



T.C.

**ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**OMENTİNİN ABSANS EPİLEPSİ ÜZERİNDEKİ OLASI
KORUYUCU VE TEDAVİ EDİCİ ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Bio. Hüsniye BİLGE

**FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Kenan GÜMÜŞTEKİN**

Bu çalışma Abant İzzet Baysal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. (Proje numarası: 2015. 08. 02 841)

Haziran 2016

BOLU

Abant İzzet Baysal Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne

Bu çalışma, jürimiz tarafından oy birliği/ ~~oy çokluğu~~ ile Fizyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Kenan GÜMÜŞTEKİN
Fizyoloji Anabilim Dalı
Abant İzzet Baysal Üniversitesi

(imza)

Prof. Dr. Aysel KÜKNER
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı
Abant İzzet Baysal Üniversitesi

(imza)

Prof. Dr. Recep ÖZMERDİVENLİ
Fizyoloji Anabilim Dalı
Düzce Üniversitesi

(imza)

Tarih: 23/ 06/ 2016

Bu tez ile AİBÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Hüsniye BİLGE' nin Yüksek Lisans derecesini onaylamıştır.

Prof. Dr. Erol AYAZ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

(imza)

ÖZET

OMENTİNİN ABSANS EPİLEPSİ ÜZERİNDEKİ OLASI KORUYUCU VE TEDAVİ EDİCİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Epilepsi, merkezi sinir sisteminin en yaygın hastalıklarından birisidir. Ethasüksimid, absans epilepsinin semptomatik tedavisinde kullanılan bir ilaçtır. Omentin adipoz dokunun visseral stroma damar hücrelerinden salgılanan yeni bir adipokindir. Çalışmamızda Omentinin absans epilepsideki Diken Dalga Deşarj ortalama süreleri, süreleri üzerine etkinliği araştırılması amaçlandı. Omentin AMP-aktivate edici protein kinaz (AMPK) etkinliğini artırmaktadır ve AMPK'nın GABA_B reseptörleri ile ilişkili olduğu bilinmektedir. GABA_B reseptörleri, R₁ ve R₂ alt ünitelerinden oluşan heterodimerik G protein reseptörleridir. AMPK R₁ alt birime bağlanır ve R₂ alt birimindeki S783'ü direkt olarak fosforile eder. Bu fosforilasyon ise K⁺ kanallarının (GIRK) GABA reseptör aktivasyonunu artırmaktadır. Fosforilasyon neticesinde reseptörün fonksiyonunda yükselme, Ca⁺⁺ kanallarının kapatılması ve K⁺ kanallarının teşvikinin söz konusu olduğunu ifade etmektedirler.

Bu çalışma için 250-350gr WAG/Rij erkek sıçan ve Wistar Albino erkek sıçan kullanıldı. Stereotaksik işlemlerden sonra tüm sıçanlar direkt kortikal EEG ölçümüne hazır hale getirildi. Hayvanlar 8 gruba ayrıldı. Wistar Albino grubundaki hayvanlardan Grup A1: Kontrol, Grup A2: Pentilentetrazol (PTZ), Grup A3: Etosüksimid+PTZ, Grup A4: Etosüksimid ve PTZ'nin Omentin ile birlikte uygulanması, Grup A5: Omentin+PTZ, Grup A6: PTZ+Omentin uygulanması sonucu altı gruba ayrıldı. Etosüksimid (125mg/kg/3 gün), Omentin (8µg/kg/3gün) ve PTZ (40mg/kg) intraperitoneal olarak uygulandı. Etosüksimid uygulanan grupta DDD sayısı, ortalama süresi ve latent periyotta azalma görüldü (p<0,05). Etosüksimid ve PTZ'nin Omentin ile kombine uygulandığı grupta latent periyot değerinde Etosüksimid etkinliğini artırdığı görüldü (p<0,05). Grup B1 WAG/Rij hayvanların kontrol grubu kabul edildi ve Grup B2'de WAG/Rij hayvanlara Omentin uygulandı (p>0,05). Sonuç olarak, GABA reseptörü üzerinden AMPK yolağını tetiklediği bilinen Omentinin tek başına etkinliği görülmemiş olmasına rağmen Etosüksimid ile birlikte uygulandığında tedaviyi güçlendirdiğini söyleyebiliriz.

Anahtar Kelimeler: Omentin, Epilepsi, WAG/Rij, PTZ

ABSTRACT

INVESTIGATION OF POSSIBLE THERAPEUTIC AND PREVENTIVE EFFECT OF OMENTIN ON ABSENCE EPILEPSY

Epilepsy is one of the frequently observed central nervous system disorder. Ethosuximide (ETX) is a drug of choice for the symptomatic treatment of absence seizures. Omentin is an adipocytokine that is abundantly expressed in visceral fat tissue. Omentin increases AMP-activated protein kinase (AMPK) phosphorylation, GABA_B receptors are intimately associated with 5'AMP- dependent protein kinase (AMPK). GABA_B receptors are heterodimeric G protein-coupled receptors composed of R₁ and R₂ subunits. GABA_B receptors mediate slow prolonged inhibition in the brain by activating postsynaptic inwardly rectifying K⁺ channels (GIRKs) and inactivating presynaptic voltage-gated Ca⁺⁺ channels.

For this experiment male, having weight of 250- 350 gr WAG/ Rij (n= 16) and Wistar Albino (n=40) rats were used. After stereotaxic surgical procedures, all rats were returned ready for direct measurement of cortical EEG. Subject were separated into seven groups. Group A1: Control, Group A2: Pentylentetrazol (PTZ), Group A3: Ethosuximide + PTZ, Group A4: Ethosuximide + PTZ combined with Omentin, Group A5: Omentin+ PTZ, Group A6: PTZ+ Omentin as a result of the implementation of six groups in Wistar Albino rats. Ethosuximide (125mg/kg/3 day), Omentin (8 µg/ kg/3 day) and PTZ (40 mg/kg) administered intraperitoneally. DDD group treated with Ethosuximide, number, latens period and average duration of the reduction (p<0,05). Omentin and Ethosuximide ctiveness of the DDD group (0, 05). Group B1(WAG/Rij) was accepted as an control group and Group B2 (WAG/Rij) was used for Omentin experiment (p>0,05).

As a result, Ethosuximide led to a decrease in the effective absance seizure. Omentin administered with Ethosuximide treatment were strenghened.

Keywords: Omentin, Epilepsy, WAG/Rij, PTZ

TEŞEKKÜR

Fizyoloji bölümünde almış olduğum eğitim sırasında danışmalığımı sürdüren sayın Prof. Dr. Kenan GÜMÜŞTEKİN'e ve bölüm çalışanlarına, çalışmamdaki histolojik değerlendirmeler sırasında benimle özel ilgilenerek öğrenmem için emek veren Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Aysel KÜKNER'e ve bölümündeki arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Bu projeyi finansal olarak destekleyen Abant İzzet Baysal Üniversitesi Rektörlüğüne (Bilimsel Araştırmalar Projeleri Birimi'ne) teşekkür ederim.

Güzel arkadaşlıkları için Arş. Gör. Didem AYHAN DURAK ve Arş. Gör. Ezgi BOZKURT'a, Olgu ALPERAT KILIÇ'a, Tuğçe PAKSOY'a, desteklerini, fikirlerini, tecrübelerini, benimle paylaşan değerli ağabeylerim Uzman Mücahit ÇAKMAK'a ve Yrd. Doç. Dr. Murat DIRAMALI'ya teşekkür ederim.

Eğitimim sırasında çalıştığım ve tez çalışmalarımı gerçekleştirdiğim Abant İzzet Baysal Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi ailesine teşekkür ederim.

Eğitimim sırasında ve tez dönemimde maddi manevi desteğini her zaman hissettiğim, saygı duyduğum kıymetli hocam, enstitü müdürüm Sayın Prof. Dr. Erol AYAZ'a gönülden teşekkürü bir borç bilirim.

Yaşamım boyunca desteklerini esirgemeyen annem, babam ve ağabeyime sonsuz sevgilerimi sunarım.

Hüsniye BİLGE

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	iii
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar	ix
ŞEKİLLER	xi
GRAFİKLER	xii
SİMGELER ve KISALTMALAR	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Epilepsi	4
2.1.1. Tanım	4
2.1.2. Epidemiyoloji.....	5
2.1.3. Etiyoloji.....	6
2.1.3.1. İdiyopatik Epilepsiler	6
2.1.3.2. Kriptojenik Epilepsiler	6
2.1.3.3. Semptomatik Epilepsiler.....	7
2.1.4. Sınıflandırma.....	7
2.1.5. Fizyopatolojisi.....	10
2.2. Elektroensefalogram (EEG)	13
2.2.1. EEG Dalgaları	13
2.2.2. Frekans ve Amplitüdlerine Göre EEG’de Kaydedilen Beyin Dalgaları.....	14
2.3. İdiyopatik Jeneralize Absans Epilepsi.....	17
2.4. Absans Epilepsi Deneysel Hayvan Modelleri	18
2.4.1. WAG/Rij	19
2.4.2. PTZ.....	19
2.5. Absans Epilepsinin Fizyopatolojisi	21
2.6. Diken Dalga Deşarj	23
2.7. Antiepileptik İlaç	23

2.7.1. Antiepileptik İlaçların Etki Mekanizması	24
2.7.2. Epilepside İlaç Tedavisinin Temel İlkeleri	24
2.7.3. Etosüksimid.....	25
2.8. Yağ Doku	25
2.8.1. Bir Endokrin Organ Olarak Adipoz Doku	26
2.8.2. Yeni Bir Adipokin Omentin.....	26
2.8.3. Omentinin Enerji Metabolizmasındaki Rolü	27
2.8.4. Omentin ve İyon Kanalları.....	28
2.9. Absans Epilepside İmmünohistokimyasal Değerlendirme.....	28
2.9.1. <i>c-fos</i> Geni ve Ekspresyonu.....	28
2.9.2. <i>c-fos</i> İşlevi	28
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	30
3.1. Deney Hayvanları.....	30
3.2. Deney Grupları	30
3.3. Deneyde Kullanılan Maddeler.....	30
3.4. Deney Dizaynı	31
3.5. Stereotaksik Uygulama.....	31
3.6. Deney Protokolü.....	32
3.7. DDD'ların Değerlendirilmesi.....	33
3.8. Histolojik Değerlendirme	34
3.8.1. Hayvanlar ve Dokuların Hazırlanması.....	34
3.8.2. İmmünohistokimyasal Boyama Prosedürü	35
3.9. İstatistiksel Değerlendirme.....	37
4. BULGULAR.....	39
4.1. DDD Sayısı Açısından Değerlendirme	40
4.1.1. Omentin'in Wistar Albino Sıçanlarda DDD Sayısına Etkisi	40
4.1.2. Omentin ve Etosüksimid Kombine Uygulamasının Wistar Albino Sıçanlarda DDD Sayısına Etkisi	41
4.1.3. Omentin'in WAG/ Rij Sıçanlarda DDD Sayısına Etkisi	42
4.1.4. DDD Ortalamaları Süresi Açısından Değerlendirme.....	42
4.1.4.1. Omentin'in Wistar Albino Sıçanlarda DDD Ortalama Süresine Etkisi.....	43

4.1.5. Omentin ve Etosüksimid Kombine Uygulamasının Wistar Albino Sıçanlarda DDD Ortama Süresine Etkisi.....	44
4.1.6. Omentin'in WAG/Rij Sıçanlarda DDD Ortama Süresine Etkisi	45
4.2. Latent Dönem Açısından Değerlendirme	45
4.2.1. Omentin'in Wistar Albino Sıçanlarda Latent Periyot Üzerine Etkisi	46
4.2.2. Omentin ve Etosüksimid Kombine Uygulamasının Wistar Albino Sıçanlarda Latent Periyot Üzerine Etkisi.....	47
4.3. <i>c-fos</i> Ekspresyonunun Histolojik Görüntü Açısından Değerlendirilmesi	48
4.4. <i>c-fos</i> İmmünohistokimyasal Boyanma Açısından Semikantitatif Olarak Değerlendirme.....	49
4.4.1. Omentin ve Etosüksimid Kombine Uygulamasının Wistar Albino Sıçanlarda <i>c-fos</i> Boyamasının Semikantitatif Olarak Değerlendirilmesi.....	49
4.4.2. Omentin Uygulamasının Wistar Albino Sıçanlarda <i>c-fos</i> Boyamasının Semikantitatif Olarak Değerlendirilmesi	52
4.4.3. Omentin'in WAG/ Rij Sıçanlarda <i>c-fos</i> Boyamasının Semikantitatif Olarak Değerlendirilmesi.....	55
5. TARTIŞMA	59
6. SONUÇ.....	63
7. KAYNAKLAR	64
8. ÖZGEÇMİŞ.....	69

TABLÖLAR

Tablo 2.1: Epilepsi ve Epileptik Sendromların Sınıflandırılması	8
Tablo 2.2: ILAE'nın önerilen yeni sınıflandırma planı	9
Tablo 3.1: Deney Grupları	30
Tablo 4.1: Wistar Albino Grupları için EEG parametrelerinin ve <i>c-fos</i> ekspresyonu olan hücre sayısının ortalama değerleri ve standart sapmaları	39
Tablo 4.2: WAG/Rij Grupları için EEG parametrelerinin değerlerinin <i>c-fos</i> ekspresyonu olan hücre sayısının ortalama ve standart sapmaları	39
Tablo 4.3: Grup A2, Grup A5, Grup A6 minimum, maksimum, mean, median ve standart sapma değerleri	40
Tablo 4.4: Grup A2, Grup A3, Grup A4 minimum, maksimum, mean, median ve standart sapma değerleri	41
Tablo 4.5: Grup B1 ile Grup B2 minimum, maksimum, mean, median ve standart sapma değerleri	42
Tablo 4.6: Grup A2, Grup A5, Grup A6 minimum, maksimum, mean, median ve standart sapma değerleri	43
Tablo 4.7: Grup A2, Grup A3, Grup A4 minimum, maksimum, mean, median ve standart deviation değerleri.....	44
Tablo 4.8: Grup B1 ile Grup B2 minimum, maksimum, mean, median ve standart deviation değerleri	45
Tablo 4.9: Grup A2, Grup A5, Grup A6 minimum, maksimum, mean, median ve standart sapma değerleri	46
Tablo 4.10: Grup A2, Grup A3, Grup A4 minimum, maksimum, mean, median ve standart deviation değerleri.....	47
Tablo 4.11: Grup A2, Grup A3, Grup A4'nın zayıf boyanan hücre sayılarının Min, Max, Mean, Median, S.sapma değerleri	49
Tablo 4.12: Grup A2, Grup A5, Grup A6'nın zayıf boyanan hücre sayılarının Min, Max, Mean, Median, S.sapma değerleri	52
Tablo 4.13: Grup A2, Grup A5, Grup A6'nın orta boyanan hücre sayılarının Min, Max, Mean, Median, S.sapma değerleri	53

Tablo 4.14: Grup A2, Grup A5, Grup A6'nın güçlü boyanan hücre sayılarının Min, Max, Mean, Median, S.sapma değerleri.....	54
Tablo 4.15: Grup B1 ve Grup B2'nin zayıf boyanan hücre sayılarının Min, Max, Mean, Median, S.sapma değerleri.....	55
Tablo 4.16: Grup B1 ve Grup B2'nin orta boyanan hücre sayılarının Min, Max, Mean, Median, S.sapma değerleri.....	56
Tablo 4.17: Grup B1 ve Grup B2'nin güçlü boyanan hücre sayılarının Min, Max, Mean, Median, S.sapma değerleri.....	57



ŞEKİLLER

Şekil 2.1: Farklı durumlar süresince elde edilen EEG Dalgaları.....	14
Şekil 2.2: Alfa Dalgası.....	14
Şekil 2.3: Beta Dalgası	15
Şekil 2.4: Teta Dalgası.....	15
Şekil 2.5: Delta Dalgası	15
Şekil 2.6: Lamda Dalgası.....	16
Şekil 2.7: Mü Dalgası	17
Şekil 2.8: Gama Dalgası	17
Şekil 2.9: Absans Epilepside Diken Dalga Deşarjları	18
Şekil 2.10: WAG/Rij	19
Şekil 2.11: PTZ' nin Moleküler Yapısı	20
Şekil 2.12: Sıçan Thalamus Konumu	22
Şekil 2.13: Sıçan Retiküler Çekirdek.....	22
Şekil 2.14: EEG'de DDD örneği	23
Şekil 2.15: Etosüksimid Moleküler Yapısı ve Ca ⁺⁺ Kanalları.....	25
Şekil 3.1: EEG Kayıtlarının Alınması İçin İşlemler.....	32
Şekil 3.2: PTZ uygulaması sonrası sıçanlarda görülen bilateral Diken Dalga Deşarjları.....	33
Şekil 3.3: WAG/ Rij sıçanlarda görülen bilateral Diken Dalga Deşarjları.....	33
Şekil 3.4: Histolojik İşlem Aşamaları.....	37
Şekil 4.1: İmmünohistokimyasal Boyama Görüntüleri	48

GRAFİKLER

Grafik 4.1: DDD sayısına göre Grup A2, A5, A6 değerlendirilmesi	40
Grafik 4.2: DDD sayısına göre Grup A2, A3, A4 değerlendirilmesi	41
Grafik 4.3: DDD sayısına göre Grup B1, B2 değerlendirilmesi.....	42
Grafik 4.4: Ortalama Süresine Göre Grup A2, A5, A6 Değerlendirilmesi	43
Grafik 4.5: Ortalama Süresine Göre Grup A2, A3, A4 Değerlendirilmesi	44
Grafik 4.6: DDD Ortalama Süresine Göre Grup B1, B2 Değerlendirilmesi	45
Grafik 4.7: Latent Periyoda Göre Grup A2, A5, A6 Değerlendirilmesi.....	46
Grafik 4.8: Latent Periyoda Göre Grup A2, A3, A4 Değerlendirilmesi.....	47
Grafik 4.9: Zayıf Boyanan Hücreler Açısından Grup A2, Grup A3 ve Grup A4 Arasında Semikantitatif Değerlendirme.....	50
Grafik 4.10: Orta Boyanan Hücreler Açısından Grup A2, Grup A3 ve Grup A4 Arasında Semikantitatif Değerlendirme	51
Grafik 4.11: Güçlü Boyanan Hücreler Açısından Grup A2, Grup A3 ve Grup A4 Arasında Semikantitatif Değerlendirme	52
Grafik 4.12: Zayıf Boyanan Hücreler Açısından Grup A2, Grup A4 ve Grup A5 Arasında Semikantitatif Değerlendirme	53
Grafik 4.13: Orta Boyanan Hücreler Açısından Grup A2, Grup A4 ve Grup A5 Arasında Semikantitatif Değerlendirme	54
Grafik 4.14: Güçlü Boyanan Hücreler Açısından Grup A2, Grup A4 ve Grup A5 Arasında Semikantitatif Değerlendirme	55
Grafik 4.15: Orta Boyanan Hücreler Açısından Grup B1 ve Grup B2 Arasında Semikantitatif Değerlendirme	56
Grafik 4.16: Güçlü Boyanan Hücreler Açısından Grup B1 ve Grup B2 Arasında Semikantitatif Değerlendirme	57
Grafik 4.17: Güçlü Boyanan Hücreler Açısından Grup B1 ve Grup B2 Arasında Semikantitatif Değerlendirme $p=0,546$	58

SİMGELER ve KISALTMALAR

WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
EEG	: Elektroensefalogram
DDD	: Dalga ve Diken Deşarjı
WAG/Rij	: Wister Albino Glaxo Rats From Rijswijk
AMPK	: AMP Aktive Edici Protein Kinaz
GABA	: Gamma Butirik Asit
ILAE	: Uluslararası Epilepsiyle Savaş Birliği
NMDA	: N-metil D-Aspartat
IPSP	: İnhibitör Postsinoptik Potansiyel
EPSP	: Eksitator Postsinoptik Potansiyel
GAERS	: Genetik Absence Epileplepsy Rat from Strasbourg
PTZ	: Pentilentetrozol
IFSECH	: Uluslararası Elektroensefalografi ve Klinik Nörofizyoloji Terminaloji Komitesi
BAT	: Kahverengi Yağ Dokusu
WAT	: Beyaz Yağ Dokusu
AICAR	: Aktive Edici Protein Kinaz Aktivitörü
HAECs	: İnsan Aortik Endotel Hücreleri
IEG	: İlk Yanıt Veren Genler
ETX	: Etosüksimid
DAB	: Diamino Benamid
OM	: Omentin

1. GİRİŞ

Dünya nüfusunun yaklaşık olarak %1'nin hayatlarının bir döneminde etkilendiği en yaygın nörolojik sorunlardan biri olan epilepsi beyinde nöronal aktivite artışına (nöronal hipereksitabilite) bağlı olarak gelişen spontan ve tekrarlayıcı nöbetlerle karakterize epizodik serebral disfonksiyondur (1). Epilepsi nöbetinin köken aldığı alan gri maddedeki hızlı elektriksel deşarjlardır. Bir grup kortikal nöronun aşırı ve senkronize deşarjına bağlı olarak ortaya çıkan ve klinikte gelip geçici motor, duysal, duyumsal, duygusal, bilişsel ve otonom belirtilerle şekillenen bir durumdur. Bir nöbetin ortaya çıkma şekli, anormal deşarjın hangi nöron grubundan kaynaklandığına ve ne kadar uzağa hangi hızla yayıldığına bağlıdır (2).

Epilepsi tüm dünyada yaygın bir biçimde görülebilen ve hiçbir etnik fark, cinsiyet ayrımı ve yaş sınırlaması tanımayan bir hastalıktır (3). İnsanlık tarihinin bilinen en eski hastalıklarından biri olan epilepsi halen her yaşta etkilemektedir. Dünya çapında 50 milyon insanın epilepsi tanısı olduğu bilinmektedir. Epilepsi gelişmiş ülkelerde de 6/1000 oranının görüldüğü ve WHO protokolüyle gerçekleştirilen prevelans çalışmalarında gelişmekte olan ülkelerde bu oranın ortalama 18.9/1000 olduğu bildirilmektedir. Artan prevelansı ve insidansı, düşük sosyoekonomik durum, sağlık hizmetlerine sınırlı erişim ve nörosistiserkozis gibi çevresel etkenlere bağlı olabilmektedir (4).

Semptomatik, idiyopatik, akut ve kriptojenik epilepsiler hastalığın ana formlarını oluşturur. İdiyopatik epilepsiler, hiçbir ağır nöroanatomik veya nöropatolojik anormallik barındırmayan genetik kökenli olduğu varsayılan veya baskın genetik bir epilepsi olarak tanımlanmıştır. Yani bu epilepsi grubu multijenik ve genetiği tam aydınlatılamamış karmaşık kalıtım epilepsileridir (5).

