

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
NÖROŞİRÜRJİ ANABİLİM DALI**

**HİPOKAMPAL MİKROGLİA AKTİVASYONU İLE SERUM S100B
DÜZEYİ ARASINDAKİ OLASI KORELASYONUN SIÇANLARDA
LİTYUM-PİLOKARPİN İLE OLUŞTURULAN DENEYSEL BİR STATUS
EPİLEPTİKUS MODELİNDE İNCELENMESİ VE MİNOSİKLİNİN
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. ERKUT BAHA BULDUK**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Gökhan KURT**

**ANKARA
MAYIS 2015**

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimi sürecimde, engin bilgi ve deneyimlerini her fırsatta benimle paylaşan, bu sanatın inceliklerini öğreten ve öğrencileri olmaktan her zaman gurur duyacağım saygıdeğer tez hocam Sn. Prof. Dr. Gökhan KURT' a, Anabilim Dalı Başkanı' m Sn. Prof. Dr. Şükrü AYKOL' a ve Sn. Prof. Dr. Aydın PAŞAOĞLU' na, Sn. Prof. Dr. M Kemal BAYKANER' e, Sn. Prof. Dr. Memduh KAYMAZ' a, Sn. Prof. Dr. Fikret DOĞULU' ya, Sn. Doç. Dr. Hakan EMMER' e ve Sn. Doç. Dr. Alp BÖRCEK' e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmamın her aşamasında büyük katkıları olan Sn. Prof. Dr. Süreyya BARUN'a teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim süresince abiliğini, kardeşliğini benden esirgemeyen, her konuda yanımda olan Dr. Günhan GÜNGÖR' e , birlikte çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum sevgili eş kıdemli Dr. Emrah ÇELTİKÇİ' ye ve kıdemli kıdemsiz tüm araştırma görevlisi arkadaşlarıma, kader ortaklarıma ve yine tezimde emeği geçen Sn.Uzm.Dr. A Eren SEÇEN' e teşekkürlerimi sunarım.

Uzun ve yorucu uzmanlık eğitimi sürecimde, birlikte çalıştığımız anabilim dalımızın tüm çalışanlarına, oluşturdukları aile ortamı nedeni ile teşekkürlerimi sunarım.

Uzmanlık eğitimim öncesinde, içimdeki Beyin Cerrahisi sevgisinin temellerini atan ve bu yolu seçmemde büyük katkısı olan eski üniversitem Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı' na çok teşekkür ederim.

Eğitim hayatım boyunca desteklerini esirgemeyen annem ve ablalarıma,

Bu çalışmadaki yardımları ve de ihtisasım boyunca gösterdiği sabır, anlayış ve sevgisi nedeniyle değerli eşim Dr. Tuba BULDUK' a ve biricik kızım Miray' ıma

Teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Erkut Baha BULDUK

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

..... Anabilim Dalı Uzmanlık Programı çerçevesinde yürütölmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi : .../.../20...

BAŞKAN

İmza
Ünvanı Adı ve Soyadı
..... Üniversitesi

ÜYE
İmza
Ünvanı Adı ve Soyadı
Üniversitesi

ÜYE
İmza
Ünvanı Adı ve Soyadı
Üniversitesi

ÜYE
İmza
Ünvanı Adı ve Soyadı
Üniversitesi

ÜYE
İmza
Ünvanı Adı ve Soyadı
Üniversitesi

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	i
KISALTMALAR	iv
ŞEKİLLER	vii
TABLolar	ix
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Epilepsi	3
2.1.1. Tarihçe	3
2.1.2. İnsidans – Prevelans:	4
2.1.3. Epilepsi Etiyolojisi:	5
2.1.4. Epilepsi Sınıflaması:	7
2.1.5. Status epileptikus (SE)	10
2.1.6. Epilepside klinik bulgular	14
2.1.7. Epilepsi fizyopatolojisi	16
2.1.8. Epilepsi Tanısı	18
2.1.9. Epilepsi Ayırıcı Tanısı	27
2.1.10. Epilepsi Tedavisi	30
2.2. Hipokampüs	34
2.2.1. Hipokampal Anatomi ve Formasyon	34
2.3. Mikroglial Hücreler	37
2.3.1. Tarihçe ve Mikroglial Hücrelerin Kökeni	37
2.3.2. Mikroglia Fonksiyonları ve Mikroglial Aktivasyon	39
2.3.3. Mikroglial Hücreler ve Epilepside Roller	41
2.3.4. Mikroglia çalışma yöntemleri	43
2.4. S100 PROTEİN AİLESİ	45
2.4.1. S100B	46
2.5. Minosiklin	48
2.5.1. Minosiklinin Farmakokinetik Etkileri	48
2.5.2. Minosiklinin Nöroprotektif Etkileri	50

2.6.	Glial Fibriler Asidik Protein (GFAP)	51
2.7.	OX-42	52
3.	GEREÇ VE YÖNTEM	53
3.1.	Hayvan Grupları	53
3.2.	İmmünohistokimyasal Yöntem	56
3.2.1.	İndirekt ABC Yöntemi	57
3.3.	Biyokimyasal Yöntem	58
3.4.	İstatiksel Yöntem	59
4.	BULGULAR	60
4.1.	İstatiksel Bulgular	60
4.1.1.	Çalışma Gruplarında S100B'nin Kan Düzeyleri	60
4.1.2.	Çalışma Gruplarına Göre Dentat Girusta OX42 (+) Mikroglia Sayıları	61
4.1.3.	Çalışma Gruplarına Göre CA1'de OX42 (+) Mikroglia Sayıları	62
4.1.4.	Çalışma Gruplarına Göre Dentat Girustaki GFAP (+) Astrosit Sayıları	63
4.1.5.	Çalışma Gruplarına Göre CA1'deki GFAP (+) Astrosit Sayıları	64
4.1.6.	Her Bir Çalışma Grubunun Kendi İçinde OX42 (+) ve GFAP (+) Hücre Sayılarının Kan S100B Düzeyleri ile Arasındaki Korelasyonun Araştırılması	65
4.2.	İmmünohistokimyasal Bulgular	76
4.2.2.	KONTROL GRUBU:	76
4.2.3.	SHAM GRUBU:	78
4.2.4.	EPİLEPSİ GRUBU:	80
4.2.5.	MİNOSİKLİN GRUBU:	82
5.	TARTIŞMA	85
6.	SONUÇ	92
7.	KAYNAKLAR	93
8.	ÖZET	110
9.	SUMMARY	112
10.	ÖZGEÇMİŞ	114

11. EKLER	116
11.1. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Onayı	116
11.2. Deney Hayvanları Kursu Katılım Sertifikası	117
11.3. Tıpta İletişim Becerileri Temel Eğitimi Katılım Belgesi	118

KISALTMALAR

AIDS	Autoimmun Deficiency Syndrome (Otoimmun yetmezlik sendromu)
ALS	Amyotrofik Lateral Skleroz
ASE	Absans Status Epileptikus
ATP	Adenozin Trifosfat
AVM	Arteriovenöz Malformasyon
BT	Bilgisayarlı Tomografi
CA	Cornu Ammonis
Ca	Kalsiyum
CBZ	Karbamazepin
CD	Cluster of differentiation (Farklılaşma dizini)
DG	Dentat Girus
EEG	Elektroensefalografi
FDG	FloroDeoksiGlikoz
FLAIR	Fluid Attenuated Inversion Recovery
GABA	Gama Amino Butirik Asit
GFAP	Glial Fibriler Asidik Protein
GFP	Green Fluorescent Protein (Yeşil floresan protein)
HMGB1	Yüksek mobil grup protein B1
HMPAO	HexaMethylPropylenAmine Oxime
IHK	İmmünohistokimya

ILEA	International League Against Epilepsy (Uluslararası Epilepsi ile Savaş Derneği)
IL-1 β	İnterlökin 1 beta
IL-1R1	İnterlökin 1 reseptör tip 1
ISH	<i>in situ</i> hibridizasyon
IR	Inversion Recovery
IVIG	Intra venöz immunglobulin
İp	intraperitoneal
İv	İntravenöz
KBB	Kan Beyin Bariyeri
KPN	Kompleks Parsiyel Nöbet
KPSE	Kompleks Parsiyel Status Epileptikus
LEV	Levetirasetam
LTG	Lamotrijin
MMP	Mettalo proteinaz
MTLE	Meziyal Temporal Lob Epilepsisi
MTS	Meziotemporal Skleroz
MRG	Manyetik Rezonans Görüntüleme
mRNA	mitokondrial RiboNucleic Acid
MRS	Manyetik Rezonans Spektroskopi
MS	Multiple Skleroz
NKSE	Nonkonvülzif Status Epileptikus
NO	Nitrik oksit

OXC	Okskarbazepin
PBBS	Peripheral benzodiazepine binding site (Çevresel benzodiyazepin bağlayıcı bölge)
PBS	Phosphate Buffered Saline (Fosfat tamponlu salin)
PET	Pozitron Emisyon Tomografi
SE	Status Epileptikus
SPECT	Single Photon Pozitron Emisyon Tomografi
SSS	Santral Sinir Sistemi
TGF- β	Dönüştürücü büyüme faktörü- β
TP	Taşıyıcı protein
VEM	Video-EEG Monitorizasyon
VPA	Valproik asit
WHO	World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)
YFP	Yellow Fluorescent Protein (Sarı floresan protein)
5-HT1A	5- hidroksitriptamin 1A

ŞEKİLLER

Şekil 1.	Nörogörüntüleme yöntemleri ile bazı epilepsi olgularında gösterilmiş olan ve epilepsiye yol açtığı düşünülen lezyonlar	22
Şekil 2.	Epilepsiye sık neden olan nöronal gelişimsel bozukluk örnekleri:	23
Şekil 3.	Epileptik bir hastanın PET inceleme örneği:	26
Şekil 4.	Hipokampus, isimlendirmede esinlenilen denizati ve Ammon	35
Şekil 5.	Hipokampal formasyon şematik çizimi	37
Şekil 6.	Rio Hortega'nın mikrogliya hücrelerini tanımladığında kullandığı gümüş metodu ile boyanan 2 mikrogliya görünümü.	38
Şekil 7.	Fare hipokampal diliminin in vitro kültürüne ait nöron ve mikrogliyal	40
Şekil 8.	Çalışmamızda lityum-pilokarpin ile indüklenerek oluşturulan Racine Skalası'na göre Evre 4 nöbet geçiren denek örnekleri	55
Şekil 9.	Çalışmamızdaki deneklerden hipokampus doku örnekleri alınması	57
Şekil 10.	Çalışma Gruplarına Göre S100B'nin Kan Düzeyleri	60
Şekil 11.	Çalışma Gruplarına Göre Dentat Girus'ta OX42 (+) Mikrogliya Sayıları	61
Şekil 12.	Çalışma Gruplarına Göre CA1'de OX42 (+) Mikrogliya Sayıları	62
Şekil 13.	Çalışma Gruplarına Göre Dentat Girustaki GFAP (+) Astrosit Sayıları	63
Şekil 14.	Çalışma Gruplarına Göre CA1'deki GFAP (+) Astrosit Sayıları	64
Şekil 15.	Sham" Grubunda CA1'deki GFAP (+) Astrosit Sayısı ile Kandaki S100B Düzeyi Arasındaki Korelasyon	66
Şekil 16.	"Status Epileptikus" Grubunda CA1'deki GFAP (+) Astrosit Sayısı ile DG'deki GFAP (+) Astrosit Sayısı Arasındaki Korelasyon	67
Şekil 17.	"Status Epileptikus" Grubunda S100B Kan Düzeyleri ile DG'deki GFAP (+) Astrosit Sayısı Arasındaki Korelasyon	68
Şekil 18.	"Status Epileptikus" Grubunda S100B Kan Düzeyleri ile CA1'deki GFAP (+) Astrosit Sayısı Arasındaki Korelasyon	69

Şekil 19.	“Status Epileptikus” Grubunda S100B Kan Düzeyleri ile CA1’deki OX42 (+) Mikroglia Sayısı Arasındaki Korelasyon	70
Şekil 20.	Kontrol grubu;	76
Şekil 21.	Kontrol grubu GFAP;	77
Şekil 22.	Kontrol grubu OX42;	77
Şekil 23.	Sham grubu;	78
Şekil 24.	Sham grubu GFAP;	79
Şekil 25.	Sham grubu OX42;	79
Şekil 26.	Epilepsi grubu;	80
Şekil 27.	Epilepsi grubu GFAP;	81
Şekil 28.	Epilepsi grubu OX42;	82
Şekil 29.	Minosiklin grubu;	82
Şekil 30.	Minosiklin grubu GFAP;	83

TABLÖLAR

Tablo 1.	Ülkemizde gerçekleştirilen epilepsi prevalans çalışmaları ve sonuçları (prevalans değerleri; 1000 kişiye göre)	5
Tablo 2.	Epilepside Ayırıcı Tanı	29
Tablo 3.	Racine Skalası	54
Tablo 4.	Çalışma Gruplarına Göre Dentat Girus ve CA1'deki GFAP(+) ve OX42 (+) Hücre Sayısının ve Kandaki S100B Değerlerinin Dağılımı	71
Tablo 5.	Kontrol Grubunda DG ve CA1'de GFAP (+), OX42 (+) Hücreler ve Kan S100B Düzeyleri Arasındaki Korelasyon	72
Tablo 6.	Sham Grubunda DG ve CA1'de GFAP (+), OX42 (+) Hücreler ve Kan S100B Düzeyleri Arasındaki Korelasyon	73
Tablo 7.	Status Epileptikus Grubunda DG ve CA1'de GFAP (+), OX42 (+) Hücreler ve Kan S100B Düzeyleri Arasındaki Korelasyon	74
Tablo 8.	Status Epileptikus + Minosiklin Grubunda DG ve CA1'de GFAP (+), OX42 (+) Hücreler ve Kan S100B Düzeyleri Arasındaki Korelasyon	75

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Epilepsi; beyindeki sinir hücrelerinin artmış uyarılabilirliğinden (nöronal hiperekstabilite) kaynaklanan klinik bir durumdur. Epilepsi nöbeti; gri maddedeki artmış, hızlı ve yerel elektriksel boşalımlardan köken alır. Klinikte bilinç, davranış, duygu, hareket veya algılama fonksiyonlarında ani başlayan, kısa süreli ve geçici stereotipik değişiklik durumu gözlenir. Epilepsi kronik olarak tekrarlayan, tetiklenmemiş (non-provoke) nöbetlerle giden tabloyu tanımlar, bu nedenle tek bir tetiklenmemiş nöbet epilepsi anlamına gelmez.

Nöbet sırasında artmış nörometabolik aktivite, elektrofizyolojik bütünlüğün bozulmasına ve nöronal membranların instabilitesine yol açarak oksidatif hasar ile birlikte oksijen radikallerinin ortaya çıkmasına, lipid peroksidasyonuna ve nöronal hasarın artmasına neden olmaktadır (1). Epilepside altta yatan patofizyolojik mekanizmalar halen tam olarak bilinmemektedir. Bugüne kadar biyokimyasal bozukluklarla ilgili çok sayıda deneysel çalışma yapılmış, fakat epilepsinin moleküler düzeyde patogenezi tam olarak açıklanamamıştır (2).

Epilepsi, hastaların günlük yaşantılarını olumsuz etkilemektedir. Bu olumsuzluklar nöbetlerle sınırlı değildir. Uzun süre kullanılan ilaçlar ve ilaçların yan etkileri; eğitimde, iş ve sosyal hayatta kısıtlanmalar, sağlık harcamalarındaki ekonomik yük epilepsinin olumsuzlukları arasında yer almaktadır.

Araştırmamızda amacımız; epilepside mikroglia aktivasyonu ile serum S100B arasındaki olası ilişkiyi değerlendirerek bu olası ilişkide minosiklinin

etkisini araştırmak ve epilepsi tedavisine yönelik yeni seçenekler oluştırmaya çalışmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Epilepsi

2.1.1. Tarihçe

Epilepsi sözcük olarak eski Yunanca'da 'yakalamak', 'kavramak' anlamlarına gelen 'epilambanein' kelimesinden türetilmiştir (3). Bu terminoloji tüm hastalıkların genellikle bir ceza olarak tanrılar ya da şeytan ruhundan geldiği düşüncesinin hakim olduğu antik çağlarda oluşmuştur.

4000 yılı aşkın süredir epilepsi hastalığı ile uğraşıldığı bilinmektedir. Milattan önce (M.Ö.) 2000 yılına ait Babil tabletlerinde epilepsi ile ilgili bilgiler bulunmaktadır (4). Antik Yunandan günümüze kadar ulaşan epilepsi ile ilgili en önemli yapıt Hippocrates'in Kutsal Hastalık adıyla epilepsiyi konu alan kitabıdır. İlk kez onun tarafından M.Ö. 400'lü yıllarda epilepsinin bir beyin hastalığı olduğu ve dinsel tedavilerle değil ancak ilaç ile tedavi edilebileceği ifade edilmiştir.

Epileptik hastalara ait ilk sayısal verilerin elde edilmesi ve epilepsi sınıflamasının kullanılmaya başlanması XIX. yüzyıl ortalarında olmuştur. Epilepsi tedavisi, ilk kez Sir Charles Locock'ın (1799–1875) histeri hastalarında etkili olduğunu gördüğü "potasyum bromürü" katameniyal nöbetlerin tedavisinde etkili olduğunu açıklamasıyla başlamıştır. Hauptmann'ın 1912 yılında günümüzde de kullanılan "fenobarbitalin" nöbetler üzerine olan etkisini bildiren yayınıyla epilepsi tedavisi anlam kazanmıştır (4).

Epileptolojide, XX. yüzyıl başlarında H. Berger‘ in elektroensefalografiyi (EEG) bulup 1929 yılında klinik uygulamaya koymasıyla ilk büyük atılım yapılmıştır.

Meritt ve Putnam tarafından 1937 yılında “fenitoinin” bulunması ve yine aynı yıllarda W. Penfield ile H. Jasper’in invazif nörofizyoloji çalışmalarıyla hızlı bir gelişme sağlanmıştır (4).

Bu gelişmeler günümüzde epilepsi hastalığının temel mekanizmasının anlaşılması, tanı ve tedavisinin geliştirilmesinde kaynak olmuştur.

2.1.2. İnsidans – Prevelans:

Epilepsi insidans ve prevalans değerleri gelişmiş ve gelişmekte olan ülkeler arasında farklılıklar göstermekte ve genel olarak gelişmekte olan ülkelere epilepsi görülme sıklığı daha yüksek olmaktadır.

Yıllık insidansı gelişmiş ülkelere 50/100.000, gelişmekte olan ülkelere 100/100.000 olarak ifade edilmektedir (5). Gelişmiş ülkeler için ortalama epilepsi prevalansının 6/1000 olduğu ve WHO (World Health Organization) protokolu ile gerçekleştirilen prevalans çalışmalarında gelişmekte olan ülkelere bu oranın ortalama 18.5/1000 olduğu hesap edilmektedir (6). Dünya Sağlık Örgütü’nün 2009 verilerine göre dünyada 50 milyon epilepsi hastası olduğu bildirilmektedir (5).

Ne yazık ki Türkiye’ye ait epilepsi insidansı çalışması yoktur (7). Değişik bölgelerde gerçekleştirilmiş prevalans çalışmaları mevcuttur. Bu çalışmalarda da bazı metodolojik ve terminolojik farklılıklar izlenmektedir ve bu nedenle bu çalışmaların kıyaslanması güçtür. Mevcut prevalans çalışmaları, İstanbul, Sivas,

Ankara, İzmir ve Bursa 'da çoğunlukla sınırlı nüfus üzerinde gerçekleştirilen çalışmalardır. Bu çalışmalardan elde edilen aktif epilepsi prevalans değerleri aşağıdaki tabloda sunulmuştur (Tablo 1).

Tablo 1. Ülkemizde gerçekleştirilen epilepsi prevalans çalışmaları ve sonuçları (prevalans değerleri; 1000 kişiye göre)

Bölge	Örneklem (kişi)	Örneklem alanı	Yaş aralığı	Araştırmacılar	Prevalans (aktif epilepsi)
Ankara	11497	Kentsel-Kırsal	Her yaş	Aziz H. ve ark. 1997	7
Sivas	5294	Kentsel	Her yaş	Topalkara K. ve ark. 1999	6.1
İstanbul	4803	Kırsal	Yenidoğan hariç	Karaağaç N. ve ark. 1999	10.2
İstanbul	2187	Kırsal	Her yaş	Onal E. ve ark. 2002	5.9
İzmir	4216	Okullar	7-17	Aydın A. ve ark. 2002	5.6
Türkiye	46.813	Kırsal-Kentsel	0-16	Serdaroğlu A. ve ark. 2004	8
Sivas	14253	Kırsal	Her yaş	Şahin A. ve ark. 2004	8.8
Bursa	2116	Kentsel	Yenidoğan hariç	Çalışır N. ve ark. 2006	8.5

2.1.3. Epilepsi Etiyolojisi:

Epilepsi etiyolojisi dünyanın farklı ülkelerinde ve farklı yaş gruplarında değişiklik göstermektedir. Hayatın ilk yıllarında konjenital ve genetik nedenler ön planda iken, daha büyük çocuklar ve genç erişkinlerde kalıtsal yatkınlık, travma, hipokampal skleroz ön plana çıkmaktadır. İleri yaşlarda da vasküler nedenler ilk sırayı almaktadır.

Buna rağmen; herhangi bir neden, her yaşta nöbete yolaçabilir. Alkol ve ilaç alışkanlığı ile birlikte nöbet riski artış göstermektedir.

NÖBET ETİYOLOJİSİ:

1) NÖROLOJİK ETKENİ TAKİBEN

*Serebrovasküler olay İnme

*Subaraknoid kanama

*İntraserebral hematoma

*Kafa travması

*Subdural hematoma

*Epidural hematoma

*İntraserebral hematoma

*Santral sinir sistemi enfeksiyonu

- Menenjit

- Abse

- Subdural ampiyem

*Febril nöbet

*Doğum asfiksisi

2) ALTTA YATAN SSS BOZUKLUĞU

*Konjenital SSS lezyonu

*Dejenaratif SSS hastalığı

*SSS tümörleri

*Hidrosefali

*Arteriovenöz Malformasyon (AVM)

3) AKUT SİSTEMİK METABOLİK BOZUKLUK

*Elektrolit dengesizliği

- Üremi
- Hipoglisemi
- Hiponatremi
- Hiperkalsemi

*İlacı bağı

- Alkol yoksunluğu
- Kokain toksisitesi
- Opioidler
- Fenotiazin antiemetikler
- Flumenazil
- Fensiklidin
- Siklosporin

*Sistemik enfeksiyon

*Ph bozuklukları

- Alkaloz
- Asidoz

*Eklampsi

4) İDİYOPATİK

2.1.4. Epilepsi Sınıflaması:

Epilepsi sınıflandırması 1981 yılında International League Against Epilepsy

(ILAE) tarafından yapılmıştır. Bu sınıflandırma çeşitli kapsamlı çalışmalar sonucunda esas olarak klinik ve EEG bulgularına göre yapılan bir sınıflandırmadır. Ancak yıllar içerisinde bu sınıflamanın belirgin eksiklikleri olduğu düşünülerek, epileptik nöbetlerin etiyolojisinin, başlangıç yaşının, predispozan faktörlerinin de göz önüne alınmasına ihtiyaç duyulmuş ve 1989 yılında ILAE tarafından yeni sınıflama yapılmıştır. Son olarak İLAE tarafından 2001’de yeni bir sınıflama önerilerek nöbet tipleri, başlangıç yaşları, tedaviye yanıtları ve klinik gidişatlarıyla birlikte sınıflanmaya çalışılmıştır (8) .

Epilepsiler ve Epileptik Sendromların ILAE’ ye Göre Yeni Sınıflama Önerisi (2001)

I- Sınırlı süreli epileptik nöbet tipleri

1. Jeneralize nöbetler

I. Tonik-klonik nöbetler (klonik veya miyoklonik bir evreyle başlayan çeşitler de içinde)

II. Klonik nöbetler

- Tonik özellikli

-Tonik özelliksiz

III. Tipik absans nöbetleri

IV. Atipik absans nöbetleri

V. Miyoklonik absans nöbetleri

VI. Tonik nöbetler

VII. Spazmlar

VIII. Miyoklonik nöbetler

IX. Göz kapağı miyoklonisi (Absanssız, Absanslı)

X. Miyoklonik atonik nöbetler

XI. Negatif miyoklonus

XII. Atonik nöbetler

XIII. Jeneralize epilepsi sendromlarında ki refleks nöbetler

2. Fokal nöbetler

I. Fokal duysal nöbetler

1. Yalın duysal belirtili (örneğin oksipital ve paryetal lob nöbetleri)

2. Yaşantısal duysal belirtili (örneğin temporo-paryeto-okspital kavşak nöbetleri)

II. Fokal motor nöbetler

1. Yalın klonik motor bulgulu

2. Asimetrik tonik motor bulgulu (örneğin ek motor alan nöbetleri)

3. Tipik (temporal lob) otomatizmalı (örneğin mezyal temporal lob nöbetleri)

4. Hiperkinetik otomatizmalı

5. Fokal negatif miyoklonuslu

6. İnhibitör motor nöbetler

III. Jelastik nöbetler

IV. Hemiklonik nöbetler

V. Sekonder jeneralize nöbetler

VI. Fokal epilepsi sendromlarında ki refleks nöbetler

II- Süregiden epileptik nöbet tipleri

1. Jeneralize status epileptikus

I. Jeneralize tonik-klonik status epileptikus

II. Klonik status epileptikus

III. Absans status epileptikus (ASE)

IV. Tonik status epileptikus

V. Miyoklonik status epileptikus

2. Fokal status epileptikus

I. Kojevnikov epilepsia partialis continua

II. Aura continua

III. Limbik status epileptikus (psikomotor status)

IV. Hemiparezili hemikonvulzif status

2.1.5. Status epileptikus (SE)

Birçok epileptik nöbet bir girişim gerektirmeden kendiliğinden dakikalar içinde sonlanmaktadır. Bir nöbetin 30 dakikadan uzun sürmesi ya da bu süre içinde hasta düzelmeden birden çok nöbetin ard arda tekrarlamasına status epileptikus adı verilir. Son yıllar içinde status epileptikus tanısı için gereken süre giderek kısalmış ve bazı yayınlarda 5 veya 10 dakikadan uzun süren nöbetler bile bu tanım içinde ele alınmıştır. Ancak süre konusunda fikir birliği yoktur. SE yıllık insidansı Hauser W.A ve arkadaşları tarafından yapılan Minesota ve Virginia çalışmalarında elde edilen veriler doğrultusunda 18-50/100.000 olarak belirtilmektedir (10,11). Aynı çalışmalarda erken müdahale yapılmayan vakalarda mortalitenin %22 olduğu sonucuna ulaşılmıştır (9). SE ‘nin erişkinde en sık

nedeni, epilepsi hastası olduğu bilinen kişide antiepileptik ilaçların ani kesilmesidir. Diğer nedenler arasında alkol bırakılması, anoksi, hipoksi, serebrovasküler hastalıklar, hemoraji, metabolik bozukluklar, travma, enfeksiyon hastalıkları, ilaç aşırı dozu ve tümörler yer almaktadır (10).

SE, her nöbet tipinde görülebilir. Ayrıca psödo (histerikal) SE ve dekortike veya desebre postürde olduğu gibi epileptik olmayan SE durumu da mevcuttur.

řu an kullanılan sınıflamalar ILAE'nin Lüders ve arkadaşlarının yaptığı sınıflamalardır. ILAE sınıflaması yukarıda belirtilmiş olup Lüders ve arkadaşlarının 2005 yılında yaptığı semiyolojik sınıflama ise:

- Aura statusu (somatosensoryal, görsel, işitsel, olfaktor, gustatuvar, psişik, otonomik, abdominal)
- Otonomik status
- Diskognitif status (dialeptik, deliryum, afazik)
- Motor
- Basit (tonik, epileptik spazm, versif, miyoklonik, klonik, tonik-klonik)
- Kompleks (otomotor, hipermotor, jelastik)
- Özel status tipleri (atonik, astatik, hipomotor, akinetik, negatif miyoklonik) şeklindedir.

Hemen tüm epileptik nöbet tiplerinin status epileptikus tarzında belirmesi mümkün olduğu gibi nonkonvülf olarak da görülebilir.

Nonkonvülzif Status Epileptikus (NKSE)

Davranışlar ve mental durumda yavaşlama, konfüzyon, hatta stupor ve komayla giden, devamlı elektrografik nöbet aktivitesinin eşlik ettiği tablo olarak tanımlanabilir. İki ana bölümde ele alınabilir.

1) Absans status epileptikus

2) Kompleks parsiyel status epileptikus (KPSE)

Petit mal status, diken-dalga stuporu, minor epileptik status, epileptik alacakaranlık durumu, status piknoeptikus, uzamış petit mal otomatizma gibi çok çeşitli isimlerle aynı tablo adlandırılmaktadır. Yeni çalışmalarda insidansı %3 olarak belirlemektedir. %75 olgu ilk 20 yaş içindedir, ama her yaşta görülebilir. İlk başvuru nedeni olabilir ama çoğu olgu önceden epileptiktir. Jeneralize konvülsiyonları izleyerek NKSE gelişebilir, idiopatik veya kriptojenik olabileceği gibi etyolojide psikotrop ilaç kullanımı, klorokin, ifosfamid, propofol, baklofen, seftazidim gibi ilaçlar, hipokalsemi, hiponatremi gibi metabolik problemler, kronik alkolizm, metrizamid, amitriptilin intoksikasyonu, hipertiroidizm, benzodiazepinlerin ani bırakılması, beyne okült metastaz, paraneoplastik sendrom, primer jeneralize epileptiklerde hatalı karbamazepin kullanımı, IV kontrast madde kullanımı ve trombotik trombositopenik purpura gibi çok sayıda neden olabilmektedir (9).

