

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

POSTNATAL SIÇAN EPİLEPSİ MODELLERİNDE
MATERNAL STRESİN EPİLEPTOJENEZ VE
ÖĞRENMEYE ETKİSİ

Sinirbilim Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi

Kübra ÇELİK

DANIŞMAN
Prof. Dr. Meral BAKA

İZMİR
2018

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

POSTNATAL SIÇAN EPİLEPSİ MODELLERİNDE
MATERNAL STRESİN EPİLEPTOJENEZ VE
ÖĞRENMEYE ETKİSİ

Sinirbilim Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi

Kübra ÇELİK

DANIŞMAN
Prof. Dr. Meral BAKA

İZMİR
2018

DEĞERLENDİRME KURULU ÜYELERİ

Adı Soyadı :
Başkan(Danışman) : Prof. Dr. Meral BAKA
Üye / İmza : Prof. Dr. Eser SÖZMEN
Üye / İmza : Prof. Dr. Hatice MAVİOĞLU
Üye / İmza :
Üye / İmza :

Tezin Kabul Edildiği Tarih : 04.07.2018

Önsöz

Tez çalışmamda maddi destek sağlayan Ege Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu başta olmak üzere yüksek lisans öğrencilik hayatım boyunca yardımını esirgemeyen Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsüne teşekkür ederim.

İki yıl önce başladığım sinirbilim dünyasındaki yolculuğumda bana çoğu şeyi en baştan öğreten, bilgisini ve zamanını paylaşıp yeni yollar göstererek bilimsel düşünmeyi kazandıran, her daim güven ve samimiyet veren, hayatımda hiç unutmayacağım bir yerde olan gerçek bir eğitimci, sevgili danışman hocam Prof. Dr. Meral BAKA'ya emeklerinden dolayı çok teşekkür ederim.

Davranış ve öğrenme testleri hakkında bana pek çok şey katan, beni deney hayvanlarıyla tanıştıran ve sevdiren sevgili Prof. Dr. Lütfiye KANIT'a, çalışmamın bir kısmını yapabilmemde önemli payı olan değerli Prof. Dr. Dilek TAŞKIRAN'a yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Yüksek lisans dönemim boyunca ve tez çalışmamda yol arkadaşlarım, ekip arkadaşlarım ve her şeyden önce dostlarım Petek BİLİM ve Dr. Gurur GARİP'e her zaman yanımda olup bana güven verdiği ve yardım ettiği için sonsuz teşekkür ederim.

Laboratuvar tekniklerinde yardımcı olan başta Sağlık Teknikeri Erdiñç Yılmaz'a ve tez çalışmamı yapmamda ev sahipliği yapan Histoloji ve Embriyoloji Anabilim dalına,

Teknik anlamda her zaman yanımda olarak güven veren Ege Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezi Sağlık Teknikeri Bülent ATA'ya ve diğer çalışanlarına yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Son olarak yanımda olamasalar bile her zaman desteklerini esirgemeyen, bana güç veren, düşünmeyi ve öğrenmeyi sevdiren, canım annem ve babama üzerimdeki emekleri için sonsuz teşekkür ederim.

İzmir /2018

Kübra ÇELİK

Özet

Stres çoğu nörolojik hastalığın tetikleyicisi olarak günlük hayatta karşımıza çıkmaktadır. Epileptik nöbetlerin de tetikleyicisi olan stres, merkezi sinir sistemi başta olmak üzere tüm vücut sistemlerini etkilemektedir. Prenatal uygulanan maternal stres ise hem embriyonik gelişime hem de postnatal gelişime etki ederek epilepsi riskini artıran bir faktör olarak karşımıza çıkmaktadır. Çalışma yeni doğanda (P10) PTZ ve hipoksi ile indüklenen modellerde nöronal göç, nörogenez ve histogenez kaynaklı hatalar nedeniyle epilepsi riskinin ergenlik döneminde epileptojenezi artırarak öğrenme ve bellek problemlerine yol açtığını göstermektedir.

Embriyonik gelişimde maternal strese ve postnatal gelişimde epileptik nöbetlere maruz kalan ergen sıçanlarda gelişim geriliğiyle beraber kognitif süreçlerinin de bozulduğu ortaya konmuştur. Özellikle maternal stresin PTZ grubunu histolojik, davranışsal ve bilişsel olarak etkilemesi yavrunun gelişimi için önem arz etmektedir. Dolayısıyla geç gelişim ve epileptojenez riskinden korunmak adına gebelik döneminde stres faktörlerinden kaçınmak gerekmektedir.

Hipoksinin de hipokampüste epileptik benzeri bir morfoloji sergilemesi aynı zamanda öğrenme ve bellek becerilerine olan etkileri de epileptojenez riskini artırıcı bir faktör olarak karşımıza çıkmaktadır. Fakat maternal strese sahip hipoksik grupta görülen histopatolojik ve davranışsal değişiklikler bu riski daha da artırmıştır. Prenatal stres, kontrol gruplarında öğrenme ve bellek becerilerini artırmışken bu durum PTZ ve hipoksik gruplarda tam tersi yönde etki etmiştir. Dolayısıyla çalışma, yapılacak ileriki çalışmalarda stres ve epilepsi arasındaki ilişkiye hem yapısal hem de davranışsal olarak yeni bir boyut kazandıracaktır.

Anahtar Kelimeler: maternal stres, epilepsi, epileptojenez, öğrenme, bellek, nöronal göç, hipokampus

Abstract

Stress is often a common trigger of neurological diseases in daily life. Stress, which is also the trigger of epileptic seizures, affects all body systems, especially the central nervous system. Prenatal maternal stress effects as a factor that increases the epileptic risk by affecting both embryonic development and postnatal development. This study shows that neuronal migration, neurogenesis, and histogenesis-induced disorders in new-born (P10) PTZ- and hypoxia-induced models lead to epileptogenesis in the juvenile period, leading to learning and memory problems.

It has been shown that cognitive processes deteriorate with developmental retardation in juvenile rats exposed to maternal stress in embryonic development and epileptic seizures in postnatal development. Especially, the influence of maternal stress on the histological, behavioral and cognitive effects of the PTZ group is important for the development of the offspring. Therefore, in order to avoid the risk of late development and epileptogenesis, it is necessary to avoid stress factors during pregnancy.

Hypoxia also exhibits an epileptic-like morphology in the hippocampus, besides the effects on learning and memory skills are antagonized as a factor that increases the risk of epileptogenesis. However, histopathological and behavioral changes in the hypoxic group with maternal stress have increased this risk. Prenatal stress increased learning and memory skills in the control groups, which had the opposite effect on PTZ and hypoxic groups. In future studies, the relationship between stress and epilepsy will gain both a structural and behavioral dimension.

Key Words : maternal stress, epilepsy, epileptogenesis, learning, memory, neuronal migration, hippocampus

İçindekiler

Önsöz	IV
Özet	V
Abstract	VI
İçindekiler	VII
Tablolar Dizini	IX
Şekiller Dizini	X
Grafikler Dizini	XII
Kısaltmalar Listesi	XIII
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2. 1.Stres	3
2.1.2. Stres Türleri	5
2.1.3.Stresin Nörobiyolojisi	6
2.1.4. Maternal Stres	8
2.1.5. Sıçan Stres Modelleri.....	11
2.1.5.1. Prenatal Sıkıştırma Stresi	12
2.1.6. Stres ve Öğrenme.....	13
2.2.Epilepsi	15
2.2.1.Epilepsi Türleri	17
2.2.2. Epilepsi ve Maternal Stres	19
2.2.3. Epileptojenez	20
2.2.4. Sıçan Epilepsi Modelleri.....	22
2.2.4.1. Pentilenetetrazol Modeli	23
2.2.4.2. Hipoksi Modeli	23
2.2.5. Epilepsi ve Öğrenme.....	24
2.3. Hipokampus.....	25
2.4.1. Anatomisi.....	25
2.3.2. Histolojisi.....	27
2.3.3. Histogenezi	28

2.3.4.Subgranüler Zon	30
2.4. Subventriküler Zon.....	31
2.5. Öğrenme ve Hafızanın Değerlendirilmesi.....	32
2.5.1. Yeni Obje Tanıma Testi.....	34
3. GEREÇ VE YÖNTEM	35
3.1. Deney Hayvanları.....	35
3.2. Deney Grupları	35
3.3. Maternal Stres Prosedürü	36
3.4. Hipoksi Prosedürü	36
3.5. PTZ Enjeksiyonu	37
3.6. Yeni Obje Tanıma Testi Prosedürü	38
3.7. Histolojik Prosedür.....	39
3.8. İstatiksel Değerlendirme.....	43
4. BULGULAR.....	44
4.1. Yeni Obje Tanıma Testi Bulguları	44
4.2. Histolojik Bulgular	48
4.2.1. Gruplar Arası CA3 Bölgesinin Bulguları	48
4.2.2. Gruplar Arası CA1 Bölgesinin Bulgular	50
4.2.3. Gruplar Arası DG/SGZ Bölgelerinin Bulguları.....	52
5. TARTIŞMA	55
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	59
7. KAYNAKLAR	60

Tablolar Dizini

Tablo 1 : Sıçan Epilepsi Modelleri..... 22

Tablo 2 : Deney Grupları 35



Şekiller Dizini

Şekil 1: Stresin oluşumu ve doğurabileceği sonuçlar	4
Şekil 2: Stres ve Epileptik nöbet ilişkisi	21
Şekil 3: Hipokampusteki nöronal yollar.....	26
Şekil 4: Hipokampus bölümleri.....	28
Şekil 5: Dentat gyrusun histogenezi.....	29
Şekil 6: Bilginin işleme ve depolanma süreci.....	33
Şekil 7: Maternal stres prosedürü.....	36
Şekil 8: Hipoksi prosedürü.....	37
Şekil 9: PTZ enjeksiyonuyla epileptik model oluşturma.....	37
Şekil 10: Yeni obje tanıma testi habitüasyon günü prosedürü.....	38
Şekil 11: Yeni obje tanıma testi alıştırma prosedürü.....	38
Şekil 12: Yeni obje tanıma testi test prosedürü.....	39
Şekil 13: Perfüzyon prosedürü.....	40
Şekil 14: Beyin koronal kesit.....	40
Şekil 15: Tonik klonik jeneralize nöbet modeli.....	44
Şekil 16: Proöstrus- östrus dönemi.....	48
Şekil 17: Kontrol-kontrol CA3 bölgesi.....	49
Şekil 18: Kontrol- stres CA3 bölgesi	49
Şekil 19: Kontrol- hipoksi CA3 bölgesi.....	49
Şekil 20: Stres- hipoksi CA3 bölgesi.....	49
Şekil 21: Kontrol PTZ CA3 bölgesi	50
Şekil 22: Stres PTZ CA3 bölgesi.....	50
Şekil 23: Kontrol-kontrol CA1 bölgesi.....	51

Şekil 24: Stres -kontrol CA1 bölgesi.....	51
Şekil 25: Kontrol- hipoksi CA1 bölgesi.....	51
Şekil 26: Stres- hipoksi CA1 bölgesi.....	51
Şekil 27: Kontrol – PTZ CA1 bölgesi.....	52
Şekil 28: Stres- PTZ CA1 bölgesi.....	52
Şekil 29: Kontrol- kontrol DG/SGZ bölgesi.....	52
Şekil 30: Stres - kontrol DG/SGZ bölgesi.....	52
Şekil 31: Kontrol – hipoksi DG/SGZ bölgesi.....	53
Şekil 32: Stres-hipoksi DG/SGZ bölgesi.....	53
Şekil 33: Kontrol- PTZ DG/SGZ bölgesi.....	54
Şekil 34: Stres-PTZ DG/SGZ bölgesi	54

Grafikler Dizini

Grafik 1: Diskriminasyon indeksinin gruplar arası değerleri.....	45
Grafik 2: E1 sürelerinin gruplar arası karşılaştırması.....	45
Grafik 3: E2 sürelerinin gruplar arası karşılaştırılması.....	46
Grafik 4: Grupların DI skorlarının ortalamasının karşılaştırması.....	46
Grafik 5: Grupların E1 ve E2 sürelerinin ortalamasının karşılaştırılması.....	47



Kısaltmalar Listesi

AMPA	: α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-isoksazolepropionik asit
ACTH	:Adrenokortikotropin hormonunu
BDNF	:Beyin türevli nörotrofik faktör
CA	:Cornu ammonis
cAMP	:Siklik adenosin monofosfat
CRH	:Kortikotropin salgılatıcı hormon
CRH-BP	:Kortikotropin salgılatıcı hormon bağlayıcı protein
DG	:Dentat gyrus
EC	:Entorhinal korteks
GABA	:Gamma-aminobütirik asit
GAS	:Genel adaptasyon sendromu
GR	:Glukokortikoid
HPA	:Hipotalamo-hipofiz-adrenal aks
HPG	:Hipotalamo-hipofiz-gonadal aks
ILAE	:Uluslararası Epilepsi Karşıtı Derneği
KGT	:Kaudal gangliyonik tepe
KSB	:Kısa süreli bellek
Kg	:Kilogram
LTD	:Uzun süreli depresyon
LGT	:Lateral gangliyonik tepe
LTP	:Uzun süreli potansiyasyon
M	:Molar
MG	:Miligram

Mm	:Mikrometre
MGT	:Medial gangliyonik tepe
ml	:Mililitre
MR	:Mineralokortikoid
MSS	:Merkezi sinir sistemi
NMDA	:N-metil-D-aspartat
PBS	:Fosfat tampon salin
pCRH	:Plesental kortikotropin salgılatıcı hormon
PSS	:Prenatal sıkıştırma stresi
PTZ	:Pentilenetetrazol
SGZ	:Subgranüler zon
SVZ	:Subventriküler zon
USB	:Uzun süreli bellek
VZ	:Ventriküler zon
11 β -HSD2	:11 β -hidroksisteroid dehidrojenaz tip 2

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Epilepsi dünya genelinde en sık görülen nörolojik bozukluklardan biridir. İdiyopatik veya semptomatik olarak oluşabilmektedir. Semptomatik olarak metabolik hastalıklar, beyin travmaları, hipoksi, iskemi gibi durumlar epileptik nöbet oluşumuna sebep olabilmektedir. Uykusuzluk, madde kullanımı, fiziksel yorgunluk, parlak ışık gibi nedenlerin yanında psikolojik stres de epileptik nöbetleri tetikleyebilmektedir(1). Özellikle stres, anksiyete, depresyon gibi psikolojik faktörler epileptik nöbetlerin tetiklenmesinde büyük rol oynamaktadır. Bu bağlamda prenatal gelişim döneminde maruz kalınan maternal stresin de yavrunun ileriki dönemlerinde nöbet oluşum eğilimin ve sıklığının tetiklenmesi beklenmektedir(2). Bunun yanı sıra kemirgenlerle yapılan çalışmalarda uzun süre maruz kalınan maternal stresin, beyinde frontal lob ve hipokampüste hacim kaybına, dendritik atrofiye ve kısıtlı nörojenez neden olduğu görülmüştür(3). Yüksek mineralokortikoid (MR) ve glikokortikoid (GR) aktivasyonu, nöronların kolay depolarize olmasıyla nöbet eşiğinin düşmesine neden olmaktadır. Bu durum ergenlik dönemindeki bilişsel becerileri ve epileptojenezi etkilemektedir(4).

Maternal stres aynı zamanda prematüre veya düşük kiloyla doğumlara sebep olabilmektedir ve stres nedeniyle artan kortikotropin salgılatıcı hormon (CRH) fetüsün gelişimine de etki etmektedir (5). Dolayısıyla stresin intrauterin beyin gelişimini etkilediği göz önünde bulundurulduğunda prenatal uygulanan maternal stres, nöbet oluşumu ve sıklığı ile birlikte nöbet oluşma olasılığını yani epileptojenezi de etkilemektedir(6)(7). Bununla beraber maternal stresin epileptojenezi tetiklemesiyle bilişsel süreçler de etkilenir(8). Postnatal dönemde oluşan idiyopatik veya semptomatik kaynaklı epileptik nöbetler, ergenlik ve yetişkinlik dönemlerinde bellek bozukluklarına yol açabilmektedir. Dolayısıyla uzun süreli tanıma belleğinin merkezi olarak kabul edilen hipokampus gelişim döneminde oluşan bozukluklara bağlı olarak yeni obje tanıma becerilerini de etkiler(9). Yeniyi tercih etmesi ve tanıdık objeyi hafızasında tutması gelişimsel olarak incelendiğinde prenatal strese maruz kalmış epileptik yavruların öğrenme ve hafıza becerilerlerinde hipokampusteki nörobiyolojik değişiklikler etkili olacaktır. Embriyonik beyin gelişimi;

a)Nöral tüp oluşumundan sonra subventriküler zon (SVZ) /ventriküler zon (VZ) de hücre proliferasyonu

- b) Nöroblast ve glioblastların erken diferansiyasyonu
- c) Progenitör hücrelerin ve nöronların hücre ölümlerinin programlanması
- d) Nöroblastların kortikal tabakaya göçü
- e) Geç migrasyon
- f) Korteksin olgunlaşması ve sinaptogenez basamaklarından oluşmaktadır. (10)

Çalışmanın amacı postnatal dönemde oluşan hipoksi ve kimyasalla indüklenen farklı çeşit epileptik nöbetler sonrasında, ergenlikteki epileptojenezi nöroblastların göç hataları bağlamında incelemektir. Dolayısıyla prenatal dönemde uygulanan stresin hipokampus ve diğer beyin yapılarındaki nöronal değişikliğe sebep olması nöron oluşumu, proliferasyonu ve göçünün subventriküler zondan itibaren incelenmesini gerektirmektedir. Böylece maternal stresin tetiklediği ergenlik dönemindeki epileptojenez prenatal dönemdeki nöron göçünden kaynaklanan hatalar sonucu hipokampusteki ve subgranüler zondaki değişiklikler ile açıklanabilir. Yenidoğanın geçirdiği akut nöbetlerin ergenlik dönemindeki tekrarı ve bu durumun bilişsel performanslara etkisinin nörobiyolojisi tam olarak açıklanabilmiş değildir. Bu değişiklikler ile yeni obje tanıma performansı arasındaki ilişki de bilişsel süreçlere olan etkiyi göstermektedir. Temel olarak çalışma gelişimsel olarak nörogenez, nöronal migrasyon evrelerindeki hatalar bağlamında çeşitli epilepsi türlerinin temelini anlamaya yardımcı olacak ve epilepsi stres arasındaki ilişkinin incelenmesiyle epilepsi tedavilerine yeni bir boyut kazandıracaktır.

2. GENEL BİLGİLER

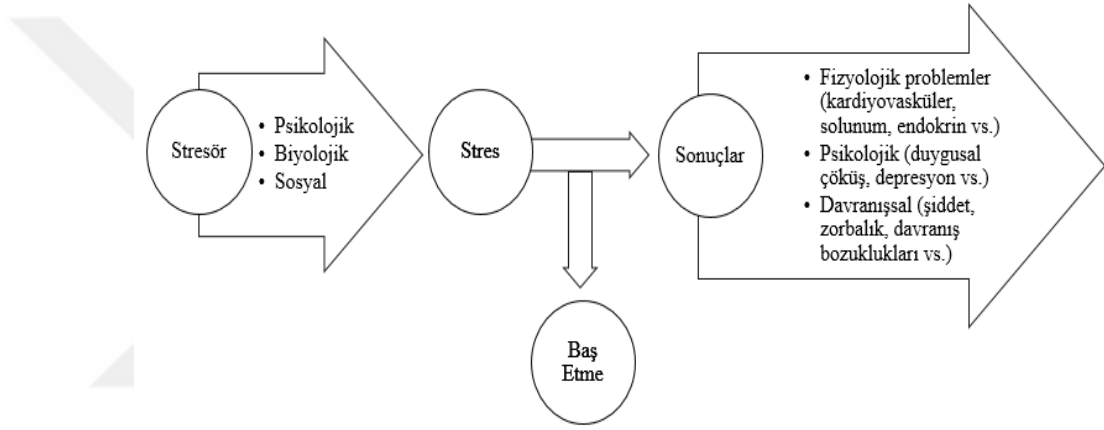
2. 1.Stres

Stres yaşamın bir parçası olarak hayatın pek çok dönemini etkiler. Latince ‘estricia’ kelimesinden gelen stres, 1930’lara kadar bilimin ilgi alanına girmemiş olup günümüzde pek çok araştırmacı tarafından tartışılan bir konu haline gelmiştir. İlk olarak stres kavramını kullanan Cannon, stresi homeostasisi kurabilmek için verilen savaş-kaç tepkisi olarak tanımlamıştır(11). Stres araştırmalarına büyük ışık tutmuş diğer isim Avusturyalı endokrinolog Hans Selye, kişiyi motive eden ve duygusal iyi oluşuna olumlu yönde etkileyen östres kavramını ortaya çıkarmıştır(12)(13). Tam tersi günlük hayatta da sıklıkla kullandığımız stres kavramı, kişinin psikolojik ve fizyolojik iyi oluşunu olumsuz etkileyen distrestir(14). Selye stresi ‘mentaliteyi ve fizyolojiyi etkileyen kişinin vücuttaki ihtiyaçlarının belirsiz bir sonucu’ olarak, kişinin homeostasisine tehdit unsuru olan faktörleri ise stresör olarak tanımlamıştır(15)(16).

Selye aynı zamanda 1936’da Genel Adaptasyon Sendromu (GAS) olarak bahsettiği stresin biyolojik yanıtından bahsetmiştir. Adrenokortikal yolak ve hormonal denge üzerinde durarak GAS’ı üç evreye ayırmıştır. Alarm tepkisinde başlayan fizyolojik belirtiler, direnç evresinde çoğunlukla kaybolur. Tükenme evresinde bu belirtiler tekrar ortaya çıkarak ölümlere sebep olabilir. Selye, bu teoriye göre kişilerin çevresine uyum kabiliyetlerinin olduğunu ve bunun da genetik faktörlere bağlı olduğunu söylemiştir(17).

Stresin olumsuz etkilerinden kaçınıp stresle baş etmek için bireyler, bilişsel ve davranışsal yollar denerler ya da duruma adapte olmaya çalışırlar. Webster’in 3. Yeni Uluslararası Sözlüğü stresi ‘kişilerin adaptasyon sorunu yaşadıkları fiziksel bozukluklara sebep olabilecek ve hatta hastalık oluşturabilecek fiziksel, kimyasal veya duygusal faktörler’ olarak tanımlamıştır. Buna benzer olarak Cohen ve arkadaşları (1997) stresi ‘çevresel taleplerden dolayı organizmanın adaptasyon kapasitesini aştığı patolojik riskle sonuçlanabilecek psikolojik ve biyolojik değişiklikler süreci’ olarak tanımlamıştır(18) Bu tanımlamaya göre strese neden olan etmenler sosyal, biyolojik ve psikolojik olarak sınıflanmıştır (Şekil 1). Dolayısıyla stres; sosyal bilimler, davranış ve doğa bilimleri gibi pek çok bilimsel alanın araştırma alanına girmiştir. Bundan dolayı stres tek bir tanıma sahip değildir ve her alanda farklı tanımlanmaktadır.

Cannon'un bahsettiği ve Selye'nin geliştirdiği stres kavramı özet olarak 'kişinin homeostasisine tehdit olarak algıladığı durumlarda oluşan biyolojik yanıt' olarak tanımlanabilir(16)(19). Dolayısıyla strese maruz kalındığında oluşan biyolojik yanıt sağlık açısından oldukça önem taşımaktadır. Fakat biyolojik yanıt her stresör için aynı değildir. Farklı stresörlere farklı biyolojik yanıtlar oluşur(20). Stres sonrası oluşan biyolojik yanıt sonucu merkezi sinir sistemi (MSS) başta olmak üzere kardiyovasküler, immünolojik, ve diğer sistemlerde de düzensizlikler görülebilir(21). Bu da stresi modern tıbbın pek çok alanında araştırma konusu haline getirmiştir. Biyolojik bakış açısına göre strese verilen fizyolojik yanıtlar pek çok parametre ile öngörülebilir, ölçülebilir. Bu yanıtlar kişilerin genlerinde kodlu bir şekilde bulunmaktadır.



Şekil 1: Stresin oluşumu ve doğurabileceği sonuçlar (22)

Sosyal açıdan, Lazarus ve Folkman stresi kişinin olanaklarını aşan veya yük olan durumlarda, iyi oluşunu olumsuz yönde etkileyen kişi ve çevre arasındaki özel bir bağ olarak tanımlamıştır(23) Yani stres hem çevresel hem de içsel kaynaklı verilen biyolojik, psikolojik ve davranışsal yanıtlardır. Aynı zamanda duygulanım, psikolojik stres ile baş ederek adapte olma sürecini sağlamaktadır(24). Kişilik yapıları stresi yönetmekte, strese maruz kalmakta duruma bağlı olarak farklılıklar gösterir. Yani hem stresi algılayıp değerlendirmede hem de stres olarak algılanan durumları yönetmede farklı süreçler uygular(25). Farkındalık bu konuda stresin yönetilmesi ve azaltılmasında kişinin temel gerekliliklerinden biridir(26).

Sosyal hayatta stres çoğu kez bir etmen olarak karşımıza çıkar ve bu konuda yapılan çalışmalar insanlarda ve hayvanlarda ortak olan 'savaş-kaç' tepkisine

dayandırılır(27). Hayvanlar, fiziksel bir tehdit oluştuğunda kaçma tepkisini gösterirler fakat insanlarda bu fiziksel tehdit sosyal anlamda da olabilmektedir. Kişiler böyle durumlardan kurtulabilmek için asosyalliğe yönelebilir veya baş etmek için alkol, madde kullanımı gibi yollara başvurabilir. Bunun yanında kişiler kendilerini sosyal stresten koruyabilmek ve baş edebilmek için diğer insanlarla bağ kurma eğilimindedir(28).

2.1.2. Stres Türleri

Amerikan Psikoloji Derneğine göre stres süresine göre sınıflandığında akut, epizodik akut ve kronik stres olarak incelenmektedir.

Akut stres günlük hayatta herkesin yaşadığı kısa süreli duygusal yorgunluğa ve fiziksel semptomların oluşmasına sebep olan bir durumdur(29). Merkezi ve otonom sistemi harekete geçirip kardiyovasküler ve immün sistem başta olmak üzere tüm vücut sistemini etkiler ve bunun sonucunda uygun hormonal yanıtlar oluşturur. Kişinin homeostasisini tehdit eden durumlara karşı salgılanan adrenalin ve kortizol hormonları kişinin vücut dengesini sağlamaya çalışır(30). Bu bağlamda alarm durumunda limbik sistem bölgelerinde glutamat artışına bağlı olarak öğrenme ve hafızada artış görüldüğünden kişinin tehlikeli durumlara karşı hazırlıklı olmasında rol oynar(6).

Epizodik akut stres kısa süreli yaşanan hormonal değişiklikler, belirli aralıklarla daha sık yaşandığı zaman ortaya çıkar. Akut strese görülen baş ağrısı, mide ağrısı, duygusal yorgunluk gibi belirtiler epizodik akut strese de görülür ve stres yanıtı oluşturarak kısa bir süre içerisinde yanıt sonlandırılır. Bunun yanı sıra kan akımında artış, kalp atışının hızlanması, kas ve eklem problemleri, intestinal problemler gibi belirtiler de görülür(31).

