



T.C.
ÜSKÜDAR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

NÖROBİLİM ANABİLİM DALI
NÖROBİLİM YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**GABAPENTİNDEN ÜRETİLMİŞ KARBON KUANTUM NOKTALARININ
EPİLEPSİ MODELİ ÜZERİNDE ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

Hüseyin KOYUNCU

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. İ. Tayfun UZBAY**

İSTANBUL-2024

T.C.
ÜSKÜDAR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

NÖROBİLİM ANABİLİM DALI
NÖROBİLİM YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

GABAPENTİNDEN ÜRETİLMİŞ KARBON KUANTUM NOKTALARININ
EPILEPSİ MODELİ ÜZERİNDE ETKİSİNİN İNCELENMESİ

Hüseyin KOYUNCU

Tez Danışmanı
Prof. Dr. İsmail Tayfun UZBAY

İSTANBUL-2024

ÖZET

GABAPENTİNDEN ÜRETİLMİŞ KARBON KUANTUM NOKTALARININ EPILEPSİ MODELİ ÜZERİNDE ETKİSİNİN İNCELENMESİ

Epilepsi beyindeki anormal deşarjların sebep olduğu kronik nörolojik bir hastalıktır. Gabapentin (GBP) ise epilepsi tedavisindeki başarısını pek çok çalışma ile ortaya koymuş antiepileptik bir ilaçtır. Bu çalışmada yüksek doku penetrasyonu kanıtlanmış karbon kuantum noktalarından (KKN) faydalanılmıştır. GBP'den elde edilen karbon kuantum noktalarına sahip gabapentinin (QGBP) sıçan epilepsi modelindeki etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Çalışmada Wistar albino (250-320 g) erkek sıçanlar kullanıldı. GBP ve QGPB 15, 30, 60 ve 120 mg/kg dozunda verildikten 30 dakika sonra 50 mg/kg pentilentetrazol (PTZ) ile epilepsi nöbetleri indüklenmiştir. Ayrıca GBP'nin kontrol grubu olarak salin, QGBP'nin kontrol grubu olarak da sitrik asit (vehikül) uygulandı. Nöbetlerin başlangıç süreleri ve nöbet şiddetleri kaydedildi. GBP ve QGBP'nin etkileri kontrol ve vehikül grupları karşılaştırıldı. Ayrıca, beyin korteksinden alınan kesitler konfokal mikroskop ile incelenerek QGBP'nin beyin dokusunda olası floresan ışması da değerlendirildi. Hem GBP hem de QGBP PTZ ile indüklenen nöbetlerin başlangıç süreleri üzerinde anlamlı bir etki oluşturmazken, 60 ve 120 mg/kg dozlarında nöbetlerin şiddetinde istatistikçe anlamlı düzeyde azalmaya neden oldu. QGBP'nin nöbet şiddeti üzerine inhibe edici etkisi 60 ve 120 mg/kg'lık dozlarda GBP'ye göre istatistikçe daha güçlü bulundu. QGBP verilen grupta kortekste floresan ışma gösterilirken GBP ve kontrol gruplarında ışma olmamıştır. Bu ışma QGBP'nin hem floresan özelliğini hem de kan beyin bariyerini (KBB) geçtiğini somut bir şekilde kanıtlamıştır. Bu çalışma ile GBP ve QGBP moleküllerinin nöbet eşiğı ve şiddeti üzerine etkisi deneysel bir model üzerinde ilk kez değerlendirilmiştir. Bulgularımız KKN içeren moleküllerin daha etkili olabileceğine işaret etmektedir. Bununla beraber, kesin konuşabilmek için bu bulguları teyit eden ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Gabapentin, Epilepsi, Epilepsi Modeli, Karbon Kuantum Noktası, Nöbet, Pentilentetrazol

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF CARBON QUANTUM DOTS DERIVED FROM GABAPENTIN ON AN EPILEPSY MODEL

Epilepsy is a chronic neurological disease caused by abnormal discharges in the brain. Gabapentin (GBP) is an antiepileptic drug that has been shown to be successful in the treatment of epilepsy in many studies. This study utilized carbon quantum dots (CCDs) with proven high tissue penetration. The aim was to evaluate the effects of gabapentin with carbon quantum dots (QGBP) obtained from GBP on a rat epilepsy model. Wistar albino (250-320 g) male rats were used in the study. GPP and QGPB were administered at doses of 15, 30, 60 and 120 mg/kg, and 30 minutes later, epileptic seizures were induced with 50 mg/kg pentylenetetrazol (PTZ). In addition, saline was administered as the control group for GBP, and citric acid (vehicle) was administered as the control group for QGBP. The onset times of seizures and seizure severities were recorded. The effects of GBP and QGBP were compared with the control and vehicle groups. In addition, sections taken from the cerebral cortex were examined with a confocal microscope to evaluate the possible fluorescent luminescence of QGBP in the brain tissue. While neither GBP nor QGBP had a significant effect on the onset times of PTZ-induced seizures, they caused a statistically significant decrease in the severity of seizures at doses of 60 and 120 mg/kg. The inhibitory effect of QGBP on seizure severity was found to be statistically stronger than GBP at doses of 60 and 120 mg/kg. While fluorescent luminescence was observed in the cortex in the QGBP group, no luminescence was observed in the GBP and control groups. This luminescence concretely proved both the fluorescence property of QGBP and its ability to cross the blood-brain barrier (BBB). This study evaluated the effects of GBP and QGBP molecules on seizure threshold and severity in an experimental model for the first time. Our findings indicate that molecules containing KKN may be more effective. However, further studies confirming these findings are needed to be able to speak definitively.

Keywords: Gabapentin, Epilepsy, Epilepsy Model, Carbon Quantum Dots, Seizure, Pentylenetetrazole

TEŞEKKÜR

Engin bilgisi ve tecrübesi ile tezime, kusursuz kiŐiliĐi ile de yaŐamıma yön veren tez danışmanım Prof. Dr. İ. Tayfun Uzbay'a minnettarım.

Bilgi birikimi ile tezime ve bilime farklı bir pencereden bakan saygıdeğer hocam Prof. Dr. İ. Tuncer Değim'e ve ekibine müteŐekkirim.

Tez yazım ve laboratuvar sürecim boyunca hep yanımda bulunan Dr. Öğr. Üyesi AyŐe Özçetin'e teşekkür ederim.

Özellikle deney aşamasında sakinliği, bilgisi ve tecrübesi ile yükümü hafifleten kıymetli Dr. Öğr. Üyesi Burcu Çevreli'ye de teŐekkürü bir borç bilirim.



BEYAN FORMU

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğunu, tarafımdan üretildiğini ve Üsküdar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzuna göre yazıldığımı beyan ederim.

26/11/2024

Hüseyin KOYUNCU

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
BEYAN FORMU	iv
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
RESİMLER DİZİNİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Epilepsi	3
2.1.1. Tanım ve tarihçe	3
2.1.2. Türleri	3
2.1.3. Epidemiyoloji	4
2.1.4. Tanı kriterleri	4
2.1.5. Etiyoloji ve risk faktörleri.....	5
2.1.6. Epilepsinin tedavi yöntemleri	6
2.1.6.1. Voltaj kapılı iyon kanallarının modülasyonu	6
2.1.6.2. Eksitatör nörotransmitterlerin azaltılması.....	7
2.1.6.3. İnhibitör nörotransmitterlerin artırılması	7
2.1.6.4. Diyet	8
2.1.6.5. Cerrahi müdahale.....	8
2.2. Deneysel Hayvan Modelleri ve Epilepsi	10
2.2.1. Basit parsiyel epilepsinin akut modelleri.....	11
2.2.2. Basit parsiyel epilepsinin kronik modelleri	11

2.2.3. Kompleks parsiyel epilepsi modelleri	11
2.2.4. Petit mal epilepsi modelleri	11
2.2.5. Status epileptikus modelleri.....	12
2.2.6. Grand mal (jeneralize tonik-klonik) epilepsi modelleri.....	12
2.2.6.1. Pentilentetrazol (PTZ) modeli	12
2.3. Karbon Kuantum Noktası (KKN).....	14
2.3.1. Karbon kuantum noktasının avantajları.....	14
2.3.2. Karbon kuantum noktasının kullanım alanları	14
2.3.3. Karbon kuantum noktası elde yöntemleri.....	14
2.3.3.1. Yukarıdan aşağıya yöntemler	14
2.3.3.2. Aşağıdan yukarıya yöntemler	15
2.3.4. Karbon kuantum noktasının elde metodu.....	15
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	17
3.1. Deney Hayvanları ve Etik Koşullar	17
3.2. Laboratuvar.....	17
3.3. Deneysel Prosedür	17
3.4. Deneyin Sonlandırılması	20
3.5. Kesit Alma Yöntemi	20
3.6. Konfokal Mikroskop Görüntüleme Yöntemi	21
3.7. İstatistiksel Analiz	21
4. BULGULAR.....	22
4.1. Nöbete Giriş Süresi Üzerine GBP ve QGBP'nin Etkileri	22
4.2. Nöbete Giriş Süresi Üzerine GBP ve QGBP'nin Etkilerinin Karşılaştırılması.....	23
4.3. Nöbet Şiddeti Üzerine GBP ve QGBP'nin Etkileri	26
4.4. Nöbet Şiddeti Üzerine GBP ve QGBP'nin Etkilerinin Karşılaştırılması	28
4.5. Korteksten Alınan Kesitlerde Floresan Işıma	30
5. TARTIŞMA.....	32

6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	37
KAYNAKLAR	38
EKLER	44
Ek 1. Etik Kurul Onayı	44



ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1: Gama aminobütirik asidin kimyasal yapısı.....	7
Şekil 2: Gabapentinin kimyasal yapısı.....	8
Şekil 3: Pentilentetrazolün kimyasal yapısı.....	13
Şekil 4: Nöbete giriş süresi üzerine GBP'nin etkileri (her grupta n= 8; * p<0,05 – Mann-Whitney U testi).....	22
Şekil 5: Nöbete giriş süresi üzerine QGBP'nin etkileri (her grupta n= 8; * p<0,05 – Mann-Whitney U testi).....	23
Şekil 6: Nöbete giriş süresi. Kontrol (salin) ve kuantum kontrol (sitrik asit, vehikül) grupları (n= 8 her bir grupta).	24
Şekil 7: Nöbete giriş süresi. GBP ve QGBP'nin 15 mg/kg dozu verilen grupların karşılaştırılması (n= 8 her bir grupta).	24
Şekil 8: Nöbete giriş süresi. GBP ve QGBP'nin 30 mg/kg dozu verilen grupların karşılaştırılması (n= 8 her bir grupta).	25
Şekil 9: Nöbete giriş süresi. GBP ve QGBP'nin 60 mg/kg dozu verilen grupların karşılaştırılması (n= 8 her bir grupta).	25
Şekil 10: Nöbete giriş süresi. GBP ve QGBP'nin 120 mg/kg dozu verilen grupların karşılaştırılması (n= 8 her bir grupta).	26
Şekil 11: Nöbet şiddeti üzerine GBP'nin etkileri (her grupta n= 8; p<0,05 – Mann-Whitney U testi).....	27
Şekil 12: Nöbet şiddeti üzerine QGBP'nin etkileri (her grupta n= 8; p<0,05 – Mann-Whitney U testi).....	27
Şekil 13: Nöbet Şiddeti. Kontrol (salin) ve kuantum kontrol (sitrik asit, vehikül) grupları (n= 8 her bir grupta).....	28
Şekil 14: Nöbet şiddeti. GBP ve QGBP'nin 15 mg/kg dozu verilen grupların karşılaştırılması (n= 8 her bir grupta).	29
Şekil 15: Nöbet şiddeti. GBP ve QGBP'nin 30 mg/kg dozu verilen grupların karşılaştırılması (n= 8 her bir grupta).	29
Şekil 16: Nöbet şiddeti. GBP ve QGBP'nin 60 mg/kg dozu verilen grupların karşılaştırılması (n= 8 her bir grupta; * p<0,05).....	30
Şekil 17: Nöbet şiddeti. GBP ve QGBP'nin 120 mg/kg dozu verilen grupların karşılaştırılması (n= 8 her bir grupta; * p<0,05).....	30

RESİMLER DİZİNİ

Sayfa

Resim 1: Kuantum gabapentinin floresan ışıması.....	16
Resim 2: Gözlem kafeslerinde sıçanlar.....	19
Resim 3: Konfokal mikroskop ile saptanan QGBP'nin korteks dokusunda neden olduğu yoğun floresan ışımaya.....	31



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

GBP : Gabapentin

KKN : Karbon Kuantum Noktası

QGBP : Gabapentinden Elde Edilmiş Karbon Kuantum Noktası (Kuantum Gabapentin)

PTZ : Pentilentetrazol

KBB : Kan Beyin Bariyeri

MSS : Merkezi Sinir Sistemi

GABA : Gama Aminobütirik Asit

ILAE : International League Against Epilepsy (Uluslararası Epilepsiyle Savaş Derneği)

EEG : Elektroensefalografi

GHB : Gamahidroksibütirat

Ip : İntraperitoneal

NPFUAM : Nöropsikofarmakoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi

ÜSKÜDAB: Üsküdar Üniversitesi Deneysel Araştırma Birimi

1. GİRİŞ

Epilepsi beyindeki anormal deşarjların oluşturduğu tekrarlayan kronik nörolojik bir hastalıktır (Panebianco ve ark., 2021). Dünya sağlık örgütünün verilerine göre her yıl ortalama 5 milyon kişiye epilepsi tanısı koyulmaktadır (Filiz ve Karabulut, 2022). Dünya nüfusunun %2'si bu hastalıktan etkilenmektedir (Chen ve ark., 2022). Dünya çapında ölümlerin %0,3'ünden epilepsi sorumludur (Guerreiro, 2016).

Epilepsinin etiyojisi tam olarak tanımlanamamıştır ancak en yaygın kabul gören hipotez merkezi sinir sistemindeki (MSS) inhibitör ve eksitator nörotransmitter dengesizliğinin nöbetlere sebep olduğudur (Aronica ve Mühlebner, 2017). Epilepsinin gelişim sürecinin kavranabilmesi, etiyojisinin anlaşılabilmesi, ilaçların çalışma prensibi ve etkilerinin gözlemlenebilmesi için hayvan deneylerine ihtiyaç duyulmaktadır (Özkan, 2020). Hayvanlarda epilepsi modeli oluşturabilmenin elliden fazla alternatifi bulunmaktadır (Fisher, 1989). Bazı kimyasallar deney hayvanlarında epilepsi modellemek için kullanılır. Pentilentetrazol (PTZ) kemirgenlerde epilepsi modellemek için sık kullanılan bir kimyasaldır. PTZ ile oluşturulan nöbet modellerinde nöbet geçiren denek yüzdesi, nöbetin başlangıç süresi ve şiddeti kolaylıkla gözlemlenebilmekte ve hesaplanabilmektedir. Oluşan nöbetler Gama aminobütirik asidin (GABA) PTZ ile baskılanması sonucu ortaya çıkmaktadır (Shimada ve Yamagata, 2018). Sıçanlarda genelleştirilmiş tonik-klonik nöbetlere sebep olan bu yöntem (Velíšek, 2006) insanlardaki jeneralize nöbetlere benzemektedir (Rubio ve ark., 2010).

Literatür verilerine göre GBP epilepsi tedavisinde en çok reçete edilen antiepileptik ilaçlardan biridir. Bu ilacın nöbet sıklığını ve şiddetini azalttığı iyi bilinmektedir (Gupta, 2023). GABA nörotransmitterinden esinlenilerek üretilmesine rağmen GBP, GABA salıverilmesini baskılamaksızın ve GABA reseptörlerine bağlanmaksızın etkisini göstermektedir (Mares ve Haugvicová, 1997). GABA sedasyondan sorumlu en önemli nörotransmitter olduğundan, GABA ile etkileşimsiz nöbetler üzerine etkili olması avantaj olarak değerlendirilmiş ve ilacın kullanım yaygınlığını artırmıştır (Gupta, 2023).

Floresan karbon kuantum noktaları (KKN) yeni ve ilginç bir ilaç molekülü oluşturma tekniğidir ve son zamanlarda nörolojik alanda da önemi artmaktadır (Sharma et al., 2024). KKN'lerin boyutları 1-10 nm arasında değişiklik göstermektedir (Camlik

ve ark., 2024). Biyouyumluluğunun yüksekliği, toksisitesinin düşükliğü ve kolay sentezlenebilir olması kullanım alanlarını artırmıştır (Das ve ark., 2024). Bununla beraber, ilaçların KKN ile dönüştürülmesi ve etkileri konusunda literatürdeki çalışmalar oldukça kısıtlıdır. Bu tez çalışması GBP'nin KKN ile QGBP'ye dönüştürülmesi ve PTZ ile indüklenen deneysel epilepsi modelinde GBP ile QGBP etkinliği karşılaştırılarak değerlendirilmesine odaklanmıştır. Ayrıca da QGBP'nin kan-beyin bariyerini (KBB) geçip geçemediğinin gösterilmesi ve beyin korteksinde floresan ışıma özelliğinin konfokal mikroskop yardımı ile görüntülenmesi ve kanıtlanması hedeflenmiştir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Epilepsi

2.1.1. Tanım ve tarihçe

Epilepsi terimi Yunanca saldırmak ve ele geçirmek anlamına gelen epilam-banein kavramından türetilmiştir (Goldenber, 2010). Epilepsiye dair ilk bulgular M.Ö. 2500'lerde Mezopotamya'da Sümer belgelerinde bulunmuştur. Bu belgelerde bilinçsiz ama gözleri açık, ekstremiteleri gergin ve ağzı köpüren bir kişi tasvir edilmiştir (Patel ve Moshé, 2020). O dönemde bulunan kaynaklara göre bu durum "düşme hastalığı" olarak isimlendirilmiştir. Epilepsi M.Ö. 400 yılında Hipokrat tarafından ilk kez bir beyin bozukluğu olarak tarif edilmiştir (Goldenberg, 2010). Günümüzde ise epilepsi beyindeki anormal deşarjların oluşturduğu öngörülemeyen ve tekrarlayan nöbetler ile karakterize kronik, nörolojik bir hastalık olarak kabul edilmektedir (Panebianco ve ark., 2021). Bu anormal deşarjlar her beyinde görülebilir ancak epilepsi hastalarının deşarj eşiği düşük olmasından kaynaklı nöbete sebep olmaktadır (Balestrini ve ark., 2021).

