

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**PENTİLENTETRAZOL İLE EPİLEPSİ OLUŞTURULMUŞ
SIÇANLARDA HİPOKAMPAL ELEKTROFİZYOLOJİK
DEĞİŞİKLİKLERE ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ ÇEVRENİN
ETKİSİ**

**Tezi Hazırlayan
Seval KELOĞLAN**

**Danışman
Prof. Dr. Nazan DOLU**

Doktora Tezi

**Ekim 2012
KAYSERİ**

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**PENTİLENTETRAZOL İLE EPİLEPSİ OLUŞTURULMUŞ
SIÇANLARDA HİPOKAMPAL ELEKTROFİZYOLOJİK
DEĞİŞİKLİKLERE ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ ÇEVRENİN
ETKİSİ**

**Tezi Hazırlayan
Seval KELOĞLAN**

**Danışman
Prof. Dr. Nazan DOLU**

Doktora Tezi

**Ekim 2012
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi bu çalışmanın özünde olan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Adı Soyadı: Seval KELOĞLAN

İmza:



YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

‘Pentilentetrazol İle Epilepsi Oluşturulmuş Sıçanlarda Hipokampal Elektrofizyolojik Değişikliklere Zenginleştirilmiş Çevrenin Etkisi’ adlı **Doktora Tezi**, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan
Seval KELOĞLAN

Danışman
Prof. Dr.Nazan DÖLU

Anabilim Dalı Başkanı
Prof. Dr.Cem SÜER

Prof. Dr.Nazan DOLU danışmanlığında **Seval KELOĞLAN** tarafından hazırlanan '**Pentilentetrazol İle Epilepsi Oluşturulmuş Sıçanlarda Hipokampal Elektrofizyolojik Değişikliklere Zenginleştirilmiş Çevrenin Etkisi**' konulu bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalında Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

21/09/2012

JÜRİ

İmza

Başkan :Prof. Dr. Nazan DOLU

Üye :Prof. Dr.Cem SÜER

Üye :Prof. Dr.Fusun ERDOĞAN

Üye :Prof. Dr.Asuman GÖLGELİ

Üye :Yrd. Doç.A.Seda ARTIŞ

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulununtarih vesayılı kararı ile onaylanmıştır.

.../.../2012

Enstitü Müdürü

Prof. Dr. Saim ÖZDAMAR

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince, her zaman desteği, yardımları olan, bilgi, deneyim ve iyi niyetini esirgemeyen, değerli zamanını ayıran, çok değerli hocam, danışmanım Sayın Prof.Dr. Nazan DOLU'ya,

Tez çalışmama bilimsel ve manevi yardımı, desteğinden dolayı değerli hocam Prof.Dr. Cem SÜER'e, katkılarından dolayı Yrd.Doç. Seda ARTIŞ'a, Prof.Dr. Füsün ERDOĞAN'a, bölüm hocalarım Prof.Dr. Sami AYDOĞAN'a, Prof.Dr. Asuman GÖLGELİ'ye, Prof.Dr. Meral AŞÇIOĞLU'na, Prof.Dr. Nurcan DURSUN'a, birlikte yürüttüğümüz deneylere olan katkısı, emeği ve arkadaşlığı için Soner BİTİKTAŞ'a, asistan arkadaşlarıma, aileme, yakın dostlarıma teşekkür ederim.

Seval KELOĞLAN

Kayseri, Ekim 2012

**PENTILENTETRAZOL İLE EPİLEPSİ OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA
HIPOKAMPAL ELEKTROFİZYOLOJİK DEĞİŞİKLİKLERE ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ
ÇEVRENİN ETKİSİ**

Seval KELOĞLAN

Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Fizyoloji Anabilim Dalı

Doktora Tezi, Ekim 2012

Danışman: Prof.Dr. Nazan DOLU

ÖZET

Epilepsi hipokampal işlevsel/morfolojik değişikliklerle ilişkilidir. Bu değişiklikler deney hayvanlarında bilişsel yeteneklerde gerileme ve sinaptik plastisitede artış ya da azalma ile ortaya çıkmaktadır. Bu çalışmada amacımız, hipokampusun perforan yolunda bu işlevsel değişikliklerin olup olmadığını araştırmaktır. Zenginleştirilmiş çevrenin, beyin hasarından sonra bilişsel ve motor bozuklukları düzeltebileceğine ilişkin bulgular bulunmaktadır. Bu bağlamda, ikinci amacımız epileptik nöbetlerden sonra zenginleştirilmiş çevrenin bilişsel işlevleri iyileştirip iyileştirmediğini araştırmaktır.

Çalışmamızda hayvanlar, normal kafeste barındırılan kontrol grup (KN), zenginleştirilmiş kafeste barındırılan kontrol grup (KZ), normal kafeste barındırılan epileptik grup (EN), zenginleştirilmiş kafeste barındırılan epileptik grup (EZ) olmak üzere dört farklı gruba ayrıldı. Serum fizyolojik ve pentilentrazol (PTZ, 35 mg/kg, ip) sırasıyla kontrol ve epileptik gruplara, gūnaşırı enjeksiyon olacak şekilde 38 günde verildi. Son PTZ enjeksiyonundan 72 saat sonra, kontrol ve deney gruplarının her ikisinin de spasyal öğrenme davranışları morris yüzme testi ile, lokomotor aktiviteleri açık alan testi ile, araştırma davranışları delikli tahta testi ile test edildi.

Spasyal öğrenme performanslarının test edilmesini takiben, sıçanlar üretan ile anestezi edildi ve sterotaksik sisteme yerleştirildi. Tungsten bipolar elektrot medyal perforan yolu uyarmak için kullanıldı. Alan eksitator postsinaptik potansiyelleri (fEPSP) kaydetmek için cam bir mikropipet, ipsilateral dentat girusun granül hücre tabakasına yerleştirildi. fEPSP'nin 10 dakikalık bazal kaydının ardından, 4'lü tetanik uyarı (yüksek frekanslı uyaran, YFU) verilerek uzun süreli potansiyalizasyon (USP) oluşturuldu ve 3,5 saat süreyle kaydedildi.

Platformun kaldırıldığı yarı alanda kalma süresi, EN grubunda EZ grubuna göre anlamlı düşüktü ($p<0,05$). Morris yüzme testinde geçilen kadrans sayısı KN ve EN grubunda KZ grubuna göre daha az bulundu. Açık alan testinde geçilen çizgi sayısı, EZ grubunda KZ grubuna göre anlamlı şekilde düşük bulundu ($p<0,05$). Delikli tahta testinde baş sokma sayısı KN grubunda diğer gruplara göre anlamlı şekilde yüksekti ($p<0,05$). Elektrofizyolojik kayıt bulgularımıza göre, fEPSP ve populasyon spike (PS) amplitüdü EN grubunda KZ grubuna göre 4. YFU sonrasında yüksek bulundu ($p<0,05$).

Sunulan çalışmada in-vivo deneylerimiz, zenginleştirilmiş çevrenin epileptik sıçanlarda dentat girusu sinaptik plastisiteyi iyileştirebileceğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Epilepsi, Pentilentetrazol, Öğrenme, Hipokampus, USP

**EFFECTS OF ENHANCED ENVIRONMENTAL ON HIPPOCAMPAL
ELECTROPHYSIOLOGICAL CHANGES IN THE PENTYLENETETRAZOLE
MODEL OF EPILEPSY**

Seval KELOĞLAN

Health Sciences Institute of Erciyes University

Department of Physiology

PhD Thesis, October

Supervisor: Prof.Dr. Nazan DOLU

ABSTRACT

Epilepsy is associated with changes in hippocampal function/morphology. These changes often manifest as a decline in cognitive abilities, which in animal models is reflected in reduced spatial learning and up-regulation or down-regulation of synaptic plasticity. Here, our first aim was to investigate whether functional changes occur at perforant pathway in hippocampus. As there is evidence that enriching the environment can improve cognitive and motor deficits after brain injury, our second aim was to determine whether environmental enrichment improves cognitive function after epileptic seizures.

In this study, we separated animals into four different groups. The control group in normal cage (CN), the control group in enrichment cage (CE), epileptic group in normal cage (EN), the epileptic group in enrichment cage (EE). Serum physiologic and pentylenetetrazol (PTZ, 35 mg/kg, ip) were injected to control or epileptic group, respectively once every alternate day for a period of 38 days. Seventy-two hours later than last injection of PTZ, animals from both control and experimental were tested for spatial learning in morris water tank, for locomotor activity at open field test and for exploratory activity on hole board.

Following spatial learning performance tests, rats were anesthetized with urethane and placed in a stereotaxic frame. A bipolar, tungsten electrode was used to stimulate the medial perforant path. A glass micropipette was inserted within the granule cell layer of the ipsilateral dentate gyrus to record field excitatory postsynaptic potentials (fEPSP). Following a 10-min baseline recording of fEPSPs, long-term potentiation (LTP) was induced by four sets of tetanic pulse trains (high frequency stimulation, HFS) and recorded during a 3.5-hour.

EN group spent significantly less time than EE group in the half area without platform where the platform had been previously located ($p < 0,05$). The number of crossing quadrant was lower in CN and EN group than CE group in the Morris swimming test. The number of crossing line was found significantly lower in the EE group than CE group in open field test ($p < 0,05$). The number of head-dipping was significantly higher in the CN group than other groups in the hole board test ($p < 0,05$). According to electrophysiological recordings, fEPSP and population spike (PS) amplitude were found to be higher in the EN group than in the CE group after 4th HFS ($p < 0,05$).

The present in vivo-experiment provides that enhanced environmental may improve synaptic plasticity in dentate gyrus in epileptic rats.

Key words: Epilepsy, Pentylenetetrazole, Learning, Hippocampus, LTP

İÇİNDEKİLER

Sayfa no

İÇ KAPAK	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK SAYFASI	ii
YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI	iii
KABUL ONAY SAYFASI	iv
TEŞEKKÜR	v
ÖZET	vi
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER	viii
TABLO LİSTESİ.....	xi
ŞEKİL LİSTESİ.....	xii
KISALTMALAR.....	xiii
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1. EPİLEPSİ	4
2.1.1. Epilepsinin Tarihçesi.....	4
2.1.2. Epilepsinin Epidemiyolojisi	4
2.1.3. Epilepsinin Etyolojisi.....	5
2.1.4. Terminoloji.....	5
2.1.5. Epilepsinin Sınıflandırılması	5
2.1.5.1. Uluslararası Epilepsi İle Savaş Derneği'ne Göre Epileptik Nöbetlerin Sınıflandırılması	5
2.1.5.2.Uluslararası Epilepsi İle Savaş Derneği'ne Göre Epilepsi ve Epilepsi Sendromlarının Sınıflandırılması	7
2.1.6. Epilepsinin Temel Mekanizmaları	8
2.1.6.1. Epileptik Nöronun ve Epileptik Aktivitenin Fizyolojisi	9
2.1.6.2. Epileptik Aktivitenin Yayılması ve Senkronizasyonu	10
2.1.6.3. Nöbetlerin Eksitasyon ve İnhibisyonu	10
2.2. DENEYSEL EPİLEPSİ MODELLERİ.....	14
2.2.1 Tutuşma Modeli.....	15
2.2.1.1. Kimyasal Tutuşma Modeli	16
2.2.1.2. Pentilentetrazol'ün Etki Mekanizması	16
2.3. ÖĞRENME VE BELLEK.....	16

2.3.1. Öğrenme Tipleri.....	16
2.3.2. Oluşum Sürecine Göre Belleğin Sınıflandırılması.....	17
2.3.2.1. Kısa Süreli Bellek.....	17
2.3.2.2. Orta uzun-süreli bellek.....	17
2.3.2.3. Uzun süreli bellek.....	17
2.3.3. Plastisite	18
2.3.4. Öğrenme İle İlişkili Nörokimyasallar	19
2.3.5. Öğrenmede Rol Alan Beyin Bölgeleri	19
2.4. HİPOKAMPAL FORMASYON	20
2.4.1. Hipokampusun Fizyolojik Anatomisi	20
2.4.2. Hipokampus ve Plastisite	21
2.4.3. Hipokampus ve Nörogenez	23
2.5. ÖĞRENME MEKANİZMASI ÜZERİNDE YAPILAN DENEYLER	23
2.5.1. Davranış Testleri.....	23
2.5.2. Öğrenmenin Elektrofizyolojik Deneysel Modeli ‘Uzun Süreli Potansiyalizasyon’	24
2.6. UZUN SÜRELİ POTANSİYALİZASYON.....	24
2.6.1. Uzun Süreli Potansiyalizasyon İçin Farklı Oluşturma Mekanizmaları.....	25
2.6.2. Yaygın Uzun Süreli Potansiyalizasyon Oluşturma Protokolü	25
2.6.3. Uzun Süreli Potansiyalizasyon Formları.....	26
2.6.4. Uzun Süreli Potansiyalizasyon’da Effektör Mekanizmalar.....	28
2.6.4.1. Protein Sentezi Sonrası Düzenleme	28
2.6.4.2. Dendritik Protein Yıkımı Ve Sentezi.....	29
2.6.4.3. Gen Ekspresyonu.....	30
2.7. ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ ÇEVRE.....	31
2.7.1. Zenginleştirilmiş Çevrenin Laboratuvar Hayvanlarında Tanımlanması	31
2.7.2. Zenginleştirilmiş Çevrenin Beyin Kimyası Üzerine Olan Etkileri	32
2.7.3. Zenginleştirilmiş Çevre ve Plastisite.....	33
2.7.4. Zenginleştirilmiş Çevre ve Nörodejeneratif Hastalıklar	33
2.7.5. Zenginleştirilmiş Çevre ve Epilepsi	34
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	37
3.1. DENEY HAYVANLARI.....	37
3.2. ÇALIŞMA YÖNTEMİ	38
3.3. EPİLEPSİ OLUŞTURULMASI	38
3.4. ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ ÇEVRE.....	39

3.5. DAVRANIŞ TESTLERİ.....	41
3.5.1. Morris Yüzme Testi	41
3.5.2. Açık Alan Testi.....	42
3.5.3. Delikli Tahta Testi	42
3.6. ELEKTROFİZYOLOJİK KAYIT ALINMASI	42
3.6.1. Input-Output (I/O) Eğrisi	44
3.6.2. Uzun Süreli Potansiyalizasyon	45
3.7. VERİ ANALİZİ VE İSTATİSTİKLER	45
4. BULGULAR.....	47
4.1. DENEY HAYVANLARI.....	47
4.2. EPİLEPTİK AKTİVİTENİN DEĞERLENDİRİLMESİ	48
4.2.1. Safha 1, 2, 3 Nöbetlerinin Değerlendirilmesi	48
4.2.2. Safha 4 ve 5 Nöbetlerinin Değerlendirilmesi.....	49
4.3. DAVRANIŞ TESTLERİNİN SONUÇLARI	51
4.3.1. Morris Yüzme Testi	51
4.3.2. Açık Alan Testi.....	55
4.3.3. Delikli Tahta Testi	56
4.4. ELEKTROFİZYOLOJİK KAYIT BULGULARI	56
4.4.1. I/Q Bulguları.....	56
4.4.2. Yüksek Frekanslı Uyarı ve Uzun Süreli Potansiyalizasyon	
Bulguları.....	58
4.4.2.1. Zaman Pencerelerine Göre Analiz	58
4.4.3. Tüm Trasenin İncelenmesi	59
5. TARTIŞMA.....	61
5.1. EPİLEPTİK AKTİVİTENİN DEĞERLENDİRİLMESİ	61
5.2. DAVRANIŞ TESTLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ.....	63
5.2.1. Morris Yüzme Testi Sonuçlarının Değerlendirilmesi	63
5.2.2. Açık Alan Testi Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	65
5.2.3. Delikli Tahta Testi Sonuçlarının Değerlendirilmesi	66
5.3. ELEKTROFİZYOLOJİ BULGULARININ DEĞERLENDİRİLMESİ.....	66
KAYNAKLAR.....	70
EKLER	
ÖZGEÇMİŞ	

TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. Epilepsi ile ilgili temel terimler.....	5
Tablo 2.2. Epilepsi sendromlarının sınıflandırılması	8
Tablo 3.1. Deney grupları.....	37
Tablo. 4.1. Deney süresince hayvan kayıplar	48
Tablo 4.2. Safha 4 ve 5 nöbet latans ve süreleri	51
Tablo 4.3. Morris yüzme testinde, deneme ve öğrenme fazında ölçülen parametreler	52
Tablo 4.4. Delikli tahta ve açık alan testi sonuçları	55
Tablo 4.5. Grupların 0,1 mA-1,5 mA arasında değişen 8 ayrı uyarı şiddetine karşı dentat girus nöronlarından kaydedilen EPSP eğiminin istatistiksel analizi.	57
Tablo 4.6. Grupların 0,1 mA-1,5 mA arasında değişen 8 ayrı uyarı şiddetine karşı dentat girus nöronlarından kaydedilen PS genliklerinin istatistiksel analizi.....	57
Tablo 4.7. Beş farklı zaman penceresi	59
Tablo 4.8. Eksitator postsinaptik potansiyel eğiminin beş farklı zaman penceresinde kaydedilen alan potansiyellerinin deney gruplarındaki ortalama değerleri	59
Tablo 4.9. Populasyon spike genliğinin beş farklı zaman penceresinde kaydedilen alan potansiyellerinin deney gruplarındaki ortalama değerleri	59

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Epileptik aktivitenin fizyopatolojisi	10
Şekil 2.2. PDS'nin altında yatan intrasellüler ve ekstrasellüler olaylar	10
Şekil 2.3. Hipokampusun fizyolojik anatomisi.....	21
Şekil 2.4. YFU ve TBU oluşturma protokolü.....	26
Şekil 2.5. USP formları ve hücre içi mekanizmalar	30
Şekil 2.6. Akut nöbetlerden kronik nöbetlere geçişte çeşitli zaman noktalarını sistemik gösteren şekil	35
Şekil 3.1. Deney hayvanlarının standart kafes ya da zenginleştirilmiş ortamda kalma sürelerini, epilepsi oluşturma sürecini, davranış testlerinin yapılmasını ve USP kayıtlarının alınma zamanlarını gösteren çalışma takvimi	38
Şekil 3.2. Epileptik aktivitenin gözleendiği cam fanus	39
Şekil 3.3. Zenginleştirilmiş çevrede deney hayvanları.....	40
Şekil 3.4. Morris su tankı	41
Şekil 3.5. Elektrofizyolojik kayıtların alındığı deney sisteminin şematik görünümü	43
Şekil 3.6. Elektrofizyolojik kayıt sırasında deney hayvanını ve elektrotların yerleşimini gösteren bir örnek	44
Şekil 3.7. EPSP yanıt eğimi.....	44
Şekil 3.8. Bilgisayar ekranında USP kaydı görünümü	45
Şekil 4.1. Epilepsi gruplarının 18 gün aşırı enjeksiyon yapımı sırasında safha 4 veya 5 nöbetlerini üst üste 3 kez geçirdiklerinde (tutuşmuş kabul edilme kriteri) tutuştıkları ilk enjeksiyon sayısı	48
Şekil 4.2. Safha 4 ve 5 nöbet latansları	49
Safha 4.3. Safha 4 ve 5 nöbet süreleri.....	50
Şekil 4.4. Deneme fazında geçilen kadran sayısı.....	53
Şekil 4.5. Deneme fazında yarı alanda geçirilen süre	53
Şekil 4.6. Öğrenme fazında platformun bulunduğu yarı alanda geçirilen süre	54
Şekil 4.7. Öğrenme fazında geçilen kadran sayısı	55
Şekil 4.8. Açık alan testinde davranış parametreleri.....	55
Şekil 4.9. Delikli tahta düzeneğinde grupların baş sokma sayısı.....	56
Şekil 4.10. Grupların 0,1 mA-1,5 mA arasında değişen 8 ayrı uyarı şiddetine karşı dentat girus nöronlarından kaydedilen EPSP eğim ve PS genliklerinin değişimleri	58
Şekil 4.11. Deney gruplarının dentat giruslarından elde edilen alan potansiyellerinin, EPSP eğiminin bazal değerlerine göre yüzde değişimleri.	60
Şekil 4.12. Deney gruplarının dentat giruslarından elde edilen alan potansiyellerinin PS genliklerinin bazal değerlerine göre yüzde değişimleri	60

KISALTMALAR

BDNF	: beyin türevli nörotrofik faktör
CREB	: cAMP-yanıt elemanı bağlayıcı protein
EEG	: elektroensefalogram
EPSP	: eksitatör postsinaptik potansiyel
fEPSP	: eksitatör postsinaptik alan potansiyelleri
ER	: endoplazmik retikulum
E-USP	: erken-uzun süreli potansiyalizasyon
GABA	: gama amino bütirik asit
GDNF	: gliya kaynaklı nörotrofik faktör
G-USP	: geç- uzun süreli potansiyalizasyon
IPSP	: inhibitör postsinaptik potansiyel
IP3	: inozitol trifosfat
IGF-1	: insülin benzeri büyüme faktörü
CaMKII	: kalsiyum kalmodulin bağımlı kinaz 2
NMDA	: N-metil D-aspartat
NT3	: nörotrofin 3
Ry	: riyonodin
PDS	: paroksizmal depolarizasyon şifti
PTZ	: pentilentetrazol
PKC	: protein kinaz C
PS	: populasyon spike
SSS	: santral sinir sistemi
cAMP	: siklik adenzin monofosfat
NGF	: sinir büyüme faktörü
TLE	: temporal lob epilepsisi
TBU	: teta börtü uyarı

USP	: uzun süreli potansiyalizasyon
USD	: uzun süreli depresyon
YFU	: yüksek frekanslı elektriksel uyarın
VEGF	: vasküler endotelyal büyüme faktörü
VKKK	: voltaj kapılı kalsiyum kanalı

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Epilepsi, tekrarlayan nöbetlerle karakterize ve nöbet aktivitesinin ne zaman başlayacağı önceden tahmin edilemeyen bir hastalıktır. Epilepsinin dünyada yaklaşık olarak 50 milyon insanı etkilediği bildirilmektedir (1). Epileptik nöbetler sırasında beyinde iskemi oluşmakta, hipoglisemi meydana gelmekte ve anormal seviyelerde glutamatın açığa çıkması ile birkaç dakika içinde nöronlarda tahriplere neden olmaktadır (2). Böylece bu tür konvülsif hastalıkların insanlarda çoğunlukla öğrenme ve hafıza problemleriyle birlikte seyrettiği gösterilmiştir.

Epilepsinin altında yatan mekanizmaları anlamak, yeni ilaçların etkinliğini araştırmak, tedavi yöntemleri belirlemek için deneysel epilepsi modelleri geliştirilmiştir. Epileptogenezisin araştırılmasında kullanılan deneysel bir model olan ‘tutuşma (kindling) modeli’ tekrarlayan subkonvulsif uyarılar ile nöbet aktivitesinin başlamasına ve devamında tonik-klonik konvülsiyonlara neden olmaktadır. Tutuşma, elektriksel uyarı ya da pentilentetrazol (PTZ) gibi kimyasal uyarılarla ortaya çıkartılmaktadır (3).

Yapılan çok sayıda çalışma tekrarlayan ve uzayan nöbetlerin beyin hipokampus ve diğer limbik sistem yapılarında hasara neden olduğunu göstermektedir (4). Hipokampus öğrenme ve hafızanın oluşumunda en önemli beyin yapılarından birisidir (5). Özellikle hipokampustaki hasarlanma uzamsal ve emosyonel öğrenmede problemlere neden olmaktadır (4).

Uzun süreli potansiyeller (USP) nöronların eş zamanlı olarak uyarılmasında, iki nöron arasındaki sinyal iletiminin uzun ve güçlenmiş olduğunu ifade eder. USP'ler 1966 yılında Terje Lamo tarafından ilk kez hipokampusta keşfedilmiştir. Perforan yoldaki presinaptik lifler uyarılmış ve dentat girustaki postsinaptik hücrelerden kayıt alınmıştır. Perforan yola tek bir elektriksel uyarın verildiğinde, dentat girus hücrelerinden eksitatör post sinaptik potansiyeller (EPSP) kaydedilmiştir. Ancak yüksek frekanslı bir uyarın serisi uygulandığında postsinaptik hücrelerden güçlenmiş ve uzun süreli EPSP'ler kaydedilmiştir. Böylece bu fenomene ilk kez uzun süreli potansiyeller ismi verilmiştir. Hafıza ve öğrenmenin altında yatan hücresele mekanizmalardan USP'lerin sorumlu olduğu düşünülmektedir. Yapılan deneysel çalışmalarda, hipokampusda öğrenme sırasında yüksek frekanslı deşarjların olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle öğrenme çalışmalarında, hipokampal öğrenme, yüksek frekanslı uyarılar eşliğinde kaydedilmektedir.

Zenginleştirilmiş çevre kompleks cansız nesnelere ve sosyal uyarınların oluşturulduğu ortam olarak tanımlanır (6,7,8). Zenginleştirilmiş çevre öğrenme ve hafıza yetenekleride kalıcı gelişmelere yol açar, sinir yapısı ve fonksiyonunu değiştirebilir (9). Çok sayıda çalışma zenginleştirilmiş çevrenin beyin ve beyin işlevleri üzerine olumlu etkileri olduğunu göstermektedir (10). Zenginleştirilmiş çevre kortikal plastisiteyi artırmakta, beyin ağırlığında, kortikal kalınlıkta, nörogenezis de, dendritik dallanmada sinaptik bağlantıların sayı ve büyüklüğünde, nörotransmisyonunda, nörotrofin seviyesinde, erken gen ekspresyonunda artış gibi morfolojik değişiklerin oluşmasına neden olmaktadır (7,8,9,11). Zenginleştirilmiş çevre aynı zamanda hipokampusta USP'i güçlendirmektedir (11,12,13). Bu güçlenmenin moleküler temelleri tam olarak bilinmemekle birlikte, sinir büyüme faktörünün ekspresyonunun, nörotransmitter reseptör sayısının ve granül hücre artışının etkili olduğu düşünülmektedir (6). Zenginleştirilmiş çevrede kalan hayvanların hipokampus bağımlı morris yüzme testinde ve şartlı korku davranış görevlerinde de performanslarının geliştiği gösterilmiştir. Zenginleştirilmiş ortama maruz kalmanın, serebral hasar ile ilişkili plastisite ve fonksiyonel iyileşmeyi hızlandırdığı ve epileptik nöbetlere karşı koruyucu olabileceği bildirilmektedir (7,11).

Çalışmamızda, epilepsinin kognitif fonksiyonlara etkisini araştırmayı amaçladık. PTZ ile epilepsi oluşturulmuş sıçanlarda öğrenme, hafıza, araştırma davranışı değişiklikleri

araştırıldı. Bu bağlamda uzamsal öğrenme morris su tankı ile araştırma davranışı açık alan testi ve delikli tahtayla incelendi. Hipokampusdan USP'ler kaydedilerek, epilepside oluşan kognitif değişiklikler elektrofizyolojik olarak araştırıldı. Sıçanlar 7 hafta zengin çevrede tutuldu, zenginleştirilmiş çevrenin kognitif fonksiyonlara etkisi, elektrofizyolojik ve davranışsal kayıtlarla (morris su tankı, açık alan, delikli tahta) incelendi. Ayrıca zenginleştirilmiş çevrenin epilepsi nöbetlerinin sayısını azaltıcı etkisinin olup olmadığı araştırıldı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. EPİLEPSİ

Epilepsi nöronların aşırı aktivitesi nedeniyle oluşan tekrarlayan nöbetlerle karakterize bir hastalıktır ve insanlarda görülme sıklığı yaklaşık olarak %0,3-0,5'dir (14,15). Epilepsi iki ya da daha fazla nöbet anlamına gelir. Hughlings Jackson'ın hala kullanılan tanımına göre nöbet 'ara sıra, ani, aşırı, hızlı bir şekilde olan, serebral kortekste ki düzensiz ateşleme'dir (16).

2.1.1. Epilepsinin Tarihçesi

Epilepsi ile ilgili ilk kayıtlar M.Ö. 1000'den sonradır. Epilepsinin şeytandan, kötülüklerden, büyü ya da astrolojik olaylardan kaynaklandığı düşünülmüş ve günümüzde de bu düşüncelerin epilepsi üzerinde etkisi devam etmektedir. M.Ö 400'de Hipokrat epilepsiyi 'doğal, fakat sebebi bilinmeyen bir durum', Hughlings Jackson ise 'anormal serebral ateşlemenin bir sonucu' olarak ifade etmiştir. 1800 yılında Ferrier ve Todd tarafından ise epilepsi için ilk modern tedavi (potasyum bromür) kullanılmıştır (16).

