



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**WİSTAR SIÇANLARDA GAMA BUTİRO-LAKTON
UYGULANMASI İLE DENEYSEL ABSANS EPİLEPSİ MODELİ
OLUŞTURULMASI VE BU MODELDE BEYİNDE OLUŞAN
MORFOLOJİK DEĞİŞİMLERİN İNCELENMESİ**

TUĞBA KARMAHMUTOĞLU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

PROF.DR. FİLİZ ONAT

İSTANBUL-2012

TEZ ONAYI

Kurum : Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Programın seviyesi : Yüksek Lisans
Anabilim Dalı : Tıbbi Farmakoloji
Tez Sahibi : Tuğba Karamahmutoğlu
Tez Başlığı : Wistar Sıçanlarda Gama-butirolakton Uygulanması ile Deneysel Absans Epilepsi Modeli Oluşturulması ve Bu Modelde Beyinde Oluşan Morfolojik Değişimlerin İncelenmesi
Sınav Yeri : Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı
Sınav Tarihi : 05.07.2012

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman (Unvan, Adı, Soyadı)

Prof.Dr. Filiz ONAT

Kurumu

Marmara Üniversitesi

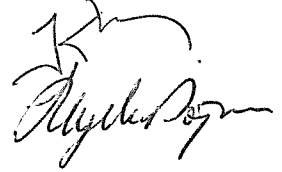
İmza



Sınav Jüri Üyeleri (Unvan, Adı, Soyadı)

Prof.Dr.Kemal BERKMAN

Marmara Üniversitesi



Prof.Dr. Sönmez UYDEŞ DOĞAN

İstanbul Üniversitesi

Yukarıdaki jüri kararı Enstitü Yönetim Kurulu'nun 20.../07./2012 tarih ve 24 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

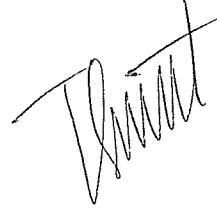


Prof. Dr. Feyza ARICIOĞLU
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Tuğba KARAMAHMUTOĞLU



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, öğrencisi olmaktan gurur ve mutluluk duyduğum değerli danışman hocam Prof. Dr. Filiz ONAT'a,

Farmakoloji eğitimim boyunca her zaman değerli katkılarını gördüğüm ve engin bilgileriyle aydınlandığım değerli hocam Prof. Dr. Kemal BERKMAN'a,

Her zaman desteğini gördüğüm ve bilgisinden faydalandığım değerli hocam Prof. Dr. M.Zafer GÖREN'e,

Her zaman her konuda değerli katkılarını ve yardımlarını gördüğüm hocalarım Prof. Dr. Ahmet AKICI'ya, Prof. Dr. Atila KARAALP'e, Doç. Dr. Hasan Raci YANANLI'ya, Doç. Dr. Rezzan GÜLHAN'a,

Tez çalışmam ve eğitimim sırasında her zaman dostluklarını gördüğüm, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım Uzman Dr. Medine GÜLÇEBİ'ye, Dr. Nihan ÇARÇAK'a, Kimya Y.Müh. Ece İSKENDER'e,

Tüm farmakoloji eğitimim boyunca her zaman her konuda desteklerini gördüğüm, birlikte çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum çok sevgili çalışma arkadaşlarım Mol. Biyolog Sema KETENCİ, Dr. Eren SAKALLI, Dr. Kutluhan TEZCAN, Dr. Mehluga JAFAROVA, Dr. Emine Nur ÖZDAMAR, Kimyager Melisa KALELİ, Kimyager Betilay TOPKARA, Biyolog Başak DÖNERTAŞ'a,

Yardımlarını, dostluklarını ve güleryüzlerini hiç esirgemeyen sevgili Şule BERKAY ve Nurettin DEMİRCİ'ye,

Çalışmamı destekleyen Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu'na,

Hayatımın her alanında bana güç ve destek veren sevgili Yavuz'a,

Bu tezin hazırlık aşamasında ve tüm hayatım boyunca bana destek olan

AİLEME

teşekkür ederim.

Haziran 2012

Tuğba KARAMAHMUTOĞLU

İÇİNDEKİLER	
TEZ ONAYI	ii
BEYAN.....	iii
TEŞEKKÜR	iv
İÇİNDEKİLER	v
ÖZET.....	1
SUMMARY	2
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	3
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	4
TABLolar LİSTESİ.....	5
1. GİRİŞ ve AMAÇ	6
2. GENEL BİLGİLER.....	8
2.1. Epilepsinin Tanımı.....	8
2.2. Epilepsinin Sınıflandırılması.....	8
2.3. Absans Epilepsi	12
2.4. Temporal Lob Epilepsisi.....	12
2.4.1. Kindling Modeli.....	13
2.5. Gama-Hidroksibutirat (GHB)	13
2.5.1. GHB Reseptörleri.....	14
2.5.2. Kimyasal Absans Epilepsi Modeli Olarak GHB	15
2.5.2.1. GHB Modelinde DDD'nin Farmakolojik Karakteri	16
2.6. GABA	17
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	18
3.1. Hayvanlar	18
3.2. Cerrahi İşlem.....	18
3.3. Deney Protokolü	19
3.3.1. GBL Grubu.....	19
3.3.2. GBL+KI ve KI Grupları.....	19
3.4. Histolojik Doğrulama.....	20
3.5. İstatistiksel Analiz	20
4. BULGULAR.....	24
4.1. GBL Enjeksiyonunun Akut Etkisi (GBL Grubu).....	24

4.2. GBL Enjeksiyonunun Kronik Etkisi (GBL Grubu)	25
4.3. GBL+KI Grubunda GBL Deşarjları Üzerinde <i>Kindling</i> Etkisi.....	27
4.4. KI ve GBL+KI Gruplarında <i>Kindling</i> Gelişimi	29
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	32
KAYNAKLAR	37
ETİK KURUL KARARI	42
ÖZGEÇMİŞ.....	43

ÖZET

Giriş ve Amaç : Çalışmamızda, gama-hidroksibutiratın (GHB) ön ilacı olan gama-butirolakton (GBL) ile indüklenmiş kimyasal jeneralize absans epilepsi modelinde *kindling* gelişimine olan direnci inceledik.

Yöntem: Çalışmada kullanılan yetişkin Wistar sıçanlara, anestezi altında stereotaksik cerrahi yöntemi uygulanmış, GBL grubundaki hayvanlara, bilateral kortikal kayıt elektrotları, KI ve GBL+KI gruplarındaki hayvanlara buna ek olarak sağ bazolateral amigdalya bipolar uyarı elektrotu implante edilmiştir. GBL ve GBL+KI gruplarına, sabah ve akşam olmak üzere günde iki kez i.p. GBL enjeksiyonu uygulanmış, GBL+KI grubuna enjeksiyondan 20 dakika sonra art-deşarj eşiğinde uyarı verilmiştir. KI grubuna sabah ve akşam olmak üzere günde iki kez uyarı verilmiştir. GBL+KI ve KI gruplarına, Racine skalasına göre üç kez evre beş geçirene kadar uyarı verilmeye devam edilmiştir.

Sonuçlar: KI grubundaki hayvanlar, ortalama 15 uyarı aldıktan sonra evre 5'e ulaşırken, GBL+KI grubundaki hayvanlarda 27 uyarı sonrasında evre 5 nöbetleri görülmüştür. GBL+KI grubundaki hayvanların ilk jeneralize nöbetlerinin görülmesi için gerekli olan ortalama uyarı sayısı, KI grubundaki hayvanlar için gerekli olandan anlamlı derecede yüksek olduğu ortaya konmuştur. GBL grubundaki hayvanlarda, tekrarlayan enjeksiyonlarla birlikte, enjeksiyon yapılmadan geçen haftasonlarını takiben pazartesi sabahları enjeksiyon öncesi alınan bazal kayıtlarda spontan bilateral DDD'leri görülmüştür.

Tartışma: Kimyasal absans epilepsi modeli olan GHB'de *kindling* direncinin ortaya konmuş olması, bu direncin abnormal bir genetik altyapıya bağlı olmaksızın, absans epilepsinin kendi mekanizmalarından kaynaklanıyor olabileceği ortaya konmuştur.

Anahtar Kelimeler: Absans epilepsi, gama-hidroksibutirat, gama-butirolakton, *kindling*

SUMMARY

Gamma-butyrolactone induced Absence Epilepsy in Wistar Rats and Morphological Changes at the Brain in This Model

Objectives : We studied the resistance to the development of *kindling* in the chemical model of generalized absence epilepsy induced by gamma-butyrolactone (GBL), a prodrug of gamma-hydroxybutyric acid, excluding the effect of an abnormal genetic background.

Method: Three groups of adult wildtype male Wistar rats under anesthesia were implanted with bilateral cortical recording electrodes for the GBL group (GBL) and/or bipolar stimulation electrodes into the right basolateral amygdala for the *Kindling* group (KI) alone and GBL+*Kindling* group (GBL+KI). Rats in the KI and GBL+KI groups were stimulated twice daily at the afterdischarge threshold until they reached Racine's stage 5 seizure state. For the GBL+KI group the stimulation was 20 min after intraperitoneal (i.p.) injections of GBL. The GBL rats only received GBL i.p. twice daily over the course of 30 injections.

Results: The KI animals had stage 5 seizures after 15 stimulations, whereas the GBL+KI rats showed stage 5 seizures after 27 stimulations. The mean numbers of stimulations needed for the development of the first stage 3, 4 or 5 generalized seizures were significantly higher in the GBL+KI group than the KI group. By repeated GBL injections, GBL animals displayed spontaneous bilateral synchronous SWDs in the baseline EEG on the Monday morning session after the GBL-free weekend period.

Conclusion: We conclude that the resistance to amygdala *kindling* in the GBL model can be modulated by the absence seizure mechanism alone, without the intervention of an abnormal genetic background.

Key Words: Absence epilepsy, gamma-hydroxybutyric acid, gamma-butyrolactone, *kindling*

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AD	: Art-deşarj
ANOVA	: Analysis of variance
DDD	: Diken-ve-dalga deşarj
EEG	: Elektroensefalogram
GABA	: Gama-aminobutirik asit
GAERS	: Genetic Absence Epilepsy Rats from Starsbourg
GBL	: Gama-butirolakton
GHB	: Gama-hidroksibutirat
ILAE	: International League Against Epilepsy
MD	: Mediadorsal
PTZ	: Pentilen tetrazol
TRN	: Retiküler çekirdek
WAG/Rij	: Wistar Albino Glaxo from Rijswik
VPL	: Ventroposterolateral
VPM	: Ventroposteromedial

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. GBL, GBL+KI, KI gruplarına ait deney protokolünün şematik gösterimi.....	22
Şekil 2. Stereotaksik cerrahi işleminin temsili gösterimi.....	23
Şekil 3. Wistar sıçanlarda GBL enjeksiyonu sonrası sağ ve sol korteks bölgelerinden alınan EEG kaydında görülen DDD paterni örneği.....	24
Şekil 4. GBL grubunda 40 dakikalık periyod için ilk GBL enjeksiyonu sonrası kümülatif DDD Süresi.....	25
Şekil 5. 1., 2. ve 3. Haftasonunu takiben Pazartesi sabahı enjeksiyon öncesi spontan DDD ortalama süresi.....	26
Şekil 6. 1., 2. ve 3. Haftasonunu takiben Pazartesi sabahı enjeksiyon öncesi spontan DDD kümülatif süresi.....	26
Şekil 7. GBL grubunda 40 dakikalık enjeksiyon sonrası periyod için tekrarlayan enjeksiyonlarda kümülatif DDD sürelerindeki değişiklikler.....	27
Şekil 8. GBL+KI grubunda 40 dakikalık enjeksiyon sonrası periyod için tekrarlayan enjeksiyonlarda kümülatif DDD sürelerindeki değişiklikler.....	28
Şekil 9. GBL+KI ve KI gruplarında <i>kindling</i> gelişim evreleri.....	29
Şekil 10. GBL+KI ve KI gruplarında <i>kindling</i> ile indüklenen art-deşarj süreleri.....	30

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1: Epilepsi ve Epileptik Sendromların Sınıflandırılması ILAE 1981 (Comission 1981).....	9
Tablo 2 : Epilepsilerin ve Epileptik Sendromların Uluslararası Sınıflandırılması - ILAE 1989 (Comission 1989)	10
Tablo 3 : GBL+KI grubundaki hayvanlarda belirlenen AD eşik değeri.....	30
Tablo 4 : KI grubundaki hayvanlarda belirlenen AD eşik değeri....	30

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Absans epilepsi, elektroensefalogram (EEG)'da 3-4 Hz'lik diken-ve-dalga deşarjları (DDD) ile karakterize ve bilinç değişikliklerinin eşlik ettiği, idiyopatik, konvülsif olmayan bir epilepsi türüdür. Konvülsif olmayan nöbetlerle seyreden absans epilepsisinin patogenezinde kortiko-talamo-kortikal döngünün önemli rolü olduğu gösterilmiştir (Avoli and Gloor 1982, Avanzini et al 2000, Meeren et al 2002). Hayvan çalışmalarında kullanılan, genetik ve farmakolojik pek çok deneysel absans epilepsi modeli bulunmaktadır. Genetik sıçan modelleri olan GAERS (Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg) ve WAG/Rij (Wistar Albino Glaxo from Rijswijk) absans epilepsinin gelişmesinde rol oynayan mekanizmaları aydınlatmak üzere yaygın olarak kullanılmaktadır (Marescaux et al 1992, Coenen and van Luijtelaar 2003). Bu iki model de farmakolojik, morfolojik ve elektrofizyolojik olarak absans epilepsisinin özelliklerini yansıtır. Bunun yanında kimyasal maddelerle oluşturulan absans epilepsi modellerinden en yaygın olanları penisilin, düşük doz pentilen-tetrazol (PTZ), AY9944 (kolesterol sentez inhibitörü) ve gama-hidroksibutirat (GHB) modelidir.

