1. gün) ve donma süreleri (2. gün)

Sıçanlarda Rotarod Performans Testi İle Lokomotor Aktivite ve Dengenin Değerlendirilmesi

Rotarod Performans Testi, hayvanların motor koordinasyon ve performanslarının değerlendirildiği bir testtir. Cihazın çalışma prensibi, hayvanların belirli bir yükseklikte (25 cm) ve artan bir hızla elektrik enerjisiyle dönen mil (rod) üzerinde belli bir süre içerisinde denge sağlayarak yürüyebilmesi veya aşağıya düşmemesi esasına dayanır.

Rotarod Performans Testinde kullanılan cihazda birbirine bitişik 4 kabin bulunmaktadır. Bu kabinlerin genişliği 10 cm, yüksekliği 45 cm ve derinliği 30 cm'dir. Her kabinin içinde silindir şeklinde yatay miller bulunmaktadır. Hayvan aşağı düşmemek için çubuğun döndüğü yönün tersi yönünde yürümeye çalışır.

Kabinlerin ön bölümünde hayvanların mil üzerinde durduğu süreyi kayıt altına alan otomatik numaratorler bulunmaktadır. Düzenegın taban kısmında hayvanların dışkılarının toplandığı metal bölüm, ön ve tavan kısmında ise açılabilen şeffaf pleksiglass malzemeden oluşan kapak kısmı bulunmaktadır (Şekil 14).



Şekil 14. Rotarod Performans Testi Düzeneği

Hayvanlara ilk aşamada alıştırma, düzeneğin ve ortamın tanıtılması amaçlı belirli sürelerde denemeler yaptırıldı.

Her denek toplamda 3 defa dönen millerin üzerine alınarak mil üzerinde dengede kalarak yürüyebildikleri süreler kayıt altına alındı. Bu şekilde hayvanın mil üzerinde en uzun durabilme süresi belirlenerek, bu değer Rotarod Performans değeri olarak kaydedildi. Bu veriler ile hayvanların lokomotor aktivite ve denge yetileri değerlendirildi.

Hayvanların öğrenme ve uzaysal bellek, korku bazlı bellek , lokomotor aktivite ve denge fonksiyonlarının değerlendirildiği deneyler süresince, deneylerin aynı kişi tarafından yapılmasına, deneyi yapan kişinin parfüm vb. kokular sürmemesine, aynı kıyafeti giymesine dikkat edildi. Bu süreçte hayvanların etkilenebileceği ortam ışığı ideal düzeyde ayarlandı. Özellikle aşırı ses gibi uyaranlar konusunda önlemler alındı. Deneylerin günün belirli saatlerinde yapılmasına dikkat edildi. hayvanlar deney ortamına alınmadan önce önceki hayvanlara ait dışkılar ve atıklar temizlendi. Bu şartlarda ideal deney ortamı oluşturularak deneyler tamamlandı.

HİPOKAMPÜSÜN HİSTOMORFOLOJİK YAPISININ İNCELENMESİ

Deneyler tamamlandıktan sonra hayvanlara 600 mg/kg olacak şekilde intramusküler kloral hidrat uygulanarak dekapiktasyon yapıldı.

Deneklerin sakrifikasyonunun ardından çıkartılan beyin dokuları %10'luk nötral formaldehid içerisinde 3 gün fikse edildi. Ardından parafin inklüzyonu gerçekleştirildi. Elde edilen bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler alınarak, hematoksilen-eozin (H&E) boyaması uygulandı. Elde edilen preparatlar üzerinde genel histolojik görünüm açısından tüm hipokampus ve hücresel değişiklikler açısından CA1 bölgesi değerlendirildi. Her bir sıçan hipokampusunda, CA1 bölgesinde belirgin nükleus ve nükleolusa sahip piramidal hücreler normal kabul edilirken, koyu boyanmış, büzüşmüş ya da dismorfik şekilli nöronlar hasarlı olarak değerlendirilmiştir.

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Verilerin sunulmasında tanımlayıcı istatistik kullanıldı. Morris Su Labirenti Testinde eğitim yüzdürmelerinden elde edilen verilerin analizinde gruplararası karşılaştırmalar için tekrarlanan ölçümler iki yönlü varyans analizi ve *post hoc* Bonferroni testi, retansiyon yüzdürmelerinden, Rotarod ve Bağlamsal Korku Koşullanma Testlerinden elde edilen verilerin karşılaştırılmasında ise tek yönlü varyans analizi ve *post hoc* Bonferroni testi kullanıldı. Analizler Graphpad Prism 6.0 for Mac OS X Machine ID:60B52B3D040 yazılımında gerçekleştirildi ve $p < 0,05$ anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Bu çalışma 2014-2015 yılları arasında Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Nörolojisi Bilim Dalı tarafından yürütülmüş olup, Farmakoloji Anabilim Dalı Davranış Laboratuvarında ve Histoloji ve Embiryoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında 20 kontrol ve 60 çalışma grubu olmak üzere 80 sıçan üzerinde gerçekleştirildi. Sıçanlar cinsiyetlerine ve uygulanan ilaçlara göre her grupta 10 sıçan olacak şekilde toplam 8 gruba ayrıldı. Sıçanların öğrenme, bellek, lokomotor aktivite ve denge fonksiyonları Morris Su Labirenti Testi, Rotarod Performans Testi ve Bağlamsal Korku Koşullanma Testi ile değerlendirildi. Testler uygulandıktan sonra sıçanlar sakrifiye edilerek beyin diseksiyonu yapıldı. Özellikle öğrenme ve bellekten sorumlu beyin yapısı olan hipokampüsteki histomorfolojik değişiklikler incelendi.

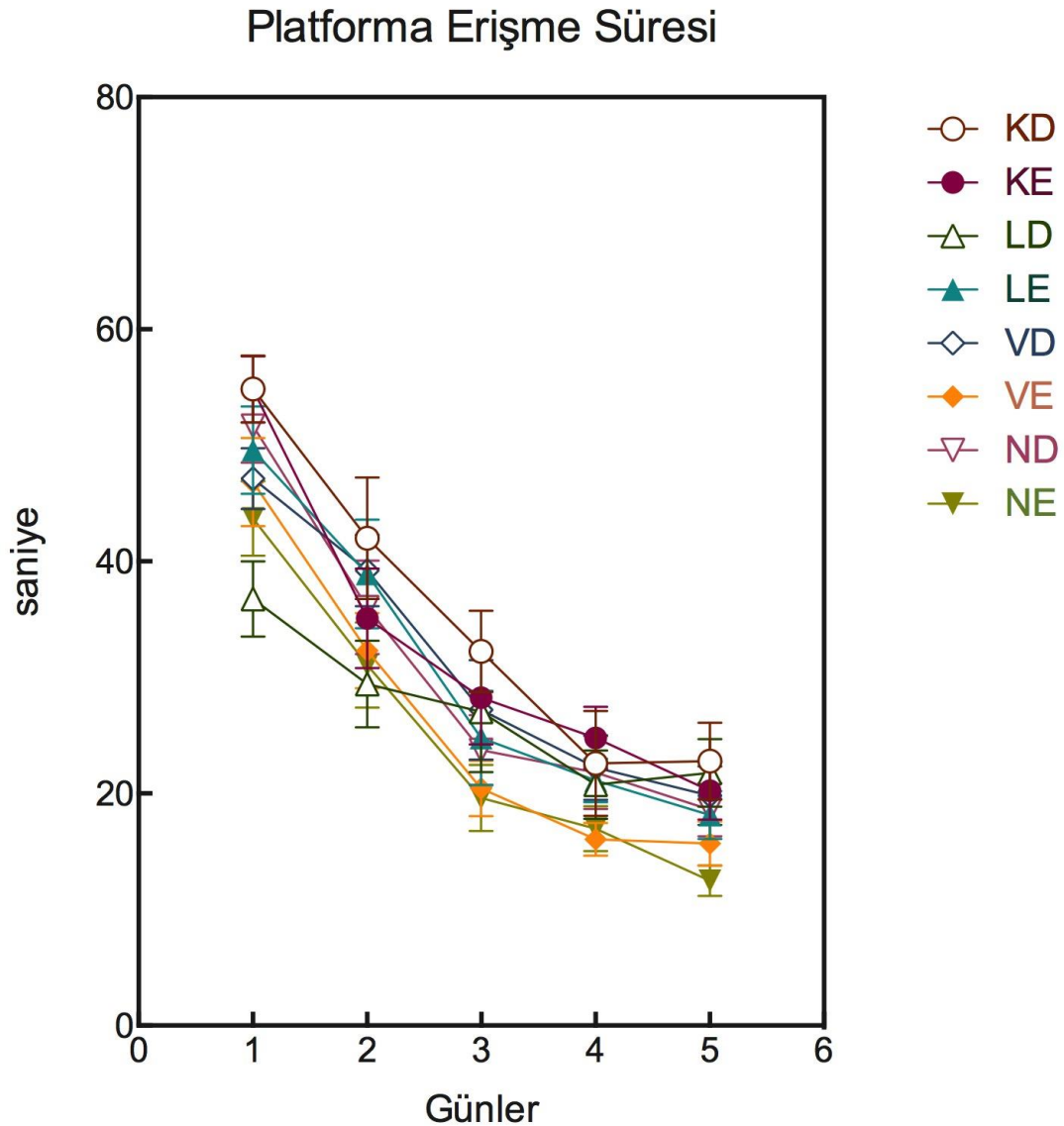
MORRİS SU LABİRENTİ TESTİ SONUÇLARI

Sıçanlara 5 gün süreyle her gün günde 4 defa eğitim yüzdürmeleri uygulandı. Bir gün içinde uygulanan 4 deneme ile elde edilen verilerin ortalamaları hesaplandı ve böylece veriler günlük bloklar haline dönüştürüldü. Beş gün süreyle yapılan bu eğitim amaçlı yüzdürme seanslarından elde edilen veriler grafik haline getirilerek öğrenme eğrileri elde edildi. 5 günlük eğitim döneminin ardından, 6. günde platform havuzdan çıkarılarak hayvanlar bir kez 60 saniye süreyle yüzdürüldüler (probe test, retansiyon testi). Bu testte elde edilen parametreler, sıçanların uzun süreli uzaysal bellek performanslarını göstermektedir. Çalışmamızda saptanan bulgular, önce ilk 5 günlük döneme ait veriler (öğrenme üzerine

etkiler, a-d) ve 6. gün yapılan bellek testine ait veriler (e-h) şeklinde 2 ana alt grupta sunulacaktır.

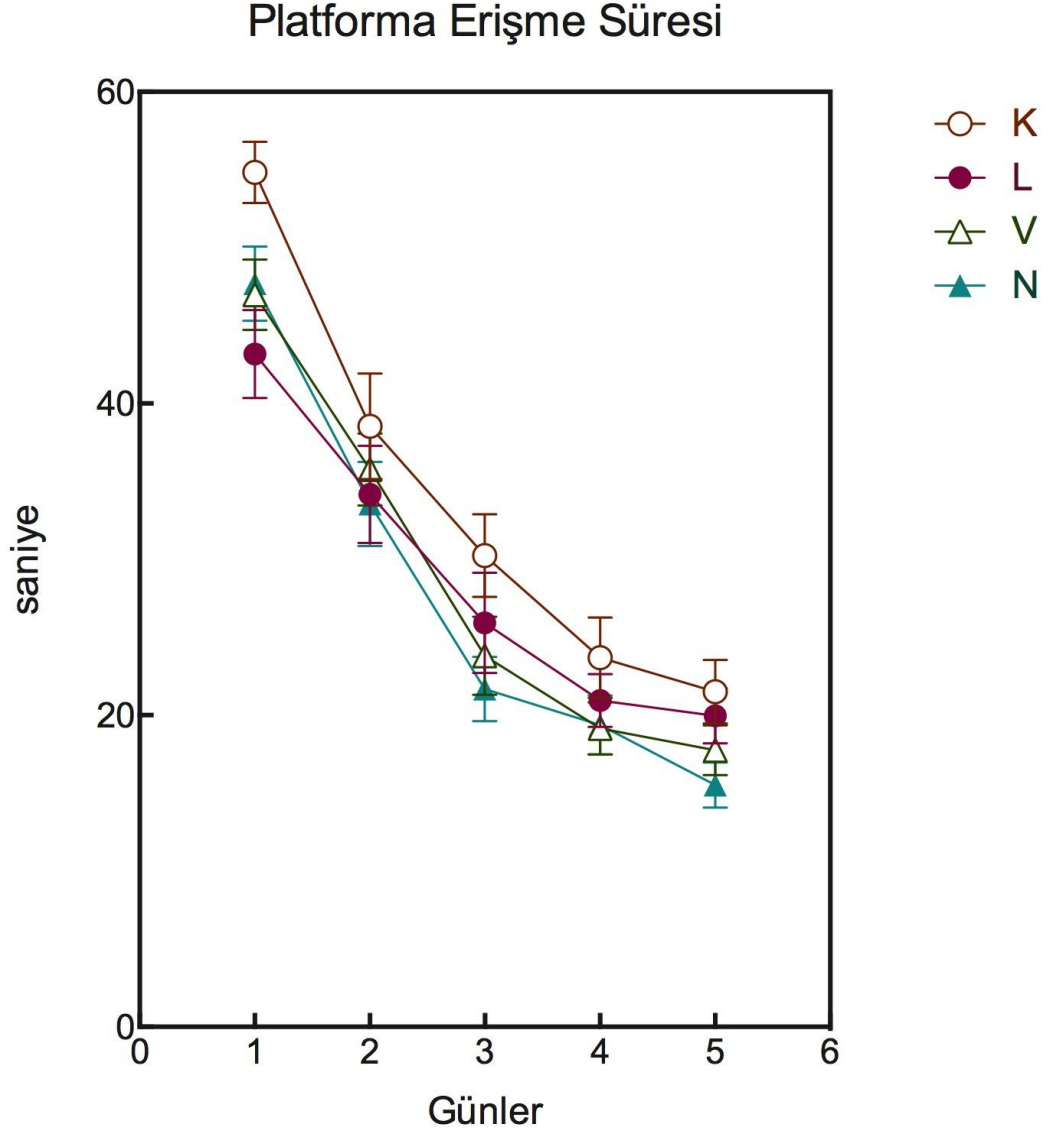
a) Platforma Erişme Süresi

Tüm gruplardaki sıçanlar 5 gün süre ile giderek daha kısa sürede platforma eriştiler (Şekil 15,16). Platforma erişme süreleri açısından kontrol grubu ve cinsiyetlere göre ayrılmış gruplar arasında anlamlı istatistiksel fark saptanmadı ($p>0,05$). Bu parametreye göre ilaçların sıçanların öğrenme fonksiyonları üzerine olumlu veya olumsuz etkisi saptanmamıştır.



Şekil 15. Günlük dört yüzdürme eğitiminin ortalaması olarak (blok) sıçanların ilaçlara ve cinsiyetlere göre platforma erişme süreleri (KD: Kontrol dişi, KE: Kontrol erkek LD: Levetirasetam dişi LE: Levetirasetam erkek, VD: Vigabatrin dişi, VE: Vigabatrin erkek, ND: Sodyum valproat dişi,

NE: Sodyum valproat erkek)

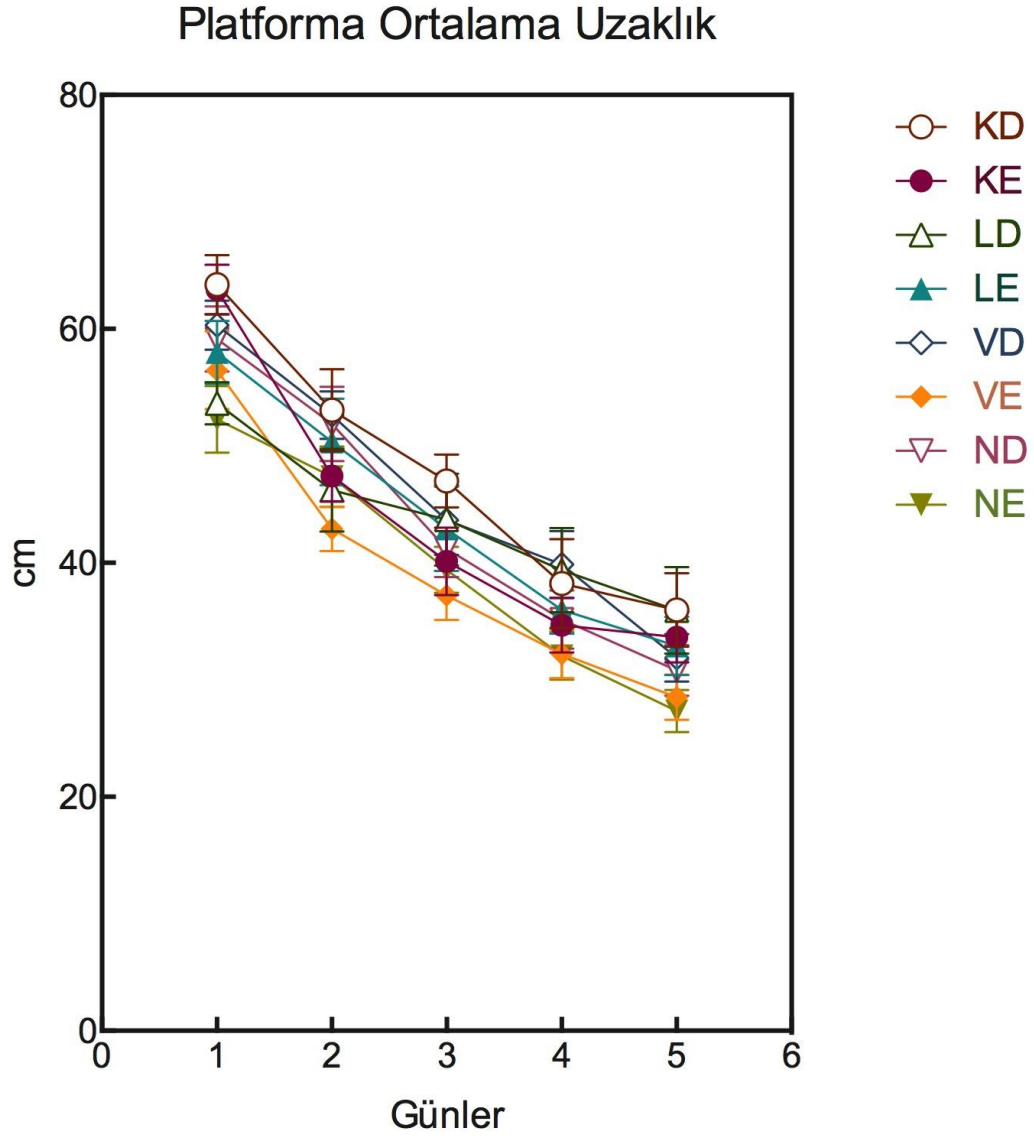


Şekil 16. Günlük dört yüzdürme eğitiminin ortalaması olarak (blok) sıçanların ilaçlara göre platforma erişme süreleri (K: Kontrol, L: Levetirasetam, V: Vigabatrin, N: Sodyum valproat)