2.1.2. Epilepsinin Epidemiyolojisi

Epilepsinin epidemiyolojisi, yöntem değişiklikleri, teşhis kriterleri ve teşhisin belirsiz olması nedeniyle kesin değildir. Ancak var olan sonuçlara göre epilepsi herhangi bir yaşta başlayabilir, görülme sıklığı çocuklukta ve yaşamın geç döneminde artış gösterir.

2.1.3. Epilepsinin Etyolojisi

Epilepsinin etyolojisinde konjenital ve kazanılmış nedenler vardır. Konjenital nedenler arasında genetik, primer (nedeni bilinmeyen), tek bir genden kaynaklanan problemler, kromozomal problemler ve prenatal hasar vardır. Kazanılmış nedenler arasında ise, enfeksiyon, damarsal sorunlar, travma, neoplastik durumlar, nörodejenerasyon, metabolik ve toksik nedenler, skleroz, yapısal malformasyonlar, inflamasyon vardır (16).

2.1.4. Terminoloji

Epilepsi ile ilgili önemli terimler aşağıda ki tabloda tanımlanmaktadır (16).

Tablo 2.1. Epilepsi ile ilgili temel terimler.

Aura:	Nöbetin bir sonucu olan kişisel deneyim. Tek başına (tek bir basit parsiyel nöbet) ya da diğer nöbetlerin ardından olabilir. Bir aura bir nöbettir, nöbetin bir ilk belirtisi değildir.
Konvulsiyon:	Bir nöbet için bir ya da daha fazla ekstremitenin istemsiz, düzensiz myoklonik, klonik ya da tonik-klonik hareketlerdir. Konvulsiyon jeneralize nöbetin tonik-klonik hareketlerle (grand mal) birlikte olanı, jeneralize ‘konvulsif’ tip nöbeti vurgular.
Epilepsi:	İki ya da daha fazla nöbeti ifade eder.
Nöbet:	Anormal, serebral elektriksel ateşlemenin klinik olarak görülmesidir.
Major nöbet:	Jeneralize konvulsif nöbet.
Minör nöbet:	Jeneralize konvulsif olmayan nöbet.
Postiktal:	Nöbetten sonraki bu dönem, davranışın ya da duyu durumunun direk olarak nöbetten etkilendiği dönemi kapsar.
Epileptogenez:	Normal bir beyin zaman içinde bir dizi hücresel-moleküler, yapısal ve/veya fonksiyonel değişikliklere maruz kalarak epileptik bir beyin haline dönüşmesi, kalıcı bir şekilde ve spontan olarak nöbet oluşturabilme özelliğini kazanma sürecini ifade eder.

2.1.5. Epilepsinin Sınıflandırılması

2.1.5.1. Uluslararası Epilepsi İle Savaş Derneği’ne Göre Epileptik Nöbetlerin Sınıflandırılması

Epilepsi her iki hemisferi tutan ‘jeneralize’, serebral korteksin bir parçasını tutan ‘parsiyel’ olmak üzere iki ana sınıfa ayrılır (17).

1. Jeneralize Nöbetler

a) Absans nöbetler:

Kısa süreli (1-10sn) hareketsiz veya yanıtız kalma durumları, petit mal nöbetleri göstermektedir. Bu nöbetler yanıtız kalma durumu açısından kompleks parsiyel nöbetlere benzerler fakat meydana geldikleri klinik durum açısından çoğu kez ayırt edilebilirler (17).

b) Myoklonik nöbetler:

Kısaca anlık kas sarsıdır. Bu nöbetler vücudun herhangi bir bölümünü etkilemekle birlikte bilateral el veya kol sarsıları çok yaygın bir işarettir. Kortikal, subkortikal veya omirilik yapılarından kaynaklanmayan tüm miyoklonik hareketler nöbet değildir. Sadece kortikal miyoklonik hareketler nöbet sayılır (17).

c) Klonik nöbetler:

Parsiyel veya jeneralize epilepsi nedeniyle ekstremiteler de, yüz ve boyunda simetrik, ritmik titremeyi ifade eder (16).

d) Tonik nöbetler:

Bacaklarda ve gövdede sertlik ve uzanma. Parsiyel ya da jeneralize epilepsi nedeniyle olabilir. Jeneralize olduğunda genellikle bilinç kaybı olur ve hasta düşer (16).

e) Tonik-klonik nöbetler:

Tüm vücudun katılaştığı tonik bir fazla başlayan ardından tekrarlanan kasılmaların olduğu klonik bir fazı içeren grand mal nöbetlerdir. Bu nöbetler 2-3 dk sürer ve ardından en az birkaç dakika daha konfüzyon veya tamamen yanıtız bir periyod olarak görülür (17).

f) Atonik nöbetler:

Kas tonusunun ani kaybı ve devamında zemine kontrolsüz bir şekilde düşme veya yığılma atonik nöbetlerin göstergesidir (17).

2. Parsiyel (parsiyel-lokalizasyonla ilişkili) Nöbetler

a) Basit parsiyel nöbetler:

Beynin küçük ve ayrı bir bölgesinde başladığı için bilincin değişimiyle bağlantılı değildir. Frontal lobun sağ tarafında meydana gelen nöbetler klonik el hareketlerine neden olur. Oksipital lobun özellikle görme korteksinde meydana gelen nöbetler parlak renk ve şekil gibi başlıca görsel görüntülere neden olur. Hastaların bir nöbeti önceden hissetme deneyimi olarak tanımladıkları aura sadece basit bir parsiyel nöbettir (17).

b) Kompleks parsiyel nöbetler:

Bu tip nöbetlerde bilinç çoğunlukla etkilenir (16). Hastalar uyanık ve boş bir hareketsizlik durumunda fakat dış uyaranlara yanıt verememektedirler. Bu bazen dikkati dağılmamış hareketsizlik olabilir (17). Kompleks parsiyel nöbetler beynin herhangi bir bölgesinden kaynaklanabilmekle beraber çoğunlukla temporal lobta oluşmaktadır. Bu nöbetlere otomatizm yani tekrarlanan maksatsız hareketler eşlik edebilir (17). TLE'nin nedeninin çoğu zaman kesin olarak bilinmemesine rağmen genellikle beyin hasarı, tümör, menenjit, ensefalitler, status epileptikus ve çocuklukta diğer nedenlerden dolayı görülen febril nöbetler gibi, beyinde hazırlayıcı bir yaralanma sonrasında görülür (18). Dentat hilus, CA1-CA3 alanlarında ki, yaralanmalar ile öğrenme ve hafıza bozuklukları, depresyon, nörodejenerasyon, anormal sinaptik reorganizasyon, tekrarlayan spontan motor nöbetlerle karakterize kronik TLE ortaya çıkması arasında genellikle birkaç yıllık bir sessiz periyod vardır (1).

c) Jeneralize nöbete sekonder basit parsiyel nöbetler:

Parsiyel nöbet konvulsiyona ilerleyebilir. Kişi bir aura hatırlamayabilir, bu yüzden bir primer jeneralize nöbetten ayırt edilemeyebilir (16).

2.1.5.2. Uluslararası Epilepsi İle Savaş Derneği'ne Göre Epilepsi ve Epilepsi Sendromlarının Sınıflandırılması

- 1) İdiyopatik (genetik olduğu düşünülen)
- 2) Semptomatik (altında yatan neden açıklanabilen)
- 3) Kriptojenik (nedeni belirsiz olan, fakat semptomatik olduğu varsayılan)

Bu sınıflamaya göre idiyopatik, semptomatik ve kriptojenik epilepsinin genel bulguları ve özellikleri Tablo 2.2.'de gösterilmiştir.

Bu sınıflama kategorize edildiğinde daha da karmaşık hale gelir ve ana başlıklar altında epilepsi aşağıdaki şekilde sınıflandırılabilir.

Klinik ve elektroensefalogram (EEG) bulgularına göre: jeneralize ya da parsiyel nöbet, Nedene yönelik olarak: idiyopatik (primer), semptomatik ve kriptojenik (sekonder), Sendroma göre: Kliniğin, etyolojinin, EEG'nin ve diğer teşhis faktörlerinin birleşmesi (16).

Tablo 2.2. Epilepsi sendromlarının sınıflandırılması

	İdiyopatik (Primer)	Semptomatik ve Kriptojenik (Sekonder)
Etyoloji	Genetik olduğu varsayılır.	Değişken
Nöbetin tipi atonik ve klonik	Absans, myoklonus, tonik,	Değişken (herhangi bir nöbet)
Başlama yaşı	Gençken	Herhangi bir yaşta
Genetik etki	Genellikle vardır.	Nadiren
Radyoloji	Normal	Sık sık anormal
EEG	Çoğu zaman anormaldir. (jeneralize).	Değişken
Tedavi	Antiepileptik ilaçları**dikkatli şekilde seçmek gerekir.	Bütün antiepileptikler kullanılabilir.
Prognoz	Genellikle başarılıdır.	Nedene bağlı olarak sonuç değişebilir.
Birlikte olan eksiklik	Nadiren	Sık sık olur değişkendir.

**Fenobarbitürat tipik absans nöbeti daha da kötüleştirebilir. Fenitoin, karbamezepin, gabapentin, pregabalin, lamotrigin, primer epilepsideki myoklonusu şiddetlendirebilir.

2.1.6. Epilepsinin Temel Mekanizmaları

Epilepsi birçok faktörün rol aldığı karmaşık olaylar dizisinin bir sonucu olarak ortaya çıkar. Nöbetler bir hastalık olmaktan daha çok çeşitli hastalıkların bir semptomu olduğundan epilepsinin temel mekanizmaları karışıktır. Klinik düzeydeki bu karmaşıklık deneysel düzeyde de mevcuttur. Hem insanlarda hem de deney hayvanlarında görülen nöbet aktivitesinde görülen konvulsiyonlar da enerji kaynağı olan oksijen ve glikozun alımında bir artış vardır. Bununla ilgili olarak karbondioksit ve laktik asit yapımı artar ve bütün bunlara enzim değişiklikleri eşlik eder, biyokimyasal değişiklikler serebral kan akımında ki artışla birliktedir. Bu değişiklikler nöbetteki kas aktivasyonunun artışı ile birliktedir, fakat kas aktivasyonunun bir sonucu değildir. Çünkü bu durum kürarizasyon ile de oluşabilmektedir.

Spesifik subkortikal sahalar nöbet aktivitesinin oluşmasında ve kontrolünde çok önemli görünmektedir. Konvulsif hastalıklarda bazı yayılma yollarının daha önemli ve daha yaygın şekilde etkili olabilmektedir. Bununla ilgili olarak bu yollara etkili tedavi ile nöbet yayılımının sınırlandırılabilceği ve nöbet aktivitesinin azaltılabileceği düşünülmüştür. Belirli anatomik yer ve yollardaki süreçler jeneralize nöbetin gelişmesinde ve sürdürülmesinde önemlidir. Deneysel nöbetlerin kontrolünde substantia nigra ve area tempasta ve beyin sapı önemli anatomik yapılarıdır (19).

2.1.6.1. Epileptik Nöronun ve Epileptik Aktivitenin Fizyolojisi

Epileptik nöronun bir fizyolojik özelliği iyi bilinir. Bu nöronlarda beliren olay paroksizmal depolarizasyon kayması " (Paroksizmal Depolarizasyon Shift-PDS)'dir. "PDS" EPSP'ye benzese de EPSP'ye göre çok daha geniş amplitüdüdür. Diğer bir özelliği de PDS meydana gelince çok hızlı ve pek çok sayıda aksiyon potansiyeli yaratır. Bu nöronlarda normal EPSP meydana geldikten sonra bir arayı izleyerek PDS gelişir. Bu durum EPSP'nin uzaması ve büyümesi (eksejere olması) gibidir. PDS muhtemelen epileptik odak içindeki nöronlar arası uyarıcı bir geri-besleme devresi sonucudur ve tüm nöronun somadentritik bölgesini kapsar. PDS bir iktus öncesi olaydır. PDS'nin yarattığı yüksek frekanslı ardışık uyarı dizileri o nörondan diğerlerine yayılır. Bununla bir epileptik nöbet veya bir epilepsiyi temsil eden diken (spike) aktivitesi başlamış olur. PDS'yi yine uzamış bir hiperpolarizasyon süreci izler. Uzamış hiperpolarizasyon da uzamış ve büyümüş bir inhibitör postsinaptik potansiyele (IPSP) benzetilebilir. PDS ve uzamış hiperpolarizasyonu çok uzun süreli bir "ard-depolarizasyon" izler. Ard depolarizasyon süresi içinde de yine aksiyon potansiyelleri yani uyarı akışları olur ve tekrar bir hiperpolarizasyon oluşur. Klinik izlemede uzun süreli ard depolarizasyon bir epileptik nöbetin 'tonik' fazına ve ard hiperpolarizasyon ise 'klonik' fazına karşılık olarak bulunur. Bu olaylar odak içindeki birçok nöronda meydana gelince, yakın çevredeki ya da sinaptik ilişkiler ve bağlantılar nedeni ile uzaktaki birçok normal nöronda, hiperaktivite meydana gelir ve çoğu kez de bir hipersenkronizasyon olayı ortaya çıkar (Şekil 2.1.) (20).

PDS'leri ard hiperpolarizasyon nöronun intrinsek membran özellikleri (voltaj bağımlı Na, K, Ca kanalları), eksitator (glutaminerjik) ve inhibitör (GABAerjik) nöronlar tarafından şekillendirilir. Depolarizasyon fazı ise esas olarak AMPA (alfa amino-3-hidroksi 5- metilizoksazol 4-propionat) gibi eksitator glutamat aracılı kanallar ve NMDA (N-metil-D-aspartat) reseptör kanalları ve voltaj bağımlı Ca²⁺ kanallarının aktivasyonu sonucu meydana gelir. Nöronların çoğu normal şartlar altında PDS davranışı göstermese de, (CA3 bölgesindeki hipokampal piramidal nöronlar gibi) bazıları gösterir. Benzer olarak tipik bir kortikal piramidal nöronun eksitator uyarıya normal cevabı EPSP ve bunu izleyen bir IPSP'dir. Bu nedenle PDS tipik bir kortikal devrede gözlenen normal depolarizasyon ve hiperpolarizasyon bileşenlerinin büyümesi, uzaması olarak değerlendirilebilir (21). PDS'nin altında yatan intrasellüler ve ekstrasellüler olaylar Şekil 2.2'de özetlenmiştir.

normal nöronlara, muhtemelen bir geri-beslemeli nöronal bağlantı yoluyla ya da o bölge içinde normal nöronal uyarılabilirlik eşiğini düşürebilecek iyon ya da maddelerin birikimi sonucu uyarı yayılır. Burada birim süreç içinde inhibitör nöronal aktivitenin ya da presinaptik inhibitör mekanizmaların azalmasının rolü de söz konusu olabilir. Komşu nöronal eksitabilite yayılışına en güzel örnek Jackson nöbetleridir. Korteksteki nöronal hipereksitabilite eğer el ile ilgili nöronlar içinde başlamışsa, önce elde klonik devinimler belirir. Bunu kol ve yüze sırası ile geçiş izler. Nöronal hipereksitabilite ve boşalmalar kortikal el nöronlarından, kol ve yüz nöronlarına komşuluk içinde yayılmış olur. Burada muhtemelen kortikal nöronları birleştiren "U" liflerinin katkısı vardır. Kortikal nöronlar ayrıca assosiasyon lifleri, interhemisferik lif sistemi, korpus kallozum ve subkortikal yapılarla anatomik bağlantı içindedir. Bu nedenle nöronal boşalmalar karşı hemisferdeki ve subkortikal yapılardaki nöronlarda patolojik olarak hiperaktiviteye yol açar. Bu durumda Jackson nöbet karşı ekstremitelere geçerken aynı zamanda subkortikal yapıların eksitasyonu ile yeniden yaygın boşalmalara yol açmış olur ve kişide bilinç yitimi meydana gelir.

Korteksten doğarak üst beyin sapı ve diensefalik yapıları ikincil olarak aktive ederek tekrar yaygın kortikal eksitasyonun sağlanması olayına "sekonder bilateral hipersenkroni" denir. Oysa idiyopatik grand mal ve petit mal gibi bazı epilepsi türlerinde epileptik aktivitenin başladığı yer bu subkortikal yapılardır. Bu yapılardan kortekse bilateral eksitasyon yayılımı olur. Buna 'primer bilateral hipersenkroni' denir. Mesensefalo-diensefalik bölgeden bilateral kortikal uyarı yayılımı sağlayan yapı nonspesifik yaygın talamik projeksiyon sistemidir. Bu sistem beyin sapında bulunan retiküler cevher ve bununla bağlantılı talamik retiküler çekirdeklerden başlamakta ve çıkan retiküler aktivatör sistemin bir bölümünü oluşturmaktadır. Bu sistem bilinçle ilgili olduğu için epileptik nöronal aktivitenin bu yolla kortekse, bilateral yayılması ile birlikte kişide bilinç kaybı gelişmiş olur (19).

2.1.6.3. Nöbetlerin Eksitasyon ve İnhibisyonu

1) İyon Transport Mekanizmaları

Eksitasyon depolarizasyonla, inhibisyon membran boyunca artan polarizasyon ile birliktedir. Elektrolit dengesizliğinin görüldüğü çeşitli hastalıklarda iyon akım dengesinin eksitasyon yönüne kayması ile klinik olarak nöbetler görülür. Aktif transport sistemi Na-K-ATPaz'ın digoksin veya kardiak glikozidlerle bloke edilmesi ile

epileptiform deşarj ve nöbetler oluşabilir. Elektrokimyasal gradyana karşı bu iyonların aktif transportu için enerji sağlanması gerekir, enerji büyük ölçüde oksidatif metabolizmadan sağlanır. Bu nedenle sistemin iskemi veya hipoksi ile inaktivasyonu hem insanlarda hem de deney hayvanlarında nöbetlere neden olabilir. Epileptik nöronlarda özellikle Na-K-ATPaz enziminde bir defekt oluşabileceği üzerinde durulmaktadır (19).

2) Sinaptik Mekanizmalar

Sinaptik mekanizmalardaki bozukluklar nöbetlerle sonuçlanabilir. Kolinesteraz inhibitörleri ile ön tedavi yapıp kortekse topikal asetilkolin uygulanması nöbet oluşturur. Epilepside özellikle iki amino asit çok önemlidir. Bunlardan biri eksitator transmitter olan glutamik asit ve inhibitör transmitter olan gama amino bütirik asit (GABA)'tir. GABA özellikle beyinde yapılır ve dekarboksilasyon yoluyla glutamik asitten oluşur. GABA ayrıca süksinik semialdehit ve L-glutamik asidin, GABA transaminaz enzimi ve B6 vitamini ile katalize edilmesi sonucu da oluşabilir. Bu olay dönüşümlüdür. Bu reaksiyon glutamik asit dekarboksilaz denilen özel bir enzime bağımlı olarak oluşur. Bu reaksiyonda B6 vitamininden oluşan pridoksal fosfat koenzim olarak rol oynar. B6 vitamini yetmezliğinde nöbetler oluşur. Bunun nedeninin GABA yetmezliği olduğu bilinmektedir. Glutamik asit ve GABA değerleri arasındaki anormallikler eksitasyon ve inhibisyonda anlamlı farklılıklara yol açar. Hem deney hayvanlarında hem de insanlarda cerrahi olarak çıkarılan epileptojenik lezyonlarda benzer anormallikler bulunur. GABA sentezinin inhibisyonu, salınımının bloke edilmesi veya postsinaptik bir reaksiyon konvulsiyonları provoke eder. Beyinde sinir terminallerinde GABA konsantrasyonunda %28'lik bir azalma konvulsiyonlara yol açar. Parsiyel epilepsilerde ilgili bölgede sinir terminallerinde GABA'da bir azalma gösterilmiştir. Febril konvulsiyonlarda ve tedaviye dirençli nöbetleri olan hastalarda serebrospinal sıvı GABA konsantrasyonunda bir azalma bulunmuştur. Amigdala ile ilgili nöbetler hayvanlarda GABA transaminaz inhibitörlerinin verilmesi yoluyla oluşturulabilir. Diğer amino asitlerde nöbet oluşumunda etkili olabilir.

Nörotransmitterlerin postsinaptik hedef hücrelerde reseptöre bağlanmasıyla adenilat siklaz aktive olur ve siklik adenozin monofosfat (c-AMP) oluşur. Norepinefrin, dopamin ve enkefalin gibi transmitterler iyon kanalının açılmasına neden olarak etki gösterirler. Asetilkolin nörotransmitter olduğunda aynı etkiler oluşmaz, elektriksel bir

cevap oluşur. c-AMP'nin epileptik deşarjlarla ilgili olabileceği düşünölmektedir. Çünkü hem hayvanlarda hem de insanlarda konvulsiyonlarda serebrospinal sıvıda c-AMP düzeyi artmıştır.

Uyarılabilen membranların denervasyonu normal transmitterlerin etkisine duyarlılıkta bir artmaya yol açar. Bu durum denervasyon süpersensivitesi olarak bilinir. Korteksin parsiyel ve total denervasyonu nöbetlere duyarlılığın artmasıyla sonuçlanır. Glutamik asidin odak içinde azalmış bulunmasına rağmen, sinaptik aracı madde olarak etki yaptığı dentritler üzerindeki reseptörlerin, glutamik asidin eksikliği nedeni ile bir denervasyon supersensitivitesi içine girdikleri ve az miktardaki glutamat moleküllerine karşı, aşırı duyarlılık sonucunda kolaylıkla nöronal eksitasyonun başladığı düşünölmür.

Bazı özel durumlar dışında asetilkolin ve monoaminlerin epilepsi meydana getirmez. Myoklonik epilepsi türlerinde özellikle serotonin metabolizması üzerinden giden bir bozukluk olduğu kabul edilir.

3) Ekstranöral Faktörler

Epilepside nöral ve sinaptik düzeydeki faktörlere ek olarak ekstranöral faktörlerde etkilidir. Glia hücreleri eksite edilmiş hücreden aktif bir şekilde açığa çıkan aşırı K⁺ u olarak bir rezervuar gibi davranır. Eksternal bölgedeki K⁺ konsantrasyonunda ki artma depolarizasyon yaratır ve nöronlar eksite olur. Ekstraselüler K⁺ aktivasyonu glia hücrelerinin absorpsiyon kapasitesini aşabilir ve nöbet deşarjları oluşur. Bunlar sınırlı kalabildiği gibi çeşitli bölgelere anormal aktivite şeklinde yayılabilir. Başka bir neden de yine glia hücrelerinin işlev bozukluğu sonucu hücre dışı Ca²⁺'un azalmış olmasıdır. Bu durum sinaptik geçişin bozulmasına yol açar.

Normalde kan-beyin bariyeri nöronları kandaki çeşitli zararlı maddelerden korur. Kan beyin bariyerindeki bir patoloji, jeneralize bozukluklarla nöbetlere yol açabilir.

4) İmmüno Kimyasal Faktörler:

Bu konu oldukça yenidir ve pek çok araştırmacının ilgisini çekmektedir. Önce fenitoin alan epilepsili hastalarda IgA yetmezliğinin olduğu görölmüş, ancak ilaç verilmeden önce IgA yetmezliğinin olabileceği gösterilmiştir. İmmün yetmezliği olanlarda epilepsiye yol açan immünopatoloji bağlı zararın olması mümkündür. SSS'i antijenlerine karşı antikorların, intraserebral enjeksiyonları epileptojenik değişiklikler oluşturur (20).

2.2. DENEYSEL EPİLEPSİ MODELLERİ

Deneysel epilepsi modelleri, epilepsinin altında yatan temel patofizyolojik mekanizmaların anlaşılmasında, uygun olan ilaçların üretilmesinde, yeni tedavi yöntemlerinin belirlenmesinde önemli rol oynar. Deneysel epilepsi modelleri antikonvulsan ilaçların uygulanması (penisilin, Ba, Co, Fe, Ni, Cd, fluorothyl), GABAerjik antagonistlerin (bikukullin, pikrotoksin, pentilentetrazol), nörotoksinler (kainik asit, pilokarpin, tetanos toksini) ve lezyon uygulamaları ile ortaya çıkartılır. Buna ilaveten bazı elektriksel uyarılar ile de nöbet oluşturulabilir (22).

İyi bir deneysel epilepsi modeli şu özelliklere sahip olmalıdır:

- 1- Spontan olarak tekrarlayan nöbetleri olmalıdır.
- 2- Nöbetler insan epilepsisindekine benzer olmalıdır.
- 3- Modeldeki EEG'nin biçimi ilgili epilepsi çeşidindekine benzemelidir.
- 4- Nöbetlerin frekansı ilaçların etkisini akut ve kronik olarak test etmeye yetecek ölçüde olmalıdır.
- 5- Antiepileptik ilaçların farmakokinetiği insandaki ile aynı olmalıdır.
- 6- Antiepileptik ilaçların etkili oldukları plazma ve beyin seviyeleri, insanda ilgili nöbeti önleyebilen seviyedeki gibi olmalıdır.

Deneysel epilepsi modelleri altı sınıfa ayrılabilir (22):

- 1- Basit parsiyel (akut)
 - a) Topikal konvulsanlar (penisilin, bikukullin v.b.)
 - b) Akut elektriksel uyarı
 - c) GABA kesilmesi
 - d) Neokorteks dilimleri
- 2- Basit parsiyel (kronik)
 - a) Kortekse metal verilmesi (Alüminyum hidroksit, Kobalt, Çinko, Demir v.b.)
 - b) Kriyojenik hasar
 - c) Gangliosit antikor verilmesi
 - d) Sistemik fokal epileptogenez
- 3- Jeneralize tonik-klonik
 - a) Genetik (ışığa duyarlı babunlar, farede sesle oluşan nöbetler, paytak ve El fareleri, sıçan gerbil ve drozifola)
 - b) Maksimal elektrik şoku

- c) Kimyasal konvulsanlar (PTZ, penisilin v.b.)
- d) Metabolik düzensizlik (hipoksi, hiperglisemi, hiperbarik oksijen, hiperkarpi, yüksek ısı, ilaç kesilmesi).

4- Kompleks parsiyel

- a) Kainik asit, tetanos toksini
- b) Fırtınalar alanına enjeksiyon
- c) Tutuşma
- d) Beyin dilimleri

5- Jeneralize absans

- a) Talamusun uyarılması
- b) Bilateral odak
- c) Sistemik penisilin
- d) □- hidroksi-butirat
- e) i.v. opiat v.b.

6- Status epileptikus (SE)

- a) Lityum-pilokarpin
- b) Kobalt-hemosistein
- c) Tekrarlayan uyarılma

2.2.1. Tutuşma Modeli

Tutuşma modeli nöral devrelerde ki nöbete yanıt olarak uzun süreli ilerleyici yapısal ve fonksiyonel değişikliklerin anlaşılması açısından oldukça yararlı bir modeldir (23). Tutuşma modelinde tekrarlayan kimyasal ya da elektriksel uyarının beyine verilmesi başlangıçta nöbet oluşturmaz fakat nöbet eşiği düşer ve tekrarlayan dozlarla nöbetlerin ortaya çıkmasına neden olur (15).

Sıçanda en iyi tutuşan beyin bölgeleri bulbus olfaktorius ile onun hedefi olan priform korteks, amigdalalar ve hipokampustur. Kronik cevapta değil, fakat akut epileptik cevap oluşturmada en düşük eşikli bölge hipokampustur. Amigdala ve priform korteksin motor sistemler ile kuvvetli bağlantılara sahip olmaları, bu yapılarda tutuşmayı kolaylaştıran en önemli sebep olabilir. Özellikle priform korteksin III.tabakasının da spontan deşarj yapan peysmeykir hücrelerinin varlığı tesbit edilmiştir (22)

2.2.1.1. Kimyasal Tutuşma Modeli

Tutuşma elektriksel uyarana ya da PTZ, karbakol, klordimeform, kokain, fluorotil, lidokain gibi kimyasal konvulsanlarla ortaya çıkartılabilir (22). Deneysel tutuşma modeli için kullanılan kimyasallardan PTZ, konvulsif bir fenomen olan amigdalanın elektriksel olarak tutuşturulmasına benzerliği ve insandaki jeneralize tonik-klonik nöbetlere uygunluğundan dolayı geniş ölçüde kullanılır (14,24).

2.2.1.2. Pentilentetrazol'n Etki Mekanizması

PTZ nonkompetitif bir GABA reseptör antagonistidir ve tekrarlayan PTZ enjeksiyonu giderek uzun süren nöbetlerin gelişmesine neden olur (25). PTZ GABA_A 'nın pikrotoksin bağlanma bölgesine etki eder, GABA aracılı CI girişini bloke etmesi ile membran depolarizasyonu oluşturur ve devamında nöbet aktivitesinin güçlenip, sürdürülmesine neden olur (26).

PTZ nöbetleri, retiküler formasyon, anterior medyal talamusun çevresindeki diensefalik bölgeler, kaudal hipotalamus, bulbar bölgeler gibi yaygın bir alanda rol oynar, bu bölgeler spinal korda inen motor yollarla bağlantı içindedir (27).