Kindling, düşük şiddette tekrarlayan elektriksel ya da kimyasal uyarılar ile ortaya çıkan nöbetlerle karakterize, sekonder jeneralize temporal lob epilepsisi modeli olarak kabul edilmektedir (Goddard 1969). Genetik absans epilepsili (WAG/Rij ve GAERS) sıçanların, bir temporal lob epilepsisi olan elektriksel amigdala *kindling* modelinde limbik nöbetlerin sekonder jeneralizasyonuna dirençli oldukları gösterilmiştir (Eşkazan ve ark 2002, Onat ve ark 2005, Aker ve ark 2006). GAERS ve WAG/Rij modelleri, tipik absans epilepsinin iyi tanımlanmış modelleridir. Her iki model ile yapılan deneylerde, temporal lob nöbet gelişimine karşı direnç gözlenmiştir (Carcak ve ark 2008, Gurbanova ve ark 2008).

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda, temporal lob epilepsisine karşı geliştirilen direnç, genetik absans epilepsili sıçanlarda ortaya konmuştur. Genetik modeller dışında kalan absans epilepsi modellerinde *kindling*'e direncin ortaya konduğu bir çalışma mevcut değildir. Buradan hareketle, *kindling*'e karşı oluşan direncin, bu

modellerin genetik altyapısına mı bağılı olduğu, yoksa absans epilepsisinin kendi nöronal mekanizmaları ile mi ilgili olduğu sorusu ortaya çıkmaktadır.

GHB modeli, insanda görülen jeneralize tipik absans epilepsisinin EEG ve davranış karakteristiğine benzer özellikler gösterecek şekilde üretilebilen kimyasal absans epilepsi modelidir. GHB ön ilacı olan GBL'nin sistemik enjeksiyonu ile elde edilmektedir. Kan beyin bariyerini hızla geçmesi, etkisinin hızla ortaya çıkması gibi sebeplerle GHB yerine GBL kullanımı tercih edilmektedir.

Bu çalışmada, kimyasal absans epilepsi modeli olan GHB modeli oluşturulacak olan hayvanlarda *kindling* gelişimi gözlemlenmiştir. Genetik absans epilepsi modellerinde görülen *kindling* direncinin bu modelde de ortaya çıkıp çıkmadığı araştırılmış, bu yolla absans epilepsi modellerinde görülen *kindling* direncinin genetik altyapıdan bağımsız olup olmadığı ortaya konmuştur.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Epilepsinin Tanımı

Epilepsi sözcüğünün eski Yunancadaki “epilepsia” sözcüğünden türeyen ve nöbet anlamına gelen bir sözcük olduğu bilinmektedir. İngiliz nörolog Hughlings Jackson(1835-1911), epilepsiyi, serebral kortekste meydana gelen ani, düzensiz, hızlı, şiddetli deşarjlar olarak tanımlamıştır (Eadie 1995). Günümüzde bu tanım geçerliliğini korumaktadır. Epilepside nöbet tablosu kısa duyuşal deneyimlerden mikrosaniyelik bilinç kayıplarına, konvülsif status epileptikusa uzanan bir çeşitlilik göstermektedir. Etiyolojisi, tarihi, prognozu birbirinden farklıdır.

Epilepsi, beyindeki nöronların aşırı ve anormal deşarjları nedeniyle meydana gelen, kronik nöbetler ile karakterize bir bozukluktur. Epilepsi, parsiyel ya da tüm beyne etki edecek şekilde jeneralize olabilir.

2.2. Epilepsinin Sınıflandırılması

İnsanlık tarihi kadar eski olan epilepsi hastalığının sınıflandırılmasının tarihi de çok eskilere dayanmaktadır. M.Ö. 175’de Galen, idiyopatik ve semptomatik nöbetlerden söz etmiştir. Teknolojik gelişmelerin de ışığında süreç içerisinde bu sınıflandırmalar daha detaylı bir boyut kazanmıştır. Uluslararası Epilepsi ile Savaş Derneği’nin yeni bilgiler ışığında 1981 (Tablo 1) ve 1989 yılında (Tablo 2) yapmış olduğu sınıflandırmalar birbirini tamamlayıcı nitelikte olup her ikisi de güncelliğini korumaktadır. Sınıflandırmalar, klinik ve elektroensefalografik bulgular ışığında ortaya konmuştur (ILAE, 1981, 1989).

Tablo 1. Epileptik nöbetlerin klinik ve elektroensefalografik sınıflandırması (ILAE 1981)

I. Parsiyel (fokal) nöbetler
A. Basit parsiyel nöbetler (bilinç durumu bozulmaksızın)
1. Motor semptomlu (hareketlerle ilişkili bulgular söz konusudur)
2. Somatosensoryel veya özel duysal semptomlu
3. Otonomik semptomlu
4. Psşik semptomlu
B. Kompleks parsiyel nöbetler (bilinç bozukluğu ile giden)
1. Basit parsiyel başlangıcı izleyen bilinç bozukluğu
▪ Basit parsiyel başlangıcı izleyen bilinç bozukluğu
▪ Otomatizmlerle giden
2. Bilinç durumunun başlangıçtan itibaren bozulması
▪ Sadece bilinç bozukluğu ile giden
▪ Otomatizmlerle giden
C. Sekonder jeneralize nöbete dönüşen parsiyel nöbetler
1. Basit parsiyel nöbetin (A) jeneralize nöbete dönüşmesi
2. Kompleks parsiyel nöbetin (B) jeneralize nöbete dönüşmesi
3. Basit parsiyel nöbetin kompleks parsiyel nöbete dönüşmesi ve ardından jeneralize nöbete dönüşmesi
II. Jeneralize nöbetler (konvülfif veya konvülfif olmayan)
III.
1. Absans nöbetleri (dalma nöbetleri)
• Tipik absans nöbetleri
• Atipik absans nöbetleri
2. Miyoklonik nöbetler
3. Klonik nöbetler
4. Tonik nöbetler

5. Tonik-klonik nöbetler

6. Atonik nöbetler (astatik) (ani düşme nöbetleri)

IV. Sınıflandırılmayan epileptik nöbetler

Tablo 2. Epileptik nöbetlerin klinik ve elektroensefalografik sınıflandırması (ILAE 1989)

1. Lokalizasyona bağlı (fokal, lokal, parsiyel) epilepsiler ve sendromlar

1.1. İdiyopatik (yaşa bağlı başlangıç)

Sentrottemporal dikenli selim çocukluk çağı epilepsisi

Oksipital paroksizmlili çocukluk çağı epilepsisi

Primer okuma epilepsisi

1.2. Semptomatik

Temporal lob epilepsisi

Frontal lob epilepsisi

Pariyetal lob epilepsisi

Oksipital lob epilepsisi

Çocukluk çağının kronik progresif 'epilepsia parsiyalis continua'sı

Spesifik faktörlerle uyarılan nöbetlerle karakterize sendromlar

1.3. Kriptojenik

2. Jeneralize epilepsiler ve sendromlar

2.1. İdiyopatik (yaşa bağlı başlangıç-yaş sırasına göre sıralanmıştır)

Selim ailesel yenidoğan konvülsiyonları

Selim yenidoğan konvülsiyonları

Süt çocuğunun selim miyoklonik epilepsisi

Çocukluk çağı absans epilepsisi (piknolepsi)

Jüvenil absans epilepsisi

Jüvenil miyoklonik epilepsi (impulsif petit-mal)

Uyanırken gelen grand-mal nöbetli epilepsi

Diğer jeneralize idiyopatik epilepsiler

Belirli aktivasyon yöntemleriyle uyarılan epilepsiler

2.2. Kriptojenik veya semptomatik (yaş sırasına göre)

West sendromu

Lenox-Gastaut sendromu

Miyoklonik astatik nöbetli epilepsi

Miyoklonik absanslı epilepsi

2.3. Semptomatik

2.3.1. Nonspesifik etiyoloji

Erken miyoklonik ensefalopati

Supresyon “burst”lü erken infantil epileptik ensefalopati

Diğer semptomatik jeneralize epilepsiler

2.3.2. Spesifik sendromlar

3. Fokal ya da jeneralize olduğu belirlenemeyen epilepsiler

3.1. Jeneralize ve fokal konvülsiyonlu epilepsiler

Yenidoğan konvülsiyonları

Süt çocuğunun ağır miyoklonik epilepsisi

Yavaş dalga uykusu sırasında devamlı diken-dalgalı epilepsi

Edinsel epileptik afazi (Landau-Kleffner sendromu)

Diğer belirlenemeyen epilepsiler

3.2. Net jeneralize ya da fokal konvülsiyon özelliği olmayanlar

4. Özel durumlar

4.1. Duruma bağlı nöbetler

Febril konvülsiyonlar

İzole nöbet ya da izole status epileptikus

Akut metabolik veya toksik nedenlere bağlı nöbetler

2.3. Absans Epilepsi

Absans epilepsi, elektroensefalogram (EEG)'da 3-4 Hz'lik diken-ve-dalga deşarjları (DDD) ile karakterize ve bilinç değişikliklerinin eşlik ettiği, idiyopatik, konvülsif olmayan bir epilepsi türüdür.

Genetik sıçan modelleri olan Strasbourg kökenli genetik absans epilepsili sıçanlar (Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg, GAERS) ve Rijswijk kökenli Wistar Albino sıçanlar (Wistar Albino Glaxo from Rijswijk, WAG/Rij) absans epilepsi gelişiminde rol oynayan mekanizmaları aydınlatmak için yaygın olarak kullanılmaktadır (Marescaux 1992). Bu iki modelde farmakolojik, morfolojik ve elektrofizyolojik olarak absans epilepsisinin özelliklerini yansıtır (Depaulis and van Luijtelaar 2006). Bu hayvanların EEG'sinde spontan, bilateral, 7-11 Hz frekansında ve 1-30 saniye süreli diken-ve-dalga deşarjlar ve eşlik eden spesifik davranış biçimi (donakalma, dalma, bıyık hareketleri) görülmektedir. Spontan diken-ve-dalga deşarjlar, absans epilepside EEG'nin karakteristik bulgusudur (Huguenard 2000). Bu aktivite, yüksek voltajlı diken ve onu takip eden yavaş dalga komponentinden ibarettir. Diken dalga deşarjının diken komponenti eksitator postsinaptik potansiyelleri, dalga komponenti ise inhibitör postsinaptik potansiyelleri temsil etmektedir (Gloor and Fariello 1998).