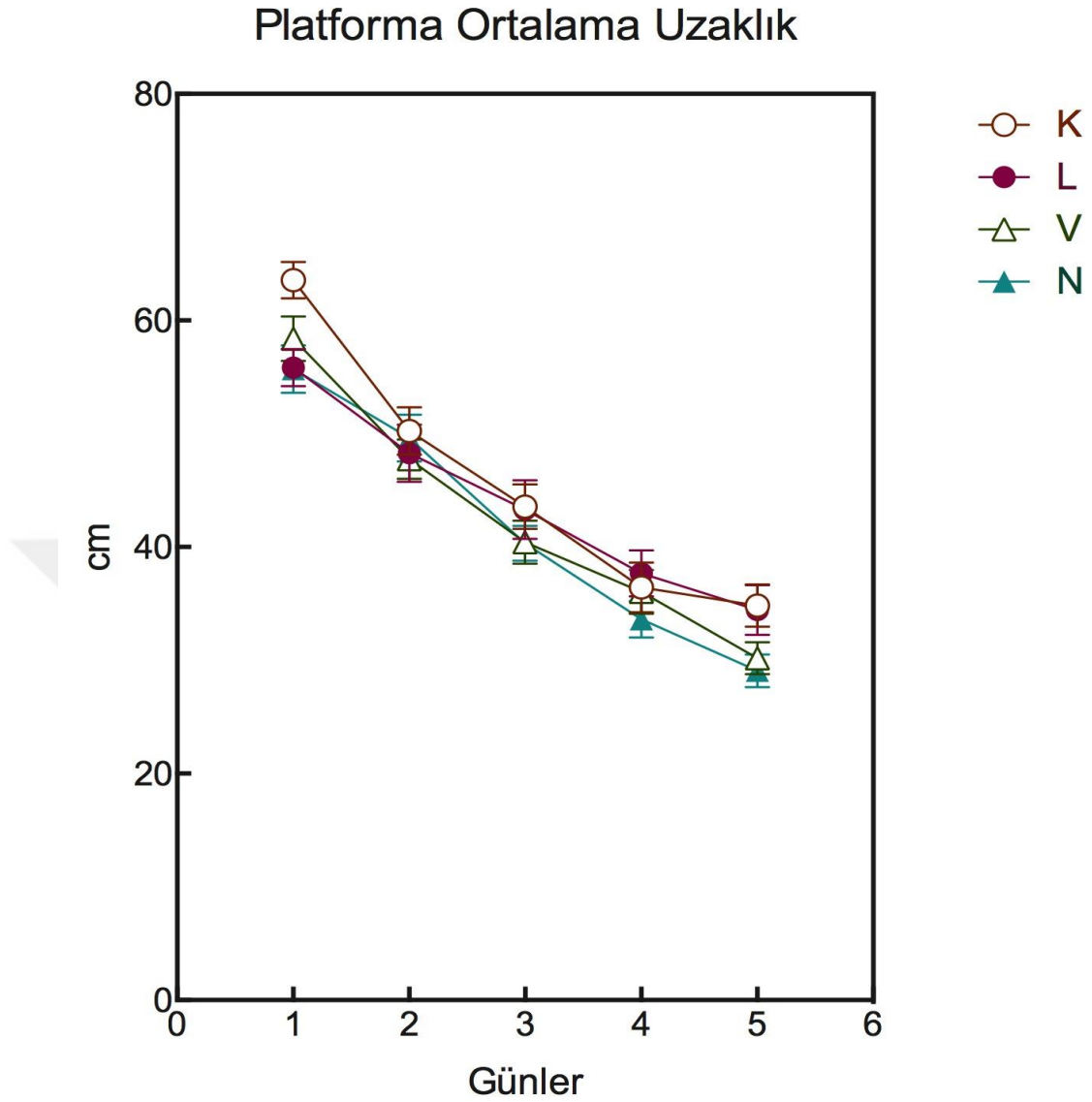
b) Platforma Ortalama Uzaklık

İlaçların, sıçanların öğrenme fonksiyonu üzerine etkisi amaçlı değerlendirilen sıçanların platforma olan ortalama uzaklıkları, eğitimleri süresince giderek azalma gösterdi (Şekil 17, 18). Sodyum valproat, levetirasetam ve vigabatrin alan sıçanların cinsiyetlerine göre ve kontrol grubuna göre bu parametre yönünden performansları arasında istatistiksel

anlamlı bir fark görülmedi ($p>0,05$). Bu parametre ile ilaçların sıçanların öğrenme fonksiyonları üzerine olumlu veya olumsuz etkisi saptanmadı.



Şekil 17. Günlük dört yüzdürme eğitiminin ortalaması (blok) olarak sıçanların ilaçlara ve cinsiyete göre platforma ortalama uzaklıkları (KD: Kontrol dişi, KE: Kontrol erkek LD: Levetirasetam dişi LE: Levetirasetam erkek, VD: Vigabatrin dişi, VE: Vigabatrin erkek, ND: Sodyum valproat dişi, NE: Sodyum valproat erkek)



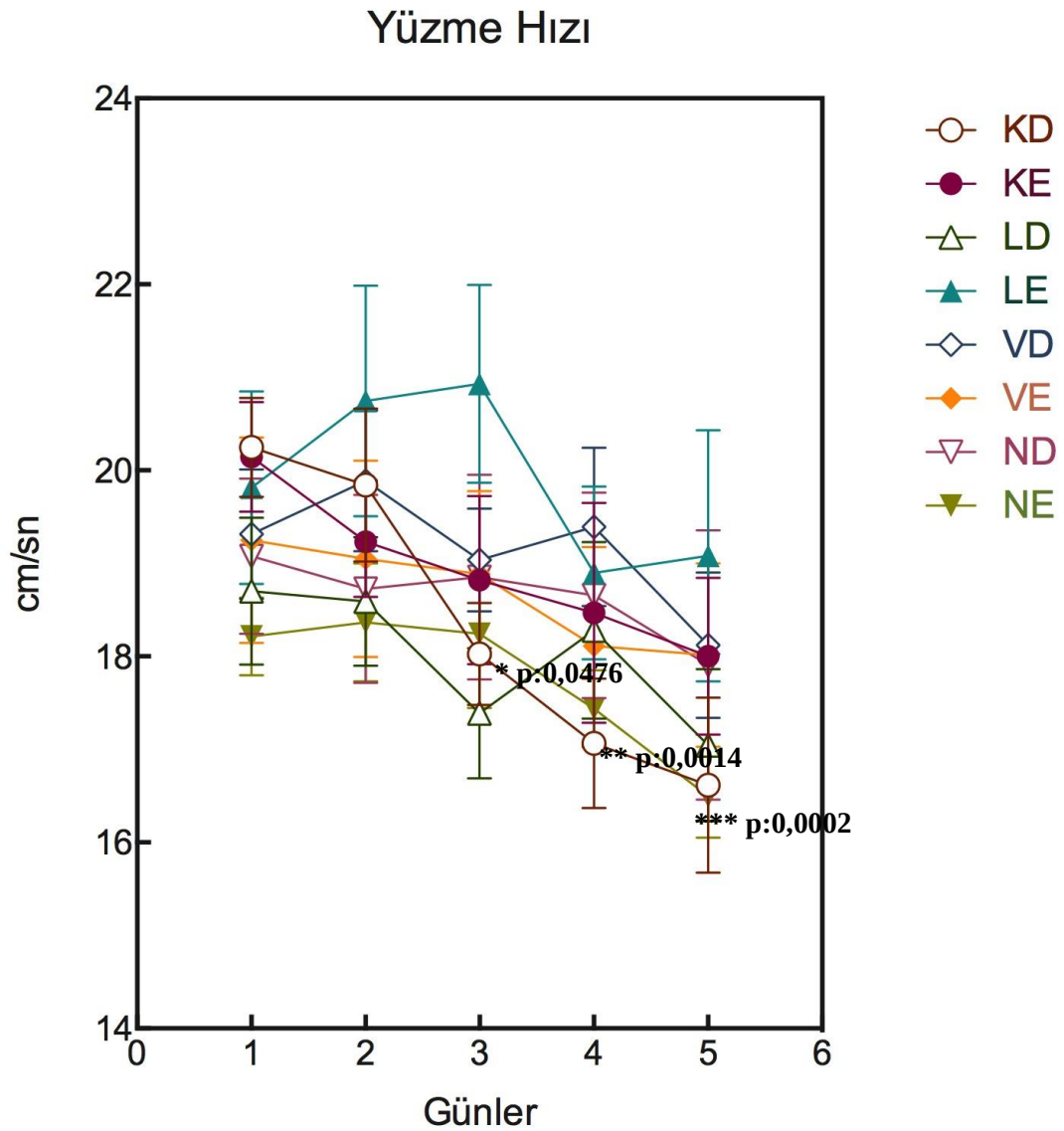
Şekil 18. Günlük dört yüzdürme eğitiminin ortalaması (blok) olarak sıçanların ilaçlara göre platforma ortalama uzaklıkları (K: Kontrol, L: Levetirasetam, V: Vigabatrin, N: Sodyum valproat)

c) Yüzme Hızı

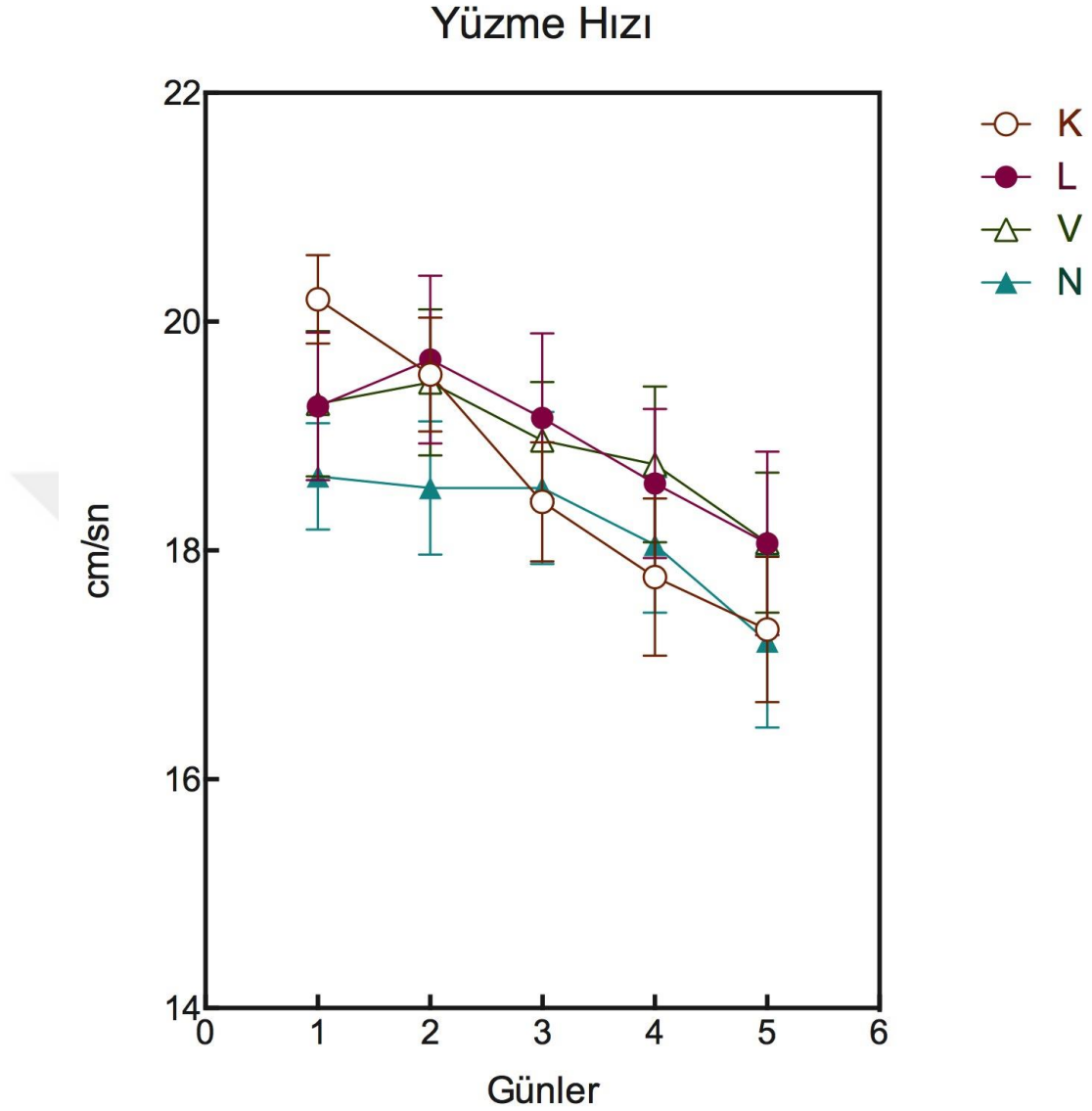
Sıçanların testler sırasında kaydedilen yüzme hızları gruplar arasında belirgin bir etki farkını düşündürecek bir seyir göstermemektedir (Şekil 19, 20). Bazı zaman noktalarında gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılıklar gözlenmekle birlikte, bunlar belirli bir gruptaki spesifik bir etkiyi düşündürecek farklılıklar değildi. Farklılık gösteren zaman noktaları ve gruplar şunlardı; Kontrol dişi sıçanların yüzme hızları ikinci günden itibaren giderek azaldı. Bu azalma istatistiksel yönden anlamlı idi (1. güne karşı 3. gün $p:0,0476$, 4.

gün p:0,0014, ve 5. gün p:0,0002). Diğer gruplarda buna benzer bir azalma gözlenmedi.

Her ne kadar dişi kontrol grubunun yüzme hızlarında 3, 4 ve 5. günlerde istatistiksel anlamlı bir azalma görülse de, bu azalma hayvanların havuzda gösterdikleri performansı belirgin bir şekilde etkileyecek düzeyde değildi. Bellek testlerinde elde edilen sonuçlar bu durumu ortaya koymaktaydı.