2.3. RENME VE BELLEK

renme, deneyimlerin sonucunda kişinin davranışını değiştirdiği sinirsel bir mekanizmadır. Bellek ise renilenin saklanma mekanizmasını ifade eder.

2.3.1. renme Tipleri

Assosiyatif renme ve Assosiyatif olmayan renme, olmak üzere iki geniş renme sınıfı vardır. Assosiyatif renme, renme sürecinin uyarıcılar arasında sabit zamansal bir ilişki olduğu zaman ortaya çıkar. Klasik şartlanmada, zamanla ilgili birliktelik, nötr bir şartlı uyarı ile renilmemiş cevaptan ortaya çıkan koşulsuz uyarıcı arasında yapılır. Diğer bir assosiyatif renme ise operant şartlanmadır. Bu süreçte bir uyarıcıya verilen cevap güçlendirildiğinde cevap olasılığı değişecektir. Güçlendirme pozitif ya da negatif olabilir.

Assosiyatif olmayan renme, renilen ve diğer uyarıcılar arasındaki belirli bir ilişkiye bağlı değildir. Örneğin, assosiyatif olmayan renmenin alışkanlık (habitiasyon) olarak adlandırılan renme tipinde, tekrarlanan uyarıcılar cevapta kademeli olarak bir dşse neden olur. Cevaplar beklendiği gibi azalır, çünkü birey artık uyarıcının önemli olmadığını anlar. Diğer bir assosiyatif olmayan renme tipi ise sensitizasyon

(duyarlılık)'dur. Bu tip algılamada kuvvetli ve peşi sıra ortaya çıkan tehditkar uyarılarda, daha sonra benzer uyarıya cevapta muhtemelen daha büyük tepki oluşturulmasıdır (28).

2.3.2. Oluşum Sürecine Göre Belleğin Sınıflandırılması

1974 yılında Hansjuergen Matthies memeli beyninde hafıza işlevi için nöronal mekanizma hipotezini ileri sürdü: hafızanın kısa, orta ve uzun fazları olduğunu, onların zaman içerisinde dönemlerinin ve bozulma zamanlarının farklı olduğunu, farklı biyolojik ilişkileri olduğunu, oluşturulmaları için farklı duyarlılıkları olduğunu, hafıza formasyonunun düzenlenmesi için sinaptik, sinaptozomal ve çekirdek seviyede gereken uygun hücrel özellikleri yansıttığını ileri sürmüştür (29).

2.3.2.1. Kısa Süreli Bellek

Kısa süreli bellek, birkaç saniye veya birkaç dakika süre boyunca bir telefon numarasındaki 7 ile 10 rakamı hatırd tutmak gibi kişinin bu rakamları veya olayları sürekli düşünerek hatırlayabilmesini sağlayan bellektir (30). Kısa süreli belleğin sığası sınırlı olduğu için yeni bilgi geldikçe yinelenmeyen eski bilgilerle yer değiştirir ve bu eski bilgiler yiter (2). Kısa süreli bellek için olası mekanizmalar, aynı sinir sinyallerinin reverberasyon yapan nöronlarının oluşturduğu geçici bir devre içinde sürekli dolaşması, presinaptik fasilitasyon (kolaylaşma), persinaptik inhibisyon veya sinaptik güçlenmedir (30).

2.3.2.2. Orta Uzun-Süreli bellek

Bu bellekte saklanan anılar, bellekteki izleri daha sürekli hale getirilmezse zamanla kaybolurlar; sürekli hale getirilirlerse uzun süreli bellek olarak sınıflandırılırlar (30). Orta süreli bellek, sinaptik plastisitenin henüz oluşmadığı, prekürsörlerin hazırlık evresinde olduğu bellektir (2). Bu belleğin mekanizması presinaptik uçlardaki veya postsinaptik nöron zarındaki kimyasal değişiklikler ile açıklanır (30).

2.3.2.3. Uzun Süreli Bellek

Orta uzun süreli belleğin daha uzun süreli tipleri ile gerçek uzun süreli bellek arasında kesin sınırlar yoktur. Genel kaniya göre, uzun süreli bellek, sinyal iletiminde artma veya baskılanmaya yol açan sinapslardaki kimyasal değişiklikler yerine yapısal değişikliklerin sonucudur. Uzun süreli bellek oluşurken sinapslarda bazı yapısal değişiklikler oluşur. Nörotransmitter salgılanmasında, vezikül boşaltma bölgelerinin

sayısında artış, transmitter taşıyan veziküllerin sayısında artış, presinaptik uç sayısında artış, dendritlerde yapısal değişiklikler, bu değişiklikler arasındadır (30).

2.3.3. Plastisite

Plastisitenin 19. yüzyılın sonunda ve 20. yüzyılın ilk on yılı süresince temelleri kurulmuştur. Santiago Ramon Cajal ve Camilo Golgi o dönemdeki çalışmaları ile en iyi yansıtan iki araştırmacıdır. Cajal merkezi sinir sisteminin yaşam boyunca çok fazla ilerleme gösterdiğini düşünmekteydi. Cajal nöral yapının kararlı bir yapıda olmadığını dinamik, plastik, histolojik değişikliklerin beynin mental süreçleri ve aktivitesi ile bağlantılı olduğuna inanıyordu. Cajal ilk kez Roma'da 1894 yılında uluslararası tıp kongresinde 'plastisite' terimini kullandı. Cajal'ın Jimnastik hipotezine göre mental egzersiz sonrasında nöronlar arasındaki bağlantılar değişebilir ve çoğalabilirdi. Cajal muhtemelen bu noktada ilk farklı düşünen bilim adamıydı, çevrenin beyin gelişimini ve nöronal bağlantılardaki işlevsel değişiklikleri üzerinde etkili olduğunu düşünüyordu. Cajal 1894'de İspanya'da yayınlanan bir dergide hücresel süreçlerdeki plastisitenin farklı yaş gruplarında değiştiğini, gençlikte fazla yetişkin dönemde azaldığını, yaşlılıkta ise hemen hemen kaybolduğunu yazdı. Günümüzde, Cajal'ın bu fikirleri, zenginleştirilmiş çevrenin hem gençlerde hem yaşlı hayvanlar üzerindeki etkilerini gösteren çalışmalar da görülmektedir (31).

Sinir sistemi, vücudu iç ve dış ortamlardaki değişikliklere uydurmak için özelleşmiş bir sistemdir. Bunu sağlamak için sinir sistemi değiştirilebilir (modifiye edilebilir) bir karaktere sahiptir. Sinir sisteminin görevinde temel yapı olan sinaps da göreve uygun biçimde değişikliğe uğrayabilir, sayısı azalıp çoğalabilir, tümünden yok edilip yerine yenisi şekillenebilir. Sinapsda ki bu değişkenliğe sinaptik plasitisite denir. Memelilerin sinir sistemi yaşam süresince plastisite yeteneğini korur; sinaps sayısını, tabiatını, aktivite düzeyini ihtiyaca uygun biçimde değiştirebilir (32).

Gelişmekte olan beyinde plastisite en yüksek düzeyde iken erişkin beyinlerde bir ölçüde korunmaktadır (28). Bir sinapsın yenilenmesi (turnover'i) eski sinapsın yok olması ve yenisinin kurulması olarak tarif edilir. Sinapsın yenilenmesi akson veya dendrit büyümesi ile olur. Büyümesi için temel gereksinimler, büyüme faktörleri ve akson uzaması için uygun bir substrat (zemin)'dir. Büyüme faktörlerinin kaynağı, büyümekte olan sinir uçlarının varacağı hedefin hücreleridir. Yeniden kurulması gereken sinaps sayısı ne kadar çoksa büyüme faktörü salınması o kadar fazladır; sinaps sayısı arttıkça

büyüme faktörü meydana getirilmesi azalır (32). Başlıca sinapstan nükleusa olan iletişim daha iyi anlaşılmiş olmasına rağmen nöronal plastisite ve öğrenme aracılı olaylar için kritik olan hedef genler hala bilinmemektedir. Plastisite ile ilişkili knock-out (bir genin genetik mesajının hücresel süreç ile kesilmesi) çalışmalarda bulunan çok sayıda genler ise konuyu aydınlatmaktan ziyade karıştırmıştır (33).

2.3.4. Öğrenme İle İlişkili Nörokimyasallar

Öğrenme ve hafızda rol aldığı düşünülen nörotransmitter maddeler noradrenalin, serotonin, asetilkolin, dopamin, glutamat, kolesistokinin, gama aminobütirik asit, nitrik oksit, nörohormonal maddeler ise; enkefalinler, adrenokortikotropik hormon, vazopressin, adrenalin, endorfin, anjiyotensinII, nörotensin, melanosit stimulan hormon'dur (34,35,36,37,38). Glutamat santral sinir sisteminde (SSS) öğrenme ve hafızanın oluşumunda rol alan ana nörotransmitterdir (39). Dopamin özellikle kısa süreli bellek ve dikkat mekanizmaları için önemli araştırma kaynağı olmuştur (40). Noradrenalin ruhsal durum, ödüllendirme, öğrenme reaksiyonları gibi mekanizmalardan (35). Ach ise özellikle Alzheimer hastalığında, anksiyete ve hafıza işlevlerinde önemli rol oynar (41).

2.3.5. Öğrenmede Rol Alan Beyin Bölgeleri

Neokorteks, bazal gangliyonlar, talamus, frontal loblar, amigdala, serebellum, hipokampus öğrenmede rol alan önemli beyin alanlarıdır Neokorteks implisit (örtülü) ve prosedural (yöntemsel) bellekte önemli rol oynar (40). Talamus'un dorsal medial nükleusu ve frontal loblar gerek öğrenmede gerekse de bilgi çağırma çok önemli yapılardır. Yine talamik yapıların bellek kapasitesini destekledikleri, neokortekse olan bilgileri zenginleştirdiği ya da bloke ettiği düşünülür. Frontal lobların ventromedial ve dorsolateral bölgelerinin bellekle ilgili başlıca kısımları olduğu, prefrontal korteksin özellikle çalışma belleğinin yeri olduğu düşünülür. Emosyonel belleğin oluşumunda önemli rolü olan amigdala, hem belleği düzenler hem de anıların etkisini artırır. Serebellum motor programların öğrenilmesi, hareketlerin planlanması, yönlendirilmesi, alışkanlıklar edinme, sözcük çiftleri bulma ve bilişsel-uzamsal ilişkileri ayarlama önemlidir (2). Hafızanın depolanmasında ve yeni bilgilerin öğrenilmesinde bir diğer önemli beyin yapısı temporal lob içerisinde bulunan hipokampusdur.

Hipokampal formasyonun iki taraflı kaldırılması hatıralarda ciddi ve kalıcı hasar bırakır. Kısa ve uzun süreli bellekler etkilenmezken yeni uzun süreli hatıralar artık depolanamaz

(28). Hipokampus beyinin öğrenme ve hafızada aynı zamanda depresyon gibi duygu durum bozukluklarında kritik rolü olan en önemli beyin yapılarından biridir. Hipokampusun atrofisi depresyon ile birlikte ve uzamış depresyon daha fazla atrofi ile birlikte (42). Hipokampusun lezyonu genç sıçanlarda spasyal öğrenmeyi bozar (3). Korkunun, endişenin, uzun dönem korku hafızasının oluşumunda hipokampal nöronlarda plastisite ile gen ekspresyonu gereklidir. Öğrenme ve kodlama (konsolide etmek) uzun dönem hafızayı korumayı garanti etmez, bilginin stabil bir depo içine transfer edilmesi gerekir. Bu mekanizma hipokampal sistem ve neokorteks arasındaki yapılar aracılığıyla olur (14).

2.4. HİPOKAMPAL FORMASYON

Hipokampal formasyon temporal lob içerisine bükülmüştür, sadece beyin parçalara ayrıldıktan sonra görülebilir. Hipokampal formasyon, hipokampus (Ammon boynuzu veya cornu Ammonis), dentat girus ve subikulumu içeren birkaç bölümden oluşur. Bunlar hipokampal formasyon boyunca bir çapraz bölge içinde sınırlanmıştır (28).

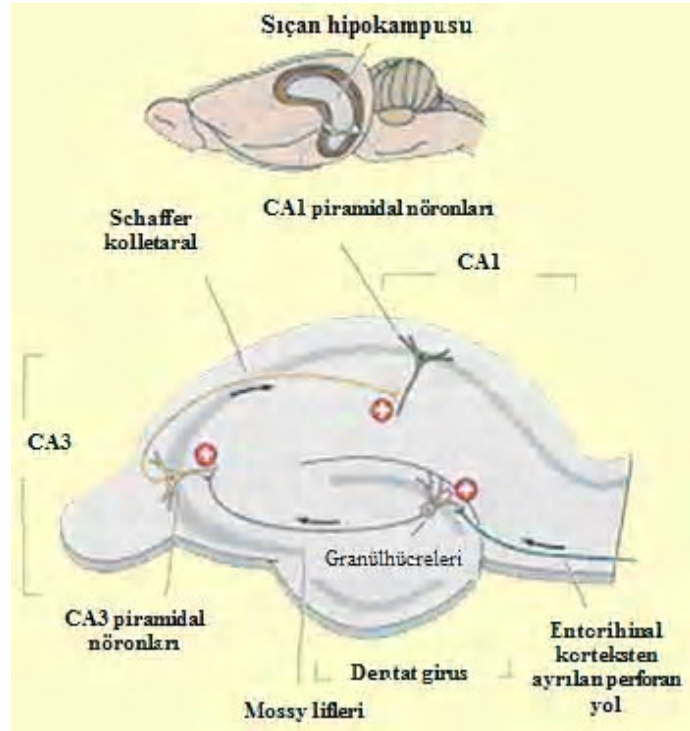
2.4.1. Hipokampusun Fizyolojik Anatomisi

Hipokampus moleküler katman, piramidal hücre ve polimorfik olmak üzere 3 katmana sahiptir. Bunlar neokorteksteki katman I, V ve VI'ya benzer. Hipokampusun katlanması dönmüş bir görüntü ortaya çıkarır, çünkü beyaz cevher lateral ventrikülün yüzeyindedir. Hipokampusu kaplayan beyaz cevher alveus adını alır ve hipokampal afferent ve efferent lifleri içerir. Alveus içindeki aksonlar fimbria olarak isimlendirilen bir sinir lifi demeti içinde devam eder; fimbria ise forniks ile devam eder. Dentat girus da üç katmanlı kortekstir. Bununla birlikte orta katmanı piramidal katmanın yerine granül hücre katmanı vardır. Granül hücrelerin aksonları hipokampal formasyonu terk edemezler. Bunun yerine Ammon boynuzuna yönelirler.

Hipokampal formasyon ana sinir girdisini perforan yol ve alvear yolun oluşturduğu iki ana çıktı ile parahipokampal girusun entorhinal korteksinden alır. Önemli olarak genellikle resiprokal çalışan bağlantılar hipokampusun piramidal hücreleri ve (1) forniksten geçerek septal nükleus ve mamiller cisimciğe (2) forniks ve hipokampal komissürden geçerek karşı taraftaki hipokampal formasyon arasında yapılanmıştır. Dentat girusun granül hücre tabakası da hipokampusa yansır (28).

Hipokampusta USP (Uzun süreli güçlenme) doğuran üç sinapslı bağlantılar bulunmaktadır (43). Bu bağlantılar;

1. Medyal perforan yol: Entorhinal korteks ile dentat girus arasındaki yoldur.
2. Yosunsu lif yolu: Dentat girusun granül hücreleri ile CA3 piramidal nöronları arasındaki yoldur.
3. Schaffer kolleteral yolu: CA3 ile CA1 piramidal nöronları arasındaki yoldur (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. Hipokampusun fizyolojik anatomisi

Hipokampusun CA1 bölgesi başlıca piramidal hücreler ve piramidal hücre aktivitesini etkileyen inter nöronlardan oluşur. Her bir inhibitör nöron grubu farklı temel nöron bölgelerini hedefler. Basket hücrelerinin akson terminallerinin çoğu hücresel tabakalarda sonlanır ve piramidal hücrelerin başlıca soma ve paroksimal dendritleri üzerinde sinaptik bağlantı kurar, oysa diğer internöronlar başlıca dendritler ya da aksonun başlangıç segmenti üzerinde sinaps yapar (3).

2.4.2. Hipokampus ve Plastisite

Hipokampusun spasyal bir haritayı temsil ettiği ve bu spasyal haritada hücre ateşlemesinin hayvanın bulunduğu çevredeki pozisyonu ile ilişkili olduğu hipotez edilmektedir (28). Buna ilaveten hipokampus nöronlarının gösterdiği USP öğrenme ve

hafızanın hücresel temeli olan sinaptik gücün kullanımına bağlı uzamış düzenlenmesidir (3).

Hipokampus stres gibi çevresel değişikliklere en duyarlı ve uyumluluk gösteren beyin bölgelerinden biridir. Hipokampus içerisinde bilgi entorihinal korteksten dentat girusa girer, ve dentat girus-CA3 arasındaki bağlantılar aracılığıyla bu bilgi yayılır. Her bir granül nöronu yaklaşık olarak 12 CA3 nöronu inerve eder, her bir CA3 nöronu da yaklaşık olarak 50 diğer CA3 nöronlarını akson kolleteralleri ile inerve eder. Net sonuç 600 kez amplifiye olmuş eksitasyon, 300 kez amplifiye olmuş inhibisyonudur, bu inhibisyon kontrol sistemlerine fayda sağlamaktadır. Uzun dönem depolama beyinin başka bölgelerinde de olmasına rağmen dentat girus-CA3 arasındaki bu devrenin hafıza ve ardından gelen olaylarda bir rolü vardır. Bu devrenin yapısal plastisiteye karşı adaptasyon vardır. Yeni nöronların üretimi bütün yaşam boyunca dentat girusta devam eder. CA3 piramidal hücrelerinin dendritleri kış uykusu ve yiyecek sınırlanması gibi kronik stres ve artmış fizyolojik aktivite gibi durumlarda yeniden (tersine çevrilebilir) bir şekillenmeye maruz kalırlar. Hipokampusta plastisite devam eden hasara karşı koruyucu olabilir ya da hasar oluşmasına karşı savunmasızlığı güçlendirebilir.

Hipokampusta adaptif değişiklik tek tip nöronların değişimini içerir. Dentat girusun subgranüler tabakasındaki hücreler astrositlerin bazı özelliklerine sahiptirler (glial fibriler asitik protein ekspresyonu gibi) ve granül nöronlarına doğru dal verirler. Bromodeoxyuridine verilmesinden sonra hücrelerin DNA'ları ayrılır, bu ayrılan hücreler yeni doğan hücrelerdir ve granül hücre tabakasının iç kısmında küme halinde görünür, bu hücrelerin hemen hemen tamamı en az yedi günde granüler nöronlara farklılaşır. Yetişkin sıçanda her gün 9000 yeni nöron doğar ve onların hayatta kalma süreleri 28 gündür (44).

Hipokampal nöronal kök hücreler dentat girusun subgranüler zonunda bulunur, burada yeni hücreler oluşur ve çoğalır. Bu yeni hücrelerin büyük bir kısmı DG'un granül hücre tabakası içine göç edip farklılaşır. Dendritler dentat girusun moleküler tabasına uzanır ve aksonlarını dentat hilus ve CA3 striatum lusidum içine gönderirler. Zaman içinde bu yeni eklenen granül hücreleri, granül hücreye özel afferent ve efferent sinaptik temasların kurulması yoluyla fonksiyonel hipokampal devreleri birleştirme ve uzamsal bellek oluşumuna katılabilmektedir (1).

2.4.3. Hipokampus ve Nörogenez

Nörogenezis merkezi sinir sistemi içinde, sinir kök hücrelerinin bölünmesi yoluyla yeni nöronların oluşturma işlemidir. Nörogenez en çok ilk gelişim döneminde meydana gelmesine rağmen beynin, hipokampusun dentat girusu, lateral ventrikülün subventriküler zonu gibi belli bölgelerinde hayat boyunca nörogenez korunur. Hipokampus nörogenezis, öğrenme ve hafıza, TLE, aizhemier, majör depresif hastalıklar gibi bozukluklarda ki rolü nedeniyle büyük ilgi çekmektedir (1).

Nörogenezisi, dentat girusta hücrenin hayatta kalmasını düzenleyen hormonal, nörokimyasal düzenleyiciler vardır. Nörogenezisi düzenleyen nörokimyasal sistemler arasında eksitatör amino asitler, serotonin, norepinefrin, benzodiazepinler, endojen opiyatlar, beyin türevli nörotrofik faktör (BNDF), insülün benzeri büyüme faktörü 1 (IGF-I) ve glukokortikoidler vardır. Akut stresörler ve çoğu kronik stresörler nörogenezisi ya da hücrelerin hayatta kalmalarını dentat girusta baskılar. Yine NMDA reseptör aracılığıyla eksitatör amino asitlerin, endojen opiyatların da inhibitör etkileri vardır (44).

Bununla birlikte yetişkin beyinde hipokampal nörogenez durağan değildir. Örneğin fiziksel egzersiz ya da zenginleştirilmiş ortam hipokampal nörogenezi pozitif olarak güçlendirir. Diğer taraftan nöbet gibi patolojik durumlar nöbetin tipine bağlı olarak değişiklik gösterse de net sonuç hipokampal nörogenezde anormalliktir. Akut nöbet veya status epileptikus anormal şekilde hipokampal nörogenezi artırır. Kronik temporal lob epilepsisinin neden olduğu spontan motor nöbetler ise ciddi şekilde nörogenezin azalmasına neden olur (1).

2.5. ÖĞRENME MEKANİZMASI ÜZERİNDE YAPILAN DENEYLER

Geliştirilmiş davranış testleri ve elektrofizyolojik modeller, öğrenme, hafıza işlevleri deneysel olarak çalışılmasına izin veren güvenilir metotlardır.

2.5.1. Davranış Testleri

Davranış testleri kemirgen hayvanlarda spasyal öğrenme ve hafıza performansının tesbit edilmesi için geliştirilmiştir. Deney hayvanlarında kullanılan öğrenme testleri; T-labirent, kompleks labirent, sıçanlarda ayak şoku testi, şartlı zıtlasma testi, dört levha testi, merdiven testi, sıçanlarda pasif sakınma testi, Skinner kutusu, morris yüzme testi, açık alan ve delikli tahtadır.

Morris yüzme testi spasyal öğrenme ve hafızanın incelenmesinde kullanılan yöntem hem referans hem de çalışan hafızanın test edilmesini sağlar (45). Açık alan testi hayvanların spontan motor aktivitesini değerlendiren bir davranış testidir (46,47). Çevreyi keşfetme davranışı, otonom fonksiyonları ve motor aktivitenin değerlendirilmesinde kullanılır. Delikli tahta testi ise özellikle araştırmacı davranışların gözlenmesinde ve anksiyetenin değerlendirilmesinde kullanılan bir düzendir (45).

2.5.2. Öğrenmenin Elektrofizyolojik Deneysel Modeli ‘Uzun Süreli Potansiyalizasyon’

Uzun süreli potansiyalizasyon (USP, ‘LTP-Long Term Potentiation’) hafızanın altında yatan nörobiyolojik mekanizmaları içine alan sinaptik plastisitenin deneysel bir modelidir. USP öğrenme ve hafıza ile yakından ilişkili olarak hipokampusda ve diğer bazı beyin alanlarında görülür (48).

2.6. UZUN SÜRELİ POTANSİYALİZASYON

Yarım yüzyıldan daha fazla bir zaman önce Donald Hebb ‘pre- ve postsinaptik nöronlar arasındaki koordineli bir faaliyetin, bu nöronlar arasındaki sinaptik gücü değiştirmesi gerekir’ (Hebb1949) düşüncesi ile öğrenme ve hafıza için hücrel bir hipotezi ifade etti. Bu hipotezin ardından sinaptik güçteki değişiklikleri, mekanizmaları anlamak için elektrofizyolojik deneysel model olan USP (Bliss and Lomo 1973) ve uzun süreli depresyon (USD, ‘Long Term Depression’ Ito ve ark. 1982) geliştirilmiştir (49).

Çoğu araştırmacı USP’nin ilk gösterildiği yer olmasından dolayı, CA1 bölgesinde çalışmaktadır (3). Bununla birlikte USP neokorteks ve diğer sinir sistemi bölümlerinde de çalışılmaktadır. Hipokampusun ya da intrinsek bağlantılardan birinin afferent yolunun tekrarlayan aktivasyonu piramidal hücrelerin cevaplarını artırır. Artmış cevaplar invitro deneylerde saatlerce sürebilir (invivo da günler ve haftalarca sürebilir). Artmış sinaptik etkinlik hem presinaptik hem de postsinaptik olayları içermektedir. USP ile ilişkili nörotransmitterler başlıca NMDA reseptörlerini etkileyen eksitator amino asitlerdir, bu reseptörlerin cevapları postsinaptik nöron içine Ca^{2+} akışı ile bağlantılıdır. İkinci haberci yolları; G proteinleri, Ca^{2+} /kalmodulin bağımlı kinaz II (CaMKII), protein kinaz G ve protein kinaz C (PKC) da aynı zamanda olaya katılır. Bu kinazlar protein fosforilasyonuna ve nörotransmitter reseptörlerinin cevabının değişmesine neden olur (28). Postsinaptik sinirlerden salınan bir retrograd haberci olan nitrik oksit (veya

karbon monoksit) presinaptik sonlanmalara etkiyerek buradan transmitter salınımını artırabilir (28,50).

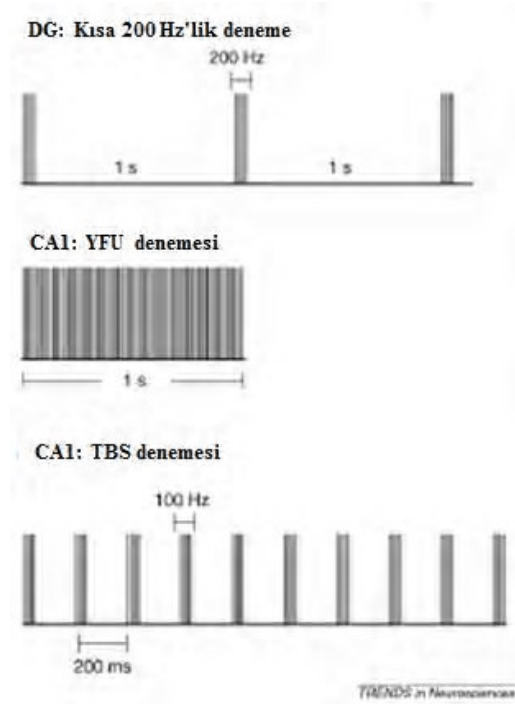
Sinaptik plastisitenin bir diğer çeşidi ise USD'dur. USD yoğun olarak serebellum da çalışılmıştır. Ancak hipokampus ve diğer merkezi sinir sitemi bölümlerinde de ortaya çıkar. Ca² akışı ve sinyal ileti mekanizmasının aktivasyonu gibi aynı faktörlerin bazıları USP'de olduğu gibi USD'nin de uyarılmasına neden olabilir (28).

2.6.1. Uzun Süreli Potansiyalizasyon İçin Farklı Oluşturma Mekanizmaları

Hipokampusta USP'nin (bütün formları) yaygın şekilde presinaptik aksonların tetanik ya da yüksek frekanslı uyarı (YFU, HFS 'High-Frequency Stimulation') ile oluşturulur. Bu şekildeki uyarı hipokampusta glutamatın serbestlenmesi ile postsinaptik NMDA reseptör aktivasyonu için yeterlidir. Postsinaptik Ca² girişi USP oluşması için çok önemlidir. Nöronlar USP'nin oluşturulma protokolleri ile aktive olan çeşitli Ca² kaynaklarına sahiptir (51).

2.6.2. Yaygın Uzun Süreli Potansiyalizasyon Oluşturma Protokolü

Deneyssel olarak USP çeşitli yöntemlerle oluşturulabilir ama en yaygın yöntem yüksek frekanslı (tetanik) ve/ ya da afferent lifleri elektriksel olarak uyarılmasıdır. Orjinal çalışmada 15-20s süreyle 15Hz'lik uyarı ya da 3-4s süreyle 100Hz'lik uyarı DG'ü projekte eden perforan yol uyarılmıştır. Daha sonraki çalışmalarda USP indüksiyon güvenilirliğini artırmak için farklı şekilde denenmiştir ancak yaygın olarak DG'da 200-400Hz'lik kısa (20-40ms) süreli uyarı kullanılmaktadır.