Kronik stres strese maruz kalma durumunun sürekli bir hal almasıyla oluşur ve ciddi psikiyatrik, nörolojik ve diğer pek çok hastalığa risk durumu oluşturur. Özellikle erken dönem yaşanan travmatik olaylar ve maternal durumlar yetişkinlikte de fizyolojik ve davranışsal etkilerini gösterebilmektedir(32).

2.1.3.Stresin Nörobiyolojisi

Vücut, homeostasisini tehdit eden stresörlere uzun süre maruz kaldığında otonom sinir sistemi aracılığıyla pek çok vücut sistemi bu durumdan etkilenir. Vücudun strese oluşturduğu yanıt otonom sinir sistem ve hipotalamus-pituiter-adrenal (HPA) aksı üzerinden gerçekleşir. Bununla beraber stres sonucu endokrin, kardiyovasküler, immun, respiratör, gastrointestinal sistemlerde kalıcı hasarlara neden olabilir. Dolayısıyla stres pek çok hastalığı tetikleyebilir. Stresörle karşı karşıya kalındığında hipotalamusun paraventriküler çekirdeğindeki nöronlar, CRH aktive eder. CRH, portal hipofiz dolaşımıyla hipofiz bezinin ön bölümüne ulaşarak adrenokortikotropin hormonunun (ACTH) salınımını tetikler. CRH'nin HPA aktivasyonunu başlatmasının yanı sıra nörotransmitter görevi de gördüğünden serebrospinal sıvıda ve beyin bazı bölgelerinde arttığı görülür(33). ACTH periferik dolaşım ile adrenal bezlere ulaşır ve GR, aldosteron ve adrenal androjen üretimini ve salınımını aktive eder(34)(22). İnsanlarda kortizol, sıçanlarda kortikosteron aşırı salınımıyla MSS başta olmak üzere diğer vücut sistemlerinde doku hasarına ve düzensizliğe neden olur(35). Aynı zamanda aşırı GR; protein parçalanması, hiperglisemi, immun sistem baskılanması, enfeksiyon riski ve depresyon gibi sonuçlar doğurabilir(19).

CRH ve ACTH depolanabilen hormonlar olduklarından stresör algılandığı andan itibaren sinyal görevi görerek GR salınımını tetikler. Adrenal bezlerin ACTH'ye olan yanıtı sınırlı seviyededir. Eğer ACTH seviyesi çok fazlaysa adrenal korteks ACTH'yi siklik adenozin monofosfat (cAMP) aracılığıyla entegre ederek veya sempatik sinirler aracılığıyla yanıt oluşturarak GR salınımına devam eder. Bu nedenle stresör ortadan kalksa bile GR seviyeleri bir süre daha yüksek kalır(36). Hatta yaşlı bireylerde GR salınımının daha fazla olduğu görülmüştür(37). Salgılanan glukokortikoidin çoğu karaciğer tarafından üretilen kortikosteroid bağlayıcı globülin veya transkortine bağlanarak dolaşıma karışır. Serbest olan GR ise difüze olarak hipokampus, amigdala ve prefrontal kortekste bulunan GR reseptörlerine direkt bağlanır (22). GR, glikojenoliz ve lipolizi artırarak kanda glukoz artmasına neden olur. Vücut bu şekilde stresle metabolik olarak mücadele eder(21). Kan dolaşımından GR'nin atılması ise karaciğer tarafından üretilen metabolitler sayesinde ve böbrekler tarafından üretilen glukuronit veya sülfat ester ile gerçekleşir. Aynı zamanda 11-hidroksil grubunun ya da bazı enzimlerin oksidasyonu sonucu kortizol inaktifleşerek

kortizona dönüşür(22). Bununla beraber sinaptik artışa, nöronların hayatta kalmasına ve değişmesine sebep olan nörotrofik faktörler glutamat artışını azaltarak kronik stresin etkilerini azaltmakta yardımcı olur(38).

Uzun süre strese maruz kalma sonucunda çeşitli yapısal ve davranışsal değişiklikler gözlemlenir. Limbik sistem yapılarından hipokampus, amigdala ve karar verme mekanizması olan prefrontal korteks kronik streste değişiklik görülen başlıca bölümlerdir(39). Kronik streste N-metil-D-aspartat kanallarının (NMDA) bloklanması sonucu amigdalada nöron ve dendrit artışı görülüp hipokampusun dentat gyrus (DG), Cornu ammonis 3 (CA3) bölgesi aynı zamanda prefrontal kortekste piramidal nöron ve dendrit sayılarında azalma saptanmıştır(40)(41). Aynı zamanda kronik stresin prenatal dönemde başlayıp yetişkinlikte de devam eden yeni nöron oluşumunu (nörojenez) engellediği belirtilmiştir(30)(42). Bu etkilerin yanı sıra kronik streste, CRH'nin beyindeki reseptörlerine bağlanarak ventral tegmental çekirdekte dopaminerjik, locus coeruleusta norepinefrik ve dorsal raphe çekirdeğinde serotonerjik nöronları uyarmasıyla stres gösteren davranışlar ortaya çıkar. Bu monoaminlerin artışıyla kronik stres depresyona neden olabilecek bir durum haline gelir(22)(43). Aynı zamanda stresle beraber görülebilen madde bağımlılığı, yeme bozuklukları, anhedonia, dikkat bozukluğu, sürekli tetikte olma ve davranış bozuklukları bu monoaminlerdeki artış sonucu ortaya çıkabilmektedir. Moleküler açıdan yapılan incelemelerde ise kronik stresin aşırı GR salınımı sonucu DNA hasarına ve gen mutasyonuna neden olduğu görülmüş ve bunun sonucunda bazı hastalıkların oluşabileceği belirtilmiştir(22).

Akut stres sonucu kortikostereoidlerin lenfatik sisteme olumlu etkisi olmasına rağmen kronik stresin immun sistem üzerinde baskılayıcı bir etkisi bulunmaktadır. Dolayısıyla antikor sayısındaki artışıyla stresin bu baskısı ortadan kaldırılmaya çalışılır(44)(45). Bunun yanı sıra kanda vazopressin artışıyla kan basıncında artış yaşanmakta ve sol ventrikülde artan basınç sonucu oluşan ritmik bozukluklar, taşikardi, miyokardik iskemi ve hipertansiyon gibi kardiyak problemler ortaya çıkabilmektedir. Hatta sempatik-parasempatik sistemlerin dengesizliğinden dolayı oluşan bu problemler sonucu ani ölümler görülebilmektedir(46)(14).

Bununla beraber akut stres durumunda alınan nefesin sıklığı ve inspirasyon hacmi artar, alveollerdeki karbondioksit oranında değişiklikler görülür. Stres; astım,

akciğer kanseri, disfoni, hiperventilasyon gibi durumlarda da tek başına olmamakla birlikte tetikleyici olabilmektedir. Stres aynı zamanda ülser, reflü ve diğer bağırsak sorunlarını artıran bir faktör olabilmektedir. Bunun yanı sıra stres, dişi üreme sistemini hipotalamo-pituiter-gonadal aks üzerinden etkiler. Erkek üreme sisteminde ise sperm kalitesinde ve miktarında düşüklüğe, erektil disfonksiyon, testesteron seviyesinde azalma gibi durumlara neden olur.

Beyin strese oluşturulacak yanıtta en önemli yapı olduğundan stresin nörolojik etkileri de önem taşımaktadır. Stresin baş ağrısı, migren, inme, epilepsi, multiple skleroz, amiyotrofik lateral skleroz ve hareket bozuklukları gibi nörolojik bozukluklarda da etkisi bulunmaktadır. Bu etki limbik sistemin işleyişi, sempatik sinir sistemi ve nöroendokrin sistemde özellikle katekolamin ve nöropeptid aktiviteleri ile yakından ilişkilidir(14). Strese oluşturulan uzun süreli yanıtın vücut sistemlerindeki işlevi her ne kadar incelenmeye devam ediliyor olsa da kronik stresin önlenmesi veya vücut sistemlerine olan etkilerinin azaltılması hala tam olarak açıklanabilmiş değildir.

2.1.4. Maternal Stres

Maternal stres, annenin yaşadığı stres halinin anne aracılığıyla fetüsün beyin gelişimini, doğum zamanını ve kilosunu, doğum sonrası motor gelişimini ve hatta yetişkinlikteki davranışlarına kadar etkileyen bir durumdur. Maternal stres, HPA aksındaki aşırı aktivite sonucu fetüsün ölümüne de sebep olabilmektedir(47)(48). Doğumdan sonra ve erken çocuklukta yaşanan maternal strese bağlı travma, taciz, bakımsızlık, ebeveyn yoksunluğu gibi durumlar etkilerini uzun süre gösterebilmektedir(32). Bu yüzden yeni doğanın anneden ayrılması, erken dönem travması olarak yetişkinlikte öğrenme ve hafıza dahil olmak üzere pek çok davranışı etkilemektedir. Erken dönem maternal strese maruz kalmış bebeklerin çocukluk dönemlerinde strese daha duyarlı hale geldikleri görülmüştür(49). Hayvanlarda postnatal stres modeli olarak kullanılan anneden yoksun bırakma stresi HPA aksının yanıt depresyon benzeri davranış oluşturmaya ve öğrenmede düşüş yaşanmasına sebep olmaktadır(50).

Gebelik döneminde annenin kullandığı besin, ilaç, alkol ve diğer maddeler yavrunun intrauterin gelişiminde ve yetişkinliğinde pek çok psikiyatrik, kardiyovasküler, intestinal problemlere neden olabilir. Bunun yanı sıra annenin

beslenme problemleri, fiziksel ve mental durumu gibi faktörler de fetüsün gelişimine etki eder(51). Aynı zamanda gebelik, kadınların normalden daha fazla kortizol salgıladığı, hormonal ve duygusal olarak sürekli değişiklikte oldukları bir dönemdir. Hatta annenin hormonal değişikliğine bağlı olarak bulunduğu stresli duygudurum hali doğumdan sonra da devam edebilir(52)(53). Dolayısıyla her ne kadar genetik etkili olsa da annenin çevresel maruz kaldığı stresli durumlar fetüsün sağlıklı gelişimi için çok önemlidir.

Kan beyin bariyerini geçen lipid yapılı GR'ler gelişmekte olan fetüs beynine direkt etki ederek HPA aksının aktivitesinde artışa, yavrunun yetişkinliğinde hipokampal nöronlarda ise GR reseptörlerinde azalmaya ve asetilkolinin artmasına sebep olmaktadır(54). Akut strese bu hormonal yanıtın etkisi kısa süre içerisinde eski haline döner fakat uzun süren stres durumlarında geri dönüşü olmayan etkiler bırakabilmektedir(55)(56). Talge ve arkadaşları prenatal maternal strese kronik olarak maruz kalan çocuklarda yaptığı çalışmada çocukların çoğunda hiperaktivite ve dikkat eksikliği, anksiyete ve geç konuşma gibi durumlar gözlemlediğini belirtmiştir(57).

Prenatal maternal stresin oluşmasında stresin anneden fetüse geçmesinde muhtemel üç farklı yolak vardır. Bunlar:

- a) Placenta aracılığıyla taşınan stres hormonlarının fetüsü etkilemesi
- b) Maternal stresten kaynaklanan placenta hormonlarının fetal döngüye girmesi
- c) Maternal stresin placentadaki kan akımına etkisi sonucu fetüsün etkilenmesi

Hayvanlarla yapılan çalışmalarda maternal stresin yavruya geçişi gebe hayvanın HPA aksının aktivasyonu sonucu artan GR seviyeleri ve fetüsün HPA aktivasyonunun düşüşü ile açıklanır(54). Kemirgenlerin HPA aksının prenatal dönemde gelişmeye başlayıp postnatal dönemde nöroendokrin sistemin gelişimini tamamlaması nedeniyle kemirgen modeller maternal stres modeli olarak sıkça kullanılmaktadır(58).

Anne ile fetüs arasında koruyucu özelliği bulunan plasenta, 11 β -hidroksisteroid dehidrojenaz tip 2 (11 β -HSD2) enzim aracılığıyla insanlarda kortizolu inaktive ederek kortizona dönüştürür, kemirgenlerde ise kortikosteronu inaktif eder(59). Fakat kronik stres durumunda 11 β -HSD2'nin aktivesi düşer ve fetüsün stres hormonlarına maruziyeti artar(60). Dolayısıyla gebe annenin yaşadığı stres sonucu hipotalamustan

gelen uyarıyla hipofiz tarafından CRH salgılanır ve plasantanın içerdiği CRH miktarını artar (55). CRH salınımıyla ACTH salınımı gerçekleşir ve bunun sonucunda adrenal bezlerden salgılanan GR ve daha küçük yapıları MR, hipokampal GR ve MR reseptörlerine bağlanır(61). Annenin artan GR seviyesi fetüste GR ve MR reseptörlerinin azalmasına neden olur. Böylece fetüsün HPA aksının gelişmesinde rol oynar(62). Fetüste artan CRH ve GR hormonları hipokampusün yanı sıra korku ve duygudurum düzenlemesinde rol oynayan amigdalada da CRH artışına neden olmaktadır(63)(64). Bunun yanı sıra gebeliğin ilk dönemlerinde plasantanın ürettiği plasental CRH (pCRH) annenin adrenal bezlerinden salgılanan kortizol/kortikosteron aktivitesiyle üretilerek fetüsün gelişmesinde rol oynar. Normalde pCRH'yi inaktif eden CRH bağlayıcı protein (CRH-BP) gebeliğin son haftasında daha düşük etkiye sahiptir ve bu yüzden pCRH seviyesinde aşırı artış görülür. Bu durum erken doğuma neden olabilmektedir(51)(53). Bu nedenle gebeliğin özellikle son döneminde yaşanan prenatal stres fetüsün organ gelişiminde oldukça önemlidir.

İnsanlarda görülenin aksine kemirgenlerde pCRH bulunmaz. Prenatal strese uzun süre maruz kalan kemirgenlerin annede ve yavruda kortikosteron, ACTH, aldosteron ve katekolamin artışı görülür(65). Sıçanlarda sempatik sinir sistemiyle bağlantılı olarak yüksek seviyede norepinefrin, düşük seviyede dopamin, serotonin ve oksitosin aynı zamanda hipokampüste nörotrofik faktörlerin ve nörojenezin azaldığı saptanmıştır(66)(67). Yüksek seviyede norepinefrin ise düşük kan akımına sebep olarak fetüsün beslenmesini ve oksijen alımını negatif yönde etkiler(64)(68).

Merkezi nöron plastisitesinde, farklılaşmasında ve hayatta kalmasında rol oynayan beyin türevli nörotrofik faktör gelişmekte olan beyin için çok önemlidir. Prenatal maternal strese maruz kalmış yetişkinlerin geliştirebileceği depresyon, anksiyete, öğrenmede güçlük gibi durumlar beyin türevli nörotrofik faktör (BDNF) düşüşüne bağlı olarak açıklanmaktadır(69). Fetüsün gelişmesini etkileyen diğer bir etmen ise adrenal bezler tarafından salgılanan ve fetüsün hipokampal nöronlarının gelişmesinde rol oynayan kortizoldür(68). Artan kortizol maternal kaynaklı veya fetüste artan pCRH'ye bağlı oluşmaktadır. Her iki kaynaklı üretilen fazla kortizolun hipokampal nörojenez, sinaptojenez ve nöronal göç üzerine etkileri merkezi sinir sisteminin gelişiminde önemlidir ve fazlası yetişkinlikte depresyon gibi psikiyatrik durumların temelini oluşturabilir(53)(70).

Strese verilen yanıtta cinsiyete göre farklılık görüldüğü gibi maternal strese de erkekler yavrularda GR yoğunluğunun dişilere göre daha az olduğu görülmektedir. Maternal stres erkek yavruların testosteron hormonunu düşürdüğü görülürken dişilerde ise maskülenize etkiler görülmüştür(71). Aynı zamanda dişilerde kortikosteron seviyesinin erkeklerden daha fazla olduğu belirtilmiştir(72). Bu hayvan modelleriyle yapılan çalışmalarda anneye verilen fizyolojik ve psikososyal stresörlerle yavrunun nöronal gelişimi, beyinlerindeki yapısal değişiklikler ve yetişkinlik dönemlerindeki etkileri insan çalışmalarına da ışık tutmaktadır(47)(48)(73). Dolayısıyla prenatal sıkıştırma stresi kronik uygulandığında HPA aksının uzun süreli aktivasyonu ile yavrularda depresyon benzeri davranışlarla beraber yüksek anksiyete, öğrenme ve hafıza problemleriyle ilişkili olduğundan maternal stres modeli olarak kullanılmaktadır(74).

2.1.5. Sıçan Stres Modelleri

Depresyon, anksiyete, şizofreni gibi pek çok psikiyatrik bozuklukların yapısal mekanizmalarını açıklayabilmek için birçok hayvan modeli geliştirilmiştir(75). Deneysel hayvan modelleriyle özellikle kemirgenlerle yapılan çalışmalarda stres sonrası oluşan stres modelleri, beyindeki yapısal ve biyokimyasal değişiklikleri destekler niteliktedir(30). Böylece hayvanlarda oluşturulan stres modelleri çoğu psikiyatrik hastalık için preklinik olanak sağlar.

Laboratuvar hayvanlarında akut ya da kronik uygulanan stres modellerinde fizyolojik ve psikososyal olarak pek çok stres modeli geliştirilmiştir. Yenidoğan hayvanı anneden ayırma, yüksek sese maruz bırakma, şiddetli ışık verme, yemek kısıtlaması, sirkadyen ritim değişiklikleri, zorlu yüzdürme ve yırtıcı hayvandan kaynaklanan sosyal yenilgi gibi modeller duygusal stres modelleri olarak çalışılmaktadır. Sıkıştırma, hareketsiz bırakma (immobilizasyon), sıcaklık değişikliği, kuyruğa veya ayağa verilen elektrik şoku, ekzojen madde enjeksiyonu gibi modeller de deney hayvanlarında kullanılan diğer stres verme yöntemleridir. Hayvanlarda kasların sertleşmesi, tüylerin dikleşmesi, kaçmaya ve ısırma çabası, dışkılama gibi belirtiler stres göstergesi olarak kabul edilir. Bu stres modelleri hayvanın erken gelişiminde veya yetişkinliğinde araştırmacıya bağlı olarak uygulanabilir(58)(75).

Kronik stres modeli olarak uygulanan diğerk bir yöntem ise hayvanın stres durumuna adaptasyonunu önlemek adına çeşitli stres uyaranlarıyla oluşturulan beklenmedik stres modelidir. Bu model kişilerin günlük hayatta çeşitli stresörlere maruz kalmasından dolayı daha gerçekçi bir model olduğu söylenebilir. Bu yöntemde özellikle kemirgenlerde çalışıldığında depresyon benzeri belirtiler ve glukoz tüketme isteklerinde azalmalar görülür(40)(75). Bununla beraber uzun süre strese maruz kalan sıçanlarda öğrenilmiş çaresizliğe bağlı olarak korku hissinin kaybolması görülebilmektedir(39).

Vyas ve arkadaşları, sıçanlarda yaptığı çalışmada beklenmedik kronik stres ve kronik immobilize stres modelinin hipokampal ve amigdaladaki morfolojik yapılarına etkilerini göstermişlerdir. Hipokampüsün CA3 piramidal nöronlarında ve dendritlerinde azalma hareketsiz sıçanlarda daha fazla görülmekle beraber amigdalanın basolateral çekirdeğindeki nöronlarında artış görülmüştür(76). Yapılan bir diğerk çalışmada ise CA3'teki dendritlerin azalmasının erkek sıçanlarda dişilere göre daha fazla olduğu belirtilmiştir(77). Aynı zamanda hipokampüsteki bu morfolojik değişiklikler sıçanların uzaysal öğrenme ve hafıza becerilerinde düşüşe neden olmaktadır(78). Bunun yanı sıra prenatal uygulanan stres modelleri ise salin enjeksiyonu, zorlu yüzdürme ve kalabalık kafese koyma olarak belirtilmiştir. Etkisinin daha fazla olduğu belirtildiğinden en sık kullanılan prenatal stres modeli sıkıştırma stresi, tek başına veya ışık, ses, sıcaklık gibi parametreler eklenerek de uygulanmaktadır(51).

2.1.5.1. Prenatal Sıkıştırma Stresi

Prenatal sıkıştırma stresi (PSS) gebe sıçanın boyutlarına göre nefes alabileceği fakat hareket kabiliyetlerinin sınırlı olduğu silindirler içerisinde sıkıştırılarak kronik veya akut olarak uygulanan maternal bir stres yöntemidir. Gece aktif olan sıçanlarda artan kortikosteronu etkilediğinden stres modeli oluşturabilmek adına sıkıştırma zamanının gündüz olması önemlidir(72). İmmobilizasyon yönteminde uzuvlarından 1-2 saatliğine bantlarla yapıştırılıp tamamen hareketsiz bırakılan sıçanlar sıkıştırma stresinde dar silindir tüplerde kısıtlı hareket imkanına sahiptir. Hem sıkıştırma stresi hem de immobilizasyon yöntemi hayvanın adaptasyon seviyesinin düşük olduğu ve depresyon benzeri davranışlarda artış olduğu kanıtlanmıştır(75)(79).

Kemirgenlerle yapılan çalışmalarda kronik uygulanan prenatal sıkıştırma stresinin yavrularda erken gelişim ve yetişkinliklerinde çeşitli fizyolojik ve davranışsal anormallikler olduğu görülmüştür. Yavruların yanı sıra anne sıçanlarda da anksiyete ve depresyon benzeri davranışlar yavrular sütten kesildikten sonra da devam etmiştir(80). PSS ile fazla kortikosterona maruz kalan yavruların HPA aksı zarar görmektedir(73). Hipokampuslerinde GR ve MR reseptörlerinde artışa ve glutamat reseptörlerinin azalmasına bağlı olarak sinaptik plastisitede azalmaya neden olmaktadır(81)(82). PSS uygulanan sıçanın plasentasında glukoz taşıyıcısı mGLU1 ve yavrularda glukoz seviyesinin düşük olduğu belirtilmiştir. Maternal kortikosteron seviyesinin artması plasentada kan akımını etkileyerek vazokonstriksiyona sebep olabilmektedir. Bu da erken doğum riskini yükselten bir faktördür(73). Bunun yanı sıra diğer kronik stres modellerinde olduğu gibi dendritik atrofi, GR artışı ve NMDA reseptörlerindeki uyarılma artmıştır. Bu uyarılmanın artmasıyla nitrik oksitin artışı arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur(83). Aynı zamanda bu uyarılmaya bağlı olarak dopamin reseptörlerinin de uyarılması uzun süreli potansiyasyonun etkilenmesine neden olmaktadır. Dolayısıyla yetişkinlikteki öğrenme ve hafıza becerilerini etkilemektedir(84). Maternal bir stres yöntemi olan PSS kemirgenlerde kronik olarak uygulandığında depresyon benzeri davranışlar görülür. Dolayısıyla stresin indüklediği depresyon modeli olarak antidepresan çalışmalarında da kullanılmaktadır(85).

2.1.6. Stres ve Öğrenme

Stres, sempatik sinir sistemi ve HPA aksı üzerinden oluşturduğu yanıt ile katekolaminler ve GR ile öğrenme ve hafıza becerilerini etkiler(86). Bu durumda stresörlerin miktarı, stresörlere ne kadar maruz kalındığı, cinsiyet, yaş ve genetik faktörler de önem taşımaktadır. Düşük seviyede GR salınımı öğrenme ve hafıza performansını artırırken aşırı seviyede GR hipokampal aktivasyonun azalması ve amigdala aktivasyonunun artmasıyla öğrenme ve hafızada bozukluklara yol açar(87).

Öğrenme ve hafızanın iki prensibi nöron artışı ve sinaptik plastisitenin artışıdır. Bilginin nöronlar arası iletişimle depolanabileceği ilk kez Cajal tarafından belirtilirken deneyimlere bağlı bilgiye özel olarak sinapsların güçlenmesinden ilk defa Hebb bahsetmiştir. Bilgiye özel olarak güçlenen sinapsların aynı zamanda hafızadan geri

getirmede de aktif olduğunu belirtmiştir. Bazal ön beyin kolinerjik nöronlarının hipokampus, singulat korteks, amigdala gibi yapılarda gamma-aminobütirik asit (GABA) ve NMDA reseptörleriyle bağlantılar kurmasıyla kognitif süreçlerde ve öğrenmede rolü olduğu bilinmektedir(86). Aynı zamanda hipokampus, amigdala, medial septum ve neokorteksteeki hasarların hafıza süreçlerinde bozukluğa yol açtığı bilinmektedir. Dolayısıyla GR, norepinefrin, kolinerjik, glutamaterjik nöronlar öğrenme ve hafıza süreçlerinde rol oynar. Bununa beraber stres hipokampus ve prefrontal korteks başta olmak üzere nöron morfolojisini değiştirdiğinden bu durum bilişsel becerilerde de hasara yol açar(88).

NMDA reseptörlerinin aktivasyonu ile depolanan bilgiyi düzenleyen hipokampal glutamaterjik sinapsları modüle eden iki farklı sinaptik aktivite vardır. Uzun süreli potansiyasyon (LTP) sinaptik taşınmanın arttığı ve güçlendiği uzun süreli biyokimyasal reaksiyonlardır. Öğrenme ve hafıza için önemli olan diğer bir mekanizma ise uzun süreli depresyon (LTD) dur. Düşük sıklıkta sinaptik uyarılarla sinaptik iletişim gittikçe zayıflar ve LTD oluşur. LTP ve LTD aynı mekanizmalar üzerinden gerçekleşir. Sinaptik taşınmanın güçlenmesinin inhibe edilmesi, yeni sinaptik iletişimin sağlanabilmesi ve öğrenilen bilginin depolanabilmesi için LTD gereklidir(89).

LTP için hipokampüste nikotinik ve muskarinik Ach reseptörleri gereklidir. Bu reseptörlerin aktivasyonu ile NMDA glutamat reseptörlerinin aktivasyonu artar ve LTP indüklenir. Stres altında kolinerjik nöronların iletişimi zarar görür. Dolayısıyla LTP'ye bağlı olarak öğrenme ve hafıza olumsuz yönde etkilenir(90). Bununla beraber Mossy fibril terminallerinden aşırı salgılanan glutamat postsinaptik hücrede aynı reaksiyonu göstermez. Dolayısıyla CA3-DG arasındaki sinaptik iletişim non-asosiyatif LTP'dir. Ancak Schaffer kollateallerinin postsinaptik nöronlarında LTP için AMPA ve NMDA reseptörlerinin aktifleşmesi gerekir. Dolayısıyla CA3-CA1 arası iletişim asosiyatif LTP'dir. Aynı zamanda LTP'nin gerçekleşebilmesi için spesifik sinapsların da aktifleşmesi gerekir. Bu gerçekleşmezse güçlenme olmaz ve LTP oluşmaz(89).