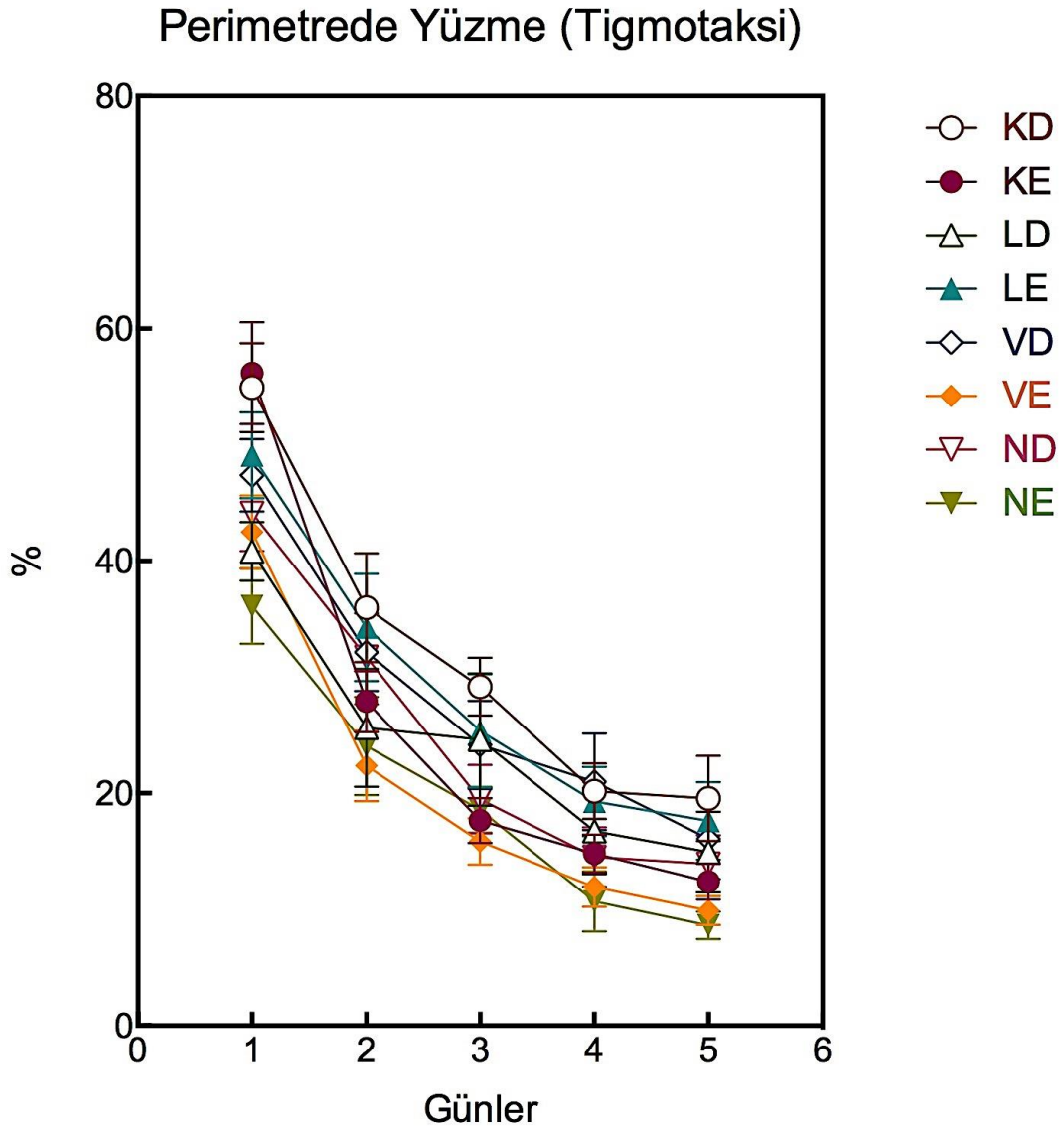
Şekil 19. Günlük dört yüzdürme eğitiminin ortalaması (blok) olarak sıçanların ilaçlara ve cinsiyete göre yüzme hızları (KD: Kontrol dişi, KE: Kontrol erkek LD: Levetirasetam dişi LE: Levetirasetam erkek, VD: Vigabatrin dişi, VE: Vigabatrin erkek, ND: Sodyum valproat dişi, NE: Sodyum valproat erkek)



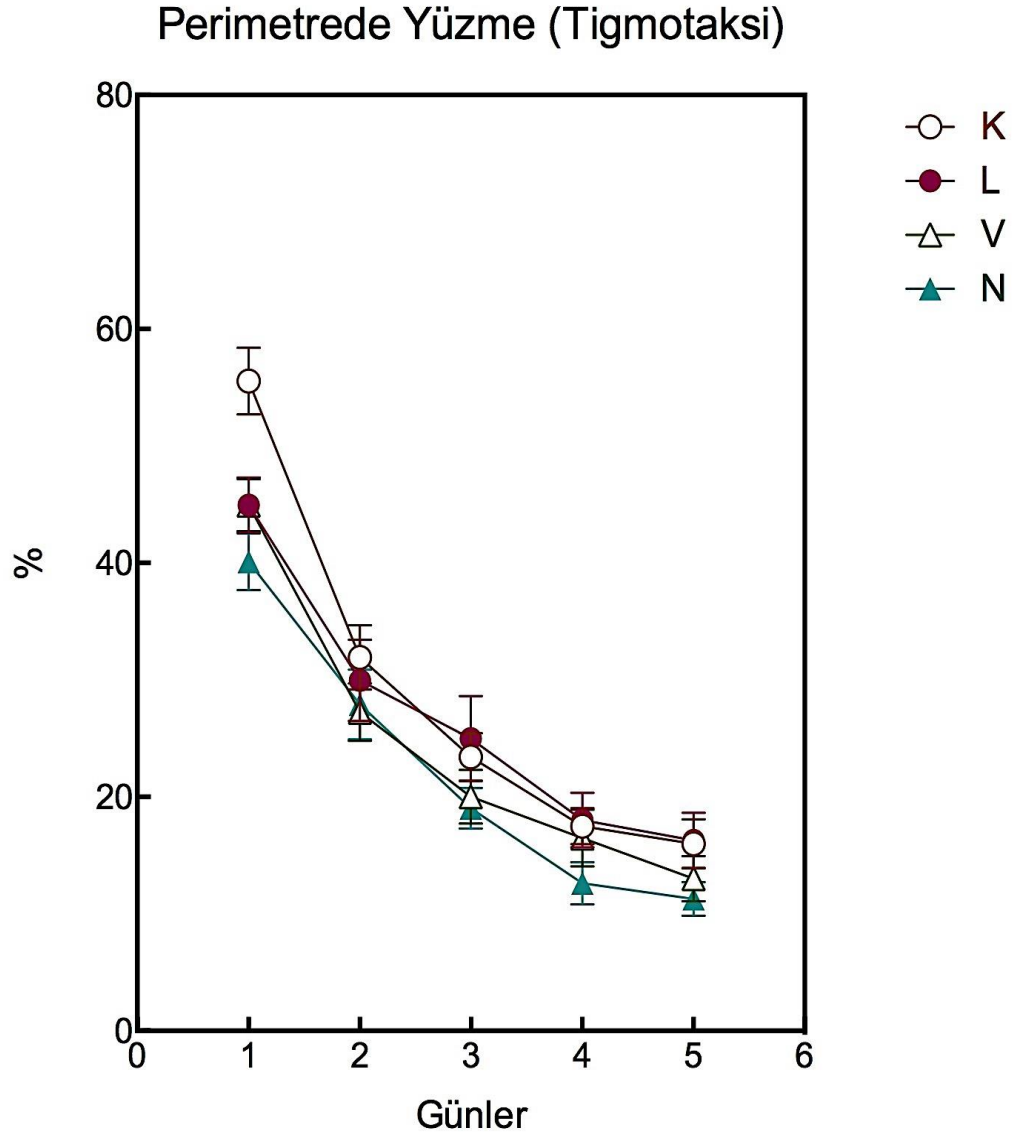
Şekil 20. Günlük dört yüzdürme eğitiminin ortalaması (blok) olarak sıçanların ilaçlara göre yüzme hızları (K: Kontrol, L: Levetirasetam, V: Vigabatrin, N: Sodyum valproat)

d) Perimetrede Yüzme (Tigmotaksi)

Sıçanlarda bir tigmotaksi parametresi olarak ölçülen duvara 10 cm uzaklıktaki alanda yüzülen sürenin toplam yüzme süresi içindeki yüzdesi, tüm gruplarda 5 gün süre ile giderek azaldı (Şekil 21, 22). Bu parametre yönünden grupların öğrenme performansları arasında istatistiksel yönden anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$).



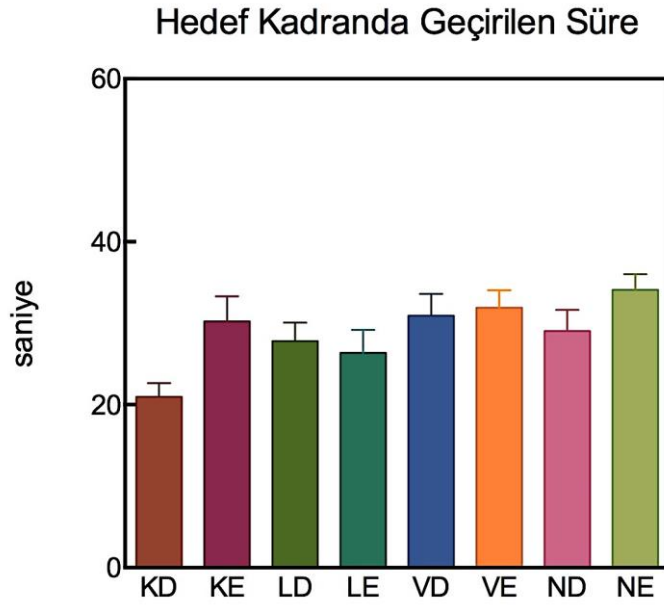
Şekil 21. Günlük dört yüzdürme eğitiminin ortalaması (blok) olarak sıçanların duvara 10 cm uzaklıktaki alanda ilaçlara ve cinsiyete göre yüzdükleri sürenin yüzdesi (KD: Kontrol dişi, KE: Kontrol erkek LD: Levetirasetam dişi LE: Levetirasetam erkek, VD: Vigabatrin dişi, VE: Vigabatrin erkek, ND: Sodyum valproat dişi, NE: Sodyum valproat erkek)



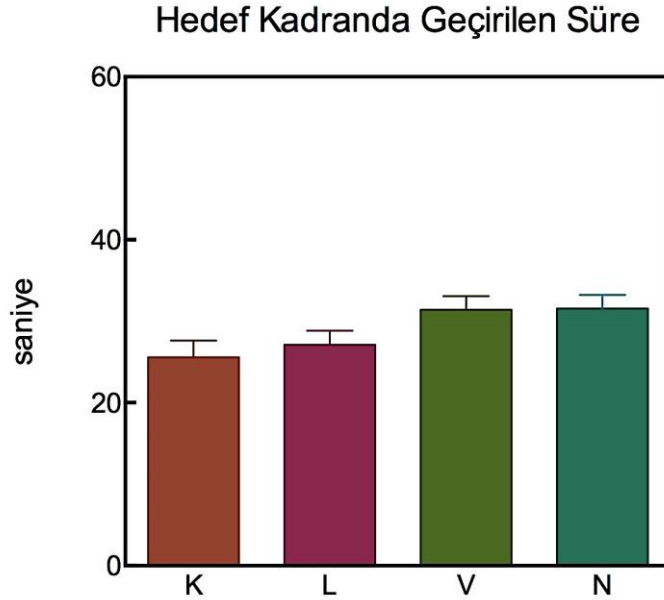
Şekil 22. Günlük dört yüzdürme eğitiminin ortalaması olarak sıçanların duvara 10 cm uzaklıktaki alanda ilaçlara göre yüzdükleri sürenin yüzdesi (K: Kontrol, L: Levetirasetam, V: Vigabatrin, N: Sodyum valproat)

e) Hedef Kadrandaki Geçirilen Süre

Retansiyon testinde (6. gün probe test) sıçanların platformun olması gerektiği kadranda yüzdükleri süre gruplar arasında istatistiksel yönden anlamlı derecede farklı değildi ($p>0,05$) (Şekil 23, 24). Bu parametreye göre kullanılan ilaçlar sıçanların uzun dönemde bellek fonksiyonunlarını bozmamaktadır.



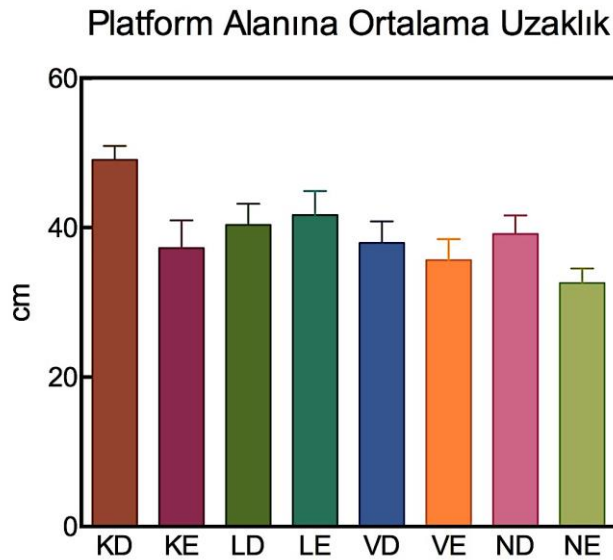
Şekil 23. Retansiyon testinde (6. gün) sıçanların ilaçlara ve cinsiyete göre hedef kadranda geçirdikleri süre (KD: Kontrol dişi, KE: Kontrol erkek LD: Levetirasetam dişi LE: Levetirasetam erkek, VD: Vigabatrin dişi, VE: Vigabatrin erkek, ND: Sodyum valproat dişi, NE: Sodyum valproat erkek)



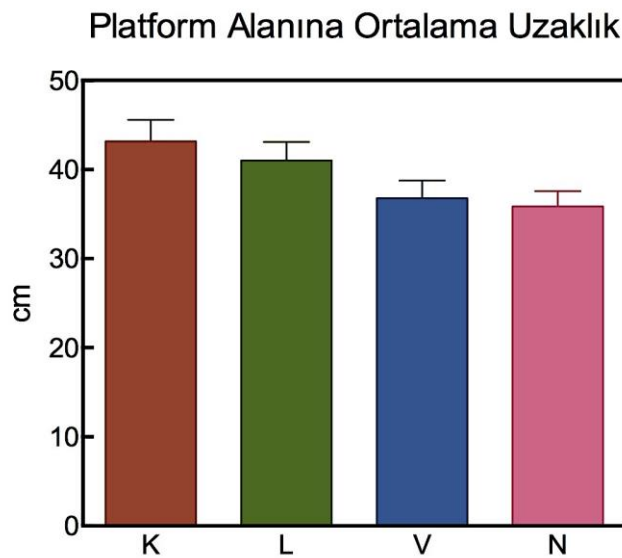
Şekil 24. Retansiyon testinde (6. gün) sıçanların ilaçlara göre hedef kadranda geçirdikleri süre (K: Kontrol, L: Levetirasetam, V: Vigabatrin, N: Sodyum valproat)

f) Platform Alanına Ortalama Uzaklık

Retansiyon testinde (6. gün) sıçanların platformun olması gerektiği alana ortalama uzaklıkları gruplar arasında istatistiksel yönden anlamlı derecede farklı değildi ($p>0,05$) (Şekil 25, 26). Bu parametreye göre kullanılan ilaçlar sıçanların uzun dönemde bellek fonksiyonunlarını bozmamaktadır.



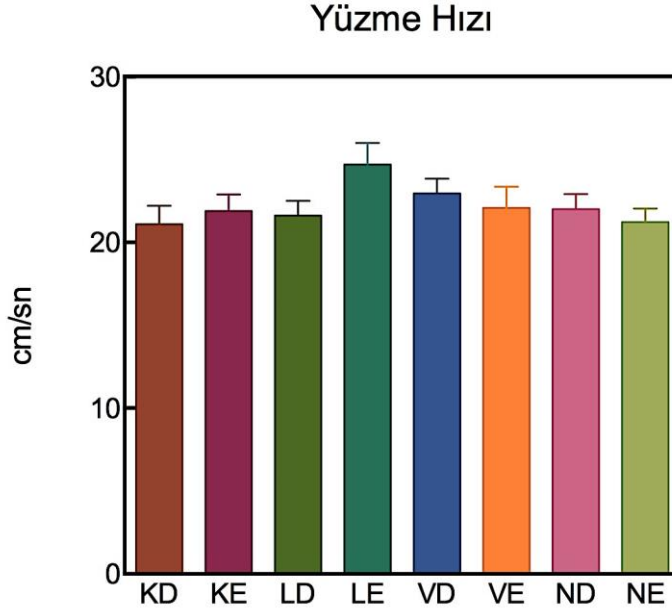
Şekil 25. Retansiyon testinde (6. gün) sıçanların ilaçlara ve cinsiyete göre platform alanına ortalama uzaklıkları (KD: Kontrol dişi, KE: Kontrol erkek LD: Levetirasetam dişi LE: Levetirasetam erkek, VD: Vigabatrin dişi, VE: Vigabatrin erkek, ND: Sodyum valproat dişi, NE: Sodyum valproat erkek)



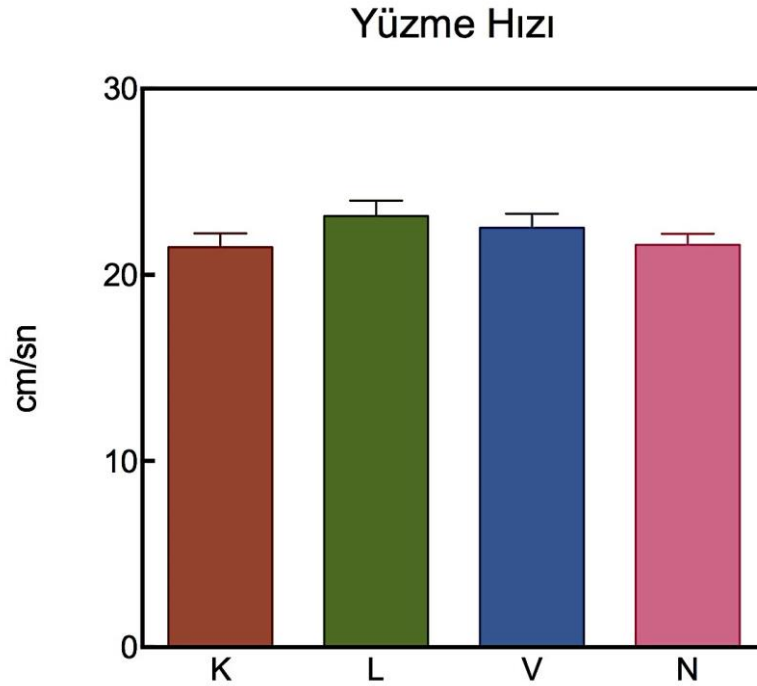
Şekil 26. Retansiyon testinde (6. gün) sıçanların ilaçlara göre platform alanına ortalama uzaklıkları (K: Kontrol, L: Levetirasetam, V: Vigabatrin, N: Sodyum valproat)

g) Retansiyon Testinde Sıçanların Yüzme Hızı

Sıçanların retansiyon testi (6. gün) sırasında kaydedilen yüzme hızları gruplar arasında istatistiksel derecede anlamlı farklılık göstermemektedir ($p>0,05$) (Şekil 27, 28).