Şekil 2.4. YFU ve TBU oluşturma protokolü

Genellikle bir kaç saniye ile ayrılmış denemeler *in vivo* olarak 80 kez tekrarlanabilir daha fazla denemeler ise genellikle daha kalıcı USP ile sonuçlanır. CA1 bölgesinde YFU olarak adlandırılan yaygın protokol 100Hz'de 1s süreli uyarıdan oluşur. Çoğunlukla YFU 8 defaya kadar tekrarlanabilir, deneme aralığı saniyelerle, onlarca dakika aralığındadır. Daha fizyolojik uyarılara ilgili kullanma girişimi sonucunda teta bürst uyarı (TBU) geliştirilmiştir. TBU genellikle 5Hz 'θ' bürst tekrarlanan 100Hz'de dört veya beş vuruşu ve bir denemedeki on bürst aktiviteyi içerir. CA1 bölgesinde maksimum USP 8-16 TBU denemesi ile oluşturulur (Şekil 2.4) (51).

2.6.3. Uzun Süreli Potansiyalizasyon Formları

Geçen on yıldan daha uzun süredir USP çalışmalarında elde olan literatür bilgilerinin tutarsızlığı ancak bazı çoklu USP mekanizmaların varlığı ile açık açıklanabilmektedir. Nitekim de bugün USP ve USD'de hücre tipine, oluşma safhasına, oluşturulma protokolüne bağlı olarak farklı mekanizmalar rol almaktadır. Örneğin USP'nin klasik tanımlanmış CA3-CA1 sinapsında ki NMDA reseptör bağımlı formuna ilaveten komşu dentat girus-CA3 mossy liflerinin sinapsın da olduğu gibi NMDA reseptör bağımsız formu da vardır. Bununla birlikte, hücre tipi, yaşı ve diğer deney koşulları sabit olduğu takdirde USP'nin mekaniksel olarak farklı formları daha az tanımlanmaktadır.

Başlangıçta tam olarak tatmin etmeyen mekanizmalara rağmen bir süre sonra, yeni protein sentezine bağlı, birden fazla USP bileşeni olduğu ortaya çıkmıştır. USP'nin geç formu geç-USP uzun sürelidir (in vitro saatlerce, in vivo haftalarca aylarca sürer) ve tek bir uyarı ile başlatılan, daha hızlı bozulan, protein sentezinden bağımsız, erken uzun süreli potansiyalizasyondan (E-USP) farklıdır (51). E-USP 100 Hz'de 1s süreyle tek bir tetanik stimülasyon ile tetiklenir ve 1-2 saat sürer. E-USP için NMDA ve CaMKII aktivasyonu gerekir, yeni proteinlerin sentezi ya da gen transkripsiyonu gerekmez (52). E-USP'nin aksine Geç uzun süreli potansiyalizasyon (G-USP) için transkripsiyon ve çok sayıda genin indüklenmesinin eşlik ettiği protein sentezi gerekir. G-USP çok sayıda kinazların fosfatazların ve genlerin rol aldığı, 3-4 saatten daha uzun sürer karmaşık bir süreçtir (52,53). G-USP uzun-dönem hafızanın depolanmasına gerekli olduğu ve aylarca sürebilmektedir. Hipokampusun CA1 bölgesinde G-USP elektriksel uyarıdan ya da forskolinin, BDNF'nin verilmesinden 1-2 saat sonra ortaya çıkmaktadır (53).

G-USP ve E-USP şeklinde sınıflama geniş ölçüde kabul edilmiş ve USP çalışmalarının düzenlenmesinde yararlı olmuştur. Bununla birlikte yaklaşık geçen 20 yıl süresince daha kesin sınıflama için kanıtlar ortaya çıkmıştır. İn vivo dentat girusta Abraham ve Otani USP'nin zaman içerisindeki devam etme sürecinde üç ayrı safha gözlemlediler. Racini ve arkadaşlarının isimlendirmesini takiben USP'nin kalıcılığı açısından USP1, USP2 ve USP3 olarak tanımlama yapıldı.

USP1:E-USP'ye eşitir, hızla bozular, protein sentezinden bağımsızdır ve muhtemelen çeşitli sinaptik proteinlerin post-translasyonel düzenlemeler rol alır.

USP2:G-USP'nin ara safhasıdır, protein sentezi gereklidir, fakat gen transkripsiyonundan bağımsızdır.

USP3:USP'de dayanıklılığı yansıtır, G-USP'nin translasyon ve transkripsiyon bağımlı bileşenidir.

USP süresince voltaj kapılı kalsiyum kanalları ve endoplazmik retikulum (ER) başlıca Ca^{2+} kaynağını oluşturur. Voltaj kapılı kalsiyum kanalları (VKKK) tetanik USP oluşturma protokolü süresince nöronlara çok fazla kalsiyum girişi için kaynaktır. Yine aktiviteye bağlı endoplazmik retikulumdan, ryanodin ve inozitol trifosfat (IP3) reseptörlerinin tamamından kalsiyum serbestlenmesi olur. Ryanodin (Ry) reseptörleri sitozolik kalsiyum artışı ile aktive olur ve başlıca nöronlarda kalsiyuma bağlı kalsiyum serbestlenmesinden sorumludurlar. IP3 reseptörleri örneğin metabotrofik glutamat

reseptörlerinde olduğu gibi esas olarak fosfolipaz C-bağlı G-proteinine kenetlenmiş reseptörlerin tarafından üretilen IP3 tarafından aktive edilir.

Elde olan bulgular uyarının tipine, kalsiyum kaynağına göre USP1, USP2 ve USP3 çatısı altında aşağıdaki şekilde birleştirilebilir.

Zayıf uyarı (TBU'nin tekli denenmesi): NMDA ve Ry reseptör aktivasyonu ile kalsiyum serbestlenmesine bağlı USP'nin çabucak bozulmasına neden olur.

Orta uyarı (TBU'nin dördümlü denenmesi): Güçlü USP formuna neden olur, bu tipte NMDA reseptör aktivasyonuna bağlıdır fakat IP3 reseptör blokajı için benzersiz şekilde hassastır.

Güçlü uyarı (TBU'nin sekizli denemesi): Dayanıklı USP'ye neden olur, NMDA reseptör aktivasyonunu ve L-tipi VKKK'ya duyarlıdır fakat tamamen depo aracılı kalsiyum serbestlenmesinden bağımsızdır. USP'nin her bir formunun oluşumunda farklı Ca² kaynaklarının olağanüstü seçiciliği vardır. Ry reseptör aracılı uyarı dendritik dikenlerle sınırlıdır, IP3 reseptör aracılı kalsiyum seçiciliği distal dendritik uyarı ile ve L-tipi VKKK Ca² yalnız somada önemlidir.

2.6.4. Uzun Süreli Potansiyalizasyon'da Effektör Mekanizmalar

2.6.4.1. Protein Sentezi Sonrası Düzenleme

USP1 zayıf uyarı protokolü ile oluşturulması, hızla bozulması ve protein sentezinden bağımsız olması nedeniyle diğer USP formlarından farklıdır. USP1 önceden mevcut olan proteinlerin fosforilasyonu ile modifikasyonu ile muhafaza edilir. USP'de en yaygın protein kinazlar serin/treonin kinazlar, kalsiyum kalmodulin bağımlı kinaz iki (CaMKII) ve protein kinaz C (PKC) dir. Ancak bu kinazların rolünü çalışan ilk çalışmaların çoğu, USP'nin farklı aşamaları veya formlarına katkılarını incelemek için, yalnızca güçlü oluşturma protokolleri kullanmıştır. Daha yeni veriler, CaMKII her durumda NMDA reseptör bağımlı USP hem erken hem de geç fazda, ancak farklı nedenlerden dolayı birçok yerde rolü olduğunu düşündürmektedir. Aksine PKC inhibitörleri tekli tetani ile uyarılan azalan USP'yi etkilemez, fakat tekrarlanan tetanizasyondan 1-2 defa sonra USP kaybına neden olur. PKC bu nedenle uzun vadeli USP'nin sürdürürme mekanizmalarının aktive olmasında daha özel bir role sahip olabilir.

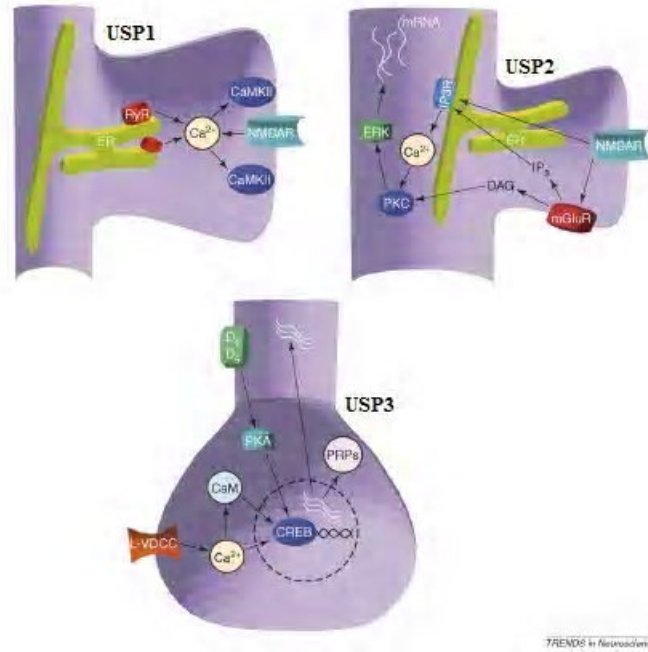
Çeşitli diğer kinazların da USP'nin oluşturulma şekline bağlı olarak USP'ye karıştığı ve yakından ilişkili olduklarına işaret edilmektedir. Tirozin kinazlar VKKK'ya bağlı USP'nin güçlü uyaran protokolü ile oluşturulan formu için önemlidir. Benzer olarak serin/tirozin kinazlar seçici olarak NMDA reseptör bağımlı USP formunda rol alır. Ekstrasellüler uyarı-düzenleyici kinaz-Mitojen aktive protein kinaz (ERK-MAPK) yolu son USP çalışmalarında popüler bir hedef haline gelmiştir ve çoklu tetanizasyon ile oluşturulan uzun ömürlü USP için önemli gibi görünmektedirler. Son olarak fosfoinozitin 3-kinaz (PI 3-kinaz) aynı zamanda çoklu tetanizasyon tarafından USP1 veya USP3 oluşturulmasında rol alır. USP'nin farklı formlarında bu enzimin bağımsız işlevleri olduğu düşünülür. Bu tür veriler USP birden mekanik olarak ayrı formlarının kavramı için güçlü destek sağlar.

NMDA reseptör bağımlı USP birden fazla form ve fazları için görünüşte önemli olmasına rağmen birincil efektörü USP1 olduğu hipotez edilir (51).

2.6.4.2. Dendritik Protein Yıkımı ve Sentezi

Lync ve arkadaşları (1988) dendritik dikenlere kalsiyumun girmesi ile bu oluşumlarda yapısal değişikliklerin meydana geldiğini ileri sürdü. Dendritik dikenlerin içinde dikenin yapısına destek olan ve adeta bir iskelet görevi gören spektrin (daha spesifik olarak bu proteinde fodrin de denilmektedir) denilen yüksek molekül ağırlıklı bir protein vardır. Spektrin bu proteinlerin eski ve genel adıdır) Bu protein yine dendritik ve kalsiyuma bağımlı proteolitik bir enzim olan kalpain tarafından yıkıma uğratılır. USP oluşması için spektrin yıkılması gerekmektedir. Dendritik dikenlerinde oluşan şekil değişikliği, diken ile dendrit arasındaki elektriksel direnci azaltacak yöndedir. Böylece dikende oluşan bir postsinaptik potansiyel hücrenin geri kalan kısmına daha etkili olur. Gerçekten de USP olduğu durumlarda, birçok çalışmacı, dendrit dikenlerinin şeklinde değişiklik olduğunu göstermiştir. Diken'in başı konkavlaşmakta, böylece dikenlerin ortalama yüzeyi büyümekte ve diken dendrite bağlayan kısımları kısalıp gevşemektedir.

Protein yıkımı kadar protein sentezi de USP de rol oynar. Fazali ve ark.'ları dentat girusa interstisyel sıvının analizini sağlayacak bir kanülle girmişler ve USP oluştuktan 1 saat sonra interstisyel sıvıda protein artımı gözlemlemişlerdir. Bu artış USP oluşturmak için verilen stimulusa da bağlı olabilir. Ancak USP'yi bloke eden bir madde verdiklerinde stimülasyon uygulanmasına rağmen protein artmadığını bulmuşlardır (2).



Şekil 2.5. USP formları ve hücre içi mekanizmalar.

USP2 tanımına göre yeni protein sentezine bağımlı gen ekspresyonundan bağımsız safhadır. Protein sentezinin çoğu nöronun dendritlerin de bulunan mRNA'dan gerçekleştirilmesi gerekir. Gerçekten de, transkripsiyonunu bağımlı ve bağımsız G-USP fazları arasında geçici bir çözünme süresi orta USP dendritik protein sentezi için kısıtlı bir rolü olduğu düşünülür.

2.6.4.3. Gen Ekspresyonu

USP'nin USP3 formu hem protein sentezine hem de gen ekspresyonuna bağlı formudur. USP'nin uzun süreli devam ettirilmesi için gen ekspresyonunun gerekli olduğu iyi şekilde tanımlanmıştır, burada önemli soru gen ekspresyonunun USP'nin bağımsız bir şeklini temsil eder olup olmadığıdır. USP2 ve USP3 için protein sentezi ortak bir şarttır fakat USP2'de transkripsiyon olması gerekmemektedir. Gen transkripsiyonuna bağlı USP için tekrarlayan yüksek frekanslı ya da şiddetli uyarı gereklidir oysa USP2 daha orta şiddetli uyarı ile oluşturulmaktadır (51).

Kısa ve uzun süreli belleğin geliştirilmesi nöronlarda moleküler seviyede kontrol edilir. Uzun dönem hafızada yeni mRNA ve proteinlerin sentezi gerekir. Bu süreçte dört büyük uyarı yolu ile kontrol edilir. Bu yollar cAMP-bağımlı protein kinaz A, CaMKII, PKC ve MAPK'dır. Bu dört yolun hepsi bir transkripsiyon faktörü olan cAMP-yanıt elemanı bağlayıcı protein (CREB) hafıza ve sinaptik plastisite ile ilişkili genlerin çoğunun promotor bölgesine bağlanır. Plastisite ve hafızada kalıcı değişiklikler

açısından CREB aktivasyonunun önemini, CREB aktivitesindeki bozulma özellikle uzun süreli bellek oluşumunu engeller olduğunu gösteren çalışmalar tarafından vurgulanır, CREB miktarı veya aktivitesini arttıran ajanlar ise bellek oluşum sürecini hızlandırır. Ayrıca büyük miktarda CREB fosforilasyonu ve CRE-haberci gen ekspresyonu gelişimsel plastisite sırasında kortikal nöronlarda, USP tetikleyen uyarıya ve davranışsal hafıza görevlerinin her ikisine de yanıt olarak hipokampal nöronlarda tespit edilmiştir (54).

2.7. ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ ÇEVRE

Zenginleştirilmiş çevre duyuşsal, bilişsel ve motor uyarıların çoğaldığı barınma şartları olarak ifade edilir (55). Zenginleştirilmiş çevre deneysel olarak hayvanların geniş kafeste olmalarını, kafes içerisinde tünel, platform, oyuncak, koşu tekerleği gibi sosyal etkileşimi güçlendiren cansız nesnelerin olması duyuşsal ve motor uyarılarıyla öğrenme ve hafızanın güçlendirilmesini kapsar. Çok sayıda çalışma özellikle hipokampusta zenginleştirilmiş çevre ye maruz kalma ile hücreşel, moleküler davranış seviyesinde değişiklikler olduğunu göstermiştir (56).

2.7.1. Zenginleştirilmiş Çevrenin Laboratuvar Hayvanlarında Tanımlanması

Zenginleştirilmiş çevrenin ilk olarak öğrenme ve hafıza üzerine olan pozitif etkileri 1940 yılında Hebb tarafından tanımlandı. Hebb laboratuvar sıçanlarının serbest dolaşmalarına izin vererek bu sıçanların standart kafesteki sıçanlara göre davranışsal ilerlemelerini gözlemlemiştir (55). 1947 yılında Donald Hebb yaptığı çalışmalar ışığında ‘bir hücre diğer bir hücreyi tekrarlayan şekilde uyardığı zaman, bir ya da her iki hücre bir hücrenin uyardığından daha etkin şekilde diğerini uyarır hale gelir’ hipotezini ileri sürdü. Sonrasında Rosenzweig ve arkadaşları tarafından zenginleştirilmiş çevre cansız karmaşık nesne kombinasyonundan ve sosyal uyarılardan oluşan çevre olarak tanımlanmış ve bugün kullandığımız şekilde standardize edilmiştir (18). Devamında çok sayıda çalışmada zenginleştirilmiş çevre laboratuvar hayvanlarında oluşturulmuş ve zenginleştirilmiş çevrenin öğrenme ve hafıza performansını ilerlettiği, özellikle korteks, hipokampus gibi beyin bölgelerinde yapısal ve biyokimyasal değişikliklere neden olduğu gösterilmiştir (55,56). Beyin ağırlığında, büyüklüğünde artış gliogenezi, hipokampusun dentat girusunda nörogenezin güçlenmesindeki artış, beynin serebral korteks, bazal gangliyonlar gibi bazı yapılarında dendritik dallanmalar, yeni sinaptik formasyonun oluşması, dendritik diken yoğunluğunun, sinapsların, kortikal doku

volumünün artması bu değişikliklerin arasındadır (55,56,57,58). Zenginleştirilmiş çevre aynı zamanda anjiyogenezisin, hipokampal hücrenin yaşam ömrünü, öğrenmeyi, gen ekspresyonunu ve nörotrofinlerin üretimini artırır (57). Elektrofizyolojik açıdan da zenginleştirilmiş çevre de kalan hayvanların hipokampus kesitlerinde öğrenme ve hafızanın işlevsel olarak kesin formu olan USP'de değişiklik yapar (56). Hipokampal kesitlerde yapılan bir çalışmada zenginleştirilmiş ortamda bulunan sıçanların USP'sin de güçlenme olduğu gösterilmiştir (59).

2.7.2. Zenginleştirilmiş Çevrenin Beyin Kimyası Üzerine Olan Etkileri

Zenginleştirmeyi izleyen yapısal ve davranış plasisitesinin oluşmasının altında yatan moleküler nedenler kısmen nöronal plasisitede rol alan nörotrofik faktörlerin, proteinlerin ve başlıca genlerin up-regülasyonudur. Zenginleştirilmiş çevre ile gliya kaynaklı nörotrofik faktörün (GDNF), BDNF sinir büyüme faktörünün (NGF), nörotrofin 3'ün (NT3), insülün benzeri büyüme faktörünün (IGF-1), vasküler endotelial büyüme faktörünün (VEGF) konsantrasyonunun arttığı gösterilmiştir (18,56). BDNF'nin özellikle hipokampusta nörogenezisin artması için ve hipokampus bağımlı öğrenmenin egzersize bağlı gelişmesi için gereklidir (56).

Nörotrofik faktörlerin beyinde ki çeşitli işlevlerinden dolayı bu değişiklikler önemlidir. İlk olarak; nörotrofik faktörler nöronların farklılaşmasını, yaşamasını ve gelişmelerini destekler. İkinci olarak; hedef hücreler ile etkileşim halinde olan nöral ve nöral olmayan hücreler tarafından sentezlenir, böylece hedef nöronlar gibi sentez yapan her iki hücrenin hayatta kalmaları için nörokimyasal iletişimde rol alırlar. Üçüncü olarak da çeşitli nörodejeneratif hastalıklardan ve beyin hasarından sonra nöronları koruyucu özelliğe sahiptir. Bu yüzden çeşitli nörotrofik faktörlerin artması çevresel yara ve hasarı izleyen nörodejenerasyonlu beyinde yaralanabilirliği azaltır (18).

Zenginleştirilmiş çevre dopaminerjik, kolinerjik, serotonerjik ve kolinerjik nörotransmisyonu da düzenler (18,55,56). Ancak çok sayıda çalışma da zengin çevrenin nörotransmitter salınımı üzerine direk etkisi olmadığını göstermiştir (56). Bu değişikliklerden en az bir kısmının zenginleştirilmiş çevre ile gen ekspresyonundaki değişiklikten kaynaklandığı düşünülmektedir. Özellikle hipokampusta hücresel plasisite ve sinaptik işlevde rol alan bazı genlerin ekspresyonunda değişikliğe de neden olduğu gösterilmiştir (55). Zenginleştirilmiş çevreye konulmuş yetişkin sıçanlarda öğrenme ve hafıza ödevlerinde rol alan bazı proteinlerin arttığı gösterilmiştir. Bunlar

immediate erken gen benzeri NGFI-A, Zif/268, Arc ve CREB in fosforilasyonudur. 2004'de Nithianatharajah ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada zenginleştirilmiş çevre ye bir ay konulduktan sonra çeşitli beyin bölgelerinde density-95 postsinatik seviyesinin arttığı gösterilmiştir (18). Bu bulgular çevreye bağlı beyinde nörogenezis, sinaptik yoğunluğun artması ve yaşlanma, nörodejeneratif hastalıklarla plastisitenin ilişkisi için yeni bakış açıları katmıştır.

2.7.3. Zenginleştirilmiş Çevre ve Plastisite

Plastisite beynin yapısındaki değişimin kapasitesidir ve bu işlev beynin çevresi ile etkileşimi sonucunda olur. Çevreye ve kişinin yaşam stiline bağlı olarak beyindeki plastisiteye bağlı değişiklikler güçlenir ya da azalır. Deneysel model olan zenginleştirilmiş çevre beyindeki plasitite değişikliklerini çalışmaya izin verir. Hayvanlarının çevresinde artan duyuşal ve sosyal uyarılar plastisitenin güçlenmesini sağlar. Yine zenginleştirilmiş çevre, hücrelerin hayatta kalmasını güçlendiren trofik faktörlerin seviyesinde, nörogenezisde, dendritik dallanmada, sinaptogenezisde artış, nörotransmitter sistemleri üzerindeki etkisiyle beyinde plasitite değişikliklerine neden olmaktadır (56).

2.7.4. Zenginleştirilmiş Çevre ve Nörodejeneratif Hastalıklar

Zenginleştirilmiş çevre ile ilgili ilk öncü çalışma 1964 yılında yapılmıştır. Schwartz çalışmasında, neonatal sıçanlarda kortikal lezyonun neden olduğu hasarı zenginleştirilmiş çevreye maruz kalma ile geri çevrilebildiğini göstermiştir. O günden sonra farklı deneysel nörodejeneratif hastalık modellerinde zenginleştirilmiş çevreye maruz bırakmanın etkisini araştırmak çığ gibi büyümüştür. Literatürde de mevcut çalışmaların çoğu, beyin hasarı yeri neresi olursa olsun, çevresel zenginleştirme yoluyla faydalı etkileri olduğunu göstermektedir (18). Özellikle yapılan çalışmalarda zenginleştirilmiş çevrede olduğu gibi çevresel uyarıların nöronal plastisiteyi ve glial çoğalmayı ilerlettiği sıçanlarda gösterilmiştir. Yapısal plastisitenin gelişmesi yürüme, tırmanma ve uzanma becerilerini içine alan motor işlevlerdeki ilerlemeye eşlik eder. Zenginleştirilmiş çevre ile ilgili çalışmaların çoğunun iskemik beyin hasarı ya da yaşlanma süreçleri etkileri üzerine odaklanmalarına rağmen önceki yapılan çalışmalarda Parkinson hastalığı ile birlikte olan demans üzerine yararlı etkileri olduğu da gösterilmiştir (60).

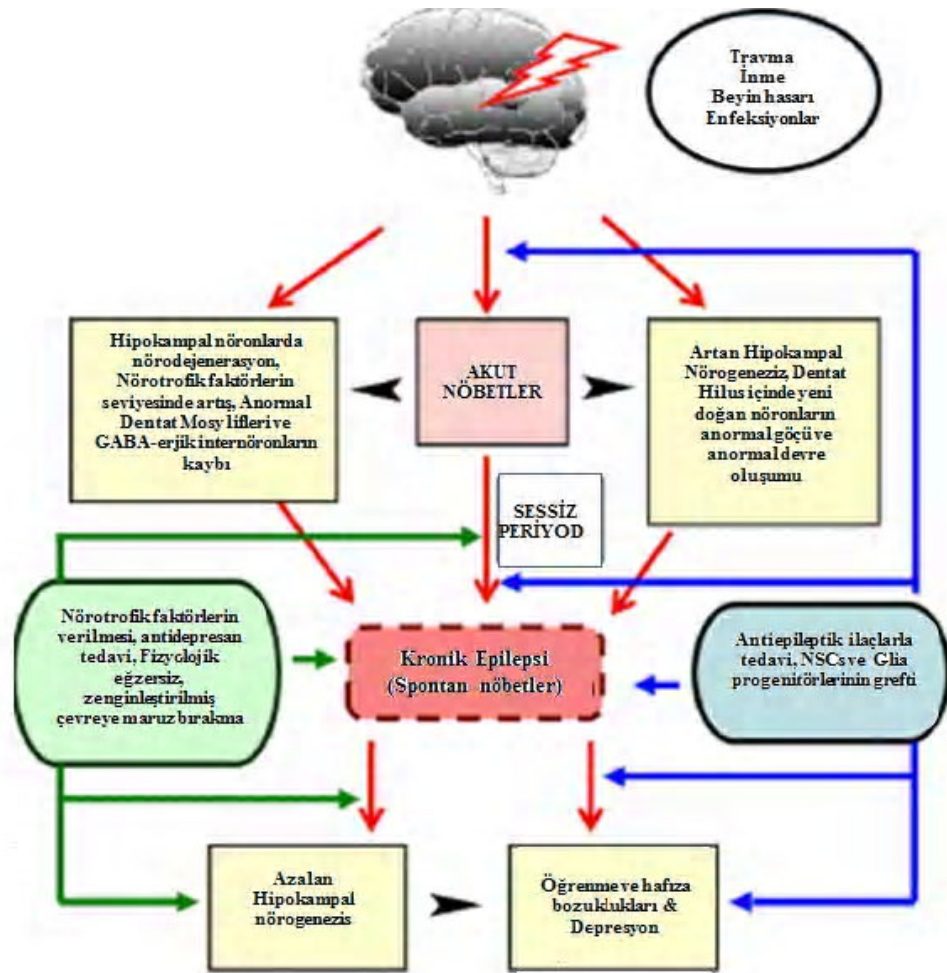
2.7.5. Zenginleştirilmiş Çevre ve Epilepsi

Epileptik hastaların yarısından fazlasında nöbet nedeniyle bilişsel ve davranışsal bozukluklar görülür (15,52). Epileptogenezisin araştırılmasında kullanılan deneysel modeller de epilepsi ile birlikte hafıza ve duygusal bozuklukların da olabileceğini desteklemektedir. Epilepsi, öğrenme ve hafıza işlevlerindeki kötüleşmenin yanında anksiyete ve depresyon gibi duygu durum bozukluklarıyla da birlikte seyreder. Bu bozukluklar özellikle temporal lobu tutan parsiyel nöbetli hastalarda görülür (24). Bilişsel bozukluklar konvulsif nöbetler ya da antikonvulsan tedavi nedeniyle de olabilir (14). Epilepsinin öğrenme ve hafıza üzerindeki bu dikkat çekici olumsuz etkisinin çok sayıda çalışma ile gösterilmiş olmasına rağmen etki mekanizmasının açık olmadığı düşünülmektedir (61).

Tutuşma nöbetleri limbik sistem hipokampusun CA1, CA3 ve dentat girus alanlarında, amigdalada, entorihinal kortekste nöronal hücre kaybına neden olur. Hipokampustaki bu nöronal hasar hafıza bozuklukları ile ilişkilidir. Artmış glutaminerjik transmisyon aktivitesi, serbest radikal üretimi nedeniyle, PTZ'li tutuşmuş sıçanların nöronal hücre ölümünde hayati rolü vardır. PTZ ile oluşturulan bir oksidatif stres çalışmasında, tutuşmanın MDA (serbest radikal üretiminin son ürünü, monodialdehid) seviyesini artırdığı ve GSH (serbest radikal toplayıcısı, glutatyon) seviyesini sıçan beyninde azalttığı bulunmuştur. PTZ ile tutuşma oksidan ve antioksidan sistemler arasındaki dengesizliğe neden olduğu ve bilişsel bozukluklarda bu dengesizliği kısmen sorumlu olduğu ifade edilmiştir (15).