15 yaşın altında karşılaşılan epilepsilerin büyük çoğunluğu idiyopatikdir yani genetik yatkınlık dışında herhangi bir tanımlanabilir ve şüphelenilen bir neden olmadan gelişir (6). Çocukluk çağı absans epilepsisi idiyopatik epilepsiler grubuna dâhildir. Absans nöbetler için tanı koydurucu olan farklı bir iktal EEG yapısı, 2,5-3,5 Hz bilateral diken ve dalga deşarjı (DDD) ile karakterizedir (7). İdiyopatik

jeneralize grup içindeki absans epilepsi 3-12 yaş aralığındaki sağlıklı çocuklarda görülür. Absans epilepsi, kısa absansların varlığı veya 2-30 saniyelik değişken süreli sık ve ani bilinç kayıplarıyla karakterizedir. Bu bilinç kayıpları (absans nöbetler) genellikle bakan veya hayal kuran olarak tarif edilmektedir (8). İdiyopatik jeneralize absans epilepsinin patogenezi tam olarak aydınlatılamasa da, kortiko talamo kortikal döngünün, özellikle thalamusun ventrobazal ve retiküler çekirdeklerinin ve korteksin somatosensoryal bölgenin önemli rolü olduğu bilinmektedir. Absans epilepsinin patogenezi ya da farmakolojik profilini aydınlatmada gerek genetik gerekse kimyasal ajanlarla oluşturulan birçok model kullanılmaktadır. Absans tipi konvülsif olmayan nöbet kriterlerini taşıyan ve en çok kullanılan deneysel modellerden birisi WAG/Rij (Wistar Albino Glaxo Rats From Rijswijk) absans epilepsili hayvan modelidir. Bu model insandaki epilepsinin nörofizyolojik, farmakolojik ve davranışsal özelliklerini bir arada bulundurmaktadır (9). Bu hayvanlar absans epilepsinin poligenetik sıçan modeli olarak kabul görmektedir (10).

İlaç tedavisinin genellikle ömür boyu olduğu epilepsi kronik bir hastalıktır. Antiepileptik tedavinin hangi şekilde başlanacağı çeşitli faktörler göz önüne alınarak şekillenmektedir ve hastanın yaşam kalitesi ve nöbet sayısının düşürülmesi için uygun bir tedavi programı yapılmaktadır. Nöbetleri kontrol altına alınamamış absans epilepsili hastaların varlığı yeni çalışmalara olan ihtiyacı ortaya koymaktadır. Omentin yağ dokusunun visseral stroma damar hücrelerinden salgılanan yeni bir adipokindir (11). Omentinin sinyal transdüksiyonunda AMPK aktivasyonunu artırdığını ve AMPK yolağı üzerinden membran GABA_B-R₁ ve GABA_B-R₂ reseptörlerini aktive ettiğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır. GABA_B reseptörü santral sinir sistemi inhibisyonuna neden olan bir GABA reseptör alt tipidir (12). Bu inhibisyon nöronal deşarjların sonlanmasını ve baskılanmasını sağlar. Bu bilgiler ışığında planlanan çalışmada, omentinin bahsi geçen yollar üzerinden epilepsi patolojisinde koruyucu ve tedavi edici etkisinin olabileceğini düşünmekteyiz (13,14,15). Bu çalışmada son zamanlardaki araştırmalar ışığında tanımlanan yağ dokusu mediyatörlerinden olan Omentinin absans epilepsi üzerinde olası koruyucu etkilerinin araştırılmasını amaçladık. Çalışmada Omentin'in (8µg/kg/3gün) WAG/Rij grubuna ve Wistar Albino grubuna

önleyici ve tedavi edici etkisi araştırılmış olup EEG kayıtlarında DDD üzerine etkileri karşılaştırılmıştır ve immünohistokimyasal boyama yapıp thalamus bölgesindeki nöronlarda *c-fos* aktivasyonları değerlendirilip literatüre katkı sağlanması planlanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Epilepsi

Dünya nüfusunun yaklaşık olarak %1'nin hayatlarının bir döneminde etkilendiği en yaygın nörolojik sorunlardan biri olan epilepsi hiçbir etnik fark, cinsiyet ayrımı ve yaş sınırı tanımamaktadır. Epilepsi Yunancada *epilambanien* kelimesinden köken alan “kavramak”, “yakalamak” anlamlarına gelmektedir. Antik çağlarda dinsel kökenli olduğu düşünülen hastalığın tanrı veya kötü ruhlar tarafından gönderildiği ve epilepsi hastalarının tanrı tarafından cezalandırıldığı düşünülmüştür. Böylelikle hastaların toplum tarafından dışlanması ve toplumsal alanlara girişlerine yasaklar konulmuştur.

2.1.1. Tanım

Epilepsi santral sinir sisteminde, kortikal veya subkortikal bölgelerdeki nöronların ani, anormal ve hipersenkron deşarjlarıyla karakterize epizodik serebral disfonksiyonudur. Epilepsi nöbeti, gri maddedeki nöronların somatik veya psişik fonksiyonlarıyla artmış, hızlı elektriksel deşarjlardan köken alır. Klinikte belli bir süreyle sınırlı olarak bilinç, davranış, hareket, duygu ve algılama fonksiyonlarıyla ilgili geçici bozukluklarla karakterizedir (1).

Epileptik nöbet bir semptomdur ve birçok kişi belirli koşullar altında (hipoglisemi, hipoksi, entoksikasyonlar, elektrolit bozukluklar v.b) bir epileptik nöbet geçirebilir. Bu gibi koşullarda nöbet geçiren kişiye epileptik hasta tanısı koymak uygun değildir. Bu tip nöbetlere “duruma bağlı nöbet” denir. Anormal epileptik deşarjın ortaya çıktığı nöronlar, yayıldığı anatomik yollar veya bölgeler nöbetin klinik görünümünü belirler. Parsiyel (fokal) nöbetler, kortekste ki veya subkortikal yapılardaki belli bir bölgede sınırlı kalır. Yüz, kol veya bacakta kasılma ile karakterize parsiyel nöbetlere (basit parsiyel) bilinç kaybı eklendiğinde kompleks parsiyel nöbetler olarak adlandırılır. Duyusal nöbetlerde, korteksin duyu bölgelerinden kaynaklanan bu nöbet tipinde ilgili beden kısmında uyuşukluk, iğnelenme, görsel ve tad duyusuyla ilgili halüsilasyonlar hissedilebilir. Otonom nöbetlerde ise kusma, terleme gibi otonomik belirtilerle karakterize edilebilen durumlar meydana gelir. Son olarak, jeneralize nöbetlerde deşarjlar her iki

hemisferde birden meydana gelir. Bilinç bozulabilir ve etkilenen alan çift taraflı olduğu için motor belirtiler her iki tarafta görülür (1, 16).

2.1.2. Epidemiyoloji

Epidemiyoloji çalışmaları, toplumdaki hastalık, kaza ve sağlıkla ilgili durumların dağılımını, görülme sıklıklarını ve bunları etkileyen belirteçleri incelemektedir. Ayrıca sağlığı geliştirmeyi ve hastalıkları azaltmak adına sağlık bilgilerini toplamayı, yorumlamayı ve kullanmayı hedef almıştır. Epilepsi insanlığın bilinen en eski koşullarından bu yana her yaştan, cinsiyetten ve etnik kökenden insanı etkileyen en yaygın nörolojik durumlardan birisidir. Epilepsinin prevalansı, belli bir süre içinde belirlenen vakaların bölgedeki yerleşik nüfusa oranlanmasıyla hesaplanır. Dünyada epilepsi tanısı konmuş 50 milyon kişinin olduğu tahmin edilmektedir. Bu sayının %80'i gelişmekte olan ülkelerdendir. Çoğu durumda tedavi edilebilir olmasına rağmen %75'i uygun tedavi almamaktadır. Aktif epilepsi prevalansı olarak tanımlanan grup için son beş yıl içinde nöbet geçirmiş ve antikonvülsan ilaç kullanan kişiler anlaşılmalıdır. Yaşamlarında iki veya daha fazla epilepsi nöbeti geçirmiş kişiler için ise yaşam boyu epilepsi prevalansı terimi kullanılır (17). Aktif prevalansı olan bireyler için gelişmiş ülkelerde epilepsi prevalansı 6/1000 iken gelişmekte olan ülkelerde bu oran 18.5/1000 olduğu WHO protokolü ile hesaplanmıştır (5, 18).

İngiltere'de yaklaşık 600000 kişi epilepsi tanısı ile antiepileptik ilaç kullanmaktadır. Bu yaklaşık olarak her 103 insandan birisinin epilepsi olduğu anlamına gelmektedir. Araştırma sonucunda ise İngiltere'de epilepsi sıklığı %0,97 olarak bulunmuştur.

Epilepsi dünyada en yaygın ve ciddi nörolojik rahatsızlıklardan birisi olmasına rağmen Türkiye'de yapılan prevalans çalışmaları kısıtlıdır. Yapılan çalışmalarda tüm ülke genelinde olmayıp küçük topluluklar üzerinden yürütülmüştür. Son yapılan araştırmalardan birisinde ülkemizde epilepsi prevalansı 4,5/1000-17,3/1000 olarak belirtilmiştir. Trabzon'da yapılmış olan bu araştırma sonucunda aktif epilepsi prevalansı 5,3/1000 olarak bulunmuş istatistiksel olarak anlamlı olmamasına rağmen erkeklerin epilepsi olma oranının kadınlarda yüksek olduğu tespit edilmiştir (19).

Epilepsinin insidansı; belirli bir süre içinde, belli bir bölgede ilk tanı konulan vakaların o bölgede yaşayan yerleşik nüfusa bölünmesiyle hesaplanır. İnsidans bulunan vaka/ 100.000 kişi/ yıl olarak tanımlanmaktadır. Toplumun %10'luk bir kısmı yaşamlarının herhangi bir döneminde nöbet geçirmiştir. Tetiklenmeyen yani tek sefere mahsus olan nöbet insidansı 100000'de 50-70 aralığında bulunurken bu sayı tetiklenen yani epilepsi tanısı konulabilecek olan nöbetlerde 100000'de 33-48 arasında değişmektedir (4). Yılda yaklaşık 32000 kişiye epilepsi tanısı konulmaktadır. Yani bu her yeni gün 87 kişiye epilepsi teşhisi konulduğu anlamına gelmektedir.

Gelişmiş ülkelerde insidans değeri 20-70/100.000 oranında gözlenirken gelişmekte olan ülkelerde 64-122/100.000'dir. Fakat prevelans ve insidansı farklılık gösterip mevcut verilere göre eşit bir dağılım söz konusu değildir (18).

2.1.3. Etiyoloji

Olgulara yol açan sebeplerin bütünü diyebileceğimiz etiyoloji epilepsi hastalığı için beyni etkileyen tüm faktörleri kapsamaktadır. Mevcut tanı yöntemleriyle epilepsi etiyolojisini bulmak mümkün olmamaktadır. Etiyolojik yönden epilepsiler 3 ana gruba ayrılır.

2.1.3.1. İdiyopatik Epilepsiler

Epilepsiye herhangi bir neden olmaksızın muhtemelen kalıtsal yatkınlık rolü olduğu düşünülen ve başka bir nörolojik hastalıkla kolerasyonu olmayan epilepsilerdir. Nitelikli araştırma yöntem ve gereçleriyle bile idiyopatik epilepsileri tanımlayan herhangi bir lezyon tespit edilememiştir. İlk olarak Rolandik Paroksizmlili Epilepsi olarak ifade edilen ve çocukluk ve gençlik dönemlerinde ortaya çıkan bu hastalıkta nörolojik bulgular ve mental muayeneler normaldir, karakteristik EEG görünimleri vardır (6, 20).

2.1.3.2. Kriptojenik Epilepsiler

Epilepsiye neden olan bir etkenin olduğu fakat bu etken etiyolojik olarak ortaya konulamadığı durumlarda kriptojenik sınıflandırma uygundur. Yani günümüz teknolojisiyle tespit edemediğimiz veya gösteremediğimiz muhtemelen beyindeki bir hasara bağlı olarak ortaya çıkan epilepsilerdir. Bu gruba giren epilepsi oranı teknik

gelişmelere bağlı olarak gün geçtikçe azalmakta ve teşhisler konuldukça semptomatik gruba dahil olmaktadır (21).

2.1.3.3. Semptomatik Epilepsiler

Beynin bilinen bir lezyonu ya da bir hastalığına sekonder gelişen epilepsileri olarak tanımlanan bu epilepsi grubunda pek çok neden sıralanabilmektedir. Konjenital bozukluklar, kortikal malformasyonlar, akut kafa travması, metabolik bozukluklar, nörometabolik hastalıklar, enfeksiyonlar, kitle lezyonları, toksik durumlar, vasküler lezyonlar, dejeneratif ve demiyelinize hastalıklar, sistemik hastalıklar semptomatik epilepsinin etiolojisini oluşturmaktadır (22).

2.1.4. Sınıflandırma

Uluslararası anlaşmayı kolaylaştırmak, değişik ülkelerde ve okullarda karşılaştırmalar yapabilmek, tanı ve teşhiste yanlış anlaşılımları engellemek için 1960’larda başlanan epilepsi sınıflandırmaları halen devam etmektedir. Bu sınıflandırmalardan ilki 1960’lı yıllara ait olup 1970, 1972, 1979’da yapılan son değişikliklerle birlikte 1989’da Uluslar arası Epilepsiyle Savaş Birliği (ILAE-International League Against Epilepsy)’nin genel kurulunda kabul edilmiştir (7).

Tablo 2.1: Epilepsi ve Epileptik Sendromların Sınıflandırılması (ILAE) (23)

- 1. Lokalizasyona bağlı (lokal, fokal, parsiyel) epilepsiler ve sendromlar**
 - 1.1. İdiyopatik (yaşa bağlı başlangıç)**
 - Sentrotemporal dikenli iyi huylu çocukluk çağı epilepsisi
 - Oksipital paroksizimli çocukluk çağı epilepsisi
 - Primer okuma epilepsisi
 - 1.2. Semptomatik**
 - Temporal lob epilepsisi
 - Frontal lob epilepsisi
 - Pariyetal lob epilepsisi
 - Oksipital lob epilepsisi
 - Çocukluk çağı kronik progresif “epilepsia parsiyalis continua”sı
 - Spesifik faktörlerle uyarılan nöbetlerle karakterize sendromlar
 - 1.3. Kriptojenik**
- 2. Jeneralize Epilepsiler ve Sendromlar**
 - 2.1. Jeneralize Epilepsiler ve Sendromlar**
 - İyi huylu ailesel yeni doğan konvülsiyonları
 - İyi huylu yeni doğan konvülsiyonları
 - Süt çocuğunun selim miyoklonik epilepsisi
 - Çocukluk çağı absans epilepsisi (piknolesi)
 - Jüvenil absans epilepsi
 - Jüvenil miyoklonik epilepsisi (impulsif “petit-mal”)
 - Uyanırken gelen grand-mal nöbetli epilepsi
 - Diğer jeneralize idiyopatik epilepsiler
 - Belirli aktivasyon yöntemleriyle uyarılan epilepsiler
 - 2.2. Kriptojenik veya semptomatik (yaş sırasına göre)**
 - West sendromu
 - Lenox-Gastaut sendromu
 - Miyoklonik astatik nöbetli epilepsi
 - Miyoklonik absanslı epilepsi
 - 2.3. Semptomatik**
 - 2.3.1. Nonspesifik**
 - Erken miyoklonik ensefalopati
 - Supresyon “burst”lü erken infantil epileptik ensefalopati
 - Diğer semptomatik jeneralize epilepsiler
 - 2.3.2. Spesifik sendromlar**
- 3. Fokal ya da Jeneralize Olduğu Belirlenemeyen Epilepsiler**
 - 3.1. Jeneralize ve fokal konvülsiyonlu epilepsiler**
 - Yeni doğan konvülsiyonları
 - Süt çocuğunun ağır miyoklonik epilepsisi
 - Yavaş dalga uykusu sırasında devamlı diken dalgalı epilepsi
 - Edinsel epileptik afazi (Landau-Kleffner Sendromu)
 - Diğer belirlenemeyen epilepsiler
 - 3.2. Net jeneralize ve fokal konvülsiyon özelliği olmayanlar**
- 4. Özel Durumlar**
 - 4.1. Duruma bağlı nöbetler**
 - Febril konvülsiyonlar
 - İzole nöbet ya da izole status epileptikus
 - Akut metabolik veya toksik nedenlere bağlı nöbetler

Bu sınıflandırma EEG bulguları, etiyolojik faktörler, yaş faktörü, epileptik nöbetlerdeki farklılıklar, nöbet tipi göz önüne alınarak yapılmıştır. (Tablo 2. 1) ILAE iktal fenomen, nöbet tipi, sendrom, etiyoloji ve bozuklukları temel alan yeni bir şemayı 1997 yılında düzenlemiştir (Tablo2. 2) (24).

Tablo 2.2: ILAE'nın önerilen yeni sınıflandırma planı (16)

Jeneralize Nöbetler
Tonik-Klonik (kombinsayon halinde)
Absans
Tipik
Atipik
Özel niteliklerle absans
Miyoklonik absans
Göz kapağı miyoklonisi
Miyoklonik
Miyoklonik
Miyoklonik atonik
Miyoklonik tonik
Klonik
Tonik
Atonik
Fokal Nöbetler
Basit Parsiyel Nöbet
Bilinç veya farkındalık bozulması olmaksızın
Gözlemlenebilen motor ya da otonomik bileşenler ile
- Fokal motor ve otonomik terimi kullanılabilir
Sadece özel duyu ve psişik fenomenleri kapsayan
- Aura terimi kullanılabilir
Kompleks Parsiyel Nöbet
Bilinç veya farkındalık bozulması olan
Sekonder Jeneralize Nöbetler
Herhangi bir sırayla tonik, klonik veya tonik-klonik bileşenleri içerebilir.
Bilateral Konvulzif Gelişen Nöbet
Bilinmeyen
Epileptik kasılmalar
Sürekli Nöbet Tipi
Jeneralize Status Epileptikus
Jeneralize tonik-klonik status epileptikus
Absans status epileptikus
Tonik status epileptikus
Miyoklonik status epileptikus
Fokal status epileptikus
Epilepsi partialis
Auralı
Limbik status epileptikus
Hemiparazili hemikonvulzif status epileptikus

Epilepsi hastalarına doğru tanı konulması ve tedavinin vakit geçmeden başlaması için sınıflandırmanın önemi büyüktür. Nöbetler ve belirtiler çeşitlilik gösterdiği için yanlış tanı konması muhtemeldir. Bu yüzden klinik açıdan pratik olması adına sınıflandırmanın gerekliliği yüksektir.

2.1.5. Fizyopatolojisi

Hayvan deneyleri ve insan çalışmaları ile epilepsinin fizyopatolojisi aydınlatılmaya çalışılmaktadır. Epilepsinin nöbet ve çeşitlerinde aynı fizyopatoloji geçerli olamamakla birlikte epilepsiye neden olan nöronlar için genel terim epileptik nöron veya epileptojenik odaktır. Epileptojenik odakta bir grup “peacemaker” hücre yer alır. Nöbet sırasında bu kortikal nöronların membran potansiyallerinde ve uyarılma şekillerinde anormallikler saptanmıştır. Ani, anormal ve aşırı boşalımla ifade edilen bu anormallikler, fizyolojik belirtileri ve değişiklikleri belli bir süreyle kısıtlı olarak ortaya çıkar. Nöbetlerin sınıflandırılması için ise anormal epileptik deşarjların çıkış noktaları, süresi, yayıldığı anatomik yollar ve bölgeler belirleyicidir. Nöronların membran potansiyellerinin bozulmasının temelinde glia hücre faaliyetlerinin bozulması, uyarıcı aminoasit miktarında artma, inhibe edici aminoasit miktarında azalma mekanizmaları yer alır. Nöronlarda deşarj ve uyarılma eşiği düştüğü için nöronlar normale göre daha kolay depolarize olmaktadır (25).

Voltaj bağımlı iyon kanalları presinaptik ve postsinaptik reseptörler ve diğer düzenleyici mekanizmalar intrakortikal bağlantıları ve nöronal ağın uyarılabilirliğini düzenlemek için diğer yapısal değişkenler ile ilişki kurarak nöronal aktivasyonu ve inhibisyonu kontrol altında tutmaya çalışırlar. Ancak aşırı nöronal uyarılmanın ortaya çıkardığı epileptiform aktivite durumunda bu kontrol kaybolur, epileptiform normal nöronal aktivitenin kontrol dışına çıkması ile ortaya çıkan bir bozukluktur. Epilepsinin oluşumunu anlamak için moleküler hücresel ve nöronal devrelerin fonksiyon düzeyleri arasında meydana gelen etkileşimleri bilmek oldukça önemlidir. Uyarılma ve inhibisyon dengesini değiştiren herhangi bir değişiklik potansiyel bir epileptojenik mekanizma olarak tanımlanır. Nöronal uyarılmanın aşırı düzeylere çıkması sonucu ortaya çıkan nöbetlerin tetiklenmesi, senkronizasyonu, yayılması ve sonlandırılması için gerekli olan sinaptik, sinaps dışı ve hücre içi mekanizmaların birbirleriyle ilişkili olduğu bilinmektedir. Epilepsinin oluşumunu altında hangi mekanizmaların yaptığı çok iyi bilinmemektedir. Ancak bu konuda belirli sinaps dışı olaylar, hücre kaybı, değişmiş reseptör yapımı, hücresel düzeyde anatomik değişiklikler, presinaptik sonlanmadaki aşırı uyarılma ve hatalı sinaptogenez gibi birçok mekanizma önerilmektedir. Epileptogenez oluşumuyla ilgili moleküler mekanizmalar arasında voltaj bağımlı Na^+ kanallarının aktivasyonu GABA sentez

ve yıkımındaki değişiklikler hücresele GABA alımının inhibisyonu başta GABA_A olmak üzere çeşitli uyarıcı aminoasit reseptörlerinin modülasyonu ve adenozein metabolizmasındaki düzenleme ile ortaya çıkan değişikliklerde yer alır. Sonuç olarak beyin dokusundaki nöbet aktivitesinin sürdürülmesi veya inhibisyonadaki voltaj bağımlı Na⁺ kanallarının GABA ve Glutamat sistemlerinin ve adenozein yapımının önemli bir rol oynadığı önerilmiştir. Son yıllardaki çalışmalarda ağırlıklı olarak edinilmiş epileptogenezin moleküler mekanizmaları daha çok reseptör alt gruplarındaki değişiklikler ile açıklanmaya çalışılmaktadır. Bu değişikliklerin başında N-metil D-aspartat (NMDA) reseptör aktivasyonu ve Ca⁺⁺ hücreye girişı gelmektedir. Ca⁺⁺ hücreye girişı AMPA ve NMDA sinaptik geçişte bir artışı ve GABAerjik inhibitör sinaptik geçişte akut bir azalmayı tetikleyebilir. Aynı zamanda GABAerjik uyarıcı etkilerdeki net bir artış, ektopek aksiyon potansiyeli veya depolarizasyon potansiyelinde artışa yol açabilir ve sonunda Na⁺, K⁺ ve Ca⁺⁺ kanalları veya iyon değiş-tokuş mekanizmaları gibi diğer düzenleyici sistemler de ikincil değişiklikler gelişebilir. İleri sürülen bu mekanizmalar yoluyla hücre içi depolanan Ca⁺⁺ salınımı Ca⁺⁺/Kalmodulin bağımlı reseptör protein kinaz 2, protein Kinaz C ve tirozin Kinaz gibi hücre içi sinyal yollarında gen ekspresyonu AMPA, NMDA ve GABA'nın reseptör mRNA sentezinde değişiklikler oluşabilir. Dentritlerdeki anormal değişiklikler ve uyarıcı sinaptik bağlantılarda olası artış sonucunda ortaya çıkan morfoloji değişikliklerinin aşırı uyarılabilirliğe katkıda bulunduğu ileri sürölmektedir. Nöronal aktivite artışı aşırı uyarılabilirliğin ortaya çıkmasında ileri sürölen en önemli mekanizmalardan biride GABAerjik inhibisyonadaki azalmadır. Nöronal uyarılabilirliği etkilediğı bilinen GABAerjik inhibisyon daki değişiklikler birçok deneysel epilepsi modeli için oldukça önemlidir. İnhibisyon epileptogenez başladıktan sonra değiştirilebilir veya deneysel akut epileptogenez çalışmalarının bazılarında azalmış GABAerjik sürecin söz konusu olabileceğı düşünölmektedir (26).