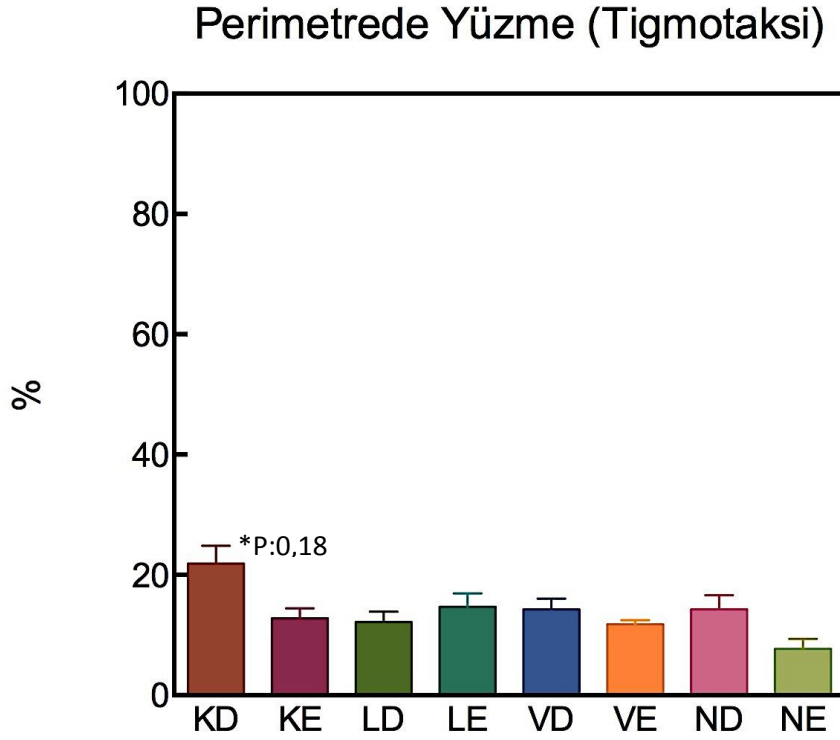
Şekil 27. Retansiyon testinde (6. gün) sıçanların ilaçlara ve cinsiyete göre yüzme hızları (KD: Kontrol dişi, KE: Kontrol erkek LD: Levetirasetam dişi LE: Levetirasetam erkek, VD: Vigabatrin dişi, VE: Vigabatrin erkek, ND: Sodyum valproat dişi, NE: Sodyum valproat erkek)



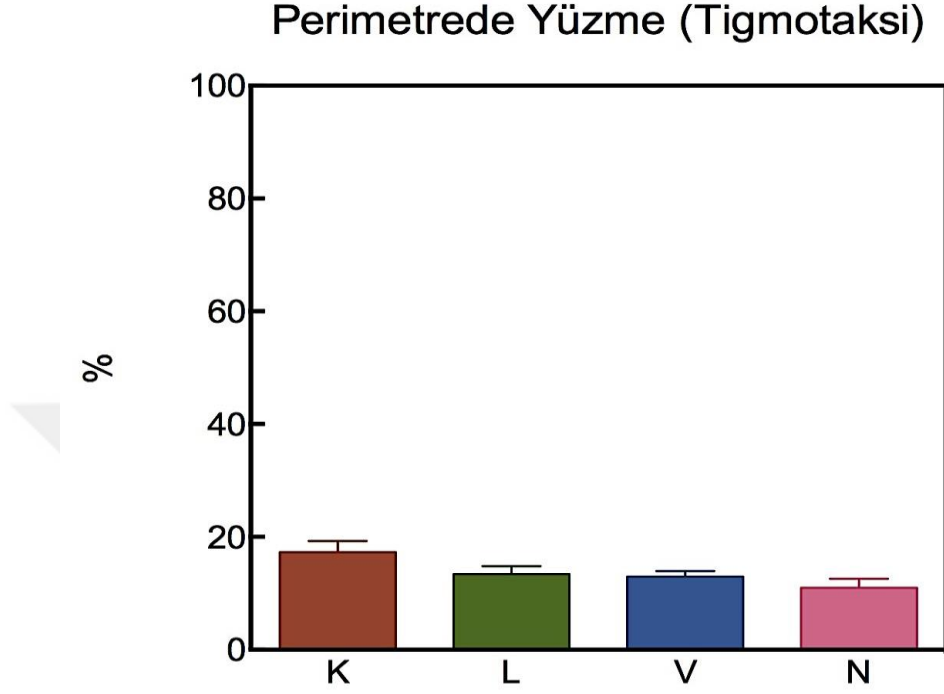
Şekil 28. Retansiyon testinde (6. gün) sıçanların ilaçlara göre yüzme hızları (K: Kontrol, L: Levetirasetam, V: Vigabatrin, N: Sodyum valproat)

h) Retansiyon Testinde Perimetrede Yüzme (Tigmotaksi)

Sıçanların retansiyon testinde tigmotaksi parametresi olarak duvara 10 cm mesafede yüzdükleri sürelerin yüzdeleri kontrol dişi grubunda kontrol erkek grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha fazlaydı ($p:0,018$). Öğrenme testlerinde tigmotaksi açısından anlamlı fark saptanmaması ve bu etkinin kontrol dişi grubunda görülmesi ve diğer bellek parametrelerinde gruplar arasında fark olmaması bazı hormonal etkilere bağlı olabileceğini düşündürmüştür. Kontrol dişi grubu ilaç alan dişi grubu ile karşılaştırıldığında daha fazla tigmotaksi yapmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$). Genel gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gözlemlenmedi ($p>0,05$) (Şekil 29, 30).



Şekil 29. Retansiyon testinde (6. gün) sıçanların ilaçlara ve cinsiyete göre duvara 10 cm uzaklıktaki alanda yüzdükleri sürenin yüzdesi (KD: Kontrol dişi, KE: Kontrol erkek LD: Levetirasetam dişi LE: Levetirasetam erkek, VD: Vigabatrin dişi, VE: Vigabatrin erkek, ND: Sodyum valproat dişi, NE: Sodyum valproat erkek)

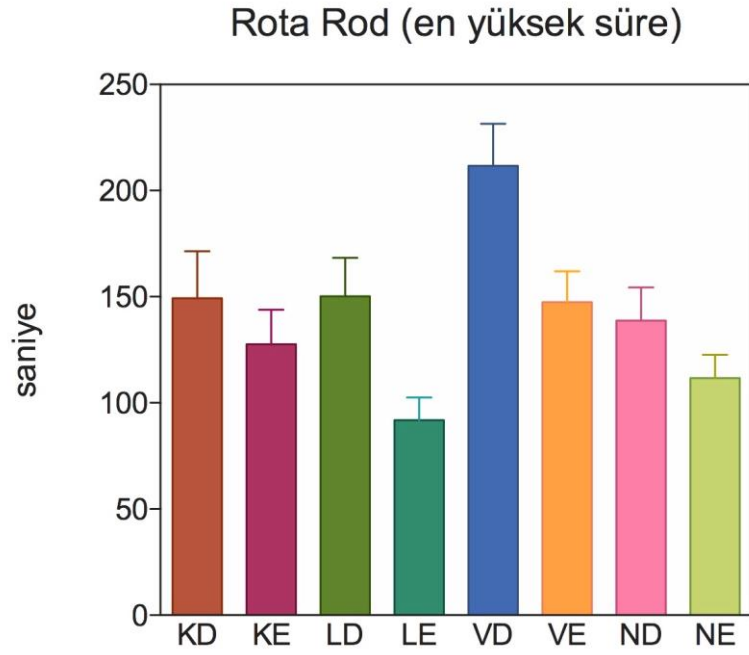


Şekil 30. Retansiyon testinde (6. gün) sıçanların ilaçlara göre duvara 10 cm uzaklıktaki alanda yüzdükleri sürenin yüzdesi (K: Kontrol, L: Levetirasetam, V: Vigabatrın, N: Sodyum valproat)

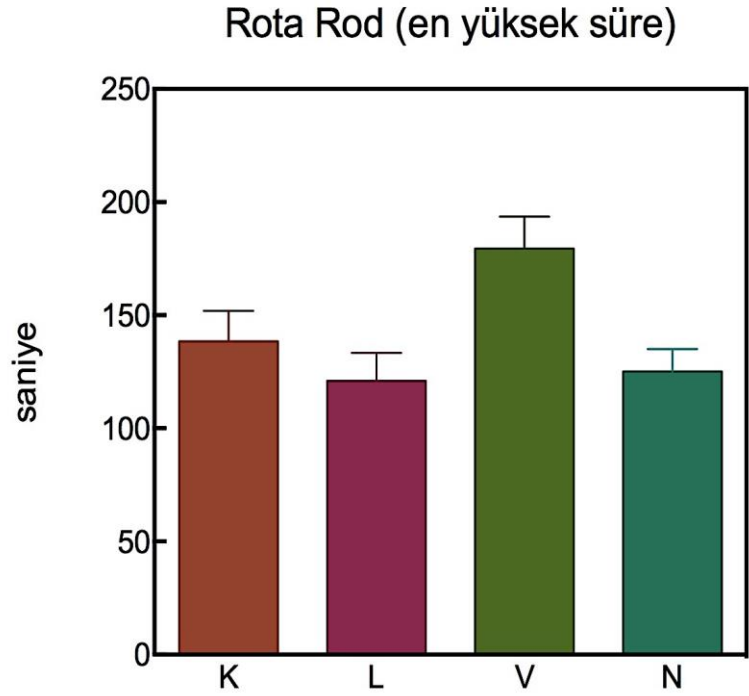
ROTAROD PERFORMENS TESTİ SONUÇLARI

Denge ve lokomotor aktivitenin değerlendirildiği Rotarod Performans Testinde sıçanlar toplamda 3 defa, dönen millerin üzerine alınarak mil üzerinde dengede kalarak yürüyebildikleri süreler kayıt altına alındı. Bu şekilde hayvanın mil üzerinde en uzun durabilme süresi belirlenerek, performans değeri olarak kaydedildi.

Dengede yürüyebildikleri süre vigabatrın dişi ve vigabatrın genel grubunda diğer gruplara göre daha uzundu. Vigabatrın dişi grubu kontrol dişi grubuna ve vigabatrın erkek grubuna göre uzun olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı düzeyde değildi ($p>0,05$) (Şekil 31). Genel ilaç gruplarında vigabatrın grubu daha uzun süre dengede kalmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$) (Şekil 32).



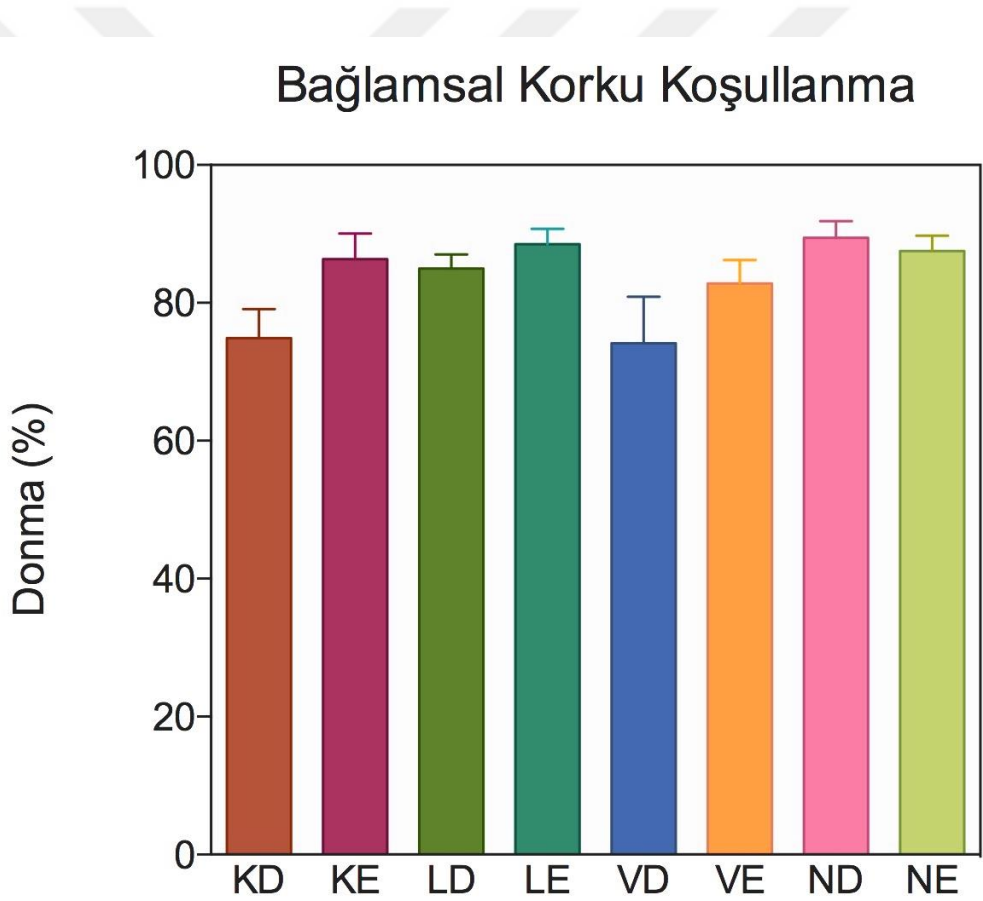
Şekil 31. Sıçanların ilaçlara ve cinsiyete göre dengede yürüyebildikleri en uzun süreler (KD: Kontrol dişi, KE: Kontrol erkek LD: Levetirasetam dişi LE: Levetirasetam erkek, VD: Vigabatrin dişi, VE: Vigabatrin erkek, ND: Sodyum valproat dişi, NE: Sodyum valproat erkek)



Şekil 32. Sıçanların ilaçlara göre dengede yürüyebildikleri en uzun süreler (K: Kontrol, L: Levetirasetam, V: Vigabatrin, N: Sodyum valproat)

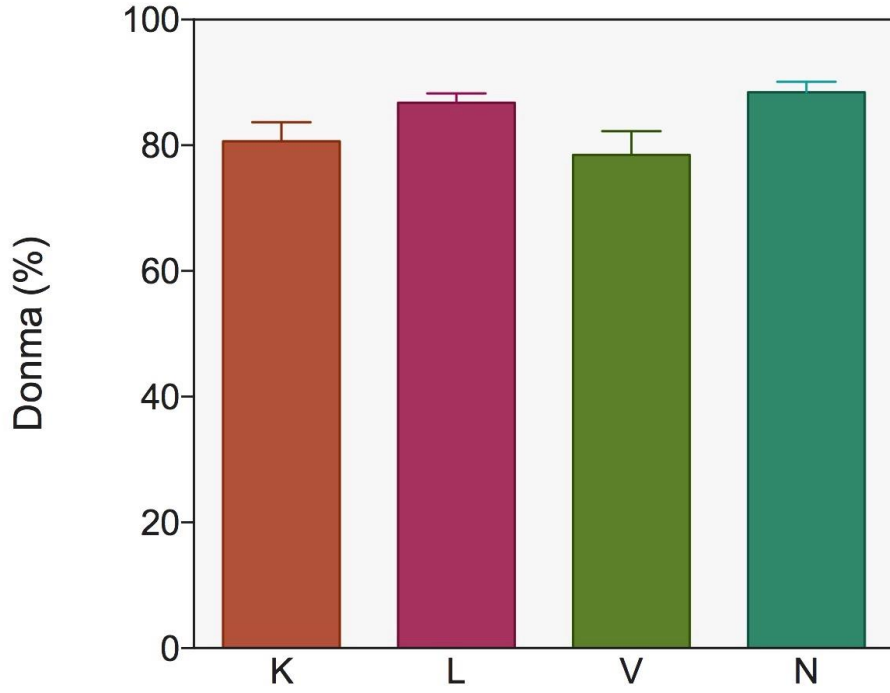
BAĞLAMSAK KORKU KOŞULLANMA TESTİ SONUÇLARI

Sıçanlarda korku bazlı bellek değerdendirmesi için yapılan Bağlamsal Korku Koşullanma Testinde, birinci gün hayvanlar sırayla duvarlarında görsel objelerin de yer aldığı düzeneğe alınarak gözlemlendi. Gözlem sırasında 2., 4. ve 6. dakikalarında 0,5 mA (1 sn) elektrik şoku verildi. 7. dakikasını dolduran hayvan düzenekten çıkarılarak tekrar kafesine yerleştirildi. İkinci gününde ise hayvan duvarlarda aynı objelerin olduğu kafes ve düzeneğe tekrar yerleştirildi. 5 dakika boyunca şok uygulanmadan hayvanların donma davranışı sürelerinin yüzdesi kayıt altına alındı. Deney sonucunda gruplar arasında donma yüzdeleri açısından istatistiksel anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$) (Şekil 33, 34).



