T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANA BİLİM DALI

GENETİK ABSANS EPİLEPSİLİ WAG/Rij SIÇANLARDA RİVASTİGMİNİN DİKEN DALGA DEŞARJLARA ETKİSİ

Yüksek Lisans Tezi

Elif TÜRKDÖNMEZ AK

Danışman
Prof. Dr. Mustafa AYYILDIZ

SAMSUN
2023

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANA BİLİM DALI

GENETİK ABSANS EPİLEPSİLİ WAG/Rij SIÇANLARDA RİVASTİGMİN'İN DİKEN DALGA DEŞARJLARA ETKİSİ

Yüksek Lisans Tezi

Elif TÜRKDÖNMEZ AK

Danışman

Prof. Dr. Mustafa AYYILDIZ

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi tarafından PYO.TIP.1904.22.030 proje numarası ile desteklenmiştir.

SAMSUN
2023

TEZ KABUL VE ONAYI

Elif TÜRKDÖNMEZ AK tarafından, **Prof. Dr. Mustafa AYYILDIZ** danışmanlığında hazırlanan **"GENETİK ABSANS EPİLEPSİLİ WAG/RİJ SIÇANLARDA RİVASTİGMİNİN DİKEN DALGA DEŞARJLARA ETKİSİ"** başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından 24.7.2023 tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

	Unvanı Adı Soyadı **Üniversitesi** **Ana Bilim/Ana Sanat Dalı**	**Sonuç**
Başkan	Prof. Dr. Niyazi TAŞÇI Ordu Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Prof. Dr. Mustafa AYYILDIZ Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Doç. Dr. Gökhan ARSLAN Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Ahmet TABAK

Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Hazırladığım Yüksek Lisans tezinin bütün aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara riayet ettiğimi, çalışmada doğrudan veya dolaylı olarak kullandığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin Kaynaklar'da gösterilenlerden oluştuğunu, her unsurun enstitü yazım kılavuzuna uygun yazıldığını ve TÜBİTAK Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Yönetmeliği'nin 3. bölüm 9. maddesinde belirtilen durumlara aykırı davranılmadığını taahhüt ve beyan ederim.

Etik Kurul Gerekli mi ?

Evet ☒ (Gerekli ise ekler kısmına ekleyiniz)

Hayır ☐

21 /06/ 2023

Elif TÜRKDÖNMEZ AK

TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

Tez Başlığı: GENETİK ABSANS EPİLEPSİLİ WAG/RİJ SIÇANLARDA RİVASTİGMİNİN DİKEN DALGA DEŞARJLARA ETKİSİ"

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından 21.06.2023 tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : % 8

Tek kaynak oranı : % 3 çıkmıştır.

21/06 / 2023

Prof. Dr. Mustafa AYYILDIZ

ÖZET

GENETİK ABSANS EPİLEPSİLİ WAG/Rij SIÇANLARDA RİVASTİGMİNİN DİKEN DALGA DEŞARJLARA ETKİSİ

Elif TÜRKDÖNMEZ AK
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Fizyoloji Ana Bilim Dalı
Yüksek Lisans, Temmuz/2023
Danışman: Prof. Dr. Mustafa AYYILDIZ

Giriş-Amaç: Sunulan çalışma, bir asetilkolinesteraz inhibitörü olan ve demans semptomlarının tedavisinde kullanılan Rivastigmin (RİVA) ile T-tipi kalsiyum kanal blokeri NNC 55-0396'nın (NNC) genetik absans epilepsili WAG/Rij sıçanlarda görülen diken-dalga deşarjları (DDD); öğrenme-hafıza ve anksiyete komorbiteleri ve TRPV1 gen ekspresyonu üzerine olan etkilerini araştırmak amacıyla yapıldı.

Yöntem: RİVA'nın DDD üzerine etkisini belirlemek amacıyla WAG/Rij sıçanların kafataslarına tripolar elektrotlar yerleştirilerek akut ve uzun dönem kayıtları elde edildi. Bu aşamadan sonra, RİVA ile T-tipi kalsiyum kanal blokeri NNC 55-0396 (NNC) etkileşimi çalışıldı. Uzun dönem (yirmi bir gün) etkili doz RİVA verilen WAG/Rij ve Wistar sıçanlara öğrenme-hafıza ve anksiyete davranış testleri yapıldı. Davranış testi uygulanan sıçanların korteks ve hipokampusları çıkarılarak qPCR ile TRPV1 gen ekspresyonu araştırıldı.

Bulgular: 0,25; 0,5; 1 ve 2 mg/kg dozlarında uygulanan akut RİVA doz bağımlı olarak DDD sayılarını istatistiksel olarak azalttı. DDD ortalama süreleri açısından yalnızca 1 ve 2 mg/kg RİVA dozları azaltıcı etki gösterdi. Etkisiz doz RİVA (0,125 mg/kg; i.p.) ve etkisiz doz NNC (5 µgr; inraserebroventriküler (i.s.v.)) kombinasyonu da DDD sayılarını azalttı. Etkili doz RİVA (2 mg/kg) uzun dönem uygulandığında ise DDD sayısını artırırken ortalama süreyi azalttı. WAG/Rij sıçanlara uzun dönem yüksek doz uygulanan RİVA, kısa süreli hafızayı olumsuz yönde etkilerken, anksiyeteyi azalttı. qPCR sonuçlarına göre, WAG/Rij sıçanlarda TRPV1 gen ekspresyonları azalırken, Wistar sıçanlarda artış saptandı.

Sonuçlar: RİVA, akut dönemde antiepileptik etki gösterirken, uzun dönemde proepileptik aktivite oluşturmaktadır. RİVA'nın antiepileptik etkisinin T-tipi kalsiyum kanal inhibisyonu aracılığıyla olabileceği kanaatine varıldı. RİVA uygulanması hafızayı olumsuz yönde etkilerken, anksiyeteyi azalttı. Diğer taraftan, WAG/Rij ve Wistar sıçanlara uzun dönem RİVA uygulandığında, TRPV1 ekspresyonları açısından birbirine zıt sonuçlar elde edildi.

Anahtar Sözcükler: Absans epilepsi, Diken-dalga deşarjı, Rivastigmin, T-tipi kalsiyum kanalı, Hafıza, Anksiyete, TRPV1 kanalı

ABSTRACT

THE EFFECT OF RIVASTIGMINE ON SPIKE WAVE DISCHARGES IN WAG/Rij RATS WITH GENETIC ABSENCE EPILEPSY

Elif TÜRKDÖNMEZ AK
Ondokuz Mayıs University
Institute of Graduate Studies
Department of Medical Physiology
Master, July/2023
Supervisor: Prof. Dr. Mustafa AYYILDIZ

Introduction-Aim: The present study, we aimed to investigate the effects of Rivastigmine (RIVA), an acetylcholinesterase inhibitor used in the treatment of dementia symptoms, with/without the T-type calsium channel blocker NNC 55-0396 (NNC) on spike-wave discharges (SWDs); comorbidities (learning-memory and anxiety) and and the TRPV1 geneexpression in genetic absence epileptic WAG/Rij rats.

Methods: To determine the effect of RIVA on SWDs, tripolar electrodes were placed on the skulls of WAG/Rij rats then acute and long-term recordings were obtained. After this stage, the interaction between RIVA and T-type calcium channel blocker NNC 55-0396 (NNC) was studied. Learning-memory and anxiety behavior tests were performed to WAG/Rij and Wistar rats that given long-term (21 days) effective dose of RIVA. Right somatosensory cortex and hippocampus of rats extracted for determining the TRPV1 gene expression by qPCR after behavioral tests.

Results: Acute RIVA administrations at the doses of 0.25; 0.5; 1 and 2 mg/kg decreased the number of SWDs in a dose-dependent manner. Only 1 and 2 mg/kg RIVA had a decreasing effect regarding the mean duration per SWDs. The combination of ineffective dose of RIVA (0.125 mg/kg; intraperitoneal (i.p.)) and ineffective dose of NNC (5 µgr; i.s.v.) also decreased the total number of SWDs. When the effective dose of RIVA (2 mg/kg) was long-term administered, it increased the number of SWDs and decreased the mean duration. Long-term high-dose RIVA that applied to WAG/Rij rats negatively affected short-term memory, while reduced anxiety. Based on qPCR results, TRPV1 gene expressions were decreased in WAG/Rij rats, although it was increased in Wistar strain.

Conclusions: While RIVA has an antiepileptic effect administered acutely, RIVA produces proepileptic activity when applied for a long-term. We suggest that the antiepileptic effect of acute RIVA may be mediated through T-type calcium channel inhibition. RIVA administration negatively affected learning-memory, while reduced anxiety. On the other hand, when long-term RIVA was administered to WAG/Rij and Wistar rats, contradictory results were obtained regarding TRPV1 expressions.

Keywords: Absence epilepsy, Spike-wave discharge, Rivastigmine, T-type calcium channel, Memory, Anxiety, TRPV1 channel

ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR

Üzerimde büyük emeği olan, eğitimim süresince yaptığım çalışmalarda, tezimde ve her türlü konuda desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, tez danışmanım değerli hocam Sayın Prof. Dr. Mustafa AYYILDIZ'a öncellikle teşekkür ederim. Gönülden desteği ve teşvikiyle gelişimimde büyük katkısı olan, fikirlerine her zaman ihtiyaç duyduğum değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Niyazi TAŞÇI, Prof. Dr. Erdal AĞAR ve Doç Dr. Gökhan ARSLAN'A hoşgörülerini, tecrübelerini, muhabbetini hiç esirgemeyen ve bilimsel bakış açımın gelişmesinde büyük emeği olan değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Ayhan BOZKURT, Prof. Dr. Sebahat TURGUT ve Prof. Dr. Günfer TURGUT'a çalışmamdaki yardımlarından ve desteklerinde ötürü teşekkür ederim.

Tezimde olan katkılarından dolayı Araş. Gör. Dr. Büşra OKUYUCU ve Dr. Öğretim Gör. Emre Soner TİRYAKİ'ye, ayrıca asistanlık hayatımda beraber çalıştığım bölümüz asistanları Fırat AYÇIK, Banu AYÇIK, Rümeysa ABDULLAHOĞLU, Burcu HATİPOĞLU, Yeliz ÇELİK, Can KAHYA; bölümümüzün değerli sekreteri Ayşe KÖSE'ye ve değerli personelimiz Özgür AKPINAR'a

Başarımın en önemli destekleyicisi olan sevgili annem Zekiye TÜRKDÖNMEZ, babam Nihat TÜRKDÖNMEZ, kardeşim Melike TÜRKDÖNMEZ ve bu süreçte her zaman yanımda olan, sabrını, hoşgörüsünü hiç esirgemeyen biricik eşim Enes AK'a teşekkürü borç bilirim.

Elif TÜRKDÖNMEZ AK

İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAYI ..... **i**
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI ..... **ii**
TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI ..... **ii**
ÖZET ..... **iii**
ABSTRACT ..... **iv**
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR ..... **v**
İÇİNDEKİLER ..... **vi**
SİMGELER VE KISALTMALAR ..... **viii**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **x**
TABLOLAR DİZİNİ ..... **xiv**
1. GİRİŞ **1**
2. GENEL BİLGİLER **4**
2.1. Nöbet 4
2.2. Epilepsi 4
2.2.1. Epileptik nöbet 4
2.2.2. Epilepsiye tarihsel bakış 5
2.2.1. Epilepsinin sınıflandırılması 6
2.2.2. Epilepsi etiyolojisi 10
2.2.3. Epilepsi epidemiyolojisi 11
2.2.4. Epilepsinin zamansal eğilimleri 12
2.2.5. Elektroensefalogram (EEG) ve elektrokortikogram (ECoG) 13
2.2.6. Epilepsi deneysel modelleri 15
2.3. Absans Epilepsi 17
2.3.1. Absans epilepsi etiyolojisi 18
2.3.2. Absans epilepsi epidemiyolojisi 19
2.3.3. Absans epilepsiye eşlik eden komorbitelerden anksiyete ve hafıza bozukluğu 19
2.3.4. Absans epilepsinin olası mekanizmaları 20
2.3.5. Absans epilepsili bir hastanın teşhisi 26
2.3.6. Absans epilepsinin elektroensefalogramdaki özellikleri 26
2.3.7. Absans epilepsi deneysel modelleri 27
2.3.8. Doğuştan absans epilepsili WAG/Rij sıçanların seçiminin avantajları ve dezavantajları 30
2.3.8.1. WAG/Rij sıçanlarda yaşın ve cinsiyetin nöbetlere etkisi 35
2.3.9. Epilepsiye etki eden nörotransmitterler 36
2.3.9.1. Bir nörostransmitter olarak beyindeki asetilkolin ve asetilkolin reseptörleri: Beyindeki kolinerjik sinyal 37
2.3.9.2. Bir nörotransmitter olarak asetilkolinin epilepsiye etkisi 37
2.3.10. Epilepsili beyinlerde asetilkolinin etkilediği temel beyin bölgeleri 39
2.3.10.1. Asetilkolinesterazların absans epilepsiye etkisi 40
2.4. Absans epilepside kalsiyumun rolü 42
2.4.1. Absans epilepside T-tipi kalsiyum kanalları rolü 43
2.4.2. TRPV1 kanalları 46
2.4.2.1. TRPV1 kanallarının beyinde bulunduğu bölgeler 50
Beyinin farklı bölgelerinde bulunan TRPV1'in işlevsel rolü çeşitlidir (Tablo 2.7.). 50
2.4.2.2. TRPV1 kanallarının epilepsideki rolü 53
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER **56**
3.1. Deney Hayvanları 56
3.2. Deney Grupları 56
3.2.1.1. Akut olarak uygulanan RİVA doz çalışması ve RİVA ile T-tipi kalsiyum kanalları etkileşimi 57
3.2.1.2. Uzun süreli düşük ve yüksek doz RİVA uygulaması 58
3.3. Kimyasal Maddeler ve Veriliş Yolları 60

3.4. Elektrofizyolojik (ECoG) kayıtlar, Davranış testleri, Moleküler Analiz 61
3.4.1. Elektrofizyolojik (ECoG) kayıtlar 61
3.4.1.1. Cerrahi işlem (elektrot takılması) 61
3.4.1.1. Elektrofizyolojik kayıtların alınması ve ilaçların uygulanması 63
3.4.1.2. Elektrokortikogram kayıtlarının incelenmesi ve değerlendirilmesi 64
3.4.1.1. Davranış testleri (y labirent ve yükseltilmiş artı testi) 64
3.4.1.2. Y labirent testi 64
3.4.1.3. Yükseltilmiş artı test 66
3.4.1. Moleküler analiz (Real Time-PCR) 67
3.4.1.1. Doku örneklerinin alınması 67
3.4.1.2. Doku örneklerinden RNA izolasyonu 68
3.4.1.3. İzole edilen RNA'nın saflığı 71
3.4.1. RNA izolatlarından cDNA sentezi 71
3.4.1.1. Primer özgüllüğü ve etkinliği 73
3.4.1.1. qPCR aşaması 74
3.5. İstatiksel Analiz 76
4. BULGULAR 77
4.1. Elektrofizyolojik Analiz 77
4.1.1. Akut uygulanan RİVA'nın DDD parametrelerine etkisi 78
4.1.2. RİVA ve T-tipi kalsiyum kanal blokeri etkileşiminin DDD parametrelerine etkisi 82
4.1.3. RİVA'nın uzun dönem uygulanmasının DDD parametrelerine etkisi 86
4.1.3.1. Uzun süre uygulanan düşük doz RİVA'nın DDD parametrelerine 86
etkisi 86
4.1.3.1. Uzun süre uygulanan yüksek doz RİVA'nın DDD parametrelerine etkisi .. 89
4.2. Davranış Testi Bulguları: Y Labirent ve Yükseltilmiş Artı Labirent Testi 91
4.2.1. Y labirent testi 92
4.2.2. Yükseltilmiş artı testi 96
4.3. Kantitatif Real Time-PCR Analizi Bulguları 101
4.3.1.1. Total RNA kalitesi: saflık seviyesi ve miktarı 101
4.3.1.2. Primer özgüllüğü ve etkinliği 101
4.3.1.3. ΔCT method 102
4.3.2. Uzun süreli yüksek doz RİVA uygulanmasının TRPV1 kanal ekspresyonuna olan etkisi 102
4.3.2.1. Genç, orta yaşlı ve yaşlı WAG/Rij sıçanlarda TRPV1 kanal ekspresyonu seviyeleri 103
4.3.2.1. Orta yaşlı WAG/Rij ve Wistar sıçanlarda TRPV1 kanal ekspresyonu seviyeleri 103
4.3.2.2. Uzun süreli RİVA uygulamasının WAG/Rij sıçanlarda TRPV1 kanal ekspresyonu seviyelerine etkisi 104
4.3.2.3. Uzun süreli RİVA uygulamasının Wistar sıçanlarda TRPV1 kanal ekspresyonu seviyelerine etkisi 105
5. TARTIŞMA 107
5.1. Kısa Dönem ve Uzun Dönem Uygulanan RİVA'nın DDD Parametrelerine Etkisi . 107
5.2. Davranış Testi Sonuçları 110
5.3. Kantitatif Real Time-PCR Analizi Sonuçları 114
6. SONUÇ 116
KAYNAKÇA 118
EKLER 133
EK 1. Etik Kurul Kararı 133
ÖZ GEÇMİŞ 134

SİMGELER VE KISALTMALAR

ACh	: Asetilkolin
AChE	: Asetilkolin Esteraz
AChEI	: Asetilkolin Esteraz İnhibitörü
AChR	: Asetilkolin Reseptörü
aCSF	: *Artificial* (yapay) serebrospinal fluid
AE	: Absans Epilepsi
AEİ	: Anti-epileptik İlaç
cDNA	: Sirküler Deoksiribonükleik Asit
Ct	: Eşik Değer Döngüsü
ÇÇAE	: Çocukluk Çağı Absans Epilepsi
DDD	: Diken-dalga Deşarjı
ECoG	: Elektrokortikogram
EEG	: Elektroensefalogram
EPS	: Ekstitatör Postsinaptik Potansiyel
ETX	: Etosüksimit
GABA	: γ-aminobutirik Asit
GABAerjik	: γ-aminobutirik Asiderjik
GAERS	: Strasbourg'dan Genetik Absans Epilepsi Sıçanı
GHB	: γ-hidroksibütirik Asit (Gamma Hidroksi Bütirat)
Hz	: Hertz
ILAE	: Epilepsiye Karşı Uluslararası Birlik
IPSP	: İnhibitör postsinaptik potansiyel
i.p.	: İntraperitoneal
i.s.v.	: İntraserebroventriküler
KTK	: Kortiko-talamo-kortikal Ağ
LMIC	: League Against Epilepsy/ Epilepsi ile Mücadele Birliği
mAChR	: Muskarinik Asetilkolin Reseptör
MES	: Maksimal Elektroşok
MSS	: Merkezi Sinir Sistemi
nAChR	: Nikotinik Asetilkolin Reseptör
NNC	: T-tipi Kalsiyum Kanalları Blokörü NNC-55-0396
NRT	: Nücleus Retikularis Talami

PTZ	: Pentilentetrazol
RİVA	: Rivastigmin Tartarat
RT	: Retiküler Talamus
S.	: Somatosensoriyel korteksin
SD	: *Standart Deviation*
SEM	: *Standart Error of Means*
SF	: Serum Fizyolojik
TC	: Talamokortikal
TRPV1	: Vanilloid Geçici Reseptör Potansiyeli 1
VB	: Ventrobazal
WAG/Rij	: Wistar Albino Glaxo from Rijswijk

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Temel Nöbet Sınıflandırılması (Panayiotopoulos, 2012) 6

Şekil 2.2. Temel Nöbet Sınıflandırılmasının Genişletilmiş Versiyonu (Panayiotopoulos, 2012) 7

Şekil 2.3. Epilepsilerin 2017 ILAE sınıflandırması (Mei et al., 2018) 10

Şekil 2.4. ILAE tarafından etyolojik katagoriler elektroklinik değerlendirmeler ve/veya klinik bulgularla uyumlu olarak şu şekilde tanımlanmıştır. 11

Şekil 2.5. Ülkelere göre idiyopatik epilepsinin yaşa standardize edilmiş yaygınlığı (×100.000), 2016 (Apartis & Vercueil, 2016) 13

Şekil 2.6. EEG'deki beyin dalgaları çeşitleri. 14

Şekil 2.7. (A) Epilepsi ve epileptik nöbetlerin deneysel hayvan modellerinin sınıflandırılması (Löscher, 2011) (B) Klinik öncesi ilaç değerlendirmesine göre epilepsi ve epileptik nöbetlerin deneysel hayvan modellerinin sınıflandırılması (Löscher, 2011). 16

Şekil 2.8. Absans epilepsi patofizyolojisini açıklamaya çalışan 5 ana teori. 22

Şekil 2.9. Talamokortikal döngü. 24

Şekil 2.10. Genel kullanıma sahip olan ETX absans nöbeti oluşumu ve ETX tedavi yanıtı için olası bir mekanizmayı temsil eden şema 25

Şekil 2.11. Absans nöbetleri gösteren elektrografik sunumu (Sinclair & Unwala, 2007) 27

Şekil 2.12. WAG/Rij sıçanların bilimsel çalışmalarda en çok tercih edilen model olması (Jafarian et al., 2021) 35

Şekil 2.13. Epilepside kolinerjik devrenin rolüne ilişkin güncel bilgiler. 40

Şekil 2.14. Talamokortikal devrenin şematik gösterimi. 44

Şekil 2.15. Korteks ve nükleus retikülaris talamideki (NRT) T-tipi kalsiyum kanallarının absans nöbetleri için gerekliliği. 45

Şekil 2.16. TRP Kanalları Temsili Biyokimyasal Yapısı (Venkatachalam & Montell, 2007) 46

Şekil 2.17. Nörolojik bozuklukların TRP kanalı aracılı patogenezinin moleküler mekanizmasının şeması (Edwards, 2014) 48

Şekil 2.18. TRPV kanallarının temsili biyokimyasal yapısı (Li et al., 2011) 49

Şekil 3.1. Deney dizaynı. Deney grupları elektrofizyoloji ve davranış ve qPCR olmak üzere iki temel aşamadan gerçekleştirilmiş. Her bir grubun hayvan sayısı n ile ifade edildi.57

Şekil 3.2. Sıçan kafatası görüntüsünden Paxinos ve Watson'ın beyin atlasına göre vida yerleştirme koordinatları 62

Şekil 3.3. Uygulanan cerrahi prosedürü basamakları 62

Şekil 3.4. WAG/Rij sıçanların PowerLab veri kazanım sistemine bağlanarak ECoG verilerinin eldesi 63

Şekil 3.5. LabChart 7 Pro yazılımındaki Cyclic Measurements penceresinden offline DDD ve nöbet süresi (sn) analizi 64

Şekil 3.6. Deneyde kullanılan Y maze testi düzeneği 65

Şekil 3.7. Deney düzeneğinde kullanılan yükseltilmiş artı labirenti testi 67

Şekil 3.8. Çıkarılan beyin üzerinde somatosensoriyel alan ve çıkarılmış olan sağ hipokampus görülmektedir. 68

Şekil 3.9. Hassas tartım cihazı 69

Şekil 3.10. Havanda trizol uygulamasıyla sıvı forma dönüşmüş beyin dokusu..... 69

Şekil 3.11. Santrifüj sonrası 3'lü faz..... 70

Şekil 3.12. Protokoldekine uygun kloroformlu RNA sıvısının ters düz edilişi..... 70

Şekil 3.13. Örnek nanodrop cihazı ölçümü..... 71

Şekil 3.14. Örnek PCR cihazı örnek görüntüsü 72

Şekil 3.15. Çalışmada kullanılan primerler; TRPV1 (hedef gen) ve GAPDH (referans gen). 73

Şekil 3.16. Çalışmada kullanılan genlerin A) GAPDH: Referans gen; B) TRPV1: Hedef gen. 73

Şekil 3.17. F tabanlı qPCR 96 kuyucuklu plate. 75

Şekil 3.18. mRNA seviyesi ölçülmesinde izlenecek basamaklar yukarıdaki şekilde ---- gerçekleştirildi..... 75

Şekil 4.1. Enjeksiyon öncesi 1 saat (A) toplam DDD sayıları (DDD sayısı ± SEM) ve (B) ortalama nöbet süresi toplam (ortalama DDD süresi ± SEM). 77

Şekil 4.2. Kontrol grubuna serum fizyolojik enjeksiyonundan sonra ECoG kaydının 120. dakikasından alınan aktivite kaydı. 77

Şekil 4.3. Kontrol grubu ile 0,125; 0,25; 0,5; 1 ve 2 mg/kg RİVA uygulamasından sonra 3 saat boyunca elde edilen ECoG verileri (A) toplam DDD sayıları (toplam DDD sayısı ± SEM) ve (B) ortalama DDD süreleri (ortalama DDD süresi ± SEM). *p<0.05; ***p<0,001 kontrol grubu ile karşılaştırıldığında. 78

Şekil 4.4. ECoG kaydının 0,125 mg/kg RİVA uygulamasından sonraki ilk üç saatlik kaydının 120. dakikasından alınan aktivite kaydı. 79

Şekil 4.5. ECoG kaydının 0,25 mg/kg RİVA uygulamasından sonraki ilk üç saatlik kaydının 120. dakikasından alınan aktivite kaydı. 79

Şekil 4.6. ECoG kaydının 0,5 mg/kg RİVA uygulamasından sonraki ilk üç saatlik kaydının 120. dakikasından alınan aktivite kaydı. 80

Şekil 4.7. ECoG kaydının 1 mg/kg RİVA uygulamasından sonraki ilk üç saatlik kaydının 120. dakikasından alınan aktivite kaydı. 80

Şekil 4.8. ECoG kaydının 2 mg/kg RİVA uygulamasından sonraki ilk üç saatlik kaydının 120. dakikasından alınan aktivite kaydı. 81

Şekil 4.9. 30'ar dakikalık zaman dilimlerine göre SF, 0,125; 0,25 ; 0,5; 1 ve 2 mg/kg RİVA'nın zamana göre DDD değişimi..... 82

Şekil 4.10. 5 µg NNC'ye ait 120. dk'dan ECoG görüntüsü. 84

Şekil 4.11. 120. dakikadan alınan 5 µg NNC+ 0,125 mg/kg RİVA ait kaydedilen ECoG görüntüsü..... 84

Şekil 4.12. Kontrol grubu, 5 µg NNC, 0,125 mg/kg RİVA, 5 µg NNC+ 0,125 mg/kg RİVA uygulamasından sonra 3 saat boyunca elde edilen toplam DDD sayıları (toplam DDD sayısı ± SEM). ***p<0,001 kontrol, RİVA, NNC gruplarıyla kıyaslandığında. 85

Şekil 4.13. Kontrol grubu; 5 µg NNC; 0,125 mg/kg RİVA ve 5 µg NNC+0,125 mg/kg RİVA gruplarının 30'ar dakikalık zaman grafiği. *p<0,05; **p<0,01 kontrol grubu ile karşılaştırıldığında..... 86

Şekil 4.14. Yirmi bir gün 0,5 mg/kg RİVA uygulamasının birinci gün enjeksiyon öncesi (A) ve sonrası (B); onuncu enjeksiyondan 24 saat sonra (C) ve yirmi birinci enjeksiyondan 24 saat sonrası (D) ECoG görüntüsü. 88

Şekil 4.15. Uzun dönem 0,5 mg/kg RİVA uygulamasından sonra (A) toplam DDD sayıları (toplam DDD sayısı ± SEM) ve (B) süresi (toplam DDD süresi ± SEM).. ***p<0,001 kontrol grubu ile kıyaslandığında, +++p<0,001 Enj. Sonrası RİVA ile kıyaslandığında. 89

Şekil 4.16. Yirmi bir gün 2 mg/kg RİVA uygulamasının birinci gün enjeksiyon öncesi (A) ve sonrası (B); onuncu enjeksiyondan 24 saat sonra (C) ve yirmi birinci enjeksiyondan 24 saat sonrası (D) ECoG görüntüsü. 90

Şekil 4.17. Uzun dönem 2 mg/kg RİVA uygulamasından sonra (A) toplam DDD sayıları (toplam DDD sayısı ± SEM) ve (B) süresi (toplam DDD süresi ± SEM). *p<0,05; ***p<0,001 kontrol grubu ile kıyaslandığında, +++p<0,001 enj. sonrası RİVA ile kıyaslandığında. 91

Şekil 4.18. Sekiz aylıkWAG/Rij sıçanlarda Y labirent testi parametrelerine yirmi bir gün 2 mg/kg RİVA uygulanmasının etkisi. *p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001 Sekiz aylık WAG/Rij kontrol grubu ile kıyaslandığında..... 94

Şekil 4.19. Sekiz aylıkWistar sıçanlarda Y labirent testi parametrelerine yirmi bir gün 2 mg/kg RİVA uygulanmasının etkisi..... 96

Şekil 4.20. Yükseltilmiş artı testte WAG/Rij ve Wistar Sıçanların Kontrıol gruplarının açık ve kapalı kolda bulunması. **p<0,01 Sekiz aylıkWAG/Rij ile kıyaslandığında. 97

Şekil 4.21. Sekiz aylıkWAG/Rij sıçanların yirmi bir günlük 2 mg/kg RİVA uygulanmasının kendi kendi kontrolüne göre yükseltilmiş artı labirent testi parametrelerinin değerlendirilmesi. **p<0,01, ***p<0,001 Sekiz aylıkWAG/Rij kontrol grubu ile kıyaslandığında 98

Şekil 4.22. Sekiz aylık Wistar sıçanların yirmi bir günlük 2 mg/kg RİVA uygulanmasının kendi kontrolüne göre yükseltilmiş artı labirent testi parametrelerinin değerlendirilmesi. **p<0,01 Sekiz aylık Wistar kontrol grubu ile kıyaslandığında..... 100

Şekil 4.23. Yükseltilmiş artı testte WAG/Rij ve Wistar Sıçanların RİVA gruplarının açık ve kapalı alan testleri. 100

Şekil 4.24. Örnek Nanodrop RNA Kalitesi Okuma Sonucu..... 101

Şekil 4.25. Erime Sıcaklığı Eğrileri (Melting Curve) Örneği 102

Şekil 4.26. Beş, sekiz ve On iki aylık WAG/Rij kontrol grubu (Yirmi bir gün SF; i.p.) sıçanların qPCR sonuçlarında elde edilen verile göre hesaplanan $2^{(-\Delta\Delta Ct)}$ değerleri (A) Somatosensoriyel korteks (B) Hipokampus. Ortalama ± SD 103

Şekil 4.27. Sekiz aylıkWAG/Rij ve Wistar sıçanların kontrol gruplarının TRPV1 ekspresyonları ($2^{(-\Delta\Delta Ct)}$). Tüm sıçanlara yirmi bir gün boyunca SF (i.p.) uygulandı. (A) somatosensoriyel korteks, (B) hipokampus. Ortalama ± SD. 104

Şekil 4.28. qPCR sonuçlarında elde edilen verile göre WAG/Rij sıçanlardan hesaplanan $2^{(-\Delta\Delta Ct)}$ değerleri. Kontrol grubuna yirmi bir gün boyunca SF (i.p.), RİVA grubuna yirmi bir gün boyunca 2 mg/kg RİVA (i.p.) uygulandı. (A) korteks, ve (B) hipokampus. ***p<0,001 Sekiz aylıkWAG/Rij kontrol grubu ile kıyaslandığında. Ortalama ± SD. 105

Şekil 4.29. qPCR sonuçlarında elde edilen verile göre Wistar sıçanlardan hesaplanan $2^{(-\Delta\Delta Ct)}$ değerleri. Kontrol grubuna yirmi bir gün boyunca SF (i.p.), RİVA grubuna yirmi bir gün boyunca 2 mg/kg RİVA (i.p.) uygulandı. (A) korteks, ve (B) hipokampus. **p<0,01; ***p<0,001 Sekiz aylıkWistar kontrol grubu ile kıyaslandığında. Ortalama ± SD. 106

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. Absans epilepside kullanılan yaygın ilaçlar ise Sodyumvalproat, Levetirasetam ile Lamorijinindir. Bahsedilen ilaçların kısaca etkinlik mekanizmaları ve yan etkileri şu şekildedir (Manning et al., 2003). 25

Tablo 2.2 Absans epilepsi modelleri 28

Tablo 2.3. Absans epilepsi genetik modelleri (Manning et al., 2003) 29

Tablo 2.4. WAG/Rij sıçanlarda yapılan bazı uygulamalar ile anksiyojenik ya da anksiyolitik etkileri ile ilgili test sonuçları 31

Tablo 2.5. Muskarinik reseptörlerin epilepsi modellerine göre bazı etkileri (Yu Wang et al., 2021) 38

Tablo 2.6. Nikotinik reseptörlerin epilepsi modellerine göre bazı etkileri (Yu Wang et al., 2021) 39

Tablo 2.7. TRP kanallarının beyindeki işlevsel rolü (Edwards, 2014) 51

Tablo 2.8. TRPV1 kanalını hedefleyen ilaç ve epilepsi gelişiminde potansiyel rolleri (Nazıroğlu, 2015) 54

Tablo 3.1. Kullanılacak deney hayvanları bilgisi 56

Tablo 4.1. Sekiz aylıkWAG/Rij sıçanlarda Y labirent parametrelerine göre ortalama± SEM değerleri. *p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001 Sekiz aylıkWAG/Rij kontrol grubu ile kıyaslandığında 93

Tablo 4.2. Sekiz aylıkWistar sıçanlarda Y labirent parametrelerine göre ortalama± SEM değerleri. 95

Tablo 4.3. Sekiz aylıkWAG/Rij sıçanların yirmi bir günlük 2 mg/kg RİVA uygulanmasıyla birlikte kontrol grubuna göre yükseltilmiş artı test parametrelerindeki ortalama ± SEM değerleri. **p<0,01 Sekiz aylıkWAG/Rij kontrol grubu ile kıyaslandığında 98

Tablo 4.4. Sekiz aylıkWistar sıçanların yirmi bir günlük 2 mg/kg RİVA uygulanmasında kontrole göre yükseltilmiş artı test parametrelerindeki ortalama ± SEM değerleri. **p<0,01 Sekiz aylık Wistar kontrol grubu ile kıyaslandığında..... 99

1. GİRİŞ

Epilepsi, yineleyen nöbetler ile tanımlanan süreğen bir hastalıktır ve dünya çapında 50-70 milyon insan bu hastalıktan müzdariptir (Beghi, 2020). Epilepsi insidansı çocuk ve yaşlılarda daha fazladır (Camfield & Camfield, 2015). Epilepsili hastaların yaşam kalitesi yineleyen nöbetlerle düşmekte ve özellikle nöbetler süresince mevcut koşullardan izole olunması sonucu depresyon ve anksiyete, öğrenme-hafıza gibi nöropsikiyatrik hastalıklar da görülebilmektedir (Vega et al., 2011). Epilepsinin birçok nedeni ve olumsuz sonuçları olabilmektedir. Epileptik nöbetler bazı epilepsi türlerinde konvülsiyon bazı türlerinde durgunluk, tutukluk gibi fiziksel yansımayla meydana gelir (Fisher et al., 2005). Nöbetlere eşlik eden konvülsiyon olmaması absans epilepsinin prognozunu zorlaştırmaktadır. Çoğu epilepsi çeşidinde olduğu gibi absans epilepsinin teşhis ve tanısında da yaygın olarak EEG kullanılmaktadır (İnce et al., 2021). Diğer taraftan, hayvanda saçlı deriden kayıt almak insanlara oranla daha zor olduğu için deneysel çalışmalarda EEG yerine genellikle elektrokortigogram (ECoG) tercih edilmektedir.

Absans epilepsi çalışmalarında en sık kullanılan model Wistar Albino Rijwik'tir (WAG/Rij) (Jafarian et al., 2021) . Bu modelde nöbet sırasında insandakine benzer şekilde tutukluk, dışarıya duyarsızlık gibi fiziksel yansımaların yanı sıra elektrofizyolojik kayıtlarda da insandaki DDD'lere benzer ECoG kayıdı görülmektedir (Jafarian et al., 2021). Ayrıca bu modelde yapılan davranış testleri bu sıçanların insandakine benzer depresyon benzeri davranışlara, anksiyeteye yatkınlığa, öğrenme ve hafıza bozukluklarına sahip olduğunu ortaya koymuştur (Citraro et al., 2017).

Epilepsiyi meydana getiren ana neden eksitatör ve inhibitör nöronlar arasındaki dengenin eksitasyon lehine değişmesidir (Jafarian et al., 2021). Ancak hastalığa karakterize komorbiteleri meydana getiren mekanizmalar hakkında henüz net bir bilgi yoktur. Epileptik nöbetleri meydana getiren nöronların modülasyonu, nöbetlerin oluşmasını kontrol altına alabilir. Asetilkolin beyinde ve periferde çok sayıda nöron tarafından salınan bir nörotransmitterdir. Asetilkolinin eksitatör ve/veya inhibitör nöronlar üzerinde nöromodülatör etkisi bulunmaktadır (Yu Wang et al., 2021). Bu etki yeteri miktarda mevcut asetilkolin ile sağlanabilir. Diğer taraftan patofizyolojik hastalıklar sonucu asetilkolin dengesinde bozulmalar meydana gelebilir (Drachman et

al., 1980). Asetilkolin miktarını artıran ya da azaltan ilaçların epileptik nöbetleri etkilediği bilinmektedir (Yu Wang et al., 2021). Ancak asetilkolinin epilepsi üzerine etkisi hakkında literatürde çelişkili veriler mevcuttur (Yu Wang et al., 2021; Zarrindast et al., 2011).

Son bilgiler absans nöbetlerinin her iki hemisferden kortikal ve talamik alanları içeren spesifik bir nöronal ağda üretildiğini göstermiştir (Y. Chen et al., 2014). Bu talamo-kortikal devre, ön beyin ve beyin sapından kaynaklanan birkaç spesifik inhibe edici ve uyarıcı sistemin kontrolü altındadır. Kortikal nöronlar doğrudan retiküler talamus (RT) ve talamo-kortikal (TC) nöronları innerve eder. Hem neokortikal hem de TC nöronlar, RT nöronlarına geri dönen uyarıcı projeksiyonlara sahiptir. Devrenin aktivitesi, talamik yerel devreler ve neokortikal ara nöronlar aracılığıyla tekrarlanır. RT, TC ve neokortikal piramidal hücrelerin devresi arasında bir devre oluşturur, bunun da (uyku iğciklerinin ve absans epilepsisinin mekanizması olan) diken-dalga deşarjları (DDD) oluşumunda rol oynadığına inanılmaktadır. Özellikle talamik nöronlar absans epilepsideki börst aktivitenin tetikleyicisi olarak bilinmektedir. Bu devrenin anahtar rolünü üstlenen elemanın talamik nöronlarda çok fazla eksprese edilen T-tipi kalsiyum kanallarının olduğu düşünülmektedir (Y. Chen et al., 2014; Cheong & Shin, 2013). T-tipi kalsiyum kanalları düşük voltajla aktive olan voltaja bağlı kalsiyum kanalıdır. Zarın depolarizasyonuna bağlı T-tipi kalsiyum kanalı akımlarında düşük eşikli ani artışlar oluşur ve bu da daha sonra sodyuma bağlı aksiyon potansiyeli patlamalarına neden olur (Cheong & Shin, 2013; V. Crunelli & L. Leresche, 2002).Sonuç olarak, T-tipi kalsiyum kanalları hem genetik hem de sonradan kazanılmış epilepsinin patolojisinden sorumlu tutulmuştur. Absans epilepsi de dahil olmak üzere birçok epilepsi etiyolojisinde eksitatör ve inhibitör nöronlardaki kalsiyum iyon homeostazının önemi azımsanmayacak kadar büyüktür (Steinlein, 2014). TRPV1 kanalları seçi olmayan kalsiyum kanallarıdır ve en önemli fonksiyonu değişen kalsiyum miktarına yanıt oluşturmasıdır. Yapılan çalışmalar TRPV kanallarının kalsiyum homeostazındaki bu rolünü T-tipi kalsiyum kanalları üzerinden yapıyor olabileceğini ortaya koymuştur (Comunanza et al., 2011; Khomula et al., 2013). Çalışmalar bazı epilepsi modellerinde TRPV1 kanallarının çok yüksek miktarda eksprese edildiğini bazılarında ise tam tersi olduğunu göstermektedir (Lazarini-Lopes et al., 2022; Nazıroğlu, 2015).

Rivastigmin (RİVA) klinikte demanslı hastaların öğrenme-hafıza güçlüğü ve anksiyete gibi semptomlarını hafifletici ilaç olarak tercih edilmektedir. RİVA'nın etki mekanizması sinaptik boşluğa salınan asetilkolini parçalayan asetilkolinesteraz enziminin aktivitesini geri dönüşümlü kısıtlamasıdır (Birks et al., 2015). Asetilkolinin epilepsideki rolü ve mekanizması net olarak bilinmemektedir (Yu Wang et al., 2021). Sunulan çalışma ile bir asetilkolinesteraz inhibitörü olan RİVA'nın absans epilepsiye etkisi ile bu etkide T-tipi kalsiyum kanal inhibitörü NNC-55-0396'nın ve kalsiyum geçişinde rol oynayan TRPV1 kanalının rolü araştırılacaktır. Aynı zamanda, RİVA'nın bellek üzerine ve anksiyeteye etkileri Y labirent ve artı yükseltilmiş labirent testleri ile belirlenmeye çalışılacaktır. Diğer taraftan, RİVA'nın TRPV1 gen ekspresyonu üzerine etkisi de tespit edilecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Nöbet

İnsan beyni vücuttaki en karmaşık organlardan biridir. Basit hareketlerden başlayıp öğrenme, bellek ve bilince kadar uzanan tüm davranışları kontrol eder. Bugüne kadar beynin işlevleri tam olarak anlaşılamamıştır ve halen araştırmalar devam etmektedir. Patolojik bir duruma sahip olmayan bir beyin aktivitesi nöronlar arasındaki elektriksel eksitasyon ve inhibisyon dengesiyle açıklanır (Tatti et al., 2017). Nöbetler ise bir grup nöronun bu dengedeki bozulmasına bağlı anlık hipersenkronize deşarjlar ile beyindeki elektriksel aktivitede meydana gelen yükselmeyle ifade edilir (Fisher et al., 2005; Sharma & Pachori, 2015). Nöbetler başlama, gelişme (iktal faz) ve sonlanma (post-iktal faz) olmak üzere üç aşamadan oluşur ve çoğunlukla bu aşamalar birbirinden belirgin bir şekilde ayırt edilemeyebilir (Ekong et al., 2016).

2.2. Epilepsi

Epilepsi terimi, epilepsi hastaların spontan ve tekrarlı nöbetler (epileptik nöbet) geçirmesi nedeniyle 'ele geçirmek', 'tutulmak' veya 'saldırıya uğramak' anlamına gelen Yunanca bir terimden türetilmiştir (Faircloth, 1998). Dünya çapında yaklaşık 50-70 milyon kişinin epilepsiden muzdarip olduğu tahmin edilmektedir ve %0,5 - 1 prevalansı ile inmeden sonra en yaygın ikinci nörolojik bozukluk olarak kabul edilmektedir (Chandler & Volk, 2008; Fiest et al., 2017; Radhakrishnan, 2009; Singh & Sander, 2020). Epileptik nöbet ile epilepsi arasındaki farkı tanımlamak önemlidir (Carton et al., 2003; Kotsopoulos et al., 2003). Çünkü her nöbet epilepsi değildir, bazı nöbetler epilepsi bağlamı dışında da ortaya çıkabilir; örneğin yüksek ateş, düşük kan şekeri seviyeleri veya alkol yoksunluğu sırasında görülebilir (Malekpour et al., 2023; Müller et al., 2002).

2.2.1. Epileptik nöbet

Nöbet, nörolojik ve nörolojik olmayan patolojik bulguların prognozlarındandır (Jafarpour et al., 2019). Bu hastalıklardan biri de epilepsidir. Epilepsi, her yaştan, ırktan, sosyal sınıftan ve coğrafi konumdan insanı etkileyen, nöbet oluşturmaya yönelik kalıcı bir yatkınlık ve nöbet tekrarlarının nörobiyolojik, bilişsel, psikolojik ve sosyal sonuçları ile karakterize edilmektedir (Fisher et al., 2005; Pack, 2019). Nöbet epilepsiyi meydana getiren birincil etmendir (Zelano, 2021). Epilepsisi olan tüm

hastalar nöbet geçirirken, nöbet geçiren tüm bireyler epilepsi hastası değildir (Malekpour et al., 2023; Müller et al., 2002). Nöbetlerin, epilepsilerin ve epilepsi sendromlarının sınıflandırılması klinisyenler, araştırmacılar, hastalar ve aileleri için bir çerçeve oluşturur (Fisher, 2017). Bu nedenle Uluslararası Epilepsi ile Mücadele Birliği tek tip bir tanıma karar vermiş ve aşağıdaki kriterlerden biri karşılandığında hastalar epileptik olarak kabul edilmiştir(Fisher, Cross, D'souza, et al., 2017; Scheffer et al., 2017):

1) > 24 saat arayla meydana gelen en az iki provoke edilmemiş nöbet

2) Bir provoke edilmemiş nöbet ve sonraki 10 yıl içinde meydana gelen iki provoke edilmemiş nöbetten sonra genel tekrarlama riskine benzer (en az %60) başka nöbet olasılığı

3) Epilepsi sendromu teşhisi

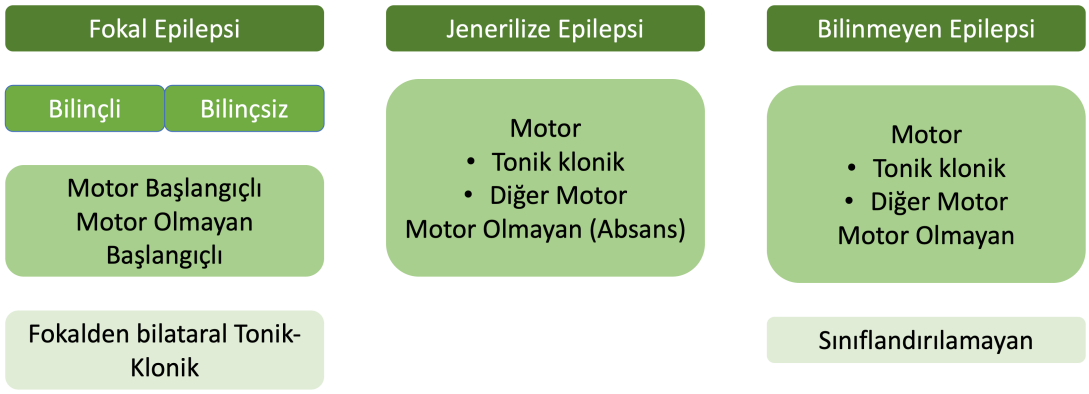
2.2.2. Epilepsiye tarihsel bakış

Nöbet ve epilepsi sınıflandırması yıllar içinde değişmiş ve gelişmiştirilmiştir. İlk modern nöbet sınıflandırması Gastaut tarafından 1969 yılında yapılmıştır (Gastaut, 1970; Merlis, 1970). Başlangıçta kabul görülmek ile ilgili bir direnç ile karşılanmasına rağmen, bu sistem 1970'ten sonra uluslararası kabul gördü ve yaygın olarak kullanılmaya başlandı. 1981'de ILAE, teknolojideki gelişmelerden (özellikle eş zamanlı EEG ile video kaydı) etkilenerek bir nöbet sınıflandırması yayınladı (Angeles, 1981) ve bunu 1985'te epilepsi sınıflandırması takip etti (Dreifuss et al., 1985). Bu da 1989'da revize edildi ve epilepsi sendromu kavramı ortaya atılmasıyla sonuçlandı (Shah et al., 1992). Epilepsi sendromuna katkıda bulunan faktörler arasında başlangıç yaşı, remisyon, tetikleyiciler, diürnal varyasyon, entelektüel ve psikiyatrik işlev bozukluğu, EEG bulguları, görüntüleme çalışmaları, aile öyküsü ve genetik yer almaktadır. ILAE hiçbir zaman resmi olarak bir epilepsi sendromları listesi sınıflandırmamıştır; ancak iyi bilinen ve kabul edilen sendromlar tanımlanmıştır ve bazıları burada gözden geçirilmiştir (Engel Jr, 2001; Panayiotopoulos, 2012; Varnado & Price, 2020). ILAE daha sonra nöbet terminolojisini, nöbetlerin ve epilepsi çeşitlerini gözden geçirmek için çalışmalar başlattı (Berg et al., 2010). Bu çalışmalar doğrultusunda, 2017'de yayınlanan ILAE nöbet tipleri ve epilepsilerin operasyonel sınıflandırması ile sonuçlandı ve bugünki halini aldı (DE LA ILAE, 2017). Ortaya

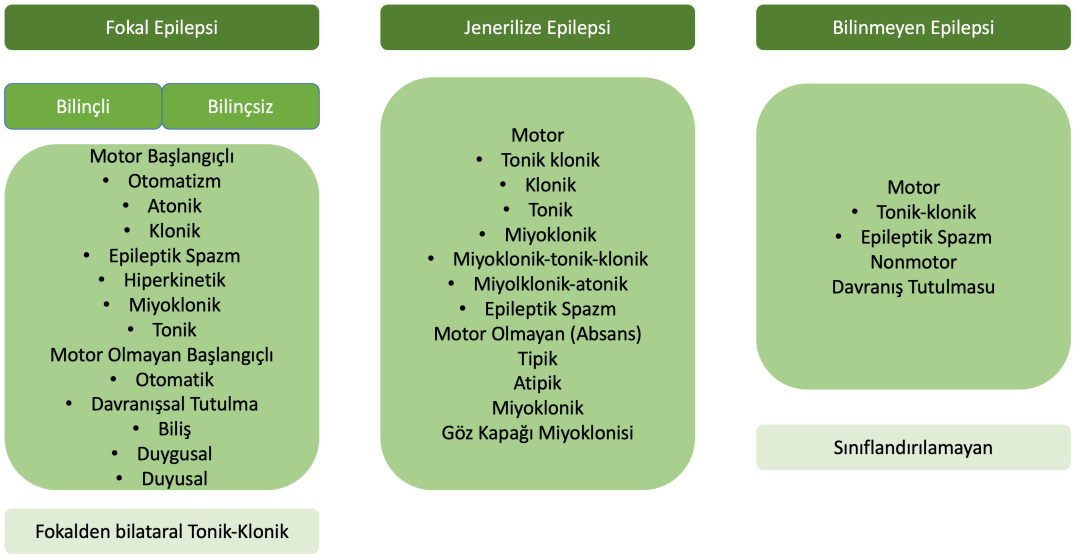
konulan bu son hal, yeni formüle edilmiş nöbetlerin sınıflandırılmasını temel alan; nöbet ve epilepsi tanımları üzerine inşa edilmiştir.

2.2.1. Epilepsinin sınıflandırılması

En son kabul gören epileptik sınıflandırma, yenidoğan nöbetlerini hariç tutarak yetişkinler ve çocuklar için nöbetin ilk belirtilerinin fokal mi yoksa jeneralize mi olduğunu belirleyerek başlar (Pack, 2019; Shorvon, 2011). Nöbetin başlangıcı atlanmışsa veya belirsizse, nöbetin başlangıcı bilinmiyor demektir (Fisher & Bonner, 2018). Fokal nöbetler bireyin farkındalık düzeyine, nöbetin en belirgin motor veya nonmotor özelliklerine ve fokal nöbetin bilateral tonik-klonik nöbete dönüşüp dönüşmediğine göre sınıflandırılır (Hong et al., 2010) . Benzer şekilde, jeneralize nöbetler de motor veya nonmotor belirtilere göre sınıflandırılır (Heo et al., 2006). Motor nöbetler ya tonik-klonik ya da diğer motor nöbetlerdir. Motor olmayan jeneralize nöbetler öncelikle absans nöbetlerini ifade etmektedir (Şekil 2.1.). Bu sınıflandırmalar farklı klinisyenlerin ve araştırmacıların ihtiyaçlarını karşılamak için nöbet sınıflandırmasının hem temel (Şekil 2.1.) hem de genişletilmiş (Şekil 2.2.) versiyonları da oluşturulmaya devam edilmiştir.



Şekil 2.1. Temel Nöbet Sınıflandırılması (Panayiotopoulos, 2012)



Şekil 2.2. Temel Nöbet Sınıflandırılmasının Genişletilmiş Versiyonu (Panayiotopoulos, 2012)

Nöbet sınıflandırmasında, nöbetin ilk belirtilerinin fokal mi yoksa jeneralize mi olduğuna şu şekilde karar verilir: Fokal nöbetler tek bir hemisferle sınırlı, ayrı ayrı lokalize veya daha geniş dağılımlı olabilen bir nöronal ağ içinde ortaya çıkarken; jeneralize nöbetler beynin bir noktasında ortaya çıkar ve hızla bilateral dağılımlı ağları devreye sokar (Hong et al., 2010).

Fokal nöbetler hastanın farkındalık düzeyine ve nöbetin en belirgin ilk motor veya nonmotor özelliklerine göre sınıflandırılır (Merikle, 1984). Farkındalık, bir şeyin olduğunu veya var olduğunu bilmek ve anlamak olarak tanımlanır (Bir kişi fokal nöbet geçirdiğinde, farkındalığı kişinin kim olduğunu ve nöbet sırasında çevresinde neler olup bittiğini bilip bilmediğine göre belirlenir; nöbetin meydana geldiğine dair farkındalığı ifade etmez. Farkındalık aynı zamanda yanıt verebilirlikten de farklıdır. Nöbetin herhangi bir bölümünde farkındalık bozulmuşsa, nöbet farkındalığın bozulduğu bir fokal nöbet olarak sınıflandırılır (Heo et al., 2006). Nöbet sırasında farkındalığın veya bilincin bozulması muhtemelen depresif subkortikal uyarılma sistemlerine ikincildir, bu da yaygın neokortikal bölgelerde derin uyku aktivitesine yol açar, dolayısıyla hem subkortikal hem de kortikal yapıların tutulumu söz konusudur (Dinkelacker et al., 2015). Fokal farkındalık nöbeti daha önce basit parsiyel nöbet olarak adlandırılan nöbetin yerini alır ve fokal farkındalık bozukluğu nöbeti kompleks parsiyel nöbet teriminin yerini alır (Falco-Walter, 2020; Fisher, Cross, D'souza, et al., 2017; Fisher, Cross, French, et al., 2017). Bilinmiyorsa, farkındalık düzeyinin dahil

edilmesine gerek yoktur. Fokal motor nöbetler daha spesifik olarak tanımlanabilir. Motor başlangıçlı belirtiler otomatizmleri, epileptik spazmları ve atonik, klonik, hiperkinetik, miyoklonik veya tonik nöbetleri içerir (Anwar et al., 2020; Nickels, 2017). Otomatizmler, diğer durumlarda normal görünebilen koordineli, amaçsız, tekrarlayan motor aktivitelerdir (Fisher, 2017; Foldvary-Schaefer & Unnwongse, 2011; Loddenkemper & Kotagal, 2005). Örnekler arasında dudak şapırdatma gibi oral otomatizmler ve okşama gibi tekrarlayan el hareketlerini içeren manuel otomatizmler sayılabilir. Bu otomatizmler absans nöbetlerinde de görülebilebilmektedir. Klonik nöbetler tekrarlanan, düzenli aralıklı stereotipik sarsıntı hareketleridir (Abel et al., 2018). Epileptik spazmlar daha önce sadece jeneralize nöbetler olarak kabul edilmekteydi(Abel et al., 2018). Fokal epileptik spazmları jeneralize epileptik spazmlardan ayırmak klinik ve elektrografik özelliklerin dikkatli bir şekilde gözlemlenmesini gerektirebilir (Fernandez-Baca Vaca et al., 2018; Fisher, 2017). Fokal epileptik spazmlar küçük çocuklarda (üç-on iki aylık) sık görülen bir nöbet semiyolojisidir ve kısa süren ve kümeler halinde ortaya çıkabilen hareketler; sarsıntı ile karakterizedir (Fusco et al., 2020). Hiperkinetik veya aşırı kas hareketi nöbetleri, klinik olarak çırpınma veya pedal çevirme gibi değişken özelliklere sahip olabilir (Haga et al., 1992; Vigevano & Fusco, 1993). Fokal miyoklonik nöbetler sarsıntı ile kendini gösterir ancak klonik nöbetlerin aksine sarsıntı düzensizdir ve ritmik değildir (Apartis & Vercueil, 2016; Grünewald & Panayiotopoulos, 1993; Serafini et al., 2013). Tonik nöbetler, uzuv veya boyunda tonus artışı veya sertleşme ile seyreden motor nöbetleri ifade eder (Tufenkjian & Lüders, 2012; Werhahn et al., 2000). İlk belirgin özelliği motor olmayan semptomlar olan fokal nöbetler arasında otonomik, davranış durması, bilişsel, duygusal veya duyusal nöbetler yer alır. Motor olmayan bilişsel nöbetli hastalar dil işlevinde, düşünmede veya ilişkili yüksek kortikal işlevlerde değişiklikler yaşayabilir; daha spesifik örnekler arasında déjà vu, jamais vu (yabancılık hissi) veya halüsinasyonlar gibi net duygusal değişiklikler yer alır (Devinsky et al., 1989; Glasstetter et al., 2021).