Absans status epileptikus ile kompleks parsiyel status epileptikusun ayrımı genelde güçtür. KPSE daha sıklık bir patern gösterirken ASE daha devamlıdır, ASE'de tam cevapsızlık görülmez, KPSE'de ise bir dönemde cevapsızlık genellikle vardır. KPSE'de otomatizmler daha belirgin, zengin ve uzundur.

Anksiyete, agresyon, korku vb. KPSE’de daha siktır. Tedaviye cevap her iki tablo için etyoloji ve tipe bağlıdır (9).

Status epileptikusun etyolojisi diğer epilepsi nöbetleriyle benzeşir. Ancak en sık saptanan nedenler antiepileptik ilacı aniden bırakma veya düzensiz kullanma, alkol kullanımı, serebrovasküler hastalık, ilaç intoksikasyonları, metabolik bozukluklar, çeşitli nedenlere bağlı olarak gelişen kardiyak arrest, beyin tümörü, kafa travması, santral sinir sistemi (SSS) ve diğer sistemik enfeksiyonlar şeklinde sayılabilir.

Status epileptikusu çok önemli kılan durum bu tablonun yüksek oranda ölümle sonuçlanması veya kalıcı hasar bırakmasıdır. Bu nedenle status epileptikusun tanı ve tedavisi önemli bir acil durum olarak belirlemektedir. Status epileptikus ardından ölenlerde yapılan otopsi çalışmaları beyinde en hassas bölgelerin sırasıyla hipokampus, kortikal nöronlar, talamus, korpus striatum ve serebellum Purkinje hücreleri olduğunu göstermiştir.

Status epileptikusda hasarın ve ölümün en önemli nedeni gelişen sistemik komplikasyonlardır.

Status epileptikusta sistemik komplikasyonlar:

- o Hipoksi
- o Laktik asidoz
- o CO₂ narkozu
- o Hiperkalemi
- o Hipoglisemi
- o Hipertansiyon izleyerek ileri dönemde hipotansiyon ve řok

- Kardiyak aritmi
- Pulmoner ödem
- Akut tubuler nekroz
- Aspirasyon pnömonisi
- Lökositoz
- Otonomik disfonksiyon (9).

2.1.6. Epilepside klinik bulgular

Epilepsi kliniğinde; motor, otonomik, sensoriyal ve psikolojik bulgular görülür, buna göre de adlandırma yapılır (12,4).

Epilepsi tipleri bulgulara göre adlandırılırsa;

1- Motor bulgular

a. Fokal motor epilepsi: Klonik tarzda vücudun herhangi bir yerinde görülür. Epilepsi birkaç saat veya gün sürebilir.

b. Jacksonian epilepsi: Tonik-klonik aktivite vücudun bir bölgesinden fokal olarak başlar ve motor homonkulusa uygun olarak aynı tarafta yayılım gösterir.

c. Versive epilepsi: Baş ve gövdede istemsiz hareketler olur.

d. Postural epilepsi: Ayak ve ellerde atipik hareketler, bacaklarda ani tonik kasılmalar olur.

e. Fonatuar epilepsi: Konuşma bozukluğu ve tutukluk görülür.

2- Otonomik bulgular : “Otonomik diensefalik epilepsi” de denir.
Anksiyete, taşikardi, terleme gibi bulgular görülür.

3- Sensoryal semptomlar

a. Somatosensorial epilepsi: Vücudun belli bölgelerinde gelip geçici uyuşma gibi duyuşsal fenomenler ortaya çıkar.

b. Vizüel epilepsi: Daha çok parsiyel kompleks epilepsilerde flaş tarzında ışık çıkması veya renkli eşyaların az kontrastlı görülmesi şeklinde ortaya çıkabilir.

c. İşitsel epilepsi: Aniden zil sesi gibi seslerin duyulması ile karakterizedir.

d. Olfaktor epilepsi: Anormal ve ortamda bulunmayan koku algılanır.

e. Vertiginöz epilepsi: Ani baş dönmesi atakları olabilir.

4-Psikolojik bulgular

a. Afazik epilepsi: Aniden hafıza kaybı ve ifade etme zorluğu ile gelişir.

b. Disamnetik epilepsi: "Deja-vu" yani yer, insan ve objeleri daha önce görmüş olma düşüncesi ortaya çıkar.

c. Kognitif epilepsi

d. Affektif epilepsi

e. İllüzyon epilepsisi

f. Halüsinasyon epilepsisi

2.1.7. Epilepsi fizyopatolojisi

Epileptik nöronlar fonksiyonel özellikleri değişmiş hücrelerdir. İnsan neokortikal hücrelerinin güçlü uyarıların ardından aksiyon potansiyeli patlamaları (burst) üretebildiği bilinmektedir. Epileptik nöronların temel özellikleri aşırı uyarılabilir olmaları yanında normal hücrelerde görülmeyen, ‘burst’ adı verilen bu yüksek frekanslı ve kısa süreli deşarjları oluşturmalarıdır. Burstler sırasında membran potansiyelinde uzun süreli depolarizasyon oluşur (13). Sonuç olarak; beyinde uyarıcı ve inhibe edici mekanizmalar arasındaki dengenin bozulması ile epileptogeneze yol açan mekanizmalar tetiklenir (14). Epilepsinin kortikal ve subkortikal nöronların paroksizmal deşarjına bağlı olduğu bilindiği halde, deşarjı neyin nasıl başlattığı açık değildir. Bu konuda birçok teoriler vardır. Bunlardan en çok kabul görenleri şunlardır:

a- Nöronal membranda bir defekt vardır. Primer olarak defekt ya iyon transportunda ya da iyon kanallarının yapısındadır. Temel olarak üzerinde durulan kanalopatiler; potasyum iletiminde bozukluk, voltaja duyarlı kalsiyum kanallarında defekt veya Adenozin Trifosfat (ATP)az’a bağlı iyon transportunda bozukluk olarak özetlenmektedir. Nöronların yüzeylerinde bulunan biyokimyasal reseptörlerdeki (nötrofin reseptörü, iyonotropik glutamat reseptörü, metabotropik glutamat reseptörü) aktivasyon epileptogenezde rol alıyor olabilir. Bu reseptörlerdeki artış ortamdaki kalsiyum (Ca) konsantrasyonunu arttırarak birer tirozin kinaz enzimi olan Src ve Fyn aktivasyonunu arttırarak aşırı uyarılabilirliğe sebep olabilir (15).

b- İnhibitör mekanizmalarda bir defekt yani primer olarak GABA'nın (gama amino butirik asit) fonksiyonunda bir yetersizlik nedeniyle gelişebilir (15).

c- Eksitator sistemde aşırı uyarım şeklinde bir defekt söz konusu olabilir.

Meydana gelen bir beyin hasarından sonra nörotransmitterlerin aşırı salınımı epileptogenezde büyük bir rol oynamaktadır. Aşırı glutamat salınımı intrasellüler Ca konsantrasyonunu hızla arttırarak nöronların aşırı depolarize olmasını sağlar ve buna bağlı hücre hasarlanmaları ve ölümlerinin meydana gelmesine sebep olabilir (16).

d- Eksitator ve inhibitör fonksiyonları düzenleyen modulator sistemlerde bir bozukluk vardır. GABAerjik ve Glutamaterjik mekanizmalar sayesinde nöronal uyarılabilirlik dengesi sağlanmaktadır. Epileptogenez sürecinde meydana gelen nöronal aşırı uyarılabilirlik; dengenin sağlanmasında görevli olan nöronların kaybı, inhibitör mekanizmada görev alan GABA seviyesindeki azalma ya da GABA A reseptörlerindeki duyarlılığın azalması ve bunlara bağlı olarak meydana gelen inhibisyon yetersizliği sonucu olabilir (16,17).

e- Ayrıca nonsinaptik olarak gap-junction birleşmesi, demir aracılı Ca salınımında veya glutamat salınımında değişimler ve serbest oksijen radikallerinin yayılımı olası diğer mekanizmalardır.

Bugüne kadar biyokimyasal bozukluklarla ilgili çok sayıda deneysel çalışma yapılmış, fakat epilepsinin moleküler düzeyde patogenezi tam olarak açıklanamamıştır. Birçok olası mekanizma mevcuttur. Sinaptik inhibisyonda azalma, sinaptik eksitasyonda artış, K veya Ca ya da ekstrasellüler iyon konsantrasyonunda ki değişiklikler uzun süreli depolarizasyonu tetikler. Bu akım

değişiklikleri nöbetlerin oluşmasından sorumludur (14). Nöbeti durduran mekanizmalar da yeterince anlaşılamamıştır. Nöbetlerin sona ermesi nöron veya nöronal ağda inhibitör döngülerin aktivasyonu ile hücre dışı K⁺daki azalma gibi ekstrasellüler ortam değişiklikleri ile veya hücre içi Ca²⁺un eliminasyonu ile sağlanabilir.

2.1.8. Epilepsi Tanısı

Tanıda en önemli adım ayrıntılı ve dikkatli bir şekilde alınan anamnezdır. Epilepsi tanısı ve değerlendirmesinde hastanın perinatal öyküsü, gelişme basamakları, kafa travması, SSS enfeksiyonu, ailede epilepsi ve diğer sık görülen hastalıkların defalarca ve ayrıntılı bir şekilde sorgulanması çok önem taşımaktadır. Hastalığın başlangıç yaşı da etyolojik açıdan önem taşır.

Nöbet bir semptom olarak değerlendirilmeli ve altta yatan faktörler açısından sorgulanmalıdır. Epilepsi nöbeti beynin hemen her hastalığının sonucu olabileceği gibi sistemik birçok hastalıkta ve iyatrojenik çeşitli nedenlerle de oluşabileceği (intoksikasyonlar, postoperatif, metabolik, anoksik nedenler, çeşitli ilaçların terapötik dozda bile epilepsi eşiğini düşürmesine bağlı olarak vb.) unutulmamalıdır. Sistemik ve nörolojik muayenede etiyolojiye yönelik ipuçları yakalanmaya çalışılmalıdır. Tam kan, rutin biyokimya, amonyak çalışılmalı, olası enfeksiyon odağı için araştırma yapılmalı ve gerekirse beyin omurilik sıvısı değerlendirilmelidir. Görüntüleme tetkikleri; kafa içi tümör, travmatik hematom, ödem, infarkt ve kanama gibi vasküler lezyonlar, apse, lokal veya yaygın atrofiler, hidrosefali ve malformasyonların tanısı için gereklidir.

Klinik olarak epilepsi düşünölen hastaların EEG kayıtlarının yapılması gerekir. EEG nöbet tipini ve sendromunu ayırt etmede yardımcı olur. Elektroensefalografi, epilepsi tanısının konulmasında, nöbet sınıflamasında ve hastaların takibinde kullanılan en önemli laboratuvar yöntemidir. Uygun tedavinin seçimi ve prognoz için yol göstericidir. Tanı yöntemleri arasında günümüzde bilgisayarlı tomografi (BT), manyetik rezonans görüntöleme (MRG) de sıklıkla kullanılmaktadır. BT hızlı ve daha kolay ulaşılabilir bir tetkik olması nedeni ile daha çok akut patolojileri (serebrovasküler olaylar, travma, hemoraji vb.) değerlendirmede üstünlük sağlamaktadır. MRG ise serebral anatomi hakkında daha ayrıntılı bir görüntöleme yöntemi olması nedeni ile daha çok yapısal anomalileri, tümöral oluşumları ve displastik/atrofik kortikal alanları görebilmek için tercih edilmektedir. Bu yöntemlerin yetersiz kaldığı ve gerekli bilgiyi sunamadığı durumlarda daha gelişmiş yöntemler olan pozitron emisyon tomografisi (PET) ve iktal Single Photon Pozitron Emisyon Tomografi (SPECT) kullanılabilir. Ayrıca tekrarlayan nöbetlerin izlenmesi ve nöbet paterninin belirlenmesi açısından Video EEG monitorizasyon (VEM) da tercih edilen yöntemlerden biridir.

Elektroensefalografi

İlk olarak 1940'larda kullanılmaya başlanılan bu yöntem bugün için de epilepsi biliminin temel direğini oluşturmaktadır. EEG beyindeki geniş bir nöron grubunun elektriksel aktivitesindeki dalgalanmanın kayıtlanması ilkesine dayanmaktadır. Saçlı deriden kayıtlanan potansiyellerin çoğu piramidal

hücrelerdeki toplam sinaptik potansiyellerin ekstrasellüler akımlarla ilişkisinin sonucudur.

Rutin EEG ilk nöbetle gelen hastada en önemli testtir. Zemin aktivitesinde belirgin asimetri veya yavaşlama, epileptiform deşarjlar (diken, keskin ve diken-dalga deşarjları) elektroklinik sendromlar hakkında bilgi verir. Her EEG anomalisinin epilepsi ile eşdeğer olmadığı ve normal bir EEG'nin epilepsiyi dışlamayacağı unutulmamalıdır. İlk EEG'de % 50 oranında tipik epileptiform anomali saptanırken tekrarlanan EEG'lerde ise bu oran yükselmekte ve %80-90'a ulaşmaktadır. Aktivasyon yöntemlerinin iyi uygulanması esastır, gerekirse uyku kayıtları, nöbetler sıkısa video-EEG monitörizasyonu yapılmalıdır. EEG zemin aktivitesi postiktal dönem dışında idiopatik epilepsilerde normaldir, yavaşlama semptomatik epilepsiyi düşündürür. Epileptiform deşarjlar fokal, lateralize ve jeneralize olabilir (18,19).

EEG'nin epileptik olgunun değerlendirilmesine başlıca katkılarını 3 ana maddede özetlemek olasıdır:

- Klinik olarak konulmuş olan tanının desteklenmesi ve doğru tanı konmasına yardım
- Nöbet kaydı yapılabilirse veya dolaylı bazı bulgularla nöbet tipi ve buradan hareketle epilepsi sendromunu belirlemesi
- Odağın lateralizasyon-lokalizasyonu hakkında bilgi verebilmesi

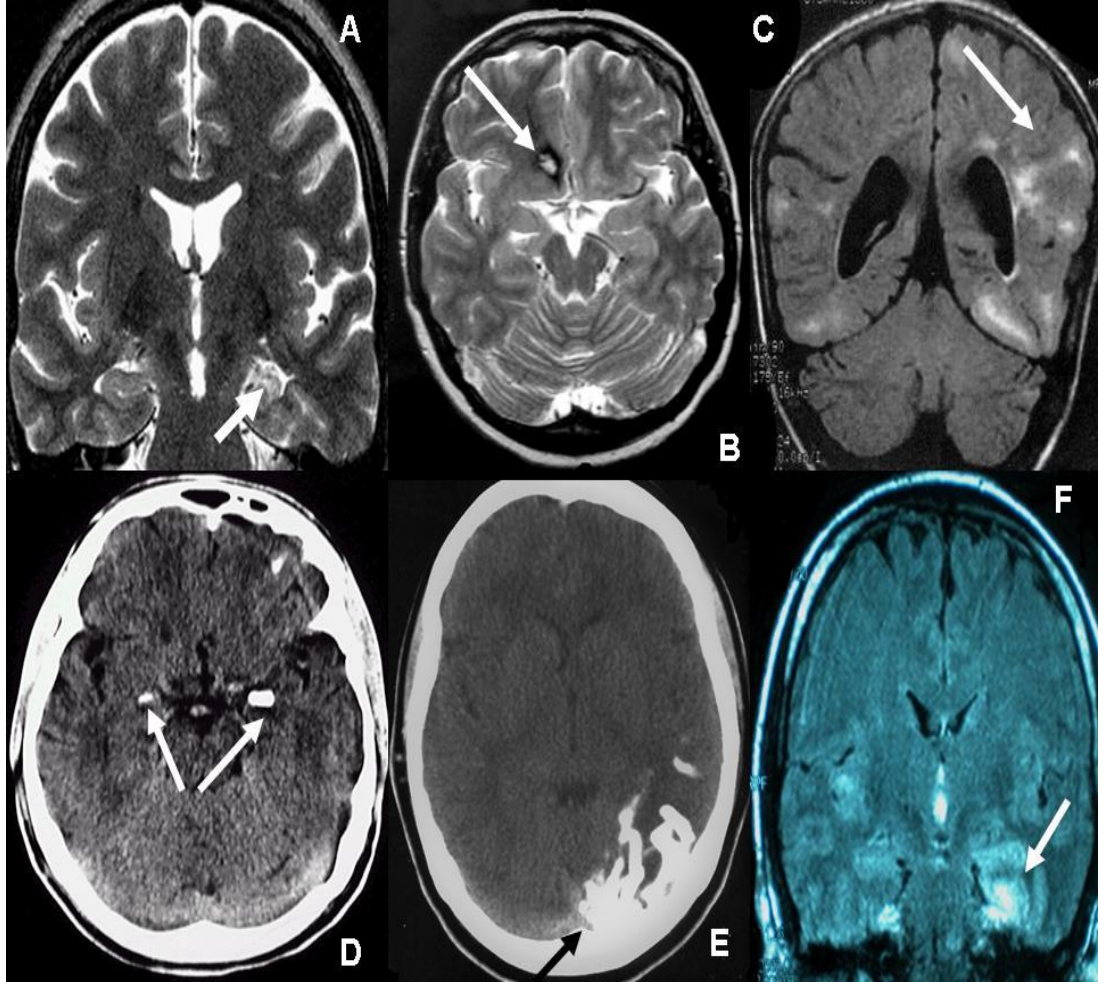
Giderek geliştirilen ve bilgisayarlarla bağlantılı hale getirilen klasik EEG cihazlarının yanı sıra telemetrik incelemeler ve video-EEG cihazları ile epilepsi elektrofizyolojisi konusundaki bilgilerimiz giderek artmıştır. Bu incelemeler aynı

zamanda nöbet semiyolojisinin de çok ayrıntılı analizine olanak sağlamaktadır. Epilepsi cerrahisindeki ilerlemelere paralel olarak invazif ve yarı-invazif yöntemlerle değişik derin intrakraniyal elektrod yerleşimleri de epilepsi cerrahisi yapılan merkezlerde rutin kullanıma girmiştir (18,19).

Bilgisayarlı Tomografi ve Magnetik Rezonans Görüntüleme

X ışınlarını kullanan bilgisayarlı tomografi yönteminin nöroloji pratiğinde yerini alması özellikle semptomatik parsiyel epilepsiler açısından bir devrim niteliğinde olmuştur. Günümüzde ise beyin anatomisini çok detaylı bir şekilde gösteren MRG epileptik hastalarda ilk tercih edilecek görüntüleme yöntemi olarak BT'nin yerini almış durumdadır. Kraniyal tomografi incelemesinde bulgu saptanmayan %20-30 hastada MRG pozitifdir. Bazı glial tümörler, vasküler malformasyonlar, kavernom, hamartom, lokalize atrofi ve nöronal migrasyon anomalileri gibi çeşitli yapısal lezyonları göstermede MRG'nin BT'den üstün olduğu saptanmıştır. Buna karşın serebral kalsifikasyonları gösterme açısından BT MRG'ye üstün konumdadır. Kompleks parsiyel nöbetlerin (KPN) etiyolojisinde sıkça görülen meziyal temporal sklerozun (MTS) MRG ile tespitinin mümkün olabildiği ortaya konmuştur. MRG'nin radyasyon içermemesi, kontrast madde verilmesine çoğu zaman gerek olmaması, BT'ye oranla kemik artefaktlarının olmaması nedeniyle meziyal temporal lobu ve posterior fossa yapılarını daha iyi görüntülemesi ve rekonstrüksiyonla her planda görüntünün kolayca elde edilebilmesi BT'ye üstün yanlarıdır (9).

Şekil 1 ve 2'de nörogörüntüleme yöntemleri ile çeşitli epilepsi olgularında gösterilmiş olan ve epilepsiye yol açtığı düşünülen lezyonlara yer verilmiştir.



Şekil 1. Nörogörüntüleme yöntemleri ile bazı epilepsi olgularında gösterilmiş olan ve epilepsiye yol açtığı düşünülen lezyonlar

A: Mezyal temporal lob epilepsisi (MTLE) tanısıyla izlenen bir olguda ok ile işaretli olan MTS düşündüren MRG'de T2 hiperintensitesi ve normal hipokampal iç yapısının kaybı (normal görünüm sağlıklı olan karşı hipokampusda izlenebilmektedir)

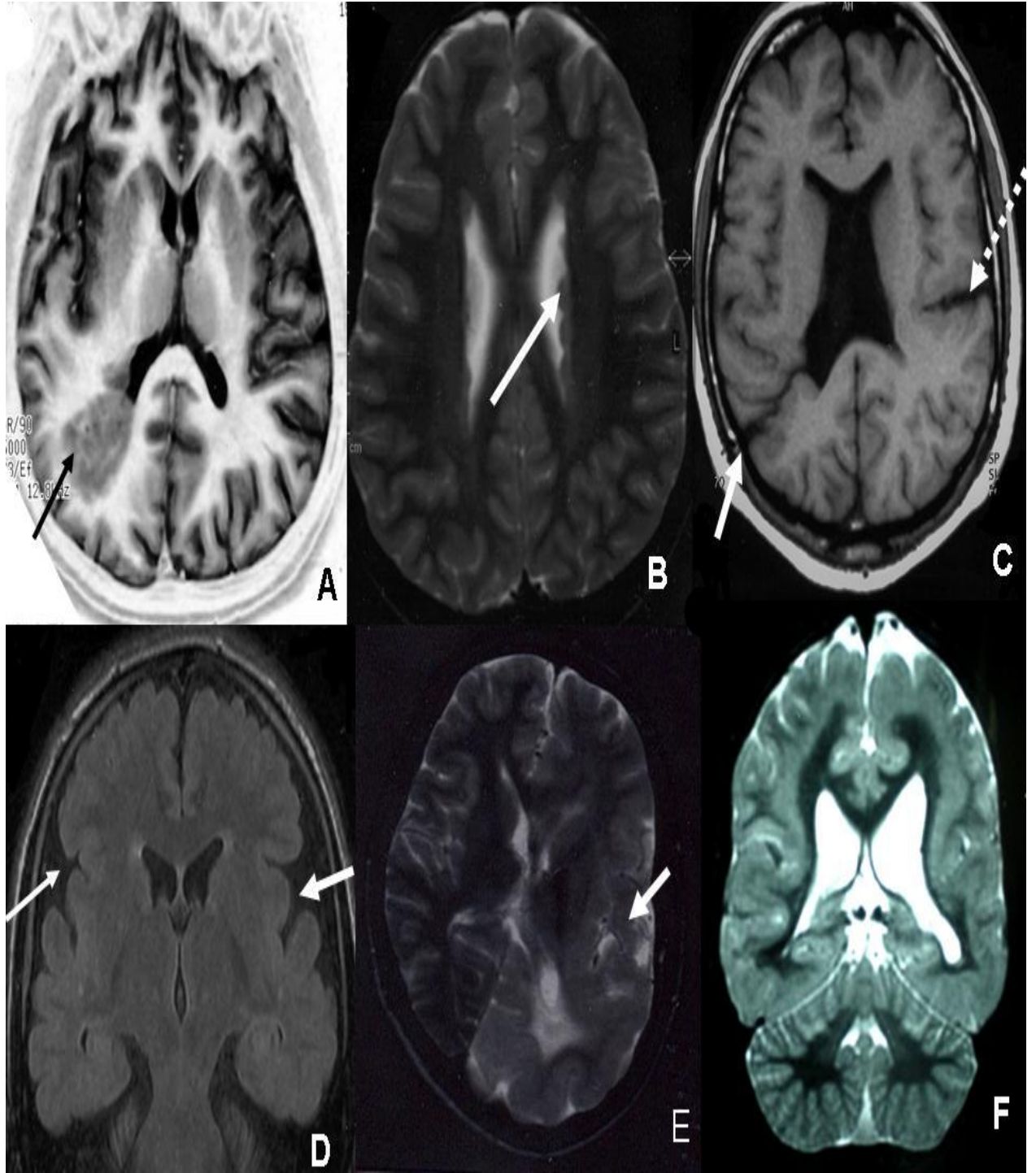
B: Semptomatik parsiyel epilepsili olguda kavernom ile uyumlu heterojen lezyon

C: Tuberoz sklerozlu bir olguda izlenen multifokal kortikal tuberler

D: Lipoid proteinoz tanılı hastada BT'de diagnostik bilateral meziyal temporal kalsifikasyonlar

E: Sturge-Weber sendromu tanılı olguda BT'de tipik oksipital lob yerleşimli kalsifikasyon

F: Herpes simpleks ensefaliti olgusunda tipik meziyal temporal yerleşimli lezyon (9).



Şekil 2. Epilepsiye sık neden olan nöronal gelişimsel bozukluk örnekleri:

A: Fokal kortikal displazi

B: Nodüler heterotopi

C: Bilateral (bir yanda açık dudaklı diğer yanda kapalı dudaklı tipte) şizensefali,

D: Bilateral peri-silviyen displazi

E: Hemi-megalensefali,

F: Çift korteks sendromu (9).

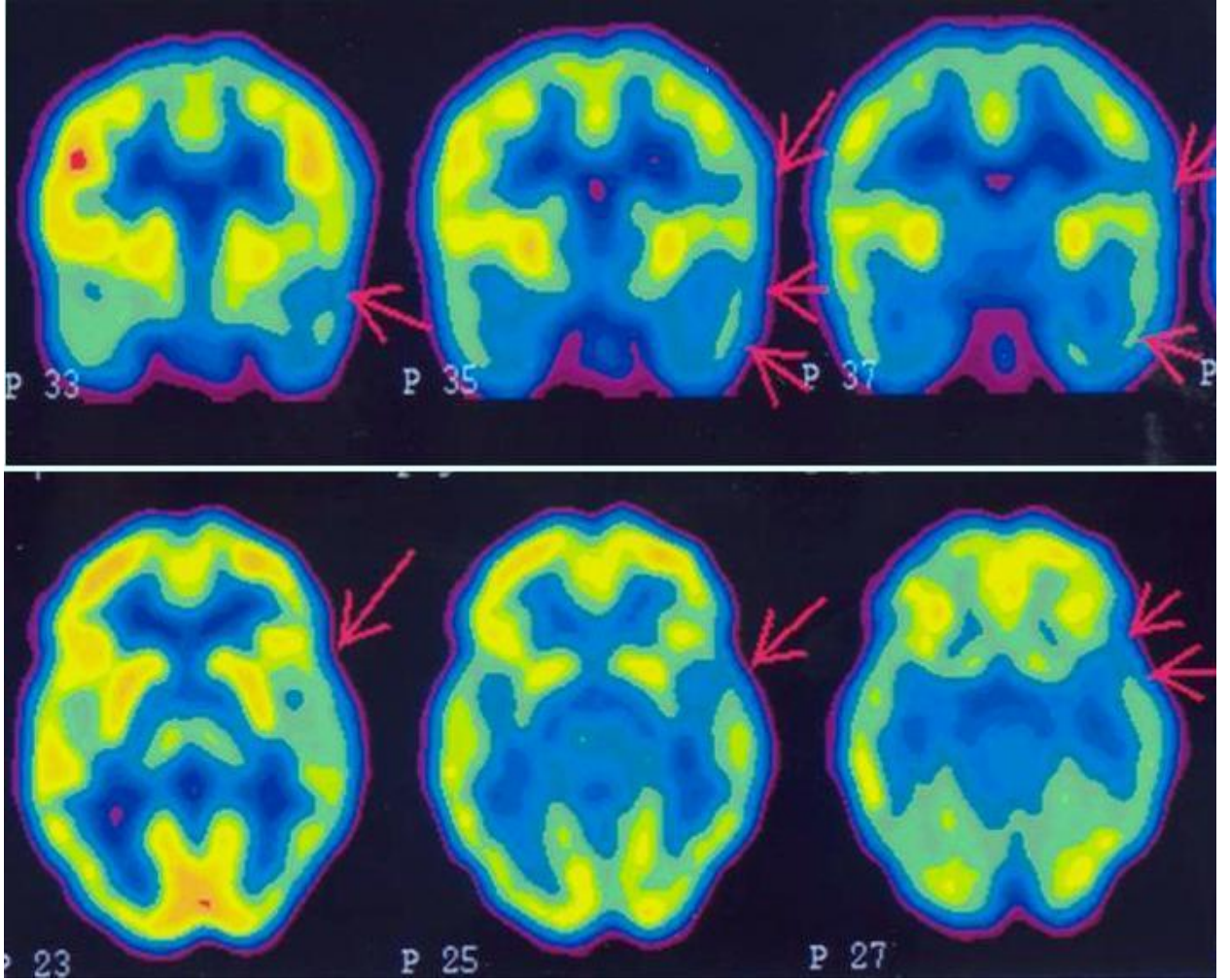
Önemli bir nokta ise kimi zaman geçici BT veya MRG anomalilerine rastlanabilmesidir. Bu görüntülerin fokal nöbet veya status aktivitesi sırasındaki ödem, lüks perfüzyon veya bölgesel kan beyin bariyeri yıkımına bağlı olabileceği düşünülmektedir.