Young ve ark. 1999 yılında yeni ufuklar açan bir rapor hazırlamıştır, bu rapor epileptik koşullarda nöbetleri frenlemesi için zenginleştirilmiş bir ortama maruz kalmanın yararı hakkında ilk bilgileri vermiştir. Çalışmada bir eksitotoksin olan glutamat reseptörlerinden bir alt tipi olan kainat reseptörlerini aktive eden kainik asitin neden olduğu nöbetler üzerinde standart kafes ve zenginleştirilmiş kafesin etkisine bakılmıştır. Kainik asit eksitotoksik nörodejenerasyonla birlikte nöbetlere neden olur. Zenginleştirilmiş çevre koşullarında kalan sıçanlarda kainik asitin eksitotoksitesine yanıt önemli ölçüde azalır, bu durumda zenginleştirme çevrenin akut nöbetlere ve eksitotoksik yaralanmaya, nöbetlere karşı beyin direncini artırdığı düşünülür. Bununla birlikte zenginleştirilmiş çevreye maruz kalma akut nöbetlerden ya da SE'dan sonra kronik epilepside koruyuculuğunun olup olmadığı düşünülmüş ve Rutten ve ark. 2002'

de lityum-pilokarpinin neden olduğu status epileptikusdan sonra 30 gün süreyle zenginleştirilmiş çevrede barındırılan 20 günlük sıçanlarda bunu araştırmışlardır. Çalışmada zenginleştirilmiş çevre ve normal kafes grupları arasında EEG'leri açısından bir farklılık bulamamışlardır. Fakat bu sonucun inandırıcı olmadığı yazarlar tarafından da not edilmiştir. Çünkü hayvanlar arası önemli varyasyonlar ve kronik epilepsi fazına ilerleme süreci, hayvanların sınırlı sayıda oluşması, olgunlaşmamış sıçanlarda status epileptikusdan sonraki zaman noktalarının değerlendirilemediği ifade edilmiştir. Yine önemli bir notta status epileptikus sonrası durum genç sıçanlarda yetişkin sıçanlara göre çoğu yönden farklı olmasıdır (18).



Şekil 2.6. Akut nöbetlerden kronik nöbetlere geçişte çeşitli zaman noktalarını sistematik gösteren şekil.

R. Kuruba et al. / Epilepsy & Behavior 14 (2009) 65–73.

Status epileptikusa maruz kalan yetişkin sıçanlar, genç sıçanlarla karşılaştırıldığında, mortalite hızı, hipokampal ve hipokampal olmayan nörodejenerasyon, dentat girusta anormal yosunsu lif dallanması ve kronik epilepsinin gelişmesine eğilim açısından

farklılık göstermektedirler. Bu yüzden güncel olarak SE'un başlatılması, kronik epilepsinin sınırlanması veya gelişmesinde zenginleştirilmiş çevreye başvurulmasına dair kesin deliller yoktur (18).

Akut nöbetler hipokampusda yapısal, nörokimyasal ve hücrel değişikliklere neden olmakta ve bu değişiklikler spontan nöbetlerle karakterize kronik epilepsinin gelişmesine katkıda bulunmaktadır. Kronik epilepsi hipokampusda nörojenezi azaltarak, hafıza, öğrenme bozukluklarına ve depresyon gibi psikolojik bozukluklara neden olmaktadır. Nörotrofik faktörler, antidepresan tedavi, fizyolojik egzersiz, zenginleştirilmiş çevreye maruz bırakma, nöral kök hücre grefti ve glial progenitör hücreler akut nöbetten sonraki sessiz periyod döneminde kronik epilepsinin gelişmesine karşı yararlı olabilmektedir. Yine antiepileptik ilaçlarda bu dönemde yararlı olabilmektedir (Şekil 2.6.) (1).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. DENEY HAYVANLARI

Sunulan çalışmada ağırlıkları 100-150gr arasında değişen 5 haftalık 62 adet Wistar erkek sıçan kullanıldı. Bütün sıçanlar Erciyes Üniversitesi Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkez’inde üretildi. Sıçanlar 12 saat aydınlık karanlık siklusunda, alabildikleri kadar yem ve su ile beslendiler. Tüm deneyler sıçanların sirkadiyen ritim değişikliklerinden etkilememeleri için saat 09:00’da başlatıldı. Deneyler Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu’dan 09.01.2008 tarih ve 09/13 sayılı onay alındıktan sonra gerçekleştirildi.

Çalışmamızda 30 günlük Wistar sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar kontrol ve epilepsi grubu olarak iki gruba ayrıldı. Kontrol grubu; kontrol normal kafes (KN, n=10), kontrol zenginleştirilmiş kafes (KZ, n=16), epilepsi grubu; epilepsi normal kafes (EN, n=20) epilepsi zenginleştirilmiş kafes (EZ, n=16) grubu olarak oluşturuldu (Tablo 3.1.).

Tablo 3.1. Deney grupları

Çalışma grupları		n= hayvan sayıları
Kontrol	Standart kafes (kontrol normal)	10
	Zenginleştirilmiş kafes (kontrol zengin)	16
Epilepsi	Standart kafes (epilepsi normal)	20
	Zenginleştirilmiş kafes (epilepsi zengin)	16

3.2. ÇALIŞMA YÖNTEMİ

30 günlük erkek Wistar sıçanlara 36 gün boyunca gün aşırı 18 kez SF ya da PTZ enjeksiyonu yapıldı. Enjeksiyon dönemi ve bütün çalışma takvimi süresince hayvanlar standart kafeste ya da zenginleştirilmiş kafeste barındırıldı. Enjeksiyonun tamamlanmasından 72 saat sonra (24), sıçanlara sırasıyla morris yüzme testi, açık alan ve delikli tahta testleri uygulandı. Davranış testlerinin bitiminden sonra her gün iki sıçandan USP kaydı alındı (Şekil 3.1.).



Şekil 3.1. Deney hayvanlarının standart kafes ya da zenginleştirilmiş ortamda kalma sürelerini, epilepsi oluşturma sürecini, davranış testlerinin yapılmasını ve USP kayıtlarının alınma zamanlarını gösteren çalışma takvimi.

3.3. EPİLEPSİ OLUŞTURULMASI

PTZ ile tutuşma modeli epilepsi oluşturmak için PTZ 35mg/kg/i.p., 36 gün boyunca 18 gün aşırı enjeksiyon olacak şekilde verildi. Her enjeksiyon öncesinde bütün hayvanlar tartıldı, ağırlıklarına göre PTZ dozu hesaplandı. Kontrol gruplarına %0,9 serum fizyolojik/i.p yolla verildi. PTZ enjeksiyonu sonrasında hayvanlar cam 50x40x40 büyüklüğündeki üstü açık diktörtgen bir cam fanus içerisine (Şekil 3.2.) konuldu ve 30 dk'lık gözlem süresince nöbet skorlaması aşağıdaki gibi yapıldı (24).

Evre 0: yanıt yok

Evre 1: kulaklar ve yüzde seyirmeler

Evre 2: vücuda yayılan konvülsif dalga

Evre 3: myoklonik jerkler ya da arka ayaklar üzerinde şaha kalkma

Evre 4: hayvanın olduğu yere düşmesi ile birlikte klonik nöbetler

Evre 5: tekrarlayan şiddetli tonik-klonik ya da ölümcül nöbetler

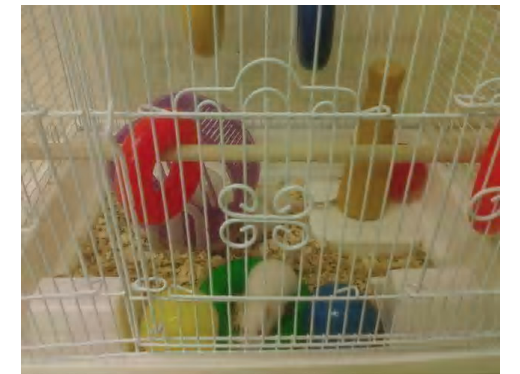
Gün aşırı yapılan 18 enjeksiyonun ardından gözlenen epilepsi nöbetlerinde en az üç kez üst üste safha 4 ya da safha 5 gözlenen hayvanlar tutuşmuş kabul edildi, tutuşmayan hayvanlar deney gruplarından çıkartıldı.



Şekil 3.2. Epileptik aktivitenin gözleendiği cam fanus

3.4. ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ ÇEVRE

Zenginleştirilmiş çevre duyuşal, bilişsel ve motor uyarıların artırıldığı barınma şartları olarak ifade edilir ve genellikle geniş kafes, koşu tekerleği, farklı biçim ve renklerde objelerle oluşturulur (55). Çalışmamızda zenginleştirilmiş çevre kafesleri 50x40x80 büyüklüğündeki kuş kafeslerinin düzenlenmesi ile oluşturuldu. Kafes içerisine toplar, renkli halkalar, çember, merdiven, yerleştirildi (Şekil 3.3). Her hafta kafese yeni bir oyuncak eklenerek ortam zenginleştirildi. Deney hayvanları zenginleştirilmiş kafeste 7 ± 2 hafta kaldılar.



Şekil 3.3. Zenginleştirilmiş çevrede deney hayvanları.

3.5. DAVRANIŞ TESTLERİ

3.5.1. Morris Yüzme Testi

Morris su tankı özellikle sıçan, fare gibi kemirgenlerde yer bulma öğrenmesini (spasyal öğrenmeyi) değerlendirmek için tercih edilen bir düzendir (Şekil 3.4.).



Şekil 3.4. Morris su tankı.

Morris su tankı 100 cm çapında, 32 cm derinliğindedir. Deneyimizde tankın yüksekliğinin 30 cm' sine kadar süt tozu ile opaklaştırılmış (24-28°C) su ile dolduruldu. Tank merkezden geçen 2 şeffaf renkte bantla dört çeyrek kadrana bölündü. Çapı 10-15cm olan kaçma platformu, tankın kuzey kadrana, tank duvarına 10-15 cm uzakta, su yüzeyinin 2cm altında olacak şekilde yerleştirildi.

Morris yüzme testinde odanın içinde çeşitli yerlere yerleştirilen ipuçları deney tamamlanıncaya kadar değiştirilmeden bırakıldı ve deney 4 gün deneme, 5.gün öğrenme fazı olacak şekilde yapıldı. Her gün içi deneme 20 dk arayla 4 kez tekrarlandı. Her denemede sıçan dört ayrı köşeden rastgele yüzü tank duvarına bakacak şekilde. Her bir denemede sıçanın platformu bulması için maksimum için 60 sn süre verildi. İlk denemede 60 sn içerisinde platformu bulamayan sıçan, elle alınarak platforma konuldu ve 20 sn çevreyi gözlemesi sağlandı. Platformu bulan sıçanında 20 sn platformda kalması sağlandı. Sıçanların yüzme performansları sırasında platformu bulmak için geçirdiği süre, geçtiği kadrana sayısı ve platformun bulunduğu yarı alanda geçirdiği süre kaydedildi. Son gün öğrenme fazında platform kaldırıldı ve hayvanın yarı alanda geçirdiği süre ve geçtiği kadrana sayısı kaydedildi. (62).

3.5.2. Açık Alan

Açık alan testi yeni çevreye karşı oluşan davranışı ve motor yeteneği ölçmektedir (47). Açık alanın zemini 50×50 cm'dir. Zemin siyah çizgilerle 16 küçük kareye bölünmüştür. Alanın kenarında 30 cm plastik kenarlık bulunmaktadır. Deney hayvanı alanın merkezine bırakılır. 5 dakikalık test süresince sıçanın geçtiği çizgi sayısı, merkezde geçirdiği süre, doğrulma, kaşınma ve defekasyon sayısı not edildi, aynı zamanda videoya alındı Her bir deneme sonrasında alan %70'lik alkol ile temizlendi (45).

3.5.3. Delikli Tahta

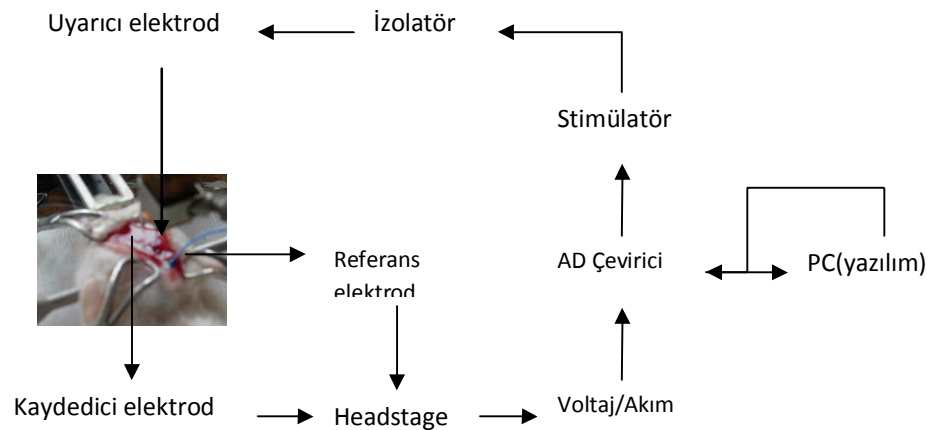
Delikli tahta düzeneğinin 40×40 cm'lik alanı 2.2 cm kalınlığında gri panelden yapılmıştır. Panelin üzerinde 3cm yarıçapında 16 adet delik vardır. Panel 10×10 cm boyutlarında 9 adet kareye bölünmüştür. Bu panel 15 cm yükseklikteki bir masanın üzerine yerleştirildi. Her bir hayvan tek başına panelin ortasına yüzü araştırmacıdan uzakta olarak konuldu 5dk'lık alışkanlık döneminden sonra, 5dk boyunca baş sokma davranışları kaydedildi. Her bir deneme sonrasında alan %70'lik alkol ile temizlendi (45).

3.6. ELEKTROFİZYOLOJİK KAYIT ALINMASI

Deney hayvanı, üretan (1.5gr/kg, i.p) anestezisi ile uyutulduktan sonra stereotaksik alete (Kopf Instruments, Tjunga, CA, ABD) yerleştirildi. Kulak çubukları ve ağız sabitleyicisi kullanılarak hayvanın başı cihaza sabitlendikten sonra, saçlı derisi traşlandı, deri ve deri altı dokular orta hattan insizyon ile açıldı. Kafatası kemiğine ulaşıldı ve sağ hemisferin üstündeki kemik doku matkap yardımı ile kaldırıldı. Beyin üzerindeki dura temizlendikten sonra uyarıcı ve kaydedici elektrodlar, stereotaksik elektrod holder'ına yerleştirildi. Uyarıcı elektrod olarak bir uyarı izolasyon ünitesine bağlı bipolar tungsten elektrodlar kullanıldı. Uyarı elektrodu stimulatöre (SEN 3201 Electronic Stimulator, Nihon Kohden, Tokyo, Japonya) bağlı olarak izolatörün (SS-201J Isolator, Nihon Kohden, Tokyo, Japonya) çıkışına bağlandı. Kaydedici elektrod olarak ise mikropipet çekicide çekilen ve içi 3M NaCl (uç direnci: 2-10 MΩ) ile doldurulan cam mikropipetler (Borosilicate, o.d.:1,5 mm, 10 cm uzunluk, World Precision Instruments) kullanıldı. Uyarıcı elektrot AP:-6,5 mm / ML 3,8 mm (bregmadan) ve derinlik: 2 mm olan koordinatlara girilerek perforan yol ve kaydedici elektrod AP: -3,0 / ML: 2,3 (bregmadan) mm koordinatları olan dentat girus bölgesine yerleştirildi. Kaydedici elektrod, en büyük yanıtın elde edildiği derinliğe kadar indirildi. Bunun için 0,1 mm'lik

adımlarla inildi geniş bir fEPSP ve üst üste negatif seyirli populasyon spike (PS) elde edilinceye kadar uyarılmaya devam edildi. En son derinlikte tipik cevap kaydedildikten sonra perforan yol uyarımına verilen cevaptaki PS amplitüdünün (genliğinin) maksimum olması için uyarı elektrodunun uyumu sağlandı. Aktif ve referans elektrotlar bir head-stage kullanılarak amplifiyere (VCC600 tek kanatlı epitelyal voltage/current clamp sistemi, Physiological Instruments, Harvard Apparatus, Holliston, MA, ABD) bağlandı. Bir AgCl disk elektrot, referans elektrot olarak boyun derisinin altına yerleştirildi. Bütün sistem bir Faraday kafesi kullanılarak korundu.

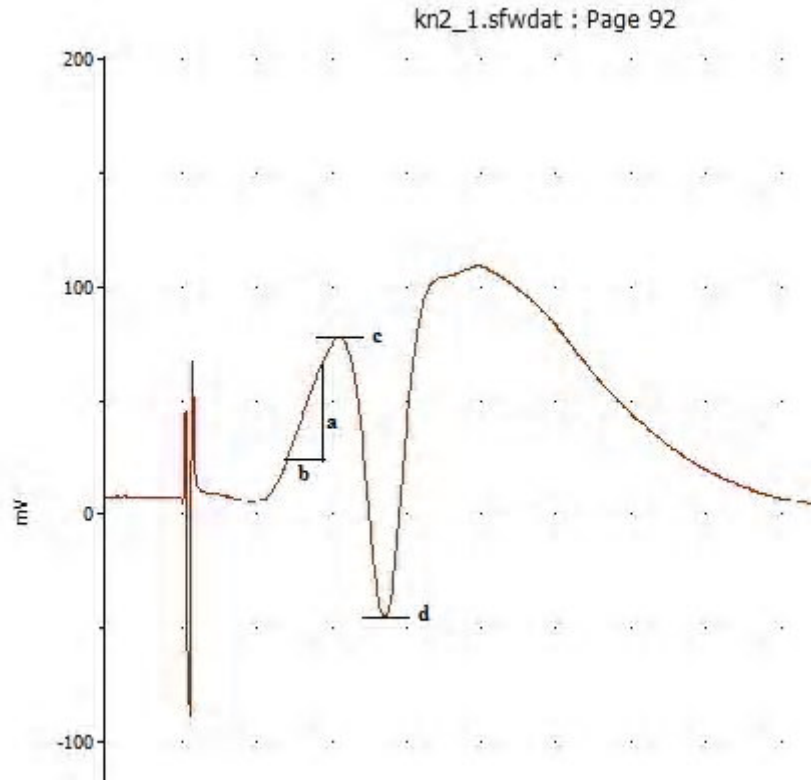
Uyarı ve kaydın kontrolü için "Scope" programı (ADInstruments, Colorado Springs, CO, ABD) kullanıldı. Monofazik 10V ve 0.175 ms'lik uyarılar bir bilgisayarın A/D boardı (Powerlab/8SP, ADInstruments, Colorado Springs, CO, ABD) tarafından üretildi ve izolotöre bağlantılı bir stimülatörü tetikledi. Biyolojik sinyaller 0.1-10 kHz bant genişliğinde bir pre-amplifiyerde yükseltildi (1000x). Dalga biçimi 20 ms'de 40 kHz oranında on-line olarak sayısallaştırıldı, bilgisayar monitöründe gösterildi ve offline analiz için "Scope" kullanılarak saklandı. Deney sistemi akış şeması Şekil 3.5.'de ve elektrotların yerleştirilmesi sonrasında yapılan bir örnek deneyi gösteren fotoğraf Şekil 3.6'da, EPSP eğimi ve populasyon spike (PS) amplitüdünü gösteren örnek kayıt Şekil 3.7'de verilmiştir.



Şekil 3.5. Elektrofizyolojik kayıtların alındığı deney sisteminin şematik görünümü.



Şekil 3.6. Elektrofizyolojik kayıt sırasında deney hayvanını ve elektrotların yerleşimini gösteren bir örnek.



Şekil 3.7. Üstte; EPSP yanıt eğimi: a/b; PS genliği: c-d. Aşağıda; kontrol deney hayvanından 92. Uyarıya yanıt olarak alınan örnek bir USP kaydı.

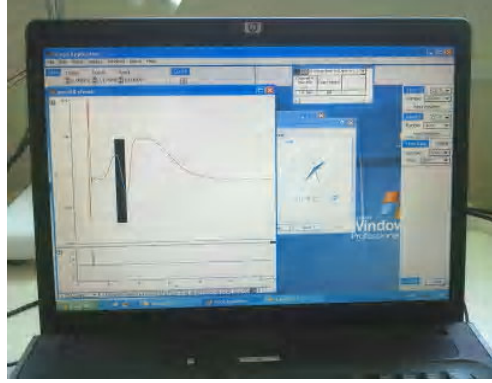
3.6.1. Input-Output (I/O) Eğrisi

Elektrot yerleştirildikten 15 dk sonra, bir input- output (I/O) eğrisi elde etmek için her 20 sn'de bir 175 ms devam eden uyarı ve monofazik elektrik akımları verildi. Uyarı akımı 0,1-1,5 mA aralığında uygulandı. Her akım değeri için üç uyarılmış cevabın ortalaması alındı. Uyarı şiddeti ve (fEPSP alan eksitator postsinaptik potansiyel) eğimi

veya amplitüdü arasındaki ilişki sigmoidal bir eğri ile tanımlandı. Bu eğriden maksimal yanıtın yarısını oluşturan uyarı şiddeti (test uyarı şiddeti) belirlendi. Deney hayvanları için belirlenen test uyarı şiddeti 0,15 ile 0,6 mA arasındaydı. Maksimum cevabın yarısını oluşturan uyarı şiddeti test uyarı şiddeti olarak, USP kaydı boyunca kullanıldı.

3.6.2. Uzun Süreli Potansiyalizasyon

EPSP'lerin 10 dk'lık bazal kaydından sonra USP oluşturmak için 5 dk arayla 10, 15, 20, 25. dakikalarda dört tetanik (100 Hz) uyarı verildi. Son tetanik uyarıyı takiben test uyarısı 30 sn'de bir olacak şekilde 210 dk'ya (420. uyarıya) kadar uygulandı. Örnek bir bilgisayar kaydı trasesi Şekil 3.8.'de gösterilmiştir.



Şekil 3.8. Bilgisayar ekranında USP kaydı görünümü. (PS genliğinin hesaplandığı alan koyu renk)

3. 7. VERİ ANALİZİ VE İSTATİSTİKLER

Hayvanların ağırlıkları Student T testi, epileptik grupların nöbet latansı ve süresi, enjeksiyon günlerine göre nöbet sayıları tekrarlayan ölçümler testi ile, davranış testlerinden delikli tahta, açık alan testleri Tek Yönlü ANOVA ve Posthoc Scheffe testleri ile, morris su tankı tankında ki 4 günlük deneme fazları tekrarlayan ölçümler (Repeated Measure) testi ile, öğrenme fazı ise ANOVA ve Posthoc Scheffe testleri ile değerlendirildi.

USP bulguları; bazal periyod (YFU verilmeden önceki ilk 10 dk'lık kayıt) süresince EPSP eğimlerin ve PS genliklerin ortalama değeri her sıçan için %100 olarak değerlendirildi. Bundan sonraki her EPSP eğimi ve PS genliği hesaplanan bu değer yüzdesi olarak ifade edildi. Sonraki veriler bazal süreye göre yüzde değişim olarak ifade edildi. fEPSP'nin eğimi, PS'nin başlangıcındaki fEPSP ve dalga biçiminin başlangıcı

arasındaki voltaj farkının %20-80'indeki amplitüd değişimi olarak hesaplandı. PS amplitüdü, pozitif pikten negatif pike doğru ölçüldü. Bazal dönem (1-10.dk), ilk YFU sonrası dönem (15.dk), son YFU sonrası dönem (30.dk), erken dönem USP (30-90.dk arası), geç dönem USP (90- 210.dk arası) olarak beş zaman penceresine ayrıldı ve sonuçlar ANOVA ile karşılaştırıldı. Eğim ve amplitüd verilerini gruplar arasında karşılaştırmak için Scheffe testi kullanıldı.

Grafik ve metin içerisinde deney gruplarına ait değerler ortalama±standart hata (S.H) olarak ifade edildi. Testlerden elde edilen sonuçlara göre p değeri 0,05'in altında olan farklılıklar anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. DENEY HAYVANLARI

Çalışmaya alınan 66 hayvanın yaş ve ağırlıkları karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$).

Deney başlangıcında standart kafes (n=10) ve zenginleştirilmiş kafes (n=16) olmak üzere toplam 26 hayvandan, epilepsi grubu, standart (n=20) ve zenginleştirilmiş kafes (n=16) olmak üzere toplam 36 hayvandan oluşturulmuştur.

Kontrol gruplarında, 18 gün aşırı serum fizyolojik enjeksiyonu sürecinde hayvan kaybı olmadı. USP kaydı sırasında ise standart kafesteki 10 hayvandan 1'i, zenginleştirilmiş kafesteki 16 hayvandan 6'sı kayıt alınamadan öldü. Epilepsi gruplarında ise standart kafes grubunda 18 gün aşırı enjeksiyon süresince hayvan kaybı olmadı. Gruba ait 20 hayvandan 16'sı 18 gün aşırı enjeksiyon tamamlandığında tutuşmuş (en az üç gün aşırı enjeksiyonda üst üste safha 4 ya da 5 nöbeti geçiren hayvan) kabul edildi, tutuşmayan 4 hayvan ise epilepsi normal kafes grubundan çıkartıldı. Epilepsi zenginleştirilmiş kafes grubunda 3 hayvan PTZ enjeksiyonu sonrasında nöbetten çıkamayıp öldü, 18 gün aşırı enjeksiyon tamamlandığında 10 hayvan tutuşmuş kabul edildi, 3 hayvan tutuşmadığı için çalışmadan çıkartıldı. USP kaydı sırasında ise epilepsi standart kafes grubunda 6, epilepsi zenginleştirilmiş kafes grubunda 2 hayvan kayıt alınamadan öldü. Deney süresince oluşan hayvan kayıpları Tablo 4.1'de özetlenmiştir.

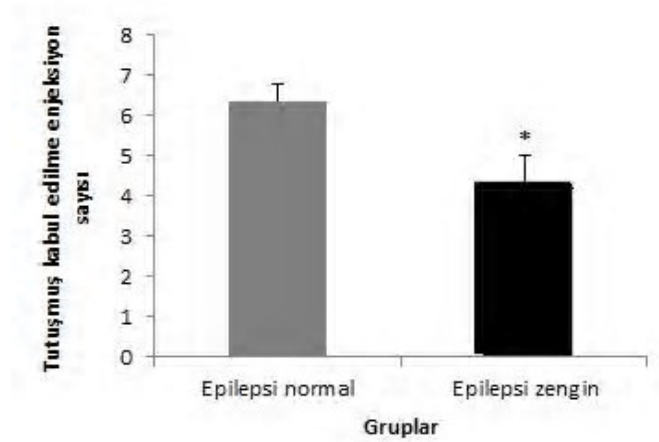
Tablo. 4.1. Deney süresince hayvan kayıpları

Gruplar	Deney başlangıcında	SF ya da PTZ enjeksiyonu süresince	Tutuşmayan hayvan sayıları	USP kaydı sırasında	Deney sonunda
Kontrol normal	10	-	-	1	9
Kontrol zengin	16	-	-	6	10
Epilepsi normal	20	-	4	6	10
Epilepsi zengin	16	3	3	2	8

4.2. EPİLEPTİK AKTİVİTENİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Epileptik grupta, normal ve zenginleştirilmiş kafes grupları, tutuşmuş kabul edildikleri enjeksiyon sayısı, nöbet sayıları, süreleri ve latansları bakımından karşılaştırıldı.

Tutuşmuş kabul edilme enjeksiyon sayısı açısından bakıldığında epilepsi zengin grubunun epilepsi normal grubuna göre daha erken tutuştuğu ($p=0,04$) bulundu (Şekil 4.1.)



Şekil 4.1. Epilepsi gruplarının 18 gün aşırı enjeksiyon yapımı sırasında safha 4 veya 5 nöbetlerini üst üste 3 kez geçirdiklerinde (tutuşmuş kabul edilme kriteri) tutuştuğu ilk enjeksiyon sayısı.