Fokal nöbetlere benzer şekilde, jeneralize nöbetler de motor veya nonmotor belirtilere göre sınıflandırılır. Genel olarak, motor nöbetler ya tonik-klonik ya da diğer motor nöbetlerdir (Unterberger et al., 2018). Motor olmayan jeneralize nöbetler öncelikle absans nöbetlerini ifade eder. Motor başlangıç daha spesifik olarak tonik-klonik, klonik, tonik, miyoklonik, miyoklonik-tonik-klonik, miyoklonik-atonik, atonik

veya epileptik spazmları içerir (Pack, 2019). Genelleştirilmiş tonik-klonik nöbetler genellikle 1 ila 3 dakika sürer ve ani farkındalık veya bilinç kaybıyla sonuçlanır (Mehta et al., 1994). Genelleştirilmiş klonik nöbet, iki taraflı ve sürekli ritmik sarsıntı ile karakterizedir (Leppik & Birnbaum, 2010). Jeneralize klonik nöbetlerin aksine, jeneralize miyoklonik nöbetler düzensiz ve mutlaka senkronize olmayan iki taraflı sarsılmasıyla ilişkilidir (Guerrini & Aicardi, 2003). Juvenil miyoklonik epilepside daha yaygın olan miyoklonik-tonik-klonik nöbetler yeni bir nöbet tanımıdır ve her iki tarafta düzensiz sarsıntı ile başlar ve ardından tonik-klonik nöbet gelir (Delgado-Escueta & Enrile-Bacsal, 1984). Miyoklonik-atonik nöbetler de yeni bir nöbet tanımıdır ve başlangıçta düzensiz bir sarsıntı ve ardından her iki tarafta tonus kaybı ile karakterizedir (Egesa et al., 2022).

Epileptik spazmlar da kısadır ve tipik olarak gövdede fleksiyon ve uzuvlarda fleksiyon veya ekstansiyon ile kümeler halinde ortaya çıkar. Fokal epileptik spazmlarda olduğu gibi, nöbetin jeneralize olup olmadığını ayırt etmek için bir EEG gerekebilir(Fusco et al., 2020).

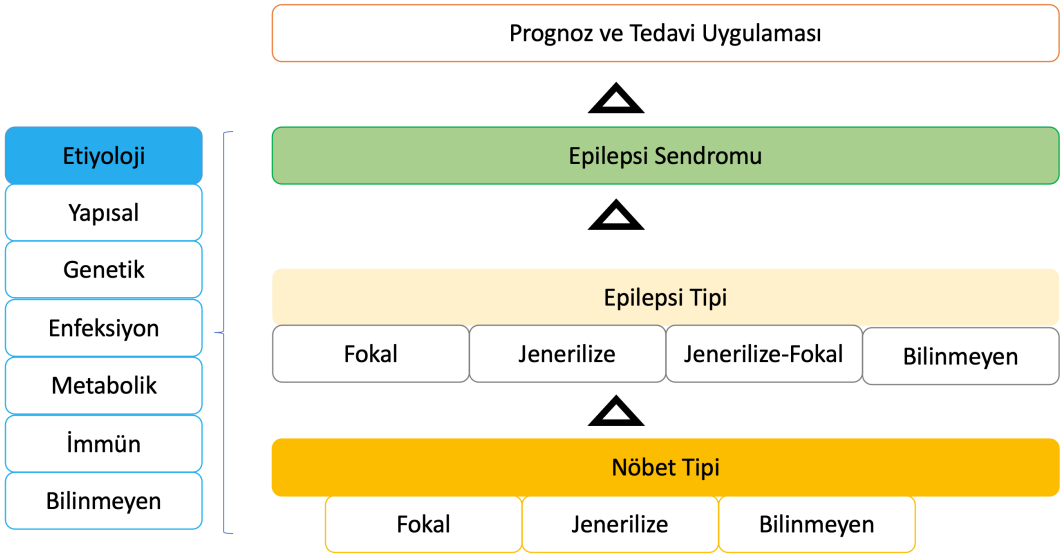
Motor olmayan veya yokluk nöbetleri tipik, atipik, miyoklonik veya göz kapağı miyoklonisini içerir (Albuja & Khan, 2021). Tipik absans nöbetleri, bazen göz kırpma, baş sallama veya diğer otomatizmlerle birlikte ani bir aktivite durması ve ardından hemen iyileşme ile kendini gösterir. EEG her zaman nöbet sırasında genelleşmiş diken-dalga aktivitesini ortaya çıkarır. Atipik absans nöbetleri absans nöbetlerine benzer ancak daha yavaş başlangıç, uzun süreli iyileşme ve tonusda daha belirgin değişiklikler gibi diğer özelliklere sahiptir(Velazquez et al., 2007). Miyoklonik absans nöbeti birkaç düzensiz sarsıntıyla başlar ve bunu absans nöbeti izler (Bureau & Tassinari, 2005). Göz kapağı miyoklonisi, göz kapaklarının sarsılması ve gözlerin yukarı doğru sapması ile tanımlanır. Işık ve gözlerin kapatılması bu genel nöbetleri tetikleyebilir. Göz kapağı miyoklonisi ile birlikte yokluk nöbetleri Jeavons sendromunda görülür (Appleton et al., 1993).

Başlangıcı bilinmeyen nöbetler motor (tonik-klonik, epileptik spazmlar) veya nonmotor (davranış durması) sunumlara göre sınıflandırılabilir. Bilgi yetersizse veya nöbet kategorize edilemiyorsa, nöbet sınıflandırılmamış olarak kabul edilir (Egesa et al., 2022; Ellis et al., 2020).

Yeni sınıflandırma sistemi ek olarak iki yeni kategori tanımlanmaktadır. Kombine jeneralize ve fokal epilepsi ve bilinmeyen epilepsi. Kombine jeneralize ve fokal epilepsi tanımlaması, EEG'de hem fokal hem de jeneralize elektrografik bulgulara dayanarak hem fokal hem de jeneralize nöbetli hastalar içindir (Aldenkamp et al., 2005). Örnekleri arasında Dravet sendromu ve Lennox-Gastaut sendromu yer alır. Hastada ILAE tarafından tanımlandığı şekilde epilepsi varsa ancak hastanın mevcut bir EEG'si yok veya EEG belirsiz ise ve fokal mi yoksa jeneralize epilepsi mi olduğu belirlenemiyorsa, bilinmeyen epilepsi tipi sınıflandırması kullanılır (Perucca et al., 2018). Tüm bu yeni sınıflandırma sistemi nöbetlerin ve epilepsilerin etiyolojisini vurgulamaktadır.

2.2.2. Epilepsi etiyolojisi

Spontan ve öngörülemeyen nöbetlerin varlığı ile karakterize karmaşık ve heterojen bir hastalık grubu olan epilepsi, küresel nüfusun %1-2' sini etkilemektedir. Ekonomik düzeyi zayıf olan ülkelerde bu oran daha da artmaktadır (Fiest et al., 2017).



Şekil 2.3. Epilepsilerin 2017 ILAE sınıflandırması (Mei et al., 2018)

Epilepsi tanısının temel taşı ayrıntılı bir, detaylı klinik öykü ve nöbetin tanığı tarafından nöbetin iyi tasvir edilmesinden elde edilmektedir. Aynı zamanda bir nöbeti sınıflandırmaya çalışmadan önce, klinisyen konvülsif senkop, parasomniler, hareket bozuklukları ve diğer epileptik olmayan olayları içeren sayısız ayırıcı tanıyı da ekarte

etmelidir. Ardından da epilepsi tipini ve son olarak Epilepsi Sendromu tanısını içerir. Her adımda, nedenleri (Şekil 2.3.) ve komorbiditeler tanımlanmalıdır.

Nöronal elektriksel işlevi kontrol eden çok sayıda mekanizma göz önüne alındığında, bu dengeyi bozmanın birçok farklı yolu ve dolayısıyla hem nöbetlerin hem de epilepsinin birçok farklı nedeni vardır. Epilepsilerin patofizyolojik mekanizmalarını anlamamıza yönelik önemli bir adım olarak epilesi ILAE tarafından etyolojik katagoriler elektroklinik değerlendirmeler ve/veya klinik bulgularla uyumlu olarak şu şekilde tanımlanmıştır (Şekil 2.4.) (Hirsch et al., 2022).

Genetik	Nöbetlerin yaygın bir fenotip olduğu bir gende veya kopya sayısı varyantında bilinen veya varsayılan spesifik bir hastalığa neden olan varyant olması durumu ifade eder (Wang J ve ark.).
Yapısal	Hastanın nöbetlerine neden olduğu makul bir şekilde çıkarılan nörogörüntülemedeki anormal bir bulguyu ifade eder (Mei Z ve ark., Lapalme-Remis S ve ark.).
Metabolik	Çeşitli metabolik bozukluklar, hücresel dejenerasyon ve dismiyelinizasyondan nöronal göç bozukluklarına kadar ortaya çıkabilen genetik anormalliklerden kaynaklanır ve hücresel veya organ işlevini olumsuz etkileyerek dolaylı olarak epileptogenezi teşvik etme ile ifade edilir (Scheffer IE ve ark.).
Enfeksiyöz	MSS'nin akut enfeksiyonu nedeniyle nöbet geçiren bir hastayı değil, epilepsisi olan bir hastayı ifade ederken (Scheffer IE, ve ark.): Gelişmiş ülkelerdeki özellikle MSS'de kaynaklanan enfeksiyonlarından kurtulanların nüfus temelli kohortlarında bildirilen provoke edilmemiş nöbet riski %6,8 ila 8,3 olduğu önemli bir risk faktörüdür ve dünyanın bazı bölgelerinde epilepsinin tanımlanabilir en yaygın etiyolojisidir (Vezzani, A. Ve ark.) .
İmmün	Nedeni bilinmeyen epilepsi vakalarında daha çok düşündürten olsa da tüm epilepsilerin %5-7'si civarında bir etyolojik alt yapı olan efeksiyöz nedenler nöral spesifik antikorlar için seropozitif olduklarında ve otoimmün aracılı MSS inflamasyonu kanıtları olduğunda düşünülür (Scheffer I ve ark., Husari, K. S. Ve ark.)
Bilinmeyen	Etiyolojisi belirsiz olan hastalar için ifade edilmektedir.

Şekil 2.4. ILAE tarafından etyolojik katagoriler elektroklinik değerlendirmeler ve/veya klinik bulgularla uyumlu olarak şu şekilde tanımlanmıştır.

2.2.3. Epilepsi epidemiyolojisi

Epilepsi her iki cinsiyeti, her yaşı etkileyen ve dünya çapında bir dağılıma sahip bir nörolojik hastalıktır. Epilepsi prevalansı ve insidansı erkeklerde kadınlara kıyasla biraz daha yüksek ve bu yaş grubunda inme, nörodejeneratif hastalıklar ve tümörlerin daha yüksek sıklığını yansıtacak şekilde yaşlılarda pik yapma eğilimindedir (Bharucha et al., 1988; Fiest et al., 2017).

Fokal nöbetler hem çocuklarda hem de yetişkinlerde jeneralize nöbetlerden daha yaygındır (Fiest et al., 2017). İnsidans düşük ve orta gelirli ülkelerde yüksek gelirli ülkelere kıyasla daha yüksektir. Ayrıca, epilepsi kendi başına düşük bir mortalite riski

taşımaktadır, ancak insidans ve prevalans çalışmaları, çocuklar ve yetişkinler ve idiyopatik ve semptomatik nöbetli kişiler karşılaştırıldığında mortalite oranlarında önemli farklılıklar bulunmaktadır (Thurman et al., 2017).

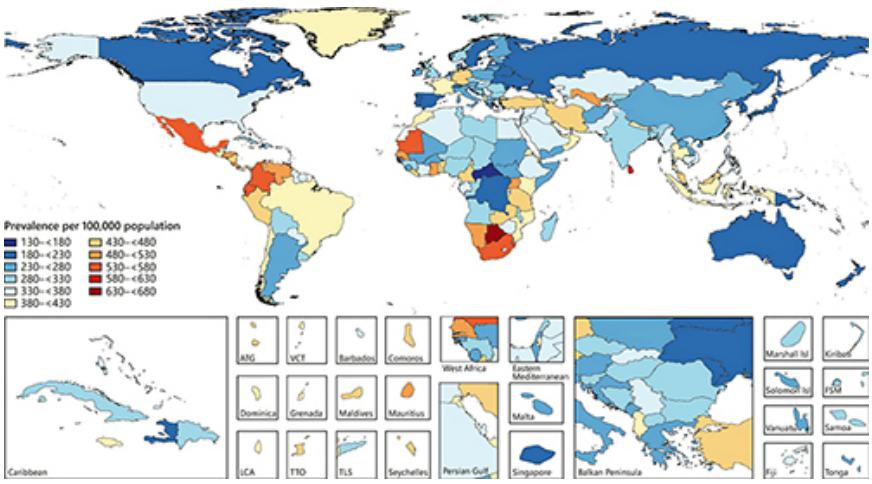
2.2.4. Epilepsinin zamansal eğilimleri

Son yıllarda, epilepsinin yaşa özgü insidansı, muhtemelen doğum öncesi bakımdaki gelişmeler, daha iyi sanitasyon (sağlık hizmetlerine ulaşım) ve bulaşıcı hastalıkların artan kontrolü nedeniyle en genç yaş gruplarında zamanla azalmıştır (Duncan et al., 2006). Buna karşılık, yaşlılarda insidans, muhtemelen yaşam beklentisinin iyileşmesi (inme, tümörler ve nörodejeneratif bozukluklar gibi yaşlanmayla ilişkili epileptojenik durumların paralel olarak artması) ve bu yaş grubunda hastalığın tespitinin artması nedeniyle artmıştır.

Ancak sayısal verilere bakıldığında bu oranlar ne kadar iyileşse de epilepsi insidansı ve prevalansı en genç (çocukluk) ve en yaşlı yaş gruplarında daha yüksektir (Fiest et al., 2017). Çocukluk çağında görülen epilepsi insidansı yaşamın ilk yıllarında en yüksek, 10 yaşın sonunda erişkin düzeyine inse de ülkenin demografik yapısının yanı sıra yaşlı bireylerde durumun yeterince tespit edilememesinden kaynaklı oranla düşük görülse de, 30-59 yaş arası kişilerde ve ardından 85 yaşlarında daha sık görülür (Camfield & Camfield, 2015).

Nöbet tipine göre insidans ve prevalansına bakıldığında ise fokal nöbetler hem çocuklarda hem de yetişkinlerde baskın nöbet tipidir (Thurman et al., 2017; Wirrell et al., 2011). Bununla birlikte rapor edilen baskın tipler jeneralize tonik-klonik nöbetlerdir (Chin et al., 2004; Senanayake & Román, 1993). Status epilepsi insidansının bimodal bir dağılım gösterdiği (<1 yaş çocuklarda ve yaşlılarda pik yaptığı) bulunmuştur. Bu geniş aralık, risk altındaki nüfus, tanının doğruluğu, altta yatan nedenlerin farklı dağılımı ve akut semptomatik nöbetlerin dahil edilmesi veya hariç tutulması ile açıklanabilir.

Daha önce de bahsedildiği gibi ülkelere göre bu dağılım şekildeki gibidir (Şekil 2.5.).

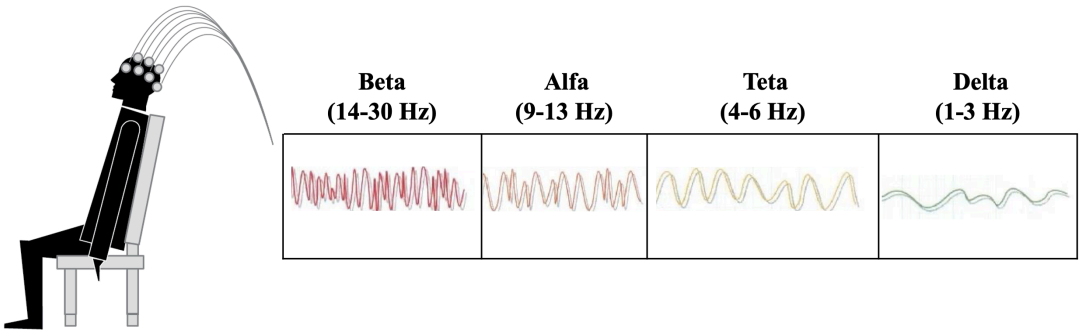


Şekil 2.5. Ülkelere göre idiyopatik epilepsinin yaşa standardize edilmiş yaygınlığı (×100.000), 2016 (Apartis & Vercueil, 2016)

2.2.5. Elektroensefalogram (EEG) ve elektrokortikogram (ECoG)

Elektroensefalogramın (EEG'nin) mucidi Hans Bergerdir (Berger, 1933; Jung & Berger, 1979). EEG, hastanın kafasına takılan elektrodlar yardımıyla beynin spontan elektriksel aktivitesinin bir elektrogramını kaydetme yöntemidir (İnce et al., 2021). Absans epilepsi konvülsif olmayan epilepsi alt türüdür ve kesin teşhis EEG'deki verilerle konur. Hans Berger atipik bir absansın ilk EEG kaydını da yapmıştır (sonuçları ancak 1933'te yayınlanmıştır), karakteristik EEG paterni ise 1935'te Harvard Tıp Fakültesi nörofizyologları tarafından rapor edilmiştir. EEG'nin keşfi, absans nöbetlerini temporal lob epilepsisinde ortaya çıkan "psikomotor" nöbetlerden ayırt etmeyi de mümkün kılmıştır. Penfield ve Jasper (1938) absansları "sentransefalik epilepsi "nin bir ifadesi olarak değerlendirmiştir (Brigo et al., 2018). Bundan önce ise 1875 yılında Caton tarafından tavşanlardan pia mater üzerinden elde edilmiştir. Beyin aktvitesinin bu şekilde kaydedilmesine elektrokortikogram (ECoG) denir (Caton, 1970; Coenen & Zayachkivska, 2013) . Hem EEG hem de ECoG kayıtlarında görülen dalgalar eksitatör ve inhibitör postsinaptik potansiyellerin cebirsel toplamını ifade ederek nöbetleri, epileptik olmayan olaylardan ayırmak, nöbet tiplerini ve epilepsiyi sınıflandırmak için kullanılmaktadır.

Rutin bir EEG kaydı sırasında, kafa derisine birkaç kayıt elektrodu yerleştirilir ve aktivite kısa bir süre boyunca kaydedilir (20-30 dakika, Şekil 2.6.).



Şekil 2.6. EEG'deki beyin dalgaları çeşitleri.

Bu kayıtta patolojik interiktal sivri dikenler (spike) veya keskin dalgalar tespit edilebilir. Bu deşarjlar fokal veya jeneralize olabilir, bu da sırasıyla fokal ve jeneralize epilepsinin göstergesidir. Ancak interiktal epileptiform deşarjların olmaması epilepsi tanısını dışlamaz, çünkü epilepsi hastalarının sadece yaklaşık %50'si ilk EEG testi sırasında epileptiform deşarjlar gösterir (Wirrell, 2010). Bu verim, kayıt tekrarlanarak, hasta uykudayken kayıt yapılarak veya hiperventilasyon ve fotik stimülasyon gibi aktivasyon prosedürleri eklenerek artırılabilir (Salvati & Beenhakker, 2019). Nöbet sırasında, periyodik bir dalga formuna ve interiktal dönemlere kıyasla daha yüksek bir amplitüde sahip tekrarlayan EEG deşarjları gözlenir. Bir nöbetin EEG'de nasıl devam ettiği epilepsi tipleri ve sendromları arasında farklılık gösterir (Acharya et al., 2013). Örneğin mezial temporal lob epilepsisinde tipik iktal başlangıç paterni anterior orta temporal loba lokalize ritmik 5-7 Hz deşarjdır.

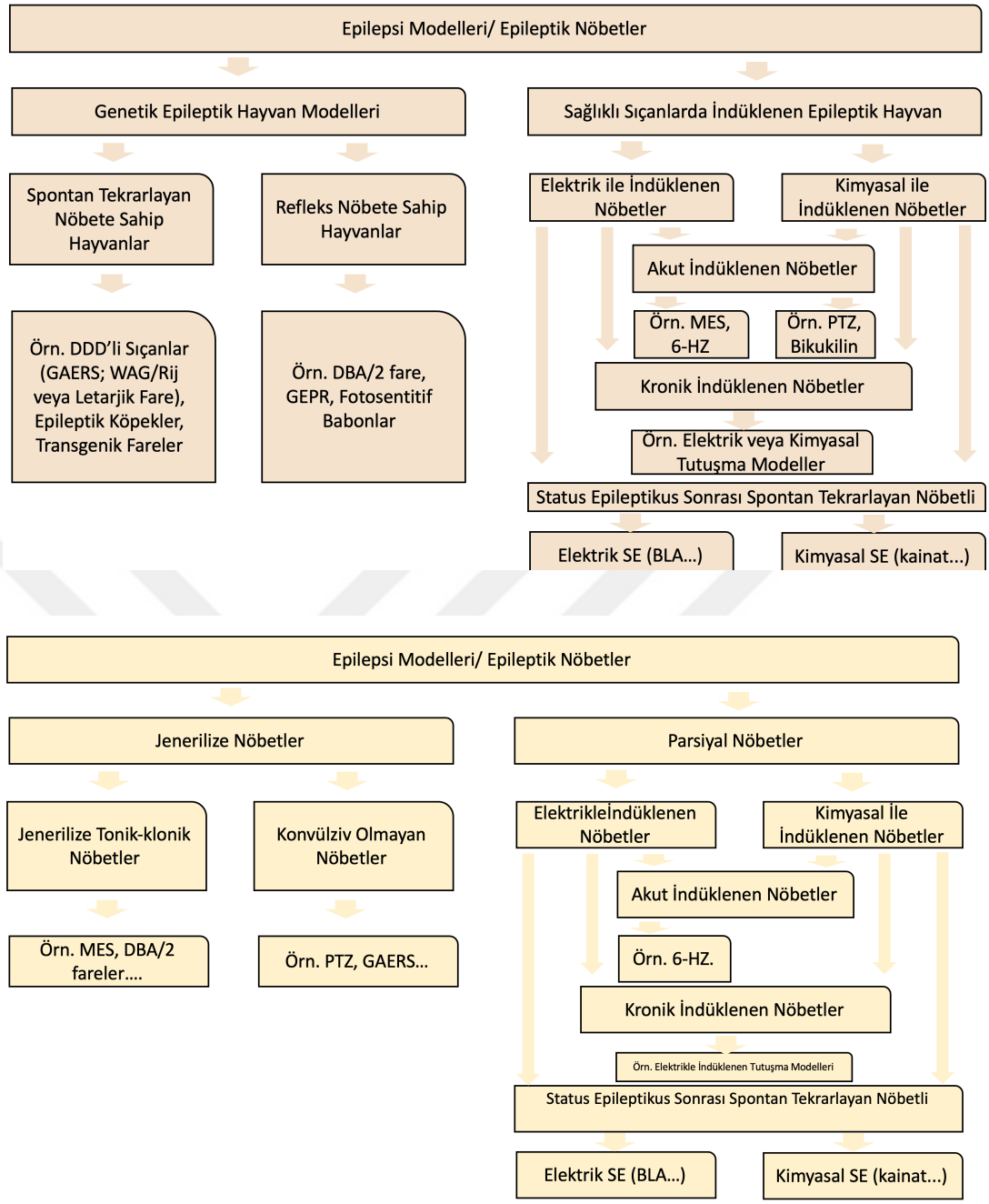
ECoG ise kafa derisi EEG'sinden daha yüksek zamansal ve uzamsal çözünürlüğe sahiptir. Ayrıca kafatası ve kafa derisi tarafından sinyalin zayıflatılmasından muzdarip değildir. Kaydedilen dalga formları tipik olarak daha yüksek genliklidir, daha yüksek frekanslar içerir ve kafa derisi EEG'sinde görülmeyen hem interiktal hem de iktal aktivitenin dipol kaynaklarını da görebilir (Ntolkeras et al., 2022). ECoG'nin normal varyantları, mevcut normal kontrol verilerinin eksikliği nedeniyle kafa derisi EEG'sine göre daha az net bir şekilde anlaşılmıştır. Kliniktekine ek klinik öncesi çalışmalarda özellikle uyanık alınan hayvan kayıtların tercih edilmektedir.

2.2.6. Epilepsi deneysel modelleri

Model oluşturma, insan epilepsi sendromlarında gözlemlenenlere karşılık gelen nöbetlere, eşlik eden hastalıklara ve/veya hücresel ve moleküler patolojik değişikliklere sahip bir hayvan üretmeyi amaçlamaktadır (Kandratavicius et al., 2014; Sarkisian, 2001). Epilepsi hayvan modellerinde tipik olarak epileptogenezi yani epilepsi etiyolojisini tetiklemek için bu özellikleri aktif etmeyi amaçlayan faktör veya faktörler kullanılır ve insanlarda olduğu gibi, bu da latent bir dönemden sonra spontan nöbetlerin gelişmesine yol açabilir. Tüm bunlar hem epilepsi hastalığının altında yatan mekanizmaları aydınlatmak hem de potansiyel antikonvülsan ilaçların taranması için klinik öncesi çalışmalarda önemlidir. Tüm modellerin kullanım kolaylığı ve insanlardaki patolojik durumunun hangi özelliklerinin en iyi şekilde temsil edildiğine ilişkin kendi avantajları ve dezavantajları değerlendirilerek seçim yapılabilmekte ve modeller de zamanla geliştilebilmektedir. Epilepsi çeşitlerini temsil eden birçok model türü mevcuttur. Sayısız epilepsi ve epileptik nöbet modeli tanımlanmıştır (Löscher, 1999; Pitkänen et al., 2017).

Bunları çeşitli katagorileri ayırmak mümkündür. Örneğin kimyasal veya elektriksel olarak indüklenen nöbetlere karşı spontan olarak ortaya çıkan nöbetlere sahip modeller, tekrarlayan nöbetlere sahip modellere karşı tek nöbetlere sahip modeller (örn, kronik modellere karşı akut modeller), kısmi nöbet geçiren modellere karşı jeneralize nöbet geçiren modeller, konvülsif nöbet geçiren modellere karşı konvülsif olmayan nöbet geçiren modeller, tarama modellerine karşı tarama prosedürünün daha ileri bir aşamasına yönelik modeller, mekanizma ile ilgili modellere (yani bilinen bir mekanizma ile nöbet indüksiyonu olan) karşı belirli (veya bilinen) bir mekanizması olmayan modeller ve nöbet eşiği modellerine karşı (supra)maksimal veya eşik üstü nöbet indüksiyonu olan modeller gibi gibi kategorilere ayrılabilir (Kehne et al., 2017).

Epilepsi ve epileptik nöbetlerin deneysel hayvan modellerinin sınıflandırılmasına ilişkin basit bir diyagram Şekil 2.7. A'da gösterilmektedir. Bununla birlikte, bir antiepileptik ilaçların (AEI'nin) klinik seçimi öncelikle belirli nöbet ve epilepsi türleri için etkinliğine dayanmaktadır. Bu nedenle klinik öncesi ilaç değerlendirmesi amacıyla, modelleri Şekil 2.7. B'de gösterildiği gibi nöbet veya epilepsi türüne göre sınıflandırmak daha uygun olabilir.



Şekil 2.7. (A) Epilepsi ve epileptik nöbetlerin deneysel hayvan modellerinin sınıflandırılması (Löscher, 2011) (B) Klinik öncesi ilaç değerlendirmesine göre epilepsi ve epileptik nöbetlerin deneysel hayvan modellerinin sınıflandırılması (Löscher, 2011).

Bu sınıflandırmalardaki gibi kimyasal, elektrik, ışık gibi epilepsiyi proveke eden akut ya da kronik modeller gibi Strasbourg'dan Genetik Absans Epilepsi Sıçanı (GAERS), Wistar Albino Glaxo from Rijswijk (WAG/Rij) sıçan modeli gibi hayvan genetik epilepsili sıçan türlerinde 'doğal olarak' epilepsi modelleri de mevcuttur (Marescaux & Vergnes, 1995; Van Luijtelaar & Zobeiri, 2014).

2.3. Absans Epilepsi

Absans epilepsi (AE), beyin olgunlaşması sırasında gelişen ancak patofizyolojik mekanizmaları tam aydınlatılamayan prototipik bir epileptik sendromdur (Panayiotopoulos, 1999). Absans epilepsi EEG ve ECoG'daki DDD ile karakterizedir. Ancak absans epilepsi ne insanlarda ne de hayvanlarda tek bir hastalık olarak görülmez. Sonucu veya nedeni olabilecek nöropsikiyatrik komorbiteler de sıklıkla absans epilepsiye eşlik eder (Karson et al., 2012; Russo et al., 2013). Absans epilepsi yaygın olarak 4-10 yaşlarında görülen pediatrik epileptik sendrom olmasına rağmen daha yaşlı gençler ve yetişkinler de absans nöbetler görülebilmektedir (Duncan et al., 2006). Jenaralize nöbetlerin alt sınıfında yer alan absans nöbetlere (AN) insanlarda genellikle hafif otomatizmler veya uzuvları, göz kürelerini veya göz kapaklarını etkileyen orta derecede tonik veya klonik bileşenler eşlik eder (Panayiotopoulos, 1999). Bir absans nöbet ortalama 10 saniye sürer (4-20 saniye arasında değişir) ve süresi uyku mahrumiyeti, uyarılma durumu, provokasyon (örn. hiperventilasyon veya fotik stimülasyon) ve tedavi gibi farklı faktörlerden etkilenir (Salvati & Beenhakker, 2019). Henüz tüm mekanizma aydınlatılmasa daha sonra bahsedileceği gibi absans nöbet patofizyolojisinde kortiko-talamo-kortikal devre önemli bir rol oynar. Bazı nöronlar oluşumlarında önemlidir. Bunlar (Huguenard, 2019):

- Kortikal glutamaterjik nöronlar
- Talamik geçiş nöronları
- Talamik retiküler nükleus nöronları

Bu devreye göre absans epilepsi GABAerjik nörotransmisyonun inhibisyonuna ve glutamat nörotransmisyonunda dengesizlik ile en çok da talamik retiküler nükleusta düşük eşikli T-tipi kalsiyum kanalı tarafından meydana gelen anormal börst aktiviteye bağlı salınımlı yükselmeler üretilmesi ile bağdaştırılmakta ve ilaç hedefleri olarak bu noktalar üzerinde durulmaktadır (Ngomba et al., 2011; Powell et al., 2014; Snead III, 1995).

2.3.1. Absans epilepsi etiyolojisi

Güncel bildirilen kayıtlara göre absans nöbetinin ilk belgelenmiş tanımından bu yana 300 yılı aşkın bir süre geçmiştir (Brigo et al., 2018).

"In that occasion Mr. Poupart added that he was aware of a case of a young female child with epilepsy, who at the onset of the seizure sits down in a chair, and there remains immobile, without speaking and senseless. Her eyes are open, and after the episode she does not absolutely remember having fallen into this state. If she had previously begun a talk that the seizure interrupted, she takes it up again exactly at the same point at which she stopped talking, and she thinks she has talked without interruption''(Brigo et al., 2018)

Çevirisi: "Bu vesileyle Bay Poupart, epilepsi hastası genç bir kız çocuğunun nöbetin başlangıcında bir sandalyeye oturduğunu ve orada hareketsiz, konuşmadan ve anlamsız bir şekilde kaldığını bildiğini ekledi. Gözleri açıktır ve nöbetten sonra bu duruma düştüğünü kesinlikle hatırlamamaktadır. Eğer daha önce konuşmaya başlamışsa ve nöbet bu konuşmayı yarıda kesmişse, tam olarak konuşmayı kestiği noktada tekrar konuşmaya başlar ve kesintisiz konuştuğunu düşünür.(Brigo et al., 2018)"

1705 tarihli bu tanım, tipik bir absans epilepsinin temel özelliklerini vurgulamaktadır (Brigo et al., 2018). Bununla birlikte, "absans, yokluk" terimi yüz yıldan fazla bir süre sonra ortaya çıkmış, ilk kez 1824 yılında Fransız doktor Calmeil'in doktora tezinde bahsedilmiştir (Calmeil, 1824). "Petit mal" (Fransızca "küçük hastalık") terimi, 1838 yılında "grand mal" nöbetlerinden (Fransızca "büyük hastalık", yani tonik- klonik nöbetler) bir ayrım olarak ortaya atılmıştır (Fisher, 2008). 20. yüzyılın başlarında, sık görülen nöbetleri tanımlayan "piknolepsi" (Yunanca πυκνός, pyknos, "yoğun", "sıkı paketlenmiş", "toplanmış" anlamına gelir) terimi ortaya atılmıştır (Patel & Moshé, 2020). İlk elektroklinik tanımı, daha önce de bahsedildiği gibi elektroensefalogram tekniğinin icadı ile 1935 yılında yayınlanmıştır: Amerikalı nörolog Frederic Gibbs ve meslektaşları, "pyknolepsy" hastasının EEG'sinde 3 Hz'lik genelleştirilmiş Diken ve Dalga Deşarjları (DDD'ler) paterni bildirmiştir (Davis et al., 1941). Günümüzde absans epilepsiler, ILAE tarafından ani davranış durması ve EEG'de belirgin DDD'ler ile karakterize, genel başlangıçlı, motor olmayan nöbetler olarak tanımlanmaktadır. ILAE, farklı pediatrik ve yetişkin epilepsi türlerinde yaygın

olarak görülen dört farklı absans nöbet türü arasında ayrım yapmaktadır: tipik absans nöbetler, atipik absans nöbetler, miyoklonik absans nöbetler ve göz kapağı miyoklonisi (Fisher, 2017; Tenney & Glauser, 2013).

2.3.2. Absans epilepsi epidemiyolojisi

Absans nöbetleri, genel popülasyonda 0,7-4,6/100000 kişide görülmektedir. Nöbetlerin ise yaklaşık %10'u tipik absans nöbetleridir.Bu da genel popülasyonda 100.000 kişide beş ila 50'e karşılık gelmektedir (Berg et al., 1999; Hirsch et al., 2022; Olsson, 1988). Amerika Birleşik Devletleri (Connecticut) ve Avrupa merkezli (İskandinavya, Fransa) nüfus araştırmalarında da benzer rakamlar bulunmuştur (Loiseau et al., 1990).

2.3.3. Absans epilepsiye eşlik eden komorbitelerden anksiyete ve hafıza bozukluğu

Her bir nöbet nöronal deşarjlanmada bozulma ve nöron kaybı ile sonuçlanmaktadır. Epilepsi tekrar eden nöbetlerle karakterize yaygın bir nörolojik hastalıktır. Tekrarlayan nöbetlerin sonucu veya nöbetlerin neden olduğu yaşamsal kısıtlamalarla absans epilepsi ile karakterize nöropsikiyatrik hastalıklarla da toplum da yaygın olarak görülmektedir (Blumenfeld, 2005; Matricardi et al., 2014). Absans nöbetlerine eşlik eden psikiyatrik komorbid durumların tam kapsamının araştırılması nispeten yakın bir tarihte gerçekleşmiştir ve 1960'ların başından bu yana, çoğunlukla farmakolojik tedavi altında olan, genelleştirilmiş DDD'li karma yaştaki karma epilepsi popülasyonları üzerinde yapılan çalışmalardan net bilgiler elde edilmiştir (Hertoft, 1963; Hutt et al., 1963; Loiseau et al., 1983; Majoie et al., 2001; Vanasse et al., 2005; Wirrell et al., 1997). Bu araştırmalarda ortaya çıkan üzücü tablo, özellikle neredeyse bu hastalıkla savaşan absans epilepsili bireylerin %60'ının nöropsikiyatrik komorbiditelere sahip olduğunu göstermektedir (Noebels, 2015). Bunlar arasında en yaygın olanları dikkat eksikliği (Poliquin et al., 2021), öğrenme-hafıza bozukluğu (Karson et al., 2012), depresyon (Salpekar & Mula, 2019) ve depresyon kadar karakteristik olmasa da anksiyete gibi nöropsikiyatrik problemlerdir.

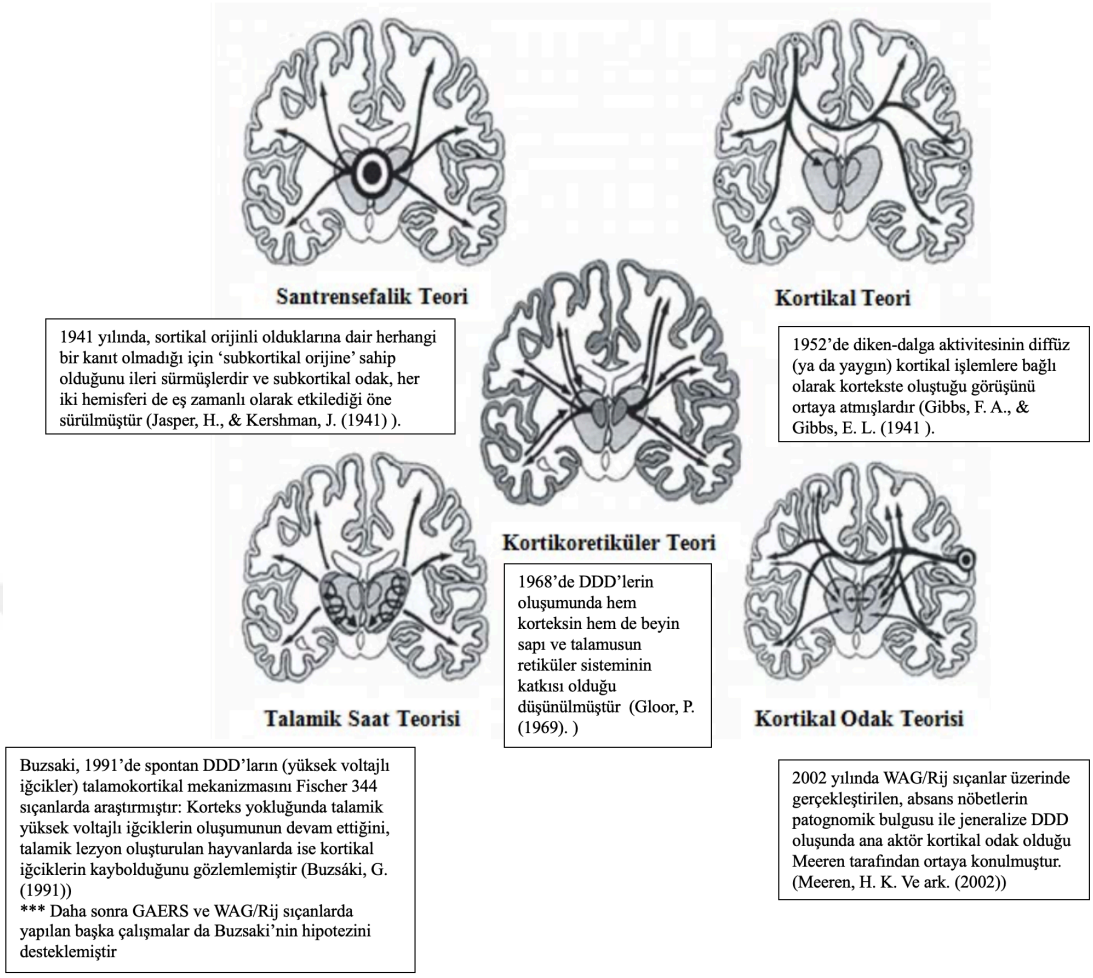
İnsanlarda olduğu gibi hayvan modellerinde de bu gibi komorbiteleri görmek o modele ek geçerlilik sağlamakta ve bu koşullara ilişkin gelecekteki mekanistik çalışmalar için bir araç sunmaktadır. Absans epilepsi modellerinden WAG/Rij'in de bu komorbiteleri gösterdiğine dair çalışmalar mevcuttur (Sarkisova & van Luijtelaar,

2011). Örneğin absans epilepsi modellerinden en yaygın kullanıma sahip olan WAG/Rij gibi GAERS sıçanlarda da anksiyete ve depresyon benzeri davranışlara odaklanılmıştır. Yapılan çalışmalar bu sıçanlarda anksiyete ve absans nöbetlerin çevresel zenginleştirme ile azaltılabileceğini ve bu anksiyolitik ve anti-epileptojenik etkiler bir sonraki nesle aktarılabileceğini gösterilmiştir. Tüm bu bilgiler ise insan absans nöbetlerine ve bunların komorbiditesine potansiyel epigenetik katkılar hakkında ilgi duyulmasına neden olmuştur (Karimzadeh et al., 2015; Karson et al., 2012; Marks et al., 2016; Marques-Carneiro et al., 2016; Moyanova et al., 2018; Sarkisova & van Luijtelaar, 2011). İlginç bir şekilde WAG/Rij sıçan yavrularının doğum sonrası ikinci günden itibaren epileptik olmayan Wistar anneler tarafından yetiştirilmesi, erken yetişkinlik döneminde absans nöbetlerinde belirgin bir azalma ile sonuçlanmaktadır; bu da anne bakımının artmasının ve/veya gelişimin erken dönemlerinde stresli ortamın azaltılmasının genetik olarak belirlenen absans nöbetlerinin hafifletilmesine katkıda bulunabileceğinin bilinmesi çevresel faktörlerin önemini bir kez daha vurgulamaktadır (Dezsi et al., 2016; Sitnikova et al., 2016). Tüm bu etkileri meydana getiren fizyolojik mekanizmalar ise şimdilik absans nöbetinin altında yatan anormal kortiko-talamo-kortikal ağların, bilişsel bozukluklar ve duygudurum bozukluklarının altında yatan anormal bazal gangliyon-limbik-monoamin ağları ile birleşerek absans nöbetli epilepsilerin genel nörolojik ve nöropsikiyatrik fenotipini oluşturması muhtemelliği ile açıklanmaktadır. Bu anormal ağlar arasındaki etkileşimler daha düşük bir nöbet eşiğine ve komorbidite riskinin artmasına katkıda bulunabilir (Crunelli et al., 2020). Dahası, absans nöbetleri ve absans karşıtı ilaçlar komorbid durumları tetikleyebilir veya mevcut durumları kötüleştirebilir (Ketter et al., 1999). Bu nedenle hedeflenen ilaçların yalnızca nöbetleri azaltması değil tüm bu komorbiteleri de tetiklememesi hatta iyileştirmesi hedeflenmelidir.

2.3.4. Absans epilepsinin olası mekanizmaları

AE'nin patofizyolojisini anlamak, jeneralize idiyopatik epilepsiyi ve jeneralize nöbetler sırasında eşlik eden yanıt eksikliğini genel olarak anlamamızı geliştirmek için kritik öneme sahiptir. Bununla birlikte, AE'nin klinikte incelenmesi, hastaların çoğunun ya çokgenç yaşta ya da yaşın ilerlemesiyle meydana gelen birçok hastalıktan müzdarip yaşlı bireylerde olması ve AE'nin iyi bir şekilde kontrol altında tutulması nedeniyle nadiren öncelikli bir konudur.

Absans nöbetleri klinikte hala 'jeneralize nöbetler' olarak sınıflandırılsa da , genç AE hastalarında yapılan EEG ve manyetoensefalografik incelemeler, beyin paroksizmlerinin başlangıcının genellikle tek taraflı frontal veya orbital kortikal alanların erken aktivasyonu ile ilişkili olduğunu da göstermiştir (Berg et al., 2010). İlgili mekanizmaları açıklamak için henüz net bir mekanizma ortaya konulamasa da birçok preklinik çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalar neticesinde daha önce bahsedildiği gibi bazı hipotezler öne sürülmüştür ve ilaç hedefi olarak belirlenmiştir (2.3'e bakınız). Bu çalışmalara baktığımızda, Meeren ve arkadaşları (2002) tarafından absans nöbetlerinin genetik bir modeli olan Rijswijk Wistar Albino Glaxo (WAG/Rij) sıçanlarda gerçekleştirilen kortiko-talamik ağlardaki çok bölgeli yerel alan potansiyellerinin öncü doğrusal olmayan analizi ilk kez yokluk nöbetlerinin başlamasında lokalize bir kortikal bölgenin (primer somatosensoriyel korteksin peri-oral bölgesi) kilit rolünü göstermiştir (Meeren et al., 2002). Daha sonra başka bir genetik model olan GAERS'de primer somatosensoriyel korteksin 5 ve 6. katmanındaki eksitatör piramidal nöronları ilk paroksismal aktivitenin kaynağı olarak karakterize edilmiştir. Gerçekten de, GAERS sıçanlardaki absans nöbetleri bu nöronların ateşlenmesinin engellenmesiyle ortadan kaldırıldığı ve primer somatosensoriyel kortekste uygulanan etkin antiepileptiklerin motor korteks veya ventrobazal talamustan daha duyarlı olduğu gösterilmiştir (Kennard et al., 2011). Özellikle, yakın zamanda yapılan bir çalışma PLC-β4 nakavt farelerde spontan DDD somatosensoriyel korteksten kaynaklanırken, farmakolojik γ-hidroksibütirik asit (GHB) modelinde DDD'nin çoğunluğunun ilk olarak prefrontal kortekste ortaya çıktığını göstermiştir, bu da absans nöbeti geçiren hastalarda olduğu gibi farklı fare ve sıçan, genetik ve farmakolojik modellerde farklı DDD başlangıç bölgelerine işaret etmektedir (Tunnicliff, 1997). Tüm bu bilgiler ışığında absans epilepsi patofizyolojisini açıklamaya çalışan 5 ana teori ileri sürülmüştür (Polack et al., 2009) (Şekil 2.8.).



Şekil 2.8. Absans epilepsi patofizyolojisini açıklamaya çalışan 5 ana teori.

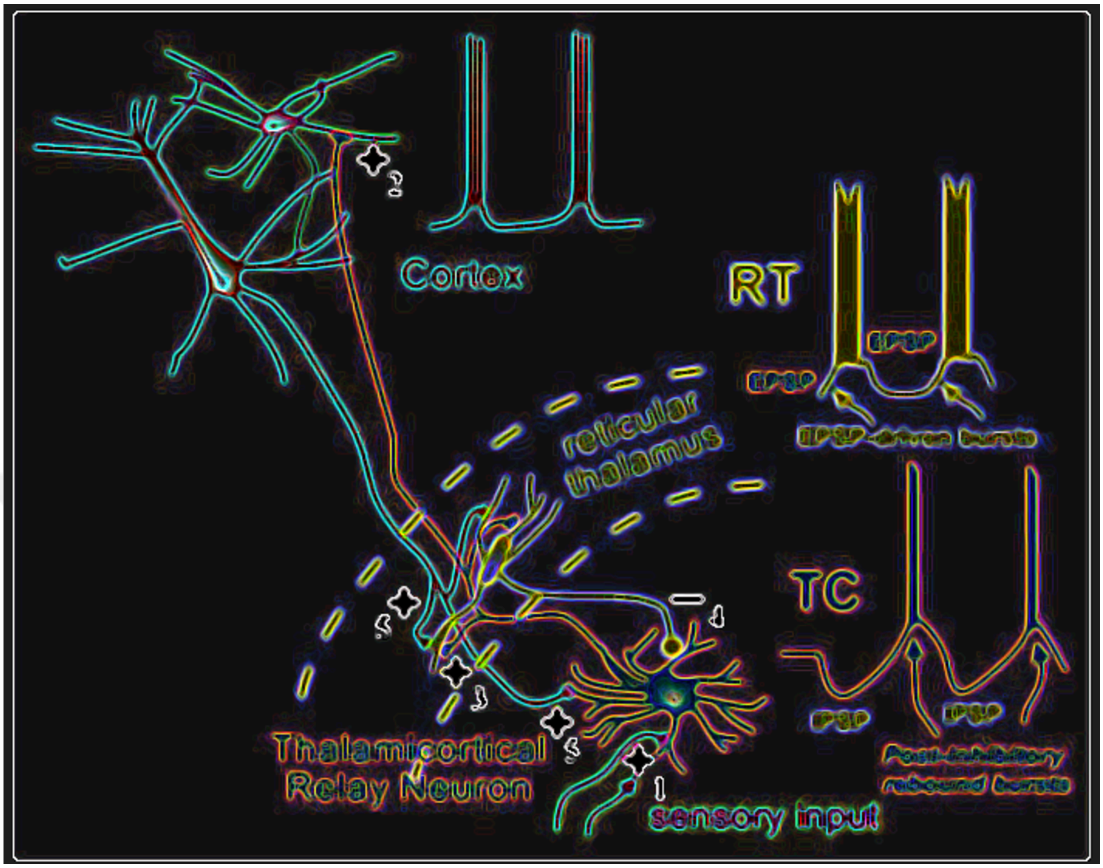
Santrensefalik teori (Jasper & Kershman, 1941), kortikal teori (Gibbs & Gibbs, 1941) , kortikoretiküler teori (Gloor, 1968) , talamik saat teorisi (Buzsáki, 1991) ve kortikal odak teorisi (Meeren et al., 2002).

Birçok yazar DDD oluşumu için sağlam bir kortiko-talamo-kortikal ağın zorunlu olduğunu varsaysa da DDD'lerin oluşumu için bir sinir ağının yapısının önemi henüz araştırılmaya başlanmıştır (Meeren et al., 2002). Ortaya çıkan ağ karmaşık bir topolojiye sahiptir, burada bazı nöronlar veya küçük gruplar etkili geri bildirim döngülerinin varlığı nedeniyle DDD'lerin oluşumu için önemlidir (Bassett & Bullmore, 2009). Bu tür mikro devrelerin varlığı Silberberg, Grillner, LeBeau, Maex ve Markram'da (2005) gösterilmiştir (Silberberg et al., 2005). Aynı zamanda, diğer nöronların DDD'lerin oluşumunda yer almaması veya sadece pasif olarak yer alması olasılığı da vardır (Snead III, 1995). Ayrıntılı bir ağın çok sayıda unsuru, DDD'lerin

oluşumu için önemli olan etkiler de dahil olmak üzere, "toplu" modellerde bulunmayan temelde yeni etkilerin ortaya çıkmasına neden olabilir. Genelleştirilmiş DDD'nin beyin yapıları içinde ve arasında çok sayıda nöronun senkronize ateşlenmesinin sonucu olduğu genel olarak kabul edilmektedir. Bu nedenle absans epilepsi çalışmalarında antiepileptikler üzerine yapılan çalışmalarda temel hedeflerden biri ve yaygın bilinen mekanizması olan talamo-kortiko-talamik ağdaki anormal nöronal salınımlardan kaynaklı olduğu hakkındadır (Huguenard, 2019; Lambert et al., 2014; Leresche et al., 2012). Aslında, bu kortikal ağ veya bölge kortikal başlatma ağı (*Cortical Initiation Network; CIN)* olarak adlandırılır ve çocuklar arasında farklı olabilir, ancak genellikle aynı hastada tutarlıdır ve muhtemelen farklı genotipler veya tedavi yanıtı ile ilişkilidir.

Talamokortikal döngü, kortikal piramidal nöronları, talamokortikal (TC) röle nöronlarını ve talamusun retiküler nükleusundaki (NRT) GABAerjik nöronları içerir (Huguenard, 2019; Leresche et al., 2012) (Şekil 2.9.): TC nöronları i) uyarıcı sinapslar aracılığıyla çevreden duyusal girdi alır ve bunları uyarıcı sinapslar aracılığıyla kortekse ileten sivri uçlara dönüştürür ve ii) NRT nöronlarına, sivri uç aktivitelerini artıran uyarıcı kollateraller gönderir; iii) NRT nöronları (karşılığında) GABA aracılı inhibitör postsinaptik potansiyeller (IPSP'ler) yoluyla TC nöronlarına geri besleme inhibisyonu gönderir; ve iv) kortikal nöronlar NRT ve TC nöronlarına uyarıcı sinyaller göndererek devreyi kapatır. NRT hücreleri iki farklı modda ateşlenir; i) uyku sırasında ritmik olarak salınırlar (patlama ateşleme modu); ve ii) uyanıklık sırasında tonik olarak ateşlenirler (tonik ateşleme modu), böylece talamus ve korteks arasındaki bilgi akışını değiştirirler; dahası bu etki düşük eşikli geçici kalsiyum kanallarının (T-tipi kalsiyum kanalları) ekspresyonu nedeniyle mümkündür (Leresche et al., 2012). Absans nöbetler sırasında, talamokortikal devre senkronize hale gelir ve birden fazla NRT hücresi TC nöronlarına güçlü IPSP'ler göndererek, T-tipi kalsiyum kanallarının aktivasyonu nedeniyle TC nöronlarının geri tepme patlaması ateşlemesine yol açar, bu da daha sonra NRT ve kortikal nöronları aktive eder; ikincisi, aksiyon potansiyeli patlamaları üreten NRT'yi güçlü bir şekilde aktive eder (Crunelli et al., 2020). Talamokortikal devredeki tüm nöronal popülasyonlar absans nöbetler sırasında farklı derecelerde senkronize olur ve TC nöronlarına NRT inhibitör çıkışı, devrenin pacing'i için çok önemlidir. Tüm bunlara ek uyku iğcikleri ve DDD'ler talamokortikal devreden kaynaklansa da (EEG veya ECoG sırasında uyku DDD'lerinin ayırt edilmesini zorlaştırır), başlangıç yerleri farklıdır; uyku iğcikleri talamustan kaynaklanırken,

DDD'ler korteksteki bir başlangıç bölgesinden anormal talamokortikal salınımlar olarak ortaya çıkar (Crunelli et al., 2020).

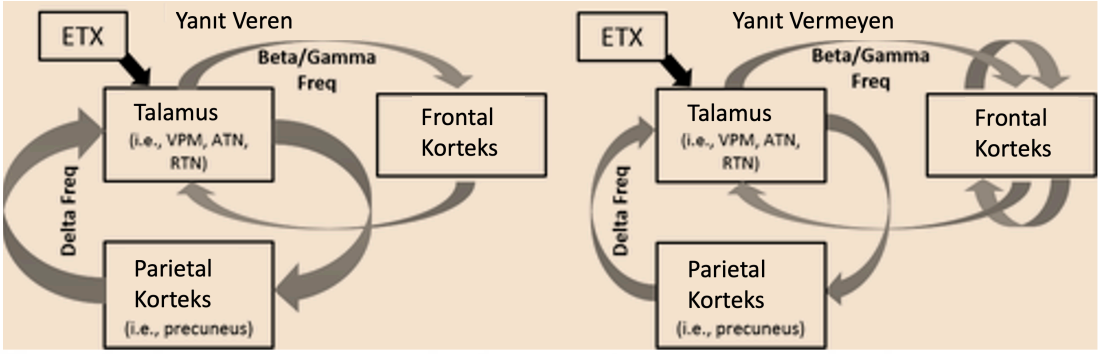


Şekil 2.9. Talamokortikal döngü.

Talamokortikal döngü kortikal piramidal nöronları , talamokortikal röle nöronlarını (TC) ve talamusun retiküler nükleusunu (NRT;) içerir. (1) TC röle nöronları uyarıcı sinapslar aracılığıyla periferden duyusal girdi alır. (2) TC röle nöronlarının sinyalleri uyarıcı sinapslar aracılığıyla kortekse ve (3) kollateraller aracılığıyla talamusun retiküler nükleusuna (NRT) iletilir. (4) NRT, TC nöronlarına geri bildirim inhibisyonu (inhibitör post-sinaptik potansiyeller - IPSP'ler) gönderir. (5) NRT ve TC nöronlarına uyarıcı sinyaller gönderen kortikal nöronlardır (Huguenard, 2019).

Mevcut antiepileptikler bu döngüyü hedeflemektedir ve yeni çalışmalar da yine bu mekanizmayı tamamen aydınlatmak ve yenilerini geliştirmek üzerinedir (Tablo 2-1). Örneğin %19,5 hasta bu ilaca karşı dirençli olsa da en yaygın kullanılan antiepileptik ilaç etosüksimite (ETX)'dir (Glauser et al., 2010; Glauser et al., 2017; Masur et al., 2013). ETX'in ana antiepileptik etkisini bir talamik T-tipi kalsiyum kanalı antagonisti olarak antiepileptik etki gösterdiği düşünülmektedir. Mevcut çalışmada,

ETX tedavisine yanıt vermeyen katılımcıların teşhis anında ve tedaviden önce frontal korteks bağlantılarında bir artış olduğu gösterilmiştir (Şekil 2.10.). Bu artan frontal kortikal bağlantı, nihai tedaviye yanıtsızlıkların olası bir mekanik açıklaması olduğu kabul edilmektedir (V. Crunelli & L. Leresche, 2002).