Nöronal homeostatik, plastisite sayesinde hem sinaptik gücü düzenlemek için yeni iyotropik glutamat reseptörlerinde hem de nöronal uyarılabilirliği sağlamak için voltaj bağımlı iyon kanallarında değişiklikler gerçekleşebilir ve sonuçta nöronların kabul ettiğı sinaptik bağlantı sayısı modöle edilebilir. Nöronların elektriksel aktivitesi uyarı ile inhibisyon arasında bir denge oluşması ile

karakterizedir ve bu denge hücresel düzeyde iyon kanalları ile sinaps ve sinaps dışı olaylar için geçerli geri beslenme mekanizmaları sayesinde kurulur. Böylece in vivo şartlarda nöronlar uyarıcı ve inhibe edici girişleri sürekli seçici bir davranış gösterebilirler. Nöronda ortaya çıkan, inhibisyon uyarıyı kolayca baskılayamaz, ancak bu süreçte birçok işlem gerçekleştirilebilir; uyarıyı sınırlayabilir ve sinaptik olaylarının zamanlamasını koordine edebilir. Ayrıca sinaptik plastisitede rol oynayabilir. Nöronal zarda herhangi bir uyarının başlaması için özellikle GABAerjik inhibitör sonlanmalardaki aktivasyonun direkt olarak baskılanması veya voltaj kapılı iyon kanallarının engellenmesi gerekir ve sonuçlarını nöronal uyarılma ile inhibisyon arasındaki denge uyarılma yönünde bozulur. Normal bir beyinde uyarıcı ve inhibe edici mekanizmalar arasında dengenin bozulması ve en azından nöronal uyarılabilirlikte meydana gelen bir artış sonucu epileptogeneze yol açan mekanizmaların tetiklenmesine yol açabilir.

Epileptogenezin ana aktörlerinden birisi olarak DDD sorumlu tutulan iyonun Ca^{++} olduğunu gösteren deneysel hayvan modelleri mevcuttur (27).

Ca^{++} iyonu, canlının enzimatik reaksiyonlarının düzenlenmesinde, uyarılabilir hücrelerin aktivasyonunda ve kas kasılmasının kontrolünde önemli rol oynar. Hücresel fonksiyonların devam etmesi açısından Ca^{++} iyonları önemlidir.

Ca^{++} iyonunun hücre içine aşırı girişi epileptik nöronal olayların ilk basamağını oluşturur. Bir nöronun depolarizasyonu, presinaptik voltaj bağımlı Ca^{++} kanallarından, Ca^{++} iyonunun hücre içerisine girmesine neden olur ve artan Ca^{++} , eksitator nörotransmitterlerin, özellikle de Glutamat'ın salınımına yol açar. Ca^{++} iyonunun postsinaptik eksitator aminoasit kanallarından ve postsinaptik voltaja bağlı kanallardan hücre içine akışına sebep olur. Glutamat, kimyasal kapılı iyon kanallarını özellikle NMDA'yı uyararak Na^+ ve Ca^{++} iyonlarının hücre içine girmesine neden olur. Na^+ iyonuna bağlı olarak depolarizasyon oluşumuyla voltaj bağımlı Ca^{++} kanallarının açılması ile de Ca^{++} iyonları hücre içine girer. Bu çok miktardaki Ca^{++} iyonunun hücre içine girişinin, nöbet esnasında oluşan nöron deşarjlarını başlatan tetik olduğu düşünülmektedir. Nöbetler sırasında ekstrasellüler Ca^{++} iyon miktarı azalırken, intrasellüler Ca^{++} iyon miktarı artmaktadır. Hücreye Ca^{++} girişi üç yolla olmaktadır. Birincisi, voltaja bağımlı Ca^{++} kanallarıdır. Ca^{++} kanal blokerleri temel olarak bu kanalları kapatarak hücre dışı Ca^{++} iyonlarının bu kanallardan girişini

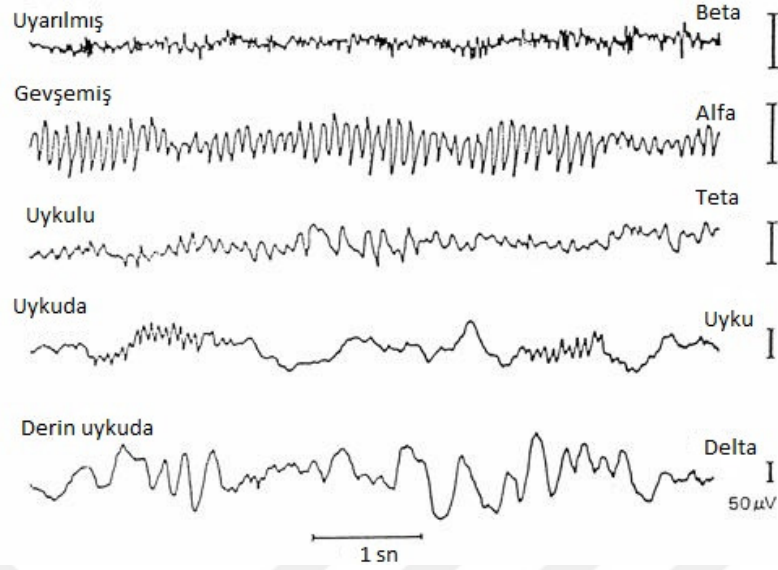
inhibe ederler ve hücre içi Ca^{++} düzeyini azaltırlar. İkincisi, Norepinefrin ve Anjiyotensin ile aktive olan reseptör bağımlı kanallardır. Bazı Ca^{++} blokerlerinin bu kanalları da inhibe ettikleri gösterilmiştir. Üçüncüsü, Ca^{++} - Na^{+} değiş tokuş sistemidir. Ca^{++} kanal blokerlerinin bu sisteme etkileri olmadığı kabul edilmektedir (27).

2.2. Elektroensefalogram (EEG)

Epileptojenik korteks tanımlamak için en belirgin yöntem olan elektroensefalogram çeşitli bölgelerden elde edilmektedir. Hayvan modelleriyle ve insanlarda nöronal etkinliğe erişim sağlamak için deriden, pia materden, dura materden yüzey potansiyelleri kaydedilmiştir. Bunlardan ilki 1875 yılında Caton tarafından tavşanlardan elde edilen kayıttır. Hans Berger de 1929'da insan saçlı derisinden EEG olarak isimlendirdiği aktiviteyi kaydetmiştir. Berger hastalıklar sırasında bu aktivitede değişiklikler olduğunu iddia etmiştir. 1935 yılında Foerster ve Altenburger pia materden, 2009 yılında Noachtar ve Remi dura materden bu aktiviteleri almışlardır. Mikro ve makro elektrotlarla hücrelerin aktivitelerini saçlı deriden alınmasıyla EEG kayıtları elde edilir. Bu kayıtlarda beyin hücreleri elektriksel darbeler üzerinden birbirleriyle iletişim kurarlar ve potansiyel sorunların varlığı irdelenebilir. Kayıtlar kortikal nöronlardaki inhibitör postsinaptik potansiyellerin (IPSP) ve eksibitör postsinaptik potansiyellerin (EPSP) cebirsel toplamı sonucu oluşur ve yüzeydeki kaydedici elektrotlar yardımıyla yazdırılır. EEG ile epilepsideki birçok karakteristik bulgu ortaya konulmaktadır (28). EEG'de oluşan dalgaların pozitif kısımlarını korteks yüzeyine yakın nöronal yapıların EPSP'leri ve yüzeysel IPSP'ler oluştururken, dalgaların negatif kısımlarına derindeki IPSP'ler katkıda bulunur (29).

2.2.1. EEG Dalgaları

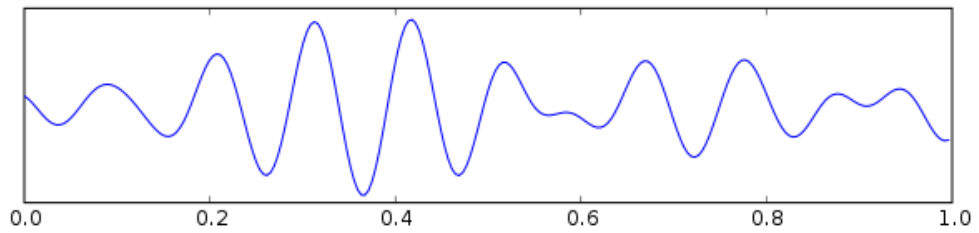
Saçlı deriden kaydedilen potansiyellerin frekansı sağlıklı bireylerde 1-30 Hz aralığında ve yükseklik ise 0-300 mikro volt kadardır. EEG dalgalarının sayısal değerleri istirahat, yaş, duygusal uyaran ve vücudun kimyasal dengesi gibi çeşitli durumlarda değişiklik gösterebilir. Düz bir EEG (elektriksel aktivitenin olmayışı anlamında) klinik anlamda beyin ölümünü ifade eder (30).



Şekil 2.1. Farklı durumlar süresince elde edilen EEG dalgaları (31)

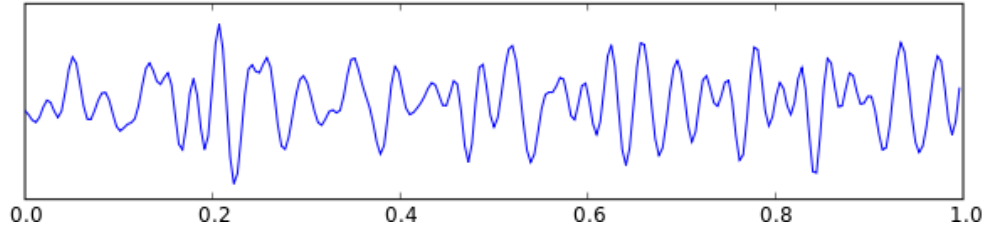
2.2.2. Frekans ve Amplitüdlerine Göre EEG’de Kaydedilen Beyin Dalgaları

- a) **Alfa Dalgaları:** Berger ritmi olarak da bilinen alfa dalgaları saniyede 8-13 Hz frekans ve 20-60 μV genliktedir. Dalgaların en net görünümü sessiz bir odada, gözler kapalı, beden tam bir istirahat halindeyken kaydedilir. Uyku durumuna geçildiğinde, duygusal uyarın alındığında veya gözler açıldığında kaybolur (30, 32, 33).



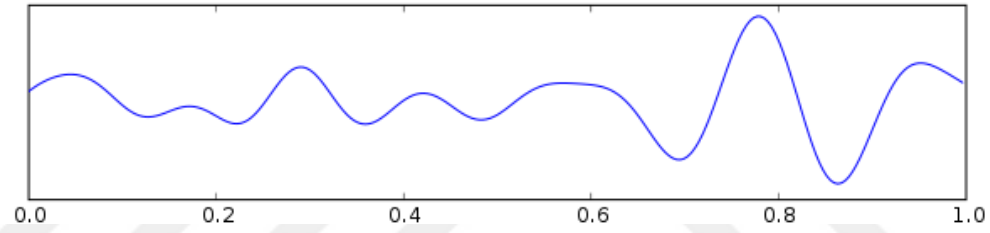
Şekil 2.2: Alfa Dalgası (33)

- b) **Beta Dalgaları:** 13-50 Hz’lik geniş bir frekans spektrumuna sahip olan beta dalgalarının genlikleri 2-20 μV ile dalgalar arasındaki en küçük değere sahiptir. Küçük ve hızlı bu dalgalar β_1 ve β_2 olarak gruplandırılabilen beta dalgaları daha çok frontal ve merkezi alanlarda kaydedilmektedir. Hasarlı beyin bölgelerinde aktivite azalırken matematik problemi çözerken artmaktadır (30, 32, 33).



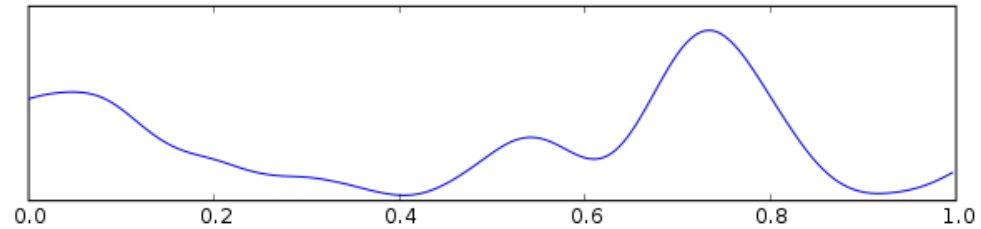
Şekil 2.3: Beta Dalgası (34)

c) **Teta Dalgaları:** İsmi talamustan alan teta dalgaları hipokampus başta olmak üzere singulat korteks ve septum gibi diğer beyin bölgelerinden de kaydedilmiştir. Frekans aralığı 4-7 Hz ve genliği ise 20-100 μV aralığındadır. Sağlıklı yetişkinlerde uyuklama, sevinç, keder, hayal kırıklığı ve hüsrân gibi durumlar dışında görülmeyen teta dalgalarının çocuklarda görülmesi normaldir (30,32,33).



Şekil 2.4: Teta Dalgası (32)

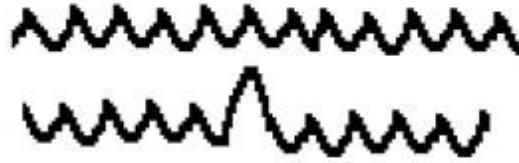
d) **Delta Dalgaları:** Düşük frekanslı yüksek amplitüdlü olan delta dalgaları büyük kas parazitleriyle karıştırılması muhtemeldir. 0,5-4 Hz frekansa ve 20-200 μV yüksekliğe sahip olmasıyla dalgalar arasında genliği en fazla olanıdır. Normal insanlarda sadece derin uykuda gözlenirken uyanık kayıtlarda gözlenmesi yaygın ve subkortikal lezyonları, tümör, ensefalit ve hidrosefaliyi işaret etmektedir (30, 32, 33).



Şekil 2.5: Delta Dalgası (32)

e) **Kappa Dalgaları:** Genellikle 10 Hz frekanslı olan kapa dalgaları teta ve alfa dalga aralığındadır. Kennedy ve ark. tarafından 1948 yılında keşfedilen bu dalgaların %30'u düşünmeyle ilgilidir. Gözler açılıp kapanmasıyla prefrontal korteksten kaydedilmiştir. Kappa ritmi veya dalgası olarak isimlendirmek yerine göz kapağı hareketi artifaktı demek daha uygundur (30, 32, 33).

f) **Lamda Dalgaları:** 1952 yılında keşfedilen lambda dalgaları üçgen şekilli keskin geçişleri vardır. Gözler açıkken oksipital lob üzerinden kaydedilir, gözler kapandığında ve uyku durumunda kaybolur. Kişinin görme alanında bazı nesnelerin kaydırılması veya karmaşık bir resmi görsel tarama yapılması sırasında sakkadik göz hareketleriyle ortaya çıkar. Dalgaların muhtemelen parietal bölgede lokalize olmuş ortak beyin bölgelerinin fonksiyonel aktivasyonu ile sentezlendiği düşünülmektedir. 20-50 μ V frekanslı olan bu dalgalar ortalama 200-300 ms sürer (30, 32, 33).



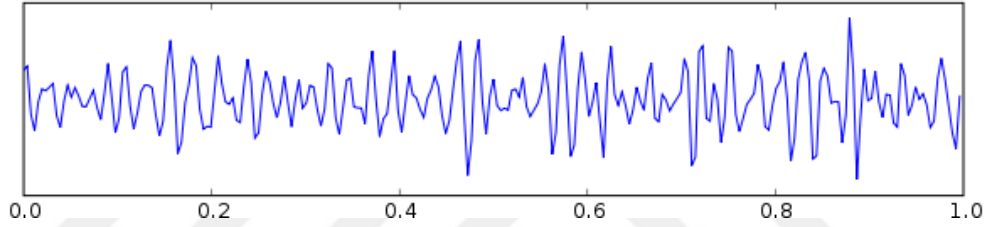
Şekil 2.6: Lamda Dalgası (35)

g) **Mü Dalgaları:** Rolando Yarığından kaydedildiği için Rolando ritmi olarakta bilinen Mü Dalgaları 1952 yılında keşfedilmiştir. Negatif pozisyona dönmüş olan bu dalgalar popülasyonun %7'sinin EEG sinde izlenmektedir. Sensorimotor korteks üzerinden 8-12 Hz frekans aralığında alfa bandı üzerinden kaydedilip alfa dalgalarından bağımsızdır. Gözler açıldığında bloklanmayan bu ritim kolleteral kol hareketleriyle veya bu hareketlerin zihinsel olarak planlanmasıyla karakteristik olarak azalır (30, 32, 33).



Şekil 2.7: Mü Dalgası (35)

h) Gama Dalgaları: Hızlı beta ritmi olarakta adlandırılabilen gama dalgaları 1981’de insandan kaydedilmiştir. 30-100 Hz aralığında olup genlikleri düşük olduğu için gözlemlemek zordur. Duygusal uyaranlara karşı ortaya çıkar ve bilişsel faaliyetleri tespit etmek için kullanılır. Zihinsel hastalıklar konusunda bilgi vermektedir (30, 32, 33).



Şekil 2.8: Gama Dalgası (32)

2.3. İdiyopatik Jeneralize Absans Epilepsi

Çağımızda kullanılan araştırma yöntemleriyle idiyopatik grup için herhangi bir lezyon veya sebep tespit edilememiş olması bu grubun diğerlerine göre daha fazla araştırılmasına neden olmuştur. Pouport ilk kez 1705’de absans nöbeti tanımlamış ardından 1770’de Tissot hafif nöbet anlamındaki “petits access” ifadesini kullanmıştır. 1824’de Calmeil tarafından nöbetlerin ismi absans nöbet olarak değiştirilmiştir. Absans nöbetler, petit mal olarak da bilinen jeneralize grubun diğer üyelerinden farmakolojik profil ve aura açısından temelde büyük farklılıklar gösterir (36).

Çocukluk çağı absans epilepsisi, miyoklonik absans epilepsisi, juvenil absans epilepsisi, juvenil miyoklonik absans epilepsisi ILAE tarafından absans grupta bulunan epilepsi çeşidi olarak tanımlanmıştır. Çocukluk çağı absans epilepsisi tüm dünyadaki çocukların %10-17’sini etkileyen ve yıllık insidansı 15 yaş altı çocuklarda 6,3-8/1000000 olan en yaygın görülen pediatrik epilepsi sendromudur (37). Anestezi

uygulaması yapılmadan EEG kaydı alınan hayvanların talamusun intralaminar ve orta hat nükleuslarının uyarısının kesilmesiyle EEG de DDD görülüp tipik görüntü absans nöbeti ifade etmektedir (29).

Absans nöbetler genellikle ani başlangıçlı ve bitişli, elektro fizyolojik olarak 5-20sn süren 2,5-3,5 Hz frekans aralığında bilateral eş zamanlı DDD ile tanımlanır. Çocukluk döneminde görülen nöbetler yetişkinlikte devam edebilir hatta ender de olsa yetişkinlikte de ortaya çıkabilir. Kız çocuklarında erkeklere göre daha fazla görülür ve genel etkilenme yaşı 3-15 arasındır. Absans nöbetler tipik olarak ani şuur kaybı, boş bakma, fiziksel ve mental aktivitenin durması ve nöbet bitiminde de yapılan aktiviteye kaldığı yerden devam etmesiyle bakan veya hayal kuran olarak tanımlanır. Piknolesi olarak da adlandırılmaktadır. Gün içerisinde birkaç kez görülebileceği gibi 50-100 defa arasında da görülebilir (38). Çocukluk çağı absans epilepsisi prognoz açısından iyi huylu olarak kabul edilir ve iyi bir antiepileptik ilaç takibiyle kontrol altına alınabilir (8).



Şekil 2.9 : Absans Epilepside Diken Dalga Deşarjları (39)

2.4. Absans Epilepsi Deneysel Hayvan Modelleri

Robinson ve Gilmore 1977 yılında Charles River CD albino sıçanların EEG kayıtlarında jeneralize epileptiform aktivite bozukluğunun varlığını ortaya koymuşlar. Bu nöbetler 6-10 Hz frekanslı olup nöbet uyanıklık sırasında, lokomotor tutulmalar ve hafif klonik yüz hareketleriyle karakterizedir. Genetik profilin aydınlatılması, temelde yatan patogenez ve farmakolojik sistemlerin tanımlanması adına GAERS (Genetic Absence Epileptic Rats) ve WAG/Rij (Wistar Albino Glaxo-Riswijk) sıçanlar kullanılmaktadır. Absans epilepsiye genetik model oluşturan bu

hayvan modelleri ilk olarak 1980'li yıllarda seçici üreme yöntemleriyle üretilip inbred olarak çoğaltılmıştır (40).

Genetik modeller dışında da konvulsan bir madde olan Pentilentetrozol (PTZ) ile oluşturulan deneysel absans epilepsi modeli mevcuttur. Antiepileptik ilaç geliştirmek için en fazla kullanılan madde olan PTZ bir tetrazol türevidir. Deney hayvanlarına uygulandığında miyoklonik kasılmalara neden olan kimyasal ajan EEG'de DDD ile kendini gösterir (29).

2.4.1. WAG/Rij

1986 yılında van Luijtelaar ve Coenen tarafından tanımlanan WAG/Rij sıçanlarda DDD ve eşlik eden klinik bulgular vardır. 1924 yılında ise A.L. Bacharach Londra'da Glaxo laboratuvarında wistar stoklarından WAG suşunun altsuşu olarak üretilmiştir. Absans epilepsinin elektrofizyolojik geçerli karşılığıdır. Jeneralize absans epilepsinin genetik modeli olan WAG/Rij sıçanlar diğer normal suşlarla karşılaştırıldığında nörokortekslerinde inhibitör mekanizmaların bulunduğu büyük bozukluklar içerir. EEG sinyallerindeki epileptik deşarjlar insanda ki absans epilepsiden farklı olarak ortalama süresi 5 saniye ve 7-10 Hz frekanslıdır (36). Epilepsi belirtileri modelde doğdukları andan itibaren görülmeyip 2-3 aylık olduklarında belirginleşir ve 6-9 aylık sıçanlarda günde 300-400 deşarjla en yüksek seviyesine ulaşır (41).

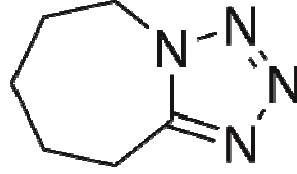


Şekil 2.10: WAG/Rij Sıçan

2.4.2. PTZ

Pentilentetrazol, metrazol, pentetrazol, pentametilentetrazol veya cardiazol olarak da bilinen eskiden dolaşım ve solunum uyarıcı olarak kullanılan bir ilaçtır. 1934 yılında Ladislav J. Meduna yüksek dozlarda kullanıldığında konvülsiyon etkisi

yaptığı keşfedildi. Öksürük kesici olarak, insülin tedavisinde ve primer olarak da depresyon tedavisinde kullanılan bu ilacın kontrol altına alınamayan nöbetlere sebep olduğu bilinmekteydi. 1939 yılında akıl hastanesinde nöbetleri uyarmak için kullanılması işlevini yerini elektro tedaviye bırakmış ve 1982 yılında ilaç onayı iptal edilmiştir. Tetrozol türevi olup molar ağırlığı 138,171g/mol ve formülü $C_6H_{10}N_4$ dır (42).