Şekil 33. Sıçanların ilaçlara ve cinsiyete göre donma davranışı yüzdeleri (KD: Kontrol dişi, KE: Kontrol erkek LD: Levetirasetam dişi LE: Levetirasetam erkek, VD: Vigabatrin dişi, VE: Vigabatrin erkek, ND: Sodyum valproat dişi, NE: Sodyum valproat erkek)

Bağlamsal Korku Koşullanma

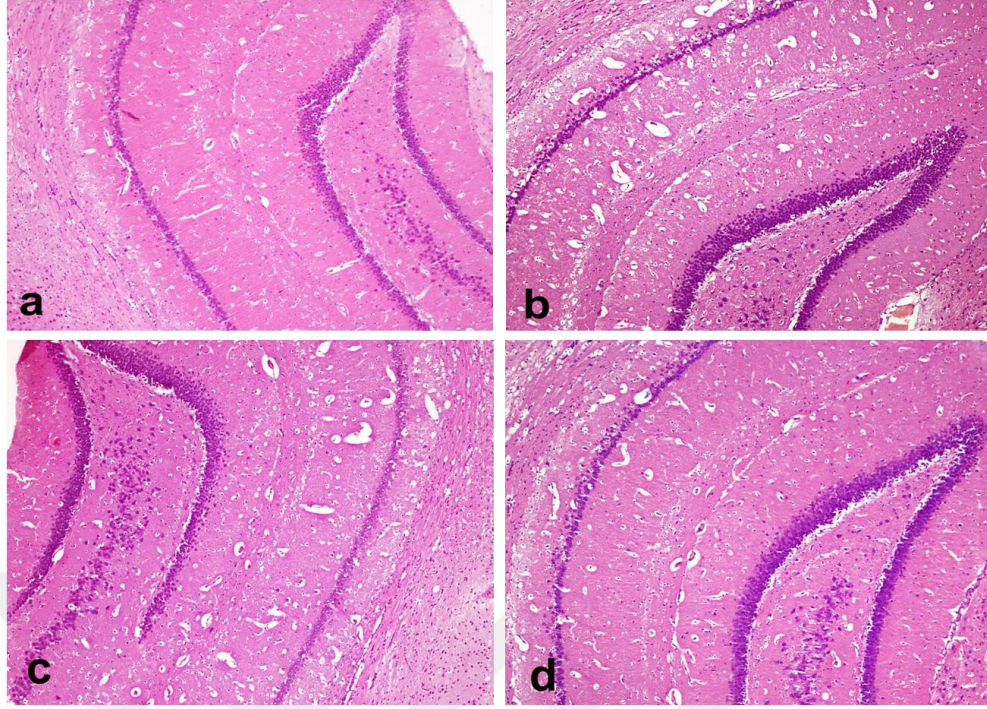


Şekil 34. Sıçanların ilaçlara göre donma davranışı yüzdeleri (K: Kontrol, L: Levetirasetam, V: Vigabatrin, N: Sodyum valproat)

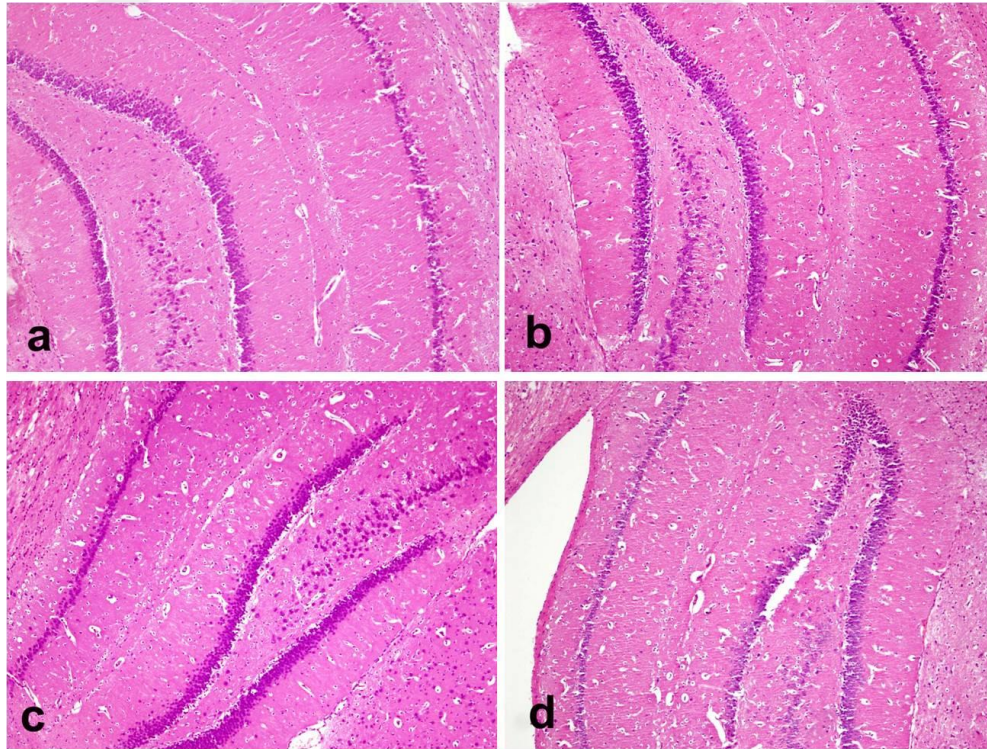
HİPOKAMPÜSÜN HİSTOMORFOLOJİK İNCELEMESİ

Değerlendirmeler Hematoksilen+Eozin ile boyanmış koronal kesitler üzerinde, ışık mikroskopunda farklı büyütme ölçekleri kullanılarak yapılmıştır. Genel görünüm ve hücresel organizasyon açısından bakıldığında hipokampusun CA1, CA2, ve CA3 bölümleri ve dentat gyrus kısmında gerek kontrol ve uygulama grupları arasında gerekse dişi ve erkek denekler arasında morfolojik herhangi bir fark gözlenmemiştir (Şekil 35, 36).

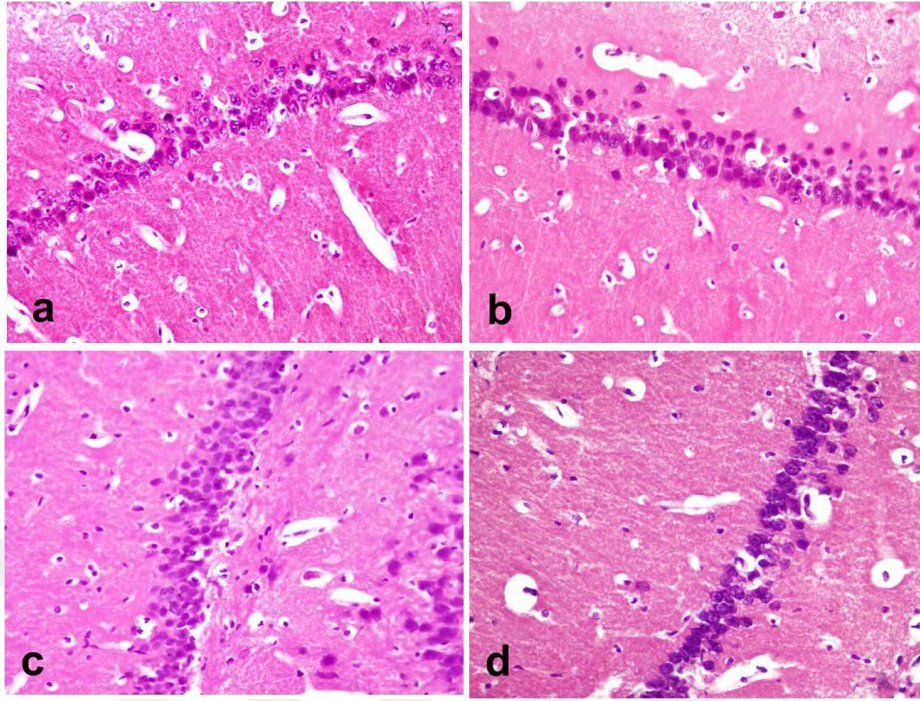
CA1 bölgeleri büyük büyütme ölçekleri ile incelendiğinde (400x) dişi ve erkek kontrol gruplarına ait kesitlerde birbirine yakın yerleşimli nöronların normal hücre morfolojisi sergilediği izlenmiştir. Dişi ve erkek gruplarda, kontrol grupları uygulama grupları ile kıyaslandığında, levetirasetam, sodyum valproat ve vigabatrin ilaçlarına uzun dönem maruziyetin nöron ve diğer hücrelerde, belirgin eozinofili, mononükleer hücre infiltrasyonu, eozinofilik granüller, yaygın şekilde saptanmış makrofaj topluluğu, ödem, hücre membranında bozulma, nükleusta degradasyon veya kondansasyon gibi hücre toksisitesine veya ölümüne işaret edebilecek histopatolojik bulgular oluşturmadığı ortaya konulmuştur (Şekil 37, 38).



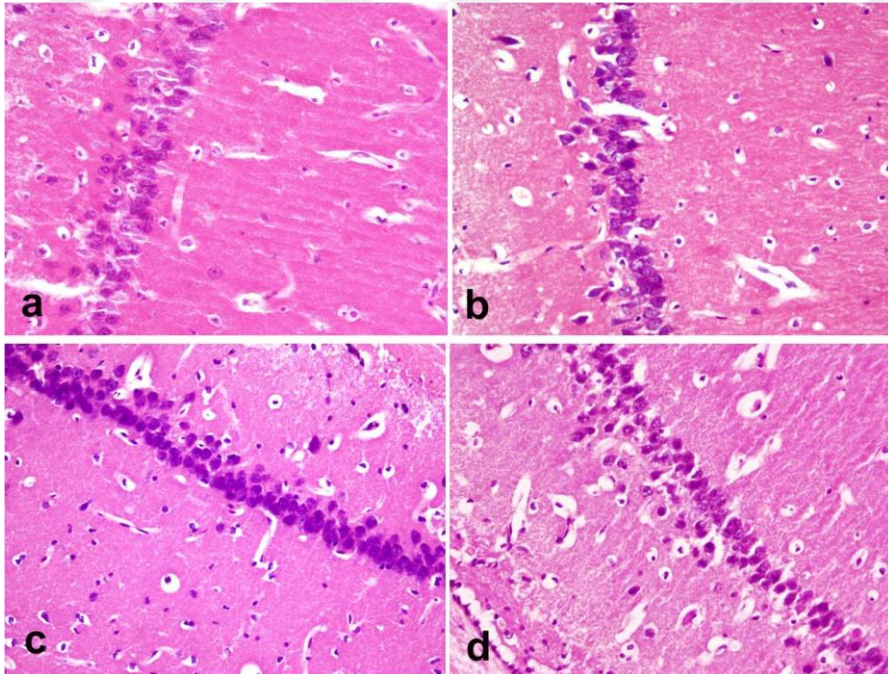
Şekil 35. Dişi kontrol (a), Levetirasetam (b), Sodyum valproat (c) ve Vigabatrın (d) gruplarına ait hipokampüs mikrofotografaları. H+E, 100x.



Şekil 36. Erkek kontrol (a), Levetirasetam (b), Sodyum valproat (c) ve Vigabatrın (d) gruplarına ait hipokampüs mikrofotografaları. H+E, 100x.



Şekil 37. Dişi kontrol (a), Levetirasetam (b), Sodyum valproat (c) ve Vigabatrin (d) gruplarına ait CA1 bölgelerinde histomorfolojik değişiklikler gözlemlenmemiştir. H+E, 400x.



Şekil 38. Erkek kontrol (a), Levetirasetam (b), Sodyum valproat (c) ve Vigabatrin (d) gruplarına ait CA1 bölgelerinde histomorfolojik değişiklikler gözlemlenmemiştir. H+E, 400x.

Çalışmaya dahil edilen olguların verileri Ek 3'te verilmiştir.

TARTIşMA

Epilepsi, beynin nöbet oluşturmaya yatkınlığı ile karakterize olan hastalığıdır ve bu durum nörobiyolojik, bilişsel, psikolojik ve sosyal sonuçlara neden olabilir (12). Çocukluk ve ergenlik döneminde nörolojik hastalıklar içerisinde en sık karşılaşılan ve kronikleşen hastalıktır (1, 90). Çocukluk ağında antiepileptik tedavi alan çocuklar, sürekli bir büyüme ve gelişme dnemindedirler. Bu nedenle ilaçların bilişsel fonksiyonlara etkileri bu yaş grubunda daha önemlidir. Epilepsi tedavisinde kullanılan ilaçlar, bir yandan nöbet kontrolü sağlarken diğer yandan bilişsel fonksiyonlar üzerine olumsuz etkiler de oluşturabilir (90). Çocukluk ağında epilepsi tanısı almış hastalarda bilişsel fonksiyonların, santral sinir sistemini tutmayan diğer kronik hastalıkları olan çocuklarla karşılaştırıldığında hem epilepsinin kendisinden kaynaklanan hem de epilepside kullanılan ilaçlara bağlı olarak daha geri olduğu gözlemlenmiştir (90,91). Epilepsili hastalarda bilişsel fonksiyonların etkilenmesi birçok etkene bağlı olabilir. Bunlar; nöbetin başlangıç yaşı, etiyoloji, nöbet tipi, epileptik nöbetlerin sıklığı, şiddeti ve süresi, interiktal EEG bulguları, seçilen ilaç tedavisi, çevresel, genetik ve psikososyal faktörler olarak sayılabilir (77).

Antiepileptik ilaçlara bağlı olarak santral sinir sistemi etkilenmesi yanında, gastrointestinal sistem, hepatobiliyer sistem, retiküloendotelial sistem ve kemik iliği, deri ve kutanöz dokularda istenmeyen etkiler görülebilmektedir. Ayrıca motor hareket bozuklukları, uyku bozukluğu, duygu durum ve ruh hali değişikliği gibi birçok yan etki de bildirilmiştir (32).

Günümüzde ocukluk çağında antiepileptik tedavi özellikle dirençli nöbetleri olan hastalarda politerapi olarak ve uzun süre verilmektedir. Bu durum ilaçlara bağlı yan etkiler konusunda daha çok sorun yaşanmasına neden olmaktadır.

Epilepsi tanımlı çocuklarda uzun dönemde bozulan bilişsel fonksiyonların kullanılan antiepileptik ilaçların yan etkisine mi bağılı olduğı veya hastalığın kendisine mi bağılı olduğı tam olarak aydınlatılamamıştır. Bunun nedenleri arasında; hastaların farklı epilepsi etiyolojilerinin olması, politerapi alması, çevresel faktörler, alınan ilaç sürelerinin ve dozların farklı olması, eşlik eden komorbid patolojilerin olması, tedaviye uyumsuzluk, psikososyal çevre (ailenin etkisi, farklı eğitim olanakları) olarak sayılabilir. Bu durum ilaç yan etkisi değerlendirilirken grupların homojenize edilmesinde zorluklar çıkarmaktadır. Bu nedenden dolayı, psikososyal çevrelerini, genetik yapılarını ve ilaç dozlarını homojenize edecek deneysel havvan çalışmalarına ihtiyaç duyulmaktadır.

Antiepileptik ilaçların uzun dönemde indükleyebileceğı olumlu veya olumsuz bilişsel fonksiyonların, denge ve lokomotor aktivite, Morris Su Labirenti Testi, Bağılamsal Korku Koşullanma Testi, Açık Alan Testi, Yükseltilmiş Artı Labirent Testi, Işınsal Sekiz Kollu Labirent Testi, T Labirenti Testi Ve Rotarod Performans Testi ile değerlendirilebilmektedir (81,83,86).

Mevcut literatürlerde levetirasetamın bilişsel fonksiyonlar üzerine etkisi genellikle erişkin hasta grupları ile araştırılmıştır. İlacın kullanıldığı dönemlerde motor koordinasyon bozuklukları, ataksi, ajitasyon, davranış değışikliği, hiperaktivite, sinirlilik , yorgunluk gibi yan etkiler bildirilmiştir (29). Deneysel çalışmalarda ise kısa dönem ilaç uygulamaları ile bilişsel ve lokomotor aktiviteleri değerlendirilmiştir. Sodyum valproat kullanımı ile ilgili, ilacın kullanıldığı dönemlerde doza bağılı olarak bilişsel fonksiyonlarda çok hafif düzeyde etkilenme olduğı bildirilmiştir (33). Vigabatrinin erişkin hastalarda yorgunluk, sedasyon, konsantrasyon bozukluğu gibi yan etkileri olduğı gösterilmiştir (51).

Gomer ve ark. (92)'nın 2007 yılında parsiyel nöbeti olan 30 epilepsi hastası üzerinde yaptıkları bir çalışmada levetirasetamın bilişsel fonksiyonlar üzerine olumlu veya olumsuz etki yaratmadığı gösterilmiştir. Zhou ve ark. (93)'nın 2008 yılında refrakter parsiyel nöbetli epilepsi hastalarında, uzun dönem ve kısa dönem levetirasetam tedavisi sonrası bilişsel fonksiyonlarda iyileşme ve yaşam kalitelerinde artış olduğı saptanmıştır. Wu ve ark. (94)'nın 2009 yılında 69 erişkin hasta üzerinde yaptığı çok merkezli prospektif bir çalışmada, levetirasetamın iyi nöbet kontrolü ile beraber bellek ve dil gelişimi üzerine olumlu etkileri olduğı gözlemlenmiştir. Piazzini ve ark. (95)'nın 2006 yılında parsiyel epilepsisi olan ve tedavilerine levetirasetam eklenen 35 hasta ile yaptıkları çalışmada levetirasetamın dikkat ve akıcı konuşma üzerine olumlu etkide bulunduğunu saptamışlardır.

Abdel-Wahab ve ark. (96)'nın 2015 yılında yaptığı deneysel bir çalışmada; genç sıçanlarda pentilentetrazol ile oluşturulmuş epilepsi modelinde omega-3 ve levetirasetam

kombinasyonunun bilişsel fonksiyonlarda bozulmayı azalttığı ve hipokampüste DNA hasarı ve oksidatif stresi azalttığı gösterilmiştir (levetirasetam ve Omega-3'ün antioksidan etkisine bağlı). Koo ve ark. (97)'nin 2013 yılında 1 yıl boyunca levetirasetam monoterapisi alan 35 erişkin epilepsi hastası ile yaptığı çalışmada; ilaca bağlı sözel ve görsel dikkat, psikomotor hız ve mental fleksibilitayı içeren bilişsel fonksiyonlarda olumsuz etkilenmenin olmadığı gösterilmiştir.