Fonksiyonel Görüntüleme

SPECT: PET olanağı bulunmayan yerlerde fonksiyonel görüntüleme amacıyla başvurulabilecek yegane yöntemdir. Geniş klinik kullanım olanaklarıyla epileptik hastaların incelenmesinde BT, MRG, EEG ile birlikte klinik bilgilere katkısı olabileceği düşünülmektedir. Epileptojenik odağın lokalizasyonu açısından kullanılan hiç bir yöntem tek başına tam güvenilir değildir ve bu çeşitli yöntemlerin kombinasyonunu gerektirmektedir. SPECT bu multidisipliner yelpaze içinde epileptik odak belirlenmesinde, invazif tanı yöntemlerine geçmeden önce katkı sağlayabilecek tamamlayıcı bir yöntemdir. Özellikle iktal SPECT ile saptanan hiperperfüzyon ile odak lokalizasyonu açısından çok yararlı bilgiler elde edilir.

SPECT, beyin kan akımının Tc-hexamethylpropylenamine oxime (HMPAO) veya başka işaretleyiciler ile görüntülenmesidir. Bu maddenin 1 dakikada %70'i tutulur, 6 saat boyunca stabil kalır. İntraselüler glutatyon ile etkileşir, hidrofilik hale geçer ve kan-beyin bariyerini geçemez. Bu nedenle iktal kayıt yapmak daha kolaydır, bu noktada PET'e üstündür. % 65-90 oranında EEG odağıyla uyumlu beyin kan akımı artışını gösterir. İnteriktal dönemde ise aynı bölgede hipoperfüzyon (azalmış kan akımı) gözlenir (9).

PET: Pozitron emisyon tomografisi, canlı vücudunda meydana gelen metabolik olayların 3 boyutlu olarak radyoaktif izotoplarla incelenmesini sağlayan nükleer görüntüleme yöntemidir. Beyin kan akımının haritalanmasında 15 O'e bağlı su, bölgesel serebral glikoz metabolizması için ise 18 Florodeoksiglikoz (FDG) kullanılır. SPECT'e göre daha iyi rezolüsyon sağlar. İnteriktal olarak epileptojenik odakın işareti, azalmış glikoz metabolizması ve azalmış kan akımı olmasıdır ve genellikle patolojik bölgeden daha geniş görünmektedir. Bunun nedeni epileptojenik odak çevresindeki nöronların inhibisyonudur. Parsiyel nöbet sırasında ise; epileptojenik odakta bölgesel glikoz metabolizması ve kan akımında artış ile karakterizedir, ancak iktal kayıt sağlanması çok güçtür. 15 O'in yarılanma ömrü 2 dk, FDG'nin alınımı ise 40 dakikadır. Özellikle temporal ve frontal lob epilepsilerinde cerrahi tedavi düşünülen vakalarda kullanımı önemlidir. Sık absansların varlığında serebral glikoz metabolizmasında yaygın artış görülür, bu artış daha çok çocuklarda olur. Absans statusta ise beyin glikoz metabolizmasında azalma olur. Absans sırasında beyin kan akımında global %15 ve talamusta %4-8 artış vardır. Sonuç olarak PET de odak konusunda genel bir bilgi verir, spesifik değildir ve gerçek patolojik alandan daha geniş görünür. Dirençli epilepsilerde kullanılabilen bir incelemedir (9). **Şekil 3'**de epileptik bir hastanın PET incelemesine yer verilmiştir.



Şekil 3. Epileptik bir hastanın PET inceleme örneği:

15 yaşındaki kadın hasta 3 yaşından beri tedaviye dirençli kompleks parsiyel nöbetler geçirmektedir. MRG'si tamamen normal olan hastanın sol temporofrontal bölgede hipometabolizma gösteren PET bulguları (oklar), EEG bulgularına destek oluşturmuş ve invazif incelemenin planlanmasını sağlamak açısından çok değerli olmuştur (9).

Nöropsikolojik Değerlendirme

Epileptik hastaların normallere oranla kognitif defektler gösterebildikleri bilinmektedir. Bu defektler yapısal lezyonlarla bir ölçüde açıklanmakla birlikte, gösterilebilen bir yapısal lezyonu bulunmayan olgularda da kognitif defektlerin varlığına dikkat çekilmiştir. Antiepileptik tedavi, özellikle difenilhidantoin, barbitüratlar, yeni ilaçlardan özellikle topiramat bu kognitif fonksiyon

bozukluğunun sorumlusu olarak suçlanmış; ancak bazı çalışmacılar bu görüşe karşı çıkmışlar ve henüz ilaca başlanmamış epileptik olgularda da normallerle kıyaslandığında belirli davranış ve kognitif parametrelerde bozukluk olduğunu göstermişlerdir. Bu nedenle epilepsi hastalarının unutkanlık gibi yakınmaları olduğunda ayrıntılı nöropsikolojik testlerle değerlendirilmesi, takip ve tedaviyi yönlendirmek açısından çok yararlıdır.

Epileptik olgularda kognitif fonksiyonu etkileyen faktörleri 7 noktada toplamak mümkündür:

1. Etiyolojiye ilişkin faktörler
2. Nöbet aktivitesi
 - * nöbetlerin başlangıç yaşı
 - * nöbet sıklığı
 - * nöbet süresi
 - * nöbet tipi
 - * EEG anomalisinin tipi
3. Antiepileptik tedavinin yan etkileri
4. Beyin fonksiyon bozukluğunun tarafı
5. Diğer bilişsel yeti kayıpları ve nöropsikolojik bozukluklar
6. Çevresel faktörler, aile yapısı
7. Emosyonel faktörler ve kişilik gelişimi (9).

2.1.9. Epilepsi Ayırıcı Tanısı

Epilepside tanı öncelikle klinik olarak konur ve dolayısıyla geçirilen atakların çok ayrıntılı olarak hasta ve görenler tarafından tarif edilmesine dayanır.

Eğer olay şüpheli kalırsa yanlış bir etiket yapıştırmaktansa sadece gerekli araştırmaları yapıp izlemek daha doğru bir yaklaşımdır. Yanlış konan epilepsi tanısı hastayı ciddi biçimde çok boyutlu (ömür boyu epilepsi hastası sayılmak, doğru tedavinin gecikmesi, uzun süre antiepileptik ilaçların maddi yükü ve yan etki olasılıkları vb.) sıkıntılarla karşı karşıya bırakmak demektir. Bu nedenle epilepsi tanısı koyarken ayırıcı tanıya çok önem vermek gerekmektedir. Epilepside nöbet tiplerinin ne kadar çok çeşitli ve değişken olduğu düşünüldüğünde ayırıcı tanı yelpazesinde yer alan hastalıkların da ne kadar çok ve çeşitli olacağı açıktır (Tablo 2). En sık karşılaşılan ve sorun yaratan diğer olasılıklar senkop ve yalancı nöbetlerdir. EEG tanıda çok yardımcı olabilir ama bazen yeterli bilgi sahibi olmayanlar tarafından yorumlandığında ciddi yanılgılara da yol açar. Örneğin yavaş dalgalar gibi spesifik olmayan bozuklukların epilepsi lehine yorumlanması sık rastlanan bir yanılgıdır. Bunun dışında epilepsisi olmayan normal kişilerde de %5'e varan oranda epileptiform anomalilerin görülebildiği ve epilepsi olgularında ilk EEG' nin 1/3'lere varan oranda normal bulunabildiği unutulmamalıdır (9).

Tablo 2. Epilepside Ayırıcı Tanı

A) Çocukluk Çağı

- Senkop
- Siyanotik nefes tutma atakları
- Gece korkuları
- Metabolik nedenlere bağlı şuur kaybı
- Migren (konfüzyonel durum, baziler migren)
- Kardiyak ritim bozuklukları (özellikle supraventriküler taşikardi)
- Tikler
- Titreme atakları (yenidoğan döneminde)
- Psikiyatrik kökenli nöbetler ve Münchausen sendromu
- Hipnagojik miyokloniler
- Benign paroksizmal koreatetoz
- Yalancı nöbetler
- Gastroözofageal reflü
- Çocukluğun benign miyoklonisi

B) Erişkin dönem

- Post travmatik
- Senkop
 - refleks: postüral, valsolvaya bağlı, miksiyona bağlı vb
 - kardiyak: disritmi (kalp bloğu, taşikardi vb); valvüler (en sık aort stenozu); kardiyomiyopati; şantlı hastalıklar vb
 - perfüzyon yetmezliği: hipovolemi, otonom yetmezlik

- Psikojenik ataklar
 - panik atak
 - hiperventilasyon
 - akut psikoz
 - histerik konversiyon reaksiyonu
- Geçici iskemik atak
- Migren
- Narkolepsi/katapleksi
- REM uyku davranış bozukluğu
- Huzursuz bacak sendromu
- Geçici global amnezi
- Akut konfüzyonel durumlar
- Ensefalopatiler
 - Toksik-metabolik
 - Hipoglisemi
 - Mitokondriyal ensefalopatiler
 - Hiperamonyemi
 - İlaç intoksikasyonu (9).

2.1.10. Epilepsi Tedavisi

Antiepileptik ilaçlar epilepsi tedavisinin ana unsurları olup medikal tedaviye dirençli hastalarda non-farmakolojik tedavi; cerrahi, vagal sinir stimülasyonu uygulanmaktadır.

Antiepileptik ilaç tedavisinin temel amaçları; tam bir nöbetsizlik elde etmek, ideal olarak yan etki olmadan morbiditeyi ve mortaliteyi azaltmak, hayat kalitesini yükseltmektir. Antiepileptik ilaçlar; klinik faydaları, tolere edilebilme, ilaç etkileşim profili ve kullanım kolaylığına göre seçilmektedir. Monoterapi, en iyi farmakoterapötik tercihtir. Başarılı tedavinin başlangıç noktası; doğru tanı ve nöbet tipi veya sendromunun tanımlanmasıdır. Klasik antiepileptik ilaçlar arasında etkinlikte kanıtlanmış farklılıklar yoktur. Antiepileptik ilaç tedavi seçiminde tolere edilebilirlik önemli bir faktördür. Tam bir nöbetsizlik hayat kalitesini arttıran en önemli faktör gibi görünse de hastanın tercihinde en önde gelen unsurlardan biri de yan etkilerdir. İdeal bir antiepileptik ilaç şu özellikleri içermelidir:

- etki mekanizması belirlenmiş, etkinliği kanıtlanmış ve geniş spektrumlu olmalı
- yan etkileri az olmalı
- farmakokinetik özellikleri basit olmalı
- yaşam kalitesini arttırmalı

Epileptik nöbetler uygun monoterapi ile % 70 oranında kontrol altına alınabilmektedir. % 15'lik bir kısım ise kombine (ikili-üçlü) tedavi ile kontrol altına alınırken kalan kısım dirençli epilepsiler grubunda yer almaktadır (20).

İlk keşfedilen antiepileptik fenobarbitaldir. Bunu takiben fenitoin, karbamazepin (CBZ), etosüksimid, valproik asit (VPA) ve benzodiazepinler bulunmuştur. Bu ilaçlar uzun yıllardır ilk basamak olarak ve en sık kullanılan antiepileptiklerdir. Son 10 yılda vigabatrin, topiramat, gabapentin, felbemat,

lamotrijin (LTG), tiagabin, zonisamid, pregabalin, okskarbazepin (OXC) ve levetirasetam (LEV) gibi yeni antiepileptikler bulunmuştur (21).

Cerrahi tedavi uygulanacak hastalar, ilaca dirençli inatçı nöbetleri olan ve devam eden nöbetleri nedeniyle ve yüksek dozdaki ilaçların kabul edilemeyen yan etkileri yüzünden düşük yaşam kalitesi olan hastalardır. EEG/video incelemeleri, MRG, PET ve SPECT gibi teknolojiadaki gelişmeler, epileptojenik alanın daha kesin tanımlanması ve cerrahi adayların daha iyi belirlenmesinde önemli katkıları olmuştur. Fokal rezeksiyon, korpus kallozotomi ve hemisferektomi olmak üzere 3 tip epilepsi cerrahi yöntemi yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yöntemler parsiyel veya multifokal epilepsili hastalarda uygulanmaktadır. İdiopatik, primer jeneralize epilepsili hastalarda uygulanmamaktadır (22).

Penry ve arkadaşları tarafından 1990 yılında ilaca dirençli kompleks parsiyel nöbetlerde Vagus sinirinin elektriksel stimülasyonu yeni bir tedavi olarak önerilmiştir (23). Mekanizma olarak vagus sinirinin visseral afferentlerinin merkezi sinir sisteminde geniş bir alanı innerve ediyor olması düşünülmüştür (24). Önemli bir epilepsi türü olan status epileptikus tedavisinde izlenmesi gereken basamaklar ise şu şekilde sıralanabilir:

Kısa sürede etkili bir benzodiazepin türevinin intavenöz (iv) yolla verilmesi: Lorazepam burada ilk tercih olarak belirtilmektedir, ancak yurdumuzda bulunmamaktadır. Klonazepam (Rivotril ampul) iv formu da artık bulunmamaktadır. Tek seçenek olarak kalan iv diazepam ampül 5 dakika içinde uygulanabilir. Burada intramuskuler yolla uygulamanın kesinlikle yeri yoktur. İlacın özellikle solunum depresyonu yapıcı yan etkisi nedeniyle entübasyona

hazırlık yapılması gerekmektedir. Etiyolojik araştırmalar da tedavi ile paralel yürütülmelidir.

İkinci ve tedavinin başarısını devam ettiren önemli basamak yine IV yolla fenitoin (20mg/kg dozunda ve en çok 50mg/dakikada olacak şekilde) yüklenmesidir. Yurdumuzda henüz bulunmayan fosfenitoin de kullanılabilir. Yaşlı kişilerde ve kalp hastalarında verilirken monitorize edilmelidir. Kardiyak aritmi ve hipotansiyon yapabilir, bu açılardan dikkatle izlenmelidir. Hastanın idiopatik jeneralize epilepsisi varsa (absans, miyokloni) fenitoin verilmemelidir. Nöbetlerini daha da artırır.

Jeneralize epilepsilerde tercih valproattır. iv yükleme sonrası hiperamonyemik ensefalopati olguları bildirilmesi nedeniyle takip edilmelidir. Üre siklus bozukluklarında verilmemelidir.

Nöbetler 20 dakika sonra hala devam ediyorsa fenitoin 5-10mg/kg ek doz verilmesi bazı kaynaklarda önerilmektedir.

Bu aşamada bir re-animasyon ünitesine hastanın nakledilmesi ve midazolam veya propofol ile acilen anestezi uygulanması gerekmektedir. Bu özellikle sistemik komplikasyonu gelişen ve nöbetleri 1 saatten uzun süredir devam eden hastalarda çok büyük gereklilik taşımaktadır. Bazı merkezlerde midazolam düşük dozlarda diazemin yerine de kullanılabilir.

Yoğun bakım ünitesi bulunmayan bir yerde ilk bir saat henüz dolmamış ancak nöbetlerde devam ediyorsa, bir yandan transport olanakları zorlanırken iv yolla fenobarbital (20mg/kg; dakikada 50-75mg olacak şekilde) uygulanabilir.

Refrakter SE olan olgularda nazogastrik tüpten 300-1600mg/g topiramat verilebilir.

Levetirasetam da topiramat gibi nazogastrik tüpten 500-3000mg/g verilebilir (9).

2.2. Hipokampüs

2.2.1. Hipokampal Anatomi ve Formasyon

Hipokampüs, ventriküler yapının temporal hornunun medial tabanı boyunca uzanan yaklaşık 5 cm uzunluğunda bir yapı olup hareketlerin davranış biçimine dönüşmesinde önemli role sahip bulunan limbik sistemde rol alır.

Hipokampus koronal kesitlerinde denizatına benzemesi nedeni ile 1500'lü yılların sonuna doğru anatomist Arantius tarafından Yunanca'da denizati anlamına gelen 'Hippocampus' (hippos=at, campos=deniz) olarak adlandırılmıştır (Şekil 4). Bundan 2 yüzyıl sonra Mısırlı anatomistler tarafından Libya çöllerinde M.Ö. 10.000 yıllarında yaşayan, ilkel kabilelerin taptığı koç şeklindeki bir tanrı olan Ammon'dan esinlenilerek 'Ammon's horn' ya da 'Cornu Ammonis' olarak tekrar isimlendirme yapılmıştır (Şekil 4) (25).



Şekil 4. Hipokampüs, isimlendirmede esinlenilen denizati ve Ammon

Makroskopik olarak hipokampüs baş, gövde ve kuyruk olmak üzere 3 bölüme ayrılır. Embriyolojik olarak gelişimin ilk evrelerinde beynin dış kısmına yakın olacak şekilde anteriorda yer alan hipokampüs, beyin gelişimi ile birlikte inferomediale yerleşerek son halini almaktadır.

Hipokampal formasyon, dentat girus (DG), hipokampus ve subikulumun oluşturduğu, parahipokampal girus tarafından çevrelenen primitif bir kortikal yapıdır. Bu yapının içinde ince, taraksı bir girus olan dentat girus hipokampüse bilgilerin girdiği yerdir. Subikulum ise parahipokampal girusun medial kesimi olup, içinde bulunan piramidal nöronlar ile hipokampüsün bilgi çıkış merkezidir. Hipokampal formasyon, amigdala, talamus, hipotalamus, limbik kortikal alanlar ve dentat girustan bilgiler almakta; subikulum ve forniks aracılığı ile aynı yapılara ve mamiller cisimlere bilgi göndermektedir. Bu bağlantılar sayesinde hipokampus; uyanıklık, dikkat, kısa dönem hafıza, davranış ve endokrin

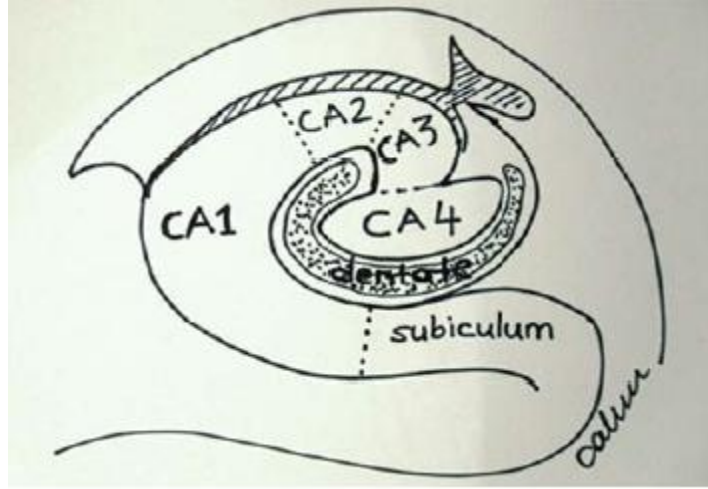
fonksiyonlar üzerinde önemli etkilere sahiptir. Uzaysal yön bulmada da etkilidir. Eskiden inanıldığı üzere koku alma duyusu ile hipokampus arasında bağlantı bulunmadığı gösterilmiştir (25).

Hipokampus sinaptik bağlantıların organizasyonuna göre ve mikroskopik olarak 4 bölgeye ayrılmaktadır. Adlandırma Cornu Ammonis'den (CA) esinlenilerek CA1, CA2, CA3 ve CA4 olarak yapılmıştır (Şekil 5). CA1 insanlarda en büyük ve piramidal nöronları hipoksik hasara en duyarlı bölgedir. Bir adı da “Sommer’s sektör” olan CA1 aynı zamanda hassas sektör olarak da adlandırılmaktadır. CA2 ve CA3 “Spielmeyer sektör” olarak bilinir ve hipoksik hasara dirençli olmaları nedeniyle “dirençli sektör” olarak adlandırılır. CA4 “Bratz sektör” olarak adlandırılır ve CA1 gibi hipoksik hasara duyarlıdır.

Hipokampus nöronal olarak 2 çeşit nöron yapısı içerir.

I: Principal nöronlar: Piramidal nöronlardan oluşur, hipokampüsten veri çıkışından sorumludur

II: İntrinsik nöronlar: Piramidal nöronlara göre sayıları çok daha az olan bu nöronlar düzensiz şekilli olup GABAerjik aktivite gösterir (25).



Şekil 5. Hipokampal formasyon şematik çizimi

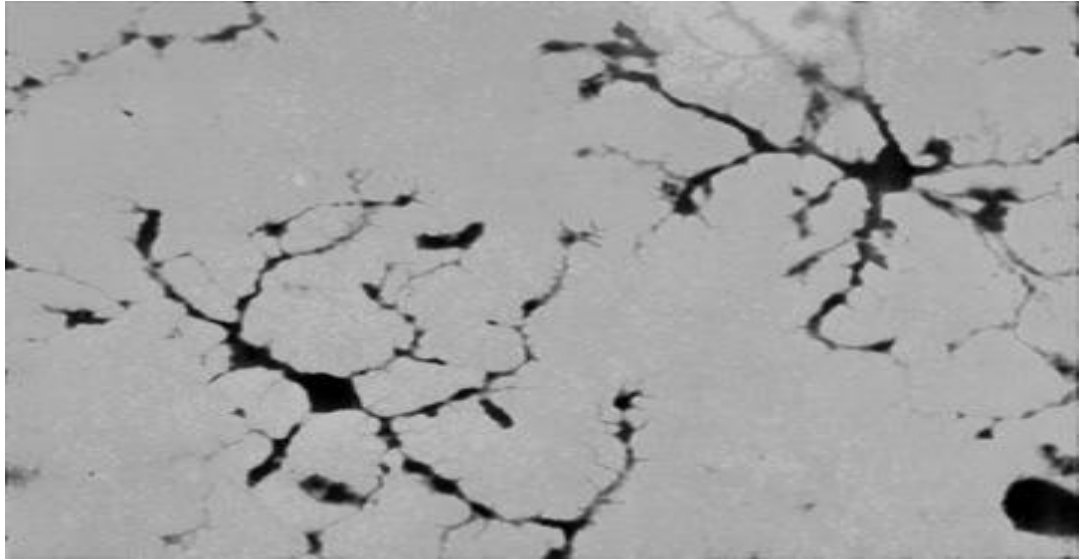
Hipokampüs epileptik nöbet için düşük eşik değere sahip olsa da, temporal bölgeden başlayan nöbetler genelde jeneralize olmamaktadır. Ancak yapılan çalışmalarda hipokampüs ve medial temporal yapıların nöbet sonrası oluşan hipoksi ve nöronal hasara en duyarlı bölgeler oldukları saptanmıştır (26,27).

2.3. Mikroglial Hücreler

Santral sinir sisteminde nöronal, glial ve vasküler olmak üzere 3 ana türde hücre bulunmaktadır. Mikroglial hücreler glial hücre tipinde olup SSS'deki immün hücrelerdir

2.3.1. Tarihçe ve Mikroglial Hücrelerin Kökeni

Mikroglial hücreler ilk kez 1932 yılında del Rio-Hortega tarafından sinir sisteminin üçüncü elemanı olarak tanımlanmıştır. Rio-Hortega'nın ışık mikroskobu ve gümüş boyama teknikleri kullanılarak (Şekil 6) yaptığı ilk araştırmalar sonucunda; mikroglial hücrelerin mezodermal pial elementlerin SSS'ye invazyonu ile oluştuğu ortaya atılmıştır. Bununla birlikte kandaki mononükleer hücreler de potansiyel kaynak olarak öne sürülmüştür (28).



Şekil 6. Rio Hortega'nın mikroglia hücrelerini tanımladığında kullandığı gümüş metodu ile boyanan 2 mikroglia görünümü.

Hücreler santral gövdeden uzanan iğsi görünüme sahiptir. Hemotoksilen- Eozin ile boyandığında bu hücreler küçük çubuk şeklinde çekirdek halinde görülecektir.

SSS'de bulunan mikroglial hücreler fetal makrofajlardan köken almaktadır. İnsanlarda fetal makrofajların nöroepitelyuma girişi gebeliğin ilk trimesterinde başlamaktadır. Fetal makrofajlar ise erken embriyonik gelişim sırasında gelişen mezodermden köken almaktadır. Kan monositlerinden (mezoderm) köken aldığından mezoglia; fagositik hücreler olduklarından da SSS'nin çöpçü hücreleri olarak da adlandırılır. Mezoderm kökenli nöroglia

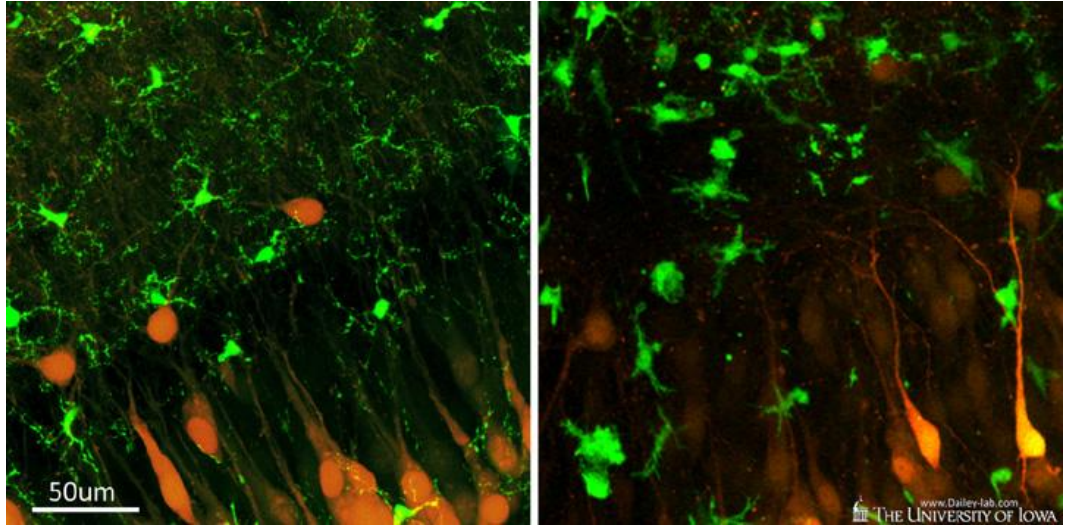
hücrelerinin yaklaşık %5'ini oluştururlar. Nöroglia hücrelerinin en küçüğü olup, çok dallı uzantılara sahiptirler. Gövdeleri küçük ve silindirik yapıdadır. Bu gövdeye uygun oval bir çekirdek içerirler; oval çekirdeğe sahip tek glial hücredir. Sitoplazmalarında çok sayıda lizozom ve fagositik kesecikler bulunur. Gelişmemiş endoplazmik retikulum, mitokondri ve aktin de mikroglia sitoplazmasında yer alır (29,30).

2.3.2. Mikroglia Fonksiyonları ve Mikroglial Aktivasyon

Mikroglial hücreler yukarıda da belirtildiği gibi makrofaj benzeri fagositik hücrelerdir ve apoptotik hücrelerin ortadan kaldırılmasında görev almaktadır (31). Mikroglial hücreler SSS'nin immün yanıtta rol alan temel hücreleri olduğu gibi nörovasküler birimin önemli bir parçasıdır (32). Bu fonksiyonlarından dolayı beyin dokusunun gelişim sırasında şekillenmesinde, özellikle beyaz cevher aksonlarının oluşumunda ve bazı hücrel yapıların eliminasyonunda görevli olduğu düşünülmektedir (33,34). Bu süreç yetişkin dönemde de devam ettiği için sadece gelişim dönemiyle kısıtlanmamalıdır. Mikroglial hücrelerin nörogenizin yanında gelişim ve yetişkin dönemde sinaptogenezde de rol oynadıkları öne sürülmektedir (35). Bu konuyla ilgili son zamanlarda iki-foton mikroskopi tekniğiyle yapılan çalışmalarda uzun süre mikroglia ile temas halinde kalan sinapsların ortadan kaybolduğu gösterilmiştir (36). Bu verilere dayanarak mikroglial hücrelerin sinaptik plastisiteye dolaylı olarak katkı sağladığı söylenmektedir (37).

Mikroglial hücreler; glial hücre olarak büyüme faktörü, sitokin ve nörotrofik faktör salgısı, glutamat alımı, debris fagositozu ve demir

uzaklaştırılması gibi görevler yaptığı gibi; inflamatuvar hücreler olarak da fonksiyon görmektedir (38-43). Mikroglial hücreler beyinde bir hasar sonucu oluşan moleküllere karşı aktive olarak inflamatuvar yanıt oluşturmakta ve SSS homeostazını sağlamaktadır (43,44). Şekil 7’de mikrogliaların in vitro kültürüne ait aktive ve inaktive formları görülmektedir.



Şekil 7. Fare hipokampal diliminin in vitro kültürüne ait nöron ve mikroglialar

Soldaki resim: Sarı floresan protein (YFP) eksprese eden nöronların (kırmızı olanlar) arasında yeşil floresan protein (GFP) eksprese eden mikroglia hücreleri olup postnatal 12. günündeki farenin kortikal dilimine aittir. İnaktive mikrogliaların fazla miktarda dallandığı göze çarpmaktadır.