Şekil 2.11: PTZ'nin moleküler yapısı

PTZ kompetitif olmayan $GABA_A$ reseptör antagonistidir ve GABA aracılı Cl^- iyonunun içeri girişini bloke etmek suretiyle etkisini göstermektedir. Konvulsan etkisi bilinen bu kimyasal madde çeşitli dozlarda deney hayvanlarına uygulanmasıyla epilepsinin farklı tiplerinin modelleri oluşturulmuştur. Farelerde klonik nöbet oluşturmak için PTZ %1'lik çözeltisinden 50 mg/kg (intravenöz) vermek gereklidir. Tonik ve klonik belirtili nöbet için gerekli doz 90 mg/kg'dır. Cilt altı uygulama ile klonik nöbetler oluşturulmak isteniyorsa verilecek olan doz miktarı fare için 85 mg/kg, sıçan için 70 mg/kg'dır (29). Çocukluk çağı absans epilepsisinin deneysel modellemesi için sıçan veya fareye 10-30 mg/kg intraperitoneal veya subkutan olarak verilmektedir. PTZ uygulanmasından yaklaşık 30 dakika içinde EEG bulgularında 7-9 Hz'lik diken dalga deşarjları gözlemlenmektedir. Yüz ve ön ekstremitelerle sınırlı kolonik bulgular ise 40 mg/kg'lık ara doza gelindiğinde görülmektedir (10).

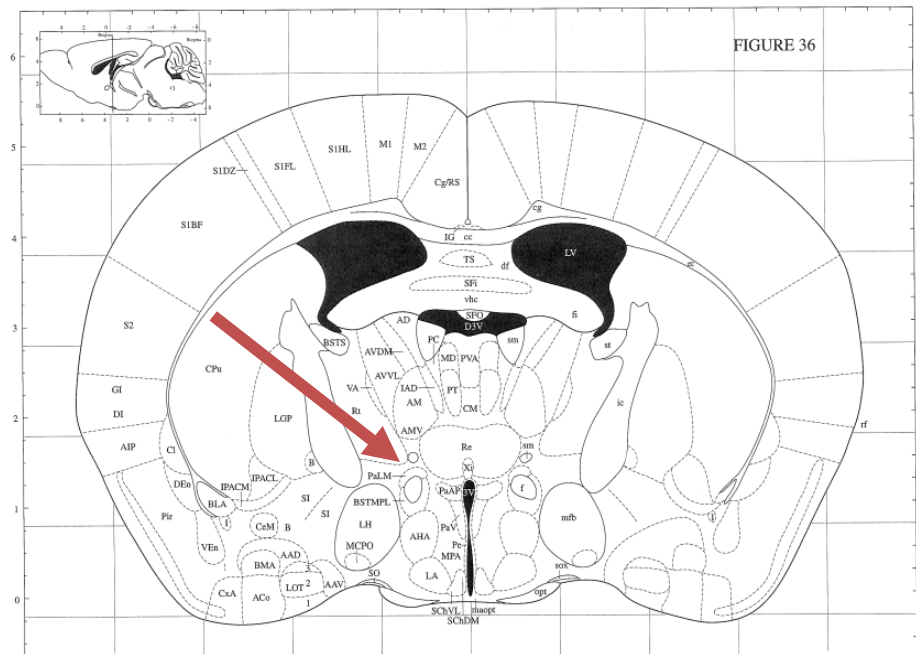
Sistemik yolla deney hayvanlarına uygulanan PTZ verildiğinde ilk olarak retiküler formasyo ardından korteks nöronlarını etkilediği tespit edilmiştir. PTZ glutamik asidin serbestlenmesini arttırmaktadır. Ayrıca PTZ gamma aminobutyric acid (GABA)'ın reseptör agonisti olduğu hayvan modelleriyle gösterilmiş olup PTZ kaynaklı nöbetlerde GABA seviyeleri düşmektedir (29, 43). GABA beyindeki eksitabilitenin temel inhibitör maddesi olup $GABA_A$ ve $GABA_B$ etkinliklerini gösterdikleri reseptörlerdir. $GABA_A$ reseptörüne bağlanan GABA iyon kanallarını açarak Cl^- iyonlarının hücre içerisine girmesine olanak sağlayıp nöronal elektriksel

aktivitenin hızlı bir şekilde inhibisyonunu sağlamaktadır. GABA'nın GABA_B reseptörleri üzerinden etki mekanizmasında K⁺ ve Ca⁺⁺ iyonları rol almaktadır. GABA'nın GABA_B reseptörlerine bağlanmasıyla K⁺ akımı artmakta ve Ca⁺⁺ iyon girişi azalmakta ve diğer nörotransmitterler presinaptik inhibisyon oluşturmaktadır (45, 46, 47,48). PTZ'nin deney hayvanlarına uygulanmasıyla GABA ve reseptör ilişkileri bloklanmakta, böylelikle epilepsi nöbetleri meydana gelmektedir (29, 49). PTZ GABA'dan önce reseptörlere bağlanarak blokaj etkisi yapar. Bu sayede GABA ve diğer nörotransmitter maddelerin etkinliğini azaltarak nöronların daha kolay depolarize olmasına sebep olur. Depolarizasyonu sağlanan nöronlarda epileptik deşarjlar meydana gelir (49).

2.5. Absans Epilepsinin Fizyopatolojisi

Epilepsi oluşumundan sorumlu hücrel mekanizmalar günümüzde halen tam olarak aydınlatılamamıştır. Epilepsi türlerine göre farklı mekanizmalar sorumlu tutulmakla birlikte artmış nöronal uyarılabilirlik ve eş zamanlı deşarjlar ortak özelliklerdendir. Epileptojenik peacemarkerlar hipersensitivite ve anormal deşarjlarla etrafındaki hücreleri de etkileyerek nöbetlere sebep olurlar. Jeneralize epilepsiler bilateral serebral tutulumlarıyla ve EEG'de her iki hemisferde de görülen nöbetler ve senkron anormal deşarjlar ile karakterizedir. Hastalık kaynağı tam olarak belirlenemeyen idiyopatik grup içinde olan absans epilepsinin ortaya çıkışındaki kaynağın talamusun ventrobazal ve retiküler çekirdeklerinin ve korteksin somatosensoryal bölgesi olduğu kabul görmektedir. Bu ikili kortiko talamo kortikal döngüde yer almaktadır (47, 51).

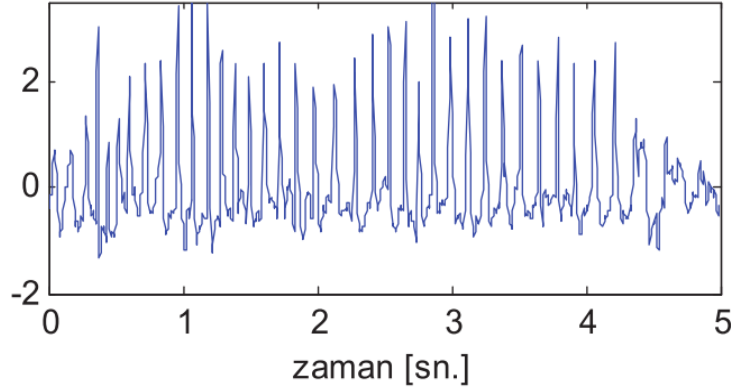
EEG'de 3 Hz'lik frekansa ve 100-1200 μ V genliğe sahip DDD'in görüldüğü absans epilepsinin genetik modellerinde patofizyolojiyi açıklamak adına çeşitli çalışmalar yapılmıştır. WAG/Rij ve GAERS (Genetic Absence Epilepsy Rat from Strasbourg) ırkı sıçanlarda yapılan sıçanlarda gözlemlenen DDD'lerin talamustan kaynaklandığı ve talamik GABAerjik nöronların DDD'leri kontrol ettiği görüşünü desteklemektedir. Bu deşarjların görüldüğü sıçanlarda limbik sistem yapılarında herhangi bir farklılık görülmemekte ayrıca retiküler çekirdeğin sinaptik organizasyonunda da epileptik olmayan hayvanlarla benzerlik göstermektedir (52,53). Korteks ve talamustaki lokal ve farklı nöron grupları arasındaki döngüsel



22

2.6. Diken Dalga Deşarj

Diken Dalga Dejarjları deneysel olarak Jasper ve Droogleever Fortuyn tarafından kediden orta hat ve intralaminar talamik çekirdeklerin düşük frekanslı stimulyasyonları ve subkortikal orijinli dalgalar olarak (centrencephalic hipotez) tanımlandı (50). Ancak bundan bir kaç yıl sonrasında kedi ve maymunun frontal serebral korteksine konvulsan uygulanmasıyla üretilebilen 3 Hz’lik DDD aktivite­leri görünlendi. Yaklaşık aynı zaman diliminde genetik olarak üretilen hayvanlardan da alınan kayıtlarla bu aktivite­lerin kortikal kaynağı gösterildi. Klinik olarak EEG görüntüleriyle desteklenen bu yapı talamus ve korteksin de içinde bulundu­ğu centrencephalic unsurlarla birlikte “jeneralize kortikoretiküler epilepsi” olarak tanımlanmıştır (50). İdiyopatik jeneralize epilepsilerin birçok formuna eşlik eden DDD’ler simetrik, düzenli, jeneralize ve geçici elektroenseflografik bir paterndir (55). Uluslararası Elektroensefalografi ve Klinik Nörofizyoloji Terminoloji Komitesi (IFSECN) tarafından “Aşamalı olarak genliğı artan ve sonra azalan ritmik dalgalar grubu” olarak tanımlanmaktadır. EEG’deki bu oluşum algısal farkındalık düşüşüyle uyumlu olup absans epilepsideki “düşük uyanıklık hali” durumunu karşılamaktadır (56).



Şekil 2.14: EEG’de DDD örneğı (57)

2.7. Antiepileptik İlaç

Antikonvulsanlar, merkezi sinir sistemini seçici olarak deprese eden ilaçlar olup epileptogenezi engellemeyen ve sadece kullanıldığı süre için nöbetleri azaltabilen veya ortadan kaldı­rabilen ilaçlardır. Hastalardaki etkinlikleri %80 civarındadır. Epilepsinin semptomatik tedavisi için kullanılan antiepileptik ilaçlar

motor uyarılabilirliği etkilemeden nöbet şuur eşiğini artırmalıdır. Epilepsi ömür boyu tedavi gerektiren bir hastalık olduğu için antiepileptik ilaç kullanımı bir takım yan etkilere yol açmaktadır. Kemik iliği baskılanması, karaciğer ve böbrek zedelenmesi, gastrointestinal hastalıklar, uyuşukluk, kellik ve nefropati gibi yan etkilere sebep olurlar. Bununla birlikte yaşlanma ve hamilelik gibi fizyolojik durumlarda da antiepileptik ilaç seçimi ve bir bütün olarak hastanın özelliklerine göre bireyselleştirilmesi istenen durumdur (58).

2.7.1. Antiepileptik İlaçların Etki Mekanizması

Epileptik nöbetlerin engellenmesinde antiepileptik ilaçların rolünü açıklayan farklı görüşler vardır. Genellikle sinapslardaki nöronal iletiyi engelleyerek, frekansı yüksek düzensiz deşarjların peacemarkerlerden yayılmalarını bloke ettikleri düşünülmektedir. Antiepileptik ilaçlar nöronlarda yapılan bu değişimi eksitasyon eşiğini yükselterek, refrakter periyodu uzatarak, presinaptik ve postsinaptik inhibisyonu potansiyalize ederek yapmaktadırlar. Bu etkinliği beyindeki gamma butirik asit (GABA) fonksiyonlarını farklı yollarla arttırarak yaptıkları düşünülmektedir (58).

2.7.2. Epilepside İlaç Tedavisinin Temel İlkeleri

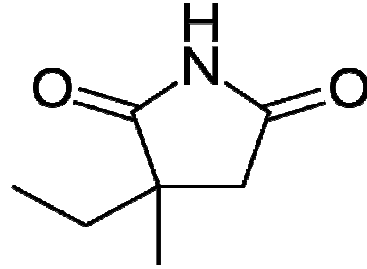
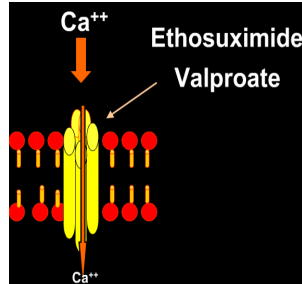
- Sendroma ve nöbet tipine uygun seçilen tek ilaç ile tedavi uygulanması (monoterapi),
- En düşük etkili dozla başlanması ve dozun tam nöbet kontrolü sağlanan ya da yan etkiler görülene dek artırılması,
- İlaç kan düzeyinin toksik etki veya tedaviye uyumsuzluk şüphesi olursa kontrol edilmesi ve bunun dışında sadece kan düzeyine bakılarak doz değişikliği yapılamaması,
- Kullanılacak diğer ilaçlarla (antibiyotik, oral kontraseptifler v.b) ilacın etkisinin kaybolabileceği ya da toksik düzeye ulaşabileceğinin hastaya mutlaka belirtilmesi,
- İlacın aniden kesilmesi ve unutulmasının sakıncaları ya da ortaya çıkabilecek sorunların hastaya anlatılması,
- İlk ilaca yanıt alınmazsa ikinci uygun seçim ile monoterapi; buna da yanıt alınmazsa uygun ilaç kombinasyonlarına gidilmesi,

- Tedavi şartlarının hastanın yaşam kalitesini yükseltmeye yönelik olduğu unutulmaması, gerekmektedir (59).

Piyasada kullanımda olan antiepileptik ilaçlar arasından seçim yapılırken bir takım durumlar göz önünde bulundurulmalıdır. Bunlar; İlacın etki spektrumu, tam nöbet kontrolü veya yaşam standartlarına katkı sağlayacak kadar nöbet kontrolü, kısa dönem yan etkisi, uzun dönem yan etkisi, doz kullanım kolaylığı, maliyeti, hastanın kadın çocuk ya da yaşlı olması, üreme döngüsü üzerine etkisi, nöbet tipi, epilepsi tanısının önceden veya şimdi konulmuş olmasıdır (60).

2.7.3. Etosüksimid

Etosüksimid, başlıca absans epilepside kullanılan süksimid antikonvulsanlardır. WHO'nün temel bir sağlık sisteminde olması gereken en önemli ilaçlar listesinde yer almaktadır. Tipik absans nöbetlerin oluşumunda rol alan talamustaki nöronlarda düşük eşikli Ca^{++} akımını azaltır. T tipi Ca^{++} kanal blokörü olup diğer iyon kanalları üzerinde de etkisi vardır. Ca^{++} kanallarını bloklamasıyla hücre içine Ca^{++} girişini azaltarak uyarılmayı engeller. Elektriksel uyarının beyinde yayılmasını engellemektedir. Süksimid türevlerinden olup plazma proteinlerine tam olarak bağlanmamaktadır (61).



Şekil 2.15: Etosüksimid Moleküler Yapısı ve Ca^{++} Kanalları

2.8. Yağ Doku

Yağ dokunun fonksiyonlarından birisi enerji deposu olmasıdır. İki çeşit adipoz doku vardır. Kahverengi Yağ Dokusu (BAT) ve Beyaz Yağ Dokusu (WAT). BAT yenidoğanlarda önemlidir. Vücut ağırlığının 5%'ini içermektedir ve yaş ile birlikte azalmaktadır. Adından da anlaşılacağı gibi rengi koyu kırmızıdan tan rengine kadar değişir, lipid içeriğini yansıtmaktadır. BAT, WAT'dan daha fazla kan damarına sinire ve mitokondriye sahiptir. WAT obezite kapsamındaki en büyük kilo

kaynağıdır. WAT iki büyük depoda bulunabilir bunlar subkutan ve visseraldır ve her iki ana kategorinin alt depoları insan vücudu boyunca alt depolar şeklinde dizi oluşturur. Yağ doku endotel hücreleri, fibroblastlar, preadipositler, adipositler ve bazı diğer hücreleri içeren birkaç tipten meydana gelir. Preadipositler yaşam boyu adipositlere dönüşme ve çoğalma hiperlazisine sahiptir. Yağ dokusu ekstra enerjinin depolanması için temel depodur (14).

2.8.1. Bir Endokrin Organ Olarak Adipoz Doku

Günümüzde, yağ doku pasif bir enerji deposundan çok endokrin bir organ olarak dikkat çekmektedir. Yağ doku yağ asitleri, adipokinler ve hormonlar salgılamaktadır ve enerji dengesini inflamasyonu sistematik ve lokal olarak düzenlemektedir. Yağ asitleri ve inflamasyon faktörleri dışında yukarıda anlatıldığı gibi adipoz doku antienflamatuvar ve antiinsülin direnci faktörlerini salgılar. Leptin, yağ dokusundan klonlanan ilk adipokindir, vücut ağırlığı ve besin alımını kontrol eder. Leptinin ekspresyonu yağ dokusuyla orantılıdır. Farelerde leptin geninin çıkartılması veya insanlarda mutasyonu obeziteye sebep olmaktadır. Adiponektin adipoz dokudan salgılanan bir diğer adipokindir. Obezite ile ekspresyonu azalmaktadır. Çalışmalar göstermiştir ki, adiponektin insülin sensitizörü olarak görev yapmakta ve insülin direncini düşürmektedir. Fazla miktardaki adiponektin obezitedeki insülin direncini geliştirmez. İnsülin direnci sadece yağ kütlesiyle ilgili olmayıp yağın lokasyonu da ilgilidir. Visseral yağlanmada subkutan yağlanmaya göre daha fazladır. Visseral obezite Tip 2 Diyabet ve kardiyovasküler hastalıklarla ilişkilidir (13, 14).

2.8.2. Yeni Bir Adipokin Omentin

Omentin, inteletin adı altında, barsaklardan bağımsız olarak klonlanmıştır. İnsan omentini, kromozonun 1. ve 8. ekzonlarına ve 7. intronlarına yerleşmiştir. Balıkta, kurbağada, farede, koyunda, sığırdı ve insanlarda izole edilmiştir. Bu gen 313 aminoasitlik (38KDa) bir protein olarak ve homotrimer olarak kodlanmıştır. Endotel hücrelerinden, epitel hücrelerinden, goblet hücrelerinden, paneth hücrelerinden, küçük barsak enterositlerden ve mezotel hücrelerinden salgılanmaktadır (14).

2.8.3. Omentinin Enerji Metabolizmasındaki Rolü

Enerji hemostazı, daha sonra harcanmak için ekstra enerjiyi depo ederek enerji alımı ve harcamasını eşleyen ve vücut enerji düzeyini sabit tutan bir süreçtir. İnsülin enerji hemostazisinde major düzenleyicidir. Örneğin, yağ asidi ve glukoz gibi maddeleri depo için adipokinlere girmesi ve oksidasyon için kas dokusuna girmesi için uyarmaktadır. İnsülinin en önemli fonksiyonlarından birisi, oksidasyon veya depo için yağ hücreleri, kas ve karaciğer gibi yapılardaki hedef hücrelere glukoz alınımindaki yükselmedir. Bu işlem fosforilasyon kaskatları şeklinde dikkat çekmektedir. Normal şartlar altında yemekten sonra insülin salgılanır ve hücre yüzeyindeki insülin reseptörüne bağlanır ve reseptörünü aktive eder. AMP aktive edici protein kinaz (AMPK) enerji hemostazisinde rol alan bir başka regulatördür. AMPK hücrel enerji durumlarının metabolik sensörü olarak faaliyet gösterir. AMPK aktivasyonu miyositlerde glukoz alınımindaki ve yağ asidi oksidasyonunu teşvik eder ve hepatositlerdeki glikoneogenezisi azaltır ve adipositlerdeki lipogenezisi inhibe etmektedir. Omentin obezite ile birlikte azalırken kilo kaybı ile yükselmektedir. İnsülin ve glukoz omentin mRNA sını ve protein ekspresyonunu azaltmakta ve omental adipoz doku eksplantlarındaki sekresyonunu azaltmaktadır. İnsan plazma omentin 1 seviyeleri Tip 1 Diyabet tablolarında düşmüştür. Omentin genetiklerindeki ön çalışmalar omentinin polimorfizmi metabolik sendromun özellikleriyle ilişkili olduğunu göstermektedir. Tüm bu sonuçlar omentinin enerji metabolizmasında bir rolü olduğunu belirtmektedir. AMP bağımlı protein kinaz (AMPK) enerji alınımindaki, vücut ağırlığında ve glukoz ve lipid homeostazının düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. AMPK hücrelerde enerji seviyesini algılayan bir “enerji göstergesi” olarak kabul edilir. Enerji seviyesi düşük olduğunda AMPK devreye girer. Ayrıca egzersiz, kasılma, hipoksi, hiperosmatik gibi durumlarda aktive olabilmektedir. AMP-aktive edici protein kinaz aktivatörüdür (AICAR) ve adiponektindir. Aktifleştirilmiş AMPK enerji jenerasyonunda yükselebilir ve enerji harcanması işlemlerinde engellenebilir. Ayrıca AMPK yağ asidi sentezinde engellenirken yağ asidi oksidasyonunda yükselebilir. Bazen de AMPK, hücre içine glukoz transportunda yükselir. Omentin AMPK fosforilasyonunu ve yağ asidi oksidasyonunu arttırmaktadır (12, 14).

2.8.4. Omentin ve İyon Kanalları

İnsan aortik endotel hücrelerinde (Human aortic endothelium cells/ HAECs)'e yapılan çalışmada omentinin AMPK fosforilasyonunu artırdığı gözlemlenmiştir. AMPK'nın ise GABA_B reseptörleri üzerinde aktifleştirici özelliği vardır. GABA_B reseptörleri genellikle postsinaptik bölgede bulunur. Metabotropik, G proteini üzerinde ya K⁺'un permeabilitesini artırırlar ya da voltaj kontrollü Ca⁺⁺ kanallarını baskırlar. Nörotransmitter salınımını engeller. GABA_B, inhibisyonu K⁺ kanallarının açılması ile gerçekleştirir. K⁺'un denge potansiyeli, her zaman dinlenim potansiyeline göre daha negatiftir. Bu nedenle K⁺ kanallarının açılması, post-sinaptik membranı Cl⁻ kanallarının açılmasına göre daha güçlü bir biçimde inhibe eder. K⁺ hücre dışına çıkar membran potansiyeli daha negatif hale gelir ve hücrenin uyarılması zorlaşır. Membran potansiyeli düştüğü için voltaj bağımlı Ca⁺⁺ kapanır. Hücre içine kalsiyum girişi azalır. Böylelikle uyarılma azalır. Bu inhibisyon nöronal deşarjların sonlanması ve baskılanmasını sağlar. Bu bilgiler ışığında planlanan çalışmada, Omentinin bahsi geçen yollar üzerinden epilepsi patolojisinde koruyucu ve tedavi edici etkisinin olabileceği düşünülmektedir (62).