Konvülsif olmayan nöbetlerle seyreden absans epilepsisinin patogeneğinde kortiko-talamo-kortikal döngünün önemli rolü olduğu gösterilmiştir (Avoli and Gloor 1982, Avanzini et al 2000, Meeren et al 2002).

2.4. Temporal Lob Epilepsisi

Temporal lob epilepsisi, tek ya da çift taraflı temporal lobdan kaynaklanan, tekrarlayan nöbetlerle karakterize fokal epilepsi türüdür. Temporal lob epilepsisinde nöbetler, basit ve kompleks parsiyel nöbetler şeklinde olabilir. Basit parsiyel nöbetler somatosensöriyel otonomik semptomlarla karakterize iken kompleks parsiyel nöbetlerde bu duruma ek olarak bilincin kaybolması vardır. Sekonder jeneralize olduğunda davranışsal olarak tonik klonik nöbetler görülür.

2.4.1. *Kindling* Modeli

Kindling elektriksel ya da kimyasal, düşük şiddetli, tekrarlanan uyarılar ile ortaya çıkan nöbetlerle karakterize, sekonder jeneralize temporal lop epilepsisi modelidir. *Kindling* modeli; özellikle limbik yapılara elektriksel yanıt (art-deşarj) oluşturacak eşik şiddetinde ya da eşik şiddetinin üzerinde elektriksel ya da kimyasal bir uyarının tekrarlanarak uygulanması, tekrarlanan uyarılar ile EEG’de progresif olarak art-deşarjların (AD) uzaması ve yayılması, son olarak jeneralize konvülsif motor nöbetlerin ortaya çıkması esasına dayanır. *Kindling* modeli, nöbetin ortaya çıkışı, gelişimi ve sürdürülmesinin kontrol edilebilir, indüklenen konvülsif paternin kolayca tanımlanabilir, tekrarlanabilir, sıklık ve süre bakımından kolaylıkla ölçülebilir olması nedenlerinden ötürü ideal bir deneysel hayvan modeli olarak kabul edilmektedir. Bu modelde tekrarlanan uyarılar, EEG’de gözlemlenen AD’lerin büyüyerek keskin deşarjların ortaya çıkması ile birlikte davranışsal olarak da nöbet gelişimine neden olur. Bu davranışsal nöbetler sıçanlarda 5 döneme ayrılır (Racine 1972). Davranışsal olarak nöbet gelişimine bakıldığında; başlangıçta “dona kalma” davranışını (evre 0), çiğneme hareketleri, yüz ve bıyık hareketleri, kafa sallama hareketi izler (evre 1-2). Motor nöbetlerin başlaması ile birlikte sırasıyla ön ekstremiter klonusu (evre 3), şaha kalkma davranışı, ön ekstremitelerde klonus (evre 4), yere düşme, denge kaybı ve tonik klonik kasılmalar (evre 5) görülür.

2.5. Gama-hidroksibutirat

Gama-hidroksibutirat (GHB), ilk olarak yaklaşık elli yıl önce, kan beyin bariyerini rahatça geçebilen bir gama aminobütirik asit (GABA) analogu bulmak amacıyla sentezlenmiştir. Yapılan ilk çalışmalarda, sedasyon veya anestezi oluşturmak için çok yüksek miktarlarda eksojen GHB gerekli olmasına rağmen, bu maddenin farmakolojik özelliklerinin genel GABAerjik etkiye benzediği görülmüştür (Laborit 1973). Daha sonraları, farklı memeli türlerinde mikromolar konsantrasyonda GHB'nin fizyolojik olarak varlığı çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (Roth and Giarmann 1969). Başta GHB'nin fonksiyonel rolünden çok farmakolojik ve terapötik kullanımı üzerine odaklanılmıştır. Bu zamana dek, bu etkileri destekleyen

mekanizmalar tam olarak anlaşılammıştır, fakat endojen GHB'nin nöromodülatör/nöroregulatör rolünü destekleyen veriler mevcuttur.

GHB'nin tüm beyin bölgelerinde bulunduğu çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur. Erişkin bir sıçan beyinde, frontal kortekste yaklaşık 0,4 mikromolar, hipokampusta 1,2 mikromolar, striatumda 1,8 mikromolar ve substansia nigrada 4,6 mikromolar seviyelerinde olduğu gösterilmiştir. İnsan ve maymunda, beyinde GHB seviyesi en yüksek değerine 11-25 mikromolar ile striyatuma ulaşmaktadır. Gelişmekte olan bir beyinde, GHB seviyesinin yetişkin beyinde olandan daha yüksek seviyede olduğu saptanmıştır. Sıçanda en yüksek GHB seviyesi immatür hipotalamus ve korteks yapılarında bulunmuştur (Maitre 1997). Yapılan deneylerde, beyin yanısıra sıçan periferel organlarında da GHB saptanmıştır.

2.5.1. GHB Reseptörleri

GHB'nin beyinde iki reseptör tipinde agonist rol oynadığı düşünülmektedir. İlk yapılan çalışmalar, GHB'nin substansiya nigradaki inhibitör etkisinin, GABA_A reseptör antagonisti olan bikukulin ile bloke olmadığını göstermiştir (Olpe et al 1979). Sonraki çalışmalarda, GHB'nin hipokampal ve talamokortikal nöronlardaki inhibitör etkisinin GABA_B reseptör antagonistleri ile azaldığı ortaya konmuştur (Xie et al 1992) Bu çalışmalar, GHB'nin inhibitör etkisini sağlamada GABA_B reseptörlerinin GABA_A'dan daha önemli rol oynadığına kanıt oluşturmuştur. Ek olarak, GHB, GABA'ya metabolize olduğundan GABA_C'nin de, GHB'nin belirli etkilerine aracılık edebileceği düşünülmüştür.

GABA_B reseptörleri etkisini G proteinleri üzerinden gösteren, bu yolla GABA'nın inhibitör etkisine yol açan reseptörlerdir (Bowery 2000). GHB'nin GABA_B reseptörlerine selektif, fakat zayıf bağlandığı gösterilmiştir (Mathivet et al 1997). GHB'nin GABA_B reseptör agonisti olduğu gösterilmiştir, bununla birlikte bu bölge için GABA'dan daha düşük afiniteye sahiptir. Bu sebeple, GHB'nin belirli farmakolojik etkilerinin bu reseptör ile olan bağlantısından dolayı olduğu düşünülebilir. GHB tarafından GABA_B aktivasyonu hiperpolarizasyona yol açar, bunun esası K⁺ iyonlarının nöron dışına çıkmasıdır (Lorente et al 2000). Yapılan bir çalışmada, hem GHB, hem de GABA_B reseptör agonisti baklofenin, üç kompetitif GABA_B reseptör antagonisti tarafından tamamen bloke edildiği ortaya konmuştur.

Bununla birlikte GHB'nin fizyolojik etkileri GABA_B reseptörleri aracılığıyla olmayabilir. Farklı tip bir GHB reseptör bölgesinin fonksiyonu, beyinde endojen GHB'nin etkilerine aracılık etmek olarak ortaya koyulabilir.

GHB'nin aktive ettiği ikinci reseptör tipi GHB reseptörleri olarak bilinir. Yaklaşık yirmi yıl önce, sıçan serebral korteksinin membranında [³H]GHB için yüksek afiniteli bağlanma bölgeleri gösterilmiştir (Benavides et al 1982).

[³H]GHB için iki farklı bağlanma bölgesinin varlığının izlendiği başka bir çalışma da mevcuttur (Snead et al 1984). Bu çalışmada sıçan beyni homojenatında yüksek afiniteli ve düşük afiniteli bölgeler tesbit edilmiştir. G proteinleri üzerinden etki gösteren GHB reseptörleri presinaptik olarak bulunur ve GABA_B reseptörlerinden farklıdır (Snead 2000).

2.5.2. Kimyasal Absans Epilepsi Modeli olarak GHB

Gama hidroksibutirat (GHB) bir GABA metabolitidir (Roth and Giarman 1969, Gold and Roth 1977, Snead et al 1989). GHB, hayvanlara verildiği zaman, elektrografik ve davranışsal olarak insanda görülen jeneralize absans nöbetlere benzer özellikte nöbetler oluşturur. İnsanda tipik absans nöbetler, aniden bilincin kaybolması, fiziksel ve mental aktivitenin durması ve EEG'de davranışa eşlik eden simetrik bilateral 3 Hz frekansında diken-ve-dalga deşarjlarla (DDD) karakterizedir (Panayiotopoulos 1997).

Jeneralize absans nöbet modeli geliştirilirken dikkat edilmesi gereken bazı belli başlı kriterler vardır. Model, hastalığın klinik ve farmakolojik karakteristiklerini yansıtmasının yanısıra, üretilebilir, öngörülebilir, aynı zamanda standardize edilebilir olmalıdır. Aynı zamanda hem klinikte hem de deneysel modellerde nöbetlerin GABA agonistleri ile şiddetlendiği gerçeğini de yansıtmalıdır.

Hayvan çalışmalarında kullanılan, genetik ve farmakolojik pek çok deneysel absans epilepsi modeli bulunmaktadır. Genetik sıçan modelleri olan GAERS (Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg) ve WAG/Rij (Wistar Albino Glaxo from Rijswijk) absans epilepsinin gelişmesinde rol oynayan mekanizmaları aydınlatmak üzere yaygın olarak kullanılmaktadır (Marescaux et al 1992, Coenen

and van Luijtelaar 2003). Bunun yanında kimyasal maddelerle oluşturulan absans epilepsi modellerinden en yaygın olanları penisilin, düşük doz pentilen tetrazol (PTZ), AY9944 (kolesterol sentez inhibitörü) ve gama-hidroksibutirat (GHB) modelleridir.

GHB ile indüklenmiş absans nöbet modeli kedilerde, maymunlarda ve sıçanlarda iyi tarif edilmiştir (Snead et al 1976, Godschalk et al 1977, Snead 1978 a, b, 1988, Bearden et al 1980). Deneysel çalışmalarda kullanılmak üzere GHB'nin uygulanması ile hayvanlarda oluşturulan absans epilepsi modelinde GHB yerine, önilacı olan gama-butirolakton (GBL) kullanımı tercih edilir. GHB uygulanan hayvanlarda, uygulamadan sonraki 20 dakikaya kadar elektroensefalografik olarak bir değişiklik görülmezken, GBL enjeksiyonu sonrası birkaç dakika içinde EEG kaydında bilateral senkronize diken dalga deşarjları ortaya çıkar. Kan beyin bariyerini hızla geçmesi, etkisinin hızla ortaya çıkması gibi sebeplerle GHB yerine GBL kullanımı tercih edilir. GBL'nin intraperitoneal uygulanmasından sonraki 2-5 dakika içinde bilateral senkronize diken dalga deşarjları ortaya çıkar, frekansı 7-9 c/s'dir. EEG'deki bu değişiklikleri takiben davranışsal olarak donakalma, yüz kasılmaları, bıyık titremeleri görülür. Dolayısıyla bu model davranışsal ve elektroensefalografik olarak insanda görülene benzer özellikler sergilemektedir.

2.5.2.1. GHB Modelinde DDD'nin Farmakolojik Karakteri

GHB modelinin teröpatik karakteri diğer genetik veya farmakolojik modellerle aynıdır. GHB modelinde; insan absans epilepsi tedavisinde etkili dört ana antiepileptik ilaç tarafından DDD'ler baskılanırken, tedavide etkisiz iki ilaç DDD'leri artırmıştır (Godschalk et al 1976; Snead 1978 a,b, 1988). Jeneralize absans nöbetler, farmakolojik olarak, etosüksimid, trimetadion, valproik asit ve benzodiazepinlere yanıt verirken; fenitoin, barbiturat ya da karbamazepinlere karşı dirençlidir (Snead et al 1999). Ayrıca; absans nöbet modeli olan PTZ ve penisilin GHB modelini şiddetlendirirken (Snead 1988), GHB ve GBL verilmesi de genetik bir model olan GAERS modelini (Depaulis et al 1988) ve PTZ modelini (Snead 1988) şiddetlendirir.

2.6. GABA

GABA, merkezi sinir sistemindeki en önemli inhibitör nörotransmitterlerden biridir. Yaklaşık elli yıl kadar önce GABA'nın santral sinir sisteminde inhibitör etkili nörotransmitter olduğu ortaya konmuştur (Rabow et al 1995). GABA, beyin ve omurilikte yüksek konsantrasyonda bulunurken, periferal sinir dokusunda çok az bulunmaktadır.