Sağdaki resim: Farenin hipokampus dilim kültüründe GFP eksprese eden mikroglialar olup aktive mikrogliaların genişlemiş hücre gövdeleri ve kısa, kalın dallara sahip olduğu görülmektedir

(Görüntüler L. Fuller ve M. Dailey’e aittir)

Güncel çalışmalar mikroglial aktivasyonun kan beyin bariyerindeki (KBB) hasar ile ilişkili olabileceğini göstermiştir. Minosiklin ile mikroglial aktivasyon inhibe edildiğinde; KBB’nin in vitro olarak yapışmalarının

korunduğunu, in vivo olarak da harabiyeti ve hemorajinin azaldığı gösterilmiştir (45).

2.3.3. Mikroglial Hücreler ve Epilepside Roller

Mikroglial hücreler, SSS'de görülen bazı hastalıkların patolojisine katılmaktadır. Mikroglial hücreler; Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı,

Amyotrofik Lateral Skleroz (ALS) gibi nörodejeneratif, Multiple Skleroz (MS) gibi otoimmün-demyelizan, travmatik beyin hasarı ve stroke gibi akut vasküler nöroinflamatuvar, nöro-AIDS, şizofreni ve epilepsi gibi hastalıkların patolojisinde direkt veya dolaylı olarak yer almaktadır.

Normalde nöronlar ve glial hücreler beyin homeostazını sağlamak için birlikte hareket ederler. Ancak bir hasar meydana geldiğinde mikroglia ve astrositler; sitokin ve kemokin üreterek adezyon moleküllerini uyarırlar.

Epilepside nöronlar etkilenen hücreler olmasına rağmen özellikle glial hücreler epilepsi patogenezinde öne çıkmaktadır (46). Birçok çalışma nöroinflamasyonun epilepsi patogenezinde rolü olduğunu göstermiştir ancak SSS'de inflamasyonu başlatan temel mekanizma hakkında yeterli veri yoktur. Diğer yandan inflamasyonun patofizyolojisinde yer aldığı; travmatik beyin hasarı (47), iskemi (48), MS (49), Alzheimer (50) gibi birçok SSS hastalığında nöbetlerin gelişebildiği bilinmektedir. Ayrıca periferik inflamasyonun SSS'de mikroglial ve endotelial sitokin üretimi ve periferik lökosit invazyonu ile karakterize olan inflamatuvar yanıtı neden olduğu ve nöbet indüksiyon eşiğini düşürdüğüne dair artan kanıtlar mevcuttur (51,52).

Epileptik beyinde anahtar nöroinflamatuvar mediatör interlökin 1 beta (IL-1 β) olup mikrogial hücre ve astrositler tarafından bol miktarda üretilir (53). Astrosit ve nöronlar nöbet sürecinde mikrogial fonksiyonları düzenlemek için ayrıca dönüştürücü büyüme faktörü- β (TGF- β), ATP ve kromatin ilişkili nükleer protein olan HMGB1 (yüksek mobil grup protein B1) gibi maddeler de üretir (54). Mikrogial ve astrositik IL-1 β direkt endotel üzerine etki ederek KBB geçirgenliğini değiştirir ve epileptogeneze katkıda bulunur. Endotel hücrelerindeki IL-1R1 (interlökin 1 reseptör tip 1) aktivasyonu temel olarak sıkı bağlantı proteinlerini azaltarak ve nitrik oksit (NO) ve matriks mettalo proteinazları (MMP) artırarak KBB geçirgenliğini artırır (55). Bu bağlamda, geleneksel anti-epileptik ilaçlara dirençli epileptik sendromların anti-inflamatuvar ajanlar ya da immunsupresif tedaviler ile kontrol edilebilmesi; mikrogial ve astrositik aktivasyonunun önemini doğrulamaktadır (56). Örneğin intra venöz immunglobulin (IVIG) sitokin üretimi ve astrosit aktivasyonunu azaltmak suretiyle nöbetleri baskılayabilir. IVIG dolaşan IL-1 reseptör antagonist seviyesini artırarak IL-1 β sinyalinizasyonunu baskılayabilir (46).

Güncel veriler göz önüne alındığında; nörovasküler birim hücrelerinin, özellikle glial hücrelerin epileptogenezdaki önemi çok çarpıcıdır. Geleneksel düşüncede eksitasyon (uyarılabilirlik) ve inflamasyon bağımsız yollar olarak düşünülürken günümüzde anlaşılmıştır ki bu ikisi çakışan süreçler olup inflamasyon eksitasyonu başlatabileceği gibi; eksitasyon da inflamasyona neden olabilmektedir (46). Bu bulgular; mikrogial hücrelerin aktive ettiği inflamatuvar süreçlerin epileptogeneze katkıda bulunan KBB disfonksiyonundaki önemine

dikkat çekmiştir. Tüm bu süreçleri anlamak; denetimsiz süregelen inflamasyon – hipereksitasyona engel olmak için tedavi stratejileri geliştirmeyi ve ilaca dirençli epilepsilerin kontrolünü sağlamayı mümkün kılacaktır.

2.3.4. Mikroglia çalışma yöntemleri

In vitro Mikroglial Kültür

Mikroglial hücrelerin *in vitro* sistemlerde incelenmesi mikroglia biyolojisinin analizi için önemli bir araçtır. Bu hücrelerin fenotipleri üzerinde önemli etkilere sahip olan mikroçevrelerinden uzaklaştırılması hücrelerin normal metabolizmasını etkilemektedir. Bu yüzden hücreler izole edilme işleminin hemen ardından çalışılmalıdır. Çalışma sırasında SSS mikroçevresi mümkün olduğunca taklit edilmelidir. Mikroglia fonksiyonlarını araştırmaya yönelik çalışmalarda neonatal beyinden elde edilen mikroglial hücreler kullanılmıştır. Neonatal mikroglia ile çalışmanın önemli bir kısıtlaması ise hücrelerin henüz beyin mikroçevresiyle tam anlamıyla karşılaşmamış olmasıdır (57).

Beyin Slice Kültürü

Mikroglial hücrelerin mikroçevresinin bozulmadan *in vitro* çalışma yöntemlerinden birisi de beyin slice ve organotipik kültürdür. Slice kültürlerde doku, kesim işlemi sırasında zarar görebilir ve dokuda bulunan mikroglial hücreler kolayca aktif hale geçebilir. Ancak, izole edilen mikroglial hücrelerin aksine bu hücrelerde iyon kanalı ekspresyonları daha az olduğu için elde edilen hücreler istirahat durumundaki mikroglia'dır (58).

Organotipik kültürler istirahat durumundaki mikroglial hücrelerin çalışılmasına izin vermektedir ve daha sonraki zamanlarda kültürde verilen hasar

in vivo durumdaki gibi ve makrofajlardaki gibi gerçekleştiğinden dolayı sonuç öngörülebilmektedir (59). Bu yöntemden elde edilebilecek veriler *in vivo* elde edilen verilere çok yakın olduğu için slice kültür yaklaşımı *in vitro* yaklaşıma göre daha güvenilirdir.

İn vivo Çalışmalar: İmmunohistokimya ve İn situ Hibridizasyon Mikrogliyal hücrelerin *in vitro* çalışmalarının kısıtlamalarından dolayı SSS dokusunun bütün olduğu *in vivo* çalışmalar daha fazla yapılmaktadır. Deney hayvanları ve insan dokularında yapılan mikrogliya araştırmalarında immünohistokimya (İHK) yöntemiyle analiz yapılmaktadır. Bu teknikte mikrogliya ait oldukça değerli veriler elde edilmektedir. İHK'nın enzyme linked immuno sorbent assay (ELISA) ve Western blot gibi yöntemlere göre en önemli avantajı incelenen proteinin lokalizasyonunun da incelenmesidir. Bunun ötesinde konfokal mikroskop gibi daha iyi çözünürlüklü sistemler kullanılarak proteinin hücre içindeki konumu bile belirlenebilmektedir. Bu sebepten dolayı fizyolojik ve patolojik süreç incelemelerinde İHK analizi geçerli ve güvenilir sonuçlar vermektedir. İHK'nın güçlü yanlarına karşın zayıflıkları da bulunmaktadır. Bu zayıflıklar boyama tekniği ile ilişkili yalancı pozitif sonuçlardır (60,61). Bu zayıflıktan dolayı sonuçların Western blot gibi farklı bir yöntemle veya aynı proteini tanıyan farklı antikor ile doğrulanması gerekmektedir.

İn vivo analiz için kullanılan diğer bir yöntem ise incelenen mitokondrial RiboNucleic Acid (mRNA)'yı ilgili problemler ile işaretleyen *in situ* hibridizasyon (ISH) yöntemidir. ISH, İHK yöntemiyle paralel olarak kullanılabilen ve doğrulama amacıyla kullanımı önerilmektedir.

Pozitron Emisyon Tomografisi İncelemesi PET taramalarında çoğunlukla glukoz analogu olan [¹⁸F] 2-floro-2- deoksi-D-glukoz (FDG) kullanılarak metabolik aktivite analizi yapılmaktadır. FDG'nin dışında, İzokinolon'un işaretli R-enantiyomeri olan [¹¹C] (R) PK11195 de aktive mikroglial hücrelerin görüntülenmesinde kullanılmaktadır (62). [¹¹C] (R) PK11195, myeloid hücrelerde eksprese olan periferik benzodiazepin bağlanma bölgesinin (peripheral benzodiazepine binding site; PBBS) bir kısmı olan mitokondriyel membran taşıyıcı protein- 18'e (TP-18) bağlanmaktadır. PK11195, mikroglial aktivasyon sürecinin erken safhasında da görüntüleme yapabilmektedir. Sonuç olarak bu teknik nörolojik hastalıklarda mikroglial aktivasyonun rolünü araştırma amacıyla sıklıkla kullanılmaktadır.

2.4. S100 PROTEİN AİLESİ

S100 protein ailesi düşük molekül ağırlıklı, sadece omurgalılarda bulunan ve heliks-loop-heliks yapısında iki kalsiyum bağlayan bölge içeren bir gruptur. S100 protein ailesinin adlandırılmaları nötral pH'da amonyum sülfat çözeltisi içinde %100 oranında çözünmelerinden ileri gelmektedir. S100 ailesi proteinleri alfa ve beta olmak üzere iki subüniteden oluşarak subünite durumuna göre homo veya hetero dimer şeklinde bulunur. S100 proteinleri genellikle iki eş polipeptid zincirinin kovalan olmayan bir şekilde bir araya gelmesi ile meydana gelen homodimerik yapı gösterir. Bu proteinler yapısal olarak kalmodulin ile benzese de, hücreye özgül olmaları ile farklılık gösterirler.

Ailenin bir üyesi olan S100B proteinin glial hücreye özgül olduğu kabul edilmekte ve birincil olarak astrositlerde ifade edildiği öne sürülmektedir. S100B

proteinleri beyin hücreleri zarar gördüğünde veya ortadan kalktığında hücrelerden salınarak kanda saptanabilir hale gelmektedir (63).

Yerleşim:

S-100 proteinleri nöral krestten köken alan hücrelerde (Schwann hücreleri, melanositler ve glial hücreler), kondrositler, adipositler, myoepitelyal hücreler, makrofajlar, Langerhans hücreleri, dendritik hücreler ve keratinositlerde bulunur (64).

Biyolojik Fonksiyon:

Proteinler hücrenin sitoplazma ve nukleusunda yerleşerek, hücre siklusu dahil olmak üzere bir çok hücre içi işleyişte düzenleyici olarak rol alırlar.

Genetik kodlama:

S100 genlerinin yaklaşık 13 tanesi toplu halde kromozom 1q21'de yer almaktaysa da, S100B geni 21q22.3'de yerleşmiştir.

Kullanım alanı:

S100 protein ailesinin bazı üyeleri özellikli bir kaç tümör (malign melanom, periferik sinir kılıfı tümörü ve berrak hücreli sarkom) ve epidermal farklılaşma için belirteç olarak kullanılmaktadır.

2.4.1. S100B

S100 ailesinin bir üyesidir. Alfa-beta ile beta-beta heterodimerleri S100B proteini olarak tanımlanır ve alfa-beta izoformu glial hücrelerde, beta-beta izoformu beyin astrosit ve Schwann hücrelerinde yer alır. Sinir dokusu için yüksek oranda özgüdür (65).

Yerleşim:

S100B proteininin glial hücreye özgül olduğu kabul edilmekte ve birincil olarak astrositlerde ifade edildiği öne sürülmektedir (65).

Biyolojik Fonksiyon:

Astrositler tarafından salındığında fizyolojik konsantrasyonlarda sinir rejenerasyonu ve gelişimi üzerine nörotropik etkisi olduğu bilinmektedir. Bu proteinin nöron uzaması, kalsiyum akışlarının uyarılması, protein kinaz C aracılı fosforilasyonun inhibisyonu, astrositozis ve aksonal proliferasyon ile hücre içinde mikrotübül oluşumunun inhibisyonunda düzenleyici rol oynadığı düşünülmektedir. Gelişmekte olan santral sinir sistemi için nörotropik bir davranış sergilemekte ve nöronların hayatta kalabilmesi için önem kazanmaktadır (65).

Kullanım alanı:

S100B proteinine ait gendeki kromozomal veya ifade değişiklikleri nedeniyle ortaya çıkan vücut sıvılarındaki düzey değişiklikleri Alzheimer, Down sendromu, epilepsi, amiyotrofik lateral skleroz, melanom gibi bazı nörolojik ve neoplastik hastalıklarla ilişkilendirilmiştir.

S100B proteini, infarktüste olduğu gibi glial ve Schwann hücrelerinin sitozolünde yapısal bir hasar oluştuğunda beyin omurilik sıvısı ve kana salınır. Ekstrasellüler alana salınması ile ilgili olarak yapılan in vitro çalışmalar astroglial hücrelerden birkaç farklı şekilde salındığını göstermektedir. Adenozin glutamat reseptörlerinin aktivasyonu (bu salınım çok hızlıdır 1 saat içinde gerçekleşir), astroglial 5- hidroksitriptamin 1A (5-HT1A) reseptörlerinin uyarılması veya adrenokortikotropik hormon ve kortikotropin benzeri orta lob peptidi aracılı

salınımı olduğu bilinmektedir. S100B aynı zamanda proliferen olan astrositlerden de salınabilmektedir (66).

Beyin omurilik sıvısındaki konsantrasyonları serumun yaklaşık 40 katına kadar çıkabilen bu proteinin, yetişkinlerde izlenen yüksek düzeyleri genellikle sinir sistemi hasarı ile ilişkilidir. Kinetik çalışmalar S100B'nin yarı ömrünün in vivo olarak yaklaşık 1,5 saat olduğunu göstermiş, bu nedenle bazı araştırmacılar tarafından kan-beyin bariyerinin fonksiyonunu gösteren bir erken belirteç olarak kabul edilmiştir. Hemolizden etkilenmeyen protein konsantrasyonu, örnekte birkaç saat stabil kalabildiğinden, yarı ömrü de dikkate alındığında bu proteinin acil ve yoğun bakım servislerinde erken evrede kullanılabilecek bir serum belirteci olma hipotezini ortaya koymuş ve bu yönde çeşitli çalışmalar yapılmıştır (65).

2.5. Minosiklin

Minosiklin lipofilik özelliği yüksek, yarı sentetik, uzun etkili ikinci kusak tetrasiklin antibiyotik grubunun bir üyesi olup, serebral iskemik hasarlı durumlar üzerine, nöroprotektif ve antiinflatuvar etkileri bulunmaktadır, beyin kaynaklı fokal ve global iskemiyi mikrogial aktivasyonu azaltarak önlemektedir (67).

2.5.1. Minosiklinin Farmakokinetik Etkileri

Emilim: Minosiklinin oral biyoyararlanımı %95–100 arasındadır. Dozun artırılmasıyla biyoyararlanımda artma olmaz. 150 ve 300 mg'lık oral preparatlarının alınmasından ortalama 3 saat sonra maksimum serum konsantrasyonuna ulaşılır ve sırasıyla 2 ve 4 mg/L olur. 100 mg minosiklinin 12

saat arayla uzun süre kullanılması sonrasında kararlı durum konsantrasyonu 2,3 ile 3,5 mg/L arasında değişmektedir. Minosiklinin, sıçanlara 25 mg/kg dozunda i.v. verilmesinden 1 saat sonra beyinde saptandığı ve 2–4 saat arasında doruk (plazma düzeyinin %35'i) konsantrasyonuna ulaşarak, 8 saat boyunca birinci saatteki düzeyini koruduğu kaydedilmiştir. Minosiklinin insanlardaki beyin omurilik sıvısı konsantrasyonu da plazmanın %25-30'u kadardır (68,69).

Dağılım: Minosiklin yüksek lipofilik özelliğinden dolayı vücut dokularında oldukça iyi dağılır ve bu özelliğiyle en lipofilik tetrasiklin olarak bilinir. Dağılım hacmi 1,14–1,64 L/kg arasındadır ve plazma proteinlerine %70–80 oranında bağlanır (69).

Metabolizma: Minosiklin büyük ölçüde karaciğerde biyotransformasyona uğrar. İdrarda ve feçeste üç adet inaktif metaboliti vardır. En önemli ve fazla bulunan metaboliti 9-hidroksi-minosiklin bileşiğidir. Diğer metabolitler ana molekülün 4. ve 9. pozisyonlarında demetilasyonlarıyla oluşurlar. Minosiklinin yarılanma ömrü 16–18 saattir (70).

Atılım: Minosiklin ana bileşiğinin %8-12'si idrarla, %20-35'i fekal olarak atılır. Metabolitleri idrarla ve feçesle atılır. Minosiklinin renal klerensi 0,13 mL/dk/kg'dır. Minosiklinin toplam klerensi $1,05 \pm 0,2$ mL/dk/kg'dır. Karaciğerde metabolize olduktan sonra kısmen safra içine atılır. Safra içerisindeki ilaç bileşikleri daha sonra intestinal lümene ulaşır ve polivalent metal bileşikleriyle şelat oluşturarak inaktif olurlar. Bu şelat türevleri suda çözünmediğinden absorbe edilemezler ve feçesle atılırlar. İlacın atılımı yaş, cinsiyet, gebelik ve laktasyon, fizik egzersiz gibi durumlardan etkilenebilmektedir (68,69).

Yan etkileri: Tırnaklar, dişler, ağız, konjonktiva, kemik, tiroid, substantia nigra, aort, koroner arterler ve mitral kapakta yaygın pigmentasyonlar görülmektedir (71). Köpek ve sıçanlarda yapılan çalışmalarda tiroid bezinde pigmentasyon artışı ile birlikte tiroid bezinde ve pineal bezde hiperplastik değişiklikler olduğu belirlenmiştir. Minosiklinin oral verilmesini takiben büyümekte olan kemiklere zararlı etkisi olmaksızın kafatası ve femurda sarı renkli pigmentasyonlar gözlenmiştir (72). Yapıca çok fazla lipofilik olduğundan karaciğere, yağ dokusuna, salgılara; özellikle orta kulak sıvısı, gözyaşı ve tere önemli ölçüde geçer. Yüksek oranda vestibüler yan etkilere sahiptir. Minosiklinin vestibüler toksisitesi yüksek derecede lipofilik olması yüzünden iç kulakta lipitten zengin denge reseptörlerinde birikmesine bağlıdır. Vertigo, sarhoşluk benzeri bir duygu oluşturabilmektedir (73). Hipersensitivite sendromu ve otoimmün hepatit görülen diğer yan etkiler arasındadır (74,75). Ayrıca, minosiklin ile tedavi sırasında psödotümör serebri görüldüğünü bildiren yayınlar da bulunmaktadır (76).

2.5.2. Minosiklinin Nöroprotektif Etkileri

Son yıllarda yapılan çalışmalar, minosiklinin antimikrobiyal etkilerinin dışında bazı nöroprotektif etkilerinin de olduğunu göstermiştir. Global beyin iskemili kobaylarda bu ilacın hipokampal nöronlarda nöroprotektif etki gösterdiği saptanmıştır. Ayrıca bölgesel beyin iskemili hayvanlarda infarkt alanında anlamlı bir küçülme gözlenmiştir (77,78).

Minosiklin mikrogial inhibitör olarak tanımlanmış olup; mikrogial glutamat, MMP ,IL-1 β ve NO üretimini önleyerek nöronları exitoksik hasardan

korur ve KBB hasarını azaltabilir (79,80). Minosiklinin, fare modelinde Huntington hastalığının daha yavaş seyretmesini sağladığı bildirilmiştir (81). Minosiklin, Parkinson hastalığı modelinde mikrogliyal aktivasyonu ve NO aracılı nörotoksisiteyi direkt olarak inhibe etmiş ve dopaminerjik nöronlar üzerine nöroprotektif etkinlik göstermiştir (82). Deneysel travmatik beyin zedelenmesi modelinde de nöronları ölümden koruduğu gösterilmiştir (83). Omurilik zedelenmesi oluşturulan farelerde, minosiklinin nöronal doku zedelenmesini önleyerek, belirgin olarak aksonal bütünlüğü ve davranışsal yetenekleri koruduğu gözlenmiştir (84). Nöron kültürlerinde düşük doz iyonize radyasyon verilerek oluşturulan apoptotik süreçte, bu ilacın nöronları apoptozisten koruduğu kaydedilmiştir (85). İskemik stroke hastalarında minosiklin ile bugüne kadar yapılmış çalışmalar kanıtlamıştır ki; minosiklinin tek başına ya da fibrinoliz ile birlikte uygulanması stroke sonrası nörolojik fonksiyonları artırmaktadır (86). Minosiklin bazı epilepsi modeli uygulanan deney hayvanlarında da denenmiş ve antiepileptik etkinlik gösterdiği saptanmıştır (87).

2.6. Glial Fibriler Asidik Protein (GFAP)

Astroglialara özgü Tip III ara filament proteini olan GFAP ; sinyal iletimi, hücre yapı ve hareketi, mitoz, kan-beyin bariyerinin fonksiyonel olması gibi birçok hücresel olayda rol alır. Ayrıca astrositin şekil ve mekanik dayanıklılığını sağlar. GFAP' ın bu fonksiyonları knock-out fare çalışmaları ile ortaya konmuştur (88).

Glial hücre hasarına yol açan durumlarda GFAP regülasyonu bozulur. Akut serebral hasar sonrası GFAP salıverilir ve hasarlı olan kan-beyin bariyerini

geçerek dolaşıma katılır. İskemik inme sonrasında serum GFAP düzeylerinde, enfarkt alanının büyüklüğü ile paralellik gösteren, artış olur (89). Subaraknoid kanama sonrası akut dönemde serum GFAP konsantrasyonu ile beyin hasarının şiddeti arasında korelasyon saptanmıştır (90). Glial tümörlerde de serum GFAP düzeylerinin yükseldiği bildirilmiştir (91). Fokal beyin hasarının uzun süreli izlemi ve prognoz tayininde GFAP önemli rol oynar (92). Güncel literatürde serum GFAP düzeyinin epilepside de yükseldiğini rapor eden çalışmalar mevcuttur (53,93).

2.7. OX-42

OX-42, mikrogliaların CD11b'lerine karşı oluşan bir antikordur (94).

Bu antikorlar, CD11b olarak da bilinen ve bir yüzey molekülü olan kompleman 3 reseptörünün ekspresyonundaki “upregülasyonu” tespit etmekle birlikte adezyon, migrasyon ve fagositoz ile ilişkilendirilmiştir (95).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya ait deney protokolü Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu tarafından incelenmiş ve 03.09.2012 tarihli oturumda 2012/45-03 karar numarası ile onaylanmıştır.

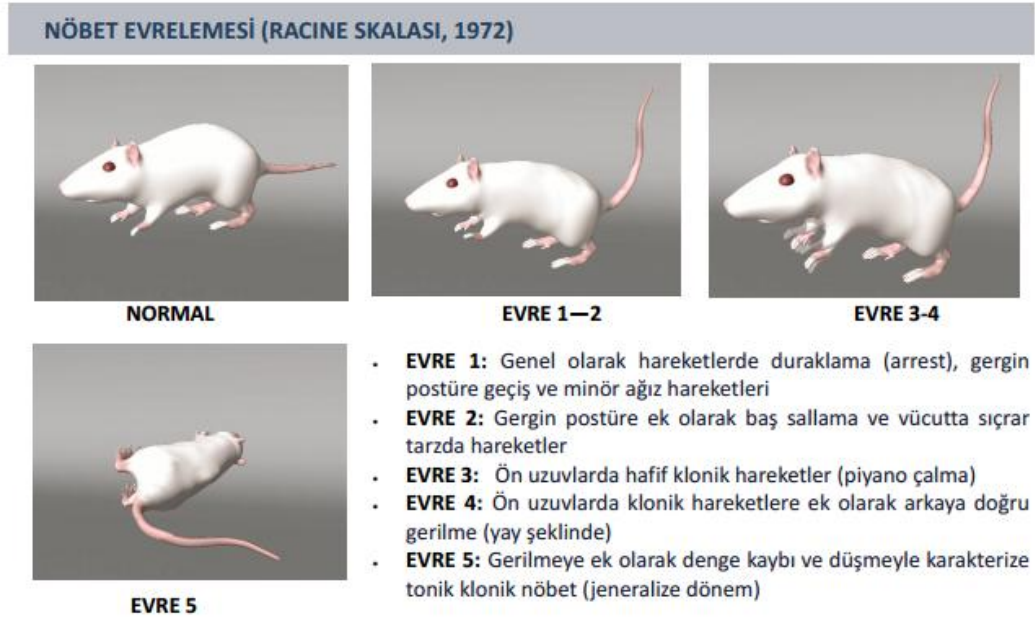
Çalışmada kullanılan denekler Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Yetiştirme Laboratuvarı'ndan temin edildi, çalışmanın tüm deneysel aşamaları Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi Laboratuvarı'nda yapıldı. Histolojik incelemeler Hacettepe Üniversitesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı'nda ve biyokimyasal analiz Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Merkez biyokimya laboratuvarında tamamlandı. Bu çalışma Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'nce 01/2014- 08 proje kodu ile desteklenmiştir.

3.1. Hayvan Grupları

Bu çalışmada 12 haftalık, ağırlıkları 200-250 g arasında değişen erkek Sprague-Dawley ırkı sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar, laboratuvar ortamında 8 gün süresince 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık döngüsünde ve 20 ± 2 °C' lik sıcaklıkta tutuldular. Tüm sıçanların su ve besine serbest erişimi sağlandı. Çalışma sonunda histopatolojik çalışma için örneklerin alınması amacı ile denekler kurban edildi.

Bu çalışmada sıçanlar, 4 gruba ayrıldı. SE grubunda lityum-pilokarpin ile SE indüklendi. Deney hayvanlarına pilokarpin enjeksiyonundan 24 saat önce lityum klorür (127 mg/kg. intraperitoneal (i.p.) uygulandı. Pilokarpin 30 mg/kg, i.p. ve 10 mg/kg, i.p. olacak şekilde iki doz uygulandı. Ayrıca pilokarpin'den 30

6 dakika önce kolinerjik yan etkileri ortadan kaldırmak maksadı ile sıçanlara metilskopolamin-bromür (1 mg/kg i.p.) verildi. Nöbetler Racine skalasına (Tablo 3) göre derecelendirildi (Racine 1972).



Tablo 3. Racine Skalası

SE'nin başlangıcı süregelen nöbet aktivitesinin başlangıcı olarak tanımlandı (nöbetler arasında normalleşme olmaksızın). SE oluşan sıçanlarda, SE süresi ilk pilokarpin uygulamasından 60 dakika sonra diazepam (10 mg/kg i.p.) ile kontrol altına alındı.



Şekil 8. Çalışmamızda lityum-pilokarpin ile indüklenerek oluşturulan Racine Skalası'na göre Evre 4 nöbet geçiren denek örnekleri

Çalışma için sıçanlar 4 gruba ayrıldı:

Grup 1 (Kontrol, n=6): Bu gruptaki hayvanlara ilk yedi gün herhangi bir işlem uygulanmadı.

8. gün Tiyopental ile anestezi yapılan sıçanlardan intrakardiyak yoldan yaklaşık 5 ml kan alındı, 10 dakika 2000 rpm'de santrifüj edilen kanların serumları alındı ve S100B tayini için -80 °C' de muhafaza edildi. Sakrifiye olan sıçanların hipokampusları çıkarılarak fiksatif solüsyona konuldu.

Grup 2 (Sham, n=6):

Sıçanlara lityum ve metilskopolamin uygulandı, pilokarpin yerine ise salin verildi. Salin enjeksiyonundan 2 saat sonra tek doz diazepam enjekte edildi. Bütün sıçanlar 8. gün aynı protokolle sakrifiye edildi.

Grup 3 (SE, n=6):

Deney hayvanlarına pilokarpin enjeksiyonundan 24 saat önce lityum klorid uygulandı (127 mg/kg. i.p.). Pilokarpin tek doz olarak uygulandı (30 mg/kg, i.p.). Ayrıca hayvanlara metilskopolamin de verildi. SE'den itibaren bütün sıçanlara ölüm oranını azaltmak için 09:30-10:30 ve 16:30- 17:30 zaman dilimlerinde günde 2 defa 5 ml subkutan enjeksiyon ile salin ve gavaj ile yaklaşık 1 ml TPN solüsyonu verildi.

Bütün sıçanlar 8. gün aynı protokolle sakrifiye edildi.