Kalviainen ve ark. (98)'nin 1995 yılında yaptıkları randomize kontrollü çalışmada; 1 yıl boyunca monoterapi olarak vigabatrin ve karbamezapin kullanan yeni tanı almış epilepsi hastalarında vigabatrine bağlı bilişsel fonksiyonlarda (dekleratif bellek) bozulmanın saptanmadığı gözlemlenmiştir. McGuire ve ark. (99)'nin 1992 yılında dirençli epilepsisi olan erişkin hastalar üzerinde yaptığı bir çalışmada, 4 hafta boyunca 2 gr/gün dozunda vigabatrin alan hastalarda duygu-durum ve bilişsel fonksiyonlar açısından yan etki saptanmamıştır.

Prevey ve ark. (100)'nin 1996 yılında yeni tanı almış monoterapi olarak karbamazepin veya sodyum valproat kullanan epilepsi hastalarında yaptıkları randomize kontrollü çift kör bir çalışmada; bellek, konsantrasyon, mental fleksibilite ve nöropiskolojik performans gibi bilişsel fonksiyonlarda ve motor koordinasyonda olumsuz etki görülmemiştir.

Literatürde, genel antiepileptik ilaçlar olarak; fenobarbitalin bilişsel fonksiyonlar üzerine anlamlı düzeyde olumsuz etkisi olduğu, fenitoinin özellikle yüksek dozlarda ve politerapi ile bilişsel fonksiyonlarda bozulmaya yol açabileceği, topiramatin daha çok dikkat, bellek ve dil gibi bilişsel fonksiyonlar üzerinde olumsuz etki oluşturduğu, sodyum valproatın plazma amonyak düzeyi kontrolü sağlanması halinde bilişsel fonksiyonları etkilemediği, levetirasetamın bilişsel fonksiyonlar üzerine olumsuz etki yaratmadığı belirtilmektedir (101). Zonisamid, rufinamid, gabapentin ve tiagabin ile ilgili çocukluk çağında yeterli çalışma olmadığına dikkat çekilmektedir (101).

Çalışmamızda anne sütünden kesildikten sonra erişkin döneme kadar antiepileptik ilaç (levetirasetam, sodyum valproat, vigabatrin) alan yavru sıçanların, erişkin dönemde ilaçlara bağlı öğrenme, bellek, denge ve lokomotor aktivite yetileri değerlendirilmiştir. AEİ olarak sodyum valproat, levetirasetam ve vigabatrin seçmemizin nedeni, çocukluk çağında epilepsi tedavisinde sık kullanılan ilaçlar olması ve uzun dönemde bilişsel fonksiyonlar ve lokomotor aktivite üzerine olumlu veya olumsuz etkileri ile ilgili yeterli çalışma verilerinin bulunmamasıdır.

Morris Su Labirenti Testi ile ilk 5 gün yapılan öğrenme deneylerinde bütün gruplarda platforma erişme süreleri ve platforma olan ortalama uzaklıkları giderek azalma gösterdi. Bu bulgular ile öğrenme yetileri arasında fark saptanmadı. Öğrenme ve bellek parametreleri

olarak ele aldığımız ölçümler sıçanların yüzme hızından etkilenebilir. Bu nedenle gruplar arasındaki farkların aslında öğrenmedeki farktan değil de yüzme hızı farkından olabileceği düşünülebilir. Kontrol dişi grubunda yüzme hızı 1. güne göre 3., 4. ve 5. günlerde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüktü. 6. gün (retansiyon) belleğin değerlendirildiği fazda ise yüzme hızları açısından gruplar arasında istatistiksel fark saptanmadı ve bu durumun öğrenme ve bellek testleri üzerine etkisi olmadı. Denge ve lokomotor aktivite değerlendirme testi olarak kullanılan Rotarod Performans Testinde de kontrol dişi grubunda bu açıdan istatistiksel olarak anlamlı etkilene görülmedi. Morris Su Labirenti Testi uygulanan hayvanların öğrenme performansının bozulması her zaman uzaysal öğrenmenin bozulduğunu göstermemekte ve hayvanın bulunduğu ortamdan rahatsız olması veya korkması da (deneyleri farklı kişilerin yapması, farklı kıyafet giyilmesi, deneyler sırasında hayvanları rahatsız edecek düzeyde görsel ve işitsel uyaran olması, ısı değişiklikleri, farklı parfüm kokusu gibi etkenler) öğrenme performansını etkileyebilmektedir (102). Bu deneylerde sıçanların cinsiyetlere göre de farklı davranışlar sergilediği, bu durumun hormonal farklılık ve hipokampus gelişimindeki farktan kaynaklandığı ve özellikle uzaysal öğrenmenin değerlendirilmesinde erkek cinsiyetin daha uygun olduğu saptanmıştır (103-105).

Çalışmamızda incelenen parametrelerden biri de tigmotaksi (dokunsal yönelim) idi. Bu parametreye göre; deney esnasında hayvandan beklenen davranış, havuzun içinde gizlenmiş platformu bulması ve hangi yönden bırakılırsa bırakılsın havuzun iç kısmına doğru yönelmesidir. Ancak, bu durumun farkında olmayan sıçan, havuz içinde amaçsızca dolaşmaktadır ve genellikle havuz duvarına 10 cm mesafede duvara dokunarak yönelimler yapmaktadır. Bu parametre bize özellikle hayvanın içinde bulunduğu ve çözmesi gerekli problemin ne kadar farkında olduğunu gösterir. Tigmotaksin artması hayvanın içinde bulunduğu problemin farkına varmadığını göstermektedir. Öğrenme testlerinde gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmazken 6. gün bellek testinde kontrol dişi grubu kontrol erkek grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fazla tigmotaksi yaptı. Kontrol dişi grubu, ilaç alan dişi gruplarına göre daha uzun tigmotaksi yapmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı düzeyde değildi. Belleğin değerlendirildiği retansiyon testinde genel ilaç grupları ve kontrol grubu arasında tigmotaksi açısından istatistiksel anlamda fark saptanmadı. Sonuç olarak tigmotaksin sadece retansiyon testinde kontrol dişi grubunda istatistiksel anlamda farkı olması ve genel ilaç ve kontrol grupları arasında fark saptanmaması genel olarak dişilerdeki hormonal farklılıklara bağlı olabileceğini düşündürmüştür.

Çalışmamızda 5 gün süreyle platform varlığında yüzdürülen (öğrenmenin değerlendirilmesi aşaması) sıçanlar, 6. gün (retansiyon testi) su labirentinden platform

ıkarılarak yüzdürüldü (belleğın değerlendirilmesi). Platformsuz yüzdürmede grupların hedef kadranda geçirdikleri süre (belleğın ne derece oluştuğu) değerlendirildi. Hayvanların hedef kadranda daha uzun süre zaman geçirmesi bu bölgede çıkarılmış platformu aradığını göstermektedir. Bellek fonksiyonlarını bozan ilaçlarda bu süre azalırken, bellek üzerine olumlu etki yapan ilaçlarda ise bu süre anlamlı derecede artar. Çalışmamızda gruplar arasında istatistiksel anlam oluşturacak düzeyde fark saptanmaması ilaçların bu parametreye göre bellek üzerine olumlu veya olumsuz etki oluşturmadığını göstermektedir. Bellek yetisinin lldğ retansiyon testinde değerlendirdiğimiz bir başka parametre de hayvanların platformun bulunduğu yere ortalama uzaklıklarıydı. 5 günlük öğrenme yüzdürmeleri sonrasında platformun olduğu yeri öğrenmiş ve bellek oluşumunu sağlamış olan hayvanların platformun bulunduğu yeri anımsayarak daha çok o bölgeye yakın yüzmeleri beklenmektedir. Bellek oluşurmada başarısız olan hayvanların ise yüzmeleri sırasında platformun bulunduğu yere olan ortalama uzaklıklarının daha fazla olması beklenmektedir. Bu parametreye göre de bellek fonksiyonları açısından gruplar arasında istatistiksel düzeyde anlamlı fark saptanmadı.

İlk 5 günlük yüzdürme testlerinde ve 6. gün retansiyon testlerinde incelediğimiz çeşitli parametrelerde elde ettiğimiz sonuçlar birbirleri ile büyük lde tutarlılık göstermektedir. Bu parametrelere bağlı olarak levetirasetam, sodyum valproat ve vigabatrin gibi antiepileptik ilaçların yenidoğan döneminden sonra kronik kullanımı öğrenme ve bellek fonksiyonları üzerine olumlu veya olumsuz etki oluşturmadığı görülmüştür.

Uyguladığımız bir diğer bellek değerlendirme testi de korku koşullanma testidir. Bu test ile sıçanların korku bazlı (amigdala bazlı) bellek değerlendirmesi yapılmaktadır. Dzeneğın içerisinde çevresel ipuçları da olduğundan dolayı bağlamsal korku koşullanmadan söz edilir ve bu şekilde hem amigdala hem de hipokampus bazlı bellek değerlendirilir. Düzenek ile 1. gün 7 dakika boyunca belirli sürelerde hayvanlara elektrik şoku verilir. Ağrı karşısında donma hareketi gözlemlenen deneklerin 2. gün aynı ortamda 5 dakika boyunca donma süreleri değerlendirilir (86). Bu teste bağlı olarak korku bazlı bellek fonksiyonları açısından; ilaç grupları, kontrol grupları ve cinsiyetlere göre ayrılmış gruplar arasında istatistiksel anlam oluşturacak düzeyde fark saptanmadı. Uzun dönem antiepileptik ilaç kullanımının korku bazlı bellek üzerine olumlu veya olumsuz etkisi saptanmadı.

Antiepileptik ilaçların uzun dönemde motor koordinasyon üzerine etkilerini gözlemlemek ve değerlendirmek amacı ile Rotarod Performans Testi kullanılabilmektedir. Bu test, hayvanların belirli bir yükseklikte ve artan bir hızla elektrik enerjisiyle dönen mil üzerinde belli bir süre içerisinde denge sağlayarak yürüyebilmesi esasına dayanır. Böylece hayvanların lokomotor ve denge yetileri değerlendirilir (83).

Forcelli ve ark. (8)'nın 2012 yılında yapmış olduğu deneysel bir çalışmada; yavru sıçanlara postnatal 7. günden itibaren 6 gün boyunca günde tek doz intraperitoneal olmak üzere belirli dozlarda fenobarbital, fenitoin ve lamotrijin uygulamış. Erişkin döneme ulaştıklarında Morris Su Labirenti Testi, Bağlamsal Korku Koşullanma Testi ve Rotarod Performans Testi ile öğrenme, bellek ve motor koordinasyon yetileri değerlendirilmiş. İlaçların, bağlamsal korku koşullanma ile korku bazlı bellek fonksiyonlarında bozulma gözlemlenmemiş. Tüm ilaç gruplarında Morris Su Labirenti Testinde öğrenme yetilerinde olumsuz etkilenme saptanmış. Rotarod Performans Testinde de fenitoin ve lamotrijin alan gruplarda motor koordinasyon fonksiyonlarında olumsuz etkilenme saptanmıştır.

Çalışmamızda Rotarod Performans değerleri açısından dişi grup erkek gruba göre daha uzun performans değerleri göstermesine rağmen istatistiksel düzeyde anlamlı değildi. Genel olarak dişi sıçanların ağırlıklarının daha hafif olması erkeklere göre daha uzun performans değeri oluşturması için neden sayılabilir. İlaç grupları ile kontrol grupları arasında genel olarak dengede kalabilme ve motor koordinasyon açısından istatistiksel anlam oluşturacak düzeyde fark saptanmadı. Çalışmamızda uzun dönem levetirasetam, sodyum valproat ve vigabatrin kullanımının motor koordinasyon ve denge üzerinde olumlu veya olumsuz etkisi saptanmadı.

Santral sinir sisteminde hipokampus, bellek ve uzaysal öğrenmenin merkezidir ve spesifik uzaysal bilginin kodlanması işlevinde rol alır (9). Bu nedenle özellikle uzaysal öğrenme ve bellek ile ilgili ilaçlara bağlı oluşabilecek toksik ve nörodejeneratif yan etkiler bu bölgeyi etkileyebilir.

Sıçanlar ve fareler gibi kemirgen hayvan türlerinin davranışlarını düzenlemede uzaysal bilgiyi kullanma eğilimleri vardır. Hipokampus ve ilgili yapıların (entorhinal korteks, subiculum gibi) uzaysal bilgiyi kullanmayı gerektiren öğrenme ve bellek testlerindeki rolü pek çok çalışmada araştırılmıştır (106). Hipokampus lezyonlarının hayvanlarda ve insanlarda spontan dikkati, uzaysal öğrenmeyi ve uzaysal bellek kullanımını bozduğu gösterilmiştir. Hipokampus hayvanların davranışlarını düzenlemeleri ve kontrol etmeleri için uzaysal bilgiyi kullanmalarında önemli rol oynar (10).

Uzaysal öğrenme, hipokampüste NMDA reseptör aracılığı ile oluşan LTP sayesinde olur (74). Hipokampus CA1 bölgesi nöronları da uzaysal öğrenme ve bellek için gereklidir. CA1 bölge nöronları entorhinal korteksten veya CA3 bölgesinden bilgileri alır ve işler. CA1, CA3 ve CA1-CA3 bağlantısı referans bellek için gereklidir (9).

Kim ve ark. (11)'nin 2007 yılında yaptığı bir çalışmada levetirasetam, topiramet ve karbamazepinin immatür rat beyinde (postnatal 7 ve 8 günlük sıçanlar) tek doz ilaç

uygulanması sonrası terminal deoksiniükleotid transferaz (dUTP) aracılı işaretleme (TUNEL) yöntemi ile nörodejeneratif etkileri incelenmiştir. Topiramat ve karbamazepine bağlı nörodejeneratif etki monoterapide görülmezken her iki ilacın fenitoin ile kombine edildiğinde , fenitoine bağlı nörodejeneratif etkiyi arttırdığı saptanmıştır. Levetirasetamın ise gerek monoterapide gerek ise fenitoin ile kombinasyonda nörodejeneratif etkisi gözlemlenmemiştir.

Kushal ve ark. (107)'nın 2016 yılında yavru sıçanlar üzerinde yaptığı bir çalışmada; fenobarbital, dizosilpin (MK-801), lamotrijin, fenitoin, levetirasetam ve karbamazepinin beyinde beyaz cevher üzerine nörodejeneratif etkisi değerlendirilmiştir. Tek doz ilaç uygulaması sonrası TUNEL yöntemi ile apoptotik hücreler incelenmiş. Fenitoin, fenobarbital ve NMDA reseptör antagonisti olan dizosilpinin beyinde beyaz cevherde apoptotik etkileri gözlemlenirken, levetirasetam, karbamazepin ve lomotirijine bağlı apoptotik etki gözlemlenmemiştir.

Çalışmamızda değerlendirmeler Hematoksilen+Eozin ile boyanmış hipokampal koronal kesitler üzerinde, farklı büyütmeler kullanılarak ışık mikroskopunda yapılmıştır. Hücrel organizasyon ve genel görünüm açısından inceleme yapıldığında hipokampüsün CA1, CA2, ve CA3 bölümleri ve dentat gyrus kısmında gerek çalışma ve genel kontrol grupları arasında gerekse erkek ve dişi gruplar arasında histomorfolojik herhangi bir fark gözlenmemiştir.

Dişi ve erkek gruplarda, kontrol grupları uygulama grupları ile karşılaştırıldığında, levetirasetam, sodyum valproat ve vigabatrin ilaçlarına uzun dönem maruziyetin nöron ve diğer hücrelerde, belirgin eozinofili, mononükleer hücre infiltrasyonu, eozinofilik granüller, yaygın şekilde saptanmış makrofaj topluluğu, ödem, hücre membranında bozulma, nükleusta degradasyon veya kondansasyon gibi hücre toksisitesine veya ölümüne işaret edebilecek histopatolojik bulgular oluşturmadığı gözlemlenmiştir.

Literatürde antiepileptik ilaçların bilişsel fonksiyonlar üzerine etkileri ile ilgili çalışmalar daha çok erişkin hastalar üzerinde yapılmıştır. Çalışmalar genellikle dirençli epilepsisi olan ve politerapi alan hastalardır. Grupları homojenize etmedeki zorluklar ve eşlik eden komorbid patolojilerin olması daha çok deneysel çalışmalara ihtiyaç duyulmasına neden olmaktadır.

Deneysel çalışmalar ise daha çok tek doz ilaç uygulamaları sonrası veya bir haftalık ilaç uygulamaları sonrası yapılmıştır. Bu nedenle deneysel çalışmalar ile kronik etkilerin değerlendirilmesi için daha uzun dönem ilaç uygulamalarına ihtiyaç vardır.

Sonuç olarak çalışmamızda daha çok çocukluk çağında sık olarak kullandığımız AEİ'lerin uzun dönemde bilişsel ve lokomotor aktivite üzerine olumlu veya olumsuz

etkilerini araştırmayı amaçladık. Mevcut literatürleri incelediğimizde bu ilaçlar ile ilgili çocukluk döneminde uzun süreli yeterli deneysel çalışma bulunmaması, çalışmamızı daha önemli kılmaktadır.