2.9. Absans Epilepside İmmünohistokimyasal Değerlendirme

2.9.1. *c-fos* Geni ve Ekspresyonu

c-fos gen ekspresyonu, hücrelerin büyüme ve farklılaşmasını etkileyen çok sayıda etken tarafından hızlı ve geçici olarak sağlanır. Herhangi bir durumda uyarana karşı verilen ilk yanıt veren genler arasındadır (Immediate Early Gene, IEG). Çekirdeksel bir transkripsiyon faktörü olup üçüncü haberci veya hücre işlevleri açısından ana anahtar rolü vardır (celluler master switch). Genin hücredeki ekspresyonu ve birikimi çeşitli uyarılara yanıt olarak hücre aktivasyonu ile birlikte artar (43).

2.9.2. *c-fos* İşlevi

c-fos geni proto onkojen olup onkoprotein sentezleme özellikleri vardır. Farklılaşmayı uyaran maddeler ve çeşitli mitojenler tarafından uyarılabilen *c-fos* transkripsiyonu bağımsız olarak yeni protein sentezi meydana getirebilmektedir. Bazı tümörlerde *c-fos* aktivasyonunun arttığı görülmüştür bu durum ise kanser

gelişiminde *fos* genlerinin katkısının olduğunu desteklemektedir. *c- fos* gen ekspresyonu bazı uyaranlara karşılık nöron topluluklarının çekirdeklerinde *c-fos* proteinlerini uyarır. Böylelikle merkezi sinir sisteminde nöronal aktivitenin modeli olarak kabul edilmektedir (63).



3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmada kullanılacak deney hayvanları *AİBÜ Deney Hayvanları Uygulama Araştırma Merkezinden (AİBÜ DEHAM)* temin edilmiştir. Hayvanlar çalışma başlayıncaya kadar ve çalışma süresince *AİBÜ DEHAM*'de, 12 saat aydınlık/karanlık döngüsüne uygun sabit ısı (20°C±4°C), nispi nemi %50-70 olan ortamda tutulmuş olup ad libitum besin ve su ile beslenmişlerdir. Çalışmada 48 adet 4-6 aylık, 250-350 gram Wistar Albino erkek sıçan ve 16 adet 6-8 aylık, 250-350 gram WAG/Rij erkek sıçan kullanılmıştır.(Tablo 3. 1) Çalışma bitiminde hayvanlar infüzyon perfüzyon yöntemiyle sakrifiye edilmiştir. Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Hayvan Araştırmaları Yerel Etik Kurulu'ndan (*Etik Onay Numarası:2014.43*) etik onay alınmış ve Abant İzzet Baysal Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Birimi (*Proje No:2015.08.02 841*) tarafından desteklenmiştir.

3.2. Deney Grupları

Tablo 3.1: Deney Grupları

Wistar Albino Grubu (A)						
Grup	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	Grup 6
Uygulama	Kontrol	Pozitif Kontrol Pentilentetrazol (PTZ)	Etosüksimid + PTZ	Etosüksimid + Omentin + PTZ	Omentin + PTZ	PTZ + Omentin
Sayı	8	8	8	8	8	8

WAG/ Rij Grubu (B)		
Grup	Grup 1	Grup 2
Uygulama	Kontrol	Omentin
Sayı	8	8

3.3. Deneyde Kullanılan Maddeler

Araştırmada antiepileptik ilaç olan Etosüksimid (ETX), konvulsan etkili Pentilentetrazol (PTZ) ve adipokinlerden Omentin kullanılmıştır. Dozlar daha önceden incelenen literatüre göre belirlendi. PTZ 40 mg/kg olacak şekilde intraperitoneal olarak uygulanmıştır. Etosüksimid, 125mg/kg olacak şekilde

intraperitoneal uygulandı. Omentin 8 µg/kg/3gün aynı saatte olacak şekilde intraperitoneal olarak uygulanmıştır.

3.4. Deney Dizaynı

Grup A1 sıçanlarına, herhangi bir ilaç veya ajan uygulaması yapılmadı ve EEG kaydı alındı.

Grup A2 sıçanlarına, PTZ 40mg/kg uygulandı EEG kaydı alındı.

Grup A3 sıçanlarına, 3 gün aynı saatte Etosüksimid 125mg/ kg+PTZ 40 mg/kg uygulandı EEG kaydı alındı.

Grup A4 sıçanlarına, 3 gün aynı saatte olmak üzere Omentin 8 µg/ kg ve saatte Etosüksimid 125mg/kg uygulandı ve kayıt alınacağı gün son doz Etosüksimid 125mg/kg+PTZ 40 mg/kg ile birlikte uygulandı.

Grup A5 sıçanlarına, 3 gün aynı saatte olmak üzere Omentin 8 µg/kg uygulandı ve kayıt alınacağı gün son dozdan 15 dakika sonra PTZ 40mg/kg uygulandı.

Grup A6 sıçanlarına, 3 gün aynı saatte olmak üzere Omentin 8 µg/kg uygulandı ve kayıt alınacağı gün son doz ile PTZ 40mg/kg birlikte uygulandı.

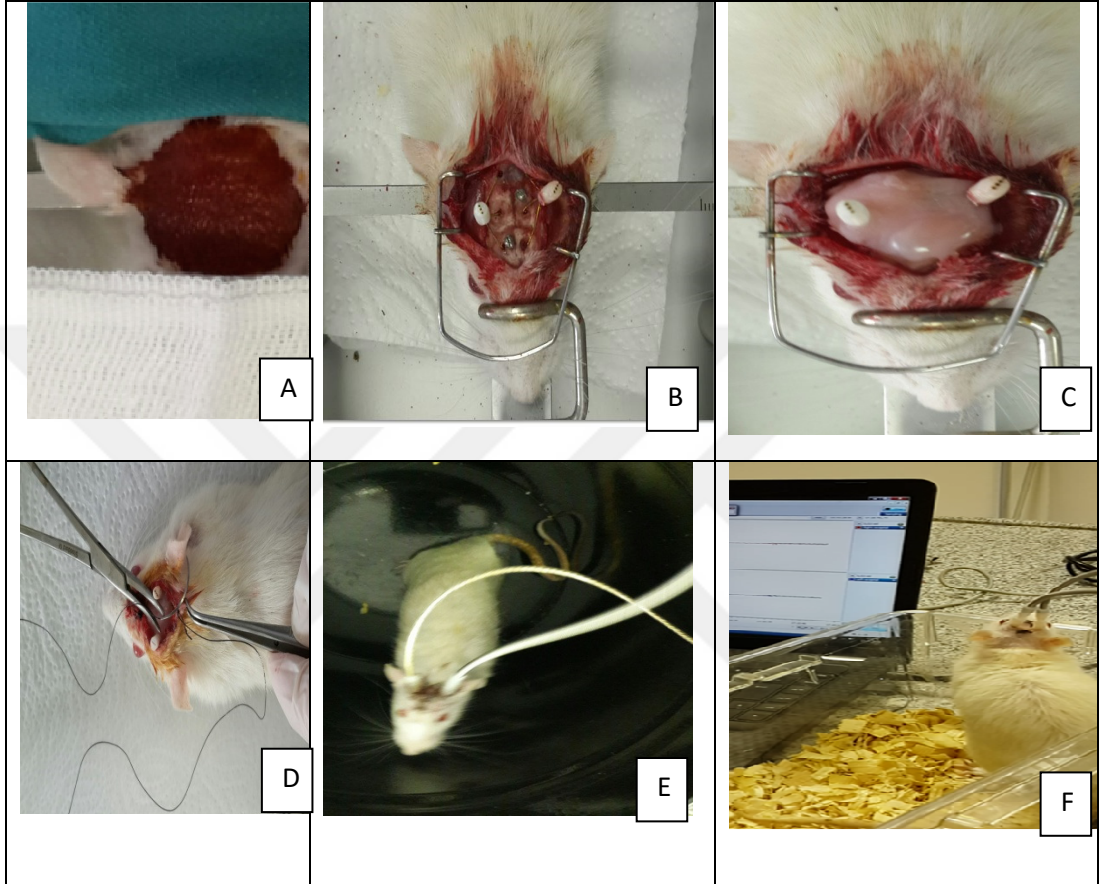
Grup B1 sıçanlarına, herhangi bir ilaç veya ajan uygulaması yapılmadı ve EEG kaydı alındı.

Grup B2 sıçanlarına, 3 gün aynı saatte olmak üzere Omentin 8 µg/kg uygulandı ve son gün Omentin dozundan sonra EEG kaydı alındı.

3.5. Stereotaksik Uygulama

Stereotaksik uygulama öncesi Ketamin 90 mg/kg i.m + Ksilazin 3 mg/kg i.m ile anestezi edilmiştir. Anestezinin derinliği kornea ve pençe refleksleri ile kontrol edildikten sonra, stereotaksi aletine bregma ve lambda noktaları aynı düzlemde olacak şekilde yerleştirilmiştir. Sıçanların kafaları, kulak delikleri ve ön dişlerden, sabitleme çubukları aracılığı ile stereotaksi aletine sabitlenerek, kafa derisi üzerindeki tüyler traş edilip, deri antiseptik solüsyon ile silindikten sonra orta hattan insizyonla açılarak kafatası kemikleri bregma ve lambda noktaları ortaya çıkarılmıştır. Tüm elektrot ve vidalar Paxinos ve Watson'un sıçan beyin atlası kullanılarak hesaplanmıştır. Sağ oksipital lop AP-6 ve L-4 koordinatlarına ve sağ frontal lop AP+2 ve L-3,5 koordinatlarına ve serebelluma elektrot yerleştirildi. Sol oksipital lop AP-6 ve L-4 koordinatlarına ve sol frontal lop AP+2 ve L-3,5

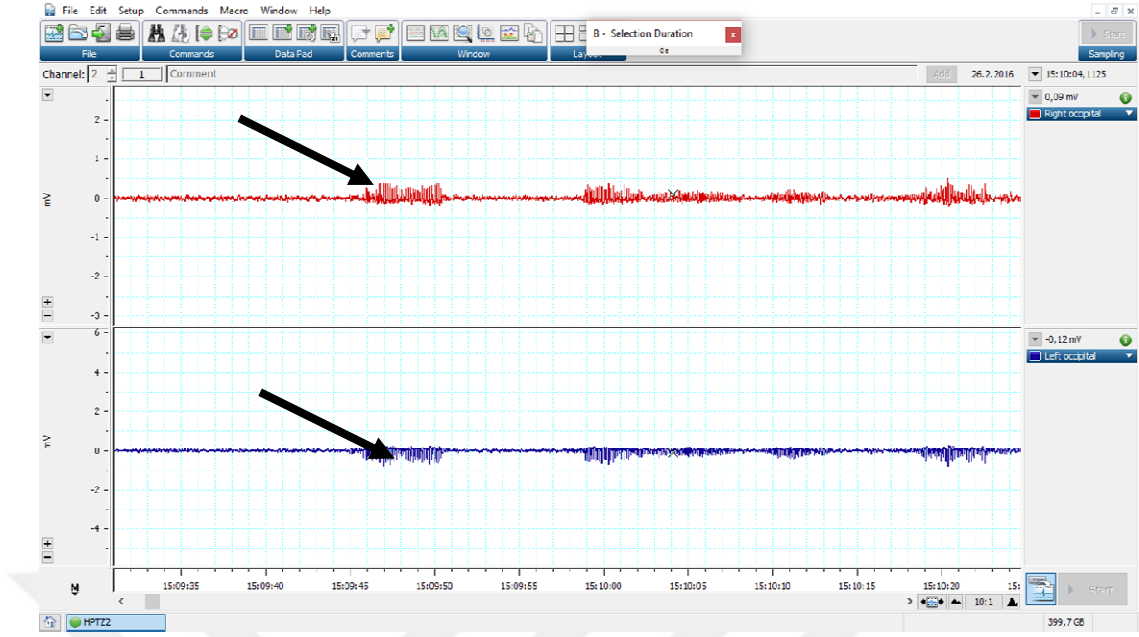
koordinatlarına ve topraklama için serebelluma elektrot yerleştirildi. Dişçi akriliğini sabitlemek için 2 adet vida kafatası kemiğine yerleştirildi. Akrilik uygulamasından sonra kuruması beklenip steril 3.0 ipek ile kapatıldı. Hayvanlar cerrahi işlem sonrası ayrı ayrı kafeslerde barındırılarak takipleri yapıldı.



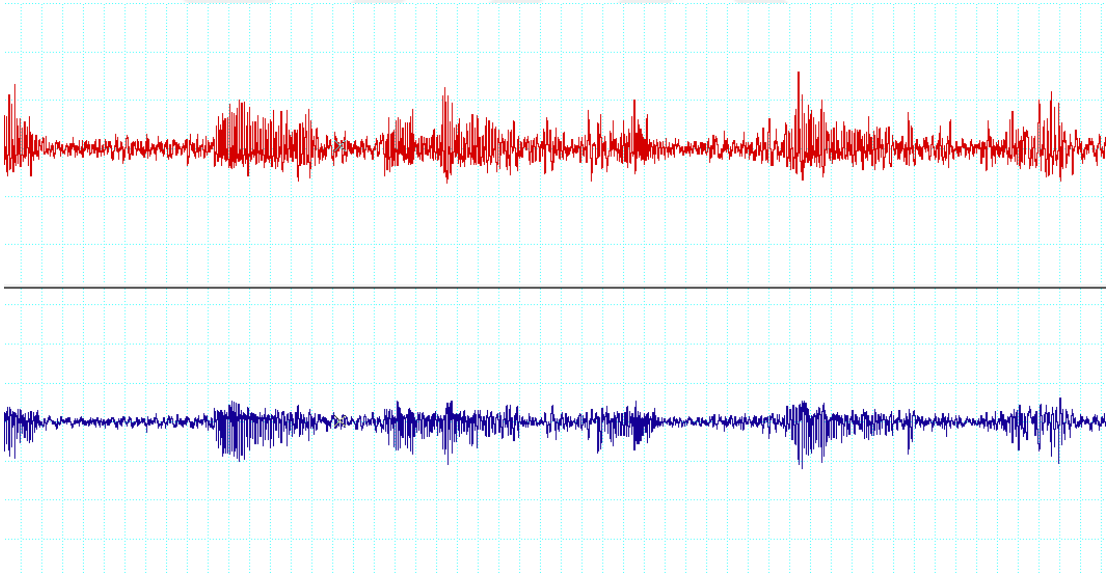
Şekil 3.1: EEG kaydı öncesi stereotaksik uygulama. A) Operasyon öncesi hazırlık, B) 2 adet vida, 2 adet elektrot yerleştirilmiş, C) Elektrot sistemi dişçi akriliği ile kapatılmış halde, D) Steril ipek ile derinin kapatılması E) EE için hazırlanmış F) EEG kayıt sırasında

3.6. Deney Protokolü

Hayvanlar bir haftalık iyileşmeden sonra deneysel işlemler bitene kadar Pleksiglas kafeslerde barındırıldı, kafalarına yerleştirilen elektrot ve kablolar aracılığıyla EEG kayıt sistemine (PowerLab 4S, ADI Instruments, İngiltere) bağlanmıştır. Deneylerin başlangıcından bir gün önce hayvanlar sisteme bağlanarak sisteme adapte olmaları sağlanmıştır. Deney tasarımına göre bazal EEG kayıtları, uygulanan ilaç sonrası EEG kaydı alındı. EEG kayıtları, *AİBÜ DEHAM*'da yapılmıştır.



Şekil 3.2: PTZ uygulaması sonrası sıçanlarda görülen bilateral Diken Dalga Deşarjları



Şekil 3.3: WAG/ Rij sıçanlarda görülen bilateral Diken Dalga Deşarjları

3.7. DDD'ların Değerlendirilmesi

Deney gruplarında gözlenen DDD'lar kriterlere uygun olarak EEG kayıtlarından görsel olarak tespit edilmiştir.

Grup A1 için 2 saatlik kayıt alındı.

Grup A2 için PTZ uygulaması ile başlayan 2 saatlik kayıt alındı.

Grup A3 için Etosüksimid uygulaması ve PTZ indüklenmesi sonrası 2 saatlik kayıt alındı.

Grup A4 için 3 gün Omentin ve kayıt alınacağı gün Etosüksimid ve PTZ sonrası 2 saatlik kayıt alındı.

Grup A5 için 2 saatlik kayıt alındı.

Grup A6 için 3 gün Omentin ve kayıt alınacağı gün son dozdan 15 dakika sonra PTZ uygulaması yapıp 2 saatlik kayıt alındı.

Grup B1 için WAG/Rij ırkı sıçanlar herhangi bir ilaç uygulaması yapılmadan 2 saatlik kayıt alındı.

Grup B2 WAG/Rij ırkı sıçanlara 3 gün Omentin uygulaması yapıldı ve kayıt günü son dozdan hemen sonra 2 saatlik EEG kaydı alındı.

EEG kayıtlarından ortalama DDD sayısı ve DDD süreleri her bir hayvan için kaydedilip ayrı ayrı ortalamaları alındı. Latent dönem periyodu için ise DDD ilk görülmeye başladığı zamana kadar geçen süreler kaydedildi. DDD'lerin kriteri olarak en az 2 saniye süren diken ve dalgaların bilateral olarak yüksek amplitüdlü asimetrik senkronize ritmik aktiviteleri kabul edilmiştir.

3.8. Histolojik Değerlendirme

Bir nöronal aktivasyon işaretleyicisi olan proto onkogenlerden *c-fos*'un nöronal aktivasyona bağlı talamustaki ekspresyonu kantitesini değerlendirmek amacıyla immünohistokimyasal boyama yapılmıştır. Histolojik işlemler Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir.

3.8.1. Hayvanlar ve Dokuların Hazırlanması

Thalamus, gruplara ayrılmış olan tüm sıçanlardan alındı. Bu işlem için öncelikle 90 mg/kg i.m Ketamin+ Ksilazin 3 mg/kg i.m uygulanıp sıçanlar genel anestezi altına alındı. Kornea ve pençe refleksleriyle anestezi derinliği kontrol edildi.

Göğüs kafesinden kalbe girilip 5cc intrakardiyak kan alınıp ardından %10'luk heparin enjekte edildi ve kalbe kesi atılıp %0,9'luk serum fizyolojik ile kanın vücuttan uzaklaşması sağlandı. %10'luk formaldehit ile dokular sabitlendiği bıyık ve pençelerin hareketiyle anlaşıldı. Beyinler uygun şekilde çıkartıldı. Histolojik inceleme için fiksasyon, dehidratasyon, saydamlaştırma, parafinizasyon

aşamalarından sonra sagittal trimleme yapılarak frontal lob alta gelecek şekilde bloklama yapıldı. Parafin blok mikrotoma monte edildi ve 5µ kalınlığında kesitler alındı. 35-40°C sıcaklıktaki su banyosuna (benmari) atıldı ve kesilme esnasında kıvrılan dokuların düzelmesi sağlandı. Hemotoksilen-Eozin Boyaması yapılarak talamus alanı tespit edilen bloklar için *c-fos* boyama prosedürüne geçildi. Polizinli lamlara alınan dokular etüvde bekletildi. İmmünohistokimyasal prosedür uygulanmasının ardından eksprese olan hücreler ışık mikroskopuyla sayıldı.

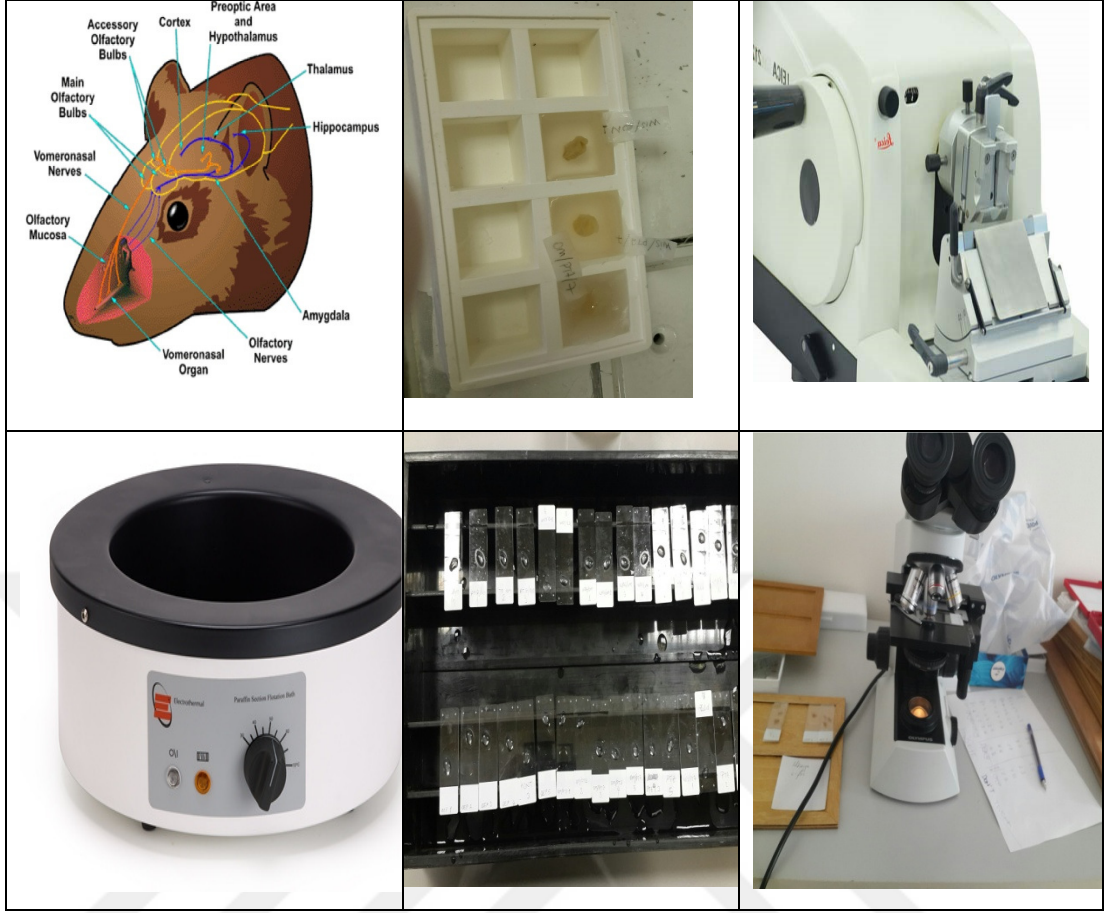
3.8.2. İmmünohistokimyasal Boyama Prosedürü

Bu prosedür thalamusda herhangi bir nörolojik inflamasyon durumunda veya nosisepsiyon sırasında ekspresyonu artan protoonkojenlerden olan *c-fos*'un ekspresyonu ürününü gözlemlemek amacıyla mevcut prosedür modifiye edilerek uygulandı.

Boyama Prosedürü:

1. Polizinli lamlar üzerine alınan talamus kesitleri deparafinizasyon ve dehidratasyon işlemlerine tabi tutuldu:
 1. Etüvde 60 dakika bekletildi.
 2. Ksilen'de 3 dakika bekletildi.
 3. Ksilen ve % 100'lük alkolde 3 dakika bekletildi.
 4. % 100'lük alkolde 3 dakika bekletildi.
 5. % 96'lık alkolde 3 dakika bekletildi.
 6. % 70'lik alkolde 3 dakika bekletildi.
 7. % 50'lik alkolde 3 dakika bekletildi.
 8. Distile su ile yıkama yapıldı.
2. İstenmeyen antijenler, preparatlar sodyum sitrat buffer (10µM 2,94 gr/L % 0,05 Tween, pH:6)'dan geçirildi, 350 Watt mikrodalga fırında 5 dakika bekletilerek maskelendi.
3. Kesitler, 0,1 M PBS (Sigma P3280) ile 2 kez 10'ar dakika yıkandı.
4. Kesitler, % 4'lük BSA (Bovine Serum Albumine, Sigma A4553) ve %0,25 tritonun PBS içinde ile hazırlanan solüsyonda 30 dakika bekletildi.