Kortikosteroidlerin LTP'yi hızlandırarak öğrenme anında yararlı olduğu fakat aşırı derecede salgılanmasıyla öğrenme sonrasında bilgiyi bellekten geri getirmeyi olumsuz yönde etkilediği bilinmektedir. Bu da strese maruz kalınan sürenin önemine

dikkat çekmektedir. Stres hormonları kısa sürede öğrenilen bilginin hafızada depolanmasına yardımcı olurken, uzun sürede nöroenez ve sinaptik aktiviteyi olumsuz yönde etkiler(91). Fiziksel stres subkortikal çekirdekleri etkilerken psikolojik stresörler limbik sisteme etki eder(92). CRH ve noradrenalinin LTP'ye benzer şekilde bilgiyi korumak için hipokampüste LTP'yi hızlandırdığı LTD'yi yavaşlattığı görülmüştür. Fakat tekrarlayan strese tam tersi LTD'nin artarak sinaptik güçlenmeyi azalttığı saptanmıştır (91). Hayvanlarla yapılan çalışmalarda kaçınma davranışının öğrenilmesinin bellek becerisinde hem kortikosteroidler hem de bazolateral amigdalada noradrenalin artışı önem taşımaktadır(93).

Kişiler travmatik olaylara maruz kaldıklarında bu olayları daha sonrasında çok iyi hatırlar fakat çoğu zaman hatırladıkları bu bilgiler doğru olmayabilir. Bu nedenle stresin öğrenmeye ve hafızaya olan etkisi henüz açıklanamamış değildir. Bazı literatürlerde öğrenme ve hafızayı artıran bazılarında ise zarar veren bir faktör olarak belirtilmiştir(91).

2.2.Epilepsi

Epilepsi beyindeki anormal aktivite ile ortaya çıkan çeşitli içsel ve çevresel uyaranlarla tetiklenebilen ve spontan nöbetlere sebep olan dünyada yaklaşık 50 milyon kişiyi etkileyen nörolojik bir bozukluktur(6)(7). Uluslararası Epilepsi Karşıtı Derneği (ILAE) **epileptik nöbet** kavramını beyindeki anormal derecede aşırı veya senkronize nöronal aktivite nedeniyle oluşan geçici belirtiler olarak tanımlamıştır. Nöbetleri idiyopatik, semptomatik ve kriptojenik olarak sınıflanmıştır(94).

Nöbet oluşumu birbirini takip eden 5 farklı aşamadan oluşmaktadır. İnteriktal durum patofizyolojik aktivitelerin tetiklediği epileptik nöbetlerin minimal derecede olduğu sessiz dönemdir. İktal başlangıç, interiktal durumdan geçiş olarak uyarılabilirliğin veya senkron bozukluğunun arttığı, inhibitör mekanizmaların azaldığı, bu durumun fokal ya da jeneralize olarak giderek yayıldığı dönemdir. Daha sonrasında bunu, farklı nöronal mekanizmalar aracılığıyla nöbetin sonlandığı dönem olan iktal sonlanma dönemi takip eder. Post iktal dönemde ise uzun süren nöronal fonksiyonlarda bozukluk, yapısal değişiklikler ve anormal sinaptik bağlantılar görülmektedir. Bir bölgede iktal aktivite görülmeye başlandığında çevresindeki nöronlarda da senkronize interiktal dalgalanmalar görülmeye başlanır(10)(95).

Epilepsi ise nörobiyolojik, bilişsel, psikolojik ve sosyal durumlardan etkilenen epileptik nöbet oluşumuna sürekli bir eğilimin olduğu bir bozukluktur. Davranışsal olarak nöbetlerle beraber mental retardasyon gibi bozuklukların eşlik ettiği tüm durumlar ise **epilepsi sendromu** olarak tanımlanır. West sendromu, Lennox-Gastaut sendromu, lafora hastalığı epilepsi sendromlarına örnek gösterilebilir. Epilepsi tanımı için koşullar;

- 1) 24 saatten fazla arayla en az iki sebepsiz nöbetin görülmesi
- 2) Bir sebepsiz nöbet ve 10 yıl içerisinde iki sebepsiz nöbetin genel tekrarlama riski (%60) çerçevesinde tekrarlama olasılığı
- 3) Epilepsi sendromu tanısıdır (94).

İlk nöbetten sonra diğerinin oluşma riski %40-52 arasındadır. Sebepsiz febril nöbet sonrasında diğer bir nöbetin 4 yıl içinde oluşma riski %60-90 arasındadır(96)(97). Çocukluk ve ergenlik döneminde en sık, serebral hastalıklardan dolayı ise yaşlılıkta rastlanır(98).

Glutamaterjik ve GABAerjik sinaptik taşıma, sinaptik olmayan etkileşimler, gap junctionlar, ekstraselüler iyonlar ve glial homeostasis nöbeti başlatan, senkronize hale getiren ve sonlandıran temel faktörlerdir. Epilepsinin temel olarak mekanizmasında artmış nöron uyarılabilirliği ve azalmış inhibasyon söz konusudur. Epileptojenik bölgede postsinaptik potansiyelin artmasıyla beraber artan depolarizasyon ve buna karşı inhibasyonun gerçekleşmemesi sonucunda kronik, uzun ve şiddetli nöbetler oluşmaktadır. Dolayısıyla inhibitör internöronların aktivitesinin düşmesi ve hipersenkronizasyonu, GABA reseptörlerinin değişmesiyle GABA salınımının azalması, NMDA ve AMPA'ya bağlı glutamat artışı görülür. Bunun sonucunda hipereksititibilite yaşanır. Nöronların senkronize depolarizasyonu sonrasında nöbet tekrar aynı mekanizmanın üzerinden hiperpolarizasyon ile son bulur(98). Bu durum voltaj kapılı iyon kanallarının dengesiz aktivitesi ile de bağlantılıdır(10)(95).

Bunun yanı sıra epilepsiden en çok etkilenen beyin yapısı hipokampüsteki eksitator Mossy liflerinde ve inhibitör internöronlarında kayıp görülür. Zarar gören mossy aksonları dengesiz bir şekilde dağılarak yakınındaki dentat granül hücrelerini uyarır. Dentat granül hücrelerin aksonları da böylece tekrar organize olur ve hipokampusun moleküler katmanına dağılır. Aynı zamanda inhibitör internöronların kaybı granül hücrelerin uyarılmışlığını baskılayamaz ve nöbet eşiğine yaklaşılr. Bu

sinaptik organizasyon bozukluğu akut bir nöbetten sonra tekrar organize olmaya başlar ve latent dönem adı verilen süresi farklılık gösteren bu dönemde nöbet görülmez. Fakat latent dönemden sonra spontan gelişen tekrarlayan nöbetler görülebilmektedir(99)(100)(101)(102). Bu nedenle latent dönemdeki nöronal proliferasyon, diferensiyasyon ve migrasyon ergenlik veya yetişkinlikte tekrar nöbet oluşma riski açısından çok önemlidir.

Epilepside en sık görülen nöropatolojiler hipokampüste atrofi ve gliosisin gerçekleştiği hipokampal skleroz ve fokal kortikal displazidir. Hipokampal sklerozda CA piramidal nöron kaybı, DG granül hücrelerin, moleküler katmana ve CA3'e dengesiz dağıldığı görülür. Daha sonra subikulumdan çıkarak tüm kortekse dağılarak davranışsal olarak nöbet oluşmasına yol açar. Fokal kortikal displazide ise epileptik bölgede büyük somalı balon hücreler görülmektedir(103)(104). Bu durum kortikal laminaları da etkileyerek nöronların dengesiz bir sinaptik ağ oluşturmaya neden olur, motor nöronların da bu durumdan etkilenmesiyle tonik- klonik nöbetler görülmektedir. Bunun haricinde tuberskleroz, Rasmussen ensefaliti, hemimegalensefali gibi nöropatolojiler de epilepsi ile komorbite gösteren diğer nörolojik bozukluklardır(10)(105).

Doğumdan sonra gelişmeye devam eden beyinin akut nöbet geçirme olasılığı genetik ve çevresel faktörlerle daha fazladır. Fakat yeni doğanın nöbete karşı olan direnci, yetişkinden daha fazladır. Yine de nöronal hasar ilerleyen dönemlerde artan epileptojenik aktivite ile kendini gösterebilmektedir. Dolayısıyla nöbetin oluşması ve yayılması ileriki dönemlerde epilepsinin kronikleşmesinde hücrel uyarlabilirlik, artan sinaptik uyarlabilirlik, epileptik deşarja eğilimin olması çok önemlidir(10). Özellikle neokorteks oluşumunda VZ'den inhibitör internöronlar aracılığıyla göç eden nöronlar epilepsi dahil pek çok nörolojik bozukluğa neden olabilmektedir. Genetik bozukluklara bağlı nöronal heterotopia lisensefali gibi korteksin tamamını etkilerken, embriyonik dönemde gerçekleşen göç hataları gri madde oluşumuna zarar verir ve fokal olarak nöbet oluşumunu tetikleyebilmektedir(10)(106)(107).

2.2.1.Epilepsi Türleri

Epilepsi nöbet karakteristiklerine, sıklığına, nöbet görülme yaşına, diğer nörolojik bozukluklarla olan ilişkisine, elektroensefalografi bulgularına ve genetik

faktörlere dayanılarak pek çok sınıfa ayrılır. En az 15 farklı nöbet ve 30'a yakın epilepsi sendromu tanımlanmıştır(108). Temel olarak idiyopatik epilepsi herhangi bir beyin lezyonuna bağlı olmaz ve kolayca kontrol edilebilir. Semptomatik epilepsi ise beyindeki ensefalopati, tümör, lezyon gibi sorunlardan veya metabolik, kromozomal, enfeksiyon gibi farklı etiyolojilerden kaynaklanabilmektedir(10)(102).

ILAE epilepsi türlerini kendiliğinden sonlanan, devamlı veya refleks ve fokal veya jeneralize olarak sınıflandırmıştır. **Jeneralize nöbetler** tüm serebral korteksi etkilerken **fokal nöbetler** ise beyin bir bölgesinde görülür. Temporal lob epilepsisi en sık karşılaşılan fokal nöbetlerden biridir. Büyük oranda hafızadan sorumlu hipokampusun unilateral etkilenmesiyle temporal lob epilepsisinde amneziler yaşanabilmektedir(10). Hipokampusun CA3 ve CA1 bölgeleri büyük ölçüde etkilenir ve genellikle nöbet başlamadan önce duyuşal auralar görülür. Aynı şekilde parietal lob epilepsisinde duyuşal uyuşukluk, oksipital lob epilepsisinde şiddetli ışık parlamaları görülmektedir. Frontal lob epilepsisi ise motor nöbetler olarak bilinir ve motor fonksiyonları etkilemektedir. Fokal nöbet beyin diğer bölgelerine yayıldığında jeneralize tonik klonik nöbet haline dönüşür(95)(109)

Jeneralize nöbetlerde uzuvlarda kasılmalar başlar (tonik faz) ve daha sonra bu kasılmalar ritmik şekilde devam eder (klonik faz). Grand mal olarak bilinen jeneralize nöbetlerde tüm vücut etkilenir ve bilinç kaybı görülür. Beyinden sapından başlayarak mamiller çekirdek ve anterior talamusun tetiklenmesiyle ve subkortikal çekirdeklerin modülatör rolüyle konvulsif nöbetler gerçekleşir(95). **Absans nöbetler** de jeneralize olarak günde 100'den fazla olmak üzere bilinç kaybıyla beraber görülen petit mal olarak adlandırılan hafif nöbetlerdir ve kendiliğinden sonlanır. Jeneralize gerçekleşen nöbetler olduğundan talamokortikal ağda gerçekleşen dengesizlikten kaynaklanır. En fazla çocukluk ve ergenlik dönemlerinde görülür. Miyoklonik nöbetler kasların aniden kasılmasıyla bazı uzuvların etkilendiği bilincin açık olduğu absans nöbet çeşididir. Bununla beraber tonik nöbet tüm vücudun kasıldığı ve geçici paralize durumun görüldüğü, atonik nöbet ise kaslarda gevşemeyle hareketsiz kalınan bir absans nöbettir(10)(108)

Nöbetin tonik klonik olarak uzun süre devam etmesi ise **status epilepticus** olarak adlandırılır. Bunun yanı sıra çevresel etmenlere bağlı gelişen nöbet çeşitlerine de

hipertermi kaynaklı febril nöbetler, akut metabolik veya toksik madde kaynaklı nöbetler örnek gösterilebilir(94)(98)(102).

2.2.2. Epilepsi ve Maternal Stres

Epilepsi ve stres birbirlerini tetikleyen iki faktördür. Nöbet ve epilepsi oluşumunda stres en önemli tetikleyici faktörlerden biriyken epileptik hastalarda da strese eğilimin daha fazla olduğu görülmektedir (6). Özellikle temporal lob epilepsisinde limbik sistemin etkilenmesinden dolayı stresörlere bağlı değişiklikler daha fazla görülmektedir(10). Kortikosteroidlerin hücre içinde kalsiyumun artmasını tetiklemesiyle nöronlar güçlü bir şekilde depolarize olabilir ve bu da epileptik aktiviteye neden olabilir. Özellikle kortizol, CRH, ACTH gibi diğer stres hormonlarının özellikle pediatrik epilepsilerde nöbet kontrolünde etkisi olduğu bilinmektedir (110).

Bununla beraber prenatal veya postnatal maruz kalınan maternal stres özellikle ergenlik ve yetişkinlikte epilepsi veya nöbet oluşumunu tetikleyen bir faktördür(55). Bu bağlamda hayvanlarla oluşturulan epilepsi veya epileptojenez modellerinde özellikle prenatal stresin yavruların gelişimleri boyunca nöbet sıklığının ve şiddetinin artmasına neden olur(111). Yetişkinlik dönemlerinde de strese ve nöbete karşı eğilimlerinin daha fazla olmasına yol açar(110). Yapısal olarak ise normalde stresin nörojenezi azaltan bir faktör olduğu bilinirken epilepsiye bağlı olarak nörojenezi artırdığı fakat piramidal hücre kayıplarına ve nöronal migrasyonda hatalara neden olduğu görülmüştür(112).

HPA aksının aktivasyonu ile salgılanan steroidler özellikle GR ve CRH beyindeki eksitator ve inhibitör ağı etkileyerek nöbet oluşumunda rol oynar. GR ekstraselüler glutamat seviyesini ve kalsiyum iletkenliğini artırarak CRH ise hipokampal internöronlar üzerinden epileptiform aktiviteye neden olur. Prenatal maternal strese de 11 β -HSD2'nin etkisinin azalmasıyla fetüsün pCRH'ye aşırı derecede maruz kalması yavrunun gelişmekte olan beynin epileptik yatkınlığına sebep olur(55).

Maternal stresin epilepsiyi ve epileptojenez tetikleyebilen bir faktör olmasının yanı sıra anti konvulsant ve nöbete dirençlilik özelliğinin olduğu belirtilen çalışmalar

da yer almaktadır(113)(114). Dolayısıyla stresin tetikleyici veya koruyucu olup olmadığı halen araştırma konusudur.

2.2.3. Epileptojenez

Epileptojenez kavramı beyinde spontan gelişen nöbetlerin veya epilepsi oluşumuna neden olan tüm hücresel aktiviteleri kapsar. Daha sonrasında epileptik bir beyin oluşumu ile spontan gelişen nöbet oluşturabilme sürecini tanımlar. Genellikle üç faza ayrılır: tetikleyici bir durumun olduğu ve ilk nöbetin olduğu akut faz, klinik olarak bir semptomun görülmediği latent faz ve bir süre sonra tekrar spontan nöbetlerin görüldüğü fazdır (98)(103).

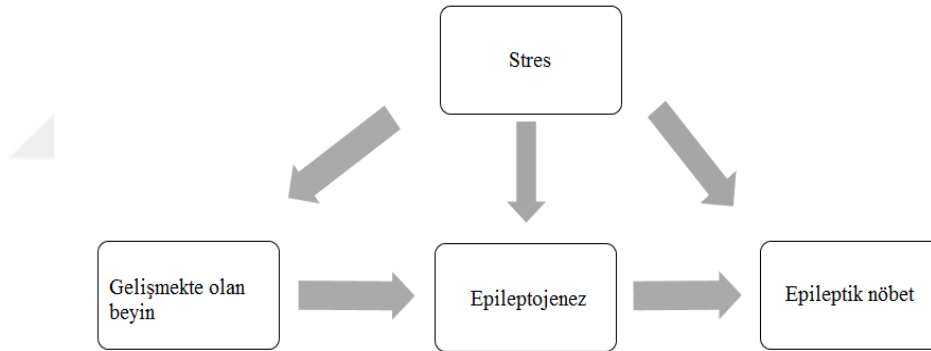
İdiyopatik epilepsi genellikle yaşa bağlı olarak gelişmektedir. Prenatal veya neonatal dönemde nöbet oluşumu yıllar sonra kendini göstermeye başlar. Çocukluk absans nöbetlerinin yanı sıra çoğunlukla ergenlik ve yetişkinlikte epilepsi sendromları görülmeye başlanır. Latent dönemdeki nöronal proliferasyon ve migrasyon neonatal dönemde akut yaşanan nöbetin ergenlikte veya yetişkinlikte ortaya çıkması açısından çok önemlidir. Nitekim 7 günlük sıçanlardaki nöbet semptomlarının postnatal 3. Haftada tekrarladığı görülmüştür(10)(115). Semptomatik epilepsi ise beyindeki herhangi bir travma ve lezyondan kaynaklandığından teşhis ve tedavi açısından nöbet oluşumu tahmin edilebilmektedir (10).

Temporal lob epilepsisinde erken oluşan nöbete bağlı hipokampüste DG progenitör hücrelerin migrasyon hataları dolayısıyla ektopik granüler katman oluşur ve bunun sonucunda nöbet oluşum riski veya tetiklenmesiyle beraber bilişsel süreçler de zarar görmektedir. Diğer yandan GABA'nın azalmasıyla SVZ'den göç eden nöroblast sayısı da olumsuz yönde etkilenmektedir. Fakat voltaj kapılı ve ligand kapılı kanalların genetik mutasyonu ile beraber embriyonik veya postnatal dönemdeki nöronal gelişim de epileptojenezde büyük rol oynamaktadır(10).

Epilepsi oluşma riskini belirleyen diğer bir faktör de hipokampüste Mossy liflerinin dağılışı şeklidir. Çünkü özellikle temporal lob epilepsisinde Mossy liflerinin DG granüler katmanından moleküler katmanına anormal bir şekilde dağıldığı görülür. Bunun nedeni DG granüler nöronlarının aşırı deşarj olmasından kaynaklanmaktadır. Aynı zamanda DG hilusundaki hem eksitator hem inhibitör nöronlarda aşırı bir kayıp

ve ektopik migrasyon görülmektedir. Buna karşılık uzun süren nöbetlerin ve status epilepticusun latent dönemden sonra SVZ ve SGZ progenitorlerinin proliferasyonunu ve göçünü artırdığı görülmüştür. Yeni oluşan DG granüler hücreleri ektopik yerleşerek uyarılabilirliği daha fazladır ve CA3 bölgesini etkileyerek epileptojenezi tetikler(95).

Genetik faktörlerin yanı sıra epileptojenezi pek çok çevresel faktör etkilemektedir. Özellikle postnatal veya prenatal yaşanan maternal stres nöbete eğilimli bir beyin oluşmasında önemli rol oynar. (Şekil 2) Stresörlere uzun süre ve sık olarak maruz kalmak beyin morfolojisini ve moleküler yapısını değiştirerek epileptojenezi tetiklemektedir(6)(116). Prenatal dönemde aşırı kortikosteroide maruz kalan fetüsün doğumdan sonra beyin gelişimiyle nöbete duyarlılığı daha fazladır (55). Hatta bu durum cinsiyete bağlı olarak da değişiklik göstermektedir(117). Dolayısıyla stres epileptojenezi tetikleyen bir faktör olarak ergenlik ve yetişkinlik dönemine geldiğinde beyin yapısıyla beraber bilişsel ve davranışsal sorunlara da neden olmaktadır(118).



Şekil 2: Erken dönemde yaşanan stres gelişmekte olan beyni etkileyerek epileptojenezi tetikler ve ileriki dönemlerde nöbete oluşturma riskini artırır (6).

Özetle epileptojenez spesifik bir bölgede nöronların spontan bir şekilde deşarj olması aura veya nöbet oluşturup oluşturmaksızın epilepsinin oluşum ve olgunlaşma sürecini kapsar(95). Nöbetin davranışsal olarak gerçekleşmeden oluşma riskini veya akut gerçekleşen nöbetin tekrarlama olasılığının aydınlatılmasıyla anti epileptik tedavilerden daha çok nöbet ve epilepsi oluşumunu engellemeye yönelik anti epileptojenez tedavilerin geliştirilmesi adına önemlidir.

2.2.4. Sıçan Epilepsi Modelleri

Nöbet ve epilepsi oluşumunun altında yatan nörobiyolojik, yapısal ve hücresel mekanizmaların anlaşılabilmesi ve tedavide yenilikler için hayvanlarla yapılan çalışmalar büyük önem taşımaktadır. Bu nedenle genetik, kimyasal ve çevresel uyarıcılarla pek çok model geliştirilmiştir. (Şekil 3)

Neonatal hipertermi ile oluşturulan febril nöbetler, hipoksi, iskemi, beyin travması, inme ile oluşturulan nöbetler çevresel uyaranla oluşturulan modeller arasındadır. Aynı zamanda status epilepticus tekrarlayan lokal olarak uygulanan kindling yani ateşleme, elektrikle stimülasyon veya kimyasallar ile oluşturulur. Kimyasallar ile akut veya kronik olarak tetanus toksini pilocarpine, kainik asit, pentylenetetrazol, methylazoxmethanol, flurothyl, lithium/pilocarpine, penisilin epilepsi çalışmalarında kullanılan kimyasal modellerdendir. Bunun haricinde Genetik olarak Epilepsiye Eğilimli Sıçan (GEPR), P77PMC, Wistar Albino Glaxo/Rijwijk, Wistar Odyojenik Duyarlı Sıçan, Wistar Odyojenik Sıçan gibi oluşturulan genetik modeller de epilepsi araştırmalarında oldukça önemlidir(119)(120).

Geliştirilen farklı modeller ile gelişim boyunca nöronal uyarılabilirliğin artmasıyla epileptik aktivitenin ve davranışsal sonuçlarının görülmesi epilepsi ve nöbet bozukluklarının etiyolojisinin anlaşılması için büyük bir olanak sağlamaktadır.

Akut nöbet Modelleri	Status Epilepticus Modelleri	Fokal Epilepsi Modelleri	Jeneralize Epilepsi Modelleri
•Jeneralize tonik-klonik •Fokal •Absans •Febril •Tonik •Miyoklonik •Epileptik spazm •Atonik	•Limbik SE •Tonik-klonik •Absans •Neokortikal	•Limbik •Jeneralize tonik-klonik •Genetik •Travmatik beyin hasarı •Fokal neokortikal •Kortikal displazi •İnme •Hipoksi-/İskemi •Enfeksiyon •Tüberskleroz •Miyoklonik	•Jeneralize tonik-klonik •Absans •Miyoklonik

Tablo 1: Sıçanlarda yapılan çalışmalarda kullanılan çevresel ve kimyasal epilepsi ve nöbet modelleri(121)

2.2.4.1. Pentilenetetrazol Modeli

Pentilenetetrazol (PTZ) yeni doğan sıçanda yeterli miktarda verildiğinde jeneralize tonik klonik hareketler ile status epilepticus oluşturan, GABAa antagonisti bir kimyasaldır.(119)(120). Salin, su gibi sıvıların içerisinde rahatlıkla çözünür ve intraperitoneal, intravenöz veya subkutan olarak uygulanabilmektedir(122). PTZ akut veya kronik olarak erken dönem nöbet modellerinde sıkça kullanılmaktadır(123). 7. günden sonra PTZ verildikten sonra sırasıyla donma, miyoklonik seyirme, yüz ve ön ayaklarda kasılma ve jeneralize tonik klonik hareketler görülür. Tekrarlı olarak verildiğinde ise gelişim boyunca kısa nöbetler görülebilmektedir(10)(124). Status epilepticus modeli olarak da kullanılan PTZ özellikle beyin sapında yüksek metabolik bir artışa sebep olur. Dolayısıyla hayvanın otonom hareketleri kısıtlanır ve ölümler görülebilmektedir(125).

Yeni doğan PTZ'ye maruz kaldığında hipokampusta nöron kaybı çok az veya hiç olmaz fakat sinaptik reorganizasyon ile etkileri 3. Haftadan sonra kendini göstermeye başlar(10). DG granüler hücrelerin artmasıyla Mossy lifler supragranüler alana ve CA3 bölgesine anormal bir şekilde dağılır(126). Bununla beraber PTZ kognitif bozukluklara yol açmaktadır(127).

Prenatal uygulanan maternal stresin PTZ ile oluşturulan nöbet modellerinde yaşa ve cinsiyete bağlı olarak farklı davranışsal etkileri olmaktadır(128). Maternal strese maruz kalan yavrularda depresyon benzeri davranışlar daha yüksek olabilmektedir. Dolayısıyla fizyolojik ve davranışsal değişikliklerle beraber stresli yavrularda PTZ'ye ve nöbet oluşturmaya duyarlılık daha fazladır(129). Özellikle prenatal uygulanan strese maruz kalan yavruların PTZ ile birlikte nöbet oluşturma potansiyeli ergenlik öncesi dönemde daha fazladır (130).

2.2.4.2. Hipoksi Modeli

Hipoksik ensefalopati yeni doğanda görülen en sık beyin hasarlarından biridir. Hipoksi, nöbet bozukluklarına yol açabilmektedir ve yaşamın ileriki dönemlerinde nöromotor, epileptojenik ve nörokognitif etkileri de olmaktadır. Aynı zamanda kısa ve tekrarlayan nöbetlerin oluşmasına neden olabilmektedir(10)(131)(132). Yenidoğanda semptomatik epilepsi gelişiminde rol oynayan hipoksiye maruz kalma serbest radikal salınımı, hücre içinde asidik oranın artması ve apoptotik süreçlerin hızlanmasında rol

oyunar(10). Hipoksiye maruz bırakılmış yeni doğan sıçanlarda kısa bir süre içerisinde AMPA reseptör aktivasyonunun artmasıyla GABA reseptörlerinin bloklandığı görülmüştür. Dolayısıyla nöron uyarılabilirliğinin artmasıyla uzun süreli fizyolojik değişiklikler gerçekleşmiştir(133).

Yenidoğanda hipoksinin uygulanmasıyla yetişkinlikte epileptik nöbete duyarlılık ve eğilim de artar. Mossy liflerinin anormal dağılışı, uzun süreli davranışsal ve kognitif bozukluklar hipoksinin yetişkinlikteki etkilerinden bazılarıdır. Dolayısıyla hipoksi indüklü nöbetler hipokampusta uzun süreli potansiyasyon gibi sinaptik ağa etki ederek beyin gelişimine uzun süre etki eder(134)(135). Anti epileptik ilaçların araştırılmasında ve yeni doğanda nöbet gelişiminin incelenmesi adına hipoksi semptomatik epileptik nöbet modeli olarak kullanılan etkili bir yöntemdir(119)(120).

Prenatal uygulanan maternal stres prenatal kan akımı üzerinden adrenalin ile kısa süreli bir hipoksik durum oluşturabilmektedir. Dolayısıyla bu durum beyin gelişimi sürecinde nörotransmitter aktivitesi ve sinaptik plastisiteyi etkileyen bir durum olarak karşımıza çıkar(136). Prenatal olarak strese maruz kalan yeni doğan sıçanlarda uygulanan hipoksinin ise etkileri tam olarak bilinmemektedir.