Nöbetin MSS'yi etkileyen yapısal, sistematik, toksik veya metabolik hasarı gibi nedenlerle oluşması durumuna provoke edilmiş nöbet denilmektedir. Nöbete sebep olan durum ortadan kaldırıldığı takdirde nöbet tekrar görülmeyebilir. Tetikleyici bir sebebe bağlanamayan nöbetlere ise provoke edilmemiş nöbet denilmektedir. International League Against Epilepsy (Uluslararası Epilepsiyle Savaş Derneği- ILAE) göre en az 24 saat arayla 2 defa provoke edilmemiş nöbetin gerçekleşmesi durumunda hasta epilepsi tanısı alabilmektedir (Beghi, 2020).

2.1.2. Türleri

Epileptik nöbetler ilk olarak 1960 yılında ILAE tarafından sınıflandırılmıştır ancak zaman içerisinde sınıflandırmalar değişmiştir (Akdağ ve ark., 2016). Bugün ILAE'nin 2017 yılında nöbet başlangıcına göre kategorize ettiği sınıflandırma geçerliliğini korumaktadır. Bu sınıflandırılan nöbetler özelliklerine, sebeplerine ve başladığı beyin bölgelerine göre isimlendirilmektedirler (Günbey ve Turnalı, 2022). Doğru tanılama ve tedavi için epilepsi türlerini iyi anlamak gerekmektedir (Gupta, 2023).

Epilepsi fokal ve jeneralize olmak üzere iki ana gruba ayrılmaktadır. Bu iki ana grup tanı sürecinde dikkat edilmesi gereken ilk husustur (Ferrie, 2005). Fokal epilepsi nöbetleri nöbetin başladığı beyin bölgesine göre isimlendirilmektedirler. Bu nöbetler frontal lob, temporal lob, parietal lob ve oksipital lob nöbetleri olarak gruplara ayrılmaktadırlar (Chowdhury ve ark., 2021).

Jeneralize nöbetler ise bilateral ağlardan kaynaklanmakta ve tüm beyin bölgelerini kısa sürede etkilemektedirler (Beghi, 2020). Jeneralize nöbetler tonik, klonik, tonik-klonik, miyoklonik, atonik olarak gruplara ayrılmaktadırlar (Akdağ ve ark., 2016). Jeneralize nöbetler tüm epilepsi türleri içerisinde %15-20'yi oluşturmaktadır (Perucca ve ark., 2020). Jeneralize epilepsi kategorileri arasında en yaygın olan ise tonik-klonik nöbetlerdir (Özçora ve ark., 2020).

2.1.3. Epidemiyoloji

Epilepsi her coğrafya ve ırkta görülebildiği gibi yaş ve sosyal sınıf da ayırt etmemektedir (Beghi, 2020). Ancak 60 yaşın üzerindeki bireylerde ve erkeklerde görülme sıklığı daha fazladır (Honarmand ve ark., 2011; Beghi, 2020). Yaygın nörolojik hastalıklar arasında yer alan bu hastalık dünya üzerinde 70 milyon kişiyi etkilemektedir (Gupta, 2023). Dünya Sağlık Örgütü'nün verilerine göre her yıl yaklaşık 5 milyon kişiye epilepsi tanısı koyulmakta (Filiz ve Karabulut, 2022) ve dünya nüfusunun %2'sinin bu hastalıktan etkilendiği düşünülmektedir (Chen ve ark., 2022). Yapılan araştırmalara göre dünya üzerindeki tüm ölümlerin %0,3'ünün sorumlusu epilepsidir (Guerreiro, 2016).

2.1.4. Tanı kriterleri

Epilepsi tanısı uygun tetkiklerden elde edilen verilere göre nöroloji uzmanları tarafından koyulmaktadır. Nöbeti geçiren hastanın ve nöbete tanıklık eden kişinin söylemleri diğer bir deyiş ile hastanın öyküsü tanı için oldukça önemlidir ancak yine de doğru tanı ve tedavi için tetkiklere ihtiyaç duyulmaktadır (Aktekin ve ark., 2012). Elektroensefalografi (EEG) epilepsi şüphesi duyulan her hasta için başvurulması gereken ilk yöntemdir. Bu yöntem kafa derisinde saç olmasına bakılmaksızın yerleştirilen elektrotlar ile beyinde üretilen postsinaptik potansiyelleri ölçmeye ve kaydetmeye yaramaktadır (Smith, 2005). Hastaların yaklaşık %50'si EEG yöntemi sayesinde doğru tanı almaktadır (Akdağ ve ark., 2016).

Epilepsinin sebebi yapısal anormallikler de olabilmektedir. Bu yapısal bozuklukların tespit edilebilmesi için de Manyetik Rezonans Görüntüleme yöntemine başvurulmaktadır (Aktekin ve ark., 2012).

Şüpheler doğrultusunda tek bir gen veya gen grupları için genetik testler yapılabilmektedir (Stafstrom ve Carmant, 2015). Tek genin kusurlu olduğu durumlarda hedefli ilaç tedavisine başvurulmaktadır. (Symonds ve ark., 2017). Ayrıca laboratuvar testleri de kimi durumlarda bazı hastalıkların dışlanabilmesi için başvuru olan başka bir yöntemdir (Aktekin ve ark., 2012).

2.1.5. Etiyoloji ve risk faktörleri

Epilepsinin etiyojisi tam olarak açıklanamamıştır. En çok kabul gören görüş ise nöronların göreceli hiperaktivitesi sebebiyle MSS'deki inhibitör ve eksitatör nörotransmitterlerin arasındaki dengesizliktir. (Aronica ve Mühlebner, 2017). Yine de ILAE epilepsinin etiyojisini yapısal, genetik, enfeksiyöz, metabolik ve immün olmak üzere beş kategoriye ayırmıştır (Balestrini ve ark., 2021).

Yapısal bozuklukların en yaygın olanı lezyonlardır. Lezyonlar epilepsiye sebep olabilmektedirler ancak bu noktada önemli olan lezyonun yapısı değil bulunduğu beyin bölgesidir. Ayrıca travmatik beyin hasarı da epilepsiye sebep olabilmektedir. Özellikle temporal lob hasarından sonra nöbetlerin oluştuğuna dair bulgular mevcuttur (Balestrini ve ark., 2021). Yaşlılık ile nörodejenerasyonun artması da epilepsinin görülme sıklığını artırmaktadır (Nascimento ve ark., 2023).

Genetik varyantın, doğrudan beyin aktivitesini veya gelişimini etkileyecek proteinleri bozması halinde epilepsi ortaya çıkabilmektedir. Sadece gen varyantları değil kromozomal dengesizlikler de epilepsiye sebep olabilmektedir (Balestrini ve ark., 2021). Genetik varyanttan kaynaklı epilepsi 1/2000 sıklıkta görülmektedir (Perucca ve ark., 2020).

Özellikle gelişmekte olan ülkelerde epilepsinin en büyük nedeni serebral enfeksiyonlardır. Epilepsinin görülmesi için enfeksiyonların beyni doğrudan etkilemesine gerek yoktur. Enfeksiyonun etkileri, beyne verdiği hasar, vücudun ürettiği toksin ve inflamasyonun indüklenmesi gibi durumlar da nöbetlere sebep olabilmektedirler (Balestrini ve ark., 2021).

Edinilmiş veya genetik metabolik bozukluklar da epilepsiye sebep olabilmektedir. Organ yetmezliği, otoimmün nedenler, yetersiz beslenme, ekzojen ilaçlar veya toksinler edinilmiş metabolik nedenler arasında yer almaktadırlar (Balestrini ve ark., 2021). Metabolik nedenlerden kaynaklı epilepsi daha çok jeneralize nöbetler ile bağlantılıdır (Nascimento ve ark., 2023). Doğuştan gelen metabolik bozukluklar her yaşta ortaya çıkabilir ancak genellikle çocukluk döneminde görülmektedir. Metabolik nedenler ile ortaya çıkan durumlarda antiepileptik ilaçlar düşük yanıtlar vermekteyken metabolik bozukluğun düzeltilmesi durumunda epilepsi tedavisinde daha iyi sonuçlar alınmaktadır (Balestrini ve ark., 2021).

Bazı sitokinlerin salıverilmesi sonucunda oluşan patolojilerin epilepsi geliştirebileceğine dair kanıtlar bulunmaktadır. Bu durumlarda da sitokinlerin hedeflendiği tedavi yöntemleri antiepileptik etkiyi sağlamaktadır (Balestrini ve ark., 2021).

2.1.6. Epilepsinin tedavi yöntemleri

Epilepsinin tedavisi diğer tüm hastalıklarda olduğu gibi; belirtileri diğer bir deyiş ile nöbetleri ortadan kaldırmak veya nöbet sıklığını olabildiğince düşürmek ve hastaların normal bir yaşam sürmelerini sağlamaktır. Bu hedefler doğrultusunda olabildiğince yan etkilerden kaçınmak temel sorumluluktur (Goldenber, 2010). Tam anlamıyla epilepsi tedavisinde henüz başarılı olunamamıştır (Ali, 2018). Günümüzde epilepsi tedavisi için en sık başvurulan yöntem kronik ilaç kullanımınıdır ve bu ilaçlara antiepileptik ilaçlar denilmektedir (Gupta, 2023). Pek çok farklı yöntem ile epilepsi kontrol altına alınmaya çalışılmaktadır. Ne yazık ki tüm dünya bu yöntemlere eşit oranlarda sahip değildir. Gelişmiş ülkelerde tedavi açığı %10 iken gelişmemiş ülkelerde bu oran %75'i bulabilmektedir (Guerreiro, 2016). Tedavi açığı da göz önünde bulundurulduğunda gelişmekte olan ülkelere göre ölüm oranları oldukça yüksektir (Thurman ve ark., 2017).

2.1.6.1. Voltaj kapılı iyon kanallarının modülasyonu

Sodyum kanalları gibi kalsiyum kanalları da aksiyon potansiyelini başlatmakta ve yaymakta önemli bir role sahiptir. Bu kanalların baskılanması için kronik kullanıma uygun ilaçlar geliştirilmiştir (Menezes ve ark., 2020; Rajakulendran ve Hanna, 2016).

Voltaj kapılı potasyum kanalları nöronal ateşlemenin ardından hücre zarının tekrar polarize olmasında görev almaktadır. Bu özelliğin güçlendirilmesi ile hücrenin

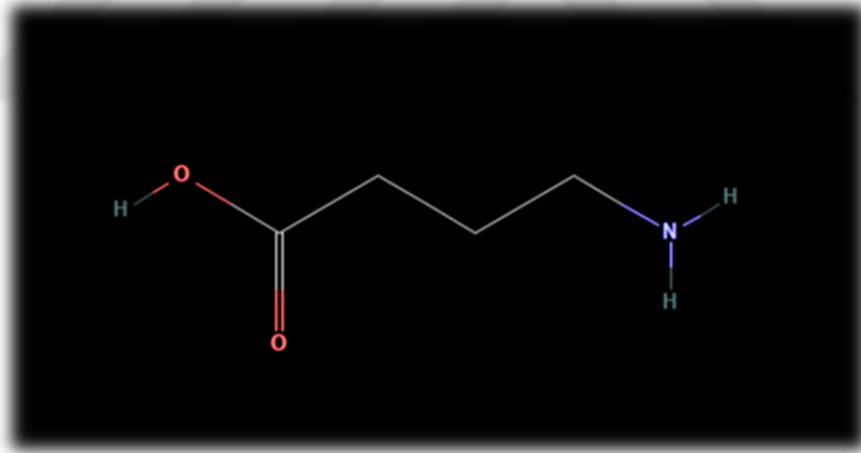
uyarılabirlik düzeyinin azaltıldığı tedavi yöntemi de bulunmaktadır (Sills ve Rogawski, 2020).

2.1.6.2. Eksitator nörotransmitterlerin azaltılması

Glutamat memeli beynindeki en önemli uyarıcı nörotransmitterdir (Sills ve Rogawski, 2020). Aşırı uyarılma veya uyarılmanın uzun sürmesi epileptik nöbetleri tetikleyebileceği için pek çok anti-epileptik ilaç bu mekanizmanın baskılanmasını hedeflemektedir (Sarlo ve Holton, 2021).

2.1.6.3. İnhibitör nörotransmitterlerin artırılması

GABA salgılanan tüm nörotransmitterlerin %40'ını oluşturmaktadır ve beynimizde en çok salgılanan inhibitör nörotransmitterdir (Şekil 1). Salgılanan GABA nörotransmitteri beynimizdeki GABA-A ve GABA-B reseptörlerine bağlanmaktadır. İnhibitör etkisini bu reseptörlere bağlanması sonucunda gerçekleştirmektedir (Sills ve Rogawski, 2020).



Şekil 1: Gama aminobütirik asidin kimyasal yapısı.

GABA'nın GABA-A reseptörüne bağlanması kanalın açılmasında ve hücre içerisine klor iyonunun girmesinde görev almaktadır. Hücre içerisine giren klor nöronal elektriksel aktivitenin hızla inhibisyonunu sağlamaktadır. İn vitro ortamda memeli beyninde GABA-A iletiminin azalması durumunda neokortekste epileptiform elektriksel boşalmalar gözlemlenmektedir (Bambal ve ark., 2011).

GABA'nın GABA-B reseptörüne bağlanması durumu ise potasyum akımını artırmakta ve kalsiyum iyon girişini azaltmaktadır. Kalsiyumun hücre içerisine

girememesi diğer nörotransmitterlerin presinaptik olarak salıverilmesini de inhibe etmektedir (Bambal ve ark., 2011).

2.1.6.4. Diyet

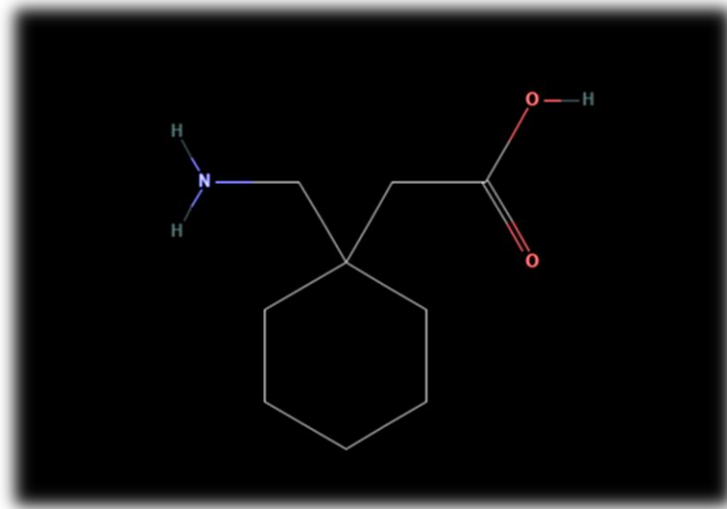
Son zamanlarda beslenme şeklinin de epilepsi üzerinde etkili olduğu kanıtlanmış olup diyetler ile epilepsi nöbetleri kontrol altında tutulmaya çalışılmaktadır (Manral ve ark., 2023).

2.1.6.5. Cerrahi müdahale

Yukarıda yer alan tedavi yöntemlerine ek olarak lezyondan kaynaklı epilepsi için en başarılı sonuç cerrahi müdahalede görülmektedir. Eşlik eden başka bir hastalığın olmadığı durumlarda cerrahi müdahale %70'e varan başarı ile sonuçlanmaktadır (Khoo ve ark., 2022).

2.1.7. Gabapentin (GBP)

GBP epilepsi tedavisi için en çok reçete edilen ilaçlardan birisidir. Nöbet sıklığını azalttığı pek çok çalışma ile gösterilmiştir (Gupta, 2023) GBP GABA'nın yapısından esinlenerek üretilmiştir. GBP aslında GABA'nın lipofilik yapısına sikloheksan halkasının eklenmiş halidir (Korn-merker ve ark., 2000) (Şekil 2). Yapısındaki sikloheksan KBB'yi geçmesini sağlamaktadır. GABA nörotransmitterine bu denli benzemesine rağmen GABA-A veya GABA-B reseptörlerine bağlanmamaktadır (Mares ve Haugvicová, 1997).



Şekil 2: Gabapentinin kimyasal yapısı.

1993 yılında U.S Food and Drug Administration (Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi, FDA) tarafından yetişkinlerin kısmi nöbetlerini tedavi etmesi için onaylanmıştır (Gupta, 2023). 1994 yılından bu yana ise parsiyel nöbetlerin tedavisinde 12 yaşın üzerindeki hastalara reçete edilmektedir (Honarmand ve ark., 2011).

GBP etkisini voltaj kapılı kalsiyum kanallarından $\alpha 2\delta$ (alfa 2 delta) birimine bağlanarak göstermektedir. Bu bağlanma sonucunda nöronlara kalsiyum akışını azaltmakta ve nöronal uyarılabilirliği düşürmektedir (Quintero, 2017). GBP beyindeki GABA sentezini ve konsantrasyonunu artırabilmektedir bu artış da nöbet olasılığını azaltmakta ve ayrıca analjezik etki oluşturmaktadır (Gupta, 2023).