5. Kesitler, blok solüsyonla dilüe edilmiş primer antikor ile bir gece inkübe edildi (PBS 0,1 M;0,1 % BSA;0,3% Triton X-100;%2 serum (anti *c-fos* 1/5000, Abcam, AB 7963)
6. Ertesi gün kesitler PBS ve % 0,025 triton ile hazırlanan solüsyonla 3 kez 15'er dakika yıkandı.
7. Kesitler, %0,05 H₂O₂'in, A solüsyonu (PBS+%0,025 triton+%1 BSA) içinde 5 dakika bekletildi.
8. Kesitler, PBS ve % 0,025'lik tritonla hazırlanmış solüsyonla 1 kez yıkandı.
9. Kesitler, A solüsyonunda sekonder antikorun (Anti sheep 1/2000, Abcam AB 6895) çözünmesiyle elde edilen solüsyonda 2 saat inkübe edildi.
10. Kesitler, PBS ile 3 kez 15'er dakika yıkama işlemine tabi tutuldu.
11. Kesitler, 2 saat ABC (Vector laboratuar, PK 7200) solüsyonunda inkübe edildi.
12. Kesitler, PBS ile 3 kez 5'er dakika yıkama işlemine tabi tutuldu.
13. Diamino benamid (DAB %40'lık Sigma D 0426) kromojeni ve %0,003 H₂O₂ ile 5 dakika inkübe edildi.
14. Kesitler sırasıyla dehidrate edildi.
 1. Distile su 2 dakika,
 2. % 70'lik alkol 2 dakika,
 3. % 90'lık alkol 2 dakika,
 4. %100'lük alkol 2 dakika,
 5. Ksilen'de 2 dakika bekletildi.
15. Kesitler, entellan ile kapatıldı.



Şekil 3.4: Histolojik İşlem Aşamaları

3.9. İstatistiksel Değerlendirme

Deneyssel çalışma sonrasında elde edilen DDD sayısı, DDD ortalama süresi, latent periyod süresi ve *c-fos* ekspresyonu artan hücre sayıları istatistiksel olarak değerlendirildi. Değerlendirme “SPSS for Windows 17.0” paket programı kullanılarak yapıldı. DDD sayısı, latent periyod süresi ve *c-fos* ekspresyonu artan hücre sayıları için grupların kendi içinde değerlendirilmesi Kruskal Wallis, gruplar arası farkın önem denetimi ise Mann Witney U testi ile değerlendirildi. DDD ortalama süresi için grupların kendi içinde değerlendirilmesi One Way Anova, gruplar arası farkın önem denetimi ise Tukey ve Benferroni ile değerlendirildi. Anlamlılık değeri $p < 0,05$ kabul edildi.

c-fos ekspresyonu için; tüm gruplara ait talamus kesitleri semikantitatif olarak değerlendirildi ve seçilen alanlar fotoğraflandı. İmmün boyanma şiddeti 5 ayrı alanda, yaklaşık 100 hücrede; boyanmamış (-), zayıf (+), orta (++) ve güçlü (+++) olarak skorlandı ve hücreler sayıldı. HSCORE değerleri, semikantitatif değerlerden

elde edilmekte ve immün boyamanın hem yoğunluğunu hem de dağılımını göstermektedir.

$$\text{HSCORE} = \sum P_i(i + 1)$$

şeklinde formüle edilmektedir

P_i : boyanan hücrelerin yüzdesini,

i : boyama yoğunluğu skorlarını göstermektedir.

Her grupta zayıf, orta ve güçlü boyanan immün pozitif hücrelerin HSCORE değerleri ayrı ayrı hesaplandı ve grupların HSCORE değerlerinin aritmetik ortalamaları elde edildi. Elde edilen bu aritmetik ortalamalar istatistiksel olarak değerlendirildi.

4. BULGULAR

Çalışmamız AİBÜ DEHAM’da 48 adet yaşları 4-6 aylık Wistar Albino ırkı ve yaşları 6-8 aylık 16 Adet WAG/Rij ırkı erkek sıçanlarla yapıldı. EEG kayıtlarında DDD sayısı ve DDD süresi üzerine Omentin verilen gruplarla diğer gruplar arasında herhangi bir farklılığın bulunmadığı görüldü. Latent dönem açısından Grup A3 ile grup A4 arasında anlamlı farklılık görüldü diğer gruplarda anlamlı farklılık görülemedi. İmmünohistokimyasal incelemeyle elde edilen aktivasyonu artmış hücre sayısı açısından Grup B1 ve Grup B2 hariç tüm gruplarda anlamlı farklılıklar görüldü.

Tablo 4.1: Wistar Albino Grupları için EEG parametrelerinin ve *c-fos* ekspresyonu olan hücre sayısının ortalama değerleri ve standart sapmaları (Ortalama $\pm$ standart sapma)

Wistar Albino Grubu (A)						
	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	Grup 6
DDD sayı	-	187,2 $\pm$ 66,09	61,3 $\pm$ 11,01	61,1 $\pm$ 2,16	186,7 $\pm$ 46,51	199,2 $\pm$ 66,32
DDD süre	-	10,8 $\pm$ 2,64	4,87 $\pm$ 0,83	8,25 $\pm$ 2,76	10,3 $\pm$ 1,59	10,3 $\pm$ 4,10
Latent Periyot	-	123,7 $\pm$ 62,83	269,5 $\pm$ 28,91	314,3 $\pm$ 2,06	138,1 $\pm$ 42,79	159,5 $\pm$ 40,75
c-fos	G1	11,37 $\pm$ 1,06	15,87 $\pm$ 2,47	12,37 $\pm$ 1,30	11,0 $\pm$ 1,06	16,50 $\pm$ 2,26
	G2	12,12 $\pm$ 1,24	23,25 $\pm$ 3,45	18,12 $\pm$ 1,72	15,37 $\pm$ 2,19	24,62 $\pm$ 2,77
	G3	17 $\pm$ 2,13	38,62 $\pm$ 3,20	28,2 $\pm$ 2,10	24,87 $\pm$ 2,74	36,50 $\pm$ 1,92

Tablo 4.2: WAG/Rij Grupları için EEG parametrelerinin değerlerinin *c-fos* ekspresyonu olan hücre sayısının ortalama ve standart sapmaları (Ortalama $\pm$ standart sapma)

WAG/ Rij Grubu (B)		
Grup	Grup 1	Grup 2
DDD sayı	53,6 $\pm$ 19,16	64,1 $\pm$ 19,31
DDD süre	13,8 $\pm$ 4,73	8,87 $\pm$ 3,64
c-fos	G1	13,87 $\pm$ 1,12
	G2	23,0 $\pm$ 7,50
	G3	35,12 $\pm$ 2,74

4.1. DDD Sayısı Açısından Değerlendirme

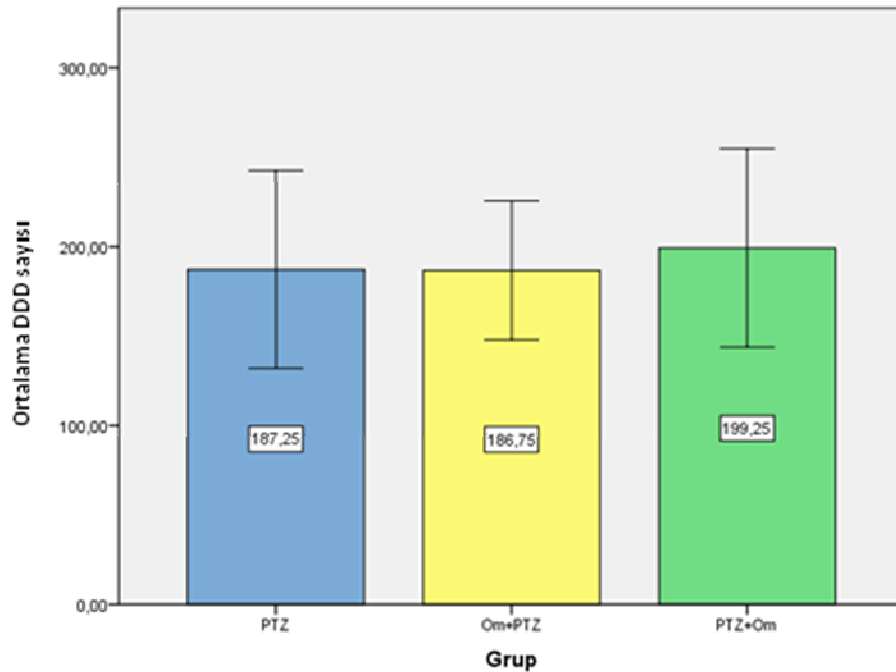
Grupların EEG kayıtlarındaki DDD sayısı gruplar arası istatistiksel olarak değerlendirildi. Omentin uygulaması yapılan Grup A5 ve Grup A6 gruplarıyla Grup A2 grubu arasında da anlamlı fark bulunamamıştır ($p>0,05$). Grup B1 ile Grup B2 arasında da istatistiksel açıdan anlamlı farklılık bulunamamıştır ($p>0,05$).

4.1.1. Omentin'in Wistar Albino Sıçanlarda DDD Sayısına Etkisi

Grup A2 ile Omentin'in PTZ uygulaması öncesi verildiği Grup A5 arasında DDD sayısı açısından anlamlı farklılık bulunamadı ($p=0,245$). Grup A2 ile Omentin'in PTZ uygulaması sonrası verildiği Grup A6 arasında anlamlı farklılık bulunamadı ($p=0,713$).

Tablo 4.3: Grup A2, Grup A5, Grup A6 minimum, maksimum, mean, median ve standart sapma değerleri

	Min	Max	Ortalama	Ortanca	S. Deviation
Grup A2	145	348	187,25	163,5	66,09
Grup A5	156	300	186,75	175	46,51
Grup A6	140	350	199,25	182	66,32



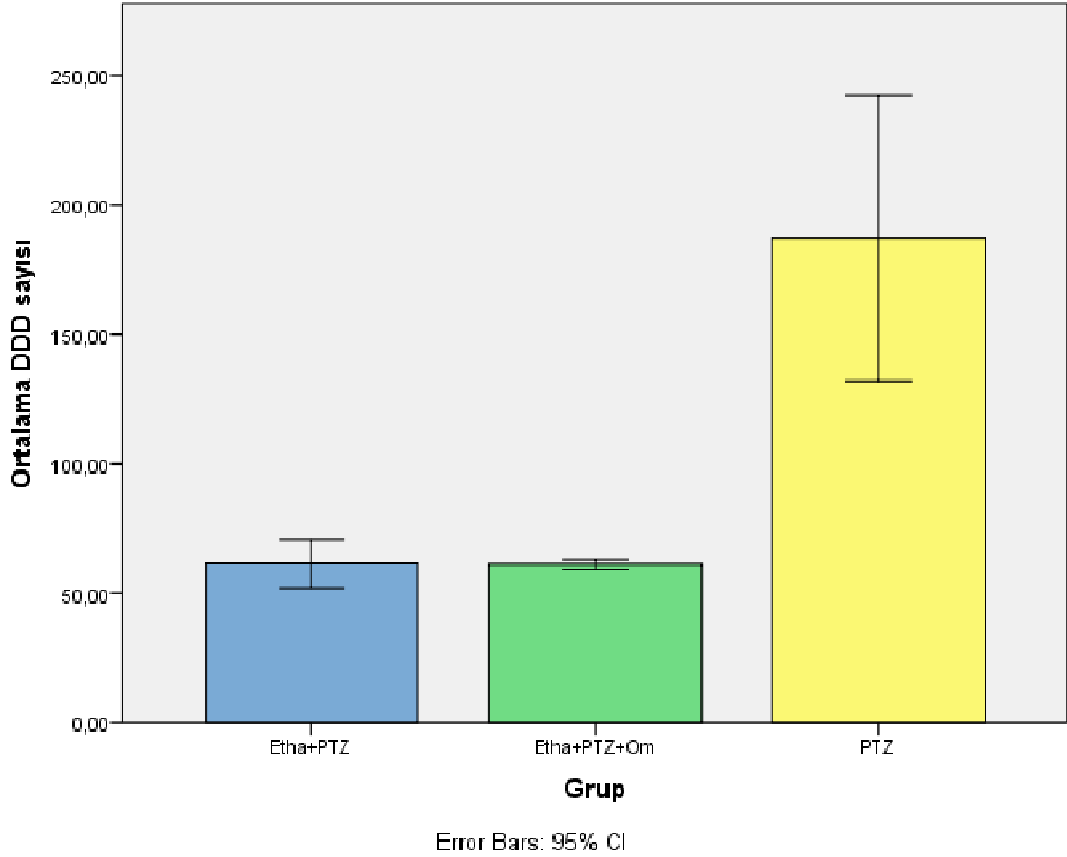
Grafik 4.1: DDD sayısına göre Grup A2, A5, A6 değerlendirilmesi
Grup A2 ile Grup A5 karşılaştırılmasıyla anlamlı sonuç elde edilemedi($p=0,245$).
Grup A2 ile Grup A6 karşılaştırılmasıyla anlamlı sonuç elde edilemedi($p=0,713$).

4.1.2. Omentin ve Etosüksimid Kombine Uygulamasının Wistar Albino Sıçanlarda DDD Sayısına Etkisi

Grup A1’de DDD görülmedi, Grup A3’de diğer PTZ uygulaması yapılan gruplara göre DDD sayısında azalma gözlemlenirken ($p=0,001$) Grup A4 ile anlamlı bir fark görülemedi ($p=0,874$).

Tablo 4.7: Grup A2, Grup A3, Grup A4 minimum, maksimum, mean, median ve standart sapma değerleri

	Min	Max	Ortalama	Ortanca	S. Sapma
Grup A2	145	348	187	163	66,09
Grup A3	43	81	61,37	60	11,01
Grup A4	58	64	61,12	61	2,16



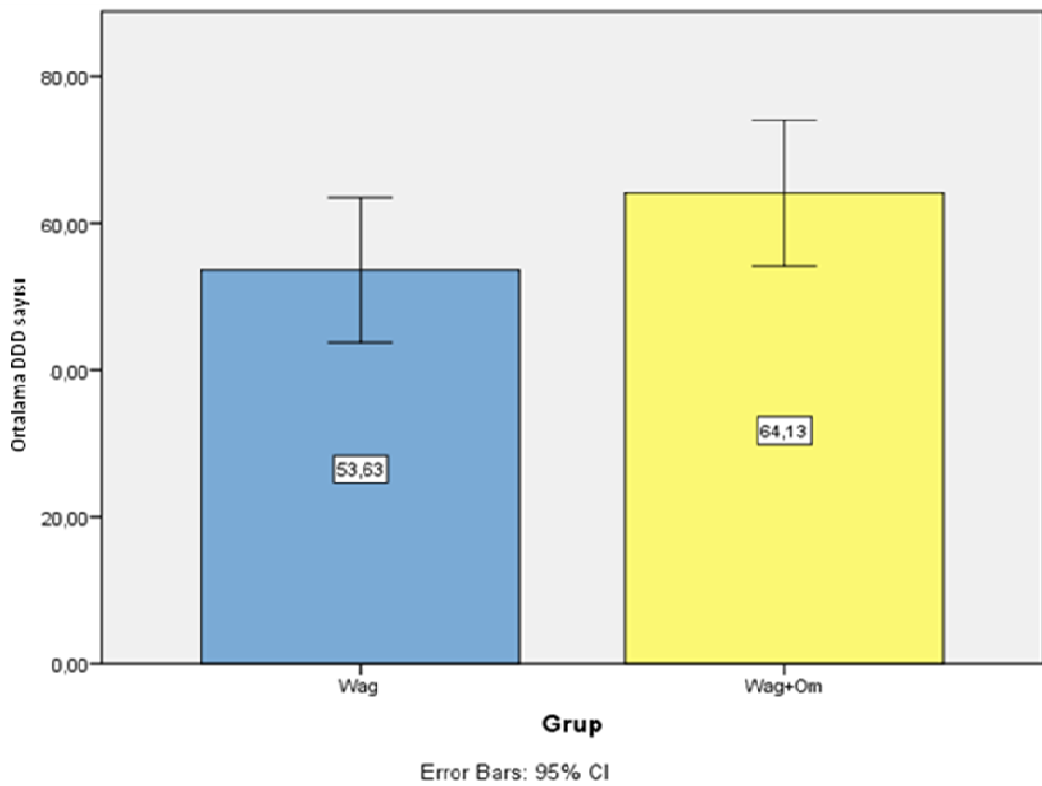
Grafik 4.2: DDD sayısına göre Grup A2, A3, A4 değerlendirilmesi
Grup A3’de A2’ye göre DDD sayısında azalma görüldü ($p=0,001$).
Grup A3 ile Grup A4 arasında anlamlı farklılık görülmeydi ($p=0,874$).

4.1.3. Omentin'in WAG/ Rij Sıçanlarda DDD Sayısına Etkisi

DDD sayısı açısından Omentin uygulanan Grup B2 ile uygulama yapılmayan Grup B1 arasında anlamlı farklılık görülemedi ($p=0,131$).

Tablo 4.5: Grup B1 ile Grup B2 minimum, maksimum, mean, median ve standart sapma değerleri

	Min	Max	Ortalama	Ortanca	S. Sapma
Grup B1	42	100	53,62	47	18,51
Grup B2	31	86	64,12	67,50	18,65



Grafik 4.3: DDD sayısına göre Grup B1 ve Grup B2 değerlendirilmesi
Grup B1 ile Grup B2 arasında anlamlı farklılık görülmedi ($p=0,131$).

4.1.4. DDD Ortalamaları Süresi Açısında Değerlendirme

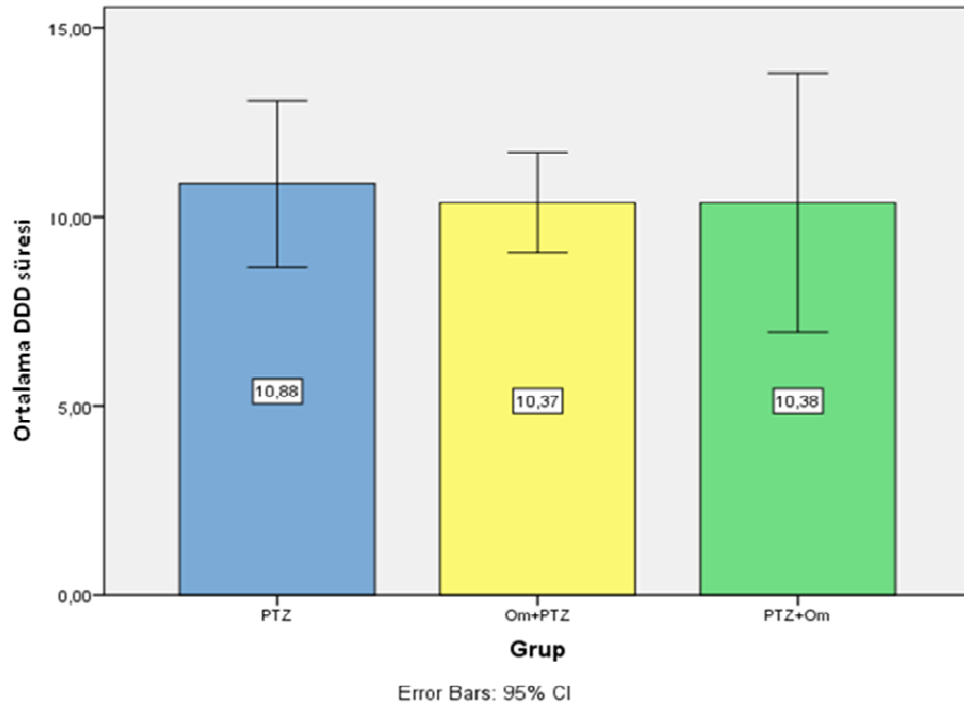
Grupların EEG kayıtlarındaki DDD ortalama süresi gruplar arası istatistiksel olarak değerlendirildi. Omentin uygulaması yapılan Grup A5 ve Grup A6 gruplarıyla Grup A2 grubu arasında da anlamlı fark bulunamadı ($p>0,05$). Grup B1 ile Grup B2 arasında da istatistiksel açıdan anlamlı farklılık bulunamadı ($p>0,05$).

4.1.4.1. Omentin'in Wistar Albino Sıçanlarda DDD Ortalama Süresine Etkisi

Grup A2 ile Omentin'in PTZ uygulaması öncesi verildiği Grup A5 arasında DDD ortalama süresi açısından anlamlı farklılık bulunamadı ($p=0,939$). Grup A2 ile Omentin'in PTZ uygulaması sonrası verildiği Grup A6 arasında anlamlı farklılık bulunamadı ($p=0,939$).

Tablo 4.6: Grup A2, Grup A5, Grup A6 minimum, maksimum, mean, median ve standart sapma değerleri

	Min	Max	Ortalama	Ortanca	S. Sapma
Grup A2	8	15	10,87	10,50	2,64
Grup A5	7	12	10,37	10,50	1,59
Grup A6	6	17	10,37	9	4,10



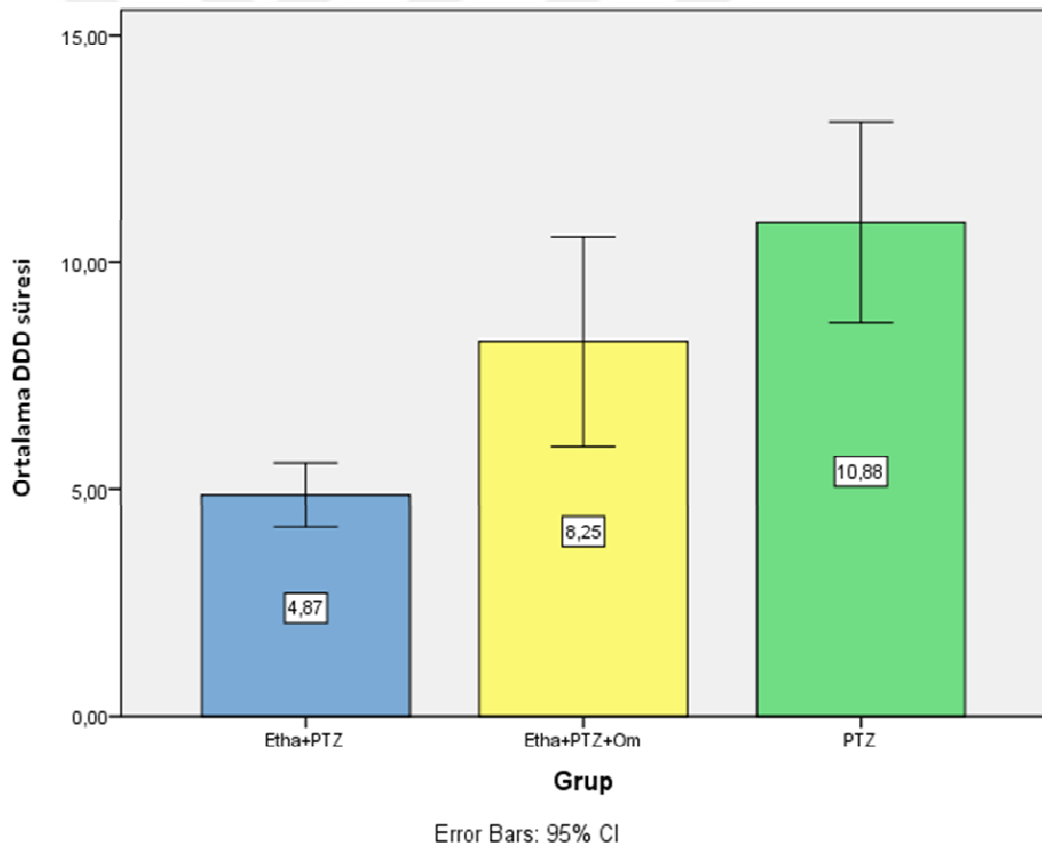
Grafik 4.4: DDD Ortalama Süresine Göre Grup A2, A5, A6 Değerlendirilmesi

4.1.5. Omentin ve Etosüksimid Kombine Uygulamasının Wistar Albino Sıçanlarda DDD Ortama Süresine Etkisi

Grup A3’de diğer PTZ uygulaması yapılan gruplara göre DDD ortalama süresi açısından azalma gözlemlenirken Grup A4 ile anlamlı bir fark görülemedi ($p=0,353$).