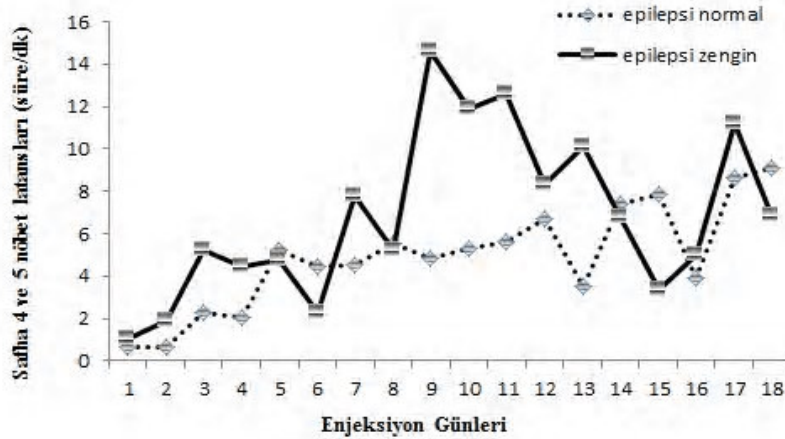
4.2.1. Safha 1, 2, 3 Nöbetlerinin Değerlendirilmesi

Safha 1 ve 2 nöbetlerinin karşılaştırılmasında yukarıda belirtilen parametreler açısından, gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$). Safha 3 nöbetlerinin latansları, enjeksiyon günlerine göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak hem grup içi hem de gruplar arası anlamlı fark bulundu ($p<0,05$). Epilepsi zengin grubunun 1.2.3.4.ve 13. enjeksiyon günlerindeki nöbet latansı, epilepsi normal grubuna göre anlamlı şekilde

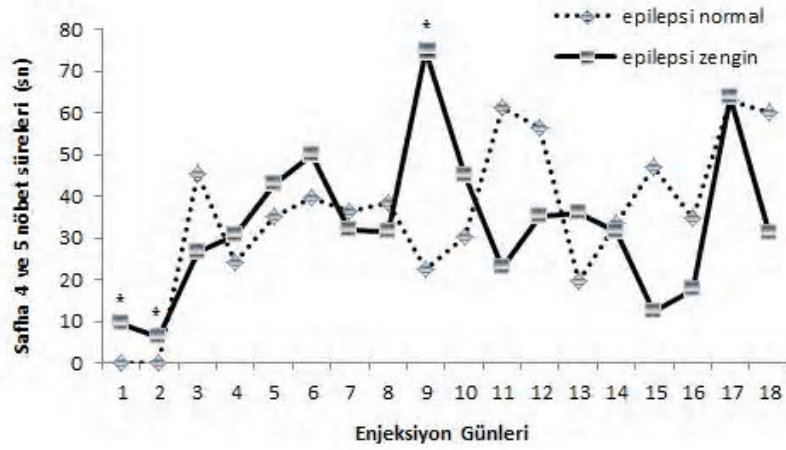
daha uzundu (sırasıyla $p=0,000$, $p=0,000$, $p=0,009$, $p=0,042$, $p=0,017$). Diğer enjeksiyon günlerinde ise iki grup arasında safha 3 nöbetlerinin latansları açısından anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$). Safha 3 nöbet sayıları karşılaştırıldığında, 1, 2, 3, 4 ve 5. enjeksiyon günlerinde epilepsi zengin grubunun geçirdiği nöbet sayısı epilepsi normal grubuna göre anlamlı şekilde daha fazlaydı (sırasıyla; $p=0,001$, $p=0,000$, $p=0,003$, $p=0,003$, $p=0,022$). 9 ve 13. enjeksiyon günlerinde ise epilepsi normal grubunun epilepsi zengin grubuna göre geçirdiği nöbet sayısı daha yüksek (sırasıyla $=0,031$, $p=0,44$) bulundu. Diğer enjeksiyon günlerinde ise iki grup arasında safha 3 nöbet sayısı açısından anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$).

4.2.2. Safha 4 ve 5 Nöbetlerinin Değerlendirilmesi

Toplamda geçirdikleri safha 4 ve 5 nöbet sayılarının karşılaştırılmasında 9. ve 11. enjeksiyon günlerinde epilepsi zengin grubunun geçirdiği nöbet sayısı epilepsi normal grubuna göre anlamlı ölçüde yüksek bulundu (sırasıyla; $p=0,05$, $p=0,05$). Safha 4 ve 5 nöbetlerinin latanslarını karşılaştırdığımız zaman istatistiksel açıdan grup içi anlamlı fark ($p=0,004$) bulundu, gruplar arası ise anlamlı fark bulunamadı ($p>0,05$), (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Safha 4 ve 5 nöbet latansları.



Şekil 4.3. Safha 4 ve 5 nöbet süreleri. *Epilepsi zengin epilepsi normal grubuna göre daha uzun.

Safha 4 ve 5 nöbetlerinin sürelerini, enjeksiyon günlerine göre karşılaştırdığımız zaman grup içi istatistiksel olarak anlamlı farklı ($p < 0,005$), gruplar arası ise sadece 1. 2. ve 9. enjeksiyon günlerinde epilepsi zengin grubunun nöbet süresi epilepsi normal grubuna göre anlamlı uzundu (sırasıyla; $p = 0,011$, $p = 0,004$, $p = 0,005$), (Şekil 4.3). Safha 4 ve 5 nöbetlerinin epilepsi normal ve epilepsi zengin gruplarındaki ortalama değerleri, F ve standart hata değerleri Tablo 4.2’de verilmiştir.

Tablo 4.2. Safha 4 ve 5 nöbet latansı ve sürelerinin ortalaması± standart hata, F ve p değerleri.

PTZ enjeksiyon günleri	Safha 4 ve 5 Nöbet Latansı				Safha 4 ve 5 Nöbet Süresi			
	Epilepsi normal	Epilepsi zengin	F	p	Epilepsi normal	Epilepsi zengin	F	p
1.gün	0,68±0,68	1,02±0,70	0,10	0,755	0,06±0,06	9,44±4,60	7,66	0,011*
2.gün	0,62±0,43	1,91±1,38	1,22	0,281	0,00±0,00	6,11±2,61	10,12	0,004*
3.gün	2,27±0,80	5,24±1,60	3,47	0,075	45,35±18,09	26,48±7,33	0,57	0,457
4.gün	2,08±0,64	4,42±2,53	1,29	0,267	24,22±8,93	30,56±11,38	0,19	0,670
5.gün	5,19±1,70	4,76±1,79	0,03	0,871	35,31±8,71	43,11±20,00	0,17	0,683
6.gün	4,46±1,07	1,07±1,00	1,81	0,191	39,69±7,94	50,00±34,20	0,14	0,710
7.gün	4,49±1,07	7,78±3,19	1,42	1,42	36,56±6,17	31,88±10,60	0,17	0,687
8.gün	5,52±1,13	5,22±1,60	0,02	0,880	38,50±6,13	31,67±8,58	0,43	0,518
9.gün	4,81±1,50	14,57±8,54	2,18	0,153	22,56±6,23	75,00±19,56	9,88	0,005*
10.gün	5,31±1,11	11,89±7,04	1,48	0,236	30,38±5,81	45,00±23,51	5,59	0,45
11.gün	5,63±2,92	12,59±7,89	0,98	0,331	61,25±46,26	22,74±8,78	0,38	0,544
12.gün	6,69±1,76	8,33±3,67	0,21	0,652	56,25±13,66	35,35±12,98	1,01	0,324
13.gün	3,50±1,51	10,11±7,12	1,38	0,252	19,69±8,97	36,11±25,19	0,55	0,466
14.gün	7,38±2,28	6,78±2,90	0,03	0,874	33,44±9,55	31,67±10,99	0,01	0,908
15.gün	7,88±2,26	3,33±1,95	1,82	0,190	47,19±20,64	12,22±8,25	1,51	0,231
16.gün	3,94±1,51	5,00±3,32	0,11	0,741	34,75±19,65	17,78±13,52	0,36	0,554
17.gün	8,63±2,08	11,22±3,24	0,50	0,487	62,81±28,54	63,60±20,76	0,00	0,985
18.gün	9,06±1,27	6,89±3,19	0,56	0,462	166,56±94,08	31,00±14,48	1,14	0,297

*Epilepsi zengin grubu epilepsi normal grubuna göre daha uzun (p<0,05).

4.3. DAVRANIŞ TESTLERİNİN SONUÇLARI

Davranış testlerine son PTZ ya da SF enjeksiyonundan 72 saat sonra başlandı. Morris yüzme testi 4 gün deneme, 5. gün öğrenme fazı olacak şekilde yapıldı. Öğrenme fazından bir gün sonra açık alan testi, bir gün sonrasında da delikli tahta testi yapıldı.

4.3.1. Morris Yüzme Testi

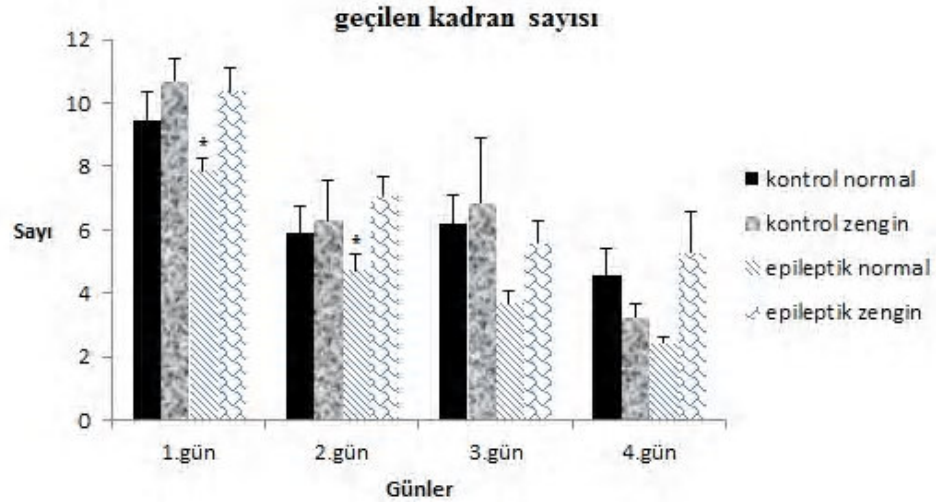
Tablo 4.3’de grupların denem fazında platformu bulma süreleri, geçilen kadran sayısı, platformlu yarı alanda geçirilen süre ve öğrenme fazında geçirilen kadran sayılarının ve platformun kaldırıldığı yarı alanda geçirilen sürelerin ortalaması± standart hata değerleri sunulmuştur.

Tablo 4.3. Morris yüzme testinde, deneme ve öğrenme fazında ölçülen parametreler (ortalama± standart hata, F ve p değerleri).

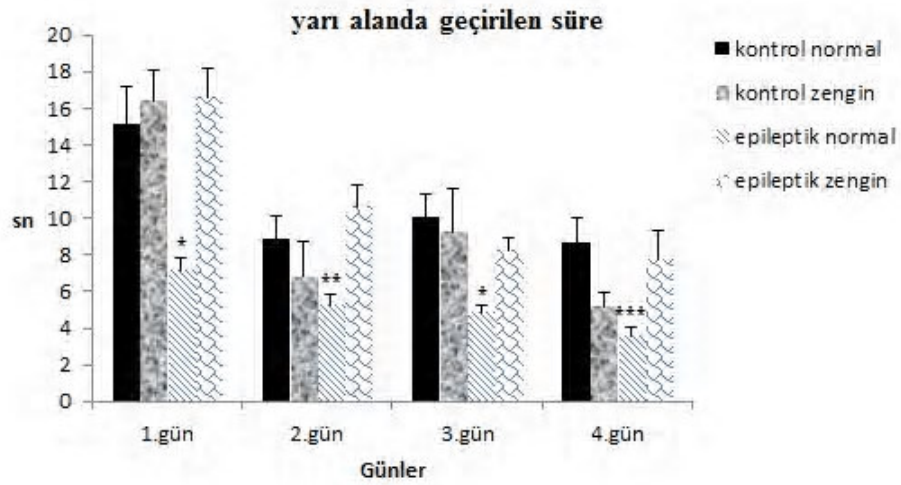
Deneme Fazı		Kontrol normal	Kontrol zengin	Epileptik normal	Epileptik zengin	F	p
Bulma süresi	1.gün	37,66±2,63	39,93±3,00	35,75±2,00	38,58±2,97	0,42	0,739
	2.gün	23,72±3,24	19,50±6,26	19,48±2,16	23,43±2,76	0,6	0,615
	3.gün	20,11±4,70	23,12±9,48	16,26±1,76	16,52±1,66	0,75	0,526
	4.gün	19,28±5,61	10,25±1,81	9,28±0,96	15,35±3,69	2,19	0,103
Geçtiği kadran sayısı	1.gün	9,46±0,89	10,70±0,69	7,85±0,41*	10,36±0,72	4,48	0,008
	2.gün	5,90±0,86	6,30±1,26	4,72±0,49*	7,07±0,62	2,79	0,052
	3.gün	6,18±0,88	6,85±2,06	3,67±0,38	5,57±0,71	3,49	0,024
	4.gün	4,59±0,79	3,25±0,43	2,42±0,18	5,26±1,31	2,98	0,042
Yarı alanda geçirilen süre (sn)	1.gün	15,09±2,03	16,42±1,62	7,14±0,66**	16,60±1,56	14,93	0,000
	2.gün	8,86±1,24	6,82±1,89	5,26±0,62***	10,62±1,15	6,52	0,001
	3.gün	10,03±1,32	9,26±2,34	4,84±0,36**	8,25±0,66	8,66	0,000
	4.gün	8,64±1,39	5,16±0,77	3,60±0,49****	7,73±1,58	4,73	0,006
Öğrenme fazı							
Yarı alanda geçirilen süre (sn)		26,59±7,10	31,96±4,60	23,82±1,70*	35,08±1,98	6,12	0,002
Geçilen kadran sayısı		16,12±0,83 ^a	23,40±1,88	17,68±0,80 ^{a a}	20,00±0,97	5,83	0,002

* epilepsi normal epilepsi zengin grubuna göre düşük ** epilepsi normal grubu, kontrol normal, kontrol zengin ve epilepsi zengin grubuna göre anlamlı ölçüde düşük. *** epilepsi normal grubu epilepsi zengin grubuna göre anlamlı ölçüde düşük **** epilepsi normal grubu kontrol normal ve epilepsi zengin grubuna göre anlamlı ölçüde düşük. ^a kontrol normal kontrol zengin grubuna göre düşük, ^{a a} epilepsi normal grubu kontrol zengin grubuna göre düşük.

Morris yüzme testi uygulanan sıçanlarda 4 gün üst üste tekrarlanan denemeler sonunda platformu bulma süreleri açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$). Deneme fazında 1.ve 2.günlerdeki geçirilen kadran sayısı epilepsi normal grubunda epilepsi zengin grubuna göre anlamlı düşük (sırasıyla; $p=0,008$, $p=0,052$) bulundu. 3. ve 4. gün de ise gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$) (Şekil 4.4.).



Şekil 4.4. Deneme fazında geçilen kadrın sayısı. * epilepsi normal epilepsi zengin grubuna göre düşük.



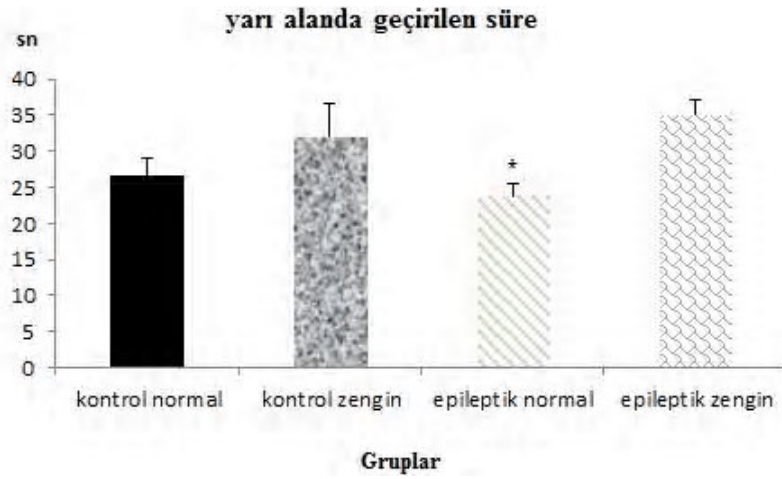
Şekil 4.5. Deneme fazında yarı alanda geçirilen süre;

* epilepsi normal grubu, kontrol normal, kontrol zengin ve epilepsi zengin grubuna göre anlamlı ölçüde düşük,

** epilepsi normal grubu, epilepsi zengin grubuna göre anlamlı ölçüde düşük,

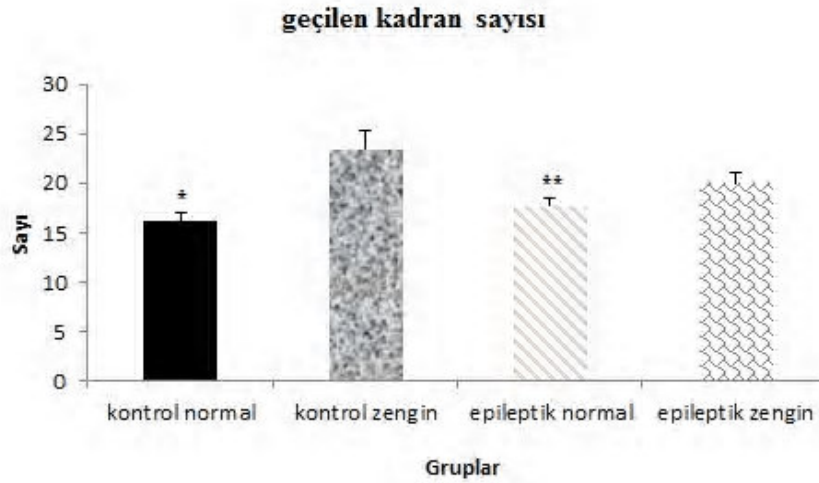
*** epilepsi normal grubu, kontrol normal ve epilepsi zengin grubuna göre anlamlı ölçüde düşük.

Yarı alanda geçirilen süre 1. ve 3. günde epilepsi normal grubu, kontrol normal, kontrol zengin ve epilepsi zengin grubuna göre anlamlı ölçüde düşük (sırasıyla; $p=0,000$, $p=0,000$) bulundu. 2. günde epilepsi normal grubu epilepsi zengin grubuna göre anlamlı ölçüde düşük ($p=0,001$), 4. günde epilepsi normal grubu kontrol normal ve epilepsi zengin grubuna göre anlamlı ölçüde düşük ($p=0,006$) bulundu (Şekil 4.5.).



Şekil 4.6. Öğrenme fazında platformun bulunduğu yarı alanda geçirilen süre;
*epilepsi normal grubu epilepsi zengin grubuna göre düşük.

Öğrenme fazında; platformun kaldırıldığı yarı alanda geçirilen süre sadece epilepsi normal grubunda epilepsi zengin grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı ölçüde ($p=0,003$) düşük bulundu (Şekil 4.6.). Geçilen kadrans sayısı, kontrol normal grubunda ($p=0,007$) ve epilepsi normal grubunda ($p=0,019$), kontrol zengin grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu (Şekil 4.7)



Şekil 4.7. Öğrenme fazında geçilen kadrans sayısı;
* kontrol normal grubu kontrol zengin grubuna göre düşük,
** epilepsi normal grubu kontrol zengin grubuna göre düşük.

4.3.2. Açık Alan Testi

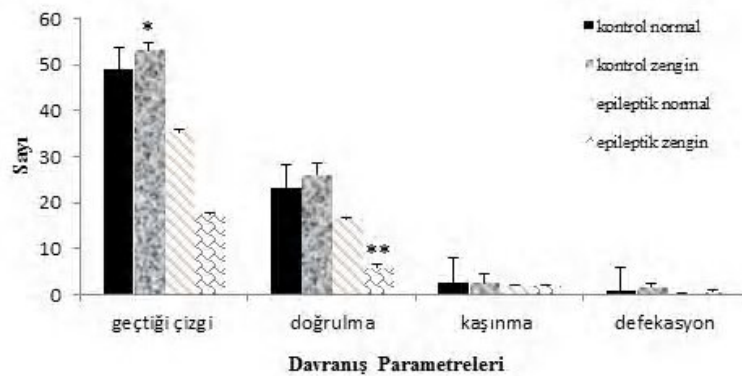
Açık alan ve delikli tahta testlerinin ortalama±standart hata, F ve p değerleri Tablo 4.4'de verilmiştir.

Tablo 4.4. Delikli tahta ve açık alan testi ortalama±standart hata, F ve p değerleri.

Gruplar	Delikli tahta	Çizgi sayısı	Doğrulma sayısı	Merkezde geçirilen süre (sn)	Kaşınma sayısı	Defekasyon sayısı
Kontrol normal	24,40±1,09*	49,00±4,66	23,40±1,72	7,11±1,17	2,70±0,42	0,80±0,32
Kontrol zengin	14,60±1,47**	53,20±4,84	26,10±2,46	9,28±2,14	2,50±0,34	1,60±0,65
Epileptik normal	10,00±1,54	35,42±5,44	16,57±2,18	5,64±0,78	2,05±0,22	0,26±0,16
Epileptik zengin	7,07±0,87	17,61±5,19**	6,00±0,96***	5,93±1,33	2,00±0,16	0,69±0,39
F	25,11	7,81	17,41	1,51	1,41	2,28
p	*0,000; **0,011	0,000	0,000	0,223	0,250	0,091

* Kontrol normal grubu, kontrol zengin, epilepsi normal ve epilepsi zengin grubuna göre yüksek, ** kontrol zengin grubu epilepsi zengin grubuna göre yüksek, *** epilepsi zengin grubu, kontrol normal, kontrol zengin epilepsi normal grubuna göre istatistiksel açıdan düşük.

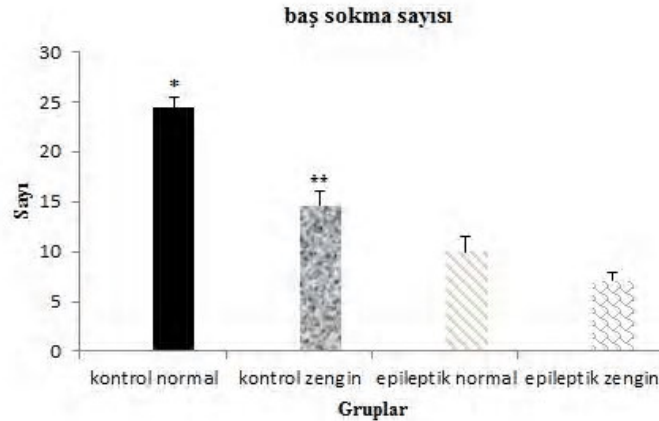
Açık alan testinde geçilen çizgi sayısı, epilepsi zengin grubunda kontrol zengin gruba göre anlamlı ölçüde düşük bulundu ($p=0,01$). Doğrulma sayısında epilepsi zengin grup diğer üç gruba göre daha anlamlı azalma ($p=0,01$) bulundu (Şekil 4.2). Merkez alanda geçirilen süre, kaşınma ve defekasyon sayılarında ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0,05$) (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. Açık alan testinde davranış parametreleri. * kontrol zengin grubu epileptik zengin gruba göre anlamlı ölçüde yüksek, ** epileptik zengin grup, diğer üç gruba göre düşük.

4.3.3. Delikli Tahta Testi

Delikli tahta testinde baş sokma sayıları değerlendirildi. Baş sokma sayısı kontrol normal grupta ile diğer üç gruba göre anlamlı ölçüde yüksekti ($p=0,000$). Kontrol zengin grubun baş sokma sayısı epilepsi zengin grubuna göre anlamlı yüksek ($p=0,011$) bulundu (Şekil 4.1).



Şekil 4.9. Delikli tahta düzeneğinde grupların baş sokma sayısı. *diğer 3 gruptan yüksek.** kontrol zengin grubu epilepsi zengin grubuna göre yüksek.

4.4. ELEKTROFİZYOLOJİK KAYIT BULGULARI

4.4.1. Input/Output Bulguları

Deney gruplarının 0,1 mA-1,5 mA arasında değişen 8 ayrı uyarı şiddetine karşı dentat girus nöronlarından kaydedilen EPSP eğimi ve PS genliklerinin değişimleri Şekil 4.10'da; verilerin istatistiksel değerlendirmesi ise Tablo 4.5 ve 4.6 'da verilmiştir.

Farklı uyarı şiddetlerine karşı oluşan EPSP eğimlerinin karşılaştırılmasında; 0,3 mA, 0,5 mA, 0,7 mA, 0,9 mA, 1,1 mA, 1,3 mA, 1,5 mA uyarı şiddetlerine verilen yanıtta, epilepsi normal grubu kontrol normal grubuna göre anlamlı derecede düşük EPSP eğimine sahipti (sırasıyla; $p=0,038$, $p=0,034$, $p=0,29$, $p=0,021$, $p=0,024$, $p=0,025$, $p=0,038$). Yalnızca 0,9 mA şiddetindeki uyarıya verilen yanıt epilepsi normal grubunda epilepsi zengin grubuna göre anlamlı ölçüde yüksek ($p=0,05$) bulundu. PS genliklerinin değişiminin de ise gruplar arasında 8 uyarı şiddetinin hiçbirinde anlamlı farklılık göstermedikleri bulundu ($p>0,05$).

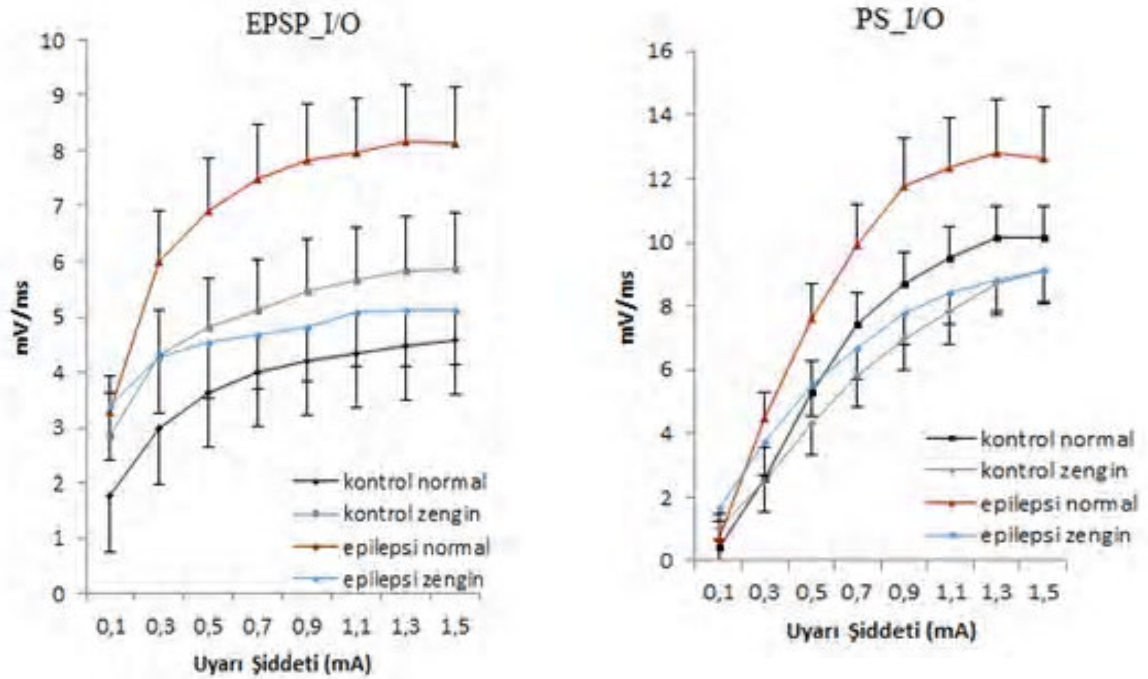
Tablo 4.5. Grupların 0,1 mA-1,5 mA arasında değişen 8 ayrı uyarı şiddetine karşı dentat girus nöronlarından kaydedilen EPSP eğiminin istatistiksel analizi.

	0,1 mA	0,3 mA	0,5 mA	0,7 mA	0,9 mA	0,11 mA	0,13 mA	0,15 mA
Kontrol normal	1,76±0,24	2,98±0,34	3,64±0,38	4,01±0,40	4,22±0,39	4,36±0,43	4,49±0,42	4,60±0,41
Kontrol zengin	2,84±0,79	4,29±0,84	4,80±0,88	5,11±0,94	5,48±0,94	5,66±0,95	5,83±0,98	5,85±1,03
Epilepsi normal	3,29±0,55	6,00±0,75	6,89±0,80	7,47±0,84	7,85±0,84	7,95±0,82	8,16±0,86	8,12±0,85
Epilepsi zengin	3,41±0,70	4,25±0,64	4,55±0,65	4,69±0,65	4,82±0,66	5,09±0,71	5,11±0,71	5,15±0,72
F	1,34	3,29	3,73	4,18	4,63	4,31	4,36	3,94
P	0,273	0,03*	0,019*	0,012*	0,007*,**	0,01*	0,01*	0,015*

Değerler ortalama ± standart hata olarak verilmiştir. *Epilepsi normal grubu kontrol normal grubuna göre yüksek. **Epilepsi normal grubu epilepsi zengin grubuna göre yüksek.

Tablo 4.6. Grupların 0,1 mA-1,5 mA arasında değişen 8 ayrı uyarı şiddetine karşı dentat girus nöronlarından kaydedilen PS genliklerinin istatistiksel analizi. Değerler ortalama ± standart hata olarak verilmiştir.