GBP'nin yan etkileri hafif veya orta şiddetlidir. Baş dönmesi, uyuşukluk, yorgunluk, baş ağrısı ve vücut koordinasyonunun bozulması gibi MSS'yi etkileyen yan etkileri bulunmaktadır. Sindirim sistemi üzerindeki etkileri ise mide bulantısı, kusma ve ishal ile sınırlıdır. El, ayak ve ayak bileklerinde periferik ödemler oluşturabilmektedir. Depresyon, anksiyete ve sinirlilik gibi sıralanabilecek davranışsal değişiklikler görülebilmektedir. Çift ve bulanık görme gibi problemler de ortaya çıkabilmektedir. Cilt döküntüsü, kaşıntı, kurdeşen ve anjiyoödem görülebilmektedir. Karaciğerde metabolize edilmediği için yaşlı ve karaciğer hastalarında da kullanılabilir (Nwankwo ve ark., 2024). Anne karnında ilk üç ayda GBP'ye maruz kalan çocuklarda doğum sonrası önemli bir etki gözlemlenmemiştir (Yasaei ve ark., 2024). Başka ilaçlar ile daha az etkileşime girmektedir. Vücutta metabolize edilerek GABA'ya dönüşmemektedir. GBP'nin kullanımı sonlandırıldıktan sonra yoksunluk belirtilerinin gözükme ihtimali oldukça düşüktür. Bu durumda GBP'nin bağımlılık yapmadığı ileri sürülmüştür (Martin ve Gainer, 2022). Bu yan etkilerin göze alınabilir düzeyde olması ve yukarıda sıralanan avantajlar GBP'nin kullanım yaygınlığını zaman içerisinde artırmıştır (Gupta, 2023). GBP sadece epilepsi tedavisi için değil ayrıca migren, huzursuz bacak sendromu, psikiyatrik bozuklukların, nöropatik ve diğer kronik ağrıların tedavisinde de kullanılmaktadır (Honarmand ve ark., 2011; Ayala-Guerrero ve ark., 2019).

GBP'nin insan vücudunda yarılanma ömrü 5-7 saat aralığındadır. Vücudun GBP'yi tamamen sisteminden atması 2 gün sürmektedir (Yasaei ve ark., 2024). Bu eliminasyon sürecinde öncelik renal atılım yoluna verilmektedir (Fuzier ve ark., 2013).

GBP'nin farklı formları bulunmaktadır. Bunlar; 600 mg ve 800 mg dozlarında tablet, 100 mg, 300 mg ve 400 mg kapsül formunda ve 250 mg/ 5 ml oral süspansiyon olmak üzere 3 farklı formda bulunmaktadır (Hoofnagle, 2013).

GBP ile epilepsi tedavisine 300 mg/günlük doz ile başlanmaktadır. Bu doz kademeli artış ile günde 3 defaya kadar çıkarılabilir (Nwankwo ve ark., 2024). Günlük güvenli maksimum doz sınırı ise 4800 mg ile sınırlandırılmıştır. Reçete edilme sebebine göre maksimum dozlar değişiklik gösterebilmektedir. İlk dozun akşam alınması ve ilaç bırakılırken bir haftadan daha uzun bir sürede azaltılarak bırakılması tavsiye edilmektedir (Yasaei ve ark., 2024).

2.2. Deneysel Hayvan Modelleri ve Epilepsi

Milattan önce 6. yüzyıldan bu yana bilimsel çalışmalarda hayvanlar bizlere destek olmuşlardır (Robinson ve ark., 2019). Günlük yaşamı, fizyolojisi, anatomik ve genetik yapısı insanlara benzeyen hayvanlar ile deneyler yapılmaktadır (“why animals are used in research” 2024). Deneylerin neredeyse %95’inde insana benzer özelliklerinden kaynaklı fareler ve sıçanlar tercih edilmektedir (“The Importance of Animal Research” par.8).

Tüm deneysel hayvan modellerinde olduğu gibi epilepsi modellemesinde de hastalığın gelişiminin kavranması, ilaçların çalışma prensibinin anlaşılabilmesi ve etkilerinin gözlemlenebilmesi için hayvan deneyleri bizlere yardımcı olmaktadır (Bizière ve Chambon, 1987; Özkan, 2020). Hayvan epilepsilerini önleyen ilaçların insan epilepsilerini de önlediği görülmektedir (Bizière ve Chambon, 1987). Hayvanlar ile deneysel epilepsi modeli oluşturmanın birçok yöntemi bulunmaktadır. Model seçimi belirlenirken çalışılan hipotez, modellenecek epilepsinin tipi ve aşinalık gibi çeşitli faktörler göz önünde bulundurulmalıdır (Fisher, 1989). Ancak, kemirgenlerde ve kimyasallar ile indüklenen nöbetlerin sonucunda farmakolojik yetenekler gözlemlenmektedir (Yuen ve Trocóniz, 2015).

Tarihte ilk epilepsi modeli kediler üzerinde gerçekleştirilmiştir. Kedinin ağzına ve kafa derisine dikdörtgen biçimde yerleştirilmiş elektrotlar 45 voltluk bir pil ile uygulanan akım sayesinde ilk epilepsi nöbeti modellenmiştir (Kupferberg, 2001).

2.2.1. Basit parsiyel epilepsinin akut modelleri

Penisilinin pamuğa emdirilmesi ve kortekse topikal uygulanması sonucunda insanlarda travma sonucu oluşan epilepsiye benzer bir model oluşmaktadır. Penisilin yerine bikukulin de aynı yöntem ile duyuşsal-motor kortekse uygulandığı durumlarda epilepsi nöbeti oluşturmaktadır (Özkan, 2020; Fisher, 1989).

Sistemantik pikrotoksin uygulanması durumunda minimal ve maksimal nöbetler indüklenmektedir. Son olarak basit parsiyel akut epilepsi modeli için striknin intravenöz enjeksiyonu ile jeneralize nöbetler oluşturulmaktadır (Özkan, 2020).

2.2.2. Basit parsiyel epilepsinin kronik modelleri

Beyin korteksine uygulanan alüminyum, kobalt, nikel, krom, kalay, tungsten, bizmut, kadmiyum, titanyum, demir, cıva, vanadyum, berilyum, kurşun ve çinko gibi metaller epilepsi nöbeti oluşturmaktadır (Özkan, 2020; Fisher, 1989).

Korteksin belirli bölgelerinin soğutulması ile epilepsi nöbetinde oluşan dalgalara benzer dalgalar EEG çekiminde gözükmetedir (Özkan, 2020).

Sağlıklı sıçanların serebral hemisfere 0,25 cc radyasyon uygulanması sonucunda 3-6 ay sonra KBB'nin bütünlüğü bozulmakta ve basit parsiyel epilepsi ortaya çıkmaktadır (Fisher, 1989).

2.2.3. Kompleks parsiyel epilepsi modelleri

Sistemantik olarak hipokampüse kainik asit enjeksiyonu parsiyel nöbetlere sebep olmaktadır. Bikukulin, karbakol veya kainik asidin pikomol düzeyin tek doz ve tek taraflı prefrontal kortekse mikroenjeksiyonu sonucunda farklı bir bölgede bilateral motor nöbetler ortaya çıkmaktadır (Özkan, 2020).

Tutuşma modeli ise fokal elektriksel stimülasyon ve kimyasal uyarılar ile oluşturulan epilepsi modelidir (Dhir, 2012).

2.2.4. Petit mal epilepsi modelleri

Beyin korteksinin her iki tarafında da konvülsiyona sebep olabilecek maddeler ile oluşturulan nöbetlerdir. Gama Hidroksi Bütirat (GHB) metabolitleri içermektedir. GHB uygulanan hayvanlarda miyoklonik kasılmalar ve göz bebeklerinde genişlemeler

görülmektedir. Pentapeptid yapılı lösin enkefalin uygulandığında 60 saniye içerisinde paroksizmal elektrikler deşarjlar başlamaktadır (Özkan, 2020; Fisher, 1989).

2.2.5. Status epileptikus modelleri

Sıçanların kafasında açılan bir delik ile beynin dura tabakasına 25 mg toz kobalt uygulamasının ardından EEG çekiminde diken dalgalar veya motor nöbetler oluştuğu gözlemlenmiştir. Homosistein ajanı ile de Status epileptikus modeli oluşturulabilir. Bu ajan ile tonik-klonik nöbetler indüklenmektedir (Özkan, 2020).

2.2.6. Grand mal (jeneralize tonik-klonik) epilepsi modelleri

Primatlara uygun olarak tasarlanmış sandalyeye oturtulan papio papio babunlarda stroboskopik stimülasyon ile tonik-klonik nöbetler indüklenebilmektedirler (Özkan, 2020).

DBAI2J ve SJLIJ cinsi fareler genetik olarak sese duyarlıdır. 100-130 dB aralığına duyarlı olan bu farelere belirtilen aralıkta ses frekansı verilmesi ile epilepsi indüklenebilmektedir (Özkan, 2020).

Maksimal elektroşok modeli ise hayvanların arka bacaklarına bağlanan elektrotlardan yeteri kadar elektrik sinyallerinin verilmesi ile nöbetin oluşturulmasına dayanan bir modeldir (Özkan, 2020).

2.2.6.1. Pentilentetrazol (PTZ) modeli

PTZ serum fizyolojik veya distile suda rahatlıkla çözülebilmektedir. Subkutan (sc, cilt altına), intraperitoneal (ip, periton içine) veya intravenöz (iv, damar içine) enjeksiyonlar ile nöbetler indüklenebilmektedir (Velíšek, 2006). İndüklenen nöbetlerin şiddeti uygun puanlama tablosuna göre kolayca skorlanabilir. Farmakolojik yöntemler ile indüklenen nöbetlerin başlangıç zamanının ve nöbet sayısının gözlemlenebilmesi gibi avantajları tercih edilmesine etkindir (Shimada ve Yamagata, 2018; Ceyhan ve ark., 2005). PTZ ile indüklenen epilepsi modeli farelerde, sıçanlarda, kedilerde ve primatlarda miyoklonik nöbetlere daha sonra sarsıntılara ve genel tonik-klonik nöbetlere dönüşmektedir (Velíšek, 2006). Bu durum insanlardaki primer tonik-klonik jeneralize nöbetlere benzemektedir (Rubio ve ark., 2010).

PTZ 15-20 mg/kg gibi düşük dozlarında deney hayvanlarında anksiyete oluşturmak için kullanılırken (Emmett-Oglesby ve ark., 1983; Jung ve ark., 2000), 50 mg/kg gibi yüksek dozlarda genelleşmiş epileptik nöbetler ortaya çıkaran, kompetitif olmayan bir GABA reseptör antagonistidir. PTZ'nin yüksek dozlarında ortaya çıkan klonik nöbetler ön beyin ile ilişkili iken, nöbetin tonik bileşeninin ortaya çıkmasından beyin sapı yapılarını aktive etmesi sorumludur (Yonekawa ve ark., 1980).

PTZ'nin kimyası C₆H₁₀N₄ olarak formüle edilmiştir (Aygün ve Ayyıldız, 2021) (Şekil 3). Etki mekanizması ise GABA-A reseptörlerine bağlanarak GABA'nın bağlanmasını engellemektedir. GABA-A reseptörüne bağlanamayan GABA'nın baskılanması sonucunda nöronal aktivitede artış gözlemlenmekte ve nöbetler oluşmaktadır (Shimada ve Yamagata, 2018).



Şekil 3: Pentilentetrazolün kimyasal yapısı

Tek doz PTZ enjeksiyonu ile akut nöbetler indüklenebilmektedir (Shimada ve Yamagata, 2018). Ayrıca PTZ ile indüklenen temporal lob epilepsilerinde hipokampus gibi MSS'deki önemli yapılarda hücre ölümleri gözlemlenmektedir (Schroeder ve ark., 1998; Shimada ve Yamagata, 2018).

Farklı dozlarda farklı aralıklarla nöbetin indüklenmesi ve kalıcı olması için düzenli PTZ kullanımı kronik epilepsi modeli oluşturulmak için kullanılan başka bir yöntemdir. Düşük dozlarda kronik PTZ enjeksiyonu absans nöbetlerin daha yüksek dozlarda ise konvülsif nöbetlerin indüklenmesi için kullanılmaktadır (Mason ve Cooper, 1972). Yukarıda belirtilen sebepler PTZ ile nöbet oluşturmamız için önemli etkenler arasında yer almaktadır.

2.3. Karbon Kuantum Noktası (KKN)

KKN hazırlanılışlarında kullanılan materyallere bağlı olmakla beraber genellikle 1-10 nm arasında değişen, birkaç atom büyüklüğüne sahiptirler ve floresan özellik göstermektedirler (Camlik ve ark., 2024). Kuantum noktaları periyodik tablonun II-VI ve III-V grubunun bileşenlerinden elde edilebilmektedirler (Camlik ve ark., 2021). Son on yıl içerisinde KKN eldesi için yeni yöntemler keşfedilmiştir (Wang ve Hu, 2014).

2.3.1. Karbon kuantum noktasının avantajları

KKN'ler düşük maliyetler ile elde edilmektedir (Das ve ark., 2024; Huang ve ark., 2017). Diğer kuantum noktaları ile mukayese edildiği durumlarda KKN'lerin floresans ışıldama özellikleri daha fazladır. Ayrıca elektron alıcı ve verici özellikleri de bulunmaktadır (Singh ve ark., 2018).

2.3.2. Karbon kuantum noktasının kullanım alanları

KKN kararlı yapıdadır ve pek çok madde ile kimyasal reaksiyona karşı duyarsızlardır. Vücuda toksik tehlike oluşturmamakta ve hücre içerisine kolay girebilmektedirler aynı zamanda bazı durumlarda hücrenin büyümesini desteklemektedirler (Kong ve ark., 2024). KBB'yi geçemeyen ancak geçmesi istenilen ilaçlar için kullanılabilir bir yöntemdir (Molaei, 2019). Bu yöntem genellikle minimal yan etki ve bölgeye özgü etki amacı ile kullanılmaktadır (Das ve ark., 2024). Sıralanan bu özellikleri KKN'lerin zaman içerisinde ilaç endüstrisinde yaygınlığını ve güvenilirliğini artırmıştır (Kong ve ark., 2024).

KKN'ler sadece tıp alanında kullanılmamaktadırlar. Elektron alıcısı ve vericisi olarak hareket etmeleri aynı zamanda güneş enerjisi dönüşümünde de tercih edilmektedirler (Yuan ve ark., 2016; Ghosal ve Ghosh, 2019).

2.3.3. Karbon kuantum noktası elde yöntemleri

2.3.3.1. Yukarıdan aşağıya yöntemler

Kapalı reaktör sistemi içerisinde sıcaklığın çok düşmesi ile enerjik bir plazma oluşmaktadır ve katotta KKN'lerin birikmesi ile elde edilen yöntemle ark deşarjı denilmektedir (Das ve ark., 2024).

Elektrokimyasal karbonizasyon yönteminde ise uygun karbon kaynağı elektrolit çözeltisinde çözdürülmekte ve elektrokimyasal reaksiyonlar sonucunda KKN'ler elde edilmektedir (Kong ve ark., 2024).

Hedef malzemenin yüzeyini ısıtmak için yüksek enerjili lazer darbeleri uygulanmaktadır. Malzeme yüksek sıcaklık ve basınç üretebilen bir hale gelince sırasıyla ısınır, erir ve plazma durumunda buharlaşır. Buharlaşmanın ardından soğuğa tepki olarak kristalleşmekte ve nanopartikül oluşmaktadır. Bu yöntemin bazı dezavantajları bulunduğu için pek tercih edilmemektedir (Kong ve ark., 2024).

2.3.3.2. Aşağıdan yukarıya yöntemler

Ultrasonik sentez yönteminde karbonun yüksek enerjili ultrasonik ses dalgaları yardımı ile parçalanması sonucunda elde edilmektedir (Sharma ve Das, 2019).

Su ve organik çözelti içerisinde çözülen karbon kaynağı yüksek sıcaklıkta hidrotermal reaktörde reaksiyonlara girer ve bunun sonucunda KKN'lerin elde edilmesi metoduna hidrotermal yöntem denilmektedir (Wang ve Hu, 2014).

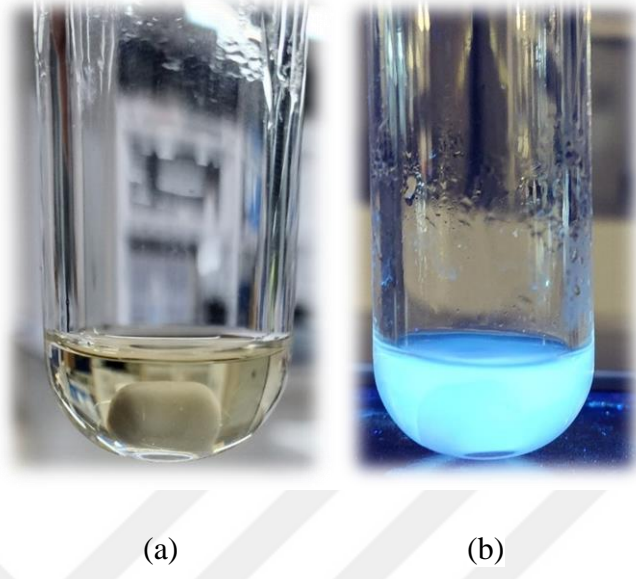
Şablon yöntemi diğer yöntemlerden farklı olarak iki aşamadan oluşmaktadır (Singh ve ark., 2018). İlk aşamada karbon kaynağının yüzeyi kapsülleme, reaksiyon veya adsorpsiyon yöntemlerinden birisinin yardımı sayesinde destekleyici madde ile kaplanmaktadır. İkinci aşamada ise destek malzeme uzaklaştırılarak KKN'ler elde edilmektedir (Kong ve ark., 2024).

Organik bileşiklerden mikrodalga ışınlamayı ile KKN eldesine dayanan bu metot bizim de tercih ettiğimiz yöntemdir. Düşük maliyetlidir ve eldesi oldukça hızlıdır. Bu yöntem ile örneğin (bizim de kullandığımız) sitrik asidin çeşitli amin moleküllerini kullanarak yüksek mikrodalga ışıkları ile KKN'ler elde edilebilmektedir. Sitrik asidin kullanılması kuantumun verimliliğini de artırmaktadır (Wang ve Hu, 2014).

2.3.4. Karbon kuantum noktasının elde metodu

KKN'ler mikrodalga sentez yöntemi kullanılarak hazırlandı 0,2 g GBP 2 ml distile suda çözüldükten sonra 0,005 g sitrik asit (l-sistein) ilave edildi. Homojen bir karışım elde edilinceye kadar karıştırıldı. Daha sonra mikrodalga reaktör cihazında 140 °C de 20 dk reaksiyona bırakıldı. Reaksiyon sonrasında gün ışığı altında (a) şeffaf renksiz elde

edilen formülasyon UV 365 nm altında mavi floresan ışımaya (b) verir (Camlik ve ark., 2022) (Resim 1).