GABA, GABAerjik sinir uçlarında glutamik asidin dekarboksillenmesi ile sentezlenir. Bu olayı glutamik asit dekarboksilaz (GAD) enzimi katalizler. GABA, sitoplazma içinde kendine özgü veziküllerde toplanır. Sinir ucu depolarize edildiğinde parsiyel ekzositoz ile salıverilir. Sinaps aralığına salıverilen GABA'nın inaktivasyonu, esas olarak salıverildiği uca geri alım (re-uptake) ve kısmen difüzyon yoluyla olur. Bu olaylar, hücre membranında bulunan yüksek ve düşük afiniteli iki transportör tarafından gerçekleştirilir. Düşük afiniteli geri alım mekanizması, sadece sinapta GABA konsantrasyonu aşırı miktarda olduğunda çalışır. Sitoplazmaya geçen GABA, GABA transaminaz (GABA-T) enzimi tarafından süksinik semialdehid'e yıkılır; inaktif olan bu madde trikarboksilik asit siklusuna girer ve GABA öncülü olan glutamik aside dönüşür. GABA, GABA reseptörlerini aktive ederek hiperpolarizasyon ve buna bağlı postsinaptik ve presinaptik inhibisyon yapar. GABA santral sinir sisteminde farklı transformasyonlara da uğrar. Bunlardan biri de süksinik semialdehidin gama-hidroksibutirata (GHB) dönüşmesidir. GHB tekrar GABA'ya dönüşebilir. Süksinik semialdehid, dehidrogenaz eksikliğinde semialdehid süksinik aside dönüşmediğinden GHB düzeyi artar ve mental, motor retardasyon, hipotoni ataksi ortaya çıkar.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Hayvanlar

Çalışmamızda 4-5 aylık, erkek, 300-400 gram ağırlığında Wistar sıçanlar kullanılmıştır. Hayvanlar, 12'şer saat aydınlık-karanlık döngüsüne uygun olarak sabit ısı (20±4°C) bir odada standart laboratuvar sıçan yemi ve şebeke suyu ile yiyecek ve içecek alımları serbest bırakılarak barınma koşulları sağlanmıştır. Tüm hayvanlar cerrahi işlemlerden sonra her kafeste bir hayvan olacak şekilde tutulmuştur. Deney protokolü Marmara Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Çalışmada yer alan hayvanlar, üç ayrı gruba ayrılmıştır; birinci grupta sadece GBL enjeksiyonu uygulanan hayvanlar (GBL, n=20); ikinci grupta GBL enjeksiyonu uygulanan ve uyarı verilen hayvanlar (GBL+KI, n=6); üçüncü grupta sadece uyarı verilen hayvanlar (KI, n=10) yer almıştır.

3.2. Cerrahi İşlem

Cerrahi işlemler, tüm deney gruplarındaki sıçanlara intraperitoneal (i.p.) 100 mg/kg ketamin ve 10 mg/kg ksilazin anestezisi altında gerçekleştirilmiştir. Anestezinin derinliği kornea ve pençe refleksleri ile kontrol edildikten sonra, stereotaksi aletine (Stoelting, model 51600, A.B.D.) bregma ve lambda noktaları aynı düzlemde olacak şekilde yerleştirilmişlerdir. Sıçanların kafaları, kulak delikleri ve ön dişlerinden, sabitleme çubukları aracılığı ile stereotaksi aletine sabitlenerek, kafa derisi üzerindeki tüyler tıraş edilmiş, deri, antiseptik solüsyon ile silindikten sonra orta hattın bir insizyonla açılıp periost kaldırılarak kafatası kemikleri, lambda ve bregma noktaları ortaya çıkartılmıştır. Hayvanların kafatasına bilateral olarak frontal ve temporal kemiklere 1 mm çapında delikler açıldıktan sonra kayıt elektrotu olarak kullanılan vidalar takılmıştır. Vida elektrotlar kablolar ile mini konnektöre lehimlenmiştir. GBL+KI, KI grupları için bipolar plastic's one uyarı elektrotları (Roanoke, VA, USA, MS303/1), sıçan beyin atlası kullanılarak (Paxinos ve Watson 1998) belirlenen koordinatlara göre hesaplanmış ve Bregma referans "0" noktası kabul edilerek sağ bazolateral amigdalya (BLA) yerleştirilmiştir (BLA için

stereotaksik koordinatlar: AP -2,6 mm, L 4,8mm, V -8,5 mm) (Paxinos and Watson, 1998). Elektrotlar dışında 2 adet sabitleme vidası yerleştirildikten sonra soğuk dental akrilik yardımıyla kafatasına sabitlenmiştir (Şekil 2).

Cerrahi işlemler sonrasında hayvanların genel durumu 1 haftalık dinlenme dönemi boyunca takip edilmiştir. Cerrahiden sonra sıvı kaybını önlemek için ise cilt altına % 0.9 NaCl (vücut ağırlığının her 100 gramı başına 2,5 ml) çözeltisi enjekte edilmiştir.

3.3. Deney Protokolü

Hayvanlar 1 haftalık iyileşme periyodundan sonra deneyler süresince Pleksiglas kafeslere konularak, kafalarındaki mikrokonektörler, kablolar aracılığı ile EEG kayıt sistemine bağlanmıştır. Bir süre uyum dönemi sonrasında, yirmi dakikalık bazal EEG kaydı (PowerLab 8S, ADI Instruments, İngiltere) alınmıştır. Her GBL enjeksiyonu öncesi ve sonrasında, KI ve GBL+KI hayvanlarına uyarı eşiklerinde verilen her elektriksel *kindling* uyarısı esnasında korteks ve/ veya BLA elektriksel aktiviteleri kaydedilmiştir. Korteks ve BLA elektriksel aktiviteleri BioAmp ML136 ile amplifiye edilmiştir. Sigma'dan temin edilen GBL solüsyonu (St Louis, U.S.A) i.p enjeksiyon için salin ile seyreltilerek hazırlanmıştır. GBL ve GBL+KI grupları için GBL dozu, literatür bilgilerine dayanarak 100mg/kg olarak belirlenmiştir (Snead, 1988; Snead 1991).

3.3.1. GBL Grubu

GBL grubundaki hayvanlara, üç hafta boyunca günde iki kez olmak üzere toplam otuz kez, pazartesten cumaya kadar GBL enjeksiyonu uygulanmıştır. Her enjeksiyon öncesi 20 dakika, sonrasında 40 dakika olmak üzere kayıt alınmıştır. Spontan DDD'ları görüntülemek amacıyla, işlem yapılmadan geçen haftasonlarını takiben pazartesi sabahları enjeksiyon öncesi 40 dakika bazal kayıt alınmıştır.

3.3.2. GBL+KI ve KI Grupları

GBL+KI ve KI gruplarında, bazolateral amigdalaya (BLA) yerleştirilen elektrotlar aracılığıyla uyarı verilerek art-deşarj (AD) eşiği belirlenmiştir (monofazik, 80 Hz, 1 ms atım hızında, 2 saniye boyunca). AD eşiği belirlemek amacıyla, uyarı vermeye 50µA ile başlanmış, EEG'de AD eşik değeri görülene kadar 50µA'lık

artışlarla uyarı verilmeye devam edilmiştir. AD eşik değeri belirlendikten sonra, GBL+KI ve KI gruplarına günde iki kez eşik değerinde uyarı verilmiştir. GBL+KI grubundaki hayvanlara her periyotta GBL enjeksiyonu yapıldıktan yirmi dakika sonra uyarı verilmiştir. Hayvanların her uyarıdan sonra ortaya çıkan davranış yanıtları *kindling* için tanımlanan skalaya göre (Racine 1972) değerlendirilmiştir. Bu skalaya göre üç kere evre 5 nöbet geçiren hayvanlar '*kindled*' olarak kabul edilerek ve *kindling* deneyine son verilmiştir. *Kindling* nöbetinin yetişkin sıçandaki gelişme evreleri şu şekildedir: Başlangıçta tipik "dona kalma" davranışını (Evre 0), yüzde seyirmeler, çiğneme ve kafa sallama hareketi izler (Evre 1 ve 2). Bu modelin gelişme sürecini motor nöbetlerin başlaması (Evre 3) ve jeneralize nöbetlerin oluşması (Evre 4 ve 5) izler. Peşpeşe üç kez evre 5 nöbet geçiren bir hayvan *kindled* olmuş sayılır ve bu etki kalıcıdır (Pinel and Rowner 1978, Wada et al 1979). GBL+KI grubundaki hayvanlardan, GBL enjeksiyonu öncesi ve sonrasında yirmi dakika, uyarı sonrasında yirmi dakika olmak üzere EEG kaydı alınmıştır. KI grubundaki hayvanlardan ise verilen uyarı esnasında korteks ve amigdaladan EEG kaydı alınmıştır.

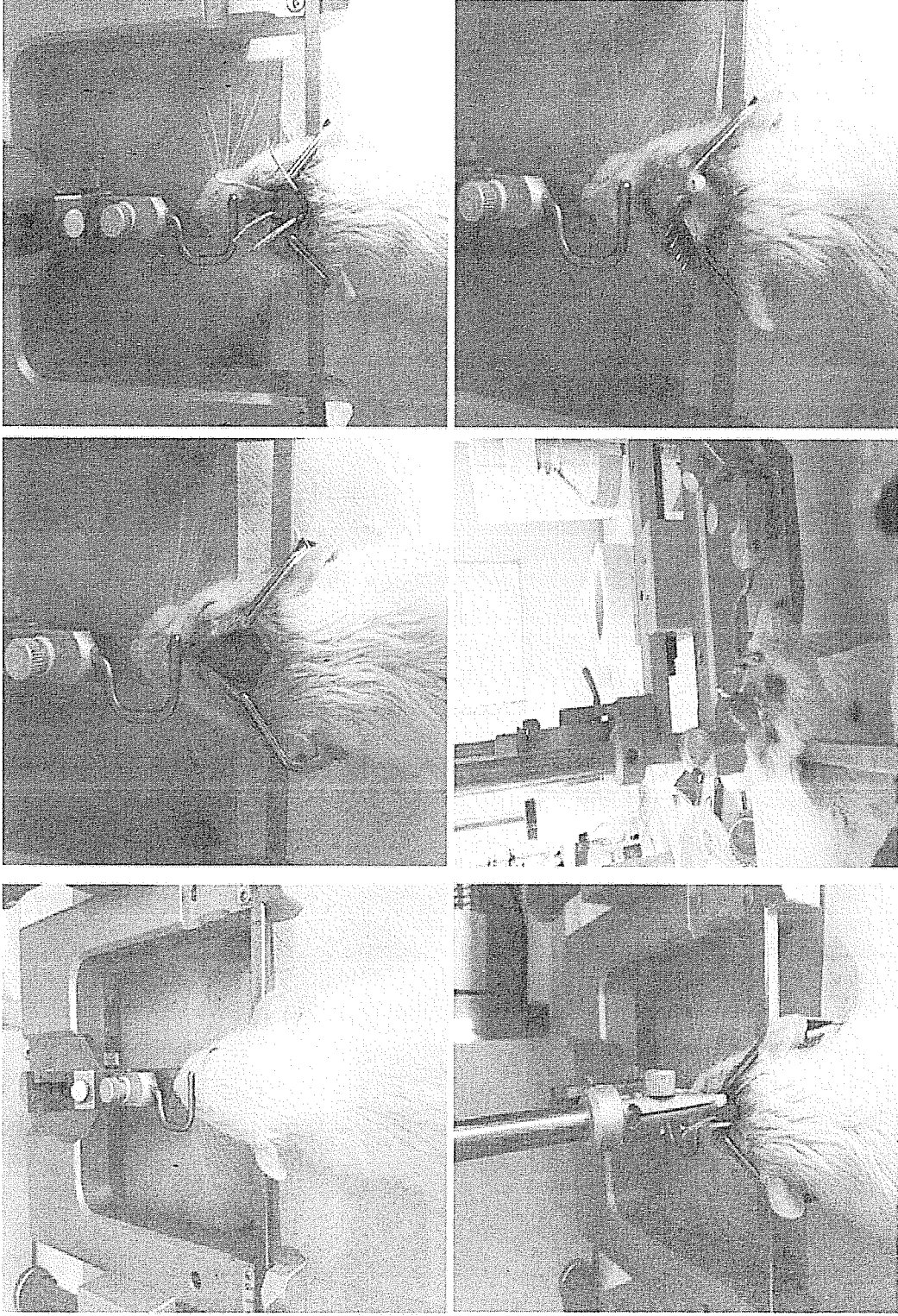
3.4. Histolojik Doğrulama

Deneyler tamamlandıktan sonra, GBL+KI ve KI grubundaki hayvanlara, elektrotların hedeflenen beyin bölgelerine yerleşip yerleşmediğinin doğrulanması amacıyla, sıçanlar sodyum tiyopental anestezisi uygulanarak dekapite edilmiş, beyinleri çıkartılmıştır. Çıkarılan beyinler % 20'lik sükröz içeren % 4'lük formalin solüsyonu içinde bekletilmiş ve soğutmalı kriyostatda (Mikrom, Almanya) 40 µm kalınlığında koronal olarak kesilmiştir. İnce koronal beyin kesitleri jelatinli lamaların üzerine alınmış, tiyonin ile boyanarak ışık mikroskopunda incelenmiştir. Sadece elektrot yerleşimi doğru olan hayvanlar değerlendirmeye alınmış, uygun olmayanlar çalışma dışı bırakılmıştır.