Grup 4 (SE + Minosiklin, n=6):

Grup 3'deki aynı deney protokolü minosiklin varlığında tekrarlandı. Minosiklin 0.1 M fosfat tamponu içerisinde çözülerek (pH:7.4), i.p olarak 8 gün boyunca 50 mg/kg dozunda uygulandı. İlk uygulama lityum klorid enjeksiyonundan 1 saat önce yapıldı.

Bu grupta 2 ve 5 nolu sıçanlar deneyin 3. gününde öldü. Bu gruptaki deneyler 200-250 gram ağırlığında 2 adet Spraque-Dawley cinsi erkek sıçanlar temin edilerek tekrarlandı ve n= 6' ya ulaşıldı. 4 grup için toplam 26 sıçan kullanıldı. Bu grup için mortalite % 25 olarak hesap edildi. Diğer gruplarda ölüm gözlenmedi

3.2. İmmunohistokimyasal Yöntem

Kontrol, sham, SE ve SE + minosiklin gruplarına ait hipokampus örnekleri % 10 tamponlu formalinde 72 saat tespit edildikten sonra ışık mikroskop doku takip yöntemine göre takip edilerek parafine gömüldü. Alınan 5 mikronluk seri kesitler histolojik inceleme için hematoksilen-eozinle boyandılar. Astrosit ve mikroglial hücre aktivasyonlarının saptanması için GFAP ve OX-42

immunohistokimyası yapıldı. Tüm örnekler Leica DM6000B ışık mikroskopunda değerlendirildi ve görüntüler DC 500 model Leica dijital kamera ile bilgisayar ortamına aktarıldı.



Şekil 9. Çalışmamızdaki deneklerden hipokampus doku örnekleri alınması

3.2.1. İndirekt ABC Yöntemi

Kesitler indirekt ABC yöntemi ile boyandılar. 5 mikron kalınlığındaki parafin kesitler 60 °C’ de etüvde bir saat deparafinize edildikten sonra 2 X 10 dakika ksilolde bekletildi. Dereceli alkol serilerinden (%96, %80, %70) geçirilerek rehidrate edilen kesitler endojen peroksidaz aktivitesinin bloke edilmesi için %0.3’ lük hidrojen peroksit solüsyonu ile nemli ve kapalı bir kutuda oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edildi. EDTA tamponu kullanılarak düdüklü tencerede antijen açığa çıkarma işlemi uygulandı. PBS (Phosphate Buffered

Saline) (Fosfat tamponlu salin) yıkama solüsyonu ile 3 kez 5' er dakika yıkanan kesitler IHK kitinin (Abcam Mouse and Rabbit Spesific HRP/DAB (ABC) Detection IHK kit) Protein Block solüsyonu ile 10 dakika oda sıcaklığında inkübe edilerek protein blokajı yapıldı. Uygun şekilde dilüsyonu yapılmış primer antikorlar kesitlere damlatıldı ve nemli, kapalı bir kutuda 1 gece + 4 °C' de inkübasyon sonrasında PBS ile 3 kez 5'er dakika yıkandı. IHK kiti sekonder antikor (Biotinylated Goat Anti-polyvalent) ile 10 dakika oda sıcaklığında inkübasyon sonrasında PBS ile yıkandı. IHK kiti Streptavidin Peroksidaz' ı ile 10 dakika oda sıcaklığında inkübasyon sonrasında PBS ile yıkandı. DAB kromojen damlatılan kesitler ışık mikroskopunda kontrol edilerek 5-10 dakika bekletildikten sonra, 45 saniye hematoksilen ile boyandılar. Dehidrate edilen kesitler ksilolde şeffaflandırıldıktan sonra entellan ile kapatıldılar ve Leica DM6000B ışık mikroskopunda incelendiler.

3.3. Biyokimyasal Yöntem

Kan örnekleri serum separatör tüplere alınıp 15-20 dakika pıhtılaşması için beklendikten sonra 2500 r.p.m de 20 dakika santrifüjlendi. Serumları ayrılan örnekler çalışma yapılncaya kadar -20 C de saklandı.

Sun Reid Bioteknoloji marka kit (Ref No: DZE201110076, Lot Numarası: 201502) kullanılarak Rat Soluble protein-100B (S-100B) ölçümleri ELISA (enzyme-linked immünsorbent assay) yöntemi ile Synergy HT Biotek cihazında gerçekleştirildi. Tüm analizler aynı çalışma gününde yapıldı. Kitin ölçüm aralığı 10-2000 ng/ml idi. Ölçümler bir serum numunesi için 20 kez tekrarlandığında, analize ait kesinliğin % 10 dan küçük olduğu belirlendi.

3.4. İstatiksel Yöntem

Araştırma verisi “SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 15.0 (SPSS Inc, Chicago, IL) ” aracılığıyla bilgisayar ortamında değerlendirildi. Tanımlayıcı istatistikler ortanca (minimum-maksimum) ile sunuldu. Üç ve daha fazla bağımsız grup arasındaki istatistiksel karşılaştırmada Kruskal-Wallis Testi yöntemi kullanıldı. Gruplar arasındaki istatistiksel anlamlılıklarda farkın kaynağını saptamaya yönelik post-hoc bonferroni düzeltmesiyle yapılan ikili karşılaştırmalarda Mann Whitney U Testi kullanıldı. Değişkenler arasındaki ilişkiler Spearman Korelasyon Testi ile değerlendirildi. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p<0.05$ olarak kabul edildi.

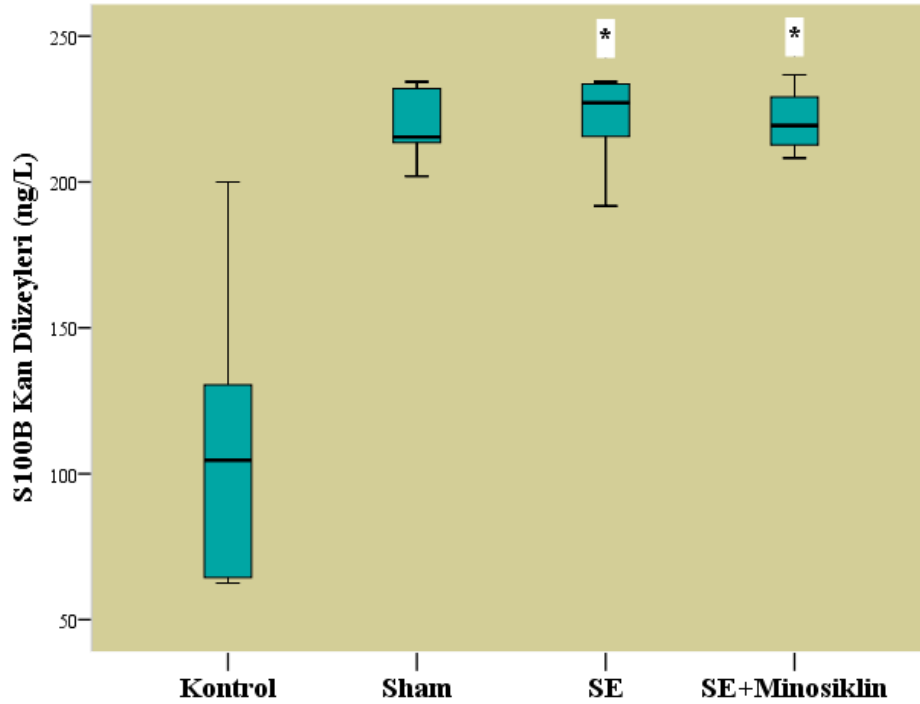
İstatistiksel değerlendirme için immunohistokimya yapılmış örneklerde GFAP immunoreaktivitesi gösteren çekirdekleri ve uzantıları seçilen astrositler ile OX-42 immunoreaktivitesi gösteren çekirdekleri ve uzantıları seçilen mikrogialar gruplara kör 2 histolog tarafından 40’ lık mikroskop büyütmesinde 3 alanda sayılarak ortalama değerleri alındı. İmmunoreaktif hücreler DG ve CA1 bölgelerinde ayrı ayrı sayılarak değerlendirildiler.

4. BULGULAR

4.1. İstatiksel Bulgular

4.1.1. Çalışma Gruplarında S100B'nin Kan Düzeyleri

Çalışma grupları arasında kandaki S100B düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır ($p<0,05$). Yapılan ikili karşılaştırmalar sonucu anlamlı farkın “Kontrol” grubu ile “Status Epileptikus” ve “Status Epileptikus + Minosiklin” grupları arasında olduğu görülmüştür. (Şekil 10)

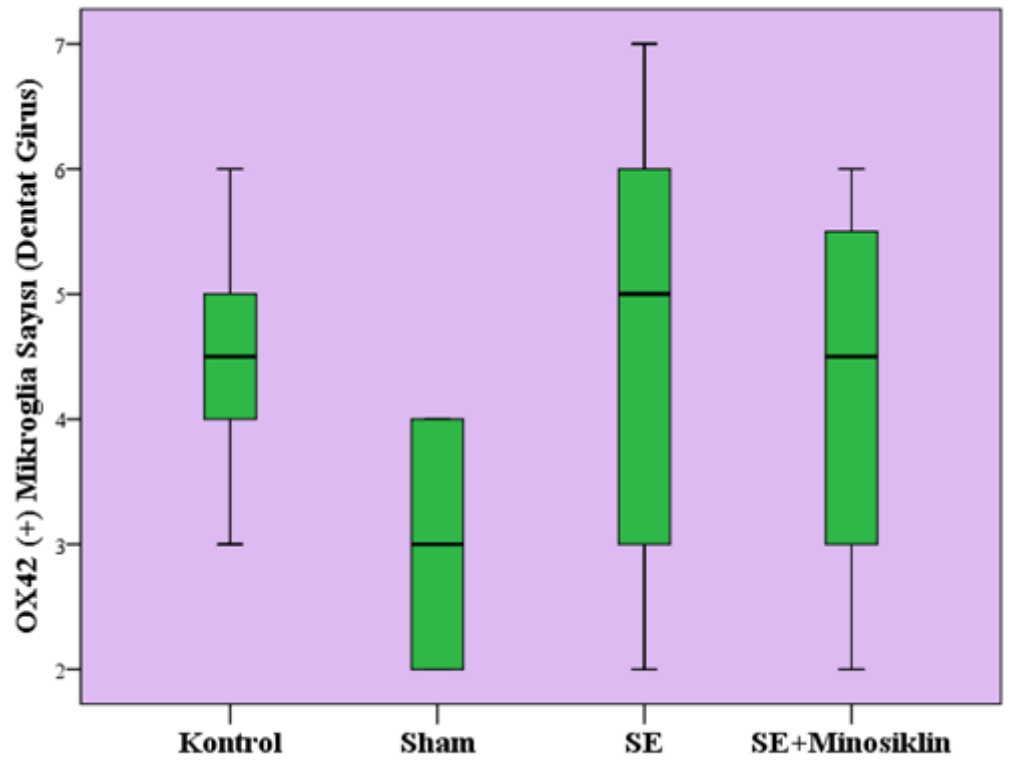


Şekil 10. Çalışma Gruplarına Göre S100B'nin Kan Düzeyleri

*Kontrol grubu ile “Status Epileptikus” ve “Status Epileptikus + Minosiklin” grupları arasındaki fark, sırasıyla $p=0,008$, $p=0,002$.

4.1.2. Çalışma Gruplarına Göre Dentat Girusa OX42 (+) Mikroglia Sayıları

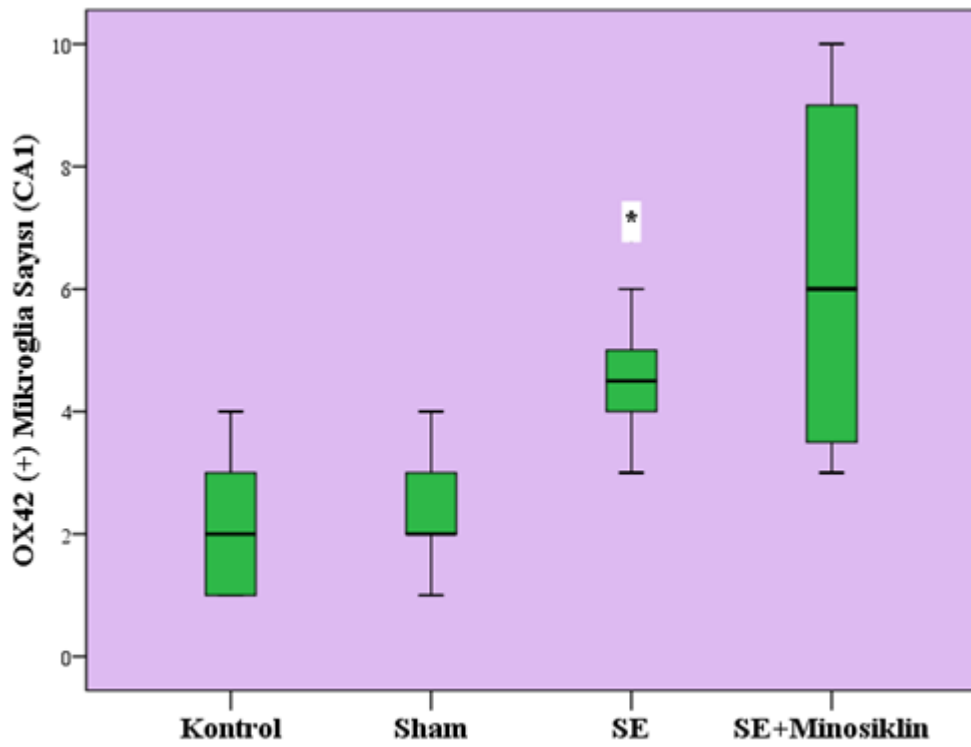
Çalışma grupları arasında DG’deki OX42 (+) mikroglia sayıları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0,05$). (Şekil 11)



Şekil 11. Çalışma Gruplarına Göre Dentat Girus’ta OX42 (+) Mikroglia Sayıları

4.1.3. Çalışma Gruplarına Göre CA1’de OX42 (+) Mikroglia Sayıları

Çalışma grupları arasında CA1’deki OX42 mikroglia sayıları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır ($p<0,05$). Yapılan ikili karşılaştırmalar sonucu anlamlı farkın “Kontrol” grubu ile “Status Epileptikus” grubu arasında olduğu görülmüştür. “Status Epileptikus” grubunun CA1’deki OX42 mikroglia sayısı kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. (Şekil 12)

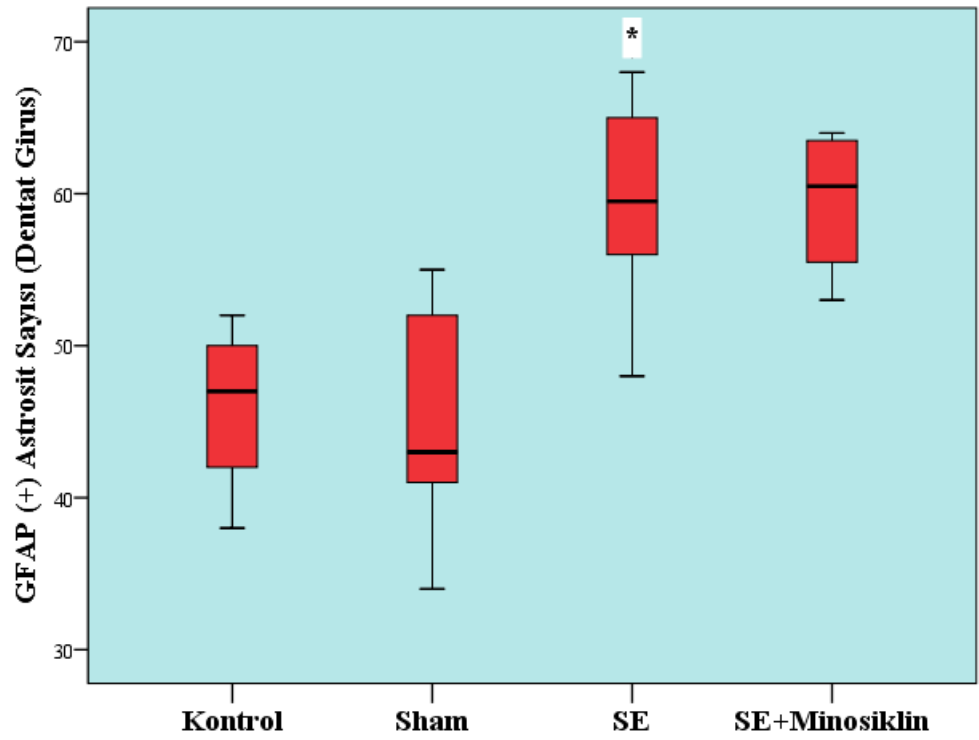


Şekil 12. Çalışma Gruplarına Göre CA1’de OX42 (+) Mikroglia Sayıları

*Kontrol grubu ile ve “Status Epileptikus” grubu arasındaki fark, $p=0,009$.

4.1.4. Çalışma Gruplarına Göre Dentat Girustaki GFAP (+) Astrosit Sayıları

Çalışma grupları arasında DG'deki GFAP (+) astrosit sayıları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır ($p<0,05$). Yapılan ikili karşılaştırmalar sonucu anlamlı farkın “Kontrol” grubu ile “Status Epileptikus” grubu arasında olduğu görülmüştür. “Status Epileptikus” grubunun DG'deki GFAP (+) astrosit sayısı kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. (Şekil 13)

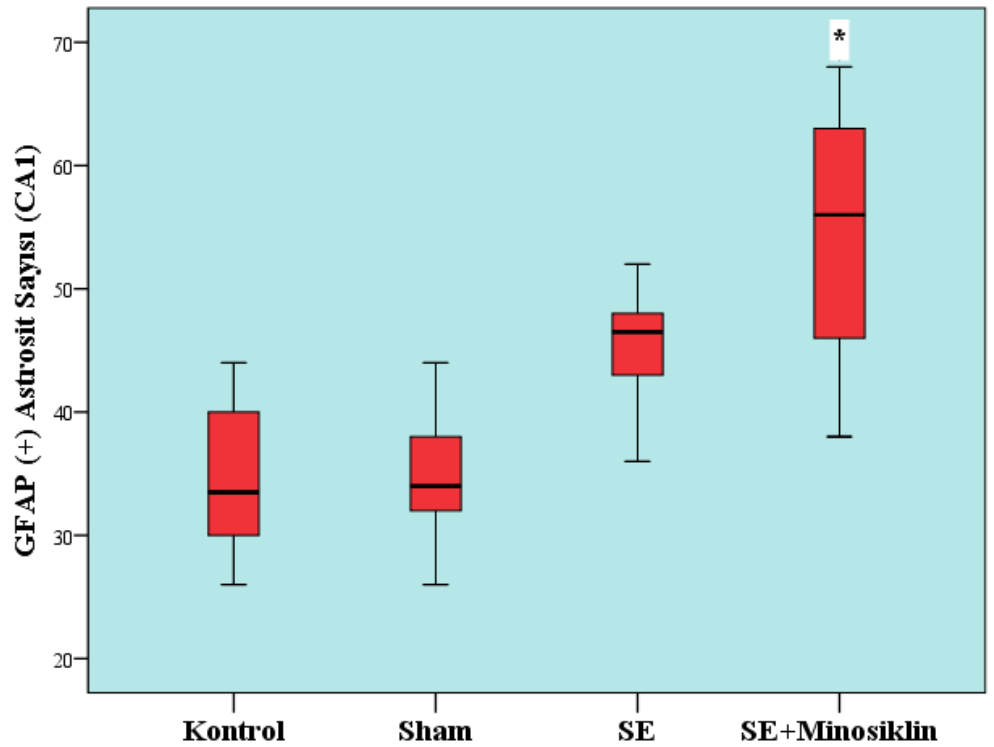


Şekil 13. Çalışma Gruplarına Göre Dentat Girustaki GFAP (+) Astrosit Sayıları

*Kontrol grubu ile ve “Status Epileptikus” grubu arasındaki fark, $p=0,008$.

4.1.5. Çalışma Gruplarına Göre CA1'deki GFAP (+) Astrosit Sayıları

Çalışma grupları arasında CA1'deki GFAP (+) astrosit sayıları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır ($p<0,05$). Yapılan ikili karşılaştırmalar sonucu anlamlı farkın “Kontrol” grubu ile “Status Epileptikus” ve “Status Epileptikus + Minosiklin” grupları arasında olduğu görülmüştür. “Status Epileptikus” ve “Status Epileptikus + Minosiklin” gruplarının CA1'deki GFAP (+) astrosit sayısı kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. (Şekil 14)



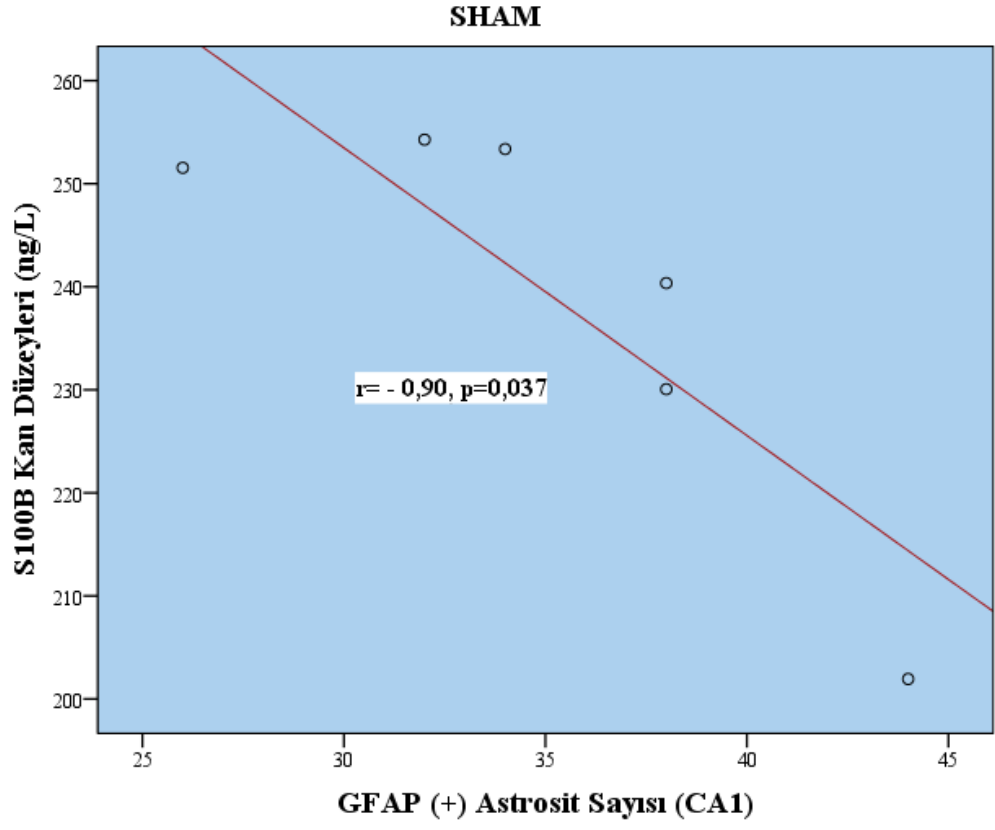
Şekil 14. Çalışma Gruplarına Göre CA1' deki GFAP (+) Astrosit Sayıları

*Kontrol grubu ile “SE” ve “SE+Minosiklin” grubu arasındaki fark, $p=0,007$.

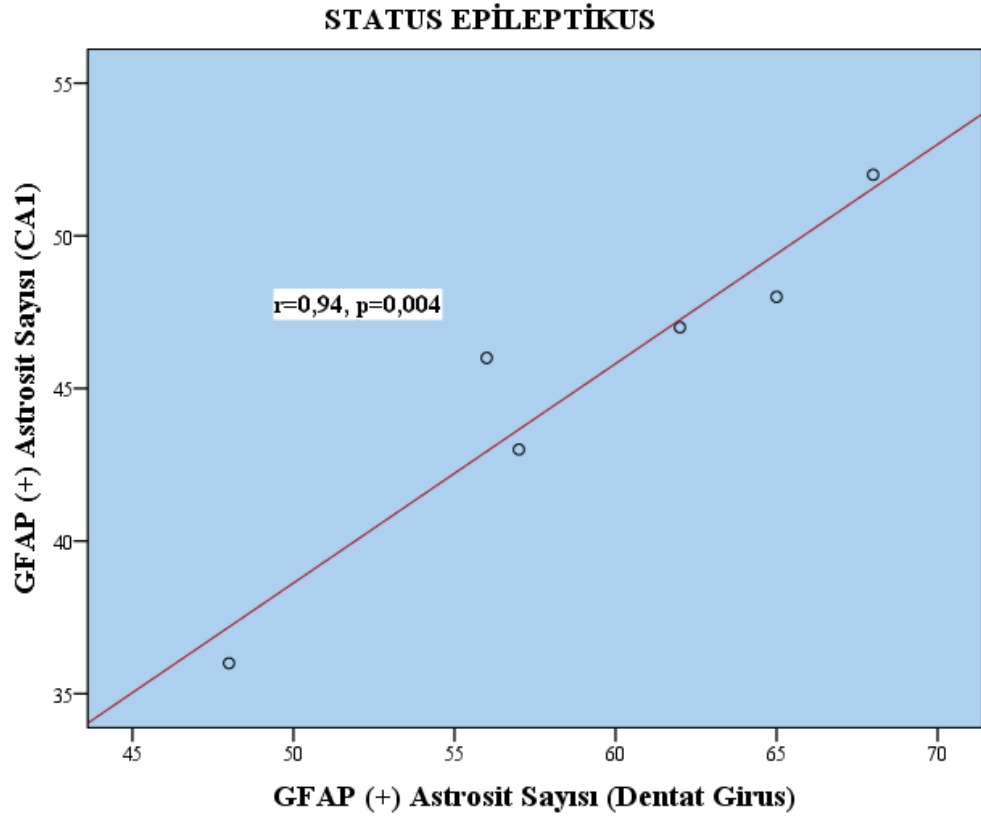
4.1.6. Her Bir Çalışma Grubunun Kendi İçinde OX42 (+) ve GFAP (+) Hücre Sayılarının Kan S100B Düzeyleri ile Arasındaki Korelasyonun Araştırılması

Yapılan değerlendirmede “Sham” grubunda CA1’deki GFAP (+) astrosit sayısı ile kandaki S100B düzeyi arasındaki negatif yönde istatistiksel olarak anlamlı, çok yüksek düzeyde korelasyon saptanmıştır. (Şekil 15, Tablo 6)

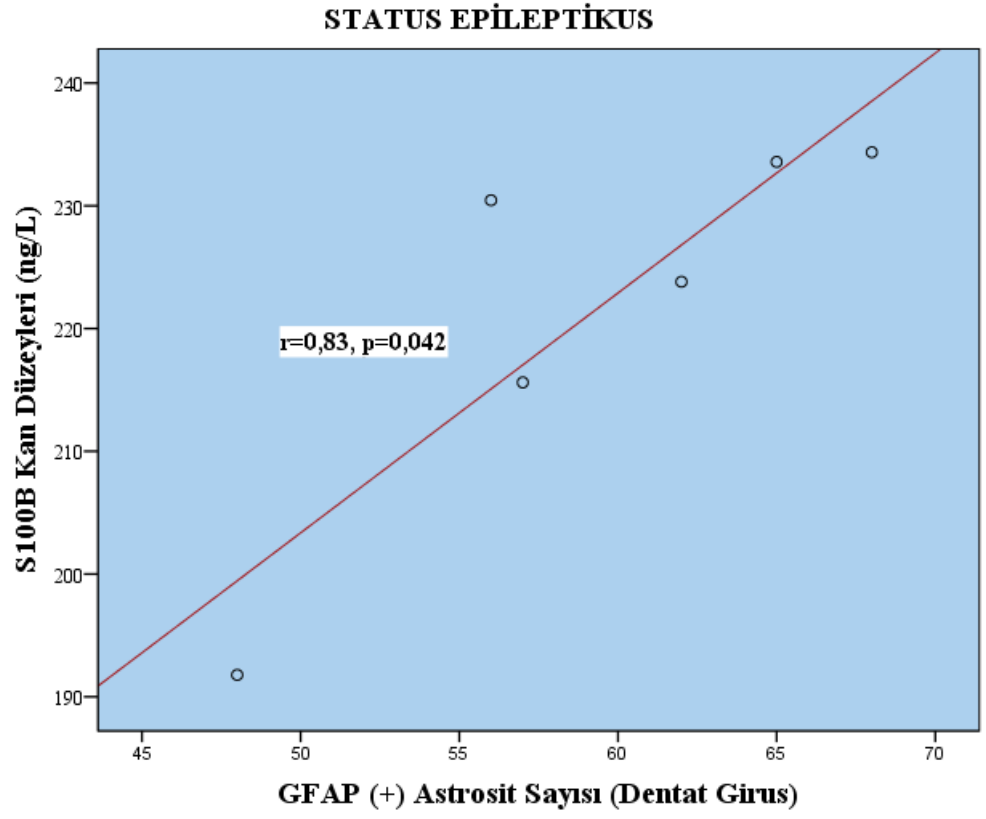
Diğer pozitif yönde, istatistiksel olarak anlamlı, yüksek düzeyde korelasyonlar “Status Epileptikus” grubunda CA1’deki GFAP (+) astrosit sayısı ile DG’deki GFAP (+) astrosit sayısı arasında, S100B kan düzeyleri ile CA1’deki ve DG’deki GFAP (+) astrosit sayıları ve CA1’deki OX42 (+) mikrogliya sayısı arasında bulunmuştur. (Şekil 16,17,18,19 ve Tablo 7)