Resim 1: Kuantum gabapentinin floresan ışması.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deneysel Hayvanlar ve Etik Koşullar

Çalışmada deney hayvanı olarak ağırlıkları 250-320 g arasında değişen Wistar albino erkek sıçanlar kullanılmıştır ve hayvanlar Üsküdar Üniversitesi Nöropsikofarmakoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi'ne (NPFUAM) bağlı Üsküdar Üniversitesi Deneysel Araştırma Birimi'nden (ÜSKÜDAB) temin edilmiştir.

Yapılan tüm uygulamalarda Helsinki Bildirgesi ve Amerikan Ulusal Sağlık Enstitüsü'nün 1996 yılında yayınlamış olduğu kitaptaki etik kurallara uyulmuştur ve Üsküdar Üniversitesi, Hayvan Araştırmaları Etik Kurulu (ÜÜ- HADYEK) 08.05.2024 tarihli 2024-04 sayılı karar ile onay alınmıştır.

3.2. Laboratuvar

Çalışmalar, Üsküdar Üniversitesi, NPFUAM'da yürütülmüş ve tamamlanmıştır. Deneylerin gerçekleştirildiği NPFUAM laboratuvarlarında, pleksiglas kafes başına dört sıçan yerleştirildi. Sıçanlar sessiz ve sıcaklığı $22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ sabit bir ortamda tutuldu. Ortamın nem oranı $\%60 \pm \%5$ aralığına sabitti. Denekler sirkadiyen ritme uygun 12 saat aydınlık (08:00- 20:00) ve 12 saat karanlık döngüde (20:00- 08:00) yaşadılar. Yiyecek ve suya erişimleri kısıtlanmadı. Tüm deneyler günün aynı saatinde, aydınlık dönemde (09:00-13:00 arası) gerçekleştirildi.

3.3. Deneysel Prosedür

Farklı laboratuvarların ve deneyin gerçekleştirildiği laboratuvarın önceki çalışmaları referans alınarak uygun PTZ dozu 50 mg/kg olarak belirlenmiştir (Ceyhan ve ark., 2005; Ergün ve ark., 2001). Bazı kemirgen epilepsi modellerinde 50 mg/kg dozun altında GBP'nin de fazla etkin olmadığı ileri sürülmüştür (Luszczki ve Czuczvar, 2006). Bu nedenle çalışmamızda doz aralığı geniş tutulmuş ve GBP'nin 50 mg/kg'dan yüksek dozları da çalışmaya dahil edilmiştir. Ön çalışmalar ve ilgili literatür değerlendirmeleri (Traa ve ark., 2008; Kanda ve ark., 2017; Ayala-Guerrero ve ark., 2022) sonucu GBP ve QGBP için test dozları 15, 30, 60 ve 120 mg/kg olarak belirlenmiştir. Daha yüksek dozlar deneklerde belirgin bir sedasyon oluşturduğundan değerlendirmeye alınmamıştır.

Çalışmaya on grup dahil edilmiştir. Her grupta sekiz hayvan bulunmaktadır. Hayvan sayısı G*Power programı yardımı ile belirlenmiştir (Faul ve ark., 2007). Tüm enjeksiyonlar ip yol ile uygulanmıştır (Mares ve Haugvicová 1997; Ayala-Guerrero ve ark., 2022).

1. Grup, kontrol grubuydu. GBP'nin kontrolü ve enjeksiyon stresinin göz ardı edilebilmesi için salin enjekte edilmiştir.
2. Grup: GBP 15 mg/kg enjekte edilmiştir.
3. Grup: GBP 30 mg/kg enjekte edilmiştir.
4. Grup: GBP 60 mg/kg enjekte edilmiştir.
5. Grup: GBP 120 mg/kg enjekte edilmiştir.
6. Grup: Vehikül kontrol grubudur. QGBP'nin üretiminde kullanılan sitrik asit solüsyonun enjekte edilmesi ile sitrik asidin etkisinin göz ardı edilmesi sağlanmıştır.
7. Grup: QGBP 15 mg/kg enjekte edilmiştir.
8. Grup: QGBP 30 mg/kg enjekte edilmiştir.
9. Grup: QGBP 60 mg/kg enjekte edilmiştir.
10. Grup: QGBP 120 mg/kg enjekte edilmiştir.

Salin, GBP, vehikül ve QGBP enjekte edildikten 30 dakika sonra ip PTZ (50 mg/kg) enjekte edildi. Sıçanlara, PTZ uygulandıktan hemen sonra bir pleksiglas kafese yerleştirildi ve burada hayvanlar 30 dakika gözlemlendi (Resim 2). PTZ verildikten sonra nöbete girene kadar olan süre saniye olarak kaydedildi. Nöbet şiddeti revize edilmiş Racine Ölçeğine göre skorlandı. PTZ enjeksiyonu sonrası 15 dakika boyunca nöbete girmeyen hayvanların nöbete girmediği (nöbet skoru: 0) kabul edilmiştir.



Resim 2: Gözlem kafeslerinde sıçanlar.

Racine ölçeği deneysel epilepsi modellerinde nöbetin şiddetini değerlendirmek için yaygın olarak kullanılan skorlama yöntemidir. PTZ ile indüklenen epilepsi modellerinde sıklıkla tercih edilen bu model nöbetin şiddetine göre gerçekçi bir skorlamaya yardımcı olur (Lüttjohann ve ark., 2009; Van Erum ve ark., 2019). Racine ölçeğine göre nöbet şiddeti skorları aşağıdaki gibidir (Racine, 1972).

0: Nöbet yok

1: Orofasial (ağız ve yüzde) hareketler.

2: Başta miyoklonuslar (istemsiz seğirmeler) ve/veya orofasiyal hareketlerin şiddetlenmesi.

3: Ön ayaklarda miyoklonuslar.

4: Ön ayaklarda klonik konvülsiyonlar.

5: Postür kaybı ile birlikte jeneralize tonik-klonik konvülsiyonlar.

PTZ ile yapılan deneysel çalışmalarda ortaya çıkan gözlemlere göre Racine skalasında modifikasyonlar yaparak elde edilen verilerin daha gerçekçi bir biçimde değerlendirilmesi de mümkündür. Birçok çalışmada Racine skalası modifiye edilerek kullanılmıştır. Bu çalışmada da daha önce NPFUAM laboratuvarlarında yapılan bir

çalışmada kullanılan (Gözler ve Uzbay, 2020) modifiye edilmiş bir skala ile nöbetlerin şiddeti skorlanmıştır. Skorlama skalası aşağıdaki gibidir.

0: Nöbet yok.

1: Bıyıkların ve kulakların belirgin şekilde seğirmesi.

2: Miyoklonik sarsılma ve titremeler.

3: Miyoklonik sarsılma ve titremelere ilave olarak belirgin motor arrest.

4: Ayakta aralıklı tonik-klonik konvülsiyonlar geçirme.

5: Doğrulma refleksinin kaybıyla (yatar pozisyonda) tonik-klonik nöbet geçirme.

6: Nöbet sırasında veya sonrasında ölüm.

3.4. Deneyin Sonlandırılması

Davranış deneylerinin tamamlanmasının hemen ardından sıçanlara izofluran anestezisi uygulanarak ötenazi sırasında ağrı çekmemeleri sağlanmıştır. Kalbin sol ventrikülünden 20 ml/dk hızında serum fizyolojik ile vücuttan kan temizleninceye değin perfüzyon ve ardından yine 20 ml/dk hızında 5 ml %10 formalin çözeltisi ile tüm dokuların fikse edilmesi sağlanmıştır. Bu esnada kalbin sağ ventrikülünden bir kesik atılarak kanın ve verilen sıvıların vücutta dolaşıp çıkması sağlanmıştır. Bu işlemin tamamlanmasının ardından tüm beyin dokusu alınmış ve -80 °C de saklanmıştır. (Snyder ve ark., 2022).

3.5. Kesit Alma Yöntemi

Sonlandırma işleminin ardından -80 °C de saklanan beyinler intraoperatif konsültasyon (frozen) kesit alma metodolojisi izlenerek işleme alınmıştır (Liu ve Wang, 2023).

İlk olarak beyin makroskobik olarak incelenip, korteks bir tam kesit yüzü gösterilecek şekilde ayrılmıştır (Liu ve Wang, 2023).

Önceden üzerine kriyomatriks konularak dondurulan, “Chuck” adı verilen yapının kullanıldığı kesit alma metoduna dondurmalı-kesit mikrotomu denilmektedir. Kriyostatta kesit alınırken blok görevi gören, aparata alınan korteks kesiti yerleştirilmiştir. Ardından üzerine dokuyu tamamen örtecek şekilde kriyomatriks ilave edilerek tekrar

dondurulmuştur. Bu işlemler sırasında kriyostat cihaz içi sıcaklığı -25°C de sabitlenmiştir (Liu ve Wang, 2023).

Dondurulmuş Chuck üzerindeki doku kriyostatın blok tutucu haznesine yerleştirilerek bir tam kesit yüzü çıkıncaya kadar $20\ \mu\text{m}$ kesitler alınarak, tıraşlama işlemi yapılmıştır. Ardından kesit kalınlık seviyesi $5\ \mu\text{m}$ 'ye alınarak, pozitif şarjlı lama kesitler alınmıştır. İlk ve son kesit %96'lık etil-alkol içerisinde fikse edilerek hematoksilen ve eozin boya ile boyanmıştır. Boyanan dokular lazer taramalı konfokal mikroskop ile incelenmiştir (Liu ve Wang, 2023).

3.6. Konfokal Mikroskop Görüntüleme Yöntemi

Konfokal mikroskop noktasal aydınlatma yöntemi ile odak dışı sinyalleri ortadan kaldırmaktadır (Nwaneshiudu ve ark., 2012). Bu şekilde dokuların derinlikleri yüksek çözünürlüklü ve üç boyutlu optik görüntüleme sağlanmaktadır (Elliott, 2020).

Konfokal mikroskop geleneksel mikroskoplara göre ince dokunun incelenmesine olanak sağlamakta, bulanıklığın düşük ve konsantrasyonun yüksek olduğu görüntüler sunmaktadır. Daha detaylı ve daha kaliteli görüntüler elde edebilmek için dokular konfokal mikroskop ile incelenmiştir (Semwogerere ve Weeks, 2005).

İnceleme sırasında ışığın kırılmasını önlemek ve daha keskin bir görüntü elde edebilmek için immersiyon yağı kullanılmıştır (Sacher, 2000).

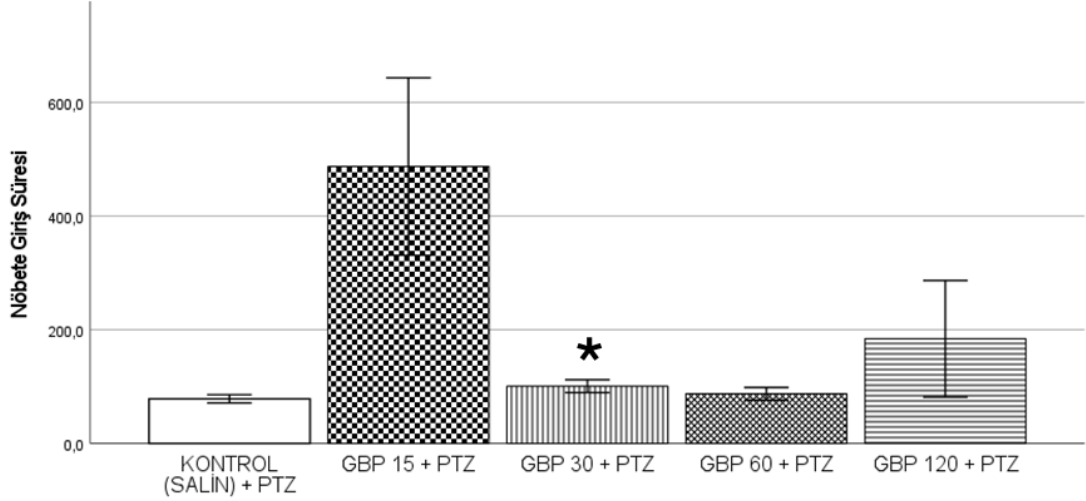
3.7. İstatistiksel Analiz

Deneklerde nöbetin başlangıcı (on-set time) saniye cinsinden ölçülerek kaydedildi. Her bir grubun nöbet başlangıç süresi ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi. Nöbet şiddetleri skor olarak kaydedildi ve ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi. Gruplarda denekler normal dağılıma uymadığından ve skorlama verileri de olduğundan non-parametrik Kruskal-Wallis testi ve gruplar arası karşılaştırmada non-parametrik Mann-Whitney U testi kullanıldı. İstatistiksel analizler SPSS bilgisayar programı kullanılarak gerçekleştirildi. Anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Nöbete Giriş Süresi Üzerine GBP ve QGBP'nin Etkileri

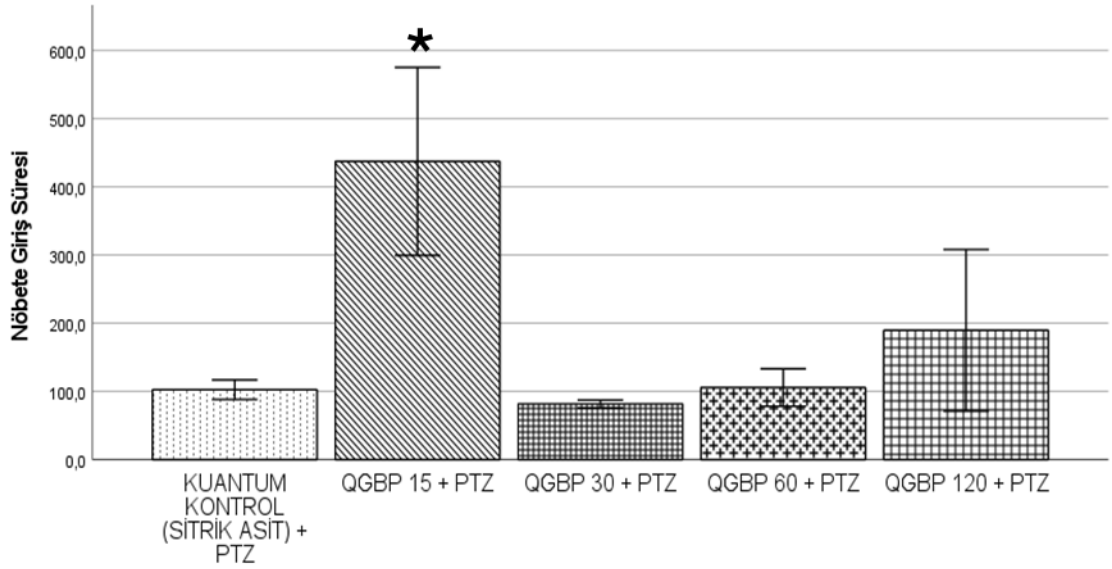
GBP'nin nöbete giriş süresi üzerine etkileri Şekil 4'te görülmektedir.



Şekil 4: Nöbete giriş süresi üzerine GBP'nin etkileri (her grupta n= 8; * p<0,05 – Mann-Whitney U testi).

Şekil 4'te de görüldüğü gibi GBP verilen deneklerde nöbete giriş sürelerinde kontrol grubuna göre artışlar söz konusudur. Bununla beraber Kruskal-Wallis testi gruplar arasında anlamlı bir farklılığa işaret etmemektedir (KW= 5,942; p= 0,204). Post-hoc Mann-Whitney U testi ile yapılan değerlendirmede GBP'nin sadece 30 mg/kg dozundaki artışın istatistikçe anlamlı düzeye ulaştığı görülmüştür (p= 0,043; Mann-Whitney U test). 15, 60 ve 120 mg/kg'lık dozlardaki artışlar istatistikçe anlamlı düzeyde bulunmamıştır (sırasıyla p= 0,057, p= 0,752 ve 0,345; Mann-Whitney U testi).

QGBP'nin nöbete giriş süresi üzerine etkileri Şekil 5'te görülmektedir.

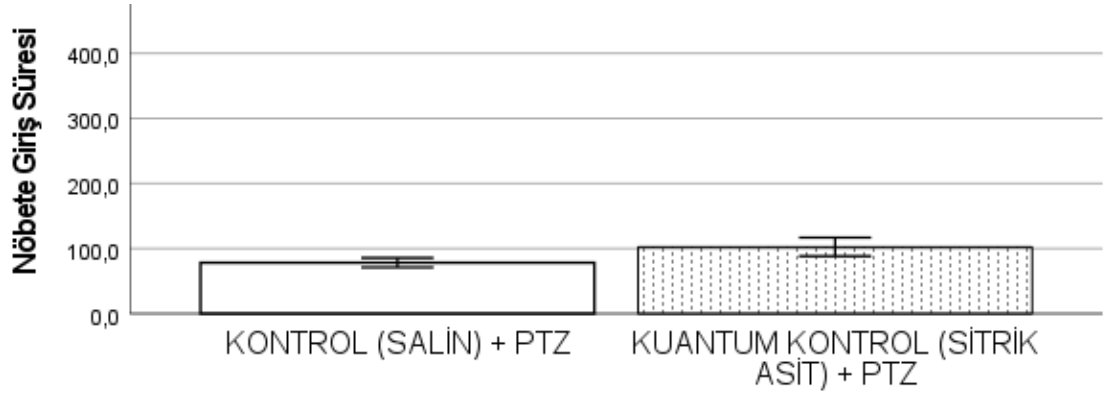


Şekil 5: Nöbete giriş süresi üzerine QGBP'nin etkileri (her grupta n= 8; * p<0,05 – Mann-Whitney U testi).

Şekil 5'te de görüldüğü gibi QGBP verilen deneklerde nöbete giriş sürelerinde bazı dozlarda (15, 60 ve 120 mg/kg) kontrol grubuna göre artışlar söz konusudur. Kruskal-Wallis testi GBP'nin aksine gruplar arasında anlamlı bir farklılığa işaret etmektedir (KW= 10,219; p= 0,037). Bununla beraber, post-hoc Mann-Whitney U testi ile yapılan ikili değerlendirmelerde GBP'nin sadece 15 mg/kg dozundaki artışın istatistikçe anlamlı düzeye ulaştığı görülmüştür (p= 0,045; Mann-Whitney U test). 30, 60 ve 120 mg/kg'lık dozlardaki artışlar istatistikçe anlamlı düzeyde bulunmamıştır (sırasıyla p= 0,292, p= 0,298 ve p= 0,292; Mann-Whitney U testi).