2.2.5. Epilepsi ve Öğrenme

Epilepsi nöronal ağı etkilemesiyle pek çok davranışsal ve bilişsel anormalliklere neden olur. Normal koşullarda bilginin depolanması ve transferinde hipokampal nöronlar koordine bir şekilde çalışırlar. Fakat interiktal dönemde hipersenkronizasyonun başlamasıyla bilgiyi hafızadan geri getirmede problem yaşanmaktadır. Çünkü senkronizasyonu durduracak olan inhibitör internöronların azlığı aynı zamanda öğrenilen bilginin işlenmesi ve korunmasında da görev almaktadır. Post iktal dönemde de nöbetlerin sıklığına ve şiddetine göre bilişsel beceriler daha uzun süreli olmak üzere olumsuz yönde etkilenir ve hipokampusta sinaptik reorganizasyon gerçekleşir.(95)

Yeni doğan nöbetlere karşı her ne kadar yetişkinlerden daha dayanıklı olsa da öğrenme, hafıza gibi bilişsel süreçleri yetişkinlerden daha çok etkilenir. Erken dönemdeki nöbetler bilişsel ve davranışsal olarak yeni doğanı kalıcı bir şekilde etkiler. Aynı zamanda erken dönem nöbet sonrası yetişkinlikte hipokampal nörogenezin

azalması öğrenme ve hafızaya zarar vermektedir(137). Özellikle status epilepticus hipokampus ve entorhinal korteksteki (EC) LTP ve LTD ağını değiştirerek öğrenme ve hafızaya etki eder. Hayvanlarla yapılan çalışmalarda uzaysal öğrenmenin ilk nöbetten sonra yaşa bağlı olarak azaldığı gözlemlenmiştir. Bununla beraber oksipital lobtaki interiktal nöbetlerin görsel algılamayı da olumsuz yönde etkilediği belirtilmiştir(95).

Epilepsiyle komorbite görülen diğer bir durum ise kronik strestir. Epileptik hayvanlarla yapılan çalışmalarda depresyon benzeri davranışlar, anhedonia gibi belirtiler görülmektedir. Aynı zamanda epileptik olan hayvanların kronik stres ve depresyona daha fazla eğilimi olduğu belirtilmiştir. PTZ ile nöbet oluşturulan sıçanlarda aşırı anksiyete, depresyon benzeri davranışlar ve radyal kollu labirentte düşük öğrenme performansı görülmüştür. Çünkü hipokampusta stres ve nöbet ile gerçekleşen fizyolojik değişikliklerin davranışsal ve kognitif süreçlere etkisi olumsuz yöndedir. Stresli beyinde epileptik nöbetlerin DG granüler hücre nörogenezine ve Mossy sinaptik ağına etkisi ile epileptojeneze yatkınlık daha da artmaktadır (95)(112).

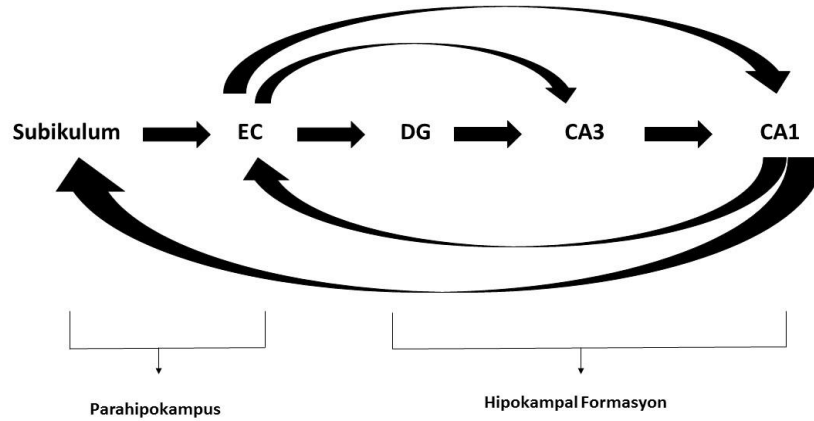
2.3. Hipokampus

2.4.1. Anatomisi

Beynin her iki hemisferinde yer alan beynin en eski kısımlarından olan arşikorteksin ve limbik sistemin bir parçası olan hipokampal formasyon öğrenme, hafıza, navigasyon ve duygulanımda önemli bir merkezdir. Aynı zamanda pek çok psikiyatrik ve nörolojik bozukluğun olduğu bir yapıdır(138). Denizatına benzediği için Yunancada denizatı anlamına gelen hipokampus olarak isimlendirilir. Koroid fissürden gelişmeye başlayarak ventromedial temporal lobta lateral ventrikülün temporal boynuzu boyunca devam eder. Ön tarafına ‘pes hippocampi’ denir ve amygdalanın posteriorunda dorsalda corpus callosuma yakındır(139). Anatomik olarak insan ve sıçan hipokampusu benzerlik gösterir fakat insanda temporal lobta daha ventralde kalırken sıçanda diencephalon boyunca ventrolateral olarak amygdalanın yanında daha uzun kavisli olarak bulunur(140).

Ventikül yüzeyindeki hücreler alveus tabakasını oluşturur ve bu hücreler medialde fimbria yapısını oluşturarak forniksin başlangıcı haline gelir. Dentat gyrus

(DG), Cornu Ammonis (CA), subikulum, entorhinal korteks (EC) olmak üzere bölümlere ayrılır. Prenatal 15-16. Haftalarda DG ve CA içe doğru katlanmaya başlayarak hipokampal formasyonu oluştururken subikulum bölümleri ve entorhinal korteks (EC) parahipokampus olarak adlandırılır(141). Subikulumdan sonra kavis çizerek devam eden kısım sırasıyla CA1, CA2, CA3 ve CA4 olarak adlandırılır. Bu bölge sepet hücreleri denilen internöronlar ve piramidal nöronlardan oluşur. CA4'ün devamında U şeklinde olan ve granüler hücrelerden oluşan DG görülür. DG, subikulum ve CA arasında hipokampal sulcus yer alır ve önde unkal sulkus ile birleşir(138). Hipokampusteki afferent yollar perforan yollar, Mossy ve Schaffer yollarıdır. EC'den uzanan aksonlar subikulum üzerinden DG moleküler katmanına ya da CA1 ve CA3 bölgesine ulaşır. EC'den çıkıp tüm hipokampuse yayılan bu lifler perforan yolak olarak adlandırılır. DG'den çıkan Mossy lifleri ise CA3'e bilgi taşır. Daha sonrasında CA1 Schaffer lifleri aracılığıyla CA3'ten veya entorhinal korteksten bilgileri alır subikulum üzerinden prefrontal korteks ve diğer beyin bölgelerine gönderir. Hipokampüse gelen duyuşal girdiler forniksten çıkarak subikulumun hemen bitişiğindeki kollateral sulkusa kadar uzanan entorhinal kortekse geri döner (Şekil 4).(139)



Şekil 3: Hipokampusteki nöronal yolaklar (139)

Bunun dışında ekstrasik olarak hipokampus bazal ganglionlar, talamus, amygda gibi yapılarla da bağlantı kurar. Bunlardan en bilineni duyguların kontrolünde ve duygusal tepkilerde rol oynayan Papez döngüsüdür. Bu döngü

hipokampusun forniksinden çıkan bilginin sırasıyla corpus mamillare, nuclei thalamicus anterior, gyrus cinguli, gyrus parahipocampalis ve hipokampuse geri dönmesiyle gerçekleşir. Aynı zamanda hemisferler arasında komissural lifleri ile de iki hipokampus arasında bağlantı sağlanır(142).

Hipokampus vasküler olarak da oldukça yoğun olan bir bölgedir. Posterior serebral arter ve anterior korodial arterin dalları ile beslenirken inferior ventriküler ven ve medial atrial ven aracılığıyla drenaj gerçekleşir(143).

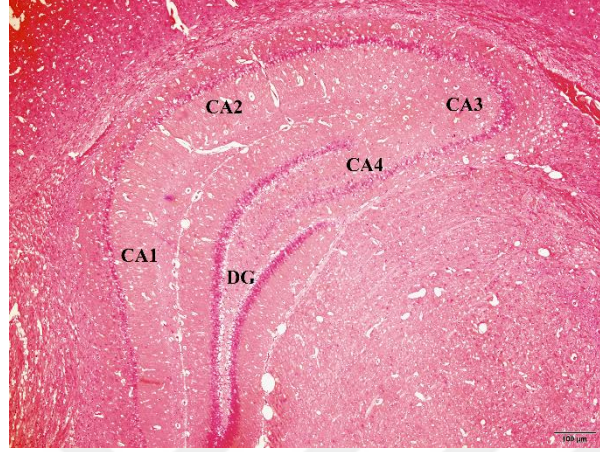
2.3.2. Histolojisi

Hipokampus gebeliğin ilk dönemlerinde gelişmeye başlayıp doğumdan sonra da gelişmeye devam eden bir yapıdır. Sıçanlarda embryonik 12. Gün (E12) 'den postnatal 2. Gün (P2) 'ye kadar geliştiği görülmüştür. CA glutamaterjik piramidal nöronları içerirken DG granüler hücreleri barındırır(144). Hipokampus farklı şekilde histolojik tabakalara ayrılır, fakat en geçerli olarak 7 tabakaya ayrılmıştır. **Alveus** ventriküle en yakın tabakadır, hipokampuse gelen bilgiler bu bölgedeki piramidal nöronların aksonları fornikse gider. Alveusun altında piramidal hücrelerin bazal dendritlerinin yer aldığı **stratum oriens** yer alır. Onun altında hipokampusun piramidal hücrelerinin yer aldığı **stratum pyramidalis** bulunur. Onu DG'den gelen Mossy fibrillerinin terminal yeri olan, **stratum lucidum** takip eder ve sadece CA3 bölgesinde bulunur. Sonrasında piramidal nöronların apikal dendritlerinin yer aldığı **stratum radiatum** gelir. Son olarak **stratum lakünozum-molekölare** katmanı hipokampal fissur ile birleşir ve DG'nin moleküler katmanı ile bitişiktir.

DG ise **moleküler, granüler ve polimorfik** olmak üzere üç ayrı katmandan oluşur. Granüler tabaka hücre nükleuslarından oluşurken moleküler tabaka granüler hücrelerin dendritlerinden oluşur. Polimorfik kısım ya da hilus ise DG kavisinin iç kısmını oluşturur. DG granüler hücreleri Mossy fibrilleri olarak stratum lucidumda CA3 hücreleri ile sinaps yapar. Granüler tabaka ile hilus arasında kalan bölge subgranüler zon olarak adlandırılır ve yetişkin nörojenezinde rol oynar.

CA2 CA3 ve CA1 arasında bir geçiş yeri olarak yer alır. CA1'in hemen altında yer alan subikulumdaki nöronlar CA1'in piramidal nöronlarının devamı şeklindedir.(Şekil 4) CA1 ve subikulumun sınırı postnatal dönemde gözlenir.

Subikulumun iç kısmında moleküler katmanında ise daha küçük gövdeli nöronlar görülmektedir. Subikulumun devamında gözlenen EC ise 10 günlük embriyoda görülen bir yapıdır. 6 aylık fetusun CA1-SB-EC bağlantısı kurulmuş olur(145).



Şekil 4: Hipokampus bölümleri (Hematoksilen-Eozin boyama)

2.3.3. Histogenezi

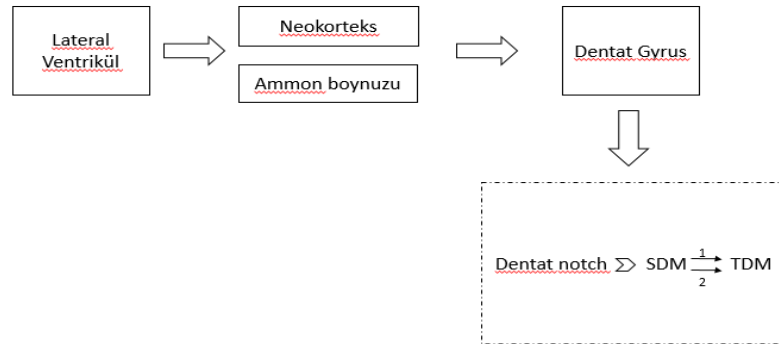
İnsanda gebeliğin ilk yarısında oluşmaya başlayan hipokampus beynin gelişmeye başlayan ilk bölümlerindendir. İnsanda hipokampal formasyon entorhinal korteks ve subikulum 2. Ayda görülmeye başlanırken dentat granüler hücreleri 3. Ayda oluşmaya başlar ve 5. Ayda tamamlanır. Sıçanlarda ise hipokampus E12’de oluşmaya başlar ve gebeliğin 16. haftasında piramidal nöronların CA’yı tamamen oluşturduğu gözlenir. DG’nin oluşması ise 13.haftada başlayarak tamamen oluşması 30 haftayı bulur. Hatta hipokampus erken postnatal dönemde de gelişmeye devam eder. Yetişkinlikte de DG’de nörojenez gözlenmiştir(146)(147).

Gebeliği 21 gün süren sıçanlarda ise hipokampusun oluşması embriyonik dönem 16’da (E16) oluşmaya başlar. VZ ammonik nöroepitelyumdan oluşmaya başlayan progenitor hücreler multipolar formda subpial yüzeye göç ederek marjinal zonda olgunlaşmayı beklerler. Daha sonra bipolar hale gelen hücreler intermedial zona ilerler. Ventrikül yüzeyine daha yakın olduğu için ilk olarak CA1 ve CA2 piramidal nöronlarını oluşturmak üzere hipokampal tabakaya radial glial lifler yardımıyla göç ederler. CA3 piramidal hücrelerinin göç etmesi ise ventrikül yüzeyinden daha uzak olduğu için ve dentat hilusa uzanarak kavis çizdiğinden CA1’den 3-4 gün daha uzun

sürer. E17-18'de oluşmaya başlayan CA3 nöronları VZ'den subpial yüzeye hareket eder burada olgunlaşmayı DG'yle kurulacak bağlantıların oluşması için daha uzun süre bekler. Daha sonra orta hattan CA3'ü oluşturmak üzere hipokampal tabakaya göç eder(148).

DG hücreleri ise E16-17'de primer dentat nöroepitelyumundan temel olarak dentat notch adı verilen bölgede oluşmaya başlar. Göç esnasında prolifer olmaya devam ederek sekonder dentat matriksi oluştururlar. Primer olarak subpial alandan göç eden hücreler DG'nin supragranüler katmanını oluştururlar. Sekonder olarak ise infragranüler alan olan hilusa göç ederek üçüncü dentat matriksi oluştururlar. (Şekil 5) Böylece DG iki farklı germinal zondan oluşur. Üçüncü dentat matriks subgranüler zonun olduğu bölgedir ve P3-10 arasında belirginleşir. Yetişkinlikte de nörojenezin devam ettiği bölgedir. Hatta DG granüler hücrelerinin %85'i doğumdan sonra oluşmaktadır. CA3'le kurulan Mossy bağlantıları ise E15-21 arasında oluşur(144)(149).

Hipokampusteki nöronal migrasyonu ekstraselüler olarak etkileyen reelin, SDF-1, doublecortin gibi proteinler hücre içinde değişik sinyal yollarını tetikleyerek hücre migrasyonunda görev alırlar. Bunun haricinde pek çok intraselüler sinyaller de rol oynamaktadır(148).



Şekil 5: Dentat Gyrusun histogenezi(148)

2.3.4.Subgranüler Zon

Subgranüler zon (SGZ) yetişkinlikte de nöron oluşumunun devam ettiği DG'nin granüler katmanıyla hilus arasında kalan aralıklı olarak progenitor hücrelerin yer aldığı bölgedir. Sıçanlarda P20-30 arasında üçüncü dentat matriksin bazal polimorfik tabakasının kaybolmasıyla bu bölgedeki progenitor hücreler bu bölgede hapsolmuş olarak kalır(146). Buradaki progenitor hücreler nestin ve glial fibriller asidik protein (GFAP) eksprese ederler dolayısıyla bu biyomarkerlar ile asimetrik yerleşen progenitorlerin nöron veya glia üretimine devam ettiği görülebilir. Progenitor hücreler olgunlaşmamış nöron haline geldiğinde doublecortin ile gösterilebilmektedir. Bu hücreler daha sonrasında hemen bitişindeki DG granüler katmana nöroblast olarak radial glialar aracılığıyla göç ederek granüler hücre haline gelir. Sıçan DG'sinde oluşan yeni nöronların olgunlaştıktan sonra aksonlarının ilk olarak CA3 ile bağlantı kurduğu NeuN, kalbindin, MAP-2, Tuj1 gibi biyokimyasallarla görülmektedir(147)(150)

SGZ'de yetişkin sıçanlarda günde 100-150 yeni hücre üretilir. Yeni üretilen hücreler sıçanlarda 8 ay kadar hayatta kalırken insanlarda 2 yıla kadar hayatta kalabilirler. Fakat çoğunluğu ise DG'de olgunlaşmış granüler hücre olmadan apoptoza uğrar. Hücrelerin hayatta kalması için NMDA reseptör aktivitesinin olması gerekir(151). SGZ'deki nörojenez yetişkinliğe kadar etkileyen faktörler GR, cinsiyet hormonları, büyüme faktörleri, nörotransmitterler etkileyebilmektedir. Aynı zamanda çeşitli travmalar, serebral iskemi, epilepsi, inme gibi durumlar da etkileyebilmektedir. Özellikle epilepside SGZ'deki hücrelerin sayısında artış görülür fakat bu hücreler proliferasyon olamazlar(146)(152).

Hipokampus öğrenme ve hafızada çok önemli bir yer tuttuğundan yetişkinlikte de nörojenezin oluşması bu nedenle çok önemlidir. Aynı zamanda öğrenmenin de yetişkinlikte hipokampusta nörojenez artırdığı görülmüştür(153). Kronik stresin de GR artmasıyla SGZ'de proliferasyon olan hücre sayısını azalttığı dahası progenitorlerin olgunlaşmasının da inhibe edici özelliği olduğu görülmüştür(154). In vitroda yapılan çalışmalarda da SGZ'nin hücre üretimine devam ettiği görülmüştür. Zenginleştirilmiş çevre, egzersiz, antidepresan kullanımı, çeşitli mutasyonlar, sosyal etkileşim ve madde kullanımı gibi faktörler de SGZ'deki nöronal kök hücre sayısına etki eder(155). Yapılan çalışmalarda SGZ'deki kök hücrelerin ve progenitor hücrelerin nörolojik

temelli hastalıklarda transplantasyon ile tedavi amaçlı kullanılabileceği düşünülmektedir(156).

2.4. Subventriküler Zon

Gebeliğin 4. Haftasında notokordun üstünde nöral oluğun oluşmasıyla öncelikle lateral ventriküller oluşur. Ventriküler zon epitel kök hücreleri intermediate progenitör hücrelere dönüşerek interkinetik hareketler ile subventriküler zona göç eder(157). Erken doğan hücreler daha dipte kalırken geç doğan hücreler yüzeysel katmanda toplanırlar. SVZ erken gelişim döneminde başlayıp yetişkinliğe kadar nörojenezin devam ettiği lateral ventrikül duvarı boyunca uzanan kaudat nukleusun da komşusunda bulunan alandır(158). Kemirgenlerde SVZ'den çıkan hücreler öncelikle rostral migrasyon yolu ile olfaktor bulbusa ve neokorteksin çeşitli yerlerine göçerek yetişkinlik nörojenezinde rol oynarken burada kalan hücreler de kendilerini yenileyerek veya diferansiye olarak bölünmeye devam ederler(155). Fakat insanlarda SVZ'deki hücreler olfaktor bulbus yerine korteksi oluşturmak üzere çeşitli yerlere doğru göç ederler(157)(159).

SVZ iç ve dış olmak üzere iki sub katmana ayrılır. Daha ince olan iç katman ve hücre üretiminde daha aktif olan ve korteksi geliştirmek üzere genişleyen dış katmandan oluşur(160). . SVZ insanda nucleus kaudatustan miyelinle ayrılırken sıçanlarda bu miyelin katmanı gözükmez. SVZ'yi lateral ventriküllerden ayıran endim hücreleridir(161). İnsanlarda SVZ astrositleri ile endim hücreleri arasında hiposelüler boşluk görülürken diğer primatlarda ve kemirgenlerde görülmez(162).

Burada üretilen nöroblastlar progenitor hücreler, astrositler ve endim hücreleri beyin gelişiminde rol oynar. SVZ'nin hemen altında endim hücreleri yer alır. SVZ astrositleri yani nöral kök hücreleri (B1 immatur astrosit, B2 nöral kök hücre) bölünerek multipolarlığını kaybetmemiş immature progenitor hücrelere (C tipi hücre) dönüşür. Daha sonra astrositler tarafından sarılmış progenitor hücreler matür nöronları oluşturacak olan nöroblastları (A tipi hücre) oluşturur. Bu hücreler lateral ventrikül duvarı boyunca zincir şeklinde oluşur. Bu hücrelerin kemirgen SVZ'sindeki oranı sırasıyla A/B/C = 3/2/1 iken insan SVZ'sinde 1/3/1 şeklindedir(158).

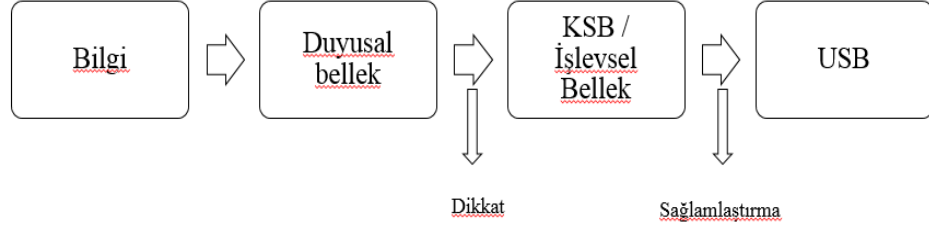
Korteksin gelişiminde önemli olan germinal matriks neokortikal SVZ, medial gangliyonik tepe (MGT), kaudal gangliyonik tepe (KGT) ve lateral gangliyonik tepe (LGT) olmak üzere 4 embriyonik bölgeden oluşur. Bu bölgelerde oluşan hücreler neokorteks, striatum, talamus, hipokampus ve subkortikal alanları oluşturur. Erken doğan nöronlar dip katmanları oluştururken geç doğan nöronlar korteksin yüzey katmanlarına doğru göçer. E12,5'ta radial glial lifler hipokampal nöronların kaynağı olan MGT'ye uzanır. Buradan E13'te LGT'ye daha sonra temporal lobu oluşturmak üzere neokortekse devam eder. 72 saat sonra hipokampuse ulaşan hücreler görülebilmektedir. KGT ise ventral telensefelonun %40'ını oluşturmaktadır. Aynı zamanda E12'den sonra hipokampuse ve kortekse buradan da göç etmeye başlar. Bununla beraber dorsolateral SVZ nöron göçü yanı sıra frontal lob için büyük bir glia kaynağıdır(163).

SVZ'deki hücreler GFAP, poli-izole nöronal hücre adezyon molekülü (PSA-NCAM), doublecortin eksprese ederler dolayısıyla bu markerlar ile hücreler tanımlanabilmektedir. SVZ'deki nörojenezin oluşmasını etkileyen büyüme faktörleri, nörotrofinler, ekstraselüler matriks molekülleri hücrelerin migrasyonunda ve olgunlaşmasında da rol oynar. Aynı zamanda akut hasarlar da progenitor hücrelere etki eder(164). Özellikle SVZ- olfaktor bulbus arasındaki göç eden nöroblastların uzun süreli nöbetler tarafından indüklendiği belirtilmiştir(165). Bununla beraber SVZ'deki hücrelerin herhangi bir hasar sonucunda o bölgeye göç ederek iyileştirici etkisi de vardır. SVZ glial progenitorlerin temporal lob epilepsisinde hasarlı olan hipokampuse göç ettiği görülmüştür(166). Serebral travmalar ve epilepsi gibi nörolojik hastalıkların SVZ'deki hücre proliferasyonuna ve migrasyonuna etki mekanizması tam olarak bilinmemektedir.

2.5. Öğrenme ve Hafızanın Değerlendirilmesi

Yeni bilginin öğrenilmesi ve öğrenildikten sonra hafızada devam eden süreç bilginin daha sonra hatıranmasında veya unutulmasında önemlidir. Bu süreç bilginin kodlanması, depolanarak sağlamlaştırılması ve bilginin geri getirilmesi olarak işler. Hafıza temel olarak ikiye ayrılır. Yeni bilgi ilk olarak duyuşal belleğe girdikten sonra kısa süreli belleğe (KSB) ya da diğer ismiyle işlevsel belleğe kodlanır daha sonrasında dikkat ve tekrarlama faktörleriyle sağlamlaştırılır ve uzun süreli belleğe (USB)

aktarılır(167) (Şekil 6). KSB’de bilginin depolanması sınırlıdır dolayısıyla USB’ye aktarılamayan bilginin hatırlanmasında hatalar oluşur.



Şekil 6: Bilginin işleme ve depolanma süreci (167)

USB de temel olarak deklaratif ve non deklaratif bellek olmak üzere ikiye ayrılır. Deklaratif bellek bilginin bilinç ile işlenip depolandığı, non-deklaratif bellek ise bilinç dışı öğrenilen beceriler, alışkanlıklar gibi bilgilerin işlendiği beledir. Deklaratif bellek hipokampuste yer alır, anlamsal ve epizodik olmak üzere ikiye ayrılır. Anlamsal bellekte olgular algılandıktan sonra anlamlarına göre depolanırken epizodik bellekte ise olaylar belli sıralamaya göre depolanır. Non-deklaratif yani örtük bellekte ise bilinçaltı öğrenilen bilgiler depolanır. Prosedürel, beceri ve alışkanlıkların öğrenilmesi; asosiyatif öğrenme, klasik ve edimsel koşullanma; non-asosiyatif, habitüasyon ve sensitizasyon, priming non deklaratif belleğin rol aldığı öğrenme çeşitleridir. USB ve KSB’nin hafızanın en temel merkezi olan hipokampuste nöral yolları ve depolandığı yerler farklıdır. Bilginin deklaratif veya non deklaratif depolanmasına göre hipokampus, prefrontal korteks, serebellum, amygdala ve striatum gibi yapılar görev almaktadır. (89)

Öğrenme ve hafızanın değerlendirilebilmesi için pek çok laboratuvar hayvan modeli geliştirilmiştir. Bu modeller ile bilginin işlendiği basamaklar ve depolanmasında rol oynayan beyin bölgeleri ile öğrenme ve belleğin fizyolojisi hakkında yeni birikimler elde edilebilmektedir. Pasif ve aktif sakınma, Morris su tankı, radial kollu labirent, yükseltilmiş artı labirenti, obje tanıma testi gibi testler laboratuvar hayvanlarında öğrenme modeli olarak kullanılmaktadır(168). Aktif sakınma, habitüasyon, sensitizasyon, korku koşullanması gibi modeller non deklaratif bellekte yer alırken, Morris su tankı, radial kollu labirent uzaysal bellek olmak üzere deklaratif

bellekte yer alır. Obje tanıma ise asosiyatif olmak üzere deklaratif bellekte depolanan öğrenme modelidir(169). Bu testlerin çeşitli modifikasyonlarıyla araştırmacılar bellek çeşitleri, gelişimi ve öğrenmenin nörobiyolojisinde yeni bilgilere ulaşabilmektedirler.