Şekil 2.10. Genel kullanıma sahip olan ETX absans nöbeti oluşumu ve ETX tedavi yanıtı için olası bir mekanizmayı temsil eden şema

Mevcut absans nöbetlerin oluşumundan sorumlu olarak üç ana beyin alanı tanımlanmıştır (talamus, frontal korteks, parietal korteks). Verilere göre düşük frekanslarda bir arka kortikal talamik ağ ve daha yüksek frekanslarda birlikte oluşan bir ön kortikal talamik ağ göstermiştir.

Tablo 2.1. Absans epilepside kullanılan yaygın ilaçlar ise Sodyumvalproat, Levetirasetam ile Lamorijinindir. Bahsedilen ilaçların kısaca etkinlik mekanizmaları ve yan etkileri şu şekildedir (Manning et al., 2003).

İlaç	Hastalar Üzerindeki Yüzde Etkinlik	Etkin Mekanizma
Etosüksimid	%70	T-Tipi Ca^{+2} İnhibisyonu
Valproik Asit	%88-90	Voltaja Bağlı Ca^{+2} ve Na^{+} İnhibisyonu İle beyindeki GABA miktarı azaltma üzerinden
Lamotrijin	%50-56	Voltaja Bağlı Na^{+} İnhibisyonu
Levetiresetam	%50	Sinaptik Vezikül Protein Modulasyonu

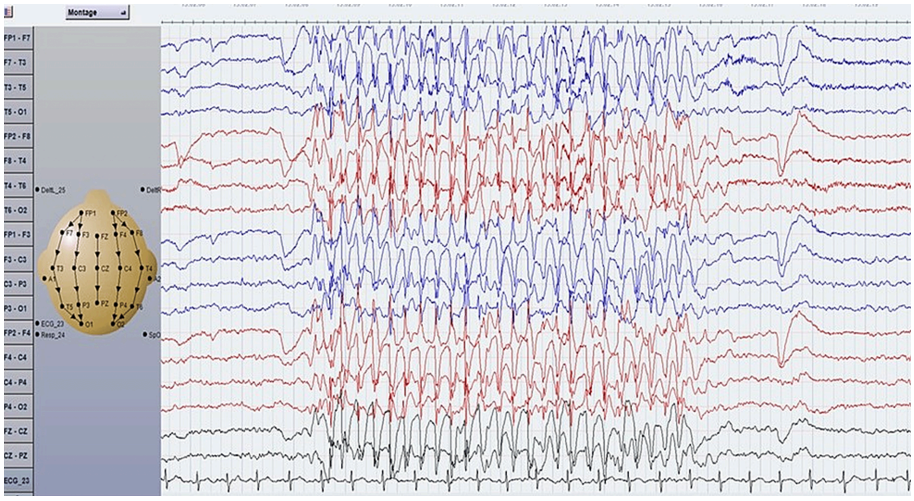
2.3.5. Absans epilepsili bir hastanın teşhisi

Birçok kişi tarafından tekil bir epilepsi sendromu olarak kabul edilir ancak ilişkili klinik özellikler değişkendir. Çocukluk çağı absans epilepsisi ilerleyen yaşlarda genellikle kendiliğinden iyileşme gösterse de nöbetlerin beyindeki lezyonlarla ilişkili olması, geç başlangıç ve atipik DDD görülmesi kötü prognoz işaretleridir. Bu nedenle özellikle çocukluk çağında ebeveynlerin bilgilendirilmesi ve takibinin yanı sıra okul çağında öğretmenlerin de dikkatli gözlemi önem arz etmektedir(V. Crunelli & N. Leresche, 2002).

Absans epilepsi jeneralize başlangıçlı motor olmayan nöbet sınıf olması nedeniyle başta anlaşılması zor olsa da özellikle tipik absans nöbetlerde devam eden davranışların kesintiye uğraması, boş bakış, muhtemelen gözlerin kısa bir yukarı sapması şeklinde olduğu ve hastanın cevapsız kaldığı gibi birden fazla gözleme dayalı olmaktadır (Wirrell et al., 1996). Buna ek atipik bir absans nöbette vücut tonusunda değişiklikler söz konusu iken miyoklonik absans nöbette saniyede 3 kez ritmik miyoklonik kasılma, bilinç bulanıklığı göz kapağı miyoklonisinde ise göz kapaklarında miyoklonik çekilmeler, sıklıkla göz kapama ve ışıkla tetiklenme söz konusudur (Onat et al., 2013). Bu gibi durumlarda tam bir teşhis için hastanın uygun koşullu bir hastanede EEG kaydının alınması gerekmektedir.

2.3.6. Absans epilepsinin elektroensefalogramdaki özellikleri

Absans nöbetlerinin klinik semptomlarının ve elektrografik özelliklerinin spektrumu klasik ders kitabındaki düzenli 2,5-4 Hz DDD gösteriminin aksine (Şekil 2.11.) absans nöbetlerinin elektrografik sunumu aynı bireyde bile oldukça değişken olabilir ve farklı amplitüd ve sürelere sahip DDD'yi, sivri uçların yokluğunu, çift sivri uçların varlığını ve paroksizmin sonuna doğru frekansta aşamalı bir azalmayı içerebilir(Yoshinaga et al., 2004). Ayrıca, absans nöbetinin diğer klinik semptomları (örneğin otomatizmler, atonik ve tonik kas bileşenleri, hafif klonik göz veya ağız sarsıntıları vb) aynı hasta ya da diğer hastalarda farklı absans nöbetleri sırasında oldukça değişken olabilir (Sinclair & Unwala, 2007).



Şekil 2.11. Absans nöbetleri gösteren elektrografik sunumu (Sinclair & Unwala, 2007)

2.3.7. Absans epilepsi deneysel modelleri

Absans epilepsiyi meydana getiren fizyopatolojik mekanizmalar ile ilgili farklı görüşler ileri sürülmekle birlikte, bu mekanizmaların iyi anlaşılabilmesi için geçerli ve güvenilir hayvan modellerine ihtiyaç duyulmaktadır. İlk çalışmalar absans epilepsinin hayvan modellerinde, merkezi başlatma ağının konumu farklıdır, primer somatosensoriyel korteksin (S1) peri-oral bölgesinde lokalize olur ve nöbetin buradan talamusa ve diğer kortikal bölgelere yayıldığı söylemektedir (Meeren et al., 2002; Polack et al., 2007). Daha yakın zamanlı bir çalışma ise farklı hayvan modellerinde farklı kortikal başlangıç bölgelerin varlığı göstermiştir, bu da insanlardaki bulgularla uyumludur (Crunelli et al., 2020). Meyer ve arkadaşları, absans nöbetler sırasında oksipital kortekste nöronal ateşlemenin azaldığını tespit etmiştir (Meyer et al., 2018). Sorokin ve arkadaşları, ventrobazal (VB) talamusun somatosensoriyel kısmındaki talamo kortikal (TC) nöronlarının patlama yanıtları üretme yeteneğini değiştirmek için optogenetik araçlar kullanmış ve patlama ateşlemesi üreten TC nöronların hiperpolarizasyonunun absans nöbetleri başlatmak için yeterli olduğunu, TC nöron membranının depolarizasyonunun ise doğal olarak oluşan bir absans nöbeti bloke edebildiğini buldular (Sorokin et al., 2017). Buna karşılık, McCafferty ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışma, absans nöbetler sırasında talamusun retiküler nükleus (NRT) nöronlarının patlama ateşlemelerini artırırken, TC nöronlarının ateşlemelerini azalttığını ve TC nöronlarının nöbet oluşumunda daha az rol oynadığını göstermiştir. Bu sonuçlarla uyumlu olarak, bu yazarlar TC nöronlarındaki düşük eşikli T-tipi

kalsiyum kanallarının farmakolojik blokajının absans nöbetler üzerinde hiçbir etkisinin olmadığını, kortikal ve NRT nöronlarındaki blokajın ise absans nöbetleri baskıladığını göstermiştir (McCafferty et al., 2018). Yine yakın zamanda kortikal internöronların absans nöbetlerin kontrolüne dahil olduğunu göstermiştir. Ayrıca, absans epilepsisinin hayvan modellerinde, talamo-kortikal döngünün normal işlevi, iyonotropik GABAAreseptörü aracılı inhibisyonun değişmesiyle düzensizleşmektedir (Panthi et al., 2021). Tüm bu çalışmalarda kullanılan modeller hedeflenen mekanizma da göz önüne alınarak amaca hizmet edecek şekilde seçilmektedir. Absans epilepsili olan bu hayvan modelleri farmakolojik ve genetik hayvan modelleri olmak üzere iki sınıfta ayrılabilmektedir. Farmakolojik modeller, absans epilepsiye ait olabileceği düşünülen mekanizmaları tetikleyen GABA inhibitörleri gibi famakolojik ajanlarla oluşturulmaktadır. Bunlar Tablo 2-2'deki gibidir.

Tablo 2.2 Absans epilepsi modelleri

Akut Farmakolojik Modeller	Kimyasal Maddenin Tek Doz Sistemik Uygulanması İle Oluşturmaktadır. Bunlar; Gabaerjik Sistem Üzerine Etkili Ajanların (Penisilin, Bikukulin (BCC), Pentilentetrazol (PTZ), Pikrotoksin (PTX), Gamma Hidroksi Bütirat (GHB), Baklofen) Modelleridir (Kandratavicius Et Al., 2014)
Kronik Modeller	Tekrarlayan dozlarda metilazoksimetanol asetat (MAM) veya kolesterol sentaz inhibitörü AY9944 uygulaması ile oluşturulurlar (Cortez et al., 2016)

Genetik hayvan modelleri ise tek veya çoklu gen mutasyonları ile meydana getirilen modellerdir. İnbred olarak üretilen bu hayvanlarda absans nöbetler dışında nöbetler olmadığı bildirilmiştir (Danober et al., 1998). Genetik fare modelleri, voltaj kapılı kalsiyum kanallarının alt birimlerini kodlayan tek genler üzerindeki spontan nokta mutasyonlarından meydana gelmektedir (V. Crunelli & N. Leresche, 2002). Yaygın kullanılan genetik modeller tablodaki gibidir (Tablo 2.3.). Diğer yandan poligenik modeller, absans epilepsinin en iyi karakterize edilen ve en kapsamlı şekilde çalışılan modellerini kapsar ve suşlarda nöbetin genetik geçişi otozomal baskındır. Bunlar, her ikisi de normal Wistar suşundan türetilen genetik sıçan modelleri Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg (GAERS) ve Wistar albino Glaxo from

Rijswijk sıçanlarıdır (WAG/Rij) (Depaulis et al., 2016). Bu suşlardaki absans epilepsi modeli, hayvanların %100 'ünün absans nöbetleri gösterdiği bir suş elde etmek için bir Wistar kolonisinden birkaç nesil boyunca yetiştirilmiştir ve aynı Wistar kolonisinden, absans nöbet göstermeyen ve deneylerde GAERS ve WAG/Rij sıçanları için kontrol suşu olarak kullanılan Epileptik Olmayan Kontrol suşu (NEC) sıçanları elde edilmiştir (Marescaux et al., 1992). Bu suşlarda absans nöbet ekspresyonuna yol açan genetik arka plan henüz tamamıyla aydınlatılamamıştır, ancak düşük eşikli T-tipi kalsiyum kanalını (bunlardan en iyi bilineni Cav3.2'yi) kontrol eden Cacna1h geninde bazı mutasyonlar tanımlanmıştır ve WAG/Rij'de 5 ve 9 numaralı kromozomlarda ve GAERS'de 4, 7 ve 8 numaralı kromozomlarda DDD'lerin spesifik özelliklerini kontrol eden lokuslar olduğunu göstermiştir (Gauguier et al., 2004; Rudolf et al., 2004).

Tablo 2.3. Absans epilepsi genetik modelleri (Manning et al., 2003)

Tek gen fare modelleri	Letharjik, stargazer, tottering, leaner, mocha, ducky
Çoklu gen Sıçan Modelleri	Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg (GAERS) ve Wistar Albino Glaxo/Rijwijk rats (WAG/Rij)

Absans epilepsi modelleri düşük fiziksel ayırt edici özelliğe sahip olması nedeniyle elektrofizyolojik kayıtlar önem arz etmektedir. Bazı absans epileptik kemirgen türlerinin elektroensefalogram kayıtlarında DDD gözlenmektedir. Bunlar farmakolojik ajan ile oluşturulan modellerden çok genetik hayvan modellerinde görülür ve bu şekilde absans nöbetlerinin ayırt edici özelliği olan elektroensefalogramda görülen nöbet diken ve dalga deşarjları bu modellerde de görüntülenebilmektedir. Tipik absans nöbetleri, elektroensefalogramda depresyon olmaksızın aniden başlayıp biten iki taraflı, senkronize ve düzenli genellikle 10-20 sn süren 3-Hz diken ve dalga deşarjları (DDD'ler) içermektedir. Bu hayvan modellerinde değişkenlik gösterebilmekle birlikte (Tablo 2.3.) örneğin tek gen mutasyonlu genetik fare modellerinde, yaşamın ilk birkaç haftasında davranışsal durma (insanlarda bilinç eksikliğinin fenokopisi) ile insanlardan daha yüksek frekansta (5-7 Hz) DDD'ler geliştirir (V. Crunelli & N. Leresche, 2002). Poligenetik sıçan modelleri ise davranışsal durma, hafif uyaranlara tepkisizlik ve küçük orofasiyal bozukluklarla ilişkili spontan ve yine insanlardan daha yüksek frekansta (7-11 Hz) DDD'ler geliştirir

(ve bunların tümü insanlardaki tipik absans nöbetlere benzer)(V. Crunelli & N. Leresche, 2002). Bu sıçanlarda insanlarda görüldüğü gibi, DDD'ler normal bir EEG arka planından aniden başlar ve biter, bunlar çoğunlukla pasif uyanıklık veya uyku hali sırasında ve ara sıra aktif uyarılma yavaş dalga ve paradoksal uyku sırasında gerçekleşir. Daha önceki bölümlerde de bahsedildiği gibi absans epilepsinin ikincil karakteristik özellikleri birlikte seyreden davranışsal ve/veya nöropsikiyatrik durumları da yine sınırlı da olsa hayvan modellerinde incelemek mümkündür (Coenen & van Luijtelaar, 2003; Depaulis et al., 2016).

2.3.8. Doğuştan absans epilepsili WAG/Rij sıçanların seçiminin avantajları ve dezavantajları

Poligenetik sıçanlar, genetik fare modellerinde (örneğin, yalpalayan, uyuşuk, stargazer fare) gözlemlenen nörolojik anormallikleri göstermezler; bu da onları absans epilepsi ile sık seyreden davranışsal testler için uygun hale getirir (V. Crunelli & N. Leresche, 2002). Ayrıca, daha önce de bahsedildiği gibi absans epilepsisinin poligenetik mutasyonlu genetik sıçan modelleri de anksiyete ve öğrenme-bellek bozukluğu gibi ikincil karakteristikleri de yansıtabilmektedir (Citraro et al., 2015). Özellikle anksiyete benzeri davranışlar, çeşitli müdahaleler uygulanarak ve açık alan, yükseltilmiş artı labirent ve ışık-karanlık kutu gibi farklı davranış testleri kullanılarak kapsamlı bir şekilde incelenmiştir; bu çalışmalardan elde edilen ana bulgular Tablo 2.4.'te listelenmiştir. Tüm bunlar da poligenetik suşlar arasında insandaki en benzer olanı yaygın olarak seçilmesine neden olur.

Tablo 2.4. WAG/Rij sıçanlarda yapılan bazı uygulamalar ile anksiyojenik ya da anksiyolitik etkileri ile ilgili test sonuçları

Reference	*Model*	*Test*	*Intervention*	*Main findings*
(K. Y. Sarkisova, Midzianovskaia, & Kulikov, 2003)	WAG/Rij	OF, EPM, LDB	Imipramine, subchronic (15 days)	No effect on anxious behavior
(K. Y. Sarkisova, Kulikov, Midzyanovskaya, & Folomkina, 2008)	WAG/Rij	OF, LDB	Imipramine, parlodel, subchronic (15 days)	No effect on anxious behavior
(Shaw, Chuang, Shieh, & Wang, 2009)	Long–Evans	EPM, OF	Ethosuximide, acute	↓ number of seizures, no effect on anxious behavior
(K. Y. Sarkisova et al., 2010)	WAG/Rij	OF, LDB	Ethosuximide, early chronic (P21, 17 days), prolonged early chronic (P21, 152 days)	↓ number of seizures, no effect on anxious behavior
(Huang et al., 2012)	Long–Evans	OF, EPM	Lamotrigine, chronic (35 days)	↓ number and duration of SWDs, ↓ anxious behavior
(Russo et al., 2013)	WAG/Rij	OF, EPM	Aripiprazole, subchronic (>14 days)	↓ number and duration of SWDs, ↓ anxious behavior
(R. Citraro et al., 2014)	WAG/Rij	OF	Statins, acute, chronic (119 days), early chronic (<P45, 119 days)	↓ development of seizures with early chronic; no effect with acute or chronic, ↓ anxious behavior with early chronic; no effect with acute or chronic
(Ari et al., 2016)	WAG/Rij	EPM	Ketone supplements, subchronic (7 days), chronic (83 days)	↓ anxious behavior
(R. Citraro et al., 2017)	WAG/Rij	OF	Perampanel, acute, subchronic (7 days), early chronic (<P30, 152 days)	No effect on seizures with acute and subchronic; ↓ seizure development with chronic, no effect on anxious behavior
(Aygun, 2020)	WAG/Rij	OF	Trazodone, acute	↑ number and duration of SWDs, ↑ anxious behavior
(R. Citraro et al., 2020)	WAG/Rij	EPM	Valproic acid, sodium butyrate, early chronic (P30, 152 days), prolonged early chronic (P30, 212 days)	↓ number and duration of SWDs, no effect on anxious behavior

Hem GAERS hem de WAG/Rij sıçan suşlarının ECoG kayıtları insandakine benzerdir. GAERS'deki DDD'ler normal bir EEG arka planından aniden başlar ve biter, çoğunlukla pasif uyanıklık veya uyku hali sırasında ortaya çıkarlar ve en önemlisi de insanlarda absans nöbetleri tedavi etmek için kullanılan antiepileptiklere yanıt verir ve bu da geçerliliklerini şu şekilde destekler (Depaulis et al., 2016). Ancak GAERS ve WAG/Rij sıçanları arasında DDD'lerin farklı parametrelerinde farklılıklar vardır: İnsan absans nöbetlerinin aksine, sıçan modelleri daha yüksek DDD frekansı, polipiklerin tamamen yokluğu, nöbetlerin geç başlaması ve yetişkinlikte devamlılık göstermektedir bu da incelenme yaş sınırlarını net çizebilmeyi ve birbirleri arasında kararlılık sağlamaktadır (V. Crunelli & N. Leresche, 2002). GAERS'de absans nöbetler WAG/Rij sıçanlarına göre daha erken tespit edilir (GAERS'de doğum sonrası 30. gün civarında; WAG/Rij sıçanlarda doğum sonrası 75. gün). WAG/Rij sıçanlarda daha yüksek olan DDD sıklığı; DDD sayısı, toplam süresi ve ortalama uzunluğu GAERS'de daha yüksektir (Depaulis et al., 2016). Bu farklılardan öte WAG/Rij sıçanların nöropsikiyatrik komorbitelerde açısından da araştırmalara daha müsait olduğu düşünülmektedir. Önceki yıllarda yapılan bir çalışmada "normal" Wistar

sıçanlarıa kıyasla "depresif" WAG/Rij sıçanlarının açık alan testinde keşif aktivitesinde azalma (daha az sayıda arka çıkma ve merkeze giriş) sergilediğini ve bunun da yenilik odaklı keşif motivasyonunun azaldığını gösterdiğini ortaya koymuştur (Sarkisova & van Luijtelaar, 2011). WAG/Rij sıçanlarda keşif aktivitesinin azalması, ambulasyonda daha fazla düşüş (başlangıçta yeni ortama alışma), yeni durumlara ilgi kaybını temsil edebilir ve depresif bozukluğun bir belirtisi olan yenilik arama motivasyonundaki eksiklikleri ima edebilir. Bu durum, WAG/Rij sıçanlara merak temelli testlerde gözlemlenen tanıma belleği eksikliklerinin, nesne tanımadaki eksikliklerden ziyade nesne keşfinin azalmasından (sırasıyla cansız veya canlı) kaynaklanabileceğini göstermektedir. Bu nedenle, WAG/Rij sıçanlarda ortaya çıkan tanıma belleğindeki eksiklikler, depresyonla ilişkili azalmış keşif motivasyonu ile açıklanabilir. Buna ek, WAG/Rij sıçanları için de karakteristik olan ödüle duyarlılığın azalması (anhedoni), bu sıçan türünde pozitif pekiştirmeye dayalı görevlerde de gözlemlenen bilişsel bozuklukları açıklayabilir (Crunelli et al., 2020). Daha ayrıntılı çalışmalar, bu türde nöbet başlangıcının altında yatan hipereksitabilite fenomeni ile ortak moleküler olayları paylaşabilecek komorbiditelere yol açan ağlar ve mekanizmalar hakkında fikir vermelidir. Ayrıca, bu türde, absans nöbetlerinin, depresif benzeri davranışların ve bilişsel eksikliğin yaşam boyu bağımsız ve ayrı olarak ortaya çıkması, ancak altta yatan aynı ağ hastalığını (örneğin hipokampal-talamo-kortikal ağ) paylaşması mümkündür. Dahası, bu türde DDD aktivitesi ile yaşa bağlı öğrenme ve hafıza bozukluğu arasında bir ilişki olabilir. Aslında, bu çalışmada depresif benzeri davranış için bildirilenin aksine, nöbetler bol miktarda mevcut olduğunda WAG/Rij sıçanlarda bilişsel bozukluk kötüleşmektedir. Ancak, bu korelasyonun sonraki çalışmalarda, nöbetlerin başlamasından sonra farklı zaman noktalarında EEG kaydı ve davranış testleri birleştirilerek daha fazla açıklığa kavuşturulması gerekmektedir. Bununla birlikte, bu beyin ağındaki nöronal ve glial patolojik değişikliklerin WAG/Rij sıçanlarda daha iyi değerlendirilmesi gerekmektedir. (Malekpour et al., 2023). Özetle, bu türdeki bilişsel bozulmanın hafif olduğu ve yokluk nöbetleri ve gözlemlenen diğer davranışsal anormalliklerle sıkı bir şekilde ilişkili olduğu söylenebilir. Bu nedenle, WAG/Rij sıçanları absans epilepsi ve komorbiditelerini incelemek için makul bir şekilde iyi bir model olarak kabul edilebilir.

Yapılan çalışmalarda ortaya konulan mekanizmalar her bir genetik absans epilepsi modelinde ortak olduğu gibi WAG/Rij sıçan modellerinde de en geçerli olarak DDD'leri meydana getiren mekanizma: NRT ve SN pars retikülata (SNr) olmak üzere iki temel kaynak tarafından üretilen TC nöronlarının inhibisyonundaki artış, talamik ektogenezin temel özelliğidir ve TC nöronlarının toplam ateşlemesinde genel bir azalma ve az sayıda tek aksiyon potansiyeli ateşlemesi ile sonuçlanır; ve absans nöbetler sırasında T- tipi kalsiyum kanallarının aracılık ettiği artan bir patlama ateşlemesi ile meydana gelmektedir şeklinde ortaya konulmuştur. Poligenetik mutasyonlu suşlar için ayrıca, Cope ve arkadaşları tarafından yürütülen bir çalışmada, ekstrasinaptik δ içeren GABAAreseptörlerinin aracılık ettiği gelişmiş bir GABA tonik akımının absans nöbeterin tam ifadesi için gerekli ve yeterli olduğunu göstermiştir. Normal Wistar sıçanlarda GABA tonik akımının arttırılması DDD'leri ortaya çıkarırken, GAERS'deki anormal tonik akımın azaltılması DDD'leri azaltır. Artmış tonik GABA akımı, astrositik GABA taşıyıcı 1'deki işlev bozukluğu ile ilişkilendirilmiştir. Bu sonuçlar, ekstrasinaptik δ içeren GABAA reseptörlerinin aracılık ettiği artmış tonik akımın absans nöbetlerin tam ifadesi için gerekli ve yeterli olduğunu göstermekte ve anormal tonik GABA akımının normalleştirilmesinin önemli bir terapötik değere sahip olabileceğini düşündürmektedir(Cope et al., 2009; Deidda et al., 2021). Bununla birlikte, GABAA reseptörlerinin doğrudan antagonistleri mevcut değildir, bu nedenle GABA tonik akımının dolaylı bir modülasyonu yeni terapötik stratejiler için bir hedef olabileceği düşünülmektedir. Tüm bunlara ek önemli derecede absans nöbet modülasyonu bazal gangliyonlar aracılığıyla da gerçekleşir. Substansiya nigranın (SN) GABAerjik nöronlarının ateşlenmesindeki değişiklikler, absans nöbetleri hem doğrudan hem de dolaylı yolla modüle eder ve GABAerjik (SNr) nöronlarının ateşlenmesinin absans nöbetler sırasında arttığı gösterilmiştir(Crunelli et al., 2020).

WAG/Rij sıçanlar ilk olarak 1924 yılında A.L. Bacharach tarafından outbred Wistar sıçanlardan inbred olarak üretilip sonrasında İngiltere'deki Glaxo laboratuarları tarafından üretilmeye devam etmiştir. WAG/Rij türü sıçanlar en az 100 nesildir çiftleştirilmektedir ve bu da bu türün sıçanlarını neredeyse homozigot hale getirmektedir. Bu hayvanlarda nöbetler esnasında davranışsal tutulma, boş bakma, nefes almada hızlanma ve bıyık hareketleri/seğrilmesi gözlemlenebilmektedir. Ancak

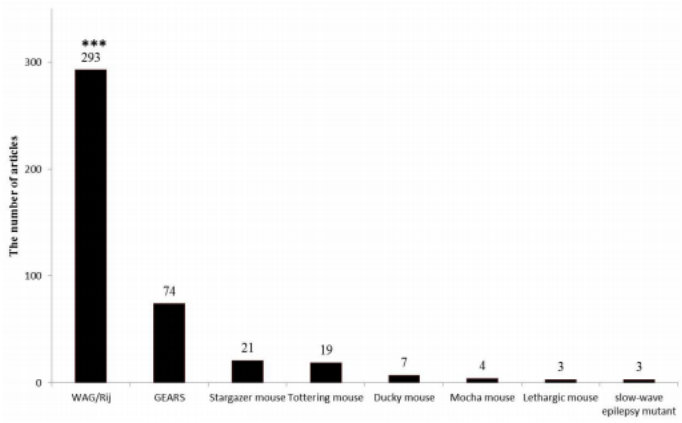
yapılan bilimsel çalışmalarda bu fiziksel değişimler yerine WAG/Rij ırkı sıçanlarda insan absans epilepsisine benzer şekilde absans nöbetleri esnasında görülen EEG sinyallerinde oluşan DDD sayıları ve her birinin süresi incelenmektedir. Bu sıçanlarda daha önce de bahsedildiği gibi EEG kayıtta nöbetler üç aydan sonra görülmeye başlayıp, kliniktekine de benzer kaydı yedi ve dokuz aylıkken anlık frekans iğ etkinliği sırasında sabit kalmasıyla birlikte vermektedir ve yaşa bağlı artmaktadır. Alınan EEG sinyallerinde nöbetler esnasındaki DDD'lerin temel frekansı 7-10 Hertz'dir. Diken-dalga deşarjların süresi 1-30 saniye arasında olabilmektedir. Yedi aylık yetişkin sıçanlarda saatte 16-18 (günde 300-400) diken-dalga deşarjı oluşmaktadır. Bu nedenle bu sıçanların klinik ve EEG bulguları diğerlerininkine güçlü bir şekilde benzemektedir ve bu fenomenlerin insan absans epilepsisini anımsattığı konusunda fikir birliği vardır. WAG/Rij sıçanların en çok tercih edilen (Şekil 2.12.) absans epilepsi hayvan modeli olmasının nedenleri toparlayacak olursak,

1) İnsanda görülen DDD EEG'de ayırt edilebilir şekilde vermesi

2) İnsandaki absans epilepsiye benzer komorbitelere sahip olmaları

3) İnsanda da ngörülen mekanizma yolaklarının benzer olması: Düşük voltajlı T-tipi kalsiyum kanallarını kodlayan gen ekspresyonlarının non-epileptik kontrol sıçanlara göre değişmesi ve talamo-kortikal sistemdeki $GABA_A$ reseptör alt birim ekspresyonundaki lokal varyasyonların varlığı gösterilmiş

olması nedeniyle daha önceliklidir.



Şekil 2.12. WAG/Rij sıçanların bilimsel çalışmalarda en çok tercih edilen model olması (Jafarian et al., 2021)

2.3.8.1. WAG/Rij sıçanlarda yaşın ve cinsiyetin nöbetlere etkisi

İnsan absans epilepsisinin ortaya çıkışında yaşamın ilk yıllarında meydana gelen gelişmeler olduğu varsayılmaktadır. Absans epilepsi en sık 2-15 yaş ve ileri yaşlarda hastalıklarla ya da hastalıklardan bağımsız seyrederek ortaya çıkar (Coenen & Van Luijtelaar, 1987; Karbowski & Karbowski, 1985). Eğer absans epilepsi çocuklukta görülüyorsa ergenlikten sonra absans belirtileri çoğunlukla kaybolur veya vakaların yaklaşık üçte birinde absans ve 'grand mal' epilepsi karışımına dönüşebilir. Eğer yaşlılıkta görülüyorsa diğer hastalıklarla artıp/azalabilmektedir. Ayrıca kadınlarda erkeklerden daha fazla görülmektedir

Aldinio ve arkadaşları hayvan modellerinde ise 1 yaşın paroksizm gelişiminde kritik bir faktör olduğunu bulmuştur (Calderini et al., 1981). Yapılan son çalışmalar, altı aydan itibaren etkilenen hayvanların yüzdesinde düzenli bir artış fark ederken, Marescaux ve ark. özellikle 14-18 haftadan önce epileptik EEG bulgusu görmemiştir (Vergnes et al., 1982). Literatürde WAG/Rij sıçan modeli için de detaylı yaş ve ayrıca cinsiyet üzerine yapılmış çalışmalar mecvuttur. Bunlardan kapsamlı yapılan bir araştırmaya göre yaş ve cinsiyetin WAG/Rij türü sıçanlarda kendiliğinden oluşan diken-dalga kompleksleri üzerindeki etkileri 2 ayrı deneyde incelenmiştir. İlk deneyde nöbetlerin yaşla birlikte nasıl geliştiği, ikincisinde ise bunun erkek ve dişi sıçanlarda aynı şekilde gerçekleşip gerçekleşmediği araştırılmıştır. Sonuçlar: İlk çalışmada, 3 bağımsız erkek sıçan grubu test edilmiştir; ilk grup 75 günlükken, ikinci grup 140 günlükken ve üçüncü grup 245 günlükken. İkinci çalışmada, erkeklerin yanı sıra dişiler

de 75, 125 ve 175 günlük yaşlarda tekrar tekrar test edilmiştir. Her iki deneyde de yaşla birlikte diken-dalga komplekslerinin sayısında ve devamsızlık yapan sıçanların sayısında artış görülmüştür. İkinci deneyde, hiçbir yaşta erkekler ve dişiler arasında fark tespit edilmemiştir (Coenen & Van Luijtelaar, 1987). Bu çalışmayı destekler nitelikteki daha güncel çalışmalardan biri yaşa bağlı DDD amplitude ve ortalama sayısı üzerine veriler sunarken biri de beş-altı aylık ve dokuz-on aylık sıçanların hem cinsiyete hem de DDD sayıları üzerine elektrofizyolojik ve karakteristik farklılıklarını ortaya koymuştur(Verrotti et al., 2008). Sonuçta, hem epileptik nöbetler hem de diğer semptomlarda kullanılan ilacın yaşa göre yanıtları farklılık yaratabileceği göz önüne alınmalıdır.

2.3.9. Epilepsiye etki eden nörotransmitterler

Epileptik nöbetlere neden olan faktörler arasında nörotransmitterler arasındaki dengesizlik bulunmaktadır. Bu genellikle eksitatör glutamaterjik sistem ile inhibitör γ-aminobutirik asiderjik (GABAerjik) sistem arasındaki yakından ilişkili olan bir "uyarılma-inhibisyon" dengesizliği ile ifade edilir. Bu klasik teoriye dayanarak, hemen hemen mevcut anti-epileptik ilaçların (AEİ'ler) çoğu esasen eksitatör glutamaterjik iletimin aktivitesini bloke ederek veya inhibe edici GABAerjik iletimin aktivitesini artırarak nöbetleri kontrol etmek için kullanılır. Ancak yine de epilepsiye karşı ilaca dirençli hale gelmektedir (Wang & Chen, 2019). Uyarıcı glutamaterjik iletim ve inhibitör GABAerjik iletim arasındaki klasik dengesizliğin dışında, kümülatif kanıtlar, kolinerjik sistemin de nöral uyarılabilirlik ve epilepsinin modülasyonunda ciddi bir önem arz ettiğini göstermektedir (John Newport Langley, 1901; Picciotto et al., 2012). Beyindeki kolinerjik sistem, birçok fizyolojik fonksiyonda önemli bir rol oynamaktadır. Özellikle de nöronal uyarılabilirliği, sinaptik iletimi ve sinaptik plastisiteyi modüle etmesi epileptik nöbetler üzerine de etkin rol oynayabileceğini düşündürtmektedir.

Dahası çeşitli nörotransmitterler ve onlara ait mekanizmaları hedefleyen ilaçların etkinliği yaşa göre değişebilmektedir. Örneğin yaygın kullanılan ÇÇAE (çocukluğu çağı absans epilepsi) ilaçlarından etosüksimit'in (ETH) (300 mg/kg/gün) eşlik eden hafıza soruna etkisi değerlendirilmiştir. Bu çalışmada ETH'nin 17 gün boyunca kronik olarak verilmesi On iki aylık WAG/Rij sıçanlarda hafızayı geri getirebilirken Wistar sıçanlarda altı aylık WAG/Rij sıçanlarda herhangi bir etkiye yol açmadığı ayrıca yaşla

artış gösteren bilişsel performans bozulmasına valproik asit ve brivarasetam kadar müdahale edemediği gösterilmiştir (Van den Berg et al., 2014).

2.3.9.1. Bir nörostransmitter olarak beyindeki asetilkolin ve asetilkolin reseptörleri: Beyindeki kolinerjik sinyal

Memeli beynindeki kolinerjik nöronlar beynin birçok bölgesinde bulunur (Allaway & Machold, 2017). Bu nöronlar hipokampus, talamik çekirdekler ve korteks gibi alanlara projekte olarak (Ballinger et al., 2016) nöral devreye özgü şekillerde birçok önemli ve farklı beyin fonksiyonlarında rol alır.

ACh, bir kolin taşıma mekanizması tarafından sağlanan kolinden ve kolin asetiltransferaz (ChAT) enzimi vasıtasıyla asetillenen piruvatın mitokondriyal metabolizmasından türetilen asetil-koenzim A'dan kolinerjik terminallerin sitozolünde sentezlenir (Descarries et al., 1997). Daha sonra, genellikle presinaptik membrandaki aktif bölgelerde meydana gelen kalsiyum iyonu bağımlı bir ekzositotik süreçle sinir terminalinden salınır. Kolinerjik sinir terminallerinden salınan ACh, uzak bölgelere yayılabilir ve konsantrasyon genellikle 1 mM'den azdır. Son olarak ACh, asetilkolinesteraz (AChE) enzimi ile yıkılarak ortamdan uzaklaştırılır.

Santral kolinerjik reseptörler ACh reseptörlerinin (AChR'ler) iki süper aile grubunu içerir: G-protein-bağlı muskarinik asetilkolin reseptörleri (beş alt tip içeren mAChR'ler) ailesi ve ligand kapılı nikotinik ACh (nACh, a ve β alt birimleri içerir) kanal ailesi (Fuenzalida & R Arias, 2016).

2.3.9.2. Bir nörotransmitter olarak asetilkolinin epilepsiye etkisi

Kolinerjik mekanizmaların epilepsideki rolü 19. yüzyılın başında ortaya çıktı (J. N. Langley, 1901). Bu mekanizmalara yönelik ilaçlar birçok nöropsikiyatrik hastalıklarda da hedeflenebilmektedir. Ancak özellikle epilepside kolinerjik nöronların nöbetlerin oluşumu, yayılması ve kontrolündeki nedensel rolü, son zamanlarda sınırlı verilere ve birçok tutarsız rapora sahiptir (John Newport Langley, 1901). Örneğin, çok sayıda çalışma, kolinerjik agonistler olan karbakol veya pilokarpinin sistemik uygulamasının nöbet aktivitesini indüklediği uzun süredir (Curia et al., 2008) bilinse de özellikle yakın zamanda, optogenetik kullanılarak medial septumdaki (MS) kolinerjik nöronların seçici aktivasyonunun belirgin anti-nöbet etkileri üretebileceğini gösterilmiştir (Wang et al., 2020) . Bu veriler toplu olarak,

kolinerjik sinyallemenin epilepside kritik ancak heterojen bir rol oynayabileceği fikrini desteklemektedir. Asetilkolin'in (ACh) farklı fonksiyonları salınım bölgesine, reseptör alt tipine ve hedef nöronal popülasyona veya nöral devreye bağlı olduğundan, epilepsideki kolinerjik sistem potansiyel mekanizmalarının derinlemesine anlaşılması, geniş kapsamlı mekanizmaları ortaya çıkarmak için gerekli basamak taşlarıdır (Tablo 2.5. ve Tablo 2.6.).

Tablo 2.5. Muskarinik reseptörlerin epilepsi modellerine göre bazı etkileri (Yu Wang et al., 2021)

Muskarinik Reseptör

Tablo 1. mAChR'lerin epilepsideki rolünü bildiren bulguların özetleri.

Epilepsi Modeli	Zaman Noktası	Gözlemler
Kompleks parsiyel nöbetleri olan temporal loblar	interiktal dönem	mAChRs antagonisti I-iyododeksetimidin bağlanması ön hipokampusta azalmıştır.
İlaca dirençli fokal temporal lob epilepsisi olan hastalar	interiktal dönem	Ateşli nöbet, hipokampal skleroz ve diğer neokortikal patolojiler dahil olmak üzere çeşitli nöbetlerde M2 reseptörleri her zaman artmıştır.
İnatçı temporal lob epilepsisi olan hastalar	interiktal dönem	TLE hastalarının lateral amigdala çekirdeklerinde M2 reseptörlerinin bağlanmasında bir artış olurken, M3 reseptörlerine bağlanma azaldı .
Kainik asit	kainik asit enjeksiyonundan 3 gün sonra	1. Piriform korteks, amigdala ve nükleus bazalisteki ChAT aktivitesinin azalması. 2. Piriform kortekste AChE aktivitesinin azalması. 3. Piriform korteks, amigdala ve nükleus bazalis'te mAChR'lerin bağlanmasının azalması. 4. Piriform korteks ve amigdalada Na + bağımlı yüksek afiniteli kolin alımının azalması .
Pilokarpin	Pilokarpin uygulamasından 30 dakika sonra	1. M1 KO fareleri nöbet göstermedi ve pilokarpin uygulamasından sonra hayatta kaldı. 2. M2 - M5 KO farelerinin tümü bir nöbet geçirdi (klonik nöbetler) ve pilokarpin uygulamasından 1 saat sonra öldü.
Pilokarpin	Pilokarpin uygulamasından 45 dakika sonra	Pilokarpinin hem homozigot hem de heterozigot M 1 mutant farelerde nöbet uyandıramaması .
Pilokarpin	Pilokarpin uygulamasından 45 dakika sonra	1. VU0255035, hipokampal piramidal hücrelerde karbakol tarafından indüklenen NMDAR akımlarının güçlenmesini bastırır. 2. VU0255035, pilokarpinin neden olduğu nöbetleri inhibe eder.
OP'ler	OP'lerin uygulanmasından 60 dakika sonra	VU0255035, OP maruziyetinden sonra status epilepticus sürecini geciktirdi.
PTZ tutuşma modeli	PTZ uygulamasından 30 dakika sonra	Beyin sapında PTZ tutuşturmada M2 reseptörlerinin artışı gözlendi .
PTZ tutuşma modeli	PTZ uygulamasından 180 ve 240 dakika sonra	Spartain, hipokampal M4 reseptörü ifadesini arttırır.

Tablo 2.6. Nikotinik reseptörlerin epilepsi modellerine göre bazı etkileri (Yu Wang et al., 2021)

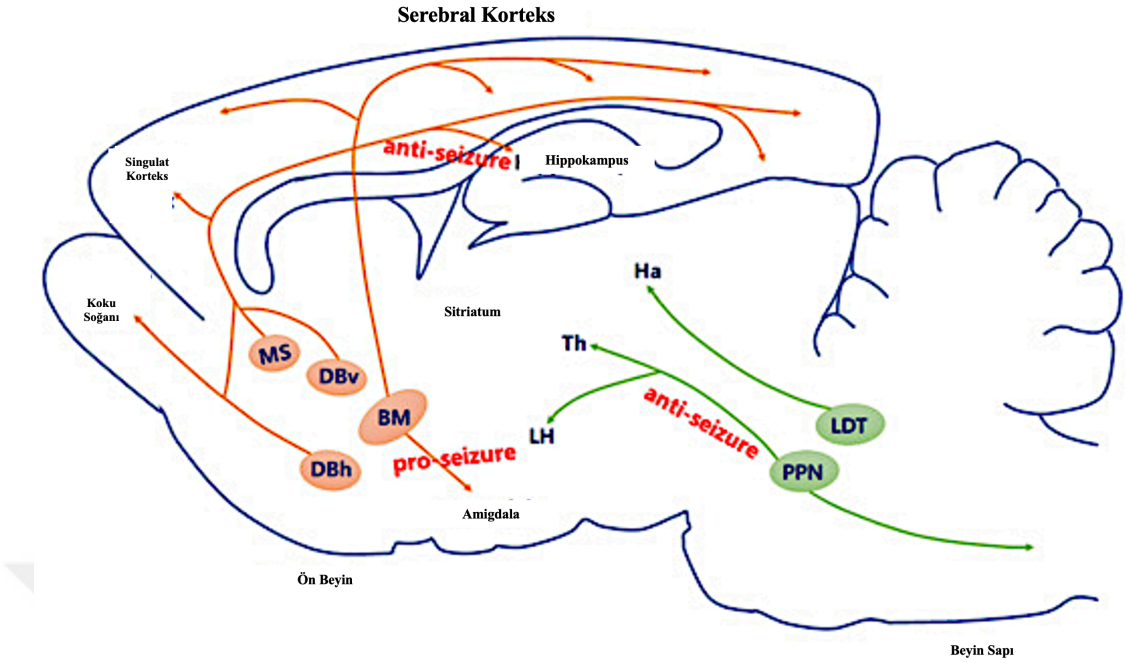
Nikotinik Reseptör

Tablo 2. nAChR'lerin epilepsideki rolünü bildiren bulguların özetleri.

Epilepsi Modeli	Zaman Noktası	Gözlemler
Hipokampal sklerozlu mezial temporal lob epilepsisi olan hastalar	interiktal dönem	α7 nAChR'lerin hipokampusta glutamaterjik sinaptik transmisyonun hiperfonksiyonunu düzenlediği bulundu.
İnsan a4 nAChR'lerini ve vahşi tip ve V287L mutant hastasını birlikte ifade eden HEK293 hücreleri	-	1. β2 V287L presinaptik nAChR'lerdeki mutant , nöronal ateşlemeyi tetikler ve nörotransmitter salımının bir artışı olarak hizmet eder. 2. Postsinaptik nAChR'lerdeki anormal mutant, aşırı uyarılabilirliğe neden olabilir.
Xenopus oositlerinde sulandırılmış	-	100 uM CBZ, insan α4β2 nikotinik reseptörlerinde ve ADSHE α4 S248F veya α4 L-776ins3 mutant reseptörlerinde ACh ile uyarılmış akımları, CBZ'ye duyarlılıkta kabaca 3 kat artışla inhibe eder.
ADSHE hastaları	interiktal dönem	ADSHE'de orta beyin nAChRs yoğunluğunda bir artış.
İnsüler epilepsili hastalar	interiktal dönem	Mutant nACh reseptörleri, tüm hücre kaydında nikotinik akımları arttırdı.
Ateşli nöbetlerle seyreden genetik veya fokal epilepsi (GEFS+) hastaları	interiktal dönem	*CHRNA4,* GEFS+'nın patojenik geniydi.
Değişken odaklı ailesel kısmi epilepsi (FPEVF) hastaları	interiktal dönem	cHRNA4, FPEVF'nin patojenik geniydi.
Nikotin	Nikotin tedavisinden 15 dakika önce intraperitoneal olarak enjekte edilir.	Nikotin, esas olarak α7 nACh reseptörleri aracılığıyla amigdalar nöronları aktive ederek konvülsif nöbetlere neden olur.
PTZ tutuşma	Nöbet şiddeti skorunu değerlendirmek için tedavinin 3., 6. ve 9. gününde PTZ enjeksiyonlarına maruz bırakıldı.	PTZ ile tutuşturulmuş fare modelinde epilepsinin a7 nAChRs agonisti kolin klorür ile iyileştirilmesi.
Farelerde MES ve nikotin kaynaklı nöbet testi; Sıçanlarda amigdala tutuşturma.	1. Nikotin enjeksiyonundan hemen sonra başlayan ve 5 dakika sonrasına kadar nikotin kaynaklı nöbet. 2. MES ve çıra interiktal dönemi değerlendirdi.	1. Çeşitli yeni amino-alkil-sikloheksan türevleri, aralarında nAChRs antagonistleri, nAChR'lerde ve NMDAR'larda kanal blokajı arasında bir örtüşme potansiyeli göstermiştir. 2. Antagonistleri tercih eden nAChR'ler, farelerde güçlü bir şekilde MES ve nikotin kaynaklı nöbet yaşadı. 3. MES'teki antikonvülsanın etkisi, ilave bir subkonvülsan dozunda nikotin enjeksiyonu ile azaltılmıştır. 4. Bu tür etkili antikonvülsanlar, tutuşturulmuş farelerde etkilenmemiştir.
Pilokarpin	Ameliyattan 7 gün sonra kaydedilen EEG aktiviteleri	1. *Chat-Mecp2 −/y* fareleri sık sık aşırı uyarılabilirlik deşarjları sergiledi. 2. Pilokarpin uygulaması, *Chat-Mecp2 −/y* farelerinde status epilepticus üretir . 3. α7 nAChRs agonisti PNU282987'nin hipokampusun CA1'ine uygulanması, nöbetlerin başlama süresini artırdı.

2.3.10. Epilepsili beyinlerde asetilkolinin etkilediği temel beyin bölgeleri

Epilepsi için önemli bölgelerin başında limbik sistem bulunmaktadır. Epilepsi özellikle de amigdaloid ve hipokampal bölgelerden kaynaklanır (Jones, 2004; Unal et al., 2015). Bazal ön beyindeki kolinerjik sisteminin kortekse nasıl yansıdığını açıklamaya yönelik çok sayıda çalışma yapılmıştır. En önemli santral kolinerjik afferentler çoğunlukla medial septum (MS), Broca diyagonal bandının dikey (DBv) ve yatay kolları (DBh) ve nükleus bazalis (NB) dahil olmak üzere bazal ön beyinden (BF) kaynaklanmaktadır. Kolinerjik aferentlerin bir diğer grubu da laterodorsal tegmental çekirdek (LDT) ve pedunculopontine tegmental çekirdek (PPN) dahil olmak üzere beyin sapından türemektedir (Rosal Lustosa et al., 2019). Yapılan araştırmalar MS-hipokampal kolinerjik nöronların nöbet önleyici etkiler ürettiğini kanıtlamıştır; PPN kolinerjik nöronların optogenetik yolla stimülasyonu, subkortikal uyarılma ağları yoluyla epileptik nöbetler sırasında kortikal disfonksiyonu düzenlemenin yeni bir yolu olabilir ve BF ile amigdalanın kolinerjik bağlantıları epilepsiye katkıda bulunabilir. Bu bölgeleri nöbet oluşumu ve yayılması için kritik bölgeler olduğu düşünülmektedir. Epilepsinin çeşidine göre bu bölgelerin uyarılması ya da uyarının azaltılması yeni tedavilerin oluşturulması için önemli olabilir (Yu Wang et al., 2021) (Şekil 2.13.).



Şekil 2.13. Epilepside kolinerjik devrenin rolüne ilişkin güncel bilgiler.

Santralkolinerjik afferentler çoğunlukla medial septum (MS), Broca diyagonal bandının dikey kolu (DBv), Broca diyagonal bandının yatay kolu (DBh) ve nükleus bazalis (NB) dahil olmak üzere bazal ön beyinden (BF) kaynaklanır. Bir diğeri, laterodorsal tegmental çekirdek (LDT) ve pedunculopontine tegmental çekirdek (PPN) dahil olmak üzere beyin sapından türemiştir. Şu anda, araştırmalar MS-hipokampal kolinerjik nöronların nöbet önleyici etkiler ürettiğini kanıtlamıştır; PPN kolinerjik nöronların optogenetik stimülasyonu, subkortikal uyarılma ağları yoluyla epileptik nöbetler sırasında kortikal disfonksiyonu düzenlemenin yeni bir yolu olabilir; BF ile amigdala kolinerjik bağlantıları epilepsiye katkıda bulunabilir (Yu Wang et al., 2021).

2.3.10.1. Asetilkolinesterazların absans epilepsiye etkisi

Asetilkolin merkezi sinir sisteminde en yaygın bulunan nörotransmitterlerden biridir. Artan veya azalan kolinerjik nöron aktivitesinin bir epileptik nöbetin devre düzeyindeki işlev bozukluğunu nasıl modüle ettiği sorusunun yanıtını arayan çalışmalar arasında uygulanan ilacın etki ettiği bölgeye, epilesi gibi farklılıklara bağlı heterojen sonuçlar bulunması ileri çalışmalar gerektirmektedir. Asetilkolinesteraz ortama salınan asetilkolinleri parçalamakla temelde görevli bir enzimdir. Bu enzimin inhibitörleri Alzheimer ve parkinson demansı gibi birçok hastalıkları hedef almaktadır (Ha et al., 2022). Bu alanda en iyi bilinen ilaçlar ise donazepil, galantamin, memantin

ve rivastigmindir. Demans hastalarında kullanılan bu ilaçların yan etkilerine bakıldığında az da olsa nöbet riski bulunmaktadır (Ha et al., 2022).

Demanslı hastaların epilepsiye, epilepsi hastalarının demansa olan yatkınlığı sağlıklı bireylerlere göre anlamlı düzeyde yüksektir (Subota et al., 2017). Bu etkiler göz önüne alındığında demans ilaçları kullanan bireylerin epilepsi ilaçlarını veya tam tersi durumda epilepsisi bulunan hastaların demans ilacı kullanması gerekebilmektedir. Bunun tek bir ilaçla her iki soruna çözüm olabilmesi veya ilaçların diğer hastalığa karşı koruculuğu olup olmamasını bilmek, tedavi süreçlerinde ilaç tercihi için önemli olabilir.

a. Bir asetilkolinesteraz inhibitörü olan rivastigmin

Başta Alzheimer demansı olmak üzere bu hastalıkların tedavisi için seçilen kolinerjik ajanların kullanım nedenleri altında yatan temelde üç ana ilke bulunmaktadır. Bunlar; (1) bozulan sinaptik iletimlerin başında serebral kortekste kolin asetiltransferaz (ChAT) aktivitesinde azalma olması, (2) postsinaptik muskarinik 2 reseptörleri korunurken presinaptik muskarinik tip 1 ve nikotinik reseptörlerde bir azalma meydana gelmesi, (3) serebral kortekse asetilkolin (ACh) salınımından sorumlu büyük nöronlar öğrenme-hafızada etkili olması (Birks et al., 1996). Bu bilgiler ışığında kolinerjik nörotransmisyonu değiştirmek için kullanılan farklı ilaç türleri arasında bugüne kadar en çok kolinesteraz (ChE) inhibitörleri etkili olmuştur.

Rivastigmin tartrat (RİVA), tercihen merkezi sinir sisteminde (MSS) görev alan AChE ve butirilkolinesteraz (BuChE) metabolizmasını geri dönüşümlü olarak inhibe eden bir enzimdir. RİVA'nın kesin etki mekanizması bilinmemektedir. AChE'nin hem esteratik hem de iyonik bölgelere bağlanarak enzimin ACh'yi metabolize etmesini engeller (Onor et al., 2007). Rivastigmin, düşük protein bağlanması nedeniyle hepatik mikrozomal sitokrom P450 sistemi tarafından önemli ölçüde metabolize edilmez, bu nedenle klinik olarak önemli ilaç etkileşimleri beklenmez (Polinsky, 1998). Rivastigminin epilepsiye etkisi konusunda herhangi bir çalışma yoktur.

b. Rivastigmin ve beyinde etkilediği bölgeler: hipokampus ve korteks

Rivastigmin tartrat (RİVA), hafif ve orta dereceli demansın halk söylemiyle bunamanın semptomatik tedavisi için endike olan geri dönüşümlü bir kolinesteraz inhibitörüdür. Nöronlar boyunca uyarının iletilmesi bilişsel/kognitif faaliyetlerin temelini oluştururken, nöronal hasarı önleme gibi fonksiyonları ile de demans ile ilgili öne çıkan hipotezlere göre bu nörolojik uyarıların iletimindeki bozukluklar ile ifade edilmektedir (Potkin et al., 2001). Rivastigmin MSS'deki kolinesterazları seçici olarak inhibe eder ve serebrospinal sıvı (BOS) aktivitesini bir belirteç olarak kullanabilmektedir. RİVA özellikle hipokampus ve korteks için tercihli seçicilik gösterir. Ancak yalnızca hipokampus ve korteks değil bu bölgelerle doğrudan ya da dolaylı bağlantılı şekildeki bölgelere de etki ettiği düşünülmektedir. Bununla birlikte halen net bir mekanizma sunmak mümkün değildir.

c. Rivastigminin absans epilepsiye etkisi

Demanslı hastalarda kullanılan Rivastigminin özellikle Alzheimer modellerinde ve klinik çalışmalarında dikkat, biliş, öğrenme ve hafıza üzerine çalışmaları mevcuttur. Ancak, hem epileptik olmayan sağlıklı hayvanlarda dikkat, biliş, öğrenme ve hafıza ve anksiyete üzerine etkisini araştıran çalışmalar hem de absans epilepsi dahil olmak üzere nöbetler ve onlarla birlikte seyreden dikkat, biliş, öğrenme ve hafıza ve anksiyete gibi nöropsikiyatrik hastalıklar üzerindeki potansiyel etkilerini araştıran bir çalışma bulunmamaktadır.