3.5. İstatistiksel Analiz

Çalışmanın verileri istatistiksel olarak, tekrarlayan ölçümlerde varyans analizi (ANOVA) uygulanarak değerlendirilmiş, ortalama± standart sapma olarak ifade edilmiştir. İlk GBL enjeksiyonu sonrası DDD'ların kümülatif sürelerinin, buna ek olarak birinci, ikinci, üçüncü haftasonlarını takiben ortaya çıkan spontan DDD'ların ortalama ve kümülatif sürelerinin analizinde tek yönlü ANOVA ve Bonferroni

posthoc testi kullanılmıştır. GBL+KI ve KI gruplarında ortaya çıkan *kindling* gelişim evreleri, bunun yanında *kindling* ile indüklenen art-deşarj süreleri analiz edilirken çift yönlü ANOVA ve Bonferroni posthoc testinden yararlanılmıştır. İstatistiksel olarak anlamlılık derecesi $p<0,05$ olarak kabul edilmiştir.

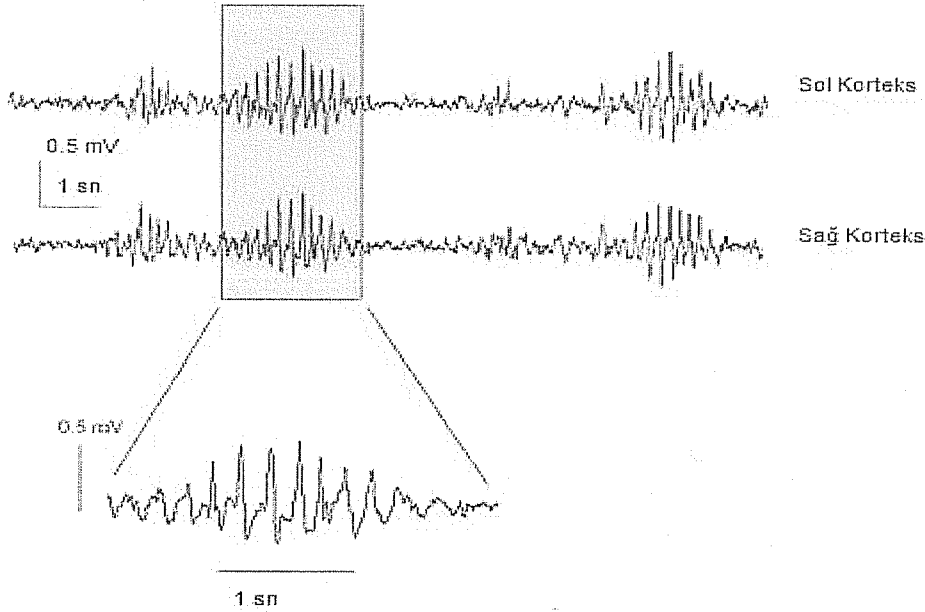


Şekil 2. Stereotaksik cerrahi işleminin temsili gösterimi

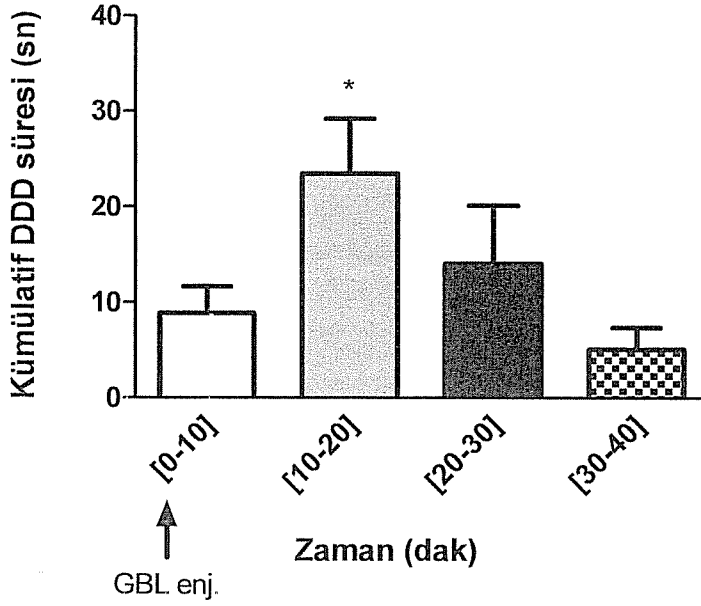
4. BULGULAR

4.1. GBL Enjeksiyonunun Akut Etkisi (GBL grubu)

GBL enjeksiyonu uygulanan hayvanlarda, enjeksiyonu takiben hızlı bir şekilde kortikal EEG kaydında bilateral senkronize deşarjlar ve buna eşlik eden dona kalma, dalma, bıyık hareketleri görüldü. DDD'ları ilk enjeksiyondan $3,3 \pm 1,25$ dakika sonra ortaya çıktı (Şekil 3), 20 dakika içinde en yüksek süre ve sayıya ulaştı (Şekil 4). DDD'ları, tekrarlayan enjeksiyonlarla birlikte, düzenli, artan ve azalan ritmik bir yapıya ulaştı.



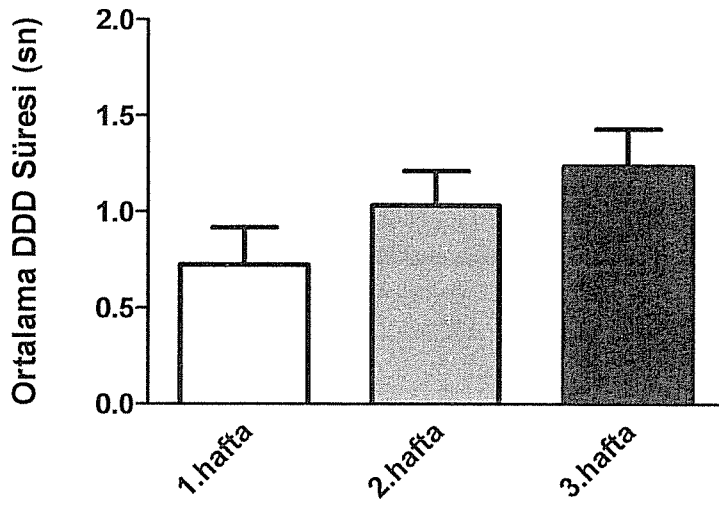
Şekil 3. Wistar sıçanlarda GBL enjeksiyonu sonrası sağ ve sol korteks bölgelerinden alınan EEG kaydında görülen DDD paterni örneği



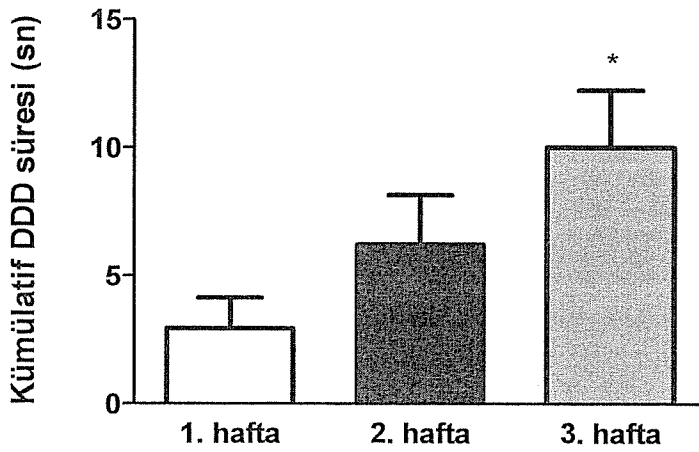
Şekil 4. GBL grubunda 40 dakikalık periyod için ilk GBL enjeksiyonu sonrası kümülatif DDD Süresi. Analizler tek yönlü ANOVA ve post-hoc Bonferroni çoklu karşılaştırma testi ile ortaya kondu (* $p < 0.05$).

4.2. GBL Enjeksiyonunun Kronik Etkisi (GBL grubu)

Tekrarlayan enjeksiyonlarla birlikte, enjeksiyon yapılmadan geçen haftasonlarını takiben pazartesi sabahları enjeksiyon öncesi alınan bazal kayıtlarda spontan bilateral DDD'ları görüldü. Üç haftalık deney protokolü süresince spontan DDD'larının kümülatif ve ortalama sürelerinde birinci haftadan üçüncü haftaya doğru artış gözlemlendi (Şekil 5, 6). Tek yönlü ANOVA kullanılarak yapılan istatistiksel analizde spontan DDD'lerin kümülatif sürelerinde üçüncü haftada anlamlı artış görüldü (* $p < 0,05$).



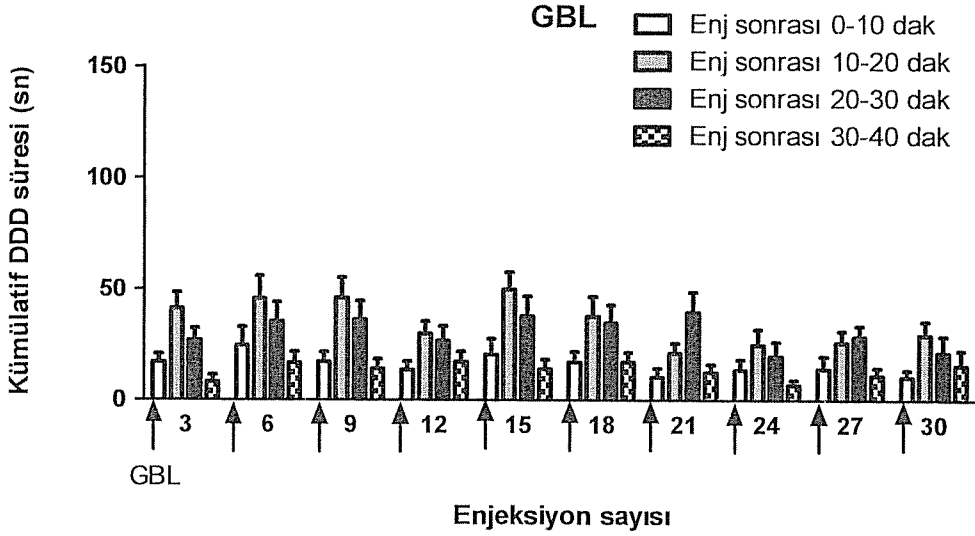
Şekil 5. 1., 2. ve 3. haftasonunu takiben Pazartesi sabahı enjeksiyon öncesi spontan DDD ortalama süresi