2.5.1. Yeni Obje Tanıma Testi

Yeni obje tanıma testi daha önceden tanınan objenin öğrenilmesiyle beraber yeni objenin öğrenilmesi ve hatırlanmasına yönelik bir testtir. Çeşitli modifikasyonlarla uzaysal bellek, işlevsel bellek dikkat, anksiyete gibi konular da çalışılabilmektedir. Eski objenin tanınması, yeni objenin öğrenilmesine eğilim; hayvanın algı, tanıma, ayırt etme, karşılaştırma gibi deklaratif hafıza gerektiren süreçlerle bağlantılıdır(169). İlk olarak Ennaceur ve Delacour (1988) tarafından geliştirilen bu test, hayvanın keşif davranışına bağlı olarak herhangi ceza ve ödül sistemine bağlı olmadan doğal olarak öğrendiği ve bilgiyi hafızasında depoladığı belirtilmiştir. Kısa sürede yapılması ve hayvanın doğal olarak hareket etmesi testin avantajlarından(170)

Ayırt etme indeksi, tercih etme indeksi gibi hesaplamalar ile hayvanın yeni objeye veya tanıdık objeye olan eğilimi hesaplanır. Aynı zamanda tanıdık ve yeni objenin toplam keşif süreleri de önemlidir(171). Tanıdık objeyi öğrenen hayvan yeni objeyi keşfetmeye daha çok eğilimli olur ve test aşamasının ilk dakikalarında keşif daha fazla olur. Yeni obje keşfinin daha çok olması tanıdık objenin hayvanın belleğinde zaten yer aldığı anlamına gelmektedir. Perihirnal korteks ve hipokampusun rol aldığı yeni obje tanıma ve deklaratif bellek, nörobiyolojik değişiklikler sonucunda gelişmekte olan sıçanların yeni obje tanınmasında bozukluklara yol açmaktadır(9)(171)

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

Ege Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan alınan 2017-082 etik onayı ile başlatılan çalışmada 6 adet dişi sıçan ve bu sıçanların her iki cinsiyetten yavruları olmak üzere Wistar albino sıçanlar kullanılmıştır. Ege Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezinden temin edilen sıçanlar 20-25  C oda koşullarında 12-12 gece gündüz döngüsü ve serbest yeme içme koşulları altında bakılmıştır.

3.2. Deney Grupları

200-400 gram 6 dişi sıçan çiftleştirme amaçlı vajinal smear ile proöstrus ve östrus dönemleri belirlenmiştir.(Resim 1) Döngüleri aynı olan dişi sıçanlar erkek sıçanların kafesine bırakılarak monogamik olarak çiftleştirilmiştir. Ertesi gün vajinal plak görülen dişi sıçanlar ayrı kafeslere yerleştirilmiştir. Deneye dahil olan tüm sıçanlara herhangi bir işlem uygulanmadan önce araştırmacıdan kaynaklanan stresi en aza indirebilmek için 5 gün boyunca kafes odalarında handling (insana alıştırma) uygulanmıştır.

Doğumlarından sonra strese maruz kalan ve kalmayan annelerin yavruları Pentylenetetrazol (PTZ), hipoksi (H) uygulanan ve kontrol grubu (K) olmak üzere üç subgruba ayrılmıştır.(Tablo 1). Sütten kesilene kadar anneleriyle beraber kalan yavrular sütten kesildikten sonra cinsiyetlerine göre ayrı kafeslere yerleştirilmiştir.

	Maternal Stres 3 adet	Kontrol 3 adet
PTZ	12 adet	12 adet
Hipoksi	11 adet	11 adet
Kontrol	11 adet	11 adet

Tablo 2 : Deney Grupları

3.3. Maternal Stres Prosedürü

6 sıçan monogamik çiftleştirilip ertesi gün vajinal plak görülenlere stres prosedürü uygulanmaya başlanmıştır. Gebe olan 3 sıçana deney odasında stres prosedürünü uygulamadan önce 5 gün boyunca kafes odalarında handling yapılmıştır. Handling uygulanan sıçanlar, ilk 2 gün 1-2 dk elde tutma, daha sonraki günlerde 5-10 dk elde tutularak kafeslerine geri konulmuştur. Daha sonrasında gebeliklerinin son haftası (E12,5 – E18) aydınlatılmış sessiz deney odasına taşınarak plastik silindir (19cm x 6 cm) içerisinde günde 3 kez 1'er saat 2 adet parlak ışık (100 W) altında sıkışmış bir şekilde (restraint stress) kronik strese maruz bırakılmıştır(111). Sıçanlar burunları silindirin ucundaki deliğe yakın, nefes alabilecekleri şekilde, kuyruğu diğer uca gelecek şekilde yerleştirilmiştir. Stres verilmeyen diğer 3 gebe sıçana ise dokunulmamıştır. Daha sonrasında ayrı kafeslerde olmak üzere doğumları beklenmiştir.(Şekil 7)



Şekil 7: Maternal stres prosedürü

3.4. Hipoksi Prosedürü

Rastgele seçilen 22 tane yavru P10'da %100 karbondioksit infüzyonuyla oda sıcaklığında içerisinde 2-3 dakika boyunca hava geçirmez bir kutu içerisinde hipoksiye maruz bırakılmıştır (172). (Şekil 8) Daha sonra kutudan çıkarılan yavrular dışarıda 5 dk bekletilip ve annelerinin yanına geri götürülmüştür ve sütten kesilene kadar anneleriyle kalmıştır. Daha sonrasında sakrifiye gününe kadar cinsiyetlerine göre farklı kafeslere yerleştirilmiştir.



Şekil 8 : Hipoksi Prosedürü

3.5. PTZ Enjeksiyonu

Pilot çalışma olarak gebe sıçandan rastgele alınan 2 yavruya 10. Günlerinde bir kere akut olarak 90 mg/kg PTZ intraperitoneal olarak uygulanmıştır.(173) %50 görülen mortalite sonrasında rastgele seçilen diğer yavrulara doz 45 mg/kg olarak yeniden belirlenerek intraperitoneal olarak verilmiştir. (Şekil 9) Kontrol grupları ise diğer grupların anneden ayrı kaldığı süre boyunca deney odasına götürülerek annelerinden ayrı kalmış ve herhangi bir işlem uygulanmamıştır. 28. Günde süttten kesilen yavrular cinsiyetlerine göre sakrifiye gününe kadar farklı kafeslere yerleştirilmiştir.



Şekil 9: PTZ enjeksiyonuyla epileptik model oluşturma

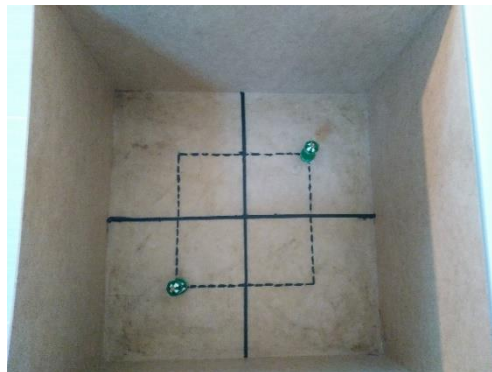
3.6. Yeni Obje Tanıma Testi Prosedürü

İşlem uygulanan sıçanlar ergenlik dönemine geldiğinde (32.gün) sırasıyla her gruptan n=10 tane sıçana 3 gün boyunca Yeni Obje Tanıma Testi (YOT) yapılmıştır. Objeler birbirlerinden şekil, boyut ve renk olarak farklı olup koku ve hareket faktörleri dışında kutuya simetrik olarak yerleştirilmiştir. Hayvanlar ise kutunun köşesinden objelere sırtı ters olacak şekilde kutuya bırakılmıştır. Test habitüasyon, alıştırma ve test günü olmak üzere 3 aşamadan oluşmaktadır. (174)



Şekil 10: Yeni obje tanıma testi habitüasyon günü prosedürü

1. **Gün Habitüasyon (T0)** : Sıçanlar ayrı olarak 60 x 60 x 40 cm kutu içerisinde habitüasyon sağlaması için 5 dk serbest bırakılmıştır. (Şekil 10)
2. **Gün Alıştırma (T1)**: Her sıçan merkezden 14 cm, kenardan 25 cm uzaklıkta farklı kadranslara yerleştirilmiş sabit iki benzer objeyle beraber kutuya bırakılmıştır ve 10 dk objeyi serbest bir şekilde keşfetmeleri beklenmiştir.(Şekil 11)



Şekil 11: Yeni obje tanıma testi alıştırma günü prosedürü

3. Gün Test (T2): Aynı olan objeden biri tanıdık objeden tamamen farklı olan yenisiyle değiştirilmiş sıçanlar 10 dk boyunca serbest bırakılmıştır. (Şekil 12)

Tüm aşamalar video kamera ile kayıt altına alınmış ve iki ayrı kronometre ile süreler ölçülmüştür. Her denemeden sonra kutu ve objeler %70 alkol ile temizlenmiştir. Hayvanların objelere 2'cmden daha az yaklaştığı, kokladığı, ısırmaya çalıştığı, pençe attığı, nesnenin yanında kendini temizlediği objenin tanınma süresi olarak belirlenmiştir. Fakat üzerine çıkma, yakınında ayağa kalkma, dayanma gibi davranışları bu süreye dahil edilmemiştir. Testten sonraki gün P(35)'te beyin alınmak üzere sakrifikasyon uygulanmıştır.

A1 ve A2 = benzer obje

B = yeni obje

E1 = toplam keşif

DI: Diskriminasyon indeksi

$E1 = A + B$

$E2 = A1 + B$

DI = $B - A / E1$ olmak üzere toplam keşif ve ayırt etme indeksi hesaplanmıştır.



Şekil 12: Yeni obje tanıma testi test günü prosedürü

3.7. Histolojik Prosedür

Dişi sıçanlardan alınan vajinal smear sonrası östrus dönemlerini belirlemek amacıyla protokolü aşağıda verilen Giemsa (Merck) boyama tekniği kullanılmıştır. Uygulanan protokol;

1. Kurutulmaya bırakılmış kesitler 10 dk metanolde bekletilir.
2. Distile suda yıkanır.
3. 7.8 cc boya ve 180 cc distile su ile hazırlanmış stok solüsyonunda inkübe edilir.
4. Akar suda yıkanır.
5. Entellan ile kapatılır.

Doğan yavruların 36 tanesine (her grup için n=6) 35. günde 50 mg/kg ketamin, 10 mg/kg ksilazin ile beraber damarlarda pıhtılaşmayı önleme amaçlı 0,02 ml heparin eklenerek intraperitonel olarak uygulanmıştır. Daha sonrasında 0.1 M fosfat tampon salinde (PBS), %4 Formaldehit (min %1 methanol) ve distile su ile perfüzyon uygulanmıştır. (Şekil 13) Beyin ve organlar alındıktan sonra yine aynı fiksatif içerisine konulup her gün yenilerek +4 derecede 3 gün bekletilmiştir. 4.gün beyin serebellum ve frontal lobtan koronal kesilerek 3 parçaya ayrılmış ve PBS'te 1 gün bekletilmiştir. (Şekil 14) 5.gün ise kakodilat tamponunda formaldehite alınıp 6. Günde sadece kakodilat tamponunda bekletilmiştir. Daha sonrasında doku takibine başlanmıştır.



Şekil 13: Perfüzyon prosedürü



Şekil 14: Beyin koronal kesit

Doku takibinde sırasıyla %80, %95, %100, %100 alkol oranlarında birer saat bekletilmiştir. Daha sonrasında şeffaflandırma işlemi için dokular ksilol içerisinde

gözle takip edilmiştir. Şeffaflama işlemi gerçekleşen dokular Parafin I ve ardından Parafin II olmak üzere yarım saat bekletilmiştir. Sonrasında parafin bloklama işlemi gerçekleştirilmiştir. Bloklama işleminden sonraki gün +4 derecede bekleyen parafin bloklardan histokimyasal boyama için 0.5 µm kesitler alınmıştır.

Alınan kesitler farklı boya teknikleri ile boyanmak üzere 5 gruba ayrılmıştır.

a) Bir grup kesite %3' lük stok solüsyonundan %0,1'lik çalışma solüsyonu hazırlanarak nöron ve glia hücrelerini belirlemek amaçlı Toluidine Blue boyama tekniği kullanılmıştır. Uygulanan protokol;

1. Xylolde deparafinizasyon yapılır.
2. %100 alkolde 5 dk
3. %95 alkolde 5 dk
4. %80 alkolde 5 dk bekletilir.
5. Distile suda yıkanır.
6. Toluidine çalışma solüsyonunda mikroskopta kontrol edilerek 15 dk inkübe edilir.
7. %95 alkolde
8. %100 alkolde daldırıp çıkarılır.
9. Xylolde 15 dk bekletilir.
10. Entellan ile kapatılır.

b) Alınan diğer grup kesite ise hücre nukleuslarını ve sitoplazmalarını belirlemek amaçlı Hemotoksilen-Eozin boyama tekniği uygulanmıştır. Uygulanan protokol;

1. Xylolde deparafinizasyon
2. Kuruduktan sonra %100 alkolde 4 dk
3. %95 alkolde 2 dk
4. %80 alkolde 2 dk bekletilir.
5. Distile suda 5 dk yıkanıp iyice süzülür.
6. Hemotoksilende mikroskopta kontrol edilerek 2.5 dk veya daha fazla bekletilir.
7. Akar suda 5 dk bekletilip süzülür.
8. Amonyaklı suda mor renk olana kadar bekletilir.
9. Akar suya daldırılıp çıkarılır.

10. Distile suda 5 dk bekletilir.
11. Eozinde mikroskopta kontrol edilerek 2.5 dk veya daha uzun süre bekletilir.
12. .%95 alkole daldırıp çıkarılır.
13. %100 alkolde 4 dk bekletilir.
14. Dışarıda iyice kurutulduktan sonra 15 dk xylolde bekletilir.
15. Entellan ile kapatılır.

c) Diğer grup kesite ise farklı yapıları görebilmek amaçlı Azan (Mallory) Boyama Yöntemi kullanılmıştır. Uygulanan protokol;

1. Xylolde deparafinizasyon yapılır.
2. %100 alkolde 4 dk
3. %95 alkolde 4 dk bekletilir.
4. Akar suda yıkanır.
5. %0.5'lik asit fuksin solüsyonunda 1-5 dk bekletilir.
6. Aniline blue'da 30-60 dk bekletilir
7. Akar suda yıkanır.
8. %95 alkolde mikroskopta kontrol edilerek 2 dk bekletilir.
9. %100 alkolde daldır çıkar yapılır.
10. Xylolde 15 dk bekletilir.
11. Entellan ile kapatılır.

d) Diğer grup kesitlere ise nöron ve gliaları belirlemek amacıyla Cresyl Echt Violet boyama tekniği uygulanmıştır. Protokolü;

1. Xylolde deparafinizasyon yapılır.
2. %100 alkolde 10 dk
3. %95 alkolde 10 dk bekletilir.
4. Distile suda 5 dk yıkanır.
5. Cresyl violet solüsyonunda 5 dk inkübe edilir.
6. Distile suda yıkanır.
7. %95 alkolde 30 saniye
8. %100 alkolde 30 saniye daldır çıkar yapılır.
9. Xylolde 30-60 dk bekletilir.
10. Entellan ile kapatılır.

e) Son olarak miyelinleri boyayabilmek amaçlı Luxol Fast Blue & Cresyl Echt Violett boya tekniği uygulanmıştır. Uygulanan protokol;

1. Xylolde deparafinizasyon yapılır.
2. %100 alkolde 2 dakika
3. %95 alkolde 2 dakıla bekletilir.
4. Luxol Fast Blue solüsyonunda 1 gece 57-60 derece bekletilir.
5. Ertesi gün %95 alkole daldırılıp çıkarılır.
6. Distile suda yıkanır.
7. %0,05 lityum karbonatta 10-20 saniye tutulur.
8. %70 alkole daldırılıp çıkarılır.
9. %0,1 'lik Cresyl Echt Violett solüsyonunda 15 dk bekletilir.
10. %95 alkole
11. %100 alkole daldırılıp çıkarılır.
12. Xylolde 15 dk bekletilir.
13. Entellan ile kapatılır.

3.8. İstatiksel Değerlendirme

Yeni obje tanıma testinin istatiksel değerlendirmesinde IBM SPSS Statistics 22 programı kullanılmıştır. Öncelikle gruplar arası etkileşimin olup olmadığını görmek amaçlı univariate varyans analizi ve çok faktörlü ANOVA (2x3) uygulanmıştır. Daha sonrasında tek yönlü ANOVA, iki bağımsız değerşken t testi ile post hoc Bonferoni ve Tukey testleri uygulanmıştır. Her test uygulanmadan önce normalite p değerlerine bakılmıştır.

Stres ve kontrol grupları çok faktörlü ANOVA, stres ve kontrol grupları kendi içerisinde tek yönlü ANOVA ve post hoc Bonferonni , 6 grup arasındaki karşılaştırma da iki bağımsız t testi ile karşılaştırılmıştır. 2 ana grup ve 6 subgrup DI, E1 ve E2 değerşkenlerine bağlı olarak karşılaştırma yapılmıştır.

4. BULGULAR

Yapılan stres prosedürü sonrasında ilk günlerden itibaren ani bir kilo kaybı görülmüştür. Aynı zamanda P10'da stres grubunun ortalama ağırlığı 17,439 gr kontrol grubunun ise 21,01 gr ölçülmüştür. PTZ enjeksiyonu sonrasındaki en az 1 saat boyunca tonik klonik jeneralize nöbet gözlemlenmiştir. (Şekil 15) Öncelikle miksiyon, miyoklonik kasılmalar, çılgılık, çiğneme ile kazıma hareketi, tüm uzuvlarda kasılmalar, giderek azalan tonik hareketler ve donma gözlemlenmiştir. Maternal strese maruz kalan gruptan 4 tanesinde ölüm gözlemlenirken kontrol grubunda 1 adet ölüm olmuştur. Hipoksiye maruz kalan yavrularda ise 1 saate yakın donma, hiperventilasyon, kafa sallama ve taşikardi gözlemlenmiştir.



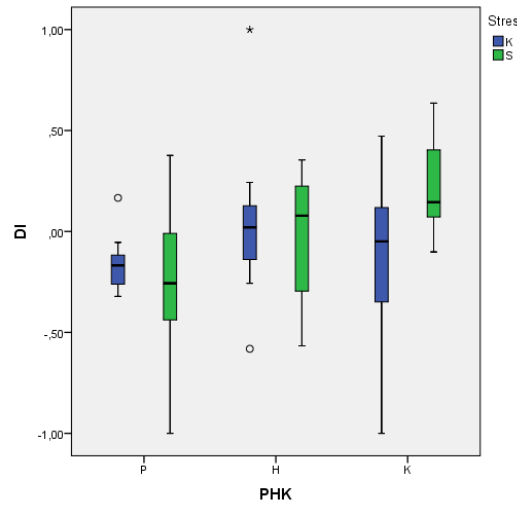
Şekil 15: Tonik klonik jeneralize nöbet modeli

4.1. Yeni Obje Tanıma Testi Bulguları

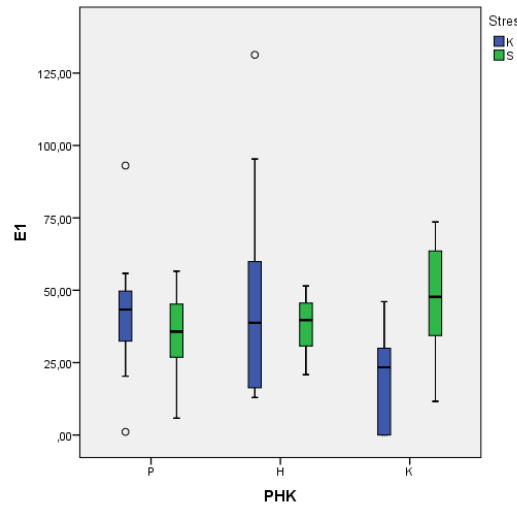
Yapılan istatistiksel analiz sonucunda kontrol ve stres grupları arasında etkileşim bulunmuştur. Herhangi bir keşifte veya harekette bulunmayan sıçanlar analize dahil edilmemiştir. Çok faktöriyelli ANOVA (2x3) sonucunda DI normal dağılımı vardır ($p=0,164$, $p>0,05$). Yapılan tek yönlü ANOVA sonucunda gruplar arası DI'da istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p=0,87$, $p>0,05$). E1 ve E2 sürelerinde de gruplar arası istatistiksel bir fark görülmedi ($p_1=0,09$; $p_2=0,12$, p_1 ve $p_2 > 0,05$) Fakat

kontrol- kontrol ve stres-hipoksi grubu arasında tüm değişkenler için istatistiksel olarak fark görüldü ($p=0,01$, $p<0,05$)

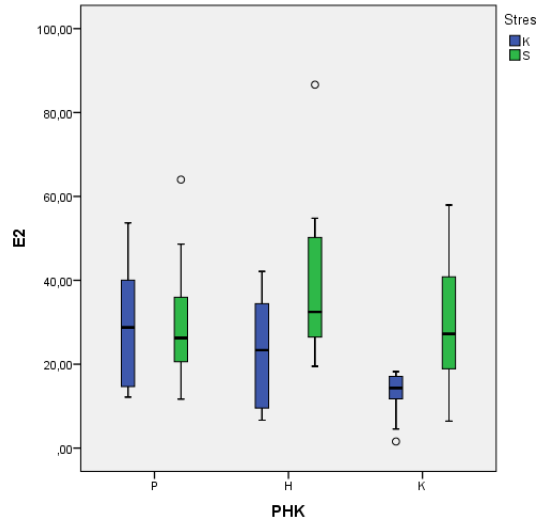
Bağımsız örneklem t testi sonucunda ise kontrol-PTZ ve stres-PTZ arasında DI, E1 ve E2 değişkenleri için anlamlı bir fark bulunmadı. ($p=0,05$; $p=0,51$; $p=0,902$, $p>0,05$) Aynı şekilde kontrol-hipoksi ve stres-hipoksi arasında DI, E1 ve E2 değişkenleri arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($p=0,58$; $p=0,46$; $p=0,052$, $p>0,05$) Fakat kontrol-kontrol ve stres- kontrol arasında DI, E1 ve E2 değişkenleri için anlamlı istatistiksel fark bulunmuştur ($p\text{-DI}=0,082$; $p\text{-E1}=0,08$; $p=0,008$, $p\text{-DI}>0,05$; $p\text{-E1}>0,05$, $p\text{-E2}<0,05$)



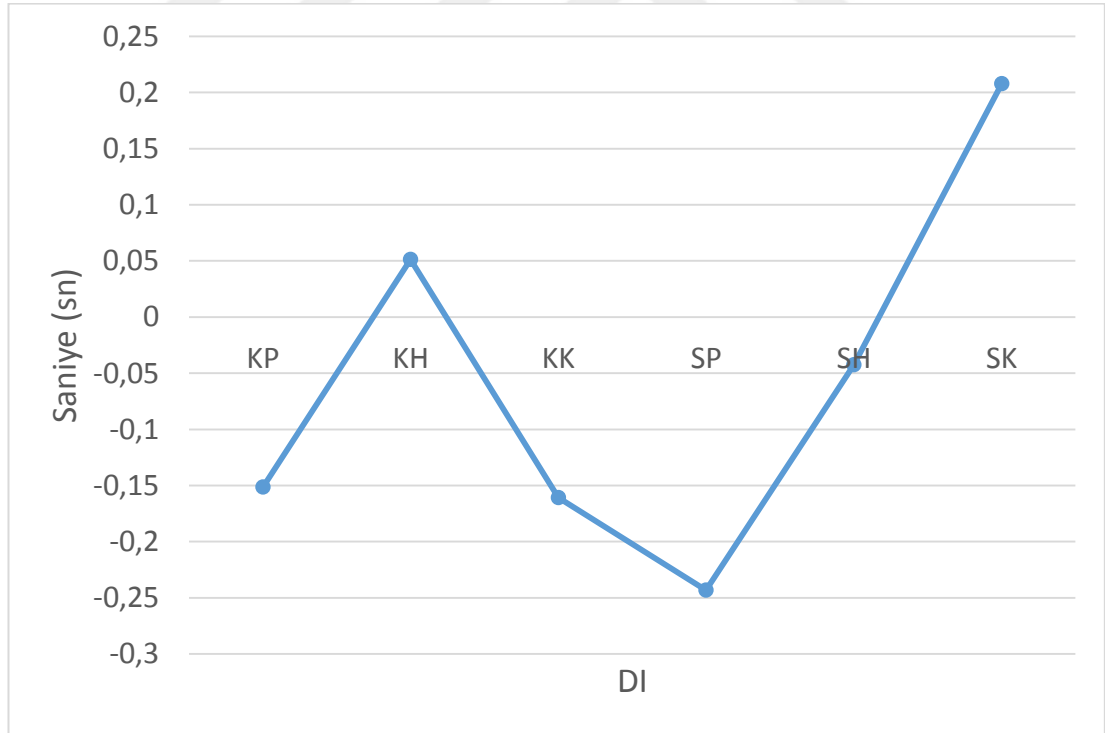
Grafik 1: Diskriminasyon indeksinin gruplar arası değerleri(K=kontrol, S=stres, P=PTZ, H=hipoksi, K=kontrol)



Grafik 2: E1 sürelerinin gruplar arası karşılaştırılması (K=kontrol, S=stres, P=PTZ, H=hipoksi, K=kontrol)

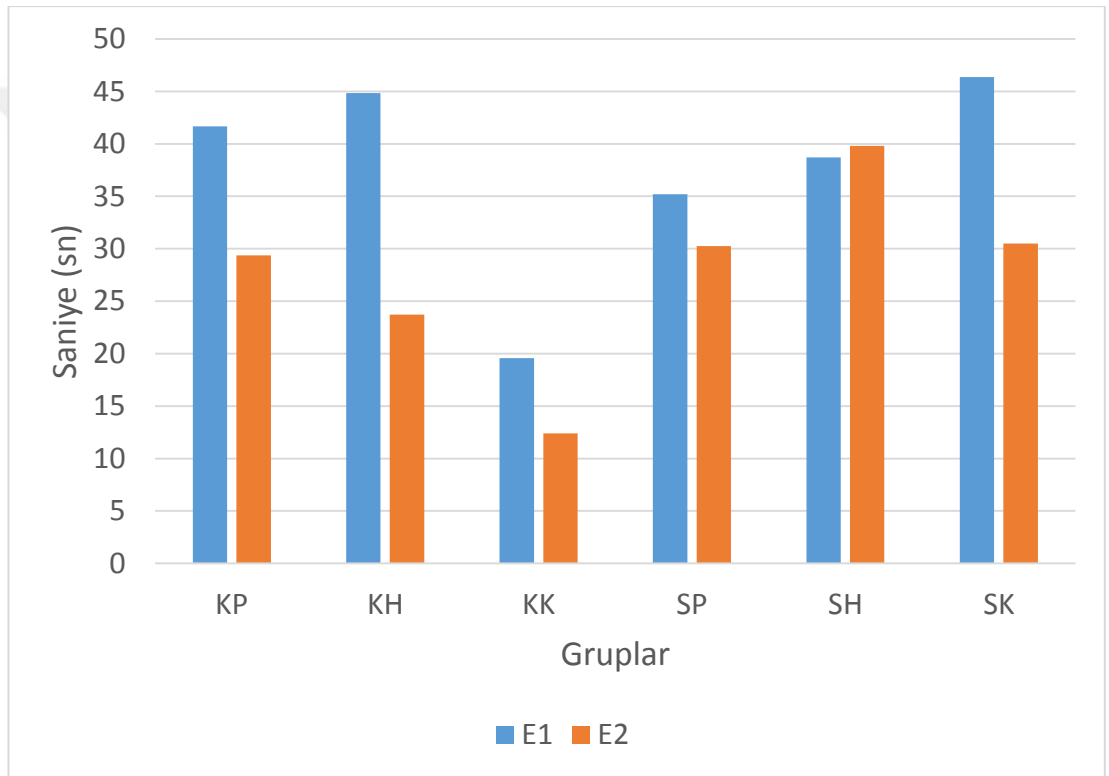


Grafik 3: E2 sürelerinin gruplar arası karşılaştırılması (K=kontrol, S=stres, P=PTZ, H=hipoksi, K=kontrol)