2.4. Absans epilepside kalsiyumun rolü

İnsan vücudunda kalsiyum iyonu (Ca^{+2}) özellikle hücre sinyalizasyonunda kritik bir fizyolojik öneme sahiptir (Zamponi, 2016). Kalsiyumun (Ca^{+2}) fizyolojik önemi ilk kez 1883 yılında kalp kasının kasılma mekanizmasındaki önemi ile vurgulanmıştır (Striessnig, 2016). Hem spike aktivitelerinin oluşumunda etkin olduğu hem de nörotransmitter salınımı için gerekli olduğu tespit edildiğinde, kalsiyum iyonunun sinirlerde ve kas kasılmasındaki önemleri ortaya konulmuştur (Fatt & Ginsborg, 1958). Bundan başka nörotransmitter/hormon salınımı, gen transkripsiyonu, hücre bölünmesi, hücresel motilite, metabolizma, nöronal iletim, hücre sinyalizasyonu, duyma, ağrı, protein döngüsü, gelişim, programlı hücre ölümü (apoptoz) ve kas kasılması gibi süreçlerde işlevsel açıdan önemli bir modülatör olduğu

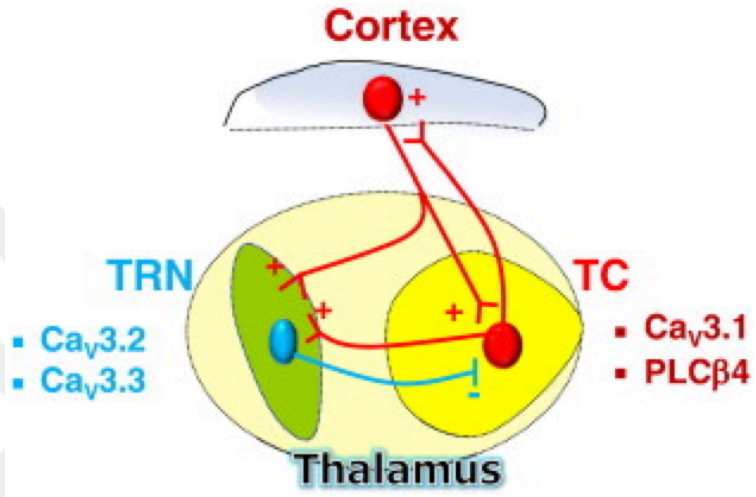
gösterilmiştir. Her bir dokuda bu kalsiyum iyonu giriş ve çıkışlarını düzenleyen çeşitli sayıda ve türde kanalların olduğu 1975 yılından beri bilinmektedir (Hagiwara & Byerly, 1981). Bu kanalların bilinmesi bugün de başta sinir sistemi hastalıkları olmak üzere birçok hastalıkta önem arz etmektedir. Çünkü bu bilgiler ışığında bu kanalların bloklanması veya aktivasyonu yolu ile tedaviler geliştirmek mümkün kılınmaktadır. Kalsiyum kanalları; L, T ve N kanalları; P kanalı, Q ve R kanalları olmak üzere temelde beş gruba ayrılmaktadır (Catterall, 2011). Bunlardan özellikle absans epilepsi çalışmalarında en çok vurgulananı ise düşük voltajla uyarılan T-tipi kalsiyum kanallarıdır.

2.4.1. Absans epilepside T-tipi kalsiyum kanalları rolü

T-tipi kalsiyum kanalları kalsiyum iletkenlikleri farklılığı nedeniyle diğer kalsiyum kanalları tiplerinden ayrılarak ilk kez inferior olivar nükleusunda 'düşük voltajla uyarılan kalsiyum kanalları' olarak adlandırılmıştır (Llinás & Yarom, 1981). Vücutta yaygın olarak bulunan T-tipi kalsiyum kanalları, sinir sisteminde özellikle hipokampus, talamus, serebral korteks, dorsal kök gangliyonlarında ve serbest sinir uçlarında bulunurlar. T-tipi kalsiyum kanalları farklı biyofizik özelliklerine göre α1G (CaV3.1), α1H (CaV3.2) ve α1I (Cav3.3) kanalları olmak üzere 3 alt tipi ayrılabilmektedir ve her alt birim kendine özgü biyofiziksel, farmakolojik ve düzenleyici özelliklere sahiptir (McCafferty et al., 2018). Sinir sisteminde bulundukları nöronun somatik, dendritik ve aksonal kompartmanlar boyunca farklı dağılım gösterirler ve bu alt tiplerin spesifik biyofiziksel ve modülatör özellikleri arasındaki kompleks ilişkilerin sonucu olarak hücrelerin uyarılabilirliğine büyük oranda katkı sağladıkları öne sürülmektedir. Tüm bu T-tipi kalsiyum kanalları dinlenim durumunda inaktif durumdadır. Aktive olabilmeleri için membran hiperpolarizasyonu gereklidir. T-tipi kalsiyum kanalları diğer kalsiyum kanallarından farklı olarak düşük voltajda aktive olmaktadır. Bu nedenle Ca^{+2} akışı düşük eşikli akım üretip nöronu börst moduna geçirebilirler.

Nöron hücrelerindeki kalsiyum miktarındaki değişim hemen hemen tüm epilepsi tipleri için önemlidir. Absans epilepsi tedavisinde kullanılan etosüksimit, valproik asit ve levetirasetam gibi birçok epilepsi de kullanılan bu ilaçların kalsiyum kanallarını blokladığı çok sayıda çalışma ile gösterilmiştir (Wang & Chen, 2019). Absans nöbetlerin ortaya çıkış mekanizmalarının temel kaynağı olan kortiko-talamo-kortikal

sistemde, korteksin tüm tabakalarında ve talamusta, T-tipi kalsiyum kanallarının çok sayıda bulunması nedeniyle bu ağın sürdürülebilirliğinde önemli olduğu düşünülmektedir. Bu bilgileri destekler nitelikte, bir DDD'nin her paroksismal döngüsünde T-tipi kalsiyum kanallarının aracılık ettiği aksiyon potansiyeli patlamaları yoluyla glutamaterjik talamokortikal ve GABAerjik retiküler talamik (NRT) nöronların hipereksitabilitesinin absans nöbetlerinin ritmojenik ağ mekanizmasını oluşturduğunu öne sürmüştü (Dreyfus et al., 2010) (Şekil 2.14.).

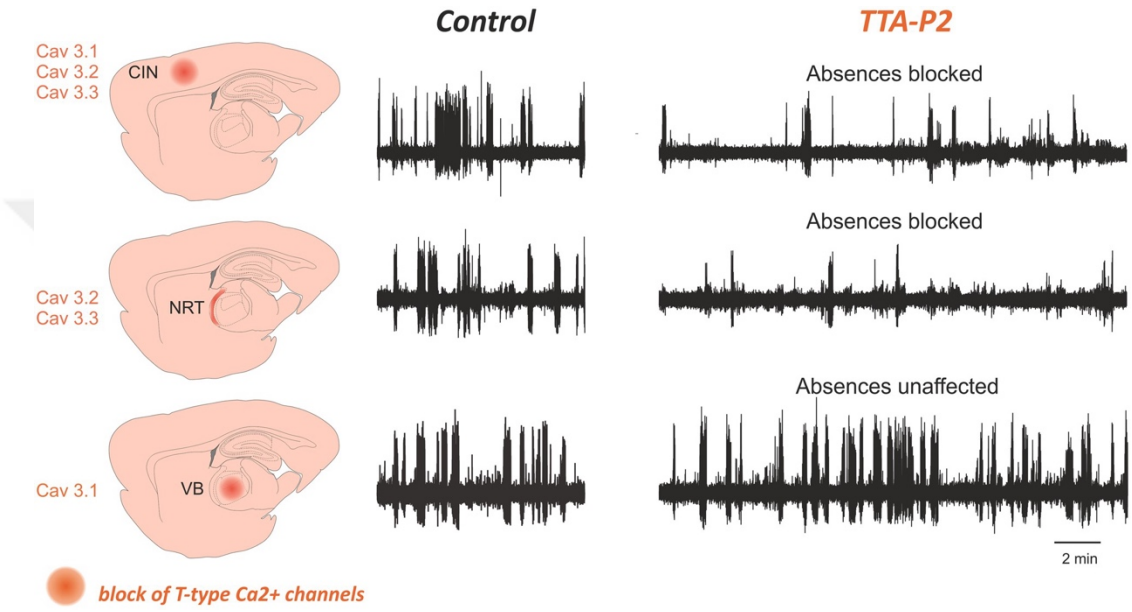


Şekil 2.14. Talamokortikal devrenin şematik gösterimi.

TRN: Talamik retiküler nükleus, TC: Talamokortikal nöronlar. T-tipi kalsiyum kanalı alt tiplerinden Cav3.1 TRN'de ifade edilmezken, Cav3.2 ve Cav3.3 başlıca TRN'de görülür. PLCβ4: Fosfolipaz C yolağı. TRN nöronlarının TC nöronları üzerinde inhibitör (Cheong & Shin, 2013)

Mevcut çalışmalara göre talamusun ventrobazal kompleks nöronları ve NRT nöronlarındaki T-tipi kalsiyum kanalı aracılı börst aktivitesi nöbetin başlangıcından 1 sn önce başlar ve nöbet bitene kadar giderek artar. Spontan ortaya çıkan nöbetlerlerden iki nöbet arasındaki dönemde talamokortikal ve NRT nöronları ateşlenmesinde bir azalma meydana gelmektedir. Bu, korteksin 5. ve 6. tabakasından kalkarak talamusa giden kortiko-talamik nöronlardaki aktivitenin azalmasından kaynaklanıyor olabilir (Cheong & Shin, 2013). Bu azalma ayrıca substantia nigra pars retikulata'nın GABAerjik nöronlarından kaynaklanan girdi ile de olabilir. Bundan başka iki NRT nöron popülasyonundan biri tercihen ardışık döngülerde T-tipi kalsiyum kanalı börst aktiviteyi sağlarken, diğeri çoğunlukla tonik spikeları nispeten asenkronize şekilde

aktive eder. Bunlardan ilk grubun EEG'deki DDD'leri meydana getirdiği düşünülmektedir (McCafferty et al., 2018). Dahası absans nöbetlerde görülen bu DDD'lerin talamokortikal nöronlar tarafından değil kortikal ve NRT'deki hücrelerde bulunan T-tipi kalsiyum kanallarının oluşturulduğu düşünülmektedir. Absans nöbeti olan çocuklarda Cav3.2 mutasyonları olduğu tespit edilmiştir. Hayvan modellerinde ise örneğin WAG/Rij sıçanların talamik çekirdeklerinde T-tipi kalsiyum akımının kontrollere göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir (Yang et al., 2008) (Şekil 2.15.).



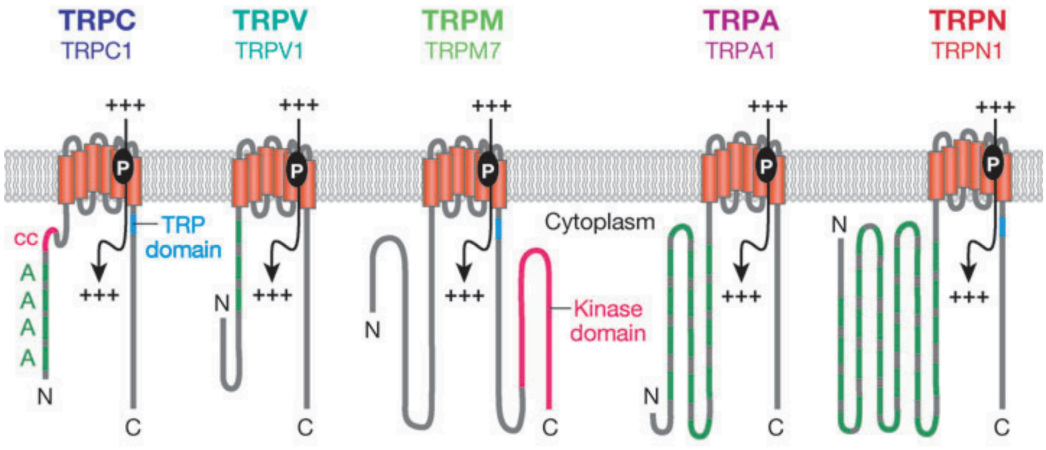
Şekil 2.15. Korteks ve nükleus retikülaris talamideki (NRT) T-tipi kalsiyum kanallarının absans nöbetleri için gerekliliği.

Güçlü ve seçici T-tipi kalsiyum kanal antagonisti TTA-P2'nin GAERS sıçanlarda CIN (üst sıra) veya NRT'ye (orta sıra) mikrodiyaliz yoluyla iki taraflı olarak enjekte edildiğinde absans nöbetlerini bloke etme kabiliyetini gösteren T-kanalı alt tiplerinin (solda) ve orijinal verilerin (sağda) tamamlayıcısı ile enjeksiyon bölgelerinin şematik gösterimi. Sadece talamokortikal nöronlar içeren ventrobazal (VB) talamik çekirdeğe (bu hayvan modelinde CIN'in somatotopik talamik çekirdeklerinden biri) benzer uygulamanın absans nöbetleri üzerinde etkisi yoktur (alt sıra) (Yang et al., 2008).

Özetle, T- tipi kalsiyum kanalları talamokortikal ağda kendi kendine yayılan DDD'lere neden olabilen kapalı bir devre oluşturur. Bu devredeki talamik nöronlarda bulunan T-tipi kanalların aşırı börst aktivitesinin absans epilepside önemli rol oynadığı düşünülmektedir.

2.4.2. TRPV1 kanalları

Geçici reseptör potansiyeli (TRP) kanalları, varlığı en küçük canlılardan memelilerin en yüksek taksonomik sınıfına kadar bulunan geniş ve çeşitli bir integral protein ailesi üyesidir (Almeida et al., 2019). TRP proteinleri için mevcut genler ilk olarak 1970'lerin sonu ve 1980'lerin başında *Drosophila melanogaster*'de fotoreseptörler olarak tanımlanmıştır (Emir, 2018). Memelilerde yedi aileye ait 28 TRP üyesi olduğu ve bunları kodlayan otuz gen bulunduğu bulunmuştur. TRP kanal aileleri arasında TRPV (vanilloid), TRPM (melastatin), TRPML (mukolipin), TRPC (kanonik), TRPP (polisistin) ve TRPA (ankirin) ve TRPN (No Mechanoreceptor Potential C (NOMPC) benzeri) bulunmaktadır. Bu kanalların aktivasyon mekanizmaları, voltaj bağımlılığı, seçicilik ve farmakolojik özellikler bakımından diğer iyon kanalları sınıflarından daha fazla çeşitlilik gösterir . Tüm bu kanallar, hücre içi tarafta bulunan hem C hem de N terminal alanları ile altı trans-membran heliksinden (S1-6) oluşur (Emir, 2018) (Şekil 2.16.).



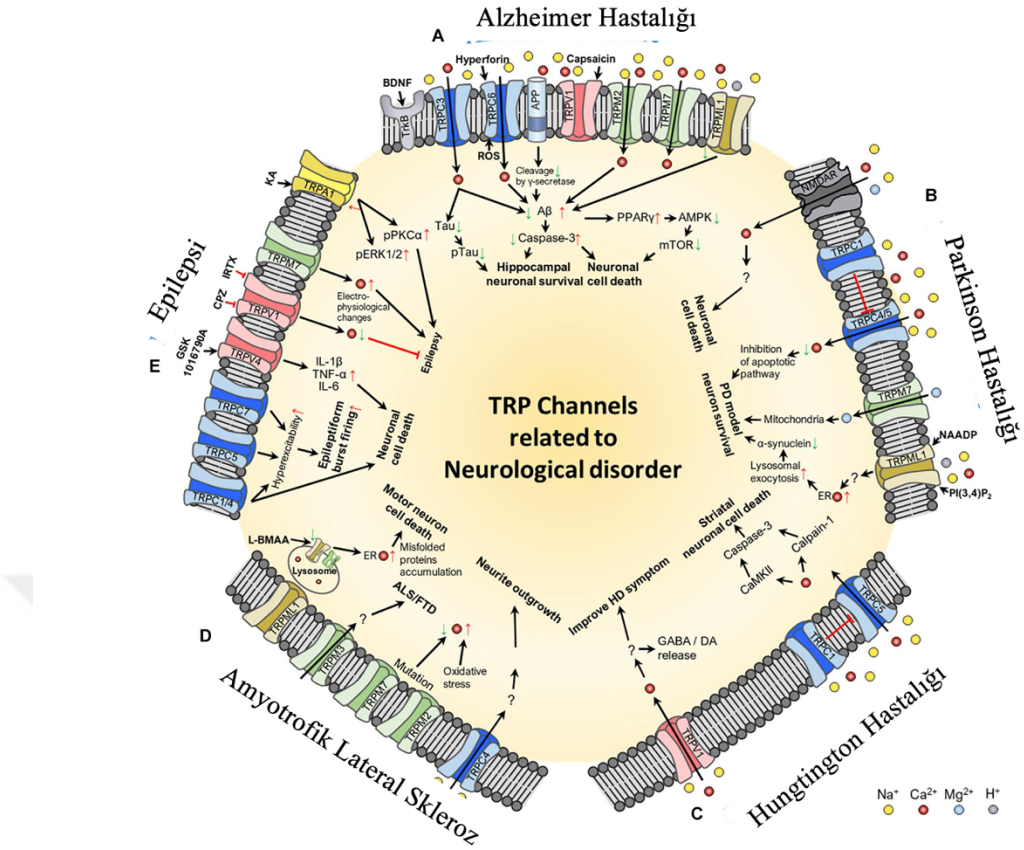
Şekil 2.16. TRP Kanalları Temsili Biyokimyasal Yapısı (Venkatachalam & Montell, 2007)

Ek olarak, bunlar homo veya heterotetramerler oluşturmak için fonksiyonel birleşmeye uğrayabilir. Bu iyon kanallarının S5 ve S6 arasındaki hidrofobik kalıntıları Na^+, K^+, Ca^{2+} ve Mg^{2+} dahil olmak üzere çeşitli tek ve iki değerlikli iyonların girişi için gözenek bölgesini oluşturur. S1'den S6'ya kadar olan tüm trans-membran heliksleri, pozitif yüklü amino asit argininin yokluğu nedeniyle S4 hariç voltaja duyarlıdır. Farklı TRP kanalları, sitoplazmik alanlarındaki farklılıklara göre ayırt

edilir. Genellikle, NH_2 terminalindeki ankirin tekrarlanan birimlerinin ve TRP kutusunun sayısındaki farklılıklar, -COOH terminalindeki sarmal-bobin alanları, çeşitli TRP kanalları arasındaki yapısal ve işlevsel farklılıklardan sorumludur. TRP kanalları sıcaklık, pH, osmolarite ve gerilme tepkisi gibi çeşitli fizyolojik, kimyasal ve mekanik uyaranlarla veya çeşitli endojen veya eksojen ligandların, ikinci habercilerin ve diasilgliserol, Ca^{2+} ve ADP-riboz gibi sinyal moleküllerinin etkisiyle aktive olabilirler. Temelde tüm bu etkilerden dolayı TRP kanalları en çok seçici olmayan geçirgen katyon kanalları olarak tanımlansa da çoğunlukla Ca^{2+} iyonları için seçicilik gösterir. Bir istisna olarak, TRPM4 ve TRPM5 kanalları Ca^{2+}'ya karşı geçirimsizdir ve hücre içine sodyum akışını düzenler, yine de dolaylı olarak da olsa bu kanallar aracılığıyla hücre içi Ca^{2+} girişini düzenler (Venkatachalam & Montell, 2007).

TRP kanallarının işlevleri bulunduğu doku ve hücreye hatta türlere göre de oldukça değişiklik gösterir. Örneğin, Mayalarda hipertonisitenin algılanmasından nematodlarda zararlı kimyasallardan kaçınmaya kadar uzanır. Fareler gibi yüksek memelilerde bunlar feromon algılamadan sorumluyken, insanlarda ise tatlı, acı ve umami tadı algılama, ağrı ve sıcaklık, ısı ve soğuk hissi arasında ayrım yapmak için kullanır. Ayrıca TRP kanallarının hücre uyarılabilirliğini, hücre içi protein etkileşimini, Ca^{2+} ve Mg^{2+} homeostazını, hücresel çoğalma ve farklılaşmayı düzenleme potansiyeline etkisi bulunmaktadır (Li et al., 2011).

Patofizyolojik açıdan bakıldığında, bu kanalların üreme sistemi, böbrek, pankreas, akciğer, kemik, bağırsak ve ayrıca hem merkezi sinir sistemi hem de periferik sinir sistemindeki nöropatik ağrıda önemli roller oynadığı gösterilmiştir. Bu bağlamda, TRP kanalları, Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, Huntington hastalığı, amiyotrofik lateral skleroz ve hatta epilepsi hastalığında da önemli rol aldığı bilinmektedir. Bu etkinin özellikle kalsiyum iyon homeostazındaki bozulma ile ilgili nörolojik bozukluklarda TRP kanallarının yakın zamanda tanımlanmış fonksiyonel rollerine Şekil 2.17.'de belirtildiği gibidir.

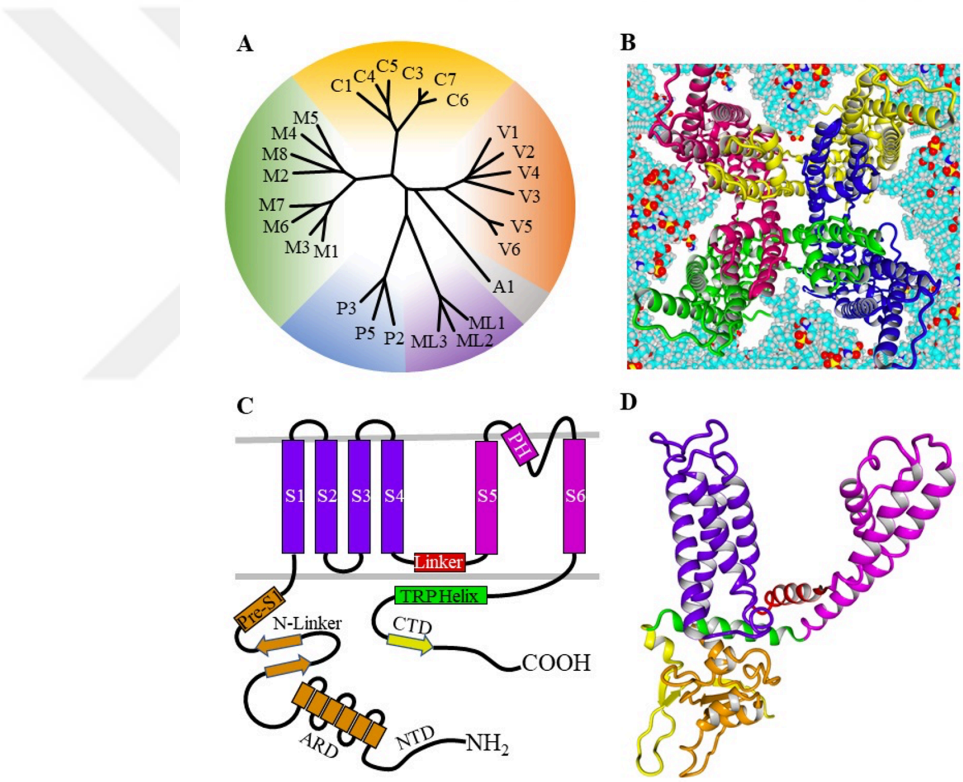


Şekil 2.17. Nörolojik bozuklukların TRP kanalı aracılı patogenezinin moleküler mekanizmasının şeması (Edwards, 2014)

(A) Alzheimer hastalığı, (B) Parkinson hastalığı, (C) Huntington hastalığı, (D) Amyotrofik lateral skleroz ve (E) epilepsi. Şekilde, kırmızı oklar artışı veya yukarı regülasyonu temsil etmektedir; yeşil oklar, azaltma veya aşağı düzenleme; kırmızı kalın çubuk, sinyal yolunun inhibisyonu; ve siyah oklar, sinyal yolunun aktivasyonu. Nörolojik bozuklukların her birinde yer alan iyon kanalları ve bunların taşınan iyonları, kanal agonistleri ve antagonistleri de şekilde gösterilmiştir. Kısaltmalar: BDNF, beyin kaynaklı nörotrofik faktör; ROS, reaktif oksijen türleri; Ap, beta-amiloid; PPAR, peroksizom proliferatörü ile aktive edilen reseptör gama; AMPK, 5' adenozin monofosfatla aktive olan protein kinaz; mTOR, rapamisinin mekanik hedefi;glutamat reseptörü NMDAR, N-metil-D-aspartat reseptörü; NAADP, Nikotinik asit adenin dinükleotid fosfat; PI(3,4)P2 , fosfatidilinositol (3,4)-bifosfat; PH, Parkinson hastalığı; ER, endoplazmik retikulum; GABA, gama-aminobütirik asit; DA, dopamin; ALS/FTD,

frontotemporal demansı olan amiyotrofik lateral skleroz hastaları; L-BMAA, L-beta-metilamino-L-alanin; IL, interlökin; TNF-a, tümör nekroz faktörü alfa; CPZ, kapsazepin; IRTX, 5'-İyodoriniferatoksin; KA, kainik asit; pPKCa, fosfo-protein kinaz C alfa; pERK1/2, fosfo-hücre dışı sinyalle düzenlenen kinaz 1/2. (Edwards, 2014)

Epilepside TRPC1, TRPC37, TRPM2, TRPM7, TRPV1, TRPV14 ve TRPA11 kanallarının rolü olduğu bildirilmiştir. Bunlardan TRPV kanalı, altı transmembran protein sarmalından meydana gelen katyon geçirgen (daha çok hücre içine kalsiyum akışını sağlayan) bir kanaldan oluşan geçici reseptör potansiyel kanalının (TRP) bir alt tipidir (Edwards, 2014) (Şekil 2.18.).



Şekil 2.18. TRPV kanallarının temsili biyokimyasal yapısı (Li et al., 2011)

TRPV1 kanalları özellikle beyinde, hem pre- hem de postsinaptik membranda bulunduğundan sinaptik iletimi modüle edebilir. Ayrıca GABA reseptörleri ile TRPV1 arasında fonksiyonel bir çapraz etikleşim (crosstalk) vardır. TRPV1 kanalları plastisite, mikroglia-nöron iletişimi ve beyin gelişiminde de rol alır (Nazıroğlu, 2015). Bundan başka TRPV1 kanalları, damarlarda; gastrointestinal sistemde; mesanede ve

bağışıklık sistemi hücrelerinde yaygın olarak eksprese edilmektedir. TRPV1 çok çeşitli fiziksel (ısı, mekanik uyaranlar) ve kimyasal faktörler (örn. protonlar, kapsaisin, resiniferatoksin ve endovanilloidler gibi endojen ligandlar) tarafından uyarılabilmektedir. TRPV1'in uyarılması membran depolarizasyonuna ve kalsiyum akışına neden olur, böylece hücre tipine bağlı olarak nöronal uyarımdan salgıya ve düz kas kasılmasına kadar çeşitli fizyolojik etkileri tetikler. Dahası duyusal sinir ve bağışıklık sistemleri arasındaki karşılıklı çapraz etkisi (crosstalk); nörolojik bozukluklar, diyet kaynaklı obezitenin düzenlenmesi, insülin ve leptin direnci, kanser, şiddetli bronşiyal astım gelişimi yanında kaşıntı ve iltihap ile de ilişkilidir (Nazıroğlu, 2015).

2.4.2.1. **TRPV1 kanallarının beyinde bulunduğu bölgeler**

Beyinin farklı bölgelerinde bulunan TRPV1'in işlevsel rolü çeşitlidir (Tablo 2.7.).

Tablo 2.7. TRP kanallarının beyindeki işlevsel rolü (Edwards, 2014)

Sıra No	TRP Kanal Çeşidi	Beyin'de Etkilediği Bölge
1	TRPV1	Hipokampus, korteks, beyincik, koku soğancığı, mezensefalon ve arka beyin
2	TRPV2	Hipotalamus, medial ön beyin demeti, retrokiazmatik alan, singulat girus, globus pallidus, kaudat putamen ve hipokampus
3	TRPV3	Beyincik
4	TRPV4	Hipokampus, korteks, talamus ve beyincik
5	TRPV5	Koku alma soğanı, korteks, hipotalamus, hipokampus, orta beyin, beyin sapı ve beyincik
6	TRPV6	Koku alma soğanı, amigdala, hipokampus, beyin sapı ve beyincik
7	TRPM1	Ön beyin, bazal ganglionlar
8	TRPM1	Hipokampus, substantia nigra, striatum ve korteks
9	TRPM3	Korteks, korpus kallozum, hipokampus, beyin sapı
10	TRPM4	Medial prefrontal korteks, Hipokampus, Hipotalamus
11	TRPM5	Substantia nigra
12	TRPM6	Hipotalamus, Beyincik
13	TRPM7	Beyindeki ayrıntılı bölgesel dağılım pek bilinmiyor
14	TRPM8	Hipokampus, serebrum, beyincik ve truncus ensefali
15	TRPC1	Hipotalamus, Talamus, serebral korteks, septum, limbik sistem, beyin sapı
16	TRPC2	Hipokampus, amigdala, beyincik, substantia nigra ve aşağı kollikulus Serebral korteks
17	TRPC3	Globus pallidus striatum, Beyincik
18	TRPC4	Frontal korteks, lateral septum ve ventral subikulum, amigdala
19	TRPC5	Frontal korteks, Hipokampus, hipotalamus, substantia nigra, Beyincik, Amigdala, Striatum
20	TRPC6	Hipokampus, substantia nigra, korteks
21	TRPC7	Globus Pallidus, Striatum, Hipotalamus
22	TRPML1	Serebral korteks, korpus kallozum
23	TRPLM2	Minimum dağıtım
24	TRPML3	Minimum dağıtım
25	TRPA1	Hipokampus, Beyin sapı, serebral korteks
26	TRPP1	Beyindeki ayrıntılı bölgesel dağılım pek bilinmiyor
27	TRPP2	Endotel BBB hücreleri
28	TRPP3	Cerebellum, hipokampus,koku soğancığı, talamus, orta beyin

Yapılan çalışmalara göre TRPV1 kanalları etkilerini hem pre- hem de postsinaptik mekanizmalar yoluyla göstermektedir. Öte yandan, TRPV1 sıçan ve fare dentat girusuta uyarıcı iletimi postsinaptik mekanizma, yani Ca^{2+}+kalsinörin ve AMPA reseptörlerinin klatrin bağımlı yoluyla baskılamıştır. Nukleus akumbenste, uyarıcı iletimin TRPV1'e bağlı depresyonuna AMPA reseptörlerinin endositozu gibi postsinaptik bir mekanizma da aracılık eder (Musella et al., 2009). TRPV1 aracılı GABAerjik iletim depresyon mekanizmasının TRPV1 nakavt farelerde postsinaptik yolla olduğu gösterilmiştir (Edwards, 2014).

Glutamaterjik iletimin modülasyonuna ek olarak TRPV1, GABAerjik iletimin modülasyonunda da rol oynayabilir . Örneğin, TRPV1'in aktivasyonu hem sıçan hem de fare dentat girusunda inhibitör GABAerjik iletimi baskılamamaktadır . Etkilerin özgüllüğü TRPV1 nakavt fareler kullanılarak yapılan deneylerle daha da doğrulanmıştır. TRPV1 aracılı GABAerjik iletim depresyonunun mekanizması

postsinaptiktir (muhtemelen GABA reseptörlerinin klatrin bağımlı etkisiyle) (Nazıroğlu, 2015).

Çok daha yeni çalışmalar, TRPV1'in farklı beyin yapılarında sinaptik iletimin düzenlenmesindeki önemli rolünü daha da desteklemiştir (Edwards, 2014). Örneğin, TRPV1'in neokortikal piramidal hücrelerde ve yeni ilişkisel anılar edinmede önemli olabileceğini düşündürmektedir. Bunun nedeni ise TRPV1'in bloke edilmesi, hipokampusteki glutamaterjik girişi önemli ölçüde azaltmasıdır. Ayrıca TRPV1, TRPV1 nakavt farelerin kullanıldığı deneylerde ortaya çıktığı üzere, hipokampusteki belirli bir internöron popülasyonunda sinaptojenik rol oynamaktadır (Li et al., 2008). TRPV1'in hipokampusta sinaptik iletimin düzenlenmesindeki ve bu yapının gelişimi/olgunlaşmasındaki önemli rolü, hipokampal Cajal-Retzius hücrelerinde TRPV1 kanallarının işlevsel ifadesine yönelik doğrudan farmakolojik kanıtlarla da güçlü bir şekilde desteklenmektedir. Dahası, yakın zamanda kemirgenlerde TRPV1'in aktivasyonunun hipokampal hasarı ve hafıza bozukluğunu tersine çevirdiği bildirilmiştir. TRPV1 agonistlerinin, bozulmuş hafıza ve beyin hasarını olumlu yönde hafiflettiğini veya iyileştirdiğinin yanı sıra alzheimer hastalığında oksidatif stresi, nitrozatif stresi ve asetilkolinesteraz aktivitesini azalttığını göstermiştir .

Dahası bunlar gibi çok sayıda çalışma TRPV1'in beyindeki sinaptik iletimin düzenlenmesine dahil olduğunu göstermiş olsa da Marrone ve arkadaşlarının son çalışmaları bu düzenlemenin nöronal TRPV1'in aktivasyonunun bir sonucu olduğu fikrine ulaşılmıştır (Marrone et al., 2017). Gerçekten de bu grup, sinaptik iletimin modülasyonunun mikroglialarda TRPV1'in aktivasyonunun bir sonucu olduğunu gösteren kanıtlar sunmuştur. Bu grubun gözlemlerine göre TRPV1, anterior singulat korteks ve diğer beyin bölgelerindeki nöronlardan ziyade mikroglial hücrelerde yüksek oranda ifade edilmektedir. Ayrıca mikroglial TRPV1'in uyarılması kendi başına kortikal mikroglia aktivasyonunu kontrol etmek ve dolaylı olarak nöronlardaki glutamaterjik iletimi artırmak gibi çok sayıda etki gösterdiği de ortaya konulmuştur. Bu grubun bir başka ilginç bulgusu da nöropatik ağrının beyin nöronlarında TRPV1'in fonksiyonel ekspresyonunda dramatik bir artışa yol açmasıdır (kontrol hayvanlarında TRPV1 ekspresyonu beyin alanlarının çoğundaki nöronlarda neredeyse tespit edilemez olmasına rağmen). Tüm bu bulgular, yazarların "beyin TRPV1'in zararlı uyaranların potansiyel bir dedektörü ve mikroglia-nöron iletişiminin kilit bir oyuncusu olduğu" sonucuna varmalarını sağlamıştır

Bu kanalların uyarılması kimyasal ve fiziklesel uyaranla sağlanabilirken, farklı merkezi ve periferik yollarla potansiyel dinamik bir işlevsel ilişkiye işaret eden çok sayıda endojen faktör/molekül tarafından da gerçekleşmektedir. TRPV1 reseptörlerinin ifadesi esas olarak gelişim aşamasına bağlı görünmekle birlikte, vücut homeostazında meydana gelen bazı faktörlerin etkilenerek gen ekspresyonu üzerinde değişim yapabileceğini ve bunun da bir patolojik bulgu olarak değerlendirilebileceği öne sürülmektedir (Terzian et al., 2009). Dahası, TRPV1'in beyin içinde bile sinaptik iletimin modülasyonu ve plastisitesi, mikroglia-nöron iletişimi ve gelişimi dahil olmak üzere birçok temel süreç için büyük işlevsel öneme sahip olması uzun zamanlar ağrı iletiminde anılan TRPV1'in şu anda epilepsi, anksiyete ve depresyon gibi çeşitli nörolojik ve psikiyatrik bozukluk, uyuşturucu bağımlılığı bozukluklarında da rol oynaması şaşırtıcı değildir (Marrone et al., 2017).

2.4.2.2. TRPV1 kanallarının epilepsideki rolü

Dünya genelinde 2018 yılında yaklaşık 50-70 milyon kişinin muzdarip olduğu nöbetlerle karakterize hastalık olan epilepsinin etiyolojisinin kapsamlı bir şekilde anlaşılması için çok sayıda araştırma yapılmış olmasına rağmen kesin moleküler ve hücresel mekanizmalar hala bilinmemektedir. Epilepsi için mevcut ilaçların temel moleküler hedefleri çoğunlakla Ca^{2+}, glutamat ve GABA kanalları gibi iyon kanallarıdır. Günümüzde ise antiepileptik ilaçların hedefleri daha da genişletilmiştir. Bunlardan biri olan TRPV kanalları da epilepside nöbet aktivitesinde rol alan temel iyonlardan kalsiyuma seçici olmayan geçirgen kanallardır (Lazarini-Lopes et al., 2022; Nazıroğlu, 2015).

Yakın tarihli bir bulgu TRPV1 kanalının epilepsi gelişiminde potansiyel bir rolü olduğunu göstermiştir (Tablo 2.8.).

Tablo 2.8. TRPV1 kanalını hedefleyen ilaç ve epilepsi gelişiminde potansiyel rolleri (Nazıroğlu, 2015)

Farmakolojik Ajanlar	TRP Kanallar	Hastalık
Kapsazepin	TRPV-1	İnme, AD, PH, Epilepsi
Kapsaisin	TRPV-1	AD, PH, Epilepsi, Depresyon, Şizofreni
İyodoresiniferatoksin, a-spinasterol, Piperin	TRPV-1	Epilepsi
Olvanil	TRPV-1	Depresyon
HC-067047	TRPV-4	İnme, AD, Epilepsi
M084, HC-070	TRPC4/5	Depresyon, Anksiyete
Hiperforin	TRPC-6	İnme, Epilepsi

Absans nöbetlerin oluşumundaki mekanizmalara bakıldığında en yaygın kabul göreni, kortikotalamik ağ içindeki GABA'erjik sistemlere ve özellikle T-tipi kalsiyum (Ca2+) kanalları başta olmak üzere kalsiyum seviyesindeki değişimlere bağlı salınımlardır. TRPV1 de kalsiyum kanalları üzerinden etkili olduğunda absans epilepsi üzerine etkileri konusunda farklı görüşler vardır. Hipokampal sinaptik iletimin düzenlenmesinde dramatik bir role sahip olmasından yola çıkarak iki ve altı aylık WAG/Rij ve Wistar sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmaya göre, hipokampal katmanlardaki hücrelerde TRPV1 ekspresyonun yüksek oranda olduğu bulunmuştur (Talebi et al., 2022). Ayrıca bu hücrelerin absans epilepsili bireylerde ve WAG/Rij sıçanlarda davranış, duygusal ve bilişsel bozukluklarda da önemli rol aldığı daha önceki çalışmalarla bildirilmiştir. Buna ek olarak WAG/Rij sıçanların yaşam süresinin erken evresinde (iki aylık) TRPV1 ekspresyonundaki eksikliklerin hipokampus gelişimini bozduğu ve yetişkin WAG/Rij sıçanlardaki hafıza ve bilişi bozabileceği kanaatine varılmıştır. Sonuç olarak, hipokampal TRPV1 ekspresyonu altı aylık epileptik WAG/Rij sıçanlarda artarken, yetişkin Wistar sıçanlarda çalışılan bu yaş aralığında değişmediği ortaya konularak, absans epilepsinin henüz net olmayan mekanizma veya mekanizmalarıyla doğrudan veya dolaylı olarak etkili olabileceğini düşündürmektedir. Absans epilepsili hayvanlarda ekspresyon sayısındaki artış gösteren ve doğrudan epilepsinin önemli sebeplerinden biri olan kalsiyum

homeostazisinde de görev alan TRPV1 kanallarının özellikle de T-tipi kalsiyum kanalları üzerine etkisi konusunda da çalışmalar bulunmaktadır. Tüm bunlara ek olarsak hem Glutamat hem de GABA miktarı değişimi ile alakalı olabileceği de düşünülmektedir (Talebi et al., 2022).

TRPV1 aktivasyonunun homeostatik mekanizmalara aracılık ettiği göz ardı edilemez. Her halükârda, potansiyel antiepileptik tedaviler olarak TRPV1 aktivasyonu veya inhibisyonunun faydalı etkilerine ilişkin tartışmalar devam etmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Deney Hayvanları

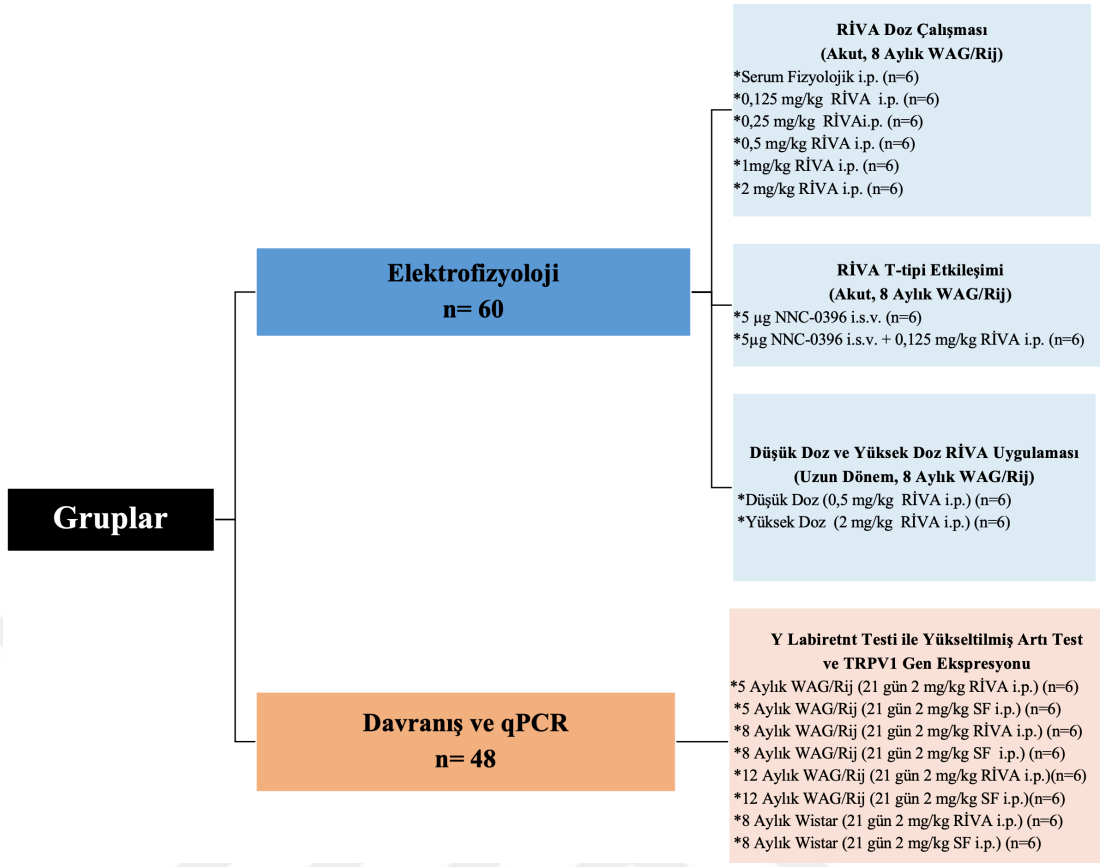
Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan izin (2022/08) alındıktan sonra farklı yaş gruplarından erkek WAG/Rij (n=96) ve Wistar (n=12) cinsi sıçanlar Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezinden (OMÜ DEHAM) temin edildi (Tablo 3.1.). Sıçanlar deney gününe kadar uygun ortam olan 22±1°C sıcaklıkta, 12 saat karanlık 12 saat aydınlık döngüsünde, nem oranı %50-70 olacak şekilde ve hiçbir hayvan yiyecek ve su eksikliği olmadan uygun boyutlardaki kafeslerde, kontrol altında tutuldu.

Tablo 3.1. Kullanılacak deney hayvanları bilgisi

Cinsiyet ve suş tipi	n sayısı	Yaş	Kilo
Erkek WAG/Rij (genç)	12	5 aylık	235 ± 24 gr
Erkek WAG/Rij (orta yaşlı)	72	8 aylık	272 ±26 gr
Erkek WAG/Rij (ileri yaşlı)	12	12 aylık	296 ± 33 gr
Erkek Wistar (orta yaşlı)	12	8 aylık	302 ± 32 gr

3.2. Deney Grupları

Deney prosedürü 1) Elektrofizyoloji; 2) Davranış ve moleküler analiz olmak üzere 2 aşamada gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.1.).



Şekil 3.1. Deney dizaynı. Deney grupları elektrofizyoloji ve davranış ve qPCR olmak üzere iki temel aşamadan gerçekleştirilmiş. Her bir grubun hayvan sayısı n ile ifade edildi.

3.2.1. Elektrofizyoloji (ECoG) grupları

Bu gruptaki hayvanların tümü Sekiz aylıkWAG/Rij (n=60) sıçanlardan oluşturuldu.

3.2.1.1. Akut olarak uygulanan RİVA doz çalışması ve RİVA ile T-tipi kalsiyum kanalları etkileşimi

1. Kontrol grubu (n=6): 1 saatlik bazal ECoG kaydının ardından serum fizyolojik (i.p.) uygulanarak 3 saat daha kayıt alındı.

2. 0,25 mg/kg RİVA grubu (n=6): 1 saatlik bazal ECoG kaydının ardından 0,25 mg/kg (i.p.) uygulandı ve 3 saat daha kayıt alındı.

3. 0,5 mg/kg RİVA grubu (n=6): 1 saatlik bazal ECoG kaydının ardından 0,25 mg/kg (i.p.) uygulandı ve 3 saat daha kayıt alındı.

4. 1 mg/kg RİVA grubu (n=6): 1 saatlik bazal ECoG kaydının ardından 0,25 mg/kg (i.p.) uygulandı ve 3 saat daha kayıt alındı.

5. 2 mg/kg RİVA grubu (n=6): 1 saatlik bazal ECoG kaydının ardından 2 mg/kg (i.p.) uygulandı ve üç saat daha kayıt alındı.

6. 4 mg/kg RİVA grubu (n=6): 1 saatlik bazal ECoG kaydının ardından 4 mg/kg (i.p.) uygulandı ve üç saat daha kayıt alındı.

RİVA'nın etkin dozu istatistiksel olarak tespit edildikten sonra bu etkinin absans epilepsi temel mekanizmasında sıkça vurgulanan T-tipi kalsiyum kanalları ile olup olmadığını araştırmak için, labaratuvarımızda daha önceden çalışılmış olan T-tipi kalsiyum kanal blokörü NNC-55-0396'nın (NNC) etkin olmayan dozu (i.s.v.) olarak RİVA'nın etkisiz dozu ile ((Tiryaki, 2021)) aşağıdaki gibi (7. ve 8. grup) gruplar oluşturuldu;

7. 5 µgr NNC (etkisiz) doz (n=6): 1 saatlik bazal ECoG kaydının ardından 5 µgr NNC (i.s.v.) uygulandı ve üç saat daha kayıt alındı

8. 5 µgr NNC (etkisiz) + 0,125 mg/kg RİVA (etkisiz) (n=6): 1 saatlik bazal ECoG kaydının ardından 5µgr NNC (i.s.v.) uygulandı, 5 dakika sonra 0,125 mg/kg RİVA (i.p.) ve üç saat daha kayıt alındı

3.2.1.2. Uzun süreli düşük ve yüksek doz RİVA uygulaması

Doz çalışmasında belirlenen düşük doz (0,5 mg/kg) ve yüksek doz (2 mg/kg) RİVA yirmi bir gün boyunca ardışık uygulanarak birinci enjeksiyon öncesi ve sonrası, onuncu ve yirmi birinci enjeksiyondan 24 saat sonra 3'er saat ECoG kayıtları alındı.

9. Düşük doz (0,5 mg/kg) RİVA grubu (n=6): birinci enjeksiyon öncesi ve RİVA uygulaması sonrası 3 saatlik ECoG kaydı elde edildi. Daha sonra 24 saatte bir kez yirmi bir gün boyunca RIVA uygulanarak onuncu ve yirmi birinci enjeksiyonlardan 24 saat sonra 3'er saatlik ECoG kayıtları daha elde edildi.

10. Yüksek doz (2 mg/kg) RİVA grubu (n=6): birinci enjeksiyon öncesi ve RİVA uygulaması sonrası 3 saatlik ECoG kaydı elde edildi. Daha sonra 24 saatte bir kez yirmi bir gün boyunca RİVA uygulanarak onuncu ve yirmi birinci enjeksiyonlardan 24 saat sonra 3'er saatlik ECoG kayıtları daha elde edildi.

3.2.2. Davranış ve moleküler analiz grupları

Bu aşamada elektrofizyolojik olarak tespit edilen en etkili RİVA dozunun yaş bağımlı (beş, sekiz ve On iki aylık) olarak WAG/Rij sıçanlarda (n=36) ve Sekiz

aylıkWistar (n=12) sıçanlardaki öğrenme-hafıza ve anksiyete davranışına etkisi, ayrıca TRPV1 kanal ekspresyonları üzerine etkisi çalışıldı.

11. Beş Aylık WAG/Rij kontrol grubu (n=6): Yirmi bir gün boyunca SF uygulandı. yirmi ikinci gün davranış testleri (Y-labirent ve yükseltilmiş artı testleri) yapıldı ve bu testlerden hemen sonra sağ hemisfere ait hipokampus ve somatosensoriyel korteks moleküler analiz için çıkarıldı.

12. Beş Aylık WAG/Rij yüksek doz (2 mg/kg) RİVA grubu (n=6): Yirmi bir gün boyunca 2 mg/ kg RİVA uygulandı. Yirmiikinci gün davranış testleri (Y labirent ve yükseltilmiş artı testleri) yapıldı ve bu testlerden hemen sonra sağ hemisfere ait hipokampus ve somatosensoriyel korteks moleküler analiz için çıkarıldı.

13. Sekiz aylıkWAG/Rij kontrol grubu (n=6): Yirmi bir gün boyunca SF uygulandı.Yirmiikinci gün davranış testleri (Y labirent ve yükseltilmiş artı testleri) yapıldı ve bu testlerden hemen sonra sağ hemisfere ait hipokampus ve somatosensoriyel korteks moleküler analiz için çıkarıldı.

14. Sekiz aylıkWAG/Rij yüksek doz (2 mg/kg) RİVA grubu (n=6): Yirmi bir gün boyunca 2 mg/ kg RİVA uygulandı. Yirmiikinci gün davranış testleri (Y labirent ve yükseltilmiş artı testleri) yapıldı ve bu testlerden hemen sonra sağ hemisfere ait hipokampus ve somatosensoriyel korteks moleküler analiz için çıkarıldı.

15. On iki Aylık WAG/Rij kontrol grubu (n=6): Yirmi bir gün boyunca SF uygulandı. Yirmiikinci gün davranış testleri (Y labirent ve yükseltilmiş artı testleri) yapıldı ve bu testlerden hemen sonra sağ hemisfere ait hipokampus ve somatosensoriyel korteks moleküler analiz için çıkarıldı.

16. On iki Aylık WAG/Rij yüksek doz (2 mg/kg) RİVA grubu (n=6): Yirmi bir gün boyunca 2 mg/ kg RİVA uygulandı. Yirmiikinci gün davranış testleri (Y labirent ve yükseltilmiş artı testleri) yapıldı ve bu testlerden hemen sonra sağ hemisfere ait hipokampus ve somatosensoriyel korteks moleküler analiz için çıkarıldı.

17. Sekiz aylıkWistar kontrol grubu (n=6): Yirmi bir gün boyunca SF uygulandı. Yirmiikinci gün davranış testleri (Y labirent ve yükseltilmiş artı testleri) yapıldı ve bu testlerden hemen sonra sağ hemisfere ait hipokampus ve somatosensoriyel korteks moleküler analiz için çıkarıldı.

18. Sekiz aylıkWistar yüksek doz (2 mg/kg) RİVA grubu (n=6): Yirmi bir gün boyunca 2 mg/ kg RİVA uygulandı. Yirmiikinci gün davranış testleri (Y labirent ve yükseltilmiş artı testleri) yapıldı ve bu testlerden hemen sonra sağ hemisfere ait hipokampus ve somatosensoriyel korteks moleküler analiz için çıkarıldı.

3.3. Kimyasal Maddeler ve Veriliş Yolları

a. <u>Serum fizyolojik /Steril Fizyolojik Tuzlu Su</u>

9 g tuz (% 0,9) çözeltisi

Uygulanma Şekli: İntraperitonel (sistemik)

b.<u>Rivastigmin tartarat</u>

Kimyasal formulü: ENA-713, Etilmetil-karbamik asit 3-[(1S)1(dimetilamino)etil]fenil ester, N-Etil-N-metil-karbamik asit 3-[(1S)-1-(dimetilamino)etil]fenil ester tartrat, S-Rivastigmin tartrat

Ampirik Formül (Hill Gösterimi) : $C_{14}H_{22}N_2O_2 \cdot C_4H_6O_6$

Uygulanma Şekli: İntraperitonel (sistemik)

Molekül Ağırlığı: 400.42 g/mol

Çözücüsü: Steril serum fizyolojik

c. <u>aCSF (suni beyin-omurilik sıvısı (artificial serebrospinal fluid, aCSF))</u>

Karbojen (%95 O 2 ve %5 CO 2) ile köpürtülerek stabilize edilen pH ve oksijen seviyesi ile aşağıdaki bileşimi:

- 127 mM NaCI
- 1,0 mM KCI
- 1,2 mM KH2PO4 _
- 26 mM NaHC03
- 10 mM D-glikoz
- 2,4 mM CaCl2
- 1,3 mM MgCl2

içerir.

d. NNC-55-0396

Kimyasal formulü: (1S,2S)-2-(2-(N-[(3-Benzimidazol-2-yl)propyl]-N-methylamino)ethyl)-6-fluoro-1,2,3,4-tetrahydro-1-isopropyl-2-naphtyl cyclopropanecarboxylate dihydrochloride hydrate. Sigma-Aldrich

Ampirik Formül (Hill Gösterimi) : $C30H40Cl2FN3O2 \cdot xH2O$

Molekül ağırlığı: 564.56 g/mmol

Uygulama şekli: 5 µg/1µl dozlarında intraserebroventriküler (i.s.v.) olarak uygulandı.

Çözücüsü: Suni beyin-omurilik sıvısı kullanıldı.

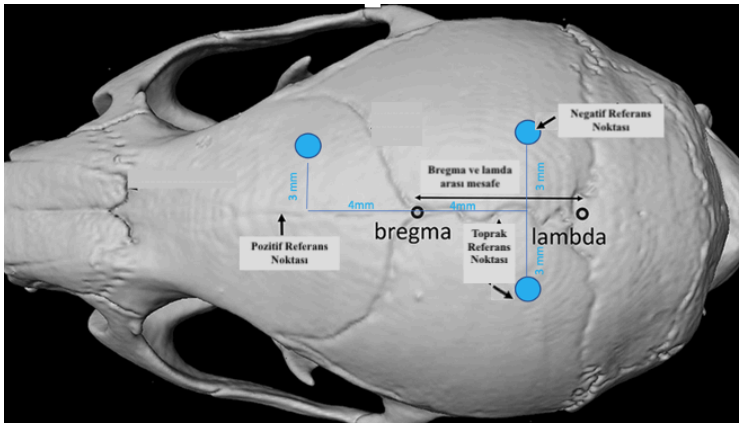
3.4. Elektrofizyolojik (ECoG) kayıtlar, Davranış testleri, Moleküler Analiz

3.4.1. Elektrofizyolojik (ECoG) kayıtlar

3.4.1.1. Cerrahi işlem (elektrot takılması)

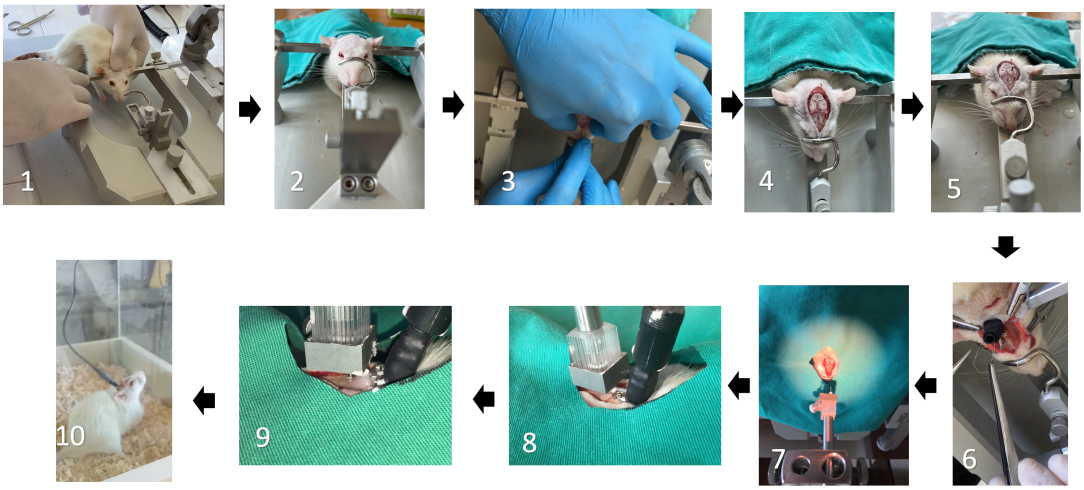
Operasyondan 1 gün önce aç bırakılan hayvanlar ketamin/ksilazin (90/10) ile anesteziye alındı. Sıçanların anestezide olup olmadığı kontrol edildikten sonra temiz bir cerrahi alan için kafa tüyleri tıraş edildi. Tıraş edilen sıçanlar sterotaksik sabitleme aparatları kullanılarak sabitlendi. Her 5 dakikada 1 sıçanların anestezisi ağrı yanıtları aracılığıyla değerlendirildi ve gerektiğinde ketamin idamesi yapıldı. İlk aşamada, kafa derisi ön-arka doğrultuda ortalama 3 cm uzunluğunda bir kesiyle açıldı. Kemik zarı temizlendikten sonra Paxinos ve Watson'ın beyin atlasına (Paxinos et al., 1985) göre uygun koordinatlara (Şekil 3.2.) paslanmaz çelik iletken vidalar yerleştirildi. Yerleştirilen 3 vida, 3 adet 0,5 mm kalınlığındaki bakır tel ile hayvanın hareketlerini kısıtlamayacak küçük bir jak çıkışına bağlandıktan sonra eğer i.s.v. uygulanacak grup ise (bregmaya göre koordinatlar: 1.1 mm posterior, 1.5 mm sol ve sağ lateral, 4.2 mm vertikal) i.s.v. kanülü yerleştirilerek vidalar ile beraber dental akrilik ile sabitlenip kurumaya bırakıldı (Şekil 3-3). 40-45 dakika süren bu işlemden sonra enfeksiyonu önlemek için hayvana 3 gün boyunca günde 1 kez intraperitoneal yol ile 50 mg/kg ampisid enjekte edildi. Cerrahi işlemden sonra hayvanlar 1 hafta dinlenmeye bırakıldı. Laboratuvar ortamına alıştırmak amacı ile 3 gün 2 saat kadar rahatça hareket edecekleri küp şeklindeki cam kafeslere (40x40x40 cm) konuldu. Alışma periyodu tamamlandıktan aşağıdaki belirlenen gruplar, uygulama günü her bir hayvanın

enjeksiyondan 1 saat öncesi bazal kaydı ile enjeksiyondan sonrası 3 saat ECoG kaydı alınarak tamamlandı.