	0,1 mA	0,3 mA	0,5 mA	0,7 mA	0,9 mA	0,11 mA	0,13 mA	0,15 mA
Kontrol normal	0,45±0,08	2,58±0,74	5,28±1,3	7,4±1,57	8,70±1,62	9,52±1,60	10,14±1,64	10,13±1,6
Kontrol zengin	1,02±0,42	2,53±0,96	4,32±1,31	5,82±1,58	6,96±1,69	7,81±1,75	8,74±1,87	9,08±1,8
Epilepsi normal	0,75±0,11	4,50±1	7,61±1,54	9,91±1,9	11,74±2,02	12,32±2,11	12,80±2,13	12,60±2,02
Epilepsi zengin	1,67±0,49	3,70±0,80	5,54±1,15	6,69±1,37	7,790±1,58	8,43±1,67	8,84±1,74	9,09±1,7
F	2,530	1,123	1,107	1,209	1,486	1,260	1,072	0,872
P	0,071	0,352	0,358	0,319	0,233	0,301	0,372	0,464



Şekil 4.10. Grupların 0,1 mA-1,5 mA arasında değişen 8 ayrı uyarı şiddetine karşı dentat girus nöronlarından kaydedilen EPSP eğim ve PS genliklerinin değişimleri.

4.4.2. Yüksek Frekanslı Uyarı ve Uzun Süreli Potansiyalizasyon Bulguları

İstatistiksel değerlendirmeler için beş zaman penceresi seçilmiş ve ayrıca HFS deney protokolünde alınan yanıtların EPSP eğimi ve PS genlik değerlerinin bazal'e göre yüzdelерinin ortalamaları verilmiştir.

4.4.2.1. Zaman Pencerelerine Göre Analiz

Deney grupları bazal kayıt, 1.HFS sonrası, 4.HFS sonrası, Erken dönem USP ve Geç dönem USP olmak üzere kayıtlar beş zaman penceresinde (Tablo 4.7) kaydedilen ortalama yanıtların istatistiksel değerlendirme sonuçları Tablo 4.8 ve Tablo 4.9'da verilmiştir. Bulgularımız EPSP eğimi ve PS genliğinde görülen güçlenmenin 4. HFS sonrasında epilepsi normal grubunda kontrol zengin grubuna göre anlamlı ölçüde yüksek olduğunu gösterdi (sırasıyla; $p=0,043$, $p=0,041$). Diğer dört zaman penceresinde ise istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0,05$).

Tablo 4.7. Beş farklı zaman penceresi

Dönem	Bazal Kayıt	HFS1 sonu	HFS4 sonu	Erken dönem USP	Geç dönem USP
Zaman	10dk	15.dk	30.dk	90.dk	210.dk

Tablo 4.8. Eksitator postsinaptik potansiyel eğiminin beş farklı zaman penceresinde kaydedilen alan potansiyellerinin deney gruplarındaki ortalama değerleri.

Gruplar	Bazal kayıt	1.HFS sonrası	4. HFS sonrası	Erken dönem USP	Geç dönem USP
Kontrol normal	96,0±2,9	117,9±8,4	120,5±7,1	112,2±7,4	97,8±13,6
Kontrol zengin	100,1±1,5	114,9±10,4	104,6±10,2	105,2±6,8	97,1±9,8
Epilepsi normal	99,6±0,4	134,2±3,6	137,8±2,8	112,6±6,6	80,3±18,5
Epilepsi zengin	92,8±3,1	118,8±12,4	122,3±10,7	88,0±15,5	85,8±20,2
F	2,664	0,990	3,045	1,392	0,296
P	0,065	0,410	0,043*	0,263	0,827

Değerler ortalama ± standart hata olarak verilmiştir. *Epilepsi normal grubu kontrol zengin grubuna göre anlamlı farklı.

Tablo 4.9. Populasyon spike genliğinin beş farklı zaman penceresinde kaydedilen alan potansiyellerinin deney gruplarındaki ortalama değerleri.

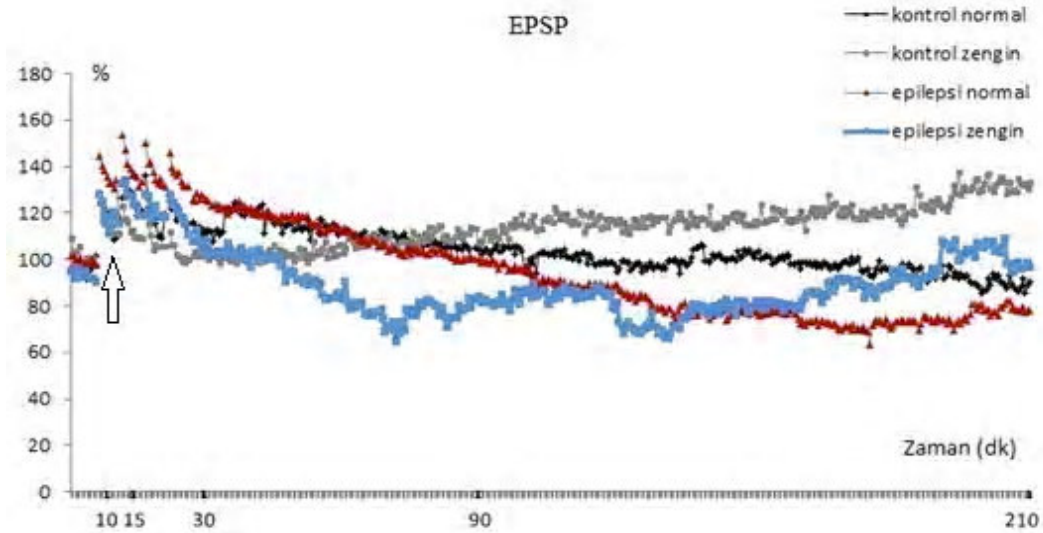
Gruplar	Bazal kayıt	1.HFS sonrası	4. HFS sonrası	Erken dönem USP	Geç dönem USP
Kontrol normal	101,6±4,2	178,3±21,8	178,2±22,5	162,8±17,2	123,7±15,45
Kontrol zengin	100,9±1,0	143,8±16,3	142,7±23,3	130,0±21,3	128,0±26,85
Epilepsi normal	103,7±2,5	257,6±56,3	277,7±48,9	227,2±51,5	167,0±48,37
Epilepsi zengin	96,4±3,3	170,2±23,4	178,8±29,3	139,5±27,4	116,6±30,05
F	1,23	2,03	3,08	1,73	0,43
P	0,314	0,129	0,041*	0,180	0,72

Değerler ortalama ± standart hata olarak verilmiştir. *Epilepsi normal grubu kontrol zengin grubuna göre anlamlı farklı.

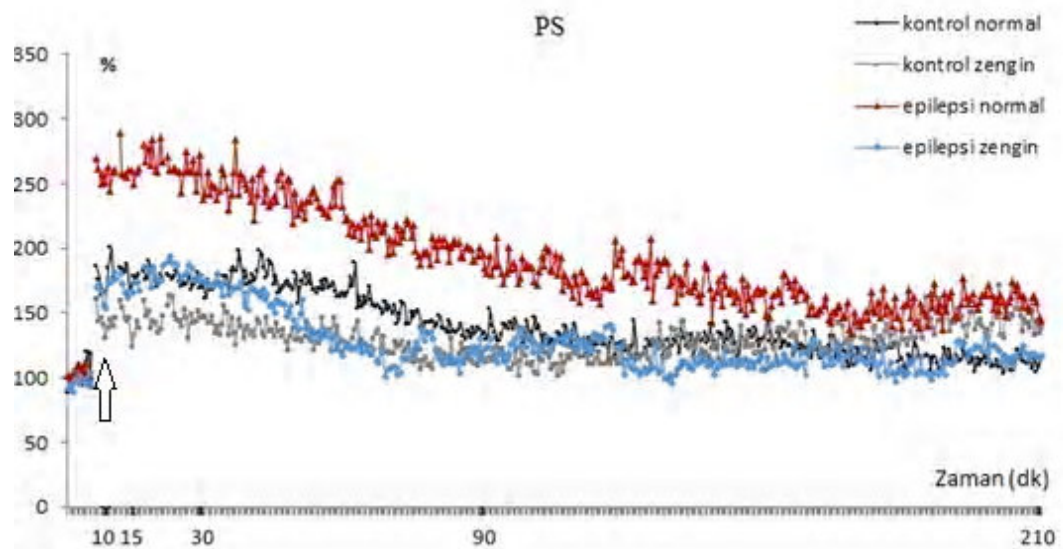
4.4.3. Tüm Trasenin İncelenmesi

Grupların kayıt süresince gösterdikleri yanıtların zamana bağlı değişimi Şekil 4.11 ve 4.12'de verilmiştir. Kontrol ve epilepsi gruplarındaki normal ve zenginleştirilmiş

kafesteki sıçanların 4.YFS sonrası EPSP ve PS değerleri karşılaştırıldığında epilepsi normal grubunda kontrol zengin grubuna göre anlamlı ölçüde yüksek bulundu. Hem kontrol hem de epilepsi zengin grubuna konulan sıçanlar daha düşük EPSP ve PS değerine sahipti. Aynı EPSP ve PS azalması 1. YFS sonrası ve erken dönem USP kayıtları içinde geçerliydi.



Şekil 4.11. Deney gruplarının dentat giruslarından elde edilen alan potansiyellerinin EPSP eğiminin bazal değerlerine göre yüzde değişimleri. \uparrow İlk HFS'nin verildiği kaydı göstermektedir.



Şekil 4.12. Deney gruplarının dentat giruslarından elde edilen alan potansiyellerinin PS genliklerinin bazal değerlerine göre yüzde değişimleri. \uparrow HFS'nin verildiği kaydı göstermektedir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Epilepsi hipokampusdaki anatomik ve işlevsel değişikliklerle ilişkili nörolojik bir hastalıktır. Çalışmamızda, PTZ ile epilepsi oluşturulmuş sıçanlarda, yer bulma öğrenmesinin normal sıçanlara göre azaldığı gösterilmiştir. Epilepsili sıçanlar, zenginleştirilmiş çevrede barındırıldıklarında ise yer bulma öğrenmesinin iyileşme, uzun süreli potansiyellerde ise bir farklılık olmadığı bulunmuştur.

5.1. EPİLEPTİK AKTİVİTENİN DEĞERLENDİRİLMESİ

18 gün gün aşırı PTZ uygulanan sıçanların epileptik aktiviteleri, her enjeksiyon sonrası sıçanların nöbet aktiviteleri Racini skalasına göre değerlendirilmiştir. PTZ uygulamasından sonra meydana gelen nöbetin başlama zamanı ve nöbet süresi kaydedilmiştir. Enjeksiyon günlerinde Evre 4 ve 5 nöbetini 3 kez ardarda geçiren sıçanlar tutuşmuş olarak kabul edilmiştir. Tutuşma kaçınıcı günde oluşmuşsa, tutuşma zamanı olarak değerlendirilmiştir. Epilepsili sıçanların zengin çevrede barındırıldıklarındaki epileptik aktiviteleri ile normal çevredeki aktiviteleri karşılaştırıldıklarında, zenginleştirilmiş çevrede bulunan sıçanların, normal kafeste bulunanlara göre daha erken tutuştuğu görüldü. Bu durum zenginleştirilmiş çevrede barındırılan sıçanların nöbete yatkınlıklarının daha fazla olduğunu göstermektedir. Tutuşma yöntemi süresince uygulanan PTZ'nin, GABA inhibisyonunun zayıflamasına ve nöbet eşiğinin düşmesine neden olduğu bilinmektedir (63). Zenginleştirilmiş çevre ile artan sosyal ve motor uyaranlar PTZ ile düşen nöbet eşiğini düşürerek nöronların

uyarılabilirlik durumunu daha da artırmış olabilir. Young ve arkadaşları elektriksel tutuşma modeli oluşturdukları çalışmalarında, dişi sıçanları süttten kesilme döneminden hemen sonra, zenginleştirilmiş çevrede ya da izole ortamda barındırmışlar ve zenginleştirilmiş ortamdaki sıçanların izole gruba göre daha erken tutuştuklarını bulmuşlardır (64). Bu sonuç elektriksel tutuşma modeli olmasıyla birlikte, bizim bulgumuzu desteklemektedir. Ancak Auvergne ve arkadaşlarının yaptığı elektriksel tutuşma modelinde, tutuşma yöntemi öncesi ve tutuşma süresince zenginleştirilmiş çevrede barındırılan sıçanların, daha geç tutuştuklarını saptanmıştır. Bizim çalışmamızda olduğu gibi sadece tutuşma yöntemi süresince zenginleştirilmiş çevrede barındırılan grupta ise farklılık bulamamışlardır (65). Bu durumda, erken dönemde zenginleştirilmiş çevreye maruz kalmanın, tutuşmanın geç gerçekleşmesine neden olduğu düşünülmektedir. Samantha ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise, epileptik farelerin (EI-fareleri, temporal lob epilepsi modeli olan fareler) nöbete yatkınlıklarını kuyruktan yukarı asma ile araştırdıkları çalışmalarında, doğumdan sonra 21-49. günler arasında fareleri zenginleştirilmiş çevreye maruz bırakmanın %100 nöbete yatkınlığı azalttığını bulmuşlardır. Bu durumu, EI farelerinin nöbetle ilişkili beyin bölgelerinde nöbet ve stresin neden olduğu yanıtı değiştirerek yaptığını ifade etmişlerdir. Samantha ve arkadaşları çalışmalarında izole grupta da nöbete yatkınlığın azaldığını bulmuşlardır (66). Samantha ve arkadaşlarının bizim çalışmamızdan farklı olan bulgusunun, nöbete yatkınlığın değerlendirilme kriteri ve epilepsi oluşturma metodunun farklılığından kaynaklanmış olduğunu düşünmekteyiz.

Zenginleştirilmiş çevrenin nöbet aktivitesi üzerine etkisini değerlendirdiğimizde ise; zenginleştirilmiş çevrenin enjeksiyonun ilk günlerinde safha 3 nöbet latansını uzattığı, nöbet sayısını ise artırdığı görüldü. Jenaralize nöbetin göstergesi olan safha 4 ve 5 nöbetleri üzerine zenginleştirilmiş çevrenin nöbet latansları üzerine bir etkisi bulunmadı. Zenginleştirilmiş çevrenin safha 4 ve 5 nöbet sürelerini ise, 1. 2. ve 9. enjeksiyon günlerinde uzattığı görüldü. Nöbet süresinin uzaması epileptik aktivitenin devam ettiğini, inhibitör devrelerin daha geç devreye girdiğini, daha fazla nöronun birlikte aktivite halinde olduğunu göstermektedir. Toplamda geçirdikleri safha 4 ve 5 nöbet sayıları değerlendirildiğinde ise zenginleştirilmiş ortamdaki sıçanlarda, yalnızca 9. ve 11. enjeksiyon günlerinde, nöbet sayısı yüksek bulundu, diğer günlerde ve toplam nöbet sayılarında bir farklılık bulunmadı. Elde ettiğimiz sonuçlara göre zenginleştirilmiş çevre 18 gün aşırı enjeksiyonunun başlangıç ve ortalarında nöbet süresini uzatmakta,

nöbet sayısını artırmaktadır. Ancak bütün enjeksiyon günlerinde aynı sonucun görülmediği, yalnızca birkaç enjeksiyon gününde nöbet sayısının arttığı ve nöbet latansının uzadığı, toplamda geçirilen nöbet sayısında ise bir farklılık bulunmadığı not edilmesi gereken önemli bir sonuçtur. Genel olarak zenginleştirilmiş çevre, epileptogenezisin gelişme aşamasında nöbet aktivitesi üzerine önemli bir etki göstermemektedir.

Bizim çalışmamızın aksine nöbetler üzerine zenginleştirilmiş çevrenin olumlu etkileri olduğunu gösteren çalışmalarda bulunmaktadır. Epileptik nöbetler üzerine zenginleştirilmiş çevrenin etkisini araştıran bir çalışmada, doğumdan itibaren zenginleştirilmiş çevrede bulunan temporal lob epilepsi (TLE) q54 epilepsi modelinde spontan nöbetleri ve nöronal hasarında azalma bulunmuştur (67). Yine zenginleştirilmiş çevre, kainik asitin neden olduğu nöbetlere, nöronal hasara karşı koruyucu etki gösterdiği ve hipokampusta spontan hücre ölümlerini %45 azalttığı bildirilmiştir (68). Her iki çalışmada da farklı epileptik modeller uygulanmıştır.

5.2. DAVRANIŞ TESTLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

5.2.1. Morris Yüzme Testi Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Litaratürde epilepsili sıçanlarda Morris yüzme testinde spasyal hafıza bozukluğunu destekleyen çok sayıda çalışma bulunmaktadır (3,26,61). Bizim çalışmamızda 4 günlük deneme fazında normal kafeste barındırılan kontrol ve epilepsi kontrol grupları arasında Morris yüzme testinde platformu bulma süreleri ve geçilen kadran sayısı açısından anlamlı bir farklılık bulunmadı. Yarı alanda geçirilen sürenin ise, 3. gün haricinde 1. 2. ve 4. günlerde epilepsi grubunda kontrole göre daha kısa olduğu görüldü. Öğrenme fazında epileptik sıçanların yarı alanda geçirdikleri sürenin kısalması platformu araştırma davranışlarının azaldığını ve spasyal öğrenmenin de bozulduğunu göstermektedir. Lamberty ve Klitgaard 35mg/kg gün aşırı PTZ tutuşma modeli uygulanan Sprague–Dawley sıçanlarda Morris yüzme testinde öğrenme süresince gizli platformu bulma görevi açısından kontrol grubu ile deney grubu arasında bizim çalışmamızda olduğu gibi önemli bir fark bulmamışlardır. Çalışmalarında platformu bulma süresinde bir farklılık olmadan, araştırma davranışında görülen bu azalmanın sadece spasyal öğrenmedeki bozulma ile açıklanamayacağını, tutuşmuş sıçanlarla kontrol sıçanlarının farklı görev çözme haritalarını kullanmış olabileceklerini ileri sürmüşlerdir (26).

Morris yüzme testinde, normal ve zenginleştirilmiş kafesteki epilepsili sıçanlar arasında anlamlı farklılıklar görüldü. Deneme fazında 1.ve 2. günlerdeki geçilen kadran sayısı normal kafesteki epilepsili sıçanlarda, zenginleştirilmiş kafestekilere göre anlamlı düşük bulundu. Yarı alanda geçirilen süre, 1. ve 3. günde normal kafesteki epileptik sıçanlar, normal ve zenginleştirilmiş kafesteki sağlıklı sıçanlara ve zenginleştirilmiş kafesteki epileptik sıçanlara göre, 2. günde normal kafesteki epileptik sıçanlar, zenginleştirilmiş kafesteki sıçanlara göre anlamlı ölçüde azalmış bulundu. 4. günde ise normal kafesteki epileptik sıçanlar, normal kafesteki sağlıklı sıçanlar ve zenginleştirilmiş kafesteki epileptik sıçanlara göre anlamlı ölçüde azalmış bulundu.

Morris yüzme testinin yalnızca öğrenme fazında normal kafeste bulunan sağlıklı sıçanların geçtiği kadran sayısı, zenginleştirilmiş çevrede bulunan sağlıklı sıçanlara göre daha düşük bulundu. Zenginleştirilmiş ortamda bulunan sağlıklı sıçanların, yarı alanda geçirilen sürede bir farklılık yokken, geçilen kadran sayısında farklılık bulunması, zenginleştirilmiş ortamdaki sıçanların daha fazla araştırma ve öğrenmeye sahip olduğunu göstermektedir.

Öğrenme fazında; platformun kaldırıldığı yarı alanda geçirilen süre sadece normal kafesteki epileptik sıçanlarda, zenginleştirilmiş kafesteki epileptik sıçanlara göre istatistiksel açıdan anlamlı ölçüde kısa bulundu. Bu durum epileptik sıçanlarda görülen spasyal öğrenme bozukluğunun zenginleştirilmiş ortam ile iyileştiğini göstermektedir. Geçilen kadran sayısı, normal kafesteki kontrol grubunda olduğu gibi normal kafesteki epilepsi grubunda da zengin kafesteki epilepsi grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu.

Bizim çalışmamızda bulduğumuz gibi, zenginleştirilmiş çevrenin Morris yüzme testinde spasyal hafıza üzerine olan olumlu etkiye sahip olduğunu destekleyen çalışmalar bulunmaktadır. Prenatal dönemde PTZ ile tutuşma oluşturulan sıçan yavrularında Morris yüzme testinde görülen öğrenme ve hafıza bozukluklarının, zenginleştirilmiş çevre ile düzeldiği gösterilmiştir (69). Pereira ve arkadaşları ise hipoksi-iskemi çalışmalarında, spasyal ve çalışan hafıza bozukluğunun doğumdan sonra 22. günden itibaren haftanın 6 günü, günde 1 saat, 9 hafta süreyle zenginleştirilmiş çevreye maruz bırakma ile iyileştiğini bulmuşlardır (70). Kurşunun neden olduğu nöronal hasarı araştıran diğer çalışmalarda da kurşuna bağlı görülen spasyal öğrenme bozukluğunun zenginleştirilmiş çevre ile iyileştiği gösterilmiştir (71,72,73).

5.2.2. Açık Alan Testi Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Açık alan testi sıçanlarda lokomotor aktivite, yeni bir çevre keşfetmek için tercihleri araştırmak için kullanılan en yaygın davranış testlerinden birisidir. Açık alanın merkezinde ya da dış çevresinde harcanan zaman miktarı anksiyeteyi ölçmek için kullanılmaktadır. Yine açık alanın merkezinde geçirilen sürenin azalması ve artmış defekasyon sayısı artan anksiyeteyi göstermektedir (74). Çalışmamızda normal kafeste bulundurulan kontrol ve epilepsi grubu arasında bir farklılık bulunmadı. Bu sonuç bizim çalışmamızda tutuşmanın açık alandaki aktivite üzerine etkisi olmadığını göstermektedir. Bizim sonucumuzdan farklı olarak PTZ ile tutuşmuş sıçanlarda yapılan çalışmada, açık alan testinde yüksek defekasyon sayısı ile anksiyete davranışı görülmüştür (26). Bir diğer çalışmada ise PTZ ile oluşturulan SE modelinde, PTZ'den 2-14 gün sonra, geçilen çizgi sayısında anlamlı artış, 2 gün sonra defekasyon sayısında anlamlı azalma tespit edilmiştir (75).

Zenginleştirilmiş ortamın açık alan testi sonuçlarına etkisini değerlendirdiğimizde; geçilen çizgi sayısı, epilepsi zengin grubunda kontrol zengin grubuna göre anlamlı ölçüde düşük bulundu. Doğrulma sayısında epilepsi zengin grupta diğer üç gruba göre anlamlı azalma bulundu. Merkez alanda geçirilen süre, kaşınma ve defekasyon sayılarında ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı. Açık alan testinde normal kafesteki epileptik sıçanlarda kontrol grubuna göre bir farklılık bulunmazken zenginleştirilmiş kafesteki epileptik sıçanlarda olumsuz sonuçlar görüldü. Bu durum zenginleştirilmiş çevrenin epileptik sıçanlarda lokomotor aktiviteyi azalttığını göstermektedir. Zenginleştirilmiş çevrenin açık alan üzerine olumsuz etkileri benzer çalışmalarda da görülmüştür. Segavia ve arkadaşlarının yaşlanmanın etkisini araştırdıkları çalışmada ise 21 ay süreyle zenginleştirilmiş çevreye maruz bırakılan 3 aylık erkek Wistar sıçanlarda açık alanda araştırma davranışını ve lokomotor aktiviteyi bütün yaş gruplarında zenginleştirilmiş çevrenin azalttığını bulmuşlardır (47). Yine Del Arco ve arkadaşları 12 ay süreyle zenginleştirilmiş çevreye maruz kalmaları sonucunda 3 aylık erkek Wistar sıçanlarda açık alanda motor aktivitenin azaldığını bulmuşlardır (46). Kainik asitle yapılan bir çalışmada ise 7-10 gün süre zenginleştirilmiş çevreye maruz bırakma ile açık alan testinde zenginleştirilmiş ortam ve kontrol grubu arasında farklılık bulunmamış, izole grupta ise azalan aktivite davranışı görülmüştür (76). Bu çalışma kullanılan epilepsi modeli ve zenginleştirilmiş çevrede bulundurulma zamanları

açısından bizim çalışmamızdan farklıdır. Yine amigdalanın tutuşması ile yapılan başka bir çalışmada ise zenginleştirilmiş ortamdaki sıçanların açık alanda izole gruba göre daha az anksiyete davranışı gösterdiklerini bulmuşlardır (77).

5.2.3. Delikli Tahta Testi Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Delikli tahta testi deney hayvanlarında, motor aktiviteyi ve araştırma davranışını ölçen bir testtir. Bu testte deliklere baş sokma sayısının azalması ve merkez alanda daha fazla durma artmış anksiyete göstergesidir (74). Çalışmamızda delikli tahta testinde zenginleştirilmiş çevrenin epilepsili grupta araştırma davranışını azalttığı gösterildi. Tutuşmanın anksiyete üzerindeki etkisini araştıran bir çalışmada son safha 5 nöbeti izleyen en az bir hafta süresince, artı labirent testinde anksiyete davranışının arttığı, delikli tahta testinde ise araştırma davranışının azaldığını tespit etmişlerdir (78). Zenginleştirilmiş çevrenin delikli tahta testinde araştırma davranışını artırdığını gösteren çalışmalarda vardır. BDNF'nin çevresel faktörlerle ilişkisini araştıran çalışmada, zenginleştirilmiş ortam grubunun delikli tahta testinde araştırma davranışını artırdığını bulmuşlardır (79). Yine Sprague Dawley sıçanlarında yapılan bir başka çalışmada 12 hafta süre ile zenginleştirilmiş çevreye maruz bırakma sonucunda delikli tahta testinde artmış araştırma davranışı görülmüştür (80).

5.3. ELEKTROFİZYOLOJİ BULGULARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Tutuşma nöbetlerinin CA1, CA3, dentat girus, amigdala ve entorihinal kortekste nöron kaybına neden olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir (81). Bu hasar özellikle hipokampusta gerçekleştiğinde öğrenme ve hafıza işlevlerinde bozukluklar görülmektedir (15). Dentat girus, USP'nin güçlenmesinde, presinaptik, postsinaptik bölgede uyarı yollarının aktivasyonunda rolü olan bir hipokampus alanıdır. Dentat girus granüler hücre somalarından kayıtlanan alan potansiyellerinden EPSP bileşeni, aferent yolla uyarılan nöron grubunun, PS bileşeni ise membran potansiyeli bir eşik değere yükselerek aksiyon potansiyeli oluşturabilen hücre grubunun elektriksel özelliklerini yansıtmaktadır (82). Çalışmamızda hipokampusun medyal perforan yolu uyarılarak dentat girus granül hücre tabakasından USP kayıtları alındı.

I/Q'un bulgularımıza göre EPSP eğiminin analizinde, 0,1mA şiddeti hariç diğer bütün şiddetlerde, epilepsi normal grubunda, kontrol normal grubuna göre alınan yanıtın daha büyük olduğu görüldü. Ayrıca, 0,9mA şiddetindeki uyarıya verilen yanıtta epilepsi normal grubundan alınan yanıt epilepsi zengin grubuna göre de yüksek bulundu. Bu

bulgumuz normal kafeste bulunan epilepsili sıçanlarda dentat girustan aferent uyarımla innerve edilen nöronların benzer elektrofizyolojik özelliklerde olmadığını göstermektedir. PS genliklerinin değişiminin de ise gruplar arasında 8 uyarı şiddetinin hiçbirinde anlamlı farklılık göstermedikleri bulundu. PS genliklerinde bir farklılık olmaması ise nöronların membranın eşik değere ulaşarak aksiyon potansiyeli oluşturan nöronların benzer elektrofizyolojik özelliklerde olduğunu göstermektedir. Epileptik aktivite afferent uyarımla innerve edilen nöronların özelliklerini değiştirmiş görünmektedir.

USP bulgularımıza göre ise EPSP eğimi ve PS genliğinde beş zaman penceresinden sadece 4. YFU sonrasında epilepsi normal grubunda, kontrol zengin grubuna göre güçlenme görüldü. Diğer dört zaman penceresinde ise istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık bulunmadı. İstatistiksel açıdan zenginleştirilmiş çevrenin EPSP eğimi ve PS amplitüdü üzerine anlamlı etkisi olmamakla birlikte bazal kayıt, USP erken dönemi ve kaydın sonunda epilepsi zengin grubundan alınan yanıtın en düşük değere sahip olduğu görüldü. Yine kontrol zengin grubunda ise 1.YFU sonrası, 4.YFU sonrasında alınan yanıtın en düşük olduğu görüldü. Bir diğer bulgu ise epilepsi normal grubundan alınan yanıtların hemen hemen dört zaman penceresinde de en yüksek değere sahip olduğunun saptanmasıdır. Bu bulgular bize normal kafesteki epilepsili sıçanlardaki nöronal aktivitenin hem sağlıklı normal kafesteki hem de zengin kafesteki epileptik sıçanlara göre artmış olduğunu göstermiştir.