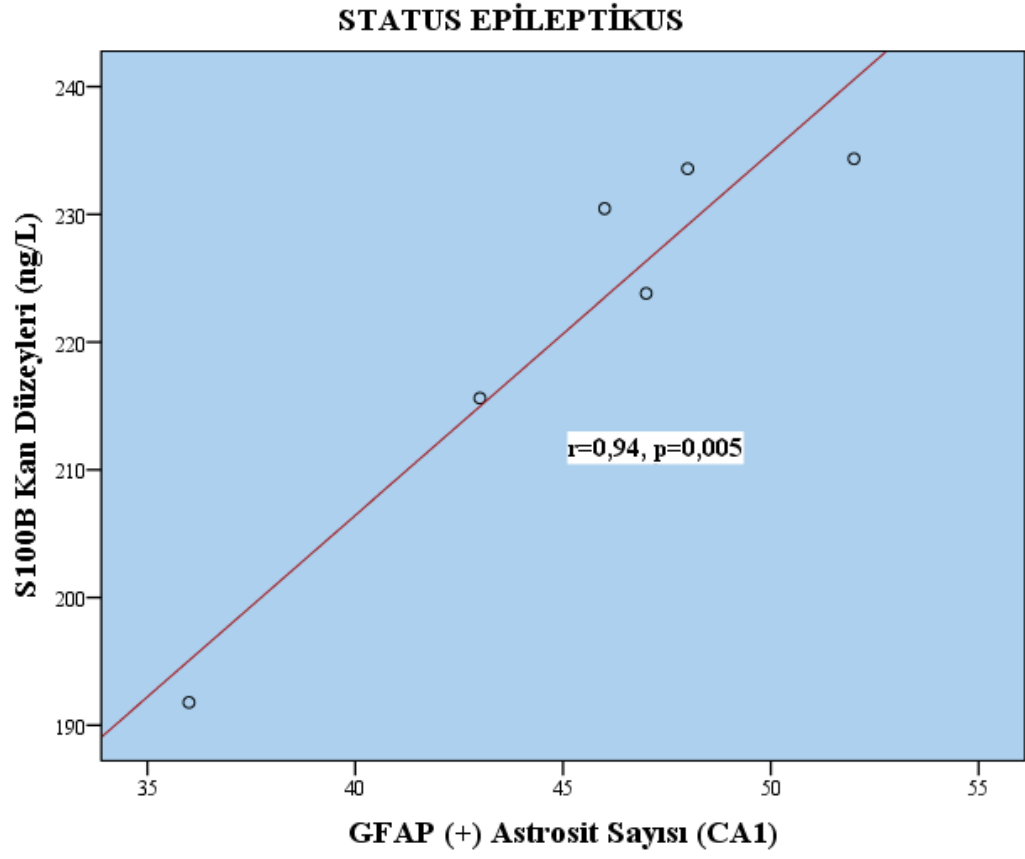
Şekil 15. Sham” Grubunda CA1’deki GFAP (+) Astrosit Sayısı ile Kandaki S100B Düzeyi Arasındaki Korelasyon



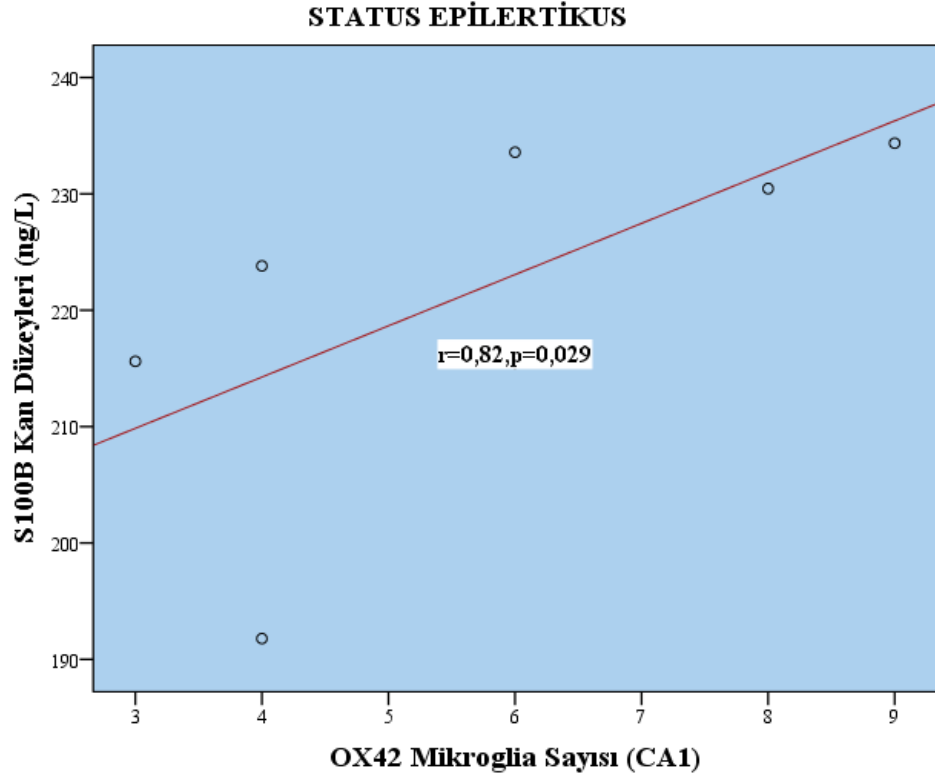
Şekil 16. “Status Epileptikus” Grubunda CA1’deki GFAP (+) Astrosit Sayısı ile DG’deki GFAP (+) Astrosit Sayısı Arasındaki Korelasyon



Şekil 17. “Status Epileptikus” Grubunda S100B Kan Düzeyleri ile DG’deki GFAP (+) Astrosit Sayısı Arasındaki Korelasyon



Şekil 18. “Status Epileptikus” Grubunda S100B Kan Düzeyleri ile CA1’deki GFAP (+) Astrosit Sayısı Arasındaki Korelasyon



Şekil 19. “Status Epileptikus” Grubunda S100B Kan Düzeyleri ile CA1’deki OX42 (+) Mikroglia Sayısı Arasındaki Korelasyon

Çalışma grupları arasında CA1’de OX42 (+) mikroglia sayısı, DG’de ve CA1’de GFAP (+) astrosit sayısı ve kandaki S100B düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. Yapılan post-hoc ikili karşılaştırmalar sonucu CA1’de OX42 (+) mikroglia sayısındaki ve DG’de GFAP (+) astrosit sayısındaki anlamlı farkların kontrol grubuyla SE grubu arasında, CA1’de GFAP (+) astrosit sayısındaki anlamlı farkın kontrol grubuyla SE+Minosiklin grubu arasında, kandaki S100B düzeyleri arasındaki anlamlı farkın ise kontrol grubuyla SE ve SE+Minosiklin grupları arasında olduğu görülmüştür. Kontrol grubundaki CA1’de OX42 (+) mikroglia sayısı ve DG’de GFAP (+) astrosit sayısı SE grubundan, CA1’de GFAP (+) astrosit sayısı SE+Minosiklin grubundan, kandaki

S100B düzeyleri ise SE ve SE+Minosiklin gruplarından anlamlı olarak daha düşüktür. (Tablo 4)

Tablo 4. Çalışma Gruplarına Göre Dentat Girus ve CA1'deki GFAP(+) ve OX42 (+) Hücre Sayısının ve Kandaki S100B Değerlerinin Dağılımı

	KONTROL	SHAM	STATUS EPİLEPTİKUS	S. EPİLEPTİKUS +MİNOSİKLİN	p*
	Ortanca (min-maks)	Ortanca (min- maks)	Ortanca (min-maks)	Ortanca (min-maks)	
GFAP (+) DG	47 (38-52)	43 (34-55)	59,5 (48-68) ^a	60,5 (53-64)	0,007
GFAP (+) CA1	33,5 (36-44)	34 (26-44)	46,5 (36-52)	56 (38-68) ^a	0,012
OX42 (+) DG	4,5 (3-6)	3 (2-4)	5 (2-7)	4,5 (2-6)	0,277
OX42 (+) CA1	2 (1-4)	2 (1-4)	4,5 (3-6) ^a	6 (3-10)	0,012
S100B (ng/L)	104,6 (62,5-200,0)	215,4 (201,9- 234,3)	227,1 ^a (191,8-234,4)	219,3 ^a (208,2-236,7)	0,008

*Kruskal-Wallis testi uygulanmıştır

^aPost-Hoc ikili karşılaştırmada “Kontrol” grubuyla istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır

Tablo 5. Kontrol Grubunda DG ve CA1’de GFAP (+), OX42 (+) Hücreler ve Kan S100B Düzeyleri Arasındaki Korelasyon

KONTROL		GFAP (+)	GFAP (+)	OX42 (+)	OX42 (+)	S100B
		DG	CA1	DG	CA1	
GFAP (+)	r	1,000				
DG	p	-----				
GFAP (+)	r	0,257	1,000			
CA1	p	0,623	-----			
OX42 (+)	r	-0,559	-0,088	1,000		
DG	p	0,249	0,868	-----		
OX42 (+)	r	0,441	0,235	-0,121	1,000	
CA1	p	0,381	0,653	0,819	-----	
S100B	r	-0,771	-0,714	0,118	-0,412	1,000
	p	0,072	0,111	0,824	0,417	-----
*r: Spearman korelasyon katsayısı						

Tablo 6. Sham Grubunda DG ve CA1’de GFAP (+), OX42 (+) Hücreler ve Kan S100B Düzeyleri Arasındaki Korelasyon

SHAM		GFAP (+)	GFAP (+)	OX42 (+)	OX42 (+)	S100B
		DG	CA1	DG	CA1	
GFAP (+) DG	r	1,000				
	p	-----				
GFAP (+) CA1	r	0,200	1,000			
	p	0,747	-----			
OX42 (+) DG	r	0,001	0,474	1,000		
	p	0,998	0,420	-----		
OX42 (+) CA1	r	0,205	-0,359	-0,162	1,000	
	p	0,741	0,553	0,794	-----	
S100B	r	-0,100	-0,900	-0,158	0,103	1,000
	p	0,873	0,037	0,800	0,870	-----
*S100B değişkeninde denek sayısı 5, diğer bütün gruplarda 6’dır.						
**r: Spearman korelasyon katsayısı						

Tablo 7. Status Epileptikus Grubunda DG ve CA1’de GFAP (+), OX42 (+) Hücreler ve Kan S100B Düzeyleri Arasındaki Korelasyon

STATUS		GFAP (+)	GFAP (+)	OX42 (+)	OX42 (+)	S100B
EPİLEPTİKUS		DG	CA1	DG	CA1	
GFAP (+)	r	1,000				
DG	p	-----				
GFAP (+)	r	0,941	1,000			
CA1	p	0,004	-----			
OX42 (+)	r	0,696	0,609	1,000		
DG	p	0,125	0,200	-----		
OX42 (+)	r	-0,677	-0,471	-0,806	1,000	
CA1	p	0,140	0,346	0,053	-----	
S100B	r	0,829	0,943	0,667	0,823	1,000
	p	0,042	0,005	0,148	0,029	-----
*r: Spearman korelasyon katsıysı						

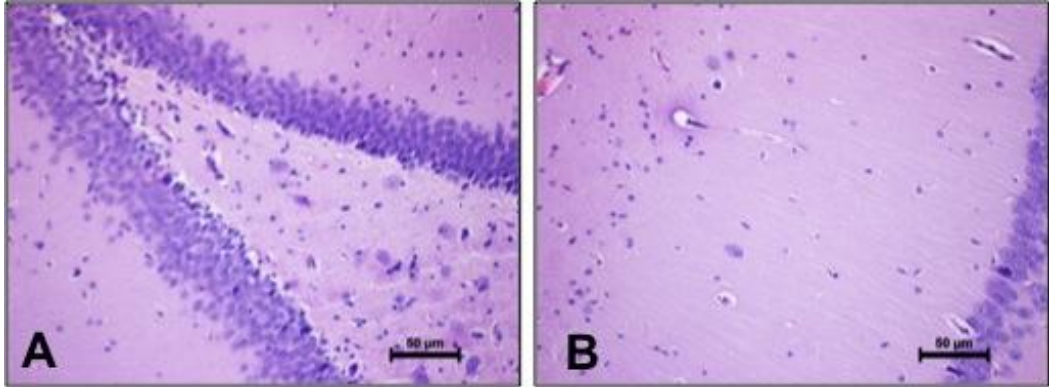
Tablo 8. Status Epileptikus + Minosiklin Grubunda DG ve CA1’de GFAP (+), OX42 (+) Hücreler ve Kan S100B Düzeyleri Arasındaki Korelasyon

S.EPİLEPTİKUS + MİNOSİKLİN		GFAP (+) DG	GFAP (+) CA1	OX42 (+) DG	OX42 (+) CA1	S100B
GFAP (+)	r	1,000				
DG	p	-----				
GFAP (+)	r	-0,200	1,000			
CA1	p	0,800	-----			
OX42 (+)	r	0,001	-0,400	1,000		
DG	p	0,998	0,600	-----		
OX42 (+)	r	-0,001	0,200	0,001	1,000	
CA1	p	0,998	0,800	0,998	-----	
S100B	r	0,400	-0,800	-0,200	-0,400	1,000
	p	0,600	0,200	0,800	0,600	-----
*r: Spearman korelasyon katsayısı						

4.2. İmmünohistokimyasal Bulgular

4.2.2. KONTROL GRUBU:

Kontrol grubu hipokampus örneklerinde dentat girus bölgesinde yer alan nöronların çoğu normal görünümlü olmakla birlikte aralarında az sayıda kondanse görünümlü bazofilik sitoplazmalı piknotik nöron vardı. Dentat girus bölgesinde nöronlara komşu bazı bölgelerde ödeme bağlı hafif açılmalar olduğu dikkati çekti. CA1 bölgesinde piknotik nöron çok nadirdi, nöronlar sağlıklıydı. CA1 bölgesinde daha belirgin olmak üzere hem dentat girus hem de CA1 bölgesinde damar çevrelerinde ödem izlendi.



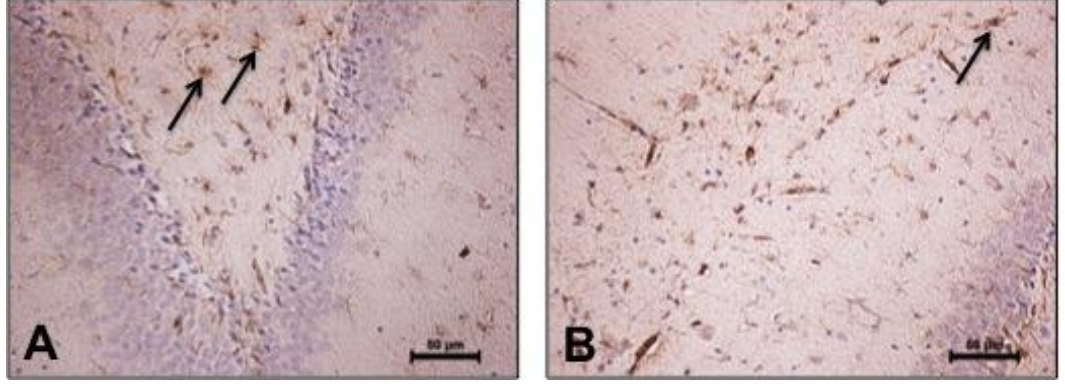
Şekil 20. Kontrol grubu;

A: Dentat girus bölgesinde sağlıklı nöronların arasında az sayıda bazofilik, kondanse piknotik nöron ve ödeme bağlı açılmalar,

B: CA1 bölgesinde sağlıklı nöronlar ve damar çevrelerinde ödem. (Hematoksilen-Eozin AX200, BX200).

Kontrol grubu hipokampus örneklerinin hepsinde hipokampusun tüm bölgelerinde astrositlerin güçlü GFAP immunoreaktivitesi gösterdiği görüldü. İmmunoreaktif astrositler özellikle dentat girus bölgesinde daha çok sayıdaydı. CA1 bölgesinde daha az sayıda GFAP (+) astrosit izlendi. Bu bölgede GFAP (+)

astrositler yoğun olarak nöron topluluğu ile piamater arasında bir hat oluşturuyordu.

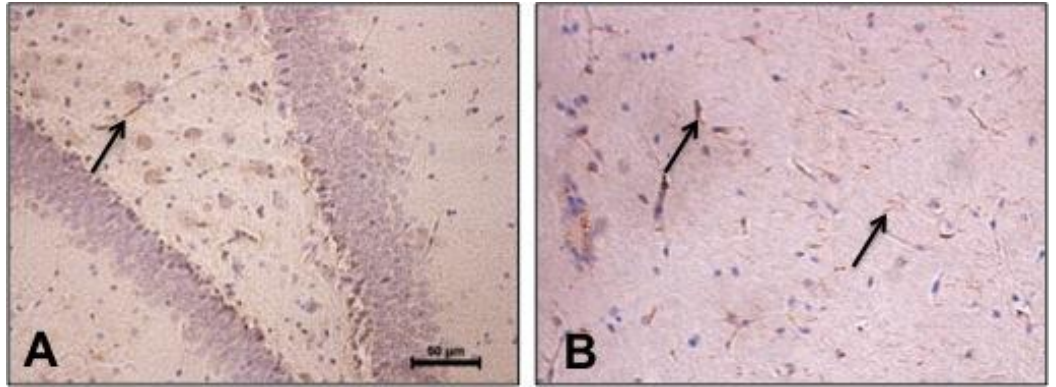


Şekil 21. Kontrol grubu GFAP;

A: Dentat girusta GFAP (+) astrositler.

B: CA1 bölgesinde güçlü GFAP immunoreaktivitesi gösteren astrositler. (HRP/ABC–Hematoksilen AX200, BX200).

Dentat girus ve CA1 bölgesinde az sayıda hücrede zayıf OX42 immunoreaktivitesi vardı.



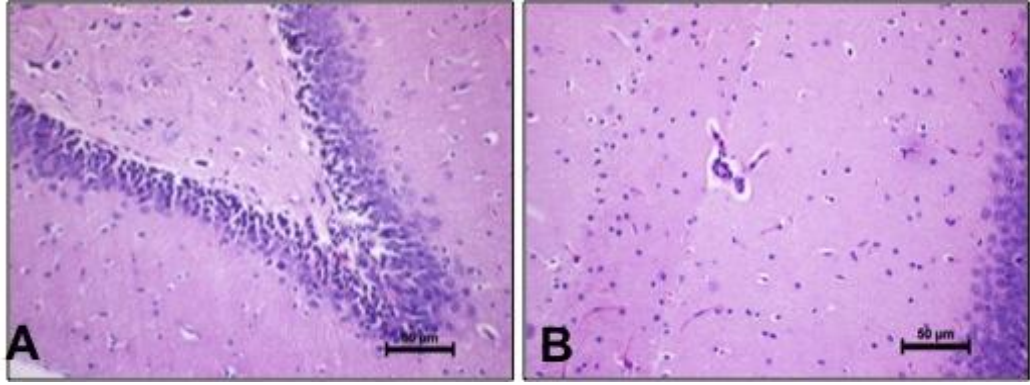
Şekil 22. Kontrol grubu OX42;

A: Dentat girusta mikrogliyalarda zayıf OX42 immunoreaktivitesi.

B: CA 1 bölgesinde zayıf OX42 immunoreaktivitesine sahip mikrogliyal. (HRP/ABC–Hematoksilen AX200, BX200).

4.2.3. SHAM GRUBU:

Sham grubu örneklerinde dentat girus bölgesinde nöron topluluğu bazalinde yer yer ödeme bağlı açılmaları dikkati çekti. CA1 bölgesinde kan damarlarının çevresinde hafif ödem vardı. CA1 bölgesinde az sayıda piknotik görünümlü nöron izlenirken dentat girus bölgesinde daha çok sayıda piknotik görünümlü nöron dikkati çekti.

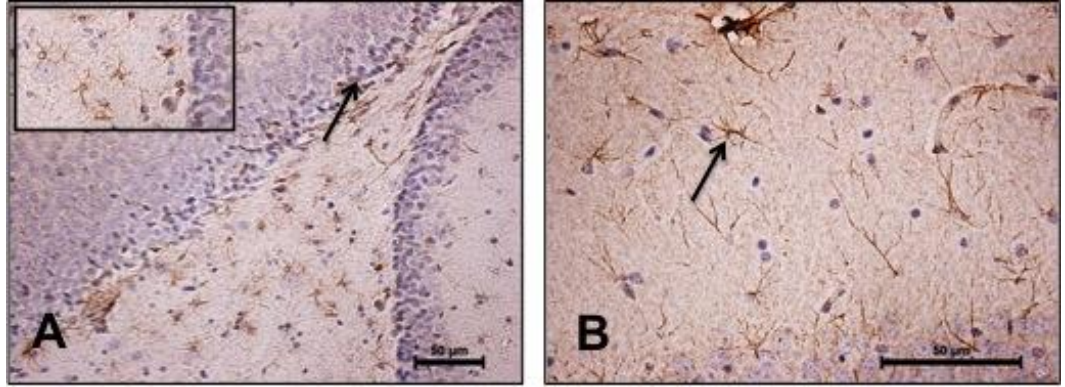


Şekil 23. Sham grubu;

A: Dentat girusta nöron topluluğu bazalinde ödem,

B: CA1 bölgesinde damar çevresinde hafif ödem (Hematoksilen-Eozin, AX200, BX200).

Hipokampusün tüm alanlarında kontrol grubuna benzer şekilde güçlü GFAP immunoreaktivitesi gösteren astrositler vardı. Dentat girus bölgesinde GFAP (+) astrositler kısa künt uzantılıydı, CA1 bölgesinde ise GFAP (+) astrositler kontrol grubundaki yerleşimlerine benzer bir dağılım gösteriyordu.



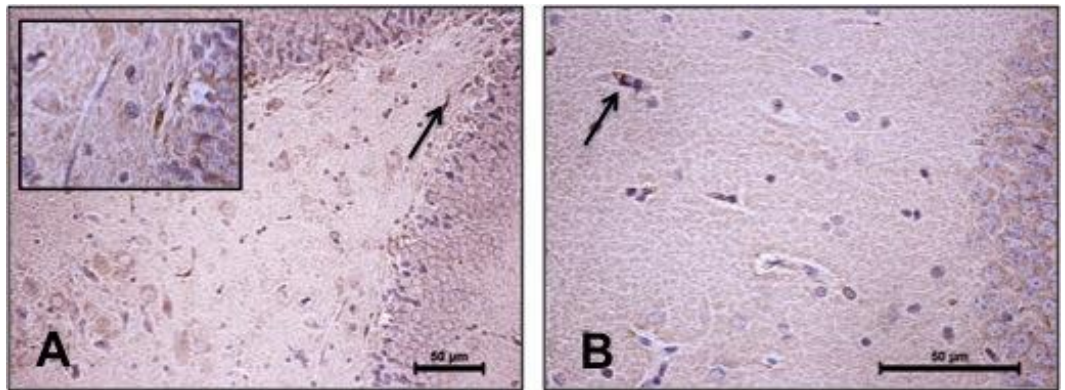
Şekil 24. Sham grubu GFAP;

A: Dentat girus bölgesinde kısa künt uzantılı GFAP (+) astrositler,

B: CA1 bölgesinde güçlü GFAP immunoreaktivitesi gösteren astrositler.

(HRP/ABC–Hematoksilen, AX200, A inset:X400, BX400).

Sham grubunda hem dentat girus bölgesinde hem de CA1’de az sayıda mikrogliya OX 42 immunoreaktivitesi gözlemlendi. Dentat girusta ve CA1’de OX42 immunoreaktif hücreler kontrol grubuna benzer dağılım gösteriyordu.



Şekil 25. Sham grubu OX42;

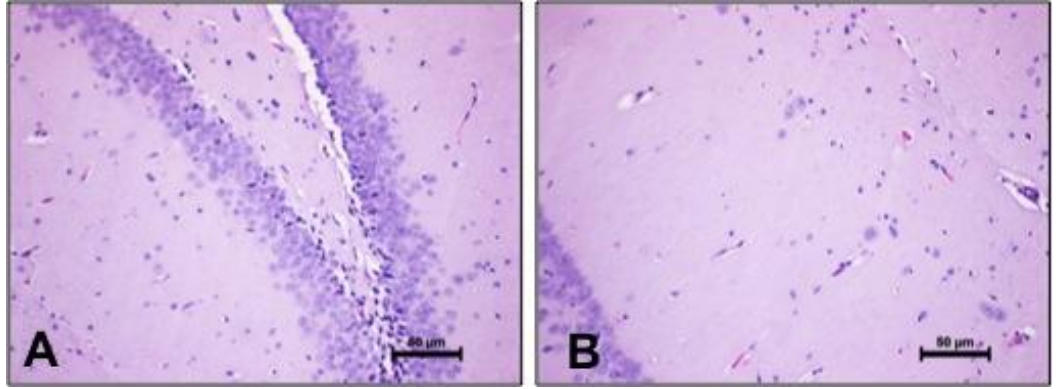
A: Dentat girusta OX42 immunoreaktif mikrogliyalar.

B: CA1 bölgesinde damar komşuluğunda OX42 immunoreaktif mikrogliyalar.

(HRP/ABC–Hematoksilen, AX200, inset:X400, BX200).

4.2.4. EPİLEPSİ GRUBU:

Epilepsi grubu örneklerinin tümünde dentat girusta sağlıklı nöronların arasında dağılmış kontrol ve sham grubundakilere oranla daha fazla sayıda piknotik nöron vardı. CA1 bölgesinde çok az sayıda piknotik nöron dikkati çekti. Dentat girus ve CA1 bölgeleri dışında hipokampusun diğer alanlarında da damar çevrelerinde belirgin ödem ve ödeme bağlı açılmalar izlendi.



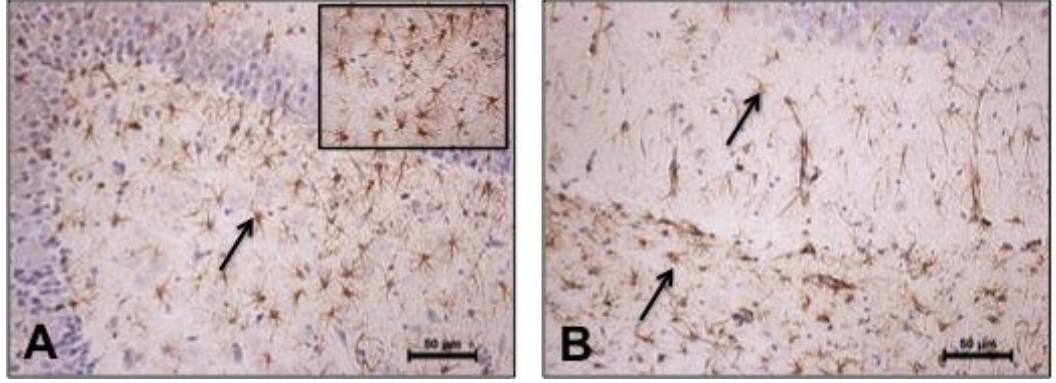
Şekil 26. Epilepsi grubu;

A: Dentat girus bölgesinde normal görünümlü nöronların arasında çok sayıda piknotik nöronlar,

B: CA1 bölgesinde damar çevresinde belirgin ödem sağlıklı nöronlar arasında çok az sayıda piknotik nöron. (Hematoksilen-Eozin, AX200, BX200).

Hem dentat girus hem de CA1 bölgelerinde yer alan astrositlerde çok güçlü GFAP immunoreaktivitesi vardı. Dentat girusta GFAP (+) astrositler özellikle girusun uç kısmında yoğunlaşmışlardı. Kontrol ve sham grubu astrositleri ile karşılaştırıldıklarında epilepsi grubunda immunoreaktif astrositlerin uzun uzantılarla birbirleriyle bağlanmış oldukları dikkati çekti. CA1 bölgesinde GFAP (+) astrositler kontrol ve sham grubu benzeri nöron topluluğu ile piamater

arasında bir hat şeklinde dizilmiş dağılım gösteriyorlardı. CA1 bölgesinin diğer alanlarında ise daha az sayıda GFAP (+) astrosit bulunuyordu.

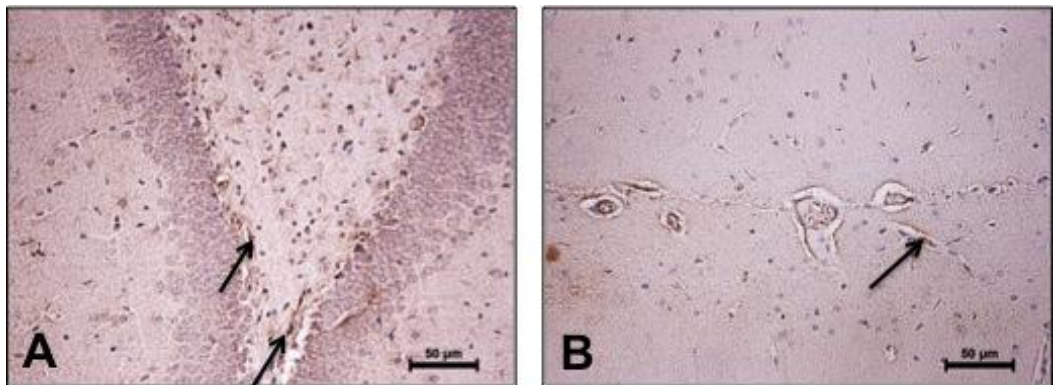


Şekil 27. Epilepsi grubu GFAP;

A: Dentat girusta uzun uzantılı güçlü GFAP immunoreaktivitesi gösteren astrositler, inset: GFAP (+) astrosit büyük büyütmesi

B: CA1 bölgesinde hat şeklinde yoğun ve diğer alanlarda seyrek yerleşimli GFAP (+) astrositler (HRP/ABC–Hematoksilen, AX200, inset:X400, BX200).