Şekil 3.2. Sıçan kafatası görüntüsünden Paxinos ve Watson'ın beyin atlasına göre vida yerleştirme koordinatları

Bregmanın 4,0 mm anterioru, orta çizginin 3,0 mm sol laterali (Pozitif elektrot), Bregmanın 4,0 mm posterioru, orta çizginin 3,0 mm sol laterali (Negatif elektrot), Bregmanın 4,0 mm posterioru, orta çizginin 3,0 mm sağ laterali (Toprak elektrodu).



Şekil 3.3. Uygulanan cerrahi prosedürü basamakları

(1) Sıçanın anastezisi kontrol edildikten sonra stereotaktik cihaza kulak kemiklerine uygun noktalardan sabitlenmesi, (2) Kafayı sabitlemek için dişlerinden de sabitlenmesi, (3) Kafa derisine anteriyoposterior yönde kesi atılması, (4) Vida deliklerinin açılması, (5) Vidaların yerleştirilmesi, (5) artı (ön), eksi (arka) ve toprak (sol arka) olacak şekilde hazırlanan elektrodların yerleştirilmesi, (7) deneyde i.s.v. uygulama var ise i.s.v. kanülünün uygun

koordinatlarını ayarlama (Bregmaya göre 1,5 (posterior)-1,1 (lateral)) yerleştirilmesi, (8) i.s.v. kanülü (3.3. mm) yerleştirme (9) Dental akriklik ile elektrod ve varsa i.s.v. kanül sabitlenmesi, (10) 1 haftalık dinlenimden sonra cam kafeste ECoG cihazına bağlanan sıçanın ortama alıştırma periyodu şeklindedir.

3.4.1.1. Elektrofizyolojik kayıtların alınması ve ilaçların uygulanması

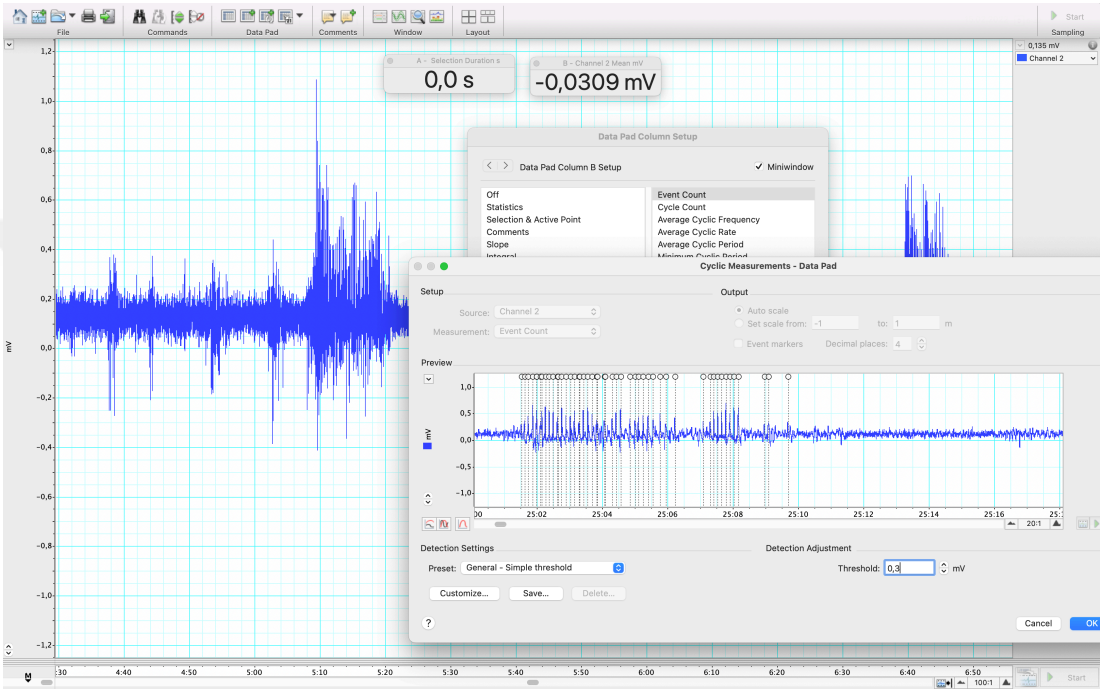
İyileşme periyodunu ve alışma aşamalarını tamamlayan sıçanlar jak kabloları aracılığı ile PowerLab veri kazanım sistemi olan LabChart 7 Pro (ADInstruments, Avustralya) programı aracılığıyla bilgisayar ortamına bağlanarak önce alıştırma periyoduna tabi tutuldu daha sonra ise ECoG kayıtları elde edildi. Uygulama günü veri kazanım sistemine bağlanan sıçanların kaydı her sabah saat 10:00'da başlatıldı. RİVA dozları intraperitonal uygulanırken, etkileşim gruplarındaki NNC i.s.v. olarak enjekte edildi. Hayvanlardan ilk madde uygulamaları öncesi alınan bir saat ECoG kayıtlarında toplam DDD sayıları bazal kabul ederek, üç saat daha kayıt alınarak kayıtlar bilgisayarda arşivlendi (Şekil 3.4.).



Şekil 3.4. WAG/Rij sıçanların PowerLab veri kazanım sistemine bağlanarak ECoG verilerinin eldesi

3.4.1.2. Elektrokortikogram kayıtlarının incelenmesi ve değerlendirilmesi

Elde edilen nöbetlerin DDD sayı ve süreleri LabChart 7 Pro yazılımındaki Cyclic Measurements penceresinden offline olarak analizlendi. DDD ve nöbet süresi offline olarak hem yarım saatlik aralara bölünerek hem de 6'şar sıçandan ortalama total DDD ve ortalama nöbet süreleri (sn) hesaplandı (Şekil 3.5.).



Şekil 3.5. LabChart 7 Pro yazılımındaki Cyclic Measurements penceresinden offline DDD ve nöbet süresi (sn) analizi

3.4.1.1. Davranış testleri (y labirent ve yükseltilmiş artı testi)

Uzun dönem elektrofizyolojik kayıt sonuçlarının değerlendirilmesinin ardından etksi istatistiksel olarak anlamlı olan 2 mg/kg RİVA grubu beş, sekiz ve On ikiaylık WAG/Rij sıçanlara ve Sekiz aylıkWAG/Rij sıçanlara uygulandıktan 24 saat sonra davranış testlerine tabii tutuldu. Kromometre ile her test 5 dakika uygulandı.

3.4.1.2. Y labirent testi

Y labirenti testi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalında Beyin araştırmaları laboratuvarında bulunan deney düzeneği ile ilaç uygulamalarından 24 saat sonrasında saat 10:00-14:00 arasında gerçekleştirilmiştir.

Y labirenti düzeneğinin iki kolu 40 cm, diğeri ise başlangıç bölümünü içerdiği için 50 cm uzunluğunda; 10 cm genişliğinde, bütün kollarında bulunan 20 cm yüksekliğinde üstü açık duvarlarla çevrili, kollar arasındaki açı 120° derece olacak şekilde kokusuz MDF' den yapılmış kapalı bir düzenekten oluşmaktadır (Şekil 3.6.).



Şekil 3.6. Deneyde kullanılan Y maze testi düzeneği

Y labirenti testi çalışmadaki bulunan tüm sıçanlar için ilki alıştırma testi olmak üzere 24 saat ara ile iki kez yapıldı. Alıştırma testi sırasında, Y labirent düzeneğinin bir kolu (C kolu) kapatılarak sıçanların sadece iki kolda (A ve B kolunda) gezip keşfetmesine müsaade edildi. 24 saat sonra ise asıl test uygulaması sırasında alıştırma testi sırasında kapalı olan kol (C kolu) da açılarak sıçanların üç kolda serbestçe hareket etmelerine izin verildi. Deney sırasında her bir sıçan deney düzeneğine konulmadan önce bir önceki sıçanın kokusu düzenekte kalmasın ve sıçan bu koku ile ilgilenmesin diye % 20'lik alkol ile tüm deney düzeneğinin iç duvarları ve zemini her defasında temizlendi ve alkolün kuruması beklendi. Hem alıştırma prosedürü hem de deney prosedürü, her bir hayvan için 5 dakikalık zaman aralığı içinde gerçekleştirildi. Bütün deneyler sırasında video ile kayıt alındı. Kayıtlar tekrar izlenerek sıçanların düzenekteki hareketleri tespit edildi. Bunun sonucunda hangi kola ne kadar girdiği, hangi kolda ne kadar vakit geçirdiği ile ilgili sayı ve süreler not alındı. Sıçanın hangi kolda bulunduğu tespit edilirken dört ayağının birden aynı kol içinde olması gerekmektedir.

Sıçanların yeni kolda geçirdiği süre, yeni kola giriş sayıları, toplam kollara giriş sayıları ve alternasyon (kollara sıralı girme) sayıları hesaplandı. Kollara sıralı girme farklı kombinasyonlarla gerçekleşebilir (ABC, BCA, CAB, BAC, CBA, ACB… gibi). Ayrıca Alternasyon sayısı ve toplam kollara giriş sayıları kullanılarak alternasyon yüzdesi elde edilmiştir (Conrad et al., 1996).

Alternasyon yüzdesi aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır:

Alternasyon yüzdesi= (alternasyon sayısı/(toplam kollara giriş sayısı-2) x100

3.4.1.3. Yükseltilmiş artı test

1985 yılında File ve arkadaşları ((Kraeuter et al., 2019)) tarafından ortaya çıkarılan, keşifsel bir araştırma modeldir. Duygusal aktiviteyi test ederek uygulamaların davranışsal, fizyolojik ve farmakolojik etkilerini test etmeye olanak sağlamaktadır.

Yükseltilmiş artı labirenti testi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalında Beyin araştırmaları laboratuvarında bulunan deney düzeneği ile ilaç ve madde uygulamalarından 24 saat sonrasında saat 10:00-14:00 arasında gerçekleştirilmiştir.

Düzenek kokusuz MDF’ den yapılmış olup; yerden 40 cm yüksekliğinde, 50 cm uzunluğunda 2'si kapalı 2'si açık olmak üzere aynı tipteki kollar birbirine zıt olacak şekilde düzenlenmiş, birbirine bağlı 4 koldan oluşmaktadır (Şekil 3.7.). Kollar merkezi bir kare (10 cm x 10 cm) ile birleştirildi. Sıçanların düşmesini önlemek için, açık kolların çevresini bir pleksiglas kenar (0,5 cm yüksekliğinde) çevreledi. Deney odasındaki aydınlatma tavana sabitlenmiş bir kırmızı neon tüpten oluşuyordu, böylece deneyler loş ışık koşullarında yapıldı.



Şekil 3.7. Deney düzeneğinde kullanılan yükseltilmiş artı labirenti testi

Sıçanlar, yüzü açık kola bakacak şekilde merkeze yerleştirildi. Bütün sıçanlar için deney süresi 5 dakika olarak uygulanmıştır. Düzenek her hayvan uygulamasından sonra %20'lik alkol ile temizlenmiştir. Deney prosedürü boyunca video kamera ile kayıt alınmıştır. 5 dakikalık deney süresi içerisinde düzeneğin merkezine aynı noktadan bırakılan sıçanların açık ya da kapalı kola giriş çıkış sayıları ve bu kollarda geçirdikleri süre araştırmacı gözlemi ve videolardan ölçülmüştür (Rodgers & Dalvi, 1997).

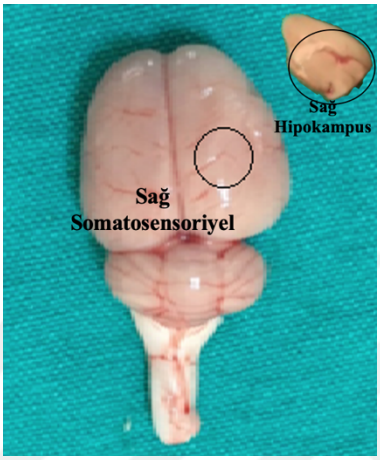
3.4.1. Moleküler analiz (Real Time-PCR)

Yirmi bir günlük SF ve 2 mg/kg RİVA uygulamasından 24 saat sonra yapılan davranış testlerinden sonra her grupta 3'er hayvan olmak üzere toplamda 18 hayvanın sağ somotosensoriyel korteks ve sağ hipokampusları çıkarılarak TRPV1 gen ekspresyonları açısından incelendi.

3.4.1.1. Doku örneklerinin alınması

Her bir hayvan önce ketamin ile anestezi altına alındı, daha sonra anestezi altında olduğundan emin olunduktan sonra perfüzyon işlemine başlandı. Öncelikle ameliyat/kesme makası kullanarak cildi açıldı ve göğüs boşluğunu ortaya çıkarıldı. Kalbe hasar vermeden standart bir makas kullanarak diyafram da kesilip açıldı. Kelepçe makası kullanarak, sternumun tabanından tutuldu ve göğüs kafesi de kesilerek kalbi ortaya çıkarmak için yukarı kaldırıldı.30 gauge iğnenin ucunu ventrikül lümeninde tutmaya dikkat ederek önce sağ atriyum kesilerek ventrikülün

apexten serum fizyolojik enjekte edilmeye başlandı. Perfüzyon işlemi tamamlandıktan hemen sonra hayvanların beyinleri çıkarılarak buz üzerine konuldu. Her bir adım steril olarak devam edildi ve sağ hemisfere ait somatosensoriyel korteks ile hipokampus (Şekil 3.8.) her bir hayvandan bilateral olarak önceden hazırlanmış steril, alliquatlı ependorflara yerleştirildikten sonra sıvı azot havuzuna bırakıldı. ve RNA izolasyonu için -80'de depolandı.



Şekil 3.8. Çıkarılan beyin üzerinde somatosensoriyel alan ve çıkarılmış olan sağ hipokampus görülmektedir.

3.4.1.2. Doku örneklerinden RNA izolasyonu

RNA sahip olduğu tek sarmal nedeniyle diğer nükleotidlere oranla daha kırılgan bir yapıya sahiptir. Bu nedenle çalışma ortamının sterilizasyonu ve çalışma hızı önem arz etmektedir. Öncelikle çalışma ortamı hazırlandı ve ortam hazır olduktan sonra -80 dereceli dolapta korunan dokular çıkarıldı ve hassas tartı ile tartıldı (Şekil 3.9.)



Şekil 3.9. Hassas tartım cihazı

Bu tartım uygulanacak trizol protokolüne göre trizol miktarını ayarlamak için önemlidir ve 45 ± 5 mg'a 1cc uygulanacak şekilde dokular hazırlandı. Dokuların tartımı gerçekleştikten sonra buz üzerine konulan dokular steril şekilde sıvı azot dökülmüş seramik havana (Şekil 3.10.) konulara parçalanmaya başladı. Parçalanan dokuya 1 cc trizol eklenerek sıvı forma gelene dek tokmak içi dövülmeye devam edildi. Her doku için farklı havan kullanıldı ve sıvı forma gelen dokular kendi isimlerini içeren yeni bir ependorfa konuldu.



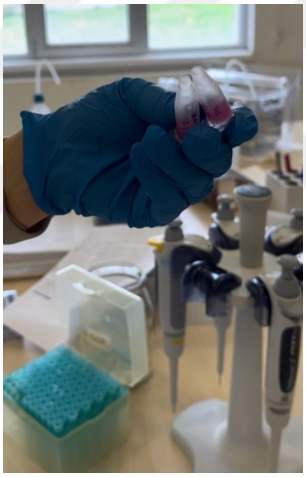
Şekil 3.10. Havanda trizol uygulamasıyla sıvı forma dönüşmüş beyin dokusu

Oda sıcaklığında 5 dk inkübe edildi. İnkübasyondan sonra önceden pre-cool modunda soğutulmuş santrifüjde +4°C, 12 000G'ye ayarlanndı ve 10 dk. santrifüjlendi. Santrifüjden alınan tüplerde gözle görülebilir 3 fazdan, en üstteki RNA içeren kısım dikkatle yeni tüpe aktarıldı (Şekil 3.11.).



Şekil 3.11. Santrifüj sonrası 3'lü faz

Dikkatle alınan RNA fazının üzerine 0,2 cc kloroform eklendi ve 15 kez yavaşça ters düz edildikten sonra 2-3 dk. oda sıcaklığında inkübe edildi (Şekil 3.12.).

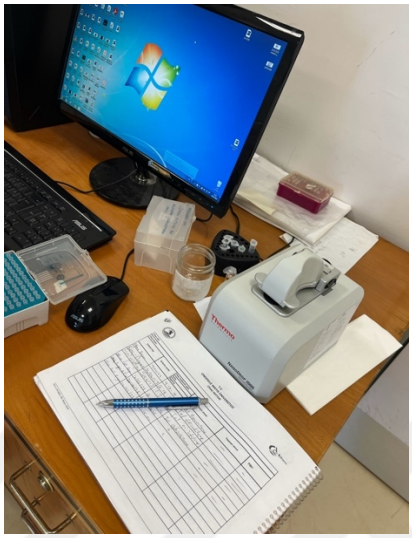


Şekil 3.12. Protokoldekine uygun kloroformlu RNA sıvısının ters düz edilişi

İnkübasyon süresi sonrası her bir ependof +4°C, 12 000G'ye 15 dk.'da santrifüj edildi. Santrifüj sonrası temiz faz yeni bir ependorfa aktarılarak bu sefer de 500 cc izoproponol ile muamele edildikten sonra 10 dk. oda sıcaklığında inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında +4°, 12 000G'ye 10 dk. santrifüj edildi. Bu sefer dipte kalan pelet RNA içermekte olduğu için üst sıvı pelete dokunmadan uzaklaştırıldı. Kalan pellet üzerine %75'lik soğuk alkol eklenerek +4°C, 7500 G'de 5 dakika santrifüj edildikten sonra sıvı faz uzaklaştırılarak alkolün tamamen uçması için beklendi. Kurumadan emin olduktan son 20µl distile su ile çözdürüldü.

3.4.1.3. İzole edilen RNA'nın saflığı

20 µl'de çözdürülen RNA'lar saflığının ve RNA oranının belirlenmesi için Thermo'nun NanoDrop cihazında ölçüldü(Desjardins & Conklin, 2010). Verilen değerler offline olarak depolandı (Şekil 3.13.).



Şekil 3.13. Örnek nanodrop cihazı ölçümü

3.4.1. RNA izolatlarından cDNA sentezi

Çalışmamızda kullandığımız primerler; ilgili çalışmalardan referans alınarak belirlendi. İzole edilen RNA'lardan sirküler deoksiribonükleik asit (cDNA) sentezi için kit protokolü; NanoDrop ölçüm sonuçlarana göre hazırlandı ve PCR cihazındaki uygun protokol seçilerek termal döngüler başlatıldı (Şekil 3.14.).

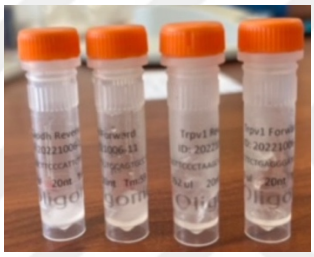


Şekil 3.14. Örnek PCR cihazı örnek görüntüsü

3.4.1.1. Primer özgüllüğü ve etkinliği

Bu çalışmada kullanılan her primerin tüm PCR amplifikasyonu, erime eğrisi analizlerinde tek bir tepe noktasının varlığıyla daha önceden doğrulanmıştır. Potansiyel referans genin ilk taraması, bu genin WAG/Rij ve Wistar sıçan beyin sağ somatosensoriyel korteks ve hipokampusten eksprese edildiğini göstermiştir. Aday gen için primer verimliliği formül (E) kullanılarak bir kalibratör cDNA örneğinin 5 kat cDNA seyreltmelerinde floresan ölçülürken elde edilen eğim kullanılarak hesaplanmıştır (Şekil 3.15.; Şekil 3.16.).

Formül: E=101/- slope-1



Şekil 3.15. Çalışmada kullanılan primerler; TRPV1 (hedef gen) ve GAPDH (referans gen).

A)

Gapdh (Rat)

Gapdh Forward: 5'-GCATCTTCTTGTGCAGTGCC-3'

Gapdh Reverse: 5'-ACCAGCTTCCCATTCTCAGC-3'

B)

Trpv1 (Rat)

Trpv1 Forward: 5'-CCCCTTCTGAGGGATGCAAG-3'

Trpv1 Reverse: 5'-GGTTCCCTAAGCAGACCACC-3'

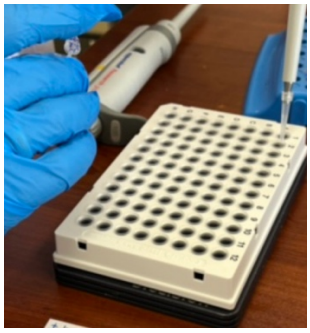
Şekil 3.16. Çalışmada kullanılan genlerin A) GAPDH: Referans gen; B) TRPV1: Hedef gen.

3.4.1.1. qPCR aşaması

Gerçek zamanlı PCR'da, floresan döngüler sonucu ortaya çıkan sinyalin yoğunluğu o anda numunedeki cDNA amplikonlarının anlık miktarını aktarır. İlk döngülerde bu değer düşüktür. Bu yoğunluk tespit edilebilir seviyenin üzerine çıktığı ilk an, yüklenen cDNA'ların başlangıçtaki kalıp DNA molekül sayısına orantılı olarak karşılık gelir. Bu noktaya kantifikasyon döngüsü veya eşik değer döngüsü (Ct) adı verilir. Gerçek zamanlı PCR, hedefin bir kalibratöre göreceli olarak ölçülmesini sağlar ve bu yüzden yöntem kantitatiftir (Ouan vd., 2018). Göreceli ikili karşılaştırma ile ΔCt değeri öncelikle ham Ct değerlerini kullanarak hedef gen Ct değerinden ortalama standart derivasyonunu (SD) hesaplar ve bu SD sonucu genin stabilliği ile ters orantılı olarak değerlendirilir; 1'in altındaki standart sapma, uygun stabiliteyi göstermektedir. Her gen setinin ortalama SD'si 1'in altında olduğu için ΔCT yöntemine göre stabil verilmiştir (Cilloni vd., 2019).

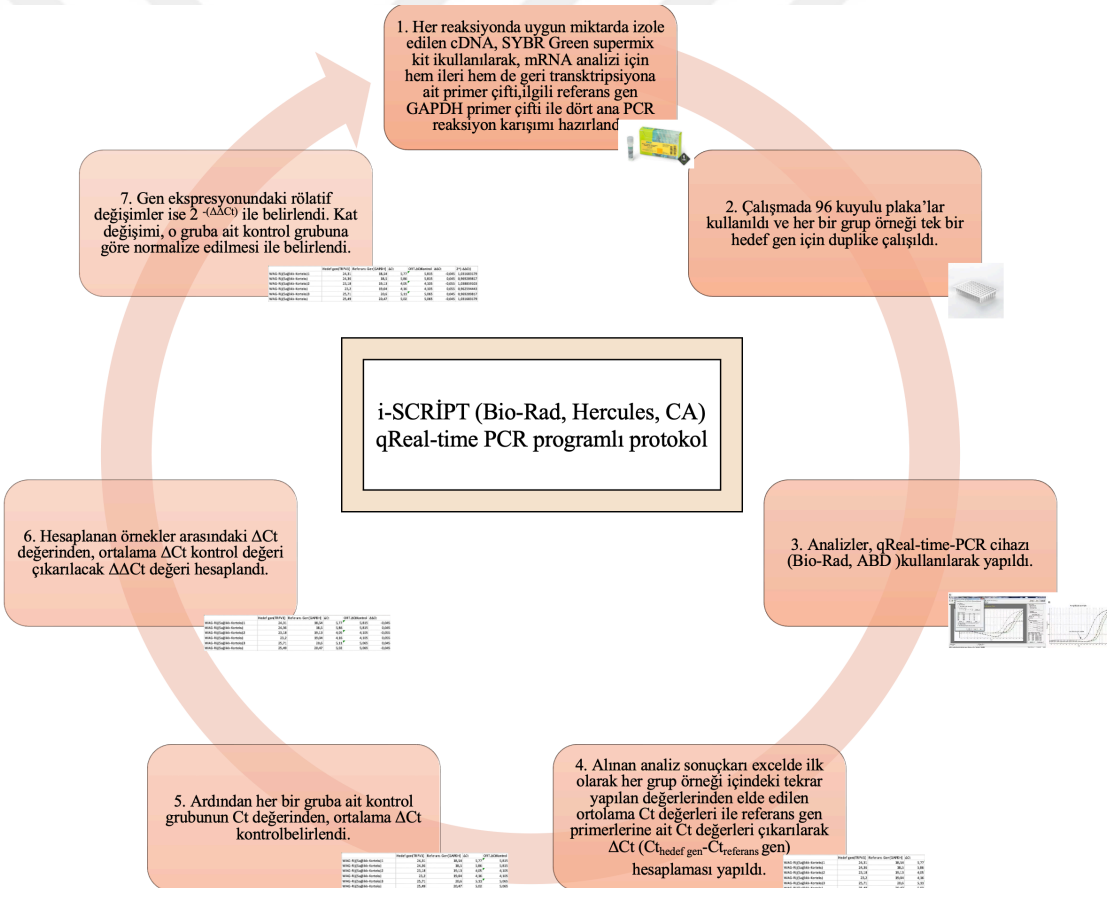
qPCR için kullanılan cihaz; DNA bağlayıcı florojenik boyama hedef sekansları göstermekle sorumludur. Çalışmada kullanılan SYBR Green I boyalar ile mevcut DNA miktarının tamamındaki çift sarmalı boyayarak florasan ışık yayma prensibi ile uygun ışık dalga boyları ortaya koymaktadır. Sonuçlar Real-Time PCR cihazında okunan floresanın miktarı da eş zamanlı olarak artmaktadır. Cihaz ise yukarıda bahsedilen hesaplarda kullanılıcak Cq veya Ct sonuçlarını ortaya koymaktadır

cDNA sentezi basamağı sonrası alınan ependorflardan i-SCRİPT qReal-time PCR kitine uygun miktarda hazırlandı. Sırasıyla her numune hedef ve referans genler eklenerek 96 kuyucuklu plate'e oluşturulan sıra ile yüklendi (Şekil 3.17.).



Şekil 3.17. F tabanlı qPCR 96 kuyucuklu plate.

qReal-time PCR reaksiyon i-SCRİPT (Bio-Rad, Hercules, CA) qReal-time PCR programlı protokol, qReal-Time PCR ile TRPV1 geninin mRNA seviyesi ölçülmesinde izlenecek basamaklar Şekil 3.18.'deki gibi gerçekleştirildi.



Şekil 3.18. mRNA seviyesi ölçülmesinde izlenecek basamaklar yukarıdaki şekilde gerçekleştirildi.

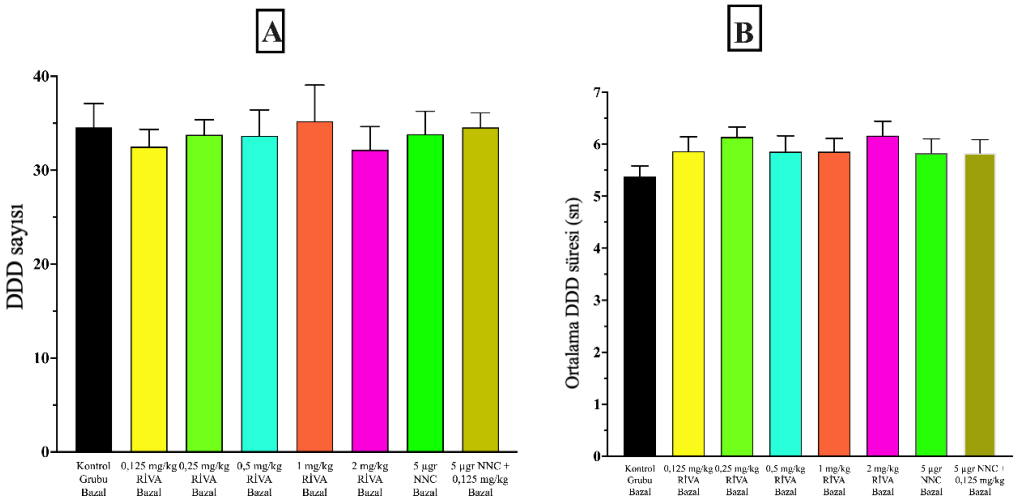
3.5. İstatiksel Analiz

Elde edilen ECoG kayıtlarının istatistiksel analizinde GraphPad Prism 9 yazılımı kullanıldı (San Diego, CA, USA). Deney gruplarındaki elektrofizyolojik, davranış ve moleküler genetik verilerin normal dağılıma uyup uymadığı Shapiro–Wilk testi ile değerlendirildi. Zamansal verilere two-way ANOVA ve sonrasında post-hoc Bonferroni testi uygulandı. Normal dağılıma uyan iki grubun karşılaştırılması için bağımsız örneklem t-testi uygulanırken, normal dağılıma uymayanlara ise Mann-Whitney U testi uygulandı. Normal dağılıma uyan ikiden fazla grubun karşılaştırılması için one-way ANOVA ve sonrasında post-hoc Bonferroni testi uygulanırken, normal dağılıma uymayanlara ise Kruskal-Wallis ve sonrasında post-hoc Dunn testi uygulandı. Uzun süreli ilaç uygulamalarının elektrofizyolojik karşılaştırılmasında ise (birinci enjeksiyon öncesi ve sonrası, onuncu enjeksiyon sonrası, yirmi birinci enjeksiyon sonrası), normal dağılıma uyanlara tekrarlı ölçüm ANOVA ve sonrasında post-hoc Bonferroni testi uygulanırken, normal dağılıma uymayanlara ise Friedman testi ve sonrasında post-hoc Dunn çoklu karşılaştırma testi uygulandı. Grafik, tablo ve metin içerisinde kullanılan deney gruplarına ait tüm değerler, ortalama ± standart hata (SEM) olarak ifade edildi ve $p<0,05$'in altında olan değerler anlamlı olarak kabul edildi.

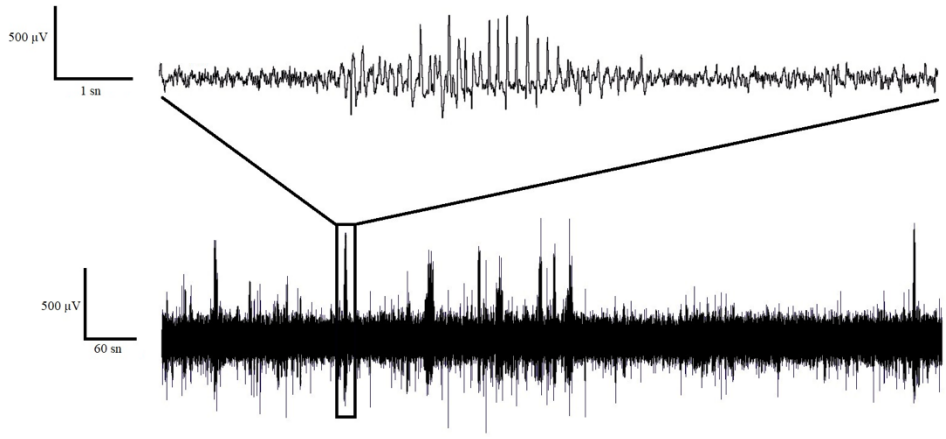
4. BULGULAR

4.1. Elektrofizyolojik Analiz

Enjeksiyon öncesi elde edilen 1 saatlik bazal aktivitedeki DDD sayısı ve ortalama DDD süresi hesaplandığında hiçbir grup arasında anlamlı bir fark yoktu ($p>0,05$) (Şekil 4.2.). Bu nedenle, karşılaştırmalar enjeksiyon sonrası 3 saatlik döneme göre yapıldı. Kontrol grubunda SF sonrası 3 saatlik toplam DDD sayısı 34,56 ± 2,53 iken nöbet başına düşen ortalama nöbet süresi 5,38 ± 0,20 sn olarak hesaplandı (Şekil 4.1.).



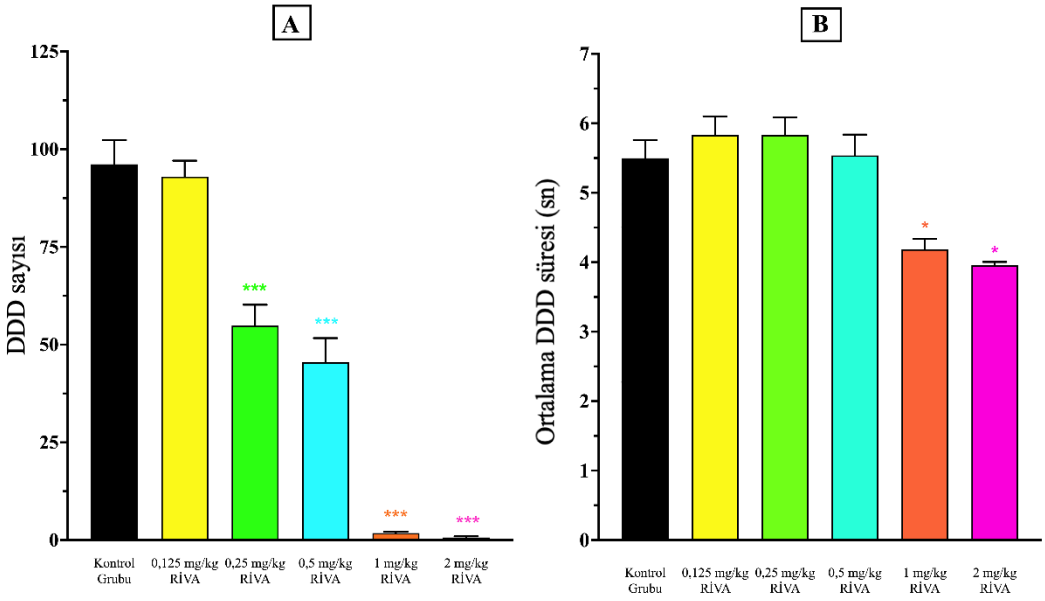
Şekil 4.1. Enjeksiyon öncesi 1 saat (A) toplam DDD sayıları (DDD sayısı ± SEM) ve (B) ortalama nöbet süresi toplam (ortalama DDD süresi ± SEM).



Şekil 4.2. Kontrol grubuna serum fizyolojik enjeksiyonundan sonra ECoG kaydının 120. dakikasından alınan aktivite kaydı.

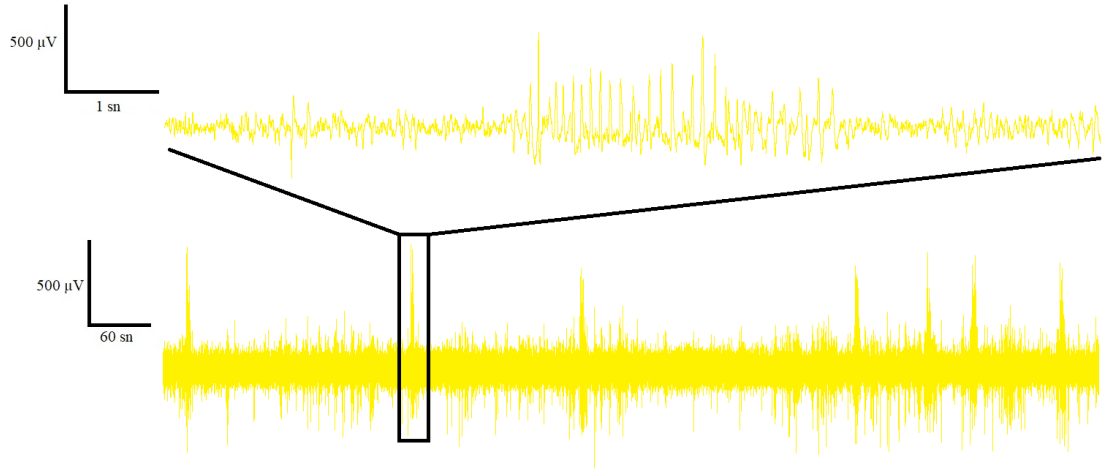
4.1.1. Akut uygulanan RİVA'nın DDD parametrelerine etkisi

Enjeksiyon sonrası 3 saat boyunca elde edilen toplam DDD sayıları karşılaştırıldığında; 0,25; 0,5; 1 ve 2 mg/kg RİVA grupları toplam DDD sayısını kontrol grubuna göre azaltırken (sırasıyla $p<0,001$; $p<0,001$; $p<0,001$; $p<0,001$); 0,125 mg/kg RİVA grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark yoktu ($p>0,05$). Enjeksiyon sonrası 3 saatlik toplam DDD sayıları 0,125 mg/kg RİVA grubunda 93,00 ± 4,08; 0,25 mg/kg RİVA grubunda 54,83 ± 0,38; 0,5 mg/kg RİVA grubunda 45,50 ± 6,17; 1 mg/kg RİVA grubunda 1,80 ± 0,36 ve 2 mg/kg RİVA grubunda 0,66 ± 0,33 DDD olarak hesaplandı (Şekil 4.3. A). Nöbet başına düşen ortalama nöbet süresi yalnızca 1 ve 2 mg/kg RİVA uygulamasıyla azaldı (sırasıyla $p<0,05$; $p<0,05$). 3 saat boyunca 1 ve 2 mg/kg RİVA uygulamasıyla ortalama nöbet süreleri sırasıyla 4,17 ± 0,14; 3,95 ± 0,04 sn olarak hesaplandı (Şekil 4.3. B).

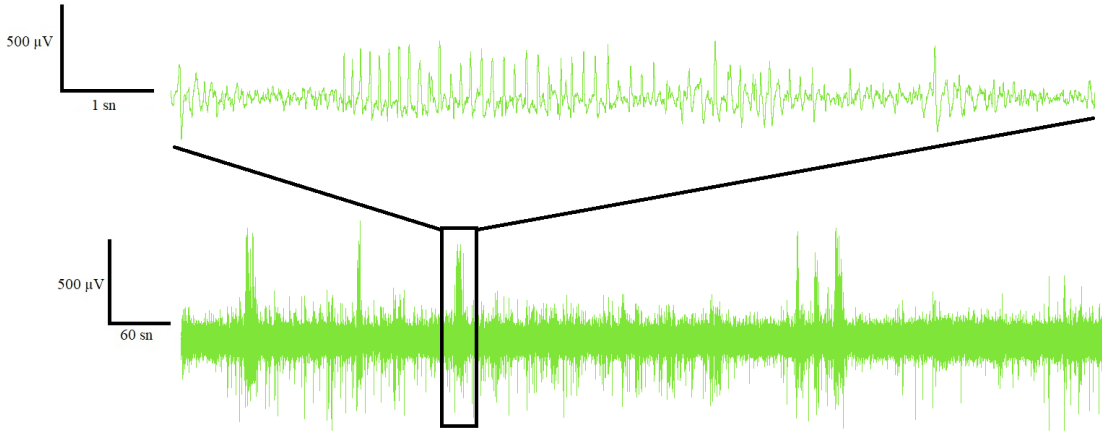


Şekil 4.3. Kontrol grubu ile 0,125; 0,25; 0,5; 1 ve 2 mg/kg RİVA uygulamasından sonra 3 saat boyunca elde edilen ECoG verileri (A) toplam DDD sayıları (toplam DDD sayısı ± SEM) ve (B) ortalama DDD süreleri (ortalama DDD süresi ± SEM). *$p<0.05$; ***$p<0,001$ kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.

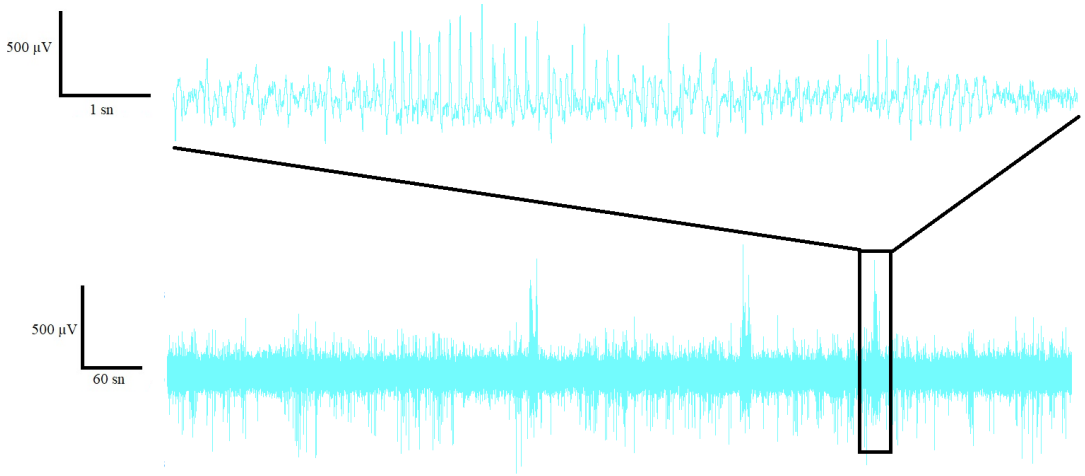
Şekil 4.4-8. 'de 0,125; 0,25; 0,5; 1 ve 2 mg/kg RİVA gruplarının 120. dk'sından elde edilen ECoG görüntülerini göstermektedir.



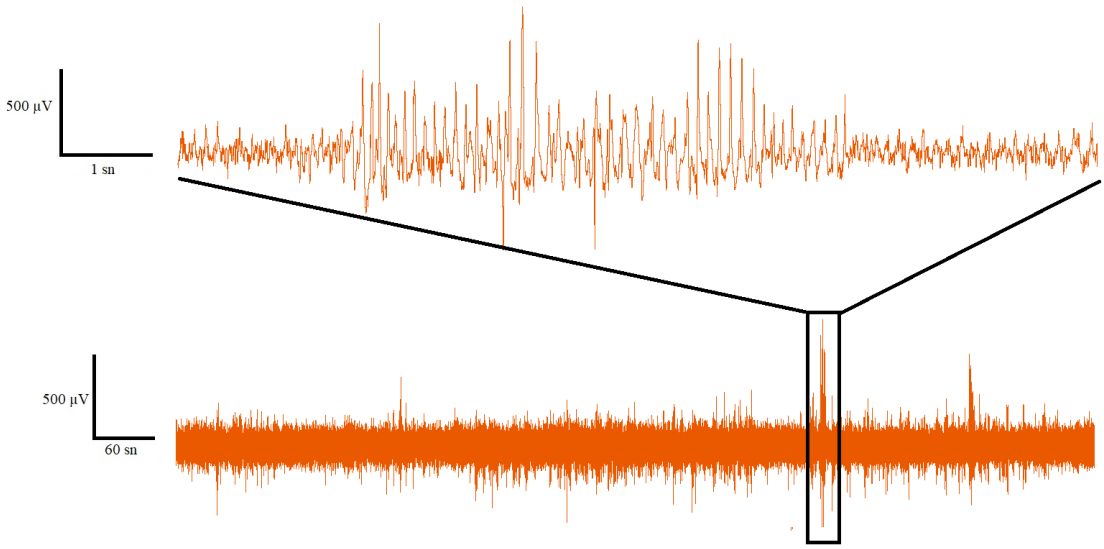
Şekil 4.4. ECoG kaydının 0,125 mg/kg RİVA uygulamasından sonraki ilk üç saatlik kaydının 120. dakikasından alınan aktivite kaydı.



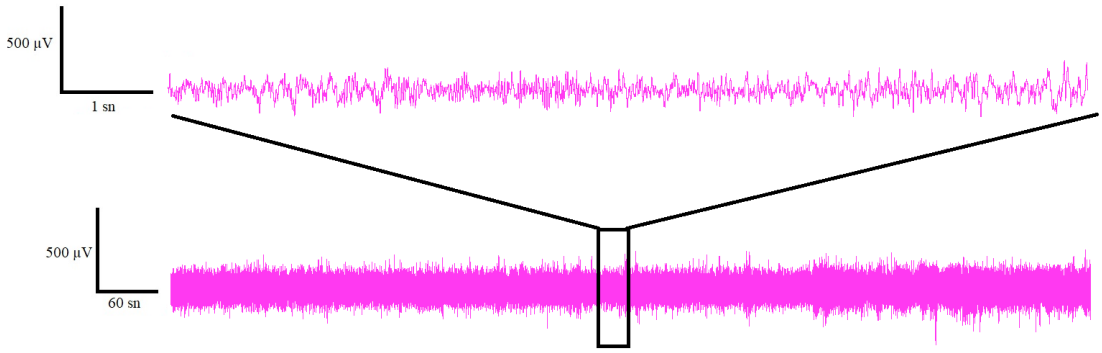
Şekil 4.5. ECoG kaydının 0,25 mg/kg RİVA uygulamasından sonraki ilk üç saatlik kaydının 120. dakikasından alınan aktivite kaydı.



Şekil 4.6. ECoG kaydının 0,5 mg/kg RİVA uygulamasından sonraki ilk üç saatlik kaydının 120. dakikasından alınan aktivite kaydı.



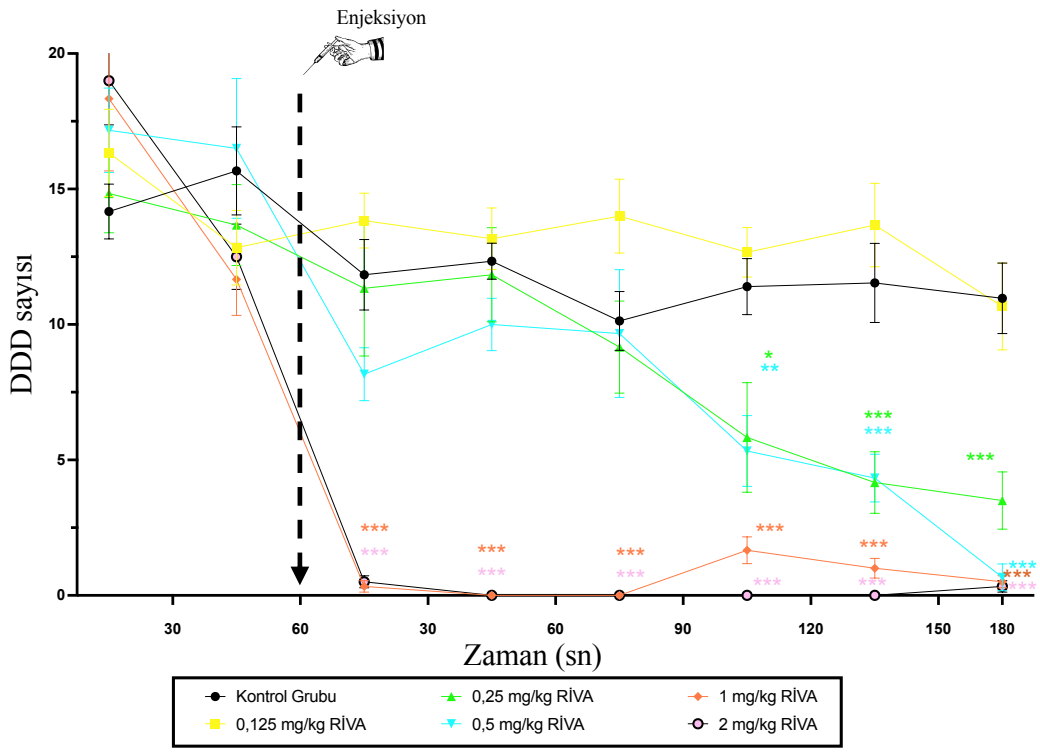
Şekil 4.7. ECoG kaydının 1 mg/kg RİVA uygulamasından sonraki ilk üç saatlik kaydının 120. dakikasından alınan aktivite kaydı.



Şekil 4.8. ECoG kaydının 2 mg/kg RİVA uygulamasından sonraki ilk üç saatlik kaydının 120. dakikasından alınan aktivite kaydı.

RİVA'nın zamana göre etkisini belirlemek için 4 saatlik kayıt, 30'ar dakikalık dilimlere ayrıldı. Enjeksiyon öncesi dönem karşılaştırıldığında hiçbir grup arasında anlamlı bir fark yoktu ($p>0,05$). Bu nedenle, tüm gruplar dakika bazlı kendi aralarında kıyaslandı (Şekil 4.9.).

Enjeksiyon sonrası ilk 30 dakika ve sonrasında 1 ve 2 mg/kg RİVA grupları; 0,25 ve 0,5 mg/kg RİVA grubları ise 120. dakikadan sonra deney sonuna kadar kontrol grubuna göre toplam DDD sayısını anlamlı düzeyde azalttı (sırasıyla $p<0,001$; $p<0,001$; $p<0,001$; $p<0,001$). Kontrol; 0,125; 0,25; 0,5; 1 ve 2 mg/kg RİVA gruplarının enjeksiyon sonrası 120. dk'sından elde edilen DDD sayıları sırasıyla 11,40 ± 1,03; 12,66 ± 0,91; 5,83 ± 2,02 ; 5,33 ± 1,30; 1,66 ± 0,49; 0,00 ± 00,00 DDD olarak hesaplandı.



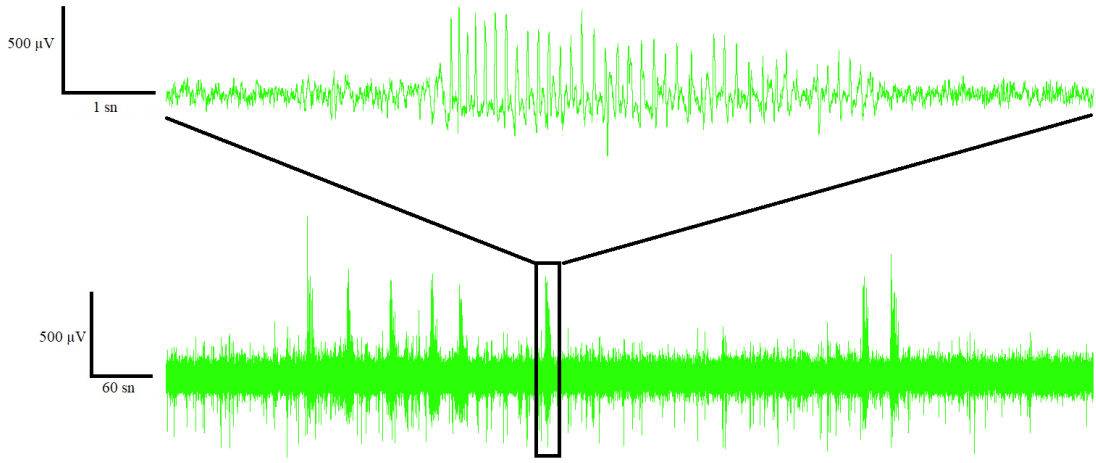
Şekil 4.9. 30'ar dakikalık zaman dilimlerine göre SF, 0,125; 0,25 ; 0,5; 1 ve 2 mg/kg RİVA'nın zamana göre DDD değişimi

4.1.2. RİVA ve T-tipi kalsiyum kanal blokeri etkileşiminin DDD parametrelerine etkisi

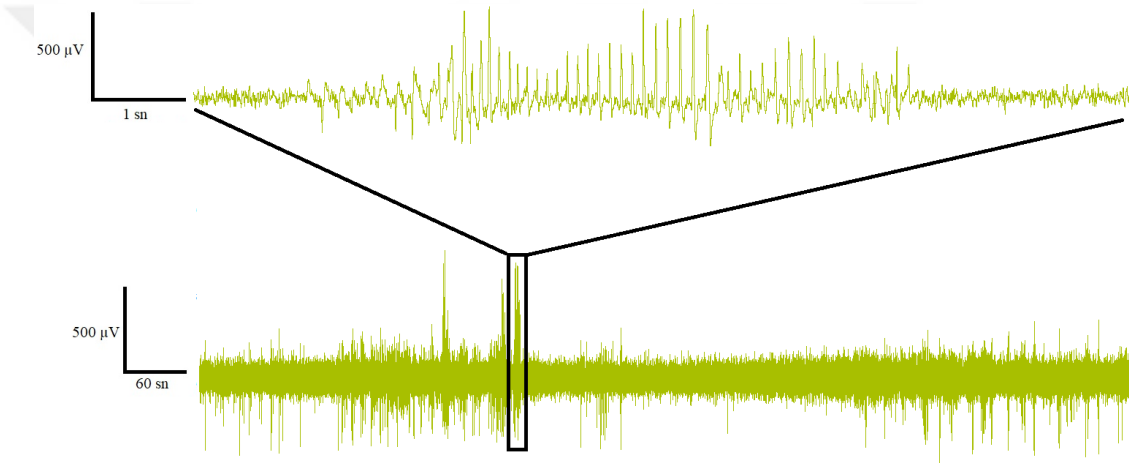
Kontrol grubundaki her bir sıçana, ECoG kaydının başlamasından 60 dakika sonra T-tipi kalsiyum kanal blokeri NNC'nin çözücüsü aCSF 2 µL hacminde; 5 dk sonra RİVA'nın çözücüsü olarak kullanılan steril fizyolojik tuzlu su (SF) 1ml hacminde i.p. olarak uygulandı. Bazal ECoG kaydıyla çözücü uygulanması sonrası ECoG kaydı karşılaştırıldığında DDD sayısı (DDD) ve DDD ortalama süresi açısından anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0,05$) (Şekil 26.2.). Bazal kayıt ile enjeksiyon sonrası kayıt bağlı değişkenli t-testi ile kıyaslandığında iki grup arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$) (şekilde gösterilmedi). Enjeksiyon öncesi 60 dk.'lık toplam DDD sayısı 34,90 ± 2,52 DDD olarak hesaplandı. Enjeksiyon sonrası üç saatlik dönemin 1 saatlik ortalaması hesaplandığında ise toplam DDD sayısı 32,05 ± 2,05 DDD olarak bulundu. Enjeksiyon sonrası üç saatlik ortalama nöbet süresi ise 5,49 ± 0,26 sn olarak hesaplandı.

RİVA'nın T-tipi kalsiyum kanalları ile etkileşimini belirlemek için etkisiz doz NNC ve etkisiz doz RİVA uygulandı. NNC'nin DDD'ler üzerine etkisiz dozu (5 ug, i.s.v.) laboratuvarımızda yapılan başka bir cçalışmaya dayanarak belirlendi(Tiryaki, 2021). RİVA'nın etkisiz dozu olan 0,125 mg/kg dozu kullanıldı. NNC'nin yalnız başına etkisini belirlemek amacıyla 60 dk. bazal kayıt alındıktan sonra etkisiz doz NNC (5 µg; i.s.v.) enjeksiyonu yapıldı ve 5 dk. sonrasında i.p. SF uygulanarak 3 saat boyunca ECoG kaydı elde edildi ($p>0,05$). Etkileşim grubunda ise 60 dk. bazal kayıt alındıktan sonra; önce NNC'nin 5 µg (etkisiz) dozu i.s.v. olarak uygulandı, 5 dk. sonrasında ise RİVA'nın etkin olmayan 0,125 mg/kg dozu uygulanarak 3 saat daha kayıt alındı. Şekil 4.10. ve Şekil 4.11. sırasıyla NNC (5 µg) ve NNC (5 µg) + RİVA 0,125 mg/kg gruplarının 120. dk'sından elde edilen ECoG görüntülerini göstermektedir. Kontrol grubunda 3 saat boyunca toplam DDD sayısı 101,50 ± 7,32 olarak hesaplandı. Etkisiz doz NNC grubunda 3 saat boyunca toplam DDD sayısı 97,67 ± 4,66 olarak bulundu. Etkisiz doz RİVA 0,125 mg/kg uygulandığında ise, toplam DDD sayısı 101,2 ± 4,88 olarak hesaplandı. Kombinasyon grubunda ise DDD sayısı azalarak 42,33 ± 4,96 olarak tespit edildi ($p<0,001$) (Şekil 4.10-11-12.).