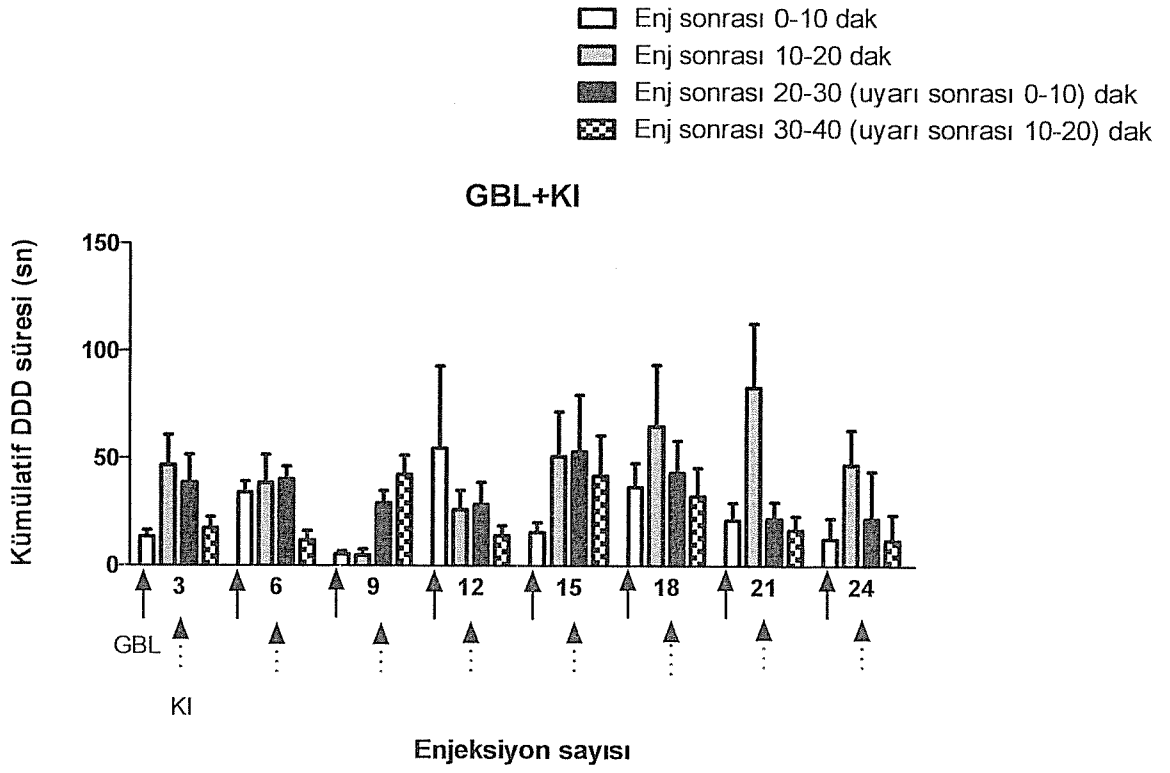
Şekil 6. 1., 2. ve 3. haftasonunu takiben Pazartesi sabahı enjeksiyon öncesi spontan DDD kümülatif süresi. Analizler tek yönlü ANOVA ve post-hoc Bonferroni çoklu karşılaştırma testi ile ortaya kondu (* $p < 0,05$).

4.3. GBL+KI Grubunda GBL Deşarjları Üzerinde *Kindling* Etkisi

GBL+KI grubunda, birinci GBL enjeksiyonu (akut uygulama) sonrası DDD kompleksi $3,6 \pm 1,30$ dakika sonra ortaya çıktı. GBL grubunda, birinci enjeksiyon sonrası ilk DDD, $4,8 \pm 1,25$ dakika sonra görüldü. İki grup arasında akut uygulama sonrasında DDD görülme süresi benzerlik gösterdi. GBL grubunda tekrarlayan enjeksiyonlar sonrası 30. enjeksiyona gelindiğinde, enjeksiyon sonrası ilk DDD görülme süresi arttı ve $12,1 \pm 3,8$ dakikaya ulaştı.



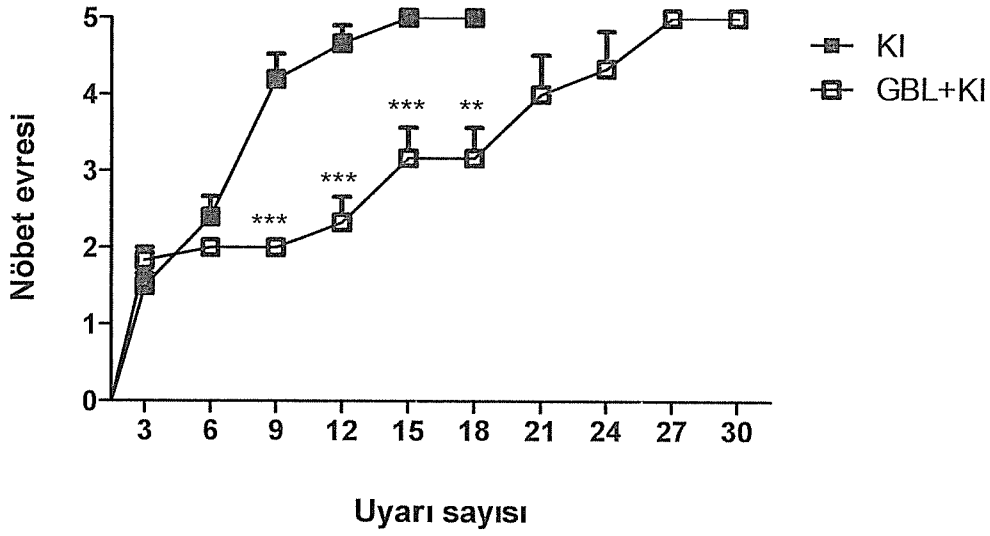
Şekil 7. GBL grubunda 40 dakikalık enjeksiyon sonrası periyod için tekrarlayan enjeksiyonlarda kümülatif DDD sürelerindeki değişiklikler



Şekil 8. GBL+KI grubunda 40 dakikalık enjeksiyon sonrası periyod için tekrarlayan enjeksiyonlarda kümülatif DDD sürelerindeki değişiklikler

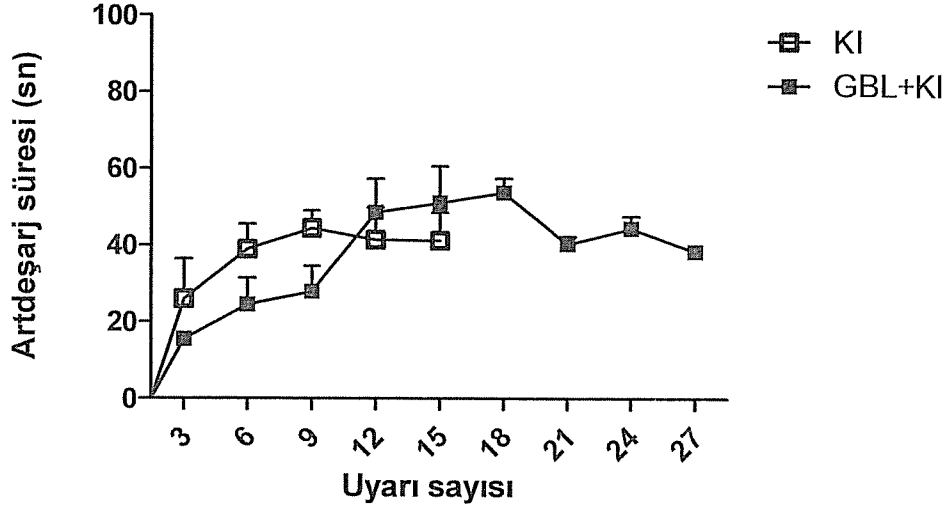
4.4. KI ve GBL+KI Gruplarında *Kindling* Gelişimi

KI ve GBL+KI gruplarındaki tüm hayvanlar evre 5'e ulaştı. KI grubundaki hayvanlar, ortalama 15 uyarı aldıktan sonra evre 5'e ulaşırken, GBL+KI grubundaki hayvanlarda 27 uyarı sonrasında evre 5 nöbetleri görüldü (Şekil 9). İki grup arasında 12, 15 ve 18. uyarılar ile ortaya çıkan nöbet evreleri bakımından anlamlı farklılık gözlemlendi.



Şekil 9. GBL+KI ve KI gruplarında *kindling* gelişim evreleri. Analizler çift yönlü ANOVA ve post-hoc Bonferroni çoklu karşılaştırma testi ile ortaya kondu (**p<0.01, ***p<0.001).

GBL+KI ve KI gruplarında *kindling* ile indüklenen art-deşarj sürelerinin karşılaştırmak üzere çift yönlü ANOVA ve post-hoc Bonferroni çoklu karşılaştırma testi uygulandı. İki grup arasında art-deşarj süreleri açısından anlamlı bir farklılık gözlenmedi.



Şekil 10. GBL+KI ve KI gruplarında *kindling* ile indüklenen art-deşarj süreleri

Tablo 3. GBL+KI grubundaki hayvanlarda belirlenen AD eşik değeri

Hayvan adı	AD Eşığı
NGBL#63	150
NGBL#72	75
NGBL#73	100
NGBL#87	250
NGBL#91	100
NGBL#110	150

Tablo 4. KI grubundaki hayvanlarda belirlenen AD eşik değeri

Hayvan adı	AD Eşığı
NGBL#21	250
NGBL#46	200
NGBL#47	300
NGBL#48	150
NGBL#50	150
NGBL#70	200
NGBL#76	75
NGBL#93	200
NGBL#105	250
NGBL#106	100

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada, 100 mg/kg GBL enjeksiyonu almış hayvanlara elektriksel uyarı verildiğinde *kindling* gelişiminin uzadığı ve DDD sürelerinin değişiklik gösterdiği ortaya koyuldu. Bu durum, absans epilepsi ile temporal lob epilepsisi arasındaki karşılıklı zıt etkileşimin genetik altyapıdan bağımsız olduğunu açıklayabilir. Absans epilepsi ile temporal lob epilepsisi arasındaki bu karşılıklı zıt etkileşim daha önce yapılan çalışmalarda ortaya konmuştur (Eşkazan ve ark 2002, Onat ve ark 2005). GAERS sıçanlarda *kindling* sürecinin incelendiği çalışmada GAERS sıçanların tekrarlayan elektriksel uyarılara rağmen jeneralize nöbetlerin görüldüğü 3, 4 ve 5. evre seviyelerine ulaşmadıkları, 2. evrede kaldıkları görülmüştür (Eskazan ve ark 2002). Absans epilepsinin altında yatan mekanizmaların, özellikle talamokortikal döngüdeki artmış senkronizasyon ve GABAerjik inhibisyonun limbik nöbetlerin sekonder jeneralizasyonunu engelleyerek bu dirence neden olduğu sonucuna varılmıştır. Daha sonraki çalışmalarda WAG/Rij suşu sıçanlarda da *kindling* direncinin görülmesi limbik sekonder jeneralizasyona karşı oluşan direncin sadece GAERS'lere özgü olmadığını, genetik absans epilepsili sıçanlarda görüldüğü ortaya konmuştur (Aker ve ark 2006).

Ayrıca GAERS ve WAG/Rij sıçanlarda DDD yoğunluğu ile amigdala *kindling* süreci arasında negatif korelasyon olduğu gösterilmiş, *kindling* uyarısının hemen sonrasında DDD süre ve sayısında artış gösterilmiştir (Onat ve ark 2007). DDD'ların henüz ortaya çıkmadığı 20 günlük GAERS yavru sıçanlardaki *kindling* gelişimi aynı yaştaki epileptik olmayan Wistar suşu sıçanlarla benzer gelişim izlemiş her iki grup da evre 5'e ulaşmıştır (Çarçak ve ark 2008). *Kindling* direncinin sadece amigdala özgü olup olmadığının araştırılması amacıyla yapılan bir çalışmada GAERS ve WAG/Rij sıçanlarda hipokampal *kindling* süreci incelenmiş ve amigdala *kindling* modelindeki sürece benzer şekilde limbik nöbet jeneralizasyonuna karşı bir direnç gözlemlenmiştir (Akman ve ark 2008). GAERS ve WAG/Rij sıçanlarla yapılan bir başka çalışmada ise genetik absans epilepsili hayvanlarda, parsiyel nöbetlerin sekonder jeneralizasyonu için önemli alanlardan biri olan peririnal kortekse elektriksel *kindling* uygulanmış, söz konusu direnç bu çalışmada da ortaya

konmuştur (Akman ve ark 2010a). GAERS sıçanlarla yapılan bir başka çalışmada; GAERS'lerin yalnızca elektriksel *kindling* modeli ile oluşturulan nöbetlere değil amigdalaya kainik asit uygulanması ile oluşturulan jeneralize konvülsif nöbetlere de, epileptik olmayan hayvanlara göre daha dirençli olduğu tespit edilmiştir (Gurbanova ve ark 2008).