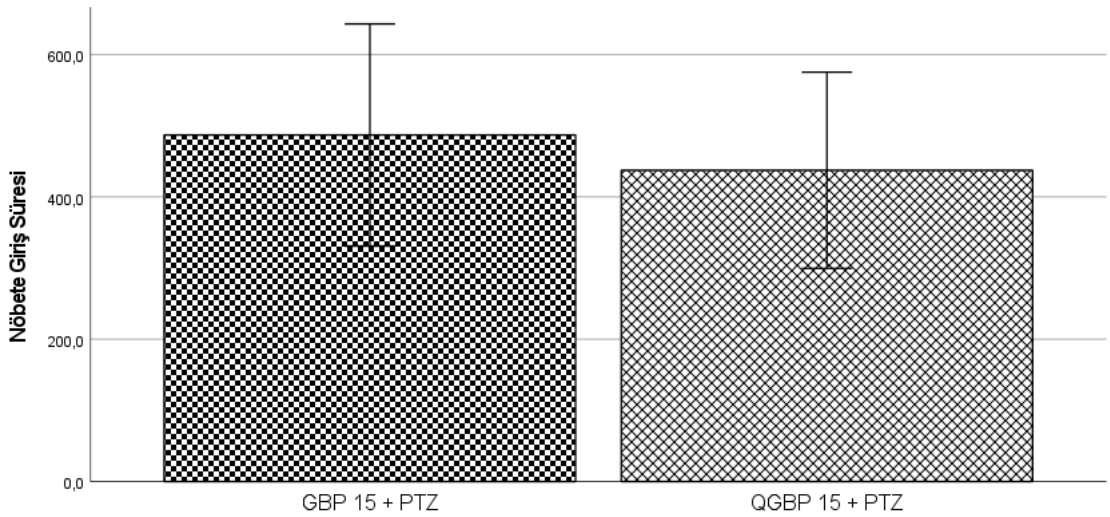
4.2. Nöbete Giriş Süresi Üzerine GBP ve QGBP'nin Etkilerinin Karşılaştırılması

GBP ile QGBP'nin etkileri kontrol grupları ve her bir doz için ayrı ayrı Mann-Whitney U testi kullanılarak gruplar arasında da karşılaştırılmıştır. Gerek kontrol gerekse dozlar arası karşılaştırmalar Şekil 6-10'da görülmektedir.



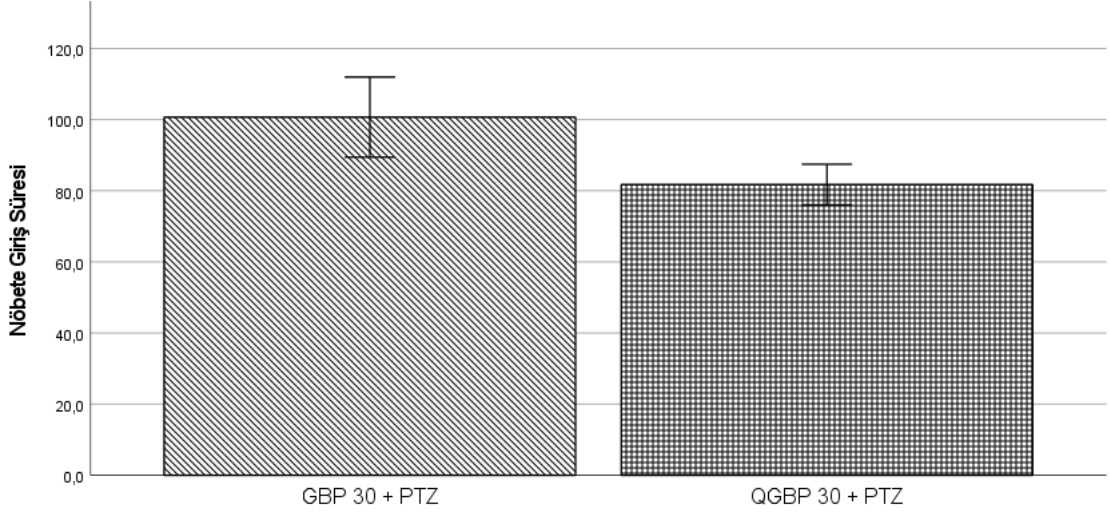
Şekil 6: Nöbete giriş süresi. Kontrol (salin) ve kuantum kontrol (sitrik asit, vehikül) grupları (n= 8 her bir grupta).

Salin ve vehikül (sitrik asit) verilen kontrol grupları arasında nöbete giriş süresi bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p= 0,128$; Mann-Whitney U test).



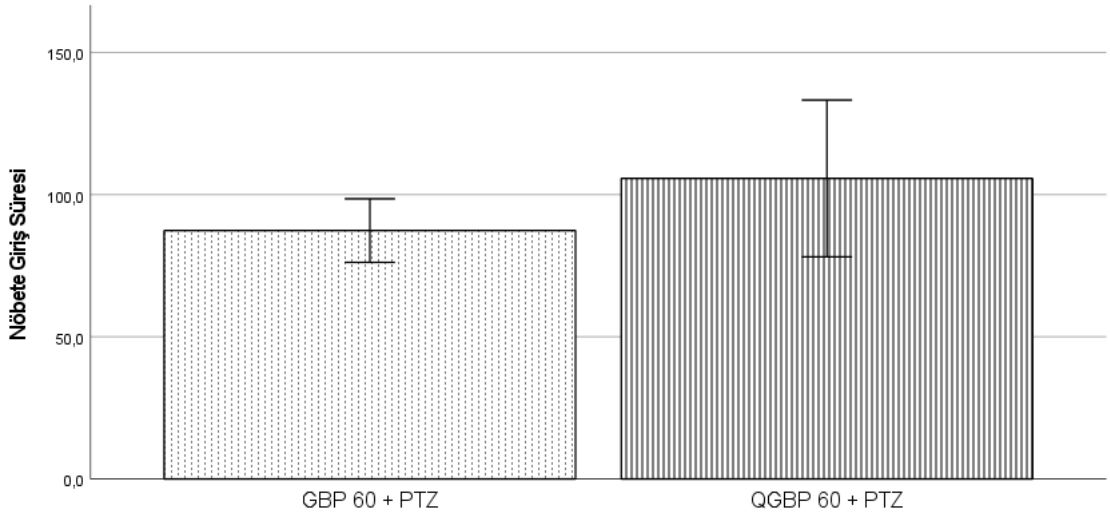
Şekil 7: Nöbete giriş süresi. GBP ve QGBP'nin 15 mg/kg dozu verilen grupların karşılaştırılması (n= 8 her bir grupta).

GBP ve QGBP'nin 15 mg/kg dozunun uygulandığı gruplar arasında nöbete giriş süresi bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p= 0,26$; Mann-Whitney U test).



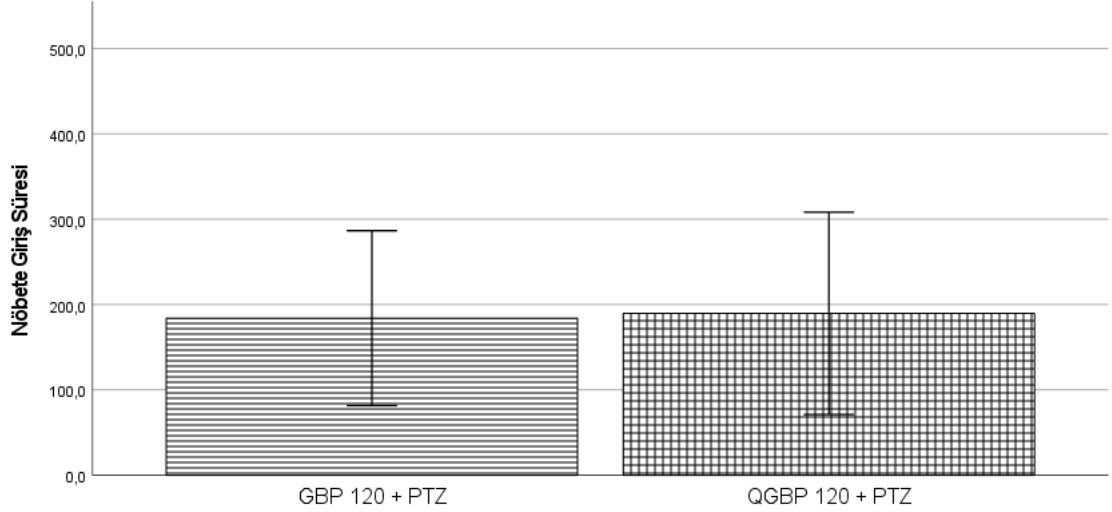
Şekil 8: Nöbete giriş süresi. GBP ve QGBP'nin 30 mg/kg dozu verilen grupların karşılaştırılması (n= 8 her bir grupta).

GBP ve QGBP'nin 30 mg/kg dozunun uygulandığı gruplar arasında nöbete giriş süresi bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p= 0,223$; Mann-Whitney U test).



Şekil 9: Nöbete giriş süresi. GBP ve QGBP'nin 60 mg/kg dozu verilen grupların karşılaştırılması (n= 8 her bir grupta).

GBP ve QGBP'nin 60 mg/kg dozunun uygulandığı gruplar arasında nöbete giriş süresi bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p= 0,384$; Mann-Whitney U test).

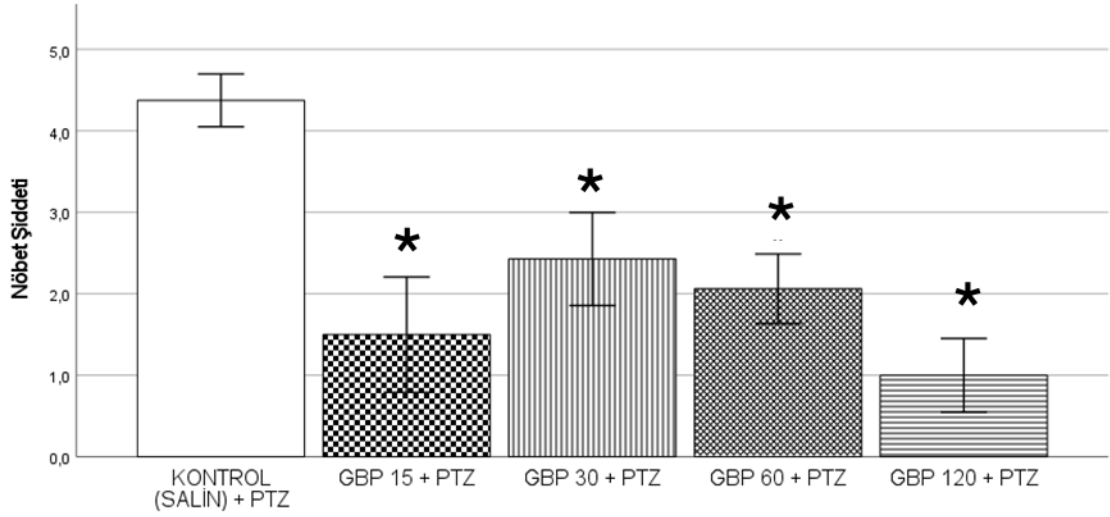


Şekil 10: Nöbete giriş süresi. GBP ve QGBP'nin 120 mg/kg dozu verilen grupların karşılaştırılması (n= 8 her bir grupta).

GBP ve QGBP'nin 120 mg/kg dozunun uygulandığı gruplar arasında nöbete giriş süresi bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p= 0,601$; Mann-Whitney U test).

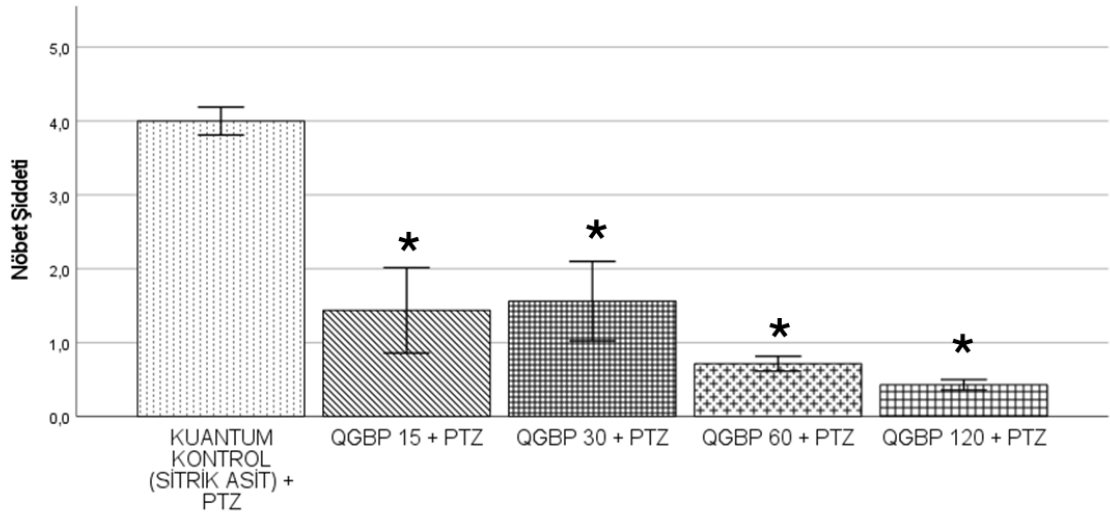
4.3. Nöbet Şiddeti Üzerine GBP ve QGBP'nin Etkileri

GBP'nin nöbet şiddeti üzerine etkileri Şekil 11'de görülmektedir. GBP verilen deneklerde nöbet şiddetlerinde kontrol grubuna göre azalmalar söz konusudur. Kruskal-Wallis testi de gruplar arasında anlamlı bir farklılığa işaret etmemektedir ($KW= 16,962$; $p= 0,002$). Post-hoc Mann-Whitney U testi ile yapılan değerlendirmede GBP'nin 15-120 mg/kg'lık tüm test edilen dozlarında nöbet şiddetini kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azalttığı görülmüştür (* sırasıyla $p= 0,009$, $p= 0,016$, $p= 0,03$ ve $p<0,001$; Mann-Whitney U testi).



Şekil 11: Nöbet şiddeti üzerine GBP'nin etkileri (her grupta n= 8; p<0,05 – Mann-Whitney U testi).

QGBP'nin nöbet şiddeti üzerine etkileri Şekil 12'de görülmektedir.

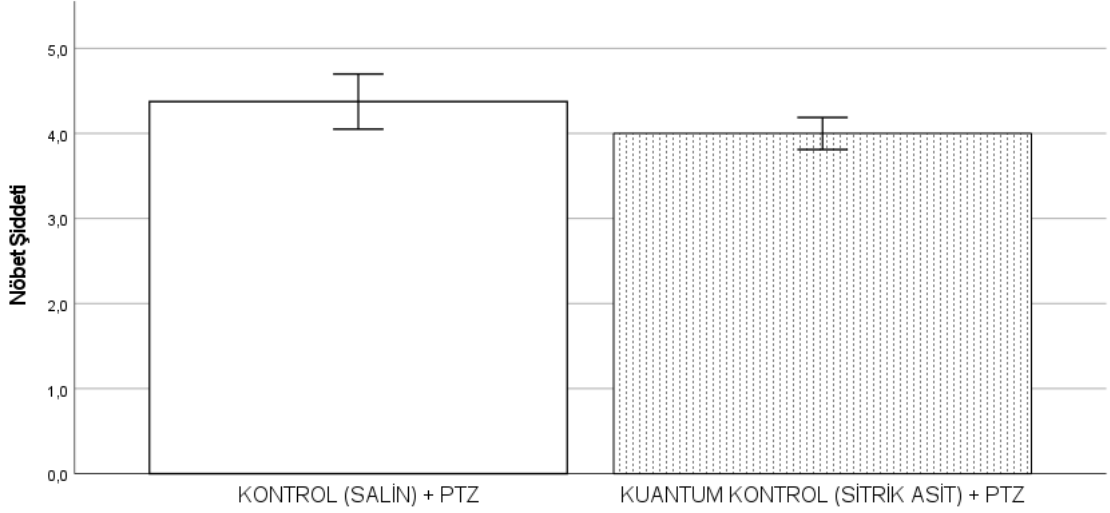


Şekil 12: Nöbet şiddeti üzerine QGBP'nin etkileri (her grupta n= 8; p<0,05 – Mann-Whitney U testi).

QGBP verilen deneklerde nöbet şiddetlerinde kontrol grubuna göre azalmalar söz konusudur. Kruskal-Wallis testi de gruplar arasında anlamlı bir farklılığa işaret etmemektedir (KW= 19,447; p= 0,001). Post-hoc Mann-Whitney U testi ile yapılan değerlendirmede QGBP'nin 15-120 mg/kg'lık tüm test edilen dozlarında nöbet şiddetini kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azalttığı görülmüştür (* sırasıyla p= 0,003, p= 0,007, p<0,001 ve p<0,001; Mann-Whitney U testi).

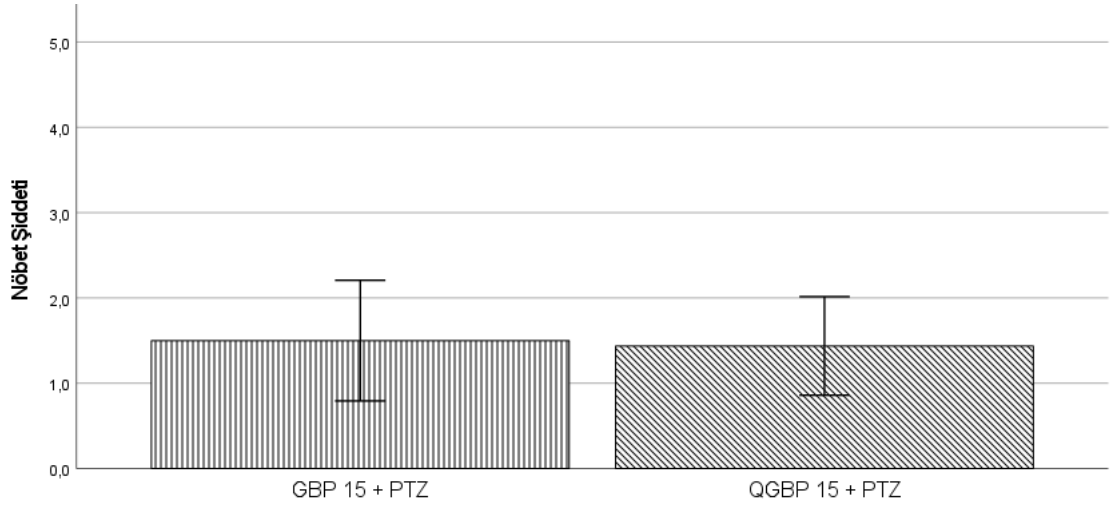
4.4. Nöbet Şiddeti Üzerine GBP ve QGBP'nin Etkilerinin Karşılaştırılması

GBP ile QGBP'nin nöbet şiddeti üzerine etkileri her bir doz için ayrı ayrı Mann-Whitney U testi kullanılarak gruplar arasında da karşılaştırılmıştır. Gerek kontrol gerekse dozlar arası karşılaştırmalar Şekil 13-17'de görülmektedir.