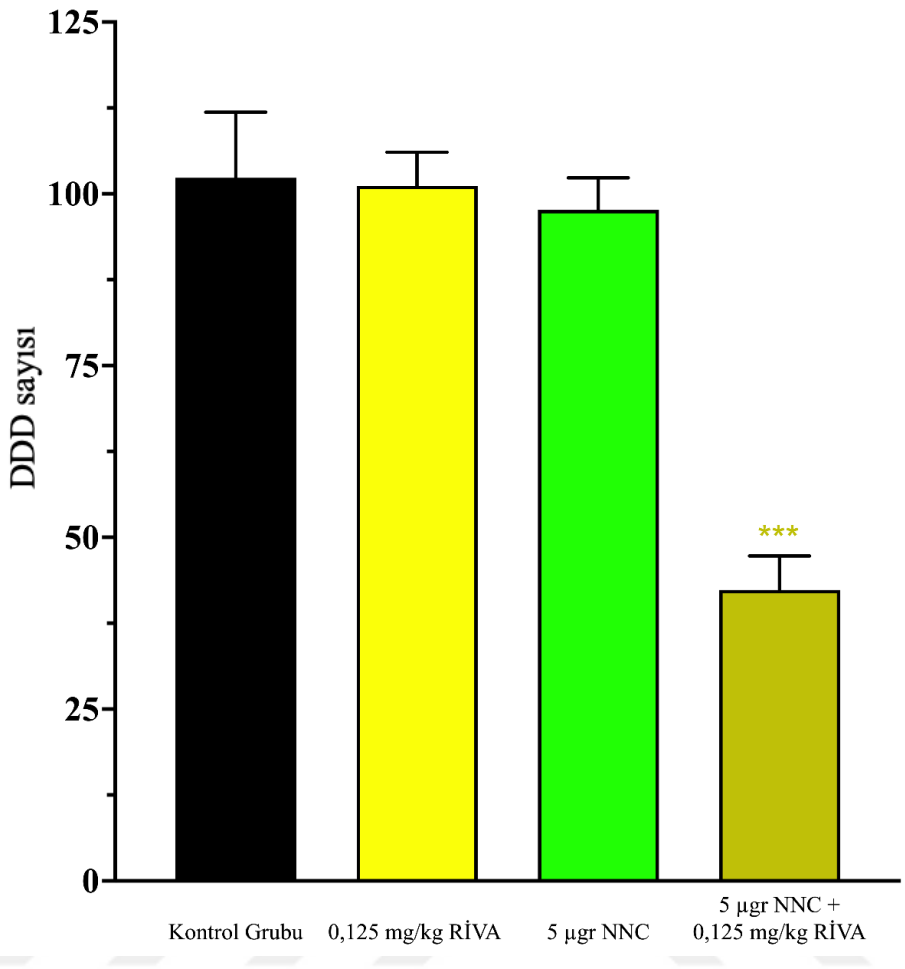
3 saat boyunca alınan kayıtlarda tüm gruplar arasında ortalama nöbet süresi açısından anlamlı bir fark yoktu ($p>0,05$) (şekilde gösterilmedi).



Şekil 4.10. 5 µg NNC'ye ait 120. dk'dan ECoG görüntüsü.

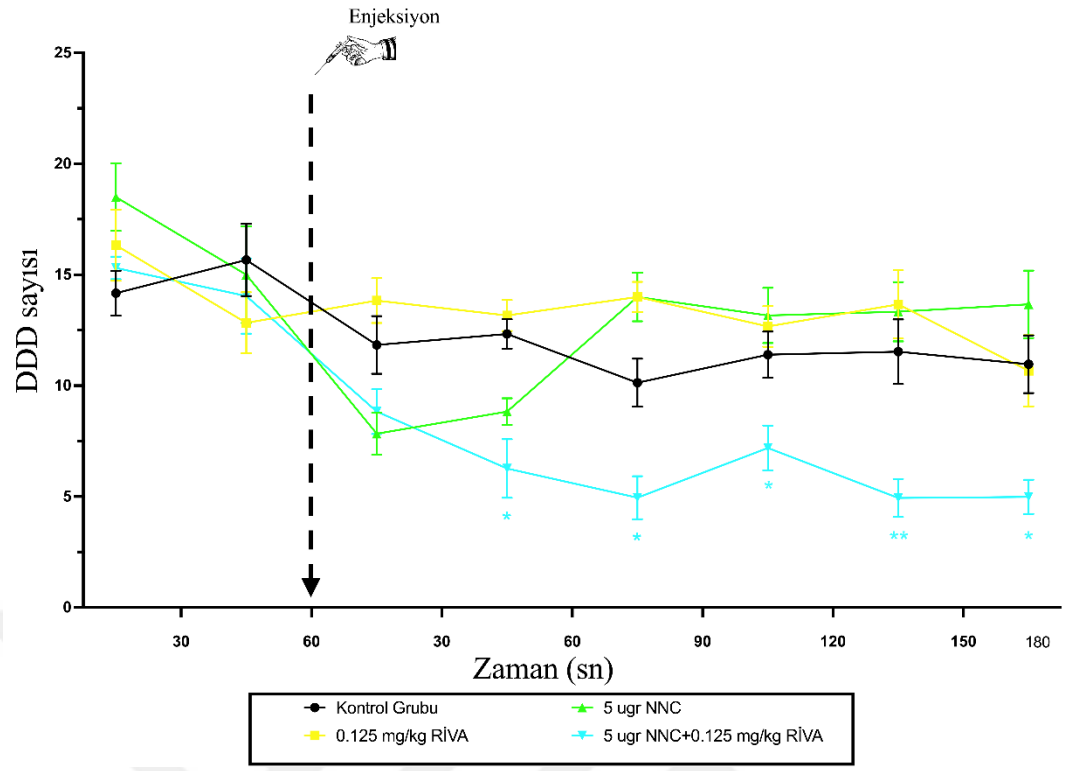


Şekil 4.11. 120. dakikadan alınan 5 µg NNC+ 0,125 mg/kg RİVA ait kaydedilen ECoG görüntüsü.



Şekil 4.12. Kontrol grubu, 5 µg NNC, 0,125 mg/kg RİVA, 5 µg NNC+ 0,125 mg/kg RİVA uygulamasından sonra 3 saat boyunca elde edilen toplam DDD sayıları (toplam DDD sayısı ± SEM). ***p<0,001 kontrol, RİVA, NNC gruplarıyla kıyaslandığında.

30'ar dakikalık dilimler ile zaman grafiği oluşturulduğunda etkisiz doz NNC ve RİVA'nın kayıt boyunca kontrol grubuna göre toplam DDD sayısını ve ortalama DDD süresini değiştirmediği gözlendi (p>0,05). NNC+ RİVA kombinasyon grubu ise 30. dakikadan itibaren toplam DDD sayısını kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşürdü (p<0,001). Enjeksiyonlardan sonra kontrol grubunun 30-60. dk.'lar arasında toplam DDD sayısı 12,33 ± 0,66 iken, kombinasyon grubunda bu sayı 6,27 ± 1,32 olarak hesaplandı (Şekil 4.13). Otuzar dakikalık dilimlerin hiçbirinde gruplar arasında istatistik açıdan bir anlamlılık yoktu (p>0,05).



Şekil 4.13. Kontrol grubu; 5 µg NNC; 0,125 mg/kg RİVA ve 5 µg NNC+0,125 mg/kg RİVA gruplarının 30'ar dakikalık zaman grafiği. *p<0,05; **p<0,01 kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.

4.1.3. RİVA'nın uzun dönem uygulanmasının DDD parametrelerine etkisi

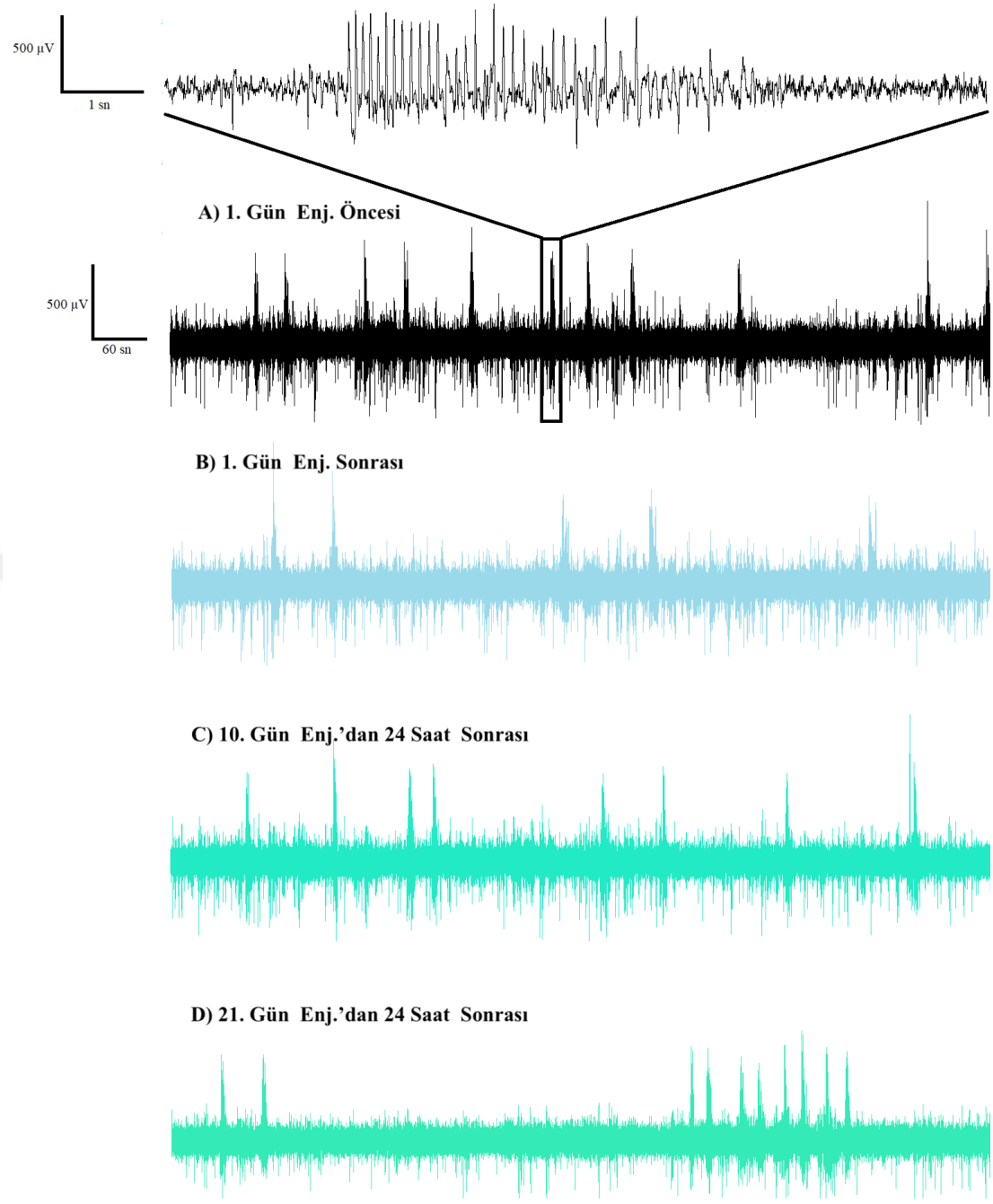
RİVA'nın uzun dönem etkilerini belirlemek amacıyla düşük doz 0,5 mg/kg ve yüksek doz 2 mg/kg RİVA yirmi bir gün boyunca hergün 1 kez WAG/Rij sıçanlara aynı saat ve koşullarda uygulandı. Elektrot takılmış hayvanlar 3 gün boyunca labaratuvar ortamına alıştırıldıktan sonra birinci günde 3 saatlik bazal kayıt elde edildi. Sonrasında ise

ilk RİVA enjeksiyonu yapılarak 3 saatlik daha kayıt elde edildi. Onuncu ve yirmi birinci RİVA enjeksiyonlarından 24 saat sonra 3 saatlik daha kayıt alınarak elde edilen bu kayıtlar bazal kayıt ve akut RİVA kayıtları ile karşılaştırıldı.

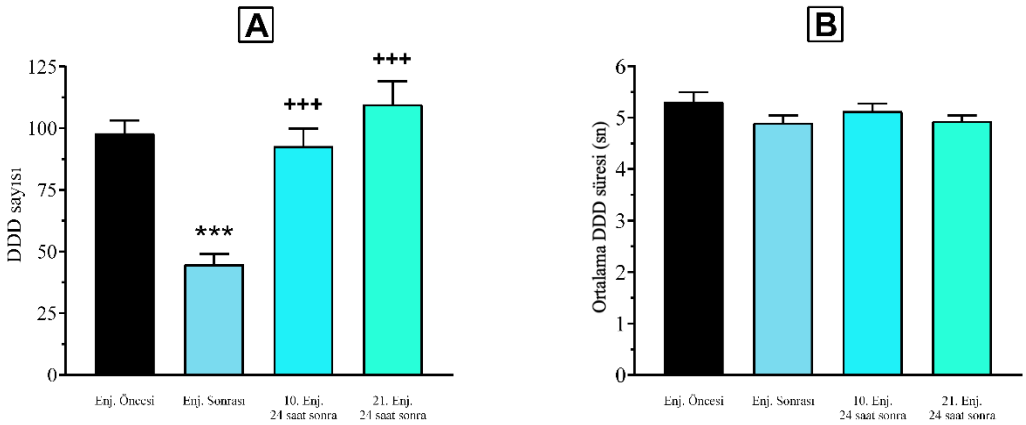
4.1.3.1. Uzun süre uygulanan düşük doz RİVA'nın DDD parametrelerine etkisi

Uzun süreli uygulanan düşük doz 0,5 mg/kg RİVA grubunda onuncu enjeksiyondan 24 saat sonra ve yirmi birinci enjeksiyondan 24 saat sonra elde edilen toplam DDD sayıları kontrol grubuna göre değişmezken (sırasıyla p>0,05; p>0,05),

akut olarak uygulanan RİVA'ya göre toplam DDD sayısının arttığı tespit edildi (sırasıyla $p<0,001$; $p<0,001$) (Şekil 4.14.). Ortalama DDD sayısı enjeksiyon öncesi 3 saatlik bazal kayıtta 98,83 ± 5,62; akut RİVA sonrasındaki 3 saatte 44,83 ± 4,22; onuncu enjeksiyondan 24 saat sonrası alınan 3 saatlik kayıtta 92,67±7,269 ve yirmi birinci enjeksiyondan 24 saat sonrası alınan 3 saatlik kayıtta 109,70±9,39 olarak bulundu (Şekil 4.15.). Enjeksiyon öncesi, enjeksiyon sonrası, onuncu enjeksiyondan 24 saat sonra ve yirmi birinci enjeksiyondan 24 saat sonra elde edilen kayıtlar ortalama nöbet süresi açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı: Sırasıyla, 5,31 ± 0,18; 4,89 ± 0,12; 5,12 ± 0,14 ve 4,93 ± 0,11 sn'dir ($p<0,05$).



Şekil 4.14. Yirmi bir gün 0,5 mg/kg RİVA uygulamasının birinci gün enjeksiyon öncesi (A) ve sonrası (B); onuncu enjeksiyondan 24 saat sonra (C) ve yirmi birinci enjeksiyondan 24 saat sonrasına (D) ait ECoG görüntüsü.

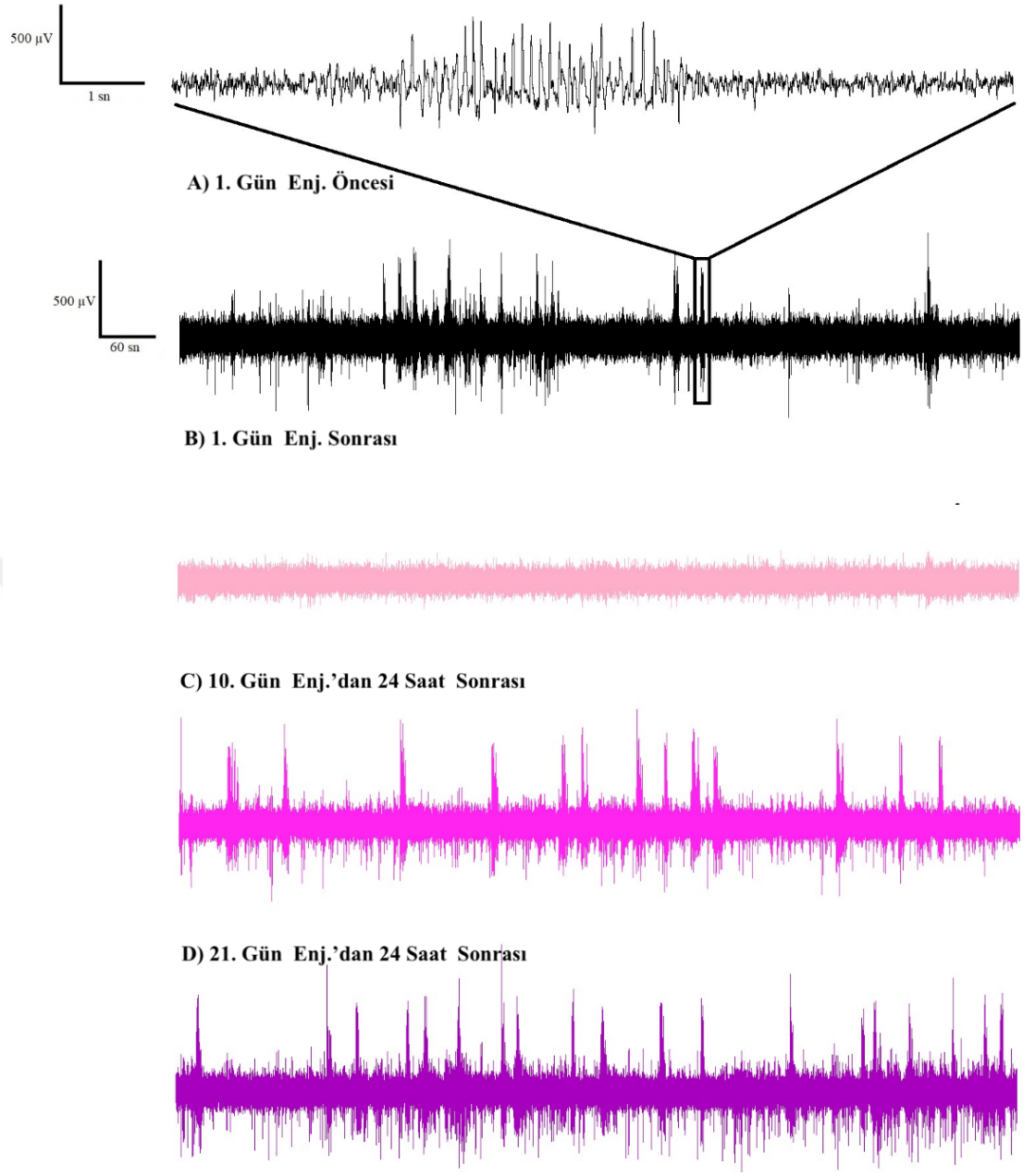


Şekil 4.15. Uzun dönem 0,5 mg/kg RİVA uygulamasından sonra (A) toplam DDD sayıları (toplam DDD sayısı ± SEM) ve (B) süresi (toplam DDD süresi ± SEM).. ***p<0,001 kontrol grubu ile kıyaslandığında, +++p<0,001 Enj. Sonrası RİVA ile kıyaslandığında.

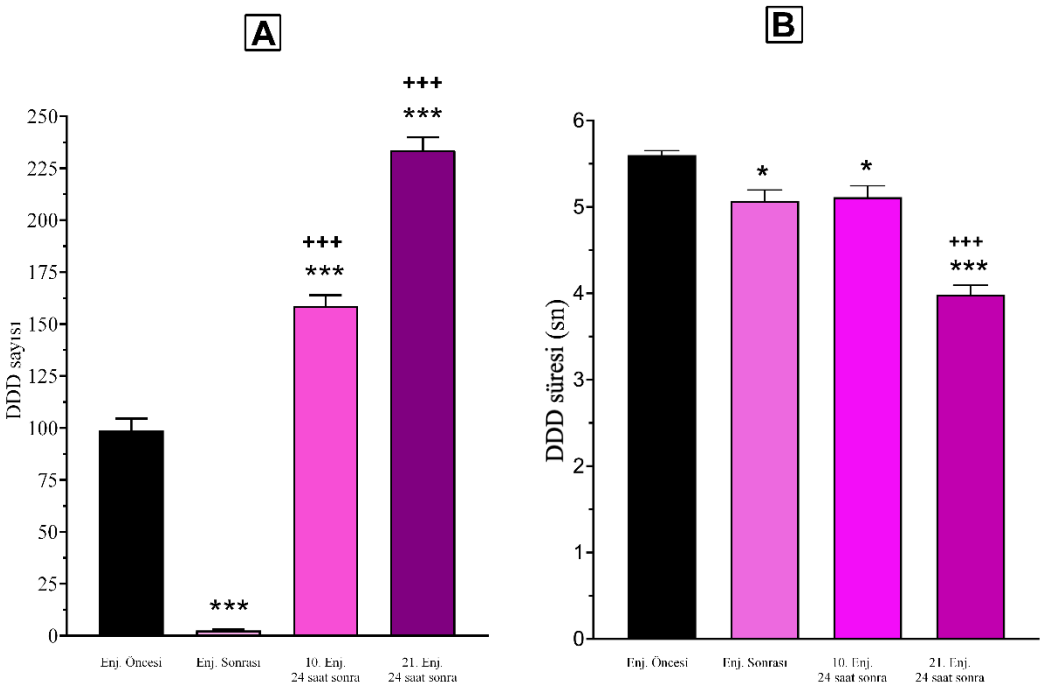
4.1.3.1. Uzun süre uygulanan yüksek doz RİVA'nın DDD parametrelerine etkisi

RİVA'nın yüksek dozu i.p. olarak yirmi bir gün boyunca günde 1 kez uygulandı. Toplam DDD sayısı enjeksiyon öncesi 98,83 ± 5,62 iken akut enjeksiyon sonrası azalarak 1,50 ± 0,22 olarak hesaplandı (p<0,001). Onuncu ve yirmi birinci enjeksiyonlardan 24 saat sonrasında ise toplam DDD sayısında akut etkinin aksine artış gözlendi. Her iki enjeksiyondan sonra da görülen bu artışlar hem kontrol grubuna hem de akut enjeksiyon sonrası döneme göre anlamlıydı (p<0,001) (Şekil 4.16.). onuncu enjeksiyondan sonra 3 saat boyunca toplam DDD sayısı 158,70 ± 5,28 iken, yirmi birinci enjeksiyondan sonra 3 saat boyunca toplam DDD sayısı 233,70 ± 6,24 olarak tespit edildi (sırasıyla p<0,001; p<0,001).

Enjeksiyon sonrası hesaplanan ortalama nöbet süresi enjeksiyon öncesine göre azaldı (p<0,05). İlginç bir şekilde, onuncu enjeksiyon ve yirmi birinci enjeksiyondan 24 saat sonra alınan kayıtlarda da enjeksiyon öncesine göre ortalama nöbet süresinde azalma meydana geldi (sırasıyla p<0,05; p<0,001). Ayrıca, yirmi birinci enjeksiyondan 24 saat sonra alınan kayıtlarda akut enjeksiyon sonrası döneme göre ortalama nöbet süresinin daha da azaldığı tespit edildi (p<0,001) (Şekil 4.17.). Enjeksiyon öncesi, enjeksiyon sonrası ile onuncu ve yirmi birinci enjeksiyondan 24 saat sonrası ortalama nöbet süreleri sırasıyla, 5,60 ± 0,05; 5,07 ± 0,12; 5,11 ± 0,13 ve 3,98 ± 0,10 sn olarak hesaplandı.



Şekil 4.16. Yirmi bir gün 2 mg/kg RİVA uygulamasının birinci gün enjeksiyon öncesi (A) ve sonrası (B); onuncu enjeksiyondan 24 saat sonra (C) ve yirmi birinci enjeksiyondan 24 saat sonrası (D) ECoG görüntüsü.



Şekil 4.17. Uzun dönem 2 mg/kg RİVA uygulamasından sonra (A) toplam DDD sayıları (toplam DDD sayısı ± SEM) ve (B) süresi (toplam DDD süresi ± SEM). *p<0,05; ***p<0,001 kontrol grubu ile kıyaslandığında, +++p<0,001 enj. sonrası RİVA ile kıyaslandığında.

4.2. Davranış Testi Bulguları: Y Labirent ve Yükseltilmiş Artı Labirent Testi

Davranış değerlendirilmesinde Sekiz aylıkWAG/Rij sıçanlar ve Sekiz aylıkWistar sıçanlar Y labirent ve yükseltilmiş artı labirent testlerine tabi tutuldu. Yirmi bir gün 2 mg/kg RİVA uygulamasının ardından sıçanlar peş peşe uygun koşullarda önce Y labirent testine daha sonra yükseltilmiş artı labirent testine tabi tutuldu. Her test video ile kayıt altına alınarak sonuçlar hem deney anında hem de deney sonrası video kayıtlarından değerlendirildi. Tüm bu testler gruplar halinde kış mevsiminde saat 10.00-14.00'da gerçekleştirildi. Her bir test sonrası % 20'lik alkol ile tüm deney düzeneğinin iç duvarları ve zemini her defasında temizlendi ve alkolün kuruması beklendi. Her bir test, her bir hayvan için 5 dakikalık zaman aralığında gerçekleştirildi.

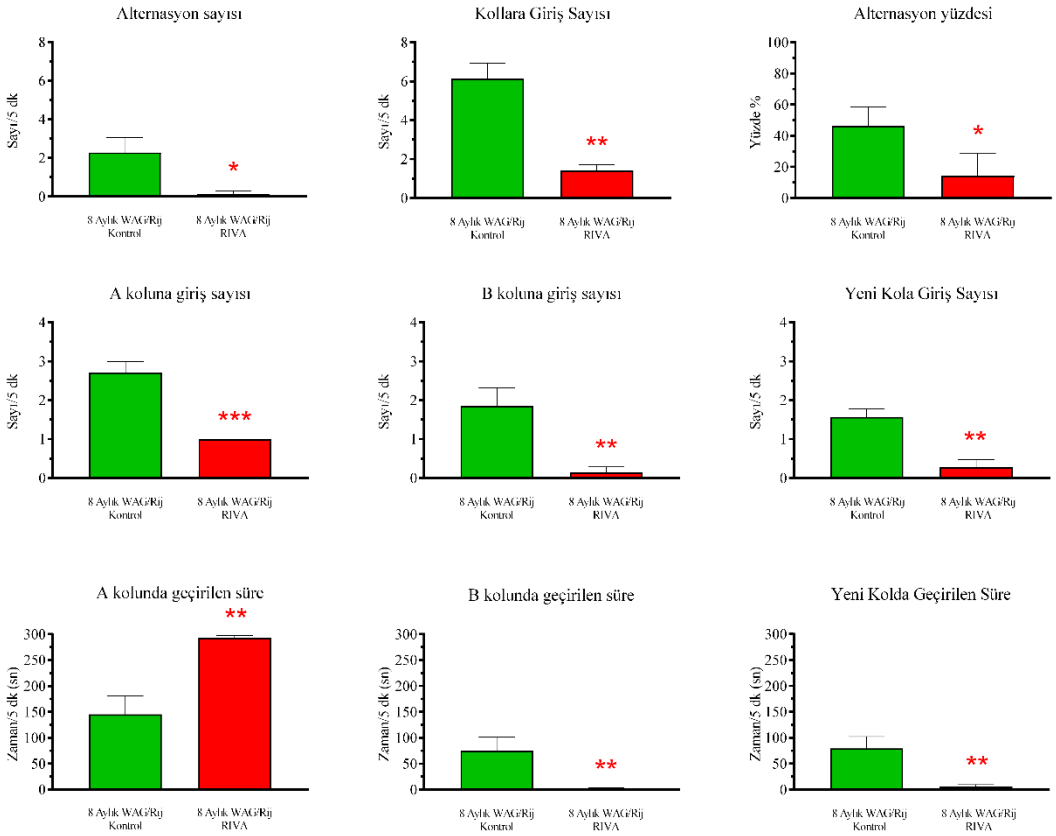
4.2.1. Y labirent testi

Y labirent testi kemirgenlerin yeni çevreyi keşfetme istekliliğinin ölçülmesi için kullanılmaktadır. Çeşitli parametreleri mevcut olan bu testte A, B ve yeni kol olarak adlandırılan C kollarına giriş sayıları ve süreleri; toplam kollara giriş sayısı; kollar arasında geçiş çeşitliliği olan alternasyon sayısı ve alternasyon yüzdesi değerlendirildi.

Sekiz aylık WAG/Rij sıçanlarda yirmi bir gün 2 mg/kg RİVA uygulamasının 24 saat sonrasında Y labirent testi parametreleri elde edilerek bu parametreler kendi kontrol grupları arasında değerlendirildi. RİVA grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında; RİVA sadece A kolunda geçirilen süreyi artırdı ($p<0,05$). Diğer Y labirent testi parametrelerinin hepsinde anlamlı azalma tespit edildi ($p<0,05$) (Tablo 4.1.) (Şekil 4.18.).

Tablo 4.1. Sekiz aylıkWAG/Rij sıçanlarda Y labirent parametrelerine göre ortalama± SEM değerleri. *p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001 Sekiz aylıkWAG/Rij kontrol grubu ile kıyaslandığında

8 Aylık WAG/Rij Kontrol-RİVA		Ortalama ± SEM	p
Alternasyon Sayısı	8 Aylık WAG/Rij Kontrol	2,28 ± 0,77	*
	8 Aylık WAG/Rij RİVA	0,14 ± 0,14	
Toplam Kollara Giriş Sayısı	8 Aylık WAG/Rij Kontrol	6,14 ± 0,80	**
	8 Aylık WAG/Rij RİVA	1,42 ± 0,29	
Alternasyon Yüzdesi	8 Aylık WAG/Rij Kontrol	46,19 ± 12,47	*
	8 Aylık WAG/Rij RİVA	14,29 ± 14,29	
A koluna Giriş Sayısı	8 Aylık WAG/Rij Kontrol	2,71 ± 0,28	***
	8 Aylık WAG/Rij RİVA	1,00 ± 0,00	
B Koluna Giriş Sayısı	8 Aylık WAG/Rij Kontrol	1,85 ± 0,46	**
	8 Aylık WAG/Rij RİVA	0,14 ± 0,14	
Yeni Kola (C) Giriş Sayısı	8 Aylık WAG/Rij Kontrol	1,5 ± 0,20	**
	8 Aylık WAG/Rij RİVA	0,28 ± 0,18	
A Kolunda Geçirilen Süre	8 Aylık WAG/Rij Kontrol	145,10 ± 35,52	**
	8 Aylık WAG/Rij RİVA	292,30 ± 5,09	
B Kolunda Geçirilen Süre	8 Aylık WAG/Rij Kontrol	75,14 ± 26,89	**
	8 Aylık WAG/Rij RİVA	1,85 ± 1,85	
Yeni Kolda (C) Geçirilen Süre	8 Aylık WAG/Rij Kontrol	79,71 ± 22,73	**
	8 Aylık WAG/Rij RİVA	5,85 ± 3,79	

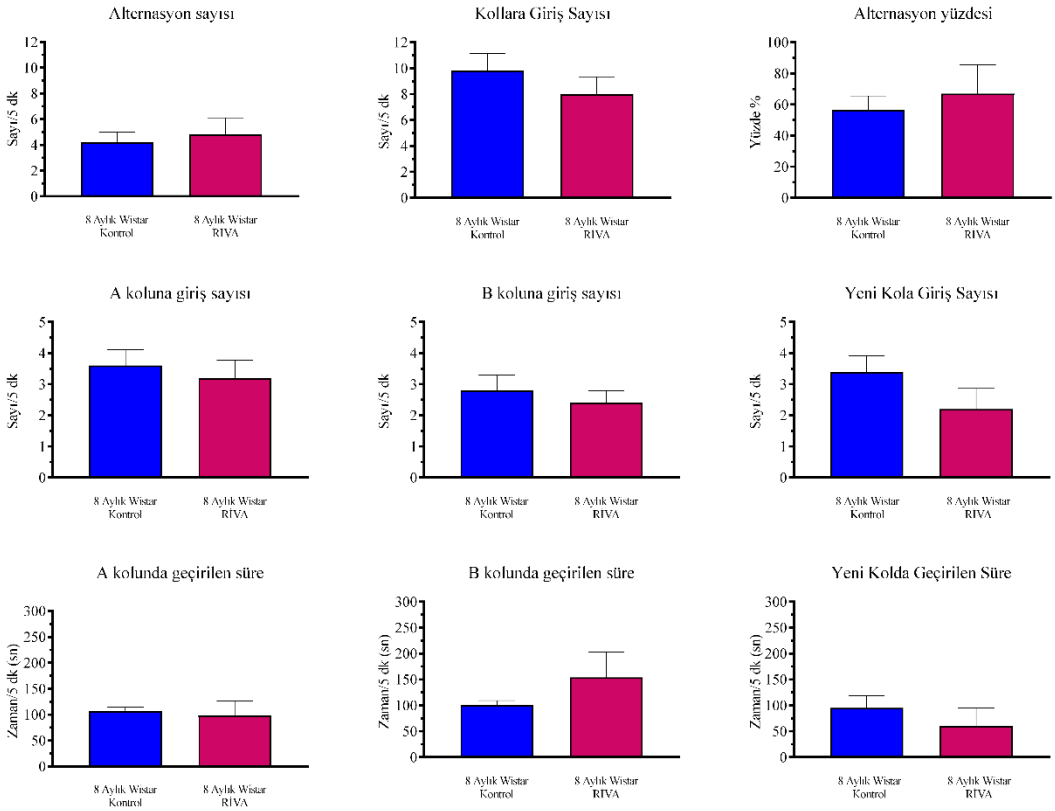


Şekil 4.18. Sekiz aylıkWAG/Rij sıçanlarda Y labirent testi parametrelerine yirmi bir gün 2 mg/kg RİVA uygulanmasının etkisi. *p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001 Sekiz aylık WAG/Rij kontrol grubu ile kıyaslandığında

Sekiz aylık Wistar sıçanlarda yirmi bir gün 2 mg/kg RİVA uygulamasının 24 saat sonrasında Y labirent testi parametreleri elde edilerek bu parametreler kendi kontrol grupları arasında değerlendirildi. RİVA grubu ile Wistar kontrol grubu karşılaştırıldığında; RİVA uygulanması hiçbir Y labirent testi parametresini değiştirmedi (p>0,05) (Tablo 4.2.) (Şekil 4.19.).

Tablo 4.2. Sekiz aylıkWistar sıçanlarda Y labirent parametrelerine göre ortalama± SEM değerleri.

8 Aylık Wistar Kontrol-RİVA		Ortalama ± SEM	p
Alternasyon Sayısı	8 Aylık Wistar Kontrol	4,20 ± 0,80	p >0,05
	8 Aylık Wistar RİVA	4,80 ± 1,32	
Toplam Kollara Giriş Sayısı	8 Aylık Wistar Kontrol	9,80 ± 1,32	p >0,05
	8 Aylık Wistar RİVA	8,00 ± 1,34	
Alternasyon Yüzdesi	8 Aylık Wistar Kontrol	56,33 ± 9,22	p >0,05
	8 Aylık Wistar RİVA	66,98 ± 18,55	
A koluna Giriş Sayısı	8 Aylık Wistar Kontrol	3,60 ± 0,51	p >0,05
	8 Aylık Wistar RİVA	3,20 ± 0,58	
B Koluna Giriş Sayısı	8 Aylık Wistar Kontrol	2,80 ± 0,49	p >0,05
	8 Aylık Wistar RİVA	2,40 ± 0,40	
Yeni Kola (C) Giriş Sayısı	8 Aylık Wistar Kontrol	3,40 ± 0,51	p >0,05
	8 Aylık Wistar RİVA	2,20 ± 0,66	
A Kolunda Geçirilen Süre	8 Aylık Wistar Kontrol	107,00 ± 7,98	p >0,05
	8 Aylık Wistar RİVA	97,80 ± 29,10	
B Kolunda Geçirilen Süre	8 Aylık Wistar Kontrol	100,60 ± 8,89	p >0,05
	8 Aylık Wistar RİVA	154,20 ± 48,90	
Yeni Kolda (C) Geçirilen Süre	8 Aylık Wistar Kontrol	95,20 ± 23,16	p >0,05
	8 Aylık Wistar RİVA	60,00 ± 35,35	

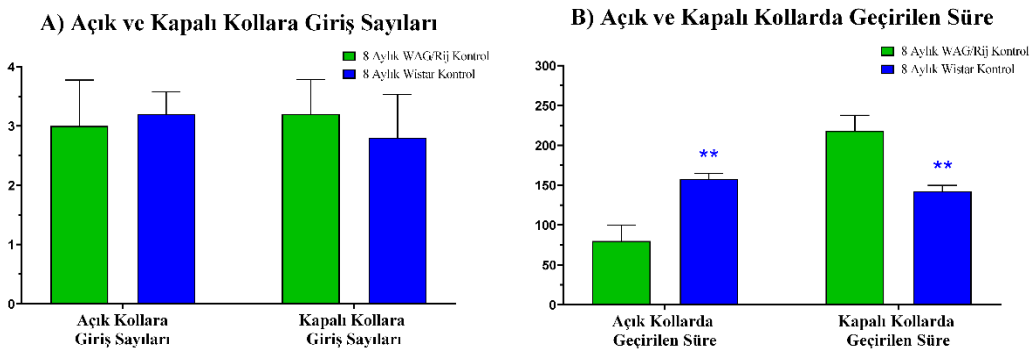


Şekil 4.19. Sekiz aylıkWistar sıçanlarda Y labirent testi parametrelerine yirmi bir gün 2 mg/kg RİVA uygulanmasının etkisi.

4.2.2. Yükseltilmiş artı testi

Yükseltilmiş artı testi doğal ve şartsız anksiyete oluşturmada en sık tercih edilen anksiyete testidir. Y labirent testi gibi çeşitli parametrelere sahiptir. Bu testte açık ve kapalı kollara giriş sayıları ve sürelerine bakıldı. Sekiz aylıkWAG/Rij ve Wistar sıçanlarda yirmi bir gün 2 mg/kg RİVA uygulamasının kendi kontrol grupları arasındaki değişimlere bakılırken; ayrıca birbirleri arasındaki farklılıklar da değerlendirildi.

Yükseltilmiş labirent testinin ana prensibi yüksekte olması, ışıklı ve ışıksız alanları bulundurmasıyla deney hayvanlarında anksiyeteyi bir miktar tetiklemektir. Literatüre uyumlu olarak (Kliueva Iu et al., 1999), sağlıklı Wistar sıçanların açık kolda kalma süresi WAG/Rij sıçanlarınkine oranla istatistiksel olarak daha fazla bulundu ($p<0,01$), sırasıyla 80,00 ± 20,04; 157,60 ± 7,33 sn . Ancak, açık ve kapalı kollara giriş sayıları arasında anlamlı bir fark yoktu ($p>0.05$) (Şekil 4.20.).



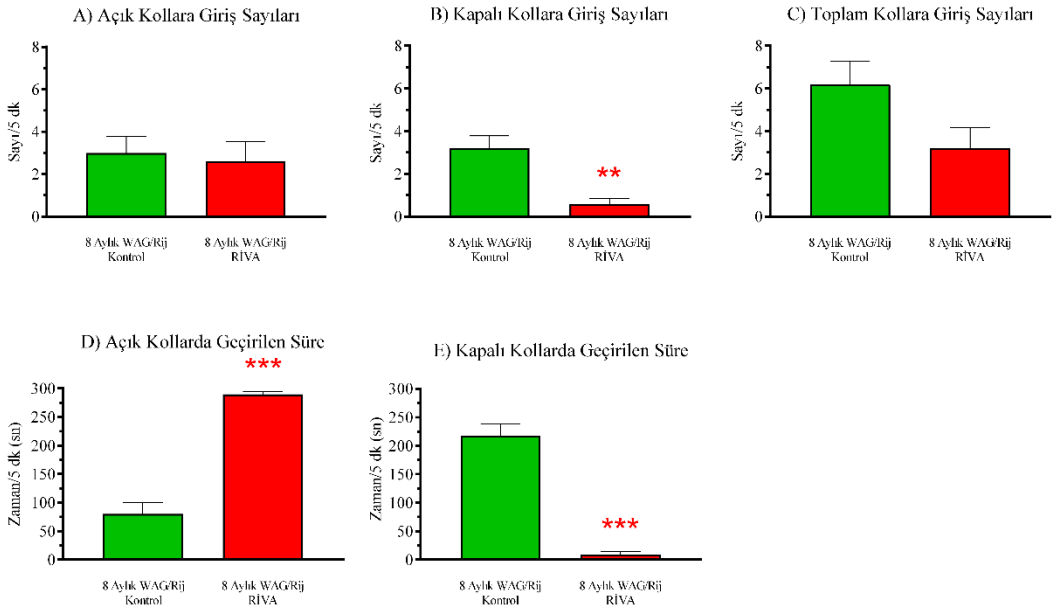
Şekil 4.20. Yükseltilmiş artı testte WAG/Rij ve Wistar Sıçanların Kontrıol gruplarının açık ve kapalı kolda bulunması. **p<0,01 Sekiz aylıkWAG/Rij ile kıyaslandığında.

Yirmi bir günlük RİVA uygulamasının WAG/Rij sıçanların kontrol grubuna göre yükseltilmiş artı labirent testi parametrelerine etkisi aşağıdaki gibidir:

- Açık kollara girme sayıları istatistiksel olarak anlamlı düzeyde değişmedi ($p>0,05$),
- Kapalı kollara giriş sayıları azaldı ($p<0,01$)
- Toplam kollara girme sayıları istatistiksel olarak anlamlı düzeyde değişmedi ($p>0,05$)
- Açık kolda kalma süreleri arttı ($p<0,001$)
- Kapalı kolda kalma süreleri ise azaldı ($p<0,001$) (Tablo 4.3.) (Şekil 4.21.).

Tablo 4.3. Sekiz aylıkWAG/Rij sıçanların yirmi bir günlük 2 mg/kg RİVA uygulanmasıyla birlikte kontrol grubuna göre yükseltilmiş artı test parametrelerindeki ortalama ± SEM değerleri. **p<0,01 Sekiz aylıkWAG/Rij kontrol grubu ile kıyaslandığında

8 Aylık WAG/Rij Kontrol-RİVA		Ortalama ± SEM	p
Açık Kollara Giriş Sayıları	8 Aylık WAG/Rij Kontrol	3,30 ± 0,77	p >0,05
	8 Aylık WAG/Rij RİVA	2,60 ± 0,92	
Kapalı Kollara Giriş Sayıları	8 Aylık WAG/Rij Kontrol	3,20 ± 0,58	**
	8 Aylık WAG/Rij RİVA	0,60 ± 0,24	
Toplam Kollara Giriş Sayıları	8 Aylık WAG/Rij Kontrol	6,20 ± 1,06	p >0,05
	8 Aylık WAG/Rij RİVA	3,20 ± 0,97	
Açık Kollarda Geçirilen Süre	8 Aylık WAG/Rij Kontrol	80,00 ± 20,04	***
	8 Aylık WAG/Rij RİVA	289,60 ± 4,41	
Kapalı Kollarda Geçirilen Süre	8 Aylık WAG/Rij Kontrol	218,00 ± 19,69	***
	8 Aylık WAG/Rij RİVA	9,40 ± 4,37	



Şekil 4.21. Sekiz aylıkWAG/Rij sıçanların yirmi bir günlük 2 mg/kg RİVA uygulanmasının kendi kendi kontrolüne göre yükseltilmiş artı labirent testi parametrelerinin değerlendirilmesi. **p<0,01, ***p<0,001 Sekiz aylıkWAG/Rij kontrol grubu ile kıyaslandığında

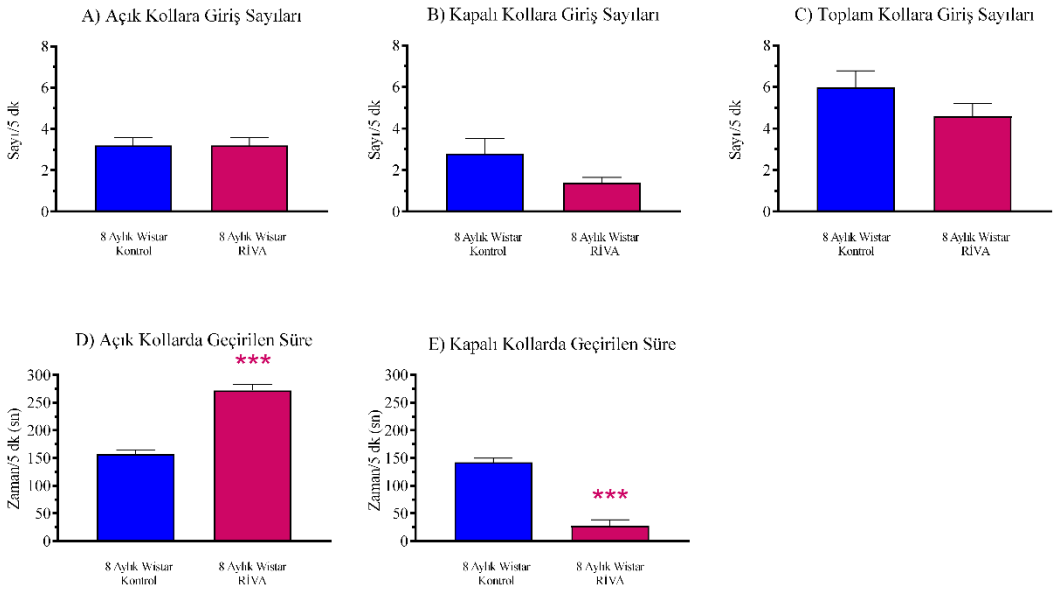
Yirmi bir günlük RİVA uygulamasının Wistar sıçanların kontrol grubuna göre yükseltilmiş artı labirent testi parametrelerine etkisi aşağıdaki gibidir:

- Açık kolda girme sayıları istatistiksel düzeyde değişmedi (p>0,05),

- Kapalı kolda girme sayıları istatistiksel düzeyde değişmedi (p>0,05),
- Toplam kollara girme sayıları istatistiksel olarak anlamlı düzeyde değişmedi (p>0,05)
- Açık kolda kalma süreleri arttı (p<0,001)
- Kapalı kolda kalma süreleri ise azaldı (p<0,001) (Tablo 4.4.) (Şekil 4.22.).

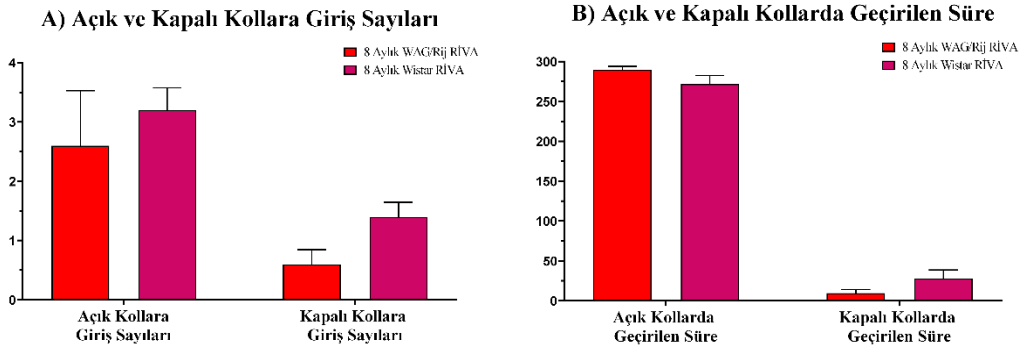
Tablo 4.4. Sekiz aylıkWistar sıçanların yirmi bir günlük 2 mg/kg RİVA uygulanmasında kontrole göre yükseltilmiş artı test parametrelerindeki ortalama ± SEM değerleri. **p<0,01 Sekiz aylık Wistar kontrol grubu ile kıyaslandığında

8 Aylık Wistar Kontrol-RİVA		Ortalama ± SEM	p
Açık Kollara Giriş Sayıları	8 Aylık Wistar Kontrol	3,20 ± 0,37	p >0,05
	8 Aylık Wistar RİVA	3,20 ± 0,37	
Kapalı Kollara Giriş Sayıları	8 Aylık Wistar Kontrol	2,80 ± 0,73	p >0,05
	8 Aylık Wistar RİVA	1,40 ± 0,24	
Toplam Kollara Giriş Sayıları	8 Aylık Wistar Kontrol	6,00 ± 0,77	p >0,05
	8 Aylık Wistar RİVA	4,60 ± 0,60	
Açık Kollarda Geçirilen Süre	8 Aylık Wistar Kontrol	157,60 ± 7,33	***
	8 Aylık Wistar RİVA	272,00 ± 10,51	
Kapalı Kollarda Geçirilen Süre	8 Aylık Wistar Kontrol	142,40 ± 7,33	***
	8 Aylık Wistar RİVA	28,00 ± 10,51	



Şekil 4.22. Sekiz aylık Wistar sıçanların yirmi bir günlük 2 mg/kg RİVA uygulanmasının kendi kontrolüne göre yükseltilmiş artı labirent testi parametrelerinin değerlendirilmesi. **p<0,01 Sekiz aylık Wistar kontrol grubu ile kıyaslandığında

Yirmi bir gün RİVA uygulanması sonrası Sekiz aylıkWAG/Rij ve Wistar RİVA grupları kıyaslandığında iki sıçan grubu arasında yükseltilmiş artı labirent testi parametreleri açısından (Sekiz aylıkWAG/Rij ve Wistar RİVA kontrol grupları arasında süre açısından fark olmasına rağmen) anlamlı bir fark yoktu (p>0,05) (Şekil 4.23.).



Şekil 4.23. Yükseltilmiş artı testte WAG/Rij ve Wistar Sıçanların RİVA gruplarının açık ve kapalı alan testleri.

4.3. Kantitatif Real Time-PCR Analizi Bulguları

4.3.1.1. Total RNA kalitesi: saflık seviyesi ve miktarı

Bu çalışmada, WAG/Rij ve Wistar sıçan beyininin sağ somatosensoriyel korteks ve hipokampusunden alınan total RNA miktarı, RNA'nın A260/A280 değerleri oranı 0,8 ile 1,2 arasında değişirken, A260/A230 oranı 1,90'ın üzerinde bulunmuştur. Bu da organik hem son basamakta tamamen uçurulması gereken alkol içeriği ve protein kontaminasyonu içermediğini gösterir. Toplam RNA konsantrasyonu 1120 ng/µL ile 2000 ng/µL arasındaydı ve bu değer aralığı cDNA şablonlarında ifadesi için yeterli ve olması gerekli aralık olarak kabul edilmiştir. Örnek Nanodrop RNA kalitesi okuma Şekil 4.24.'deki gibidir.



Şekil 4.24. Örnek Nanodrop RNA Kalitesi Okuma Sonucu

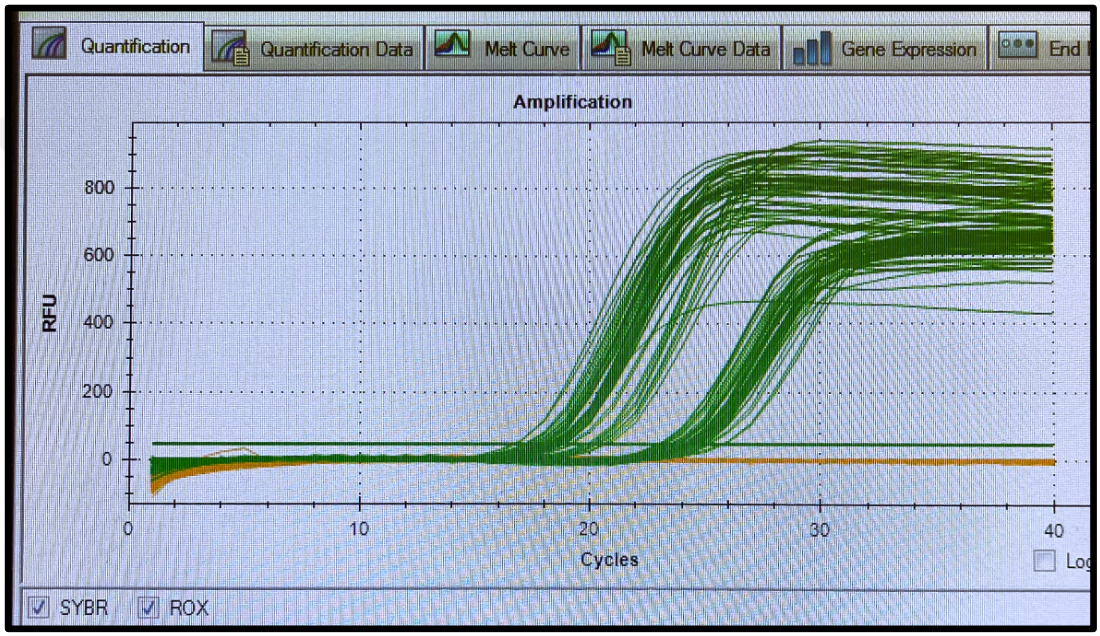
4.3.1.2. Primer özgüllüğü ve etkinliği

Bu çalışmada kullanılan her primerin tüm PCR amplifikasyonu, erime eğrisi analizlerinde tek bir tepe noktasının varlığıyla daha önceden doğrulanmıştır. Potansiyel referans genin ilk taraması, bu genin WAG/Rij ve Wistar sıçan beyin sağ hemisfer somatosensoriyel korteks ve hipokampusunde eksprese edildiğini göstermiştir. Aday gen için primer verimliliği formül (E) kullanılarak bir kalibratör cDNA örneğinin 5 kat cDNA seyreltmelerinde floresan ölçülürken elde edilen eğim kullanılarak hesaplanmıştır.

Formül: E=101/- slope-1

4.3.1.3. ΔCT method

Sunulan çalışmada kullanılan SYBR Green I boyalar ile mevcut DNA miktarınının tamamındaki çift sarmalı boyayarak florasan ışık yayma prensibi ile uygun ışık dalga boylarını sonuç olarak sundu (Şekil 4.25.). Sonuçlar Real-Time PCR cihazında okunan floresanın miktarı da eş zamanlı olarak artarak Cq veya Ct sonuçları ortaya koymuştur.



Şekil 4.25. Erime Sıcaklığı Eğrileri (Melting Curve) Örneği

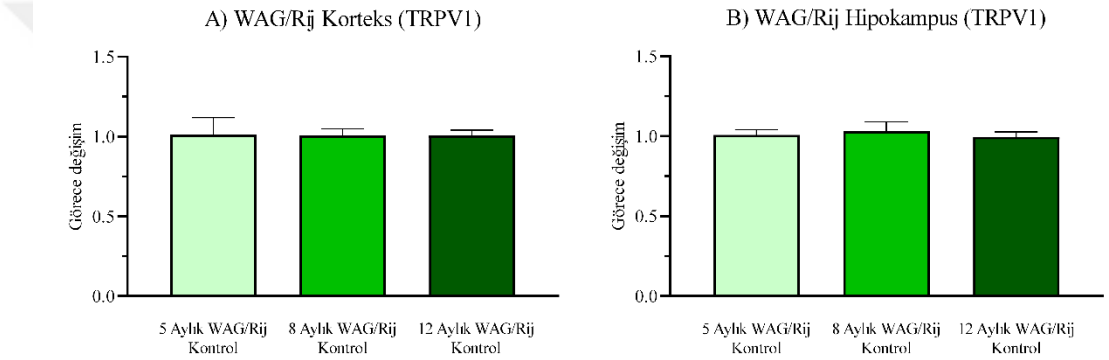
4.3.2. Uzun süreli yüksek doz RİVA uygulanmasının TRPV1 kanal ekspresyonuna olan etkisi

2 mg/kg RİVA hem yaşa hem de türe göre toplamda dört farklı gruba ayrılarak her grubun kendi çözücü grubu olacak şekilde uygulama gerçekleştirildikten 22 gün sonra (yirmi birinci enjeksiyondan 24 saat sonra davranış testleri sonrasında) her bir hayvandan alınan perfüze edilmiş sağ hemisfere ait somatosensensoriyel korteks ve hipokampusteki göreceli TRPV1 mRNA ekspresyonu seviyelerine göre ölçümleri hesaplanarak analiz edildi.