Bizim bulgularımızla uyumlu olarak; 2003 yılında yapılan bir çalışmada, hızlı hipokampal *kindling* uygulanan hayvanlarda bununla birlikte talamik retiküler nükleusun uyarılması jeneralize limbik nöbet gelişimini baskılamıştır (Nanobashvili et al 2003). İyon kanal mutasyonu aracılığıyla absans epilepsi ve temporal lob epilepsisi modeli oluşturulan dijenik farelerde de benzer etkileşimin gösterildiği bir çalışma mevcuttur (Glasscock et al 2007). GAERS sıçanlarda yapılan bir başka çalışmada, fokal limbik epilepsi gelişimi absans nöbet ekspresyonunu büyük oranda zayıflatmış ve Wistar sıçanlar ile karşılaştırıldığında lityum-pilokarpin uygulanması ile görülen spontan nöbetlerde gecikme gözlenmiştir (Hanaya et al 2008). Bizim çalışmamızda, GHB modeli ile oluşturulan absans epilepsili sıçanların *kindling*'e gösterdiği direncin, absans epilepsinin kendi mekanizmasının etkisiyle olduğu abnormal genetik altyapıdan kaynaklı olmadığı ortaya konmuştur.

Kimyasal absans epilepsi ile *kindling* arasındaki etkileşimin altında yatan hücresel ya da moleküler mekanizmalar da çeşitli araştırmalara konu olmuştur. GBL, biyolojik olarak inaktif olan ve uygulandıktan sonra beyinde hızla GHB'ye dönüşen bir maddedir, epileptojenik etkileri, yalnızca GHB'ye dönüşmesi ile ortaya çıkabilir (Snead 1988, Snead 1991). GHB, hem GABA_B reseptörünün hem de GHB-spesifik reseptörünün aktivasyonu, bunun yanında glutamat reseptör B alt ünitesi (GluR2) baskılanması gibi beyinde gerçekleşen çok sayıda olayın mekanizmasında rol oynar (Hu et al 2001a, Hu et al 2001b, Wong et al 2004). GluR2'siz mutant farelerle yapılan çalışmada, GluR2 protein ekspresyonunun bir sonraki GBL absans modeli nöbet başlangıcını belirgin derecede azaltmıştır (Hu et al 2001b). 50 mg/kg i.p. GBL enjeksiyonundan on dakika sonra kütle spektrometresiyle kombine edilmiş floresan 2D jel elektroferezi yöntemi kullanılarak yapılan talamik proteom analiz çalışmasında, DDD görünümü ile ilgili belirli proteinlerin ekspresyonunda değişiklikler olduğu gösterilmiştir (Ryu et al 2007).

EEG haritalandırma ve lezyon çalışmalarından faydalanılarak GHB ile indüklenen DDD'lerin bölgesel dağılımını belirlenmektedir. Yapılan bir EEG haritalandırma çalışmasında, korteks, talamus ve hipokampusun belirli bölgelerine bipolar derinlik elektrotları yerleştirilmiş, GHB ile indüklenmiş absans nöbetlerin ortaya çıkmasıyla beraber, serebral korteksin I-IV tabakaları ile talamusun ventroposterolateral (VPL), ventroposteromedial (VPM), medial ve retiküler çekirdek (TRN) bölgelerinde senkronize deşarjlar gözlenmiştir. Serebral korteksin daha derin tabakalarından (V-VI) hiç DDD kaydı alınmamıştır. Bu süre boyunca hipokampal yapılar tamamen sessiz kalmıştır (Banerjee et al 1993). Bir başka çalışmada, GHB ile indüklenmiş absans epilepsili hayvanlarda, çeşitli talamik çekirdeklerde oluşturulan elektrolitik lezyonların etkileri ortaya konmuştur. Mediadorsal ve intralaminar talamik çekirdeklerde oluşturulan bilateral lezyonların hem korteks, hem de talamusta GHB ile indüklenmiş DDD'leri ortadan kaldırdığı belirlenmiştir. VPL ve RÇ'nin bilateral lezyonları, DDD'leri baskılamış fakat ortadan kaldırmamıştır (Banerjee et al 1993, Banerjee and Snead 1994).

Bu çalışmada aynı zamanda sistemik GBL uygulamasının akut ve kronik etkileri tekrar ortaya koymuştur. 100 mg/kg dozunda GBL enjeksiyonu ile elde edilen EEG ve davranış karakteristikleri daha önce yapılan benzer çalışmalarla uyumlu sonuçlar göstermiştir (Depaulis et al 1988, Depaulis et al 1989, Snead 1988). Sağ ve sol frontoparietal korteksten alınan bazal EEG kaydında başlangıçta görülen kısa ani diken deşarjları daha sonra hızla absans epilepside görülen tipik diken dalga deşarjlarına dönüşmüştür. Korteksten alınan EEG kayıtlarında görülen bilateral senkronize deşarjlar, akut GBL enjeksiyonu sonrası ritm, süre ve amplitüd bakımından düzensizlik sergilemektedir. İlk enjeksiyon sonrası ortaya çıkan bu deşarjlar daha önce postnatal 30 günlük yavru GAERS sıçanlarla yapılan bir çalışmada gözlemlenen immatür DDD'lerle benzerlik göstermektedir (Çarçak ve ark 2008). Tekrarlanan enjeksiyonlarla elde edilen kronik GBL uygulaması sonrası bu deşarjlar, absans epilepsinin tipik EEG karakteristiği olan DDD'lere dönüşmüştür.

GBL ile oluşturulan absans epilepsi modelinin en büyük dezavantajı genetik absans epilepsi modellerinde olduğu gibi kronik değil akut bir model olmasıdır. Bununla birlikte, insanda görülen absans epilepsiyeye benzerliği baz alındığında, GHB modeli diğer genetik absans epilepsi modelleri ile oldukça fazla benzerlik gösterir.

Buna ek olarak, GHB modelinin ontojenisi, genetik modellere göre insanda görülen nöbet koşullarını çok daha doğru biçimde yansıtır (Snead 2002). Ergenlik öncesi maymunlara intravenöz GHB enjeksiyonu yapılan bir çalışmada, insandakine çok benzer GHB ile indüklenmiş DDD'leri meydana çıkmıştır. Bu hayvanlarda 200 mg/kg intravenöz GHB enjeksiyonu, davranışsal olarak donakalma, kafa sallama, pupiler dilatasyon, göz kırpması, ritmik göz hareketleri, stereotipik otomatizmlerle birlikte 2,5 c/s DDD'leri ortaya çıkarmıştır (Snead 1978a).

Akut bir model olan GHB modelinde, DDD'lerin zamanla olgunlaşması ve ilerleyen enjeksiyonlar sonrası, haftasonu enjeksiyonsuz geçiren hayvanların pazartesi sabahı alınan bazal kayıtlarında spontan DDD'lerin ortaya çıkması tamamen senkronize olmuş bir nöbet aktivitesine işaret eder. Bu aktivite de, tekrarlayan enjeksiyonlarla birlikte kortiko-talamo-kortikal ağda bir artışın göstergesi olabilir. Akut GBL enjeksiyonundan 72 saat sonrasında bilateral senkronize DDD'lerin kısa spontan patlamalarının ortaya çıktığı daha önce yapılan bir çalışmada gösterilmiştir (Hu et al 2001a). Genetik ve kimyasal absans epilepsi modellerinde yapılan birçok çalışmada, absans epilepsinin patofizyolojisinde kortiko-talamo-kortikal döngünün rolü ortaya konmuştur (Coenen and van Luijtelaar 2003, Cope et al 2009, Velazquez et al 2007).

Kronik GBL uygulanması ile ortaya çıkan bu nöbet aktivitesi absans nöbet döngüsünün fonksiyonel organizasyonunda, zamanla, talamo-kortikal döngüde büyük olasılıkla hücresele ve/veya sinaptik seviyede meydana gelen bir değişikliğin olduğunu akla getirmektedir. Bu durumda, kronik sistemik GBL uygulanması absans epilepsi için bir epileptogenez modeli ortaya koyabilir.

Absans epilepsinin altında yatan mekanizmaları aydınlatmak, yeni antiepileptik ilaçlar geliştirilirken faydalı olabilir. Bu yüzden, uygun deneysel epilepsi modelleri geliştirmek son derece önemlidir. Yapılan çalışmalarda, GHB modeli, absans epilepsinin mekanizmalarını aydınlatmada kullanılan uygun bir farmakolojik model olarak ortaya konmuştur.

GHB modelinde; insan absans epilepsi tedavisinde etkili dört ana antiepileptik ilaç tarafından DDD'ler baskılanırken, tedavide etkisiz iki ilaç DDD'leri artırmıştır (Godschalk et al 1976; Snead 1978 a,b, 1988). Jeneralize absans nöbetler,

farmakolojik olarak, etosüksimid, trimetadion, valproik asit ve benzodiazepinlere yanıt verirken; fenitoin, barbiturat ya da karbamazepinlere karşı dirençlidir (Snead et al 1999).

Sonuç olarak, absans epilepsi ile temporal lob epilepsisi arasındaki karşılıklı zıt etkileşimin araştırıldığı bu çalışmada, kimyasal bir model olan GHB modeli kullanılmış, genetik absans epilepsi modellerinde oluşan *kindling* direncinin bu modelde de görüldüğü ortaya koyulmuştur. Buradan yola çıkarak, söz konusu direncin genetik bir altyapıdan ziyade absans epilepsinin kendi nöronal mekanizmalarından kaynaklı olabileceği sonucuna varılmıştır. Absans epilepsi tedavisinde kullanılan ilaçlara, GHB modelinde ortaya konulan yanıt, farmakolojik çalışmalarda, bu modelin kullanılabilirliğini göstermektedir. GHB modeli antiepileptik ilaç araştırmalarında, absans epilepsi modeli olarak kullanılabilir.

KAYNAKLAR

1. Aker RG, Yananlı HR, Gurbanova AA, Özkaynakçı AE, Ateş N, Luijtelaar G, Onat FY. (2006). Amygdala *kindling* in the WAG/Rij rat model of absence epilepsy. *Epilepsia*, 47(1), 33-40.
2. Akman O, Karson A, Aker RG, Ates N, Onat FY. (2008). Hippocampal *kindling* in rats with absence epilepsy resembles amygdaloid *kindling*. *Epilepsy Res*, 81, 211-219.
3. Avoli M. and Gloor P. (1982). Interaction of cortex and thalamus in spike and wave discharges of feline generalized penicilin epilepsy. *Exp Neurol*, 76, 196-217.
4. Benavides J, Rumingy JF, Bourguignon JJ et al. (1982a). High affinity binding sites for γ -hydroxybutyric acid in rat brain. *Life sci*, 30,953-61.
5. Bowery NG. (2000) GABA_B receptors: structure and function. In GABA in the Nervous System: The View at Fifty Years (Martin DL and Olsen RW, eds), pp. *Lippincott Williams and Wilkins*, 233-44.
6. Bowery NG. (2000) GABA_B receptors. Structure and function. Trends Pharmacol. Sci. 14, 259-61. At fifty years (Martin DL and Olsen RW) pp, 223-44. Lippincott Williams and Wilkins Philadelphia, PA.
7. Carcak N, Aker RG, Ozdemir O, Demiralp T, Onat FY. (2008). The relationship between age-related development of spike-and-wave discharges and resistance to amygdaloid *kindling* in rats with genetic absence epilepsy. *Neurobiology of Disease*, 32, 355-363.
8. Coenen AM, Van Luijtelaar EL. (2003). Genetic animal models for absence epilepsy: a review of the WAG/Rij strain of rats. *Behaviour Genetics*. 33, 635-55.
9. Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy (1981). Proposal for revised clinical and electroencephalographic classification of epileptic seizures. *Epilepsia*, 22:489-501.