Çalışmamız ile yavru sıçanlarda uzun dönem kullanılan levetirasetam vigabatrin ve sodyum valproat gibi AEİ'lere bağlı bilişsel fonksiyonlarda bozulma ve hipokampüste histomorfolojik olarak nörodejeneratif etki saptanmamıştır. Kronik nörodejeneratif etki açısından dUTP ve TUNEL yönteminin kullanıldığı, bilişsel fonksiyonlar ve motor koordinasyon açısından ise daha fazla hayvan gruplarını içeren yeni çalışmalara ihtiyaç vardır. Ayrıca uzun dönem deneysel epilepsi modelleri ile bilişsel ve lokomotor aktivitenin değerlendirilmesine de ihtiyaç duyulmaktadır. Böylece epilepsi tanılı ve antiepileptik tedavi alan hastalardaki bilişsel ve lokomotor aktivitedeki etkilenmenin, ilaç yan etkisi mi ya da epileptik nöbetlerin sonucu olarak mı meydana geldiği daha iyi aydınlatılabilir.

SONUÇLAR

Çalışmamızda, yavru sıçanlarda uzun dönem antiepileptik ilaç kullanımının erişkin dönemde bazı bilişsel ve lokomotor aktivite üzerine etkileri ve beyinde oluşturduğu histomorfolojik değişiklikler incelendi.

1- Morris Su Labirenti Testinde ilk 5 günlük öğrenme testlerinde platforma erişme süreleri ve platforma ortalama uzaklıkları bütün gruplarda giderek azaldı ve bu testlere göre öğrenme fonksiyonlarında bozulma saptanmadı.

2- Yüzme hızları açısından kontrol dişi grubunda 1. güne göre 3., 4. ve 5. günlerde istatistiksel anlamda azalma görülmesine rağmen bu azalma hayvanların havuzda gösterdikleri performansı belirgin bir şekilde etkileyecek düzeyde değildi . Bellek testi sonuçları da bu durumu destekledi.

3- İlk 5 günlük öğrenme testlerinde perimetrede yüzme parametresi olarak değerlendirilen tigmotaksi giderek azaldı. Sıçanların içinde bulundukları problemin farkında olduğu ve onu çözmek için çabaladıkları görüldü. Gruplar arasında istatistiksel fark saptanmadı.

4- Bellek fonksiyonlarının değerlendirildiği retansiyon testinde, platforma ortalama uzaklık, hedef kadranda geçirilen süre ve yüzme hızları açısından gruplar arasında istatistiksel anlam oluşturan fark saptanmadı.

5- Belleğin değerlendirildiği retansiyon testlerinde perimetrede yüzme parametresi olarak değerlendirilen tigmotaksi kontrol dişi grubunda kontrol erkek grubuna göre istatistiksel düzeyde yüksekti. Kontrol dişi grubu ilaç alan dişi grubuna göre fazla tigmotaksi yapmasına rağmen istatistiksel düzeyde anlam gözlemlenmedi. Retansiyon testinde genel gruplar olarak tigmotaksi açısından istatistiksel fark saptanmadı.

6- Kontrol dişi grubunda öğrenmenin değeriendirildiği ilk 5 günde tigmotaksi değerielerinin azalması ve sadece 6. gün yapılan bellek testinde kontrol erkek grubuna göre istatistiksel anlamda fazla tigmotaksi yapması, dişilerdeki hormonal nedenlere bağlı olabileceği düşünöldü.

7- Çevresel ve korku bazlı belleğin değeriendirildiği Bađlamsal Korku Kořullanma Testlerinde bellek fonksiyonları ačíısından gruplar arasında istatistiksel anlamda fark saptanmadı.

8- Deneklerin motor koordinasyon ve denge yetilerinin değeriendirildiği Rotarod Testinde dengede yürüyebildikleri süre vigabatrın dişi ve vigabatrın genel grubunda diğer gruplara göre daha uzundu. vigabatrın dişi grubu kontrol dişi grubuna ve vigabatrın erkek grubuna göre daha uzun olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı düzeyde değildi.

9- Rotarod Testinde diři ilaç gruplarında dengede kalma süresi erkeklere göre istatistiksel anlam oluşturmaya da daha uzundu. Diři sıčanların tartılarının daha düşük olması buna neden olarak düşünölebilir.

10- Dekapitasyon sonrası hipokampüsten alınan kesitlerde gruplar arasında histomorfolojik olarak nörodejeneratif değerişiklikler saptanmadı.

Sonuç olarak çalışmamızda yavru sıčanlarda uzun dönem vigabatrın, sodyum valproat ve levetirasetamın yan etki olarak uzun dönemde öğrenme, bellek ve lokomotor aktivite üzerine olumsuz etki yaratmadığı belirlenmiştir.

ÖZET

Uluslararası Epilepsi ile Savaş Birliği epilepsiyi, aralarında en az 24 saat olmak üzere, provokasyonsuz iki ve daha fazla nöbetin olması durumu olarak tanımlamaktadır. Epilepsi tanısı alan çocuklarda antiepileptik ilaçlar, tedavi seçenekleri arasında ilk sırada yer almaktadır. Çocukluk çağında antiepileptik ilaçlar büyüme ve gelişme süresince verilmektedir. Çocuklarda özellikle dirençli epilepsilerde uzun dönem ilaç kullanımı olmakta ve erişkin dönemde buna bağlı olarak bilişsel ve motor fonksiyonlar üzerine yan etkiler görülebilmektedir.

Çalışmamızda, epilepsi tanılı çocuklarda kullanılan antiepileptik ilaçların yavru sıçanlarda erişkin döneme kadar kullanımının bilişsel ve motor fonksiyonlar üzerine etkilerini ve bu ilaçların beyinde öğrenme ve bellek ile ilgili yapılarda oluşturacağı histomorfolojik değişiklikleri araştırmayı amaçladık.

Çalışmamızda 80 yavru sıçan ilaçlara ve cinsiyetlerine göre 8 gruba ayrılarak postnatal 24. günden itibaren 12 haftalık olana kadar günlük içme sularına belirli dozlarda levetirasetam, sodyum valproat ve vigabatrin eklendi. Sıçanlara postnatal 13. haftalarından sonra sırayla Morris Su Labirenti Testi, Bağlamsal Korku Koşullanma Testi, Rotarod Performans Testi ve histomorfolojik çalışma uygulandı.

Morris Su Labirenti Testinde, ilk 5 günlük yüzdürme testlerinde kronik levetirasetam, sodyum valproat ve vigabatrin uygulamasının hayvanların öğrenme eğrileri üzerine bir etkisinin olmadığı, 6. gün yapılan retansiyon testlerinde belleği etkilemediği gözlemlendi. Korku bazlı belleğin değerlendirildiği Bağlamsal Korku Koşullanma Testinde de bellek fonksiyonlarının etkilenmediği görüldü. Lokomotor aktivite ve dengenin değerlendirildiği Rotarod Testinde, dengede kalma süreleri ve aktiviteleri açısından ilaçların olumlu veya

olumsuz etkisi saptanmadı. Beyinde öğrenme ve uzaysal bellekten sorumlu hipokampüsün histomorfolojik incelemesinde, hücre toksisitesine veya ölümüne işaret edebilecek histomorfolojik bulgu gözlemlenmedi.

Sonuç olarak çocukluk döneminde kronik levetirasetam, sodyum valproat ve vigabatrın kullanımının öğrenme, bellek ve lokomotor aktivite üzerine olumlu veya olumsuz etkisi saptanmadı.

Anahtar kelimeler: Antiepileptik ilaçlar, çocukluk çağı, bilişsel fonksiyonlar, motor fonksiyonlar, hipokampüs,



EFFECTS OF NEONATAL ANTIEPILEPTIC DRUG EXPOSURE ON COGNITIVE AND MOTOR FUNCTION IN ADULT RATS AND HISTOMORPHOLOGICAL CHANGES IN BRAIN

SUMMARY

The current definition of epilepsy made by The International League Against Epilepsy requires two unprovoked seizures occurring at least 24 hours apart. Antiepileptics are first agents in epileptic children for treatment of epilepsy. Treatments with antiepileptic drugs in infancy, especially for the drug resistant epileptic patients, is complicated because antiepileptic drugs exposure during sensitive developmental periods may alter brain maturation and adversely affect nervous system function in adulthood and can lead to later on cognitive and motor function impairments.

In this study, we aimed to search the effects of antiepileptic drugs used in childhood on the cognitive and motor functions and histomorphological changes in the parts of the brain related with the learning and memory by giving the antiepileptics to rats after the neonatal period until the adulthood.

80 rats which were divided to 8 groups according to the drugs used and gender. Levetiracetam, Vigabatrin and Sodium Valproate were added to that drinking water till 12th week postnatally. After 12th week all groups were tested in the following order: The Morris Water Maze, Contextual Fear Conditioning Test, Rotarod Performance Test and histomorphological investigation.

The Morris Water Maze Test that evaluates learning showed no change after chronic antiepileptic usage on the first 5 day swimming tests. On the 6th day retention tests, memory was not affected. There was no significant impairment in Contextual Fear Conditioning Test that evaluates associative learning. In the Rotarod Test that evaluates the motor coordination, these drugs had no effect on locomotor activity. The histomorphological dissection of hippocampus did not reveal any signs of apoptosis and toxicity.

Consequently, the chronic use of Levetiracetam, Vigabatrin and Sodium Valproate did not effect learning, memory and locomotor activity.

Key Words: Antiepileptic drugs, childhood, cognitive functions, motor functions, hippocampus

KAYNAKLAR

1. Michael VJ. Seizures in childhood. In: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB (Eds.) Nelson Textbook of Pediatrics 17th ed. Philadelphia: WB Saunders Co; 2004: 1993-2009.
2. Baker GA. Assessment of quality of life in people with epilepsy: some practical implications. *Epilepsia* 2001;42:66–9.
3. Griffin J, Wyles M. Epilepsy: towards tomorrow. London: Office of Health Economics, 1991.
4. Yüce N. Yeni Kuşak Antiepileptik İlaçların Klinik Etkinliği ve Yan Etkileri (tez). Bursa: Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2009.
5. Rudolph CDR, Rudolph AM, Lister GE, First LR, Gershon AA. (Çeviri: M. Yurdakök). Rudolph pediatri. Güneş Tıp Kitapevleri; 2011: 2207.
6. Rudolph CDR, Rudolph AM, Lister GE, First LR, Gershon AA. (Çeviri: M. Yurdakök). Rudolph pediatri. Güneş Tıp Kitapevleri; 2011: 2208.
7. Hipoksik İskemik Beyin Hasarı Oluşturulmuş Yenidoğan Ratlarda İntraperitoneal Ozon Uygulamasının Morris Su Tankındaki Spasyal Bellek Performansına Etkisi (tez). Mersin: Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2012.
8. Forcelli PA, Kozlowski R, Snyder C, Kondratyev A, Gale K. Effects of neonatal antiepileptic drug exposure on cognitive, emotional, and motor function in adult rats. *J Pharmacol Exp Ther* 2012;340(3):558-66.
9. Uysal N, Dayı A, Özbal S, Çetin F, Aksu İ, Yalaz G ve ark. Sıçanlarda spasyal belleğin adolesan dönem süresince gelişimi. *J Neurol Sci Turk* 2010;27:407-13.
10. Silvers JM, Tokunaga S, Berry RB, White AM, Matthews DB. Impairments in spatial learning and memory: ethanol, allopregnanolone and the hippocampus. *Brain Res Rev* 2003;43:275-84.

11. 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. *J Pharmacol Exp Ther* 2007;323(1):165-73.
12. Kızıllkan MP, Alan S, Yanlızoğlu D. Epileptik nöbet, epilepsi ve epileptik sendrom sınıflaması. *Katkı Pediatri Derg* 2013;35(4):355-65.
13. Guidelines for epidemiologic studies on epilepsy “Commission on Epidemiology and prognosis, International League Against Epilepsy”. *Epilepsia* 1993;34:592-6.
14. Hamer M, Lüders HO, A new approach for classification of epileptic syndromes and epileptic seizures. Lüders HO, Comair Y (eds.). *Epilepsy Surgery*. 2th ed. Philadelphia: Lipincott-Raven, 2001: 79-94.
15. Katagal P, Lüder HO. Recent advances in childhood epilepsy. *Brain and Dev* 1994;16(1):1-15.
16. Hopkins A, Shorvon S, Cascino G. The causes of Epilepsy. In *Epilepsy*. Hopkins A (ed.) London: Chapman & Hill Medical; 1995:59-85.
17. Commission on classification and terminology of the International League Against Epilepsy. Proposal for revised clinical and electroencephalographic classification of epileptic seizures. *Epilepsia* 1981;22:489-501.
18. Murty JM, Yongala R, Srinivas M. The syndromic classification of the international league against epilepsy: A hospital based study from South India. *Epilepsia* 1998;39(1):48-54.
19. Johnston MV. Seizures in childhood. In: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB (eds.). *Nelson textbook of Pediatrics*. 17 th edition. Philadelphia: WB Saunders; 2004:1993–2009.
20. Commission on classification and terminology of the International League Against Epilepsy. Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes. *Epilepsia* 1989;30:389–99.
21. Baybaş S, Dirican A. Epilepsi hastalarda yaşam kalitesi. *Epilepsi*. Ed: Bora İ, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 2008; 727-34.
22. Aicardi J. Epilepsies with typical absence seizures. In: Aicardi J, ed. *Epilepsy in Children*. New York: Raven Press; 2004;12:351–2.
23. Gururaj A, Sztriha L, Hertecant J, Eapen V. Clinical predictors of intractable childhood epilepsy. *J Psychosom Res* 2006;61:343–7.
24. Shinnar S, Berg AT, Moshe SL et al. The risk of recurrence following a first unprovoked seizure in childhood: A prospective study. *Pediatrics* 1990;85:1076–85.
25. Aysun S. Epilepsi tedavisi. *Katkı Pediatri Dergisi*. Hacettepe üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı ve Çocuk Sağlığı Enstitüsü yayını. Ankara 1994;15:529-52.

26. Turanlı G. Epilepsi ve izlemi. *Katkı Pediatri Derg* 1999;20:385-95.
27. Holland KD. Efficacy, pharmacology, and adverse effects of antiepileptic drugs. *Neurol Clin* 2001;19(2):313-345.
28. Pellock JM. Treatment of epilepsy in the new millennium. *Pharmacotherapy* 2000;20(8):129-38.
29. Patsalos P.N. Pharmacokinetic profile of levetiracetam: toward ideal characteristics. *Pharmacol Ther* 2000;85(2):77-85.
30. G. Steve Miller. Efficacy and safety of levetiracetam in pediatric migraine. *Headache* 2004;44:238-43.
31. Genç E, Tokgöz S, Apaydın E.D. Response to levetiracetam in a patient with posthypoxic action myoclonus. *J Neurol Science* 2007;24(3):250-3.
32. Eadie MJ, Tyrer JH. Anticonvulsant therapy. In: Eadie MJ (ed). *Drug therapy in neurology*. Brisbane: Churchill-livingstone; 1992: 97-173.
33. Perucca E. Pharmacological and therapeutic properties of valproate: a summary after 35 years of clinical experience. *CNS Drugs* 2002;16:695-714.
34. Löscher W. Basic Pharmacology of Valproate: a review after 35 years of clinical use for the treatment of epilepsy. *CNS Drugs* 2002;16:669-94.
35. Porter RJ, Meldrum BS. Antiseizure Drugs. In: Katzung BG editors. *Basic and Clinical Pharmacology*. Mc Graw-Hill 2001: 409-11.
36. Chang ZL. Sodium valproate and valproic acid. In: Florey K, editor. *Analytical Profile of Drug Substance*. Vol. 8. New York: Academic Press; 1979: 529-54.
37. Anica Dricu, Stefana Oana Purcaru, Alice Sandra Buteica, Daniela Elise Tache, Oana Daianu, Bogdan Stoleru, Amelia Mihaela Dobrescu, Tiberiu Daianu and Ligia Gabriela Tataranu (2012). *DNA Methylation, Stem Cells and Cancer, Methylation - From DNA, RNA and Histones to Diseases and Treatment*, Prof. Anica Dricu (Ed.), ISBN: 978-953-51-0881-8, InTech, DOI: 10.5772/53263.
38. Onat F, Eşkazan E. Antiepilepetik ilaçlar. *Epilepsi*. Ed: Bora İ, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri. 2008; 595-608.
39. Bertram G. Katzung. *Basic and Clinical Pharmacology*. Lance medical. 10th ed. 2006: 374-94.
40. Patsalos P.N. Clinical Pharmacokinetics of Levetiracetam. *Clin Pharmacokinet* 2004;43(11):707-24.
41. Newton H.B, Goldlust S.A, Pearl D. Retrospective analysis of the efficacy and tolerability of levetiracetam in brain tumor patients. *J Neurooncol* 2006;78:99-102.
42. Rupprecht S, Franke K, et al. Levetiracetam as a treatment option in nonconvulsive status epilepticus. *Epilepsy Res* 2007;73(3):238-44.