4.3.2.1. Genç, orta yaşlı ve yaşlı WAG/Rij sıçanlarda TRPV1 kanal ekspresyonu seviyeleri

Beş, sekiz ve On ikiaylık yaş gruplarının WAG/Rij sıçanların kontrol gruplarından alınan sağ hemisfere ait somatosensoriyel korteks ve hipokampus dokularındaki rölatif TRPV1 seviyeleri açısından mRNA ekspresyon seviyelerinde istatistiksel olarak bir fark bulunmadı ($p>0,05$) (Şekil 4.26.).

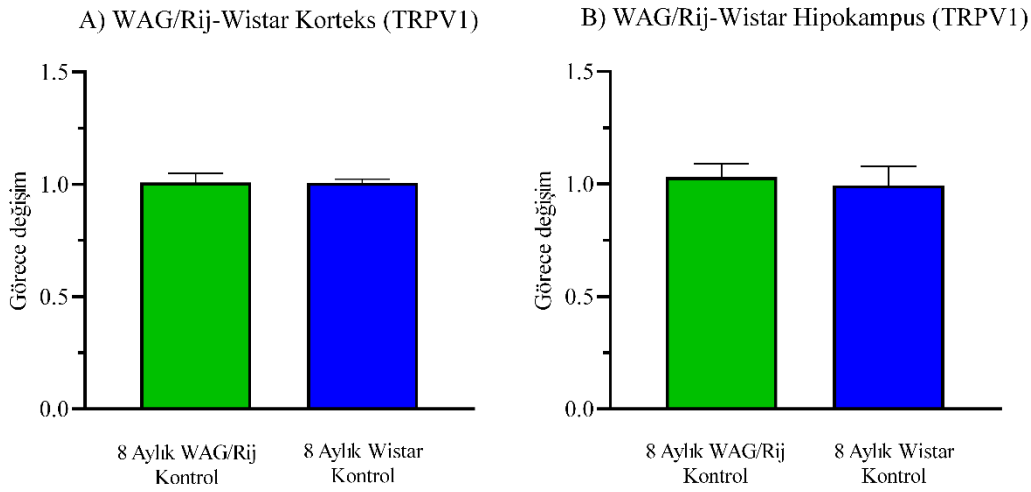
$2^{(-\Delta\Delta Ct)}$ değerlerine göre ortalama ± SD'leri beş; sekiz ve On iki aylık sıçanlar için somatosensoriyel kortekste sırasıyla 1,011 ± 0,107; 1,008 ± 0,039; 1,008 ± 0,033 iken, hipokampusta 1,008 ± 0,032; 1,031 ± 0,059; 0,995 ± 0,032 olarak hesaplandı.



Şekil 4.26. Beş, sekiz ve On iki aylık WAG/Rij kontrol grubu (Yirmi bir gün SF; i.p.) sıçanların qPCR sonuçlarında elde edilen verile göre hesaplanan $2^{(-\Delta\Delta Ct)}$ değerleri (A) Somatosensoriyel korteks (B) Hipokampus. Ortalama ± SD

4.3.2.1. Orta yaşlı WAG/Rij ve Wistar sıçanlarda TRPV1 kanal ekspresyonu seviyeleri

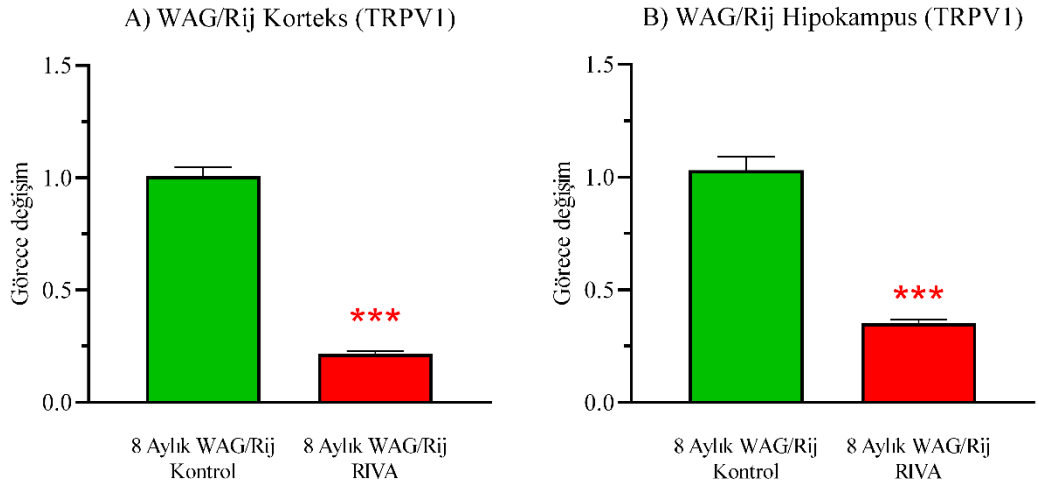
Sekiz aylıkWAG/Rij ve Wistar sıçanların kortikal ve hipokampal TRPV1 ekspresyon seviyeleri kıyaslandığında iki grup arasında anlamlı bir fark yoktu ($p>0,05$). Sekiz aylıkWAG/Rij ve Wistar sıçanların sağ somatosensoriyel korteksinde TRPV1 ekspresyon seviyeleri sırasıyla 1,008 ± 0,039 ve 1,007 ± 0,016; hipokampuslarında ise sırasıyla 1,031 ± 0,059 ve 0,994 ± 0,084 olarak hesaplandı (Şekil 4.27.).



Şekil 4.27. Sekiz aylıkWAG/Rij ve Wistar sıçanların kontrol gruplarının TRPV1 ekspresyonları ($2^{(-\Delta\Delta Ct)}$). Tüm sıçanlara yirmi bir gün boyunca SF (i.p.) uygulandı. (A) somatosensoriyel korteks, (B) hipokampus. Ortalama ± SD.

4.3.2.2. Uzun süreli RİVA uygulamasının WAG/Rij sıçanlarda TRPV1 kanal ekspresyonu seviyelerine etkisi

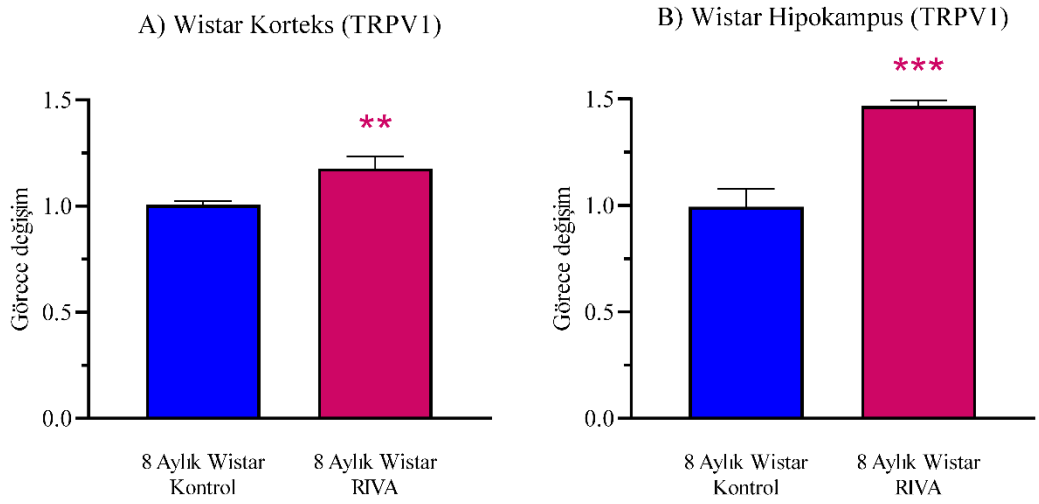
Beş, sekiz ve On iki aylık WAG/Rij sıçanların TRPV1 gen seviyelerinde anlamlı bir farklılık olmadığı için RİVA yirmi bir gün boyunca sadece Sekiz aylıkWAG/Rij sıçanlarına uygulandı. RİVA uygulanmasıyla birlikte, hem somatosensoriyel korteks hem de hipokampusta rölatif TRPV1 seviyelerinin kontrol grubuna göre azaldığı saptandı (*p<0,001; **p<0,001). $2^{(-\Delta\Delta Ct)}$ değerleri somatosensoriyel kortekste; kontrol grubu 1,008 ± 0,039; RİVA grubu 0,217 ± 0,010 iken, hipokampusta kontrol grubu 1,031 ± 0,059; RİVA grubu 0,351 ± 0,017 olarak hesaplandı (Şekil 4.28.). Ortalama ± SD.



Şekil 4.28. qPCR sonuçlarında elde edilen verile göre WAG/Rij sıçanlardan hesaplanan $2^{(-\Delta\Delta Ct)}$ değerleri. Kontrol grubuna yirmi bir gün boyunca SF (i.p.), RİVA grubuna yirmi bir gün boyunca 2 mg/kg RİVA (i.p.) uygulandı. (A) korteks, ve (B) hipokampus. ***p<0,001 Sekiz aylıkWAG/Rij kontrol grubu ile kıyaslandığında. Ortalama ± SD.

4.3.2.3. Uzun süreli RİVA uygulamasının Wistar sıçanlarda TRPV1 kanal ekspresyonu seviyelerine etkisi

Absans epilepsili WAG/Rij sıçanlara eş yaştaki sağlıklı olan Sekiz aylıkWistar sıçanlarda RİVA 2 mg/kg dozu i.p. olarak yirmi bir gün boyunca günde 1 kez uygulandı. TRPV1 seviyesi kendi kontrol grubu arasında hem somatosensoriyel korteks hem de hipokampusta daha fazla eksprese edildiği saptandı (sırasıyla **p<0,01; ***p<0,001). $2^{(-\Delta\Delta Ct)}$ değerleri somatosensoriyel kortekste; kontrol grubu 1,007 ± 0,016; RİVA grubunda 1,178 ± 0,057 iken, hipokampusta kontrol grubu 0,994 ± 0,084; RİVA grubu 1,468 ± 0,025 olarak hesaplandı (Şekil 4.29.).



Şekil 4.29. qPCR sonuçlarında elde edilen verile göre Wistar sıçanlardan hesaplanan $2^{(-\Delta\Delta Ct)}$ değerleri. Kontrol grubuna yirmi bir gün boyunca SF (i.p.), RİVA grubuna yirmi bir gün boyunca 2 mg/kg RİVA (i.p.) uygulandı. (A) korteks, ve (B) hipokampus. **p<0,01; ***p<0,001 Sekiz aylıkWistar kontrol grubu ile kıyaslandığında. Ortalama ± SD.

5. TARTIŞMA

Absans epilepsi agresif olmayan bir epilepsi türüdür (V. Crunelli & N. Leresche, 2002). Buna rağmen absans epilepsi ve ona eşlik eden dikkat ve öğrenme bozukluğu, hafıza sorunu, depresyon ve anksiyete gibi hastalıklar da hayat kalitesi iyice düşürebilmektedir (Xu et al., 2022). Özellikle çocuklarda ergenlik döneminde tamamen iyileşme görülse de hastalık boyunca kullanılan ilaçlar çoğunlukla epileptik nöbet semptomları gidermekle sınırlı kalmaktadır. Dahası mevcut ilaçlar epilepsiyle birlikte seyredebilen hastalıklara karşı tedavi edici olmayabilir ya da bu hastalıkları olumsuz etkileyebilir (Shafaghi et al., 2022; Xuan et al., 2015).

Bu çalışmada absans epilepsili insanlardaki gibi elektrofizyolojik kayıtta DDD'lere sahip ve depresyon, hafıza sorunu gibi komorbiteleri de mimik edebilen genetik absans epilepsili WAG/Rij sıçanlar kullanılmıştır (Sarkisova & van Luijtelaar, 2011). Hastalık görülen grubunun sağlıklı kontrolü olarak WAG/Rij sıçanların köken aldığı Wistar sıçanlar kullanıldı . RİVA klinikte absans epilepsiye de eşlik eden ve demans hastalığının semptomları olan öğrenme-hafıza ve bilişsel bozuklukların tedavisinde kullanılan bir ilaçtır (Rösler et al., 1998). Literatürde RİVA'nın epilepsi üzerine etkisini gösteren bir çalışma bulunmamaktadır.

Sunulan çalışmada ilk kez RİVA'nın genetik absans epilepsili sıçanlarda görülen DDD'lere akut ve uzun dönem etkisi elektrofizyolojik yöntemle saptandı. Etki görüldükten sonra bu etkinin olası mekanizmasını aydınlatmak amacıyla absans epilepsinin öngörülen mekanizmasında önemli olan T-tipi kalsiyum kanalının rol alıp almadığı elektrofizyolojik olarak incelendi. Üçüncü olarak RİVA'nın kalsiyumla ilişkili olan TRPV1 gen ekspresyonunda değişiklik yapıp yapmadığı–moleküler tekniklerle araştırıldı. Dördüncü olarak RİVA'nın absans epilepsili ve sağlıklı sıçanlardaki öğrenme-hafıza ve anksiyete durumları davranış testleriyle değerlendirildi.

5.1. Kısa Dönem ve Uzun Dönem Uygulanan RİVA'nın DDD Parametrelerine Etkisi

Epileptik nöbetleri meydana getiren temel etmenin nöronal hipereksitabilitenin sebebi uyarıcı glutamaterjik iletim ve inhibitör GABA iletim arasındaki dengesizlik

olduğu düşünülmektedir (Wang & Chen, 2019). Bu olağan teoriye dayanarak, mevcut AEİ'ler geliştirilmiştir . Ancak bu ilaçlar epilepsiye karşı dirence neden olabilmektedir (Y. Wang et al., 2021). Kolinerjik sinyalin nöral uyarılabilirlik ve epilepsinin modülasyonunda çok önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (Y. Wang et al., 2021). Ancak literatürde kolinerjik sistemin epileptik nöbetler üzerine etkisi heterojendir. Bu çelişkinin nedenlerinden biri de epilepsiye eşlik eden farklı bir patolojik durum söz konusu olduğunda ilaca yanıtın değişebilmesidir. RİVA sinaptik aralıkta asetilkolini hidroliz eden enzimi bloklayan bir inhibitörüdür (Birks & Evans, 2015).

Absans epilepsi tanısı elektrofizyolojik kayıtlar ile netleştirilmektedir (Berman et al., 2010). EEG veya ECoG'da absans epilepsi nöbeti DDD bazal beyin aktivitesinde ayırt edilebilir frekanstadır (Sinclair & Unwala, 2007). Literatüre bakılarak absans epilepsili WAG/Rij sıçanlardaki DDD üzerine etkisi araştırılacak olan RİVA dozu tespit edildi (Ismail et al., 2013; Scali et al., 2002). Sekiz aylık WAG/Rij sıçanlara i.p. olarak 0,125; 0,25; 0,5; 1 ve 2 mg/kg RİVA dozları uygulandı. Sonuç olarak, RİVA'nın 0,125 mg/kg dozu hariç diğer dozlar DDD'ler üzerine doz bağımlı şekilde istatistiksel olarak anlamlı düşüş sağladı. Özellikle RİVA'nın 2 mg/kg dozu enjeksiyon sonrası kayıt boyunca neredeyse tüm DDD'leri sildi. Nöbet süresi ise yalnızca 1 ve 2 mg/kg RİVA dozunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldı. Nöronal eksitabilite ve aksiyon potansiyeli oluşumunda T-tipi kalsiyum kanallarının rolü olduğu düşünülmektedir (Yucai Chen et al., 2014). Absans epilepsi nöbetlerinin oluşumda etkin rol oynayan talamik nöronlarda T-tipi kalsiyum kanallarının kanalların fazla sayıda eksprese edildiği bilinmektedir (Llinas & Yarom, 1981; Talley et al., 2000). Bu kanallar talamokortikal ağda kendi kendine yayılan DDD'lere neden olabilen kapalı bir devre oluşturur. Bu da T-tipi kalsiyum kanallarını absans epilepsi tedavisinde temel hedeflerden biri haline getirmektedir (Yucai Chen et al., 2014). Bu çalışmanın bir ileri aşamasında RİVA'nın da DDD'ler üzerine gösterdiği etkide T-tipi kalsiyum kanallarının rolü elektrofizyolojik olarak araştırıldı. Laboratuvarımızda daha önce yapılan bir çalışmada WAG/Rij sıçanlarda T-tipi kalsiyum kanal blokorü NNC'nin etkili ve etkisiz dozları sırasıyla 20 µgr (i.s.v.) ve 5 µgr (i.s.v.) olarak tespit edilmiştir (Tiryaki, 2021). Sunulan çalışmada ise RİVA (0,125 mg/kg) ve NNC'nin (5 µgr) etkisiz dozlarının etkileşim çalışması yapıldı. NNC'nin ve RİVA'nın etkili dozları arasında etkileşim çalışması RİVA'nın tüm DDD'leri silmesi nedeniyle

yapılmadı. 0,125 mg/kg RİVA i.p. ile 5 µgr i.s.v etkileşimi kontrol grubuna ve bazal kayda göre DDD'leri istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşürdü. Bu da RİVA'nın T-tipi kanalları üzerinden etki gösterebileceğini düşündürmektedir.

Epilepsi kronik bir hastalıktır. İlaçların akut etkisinden çok uzun dönem kullanılabilmesi epileptik hastalar için önemlidir. İlaçlar uzun dönemde toksik etki gösterebilir ya da etki ettiği alanda olumsuz değişikliklere sebep olabilir (Xuan et al., 2015). Örneğin reseptörlerde up-regülasyon ya da down-regülasyona neden olabilir. Bu nedenle Sekiz aylıkWAG/Rij sıçanlarda akut uygulama sonrası tespit edilen etkili RİVA ara dozu (0,5 mg/kg) ile ölümcül olmayan en etkili RİVA dozu (2 mg/kg) yirmi bir gün boyunca uygulandı. Enjeksiyon-öncesi ve sonrasında 3'er saat olmak üzere toplam 6 saat kayıt alındı. RİVA'nın uzun dönem etkisi daha önceki akut doz çalışma verileriyle kıyaslanarak kontrol edildi. Kontrol grubu ve bazal kayıtlar arasında bir farklılık olmadığı için onuncu ve yirmi birinci gün enjeksiyonlarından 24 saat sonra (On birinci ve Yirmiikinci gün) alınacak kayıtlar her sıçanın kendi bazal kayıta göre değerlendirildi. On birinci ve yirmi ikinci gün sıçanlardan alınan elektrofizyolojik kayıt sonuçları şaşırtıcı şekilde 2 mg/kg RİVA'nın DDD'leri neredeyse %100 artırdığını, süreyi ise hemen hemen yarıya indirdiğini gösterdi. Yapılan çalışmalarda bazı muskarinik asetilkolin reseptörlerinin T-tipi kalsiyum kanallarında inhibisyona neden olduğu gösterilmiştir (Hildebrand et al., 2007). Buradan hareketle, etkisiz doz çalışmamızın sonuçları ile de korele olarak RİVA uygulamasının T-tipi kalsiyum kanallarında blokajına neden olabileceğini söylenebilir. Akut uygulanan etkili doz RİVA'nın DDD'leri tamamen ortadan kaldırması bu blokajın varlığına da işaret etmektedir. Diğer taraftan, uzun süreli etkili doz RİVA uygulandığında nöbetlerin artması bloke edilen T-tipi kalsiyum kanalı ekspresyonunda artış olabileceğini düşündürmektedir. Bilindiği üzere genetik absans epilepsili WAG/Rij ve GAERS sıçanlarda DDD oluşumunun temelinde T-tipi kalsiyum kanal blokerlerinin etkisi yer almaktadır. Sonuç olarak, RİVA akut uygulandığında DDD'leri azaltmakta, uzun dönem uygulandığında ise artırmaktadır. Bu etki, muhtemelen T-tipi kalsiyum kanallarının upregülasyonuna bağlıdır. Ancak bu etki, RİVA'nın uzun dönem kullanımına bağlı bir toksik etki olabileceğini de akla getirmektedir.

5.2. Davranış Testi Sonuçları

Y labirent testi, uzamsal çalışma belleğini ölçen kısa süreli belleğin değerlendirilmesinin yapıldığı testlerden biridir (Kraeuter et al., 2019). Uygulanan bu testte temel prensip kemirgenlerin tanıdık bir kol yerine yeni bir kolu keşfetmeyi tercih etme doğal eğilimi ile onları tekrarlanan denemelerde hedef kol seçimini değiştirmeye teşvik etmesine dayandırılmaktadır. Görev sırasında, denemeler arasında seçimleri başarılı bir şekilde değiştirmek için, bir hayvanın önceki denemede hangi kolun ziyaret edildiğini hatırlaması gerekir, bu da kendiliğinden değişen Y labirentini uzamsal çalışma belleği için en uygun testlerden biri haline getirir. Y labirent test prosedüründe hayvanlar test gününden bir gün önce belirli bir süre boyunca (örneğin 5 dakika) bir kol kapalı ve diğer ikisi açık olarak bir eğitim seansına maruz bırakıldı. Bu alıştırma aşamasından sonra bir yenilik tercih testi gerçekleştirilir. Test oturumunda, üç kolda açıktı ve labirentin serbestçe keşfedilmesine izin verildi. Bahsedildiği gibi sağlıklı hayvanlar, yeni kolu tanıdık bir kola tercih etme eğilimindedir ve yeni kolda geçirilen zaman, kısa süreli uzamsal hafızanın bir indeksi olarak ölçülür (Kraeuter et al., 2019). Deney sonunda A, B, C (yeni kol) kollarına giriş sayısı ve süresiyle birlikte toplam kollara giriş sayısı, alternasyon (ABCABCBA…) sayısı ve yüzdesi parametreleri değerlendirildi. Test sonucuna göre yeni kolu (C) keşfetme sayısı ve süresi ile alternasyon yüzdesindeki olumlu değişim öğrenme-hafıza üzerindeki olumlu etkileri göstermektedir (Kraeuter et al., 2019). yirmi bir günlük deney süresince RİVA uygulanmayan (SF i.p.) sağlıklı Wistar sıçan grubunda bu parametreler kollara giriş sayı ve süreleri hemen hemen aynıyken, yirmi bir gün uygulanan RİVA sonucunda da bu verilerde istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu. Sekiz aylıkWAG/Rij sıçanlara yirmi bir gün RİVA uygulanan grup ile RİVA uygulanmayan grup arasında sıçanların bırakıldığı koldan (A kolundan) diğer kollara (B ve C (yeni kol) kollarına) geçiş sayısı; alternasyon sayısı istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldı. Bırakılan kolda (A kolunda) kalma süresi istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yükseldi. Diğer bir test olan yükseltilmiş labirent test sonuçlarına göre RİVA uygulanmayan kontrol grubundaki WAG/Rij sıçanlarda literatürle uyumlu olacak şekilde depresyon ve anksiyete benzeri davranış gösteridi tespit edildi. Açık-kapalı kola girme değerlendirmesine göre kapalı kola girme sayılarının açık kola girme sayılarından istatistiksel olarak anlamsız iken kapalı alanda kalma süreleri daha uzun ve bu istatistiksel olarak anlamlıydı. Wistar sıçanlarda RİVA uygulanmayan gruptaki sıçanların ise yine literatürle uyumlu ve bu

yaş grubu için iki kola giriş çıkış sayıları ve kollarda kalma süreleri hemen hemen benzer ve istatistiksel olarak anlamsızdı. RİVA uygulanan gruplarda bu parametreler, WAG/Rij sıçanlar için kapalı kola giriş ve kapalı kolda kalış süresi istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldı; Wistar sıçanlarda ise RİVA açık alana giriş sayısını ve bu alanda kalma sürelerini istatistiksel olarak arttırdı. Yani yükseltilmiş artı testin, test sırasında oluşturduğu anlık strese yanıtını RİVA WAG/Rij sıçanlarda prokognitif olarak, Wistar sıçanlarda ise yine olumlu yönde etkiledi. Ancak ne WAG/Rij ne de Wistar sıçanlarda total kollara giriş sayısı değişmedi. Bu da bu test için lokomotor aktivitenin değişmediğini düşündürmektedir.

Epileptik kişilerde görülme sıklığı sağlıklı bireylerinkinden daha fazla olan önemli sorunlardan biri de öğrenme-hafıza güçlüğüdür (Sarkisova & van Luijtelaar, 2011). İşleyen ve uzamsal bellekteki eksikliklerin ve bozulmuş sürekli dikkatin, depresif insanlarda bilişsel eksikliklere işaret ettiğine inanılmaktadır (Sarkisova & van Luijtelaar, 2011). Hafıza bilgileri ilişkilendirmek ve depolamaktır. Hafıza türleri çeşitli sınıflandırmalarla birbirlerinden ayrılabilirken temelde kısa süreli ve uzun süreli bellek olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. (Zlotnik & Vansintjan, 2019). Kısa ve uzun süreli belleği oluşturan bileşenler ile bu ayırımlar daha da netleşebilmektedir. Bu bileşenlerden ikisi de çalışma belleği ve referans bellektir. Çalışma belleği, deneme içi bilgilerle başa çıkma anlamına gelir ve kısa süreli belleğin bir işlevini belirtmek için kullanılmaktadır (Sarkisova & van Luijtelaar, 2011). Referans belleği ise denemeler sırasında bilgi aktarımını ölçmek içindir ve uzun süreli bir bellek değişkeni olarak kabul edilir. Absans epilepsili kişilerde uzun ve kısa süreli hafızada zorluklar; öğrenme problemi sıklıkla rapor edilen bir durumdur (Luo et al., 2011; Talero-Gutiérrez et al., 2015). Bu durum absans epilepsili modellerde de görülebilmektedir. Literatürde de sonucumuzla uyumlu Wistar sıçanların kendi kontrolleri ile karşılaştırıldığında WAG/Rij sıçanların da aktif ve pasif kaçınma testlerinin sonuçları da kısa ve uzun süreli hafıza oluşumundaki eksiklikleri göstermiştir (Citraro et al., 2017; Cryan et al., 2005; Overstreet, 1993; Samotaeva et al., 2012). ACh'nin pre- ve postsinaptik nAChR'ler ve mAChR'ler üzerindeki eylemler yoluyla sinaptik plastisiteyi indükleme kabiliyetinin, stresli olayların hafızası da dahil olmak üzere öğrenme ve hafızayı modüle etmesi muhtemeldir (Freund et al., 1988; Nijholt et al., 2004). Bu nedenle belleğin oluşup, depolanma gibi sürecinde önemli rol oynayan limbik sistem başta olmak üzere merkezi sinir sisteminde artan ACh seviyelerinin, öğrenmeyi ve hafızayı

geliştirdiği bilgisine uzun zamandır inanılıyordu (Huang et al., 2022). Bu bilgi ile AChE inhibe ederek ACh degradasyonunu inhibe etmenin öğrenme güçlüklerini ve hafıza bozukluğunu hafifleteceği umuluyordu ve 1990'lardan beri demansın birincil tedavisinde kullanılan AChE inhibitörleri (AChEI) olmuştur. Ancak ACh'nin herhangi bir devre üzerindeki kesin işlevi, asetilkolin reseptör (AChR)'lerden nikotinik (nAChR) ve muskarinik'lerin (mAChR) AChR'lerin spesifik ekspresyon modelinin yanı sıra hücre dışı alandaki ACh konsantrasyonunun zamansal dinamiklerine de bağlıdır (Hasselmo, 2006). Dahası bilinenin aksine hem klinik hem de preklinik olarak ACh seviyelerini artırmak için ChEI'ler kullanıldığında öğrenme ve hafıza üzerinde olumsuz etkiler gösterdiği de bildirilmiştir (Sona et al., 2012). Yirmi bir gün asetilkolinesteraz inhibitörü olan RİVA'nın absans epilepsili WAG/Rij sıçanlarda da literatürdeki heterojen bilgiye ek bir yanıt olarak kısa süreli hafızayı olumsuz etkilemiştir. Bu durum absans epilepsinin neden olduğu patofizyolojik değişimden kaynaklı olabileceğini ortaya koymaktadır.

Depresyon ve anksiyete dünya çapında her altı kişiden birini etkileyen, kişisel ve ekonomik yüke neden olabilen nöropsikiyatrik hastalıklardır (Kessler et al., 2015). Kesin etiyolojileri bilinmemekle birlikte, bir dizi bulgu, yaşam kalitesini vurgularken bireysel genetik yapı dahil olmak üzere predispozan faktörlerin de depresyon ve anksiyete bozukluklarını hızlandırabileceği düşünülmektedir. Hem depresyon hem de anksiyete tedavilerinde ilaçların hedeflerinden biri de kolinerjik sistemdir (Mineur et al., 2013). Artan asetilkolin seviyesinin anksiyeteyi olumsuz etkilediğini bildiren sayısız çalışma olmasına rağmen aksini gösteren klinik ve preklinik bulgular da mevcuttur. Sarıçiçek ve ark. asetilkolin (ACh) düzeylerinin, aktif depresyonlu hastalarda yükseldiğini ve yüksek kaldığını öne sürdü (Saricicek et al., 2012). Absans epilepsinin ikincil karakteristik özelliği sayılabilen depresyon benzeri nöropsikiyatrik bozukluklara eş anksiyete görülme sıklığı da azımsanmayacak kadar çoktur (Xu et al., 2022). Yine sunulan çalışmada kullanılan absans epilepsi modeli de bunu destekler davranış tesleri sonuçları vermektedir (Kliueva Iu et al., 1999). Farklı çalışmalarda asetilkolin reseptörlerini sınırlayan ilaçların anti-anksiyete etkisi gösterdiği öne sürüldü ve uzun vadede bu reseptörlerin uyarımı gerçekleştiğinde hem kaygıyı hem de ruh halini kötüleştirdiği belirtildi (Mineur et al., 2013). Bu verileri destekleyen bazı çalışmalarda ise demansın meydana getirdiği hafıza problemleri ve anksiyeteye karşı verilen asetilkolinesteraz inhibitörlerinin de bu hastalıkları artırdığı

asetilkolin miktarı nedeniyle direkt olumsuz etkileyeceği öne sürülmüştür (Chen et al., 2011; Cutuli et al., 2008; Zarrindast et al., 2011). Ancak tüm bunların aksini gösteren klinik (Furey & Drevets, 2006) ve preklilnik çalışmalar da mevcuttur (Furey & Drevets, 2006). Hatta anti-kolinesterazlarla yapılan bazı çalışmalar RİVA'nın anksiyete ve benzeri semptomları iyileştirebileceği prokognitif etkiye bile sahip olduğunu açıklamaktadır (Bullock et al., 2001; Papp et al., 2016; Rösler et al., 1998). Sunulan çalışmada, bu çelişkili literatür bilgilerine karşı, absans epilepsili sıçan ve sağlıklı sıçanlarda yaptığımız testlerde oluşturulan anksiyeteye karşı anksiyolitik yanıtı arttırdığını bulduk. Bu şekilde önceki verilerin yanı sıra, mevcut sonuçların depresyon ve anksiyete tedavisinde AChE inibitörleri için bir yer olabileceğine dair ihtiyatlı iyimserlik için zemin sağlanmasına ek bir çalışma gerçekleştirmiş olundu. Asetilkolinin ve anti-asetilkolinesterazların bu çelişkili etkilerinin sebeplerinden biri olan hastalıklara eşlik edebilen, (özellikle de beyinde değişime veya hasara neden olan) diğer hastalıkların ilaçlara olan yanıtı değiştirebilmesinden kaynaklı da olabilir (Epps & Weinshenker, 2013; Picciotto et al., 2012). Yükseltilmiş artı testinde, sıçan ya da fareler açık alan testinde olduğu gibi merkez bölgeye konulur. Merkez bölge iki açık iki kapalı kolun kesiştiği bölgedir. Kafesinden alınan denekte yeni çevre ve yükseklik anksiyeteye yol açar (Arantes et al, 2013). Artan anksiteye bağlı olarak kapalı kolda geçen süre, kapalı kola girme sayısı, kapalı kolda geçen sürenin yüzdesi artar. Anksiyetenin azalmasına bağlı olarak da açık kolda geçen süre ve açık kola girme sayısı artar. Açık kollarda ve merkez meydanda harcanan süre ne kadar kısaysa, risk değerlendirmelerinin sayısı o kadar fazla, kaygı o kadar yüksek ve bunun tersi de geçerlidir (Sarkisova & Kulikov, 2006). Açık ve kapalı kollara girişlerin toplam sayısı genellikle testte lokomotor aktivite indeksi olarak kullanılır (Cruz et al., 1994). Araştırmalara göre zaten mevcut olan anksiyete durumuna yatkınlık WAG/Rij sıçanlarda yaşla birlikte de artarken; Wistar sıçanlarda ise yaşla birlikte oluşabilmektedir (Malyshev et al., 2014; Sarkisova & Kulikov, 2006). Hafıza testine olumsuz yansıyan RİVA uygulaması şaşırtıcı şekilde prokognitif etkisini absans epilepsili WAG/rij sıçanlarda da göstermiş hatta sağlıklı Wistar RİVA gruplarında ankyiteye karşı neredeyse nötr yanıtını da güçlendirmiştir. Absans nöbetler sırasında WAG/Rij sıçanlarda konvülsif nöbetler görülmediği için elektrofizyolojik olarak anlaşılabilirken alınan ECoG'da görülen nöbetle uyumlu nöbet sırasında çoğunlukla hareketsiz, yüz kaslarının ritmik seğirmesi eşlik eder (Peeters et al., 1990).

Elektrofizyolojik kayıtlardaki DDD'lerin sona ermesiyle eş zamanlı olarak, hayvan davranışına geri dönmekte ve boyun kas tonusu eski haline dönmektedir. Yapılan yükseltilmiş artı testinde de açık-kapalı kollara giriş-çıkış sayılarıda istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmasa bile bulunmaya yöneldiği kolda (kapalı kolda) istatistiksel olarak anlamlı derecede uzun kalmaları, kontrol grupların da test sırasında geçirebileceği nöbet kaynaklı olabileceğini düşündürttü.

Sonuç olarak absans epilepsili sıçanlarda demansın etkilerini hafifletici ve prokognitif olduğu belirtilen RİVA'nın (Darreh-Shori & Jelic, 2010) uzun dönem uygulandığında absans epilepsili sıçanlarda öğrenme-bellek problemine sebep olabileceği (elektrofizyolojik sonuçlara göre aşırı derecede artan DDD'lere bağlı olarak) ve bırakılan alanda kalma süresinin de absans nöbetleri sırasında meydana gelebilecek tutulmadan kaynaklı olabileceği söyleyebilirken. Ancak, RİVA anksiyeteye karşı hem hasta hem de sağlıklı gruplarda prokognitif etki göstermiştir. Bu sonuç, WAG/Rij nöbetlerini meydana getiren beyin bölgelerinde hafıza ve öğrenme ile ilgili kısımların benzer mekanizmalarla etki ve ilaç yanıtı oluşturabileceği ancak anksiyeteyle farklı olduğunu gösterebilir.

5.3. Kantitatif Real Time-PCR Analizi Sonuçları

Birçok deneysel epilepsi modelinde nöbetlerin başlangıcı, sinir hücrelerine kalsiyum iyonlarının akışı (Meyer et al., 1990) ve ekstrasellüler kalsiyum konsantrasyonunda azalmaya eşlik etmektedir (Khanna et al., 2000). Nöron içine özellikle T-tipi kalsiyum kanallarındaki aşırı kalsiyum girişine bağlı absans nöbetlerin görüldüğü bildirilmiştir (Noebels, 2012). TRPV1 kanalları birçok nöron gibi beyinde epilepsiyi meydana getiren beyin bölgelerinde çok fazla eksprese edilen seçici olmayan kalsiyum kanallarıdır. Bu kanalın en önemli işlevi hücreleri aşırı kalsiyum yüklenmesine karşı koruyan Ca^{2+} bağımlı duyarsızlaştırmadır (Mandadi et al., 2004). Absans epilepsili WAG/Rij ve Wistar sıçanlarda TRPV1 ekspresyonu değişiminin 2 ve altı ayla sınırlı olduğu bir çalışmaya göre WAG/Rij sıçanlarda TRPV1 ekspresyonu yaşla birlikte artmıştır (Talebi et al., 2022). Sunulan çalışmada ise TRPV1 gen ekspresyon seviyesine beş, sekiz ve on iki aylık WAG/Rij sıçanlarda bakıldı. Yukarıdaki çalışmanın aksine bu yaş aralıklarında TRPV1 ekspresyon seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmedi. Bu nedenle yalnızca Sekiz aylıkWAG/Rij ve eş yaşta Wistar sıçanlara RİVA uygulamasının TRPV1 kanalları

ekspresyonu üzerindeki etkileri değerlendirilmeye alındı. Sekiz aylık WAG/Rij ve Wistar sıçanların kontrol grupları arasında da TRPV1 gen ekspresyonu seviyesi açısından istatistiksel olarak farklılık bulunamadı. RİVA uygulaması sonucunda ise WAG/Rij sıçanlarda artan DDD'lere paralel kalsiyum homeostazının bozulduğu varsayılırsa beklenildiği gibi kalsiyum modülatörü TRPV1 gen seviyesi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldı. Wistar sıçanlarda ise TRPV1 seviyesi istatistiksel olarak arttı, bu da homeostatik dengenin değiştiği şeklinde yorumlanabilir ancak mevcut literatür desteği ile bu sonucu açıklayabileceğimiz başka veri bulunmamaktadır.

Bu çalışmanın sınırlılıkları; 1) RİVA'nın T-tipi kalsiyum kanallarının gen ekspresyonu seviyesinde değişip değiştirilmediğine bakılmamıştır. Ancak, dolaylı olarak etkileşim yoluyla değerlendirilmiştir. 2) TPV1 kanalları agonist ve/veya antagonistleri uygulanarak, T-tipi kalsiyum kanalları ile TRPV1 kanalları arasındaki etkileşim çalışılmamıştır. Böyle bir uygulama TRPV1 kanallarının artışına ışık tutabilirdi. 3) Alınan dokulardaki kalsiyum seviyesinde değişim olup olmadığı görüntülenebilirdi. 4) Davranış testlerin çeşidi artırılabilirdi.

Yapılan çalışmada, genetik absans epilepsili WAG/Rij sıçanlarda DDD aktivitesi üzerine RİVA'nın T-tipi kalsiyum kanalları öncelikli olmak üzere kalsiyum seviyesindeki değişimle ilgili etki göstermiş olabilir. Bu etkileşim hücre içi sinyal yolaklarından veya reseptörlerden hücreye gerçekleşen iyon akımlarının TRPV1 seviyesindeki anlamlı azalmasına bağlı çeşitli tipteki kalsiyum kanallarının aşırı uyarılması nedeniyle de gerçekleşmiş olabilir. Bir olasılık olarak da TRPV1 veya farklı yollardan baskılanan T-tipi kalsiyum kanallarının ekspresyonun artması ile bu kanalların arasında direkt bir etkileşim de olabilir. Ayrıca RİVA'nın absans epilepsili ve sağlıklı sıçanların öğrenme-hafızasına olumsuz, anksiyete üzerine olumlu etkiler göstermiştir. Çalışma sınırlılıklarında bahsedildiği gibi bu bulguları tam olarak açıklığa kavuşturacak ileri düzey moleküler ve davranış çalışmalarına ihtiyaç vardır.

6. SONUÇ

1- Sekiz aylıkWAG/Rij Sıçanlarda uygulanan akut RİVA dozlarının kontrol grubuyla (SF) kıyaslanan elektrofizyolojik kayıt sonuçları:

a) RİVA'nın 0,125 mg/kg (i.p.) dozu toplam DDD sayıları açısından istatistiksel olarak farklılık oluşturmadı.

b) RİVA'nın 0,25; 0,5; 1 ve 2 mg/kg (i.p.) dozlarında, doz bağımlı olarak toplam DDD sayılarını istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttı.

c) RİVA'nın sadece 1 ve 2 mg/kg (i.p.) dozları ortalama DDD sürelerini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttı.

d) T-tipi kalsiyum kanal blokeri NNC'nin etkisiz dozu (5 µgr; i.s.v.) ile RİVA'nın etkisiz doz (0,125 mg/kg; i.p.) kombinasyonu kontrol grubuna göre toplam DDD sayılarını istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttı. Ortalama DDD süresini etkilemedi.

2- Sekiz aylıkWAG/Rij Sıçanlarda uzun dönem (yirmi bir gün) uygulanan RİVA'nın elektrofizyolojik kayıt sonuçları;

a) Düşük doz (0,5 mg/kg; i.p.) RİVA, akut olarak DDD sayılarını azalttı. Onuncu ve yirmi birinci enjeksiyondan 24 saat sonrasında alınan ECoG kayıtlarında, DDD sayıları açısından bazal kayıta kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık oluşturmadı, ancak akut etkisine göre kıyaslandığında DDD sayılarını istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artırdı. Ortalama DDD süreleri üzerine bazal kayıta ve birbirlerine göre hiçbir uygulama sonrasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi.

b) Yüksek doz (2 mg/kg; i.p.) RİVA, akut olarak DDD sayılarını neredeyse tamamen sildi. Ancak hem onuncu ve yirmi birinci enjeksiyondan 24 saat sonrasında alınan ECoG kayıtlarında, DDD sayıları açısından hem bazal kayıda hem de akut etkisine göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığı tespit edildi. Ortalama DDD süresinin, alınan her kayıtta, bazal kayda göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı tespit edildi. Dahası, yirmi birinci enjeksiyondan 24 saat sonra alınan kayıtta, akut etkiye göre de anlamlı azaldığı tespit edildi.

3- Sekiz aylıkWAG/Rij ve Wistar sıçanlarda uzun dönem (yirmi bir gün) yüksek doz RİVA uygulaması sonucu yapılan davranış testleri (y labirent ve yükseltilmiş artı testi) sonuçları:

a) RİVA WAG/Rij sıçanlarda, kısa süreli hafızayı olumsuz etkiledi.

b) RİVA Wistar sıçanlarda, kısa süreli hafızayı etkilemedi.

c) Anksiyete testinde, RİVA uygulanmayan WAG/Rij sıçanlarına göre Wistar sıçanlarının daha az anksiyete düzeyine sahip olduğu tespit edildi.

d) RİVA'nın, WAG/Rij sıçanların kontrol grubuna göre daha az anksiyete düzeyine sahip olduğu tespit edildi.

e) RİVA'nın, Wistar sıçanların kontrol grubuna göre daha az anksiyete düzeyine sahip olduğu tespit edildi.

6- Beş, sekiz ve On iki aylık WAG/Rij ve sekiz aylık Wistar sıçanlardan uzun dönem (yirmi bir gün) yüksek doz (2 mg/kg; i.p.) RİVA uygulaması sonucu alınan sağ hipokampus ve somatosensöriyel korteksteki TRPV1 gen ekspresyonu seviyesindeki değişim sonuçları:

a) RİVA uygulanmayan WAG/Rij sıçanların farklı yaş grupları arasında hipokampus ve somatosensöriyel korteksteki TRPV1 gen ekspresyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmedi.

b) RİVA uygulanmayan sekiz aylık WAG/Rij ve sekiz aylık Wistar sıçanları arasında hipokampus ve somatosensöriyel korteksteki TRPV1 gen ekspresyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmedi.

c) Sekiz aylık WAG/Rij sıçanlarda kontrol grubuna oranla RİVA uygulamasının sağ hipokampus ve somatosensöriyel korteksteki TRPV1 gen ekspresyonu seviyesini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttığı tespit edildi.

d) Sekiz aylık Wistar sıçanlarda kontrol grubuna oranla RİVA uygulamasının sağ hipokampus ve somatosensöriyel korteksteki TRPV1 gen ekspresyonu seviyesini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artırdığı tespit edildi.

KAYNAKÇA

Abel, T. J., Losito, E., Ibrahim, G. M., Asano, E., & Rutka, J. T. (2018). Multimodal localization and surgery for epileptic spasms of focal origin: a review. *Neurosurgical Focus*, *45*(3), E4.

Acharya, U. R., Sree, S. V., Swapna, G., Martis, R. J., & Suri, J. S. (2013). Automated EEG analysis of epilepsy: a review. *Knowledge-Based Systems*, *45*, 147-165.

Albuja, A. C., & Khan, G. Q. (2021). Absence seizure. In *StatPearls [Internet]*. StatPearls Publishing.

Aldenkamp, A. P., Weber, B., Overweg-Plandsoen, W. C., Reijs, R., & van Mil, S. (2005). Educational underachievement in children with epilepsy: a model to predict the effects of epilepsy on educational achievement. *Journal of child neurology*, *20*(3), 175-180.

Allaway, K. C., & Machold, R. (2017). Developmental specification of forebrain cholinergic neurons. *Developmental biology*, *421*(1), 1-7.

Almeida, V., Levin, R., Peres, F. F., Suiama, M. A., Vendramini, A. M., Santos, C. M., Silva, N. D., Zuardi, A. W., Hallak, J. E. C., Crippa, J. A., & Abílio, V. C. (2019). Role of the endocannabinoid and endovanilloid systems in an animal model of schizophrenia-related emotional processing/cognitive deficit. *Neuropharmacology*, *155*, 44-53.

Angeles, D. (1981). Proposal for revised clinical and electroencephalographic classification of epileptic seizures. *Epilepsia*, *22*(4), 489-501.

Anwar, H., Khan, Q. U., Nadeem, N., Pervaiz, I., Ali, M., & Cheema, F. F. (2020). Epileptic seizures. *Discoveries*, *8*(2).

Apartis, E., & Vercueil, L. (2016). To jerk or not to jerk: a clinical pathophysiology of myoclonus. *Revue Neurologique*, *172*(8-9), 465-476.

Appleton, R., Panayiotopoulos, C., Acomb, B., & Beirne, M. (1993). Eyelid myoclonia with typical absences: an epilepsy syndrome. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, *56*(12), 1312-1316.

Ballinger, E. C., Ananth, M., Talmage, D. A., & Role, L. W. (2016). Basal forebrain cholinergic circuits and signaling in cognition and cognitive decline. *Neuron*, *91*(6), 1199-1218.

Bassett, D. S., & Bullmore, E. T. (2009). Human brain networks in health and disease. *Current opinion in neurology*, *22*(4), 340.

Beghi, E. (2020). The epidemiology of epilepsy. *Neuroepidemiology*, *54*(2), 185-191.

Berg, A. T., Berkovic, S. F., Brodie, M. J., Buchhalter, J., Cross, J. H., van Emde Boas, W., Engel, J., French, J., Glauser, T. A., & Mathern, G. W. (2010). Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005–2009. In: Wiley Online Library.

Berg, A. T., Levy, S. R., Testa, F. M., & Shinnar, S. (1999). Classification of childhood epilepsy syndromes in newly diagnosed epilepsy: interrater agreement and reasons for disagreement. *Epilepsia*, *40*(4), 439-444.

Berger, H. (1933). Über das Elektrenkephalogramm des Menschen: Fünfte Mitteilung. *Archiv für Psychiatrie und Nervenkrankheiten*, *98*(1), 231-254.

Berman, R., Negishi, M., Vestal, M., Spann, M., Chung, M. H., Bai, X., Purcaro, M., Motelow, J. E., Danielson, N., & Dix-Cooper, L. (2010). Simultaneous EEG, fMRI, and behavior in typical childhood absence seizures. *Epilepsia*, *51*(10), 2011-2022.

Bharucha, N. E., Bharucha, E. P., Bharucha, A. E., Bhise, A. V., & Schoenberg, B. S. (1988). Prevalence of epilepsy in the Parsi community of Bombay. *Epilepsia*, *29*(2), 111-115.

Birks, J. S., Chong, L. Y., & Grimley Evans, J. (2015). Rivastigmine for Alzheimer's disease. *Cochrane Database Syst Rev*, *9*(9), Cd001191.

Birks, J. S., Dementia, C., & Group, C. I. (1996). Cholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. *Cochrane Database of systematic reviews*, *2016*(3).

Birks, J. S., & Evans, J. G. (2015). Rivastigmine for Alzheimer's disease. *Cochrane Database of systematic reviews*(4).

Blumenfeld, H. (2005). Cellular and network mechanisms of spike-wave seizures. *Epilepsia*, *46*, 21-33.

Brigo, F., Trinka, E., Lattanzi, S., Bragazzi, N. L., Nardone, R., & Martini, M. (2018). A brief history of typical absence seizures—Petit mal revisited. *Epilepsy & Behavior*, *80*, 346-353.

Bullock, R., Moulias, R., Steinwachs, K., Cicin-Sain, A., & Spiegel, R. (2001). Effects of rivastigmine on behavioural symptoms in nursing home patients with Alzheimer's disease. *European Neuropsychopharmacology*(11), S328.

Bureau, M., & Tassinari, C. A. (2005). Epilepsy with myoclonic absences. *Brain and Development*, *27*(3), 178-184.

Buzsáki, G. (1991). The thalamic clock: emergent network properties. *Neuroscience*, *41*(2-3), 351-364.

Calderini, G., Bonetti, A., Aldinio, A., Savoini, G., Di Perri, B., Biggio, G., & Toffano, G. (1981). Functional interaction between benzodiazepine and GABA recognition sites in aged rats. *Neurobiology of Aging*, *2*(4), 309-313.

Calmeil, L. F. (1824). De l'epilepsie, etudiee sous le rapport de son seige et de son influence sur la production de l'alienation mentale. *Thesis*.

Camfield, P., & Camfield, C. (2015). Incidence, prevalence and aetiology of seizures and epilepsy in children. *Epileptic Disorders*, *17*(2), 117-123.

Carton, S., Thompson, P. J., & Duncan, J. S. (2003). Non-epileptic seizures: patients' understanding and reaction to the diagnosis and impact on outcome. *Seizure*, *12*(5), 287-294.

Caton, R. (1970). The electric currents of the brain. In (Vol. 10, pp. 12-14): Taylor & Francis.

Catterall, W. A. (2011). Voltage-gated calcium channels. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, *3*(8), a003947.

Chandler, K., & Volk, H. (2008). Seizures: intracranial or extracranial disease? *In practice*, *30*(7), 366-373.

Chen, W.-Q., Yuan, L., Xue, R., Li, Y.-F., Su, R.-B., Zhang, Y.-Z., & Li, J. (2011). Repeated exposure to chlorpyrifos alters the performance of adolescent male rats in animal models of depression and anxiety. *Neurotoxicology*, *32*(4), 355-361.

Chen, Y., Parker, W. D., & Wang, K. (2014). The role of T-type calcium channel genes in absence seizures. *Front Neurol*, *5*, 45.

Chen, Y., Parker, W. D., & Wang, K. (2014). The role of T-type calcium channel genes in absence seizures. *Frontiers in Neurology*, *5*, 45.

Cheong, E., & Shin, H.-S. (2013). T-type Ca2+ channels in absence epilepsy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, *1828*(7), 1560-1571.

Chin, R. F., Neville, B., & Scott, R. (2004). A systematic review of the epidemiology of status epilepticus. *European Journal of Neurology*, *11*(12), 800-810.

Citraro, R., Leo, A., De Fazio, P., De Sarro, G., & Russo, E. (2015). Antidepressants but not antipsychotics have antiepileptogenic effects with limited effects on comorbid depressive-like behaviour in the WAG/R ij rat model of absence epilepsy. *British journal of pharmacology*, *172*(12), 3177-3188.

Citraro, R., Leo, A., Franco, V., Marchiselli, R., Perucca, E., De Sarro, G., & Russo, E. (2017). Perampanel effects in the WAG/Rij rat model of epileptogenesis, absence epilepsy, and comorbid depressive-like behavior. *Epilepsia*, *58*(2), 231-238.

Coenen, A., & Van Luijtelaar, E. (1987). The WAG/Rij rat model for absence epilepsy: age and sex factors. *Epilepsy research*, *1*(5), 297-301.

Coenen, A., & Zayachkivska, O. (2013). Adolf Beck: A pioneer in electroencephalography in between Richard Caton and Hans Berger. *Advances in cognitive psychology*, *9*(4), 216.

Coenen, A. M. L., & van Luijtelaar, E. L. J. M. (2003). Genetic Animal Models for Absence Epilepsy: A Review of the WAG/Rij Strain of Rats. *Behavior Genetics*, *33*(6), 635-655.

Comunanza, V., Carbone, E., Marcantoni, A., Sher, E., & Ursu, D. (2011). Calcium-dependent inhibition of T-type calcium channels by TRPV1 activation in rat sensory neurons. *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology*, *462*(5), 709-722.

Conrad, C. D., Galea, L. A., Kuroda, Y., & McEwen, B. S. (1996). Chronic stress impairs rat spatial memory on the Y maze, and this effect is blocked by tianeptine treatment. *Behavioral neuroscience*, *110*(6), 1321.

Cope, D. W., Di Giovanni, G., Fyson, S. J., Orbán, G., Errington, A. C., Lőrincz, M. L., Gould, T. M., Carter, D. A., & Crunelli, V. (2009). Enhanced tonic GABAA inhibition in typical absence epilepsy. *Nature medicine*, *15*(12), 1392-1398.

Crunelli, V., & Leresche, L. (2002). Block of thalamic T-type Ca2+ channels by ethosuximide is not the whole story. *Epilepsy Currents*, *2*(2), 53-56.

Crunelli, V., & Leresche, N. (2002). Childhood absence epilepsy: genes, channels, neurons and networks. *Nature Reviews Neuroscience*, *3*(5), 371-382.

Crunelli, V., Lőrincz, M. L., McCafferty, C., Lambert, R. C., Leresche, N., Di Giovanni, G., & David, F. (2020). Clinical and experimental insight into pathophysiology, comorbidity and therapy of absence seizures. *Brain*, *143*(8), 2341-2368.

Cruz, A. d. M., Frei, F., & Graeff, F. G. (1994). Ethopharmacological analysis of rat behavior on the elevated plus-maze. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *49*(1), 171-176.

Cryan, J. F., Valentino, R. J., & Lucki, I. (2005). Assessing substrates underlying the behavioral effects of antidepressants using the modified rat forced swimming test. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *29*(4-5), 547-569.

Curia, G., Longo, D., Biagini, G., Jones, R. S. G., & Avoli, M. (2008). The pilocarpine model of temporal lobe epilepsy. *Journal of neuroscience methods*, *172*(2), 143-157.

Cutuli, D., Foti, F., Mandolesi, L., Bartolo, P. D., Gelfo, F., Federico, F., & Petrosini, L. (2008). Cognitive performance of healthy young rats following chronic donepezil administration. *Psychopharmacology*, *197*, 661-673.

Danober, L., Deransart, C., Depaulis, A., Vergnes, M., & Marescaux, C. (1998). Pathophysiological mechanisms of genetic absence epilepsy in the rat. *Progress in neurobiology*, *55*(1), 27-57.

Darreh-Shori, T., & Jelic, V. (2010). Safety and tolerability of transdermal and oral rivastigmine in Alzheimer's disease and Parkinson's disease dementia. *Expert Opinion on Drug Safety*, *9*(1), 167-176.

Davis, P. A., Gibbs, F. A., Davis, H., Jetter, W. W., & Trowbridge, L. S. (1941). The effects of alcohol upon the electroencephalogram (brain waves). *Quarterly Journal of Studies on Alcohol*, *1*(4), 626-637.

DE LA ILAE, D. D. P. (2017). Clasificación de las epilepsias de la ILAE: Documento de posición de la Comisión de Clasificación y Terminología de la ILAE. *Epilepsia*, *58*(4), 512-521.

Deidda, G., Crunelli, V., & Di Giovanni, G. (2021). 5-HT/GABA interaction in epilepsy. *Progress in brain research*, *259*, 265-286.

Delgado-Escueta, A., & Enrile-Bacsal, F. (1984). Juvenile myoclonic epilepsy of Janz. *Neurology*, *34*(3), 285-285.

Depaulis, A., David, O., & Charpier, S. (2016). The genetic absence epilepsy rat from Strasbourg as a model to decipher the neuronal and network mechanisms of generalized idiopathic epilepsies. *Journal of neuroscience methods*, *260*, 159-174.

Descarries, L., Gisiger, V., & Steriade, M. (1997). Diffuse transmission by acetylcholine in the CNS. *Progress in neurobiology*, *53*(5), 603-625.

Desjardins, P., & Conklin, D. (2010). NanoDrop microvolume quantitation of nucleic acids. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*(45), e2565.

Devinsky, O., Feldmann, E., Burrowes, K., & Bromfield, E. (1989). Autoscopic phenomena with seizures. *Archives of neurology*, *46*(10), 1080-1088.