Tutuşma ve USP arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalarda birbirlerinden oldukça farklı sonuçlar elde edilmiştir. Epilepside USP'lerde baskılanma veya güçlenmenin elde edildiği çalışmalarda bulunmaktadır. Palizvan ve arkadaşlarının çalışmalarında PTZ ile tutuşmadan bir ay sonra fEPSP eğiminde bir azalma ve PS genliğinde ise bir artış olduğu gösterilmişlerdir (83). Kudriashov ve arkadaşlarının PTZ'nin hipokampal elektrofizyolojik değişikliklere etkisini araştırdıkları çalışmada ise PTZ'li grupta doğumdan sonra 14. günde hipokampal kesitlerden alınan USP'nin baskılandığını bulmuşlardır (84). Yapılan bir diğer çalışmada tekrarlayan USP ve tutuşmanın her ikisinin de CA1 bazal dendritik sinapslarında güçlenmeye neden olduğu bulunmuştur (85).

Zenginleştirilmiş çevrenin sinaptik plastisite üzerine olumlu etkisi olduğunu bildiren birçok çalışma bulunmaktadır. Örneğin erkek Wistar sıçanların 5 hafta zenginleştirilmiş

çevreye maruz bırakma ile yapılan çalışmada hipokampusun CA1 bölgesinden alınan kesitlerde USP ve USD'yi her ikisinde de güçlenme, presinaptik serbestlenmeyi gösteren çiftli uyarı kolaylaşmasında ise azalma olduğu gösterilmiştir (86). Shum ve arkadaşlarının 4 haftalık C57BL/6 farelerinde anterior singulat kortekste patch klemp yöntemi ile aldıkları USP kayıtlarında, zenginleştirilmiş çevrenin USP'yi güçlendirdiğini USD'yi ise azalttığını bulmuşlardır (87). Yapılan başka bir çalışmada, zenginleştirilmiş çevrenin C57BL/6 farelerinde kortikostriyal USP'de değişikliklere neden olduğu, motor ve bilişsel performansı iyileştirmek için güçlü bir yöntem olduğu savunulmuştur (88). Kurşuna bağlı bilişsel işlev bozukluklarını araştıran bir çalışmada ise erkek sıçanlar 8 haftalık olana kadar zenginleştirilmiş çevrede barındırılmışlardır. Çalışmalarında zenginleştirilmiş çevre ile USP'nin EPSP eğimi ve PS amplitüdünde düzelme olduğunu göstermişlerdir (89). Anterior singulat kortekste 1 ay zenginleştirilmiş çevrenin etkisini araştıran çalışmada, zenginleştirilmiş çevrenin egr-1 plastisite geninin ekspresyonunda artışa, singulat USP'de güçlenme ve USD'de azalmaya neden olduğu bulunmuştur (90). Zenginleştirilmiş çevrede 5 hafta barındırılmadan, 3-4 hafta sonra CA1 kesitlerinden alınan USP ve USD kayıtlarında, USP ve USD'nin her ikisinde de güçlenme, uyarı çifti kolaylaşmasının azaldığı görülmüştür. Bu şekilde presinaptik serbestlenmenin kolaylaşarak sinaptik değişikliklere katkıda bulunabileceği ileri sürülmüştür. Yine çalışmalarında zenginleştirilmiş çevrenin kararlı USP oluşturabilmesi için gerekli olan 100-Hz'lik uyarın sayısını azalttığı bulunmuştur (91). Foster ve arkadaşları yaptıkları çalışmada zenginleştirilmiş çevre ile hipokampal kesitlerde medyal perforan yolda sinaptik güçlenme olduğunu göstermişlerdir (92). Bir diğer çalışmada ise zenginleştirilmiş çevre elektriksel ve kimyasal uyarılmayı takiben cAMP-PKA sinyal yolağının aktiviteye bağımlı işlevi için eşik değiştirerek hipokampal USP de güçlenmeye neden olabileceği ifade edilmiştir (93). Xiujing Cao ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada medyal perforan yol uyarılarak DG'dan USP kayıtları alınmıştır. Çalışmalarında Morris yüzme testinde kurşunun neden olduğu öğrenme bozukluğunun zenginleştirilmiş çevre ile düzelmesinin yanında EPSP eğimi ve PS genliğinde de iyileşme bulmuşlardır (73).

Literatürde epilepsili sıçanların zenginleştirilmiş çevrede barındırılmasının USP'ler üzerine olan etkisini araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır. Yukarıda da bahsedildiği gibi zenginleştirilmiş çevrenin USP üzerine etkisini araştıran çok sayıda çalışmada zenginleştirilmiş çevrenin olumlu etkileri olduğunu gösterilmiştir. Çalışmamızda ise

zengin kafese konulan epileptik sıçanlarda nöronal aktivite azalmıştır. USP'lerdeki artış nöronal aktivitenin ve öğrenmenin artışı yansıtmakla birlikte, epilepsili sıçanlarda zengin çevrede USP'lerdeki yani nöronal aktivite deşarjlarındaki azalma epileptik aktivitenin azalmasını gösterebileceğinden, zengin çevrenin olumlu bir etkisi olarak değerlendirilmiştir.

Sonuç olarak çalışmamızda zenginleştirilmiş çevrenin epileptogenezisin gelişme sürecinde olumlu etkisi olmadığını ve tutuşmanın daha erken gerçekleşmesine neden olduğu bulunmuştur. Yine zenginleştirilmiş çevrenin epilepsili sıçanlarda spasyal hafızayı iyileştirdiği, ancak araştırma ve anksiyete üzerine olumsuz etkileri olduğu gösterilmiştir. USP'de ise epilepside nöronal güçlenme tesbit edilmiştir. Bu bulguların ışığı altında zenginleştirilmiş çevrenin epilepside yararlı olabilmesi için zenginleştirilmiş çevreye bırakılma zamanının ve süresinin değiştirilmesinin önemli olabileceği sonucuna varılmıştır.

6. KAYNAKLAR

- 1- Kuruba R, Hattiangady B, K.Shetty A,. Hippocampal neurogenesis and neural stem cells in temporal lobe epilepsy. *Epilepsy & Behavior*. 2009; 14: 65-73.
- 2- Yaltkaya K. Bellek ve Eletrofizyolojisi, Klinik Nörofizyoloji EEG-EMG Derneği Yayınları, Meta Basım, İzmir Bornova, 1999: 26.
- 3- Palizvan MR, Fathollahi Y, Semnianian S, Hajezadeh S, Mirnajafizadh J. Differential effects of pentylenetetrazol-kindling on long term potentiation of population excitatory postsynaptic potentials and population spikes in the CA1 region of rat hippocampus. *Brain Research*. 2001; 898: 82-90.
- 4- Mao RR, Tian M, Yang YX, Zhou QX, Xu L, Cao J. Effects of pentylenetetrazole-induced brief convulsive seizures on spatial memory and fear memory. *Epilepsy Behav*. 2009; 15: 441-4.
- 5- She JQ, Wang M, Zhu DM, Sun LG, Ruan DY. Effects of ganglioside on synaptic plasticity of hippocampus in lead-exposed rats in vivo. *Brain Res*. 2005; 1-2: 162-9.
- 6- Guilarte TR, Toscano CD, McGlothan JL, Weaver SA. Environmental enrichment reverses cognitive and molecular deficits induced developmental lead exposure. *Ann Neurol*. 2003; 53: 50-6.
- 7- Korbey SM, Heinrichs SC, Leussis MP. Seizure susceptibility and locus ceruleus activation are reduced following environmental enrichment in an animal model of epilepsy. *Epilepsy Behav*. 2008; 12: 30-8.
- 8- Viola G, Rodrigues LC, Americo J, Hansel G, Vargas SR, Biasibetti R, Swarowsky A, Gonçalves AC, L. Xavier L, Achaval M, Souza OD, Amaral BO. Morphological changes in hippocampal astrocytes induced by environmental enrichment in mice. *Brain Research*. 2009; 1274: 47-54.

- 9- Pena Y, Prunell M, Dimitsantos V, Nadal R, Escorihuela RM. Enviromental enrichment effects in social investigation in rats are gender dependent. *Behav Brain Res.* 2006; 174: 181-7.
- 10- Chen Y, Mao Y, Zhou D, Hu J, Ma Y. Enviromental enrichment and chronic restraint stres in ICR mice: effects on prepulse inhibition of startle ad Y-maze spatial recognition memory. *Behavioural Brain Research.* 2010; 212: 49-55.
- 11- Shum WF, Wu. LJ, Zhao MG, Toyada H, Xu H, Ren M, Pinaud R, Ko SW, Lee YS, Kaang BK, Zhuo M. Alteration of cingulate long-term plasticity and behavioral sensitization to inflammation by enviromental enrichment. *Learning & Memory.* 2007; 14: 304-312.
- 12- Artola A, von Frijtag JC, Fermont PC, Gispen WH, Schrama LH, Kamal A, Spruijt BM. Long-lasting modulation of the induction of LTD and LTP in rat hippocampal CA1 by behavioral stress and enviromental enrichment. *Eur J Neurosci.* 2006; 23: 261-72.
- 13- Duffy SN, Graddock KJ, Abel T, Nquyen PV. Enviromental enrichment modifies the PKA-dependence of hippocampal LTP and improves hippocampus-dependent memory. *Learning & Memory.* 2001; 8: 26-34.
- 14- Uzüm G, Akgün-Dar K, Aksu U. The effects of atorvastatin on memory deficit and seizure susceptibility in pentylentetrazole-kindled rats. *Epilepsy Behav.* 2010; 19: 284-9.
- 15- Mehla J, Reeta KH, Gupta P, Gupta Y.K. Protective effect of curcumin against seizures and cognitive impariment in a penthlentetrazole-kindled epileptic rat model. *Life Sciences.* 2010; 87: 596-603.
- 16- Parsons LM. Epilepsy: epidemiology, classification and natural history. *Epilepsy.* 2008; 36: 11.
- 17- Yıldırım M. Deneysel epilepside Nitrerjik ve Purinerjik Sistemlerin etkileşimi. Doktora Tezi Ondokuz Mayıs Üniversitesi. Samsun, Eylül 2005; 28.
- 18- Dhanushkodi A, Shetty AK. Is exposure to enrichment environment benefical for functional post-lesional recovery in temporal lobe epilepsy? *Neurosci Biobehav Rev.* 2008; 32: 657-74.
- 19- 2 Şubat 2010. Belgeler com. <http://www.belgeler.com/blg/1ksy/epilepsi>. Ersoy AÖ. Epilepsi. (09.9.212).
- 20- Üzüm G. Epileptik nöbet oluşumunda hücresel mekanizmalar. *İstanbul Tıp Mecmuası.*1998; 61: 4.
- 21- Öz O. Epilepsi hastalarında asimetric dimetil-arjinin düzeylerinin ve homosistein yolağının karbamazepin ve valproik asit tedavisi öncesi ve sonrası incelenmesi. *Tıpta Uzmanlık Tezi Gülhane Askeri Tıp Fakültesi, Ankara* 2007; 25.

- 22- Marangoz C. Deneysel epilepsi modelleri. *J. Exp. Clin.* 1997; 14;147-186.
- 23- Sutula TP. Mechanisms of epilepsy progression: current theories and perspectives from neuroplasticity in adulthood and development. *Epilepsy Research.* 2004; 60: 161-171.
- 24- Lamberty Y, Klitgaard H. Consequences of Penthylenetetrazole kindling on spatial memory and emotional responding in the rat. *Epilepsy & Behavior* 2000; 1: 256-261.
- 25- Hansen SL, Sperling BB, Sánchez C. Anticonvulsant and antiepileptogenic effects of GABAA receptor ligands in pentylenetetrazole-kindled mice. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 200; 28: 105-13.
- 26- Mortazavi F, Ericson M, Story D, Hulce VD, Dunbar GL. Spatial learning deficits and emotional impariments in pentylenetetrazole-kindled rats. *Epilepsy Behav.* 2005; 7: 629-38.
- 27- Pi X, Lee J, Li F, Rosenberg HC. Decreased expression of brain cAMP response element-binding protein gene following penthylenetetrazol seizure. *Brain Res Mol Brain Res.* 2004; 23: 60-7.
- 28- Berne RM, Levy MN, Koeppen BM, Stanton BA. Kısım II Sinir Sistemi, Fizyoloji. Beşinci Baskı. Türk Fizyolojik Bilimler Derneği, Güneş Tıp Kitabevleri, Öncü Basımevi, Ankara, 2008: 202.
- 29- Reymann K.G, Frey J.U. The late maintnance of hippocampal LTP: Requirements, phases, 'synaptic tagging' 'late-associativity' and implications. *Neurophysiology.* 2007; 52: 24-40.
- 30- Guyton AC, Hall JE. Serebral Korteks; beynin Entelektüel İşlevleri; Öğrenme ve Bellek. Tıbbi Fizyoloji. 10. Baskı. Çvr.Edt. Hayrünissa Ç. Yücel Yayınları & Nobel Tıp Kitabevleri. Tavaslı Matbaacılık, İstanbul, 2001: 673.
- 31- Mora F, Segovia G, del Arco A. Aging, plasticity and enviromental enrichment: Structural changes and neurotransmitter dynamics in several areas of the brain. *Brain Research Reviews.* 2007; 55: 78-88
- 32- Terzioğlu M, Çakar L. Sinir Sistemi 2.bölüm. Fizyoloji Ders Kitabı. 3. Basım, cilt 1, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları, 1999: 364.
- 33- Frank Hofmann, Hilmar Bading. Long term recordings with microelectrode arrays: studies of transcription-dependent neuronal plasticity and axonal regeneration. *Journal of Physiology-Paris.* 2006; 99: 125-132.
- 34- Yıldız Akar F, Ulak G, Tanyeri P, Erden F, Utkan T, Gacar N. 7-nitroindazole, a neuronal nitric oxide sythase inhibitör, impairs passive-avoidance and elevated plus-maze memory performance in rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 2007; 87: 434-43.

- 35- Segal SK, Stark SM, Kattan D, Stark CE, Yassa MA. Norepinephrine-mediated emotional arousal facilitates subsequent pattern separation. *Neurobiol Learn Mem.* 2012; 97: 465-9.
- 36- Hindi Attar C, Finckh B, Büchel C. The influence of serotonin on fear learning. *PLoS One.* 2012; 7: 42397.
- 37- Cao B, Zhang X, Yan N, Chen S, Li Y. Cholecystokinin enhances visceral pain-related affective memory via vagal afferent pathway in rats. *Mol Brain.* 2012; 5: 19.
- 38- Roozendaal B, McGaugh JL. Memory modulation. *Behav Neurosci.* 2011; 125: 797-824.
- 39- Yuzaki M. Cerebellar LTD vs. motor learning-Lessons learned from studying GluD2. *Neural Netw.* 2012; 20. (baskıda)
- 40- Meeter M, Veldkamp R, Jin Y. Multiple memory stores and operant conditioning: A rationale for memory's complexity. *Brain Cogn.* 2009; 69: 200-8.
- 41- Degroot A, Treit D. dorsal and ventral hippocampal cholinergic systems modulate anxiety in the plus-maze and shock-probe tests. *Brain Res.* 2002; 13: 60-70.
- 42- Tian JS, Cui YL, Zhang ZG. PingYu Capsule activates cAMP/PKA/CREB signaling pathway in rat hippocampus: A possible mechanism for antidepressant-like effect. *Bioinformatics and Biomedical Engineering, ICBBE 2009. 3rd International Conference on, 1-4, 11-13 June 2009, Tianjin Univ. of Traditional Chinese Med. Tianjin, China.*
- 43- Demirci S, Eşel E. Öğrenme ve hafızanın hücresel düzenekleri ve psikiyatri hastalıklarıyla ilişkisi. *Anadolu Psikiyatri Dergisi.* 2004; 5: 239-248.
- 44- McEwen BS. Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain *Physiol Rev.* 2007; 87: 873-904.
- 45- Dokutan Ş. Genç erkeksıçanlarda vitamin E uygulamasının yer bulma öğrenmesine etkisi. *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri Şubat 2007.*
- 46- Del Arco A, Segovia G, Garrido P, De Blas M, Mora F. Stress, prefrontal cortex and environmental enrichment: Studies on dopamine and acetylcholine release and working memory performance in rats. *Behavioural Brain Research.* 2007; 176: 267-273.
- 47- Segovia G, Del Arco A, Garrido P, de Blas M, Mora F. Environmental enrichment reduces the response to stress of the cholinergic system in the prefrontal cortex during aging. *Neurochem Int.* 2008; 52: 1198-203.
- 48- Rao Y, Xiao P, Xu ST. Effects of intrahippocampal aniracetam treatment on Y-maze avoidance learning performance and behavioral long-term potentiation in dentate gyrus in rat. *Neuroscience Letters.* 2001; 298: 183-186.

- 49- Parsley SL, Pilgram SM, Soto F, Giese KP and Edwards FA. Enriching the environment of α CaMKII T286A mutant mice reveals that LTD occurs in memory processing but must be subsequently reversed by LTP. *Learning & Memory*. 2007; 14: 75-83.
- 50- Tan SE. Activation of hippocampal nitric oxide and calcium/calmodulin-dependent protein kinase II in response to morris water maze learning in rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 2009; 92: 260-266.
- 51- Raymond CR. LTP forms 1,2 and 3: different mechanisms for the 'long' in long term potentiation. *TRENDS in Neurosciences*. 2007; 30(4): 167-75.
- 52- Johnsen FW, Holthoff K. Nuclear calcium signals during L-LTP induction do not predict the degree of synaptic potentiation. *Cell Calcium*. 2007; 41: 271-283.
- 53- Smolen P, Baxter D.A, Byrne J.H. A model of the roles essential kinases in the induction and expression of late long-term potentiation. *Biophysical Journal*. 2006; 90: 2760-2775.
- 54- Williams CM, El Mohsen MA, Vauzour D, Rendeiro C, Butler LT, Ellis JA, Whiteman M, Spencer JP. Blueberry-induced changes in spatial working memory correlate with changes in hippocampal CREB phosphorylation and brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels. *Free Radic Biol Med*. 2008; 45: 295-305.
- 55- Thiriet N, Amar L, Toussay X, Lardeux V, Ladenheim B, Becker KG, Cadet JL, Solinas M, Jaber M. Environmental enrichment during adolescence regulates gene expression in the striatum of mice. *Brain Research*. 2008; 1222: 31-41.
- 56- Aging, plasticity and environmental enrichment: Structural changes and neurotransmitter dynamics in several areas of the brain. Mora F, Segovia G, del Arco A, *Brain Research Reviews*. 2007; 55: 78-88.
- 57- Wagner AK, Chen X, Kline AE, Li Y, Zafonte RD, Dixon CE. Gender and environmental enrichment impact dopamine transporter expression after experimental traumatic brain injury. *Experimental Neurology*. 2005; 195: 475-483.
- 58- Rahman S, Bardo M.T. Environmental enrichment increase amphetamine-induced glutamate neurotransmission in the nucleus accumbens: A neurochemical study. *Brain Research* 2008; 1197: 40-46.
- 59- Foster TC, Fugger HN, Cunningham SG. Receptor blockade reveals a correspondence between hippocampal- dependent behavior and experience-dependent synaptic enhancement. *Brain Research*. 2000; 871: 39-43.
- 60- Jadavji N.M, Kolb B, Metz G.A. Enrichment environment improves motor function in intact and unilateral dopamine-depleted rats. *Neuroscience*. 2006; 140: 1127-1138.

- 61- Wang P, Wang W.P, Zhang S, Wang H.X, Lou Y, Fan Y.H. Impaired spatial learning related with decreased expression of calcium/calmodulin-dependent protein kinase II α and cAMP-response element binding protein in the penthlenetetrazol-kindled rats. *Brain Research*. 2008; 1238: 108-117.
- 62- Muto J, Hosung L, Uwaya A, Isami F, Ohno M, Mikami T. Morinda citrifolia fruit reduces stress-induced impairment of cognitive function accompanied by vasculature improvement in mice. *Physiol Behav*. 2010; 101: 211-7.
- 63- Rattka M, Brandt C, Löscher W. Do proconvulsants modify or halt epileptogenesis? Penthylene tetrazole is ineffective in two rat models of temporal lobe epilepsy. *Eur J Neurosci*. 2012; 36: 2505-20.
- 64- Young NA, Wintink AJ, Kalynchuk LE. Environmental enrichment facilitates amygdala kindling but reduces Environmental Enrichment Facilitates Amygdala Kindling but Reduces Kindling-Induced Fear in Male Rats. *Behavioral Neuroscience*. 2004; 118: 1128-1133.
- 65- Auvergne R, Leré C, El Bahh B, Arthaud S, Lespinet V, Rougier A, Le Gal La Salle G. Delayed kindling epileptogenesis and increased neurogenesis in adult rats. *Brain Res*. 2002; 954: 277-85.
- 66- Samantha M. Korbey, Stephen C. Heinrichs, Melanie P. Leussis. Seizure susceptibility and locus ceruleus activation are reduced following environmental enrichment in an animal model of epilepsy Original Research Article. *Epilepsy & Behavior*. 2008; 12: 30-38.
- 67- Manno I, Macchi F, Caleo M, Bozzi Y. Environmental enrichment reduces spontaneous seizures in the Q54 transgenic mouse model of temporal lobe epilepsy. *Epilepsia*. 2011; 52: 113-7.
- 68- Young D, Lawlor PA, Leone P, Dragunow M, During MJ. Environmental enrichment inhibits spontaneous apoptosis, prevents seizures and is neuroprotective. *Nat Med*. 1999; 5: 448-53.
- 69- Xie T, Wang WP, Jia LJ, Mao ZF, Qu ZZ, Luan SQ, Kan MC. Environmental enrichment restores cognitive deficits induced by prenatal maternal seizure. *Brain Res*. 2012; 1470: 80-8.
- 70- Pereira LO, Arteni NS, Petersen RC, da Rocha AP, Achaval M, Netto CA. Effects of Daily environmental enrichment on memory deficits and brain injury following neonatal hypoxia-ischemia in the rat. *Neurobiol Learn Mem*. 2007; 87: 101-8.
- 71- Guilarte TR, Toscano CD, McGlothlan JL, Weaver SA. Environmental enrichment reverses cognitive and molecular deficits induced developmental lead exposure. *Ann Neurol*. 2003; 53: 50-6.

- 72- Schneider JS, Lee MH, Anderson DW, Zuck L, Lidsky TI. Enrichment environment during development is protective against lead-induced neurotoxicity. *Brain Research*. 2001; 896: 48-55.
- 73- Cao X, Huang S, Ruan D. Enrichment environment restores impaired hippocampal long-term potentiation and water maze performance induced by developmental lead exposure in rats. *Developmental Psychobiology*. 2008; 50: 307-313.
- 74- Simpson J, Kelly JP. The impact of environmental enrichment in laboratory rats- Behavioral and neurochemical aspects. *Behavioral Brain Research*. 2011; 222: 246-264.
- 75- Erdoğan F, Gölgeli A, Küçük A, Arman F, Karaman Y, Ersoy A. Effects of penthylene-tetrazole-induced status epilepticus on behavior, emotional memory and learning in immature rats. *Epilepsy & Behavior*. 2005; 6: 537-542.
- 76- Koh S, Chung H, Xia H, Mahadevia A, Song Y. Environmental enrichment reverses the impaired exploratory behavior and altered gene expression induced by early-life seizures. *J Child Neurol*. 2005; 20: 796-802.
- 77- Young NA, Wintink AJ, Kalynchuk LE. Environmental enrichment facilitates amygdala kindling but reduces kindling-induced fear in male rats. *Behav Neurosci*. 2004; 118: 1128-33.
- 78- Adamec RE. Amygdala kindling and anxiety in the rat. *Neuroreport*. 1990; 1: 255-8.
- 79- Zhu SW, Codita A, Bogdanovic N, Hjerling-Leffler J, Ernfors P, Winblad B, Dickins DW, Mohammed AH. Influence of environmental manipulation on exploratory behaviour in male BDNF knockout mice. *Behav Brain Res*. 2009; 197: 339-46.
- 80- Pena Y, Prunell M, Rotllant D, Armario A, Escorihuela RM. Enduring effects of environmental enrichment from weaning to adulthood on pituitary-adrenal function, pre-pulse inhibition and learning in male and female rats. *Psychoneuroendocrinology*. 2009; 34: 1390-404.
- 81- Sherafat MA, Ronaghi A, Ahmad-Molaei L, Nejadhoseynian M, Ghasemi R, Hosseini A, Naderi N, Motamedi F. Kindling-induced learning deficiency and possible cellular and molecular involved mechanisms. *Neurol Sci*. 2012; Jun: 29. [Epub ahead of print].
- 82- Baktır MA. Aydınlik karanlık siklus değişiliklerinin rat hipokampus dentat girus aktivitesine etkilerinin in vivo incelenmesi. *Tıpta Uzmanlık Tezi, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kayseri* 2010; 30.
- 83- Palizvan MR, Fathollahi Y, Semnani S. Epileptogenic insult causes a shift in the form of long-term potentiation expression. *Neurosciences*. 2005; 134: 415-423.

- 84- Kudriashov IE, Pavlova TV, Kudriashova IV, Egorova LK, Guliaeva NV. Kindling during early postnatal development: the effects on the maturation of the hippocampal electrophysiological characteristics. *Zh Vyssh Nerv Deiat Im I P Pavlova*. 2006; 56: 706-14
- 85- Leung LS. Kindling, long-term potentiation and spatial memory performance. *Can J Neurol Sci*. 2009; 2: 36-8.
- 86- Artola A, von Frijtag J.C, Fermont P.C.J, Gispen W.H, Schrama L.H, Kamal A, Spruijt B.M. Long-lasting modulation of the induction of LTD and LTP in rat hippocampal CA1 by behavioral stress and environmental enrichment. *European Journal of Neuroscience*. 2006; 23. 261-272.
- 87- Shum FW, Wu LJ, Zhao MG, Toyoda H, Xu H, Ren M, Pinaud R, Ko SW, Lee YS, Kaang BK, Zhuo M. Alteration of cingulate long-term plasticity and behavioral sensitization to inflammation by environmental enrichment. *Learn Mem*. 2007; 14: 304-12.
- 88- Mazzocchi-Jones D, Döbrössy M, Dunnett SB. Environmental enrichment facilitates long-term potentiation in embryonic striatal grafts. *Neurorehabil Neural Repair*. 2011; 25: 548-57.
- 89- Cao X, Huang S, Ruan D. Enriched environment restores impaired hippocampal long-term potentiation and water maze performance induced by developmental lead exposure in rats. *Dev Psychobiol*. 2008; 50: 307-13.
- 90- Shum FW, Wu LJ, Zhao MG, Toyoda H, Xu H, Ren M, Pinaud R, Ko SW, Lee YS, Kaang BK, Zhuo M. Alteration of cingulate long-term plasticity and behavioral sensitization to inflammation by environmental enrichment. *Learn Mem*. 2007; 14: 304-12.
- 91- Artola A, von Frijtag JC, Fermont PC, Gispen WH, Schrama LH, Kamal A, Spruijt BM. Long-lasting modulation of the induction of LTD and LTP in rat hippocampal CA1 by behavioural stress and environmental enrichment. *Eur J Neurosci*. 2006; 23: 261-72.
- 92- Foster TC, Gagne J, Massicotte G. Mechanism of altered synaptic strength due to experience: relation to long-term potentiation. *Brain Res*. 1996; 736: 243-50.
- 93- Duffy SN, Craddock KJ, Abel T, Nguyen PV. Environmental enrichment modifies the PKA-dependence of hippocampal LTP and improves hippocampus-dependent memory. *Learn Mem*. 2001; 8: 26-34.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı soyadı :Seval KELOĞLAN
Uyruğu :T.C.
Doğum Tarihi ve Yeri :01.04.1981, ÇORUM
Medeni durumu :Bekar
Tel :0535 497 36 01
Email :sevallkeloglan@hotmail.com
Yazışma Adresi :E.Ü. Tıp Fak. Organ Nakli ve Diyaliz Hastanesi Nefroloji
1 servisi, 27527, Melikgazi/ KAYSERİ

EĞİTİM

Derece Tarihi	Kurum	Mezuniyet
Yüksek Lisans	:O.M.Ü. Tıp Fak. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji A.B.D.	2006
Lisans	:O.M.Ü. Amasya Sağlık Yüksek Okulu Hemşirelik Bölümü	2001
Lise	:Atatürk Lisesi / ÇORUM	1997

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görev
2004-Halen	:E.Ü.Tıp Fak. Organ Nakli ve Diyaliz Hastanesi Nefroloji1.	Hemşire