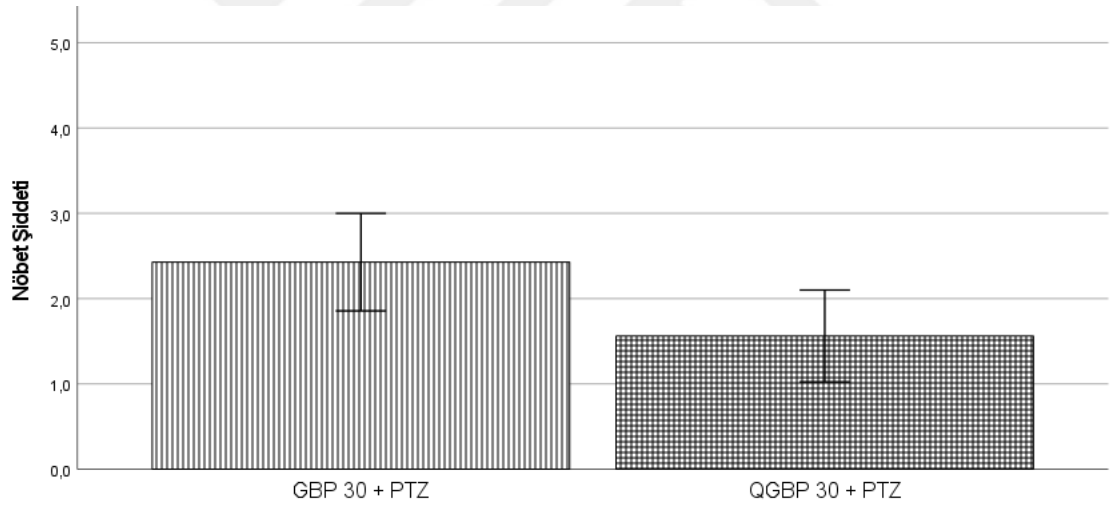
Şekil 13: Nöbet Şiddeti. Kontrol (salin) ve kuantum kontrol (sitrik asit, vehikül) grupları (n= 8 her bir grupta).

Salin ve vehikül (sitrik asit) verilen kontrol grupları arasında nöbet şiddeti bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p= 0,234$; Mann-Whitney U test).



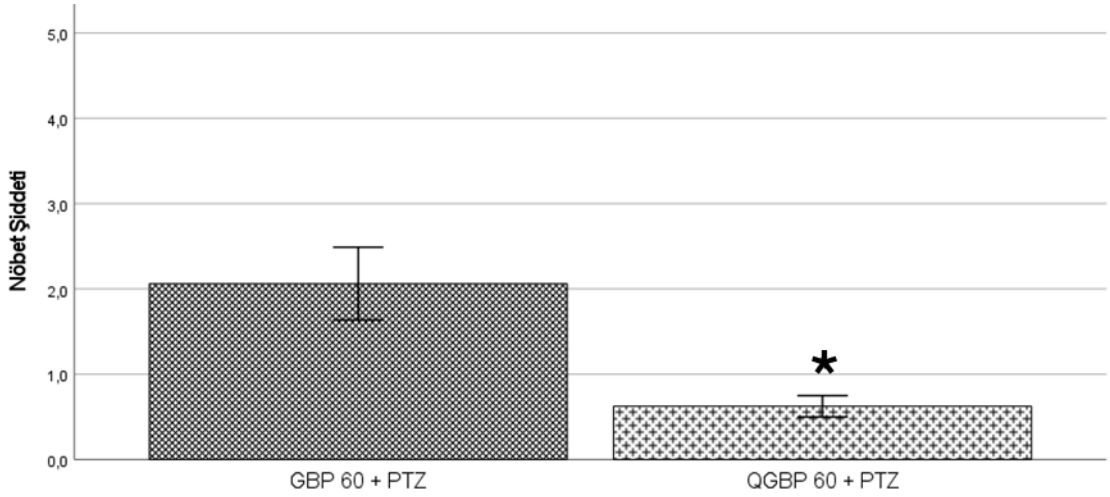
Şekil 14: Nöbet şiddeti. GBP ve QGBP'nin 15 mg/kg dozu verilen grupların karşılaştırılması (n= 8 her bir grupta).

GBP ve QGBP'nin 15 mg/kg dozunun uygulandığı gruplar arasında nöbet şiddeti bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p= 0,912$; Mann-Whitney U test).



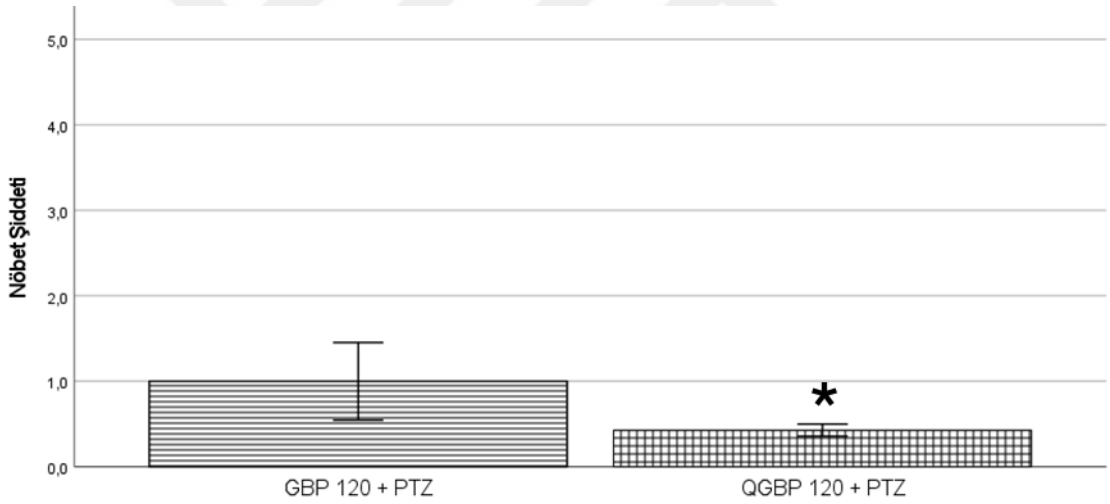
Şekil 15: Nöbet şiddeti. GBP ve QGBP'nin 30 mg/kg dozu verilen grupların karşılaştırılması (n= 8 her bir grupta).

GBP ve QGBP'nin 30 mg/kg dozunun uygulandığı gruplar arasında nöbete şiddeti bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p= 0,095$; Mann-Whitney U test).



Şekil 16: Nöbet şiddeti. GBP ve QGBP'nin 60 mg/kg dozu verilen grupların karşılaştırılması (n= 8 her bir grupta; * p<0,05).

QGBP 60 mg/kg'lık dozda nöbet şiddetini GBP'ye göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde daha fazla azaltmıştır (* p= 0,016, Mann-Whitney U test).



Şekil 17: Nöbet şiddeti. GBP ve QGBP'nin 120 mg/kg dozu verilen grupların karşılaştırılması (n= 8 her bir grupta; * p<0,05).

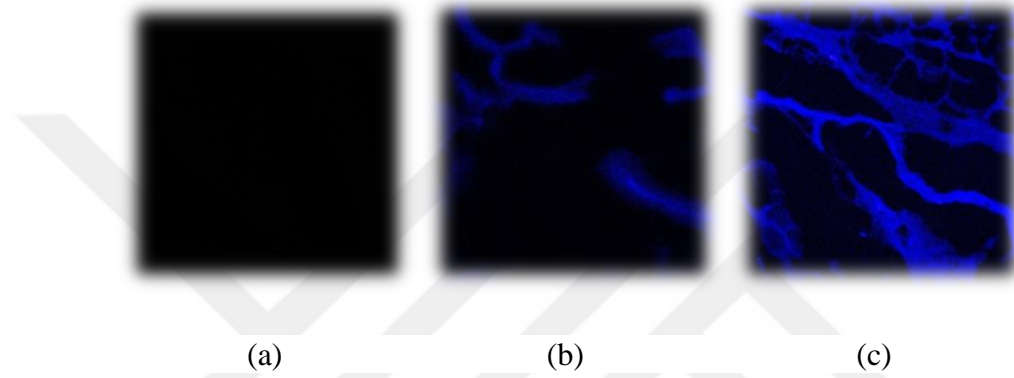
QGBP 120 mg/kg'lık dozda nöbet şiddetini GBP'ye göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde daha fazla azaltmıştır (* p= 0,016, Mann-Whitney U test).

4.5. Korteksten Alınan Kesitlerde Floresan Işıma

Korteksten alınan kesitlerde QGBP'nin 60 mg/kg dozunun uygulandığı grubun beyininden alınan görüntülerde floresan ışığa saptanmıştır. Kontrol (salin) grubu beyinde floresanışıma yapıp yapmadığına bakılmak için seçilmiştir. Vehikül (sitrik asit) KKN'nin

eldesinde kullanıldığı için ışıma kendisinin bir etkisi olup olmadığını görmek ve belirli bir bölgede mi yoksa tüm beyne eşit mi yayıldığını anlamak için seçilmiştir.

Kontrol (salin) grubundan rastgele seçilen dokunun görüntüsünde (a) ışıma görülmemiştir. Vehikül (sitrik asit) grubundan rastgele seçilen dokunun görüntüsünde (b) ışıma görülmüş ancak madde bir yerde toplanmamış ve ışıma oldukça düşüktür. QGBP'nin 60 mg/kg'lık grubundan rastgele seçilen dokunun görüntüsünde (c) madde bir bölgede toplanmıştır ve yoğun floresan ışıma net bir şekilde görülmektedir (Resim 3). Tüm görüntüler korteksten alınan kesitlere aittir ve 40x yakınlaştırılmıştır.



Resim 3: Konfokal mikroskop ile saptanan QGBP'nin korteks dokusunda neden olduğu yoğun floresan ışıma.

5. TARTIŞMA

Epilepsi hastalığı her coğrafya ve ırkta görülebilen kronik nörolojik bir hastalıktır (Beghi, 2020). Dünya üzerinde 70 milyondan fazla epilepsi tanısı almış hasta bulunmaktadır (Gupta, 2023) ve dünya nüfusunun %2'sini doğrudan veya dolaylı yoldan etkilemektedir (Chen ve ark., 2022). Her yıl bu sayıya yaklaşık 5 milyon yeni tanı almış hasta eklenmektedir (Filiz ve Karabulut, 2022) ve tüm ölümlerin %0,3'ünden epilepsi sorumludur (Guerreiro, 2016). Epilepsinin ekonomik külfeti de azımsanamayacak kadar çoktur (Begley, 2022). Mevcut tedavi yöntemlerinin hiç birisi tam olarak epilepsiyi ortadan kaldıramamaktadır. Sadece nöbet şiddetini ve sıklığını azaltabilmektedir (Ali, 2018).

GBP epilepsi tedavisi için kullanılan nispeten yeni bir antiepileptik ilaçtır. İlacın nöbet şiddetini ve nöbet sıklığını azalttığı kanıtlanmıştır (Gupta, 2023). Beynimizde en çok salgılanan inhibitör nörotransmitter olan GABA'nın yapısına çok benzemesine rağmen GABA'nın salıverilmesi ile bir ilişkisi yoktur ve GABA reseptörlerine de bağlanmamaktadır (Sills ve Rogawski, 2020). Yan etkileri tolere edilebilir düzeydedir ve bu GBP'nin epilepsi tedavisinde kullanımını artırmıştır (Gupta, 2023). 1993 yılından bu yana erişkin epilepsi tedavisinde (Gupta, 2023) ve 1994 yılından bu yana da 12 yaşın üzerindeki çocukların epilepsi tedavisinde kullanılmaktadır (Honarmand ve ark., 2011).

KKN'ler 1-10 nm aralığında farklı boyutlarda bulunan, yeni ilaç molekülleri geliştirilmesine yönelik, etken madde potansiyeli olan moleküllerdir (Camlik ve ark., 2024). KKN'lerin biyolojik uyumluluğu yüksektir ve toksisitesi düşüktür. Biyolojik görüntüleme yöntemleri ile gözlenebilmeleri de ilginçtir ve avantaj sağlamaktadır (Das ve ark., 2024; Singh ve ark., 2018). Kimyasal reaksiyonlara girmeme konusunda da oldukça güvenlirdirler (Kong ve ark., 2024). KBB'yi rahatlıkla geçebilen KKN'ler bölgeye özgü salıverilme özellikleri nedeniyle MSS ile ilişki sorunların tedavisinde giderek yaygınlaşmaktadır (Das ve ark., 2024). Maliyetlerinin düşük olması da farmakoeкономи bakımından avantaj oluşturmaktadır (Wang ve Hu, 2014).

Epilepsi hem önemli bir halk sağlığı problemi olması hem de ilaçla tedavisinin kısa sürede radikal bir çözüm sunmaması nedeniyle farmakolojinin önemli araştırma alanlarından birini oluşturmaktadır. Mevcut epilepsi ilaçlarının yan etkileri, başka ilaçlarla etkileşimleri ve kronik tedavi boyunca uzun süreli kullanıma bağlı olarak yüksek bir maliyete sahip olması KKN'lerin buradaki etkinliğinin araştırmaya değer olacağını

düşündürmektedir. KKN'lerin optoelektronik, biyolojik görüntüleme, ilaç dağıtımı, kanser tedavisi, sensörler ve çevresel iyileştirme gibi ilgili alanlardaki uygulamaları (Kong ve ark., 2024) heyecan vericidir ve tedaviye yönelik olarak deneysel modeller üzerinde etkilerinin araştırılması için rasyonel oluşturmaktadır. Yaptığımız literatür taramalarında KKN'lerin MSS ile ilişkili hastalıklarda kullanımına dair araştırmaların oldukça kısıtlı olduğunu gördük. Epilepsiye yönelik deneysel bir model üzerinde yapılan herhangi bir çalışmaya da rastlamadık. Bu çalışmamızın özgün değerini oluşturan önemli bir saptamadır.

KKN'ler birçok konvansiyonel ilaç molekülünden elde edilebilir. Epilepsi tedavisinde de oldukça fazla sayıda ilaç vardır. Çalışmamızda nispeten yeni ve yaygın kullanılan bir antiepileptik ilaç olan GBP'nin geçerli bir deneysel epilepsi modeli üzerindeki etkilerini *in vivo* olarak değerlendirmek ve QGBP ile karşılaştırmayı amaçladık. Çalışmada GBP'den KKN elde metodu ile üretilmiş QGBP'nin sıçan epilepsi modeli üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir.

Deney hayvanları üzerinde epilepsi modeli oluşturmanın pek çok farklı yöntemi bulunmaktadır. PTZ ile indüklenen epilepsi modeli nöbetlerin incelenen grup içinde görülme sıklığını, başlangıç süresini (on-set time) ve şiddetini kolayca gözlemlemeye olanak sağlamaktadır (Shimada ve Yamagata, 2018; Ceyhan ve ark., 2005). İnsanlardaki primer tonik-klonik jeneralize nöbetleri taklit etmesi bakımından da önemlidir (Rubio ve ark., 2010). Bu nedenle çalışmamızda PTZ ile oluşturulmuş akut nöbet modelini tercih ettik. PTZ'nin doz seçimini de ön çalışmalarımız ve literatürde sıçanlar üzerinde gerçekleştirilen benzer çalışmalara dayandırarak saptadık. Böylece modeli oluşturmak için 50 mg/kg'lık PTZ dozunu kullandık (Ceyhan ve ark., 2005; Ergün ve ark., 2001). PTZ ile gerçekleştirilen başka çalışmalarda olduğu gruplarda uygun süre içinde ortaya çıkan ve şiddeti skorlamaya elverişli nöbetleri gözlemledik.

Hem GBP hem de QGBP çalışmada kullanılan dozlarında PTZ ile indüklenen nöbetlerin ortaya çıkış süresini uzattı. Şekil 4 ve 5 incelendiğinde ortalama nöbete giriş süresinin en fazla 15 mg/kg'lık dozda olduğu görülmektedir. Bununla beraber, bu dozda GBP ile istatistikçe anlamlı bir sonuca ulaşamadık. Öte yandan QGBP 15 mg/kg dozunda ortalama nöbete giriş süresini vehikül grubuna göre istatistikçe anlamlı düzeyde uzatırken, diğer uygulanan dozlarda anlamlı bir uzama gözlenmemiştir. GBP ise sadece 30 mg/kg'lık uygulamada nöbetlerin başlangıç süresini anlamlı ölçüde uzatırken diğer

dozları etkisiz bulunmuştur. Sıçanlarda PTZ ile indüklenen nöbetlerin başlangıç süresinin uzaması antiepileptik aktiviteye işaret eden bir parametredir (Tiwinomujini ve ark., 2016; de Costa Sobral ve ark., 2022). Gabapentin ile sıçanlarda PTZ ile indüklenen nöbetlerde nöbete giriş süresini bir parametre olarak ele alan ve değerlendiren bir çalışmaya rastlamadık. Bununla beraber, farelerde 100 mg/kg dozda GBP ile subkronik bir uygulamada, PTZ ile indüklenen nöbetlerin başlangıç süresi üzerine herhangi bir anlamlı etki gözlenemediği bildirilmiştir (Rocha, 2008). Farelerde gerçekleştirdikleri başka bir çalışmada GBP'nin nöbet şiddetini azalttığını ancak nöbetlerin ortaya çıkmasını tamamen önlemediğini göstermiştir. Nöbetlerin başlangıç süresi üzerine GBP ile ilişkili gözlemlerimiz bu çalışmaların sonuçlarını kısmen destekler niteliktedir (Patel ve ark., 2019). Biz de çalışmamızda GBP ve QGBP'nin 15 ve 30 mg/kg gibi daha düşük dozlarında nöbetlerin ortaya çıkmasının anlamlı ölçüde geciktiğini gözlemledik. Bununla beraber, 60 ve 120 mg/kg gibi daha yüksek dozlarda GBP ve QGBP uygulamalarında ise nöbet başlangıç süresi üzerine bir miktar uzasa da herhangi bir anlamlı bir etki gözlemlenemedik. Başka çalışmalara benzer olarak nöbetlerin tamamen ortadan kalkmadığını gözlemledik (Patel ve ark., 2019).