Grafik 4: Grupların DI skorlarının ortalamasının karşılaştırılması
(KP=kontrol-ptz, KH=kontrol-hipoksi, KK=kontrol-kontrol, SP=stres-ptz, SH=stres-hipoksi, SK=stres-kontrol)

Diskriminasyon indeksleri ($-1 < DI < 1$) karşılaştırıldığında stres- kontrol grubunun skoru en yüksek bulunmuştur. Fakat SP grubu ise dramatik olarak düşük bulunmuştur. SH grubunun da buna benzer olarak yeni objeyi ayırt edemediği saptanmıştır. Kontrol grubunda ise KK ve KP grubu DI skoru birbirine yakın olarak eşit bulunmuştur. KP ise daha yüksek bulunmuştur. Gruplar arası karşılaştırma yapıldığında yeni obje ve eski objenin ayırt edilmesi en yüksek SK ve KH gruplarında bulunmuştur. En düşük ise SP, KP ve KK gruplarında görülmüştür.(Grafik 4)



Grafik 5: Grupların E1 ve E2 sürelerinin ortalamasının karşılaştırılması

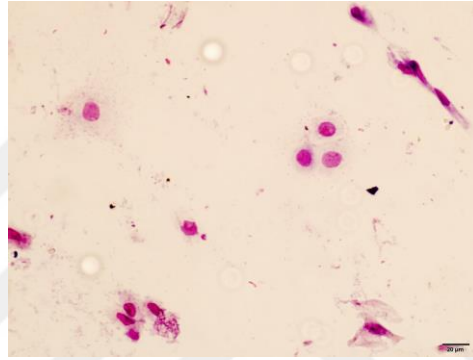
(KP=kontrol-ptz, KH=kontrol-hipoksi, KK=kontrol-kontrol, SP=stres-ptz, SH=stres-hipoksi, SK=stres-kontrol)

Grupların alıştırma günündeki keşif süreleri (E1) ve test günündeki keşif süreleri (E2) karşılaştırılmıştır. Ayrı olarak E1’de en fazla keşif SK grubunda gözlenirken, en düşük KK grubunda bulunmuştur. E2’de ise en yüksek SH iken, en düşük KK olarak görülmüştür. E1 ve E2 süreleri karşılaştırıldığında SH hariç tüm

gruplarda E1>E2 olarak bulunmuştur. KK ve SK grupları arasında anlamlı bir fark bulunmuştur. ($p<0,05$) (Grafik 5)

4.2. Histolojik Bulgular

Çiftleştirilecek dişi sıçanlardan proöstrus-östrus dönemlerini belirlemek amacıyla smear alındıktan sonra yapılan Giemsa (Merck) boya tekniği bulgusunda östrus döneminde olan sıçanlar seçilmiştir. (Şekil 16)



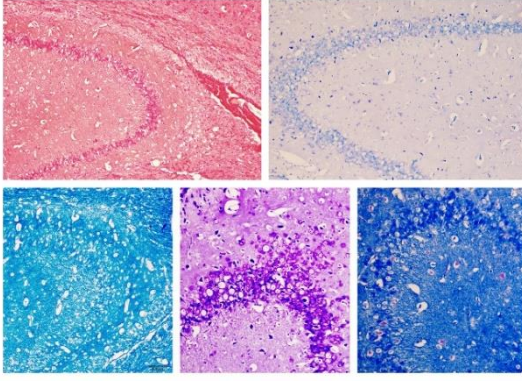
Şekil 16: Proöstrus – östrus dönemi (40x)

Alınan kesitler sonrasında 5 farklı boyama tekniği ile kontrol ve stres grubu arasında aynı zamanda subgruplar arasında da histolojik olarak incelendiğinde CA3, CA1 ve DG/SGZ bölgelerinde pek çok yapısal değişiklik bulunmuştur. Soldan sağa sırasıyla Hematoksilen-Eozin (HE), Toluidine Blue (TB), Luxol Fast Blue (LFB), Cresyl Ectt Violet (CEV), Mallory Azan (MA) boyamaları 10x, 20x, 40x çekimler ile yapılmıştır.

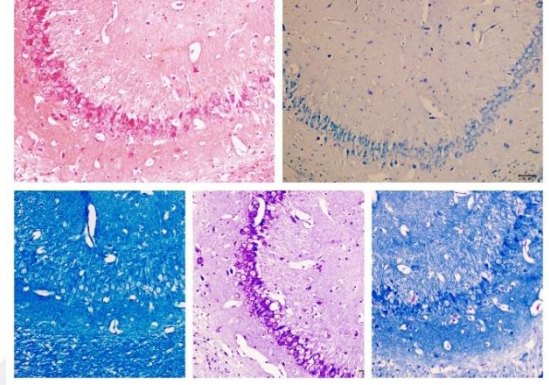
4.2.1. Gruplar Arası CA3 Bölgesinin Bulguları

Kontrol- kontrol (KK) ve stres- kontrol (SK) grupları histolojik olarak karşılaştırıldığında KK'da hücre sırasının normal olduğu dağılmanın olmadığı ve Schaffer kollaterallerindeki miyelinlerinin belirgin bir bant oluşturduğu görülmüştür. Aynı zamanda fimbriadaki aksonların düzgün olduğu görülmüştür.(Şekil 17) Bunun aksine SK'da ise Mossy fibrillerinin dağılımının bozuk ve dallanmalarının az olduğu saptanmıştır. Fakat daha detaylı histopatolojik değerlendirme için immunohistokimya

boyalar gereklidir. Nöronlar ile Schaffer kollaterallerinin az olmasıyla birlikte astrositler ile oligodendroglialar bağlamında gliosis fimbriada oldukça belirgindir. (Şekil 18)

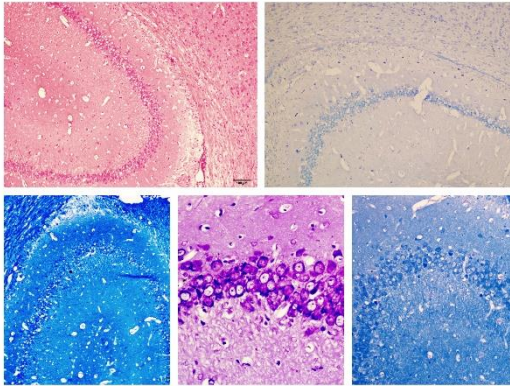


Şekil 17: KK CA3 Bölgesi

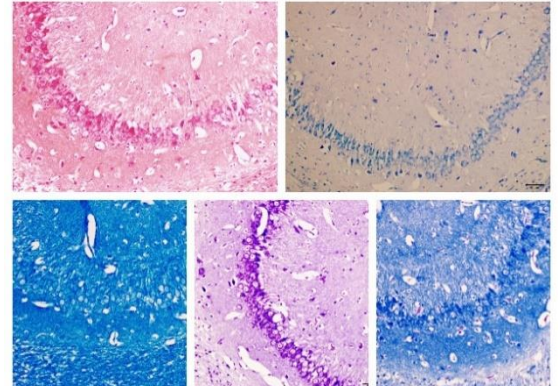


Şekil 18:KS CA3 bölgesi

Kontrol- hipoksi (KH) ve stres -hipoksi (SH) grubu karşılaştırıldığında KH’da Schaffer kollaterallerinin dağınık, alveusun geniş, nöronların sıkışık ve dağınık olduğu görülüp interselüler aralıkların geniş olduğu saptanmıştır. Fimbriada ise aksonların düzgün olduğu bulunmuştur. (Şekil 19) SH grubunda ise benzer şekilde piramidal nöronların geniş ve dağınık bir tabaka oluşturduğu bununla beraber Schaffer kollaterallerinin de dağınık ve belirgin olmadığı görülmüştür. Fimbriada aksonların düzenli, oligodendrogliaların ise fazla olduğu saptanmıştır. Damarlanmanın oldukça fazla olduğu tespit edilmiştir. (Şekil 20)

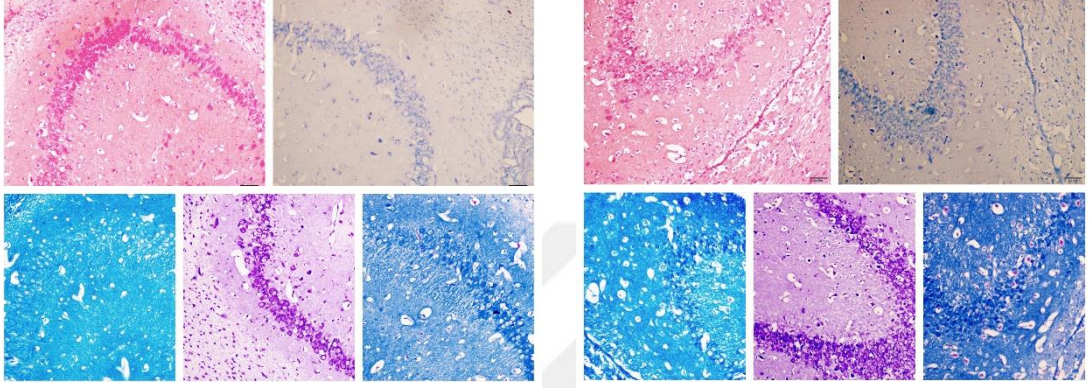


Şekil 19:KH CA3 Bölgesi



Şekil 20: SH CA3 Bölgesi

Kontrol PTZ (KP) ve stres PTZ (SP) kıyaslandığında KP'nin homojen dağılımının oldukça bozuk Schaffer kollaterallerinin dağınık olduğu görülmüş, fimbrianın ise düzenli aksonlara sahip olduğu ve oligodendroglia sayısının fazla olduğu saptanmıştır. (Şekil 21) SP grubunda da buna benzer şekilde Schaffer kollaterallerinin geniş bir yer kapladığı, CA3'ün de geniş bir tabaka oluşturduğu görülmektedir. (Şekil 22)

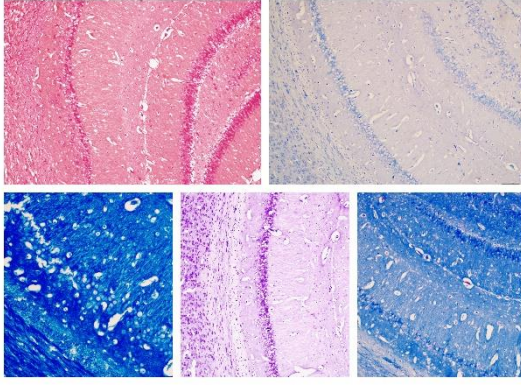


Şekil 21:KP CA3 Bölgesi

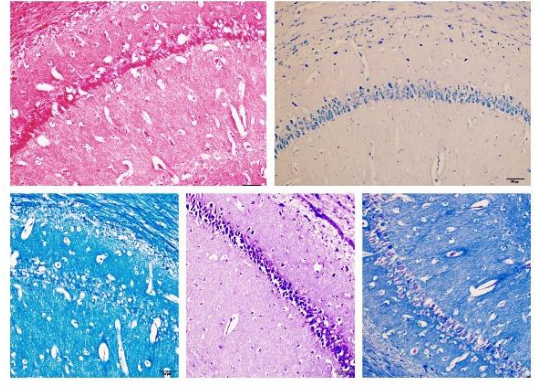
Şekil 22:SP CA3 Bölgesi

4.2.2. Gruplar Arası CA1 Bölgesinin Bulgular

Kontrol- kontrol (KK) ve stres- kontrol (SK) grupları karşılaştırıldığında KK'de hücresel laminasyonun normal, radial aksonların homojen olduğu ve miyelinlerin belirgin olduğu saptandı. Alveus aksonları ve oriens katmanları piramidal laminaya kadar düzgün ilerlemiş olup ve fimbriada herhangi bir bozukluk saptanmamıştır. (Şekil 23) SK' da ise piramidal nöronların az olduğu, gelişimi devam eden hücreler görülmüştür. Benzer şekilde glialar arasındaki boşluklar radial glial hücrelere benzer şekilde geniştir. Alveusun geniş olmasıyla beraber gliosis saptanmıştır. Str. radiatumda aksonlar düzenli ve hücre nükleusları küçüktür. Piknotik nöron sayısında artış ve piramidal tabakanın az olmasıyla beraber kromatolizis saptanmıştır. (Şekil 24)

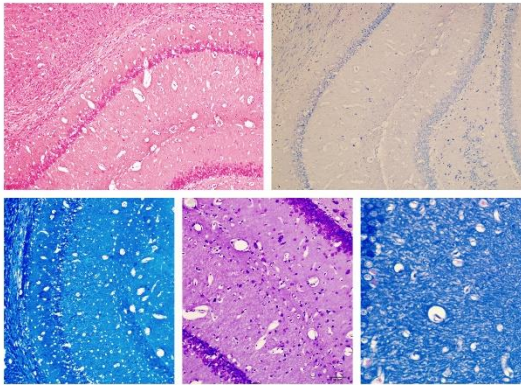


Şekil 23: KK CA1 Bölgesi

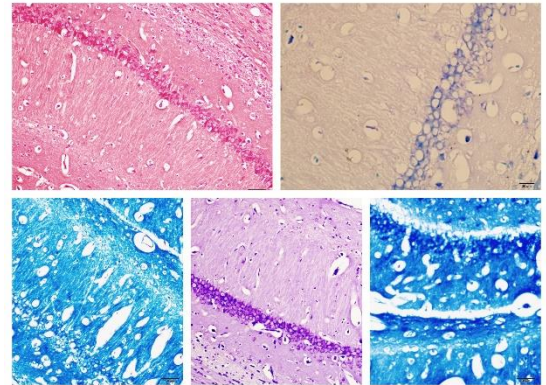


Şekil 24: SK CA1 Bölgesi

Kontrol- hipoksi (KH) ve stres -hipoksi (SH) grubu karşılaştırıldığında KH’de Str. radiatumun dar ve düzgün olmadığı ve aksonlarında uzama görülmüştür. Fakat bunun için immunohistokimya boyaması yapılması düşünülmektedir. CA1 Nissl granüllerinin CA3’ e göre daha dağınık olduğu görülmüştür. İki grupta da damarların fazla ve geniş olduğu görülmüştür. Alveus katmanının str. orientum daha az olduğu bulunmuştur. (Şekil 25) SH’de ise alveusun geniş olup oligodendrogliaların sayısının fazla olduğu görülmüştür. Piramidal nöronların ise az ve küçük olduğu saptanmıştır. Str. radiatumda da buna benzer olarak hücre perikaryonlarının küçük olduğu görülmüştür. (Şekil 26)



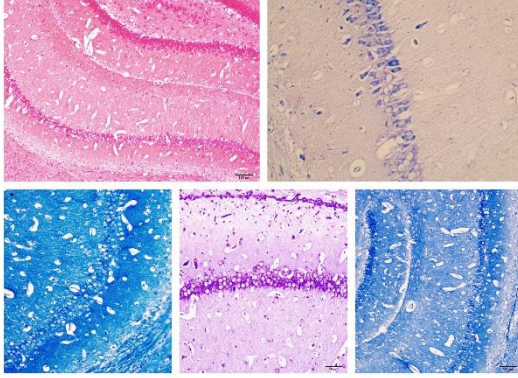
Şekil 25: KH CA1 Bölgesi



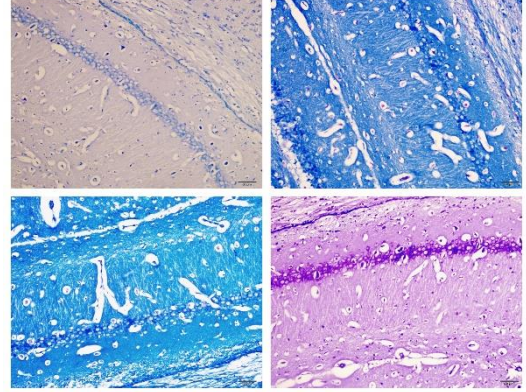
Şekil 26: SH CA1 Bölgesi

Kontrol- PTZ (KP) ve stres-PTZ (SP) grubu karşılaştırıldığında KP’de alveusta düzgün aksonlar ve fimbriada oligodendrogliaların fazla olduğu görülmüştür. Piramidal nöron tabakasının az olduğu saptanmıştır. (Şekil 27) SP’nin de benzer

şekilde piramidal katmanının çok az ve alveusta koyu renkli oligodendrogliaların belirgin olduğu görülmüştür. (Şekil 28)



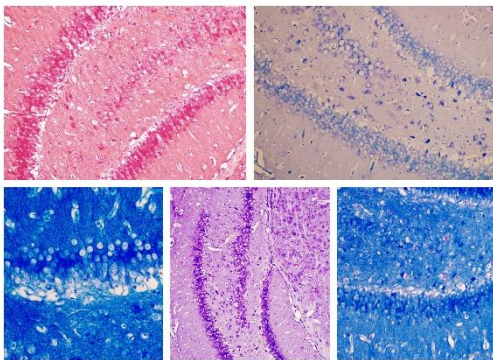
Şekil 27: KP CA1 Bölgesi



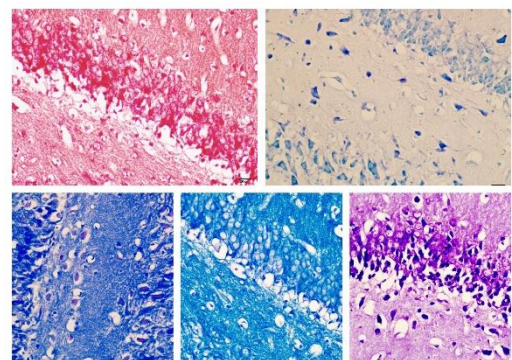
Şekil 28: SP CA1 Bölgesi

4.2.3. Gruplar Arası DG/SGZ Bölgelerinin Bulguları

Kontrol- kontrol (KK) ve stres- kontrol (SK) grupları karşılaştırıldığında KK'de SGZ bölgesinde, dentatustan farklı olarak heterokromotik nukleuslu değişik boyutlarda kök hücre olabileceği düşünülen hücreler mevcuttur. Ancak bunun tespiti için immunohistokimyaya ihtiyaç vardır. Damarların etrafında açık renkli astrositler olmasına rağmen ve alveusta oligodendroglialar küçük koyu lacivert olarak tespit edilmiştir. (Şekil 29) SK'de SGZ bölgesinde ise piramidal nöronlar saptanıp bazılarında metakromazi görülmüştür. Bununla beraber apoptotik olabileceği düşünülen hücreler görülmüştür. DG'de de buna benzer olarak granüler hücrelerin yanı sıra piramidal nöronların çok daha fazla olduğu görülmüştür. CA4'te de gliozis ve göç hataları olup diziliminin dağınık olduğu saptanmıştır. (Şekil 30)

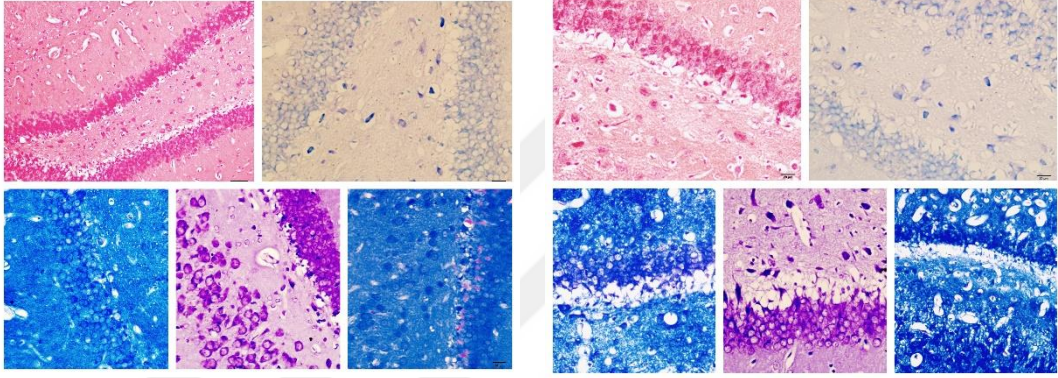


Şekil 29 : KK DG/SGZ Bölgesi



Şekil 30: SK DG/SGZ Bölgesi

Kontrol- hipoksi (KH) ve stres -hipoksi (SH) grubu karşılaştırıldığında KH’de granüler tabaka kalın ve dağınık olmasıyla beraber SGZ’de göç hatalarının fazla olduğu saptanmıştır. Diferansiyasyonun tamamlanmış olduğu ancak apoptotik hücrelerin olduğu görülmüştür. Bununla beraber piknotik hücrelerin fazla olduğu tespit edilmiştir. (Şekil 31) SH’nin SGZ’sinde ise piramidal nöronlara rastlanmıştır. Aynı zamanda glial uzantılarla birlikte intersellüler aralıklarda boşluk olduğu görülmüştür. DG’de ise geniş ve dağınık bir tabaka görülmüştür. Damarlanmanın fazla olduğu bulunmuştur. (Şekil 32)

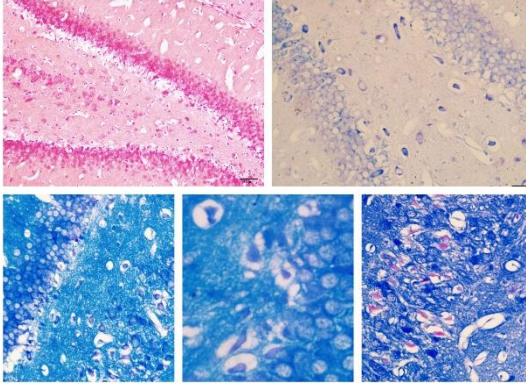


Şekil 31: KH DG/SGZ Bölgesi

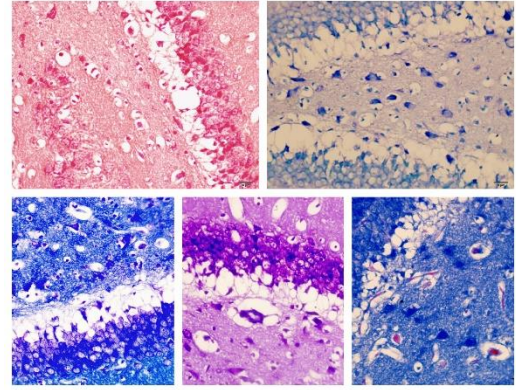
Şekil 32:SH DG/SGZ Bölgesi

Kontrol- PTZ (KP) ve stres-PTZ (SP) grubu karşılaştırıldığında KP’de damarların çok fazla ve geniş olduğu görülmüştür. DG granüler tabakası kalın olup CA4 bölgesi metakromazi göstermiştir. DG’de piramidal nöronlara rastlanıp nukleuslarında kromatolizis saptanmıştır. SGZ’de ise piramidal nöronlardan kaynaklı göç hatalarına rastlanmıştır. Kök hücre ve migrasyonu tanımlayan bir görüntü oluşmuş olmasına rağmen yeterli seviyede değildir. Diferansiye olan piramidal nöronların Nissl granülleri oluşmuş ve SGZ içerisinde çok yakın konumda yerleşmiştir. (Şekil 33)

SP’de ise SGZ bölgesinde intersellüler aralıkların fazla olduğu, hücre diferansiyasyonu, radial göç ve histogenezin devam ettiği saptanmıştır. Piramidal nöronlara rastlanmış olup değişik formda nöronlar da görülmüştür. SGZ’den piramidal nöronların CA4 bölgesine doğru göçe devam ettikleri ve bazılarının apoptozise uğradığı saptanmıştır. Fakat detaylı tespit için immunohistokimya boyasına ihtiyaç duyulmaktadır. DG granüler tabakası ise kalın ve CA4 dağınık olarak görülmüştür. Damarlanmanın fazla olduğu belirlenmiştir. (Şekil 34)



Şekil 33: KP DG/SGZ Bölgesi



Şekil 34: SP DG/SGZ Bölgesi

5. TARTIŞMA

Stres ve epilepsi arasındaki ilişki pek çok araştırmacı tarafından merak edilen bir konu halindedir. Stresin epileptik nöbet gelişiminde ve sıklığında bir risk faktörü olması gerek klinik vakalarda gerek laboratuvar çalışmalarında görülmektedir(175)(176). Özellikle erken yaşta maruz kalınan kronik stres, nöbet oluşturma riskini artıran ve ileriki dönemlerde de nöbet tetikleyici bir faktör olarak karşımıza çıkmaktadır(6). Prenatal strese maruz kalmış 35 günlük sıçanların hipokampal CA3 bölgesinde sinaptik yoğunlukta azalma olduğu görülmüştür(177). Benzer olarak stresli kontrol grubun CA3 piramidal nöronlarının az, Schaffer kollaterallerinin ve gliaların fazla olması prenatal stresin CA3 bölgesine olan negatif etkisini göstermektedir. Fakat CA1’de az piramidal nöronların olması CA3- CA1 sinaptik iletişimde de sorun yaratmaktadır. Bununla beraber DG/SGZ bölgesinde görülen piramidal nöronlar ve göç hataları histogenezin hala devam ettiğini ve gelişim geriliği oluştuğunu göstermektedir.

Erken dönem strese maruz kalmış olgunlaşmamış beyin her ne kadar dayanıklı olsa da stresin uzun vadede epileptojeneze olan etkisi bu çalışmada da görülmüştür. Yapılan diğer bir histolojik çalışmada da epileptik immatur hipokampusta herhangi bir farklılık görülmezken yetişkin hipokampusun CA3, CA1 ve hilus kısımlarında önemli derecede nöronal kaybın olduğu belirtilmiştir (178). Bunun aksine Weller ve arkadaşları ise art arda PTZ enjeksiyonuyla oluşturdukları epilepsi modellerinde immatur sıçanların, PTZ’nin etkilerini baskılamakta yetersiz kaldığını belirtmişlerdir.(123) Bulgulara göre stresli PTZ ve kontrol PTZ CA1 bölgesindeki piramidal nöron azlığı öğrenme ve bellek performanslarının düşük olmasını açıklamaktadır.