Epilepsi grubundaki örneklerin hepsinde dentat girus ve CA1 bölgelerinde mikroglialarda zayıf OX42 immunoreaktivitesi görüldü. Her iki bölgede de zayıf immunoreaktivite gösteren mikrogliaların sayısının az olduğu dikkati çekerken bu mikrogliaların damar çevrelerine yakın yerleşimli mikroglialar oldukları görüldü.



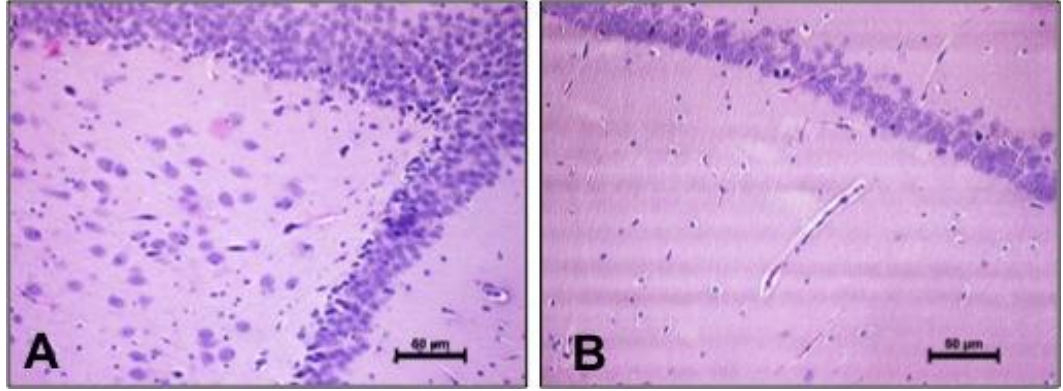
Şekil 28. Epilepsi grubu OX42;

A: Dentat girusta zayıf OX42 immunoreaktivitesi gösteren mikrogliyal,

B: CA1 bölgesinde damarlara yakın yerleşimli zayıf OX42 immunoreaktivitesi gösteren mikrogliyal. (HRP/ABC–Hematoksilen, AX200, BX200).

4.2.5. MİNOSİKLİN GRUBU:

Minosiklin grubu hipokampus örneklerinin tümünde dentat girus bölgesinde özellikle uç kısımda daha yoğun olmakla birlikte tüm girus boyunca nöron topluluğu bazalinde sağlıklı nöronların arasında bazofilik görünümlü piknotik nöronlar vardı. CA1 bölgesinde ise çok az sayıda piknotik nöron sağlıklı nöronların aralarında dağılmıştı. Dentat girus bölgesinde ve CA1 bölgesinde bazı damar çevrelerinde minimal ödem vardı.



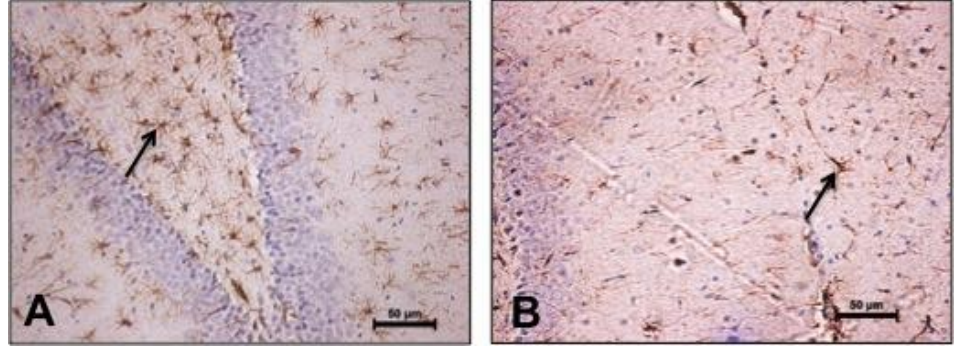
Şekil 29. Minosiklin grubu;

A: Dentat girusta sağlıklı ve piknotik görünümlü nöronlar,

B: CA1 bölgesinde sağlıklı nöronlar arasında az sayıda piknotik nöron ve bazı damar çevrelerinde minimal ödem. (Hematoksilen-Eozin, AX200, BX200).

Hem dentat girus hem de CA1 bölgelerinde epilepsi grubuna göre daha az sayıda ancak kontrol ve sham gruplarından daha fazla sayıda GFAP(+) astrosit izlendi. GFAP (+) astrositler epilepsi grubundakilere benzer şekilde uzun

uzantılara sahipti. Dentat girus uç kısımlarında daha yoğun olarak yerleşim gösteriyorlardı. CA1 bölgesinde ise çok sayıda GFAP immunoreaktif astrositler her alanda izlendi.

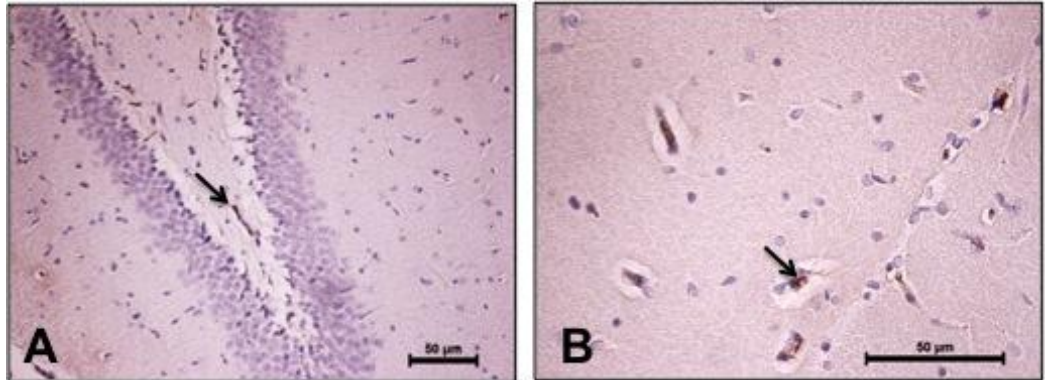


Şekil 30. Minosiklin grubu GFAP;

A: Dentat girus uç kısmında GFAP (+) astrositler,

B: CA1 bölgesinde GFAP (+) astrosit dağılımı (HRP/ABC-Hematoksilen, AX200, BX200).

Minosiklin grubunda kontrol ve sham gruplarına benzer şekilde epilepsi grubundan daha az sayıda OX42 (+) mikroglialar dentat girus ve CA1 bölgelerinde izlendi. Her iki bölgede de immunoreaktif mikroglialar özellikle damar komşuluğunda seçildi.



Minosiklin grubu OX42; A: Dentat girusta immunoreaktif mikroglialar, B: Damarlara yakın yerleşimli immunoreaktif mikroglialar CA1 bölgesinde (HRP/ABC–Hematoksilen, AX200, BX200).

5. TARTIŞMA

Epilepside, status epileptikus veya tek bir nöbet sırasında ortaya çıkan nöronal eksitotoksiste hipokampus ve korteks gibi yapılarda inflamatuvar hasara yol açar (96). Nöbetler, nöroinflamasyonun bir göstergesi olan mikrogliyal aktivasyonu tetiklemektedir (97). Mikrogliyal aktivasyon ve proliferasyonun aşırı olması ise nöronal hücre ölümüne, disfonksiyona ve anormal nörotransmisyonu neden olabileceği gibi yeni nöbet oluşumunu da tetiklemekte ve hatta sonraki nöbetlere karşı duyarlılığı artırmaktadır (98). OX-42, mikrogliyaların CD11b'lerine karşı oluşan bir antikordur (94). Bu antikorlar kompleman 3 reseptörünün ekspresyonundaki “upregülasyonu” tespit etmekle birlikte mikrogliyalardaki nöroimmünolojik yanıtı gösterirler (95).

Nöbet sonrası hipokampal dokuda meydana gelen astroglial değişikliklerin ise nörodavranışsal ve kognitif bozukluklara yol açabileceği gösterilmiştir (99). Bu nedenle, nöbetler tarafından indüklenen nöroinflamasyon hem hastalığın fizyopatolojisi hem de epileptik hastalarda mevcut olan ko-morbid durumların ortaya çıkmasında büyük önem taşımaktadır. Astroglialara özgü Tip III ara filament proteini olan GFAP astrositin şekil ve mekanik dayanıklılığını sağlar(88). Fokal beyin hasarının uzun süreli izlemi ve prognoz tayininde GFAP önemli rol oynar (92). Güncel literatürde serum GFAP düzeyinin epilepside de yükseldiğini rapor eden çalışmalar mevcuttur (53,93).

İnflamatuvar olayların sadece deneysel nöbet ve epilepsi modellerinde değil aynı zamanda epileptik hastalarda da ortaya çıktığı gösterilmiştir (97). Fizyopatolojide bu kadar önemli rol oynayan nöroinflamatuvar değişikliklerin,

kan plazmasına geçebilen belirteçlerle belirlenmesi hem tanı koyma hem de hastalığın progresyonunun ve tedaviye cevabın takibinde önemli avantajlar sağlayacaktır.

S100B bir sitokindir ve astrositlerden ekstraselüler ortama salıverilir (126). Astrosit proliferasyonu ile nöronal farklılaşma ve apoptozis üzerine etkili olduğu gösterilmiştir (127). Ayrıca, ekstraselüler ortama salıverildikten sonra santral sinir sisteminde RAGE (receptor for advanced glycation end product) aracılığı ile inflamatuvar cevabı tetiklemektedir (128). S100B düzeyinin, psikiyatrik hastalıklar, travmatik beyin hasarları, serebrovasküler patolojiler ve nörodejeneratif hastalıklarda anlamlı olarak yükseldiği rapor edilmiştir (107, 108, 109). Nörobilim çalışmaları yaygınlaştıkça S100B proteinin fizyolojik ve patolojik durumlar ile ilgili güvenilir ve erken dönemde beliren bir belirteç olabileceği ortaya çıkmıştır (104, 105, 106). S100B düzeylerinin normal bulunması ise SSS'ne ait majör bir patolojiyi güvenilir bir şekilde elimine etmektedir (110).

Epileptik nöbetlerde de S100B düzeyinde artış olduğu gösterilmiştir (129). Ancak, S100B düzeyi ile nöbet fizyopatolojisinde rol oynadığı bilinen nöroinflamatuvar cevap arasındaki olası bir korelasyon bugüne kadar hiç incelenmemiştir. Mikroglia ve astrosit aktivasyonu ile S100B düzeyi arasındaki ilişki ilk kez bu çalışmada araştırılmıştır.

Bu çalışmada, S100B düzeylerinin SE ve SE+Minosiklin gruplarında Kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur. Status epileptikus sırasında aşırı glutamat deşarjına bağlı olarak belirgin bir

eksitotoksisite meydana geldiği bilinmektedir (15). Diğer yandan, sinaptik aralıkta artan glutamat konsantrasyonunun metabotropik glutamat reseptörleri-3 (mGluR3) aracılığı ile S100B düzeyini artırdığı gösterilmiştir (130). Ayrıca, temporal lob epilepsisi olan hastaların hipokampuslarında mGlu2 ve 3 reseptörlerinde ekspresyon artışı mevcuttur (131). Bu nedenle, serum S100B düzeyindeki artışın ekstraselüler ortamda glutamat düzeyindeki artışı ve aynı zamanda eksitotoksisteyi yansıttığını söylemek mümkündür. Burada, SE grubunda görülen S100B düzeyindeki artış bahsedilen bulgular ile uyumludur ve oluşan eksitotoksisteden kaynaklanmaktadır. Bu görüşü destekler şekilde, epileptik nöbetlerde de S100B artışının meydana geldiği bazı çalışmalarda da gösterilmiştir (103, 111)

Patolojik süreçlerle ilişkili olduğu bilinmesine rağmen, S100B'nin inflamatuvar süreçler ile bağlantısı bugüne kadar hiç araştırılmamıştır. Bu çalışmada, S100B ile hipokampusun DG ve CA1 bölgelerindeki mikroglia ve astrosit aktivasyonu arasındaki ilişki ilk kez araştırılmıştır. DG'da yapılan incelemelerde, OX42 (+) mikrogliaların sayısı deney grupları arasında farklı bulunmamıştır. Bu bulgu, nöbetlerce indüklenen mikroglia aktivasyonuna hipokampusun bu bölgesinin iştirak etmediğini telkin etmektedir. Bu görüşü destekler şekilde DG'taki OX 42(+) mikroglia sayısı ile serum S100B düzeyleri arasında da bir korelasyon bulunamamıştır.

Hipokampusun CA1 bölgesinde yapılan incelemelerde ise SE ve SE+ Minosiklin grubunda OX 42(+) mikroglia sayısı kontrol değerlerinden anlamlı biçimde yüksektir. Ayrıca, bu bölgedeki OX 42 (+) hücre sayıları ile serum

S100B düzeyleri arasında % 82 oranında (+) korelasyon mevcuttur. Bu bulguya dayanarak, serum S100B düzeylerinin CA1 deki mikroglia aktivasyonunu yansıttığını söylemek mümkündür.

DG ve CA1'deki GFAP (+) hücre sayıları değerlendirildiğinde, sadece SE + Minosiklin grubunda kontrol değerlerine göre anlamlı yükseklik tesbit edilmiştir. SE grubunda ise kontrole göre fark bulunmamıştır. Ancak, SE grubunda DG ve CA1'de GFAP (+) hücre sayıları arasında % 94 oranında pozitif korelasyon mevcuttur. Ayrıca, DG ve CA1'deki GFAP (+) hücrelerin sayısı ile serum S100B düzeyleri arasında belirgin pozitif korelasyon söz konusudur (sırasıyla % 83 ve % 94). Bu sonuçlara dayanarak, DG ve CA1'deki GFAP (+) hücrelerde, kontrol değerlerinden anlamlı olarak farklı olmasa da, bir artış meydana gelmektedir. Daha da önemlisi, bu bulgular, hem DG hem de CA1'de meydana gelen astrosit aktivasyonunun artmış olan S100B düzeyi ile ilişkili olduğunu göstermektedir.

Yukarıda bahsedilen bulgulara göre, serum S100B düzeyleri ile CA1'deki OX 42(+) ve CA1 ile DG'daki GFAP (+) hücre sayısı arasında belirgin pozitif korelasyon vardır. Buna göre, serum S100B düzeyi, CA1'deki mikroglia aktivasyonu ile hem DG hem de CA1'deki astrosit aktivasyonunu yansıtmaktadır. Literatürde bu ilişkiyi gösteren ve S100B düzeyi ile nöroinflamasyon bağlantısını araştıran hiçbir çalışma mevcut değildir. Bu nedenle, yapılan çalışma bu konuda bir ilk olma özelliğini taşımaktadır. Ayrıca, epileptik nöbetlerde nöroinflamasyonun fizyopatolojiye yaptığı katkının belirlenmesi ve tedavinin

takibinde yararlanılabilmesi açısından elde edilen bu bulgular bilime katkı sağlayacaktır.

Bu çalışmada, sadece nöbetler ile nöroinflamasyon ve S100B düzeyinin ilişkisi araştırılmamış, bazı patolojik durumlarda nöroprotektif olduğu gösterilmiş olan minosiklinin etkileri de değerlendirilmiştir (77,78). S100B düzeylerinde SE + Minosiklin grubunda kontrol değerlerine göre anlamlı yükseklik tesbit edilmiştir. Ancak bu değerler SE grubundan farklı değildir. DG'daki OX 42(+) hücre sayıları değerlendirildiğinde gruplar arasında bir fark bulunmamıştır. Ancak, CA1'deki OX 42(+) hücre sayısı "SE + Minosiklin" grubunda kontrollere göre yüksektir. Bu bulgu, minosiklinin CA1'deki mikroglia aktivasyonu üzerinde inhibitör bir etki sergilemediğini ortaya koymaktadır. Ancak, GFAP (+) hücre sayıları değerlendirildiğinde, "SE + Minosiklin grubunda", minosiklinin DG ve CA1'deki astrositlerde inhibisyon değil aktivasyona yol açtığı meydana çıkmıştır. Kısacası minosiklin, SE indüklenmiş sıçanlarda CA1'de mikroglia, DG ve CA1'de de astrosit aktivasyonuna neden olmaktadır. Ancak bu aktive olan hücreler ile serum S100B düzeyleri arasında hem DG hem de CA1'de herhangi bir korelasyon mevcut değildir.

Normal koşullarda beyindeki ekstraselüler S100B konsantrasyonu nanomolar veya subnanomolar düzeydedir ve sitotoksik glutamatin astrositler tarafından "reuptake" ini artırır. Bu nedenle S100B beyin gelişimi ile beyin travmalarının başlangıç fazında nörotrofik ve nöroprotektif bir faktör olarak fonksiyon yapar (112, 113, 114). Ancak, S100B'nin ekstraselüler ortamda

birikmesi hem nöron hem de astrositlerde apoptozise neden olarak zararlı bir etki ortaya çıkarır (103,115).

S100B'nin nöroinflamasyon durumunda astrositlerdeki ekspresyonunda belirgin artış olduğu bulunmuştur (116). İnflamasyon sürecinde rol oynayan en önemli hücreler mikroglia ve astrositler olup, S100B bu hücrelerden TNF- α , IL-1 β , iNOS, IL-6 gibi inflamamatuvar moleküllerin sentezi ve salıverilmesine neden olur (115, 117). Ancak, ekstraselüler ortamda yüksek konsantrasyonda bulunan S100B'nin inflamatuvar cevapta artışa mı yoksa azalmaya mı neden olduğu açık değildir. Mikroglial ve astrositik aktivasyon yaparak SSS'deki dejenerasyon süreçlerinde rol oynayabileceği gibi trofik faktörlerin sentez ve salıverilmesini inhibe ederek de fizyopatolojik süreçlere katkıda bulunabilmektedir (111, 118). Her ne kadar S100B'nin fonksiyonları tam olarak bilinmese de, nöronal sağkalımı destekleyici bir fonksiyon yaptığına dair çalışmalar mevcuttur. Alzheimer, epilepsi ve şizofrenide koruyucu bir mekanizma olarak yükseldiği düşünülmektedir (241, 288,289). Bahsedilen çalışmalar ışığında, bu çalışmada da SE grubunda gözlenen S100B yüksekliğinin koruyucu bir mekanizma olarak ortaya çıktığı düşünülebilir. Bu görüşü destekler şekilde, S100B'nin glialar tarafından eksitotoksik hasar sonucu ortama salıverildiği ve koruyucu olarak glial reaktiviteyi tetiklediği iddia edilmiştir (120). “SE+Minosiklin” grubunda görülen CA1'deki mikroglia aktivasyonu ve DG ile CA1'de görülen astrosit aktivasyonuna S100B düzeylerindeki artışın eşlik etmesi minosiklinin koruyucu süreçlere katkı sağladığını düşündürmektedir. Ancak bu parametreler arasında bir korelasyonun mevcut olmaması, dokunun inflamatuvar kapasitesinin burada rol

oynayabileceğini akla getirmektedir. SE tarafından indüklenen inflamasyon ve S100B artışı zaten belli bir kapasiteye ulaştığından, minosiklin bu kapasite nedeni ile daha fazla artışa neden olmamış olabilir.

Minosiklinin mikrogliya ve astrositler üzerinde görülen aktive edici etki literatür ile uyuşmamaktadır (122, 82). Bu sonucu eldeki bilgiler ile bugün için açıklamak mümkün değildir. Ancak, histopatolojik bulguların aksine, “SE +Minosiklin” grubunda S100B düzeyinin yüksek olması bu kimyasalın olası nöroprotektif rolünü destekler niteliktedir. Ayrıca S100B düzeyindeki artışın, astrosit ve mikrogliya ile aktivasyonu ile uyumlu olduğu görülmüştür.

6. SONUÇ

Lityum-pilokarpin ile indüklenmiş nöbetler sonucunda sıçan hipokampusunun CA1 bölgesinde mikrogliya aktivasyonu oluşmakta, DG ve CA1 bölgesinde ise astrosit aktivasyonu meydana gelmektedir. Mikrogliya ve astrositlerde görülen aktivasyonun derecesini serum S100B düzeyi ile izlemek mümkün gözükmemektedir. Elde edilen sonuçlar, minosiklin uygulamasının, muhtemelen protektif etki oluşturmak üzere nöbetler sırasında yükselen S100B düzeyi yüksekliğinin sürmesini sağlayarak nöroprotektif etkiye katkıda bulunduğunu telkin etmektedir.

Bu çalışmadan elde edilen bulgular, S100B'nin nöbet fizyopatolojisinde yer alan nöroinflamatuvar süreçleri takip etmeye yarayabilecek bir biyobelirteç olabileceğini ilk kez ortaya çıkarmıştır. Bu nedenle serum S100B'nin izlenmesi tanı, progresyon ve gerek ilaç tedavisi gerekse cerrahi tedaviye cevabın takibinde önemli faydalar sağlayabilir. Ayrıca bu bulgular, S100B'nin minosiklin gibi nöroprotektif olduğu iddia edilen ilaçların etkili olup olmadığına dair bilgi sağlayabileceğine dair de ipuçları taşımaktadır.

7. KAYNAKLAR

1. Patel M. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress: cause and consequence of epileptic seizures. Free Radic Biol Med 2004; 37(12):1951-62
2. Boštjan Martinc, Iztok Grabnar, and Tomaž Vovk. The Role of Reactive Species in Epileptogenesis and Influence of Antiepileptic Drug Therapy on Oxidative Stress. Curr Neuropharmacol. Dec 2012; 10(4): 328–3432
3. Eşkazan E. Tarihte epilepsi ve epileptolojinin kısa tarihçesi. İbrahim Bora Epilepsi. İstanbul: Nobel tıp kitapevleri. 2008; 3-11
4. Saygı S. Epilepsi; Türk Nöroşirurji Derneği Temel Nöroşirurji 2. Cilt, 1.baskı, sayfa 286
5. Bambal G, Çakıl D, Ekici F. Epilepsi oluşum mekanizmaları. Konuralp Tıp Dergisi 2011;3(3) :42-45
6. Yeni S. Epilepsi Epidemiyolojisi Türkiye Klinikleri J Neurol-Special Topics 2008;1(2):9-16
7. Bora İ, Yeni S, Gürses C. Epilepsi insidansı, prevalansı, risk faktörleri. Epilepsi, 2008: 70-71
8. Engel J Jr. A proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizures and with epilepsiy: Report of the ILAE Task Force on Classification and Terminology. Epilepsia 2001;42(6):796-803
9. BAYKAN B., BEBEK N., GÜRSES C., GÖKYİĞİT A
(www.itfnoroloji.org/epilepsi/Epilepsi.htm)
10. DeLorenzo RJ, Hauser WA, Towne AR, Boggs JG, Pellock JM, Penberthy L, Garnett L, Fortner CA, Ko D. A prospective, population-based

epidemiologic study of status epilepticus in Richmond, Virginia. Neurology.

1996B Apr;46(4):1029-35

11. Hesdorffer DC, Loggins G, Cascino G, Annegers JF, Hauser WA.

Incidence of status epilepticus in Rochester, Minnesota, 1965-1984. Neurology.

1998 Mar;50(3):735-41

12. Adams RD, Victor NF, Popper AH. Epilepsy and other seizure

disorders; Principles of Neurology, International edition. McGraw Hill, 1997

pp313-343

13. Seher Okumuş. Serum oksidatif stres parametrelerinin epilepsi

hastalığı ile ilişkisi. Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Uzmanlık tezi. Diyarbakır

2014

14. KAYA M, Nöronal uyarılabilirliğin kontrolü: uyarıcı ve inhibe edici

sinaptik geçiş, Ks 2, Bl 2, Bora İ, Yeni SN, Gürses C (editörler), Epilepsi, Nobel

Tıp Kitabevleri, İstanbul, s.15-27, 2008

15. McNamara, J.O. Y.Z. Huang, and A.S. Leonard, Molecular signaling

mechanisms underlying epileptogenesis. Sci STKE, 2006. 2006(356): p. re12

16. Armijo, J.A., et al., [Advances in the pathophysiology of

epileptogenesis: molecular aspects]. Rev Neurol, 2002. 34(5): p. 409-29

17. Aroniadou-Anderjaska, V., et al., Pathology and pathophysiology of

the amygdala in epileptogenesis and epilepsy. Epilepsy Res, 2008. 78(2-3): p.

102-108

18. Engel J Jr; International League Against Epilepsy (ILAE). A

proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizures and with epilepsy:

report of the ILAE Task Force on Classification and Terminology. *Epilepsia*. 2001; 42:796-803

19. Epilepsi: Editörler; Bora İ, Yeni N Gürses C. Nobel Tıp Kitabevleri 2008, İstanbul

20. Sander JW., The use of antiepileptic drugs--principles and practice., *Epilepsia*, 45 Suppl 6:28-34, 2004

21. Rogawski M. A. Principles of antiepileptic drug action. In R. H. Levy, R. H. Mattson, B. S. Meldrum, & E. Perucca (Eds.) *Antiepileptic Drugs* (5th ed.). Philadelphia. Lippincott Williams & Wilkins. 2002:1-22

22. Erdoğan E, Gökçil Z. Epilepsi Cerrahisi. Temel Nöroşirürji Türk Nöroşirürji Derneği Ankara 2010, Bölüm:152 Sayfa: 2039-2060

23. Terry R, Tarver WB, Zabara J. An implantable neurocybernetic prothesis system. *Epilepsia* 31 (suppl 2) S 33-37, 1990

24. Rutecki P. Anatomical, physiological and the oretical basis for the antiepileptic efect of vagus nerve stimulation . *Epilepsia* 31 (suppl2) S1-6, 1990

25. Afifi A.K., Bergman R.A. *Functional Neuroanatomy Text and Atlas*. 2th Edition. 2005. Lange Medical Books/McGraw-Hill

26. Curia G, Longo D, Biagini G, Jones RS, Avoli M. The pilocarpine model of temporal lobe epilepsy. *J Neurosci Methods*. 2008 Jul 30;172(2):143-57. Epub 2008 Apr 26. Review

27. Löscher W. Animal models of epilepsy for the development of antiepileptogenic and disease-modifying drugs. A comparison of the

pharmacology of kindling and post-status epilepticus models of temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res.* 2002 Jun;50(1-2):105-23. Review

28. Prinz M, Mildner A. Microglia in the CNS: immigrants from another world. *Glia.* 2011;59(2):177-87.

29. Chan WY, Kohsaka S, Rezaie P. The origin and cell lineage of microglia: new concepts. *Brain Res Rev.* 2007;53(2):344-54

30. Monier A, Adle-Biassette H, Delezoide AL, Evrard P et al. Entry and distribution of microglial cells in human embryonic and fetal cerebral cortex. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2007;66(5):372-82

31. Streit WJ. Microglia and macrophages in the developing CNS. *Neurotoxicology.* 2001;22(5):619-24 / Bessis A, Béchade C, Bernard D, Roumier A. Microglial control of neuronal death and synaptic properties. *Glia.* 2007;55(3):233-8

32. Spindler K. R., Hsu T. H. (2012). Viral disruption of the blood-brain barrier. *Trends Microbiol.* 20, 282–290

33. Milligan CE, Cunningham TJ, Levitt P. Differential immunochemical markers reveal the normal distribution of brain macrophages and microglia in the developing rat brain. *J Comp Neurol.* 1991;314(1):125-35.