Bununla beraber, iyi bir antiepileptik ilacın nöbetlerin geliş süresini tutarlı ve anlamlı ölçüde uzatması beklenir. GBP nöbet süresi üzerine etkilerini daha düşük dozlarda gösteriyor olabilir. Tutarlı bir etki göremememizin nedeni ilacın antikonvulsan etkisinin zaman içinde giderek güçlenmesi de olabilir. GBP'nin sıçanlarda güçlü antikonvulsan etkilerini 2 saat civarında oluşturduğu ve etkinin 9 saat sonra tamamen kaybolduğu ileri sürülmüştür (Loscher ve Schmidt, 1988). Tutarlı bir etki göremememizin bir başka nedeni de ilaca yanıt vermede denekler arası bireysel farklılıklar veya denek sayısının yetersizliği olabilir. Bir diğer açıklama, ilacın kronik olarak sürekli verilmesi ile daha etkili bir kan düzeyine ulaşıp nöbetlerin ortaya çıkış süresini daha tutarlı ve anlamlı ölçüde uzattığı gözlenebilirdi. Böyle bir çalışma yapılarak gerek GBP gerekse QGBP'nin nöbetlerin başlangıç süresi üzerine etkileri daha iyi değerlendirilebilirdi. Bununla beraber, mevcut gözlemimiz de önemlidir. Çalışmamızda QGBP'nin nöbet geliş süresi üzerine GBP'ye benzer bir etki profili sergilediğini gösterdik. QGBP, nöbetlerin ilk ortaya çıkış süresi üzerine en az GBP kadar etkili olmuştur.

GBP'nin sıçan PTZ modelinde ortaya çıkan nöbet şiddeti üzerine etkilerini inceleyen literatür oldukça kısıtlıdır. Bununla beraber, gerek deney hayvanlarında

(Löscher ve ark., 2000) gerekse klinik çalışmalarda (Rajna ve Szijártó, 2006) epilepsi nöbetlerinin şiddetini belirgin şekilde azalttığı rapor edilmiştir. Biz de çalışmamızda hem GBP hem de QGBP PTZ ile indüklenen nöbetlerin şiddetinde tutarlı ve istatistikçe anlamlı azalmalar gözlemledik. QGBP’de daha belirgin olmak üzere bu azalmalar doza bağımlı bir etkiye de işaret etmektedir. Bulgularımız GBP’nin nöbet şiddeti üzerine inhibe edici etkilerine işaret eden literatürdeki verilerle uyumludur. Daha önemlisi, QGBP’nin nöbet şiddeti üzerine etkileri 60 ve 120 mg/kg’lık dozlarda, GBP’ye göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha güçlüdür. Yani, çalışmamızda, QGBP PTZ ile indüklenen nöbet şiddeti üzerine GBP’den daha etkili bulunmuştur. Bu aynı zamanda epilepsi nöbetleri üzerine KKN’lerin anlamlı ölçüde inhibe edici etkisine işaret eden ilk bulgudur. Verilerimiz KKN’leri üretilmiş antiepileptiklerin epilepsi tedavisinde daha etkili olabileceğini ima etmektedir. KKN’lerin başka ilaçlarla etkileşime daha zor girmeleri, üretimlerinin daha ucuza mal olması ve yan etkilerin düşüklüğü yanında daha etkili bir tedavi sunması hem daha güvenli hem de daha etkili bir epilepsi tedavisine olanak verebilir. Öte yandan, epilepsi kronik bir hastalıktır ve sürekli ilaç kullanımını gerektirir. Epilepsi ilaçlarının çoğu başka ilaçlarla etkileşime girer ve bazı önemli yan etkiler nedeniyle hayat konforunu olumsuz yönde etkileyebilirler. Bu nedenle epilepsi tedavisi yarar/zarar oranı gözetilerek ve hasta dikkatle takip edilerek yapılır. Gen terapisi dahil yeni ilaç arayışları da sürmektedir (Li ve Singh, 2021). Bulgularımız QGBP’nin epilepsi tedavisi için yenilikçi, emniyetli ve daha etkili bir seçenek olabileceğine işaret etmektedir.

GBP başlangıçta GABA’nın kimyasal bir analogu olarak geliştirilmiştir. Ancak, bu ilacın farklı terapötik etkilerinde farklı mekanizmaların rol oynadığı bilinmektedir (Cheng ve Chiou, 2006). Etki mekanizması, artan GABA sentezi, NMDA dışı reseptör antagonizması ve voltaj bağımlı kalsiyum kanallarının $\alpha 2\delta$ alt birimine bağlanma arasındaki karmaşık bir sinerji gibi görünmektedir. Son etki, uyarıcı nörotransmitterlerin salıverilmesini de inhibe eder (Bennett ve Simpson, 2004; Rocha, 2008). GBP, farelerde hem akut hem de kronik uygulamalarda GABA konsantrasyonlarını etkilemez (Leach ve ark., 1997), ancak birkaç beyin bölgesinde aminooksiasetik asit kaynaklı GABA birikimini artırır (Loscher ve ark., 1991). Kemirgenlerde oral uygulamadan sonra plazma GBP yarı ömrü sadece yaklaşık 2 saattir (Vollmer ve ark., 1986). Çalışmamızda gözlemlediğimiz antikonvulsan etkilerin mekanizmasını netleştirmek için ilave araştırmalara gereksinim vardır.

KKN'lerin MSS'de etkili olabilmesi için en önemli ölçüt KBB'yi geçerek MSS'deki hedef bölgelerde etkili olmasıdır. Çalışmamızda QGBP'nin nöbet şiddeti üzerine doza bağımlı, tutarlı ve anlamlı etkileri MSS'ye geçerek etkili olduğuna işaret etmektedir. MSS'deki anormal deşarjların yayılması ile ortaya çıkan epileptik nöbetlerin şiddetinin ciddi biçimde azaltmış olması QGBP'nin beyindeki epilepsi mekanizmaları üzerinde etkili olduğunu ortaya koymaktadır. Dahası, çalışmamızda QGBP verilen deneklerin beyin dokusunda konfokal mikroskop incelemesinde KKN'lere özgül floresan ışımaya da net olarak görüntülenmiştir. QGBP'ye ait floresan ışımaya hem normal kontrol hem de vehikül gruba göre belirgin şekilde çok daha güçlüdür. Bu da üretilen GBP'ye özgül KKN'lerin MSS'ye geçtiği ve beyin dokusuna nüfuz ettiğini kanıtlamaktadır.

Literatürde KKN'lerin diyabette (Camlik ve ark., 2024), Alzheimer hastalığında (Bai ve ark., 2024), oftalmik sorunlarda (Zhang ve ark., 2024) ve viral enfeksiyonlarda (Xue ve ark., 2024) etkili olabileceğine dair çalışmalar da bulunmaktadır. Çalışmamızda elde ettiğimiz veriler, özellikle MSS hastalıklarına yönelik olarak KKN'lerin yeni ve etkili bir ilaç teknolojisi hedefi olabileceği fikrini desteklemektedir. Elde edilen veriler çoğunlukla hayvan çalışmalarına dayanmaktadır ve klinik çalışmalar ile teyidi de gereklidir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak, bulgularımız GBP ve QGBP'nin PTZ ile indüklenen epilepsi nöbetlerinin şiddetini etkili bir şekilde hafiflettiğini ve özellikle kullanılan daha yüksek dozlarda QGBP'nin GBP'ye göre istatistikçe anlamlı, daha güçlü bir antiepileptik aktivite sergilediğini göstermiştir. QGBP'nin epilepsi tedavisi için hedef bölge olan beyinde floresan ışınması da konfokal mikroskopik inceleme ile net bir şekilde ortaya konulmuştur.

Çalışmanın sonuçları umut vericidir. Maliyetin ve toksisitenin düşük olması ve biyolojik uyumluluğu da göz önüne alındığı zaman KKN'ler epilepsi tedavisinde avantajlı yeni ilaç tasarımlarının geliştirilmesine yol açabilir ve tedaviye katkı sunabilir. Çalışma bu yönüyle epilepsi tedavisinde çığır açabilecek yeni ilaç tasarımlarına öncülük edebilir. Bununla beraber, başka antiepileptik ilaçların KKN'leri ve farklı epilepsi modelleri ile bulgularımızın tekrarlanması ve teyit edilmesi oldukça önemlidir. Bunun için ilave yeni çalışmalar organize edilmelidir.

Her ne kadar çalışmamızda beyin dokusunda floresan ışınma gösterilmiş olsa da korteks dışında epilepsi bakımından önemli beyin bölgeleri olan hipokampus, amigdala, striatum ve beyin sapında da (Uzbay ve ark., 1998; Mraovitch ve Calando, 1999; Jiang ve ark., 2004; Vasilev ve ark., 2018) spesifik olarak floresan ışımaya yönelik çalışmaların yapılması ve ışınma şiddetinin doz ile değişip değişmediğinin incelenmesi ilave ve ilginç bir çalışma konusu olabilir.

Bu tez çalışması, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından desteklenmiştir.

TÜBİTAK 1002. Proje No: 124S176

KAYNAKLAR

- Akdağ, G., Algın, D., Erdinç, O. (2016) Epilepsy. *Osmangazi Tıp Dergisi*, 38(1).
- Aktekin, B., Ağan, K., Arman, F., Aslan, K., Aykutlu, E., Baklan, B., ... & Velioglu, S. (2012). Epilepsi rehberi: Türk noroloji derneği epilepsi çalışma grubu. *Epilepsi: Türk Epilepsi Derneği Dergisi*, 18 (1), 26-39.
- Ali, A. (2018). Global Health: Epilepsy. *Seminars in Neurology*, 38(2), 191–199.
- Aronica, E., Mühlebner, A. (2017). Neuropathology of epilepsy. *Handbook of Clinical Neurology*, 145, 193–216.
- Ayala Guerrero, F., Mexicano Medina, G., Guerrero, A., Gutiérrez Chávez, C. A., Lazo Sánchez, L. A., Mateos Salgado, E. L. (2022). Sleep and behavioral disturbances induced by epilepsy: Protective effect of gabapentin. *Revista Interamericana De Psicología/Interamerican Journal of Psychology*, 56(2), 1458.
- Ayala-Guerrero, F., Mexicano, G., Gutiérrez-Chávez, C. A., Lazo, L. A., Mateos, E. L. (2019). Effect of gabapentin on sleep patterns disturbed by epilepsy. *Epilepsy & Behavior E&B*, 92, 290–296.
- Aygun, H., Ayyildiz, M. (2021). Vortioxetine increases absence-like seizures in WAG/Rij rats but decreases penicillin- and pentylenetetrazole-induced seizures in Wistar rats. *Epilepsy & Behavior, E&B*, 116, 107797.
- Bai, M., Shao, X., Wang, C., Wang, J., Wang, X., Guan, P., Hu, X. (2024). Application of carbon-based nanomaterials in alzheimer's disease. *Mater Horiz*, 2024 Nov. 11.
- Balestrini, S., Arzimanoglou, A., Blümcke, I., Scheffer, I. E., Wiebe, S., Zelano, J., Walker, M. C. (2021). The aetiologies of epilepsy. *Epileptic Disorders: International Epilepsy Journal With Videotape*, 23(1), 1–16.
- Bambal, G., Çakıl, D., & Ekici, F. (2011). Epilepsinin Oluşum Mekanizmaları. *Konuralp Tıp Dergisi*, 3(3), 42-45.
- Beghi, E. (2020). The epidemiology of epilepsy. *Neuroepidemiology*, 54(2): 185-91.
- Begley, C., Wagner, R. G., Abraham, A., Beghi, E., Newton, C., Kwon, C. S., Labiner, D., Winkler, A. S. (2022). The global cost of epilepsy: a systematic review and extrapolation. *Epilepsia*, 63(4), 892–903.
- Bennett, M. I., Simpson, K. H. (2004). Gabapentin in the treatment of neuropathic pain. *Palliat Med.*, 18, 5-11.
- Bizière, K., & Chambon, J. P. (1987). Modèles animaux d'épilepsie et crises expérimentales [Animal models of epilepsy and experimental seizures]. *Revue Neurologique*, 143(5), 329–340.
- Camlik, G., Akkol, E. K., Degim, Z., & Degim, I. T. (2021). Can carbon quantum dots (CQDs) or boron compounds be an ultimate solution for COVID-19 therapy? *Iran J Pharm Res.*, 20(4), 9-20.
- Camlik, G., Bilakaya, B., Küpeli Akkol, E., Velaro, A. J., Wasnik, S., Muhar, A. M., Degim, I. T., Sobarzo-Sánchez, E. (2024). Oral active carbon quantum dots for diabetes. *Pharmaceuticals*, 17(10), 1395.
- Camlik, G., Bilakaya, B., Ozsoy, Y., Degim, I. T. (2024). A new approach for the treatment of alzheimer's disease: insulin-quantum dots. *J Microencaps*, 41(1), 18-26.
- Camlik, G., Ozakca, I., Bilakaya, B., Ozcelikay, A. T., Velaro, A. J., Wasnik, S., Degim, I. T. (2022). Development of composite carbon quantum dots-insulin formulation for oral administration. *J Drug Deliver Sci. Technol*, 76, 103833.
- Ceyhan, M., Kayir, H., Uzbay, I. T. (2005). Investigation of the effects of tianeptine and fluoxetine on pentylenetetrazole-induced seizures in rats. *J Psychiat Res.*, 39(2), 191-196.
- Chen, P., Chen, F., Zhou, B. (2022). Understanding the Role of Glia-Neuron communication in the pathophysiology of epilepsy. A Review. *Journal of Integrative Neuroscience*, 21(4), 102.
- Cheng, J. K., Chiou, L. C. (2006). Mechanisms of the antinociceptive action of gabapentin. *J Pharmacol Sci.*, 100, 471-86.

- Chowdhury, F. A., Silva, R., Whatley, B., Walker, M. C. (2021). Localisation in focal epilepsy: a practical guide. *Practical Neurology*, 21(6), 481-491.
- Das, S., Mondal, S., Ghosh, D. (2024). Carbon quantum dots in bioimaging and biomedicines. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 11, 1333752.
- da Costa Sobral, K. G., Neuberger, B., Mello, F. K., Mallmann, M. P., Sampaio, T. B., Oliveira, M. S. (2022). Anticonvulsant activity of beta-caryophyllene in association with pregabalin in a seizure model in rats. *Epilepsy Res.*, 179,106842.
- Dhir, A. (2012). Pentylenetetrazol (PTZ) kindling model of epilepsy. *Current Protocols Neurosci, Chapter 9, Unit9.37*.
- Elliott, A. D. (2020). Confocal microscopy: Principles and modern practices. *Current Protocols in Cytometry*, 92(1), e68.
- Emmett-Oglesby, M. W., Spencer, D. G. Jr., Elmesallamy, F., Lal, H. (1983). The pentylenetetrazol model of anxiety detects withdrawal from diazepam in rats. *Life Sci.*, 33(2), 161-8.
- Ergün, H., Uzbay, İ.T., Çelik, T., Kayir, H., Yeşilyurt, Ö. Tulunay, F.C. (2001), Dipyrone inhibits ethanol withdrawal and pentylenetetrazol-induced seizures in rats. *Drug Dev. Res.*, 53: 254-259.
- Faul, F., Erdfelder, E., Lang, A. G., Buchner, A. (2007). G*Power 3: a flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. *Behavior Res. Met.*, 39(2), 175-191.
- Ferrie, C. D. (2005). Idiopathic generalized epilepsies imitating focal epilepsies. *Epilepsia*, 46 Suppl 9, 91–95.
- Filiz, A. K., Karabulut, S. (2022). Involvement of nitric oxide pathway in the acute anticonvulsant effect of salmon calcitonin in rats. *Epilepsy Research*, 180, 106864.
- Fisher, R. S. (1989). Animal models of the epilepsies. *Brain research reviews*, 14(3), 245–278.
- Fuzier, R., Serres, I., Guitton, E., Lapeyre-Mestre, M., Montastruc, J. L. (2013). Adverse drug reactions to gabapentin and pregabalin: a review of the French pharmacovigilance database. *Drug Safety*, 36(1), 55–62.
- Gabapentin. (2024). In *Mother To Baby | Fact Sheets*. Organization of Teratology Information Specialists (OTIS), 2024 Jan.
- Ghosal, K., Ghosh, A. (2019). Carbon dots: The next generation platform for biomedical applications. *Materials Science & Engineering. C, Materials for Biological Applications*, 96, 887–903.
- Gidal, B. E., Radulovic, L. L., Kruger, S., Rutecki, P., Pitterle, M., Bockbrader, H. N. (2000). Inter- and intra-subject variability in gabapentin absorption and absolute bioavailability. *Epilepsy Res.*, 40(2-3), 123-127.
- Goldenberg M. M. (2010). Overview of drugs used for epilepsy and seizures: etiology, diagnosis, and treatment. *P & T. a Peer-reviewed Journal for Formulary Management*, 35(7), 392-415.
- Gözler, T., Uzbay, T. (2020). Effects of energy drink and alcohol mixed with energy drink on pentylenetetrazol-induced seizures in rats. *Arch Neuropsychiatry*, 59(1), 21-25.
- Guerreiro C. A. (2016). Epilepsy: Is there hope? *The Indian Journal of Medical Research*, 144(5), 657–660.
- Gupta Y. (2023). Gabapentin as an Effective treatment for epilepsy. *J Neuro Neurophysio*, 14(5), 1-4.
- Günbey, C., Turanlı, G. (2022). Epilepsi ve pediatrik epilepsi sendromları. *Turkish Journal of Pediatric Disease*, 16(3), 249-257.
- Honarmand, A., Safavi, M., Zare, M. (2011). Gabapentin: an update of its pharmacological properties and therapeutic use in epilepsy. *Journal of Research in Medical Sciences: The Official Journal of Isfahan University of Medical Sciences*, 16(8), 1062-69.
- Hoofnagle, J. H., Serrano, J., Knoblen, JE., Navarro, V. J. (2013). LiverTox: a website on drug-induced liver injury. *Hepatology*, Mar.; 57(3):873-4.
- Huang, N., Cheng, S., Zhang, X., Tian, Q., Pi, J., Tang, J., Huang, Q., Wang, F., Chen, J., Xie, Z., Xu, Z., Chen, W., Zheng, H., Cheng, Y. (2017). Efficacy of NGR peptide-modified PEGylated quantum