Edwards ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada prenatal stresin nöbet eşiğini düşürdüğünü belirtip yavru ve yetişkin sıçanlarda nöbet gelişimini artırdığını göstermişlerdir(111). Diğer yandan prenatal stresin nöbet oluşumunu tetikleyerek gelişmekte olan hipokampuse zarar verdiği çalışmanın temel yapı taşlarından birini oluşturmaktadır(55). Epileptik nöbetin hipokampuse verdiği zarar şu hipotezler ile açıklanabilir.

- a) Nöronların dengesiz bir şekilde dağılması
- b) Nöbet sonrası nöron kaybı

- c) Aksonların anormal derecede büyümesi ve eksitator sinapsların organizasyonunda bozukluk
- d) GABAerjik internöronların fonksiyonlarındaki bozukluk(179)(180).

Von Campe ve arkadaşları epileptik beyindeki hipokampus dentat granüler hücrelerin morfolojisini incelediklerinde eksitator hücrelerin arttığını ve Mossy fibrillerinin iç moleküler tabakaya dengesiz dağıldığını belirtmişlerdir(181). Granüler nöronlar piramidal nöronlardan embriyonik gelişim olarak farklıdır. Bundan dolayı etkilere karşı daha dayanıklıdır. Bu nedenle epileptik nöbetler piramidal nöronlara daha çok zarar vermektedir (10) Scharfman ve arkadaşları da status epileptikustan sonraki haftalarda hipokampusu incelediklerinde hilustan CA3 katmanına göç eden granüler benzeri nöronların CA3 nöronları ile anormal bir ağ oluşturduğunu görmüşlerdir (182). Bunu destekler nitelikte status epilepticus sonrasında sadece DG nöronlarının ektopik olarak göç ettiği görülmüştür (183). Nitekim kontrol PTZ ve özellikle stres PTZ de görülen göç hataları epileptojenez riskini artırmakla beraber geç gelişim oluşturmaktadır.

Prenatal stresin ve erken dönemde oluşan epileptik nöbetlerin hipokampuse olan etkilerinin yanı sıra diğer bir nöral kök hücre kaynağı olan SVZ ve epileptojenez arasındaki ilişki hakkındaki bilgiler yetersiz kalmaktadır. Farklı kimyasallar ile oluşturulan epileptik yetişkin sıçanların SVZ'sinde hücre proliferasyonunun ve nörogenezinin arttığı görülmüştür(184). Nitekim Parent ve arkadaşları hipokampusun gördüğü bu zararı glial progenitor hücrelerin kaudal SVZ'den CA1 ve CA3 bölgelerine göç ederek kapatmaya çalıştıklarını ileri sürmüştür(166).

Çevresel bir faktör olarak neonatal hipoksi de nöbet oluşumunu tetikleyebilmektedir. Postnatal 7. Günde uygulanan hipoksi sonrasında alınan devamlı kayıtlarda nöbet sıklığının artmış olarak birkaç ay boyunca devam ettiği görülmüştür(95). Sanchez ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise neonatal hipoksi sonrasında glutamat reseptör 2'nin düştüğü ve hipokampusta CA1 ve CA2 bölgelerinde AMPA reseptörlerine bağlı olarak epileptojenezin arttığı görülmüştür(185). Benzer olarak P10'da oluşturulan hipoksi modeli sonrasında Jensen ve arkadaşlarının çalışmasında da olduğu gibi yavru sıçanlarda tonik klonik nöbetler gözlenmemiştir(186). Aynı zamanda neonatal hipoksi-iskeminin de farede ön beyin SVZ'sinde nörogenezi tetiklediği belirtilmiştir(187). Dolayısıyla bulgulara göre iki

hipoksi grubunda da göç hatasının olması histogenezin devam ettiğini göstermektedir. Aynı zamanda damarların fazla ve geniş olması hipoksi nedeniyle endotel hücrelerden salgılanan VEGF'nin anjiyogenez ve vaskülogenezi tetiklemesinden kaynaklanmaktadır.

PTZ beyinde oluşturduğu yapısal ve biyokimyasal etkileri ile klinik vakalarda görülen epilepsiye uygundur. Bu nedenle seçilen bu modelde akut olarak intraperitoneal uygulanan PTZ, dozajına uygun olarak literatürde belirtilen jeneralize tonik klonik şekilde seyreden status epileptikus oluşturmuştur(188). Holmes ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada intraperitoneal olarak uygulanan 40 mg/kg PTZ, %50'yi aşan oranda ölüme neden olurken bu çalışmada 45 mg/kg olarak uygulanan PTZ'de maternal stres grubunda ölüm %33, kontrol grubunda ise %8 olmuştur. Aynı zamanda PTZ'yi belirli bir süreden sonra tekrar uyguladıklarında nöbet eşiğinin çok daha düşük olduğunu belirtmişlerdir(189). Huang ve arkadaşları P10'da PTZ ile indükledikleri nöbet modelinde spontan nöbet ve nöbet eşiklerinde farklılık gözlememiş fakat P35 ve P60'taki hipokampal değişikliklerle beraber öğrenme ve bellek becerilerinde bozukluk olduğunu görmüşlerdir(190). Buna benzer olarak prenatal stresin ardından postnatal 10. Günde PTZ ile oluşturduğumuz epileptik nöbet modelinde DG/SGZ katmanında görülen piramidal nöronlar geç gelişime ve göç hataları nedeniyle epileptojenez riskini artırdığı dikkat çekmektedir. Piramidal nöronlarda kromatolozisin görülmesi ise PTZ'nin sinir dokusuna verdiği zararı göstermektedir.

Prenatal stresle beraber oluşturulan epileptik nöbet modellerinde hipokampus ve SGZ gibi yapılardaki farklılıkların yanı sıra sıçanların ergenlik dönemi P35'teki yeni obje tanıma becerileri ölçülmüştür. PTZ ve hipoksinin hipokampuse olan etkileri sonucu öğrenme ve bellek gibi faktörlerin de etkilenmesi kaçınılmazdır. Yeni obje tanıma ve belleğin hasarlı hipokampus nedeniyle bozulduğu belirtilmiştir (191). Buna benzer olarak bulgulara göre alıştırma gününde toplam keşfi düşük olan hayvanların, test günü yeni objeye olan yönelimi daha fazla olmuştur. Aynı şekilde bu çalışmadaki sonuç da SH grubu haricinde E1>E2 olarak bulunmuştur.

KK ve SK grupları arasında görülen fark, sadece maternal stresin herhangi bir travmaya maruz kalmamış ergen sıçanlar üzerindeki etkisinin ne kadar önemli olduğunu göstermektedir. Maternal stres, ergen sıçanlarda öğrenmeyi ve bellek

performansını artırıcı bir faktör olarak karşımıza çıkmaktadır. Fakat uzun vadede bu durumun etkilerinin aynı kalıp kalmadığı diğer bir soru işareti oluşturmaktadır. Diğer yandan KP ve özellikle SP grubunun yeni obje ayırt etme performanslarının ve test günü toplam keşiflerinin dramatik olarak düşük olması prenatal stresten sonra neonatal akut nöbetin etkilerinin gelişim boyunca devam ettiğini göstermektedir. Bu da hipokampusteki CA3 ve CA1 bölgelerindeki morfolojik değişiklik ve bu iki bölge arasındaki sinaptik iletişimin düzgün olmamasından kaynaklanmaktadır. Nitekim Ahmadi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da PTZ ile oluşturulan epileptik nöbet modelinde yeni ve tanıdık objenin ikisinin de keşif oranlarının düşük olduğunu belirtmişlerdir(192). Detour ve arkadaşları ise 5 aylık epilepsinin uzaysal belleğe zarar verdiğini, anksiyeteyi düşürdüğünü fakat yeni obje tanıma performanslarında herhangi bir bozukluğa neden olmadığını belirtmiştir(193).

Maternal stresin hipoksik yavrular üzerindeki etkisi incelendiğinde ise yeni objeyi ayırt etme performanslarının sadece hipoksiye maruz kalan ergen sıçanlardan çok daha düşük olduğu görülmektedir. Alıştırma günü ve test günü keşif süreleri incelendiğinde ise maternal stresin hipoksik ergen sıçanlar üzerindeki farkı doğum esnasında oluşabilecek herhangi bir komplikasyonun gelişim boyunca kognitif süreçleri de etkileyeceğine dikkat çekmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Maternal stres, ergen sıçanlarda öğrenmeyi ve bellek performansını artırıcı bir faktör olarak karşımıza çıkmaktadır. Fakat uzun vadede bu durumun etkilerinin aynı kalıp kalmadığı soru işareti oluşturur. Maternal stres hem PTZ'ye hem de hipoksiye maruz kalmış ergen sıçanları etkilemiştir. Hem kimyasalla indüklenen epileptik nöbet hem de hipoksiyle oluşturulan epileptiform bozukluklar hipokampusta ve SGZ'deki histopatolojik değişikliklerle açıklanarak prenatal stresin beyin gelişimine olan etkisinin oldukça büyük olduğunu göstermektedir. Fakat bu durumun gelişim boyunca devam edip etmeyeceği yeni bir soru oluşturmaktadır. Dolayısıyla bu sıçanların ergenlikten sonraki dönemlerindeki beyin morfolojilerindeki değişiklik ve kognitif süreçleri maternal stresin epileptik bireyler üzerindeki etkisine gelişimsel olarak ışık tutacaktır. Diğer yandan kontrol grupları arasında bulunan anlamlı farklılık ise stresin öğrenme ve bellek performanslarını artırması, yetişkinlik ve yaşlılık dönemlerinde de bu performansın aynı olup olmayacağı yeni bir araştırma konusu olabilir.

Çalışma, prenatal maternal stresin göç hatalarının fazla olmasıyla epileptojenezi artırması, öğrenme ve bellek performanslarını düşürmesiyle günlük hayatta karşılaşılan epileptik nöbetlerin prenatal kaynaklı olabileceğini göstermektedir. Diğer yandan maternal stresin neonatal hipoksiye maruz kalan bebeklerde ergenlik dönemlerinde nöbet oluşma riskini artırıcı etkisi olduğu sonucuna varılmıştır. Böylece yeni doğanlarda beyin gelişimi ve epilepsi gibi nörolojik bozuklukların oluşmasının engellenmesi için annelerin gebelik dönemleri boyunca kronik stresten kaçınması gerekmektedir. Aynı zamanda prenatal stres ve epilepsi arasındaki bu ilişki, duygudurum bozuklukları ve epileptik tedavi yöntemlerine yeni bir sayfa açacaktır.

7.KAYNAKLAR

1. Sperling M. R, Schilling, C. A, Glosser, D, Tracy, J. I., & Asadi-Pooya, A. A. Self-perception of seizure precipitants and their relation to anxiety level, depression, and health locus of control in epilepsy. *Seizure*. 2008;17(4):302-307.
2. Qulu L, Daniels W.M., & Mabandla, M.V. Exposure to prenatal stress enhances the development of seizures in young rats. *Metabolic brain disease*. 2012;27(3):399-404.
3. Lai M-C, Huang L-T. Effects of Early Life Stress on Neuroendocrine and Neurobehavior: Mechanisms and Implications. *Pediatrics&Neonatology* 2011;52(3):122–9.
4. Krugers HJ, Karst H, Joels M. Interactions between noradrenaline and corticosteroids in the brain: from electrical activity to cognitive performance. *Frontiers in Cellular Neuroscience*. 2012;6,15.
5. Weinstock M. The potential influence of maternal stress hormones on development and mental health of the offspring. *Brain, behavior, and immunity*. 2005;19(4):296-308.
6. van Campen JS, Jansen FE, de Graan PNE, Braun KPJ, Joels M. Early life stress in epilepsy: A seizure precipitant and risk factor for epileptogenesis. *Epilepsy Behav*. 2014;38:160–71.
7. Gregus A, Wintink AJ, Davis AC,& Kalynchuk LE. Effect of repeated corticosterone injections and restraint stress on anxiety and depression-like behavior in male rats. *Behavioural brain research*. 2005;156(1):105-114.
8. Kvarik T., Mammel B., Reglodi D., Antonelli MC., Farkas J.,Tamas A., ...& Gyarmati J. Effects of maternal stress during different periods of pregnancy on the early neurobehavioral response of rats. *Journal of Neurology and Neuroscience*. 2016;7(2).
9. Reger ML, Hovda DA, Giza CC. Ontogeny of Rat Recognition Memory measured by the novel object recognition task. *Dev Psychobiology*. 2009;51(8):672-678.
10. Engel Jr J., Pedley TA., Vaughn B. *Epilepsy: A Comprehensive Textbook, Volume One*. [New York, NY] Raven Press. 1998.
11. Brown TM, Fee E. Walter Bradford Cannon: pioneer physiologist of human emotions. *American Journal of Public Health*. 2002;92(10):1594-1595.
12. Stein M. Panic disorder and medical illness. *Psychosomatics*. 1986;27(12):833-840.
13. Selye H. *Stress without distress*.New York. 1974.
14. Hubbard J. *Handbook of stress medicine: An organ system approach*. 1997
15. Farrar JT. Guidance for the implementation of primary care in Veterans Health Administrative. VHA Directive. 1994;10-94-100.
16. SELYE H, FORTIER C. Adaptive reactions to stress. *Res Publ Assoc Res Nerv*

Ment Dis 1949;29:3–18.

17. Selye H. Stress and the general adaptation syndrome. *British medical journal*. 1950; 1(4667):1383.
18. Cohen S, Kessler R, Gordon L. *Measuring stress: A guide for health and social scientists*. Oxford University Press on Demand. 1997.
19. Moberg G, Mench J. *The biology of animal stress: basic principles and implications for animal welfare*. 2000.
20. Mason JW. A Review of Psychoendocrine Research on the Pituitary-Adrenal Cortical System. *Psychosomatic medicine*. 1968;30(5):576-607.
21. Selye H. STRESS AND DISEASE. *The laryngoscope*. 1955;65(7):500-514.
22. Contrada R, Baum A. *The Handbook of Stress Science: Biology, Psychology, and Health. The Handbook of Stress: Neuropsychological Effects on the Brain*. 2011.
23. Lazarus RS, Folkman S. *Stress, Appraisal and Coping*. Springer. 1984;
24. COMPAS BE. Psychobiological Processes of Stress and Coping. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2006;1094(1):226-234.
25. Uchino BN, Smith TW, Holt-Lunstad J, Campo R, Reblin M. Stress and Illness. In: Cacioppo JT, Tassinary LG, Berntson G, editors. *Handbook of Psychophysiology*. Cambridge: Cambridge University Press. 2007.
26. Roberts BW, Bogg T. A Longitudinal Study of the Relationships Between Conscientiousness and the Social- Environmental Factors and Substance-Use Behaviors That Influence Health. *J Pers*. 2004;72(2):325–54.
27. Cannon WB. *The wisdom of the body*. New York, NY, US: W W Norton & Co. 1932.
28. Taylor SE, Lerner JS, Sage RM, Lehman BJ, Seeman TE. Early Environment, Emotions, Responses to Stress, and Health. 2004;72(6):1365–94.
29. American Psychological Association. Stress: The different kinds of stress [Internet]. [cited 2018 May 31]. Available from: <http://www.apa.org/helpcenter/stress-kinds.aspx>
30. MCEWEN BS. Protection and Damage from Acute and Chronic Stress: Allostasis and Allostatic Overload and Relevance to the Pathophysiology of Psychiatric Disorders. *Ann N Y Acad Sci*. 2004;1032(1):1–7.
31. Jones NC, O'Brien TJ. Stress, epilepsy, and psychiatric comorbidity: how can animal models inform the clinic? *Epilepsy & Behavior*. 2013;26(3):363-369.
32. Graham YP, Heim C, ... Nemeroff CB. The effects of neonatal stress on brain development: implications for psychopathology. *Development and psychopathology*. 1999;11(3):545-565.
33. Chappell PB, Smith MA, Kilts CD, Bissette G, Ritchie J, Anderson C. Alterations in corticotropin-releasing factor-like immunoreactivity in discrete rat brain regions after acute and chronic stress. *J Neurosci* 1986;6(10):2908–14.

34. Miller GE, Chen E, Zhou ES. If it goes up, must it come down? Chronic stress and the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis in humans. *Psychol Bull.* 2007;133(1):25–45.
35. Sapolsky RM, Romero LM, & Munck AU. How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocrine reviews.* 2000;21(1):55-89.
36. KANEKO M, KANEKO K, SHINSAKO J, DALLMAN MF. Adrenal Sensitivity to Adrenocorticotropin Varies Diurnally. *Endocrinology.* 1981;109(1):70–5.
37. Wiepkema PR, Schouten WG. Stereotypies in sows during chronic stress. *Psychotherapy and Psychosomatics.* 1992;57(4):194–199.
38. Chiba S, Numakawa T,...&Kunugi H. Chronic restraint stress causes anxiety- and depression-like behaviors, downregulates glucocorticoid receptor expression, and attenuates glutamate release induced by brain-derived neurotrophic factor in the prefrontal cortex. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry.* 2012;39(1):112-119.
39. Sheth C, McGlade E, Yurgelun-Todd D. Chronic Stress in Adolescents and Its Neurobiological and Psychopathological Consequences: An RDoC Perspective. *Chronic Stress.* 2017;1,2470547017715645.
40. Hare BD, Ghosal S, Duman RS. Rapid Acting Antidepressants in Chronic Stress Models: Molecular and Cellular Mechanisms. *Chronic Stress.* 2017;1:247054701769731.
41. Martin KP, Wellman CL. NMDA receptor blockade alters stress-induced dendritic remodeling in medial prefrontal cortex. *Cereb Cortex.* 2011;(21):2366-2373.
42. McEwen BS, Mood disorders and allostatic load. *Biological psychiatry.* 2003;54(3):200-207.
43. Korzan WJ, Summers TR, Summers CH. Monoaminergic activities of limbic regions are elevated during aggression: Influence of sympathetic social signaling. *Brain Res.* 2000;870(1–2):170–8.
44. MUNCK A, GUYRE PM, HOLBROOK NJ. Physiological Functions of Glucocorticoids in Stress and Their Relation to Pharmacological Actions. *Endocr Rev.* 1984;5(1):25–44.
45. Dunn AJ. Stress-Related Changes in Cerebral Catecholamine and Indoleamine Metabolism: Lack of Effect of Adrenalectomy and Corticosterone. *J Neurochem.* 1988;51(2):406–12.
46. Leenen F, de Jong W, de Wied D. Renal venous and peripheral plasma renin activity in renal hypertension in the rat. *American Journal of Physiology Content* 1973;225(6):1513–8.
47. Dunkel Schetter C. Psychological Science on Pregnancy: Stress Processes, Biopsychosocial Models, and Emerging Research Issues. *Annu Rev Psychol.* 2011;62(1):531–58.

48. DiPietro JA, Novak MF, Costigan KA, Atella LD, Reusing SP. Maternal Psychological Distress During Pregnancy in Relation to Child Development at Age Two. *Child Dev.* 2006;77(3):573–87.
49. Essex MJ, Klein MH, ... &Kalin NH. Maternal stress beginning in infancy may sensitize children to later stress exposure: effects on cortisol and behavior. *Biological psychiatry.* 2002;52(8):776-784.
50. Markostamou I, Ioannidis A, ... Tata DA. Maternal separation prior to neonatal hypoxia-ischemia: Impact on emotional aspects of behavior and markers of synaptic plasticity in hippocampus. *International Journal of Developmental Neuroscience.* 2016;52,1-12.
51. Charil A, Laplante DP, Vaillancourt C, King S. Prenatal stress and brain development. *Brain research reviews.* 2010;65(1):56-79.
52. DiPietro JA. Maternal stress in pregnancy: considerations for fetal development. *Journal of Adolescent Health.* 2012;51(2):S3-S8.
53. Mulder EJ, de Medina PR, ...&Visser GH. Prenatal maternal stress: effects on pregnancy and the (unborn) child. *Early human development.* 2002;70(1):3-14.
54. Huizink A, de Medina PGR, ...&Buitelaar JK. Psychosocial and endocrinologic measures of prenatal stress as predictors of mental and motor development in infancy. *Prenatal stress.* 2001;147.
55. Huang L-T. Early-life stress impacts the developing hippocampus and primes seizure occurrence: cellular, molecular, and epigenetic mechanisms. *Frontiers in Molecular Neuroscience.* 2014;7.
56. Takahashi L, ...&Kalin NH. Prolonged stress-induced elevation in plasma corticosterone during pregnancy in the rat: implications for prenatal stress studies. *Psychoneuroendocrinology.* 1998;23(6):571-581.
57. Talge NM, Neal C, Glover V. Antenatal maternal stress and long-term effects on child neurodevelopment: how and why? *J Child Psychol Psychiatry.* 2007;48(3–4):245–61.
58. Çorumlu EP, Ulupınar E. PRENATAL STRES MARUZİYETİNİN NÖROBİYOLOJİK ETKİLERİ/NEUROBIOLOGICAL EFFECTS OF PRENATAL STRESS EXPOSURE. *OSMANGAZI JOURNAL OF MEDICINE.* 2016;38
59. Benediktsson R, Calder AA, Edwards CRW, Seckl JR. Placental 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase: a key regulator of fetal glucocorticoid exposure. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1997;46(2):161–6.
60. Avishai-Eliner S, Brunson KL, Sandman CA, Baram TZ. Stressed-out, or in (utero)? *Trends Neurosci* 2002;25(10):518–24.
61. Lupien SJ, de Leon M, de Santi S, Convit A, Tarshish C, Nair NP V. Cortisol levels during human aging predict hippocampal atrophy and memory deficits. *Nat Neurosci* 1998;1(1):69–73.
62. Reul J, de Kloet. Two receptor systems for corticosterone in rat brain: microdistribution and differential occupation. *Endocrinology.* 1985;117(6),

2505-2511.

63. Welberg LAM, Seckl JR, Holmes MC. Inhibition of 11β -hydroxysteroid dehydrogenase, the foeto-placental barrier to maternal glucocorticoids, permanently programs amygdala GR mRNA expression and anxiety-like behaviour in the offspring. *Eur J Neurosci*. 2000;12(3):1047–54.
64. Li Y, Gonzalez P, & Zhang L. Fetal stress and programming of hypoxic/ischemic-sensitive phenotype in the neonatal brain: mechanisms and possible interventions. *Progress in neurobiology*. 2012;98(2):145-165.
65. Weinstock M. The long-term behavioural consequences of prenatal stress. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2008;32(6):1073-1086.
66. Fujioka A, Fujioka T, Ishida Y, Maekawa T, Nakamura S. Differential effects of prenatal stress on the morphological maturation of hippocampal neurons. *Neuroscience*. 2006;141(2):907–15.
67. Liberzon I, Young EA. Effects of stress and glucocorticoids on CNS oxytocin receptor binding. *Psychoendocrinology*. 1997;22(6):411-422.
68. Fatima M, Srivastav S, Mondal AC. Prenatal stress and depression associated neuronal development in neonates. *International Journal of Developmental Neuroscience*. 2017.
69. Bibel M, Barde YA. Neurotrophins: key regulators of cell fate and cell shape in the vertebrate nervous system. *Genes & development*. 2000;14(23):2919-2397.
70. Malberg JE, Eisch AJ, Nestler EJ, Duman RS. Chronic antidepressant treatment increases neurogenesis in adult rat hippocampus. *J Neurosci*. 2000;20(24):9104–10.
71. Bowman R, Maclusky NJ, ... Luine VN. Sexually dimorphic effects of prenatal stress on cognition, hormonal responses, and central neurotransmitters. *Endocrinology*. 2004;(145): 3778-87.
72. Koehl M, Darnaudéry M, Dulluc J, Van Reeth O, Moal M Le, Maccari S. Prenatal stress alters circadian activity of hypothalamo-pituitary-adrenal axis and hippocampal corticosteroid receptors in adult rats of both gender. *J Neurobiol*. 1999;40(3):302–15.
73. Maccari S, Morley-Fletcher S. Effects of prenatal restraint stress on the hypothalamus–pituitary–adrenal axis and related behavioural and neurobiological alterations. *Psychoendocrinology*. 2007;32:S10-S15.
74. Campos AC, Fogaça M V., Aguiar DC, Guimarães FS. Animal models of anxiety disorders and stress. *Rev Bras Psiquiatr*. 2013;35(SUPPL.2):101–11.
75. Vyas A, Mitra R, Rao B, Chattarji S. Chronic stress induces contrasting patterns of dendritic remodeling in hippocampal and amygdaloid neurons. *Journal of Neuroscience*. 2002;22(15):6810-6818.
76. Galea L, McEwen B, Tanapat P, ... & Dhabhar FS. Sex differences in dendritic atrophy of CA3 pyramidal neurons in response to chronic restraint stress. *Neuroscience*. 1997;81(3):689-697.
77. Bowman R, Zrull M, Luine VN. Chronic restraint stress enhances radial arm

- maze performance in female rats. *Brain research*. 2001;904(2):279-289.
78. Shansky RM, Morrison JH. Stress-induced dendritic remodeling in the medial prefrontal cortex: effects of circuit, hormones and rest. *Brain research*. 2009;1293,108-113.
 79. Darnaudéry M, Maccari S. Epigenetic programming of the stress response in male and female rats by prenatal restraint stress. *Brain Res Rev*. 2000;57(2):571–85.
 80. Deroche V, Marinelli M, Maccari S, Le Moal M, Simon H, Piazza P V. Stress-induced sensitization and glucocorticoids. I. Sensitization of dopamine-dependent locomotor effects of amphetamine and morphine depends on stress-induced corticosterone secretion. *J Neurosci*. 1995;15(11):7181–8.
 81. Di Giorgi Gerevini V., Caruso A, Cappuccio I, Ricci Vitiani L, Romeo S, Della Rocca C. The mGlu5 metabotropic glutamate receptor is expressed in zones of active neurogenesis of the embryonic and postnatal brain. *Dev Brain Res*. 2004;150(1):17–22.
 82. Maur D, Romero C, Burdet B, ...&Zorrilla-Zubilete MA. Prenatal stress induces alterations in cerebellar nitric oxide that are correlated with deficits in spatial memory in rat's offspring. *Neurochemistry international*. 2012;61(8):1294-1301.
 83. Goldwater DS, Pavlides C, Hunter R,...&Morrison JH. Structural and functional alterations to rat medial prefrontal cortex following chronic restraint stress and recovery. *Neuroscience*. 2009;164(2):798-808.
 84. Rosenwasser AM, Wirz-Justice A. Circadian Rhythms and Depression: Clinical and Experimental Models. In 1997 [cited 2018 Jun 1]. p. 457–86. Available from: http://www.springerlink.com/index/10.1007/978-3-662-09355-9_17
 85. Hove D Van den, Blanco CE, ... &Steinbusch HWM. Prenatal restraint stress and long-term affective consequences. *Developmental neuroscience*. 2005;27(5):313-320.
 86. Gulpinar M, Yegen BC. The physiology of learning and memory: role of peptides and stress. *Current Protein and Peptide Science*. 2004;5(6):457-473.
 87. Erickson K, Drevets W, Schulkin J. Glucocorticoid regulation of diverse cognitive functions in normal and pathological emotional states. *Neurosci. Biobehav. Rev*. 2003;27,233-246.
 88. O'malley A, O'connell C, Regan CM. Ultrastructural analysis reveals avoidance conditioning to induce a transient increase in hippocampal dentate spine density in the 6 hour post-training period of. *Neuroscience*. 1998;87,607-613.
 89. Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM. Principles of neural science. McGraw Hill Medical. New York. 1981.
 90. Nishimura J, Endo Y, Kimura F. A long-term stress exposure impairs maze learning performance in rats. *Neurosci. Lett*. 1999;273,125-128.
 91. Joels M, Pu Z,...&Krugers HJ. Learning under stress: how does it work? *Trends*

in cognitive sciences. 2006;10(4):152-158.