Dezsi, G., Ozturk, E., Salzberg, M. R., Morris, M., O'Brien, T. J., & Jones, N. C. (2016). Environmental enrichment imparts disease-modifying and transgenerational effects

on genetically-determined epilepsy and anxiety. *Neurobiology of Disease*, *93*, 129-136.
Dinkelacker, V., Valabregue, R., Thivard, L., Lehéricy, S., Baulac, M., Samson, S., & Dupont, S. (2015). Hippocampal-thalamic wiring in medial temporal lobe epilepsy: enhanced connectivity per hippocampal voxel. *Epilepsia*, *56*(8), 1217-1226.
Drachman, D. B., Adams, R. N., Stanley, E. F., & Pestronk, A. (1980). Mechanisms of acetylcholine receptor loss in myasthenia gravis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, *43*(7), 601-610.
Dreifuss, F., Martinez-Lage, M., & Johns, R. A. (1985). Proposal for classification of epilepsies and epileptic syndromes. *Epilepsia*, *26*(3), 268-278.
Dreyfus, F. M., Tscherter, A., Errington, A. C., Renger, J. J., Shin, H.-S., Uebele, V. N., Crunelli, V., Lambert, R. C., & Leresche, N. (2010). Selective T-type calcium channel block in thalamic neurons reveals channel redundancy and physiological impact of ITwindow. *Journal of Neuroscience*, *30*(1), 99-109.
Duncan, J. S., Sander, J. W., Sisodiya, S. M., & Walker, M. C. (2006). Adult epilepsy. *The Lancet*, *367*(9516), 1087-1100.
Edwards, J. G. (2014). TRPV1 in the Central Nervous System: Synaptic Plasticity, Function, and Pharmacological Implications. In O. M. E. Abdel-Salam (Ed.), *Capsaicin as a Therapeutic Molecule* (pp. 77-104). Springer Basel.
Egesa, I. J., Newton, C. R., & Kariuki, S. M. (2022). Evaluation of the International League Against Epilepsy 1981, 1989, and 2017 classifications of seizure semiology and etiology in a population-based cohort of children and adults with epilepsy. *Epilepsia Open*, *7*(1), 98-109.
Ekong, U., Lam, H.-K., Xiao, B., Ouyang, G., Liu, H., Chan, K. Y., & Ling, S. H. (2016). Classification of epilepsy seizure phase using interval type-2 fuzzy support vector machines. *Neurocomputing*, *199*, 66-76.
Ellis, C. A., Ottman, R., Epstein, M. P., Berkovic, S. F., & Consortium, E. K. (2020). Generalized, focal, and combined epilepsies in families: New evidence for distinct genetic factors. *Epilepsia*, *61*(12), 2667-2674.
Emir, T. L. R. (2018). *Neurobiology of TRP Channels*. CRC Press/Taylor & Francis

© 2018 by Taylor & Francis Group, LLC.

Engel Jr, J. (2001). A proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizures and with epilepsy: report of the ILAE Task Force on Classification and Terminology. *Epilepsia*, *42*(6), 796-803.
Epps, S. A., & Weinshenker, D. (2013). Rhythm and blues: animal models of epilepsy and depression comorbidity. *Biochemical pharmacology*, *85*(2), 135-146.
Faircloth, C. A. (1998). Epilepsies, identities, and difference: Horizons of meaning for individuals with an epilepsy. *Qualitative health research*, *8*(5), 602-617.
Falco-Walter, J. (2020). Epilepsy—definition, classification, pathophysiology, and epidemiology. Seminars in neurology,
Fatt, P., & Ginsborg, B. (1958). The ionic requirements for the production of action potentials in crustacean muscle fibres. *The Journal of physiology*, *142*(3), 516.
Fernandez-Baca Vaca, G., Mayor, C. L., Losarcos, N. G., Park, J. T., & Lüders, H. O. (2018). Epileptic seizure semiology in different age groups. *Epileptic Disorders*, *20*(3), 179-188.
Fiest, K. M., Sauro, K. M., Wiebe, S., Patten, S. B., Kwon, C.-S., Dykeman, J., Pringsheim, T., Lorenzetti, D. L., & Jetté, N. (2017). Prevalence and incidence of epilepsy: a systematic review and meta-analysis of international studies. *Neurology*, *88*(3), 296-303.
Fisher, P. G. (2008). 50 Years Ago in The Journal of Pediatrics: A terminology and differential diagnosis for brief seizures in infants and children; and the definition of petit mal. *The Journal of Pediatrics*, *153*(4), 472.

Fisher, R. S. (2017). The new classification of seizures by the International League Against Epilepsy 2017. *Current neurology and neuroscience reports*, *17*, 1-6.
Fisher, R. S., Boas, W. V. E., Blume, W., Elger, C., Genton, P., Lee, P., & Engel Jr, J. (2005). Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). *Epilepsia*, *46*(4), 470-472.
Fisher, R. S., & Bonner, A. M. (2018). The revised definition and classification of epilepsy for neurodiagnostic technologists. *The Neurodiagnostic Journal*, *58*(1), 1-10.
Fisher, R. S., Cross, J. H., D'souza, C., French, J. A., Haut, S. R., Higurashi, N., Hirsch, E., Jansen, F. E., Lagae, L., & Moshé, S. L. (2017). Instruction manual for the ILAE 2017 operational classification of seizure types. *Epilepsia*, *58*(4), 531-542.
Fisher, R. S., Cross, J. H., French, J. A., Higurashi, N., Hirsch, E., Jansen, F. E., Lagae, L., Moshé, S. L., Peltola, J., & Roulet Perez, E. (2017). Operational classification of seizure types by the International League Against Epilepsy: Position Paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*, *58*(4), 522-530.
Foldvary-Schaefer, N., & Unnwongse, K. (2011). Localizing and lateralizing features of auras and seizures. *Epilepsy & Behavior*, *20*(2), 160-166.
Freund, I., Rosenbluh, M., & Feng, S. (1988). Memory effects in propagation of optical waves through disordered media. *Physical review letters*, *61*(20), 2328.
Fuenzalida, M., & R Arias, H. (2016). Role of nicotinic and muscarinic receptors on synaptic plasticity and neurological diseases. *Current Pharmaceutical Design*, *22*(14), 2004-2014.
Furey, M. L., & Drevets, W. C. (2006). Antidepressant efficacy of the antimuscarinic drug scopolamine: a randomized, placebo-controlled clinical trial. *Archives of general psychiatry*, *63*(10), 1121-1129.
Fusco, L., Serino, D., & Santarone, M. E. (2020). Three different scenarios for epileptic spasms. *Epilepsy & Behavior*, *113*, 107531.
Gastaut, H. (1970). Clinical and electroencephalographical classification of epileptic seizures. *Epilepsia*, *11*(1), 102-112.
Gauguier, D., Luijtelaar, G. v., Bihoreau, M. T., Wilder, S. P., Godfrey, R. F., Vossen, J., Coenen, A., & Cox, R. D. (2004). Chromosomal mapping of genetic loci controlling absence epilepsy phenotypes in the WAG/Rij rat. *Epilepsia*, *45*(8), 908-915.
Gibbs, F. A., & Gibbs, E. L. (1941). Atlas of electroencephalography.
Glasstetter, M., Böttcher, S., Zabler, N., Epitashvili, N., Dümpelmann, M., Richardson, M. P., & Schulze-Bonhage, A. (2021). Identification of ictal tachycardia in focal motor-and non-motor seizures by means of a wearable PPG sensor. *Sensors*, *21*(18), 6017.
Glauser, T. A., Cnaan, A., Shinnar, S., Hirtz, D. G., Dlugos, D., Masur, D., Clark, P. O., Capparelli, E. V., & Adamson, P. C. (2010). Ethosuximide, valproic acid, and lamotrigine in childhood absence epilepsy. *New England Journal of Medicine*, *362*(9), 790-799.
Glauser, T. A., Holland, K., O'Brien, V. P., Keddache, M., Martin, L. J., Clark, P. O., Cnaan, A., Dlugos, D., Hirtz, D. G., & Shinnar, S. (2017). Pharmacogenetics of antiepileptic drug efficacy in childhood absence epilepsy. *Annals of neurology*, *81*(3), 444-453.
Gloor, P. (1968). Generalized Cortico-reticular epilepsies some considerations on the pathophysiology of generalized bilaterally synchronous spike and wave discharge. *Epilepsia*, *9*(3), 249-263.
Grünewald, R. A., & Panayiotopoulos, C. P. (1993). Juvenile myoclonic epilepsy: a review. *Archives of neurology*, *50*(6), 594-598.
Guerrini, R., & Aicardi, J. (2003). Epileptic encephalopathies with myoclonic seizures in infants and children (severe myoclonic epilepsy and myoclonic-astatic epilepsy). *Journal of Clinical Neurophysiology*, *20*(6), 449-461.
Ha, J., Son, N.-H., Park, Y. H., Lee, E., Kim, E., & Jung Kim, W. (2022). Association of cognitive enhancers and incident seizure risk in dementia: a population-based study. *BMC geriatrics*, *22*(1), 480.

Haga, M., Soga, T., Ohori, M., & Totsuka, S. (1992). Independent epileptogenic multifoci in a girl with symptomatic partial epilepsy. *Psychiatry and Clinical Neurosciences*, *46*(2), 492-494.

Hagiwara, S., & Byerly, L. (1981). Calcium channel. *Annual review of neuroscience*, *4*(1), 69-125.

Hasselmo, M. E. (2006). The role of acetylcholine in learning and memory. *Current Opinion in Neurobiology*, *16*(6), 710-715.

Heo, K., Han, S. D., Lim, S. R., Kim, M. A., & Lee, B. I. (2006). Patient awareness of complex partial seizures. *Epilepsia*, *47*(11), 1931-1935.

Hertoft, P. (1963). The Clinical, Electroencephalographic and Social Prognosis in Petit Mai Epilepsy. *Epilepsia*, *4*(1-4), 298-314.

Hildebrand, M. E., David, L. S., Hamid, J., Mulatz, K., Garcia, E., Zamponi, G. W., & Snutch, T. P. (2007). Selective inhibition of Cav3.3 T-type calcium channels by Galphaq/11-coupled muscarinic acetylcholine receptors. *J Biol Chem*, *282*(29), 21043-21055.

Hirsch, E., French, J., Scheffer, I. E., Bogacz, A., Alsaadi, T., Sperling, M. R., Abdulla, F., Zuberi, S. M., Trinka, E., & Specchio, N. (2022). ILAE definition of the idiopathic generalized epilepsy syndromes: position statement by the ILAE task force on nosology and definitions. *Epilepsia*, *63*(6), 1475-1499.

Hong, A. M., Turner, Z., Hamdy, R. F., & Kossoff, E. H. (2010). Infantile spasms treated with the ketogenic diet: prospective single-center experience in 104 consecutive infants. *Epilepsia*, *51*(8), 1403-1407.

Huang, Q., Liao, C., Ge, F., Ao, J., & Liu, T. (2022). Acetylcholine bidirectionally regulates learning and memory. *Journal of Neurorestoratology*, 100002.

Huguenard, J. (2019). Current controversy: spikes, bursts, and synchrony in generalized absence epilepsy: unresolved questions regarding thalamocortical synchrony in absence epilepsy. *Epilepsy Currents*, *19*(2), 105-111.

Hutt, S., Lee, D., & Ounsted, C. (1963). Digit Memory and Evoked Discharges in Four Light-Sensitive Epileptic Children. *Developmental Medicine & Child Neurology*, *5*(6), 559-571.

Ismail, M. F., ElMeshad, A. N., & Salem, N. A.-H. (2013). Potential therapeutic effect of nanobased formulation of rivastigmine on rat model of Alzheimer's disease. *International journal of nanomedicine*, 393-406.

İnce, R., Adanır, S. S., & Sevmez, F. (2021). The inventor of electroencephalography (EEG): Hans Berger (1873–1941). *Child's Nervous System*, *37*, 2723-2724.

Jafarian, M., Mousavi, S. M. M., Rahimi, S., Pakdel, F. G., Lotfinia, A. A., Lotfinia, M., & Gorji, A. (2021). The effect of GABAergic neurotransmission on the seizure-related activity of the laterodorsal thalamic nuclei and the somatosensory cortex in a genetic model of absence epilepsy. *Brain research*, *1757*, 147304.

Jafarpour, S., Hirsch, L. J., Gaínza-Lein, M., Kellinghaus, C., & Detyniecki, K. (2019). Seizure cluster: definition, prevalence, consequences, and management. *Seizure*, *68*, 9-15.

Jasper, H., & Kershman, J. (1941). Electroencephalographic classification of the epilepsies. *Archives of Neurology & Psychiatry*, *45*(6), 903-943.

Jones, B. E. (2004). Activity, modulation and role of basal forebrain cholinergic neurons innervating the cerebral cortex. *Progress in brain research*, *145*, 157-169.

Jung, R., & Berger, W. (1979). Fiftieth anniversary of Hans Berger's publication of the electroencephalogram His first records in 1924–1931. *Archiv für Psychiatrie und Nervenkrankheiten*, *227*, 279-300.

Kandratavicius, L., Balista, P. A., Lopes-Aguiar, C., Ruggiero, R. N., Umeoka, E. H., Garcia-Cairasco, N., Bueno-Junior, L. S., & Leite, J. P. (2014). Animal models of epilepsy: use and limitations. *Neuropsychiatric disease and treatment*, 1693-1705.

Karbowski, K., & Karbowski, K. (1985). Grundsätzliche Fragen bei Verdacht auf epileptische Anfälle. *Epileptische Anfälle: Phänomenologie, Differentialdiagnose und Therapie*, 4-6.

Karimzadeh, F., Mousavi, S. M. M., Soleimani, M., Jafarian, M., Jahromi, S. R., & Gorji, A. (2015). ISDN2014_0085: The antiepileptic role of metabotropic glutamate type-1α receptor in WAG/Rij rats. *International Journal of Developmental Neuroscience*, *47*(Part_A), 22-23.

Karson, A., Utkan, T., Balcı, F., Arıcıoğlu, F., & Ateş, N. (2012). Age-dependent decline in learning and memory performances of WAG/Rij rat model of absence epilepsy. *Behavioral and Brain Functions*, *8*(1), 1-9.

Kehne, J. H., Klein, B. D., Raeissi, S., & Sharma, S. (2017). The national institute of neurological disorders and stroke (NINDS) epilepsy therapy screening program (ETSP). *Neurochemical research*, *42*, 1894-1903.

Kennard, J., Barmanray, R., Sampurno, S., Ozturk, E., Reid, C., Paradiso, L., D'Abaco, G., Kaye, A., Foote, S., & O'Brien, T. (2011). Stargazin and AMPA receptor membrane expression is increased in the somatosensory cortex of Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg. *Neurobiology of Disease*, *42*(1), 48-54.

Kessler, R. C., Sampson, N. A., Berglund, P., Gruber, M., Al-Hamzawi, A., Andrade, L., Bunting, B., Demyttenaere, K., Florescu, S., & De Girolamo, G. (2015). Anxious and non-anxious major depressive disorder in the World Health Organization World Mental Health Surveys. *Epidemiology and psychiatric sciences*, *24*(3), 210-226.

Ketter, T., Post, R., & Theodore, W. (1999). Positive and negative psychiatric effects of antiepileptic drugs in patients with seizure disorders. *Neurology*, *53*(5 Suppl 2), S53-67.

Khanna, N., Bhalla, S., Verma, V., & Sharma, K. (2000). Modulatory effects of nifedipine and nimodipine in experimental convulsions. *Indian Journal of pharmacology*, *32*(6), 347.

Khomula, E. V., Viatchenko-Karpinski, V. Y., Borisyuk, A. L., Duzhyy, D. E., Belan, P. V., & Voitenko, N. V. (2013). Specific functioning of Cav3.2 T-type calcium and TRPV1 channels under different types of STZ-diabetic neuropathy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, *1832*(5), 636-649.

Kliueva Iu, A., Chepurnova, N. E., Berdiev, R. K., Mart'ianov, A. A., Mogimi, A., & Chepurnov, S. A. (1999). [Anxiety and behavior in WAG/Rij strain rats with genetically induced absence attacks]. *Zh Vyssh Nerv Deiat Im I P Pavlova*, *49*(6), 1018-1026. (Trevozhnost' i povedenie krys linii WAG/Rij s geneticheski obuslovlennymi absansnymi pristupami.)

Kotsopoulos, I. A., de Krom, M. C., Kessels, F. G., Lodder, J., Troost, J., Twellaar, M., van Merode, T., & Knottnerus, A. J. (2003). The diagnosis of epileptic and non-epileptic seizures. *Epilepsy research*, *57*(1), 59-67.

Kraeuter, A. K., Guest, P. C., & Sarnyai, Z. (2019). The Y-Maze for Assessment of Spatial Working and Reference Memory in Mice. *Methods Mol Biol*, *1916*, 105-111.

Lambert, R. C., Bessaïh, T., Crunelli, V., & Leresche, N. (2014). The many faces of T-type calcium channels. *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology*, *466*, 415-423.

Langley, J. N. (1901). Observations on the physiological action of extracts of the supra-renal bodies. *The Journal of physiology*, *27*(3), 237.

Langley, J. N. (1901). Observations on the physiological action of extracts of the supra-renal bodies. *J Physiol*, *27*(3), 237-256.

Lazarini-Lopes, W., Silva-Cardoso, G. K., Leite-Panissi, C. R. A., & Garcia-Cairasco, N. (2022). Increased TRPV1 Channels and FosB Protein Expression Are Associated with Chronic Epileptic Seizures and Anxiogenic-like Behaviors in a Preclinical Model of Temporal Lobe Epilepsy. *Biomedicines*, *10*(2), 416.

Leppik, I. E., & Birnbaum, A. K. (2010). Epilepsy in the elderly. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1184*(1), 208-224.

Leresche, N., Lambert, R. C., Errington, A. C., & Crunelli, V. (2012). From sleep spindles of natural sleep to spike and wave discharges of typical absence seizures: is the hypothesis still valid? *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology*, *463*, 201-212.

Li, H.-B., Mao, R.-R., Zhang, J.-C., Yang, Y., Cao, J., & Xu, L. (2008). Antistress Effect of TRPV1 Channel on Synaptic Plasticity and Spatial Memory. *Biological Psychiatry*, *64*(4), 286-292.

Li, M., Yu, Y., & Yang, J. (2011). Structural biology of TRP channels. *Transient Receptor Potential Channels*, 1-23.

Llinas, R., & Yarom, Y. (1981). Electrophysiology of mammalian inferior olivary neurones in vitro. Different types of voltage-dependent ionic conductances. *The Journal of physiology*, *315*(1), 549-567.

Llinás, R., & Yarom, Y. (1981). Properties and distribution of ionic conductances generating electroresponsiveness of mammalian inferior olivary neurones in vitro. *The Journal of physiology*, *315*(1), 569-584.

Loddenkemper, T., & Kotagal, P. (2005). Lateralizing signs during seizures in focal epilepsy. *Epilepsy & Behavior*, *7*(1), 1-17.

Loiseau, J., Loiseau, P., Guyot, M., Duche, B., Dartigues, J. F., & Aublet, B. (1990). Survey of seizure disorders in the French southwest. I. Incidence of epileptic syndromes. *Epilepsia*, *31*(4), 391-396.

Loiseau, P., Pestre, M., Datigues, J., Commenges, D., Barberger-Gateau, C., & Cohadon, S. (1983). Long-term prognosis in two forms of childhood epilepsy: typical absence seizures and epilepsy with rolandic (centrotemporal) EEG foci. *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society*, *13*(6), 642-648.

Löscher, W. (1999). Animal models of epilepsy and epileptic seizures. *Antiepileptic drugs: Pharmacology and therapeutics*, 19-62.

Löscher, W. (2011). Critical review of current animal models of seizures and epilepsy used in the discovery and development of new antiepileptic drugs. *Seizure*, *20*(5), 359-368.

Luo, C., Li, Q., Lai, Y., Xia, Y., Qin, Y., Liao, W., Li, S., Zhou, D., Yao, D., & Gong, Q. (2011). Altered functional connectivity in default mode network in absence epilepsy: a resting-state fMRI study. *Human brain mapping*, *32*(3), 438-449.

Majoie, H. M., Berfelo, M. W., Aldenkamp, A. P., Evers, S. M., Kessels, A. G., & Renier, W. O. (2001). Vagus nerve stimulation in children with therapy-resistant epilepsy diagnosed as Lennox-Gastaut syndrome: clinical results, neuropsychological effects, and cost-effectiveness. *Journal of Clinical Neurophysiology*, *18*(5), 419-428.

Malekpour, M., Jafari, A., Kashkooli, M., Salarikia, S. R., & Negahdaripour, M. (2023). A systems biology approach for discovering the cellular and molecular aspects of psychogenic non-epileptic seizure. *Frontiers in Psychiatry*, *14*.

Malyshev, A., Zakharov, A., Sarkisova, K. Y., & Dubynin, V. (2014). Reversal Learning in WAG/Rij Rats with Depression-Like Behavior. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, *44*, 36-43.

Mandadi, S., Numazaki, M., Tominaga, M., Bhat, M. B., Armati, P. J., & Roufogalis, B. D. (2004). Activation of protein kinase C reverses capsaicin-induced calcium-dependent desensitization of TRPV1 ion channels. *Cell calcium*, *35*(5), 471-478.

Manning, J.-P. A., Richards, D. A., & Bowery, N. G. (2003). Pharmacology of absence epilepsy. *Trends in Pharmacological Sciences*, *24*(10), 542-549.

Marescaux, C., & Vergnes, M. (1995). Genetic absence epilepsy in rats from Strasbourg (GAERS). *The Italian Journal of Neurological Sciences*, *16*, 113-118.

Marescaux, C., Vergnes, M., & Depaulis, A. (1992). Genetic absence epilepsy in rats from Strasbourg—a review. *Generalized Non-Convulsive Epilepsy: Focus on GABA-B Receptors*, 37-69.

Marks, W. N., Cain, S. M., Snutch, T. P., & Howland, J. G. (2016). The T-type calcium channel antagonist Z944 rescues impairments in crossmodal and visual recognition memory in Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg. *Neurobiology of Disease*, *94*, 106-115.

Marques-Carneiro, J., Faure, J.-B., Barbelivien, A., Nehlig, A., & Cassel, J.-C. (2016). Subtle alterations in memory systems and normal visual attention in the GAERS model of absence epilepsy. *Neuroscience*, *316*, 389-401.

Marrone, M. C., Morabito, A., Giustizieri, M., Chiurchiu, V., Leuti, A., Mattioli, M., Marinelli, S., Riganti, L., Lombardi, M., & Murana, E. (2017). TRPV1 channels are critical brain inflammation detectors and neuropathic pain biomarkers in mice. *Nature communications*, *8*(1), 15292.

Masur, D., Shinnar, S., Cnaan, A., Shinnar, R. C., Clark, P., Wang, J., Weiss, E. F., Hirtz, D. G., Glauser, T. A., & Group, C. A. E. S. (2013). Pretreatment cognitive deficits and treatment effects on attention in childhood absence epilepsy. *Neurology*, *81*(18), 1572-1580.

Matricardi, S., Verrotti, A., Chiarelli, F., Cerminara, C., & Curatolo, P. (2014). Current advances in childhood absence epilepsy. *Pediatric neurology*, *50*(3), 205-212.

McCafferty, C., David, F., Venzi, M., Lőrincz, M. L., Delicata, F., Atherton, Z., Recchia, G., Orban, G., Lambert, R. C., & Di Giovanni, G. (2018). Cortical drive and thalamic feed-forward inhibition control thalamic output synchrony during absence seizures. *Nature Neuroscience*, *21*(5), 744-756.

Meeren, H. K., Pijn, J. P. M., Van Luijtelaar, E. L., Coenen, A. M., & da Silva, F. H. L. (2002). Cortical focus drives widespread corticothalamic networks during spontaneous absence seizures in rats. *Journal of Neuroscience*, *22*(4), 1480-1495.

Mehta, S., Dham, S., Lazar, A., Narayanswamy, A., & Prasad, G. (1994). Prolactin and cortisol levels in seizure disorders. *The Journal of the Association of Physicians of India*, *42*(9), 709-712.

Mei, Z., Zhao, X., Chen, H., & Chen, W. (2018). Bio-signal complexity analysis in epileptic seizure monitoring: A topic review. *Sensors*, *18*(6), 1720.

Merikle, P. M. (1984). Toward a definition of awareness. *Bulletin of the Psychonomic Society*, *22*(5), 449-450.

Merlis, J. (1970). Proposal for an international classification of the epilepsies. *Epilepsia*, *11*(1), 114-119.

Meyer, F. B., Anderson, R. E., & Sundt Jr, T. M. (1990). Anticonvulsant effects of dihydropyridine Ca2+ antagonists in electrocortical shock seizures. *Epilepsia*, *31*(1), 68-74.

Meyer, J., Maheshwari, A., Noebels, J., & Smirnakis, S. (2018). Asynchronous suppression of visual cortex during absence seizures in stargazer mice. *Nature communications*, *9*(1), 1938.

Mineur, Y. S., Obayemi, A., Wigestrand, M. B., Fote, G. M., Calarco, C. A., Li, A. M., & Picciotto, M. R. (2013). Cholinergic signaling in the hippocampus regulates social stress resilience and anxiety-and depression-like behavior. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *110*(9), 3573-3578.

Moyanova, S., De Fusco, A., Santolini, I., Celli, R., Bucci, D., Mastroiacovo, F., Battaglia, G., Nicoletti, F., & Tchekalarova, J. (2018). Abnormal hippocampal melatoninergic system: a potential link between absence epilepsy and depression-like behavior in WAG/Rij rats? *International Journal of Molecular Sciences*, *19*(7), 1973.

Musella, A., De Chiara, V., Rossi, S., Prosperetti, C., Bernardi, G., Maccarrone, M., & Centonze, D. (2009). TRPV1 channels facilitate glutamate transmission in the striatum. *Molecular and Cellular Neuroscience*, *40*(1), 89-97.

Müller, T., Merschhemke, M., Dehnicke, C., Sanders, M., & Meencke, H.-J. (2002). Improving diagnostic procedure and treatment in patients with non-epileptic seizures (NES). *Seizure*, *11*(2), 85-89.

Nazıroğlu, M. (2015). TRPV1 Channel: A Potential Drug Target for Treating Epilepsy. *Curr Neuropharmacol*, *13*(2), 239-247.

Ngomba, R. T., Santolini, I., Salt, T. E., Ferraguti, F., Battaglia, G., Nicoletti, F., & Van Luijtelaar, G. (2011). Metabotropic glutamate receptors in the thalamocortical

network: strategic targets for the treatment of absence epilepsy. *Epilepsia*, *52*(7), 1211-1222.
Nickels, K. (2017). How have we come this far? Epilepsy classification through the ages. *Epilepsy Currents*, *17*(4), 229-231.
Nijholt, I., Farchi, N., Kye, M., Sklan, E., Shoham, S., Verbeure, B., Owen, D., Hochner, B., Spiess, J., & Soreq, H. (2004). Stress-induced alternative splicing of acetylcholinesterase results in enhanced fear memory and long-term potentiation. *Molecular psychiatry*, *9*(2), 174-183.
Noebels, J. (2015). Pathway-driven discovery of epilepsy genes. *Nature Neuroscience*, *18*(3), 344-350.
Noebels, J. L. (2012). The voltage-gated calcium channel and absence epilepsy. *Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies [Internet]. 4th edition*.
Ntolkeras, G., Tamilia, E., AlHilani, M., Bolton, J., Grant, P. E., Prabhu, S. P., Madsen, J. R., Stufflebeam, S. M., Pearl, P. L., & Papadelis, C. (2022). Presurgical accuracy of dipole clustering in MRI-negative pediatric patients with epilepsy: Validation against intracranial EEG and resection. *Clinical Neurophysiology*, *141*, 126-138.
Olsson, I. (1988). Epidemiology of absence epilepsy: I. Concept and incidence. *Acta Pædiatrica*, *77*(6), 860-866.
Onat, F. Y., van Luijtelaar, G., Nehlig, A., & Snead III, O. C. (2013). The involvement of limbic structures in typical and atypical absence epilepsy. *Epilepsy research*, *103*(2-3), 111-123.
Onor, M. L., Trevisiol, M., & Aguglia, E. (2007). Rivastigmine in the treatment of Alzheimer's disease: an update. *Clinical interventions in aging*, *2*(1), 17-32.
Overstreet, D. H. (1993). The Flinders sensitive line rats: a genetic animal model of depression. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *17*(1), 51-68.
Pack, A. M. (2019). Epilepsy overview and revised classification of seizures and epilepsies. *CONTINUUM: Lifelong Learning in Neurology*, *25*(2), 306-321.
Panayiotopoulos, C. (1999). Typical absence seizures and their treatment. *Archives of disease in childhood*, *81*(4), 351-355.
Panayiotopoulos, C. P. (2012). The new ILAE report on terminology and concepts for the organization of epilepsies: critical review and contribution. *Epilepsia*, *53*(3), 399-404.
Panthi, S., Lyons, N. M., & Leitch, B. (2021). Impact of dysfunctional feed-forward inhibition on glutamate decarboxylase isoforms and γ-aminobutyric acid transporters. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(14), 7740.
Papp, M., Gruca, P., Lason-Tyburkiewicz, M., & Willner, P. (2016). Antidepressant, anxiolytic and procognitive effects of rivastigmine and donepezil in the chronic mild stress model in rats. *Psychopharmacology*, *233*, 1235-1243.
Patel, P., & Moshé, S. L. (2020). The evolution of the concepts of seizures and epilepsy: What's in a name? *Epilepsia Open*, *5*(1), 22-35.
Paxinos, G., Watson, C., Pennisi, M., & Topple, A. (1985). Bregma, lambda and the interaural midpoint in stereotaxic surgery with rats of different sex, strain and weight. *Journal of neuroscience methods*, *13*(2), 139-143.
Peeters, B., Kerbusch, J., Van Luijtelaar, E., Vossen, J., & Coenen, A. (1990). Genetics of absence epilepsy in rats. *Behavior Genetics*, *20*, 453-460.
Perucca, P., Scheffer, I. E., & Kiley, M. (2018). The management of epilepsy in children and adults. *Medical Journal of Australia*, *208*(5), 226-233.
Picciotto, M. R., Higley, M. J., & Mineur, Y. S. (2012). Acetylcholine as a neuromodulator: cholinergic signaling shapes nervous system function and behavior. *Neuron*, *76*(1), 116-129.
Pitkänen, A., Buckmaster, P., Galanopoulou, A. S., & Moshé, S. L. (2017). *Models of seizures and epilepsy*. Academic Press.
Polack, P.-O., Guillemain, I., Hu, E., Deransart, C., Depaulis, A., & Charpier, S. (2007). Deep layer somatosensory cortical neurons initiate spike-and-wave discharges in a genetic model of absence seizures. *Journal of Neuroscience*, *27*(24), 6590-6599.

Polack, P.-O., Mahon, S., Chavez, M., & Charpier, S. (2009). Inactivation of the somatosensory cortex prevents paroxysmal oscillations in cortical and related thalamic neurons in a genetic model of absence epilepsy. *Cerebral Cortex*, *19*(9), 2078-2091.

Polinsky, R. J. (1998). Clinical pharmacology of rivastigmine: a new-generation acetylcholinesterase inhibitor for the treatment of Alzheimer's disease. *Clinical therapeutics*, *20*(4), 634-647.

Poliquin, S., Hughes, I., Shen, W., Mermer, F., Wang, J., Mack, T., Xu, D., & Kang, J.-Q. (2021). Genetic mosaicism, intrafamilial phenotypic heterogeneity, and molecular defects of a novel missense SLC6A1 mutation associated with epilepsy and ADHD. *Experimental neurology*, *342*, 113723.

Potkin, S. G., Anand, R., Fleming, K., Alva, G., Keator, D., Carreon, D., Messina, J., Wu, J. C., Hartman, R., & Fallon, J. H. (2001). Brain metabolic and clinical effects of rivastigmine in Alzheimer's disease. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, *4*(3), 223-230.

Powell, K. L., Cain, S. M., Snutch, T. P., & O'Brien, T. J. (2014). Low threshold T-type calcium channels as targets for novel epilepsy treatments. *British journal of clinical pharmacology*, *77*(5), 729-739.

Radhakrishnan, K. (2009). Challenges in the management of epilepsy in resource-poor countries. *Nature Reviews Neurology*, *5*(6), 323-330.

Rodgers, R., & Dalvi, A. (1997). Anxiety, defence and the elevated plus-maze. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *21*(6), 801-810.

Rosal Lustosa, Í., Soares, J. I., Biagini, G., & Lukoyanov, N. V. (2019). Neuroplasticity in cholinergic projections from the basal forebrain to the basolateral nucleus of the amygdala in the kainic acid model of temporal lobe epilepsy. *International Journal of Molecular Sciences*, *20*(22), 5688.

Rösler, M., Retz, W., Retz-Junginger, P., & Dennler, H. J. (1998). Effects of two-year treatment with the cholinesterase inhibitor rivastigmine on behavioural symptoms in Alzheimer's disease. *Behavioural neurology*, *11*(4), 211-216.

Rudolf, G., Thérèse Bihoreau, M., F. Godfrey, R., P. Wilder, S., D. Cox, R., Lathrop, M., Marescaux, C., & Gauguier, D. (2004). Polygenic control of idiopathic generalized epilepsy phenotypes in the genetic absence rats from Strasbourg (GAERS). *Epilepsia*, *45*(4), 301-308.

Russo, E., Citraro, R., Davoli, A., Gallelli, L., Di Paola, E. D., & De Sarro, G. (2013). Ameliorating effects of aripiprazole on cognitive functions and depressive-like behavior in a genetic rat model of absence epilepsy and mild-depression comorbidity. *Neuropharmacology*, *64*, 371-379.

Salpekar, J. A., & Mula, M. (2019). Common psychiatric comorbidities in epilepsy: How big of a problem is it? *Epilepsy & Behavior*, *98*, 293-297.

Salvati, K. A., & Beenhakker, M. P. (2019). Out of thin air: Hyperventilation-triggered seizures. *Brain research*, *1703*, 41-52.

Samotaeva, I. S., Birioukova, L. M., Midzyanovskaya, I. S., Kuznetsova, G. D., Bazyan, A. S., & Tuomisto, L. (2012). Metoprine induced behavioral modifications and brain regional histamine increase in WAG/Rij and Wistar rats. *Epilepsy research*, *101*(1-2), 148-156.

Saricicek, A., Esterlis, I., Maloney, K. H., Mineur, Y. S., Ruf, B. M., Muralidharan, A., Chen, J. I., Cosgrove, K. P., Kerestes, R., & Ghose, S. (2012). Persistent β2*-nicotinic acetylcholinergic receptor dysfunction in major depressive disorder. *American Journal of Psychiatry*, *169*(8), 851-859.

Sarkisian, M. R. (2001). Overview of the current animal models for human seizure and epileptic disorders. *Epilepsy & Behavior*, *2*(3), 201-216.

Sarkisova, K., & van Luijtelaar, G. (2011). The WAG/Rij strain: a genetic animal model of absence epilepsy with comorbidity of depressiony. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, *35*(4), 854-876.

Sarkisova, K. Y., & Kulikov, M. (2006). Behavioral characteristics of WAG/Rij rats susceptible and non-susceptible to audiogenic seizures. *Behavioural brain research*, *166*(1), 9-18.

Scali, C., Casamenti, F., Bellucci, A., Costagli, C., Schmidt, B., & Pepeu, G. (2002). Effect of subchronic administration of metrifonate, rivastigmine and donepezil on brain acetylcholine in aged F344 rats. *Journal of neural transmission*, *109*.

Scheffer, I. E., Berkovic, S., Capovilla, G., Connolly, M. B., French, J., Guilhoto, L., Hirsch, E., Jain, S., Mathern, G. W., & Moshé, S. L. (2017). ILAE classification of the epilepsies: Position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*, *58*(4), 512-521.

Senanayake, N., & Román, G. C. (1993). Epidemiology of epilepsy in developing countries. *Bulletin of the world health organization*, *71*(2), 247.

Serafini, A., Rubboli, G., Gigli, G. L., Koutroumanidis, M., & Gelisse, P. (2013). Neurophysiology of juvenile myoclonic epilepsy. *Epilepsy & Behavior*, *28*, S30-S39.

Shafaghi, A., Shahrbabaki, S. S. V., Aminzadeh, A., Heidari, M. R., Meymandi, M. S., & Bashiri, H. (2022). The effect of early handling on anxiety-like behaviors of rats exposed to valproic acid pre-and post-natally. *Neurotoxicology and teratology*, *89*, 107050.

Shah, K., Rajadhyaksha, S., Shah, V., Shah, N., & Desai, V. (1992). Experience with the International League Against Epilepsy classifications of epileptic seizures (1981) and epilepsies and epileptic syndrome (1989) in epileptic children in a developing country. *Epilepsia*, *33*(6), 1072-1077.

Sharma, R., & Pachori, R. B. (2015). Classification of epileptic seizures in EEG signals based on phase space representation of intrinsic mode functions. *Expert Systems with Applications*, *42*(3), 1106-1117.

Shorvon, S. D. (2011). The etiologic classification of epilepsy. *Epilepsia*, *52*(6), 1052-1057.

Silberberg, G., Grillner, S., LeBeau, F. E., Maex, R., & Markram, H. (2005). Synaptic pathways in neural microcircuits. *Trends in neurosciences*, *28*(10), 541-551.

Sinclair, D. B., & Unwala, H. (2007). Absence epilepsy in childhood: electroencephalography (EEG) does not predict outcome. *Journal of child neurology*, *22*(7), 799-802.

Singh, G., & Sander, J. W. (2020). The global burden of epilepsy report: Implications for low-and middle-income countries. *Epilepsy & Behavior*, *105*, 106949.

Sitnikova, E., Rutskova, E. M., & Raevsky, V. V. (2016). Maternal care affects EEG properties of spike-wave seizures (including pre-and post ictal periods) in adult WAG/Rij rats with genetic predisposition to absence epilepsy. *Brain Research Bulletin*, *127*, 84-91.

Snead III, O. C. (1995). Basic mechanisms of generalized absence seizures. *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society*, *37*(2), 146-157.

Sona, A., Zhang, P., Ames, D., Bush, A. I., Lautenschlager, N. T., Martins, R. N., Masters, C. L., Rowe, C. C., Szoeke, C., Taddei, K., & Ellis, K. A. (2012). Predictors of rapid cognitive decline in Alzheimer's disease: results from the Australian Imaging, Biomarkers and Lifestyle (AIBL) study of ageing. *International Psychogeriatrics*, *24*(2), 197-204.

Sorokin, J. M., Davidson, T. J., Frechette, E., Abramian, A. M., Deisseroth, K., Huguenard, J. R., & Paz, J. T. (2017). Bidirectional control of generalized epilepsy networks via rapid real-time switching of firing mode. *Neuron*, *93*(1), 194-210.

Steinlein, O. K. (2014). Calcium signaling and epilepsy. *Cell and tissue research*, *357*(2), 385-393.

Striessnig, J. (2016). Voltage-gated calcium channels–from basic mechanisms to disease. *The Journal of physiology*, *594*(20), 5817.

Subota, A., Pham, T., Jette, N., Sauro, K., Lorenzetti, D., & Holroyd-Leduc, J. (2017). The association between dementia and epilepsy: A systematic review and meta-analysis. *Epilepsia*, *58*(6), 962-972.

Talebi, F., Ghorbani, S., Alizadeh, L., Akhlaghi, F., Moeeni, S. S., & Karimzadeh, F. (2022). Alteration in Neuregulin 1/ERbB4 in Absence Epilepsy: Regulatory Effect on TRPV1 Expression. *BCN*, *13*(6), 777-788.

Talero-Gutiérrez, C., Sanchez-Torres, J., & Velez-van-Meerbeke, A. (2015). Learning skills and academic performance in children and adolescents with absence epilepsy. *Neurología (English Edition)*, *30*(2), 71-76.

Talley, E. M., Solórzano, G., Depaulis, A., Perez-Reyes, E., & Bayliss, D. A. (2000). Low-voltage-activated calcium channel subunit expression in a genetic model of absence epilepsy in the rat. *Molecular Brain Research*, *75*(1), 159-165.

Tatti, R., Haley, M. S., Swanson, O. K., Tselha, T., & Maffei, A. (2017). Neurophysiology and regulation of the balance between excitation and inhibition in neocortical circuits. *Biological Psychiatry*, *81*(10), 821-831.

Tenney, J. R., & Glauser, T. A. (2013). The current state of absence epilepsy: can we have your attention? the current state of absence epilepsy. *Epilepsy Currents*, *13*(3), 135-140.

Terzian, A. L. B., Aguiar, D. C., Guimarães, F. S., & Moreira, F. A. (2009). Modulation of anxiety-like behaviour by Transient Receptor Potential Vanilloid Type 1 (TRPV1) channels located in the dorsolateral periaqueductal gray. *European Neuropsychopharmacology*, *19*(3), 188-195.

Thurman, D., Logroscino, G., Beghi, E., Hauser, W., Hesdorffer, D., Newton, C., Scorza, F., Sander, J., & Tomson, T. (2017). Epidemiology Commission of the International League Against Epilepsy. The burden of premature mortality of epilepsy in high-income countries: a systematic review from the Mortality Task Force of the International League Against Epilepsy. *Epilepsia*, *58*(1), 17-26.

Tiryaki. (2021). Genetik Olarak Absans Epilepsili WAG/Rij Sıçanlarda Görülen Diken Dalga Deşarjlarına HCN Kanallarının Etkisi Ve Bu Etkide GABA-A Ve T-tipi Kalsiyum İyon Kanallarının Rolü *Acta Physiologica*, 16.

Tufenkjian, K., & Lüders, H. O. (2012). Seizure semiology: its value and limitations in localizing the epileptogenic zone. *Journal of clinical neurology*, *8*(4), 243-250.

Tunnicliff, G. (1997). Sites of action of gamma-hydroxybutyrate (GHB)–a neuroactive drug with abuse potential. *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology*, *35*(6), 581-590.

Unal, C. T., Pare, D., & Zaborszky, L. (2015). Impact of basal forebrain cholinergic inputs on basolateral amygdala neurons. *Journal of Neuroscience*, *35*(2), 853-863.

Unterberger, I., Trinka, E., Kaplan, P. W., Walser, G., Luef, G., & Bauer, G. (2018). Generalized nonmotor (absence) seizures—What do absence, generalized, and nonmotor mean? *Epilepsia*, *59*(3), 523-529.

Van den Berg, R., Awh, E., & Ma, W. J. (2014). Factorial comparison of working memory models. *Psychological review*, *121*(1), 124.

Van Luijtelaar, G., & Zobeiri, M. (2014). Progress and outlooks in a genetic absence epilepsy model (WAG/Rij). *Current medicinal chemistry*, *21*(6), 704-721.

Vanasse, C., Béland, R., Carmant, L., & Lassonde, M. (2005). Impact of childhood epilepsy on reading and phonological processing abilities. *Epilepsy & Behavior*, *7*(2), 288-296.

Varnado, S., & Price, D. (2020). Basics of modern epilepsy classification and terminology. *Current Problems in Pediatric and Adolescent Health Care*, *50*(11), 100891.

Vega, C., Guo, J., Killory, B., Danielson, N., Vestal, M., Berman, R., Martin, L., Gonzalez, J. L., Blumenfeld, H., & Spann, M. N. (2011). Symptoms of anxiety and depression in childhood absence epilepsy. *Epilepsia*, *52*(8), e70-e74.

Velazquez, J. L. P., Huo, J. Z., Dominguez, L. G., Leshchenko, Y., & Snead III, O. C. (2007). Typical versus atypical absence seizures: network mechanisms of the spread of paroxysms. *Epilepsia*, *48*(8), 1585-1593.

Venkatachalam, K., & Montell, C. (2007). TRP channels. *Annu. Rev. Biochem.*, *76*, 387-417.

Vergnes, M., Marescaux, C., Micheletti, G., Reis, J., Depaulis, A., Rumbach, L., & Warter, J. (1982). Spontaneous paroxysmal electroclinical patterns in rat: a model of generalized non-convulsive epilepsy. *Neuroscience Letters*, *33*(1), 97-101.

Verrotti, A., Cerminara, C., Domizio, S., Mohn, A., Franzoni, E., Coppola, G., Zamponi, N., Parisi, P., Iannetti, P., & Curatolo, P. (2008). Levetiracetam in absence epilepsy. *Developmental Medicine & Child Neurology*, *50*(11), 850-853.

Vigevano, F., & Fusco, L. (1993). Hypnic tonic postural seizures in healthy children provide evidence for a partial epileptic syndrome of frontal lobe origin. *Epilepsia*, *34*(1), 110-119.

Wang, Y., & Chen, Z. (2019). An update for epilepsy research and antiepileptic drug development: Toward precise circuit therapy. *Pharmacology & therapeutics*, *201*, 77-93.

Wang, Y., Tan, B., Wang, Y., & Chen, Z. (2021). Cholinergic signaling, neural excitability, and epilepsy. *Molecules*, *26*(8), 2258.

Wang, Y., Tan, B., Wang, Y., & Chen, Z. (2021). Cholinergic Signaling, Neural Excitability, and Epilepsy. *Molecules*, *26*(8).

Wang, Y., Wang, Y., Xu, C., Wang, S., Tan, N., Chen, C., Chen, L., Wu, X., Fei, F., Cheng, H., Lin, W., Qi, Y., Chen, B., Liang, J., Zhao, J., Xu, Z., Guo, Y., Zhang, S., Li, X., . . . Chen, Z. (2020). Direct Septum-Hippocampus Cholinergic Circuit Attenuates Seizure Through Driving Somatostatin Inhibition. *Biol Psychiatry*, *87*(9), 843-856.

Werhahn, K. J., Noachtar, S., Arnold, S., Pfänder, M., Henkel, A., Winkler, P. A., & Lüders, H. O. (2000). Tonic seizures: their significance for lateralization and frequency in different focal epileptic syndromes. *Epilepsia*, *41*(9), 1153-1161.

Wirrell, E., Camfield, C., Camfield, P., Gordon, K., & Dooley, J. (1996). Long-term prognosis of typical childhood absence epilepsy: remission or progression to juvenile myoclonic epilepsy. *Neurology*, *47*(4), 912-918.

Wirrell, E. C. (2010). Prognostic significance of interictal epileptiform discharges in newly diagnosed seizure disorders. *Journal of Clinical Neurophysiology*, *27*(4), 239-248.

Wirrell, E. C., Camfield, C. S., Camfield, P. R., Dooley, J. M., Gordon, K. E., & Smith, B. (1997). Long-term psychosocial outcome in typical absence epilepsy: sometimes a wolf in sheeps' clothing. *Archives of pediatrics & adolescent medicine*, *151*(2), 152-158.

Wirrell, E. C., Grossardt, B. R., Wong-Kisiel, L. C., & Nickels, K. C. (2011). Incidence and classification of new-onset epilepsy and epilepsy syndromes in children in Olmsted County, Minnesota from 1980 to 2004: a population-based study. *Epilepsy research*, *95*(1-2), 110-118.

Xu, Z., Tian, X., Wang, X., Chen, Y., Xu, Q., & Assenza, G. (2022). Editorial: The comorbid anxiety and depression disorder in patients with epilepsy: Diagnosis, prevention and treatment. *Front Neurol*, *13*, 974462.

Xuan, A.-G., Pan, X.-B., Wei, P., Ji, W.-D., Zhang, W.-J., Liu, J.-H., Hong, L.-P., Chen, W.-L., & Long, D.-H. (2015). Valproic acid alleviates memory deficits and attenuates amyloid-β deposition in transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Molecular neurobiology*, *51*, 300-312.

Yang, Z.-Q., Barrow, J. C., Shipe, W. D., Schlegel, K.-A. S., Shu, Y., Yang, F. V., Lindsley, C. W., Rittle, K. E., Bock, M. G., & Hartman, G. D. (2008). Discovery of 1, 4-substituted piperidines as potent and selective inhibitors of T-type calcium channels. *Journal of medicinal chemistry*, *51*(20), 6471-6477.

Yoshinaga, H., Ohtsuka, Y., Tamai, K., Tamura, I., Ito, M., Ohmori, I., & Oka, E. (2004). EEG in childhood absence epilepsy. *Seizure*, *13*(5), 296-302.

Zamponi, G. W. (2016). Targeting voltage-gated calcium channels in neurological and psychiatric diseases. *Nature reviews Drug discovery*, *15*(1), 19-34.

Zarrindast, M.-R., Sroushi, A., Bananej, M., Vousooghi, N., & Hamidkhaniha, S. (2011). Involvement of the dopaminergic receptors of the rat basolateral amygdala in anxiolytic-like effects of the cholinergic system. *European journal of pharmacology*, *672*(1-3), 106-112.

Zelano, J. (2021). Recurrence risk after a first remote symptomatic seizure in adults: Epilepsy or not? *Epilepsia Open*, *6*(4), 634-644.

Zlotnik, G., & Vansintjan, A. (2019). Memory: An extended definition. *Frontiers in Psychology*, *10*, 2523.

EKLER

EK 1. Etik Kurul Kararı

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

Sayı : E-68489742-604.01.03-208428
Konu : Hadyek izini hk

PROF.DR. MUSTAFA AYYILDIZ
PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ

Laboratuvar hayvanları üzerinde Araştırma amaçlı çalışma yapmak üzere başvuran Prof. Dr. Mustafa AYYILDIZ'ın 2022/08 Kabul nolu **"Genetik Absans Epilepsili Wag Rij sıçanlarda Rivastagmin'in Diken Dalga Deşarjlara Etkisi"** başlıklı projesi 24.02.2022 tarihli Kurul toplantısında OMU- HADYEK'in yönergesi kapsamında değerlendirilmiş ve Hayvan Hakları ve Deney Etik İlkelerine Uygun bulunmuştur. Karar onayı ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi rica ederim.

Prof. Dr. Mustafa AYYILDIZ
HADYEK Başkanı

Ek: ETİK KURUL KARARI 2022-08 M. AYYILDIZ

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.
Belge Doğrulama Kodu : 8B5G-GBHR-0LEH Belge Doğrulama Adresi : https://ebyssorgu.omu.edu.tr

Adres: Ondokuz Mayıs Üniversitesi Rektörlüğü
Telefon No : 0362 312 19 19 Fax No : 0362 457 60 91
e-Posta : omu@omu.edu.tr İnternet Adresi : http://www.omu.edu.tr/
Bilgi İçin :Hayriye ÇELİK
Veri Giriş Personeli
Telefon No:

ÖZ GEÇMİŞ

Elif Türkdönmez Ak, Samsun 19 Mayıs Lisesi'ni bitirdikten sonra Çanakkale 18 Mart Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik (İngilizce) bölümünden 10.06.2019 tarihinde mezun oldu. OMÜ Tıp Fakültesi Fizyoloji Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans programına girdi. Mart 2022 tarhinden beri Ordu Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalında öncelikli alan Araştırma Görevlisi olak çalışmaktadır.Haziran 2022 tarihinden beri de OMÜ Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalına Yüksek Lisans tezini yapmak üzere 35. maddeye görevlendirildi. Beyin araştırmaları labaratuvarında çeşitli çalışmalarda görev aldı ve ileri derecede İngilizce bilmektedir (Yök Dil: 77,5). Temel ilgi alanları, insan fizyolojisi, moleküler biyoloji ve genetiktir.

İletişim Bilgileri

ORCID ID : 0000-0001-9609-3624

Yayınlar:

1- SalehiB, ZakariaZA,GyawaliR, IbrahimSA,RajkovicJ, ShinwariZK,etal. Piper species: A comprehensive review on their phytochemistry, biological activities and applications. Molecules. 2019;24(7):1364.

2. Türkdönmez E, Terzi M. Nsaıds Medication For Headache As The Presenting Symptom With Migraine And Covıd-19. Journal Of Experimental And Clinical Medicine. 2021;38(4):645-8.

3. Alver, Berna; Arslan, Gokhan; Al Kaleel, Ali Zaher ; Turkdonmez, Elif; Tiryaki, Emre Soner ; Ayyildiz, Mustafa; Agar, Erdal The Effect of Metformin on Spike Wave Discharges in Genetic Absence Epileptic WAG/Rij Rats, Volume234; Page62 62, Supplement724, 11 2022 Acta Physiologica

4. Turkdonmez E., Okuyucu B., Hatipoğlu B., Tiryaki S, Arsalan G., Ayyıldız M., Ağar E. : Absans Epilepsili Wag/Rij Sıçanlarda Rivastigminin Diken Dalga Deşarjlarına Etkisi ve T-Tipi Kalsiyum Kanallarıyla Ilişkisi. Volume237; Page34, Supplement727, 1 2023 Acta Physiologica

5. Turkdonmez E., Okuyucu B., Hatipoğlu B., Tiryaki S., Arsalan G., Ayyıldız M., Ağar E. : Pentilentetrazol ile sıçanlarda oluşturulan deneysel epilepsiye Rivastigminin Etkisi. Volume237; Page65, Supplement727, 1 2023 Acta Physiologica

6. Turkdonmez E., Okuyucu B., Hatipoğlu B., Tiryaki S., Arsalan G., Ayyıldız M., Ağar E. : Absans Epilepsili Wag/Rij Sıçanlarda Levatrasetam ve Valproik Asidin Etkileri. Volume237; Page66, Supplement727, 1 2023 Acta Physiologica

7. Turkdonmez E., Okuyucu B., Hatipoğlu B., Tiryaki S., Arsalan G., Ayyıldız M., Ağar E. : Absans Epilepsili Wag/Rij Sıçanlarda Magnezyumun Diken Dalga Deşarjlarına Etkisi. Volume237; Page67, Supplement727, 1 2023 Acta Physiologica

8. Çelik, Z. B., Tiryaki, E. S., Türkdönmez, E., ÇİÇEKLİ, M. N., Altun, A., & GÜNAYDIN, C. (2023). Parallel changes in the promoter methylation of voltage-gated T-type calcium channel alpha 1 subunit G and histone deacetylase activity in the WAG/Rij model of absence epilepsy. Journal of Health Sciences and Medicine, 6(1), 92-98.

Kongreler:

1. Kurt B., Ozleyen A., Turkdonmez E., Antika G., Yilmaz B., Boyunegmez Tumer T. : Neuroprotectıve potentıal of strıgolactones on lps-actıvated braın endothelıal and mıcroglıal cells, FENS. 2019; P312:536 (Poster Sunumu)

2. Alver B., Arslan G., Turkdonmez E., Al Kaleel Ali., Tiryaki S., Ayyıldız M. : Genetik Absans Epilepsili WAG/Rij Sıçanlarda Görülen Diken Dalga Deşarjlarına Metformin'in Etkisi. 46. TFD Kongresi, 2021 PS11-61 (Sözlü Sunum)

3. Asan E., Turkdonmez E., Tiryaki S., Arsalan G. : Pentilentetrazol ile sıçanlarda oluşturulan deneysel epilepsiye ilacı Tofacitinib'in etkisi. 5. Uluslararası Sağlık bilimleri ve inovasyon kongresi, Bildiri Özeti, Mayıs, 2021 PS07-77 (Sözlü Sunum)

4. Turkdonmez E., Okuyucu B., Hatipoğlu B., Tiryaki S, Arsalan G., Ayyıldız M., Ağar E. : Absans Epilepsili Wag/Rij Sıçanlarda Rivastigminin Diken Dalga Deşarjlarına Etkisi ve T-Tipi Kalsiyum Kanallarıyla Ilişkisi. Türk Fizyolojik Bilimler Derneği 47. Ulusal Kongresi, Bildiri Özeti, Kasım, Antalya, 2022 SS38-34 (Sözlü Sunum)

5. Turkdonmez E., Okuyucu B., Hatipoğlu B., Tiryaki S., Arsalan G., Ayyıldız M., Ağar E. : Pentilentetrazol ile sıçanlarda oluşturulan deneysel epilepsiye Rivastigminin Etkisi. Türk Fizyolojik Bilimler Derneği 47. Ulusal Kongresi, Bildiri Özeti, Kasım, Antalya, 2022 PS43-65 (Poster Sunumu)

6. Turkdonmez E., Okuyucu B., Hatipoğlu B., Tiryaki S., Arsalan G., Ayyıldız M., Ağar E. : Absans Epilepsili Wag/Rij Sıçanlarda Levatrasetam ve Valproik Asidin Etkileri. Türk Fizyolojik Bilimler Derneği 47. Ulusal Kongresi, Bildiri Özeti, Kasım, Antalya, 2022 PS44-66 (Poster Sunumu)

7. Turkdonmez E., Okuyucu B., Hatipoğlu B., Tiryaki S., Arsalan G., Ayyıldız M., Ağar E. : Absans Epilepsili Wag/Rij Sıçanlarda Magnezyumun Diken Dalga Deşarjlarına Etkisi. Türk Fizyolojik Bilimler Derneği 47. Ulusal Kongresi, Bildiri Özeti, Kasım, Antalya, 2022 PS46-67 (Poster Sunumu)