10. Cope DW, Di Giovanni G, Fyson SJ, Orbán G, Errington AC, Lorincz ML, Gould TM, Carter DA, Crunelli V. (2009). Enhanced tonic GABAA inhibition in typical absence epilepsy. *Nat Med*, 15, 1392-1398.
11. Depaulis A, Bourguignon JJ, Marescaux C, Vergnes M, Schmitt M, Micheletti G, Warter JM. (1988). Effects of gamma-hydroxybutyrate and gamma-butyrolactone derivatives on spontaneous generalized non-convulsive seizures in the rat. *Neuropharmacology*, 27, 683-689.
12. Depaulis A, Snead OC, Marescaux C, Vergnes M. (1989). Suppressive effects of intranigral injection of muscimol in three models of generalized non-convulsive epilepsy induced by chemical agents. *Brain Res*, 498, 64-72.
13. Depaulis, van Luijtelaar. (2006). Genetic Models of absence epilepsy in the rat. In models of seizures and epilepsy. 233-248.
14. Eadie MJ. (1995). Epilepsy – from Sakikku to Hughlings Jackson. *J Clin Neurosci*, 2: 156–62.
15. Eskazan E, Onat FY, Aker R, Oner G. (2002). Resistance to propagation of amygdaloid *kindling* seizures in rats with genetic absence epilepsy. *Epilepsia*, 43 :1115-9.
16. Glasscock E, Qian, J, Yoo JW, Noebels JL. (2007). Masking epilepsy by combining two epilepsy genes. *Nature Neuroscience*, 10, 1554-1558.
17. Goddard, GV, McIntyre DC, Leech CK. (1969). A permanent change in brain function resulting from daily electrical stimulation. *Experimental Neurology*. 25, 295-330.
18. Godschalk M, Dzoljic MR and Bonta IL. (1976). Antagonism of gamma-hydroxybutyrate-induced hypersynchronization in the ECoG of rat by anti-petit mal drugs. *Neurosci. Lett*, 3, 1173-78.
19. Godschalk M, Dzoljic MR and Bonta IL. (1977). Slow wave sleep and state resembling absence epilepsy induced in the rat by γ -hydroxybutyrate. *Eur. J Pharmacol*, 144, 105-11.

20. Gurbanova AA, Aker RG, Sirvanci S, Demiralp T, Onat FY. (2008). Intra-amygdaloid injection of kainic acid in rats with genetic absence epilepsy: the relationship of typical absence epilepsy and temporal lobe epilepsy. *J. Neurosci*, 28, 7828-7836.
21. Hanaya R, Koning E, Ferrandon A, Nehlig A. (2008). The role of the inherited genetic back ground on the consequences of lithium-pilocarpine status epilepticus: study in Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg and Wistar audiogenic rats. *Neurobiol Dis*, 3, 451-458.
22. Hu RQ, Cortez MA, Man HY, Roder J, Jia Z, Wang YT, Snead OC 3rd. (2001a). Ghydroxybutyric acid-induced absence seizures in GluR2 null mutant mice. *Brain Res*, 897, 27- 35.
23. Hu RQ, Cortez MA, Man HY, Wang YT, Snead OC 3rd. (2001b). Alteration of GLUR2 expression in the rat brain following absence seizures induced by gammahydroxybutyric acid. *Epilepsy Res*, 44, 41-51.
24. Huguenard J. (2000). Circuit mechanisms of spike-wave discharge: are there similar underpinnings for centrottemporal spikes? *Epilepsia*. 41(8), 1076-77.
25. ILAE; Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes. (1989). *Epilepsia*, 30, 389-399
26. Laborit H. (1973). Gamma-hydroxybutyrate, succinic semialdehyde and sleep. *Progress in Neurobiology*, 1(4), 255-274.
27. Lorente P, Lagampagne A, Pouzeratte Y et al. (2000). Y-Aminobutyric acid type B receptors are expressed and functional in mammalian cardiomyocytes. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 97,8664-69.
28. Maitre M. The gama-hydroxybutyrate signalling system in the brain: organization and functional implications. *Prog. Neurobiol*. 51, 337-61.
29. Mathiew P, Bernasconi R, de Barry J et al. (1997). Binding characteristics of y-hydroxybutyric acid as weak but selective GABA_B receptor agonist. *Eur. J Pharmacol*, 321,67-75.
30. Marescaux C, Vergnes M, Depaulis A. (1992). Genetic absence epilepsy in rats from Strasbourg-a review. 35:37-69.

31. Nanobashvili Z, Chachua T, Nanobashvili A, Bilanishvili I, Lindvall O, Kokaia Z. (2003). Suppression of limbic motor seizures by electrical stimulation in thalamic reticular nucleus. *Exp Neurol*, 181, 224-30.
32. Olpe HR, Koella WP. (1979). Inhibition of nigral and neocortical cells by gammahydroxybutyrate: a microiontophoretic investigation. *Eur J Pharmacol* 53, 359–364.
33. Perez Velazquez JL, Huo JZ., Dominguez LG., Leshchenko Y., Snead OC. 3rd. (2007). Typical versus atypical absence seizures: network mechanisms of the spread of paroxysms. *Epilepsia*, 48, 1585–1593.
34. Rabow LE, Russek SJ, Farb DH. (1995). From ion currents to genomic analyses: Recent advances in GABAA receptor research. *Synapse* 21, 189-274.
35. Racine R.J. (1972). Modification of seizure activity by electrical stimulation, 1. After discharge threshold. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 32, 269-279.
36. Roth RH, Giarman NJ. (1969). *In vivo* conversion of gamma-aminobutyric acid to gamma-hydroxybutyric acid in the rat. *Biochem. Pharmacol*, 18, 247-50.
37. Ryu MJ, Kim D, Kang UB, Kim J, Shin HS, Lee C, Yu MH. (2007). Proteomic analysis of gamma-butyrolactone-treated mouse thalamus reveals dysregulated proteins upon absence seizure. *J Neurochem*, 102, 646-656.
38. Snead OC. (1978a) Gamma- hydroxybutyrate in the monkey. I. Electroencephalographic, behavioural, and pharmacokinetic studies. *Neurology* 28, 636-42.
39. Snead OC and Liu CC. (1984). Gamma- hydroxybutyric acid binding sites in rat and human brain synaptosomal membranes. *Biochem. Pharmacol*, 33,2587-90.
40. Snead OC, 3rd. (1988). The gamma-hydroxybutyrate model of generalized absence seizures: further characterization and comparison to other absence models. *Epilepsia*, 29, 361-368.

41. Snead OC. (1991). The γ -hydroxybutyrate model of absence seizures: correlation of regional brain levels of γ -hydroxybutyric acid and γ -butyrolactone with spike wave discharges. *Neuropharmacology*, 30,161-67.
42. Snead OC, 3rd. (1991). The δ -hydroxybutyrate model of absence seizures: correlation of regional brain levels of δ -hydroxybutyric acid and δ -butyrolactone with spike wave discharges. *Neuropharmacology*, 30, 161–167.
43. Snead OC. (1992). Evidence for G protein-coupled γ -hydroxybutyric acid receptor. *F. Neurochem*, 75, 1986-96.
44. Snead OC, 3rd. (2002). δ -hydroxybutyrate and absence seizure activity, in: Tunnicliff G, Cash CD (Eds), *Gamma-hydroxybutyrate: Molecular, functional and clinical aspects*. London, Taylor and Francis, London, pp. 132-149.
45. Wong CGT, Gibson KM, Snead OC. 3rd. (2004). From the street to the brain: Neurobiology of a recreational drug δ -hydroxybutyric acid. *Trends Pharmacol. Sci*, 25, 29–34.
46. Xie X, Smart TG. 1992. γ -Hydroxybutyrate hyperpolarizes hippocampal neurons by activating GABA_B receptors. *Eur J Pharmacol*, 212, 291–294.



MARMARA ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
PROJE ONAY FORMU

BAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	48.2011.mar
	PROJE ADI	Wistar sıçanlarda gama-butirolakton uygulanması ile deneysel absans epilepsi modeli oluşturulması ve bu modelde beyinde oluşan morfolojik değişimlerin incelenmesi
	SORUMLU ARAŞTIRICI ÜNVANI/ADI	Prof.Dr. Filiz ONAT
	ARAŞTIRMA MERKEZİ	Marmara Üniversitesi Tıp Fak. Tıbbi Farmakoloji ABD
	DESTEKLEYİCİ	

KARAR BİLGİLERİ	Karar No :	Tarih: 15.11.2011
	Yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekece, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve gerçekleştirilmesinde sakınca bulunmadığı için Kurulumuzca onaylanmasına oy birliği ile karar verilmiştir. Onay sonrasında yapılacak her türlü proje değişiklikleri (katılımcılar, başlık vb.) veya protokol değişikliklerinin Etik Kurula bildirilerek proje onayının yenilenmesi gerekmektedir.	

ETİK KURUL BİLGİLERİ

ÇALIŞMA ESASI	Deney hayvanları ile yapılacak olan bilimsel araştırma, test, sağlık hizmetleri uygulamaları ve eğitim-öğretim gibi temel etkinliklerde kullanılan yöntem ve materyaller ile ilgili etik standartları gözetmek, etik ilkeler doğrultusunda görüş bildirmek, araştırma önerilerini incelemek ve sertifikası olmayanların deney hayvanı kullanmalarını engellemektir.
---------------	---

ÜYELER

Unvanı / Adı / Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu / EK Üyesi	Onaylanan Proje ile İlişkisi	Toplantıya Katılım	İmza		
Prof. Dr. Berrak YEĞEN	Fizyoloji	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürü	Var	Yok	Evet	Hayır	
Prof. Dr. Zafer GÖREN	Farmakoloji	Yürütücü Sekreteri	Var	Yok	Evet	Hayır	
Prof. Dr. Ayşen YARAT	Biyokimya	M.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	Var	Yok	Evet	Hayır	
Prof. Dr. Göksel ŞENER	Farmakoloji	M.Ü. Eczacılık Fakültesi	Var	Yok	Evet	Hayır	
Doç. Dr. Halil TUĞTEPE	Çocuk Cerrahisi/ABD Çocuk Ürolojisi/BD	Sağlık Bakanlığı Marmara Ün. Pendik Eğitim ve Araştırma Hastanesi	Var	Yok	Evet	Hayır	
Vet. Hek. Dilek ÖZBEYLİ	Veteriner Hekim	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkez Sorumlu Veterineri	Var	Yok	Evet	Hayır	
Öğr. Gör. Dr. Gürkan SERT	Tıp Tarihi ve Etik	M.Ü. Tıp Fakültesi	Var	Yok	Evet	Hayır	
Bio. Arif GÜMÜŞ	Biyoloji	İstanbul Hıfzassıhha Enstitüsü Müdürlüğü Kurumla ilişkisi olmayan TC vatandaşı üye	Var	Yok	Evet	Hayır	
Bülür AYGÖR	Emekli Memur	Kurumla ilişkisi olmayan TC vatandaşı üye	Var	Yok	Evet	Hayır	

ÖZGEÇMİŞ

Adı	TUĞBA	Soyadı	KARAMAİHMUTOĞLU
Doğum Yeri	İSTANBUL	Doğum Tarihi	03/01/1981
Uyruğu	T.C.	TC Kimlik No	56050045140
E-mail	eryigittugba@gmail.com	Tel	0532 574 25 80

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Lisans	YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ	2007
Lise	İSTANBUL HAYDARPAŞA LİSESİ	1999

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Araştırma Görevlisi	Marmara Üniversitesi	2010-2012

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*
İngilizce	İyi	İyi	İyi

* Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

Yabancı Dil Sınav Notu

KPDS	ÜDS	IELTS	TOEFL İBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE
	68,75							

Başarılımış birden fazla sınav varsa, tüm sonuçlar yazılmalıdır

KPDS: Kamu Personeli Yabancı Dil Sınavı; ÜDS: Üniversitelerarası Kurul Yabancı Dil Sınavı; IELTS: International English Language Testing System; TOEFL İBT: Test of English as a Foreign Language-Internet-Based Test TOEFL PBT: Test of English as a Foreign Language-Paper-Based Test; TOEFL CBT: Test of English as a Foreign Language-Computer-Based Test; FCE: First Certificate in English; CAE: Certificate in Advanced English; CPE: Certificate of Proficiency in English

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	75	78	71
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
MS Office programları	iyi

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

Uluslararası ve Ulusal Yayınları/Bildirileri/Sertifikaları/Ödülleri/Diğer