34. Pollard JW. Trophic macrophages in development and disease. *Nat Rev Immunol.* 2009;9(4):259-70

35. Bessis A, Béchade C, Bernard D, Roumier A. Microglial control of neuronal death and synaptic properties. *Glia.* 2007;55(3):233-8

36. Wake H, Moorhouse AJ, Jinno S, Kohsaka S ve ark. Resting microglia directly monitor the functional state of synapses in vivo and determine the fate of ischemic terminals. *J Neurosci.* 2009;29(13):3974-80
37. Cullheim S, Thams S. The microglial networks of the brain and their role in neuronal network plasticity after lesion. *Brain Res Rev.* 2007;55(1):89-96
38. Elkabes S, DiCicco-Bloom EM, Black IB Brain microglia/macrophages express neurotrophins that selectively regulate microglial proliferation and function. *J Neurosci.* 1996;16(8):2508-21
39. Lambertsen KL, Clausen BH, Babcock AA, Gregersen R ve ark. Microglia protect neurons against ischemia by synthesis of tumor necrosis factor. *J Neurosci.* 2009;29(5):1319-30
40. Lopes KO, Sparks DL, Streit WJ. Microglial dystrophy in the aged and Alzheimer's disease brain is associated with ferritin immunoreactivity. *Glia.* 2008;56(10):1048-60
41. López-Redondo F, Nakajima K, Honda S, Kohsaka S. Glutamate transporter GLT-1 is highly expressed in activated microglia following facial nerve axotomy. *Brain Res Mol Brain Res.* 2000;76(2):429-35
42. Neumann H, Kotter MR, Franklin RJ. Debris clearance by microglia: an essential link between degeneration and regeneration. *Brain.* 2009;132(Pt2):288-95
43. Streit WJ. Microglia as neuroprotective, immunocompetent cells of the CNS. *Glia.* 2002;40(2):133-9

44. Streit WJ. Microglial senescence: does the brain's immune system have an expiration date? *Trends Neurosci.* 2006;29(9):506-10
45. Yenari M. A., Xu L., Tang X. N., Qiao Y., Giffard R. G.(2006). Microglia potentiate damage to blood-brain barrier constituents: improvement by minocycline in vivo and in vitro. *Stroke* 37, 1087–1093. 10.1161/01
46. Fonseca AC, Matias D, Garcia C, Amaral R, Geraldo LH, Freitas C, Lima FR. The impact of microglial activation on blood-brain barrier in brain diseases. *Front Cell Neurosci.* 2014 Nov 3;8:362
47. Kadhim H. J., Duchateau J., Sébire G. (2008). Cytokines and brain injury: invited review. *J. Intensive Care Med.* 23, 236–249
48. Denes A., Thornton P., Rothwell N. J., Allan S. M. (2010). Inflammation and brain injury: acute cerebral ischaemia, peripheral and central inflammation. *Brain Behav. Immun.* 24, 708–723
49. Centonze D., Muzio L., Rossi S., Furlan R., Bernardi G., Martino G. (2010). The link between inflammation, synaptic transmission and neurodegeneration in multiple sclerosis. *Cell Death Differ.* 17, 1083–1091
50. Eikelenboom P., Veerhuis R., van Exel E., Hoozemans J. J., Rozemuller A. J., van Gool W. A. (2011). The early involvement of the innate immunity in the pathogenesis of late-onset Alzheimer's disease: neuropathological, epidemiological and genetic evidence. *Curr. Alzheimer Res.* 8, 142–150

51. Riazi K., Galic M. A., Kuzmiski J. B., Ho W., Sharkey K. A., Pittman Q. J. (2008). Microglial activation and TNF α production mediate altered CNS excitability following peripheral inflammation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 105, 17151–17156
52. Pyter L. M., Pineros V., Galang J. A., McClintock M. K., Prendergast B. J. (2009). Peripheral tumors induce depressive-like behaviors and cytokine production and alter hypothalamic-pituitary-adrenal axis regulation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 106, 9069–9074
53. Ravizza T., Gagliardi B., Noé F., Boer K., Aronica E., Vezzani A. (2008a). Innate and adaptive immunity during epileptogenesis and spontaneous seizures: evidence from experimental models and human temporal lobe epilepsy. *Neurobiol. Dis.* 29, 142–160
54. Aronica E., Ravizza T., Zurolo E., Vezzani A. (2012). Astrocyte immune responses in epilepsy. *Glia* 60, 1258–1268
55. Fonseca AC, Matias D, Garcia C, Amaral R, Geraldo LH, Freitas C, Lima FR. the impact of microglial activation on blood-brain barrier in brain diseases. *Front Cell Neurosci*, 2014 Nov 3;8:362
56. Najjar S., Pearlman D., Miller D. C., Devinsky O. (2011). Refractory epilepsy associated with microglial activation. *Neurologist* 17, 249–254
57. Kemal Uğur Tüfekçi. Mikroglial aktivasyonda lipopolisakkarit uyarımıyla ekspresyonu değişen mikroRNA'ların belirlenmesi. Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans tezi. İzmir 2011

58. Boucsein C, Zacharias R, Färber K, Pavlovic S ve ark. Purinergic receptors on microglial cells: functional expression in acute brain slices and modulation of microglial activation in vitro. *Eur J Neurosci.* 2003;17(11):2267-76

59. Hailer NP, Vogt C, Korf HW, Dehghani F. Interleukin-1 β exacerbates and interleukin-1 receptor antagonist attenuates neuronal injury and microglial activation after excitotoxic damage in organotypic hippocampal slice cultures. *Eur J Neurosci.* 2005;21(9):2347-60

60. Saper CB, Sawchenko PE. Magic peptides, magic antibodies: guidelines for appropriate controls for immunohistochemistry. *J Comp Neurol* 2003;465(2):161-3.

61. Rhodes KJ, Trimmer JS. Antibodies as valuable neuroscience research tools versus reagents of mass distraction. *J. Neurosci.* 2006;26:8017–20

62. Ransohoff RM, Perry VH. Microglial physiology: unique stimuli, specialized responses. *Annu Rev Immunol.* 2009;27:119-45

63. Gonzales-Martinez T. S100 proteins in the human peripheral nervous system. *Microscopy Research and Technique*, 2003; 60: 633-638

64. Foerch C, Otto B, Singer OC, Neumann-Haefelin T, Yan B, Berkefeld J, Steinmetz H, Sitzer M. Serum S100B Predicts a Malignant Course of Infarction in Patients With Acute Middle Cerebral Artery Occlusion. *Stroke.* 2004;35:2160-2164

65. Ali Uncu. Akut iskemik inme ile geçici iskemik atak tanılı hastalarda S-100B protein düzeyleri ve risk faktörleri ile ilişkisi. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Uzmanlık tezi. İstanbul 2009

66. Elting JW, de Jager AE, Teelken AW, Schaaf MJ, Maurits NM, van der Naalt J, Sibinga CT, Sulter GA, De Keyser J. Comparison of serum S-100 protein levels following stroke and traumatic brain injury. *J Neurol Sci.* 2000 Dec 1;181(1-2):104-10

67. Yrjanheikki J, Keinanen R, Pellikka M, Hökfelt T, Koistinaho J. Tetracyclines inhibit microglial activation and are neuroprotective in global brain ischemia. *Neurobiology* 1998;95:15769-74

68. Saivin S, Houin G. Clinical pharmacokinetics of doxycycline and minocycline. *Clinical Pharmacokinetics* 1988; 15:355–366

69. Liu Y, Ramamurthy N, Marecek J, Lee HM, Chen JL, Ryan ME, Rifkin BR, Golub LM. The lipophilicity, pharmacokinetics, and cellular uptake of different chemically-modified tetracyclines (CMTs). *Curr Med Chem* 2001; 8:243–252

70. Saivin S, Houin G. Clinical pharmacokinetics of doxycycline and minocycline. *Clinical Pharmacokinetics* 1988; 15:355–366

71. Gerson DM, Robinson MJ. Black pigmentation of atherosclerotic plaques associated with chronic minocycline therapy. *Cardiovasc Pathol* 2005;15:168-70

72. Benitz KF, Roberts GK, Yusa A. Morphologic effects of minocycline in laboratory animals. *Toxicol Appl Pharmacol* 1967;11:150-70

73. Kayaalp SO. Tetrasiklinler, Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji. 11. Basım, Ankara: Hacettepe-Taş Kitapçılık, 2005:209-13
74. Settgast AM, Groth T, Gertner E. Minocycline-induced central nervous system pulmonary hypersensitivity syndrome. *Int J Dermatol* 2003;42: 316-7
75. Teitelbaum JE, Atayde AR, Cohen M, Bousvaros A, Jonas MM. Minocycline –related autoimmune hepatitis. *Arch Pediatr Adolesc Med* 1998;152:1132-6
76. Chiu AM, Chuenkongkaew WL, Cornblath WT, Trobe JD, Digre KB, Dotan SA, et al. Minocycline treatment and pseudotumor cerebri syndrome. *Am J Ophthalmol* 1998;126:116-21
77. Yrjanheikki J, Keinanen R, Pellikka M, Hokfelt T, Koistinaho J. Tetracyclines inhibit microglial activation and are neuroprotective in global brain ischemia. *Proc Natl Acad Sci* 1998; 95:15769–15774
78. Yrjanheikki J, Tikka T, Keinanen R, Goldsteins G, Chan PH, Koistinaho J. A tetracycline derivative, minocycline, reduces inflammation and protects against focal cerebral ischemia with a wide therapeutic window. *Proc Natl Acad Sci* 1999; 96:13496–13500
79. Huang C. Y., Chen Y. L., Li A. H., Lu J. C., Wang H. L. (2014). Minocycline, a microglial inhibitor, blocks spinal CCL2-induced heat hyperalgesia and augmentation of glutamatergic transmission in substantia gelatinosa neurons. *J. Neuroinflammation* 11:7

80. Miron V. E., Boyd A., Zhao J. W., Yuen T. J., Ruckh J. M., Shadrach J. L., et al. . (2013). M2 microglia and macrophages drive oligodendrocyte differentiation during CNS remyelination. *Nat. Neurosci.* 16, 1211–1218
81. Chen M, Ona VO, Li M, Ferrante RJ, Fink KB, Zhu S, Bian J, Guo L, Farrell LA, Hersch SM, Hobbs W, Vonsattel JP, Cha JH, Friedlander RM. Minocycline inhibits caspase-1 and caspase-3 expression and delays mortality in a transgenic mouse model of Huntington's disease. *Nat Med* 2000; 6:797–801
82. Du Y, Ma Z, Lin S, Dodel RC, Gao F, Bales KR, Triarhou LC, Chernet E, Perry KW, Nelson DL, Luecke S, Phebus LA, Bymaster FP, Paul SM. Minocycline prevents nigrostriatal dopaminergic neurodegeneration in the MPTP model of Parkinson's disease. *Proc Natl Acad Sci* 2001; 98:14669–14674
83. Sanchez Mejia RO, Ona VO, Li M, Friedlander RM. Minocycline reduces traumatic brain injury-mediated caspase-1 activation, tissue damage, and neurological dysfunction. *Neurosurgery* 2001;48:1393– 1399
84. Wells JE, Hulbert RJ, Fehlings MG, Yong VW. Neuroprotection by minocycline facilitates significant recovery from spinal cord injury in mice. *Brain* 2003; 126:1628–1637
85. Tikka T, Usenius T, Tenhunen M, Keinanen R, Koistinaho J. Tetracycline derivatives and ceftriaxone, a cephalosporin antibiotic, protect neurons against apoptosis induced by ionizing radiation. *J Neurochem* 2001; 78:1409–1414
86. Fagan S. C., Cronin L. E., Hess D. C. (2011). Minocycline development for acute ischemic stroke. *Transl. Stroke Res.* 2, 202–208

87. Yilmaz I, Adiguzel E, Akdogan I, Kaya E, Hatip-Al-Khatib I. Effects of second generation tetracyclines on penicillin-epilepsy-induced hippocampal neuronal loss and motor incoordination in rats. *Life Sci* 2006; 79:784-790
88. Goss JR, Finch CE, Morgan DG. Age-related changes in glial fibrillary acidic protein mRNA in the mouse brain. *Neurobiol Aging* 1991;12:165-70.
89. Herrmann M, Vos P, Wunderlich MT, de Bruijn CH, Lamers KJ. Release of glial tissue-specific proteins after acute stroke: A comparative analysis of serum concentrations of protein S-100B and glial fibrillary acidic protein. *Stroke* 2000;31:2670-7.
90. Vos PE, van Gils M, Beems T, Zimmerman C, Verbeek MM. Increased GFAP and S100beta but not NSE serum levels after subarachnoid haemorrhage are associated with clinical severity. *Eur J Neurol*. 2006 Jun;13(6):632-8.
91. Jung CS, Foerch C, Schänzer A, Heck A, Plate KH, Seifert V, Steinmetz H, Raabe A, Sitzler M. Serum GFAP is a diagnostic marker for glioblastoma multiforme. *Brain*. 2007; 12:1-6.
92. Nylén K, Csajbok LZ, Ost M, Rashid A, Blennow K, Nellgård B, Rosengren L. Serum glial fibrillary acidic protein is related to focal brain injury and outcome after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 2007;38:1489-94

93. Scorza FA, Arida RM, Naffah-Mazzacoratti Mda G, Scerni DA, Calderazzo L, Cavalleiro EA. The pilocarpine model of epilepsy: what have we learned? *An Acad Bras Cienc.* 2009 Sep;81(3):345-65
94. Watkins LR, Maier SF. Glia: a novel drug discovery target for clinical pain. *Nat Rev Drug Discov* 2003;2(12):973-85.
95. Tsuda M, Inoue K, Salter MW. Neuropathic pain and spinal microglia: a big problem from molecules in "small" glia. *Trends Neurosci* 2005;28(2):101-7.
96. De Bock F, Dornand J, Rondouin G. Release of TNF alpha in the rat hippocampus following epileptic seizures and excitotoxic neuronal damage. *Neuroreport* 1996;7:1125-1129
97. Ravizza et al. The IL-1 β system in epilepsy-associated malformations of cortical development. *Neurobiol Dis* 2006;24:128-143
98. Vezzani A, Balosso S, Ravizza T. Inflammation and epilepsy. *Handb Clin Neurol* 2012;107:163-175
99. Jansson L, Wennstrom M, Johanson A, Tingstrom A. Glial cell activation in response to electroconvulsive seizures. *Prog Neuropsychopharmacol Biol* 2009;33:1119-1128
100. Loddick SA, Rothwell NJ. Neuroprotective effects of human recombinant interleukin-1 receptor antagonist in focal cerebral ischaemia in the rat. *J Cereb Blood Flow Metab* 1996;16:932-940
101. Barone FC, Arvin B, White RF et al. Tumor necrosis factor-alpha. A mediator of focal ischemic brain injury. *Stroke* 1997;28:1233-1244.

102. Heizmann CW. Ca²⁺-binding S100 proteins in the central nervous system. *Neurochem Res* 1999;24:1097-1100
103. Heizmann CW, Fritz G, Schaefer BW. S100 proteins: structure, functions and pathology. *Front Biosci* 2002;7:1356-1368
104. Park ES, Park CI, Choi KS, Choi IH, Shin JS. Over expression of S100B protein in children with cerebral palsy or delayed development *Brain Dev.* 2004 Apr;26(3):190-6
105. Rothermundt M, Ahn JN, Jörgens S. S100B in schizophrenia: an update. *Gen Physiol Biophys* 2009;28:F76-81
106. Amiri M, Astrand R, Romner B. Can S100B Predict Cerebral Vasospasms in Patients Suffering from Subarachnoid Hemorrhage? *Front Neurol* 2013;4:65
107. Falcone T, Fazio V, Lee C, Simon B, Franco K, Marchi N, Janigro D. Serum S100B: a potential biomarker for suicidality in adolescents? *PLoS One.* 2010;5:e11089.
108. Blyth BJ, Farhavar A, Gee C, Hawthorn B, He H, Nayak A, Stöcklein V, Bazarian JJ. Validation of serum markers for blood-brain barrier disruption in traumatic brain injury. *J Neurotrauma* 2009;26:1497-1507.
109. Wilcock DM, Griffin WS. Down's syndrome, neuroinflammation, and Alzheimer neuropathogenesis. *J Neuroinflammation* 2013;10:84.
110. Pham N, Fazio V, Cucullo L, Teng Q, Biberthaler P, Bazarian JJ, Janigro D. Extracranial sources of S100B do not affect serum levels. *PLoS One* 2010;5(9):pii:e1269

111. Donato R. S100: a multigenic family of calcium-modulated proteins of the EF-hand type with intracellular and extracellular functional roles. 2001;33:637-668

112. Winningham-Major F, Staecker JL, Barger SW, Coats S, Van Eldik LJ. Neurite extension and survival activities of recombinant S100 β proteins that differ in the content and position of cysteine residues. J Cell Biol 1989;109:3036-3071.

113. Huttunen HJ, Kuja-Panula J, Sorci G, Agnietti AL, Donato R, Rauvala H. Coregulation of neurite outgrowth and cell survival by amphoterin and S 100 proteins through RAGE activation. J Biol Chem 2000;275:40096-4015.

114. Tramontina F, Tramontina AC, Souza DF, Leite MC, Gottfried C, Souza DO, Wofchuk ST, Gonçalves CA. Glutamate uptake is stimulated by extracellular S 100B in hippocampal astrocytes. Cell Moll Neurobiol 2006;26:81-86.

115. Hu J, Van Eldik LJ. S100 beta induces apoptotic cell death in cultured astrocytes via nitric oxide-dependent pathway. Biochim Biophys Acta 1996;1313:239-245.

116. Mori T, Koyama N, Arendash GW, Horikoshi-Sakuraba Y, Tan J, Town T. Overexpression of human S100B exacerbates cerebral amyloidosis and gliosis in Tg2576 mouse model of Alzheimer's disease. Glia 2010;58:300-314

117. Ponath G, Schettler C, Kaestner F, Voigt B, Wentker D, Arolt V, Rothermundt M. Autocrine S100B effects on astrocytes are mediated via RAGE. J Neuroimmunol 2007;184:214-222

118. Brozzi F, Arcuri C, Giambanco I, Donato R S100B Protein Regulates Astrocyte Shape and Migration via Interaction with Src Kinase: Implications for astrocyte development, activation and tumor growth. *J Biol Chem* 2009;284:8797
119. Schmitt Andrea, et al. Increased serum S100B in elderly, chronic schizophrenic patients: negative correlation with deficit symptoms. *Schizophrenia research*, 2005, 80.2: 305-313
120. SORCI, Guglielmo, et al. S100B protein in tissue development, repair and regeneration. *World journal of biological chemistry*, 2013, 4.1: 1.
121. SÄLJÖ, Annette, et al. Exposure to short-lasting impulse noise causes microglial and astroglial cell activation in the adult rat brain. *Pathophysiology*, 2001, 8.2: 105-111
122. WANG, N., et al. Minocycline inhibits brain inflammation and attenuates spontaneous recurrent seizures following pilocarpine-induced status epilepticus. *Neuroscience*, 2015, 287: 144-156
123. Yang, Yirong, et al. "Attenuation of acute stroke injury in rat brain by minocycline promotes blood–brain barrier remodeling and alternative microglia/macrophage activation during recovery." *Journal of neuroinflammation* 12.1 (2015): 26.
124. Leeds, Peter R., et al. "A new avenue for lithium: intervention in traumatic brain injury." *ACS chemical neuroscience* 5.6 (2014): 422-433.
125. Dong, Hongquan, et al. "Lithium ameliorates lipopolysaccharide-induced microglial activation via inhibition of toll-like receptor 4 expression by

activating the PI3K/Akt/FoxO1 pathway." *Journal of neuroinflammation* 11.1 (2014): 140.

126. VAN ELDIK, Linda J.; ZIMMER, Danna B. Secretion of S-100 from rat C6 glioma cells. *Brain research*, 1987, 436.2: 367-370.

127. SELINFREUND, Richard H., et al. Neurotrophic protein S100 beta stimulates glial cell proliferation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1991, 88.9: 3554-3558.

128. BIANCHI, Roberta; GIAMBANCO, Ileana; DONATO, Rosario. S100B/RAGE-dependent activation of microglia via NF- κ B and AP-1: Co-regulation of COX-2 expression by S100B, IL-1 β and TNF- α . *Neurobiology of aging*, 2010, 31.4: 665-677.

129. GRIFFIN, W. S. T., et al. Overexpression of the neurotrophic cytokine S100 β in human temporal lobe epilepsy. *Journal of neurochemistry*, 1995, 65.1: 228.

130. SAKATANI, Seiichi, et al. Neural-activity-dependent release of S100B from astrocytes enhances kainate-induced gamma oscillations in vivo. *The Journal of Neuroscience*, 2008, 28.43: 10928-10936.

TANG, Feng-Ru; LEE, Wei-Ling; YEO, Tseng Tsai. Expression of the group I metabotropic glutamate receptor in the hippocampus of patients with mesial temporal lobe epilepsy. *Journal of neurocytology*, 2002, 30.5: 403-411.

8. ÖZET

Bu çalışmanın amacı hipokampal mikroglia aktivasyonu ile serum S100B düzeyi arasındaki olası korelasyonun lityum-pilokarpin ile oluşturulan deneysel bir status epileptikus modelinde incelenmesi ve minosiklin'in etkilerinin araştırılmasıdır. Deneylerde 12 haftalık 200-250 g arası ağırlığa sahip erkek Sprague-Dawley sıçanlar kullanıldı (n=24). Sıçanlar, 4 gruba ayrıldı. Deney grubunda lityum-pilokarpin ile SE indüklenmiş hayvanlar yer aldı. Deney hayvanlarına pilokarpin enjeksiyonundan 24 saat önce lityum klorid uygulandı (127 mg/kg, i.p.). Pilokarpin tek doz olarak uygulandı (30 mg/kg, i.p.). Ayrıca pilokarpin'den 30 dakika önce kolinerjik yan etkileri ortadan kaldırmak maksadı ile sıçanlara metilskopolamin-bromid (1mg/kg) verildi. Nöbetler Racine skalasına göre derecelendirildi. SE'nin başlangıcı süregelen nöbet aktivitesinin başlangıcı olarak tanımlandı (nöbetler arasında normalleşme olmaksızın) . SE oluşan sıçanlarda, SE süresi i.p. diazepam (10 mg/kg) ile kontrol altına alındı.

Deney grupları aşağıdaki şekilde planlanmıştır:

Grup 1(Kontrol, n=6): Bu gruptaki hayvanlara herhangi bir işlem uygulanmadı.

Grup 2 (Sham,n=6): Sıçanlara lityum, metilskopolamin ve pilokarpin yerine salin verildi. Salin enjeksiyonundan 2 saat sonra tek doz diazepam enjekte edildi.

Grup 3 (Status Epileptikus): Sıçanlara pilokarpin enjeksiyonundan 24 saat önce lityum klorid uygulandı (127 mg/kg, i.p.). Pilokarpin tek doz olarak uygulandı (30 mg/kg, i.p.). Ayrıca hayvanlara metilskopolamin de verildi.

Nöbetleri sonlandırmak için ilk pilokarpin dozundan 60 dakika sonra diazepam (10 mg/kg i.p.) uygulandı. 3, 4, 5, 6 ve 7. günlerde bütün sıçanlara ölüm oranını azaltmak için 09:30-10:30 ve 16:30- 17:30 zaman dilimlerinde günde 2 defa 5 ml subkutan enjeksiyon ile salin ve gavaj ile yaklaşık 1 ml TPN solüsyonu verildi

Grup 4 (Status Epileptikus + Minosiklin): Grup 3'deki aynı deney protokolü minosiklin varlığında tekrarlandı. Minosiklin 0.1 M fosfat tamponu içerisinde çözülerek (pH:7.4), i.p olarak 3, 4, 5, 6 ve 7. günlerde 50 mg/kg dozunda uygulandı.

Lityum uygulamasını takiben 8. günde sıçanların tamamının hipokampusları çıkarıldı ve dorsal hipokampusta OX-42 ve GFAP ekspresyonu immünohistokimyasal yöntemlerle değerlendirildi. Ayrıca, hipokampuslar çıkarılmadan önce hayvanların periferik venlerinden kan alınarak S100B tayini yapıldı.

Bu çalışmanın sonucunda, Kontrol grubuna göre SE ve SE + Minosiklin gruplarındaki kan S100B düzeylerindeki yüksekliğin, literatüre bakıldığında eksitotoksik hasar sonucu glialar tarafından salınan S100B' nin , sürmekte olan hasarı ve buna karşı gelişen glial reaktiviteyi yansıttığından kaynaklandığını düşündürdü. Ayrıca Kontrol grubundaki CA1'de OX42 (+) mikroglia sayısı ve DG'de GFAP (+) astrosit sayısının SE grubundan anlamlı olarak daha düşük bulunması ise epilepsi gibi nörodejeneratif hastalıklarda nöroinflamatuvar süreçlerin tetiklendiği mikroglial aktivasyonun varlığını düşündürdü.

9. SUMMARY

The purpose of this study is the investigation of the effect of Minocycline and the possible correlation between hippocampal microglial activation and S100B serum in an experimental status epilepticus model. In the experiments, 12 week old male Sprague-Dawley rats weighting 200 to 250 grams were used (n=24). Rats were separated in to four groups. Animals induced with lithium and pilocarpin was used in the experiment group. Lithium chloride was given to the experimental animals 24 hours before the injection of pilocarpin (127 mg/kg, i.p.). One dose of Pilocarpin was applied (30 mg/kg, i.p.). Besides that methilschoplamine-bromide (1mg/kg) was given to the animals 30 minutes before pilocarpin injection to remove the cholinergic side effects. Seizures were degreed due to Racine scale. The beginning of SE was defined as the start of lasting seizure activity (without normalizing between seizures). SE time was taken under control using diazepam (30 mg/kg, i.p.) in the rats having SE.

Experiment groups are planned as follows:

Group 1 (Control,n=6): There was no proceeding on the animals in this group.

Group 2 (Sham,n=6): Saline was given to the animals instead of Lithium, methilescopolamine. One dose of diazepam was injected after 2 hours of Saline injection.

Group 3 (SE): Lithium Chloride (127 mg/kg, i.p.). was applied to the animals 24 hours before one dose of pilocarpin injection(30 mg/kg, i.p.). Methilescopolamine was also given. Diazepam (10 mg/kg i.p.) was applied after

60 minutes of pilocarpin injection to end the seizures. At the days of 3, 4, 5, 6 and 7, subcutaneous injection with 5 ml saline and gavage and 1 ml TPN solution is given to the rats two times a day between 09:30-10:30 and 16:30- 17:30 to reduce the death rate.

Group 4 (SE + minocycline): the experiment protocol in the group 3 was repeated with the existence of minocycline. Minocycline dissolved in 0.1 M phosphate buffer (pH:7.4, i.p) was applied with a 50 mg/kg dose at the days 3, 4, 5, 6 ve 7.

After Lithium application at eight day all the hippocampuses of the rats was removed and OX-42 and GFAP expression in the dorsal hippocampus was evaluated with immunohistochemical methods. Besides, determination of S100B was performed by taking blood from peripheral veins before the removal of hippocampuses.

As a result of this, the high levels of S100B at SE and SE+ minocycline groups with respect to the control group suggest that S100B released from glias as a result of excitotoxic injury is the projection of the ongoing injury and glial reactivity developing against it referring to the literature. Also the significant low level of OX42 (+) microglia number and GFAP (+) astrocyte number in the control group at CA1 with respect to SE group suggests the presence of microglial activation triggered by neuroinflammatory processes in neurodegenerative diseases like epilepsy.

10. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Erkut Baha BULDUK

Doğum Yeri ve Tarihi: Mersin, 08.03.1983

Eğitimi:

İlk, Orta ve Lise Öğrenimi: 1990 - 1995 Kuvayi Milliye İlkokulu

1995 - 1998 İçel Anadolu Lisesi

1998 - 2000 Mersin Fen Lisesi

2000 - 2001 Özel Mersin Bahçeşehir Lisesi

Yüksek Öğrenim: 2001 - 2008 Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi

Uzmanlık Eğitimi: 2009 - ... Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroşirurji A.D.

Doktora Eğitimi: 2015 - ... Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Nörobilim Doktora Programı

Yabancı Dili: İngilizce

Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar: European Association of Neurosurgical Societies (EANS)

Yayınlar:

1. Yüce, O., Döğner, E., Çelik, N., Emeksiz, H. C., Bulduk, E. B., Çamurdan, M. O., ... & Cinaz, P. (2014). Extensive middle cranial fossa arachnoid cysts and different clinical presentation in two patients. Journal of clinical research in pediatric endocrinology, 6(3), 174-176.

2. Ocal O, Celtikci E, Secen AE, Bulduk EB, Kurt G: Ekstratemporal Epilepsilerde Cerrahi (Surgery in Extratemporal Epilepsy). Turk Norosirurji Dergisi 2: 124-9, 2014

11. EKLER

11.1. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

Onayı


T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı

SAYI : 66332047-604.01.02/ 161- 20771 **17/09/2013**
KONU :

Sayın
Doç.Dr.Gökhan KURT
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Nöroşirurji Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

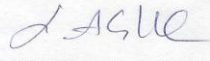
Araştırmacı grubu Gökhan KURT, Erkut Baha BULDUK, Süreyya BARUN, Pergin ATILLA, Murat KIZILTAŞ, Sevdâ Fatma MÜFTÜOĞLU, Rıdvan Murat ÖKTEM ve Turan TURHAN'dan oluşan, G.Ü.ET-13.066 kod numaralı ve **"Hipokampal Mikroglia Aktivasyonu ile Serum S100B Düzeyi Arasındaki Olası Korelasyonun Sıçanlarda Lityum-Pilokarpin ile Oluşturulan Deneysel Bir Status Epileptikus Modelinde İncelenmesi ve Minosiklinin Etkilerinin Araştırılması"** başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi saygılarımla rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-13.066 and entitled **"Investigation of the Putative Correlation Between Hippocampal Microglia Activation and Serum S100B Level Lithium-Pilocarpine Induced Status Epilepticus Model in Rats and Evaluation of the Effects of Minocycline"** is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards.

EK : 1 Liste


Prof.Dr. Leyla AÇIK
Gazi Üniversitesi
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanı

T.C.Gazi Üniversitesi Rektörlüğü, 06500 Teknikokullar, Ankara
Tel : 0 312 202 20 57 Faks: 0 312 202 20 63

11.2. Deney Hayvanları Kursu Katılım Sertifikası



11.3. Tıpta İletişim Becerileri Temel Eğitimi Katılım Belgesi