Tablo 4.7: Grup A2, Grup A3, Grup A4 minimum, maksimum, mean, median ve standart deviation değerleri

	Min	Max	Ortalama	Ortanca	S. Sapma
Grup A2	8	15	10,87	10,50	2,64
Grup A3	4	6	4,87	5	0,83
Grup A4	6	14	8,25	7,5	2,76



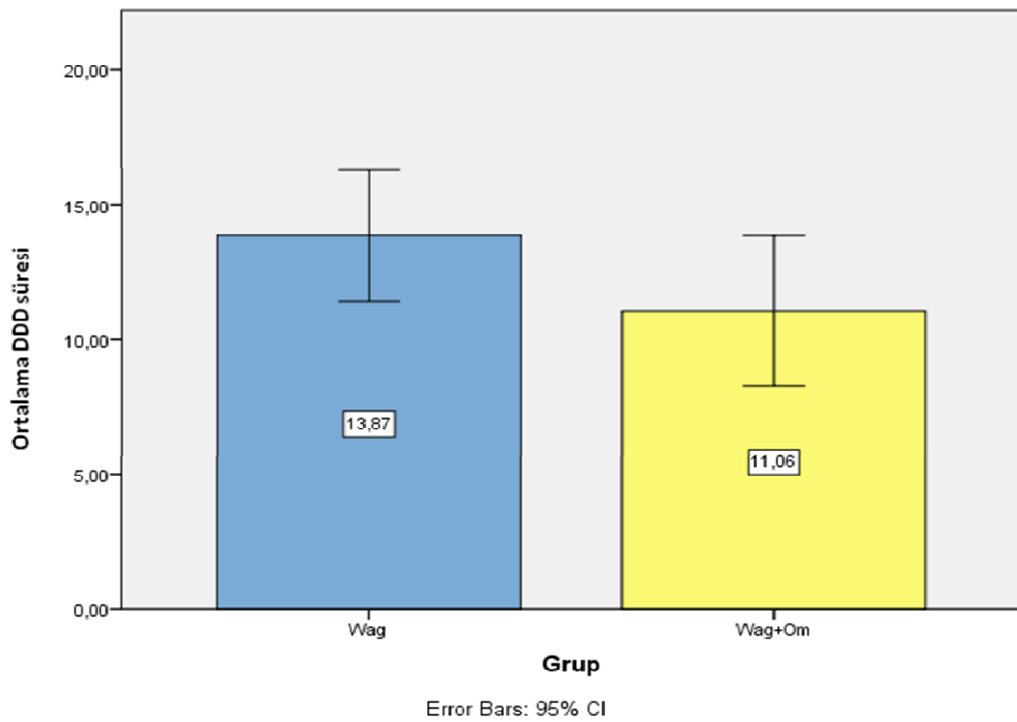
Grafik 4.5: DDD Ortalama Süresine Göre Grup A2, A3, A4 Değerlendirilmesi

4.1.6. Omentin'in WAG/Rij Sıçanlarda DDD Ortama Süresine Etkisi

DDD ortalama süresi açısından Omentin uygulanan Grup B2 ile uygulama yapılmayan Grup B1 arasında anlamlı farklılık görülmedi ($p=0,117$).

Tablo 4.8: Grup B1 ile Grup B2 minimum, maksimum, mean, median ve standart deviation değerleri

	Min	Max	Ortalama	Ortanca	S. Sapma
Grup B1	7	21	13,87	14,5	4,57
Grup B2	4	25	11,06	10,5	5,27



Grafik 4.6: DDD Ortalama Süresine Göre Grup B1 ve Grup B2 Değerlendirilmesi

4.2. Latent Dönem Açısından Değerlendirme

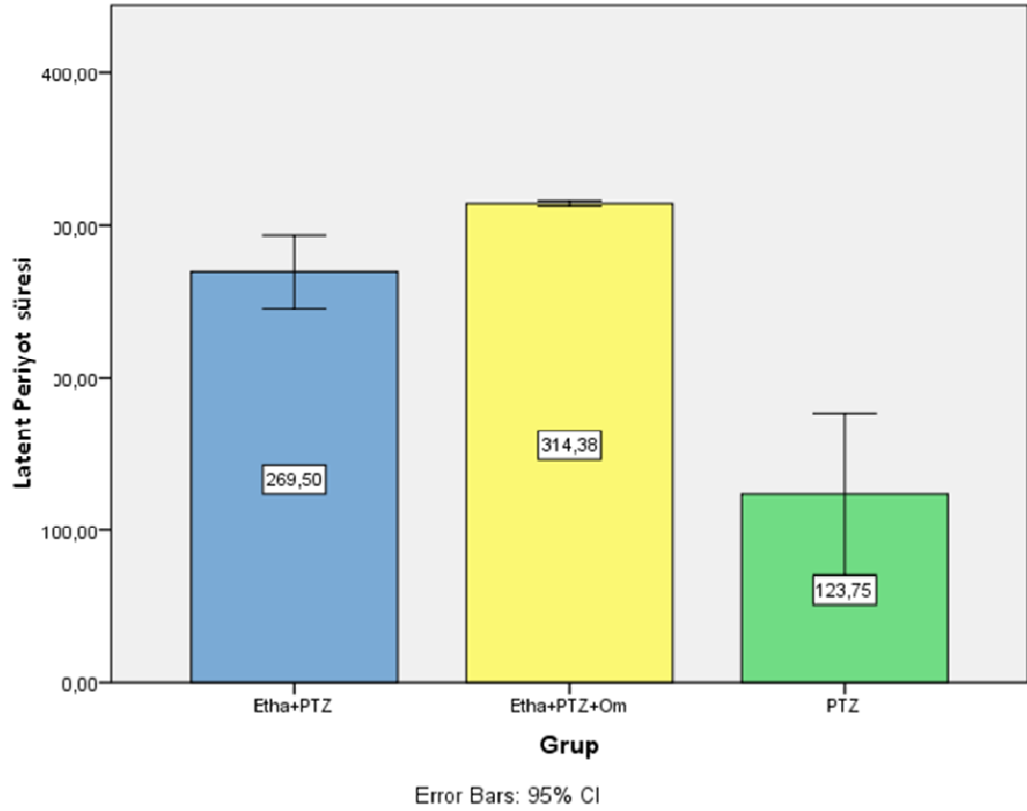
Grupların EEG kayıtlarındaki latent periyod süreleri gruplar arası istatistiksel olarak değerlendirildi. Omentin uygulaması yapılan Grup A5 ve Grup A6 gruplarıyla Grup A2 grubu arasında da anlamlı fark bulunamadı ($p>0,05$). Grup A4'ün latent periyod süresi Grup A3'e göre daha uzun olup anlamlı farklılık ortaya çıktı ($p<0,05$).

4.2.1. Omentin'in Wistar Albino Sıçanlarda Latent Periyot Üzerine Etkisi

Grup A2 ile Omentin'in PTZ uygulaması öncesi verildiği Grup A5 arasında latent periyot açısından anlamlı farklılık bulunamadı ($p=0,959$). Grup A2 ile Omentin'in PTZ uygulaması sonrası verildiği Grup A6 arasında anlamlı farklılık bulunamadı ($p=0,234$).

Tablo 4.9: Grup A2, Grup A5, Grup A6 minimum, maksimum, mean, median ve standart sapma değerleri

	Min	Max	Ortalama	Ortanca	S. Sapma
Grup A2	20	200	123,75	140	62,83
Grup A5	96	210	138,12	120	42,79
Grup A6	95	214	159,50	167	40,75



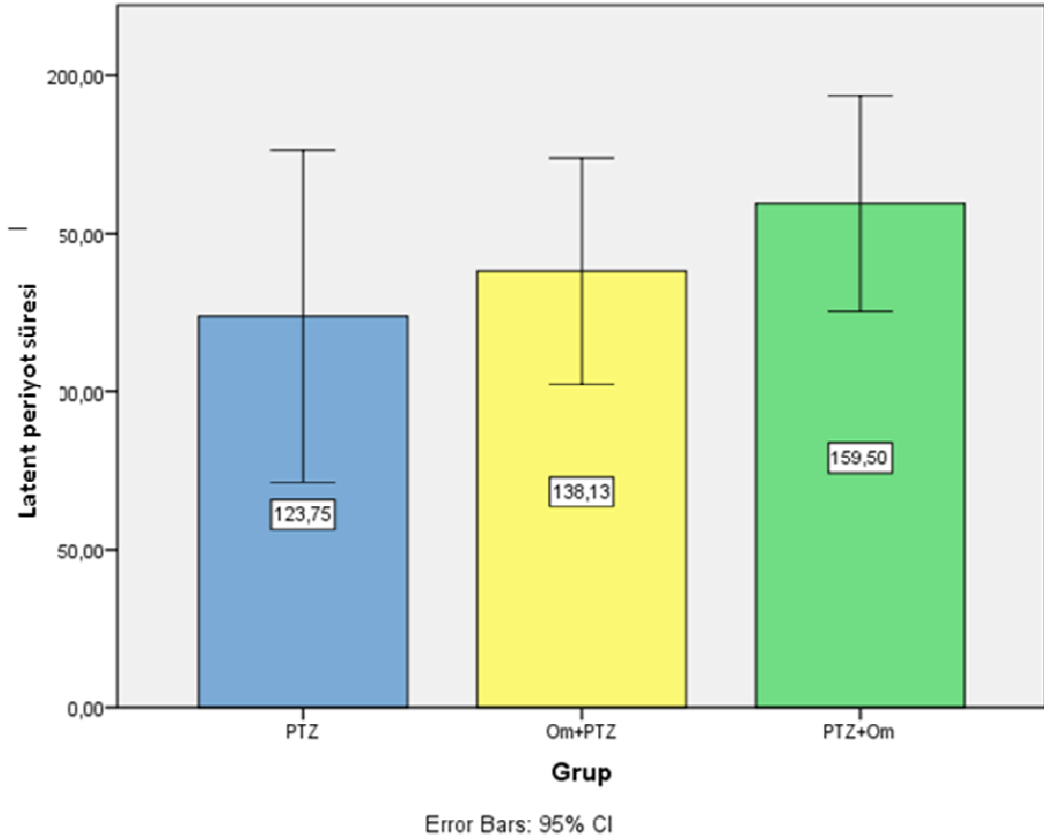
Grafik 4.7: Latent Periyoda Göre Grup A2, A5, A6 Değerlendirilmesi

4.2.2. Omentin ve Etosüksimid Kombine Uygulamasının Wistar Albino Sıçanlarda Latent Periyot Üzerine Etkisi

Etosüksimid'in tek başına PTZ ile uygulandığı grup olan Grup A3'de Grup A2'ye göre latent periyot süresi anlamlı derecede uzadı ($p=0,001$). Etosüksimid ve Omentin'in PTZ ile kombine uygulandığı grup olan Grup A4'de Etosüksimid'in tek başına PTZ ile uygulandığı grup olan Grup A3'e göre latent periyodu anlamlı derecede uzadığı görüldü ($p=0,011$). Omentin tek başına latent periyot üzerine herhangi bir etki göstermemesine rağmen Etosüksimid ile kombine uygulandığında latent periyodu uzattığı görüldü.

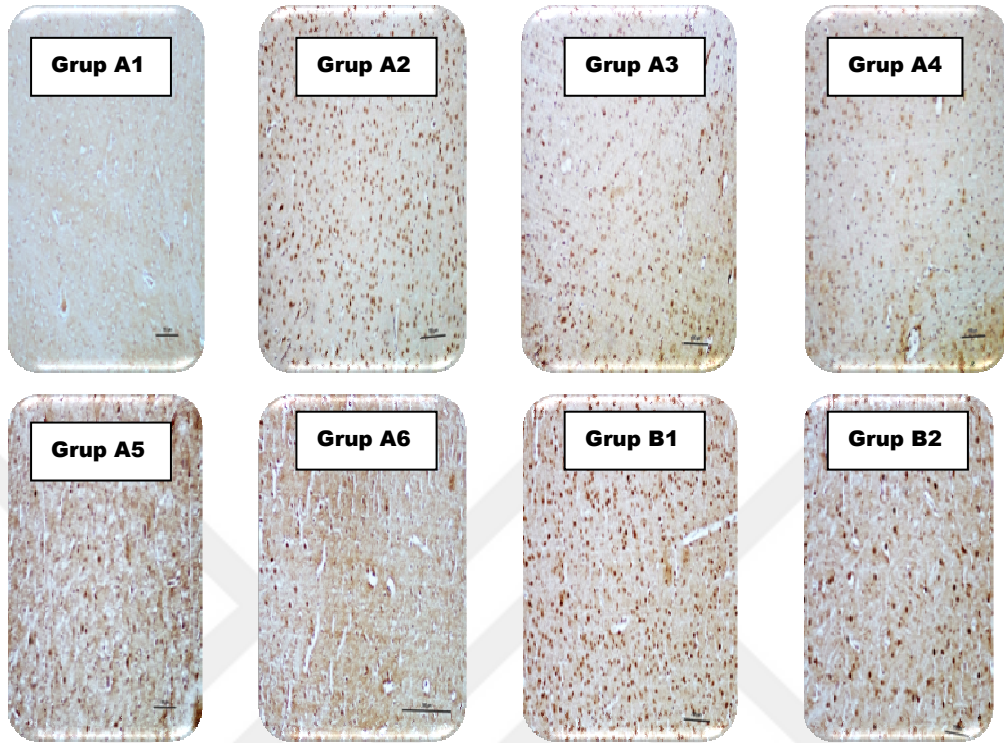
Tablo 4.10: Grup A2, Grup A3, Grup A4 minimum, maksimum, mean, median ve standart deviation değerleri

	Min	Max	Ortalama	Ortanca	S. Sapma
Grup A2	20	200	123,75	140	62,83
Grup A3	250	336	269,5	260	28,91
Grup A4	312	318	314,37	314,5	2,06



Grafik 4.8: Latent Periyoda Göre Grup A2, A3, A4 Değerlendirilmesi

4.3. *c-fos* Ekspresyonunun Histolojik Görüntü Açısından Değerlendirilmesi



Şekil 4.1: İmmünohistokimyasal Boyama Görüntüleri

Grup A1: Kontrol Grubu, **Grup A2:** PTZ uygulanan grup, **Grup A3:** Etosüksimid+PTZ uygulanan grup, **Grup A4:** Omentin+PTZ+ Etosüksimid, **Grup A5:** Omentin+PTZ, **Grup A6:** PTZ+Omentin, **Grup B1:** WAG/Rij, **Grup B2:** WAG/Rij+Omentin

Grup A1: Kontrol grubuna ait thalamus dokusunda nöronlarda *c-fos* ekspresyonunun olmadığı izlendi (Bar 100µm).

Grup A2: PTZ ile epilepsi oluşturulmuş grupta thalamus nöronlarında *c-fos* ekspresyonunun oldukça artmış olduğu görüldü (Bar 100µm).

Grup A3: Etosüksimid+PTZ uygulanan grupta *c-fos* ekspresyonunun PTZ’li gruba göre daha az olduğu görüldü (Bar 100µm).

Grup A4: Omentin ve Etosüksimid uygulanan grupta *c-fos* ekspresyonunun Etosüksimid Grubu ile benzerdir (Bar 100µm).

Grup A5: Omentin ve PTZ uygulanan grupta *c-fos* ekspresyonu Grup A2’ye göre azaldığı görüldü (Bar 100µm).

Grup A6: PTZ ve Omentin uygulanan grupta *c-fos* ekspresyonu Grup A2’ye göre azaldığı görüldü (Bar 100µm).

Grup B1: Genetik olarak epileptik olan sıçan thalamuslarında *c-fos* ekspresyonunun yoğun ve yaygın olduğu görüldü (Bar 100µm).

Grup B2: Genetik olarak epileptik olan sıçanlara Omentin verilen grupta *c-fos* ekspresyonu görüldü (Bar 100µm).

4.4. *c-fos* İmmünohistokimyasal Boyanma Açısından Semikantitatif Olarak Değerlendirme

c-fos boyanmasının semikantitatif olarak değerlendirilmesi için hücrelerin boyanma dereceleri üç kademede kaydedildi. Işık mikroskopisi ile yapılan değerlendirmede zayıf, orta, güçlü olarak thalamus nöron hücreleri gruplandırıldı. PTZ grupları kendi aralarında WAG/Rij grupları kendi aralarında karşılaştırıldı. PTZ gruplarında anlamlı sonuçlar görülürken, WAG/Rij gruplarında anlamlılık söz konusu değildi.

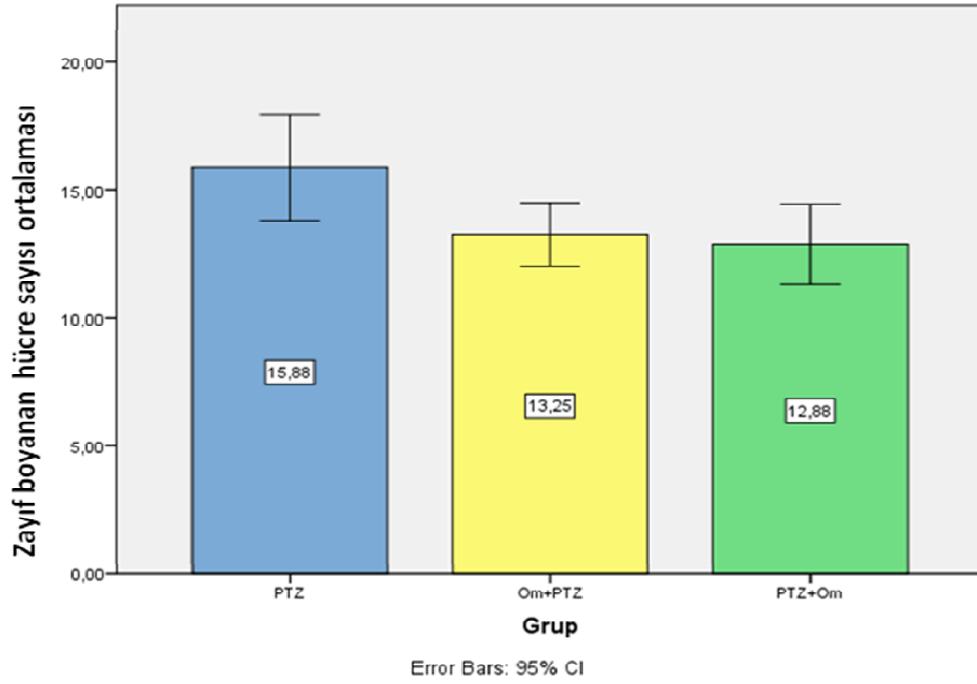
4.4.1. Omentin ve Etosüksimid Kombine Uygulamasının Wistar Albino Sıçanlarda *c-fos* Boyanmasının Semikantitatif Olarak Değerlendirilmesi

Grup A2 ile diğer A grupları arasında yapılan karşılaştırma neticesinde zayıf, orta ve güçlü boyanan hücre sayıları açısından en yüksek değerde olduğu tespit edildi.

Grup A3 ile **Grup A4** arasında yapılan değerlendirme neticesinde zayıf boyanan hücreler açısından, Grup A4 de yani Etosüksimid ile Omentinin kombine uygulandığı grupta Grup A3'deki hücre sayısından daha az olduğu tespit edildi ($p=0,045$). Orta boyanan hücre sayısı açısından da Grup A4'deki boyanan hücre sayısı azdır ($p=0,014$). Güçlü boyanan hücre sayısı açısından da Grup A4'deki boyanan hücre sayısı azdır ($p=0,015$).