92. Herman JP, Cullinan WE. Neurocircuitry of stress: central control of the hypothalamo–pituitary–adrenocortical axis. *Trends Neurosci.* 1997;20:78-84.
93. Roozendaal B, McGaugh JL. Amygdaloid nuclei lesions differentially affect glucocorticoid-induced memory enhancement in an inhibitory avoidance task. *Neurobiol. Learn. Mem.* 1996;65:1-8.
94. Fisher RS, Acevedo C, Arzimanoglou A, Bogacz A, Cross JH, Elger CE. ILAE Official Report: A practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia.* 2014;55(4):475–82.
95. Jasper HH. *Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies.* Little, Brown and Company, 34 Beacon Street, Boston, Massachusetts 02106; 1969.
96. Berg AT, Shinnar S. The risk of seizure recurrence following a first unprovoked seizure: a quantitative review. *Neurology.* 1991;41(7):965–72.
97. Hauser WA, Rich SS, Lee JR-J, Annegers JF, Anderson VE. Risk of Recurrent Seizures after Two Unprovoked Seizures. *N Engl J Med.* 1998;338(7):429–34.
98. Baykan Betül, Bebek Nerses, Gürses Candan GA. EPİLEPSİ [Internet]. [cited 2018 Jun 1]. Available from: <http://www.itfnoroloji.org/epilepsi/Epilepsi.htm>
99. Rausch R, Babb TL. Hippocampal neuron loss and memory scores before and after temporal lobe surgery for epilepsy. *Archives of Neurology.* 1993;50(8):812-817.
100. Lanerolle N De, Kim J, Robbins RJ, Spencer DD. Hippocampal interneuron loss and plasticity in human temporal lobe epilepsy. *Brain research.* 1989;495(2):387-395.
101. Nadler JV, Perry BW, & Cotman CW. Selective reinnervation of hippocampal area CA1 and the fascia dentata after destruction of CA3-CA4 afferents with kainic acid. *Brain research.* 1980;182(1):1-9.
102. Buckmaster PS. Laboratory animal models of temporal lobe epilepsy. *Comparative medicine.* 2004;54(5):473-485.
103. Thom M, Sisodiya S, Najm I. Neuropathology of epilepsy. *Greenfield's neuropathology.* 2008;1,833-887.
104. Thom M, Martinian L, Sen A, ... & Sisodiya SM. An Investigation of the Expression of G1-Phase Cell Cycle Proteins in Focal Cortical Dysplasia Type IIB. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology.* 2007;66(11):1045-1055.
105. Aronica E, Mühlebner A. Neuropathology of epilepsy. In *Handbook of clinical neurology.* 2017;vol.145 pp. 193-216.
106. Germano IM, Sperber EF. Increased seizure susceptibility in adult rats with neuronal migration disorders. *Brain research.* 1997;777(1-2):219-222.
107. Brodtkorb E, Nilsen G, Smevik O, Rinck PA. Epilepsy and anomalies of neuronal migration: MRI and clinical aspects. *Acta Neurol Scand.* 1992;86(1):24–32.

108. Berg AT, Berkovic SF, Brodie MJ, Buchhalter J, Cross JH, van Emde Boas W. Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: Report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005-2009. *Epilepsia* 2010;51(4):676–85.
109. Türk Epilepsi ile Savaş Derneği. Absans Nöbetleri | Türk Epilepsi ile Savaş Derneği [Internet]. [cited 2018 Jun 1]. Available from: <http://www.turkepilepsi.org.tr/menu/35/absans-nobetleri>
110. Joëls M. Stress, the hippocampus, and epilepsy. *Epilepsia* 2009;50(4):586–97.
111. Edwards H, Dortok D, Tam J, Burnham WM. Prenatal stress alters seizure thresholds and the development of kindled seizures in infant and adult rats. *Hormones and behavior*. 2002;42(4):437-447.
112. Danzer SC. Depression, stress, epilepsy and adult neurogenesis. *Experimental neurology*. 2012;233(1):22-32.
113. Perez-Cruz C, Likhodii S, Burnham WM. Deoxycorticosterone's anticonvulsant effects in infant rats are blocked by finasteride, but not by indomethacin. *Experimental neurology*. 2006;200(2):283-289.
114. Perićić D, Švob D, Jazvinščak M & Mirković K. Anticonvulsive effect of swim stress in mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2006;66(4):879-886.
115. Jennett B. *Epilepsy after non-missile head injuries*. 2nd ed. Chicago:William Heinemann. 1975.
116. Salzberg M, Kumar G, Supit L, Jones NC, Morris MJ, Rees S, & O'Brien TJ. Early Postnatal Stress Confers Enduring Vulnerability to Limbic Epileptogenesis. *Epilepsia* 2007;48(11):2079–85.
117. Jones NC, O'Brien TJ, Carmant L. Interaction between sex and early-life stress: influence on epileptogenesis and epilepsy comorbidities. *Neurobiology of disease*. 2014;72:233-241.
118. Pajand P, Salmani ME, Shajiee H,...& Abrari K. Stress during first pregnancy increases seizure threshold in adult male offspring. *Iranian journal of basic medical sciences*. 2014;17(1):34.
119. Kandratavicius L,... & Leite JP. Animal models of epilepsy: use and limitations. *Neuropsychiatric disease and treatment*. 2014;16:693–705.
120. Ben-Ari Y, Holmes GL. Effects of seizures on developmental processes in the immature brain. *Lancet Neurol*. 2006;5(12):1055–63.
121. Lidster K, Jefferys JG, Blümcke I, Crunelli V, Flecknell P, Frenguelli BG, Shah M. Opportunities for improving animal welfare in rodent models of epilepsy and seizures. *J Neurosci Methods*. 2016;260:2–25.
122. Zhao Q, Marolewski A, Rusche JR, Holmes GL. Effects of uridine in models of epileptogenesis and seizures. *Epilepsy research*. 2006;70(1):73-82.
123. Weller A, Mostogsky DI. Ontogenetic development and pentylenetetrazol seizure thresholds in rats. *Physiology & behavior*. 1995;57(4):629-631.
124. Veliskova J, Claudio OI,...& Moshe SL. *Seizures in the Developing Brain*.

Epilepsia. 2004;45(s8):6–12.

125. Dube C, Marescaux C, Nehlig A. A Metabolic and Neuropathological Approach to the Understanding of Plastic Changes That Occur in the Immature and Adult Rat Brain During Lithium-Pilocarpine-Induced Epileptogenesis. *Epilepsia*. 2000;41(s6):S36–43.
126. Holmes G, Sarkisian M,...& Chevassus-Au Louis N. Mossy fiber sprouting after recurrent seizures during early development in rats. *Journal of Comparative Neurology*. 1999;404(4):537-553.
127. Faingold C, Blumenfeld H. Neuronal networks in brain function, CNS disorders, and therapeutics. Academic Press. 2013.
128. Hashemi P, Ebrahimi L,... & Roshan-Milani S. Effect of restraint stress during gestation on pentylenetetrazol-induced epileptic behaviors in rat offspring. *Iranian journal of basic medical sciences*. 2013;16(9):979.
129. Suchecki D, Neto JP. Prenatal stress and emotional response of adult offspring. *Physiology & behavior*. 1991;49(3):423-426.
130. Ebrahimi L, Saboory E, Roshan-Milani S, Hashemi P. Effect of prenatal forced-swim stress and morphine co-administration on pentylenetetrazol-induced epileptic behaviors in infant and prepubertal rats. *Dev Psychobiol*. 2014;56(6):1179-1186.
131. AICARDI J, CHEVRIE JJ. Convulsive Status Epilepticus in Infants and Children. *Epilepsia*. 1970;11(2):187–97.
132. Luhmann H, Raabe K. Characterization of neuronal migration disorders in neocortical structures: I. Expression of epileptiform activity in an animal model. *Epilepsy research*. 1996;26(1):67-74.
133. Sanchez R, Dai W,...Levada RE et. al. AMPA/kainate receptor-mediated downregulation of GABAergic synaptic transmission by calcineurin after seizures in the developing rat brain. *J Neurosci*. 2005;25(13):3442-3451.
134. Jensen FE, Applegate CD, Holtzman D, Belin TR, Burchfiel JL. Epileptogenic effect of hypoxia in the immature rodent brain. *Ann Neurol*. 1991;29(6):629–37.
135. Rakhade SN, Klein PM, Huynh T, Hilario-Gomez C, Kosaras B, Rotenberg A, et al. Development of later life spontaneous seizures in a rodent model of hypoxia-induced neonatal seizures. *Epilepsia*. 2011;52(4):753–65.
136. Weinstock M. The long-term behavioural consequences of prenatal stress. *Neurosci Biobehav Rev*. 2008;32(6):1073–86.
137. Getova D, Bowery N, Spassov V. Effects of GABAB receptor antagonists on learning and memory retention in a rat model of absence epilepsy. *European journal of pharmacology*. 1997;320(1):9-13.
138. Hayman LA, Fuller GN, Cavazos JE, Pflieger MJ, Meyers CA, Jackson EF. The hippocampus: normal anatomy and pathology. *Am J Roentgenol*. 1998;171(4):1139–46.
139. Lothman EW, III EB, Stringer JL. Functional anatomy of hippocampal seizures.

Progress in neurobiology. 1991;37(1):1-82.

140. Gall C. Comparative Anatomy of the Hippocampus. Springer, Boston MA. 1990.p. 167–213.
141. İZCİ Y, ERBAŞ Y. Hipokampus: Yapısı ve Fonksiyonları. [norosirurji.dergisi.org](http://www.norosirurji.dergisi.org) [Internet]. [cited 2018 Jun 1]; Available from: <http://www.norosirurji.dergisi.org/pdf.php?&id=1095>
142. Parmeggiani P, Azzaroni A, Lenzi P. On the functional significance of the circuit of Papez. Brain Research. 1971;30(2):357-374.
143. Tatu L, Vuillier F. Structure and vascularization of the human hippocampus. In The Hippocampus in Clinical Neuroscience. Karger Publishers. 2014; vol.34i pp.18-25.
144. Lagali P, Corcoran C, Picketts D. Hippocampus development and function: role of epigenetic factors and implications for cognitive disease. Clin Genet. 2010;78(4):321–33.
145. Insausti R, Cebada-Sánchez S, Marcos P. Introduction. In Postnatal Development of the Human Hippocampal Formation. Springer Berlin Heidelberg. 2010;pp.1-3.
146. Andersen P, Morris R, Amaral D, O'Keefe J, Bliss T. The hippocampus book. Oxford university press. 2007.
147. Altman J, Bayer SA. Migration and distribution of two populations of hippocampal granule cell precursors during the perinatal and postnatal periods. J Comp Neurol. 1990;301(3):365–81.
148. Hayashi K, Kubo K, Kitazawa A, Nakajima K. Cellular dynamics of neuronal migration in the hippocampus. Front Neurosci. 2015;9.
149. Nakahira E, Yuasa S. Neuronal generation, migration, and differentiation in the mouse hippocampal primordium as revealed by enhanced green fluorescent protein gene transfer by means of in utero electroporation. J Comp Neurol. 2005;483(3):329–40.
150. Molina-Navarro MM, Garcia-Verdugo JM. In Adult Neurogenesis in the Hippocampus. Neurobiology. 2016;p.1-17.
151. Luo Y, Shan G, Guo W, Smrt RD, Johnson EB, Li X, et al. Fragile X Mental Retardation Protein Regulates Proliferation and Differentiation of Adult Neural Stem/Progenitor Cells. PLoS Genetics. 2010;6(4):e1000898.
152. Jin K, Minami M, Lan J, ... & Greenberg Da. Neurogenesis in dentate subgranular zone and rostral subventricular zone after focal cerebral ischemia in the rat. National Academy of Sciences. 2001;98(8):4710-4715.
153. Kitamura T, Saitoh Y, Takashima N, ... & Inokuchi K. Adult neurogenesis modulates the hippocampus-dependent period of associative fear memory. Cell. 2009;139(4):814-827.
154. Mirescu C, Gould E. Stress and adult neurogenesis. Hippocampus. 2006;16(3):233–8.

155. Drew LJ, Fusi S, Hen R. Adult neurogenesis in the mammalian hippocampus: Why the dentate gyrus? *Learning & memory*. 2013;20(12):710-729.
156. Eriksson P, Perfilieva E,...&Gage FH. Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nature medicine*. 1998;4(11):1313.
157. Hansen DV, Lui JH, Parker PR, Kriegstein AR. Neurogenic radial glia in the outer subventricular zone of human neocortex. *Nature*. 2010;464(7288):554.
158. Curtis MA, Low VF, Faull RLM. Neurogenesis and progenitor cells in the adult human brain: A comparison between hippocampal and subventricular progenitor proliferation. *Dev Neurobiol*. 2012; 72(7):990–1005.
159. Vescovi A, Galli R, Reynolds BA. Brain tumour stem cells. *Nature Reviews Cancer*. 2006;6(6):425.
160. Dehay C, Kennedy H, Kosik KS. The outer subventricular zone and primate-specific cortical complexification. *Neuron*. 2015;85(4):683-694.
161. Doetsch F, Caille I, Lim D,...&Alvarez-Buylla A. Subventricular zone astrocytes are neural stem cells in the adult mammalian brain. *Cell*. 1999;97(6):703-716.
162. Quiñones-Hinojosa A, Sanai N, Soriano-Navarro M, Gonzalez-Perez O, Mirzadeh Z, Gil-Perotin S, et al. Cellular composition and cytoarchitecture of the adult human subventricular zone: A niche of neural stem cells. *J Comp Neurol*. 2006;494(3):415–34
163. Brazel C, Romanko M, ... Levinson SW. Roles of the mammalian subventricular zone in brain development. *Progress in neurobiology*. 2003;69(1):49-69.
164. Parent JM. The role of seizure-induced neurogenesis in epileptogenesis and brain repair. *Epilepsy research*. 2002;50(1):179-189.
165. Parent J, Valentin VV, Lowenstein DH. Prolonged seizures increase proliferating neuroblasts in the adult rat subventricular zone–olfactory bulb pathway. *Journal of Neuroscience*. 2002;22(8):3174-3188.
166. Parent JM, von dem Bussche N, Lowenstein DH. Prolonged seizures recruit caudal subventricular zone glial progenitors into the injured hippocampus. *Hippocampus*. 2006;16(3):321–8.
167. McLeod Saul. Working Memory [Internet]. 2008 [cited 2018 Jun 1]. Available from: <https://www.simplypsychology.org/working-memory.html>
168. Gupta A, Upmanyu N, Vashist H. Various Animal Models To Check Learning And Memory-A Review. LAP LAMBERT Academic Publishing. 2012
169. Quillfeldt JA. Behavioral Methods to Study Learning and Memory in Rats. In: *Rodent Model as Tools in Ethical Biomedical Research*. Cham: Springer International Publishing. 2016;pp.271-311.
170. Ennaceur A, Delacour J. A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. 1: Behavioral data. *Behav Brain Res*. 1988;31(1):47–59.
171. Antunes M, Biala G. The novel object recognition memory: neurobiology, test

- procedure, and its modifications. *Cogn Process*. 2012;13(2):93–110.
172. Okur H, Küçükaydin M, Köse K, Kondaş O, Doğan P, Kazez A. Hypoxia-induced necrotizing enterocolitis in the immature rat: The role of lipid peroxidation and management by vitamin E. *J Pediatr Surg*. 1995;30(10):1416–9.
 173. Nassiri-Asl M,...&Zamansoltani F. Anticonvulsive effects of intracerebroventricular administration of rutin in rats. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. 2008;32(4):989-993.
 174. Lueptow LM, Novel Object Recognition Test for the Investigation of Learning and Memory in Mice. *Journal of visualized experiments: JoVE*. 2017;126.
 175. McKee HR, Privitera MD. Stress as a seizure precipitant: Identification, associated factors, and treatment options. *Seizure*.2017;(44):21–6.
 176. Temkin NR, Davis GR. Stress as a Risk Factor for Seizures Among Adults with Epilepsy. *Epilepsia*. 1984;25(4):450–6.
 177. Hayashi A, Nagaoka M, Yamada K, Ichitani Y, Miake Y, Okado N. Maternal stress induces synaptic loss and developmental disabilities of offspring. *Int J Dev Neurosci*. 1998; 16(3–4):209–16.
 178. Ben-Ari Y, Holmes GL. Effects of seizures on developmental processes in the immature brain. *Lancet Neurol*. 2006;5(12):1055–63.
 179. Sloviter RS. The functional organization of the hippocampal dentate gyrus and its relevance to the pathogenesis of temporal lobe epilepsy. *Ann Neurol*.1994;35(6):640–54.
 180. Sutula TP. The pathology of the epilepsies: Insights into the causes and consequences of epileptic syndromes. *Pediatric epilepsies: diagnosis and treatment*. 1993;37-44.
 181. von Campe G, Spencer DD, de Lanerolle NC. Morphology of dentate granule cells in the human epileptogenic hippocampus. *Hippocampus*.1997;7(5):472–88.
 182. Scharfman HE, Goodman JH, Sollas AL. Granule-like neurons at the hilar/CA3 border after status epilepticus and their synchrony with area CA3 pyramidal cells: functional implications of seizure-induced. *Journal of Neuroscience*. 2000;20(16):6144-6158.
 183. Kron MM, Zhang H, Parent JM. The developmental stage of dentate granule cells dictates their contribution to seizure-induced plasticity. *Journal of Neuroscience*.2010;30(6):2051-2059.
 184. Banasr M, Hery M, Printemps R, Daszuta A. Serotonin-Induced Increases in Adult Cell Proliferation and Neurogenesis are Mediated Through Different and Common 5-HT Receptor Subtypes in the Dentate Gyrus and the Subventricular Zone. *Neuropsychopharmacology*. 2004; 29(3):450–60.
 185. Sanchez RM, Koh S, Rio C, Wang C, Lamperti ED, Sharma D, et al. Decreased glutamate receptor 2 expression and enhanced epileptogenesis in immature rat hippocampus after perinatal hypoxia-induced seizures.*J Neurosci*.

2001;21(20):8154–63.

186. Jensen FE, Blume H, Alvarado S, Firkusny I, Geary C. NBQX Blocks Acute and Late Epileptogenic Effects of Perinatal Hypoxia. *Epilepsia*. 1995;36(10):966–72.
187. Plane JM, Liu R, Wang T-W, Silverstein FS, Parent JM. Neonatal hypoxic–ischemic injury increases forebrain subventricular zone neurogenesis in the mouse. *Neurobiol Dis*. 2004;16(3):585–95.
188. Mandhane SN, Aavula K, Rajamannar T. Timed pentylenetetrazol infusion test: A comparative analysis with s.c.PTZ and MES models of anticonvulsant screening in mice. *Seizure*. 2007; 16(7):636–44.
189. ZHAO Q. Repetitive Seizures in the Immature Brain. *Models of seizures and epilepsy*. 2006;341-350.
190. Huang L-T, Yang SN, Liou C-W, Hung P-L, Lai M-C, Wang C-L, et al. Pentylenetetrazol-induced Recurrent Seizures in Rat Pups: Time Course on Spatial Learning and Long-term Effects. *Epilepsia*. 2002;43(6):567–73.
191. Mumby DG. Perspectives on object-recognition memory following hippocampal damage: lessons from studies in rats. *Behav Brain Res*. 2001;127(1–2):159–81.
192. Ahmadi M, Dufour JP, Seifritz E, Mirnajafi-Zadeh J, Saab BJ. The PTZ kindling mouse model of epilepsy exhibits exploratory drive deficits and aberrant activity amongst VTA dopamine neurons in both familiar and novel space. *Behav Brain Res*. 2017;330(February):1–7.
193. Detour J, Schroeder H, Desor D, Nehlig A. A 5-month period of epilepsy impairs spatial memory, decreases anxiety, but spares object recognition in the lithium-pilocarpine model in adult rats. *Epilepsia*. 2005;46(4):499–508.

EGE ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

SAYI: 2017-082

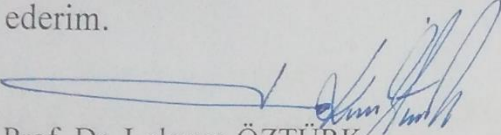
KONU: Onay

16.08.2017

Etik kurulumuza yapmış olduğunuz başvuru doğrultusunda **“POSTNATAL SIÇAN EPILEPSİ MODELLERİNDE MATERNAL STRESİN EPILEPTOJENEZ VE ÖĞRENMEYE ETKİSİ”** isimli araştırma projeniz değerlendirilmiştir.

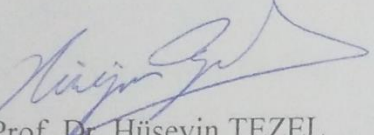
Yürütücü: Prof. Dr. Meral BAKA, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD.
Y. Lisans Öğrencisi Petek BİLİM, E. Ü. Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD.
Y. Lisans Öğrencisi Kübra ÇELİK, E. Ü. Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD.
Öğr. Ahmet Giray YARDIMCI, E. Ü. Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD.
Öğr. Şura PAMUK, E. Ü. Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD.

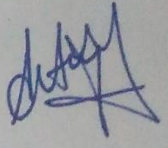
Proje başvuru formunuzda belirtildiği koşullarda deney hayvanı kullanarak araştırmayı gerçekleştirmeniz kurulumuz tarafından uygun bulunmuştur. Saygılarımla bilgilerinizi rica ederim.

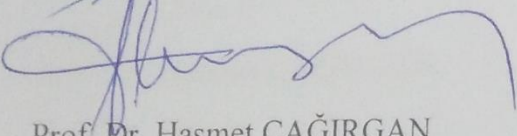

Prof. Dr. Lokman ÖZTÜRK
(E.Ü. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanı)


Prof. Dr. N. Ülkü KARABAY YAVAŞOĞLU

Prof. Dr. Aytül ÖNAL (KATILMADI)

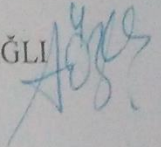

Prof. Dr. Hüseyin TEZEL

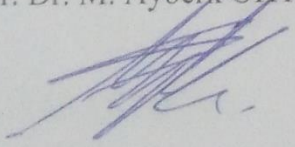
Prof. Dr. Altuğ YAVAŞOĞLU 

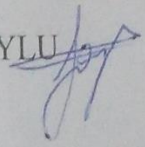

Prof. Dr. Haşmet ÇAĞIRGAN

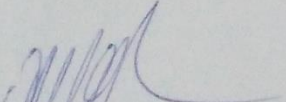
Prof. Dr. Figen KIRKPINAR (KATILMADI)

Prof. Dr. Uğur KAYA (KATILMADI)

Yrd. Doç. Dr. Sumru SÖZER KARADAĞLI 

Öğr. Gör. Dr. M. Ayberk OKTAY 

Vet. Hek. F. Emrah SOYLU 

Özcan NALBANTOĞLU 

Tingiz ÖZCAN (KATILMADI)

Kübra ÇELİK

Tel : 0(538) 970 9616

kubracelik94@gmail.com

Adres: Kazımdirik Mah. 372. Sok. No:18

Ağaçlı Yol, 35100 (IKEA yanı, Ege Üniversitesi

Hastanesi Arkası)

Bornova/İZMİR

Doğum Tarihi: 20.09.1994

Doğum Yeri: Fatih / İstanbul

Uyruğu: T.C.

Medeni Hali: Bekar



Eğitim Durumu:

2012 – 2016	İstanbul Arel Üniversitesi (Tam Burslu) (İstanbul) Psikoloji Lisans Eğitimi
2014 – 2015	Berlin Humboldt Üniversitesi (Berlin/Almanya) Psikoloji Lisans Eğitimi (Erasmus+ Öğrenim Hareketliliği)
2016 – halen	Ege Üniversitesi Sinirbilim Yüksek Lisans Eğitimi

Yabancı Diller: İngilizce (İleri Seviyede)
Almanca (Orta Seviyede)

Deneyimler:

2014 (Ağustos-Eylül) (İstanbul)	İstanbul Arel Üniversitesi Psikofizyoloji Laboratuvarı Stajyer Lisans Araştırma Asistanı
2015 (Temmuz-Ağustos)	Bandırma Özel Esen Psikiyatri Merkezi (Balıkesir) Stajyer Psikolog
2015 (Ağustos- Ekim) (Selanik/Yunanistan)	Selanik Aristo Üniversitesi Bilişsel Psikoloji Laboratuvarı Stajyer Lisans Araştırma Asistanı

Dijital Beceriler: Microsof Office 2013 (İyi)

IBM SPSS Statistics 22 (İyi)

Sertifikalar: Erasmus Staj Hareketliliği – Selanik Aristo Üniversitesi (2015)

Ege Üniversitesi, Laboratuvar Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi
Deney Hayvanları Kullanımı (2017)

Kongreler: FENS 2015 Thessaloniki Regional Meeting (Selanik/ Yunanistan)

Türk Psikologlar Derneği Etik Sempozyumu (2016, Kadir Has
Üniversitesi/İstanbul)

Ortadoğu Teknik Üniversitesi 2. Sinirbilim Günleri (2016, Ankara)

İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi 4. Ulusal Sinirbilim Kongresi (2017,
İstanbul)

15. Ulusal Sinirbilim Kongresi (2017, Sakarya Üniversitesi/Sakarya)

Sözel Sunumlar:

İnce B., Ildırım E., Çelik K., Şimşek Ö., The role of insight and emotional intelligence
in the association between depression and language use among adolescence, 15. European
Congress of Psychology (Amsterdam, Hollanda)

Yardımcı, A.G., Pamuk, B.Ş., Bilim, P., Çelik K., Maternal Uygulanan Valproik
Asitin Yavrularda Gastrointestinal Mezenter Nöron Gelişimine, Miyelinizasyona ve Enterik
Glialara Etkisi (Danışman: Prof. Dr. Meral BAKA, Ege Üniversitesi Araştırma Eğitimi
Projeleri En İyi Sözel Sunum)

Kurslar: İstanbul Goethe Enstitüsü Almanca A1,
Berlin Humboldt Üniversitesi Almanca B1

Gönüllülükler: Erasmus Student Network Türkiye / Yunanistan (2014-2016)

Berlin Humboldt Üniversitesi Multitasking Dikkat Deneyi
(Berlin/Almanya)

Katıldığı Projeler: Beta oscillatory responses and analyzes in emotional processes –
İstanbul Arel Üniversitesi Psikofizyoloji Laboratuvarı (Gönüllü Staj,2014)

Maternal separation prior to neonatal hypoxia-ischemia:Impact on
emotional aspects of behavior and markers of synaptic plasticity in hippocampus - 2015
Selanik Aristo Üniversitesi, Yunanistan (Erasmus Staj Hareketliliği)

Üniversite Öğrencilerinde Biriciklik Duygusu ve Narsisizm - Lisans
Bitirme Projesi, 2016 (Danışman: Öğr. Gör. Duygu KUZU)

Üyelikler:

Türkiye Beyin Araştırmaları ve Sinirbilimleri Derneği
Federation of European Neuroscience Societies (FENS)