- dots for crossing the blood-brain barrier and targeted fluorescence imaging of glioma and tumor vasculature. *Nanomedicine*, 13(1), 83-93.
- Jiang, W., Xiao, L., Wang, J. C., Huang, Y. G., Zhang, X. (2004). Effects of nitric oxide on dentate gyrus cell proliferation after seizures induced by pentylentetrazol in the adult rat brain. *Neuroscience Letters*, 367(3), 344-348.
- Jung, M. E., Wallis, C. J., Gatch, M. B., Lal, H. (2000). Sex differences in nicotine substitution to a pentylentetrazol discriminative stimulus during ethanol withdrawal in rats. *Psychopharmacology (Berl)*, 149(3), 235-40.
- Kanda, J., Izumo, N., Kobayashi, Y., Onodera, K., Shimakura, T., Yamamoto, N., Takahashi, H. E., Wakabayashi, H. (2017). Effects of the antiepileptic drugs phenytoin, gabapentin, and levetiracetam on bone Strength, bone mass, and bone turnover in rats. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 40(11), 1934–1940.
- Kaşıkcı, E., S., Çevreli, B., Cengiz, K., Coşkun, U. (2019). Effect of combined implementation hesperidin and valproic acid on oxidant-antioxidant defense in a pentylentetrazol induced Epilepsy model. *Eskişehir Teknik Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi - C Yaşam Bilimleri Ve Biyoteknoloji*, 8(1), 106-120.
- Khoo, A., de Tisi, J., Foong, J., Bindman, D., O'Keefe, A. G., Sander, J. W., Miserocchi, A., McEvoy, A. W., Duncan, J. S. (2022). Long-term seizure, psychiatric and socioeconomic outcomes after frontal lobe epilepsy surgery. *Epilepsy Research*, 186, 106998.
- Kong, J., Wei, Y., Zhou, F., Shi, L., Zhao, S., Wan, M., & Zhang, X. (2024). Carbon quantum dots: Properties, preparation, and applications. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 29(9), 2002.
- Korn-Merker, E., Borusiak, P., Boenigk, H. E. (2000). Gabapentin in childhood epilepsy: a prospective evaluation of efficacy and safety. *Epilepsy Res.*, 38(1), 27-32.
- Kupferberg H. (2001). Animal models used in the screening of antiepileptic drugs. *Epilepsia*, 42 Suppl. 4, 7-12.
- Leach, J. P., Sills, G. J., Butler, E., Forrest, G., Thomson G. G., Brodie, M. J. (1997). Neurochemical actions of gabapentin in mouse brain. *Epilepsy Res.*, 27, 175-80.
- Li, F., Singh, A. V. (2021). Recent advancements to enhance the therapeutic efficacy of antiepileptic drugs. *Acta Pharm.*, 71(4), 527-544.
- Liu, S. Wang, W. (2023). Immunofluorescence staining on cryosections with high autofluorescence in African killfish. *Neuromethods*, 194, 95-108.
- Loscher, W., Schmidt, D. (1988). Which animal models should be used in the search for new antiepileptic drugs? A proposal based on experimental and clinical considerations. *Epilepsy Res.*, 2, 145-81.
- Loscher, W., Hönack, D., Taylor, C. P. (1991). Gabapentin increases aminooxyacetic acid-induced GABA accumulation in several regions of rat brain. *Neurosci Lett.*, 128: 150-4.
- Löscher, W., Reissmüller, E., Ebert, U. (2000). Anticonvulsant efficacy of gabapentin and levetiracetam in phenytoin-resistant kindled rats. *Epilepsy Res.*, 40(1), 63-77.
- Luszczki, J. J., Czuczwar, S. J. (2006). Gabapentin synergistically interacts with topiramate in the mouse maximal electroshock seizure model: an isobolographic analysis. *Pharmacol Rep.*, 58(6), 944-954.
- Lüttjohann, A., Fabene, P. F., Van Luijckelaar, G. (2009). A revised Racine's scale for PTZ-induced seizures in rats. *Physiology Behavior*, 98(5), 579-86.
- Manral, M., Dwivedi, R., Gulati, S., Kaur, K., Nehra, A., Pandey, R. M., Upadhyay, A. D., Sapra, S., Tripathi, M. (2023). Safety, efficacy, and tolerability of modified atkins diet in persons with drug-resistant epilepsy: a randomized controlled Trial. *Neurology*, 100(13), e1376–e1385.
- Mares, P., Haugvicová, R. (1997). Anticonvulsant action of gabapentin during postnatal development in rats. *Epilepsia*, 38(8), 893–896.
- Martin, J. C., Gainer, D. (2022). Psychiatric uses of gabapentin. *Innovations in Clinical Neuroscience*, 19(7-9), 55–60.

- Mason, C. R., Cooper, R. M. (1972). A permanent change in convulsive threshold in normal and brain-damaged rats with repeated small doses of pentylenetetrazol. *Epilepsia*, 13(5), 663-674.
- Menezes, L. F. S., Sabiá Júnior, E. F., Tibery, D. V., Carneiro, L. D. A., Schwartz, E. F. (2020). Epilepsy-Related Voltage-Gated Sodium channelopathies: a review. *Front Pharmacol*, 11, 1276.
- Molaei, M. J. (2019). Carbon quantum dots and their biomedical and therapeutic applications: a review. *RSC advances*, 9(12), 6460–6481.
- Mraovitch, S., Calando, Y. (1999). Interactions between limbic, thalamo-striatal-cortical, and central autonomic pathways during epileptic seizure progression. *Journal of Comparative Neurology*, 411(1), 145-61.
- Nascimento, F. A., Friedman, D., Peters, J. M., Bensalem-Owen, M. K., Cendes, F., Rampp, S., Wirrell, E., Blümcke, I., Tatum, W., Beniczky, S. (2023). Focal epilepsies: Update on diagnosis and classification. *Epileptic Disorders: International Epilepsy Journal with Videotape*, 25(1), 1-17.
- National Center for Biotechnology Information (2024). PubChem Compound Summary for CID 119, Gamma-Aminobutyric Acid. Retrieved August 20, 2024 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Gamma-Aminobutyric-Acid>.
- National Center for Biotechnology Information (2024). PubChem Compound Summary for CID 5917, Pentetrazol. Retrieved August 20, 2024 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Pentylenetetrazole>.
- National Center for Biotechnology Information (2024). PubChem Compound Summary for CID 3446, Gabapentin. Retrieved August 20, 2024 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Gabapentin>.
- Nwaneshiudu, A., Kuschal, C., Sakamoto, F. H., Anderson, R. R., Schwarzenberger, K., Young, R. C. (2012). Introduction to confocal microscopy. *Journal Investigative Dermatology*, 2012 Dec;132(12):e3.
- Nwankwo, A., Koyyalagunta, D., Huh, B., D'Souza, R. S., & Javed, S. (2024). A comprehensive review of the typical and atypical side effects of gabapentin. *Pain practice : The Official Journal of World Institute of Pain*, 24(8), 1051–1058.
- Özçora, G. D. K., Canpolat, M., Kumandaş, S. (2020). Jeneralize Nöbetler. *Türkiye Klinikleri Pediatric Neurology-Special Topics*, 1(1), 91-95.
- Özkan, K. (2020). Experimental epilepsy models in laboratory animals. *İzmir Democracy University Health Sciences Journal*, 3(1), 38-51.
- Panebianco, M., Al-Bachari, S., Hutton, J. L., Marson, A. G. (2021). Gabapentin add-on treatment for drug-resistant focal epilepsy. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 1(1), CD001415.
- Patel, A. P., Verma, S., Jadhav, P. R., Deshmukh, Y. A. (2019). Anticonvulsant activity of gabapentin in mice-An experimental study. *National Journal of Physiology Pharmacy Pharmacology*, 9(2), 117-20.
- Patel, P., Moshé, S. L. (2020). The evolution of the concepts of seizures and epilepsy: What's in a name? *Epilepsia Open*, 5(1), 22–35.
- Perucca, P., Bahlo, M., Berkovic, S. F. (2020). The Genetics of Epilepsy. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, 21, 205–230.
- Quintero, G. C. (2017). Review about gabapentin misuse, interactions, contraindications and side effects. *Journal Experimental Pharmacology*, 2017 Feb 9;9:13-21.
- Racine, R. J. (1972). Modification of seizure activity by electrical stimulation. II. motor seizure. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 32(3), 281–294.
- Rajakulendran, S., Hanna, M. G. (2016). The Role of Calcium Channels in Epilepsy. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 6(1), a022723.
- Rajna, P., Szijártó, E. (2006). Efficacy, safety and effect on the quality of life of gabapentin in adult epilepsy--results of a prospective open-label quasi naturalistic Hungarian multicenter study (phase human-IV). *Ideggyogy Szemle*, 59(9-10), 361-72.

- Robinson, N. B., Krieger, K., Khan, F. M., Huffman, W., Chang, M., Naik, A., Yongle, R., Hameed, I., Krieger, K., Girardi, L. N., Gaudino, M. (2019). The current state of animal models in research: a review. *International Journal of Surgery (London, England)*, 72, 9–13.
- Rocha, L. (2008). Subchronic treatment with antiepileptic drugs modifies pentylenetetrazol-induced seizures in mice: It's correlation with benzodiazepine receptor binding. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, 24(3), 619-25.
- Rose, M. A., Kam, P. C. (2002). Gabapentin: pharmacology and its use in pain management. *Anaesthesia*, 57(5), 451–462.
- Rubio, C., Rubio-Osornio, M., Retana-Márquez, S., Verónica Custodio, M. L., Paz, C. (2010). In vivo experimental models of epilepsy. *Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry*, 10(4), 298–309.
- Rugg-Gunn, F., Miserocchi, A., McEvoy, A. (2020). Epilepsy surgery. *Practical Neurology*, 20(1), 4–14.
- Russo, M., Graham, B., Santarelli, D. M. (2023). Gabapentin friend or foe?. *Pain practice : The Official Journal of World Institute of Pain*, 23(1), 63–69.
- Sacher, R. (2000). Microscope immersion oil. *Microscopy Today*, 8(8), 33–35.
- Sarlo, G. L., Holton, K. F. (2021). Brain concentrations of glutamate and GABA in human epilepsy: a review. *Seizure*, 91, 213-27.
- Schroeder, H., Becker, A., Grecksch, G., Schroeder, U., Hoellt, V. (1998). The effect of pentylenetetrazol kindling on synaptic mechanisms of interacting glutamatergic and opioid system in the hippocampus of rats. *Brain Res.*, 811(1-2), 40–46.
- Semwogerere, D., Weeks, ER (2005). Confocal microscop. *Encyclopedia of Biomaterials and Biomedical Engineering*, 23, 1-10.
- Sharma, A., Das, J. (2019). Small molecules derived carbon dots: synthesis and applications in sensing, catalysis, imaging, and biomedicine. *Journal of Nanobiotechnology*, 17(1), 92.
- Sharma, M., Kumar, C., Arya, S.K., Puri, S., Khatri, M. (2024). Neurological effects of carbon quantum dots on zebrafish: a review. *Neuroscience*, 560, 334-346.
- Shimada, T., Yamagata, K. (2018). Pentylenetetrazole induced kindling mouse model. *Journal of Visualized Experiments: JoVE*, (136), 56573.
- Sills, G. J., Rogawski, M. A. (2020). Mechanisms of action of currently used antiseizure drugs. *Neuropharmacology*, 168, 107966.
- Singh, I., Arora, R., Dhiman, H., Pahwa, R. (2018). Carbon quantum dots: Synthesis, characterization and biomedical applications. *Turkish journal of Pharmaceutical Sciences*, 15(2), 219–230.
- Smith S. J. (2005). EEG in the diagnosis, classification, and management of patients with epilepsy. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 76 Suppl 2 (Suppl 2), ii2–ii7.
- Snyder, J. M., Radaelli, E., Goeken, A., Businga, T., Boyden, A. W., Karandikar, N. J., Gibson-Corley, K. N. (2022). Perfusion with 10% neutral-buffered formalin is equivalent to 4% paraformaldehyde for histopathology and immunohistochemistry in a mouse model of experimental autoimmune encephalomyelitis. *Veterinary Pathology*, 59(3), 498–505.
- Stafstrom, C. E., Carmant, L. (2015). Seizures and epilepsy: an overview for neuroscientists. *Cold Spring Harbor perspectives in Medicine*, 5(6), a022426.
- Symonds, J. D., Zuberi, S. M., Johnson, M. R. (2017). Advances in epilepsy gene discovery and implications for epilepsy diagnosis and treatment. *Current Opinion in Neurology*, 30(2), 193–199.
- The Importance of Animal Research içinde. Erişim adresi <https://www.nabr.org/biomedical-research/importance-biomedical-research>
- Thijs, R. D., Surges, R., O'Brien, T. J., Sander, J. W. (2019). Epilepsy in adults. *Lancet (London, England)*, 393(10172), 689–701.
- Thurman, D. J., Logroscino, G., Beghi, E., Hauser, W. A., Hesdorffer, D. C., Newton, C. R., Scorza, F. A., Sander, J. W., Tomson, T. (2017). The burden of premature mortality of epilepsy in high-income

- countries: a systematic review from the mortality task force of the International League Against Epilepsy. *Epilepsia*, 58(1), 17–26.
- Toscano, C. V., Barros, L., Lima, A. B., Nunes, T., Carvalho, H. M., Gaspar, J. M. (2021). Neuroinflammation in autism spectrum disorders: Exercise as a “pharmacological” tool. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 129, 63-74.
- Traa, B. S., Mulholland, J. D., Kadam, S. D., Johnston, M. V., Comi, A. M. (2008). Gabapentin neuroprotection and seizure suppression in immature mouse brain ischemia. *Pediatric Research*, 64(1), 81–85.
- Twinomujuni, S. S., Oloro, J., Alele, P. E. (2016). Anticonvulsant and anxiolytic activity of the leaf aqueous and ethanolic extracts of *Melanthera scandens* in a rat model. *African Journal of Pharmacy Pharmacology* 10(12), 216-222.
- Uzbay, I. T., Usanmaz, S. E., Tapanyigit, E. E., Aynacioglu, S., Akarsu, E. S. (1998). “Dopaminergic and serotonergic alterations in the rat brain during ethanol withdrawal: association with behavioral signs”. *Drug and Alcohol Dependence*, 1998 Dec. 53(1), 39-47.
- Van Erum, J., Van Dam, D., De Deyn, P. P. (2019). PTZ-induced seizures in mice require a revised Racine scale. *Epilepsy & Behavior*, 95, 51-55.
- Vasilev, D. S., Tumanova, N. L., Kim, K. K., Lavrentyeva, V. V., Lukomskaya, N. Y., Zhuravin, I. A., Magazanik, L. G., Zaitsev, A. V. (2018). “Transient morphological alterations in the hippocampus after pentylenetetrazole-induced seizures in rats”. *Neurochemical Research*, 43(8),1671-1682.
- Velisek, L. (2006). Models of chemically-induced acute seizures. *Models of Seizures and Epilepsy*, 127-152.
- Vollmer, K. O., von Hodenberg, A., Kölle, E. U. (1986). Pharmacokinetics and metabolism of gabapentin in rat, dog and man. *Arzneimittelforschung* 36, 830-9.
- Wang, Y., Hu, A. (2014). Carbon quantum dots: synthesis, properties and applications. *Journal of Materials Chemistry C*, 2(34), 6921-6939.
- Wesche, D., Bockbrader, H. (2005). A pharmacokinetic comparison of pregabalin and gabapentin. *The Journal of Pain*, 6(3), S29.
- Why Animals are Used in Research. (2024 6 Temmuz). Erişim adresi <https://grants.nih.gov/grants/policy/air/why.htm>
- Xue, Y., Liu, C., Andrews, G., Wang, J., Ge, Y. (2022). Recent advances in carbon quantum dots for virus detection, as well as inhibition and treatment of viral infection. *Nano Converge*, 9(1), 15.
- Yasaei, R., Katta, S., Patel, P., Saadabadi, A. (2024). Gabapentin. *In StatPearls. StatPearls Publishing*, 2024 Jan.
- Yonekawa, W. D., Kupferberg, H. J., Woodbury, D. M. (1980). Relation between pentylenetetrazol-induced seizures and brain pentylenetetrazol levels in mice. *Journal of Pharmacology Experimental Therapeutics* 214, 589-93.
- Yuan, F., Li, S., Fan, Z., Meng, X., Fan, L., & Yang, S. (2016). Shining carbon dots: Synthesis and biomedical and optoelectronic applications. *Nano Today*, 11(5), 565-586.
- Yuen, E. S., Trocóniz, I. F. (2015). Can pentylenetetrazole and maximal electroshock rodent seizure models quantitatively predict antiepileptic efficacy in humans? *Seizure*, 24, 21–27.
- Zhang, X., Yang, L., Wang, F., Su, Y. (2024). Carbon quantum dots for the diagnosis and treatment of ophthalmic diseases. *Human Cell* 37(5), 1336-1346.