43. Glauser T.A, Mitchell W, et al. Pharmacokinetics of Levetiracetam in Infants and Young Children with Epilepsy, *Epilepsia* 2007;48(6):1117–22.
44. Major P, Greenberg E, Khan A. Pyridoxine supplementation for the treatment of levetiracetam-induced behavior side effects in children. *Epilepsy Behav* 2008;13:557-9.
45. Tamarelle C, Pandit F, Mazarati A, Riquet A, Vallée L, Auvin S, et al. Levetiracetam-induced depression in a 5-yearsold child with partial epilepsy. *Seizure* 2009;18(3):235-6.
46. Kossoff EH, Bergey GK, Freeman JM, Vining EP, et al. Levetiracetam psychosis in children with epilepsy. *Epilepsia* 2001;42(12):1611-3.
47. Peake D, Mordekar S, Gosalakal J, Mukhtyar B, Buch S, Crane J, et al. Retention rate of Levetiracetam in children with intractable epilepsy at 1 year. *Seizure* 2007;16:185-9.
48. Koul R, Al-Futaisi A. Levetiracetam induced weight loss in two children. *J Pediatr Neurol* 2008;3:257-60.
49. http://www.japi.org/october_2011/09_dr_levetiracetam.html.
50. Karaağaç M. Noröloji ders kitabı, Editörleri: Hülya Apaydın, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa tıp fakültesi, İstanbul 2009: 137-84.
51. Lerner JT, Salamon N, Sankar R. Clinical profile of VGB as monotherapy for the treatment of infantile spazms. *Neuropsychiatric Dis Treatment* 2010;6:731-40.
52. http://www.bindingdb.org/MonoNames?name=Vigabatrin_50118886.
53. Bailey EE, Pfeifer HH, Thiele EA. The use of diet in the treatment of epilepsy. *Epilepsy and Behav* 2005;6:4-8.
54. Baykan B, Bebek N, Gürses C, Gökyiğit A. Epilepsi. Öge AE, Baykan B, Bahar ZS (Editörler). *Nöroloji'de*. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri; 2011:311-54.
55. Arzimanoglou A. General aspect. In: Arzimanoglou A, Guerrini R, Aicardi J (Eds.). *Aicardi's Epilepsy in Children* 3th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2004: 1-396.
56. Henriksen O, Wallace SJ. Definitions and classification of epileptic seizures and epilepsies. In: Wallace SJ and Farrell K (Eds.). *Epilepsy In Children* 2th ed. London: Arnold; 2004: 14-70.
57. Peker ÖG. Beyin korteksi, beynin zihinsel işlevleri, öğrenme ve bellek. (çeviri: H. Çavuşoğlu, B.Ç. Yeğen). *Tıbbi Fizyoloji'de*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2007: 714-27.
58. Keleş E, Çepni S. Beyin ve Öğrenme. *Türk Fen Eğitimi Derg* 2006;3:66-82.
59. Purves D. Memory. In: Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D, Hall WC, Lamantia AS, McNamara JO, Williams SM (Eds.). *Neuroscience*. 3rd ed. Sinauer Associates Inc; 2004. 733-53.

60. Squire LR. Memory systems of the brain: a brief history and current perspective. *Neurobiol Learn Mem* 2004;82:171-7.
61. Burwell RD, Agster KL. Anatomy of the hippocampus and the declarative memory system. In: Byrne JH (Ed.). *Concise learning and memory*. 3rd ed. St. Louis: Academic Press; 2009: 189-207.
62. Roediger HL, Zaromb FM. A typology of memory terms. In: Byrne JH (Ed.). *Concise learning and memory*. 3rd ed. St. Louis: Academic Press; 2009: 1-13.
63. Kandel ER, Kupfermann I, Iversen S. Learning and Memory. In: Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM, editors. *Principles of Neural Science*. International Edition: McGraw-Hill Companies, 2000: 1227-46.
64. Korkmaz, Ö., Mahiroğlu, A. Beyin, Bellek ve öğrenme. *Kastamonu Eğitim Derg* 2007;15(1):93-104.
65. Yiğit R. Kontrol Sistemleri, Sindirim ve Bosaltım Fizyolojisi. Ziya Ziylan, Öğrenme ve Bellek, Nobel Tıp Kitabevleri. 2001: 293-8.
66. Guyton, A.C.& Hall, J.E. Tıbbi Fizyoloji Türkçe 1. baskı, Orijinal 10. edisyon. Çev. Ed. Çavusoğlu, H., Yeğen, B., Aydın, Z., Alican, D. Yüce Yayınları AS&Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Sti. 2001.
67. Phelps E.A., LeDoux J.E. Contributions of the amygdala to emotion processing: From animal models to human behavior. *Neuron* 2005;48:175-87.
68. Wrihten SA, Piroli GG, Grillo CA, Reagan LP. A look inside the diabetic brain: Contributors to diabetes-induced brain aging. *Biochim Biophys Acta* 2009;1792(5):444-53.
69. Songur A, Özen OA, Sarsılmaz M. Hipokampus. *Temel Klinik Tıp Bilimleri* 2001;21:427-31.
70. <http://spinwarp.ucsd.edu/neuroweb/Text/br-800epi.htm>.
71. Kandel ER. Cellular Mechanisms of Learning and the Biological Basis of Individuality. In: Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM, editors. *Principles of Neural Science*. International Edition: McGraw-Hill Companies, 2000: 1247-77.
72. <https://www.goconqr.com/en/p/68319-general-synaptic-platicity-notes>.
73. Nicholls JG, Martin AR, Wallace BG, Fuchs PA. *From Neuron to Brain*. U.S.A., Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, Synaptic Plasticity. 2001: 227-42.
74. Morris RG, Frey U. Hippocampal synaptic plasticity: role in spatial learning or the automatic recording of attended experience? *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1997;352:1489-503.
75. Ünal S. Şizofrenide bilişsel işlev bozuklukları ve belirti oluşumu ile ilişkisi. *Anadolu Psikiyatri Derg* 2003;4:46-53.

76. Meador KJ, Gilliam FG, Kanner AM, Pellock JM. Cognitive and behavioral effects of antiepileptic drugs. *Neurology* 2001;2:1-17.
77. Piccinelli P, Beghi E, Borgatti R, et al. Neuropsychological and behavioural aspects in children and adolescents with idiopathic epilepsy at diagnosis and after 12 months of treatment. *Seizure* 2010;19:540-6.
78. Büyükdereli Z. Hipoksik iskemik Beyin Hasarı Oluşturulmuş Yenidoğan Sıçanlarda Trombosit Uyarıcı Faktör Antagonisti Uygulamasının Bilissel ve Motor Yetiler Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatri Anabilim Dalı, Mersin, 2008.
79. Pereria LO, Arteni NS, Peterson RC, Padilha da Rocha A, Achaval M, Netto CA. Effects of daily environmental enrichment on memory deficits and brain injury following neonatal hypoxia-ischemia in the rat. *Neurobiol Learn Mem* 2007;87:101-8.
80. Morris RGM. Spatial localization dose not require the presence of local cues. *Learn Motiv* 1981;12:239-60.
81. D' Hooger D, De Deyn PP. Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. *Brain Res Rev* 2001;36:60-90.
82. Essizoğlu A, Yıldırım EA, Mengi M Oral T, Yurdakos E. Kronik immobilizasyon stresine maruz bırakılan sıçanlarda 7-nirtoindazolün anksiyete ve mekânsal bellek üzerine etkileri. *Nöropsikiyatri Arşivi* 2009;46:157-62.
83. Karadağ T. O. Deneysel Omurilik Yaralanması Oluşturulan Sıçanlarda İnsan Umbilikal Kord Kanı Transplantasyonunun Etkisinin İncelenmesi. Uzmanlık Tezi, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirürji Anabilim Dalı, Denizli, 2006.
84. Davis M. The role of the amygdala in fear and anxiety. *Annu Rev Neurosci* 1992;15:353-75.
85. LeDoux JE. Emotional memory sistem in the brain. *Behav Brain Res* 1993;58(1-2):69-79.
86. Phillips RG, LeDoux JE. Differential contribution of amygdala and hippocampus to cued and contextual fear conditioning. *Behavioral neuroscience* 1992;106(2):274-85.
87. Rudy JW, Huff NC, Matus-Amat P. Understanding contextual fear conditioning: insights from a two-process model. *Neuroscience and Biobehavioral Rev* 2004;28(7):675-85.
88. Sengupta P. The Laboratory Rat: Relating Its Age With Human's. *Int J Preventive Medi* 2013;4(6):624-630.
89. Franklin Craig L, Mark A Suckow, Steven H Weisbroth. *The Laboratory Rat*. 2nd ed. Amsterdam: Elsevier, 2006: 264.
90. Vinayan KP. Epilepsy, antiepileptic drugs and educational problems. *Indian Pediatr* 2006;43:786-94.

91. Helmstaedter C, Schoof K, Rossmann T, Reuner G, Karlmeier A, Kurlmann G. Introduction and first validation of EpiTrack Junior, a screening tool for the assessment of cognitive side effects of antiepileptic medication on attention and executive functions in children and adolescents with epilepsy. *Epilepsy Behav* 2010;19:55-64.
92. Gomer B, Wagner K, Frings L, Saar J, Carius A, Härle M, et al. The influence of antiepileptic drugs on cognition: A comparison of levetiracetam with topiramate. *Epilepsy Behav* 2007;10(3):486-94.
93. Zhou B, Zhang Q, Tian L, Xiao J, Stefan H, Zhou D. Effects of levetiracetam as an add-on therapy on cognitive function and quality of life in patients with refractory partial seizures. *Epilepsy Behav* 2008;12(2):305-10.
94. Wu T, Chen C-C, Chen T-C, Tseng Y-F, Chiang C-B, Hung C-C, et al. Clinical efficacy and cognitive and neuropsychological effects of levetiracetam in epilepsy: An open-label multicenter study. *Epilepsy Behav* 2009;16(3):468-74.
95. Piazzini A, Chifari R, Canevini MP, Turner K, Fontana SP, Canger R. Levetiracetam: An improvement of attention and of oral fluency in patients with partial epilepsy. *Epilepsy Res* 2006;68(3):181-8.
96. Abdel-Wahab BA, Shaikh IA, Khateeb MM, Habeeb SM. Omega 3 polyunsaturated fatty acids enhance the protective effect of levetiracetam against seizures, cognitive impairment and hippocampal oxidative DNA damage in young kindled rats. *Pharmacol Biochem Behav* 2015;135:105-13.
97. Koo DL, Hwang KJ, Kim D, Kim YJ, Kim JY, Shin W, et al. Effects of Levetiracetam Monotherapy on the Cognitive Function of Epilepsy Patients. *Euro Neurol* 2013;70(1-2):88-94.
98. Kälviäinen R, Äikiä M, Saukkonen A, Mervaala E, Riekkinen PJ, Sr. Vigabatrin vs carbamazepine monotherapy in patients with newly diagnosed epilepsy: A randomized, controlled study. *Arch Neurol* 1995;52(10):989-96.
99. McGuire AM, Duncan JS, Trimble MR. Effects of Vigabatrin on Cognitive Function and Mood When Used as Add-on Therapy in Patients with Intractable Epilepsy. *Epilepsia* 1992;33(1):128-34.
100. Prevey ML, Delaney RC, Cramer JA, Cattanach L, Collins JF, Mattson RH. Effect of valproate on cognitive functioning: Comparison with carbamazepine. *Arch Neurol* 1996;53(10):1008-16.
101. Ijff DM, Aldenkamp AP. Cognitive side-effects of antiepileptic drugs in children. *Handb Clin Neurol* 2013;111:707-18.
102. Hölscher C. Stress impairs performance in spatial water maze learning tasks. *Behav Brain Res* 1999;100:225-35.
103. Szyndler J, Piechal A, Blecharz-Klin K, Skórzewska A. Effect of kindled seizures on rat behavior in water Morris maze test amino acid concentrations in brain structures. *Pharmacol Rep* 2006;58:75-82.

104. Nowakawska E, Kus K, Czubak A, Glowacka D, Matschay A. et al. Some behavioural effects of carbamazepin-comparison with haloperidol. *J Physiol Pharmacol* 2007;58:253-64.
105. Nicholas A, Munhoz CD, Ferguson D, Campbell L, Sapolsky R. et al. Enhancing cognition after stress with gene therapy. *J Neurosci* 2006;26:11637-43.
106. Jarrard LE. On the role of the hippocampus in learning and memory in the rat. *Behav Neural Biol* 1993;60(1):9-26.
107. Kaushal S, Tamer Z, Opoku F, Forcelli PA. Anticonvulsant drug-induced cell death in the developing white matter of the rodent brain. *Epilepsia* 2016;57(5):727-34.



EKLER



Ek 1



T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARLARI

EDİRNE

Oturum Sayısı: 2014/08

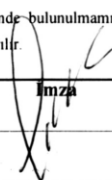
Karar Tarihi: 29.08.2014

KARAR NO: 2014.08.03

Yürütücülüğünü, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi öğretim üyesi Prof. Dr. Serap KARASALIHOĞLU'nun yaptığı, Dr. Mehmet AZİZOĞLU'nun Uzmanlık Tezi olarak planlanan TÜHDYEK-2014/29 protokol nolu "Yavru sıçanlarda antiepileptik ilaç kullanımının erişkin dönemde bazı bilişsel ve motor fonksiyonlar üzerine etkileri ve beyindeki histomorfolojik değişiklikler" başlıklı çalışma görüşüldü. Araştırmanın amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmesi sonucunda; Hayvan deneyleri yerel etik kurulu yönergesinde belirtilen ilke ve kurallara uygun bulunarak, çalışmanın yapılabileceğine mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.

Ünvanı/Adı/Soyadı	Araştırma ile İlişki	Toplantı Katılımı	İmza
Doç. Dr. Enis ULUÇAM Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ var ☒ yok	☒ evet ☐ hayır	
Yrd. Doç. Dr. Hayati ARDA Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ var ☒ yok	☒ evet ☐ hayır	
Vet. Hek. Ziya ÇUKUR Veteriner Hekim	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	
Hüseyin KOÇ Sivil Toplum Örgütü Üyesi Sivil Üye	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	
Yrd. Doç. Dr. Beytullah ÖZKAN Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	İzini
Doç. Dr. Y. Atakan SEZER Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ var ☒ yok	☒ evet ☐ hayır	
Doç. Dr. Tefik AKTOZ Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	İzini
Yrd. Doç. Dr. Hakan GÜRKAN Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ var ☒ yok	☒ evet ☐ hayır	
Osman GÜLTEKİN Sivil Üye	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	İzini

Ek 2

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ		PROJE NO : 2014-107	
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ SÖZLEŞMESİ		PRJ NİTELİĞİ : Tıpta Uzmanlık	
1- PROJE BAŞLIĞI			
Yavru Sıçanlarda Antiepileptik İlaç Kullanımının Erişkin Dönemde Bazı Bilişsel ve Motor Fonksiyonlar Üzerine Etkileri ve Beyindeki Histomorfolojik Değişiklikler			
2- PROJE PERSONELİ			
	Adı ve Soyadı	Unvanı	Telefon (İş)
Proje Yöneticisi :	Serap KARASALIHOĞLU	Prof. Dr.	Tel: 532 557 64 67
Araştırmacılar :	Mehmet AZİZOĞLU	Dr.	Tel: 530 467 79 01
3- PROJE BÜTÇESİ			
Teçhizatın Tanımı : Detay listesi ektedir.			Fiyatı (TL)
Ekonomik Kod			
	03.2 Tüketime Yönelik Mal ve Malzeme Alımları		4.600,00 TL
	03.3 Yolluklar		
	03.5 Hizmet Alımları		
	03.7 Menkul Mal, Gayrimaddi Hak Alım, Bakım ve Onarım Giderleri		18.920,00 TL
	06.1 Mamul Mal Alımları		
TOPLAM ÖDENEK			23.520,00 TL
4- PROJENİN GELİŞİMİ :			
1. Projenin Kabul Tarihi: 14.10.2014	4. I. Rapor Tarihi : 22.04.2015	Sonuç : (+ / -)	
2. Projenin Başlama Tarihi : 22.10.2014	5. II. Rapor Tarihi :	Sonuç : (+ / -)	
3. Projenin Bitiş Tarihi: 22.10.2015	6. III. Rapor Tarihi :	Sonuç : (+ / -)	
4. Projenin Süresi: 12 Ay	7. IV. Rapor Tarihi :	Sonuç : (+ / -)	
	8. V. Rapor Tarihi :	Sonuç : (+ / -)	
	9. Sonuç Raporu Tarihi: 22.10.2015	Sonuç : (+ / -)	
5- İLGİLİ BÖLÜM VE FAKÜLTE : Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı			
6- PROJENİN UYGULANMASI :			
1. Bu proje 2547 sayılı YÖK Kanununun 4684 sayılı Kanunla değişik 58 maddesi gereğince, Yükseköğretim Kurumları Bilimsel Araştırma Projeleri Hakkında Yönetmelik ve Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Uygulama Yönergesi çerçevesinde yürütülür.			
2. Proje süresinde ve harcama fasıllarında Rektörlük onayı alınmadan değişiklik yapılamaz.			
3. Proje Yöneticisi her 6 ayın sonunda gelişme raporunu, Bölüm Başkanlığı ve ilgili Dekanlık veya Enstitü Müdürlüğü aracılığı ile Rektörlüğe iletmekle yükümlüdür.			
4. Projelerden alınan teçhizat tüm öğretim üyelerinin kullanımına açıktır.			
5. Bir ay geçtiği halde gelişme raporu verilmemiş veya süresi bitmiş olup süre uzatımı talebinde bulunulmamış projeler iptal edilir. Bakiye ödenek, BAP Komisyonu tarafından kabul edilecek yeni projelere tahsis edilir veya diğer projelere aktarılır.			
Adı ve Soyadı		İmza	Tarih
Proje Yöneticisi : Prof. Dr. Serap KARASALIHOĞLU			27.10.2014

Komisyon Başkanı

Prof. Dr. Süleyman PİŞKİN
Rektör Yardımcısı

Ek 3