Tablo 4.11: Grup A2, Grup A3, Grup A4'nın zayıf boyanan hücre sayılarının Min, Max, Mean, Median, S. sapma değerleri

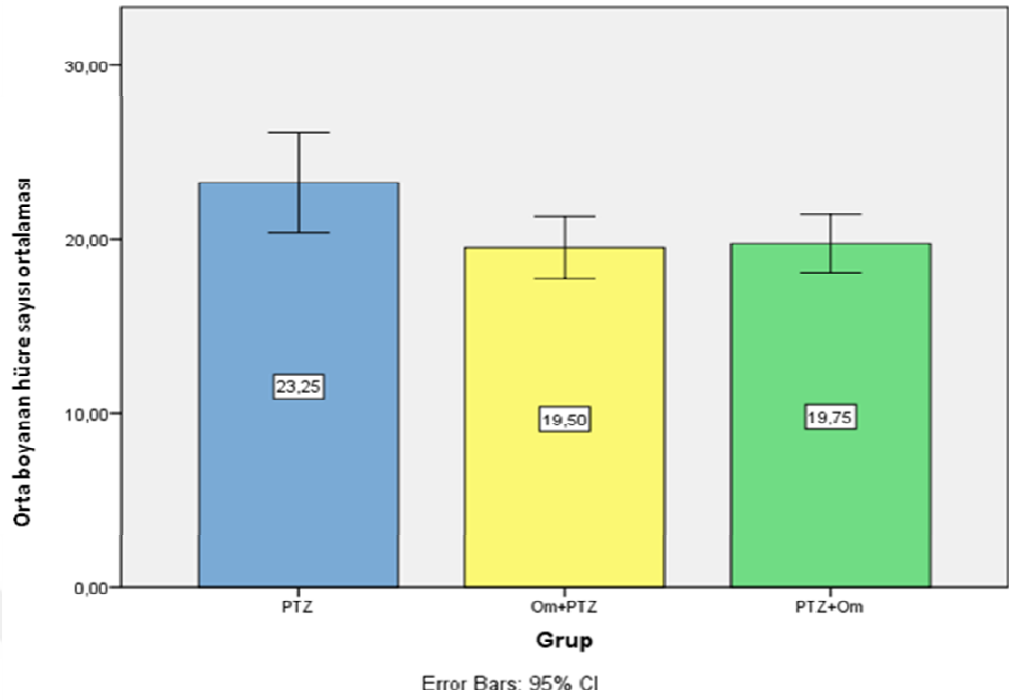
	Min	Max	Ortalama	Ortanca	S. Sapma
Grup A2	13	20	15,87	16	2,47
Grup A3	10	14	12,37	13	1,30
Grup A4	10	13	11	11	1,06



Grafik 4.9: Zayıf Boyanan Hücreler Açısından Grup A2, Grup A3 ve Grup A4 Arasında Semikantitatif Değerlendirme

Tablo Grup A2, Grup A3, Grup A4'nın orta boyanan hücre sayılarının Min, Max, Mean, Median, S.sapma değerleri

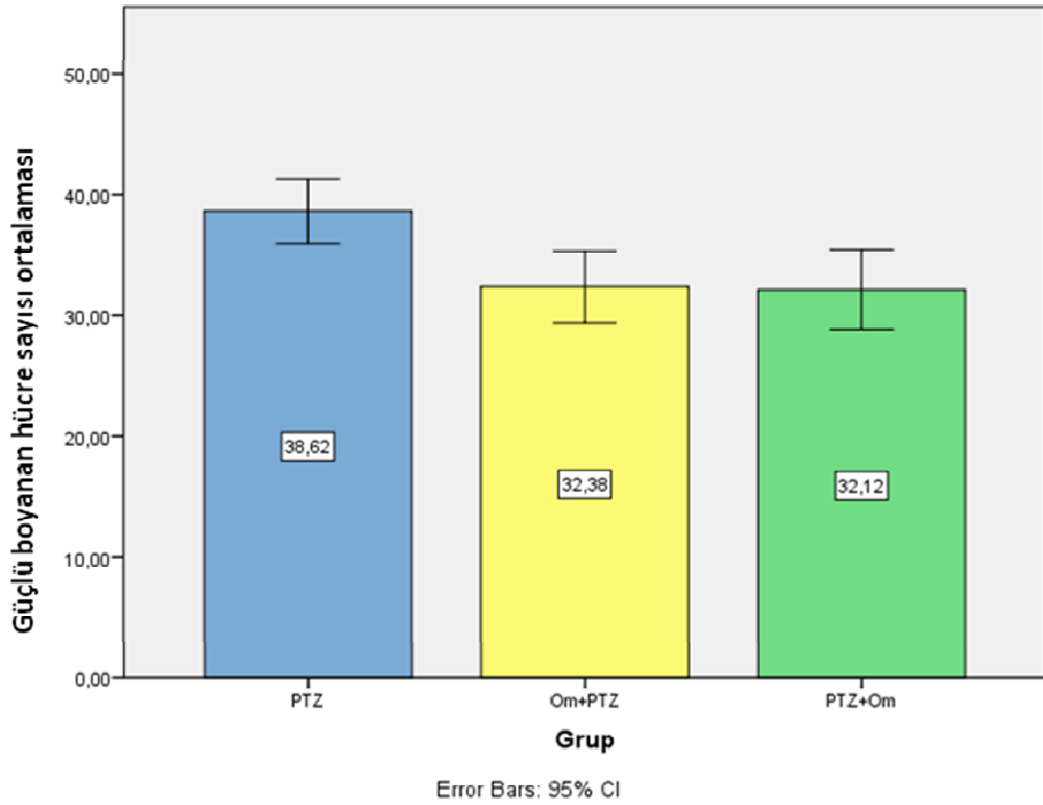
	Min	Max	Ortalama	Ortanca	S. Sapma
Grup A2	18	27	23,25	24,50	3,45
Grup A3	16	20	18,12	18	1,72
Grup A4	12	19	15	15,37	2,19



Grafik 4.10: Orta Boyanan Hücreler Açısından Grup A2, Grup A3 ve Grup A4 Arasında Semikantitatif Değerlendirme

Tablo Grup A2, Grup A3, Grup A4'nın güçlü boyanan hücre sayılarının Min, Max, Mean, Median, S.sapma değerleri

	Min	Max	Ortalama	Ortanca	S. Sapma
Grup A2	35	43	38,62	38	3,20
Grup A3	25	32	28,12	28	2,10
Grup A4	22	31	24,87	25	2,74



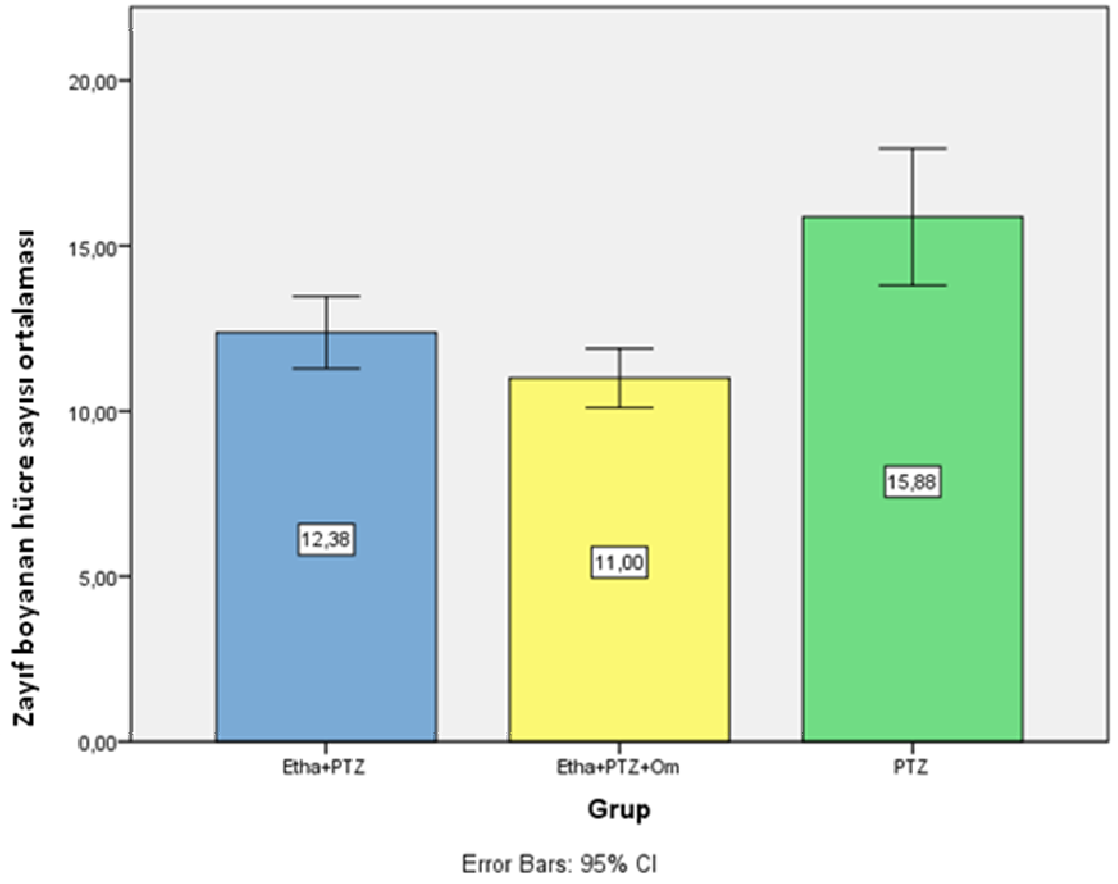
Grafik 4.11: Güçlü Boyanan Hücreler Açısından Grup A2, Grup A3 ve Grup A4 Arasında Semikantitatif Değerlendirme

4.4.2. Omentin Uygulamasının Wistar Albino Sıçanlarda *c-fos* Boyamasının Semikantitatif Olarak Değerlendirilmesi

Grup A2 ile diğer A grupları arasında yapılan karşılaştırma neticesinde zayıf, orta ve güçlü boyanan hücre sayıları açısından en yüksek değerde olduğu tespit edildi. **Grup A5** ile **Grup A2** karşılaştırıldığında boyanan zayıf ($p=0,038$), orta ($p=0,038$), güçlü ($p=0,02$) hücre sayısı Grup A5’de anlamlı olarak az olduğu tespit edildi. Grup A6 ile Grup A2 karşılaştırıldığında boyanan zayıf ($p=0,03$), orta ($p=0,027$), güçlü ($p=0,039$) hücre sayısı Grup A6’da anlamlı az olduğu tespit edildi.

Tablo 4.12: Grup A2, Grup A5, Grup A6’nın zayıf boyanan hücre sayılarının Min, Max, Mean, Median, S.sapma değerleri

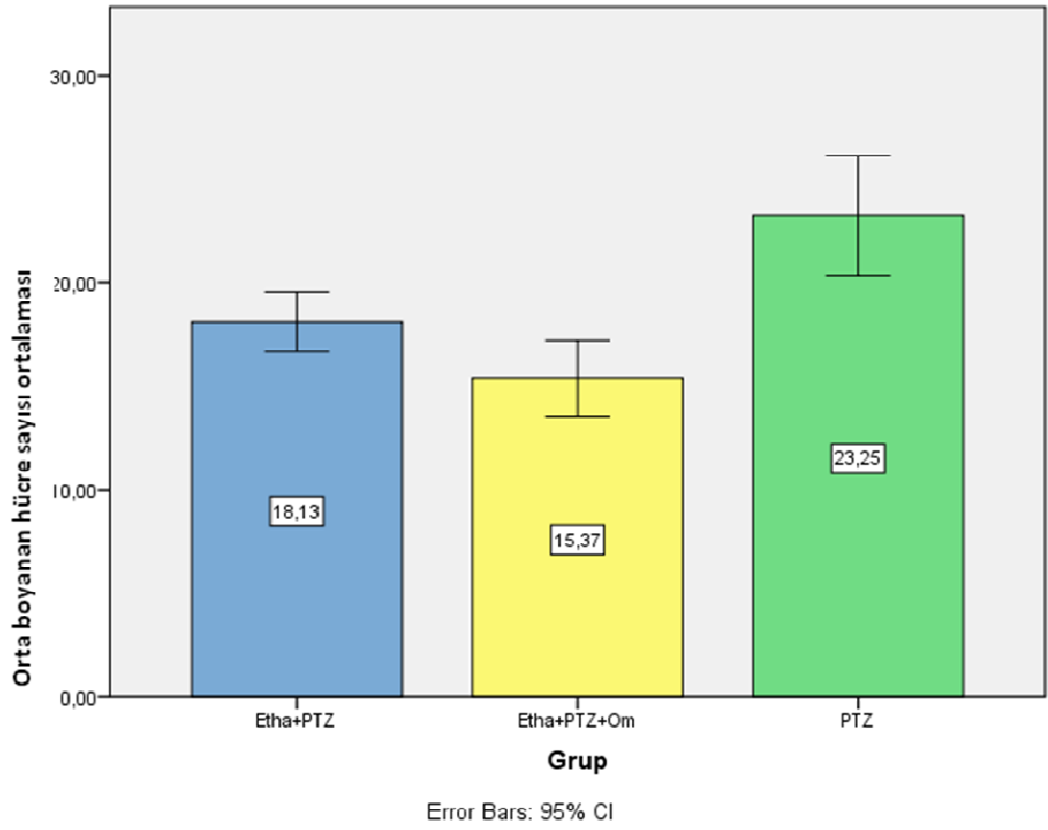
	Min	Max	Ortalama	Ortanca	S. Sapma
Grup A2	13	20	15,87	16	2,47
Grup A5	11	15	13,25	13,50	1,48
Grup A6	10	15	12,87	13	1,88



Grafik 4.12: Zayıf Boyanan Hücreler Açısından Grup A2, Grup A4 ve Grup A5 Arasında Semikantitatif Değerlendirme

Tablo 4.13: Grup A2, Grup A5, Grup A6'nın orta boyanan hücre sayılarının Min, Max, Mean, Median, S.sapma değerleri

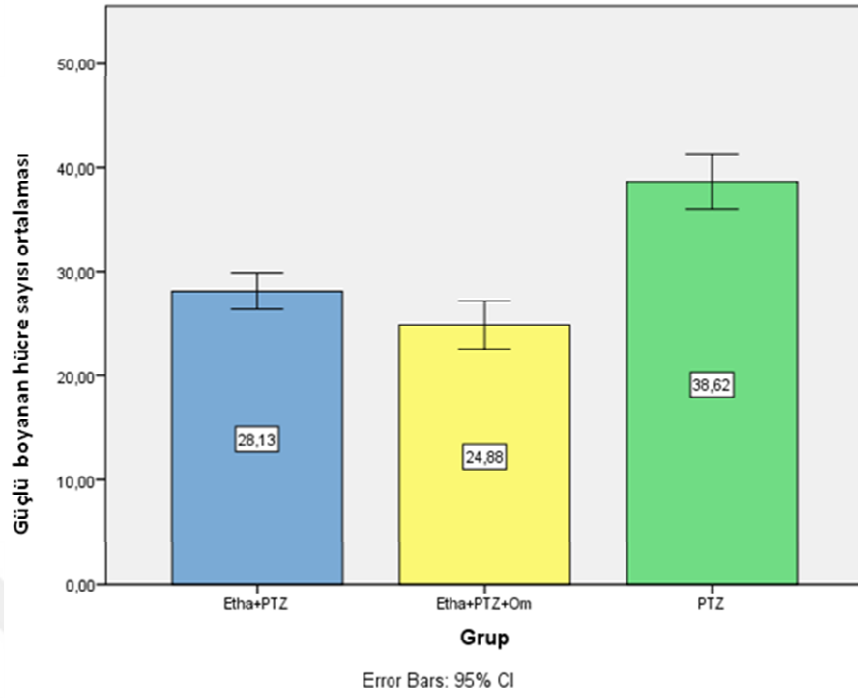
	Min	Max	Ortalama	Ortanca	S. Sapma
Grup A2	18	27	23,25	24,50	3,45
Grup A5	17	23	19,50	19,50	2,13
Grup A6	17	23	19,75	19,50	1,98



Grafik 4.13: Orta Boyanan Hücreler Açısından Grup A2, Grup A4 ve Grup A5 Arasında Semikantitatif Değerlendirme

Tablo 4.14: Grup A2, Grup A5, Grup A6'nın güçlü boyanan hücre sayılarının Min, Max, Mean, Median, S.sapma değerleri

	Min	Max	Ortalama	Ortanca	S. Sapma
Grup A2	35	43	36,62	38	3,20
Grup A5	28	40	40	32	3,54
Grup A6	28	40	32,12	30,50	3,97



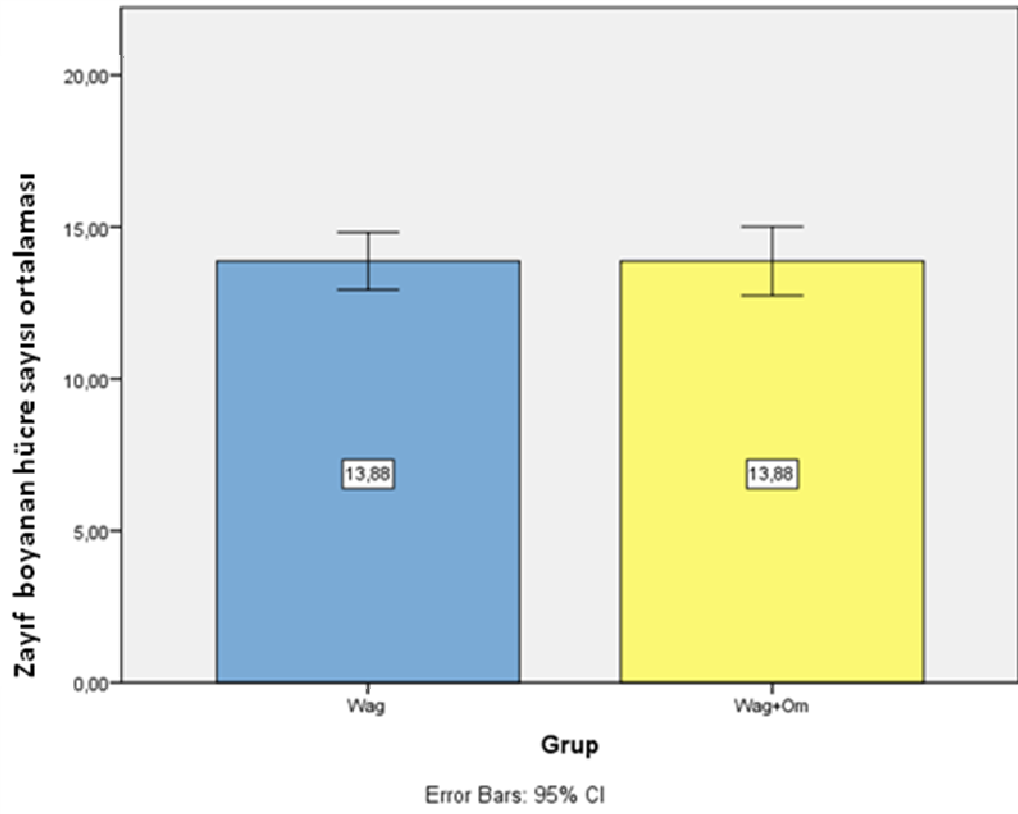
Grafik 4.14: Güçlü Boyanan Hücreler Açısından Grup A2, Grup A4 ve Grup A5 Arasında Semikantitatif Değerlendirme

4.4.3. Omentin'in WAG/Rij Sıçanlarda *c-fos* Boyamasının Semikantitatif Olarak Değerlendirilmesi

WAG/Rij gruplarının kontrolü olan Grup B'nin thalamus ile Omentin uygulanan Grup B2 arasında yapılan istatistiksel karşılaştırma neticesinde zayıf boyanan hücre sayısında ($p=0,956$), orta boyanan hücre sayısı ($p=0,833$) ve güçlü boyanan hücre sayısı ($p=0,546$) açısından herhangi bir anlamlı farklılık bulunamadı.

Tablo 4.15: Grup B1 ve Grup B2'nin zayıf boyanan hücre sayılarının Min, Max, Mean, Median, S.sapma değerleri

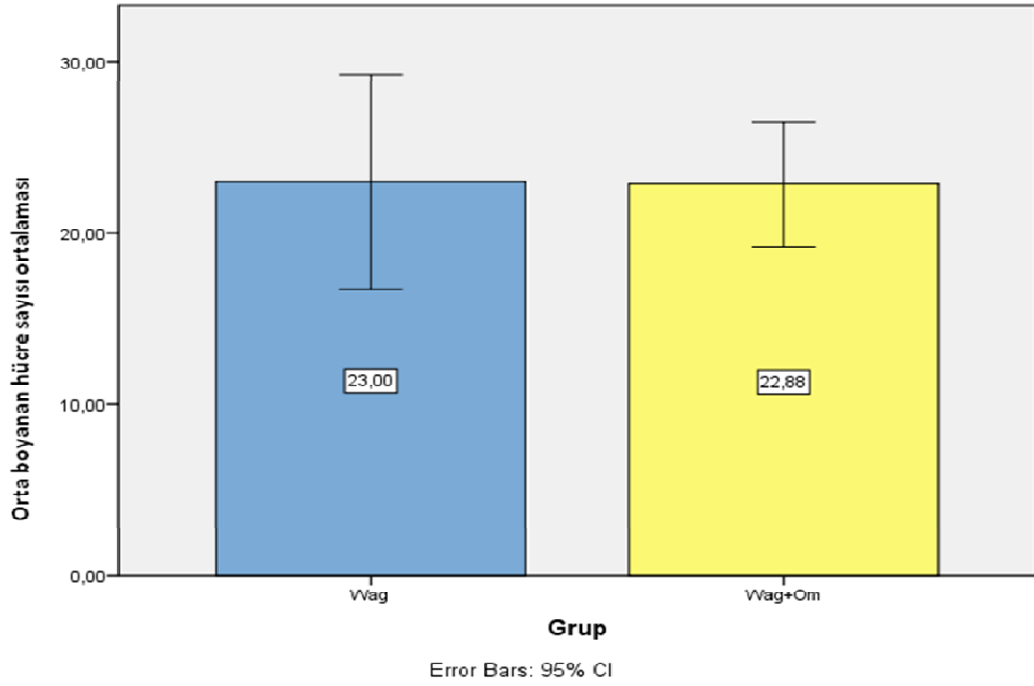
	Min	Max	Ortalama	Ortanca	S. Sapma
Grup B1	13	12	13,87	13,50	1,12
Grup B2	12	16	13,87	13,50	1,35



Grafik 4.15: Zayıf Boyanan Hücreler Açısından Grup B1 ve Grup B2 Arasında Semikantitatif Değerlendirme p=0,956

Tablo 4.16: Grup B1 ve Grup B2'nin orta boyanan hücre sayılarının Min, Max, Mean, Median, S.sapma değerleri

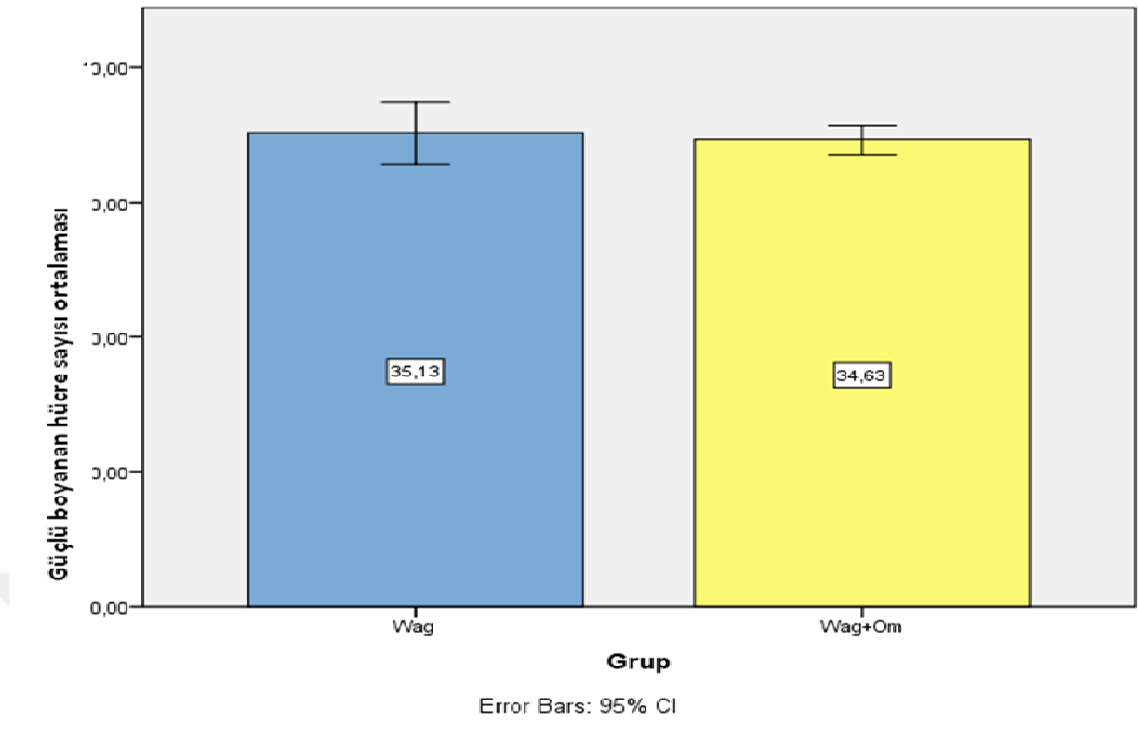
	Min	Max	Ortalama	Ortanca	S. Sapma
Grup B1	13	36	23	23,50	7,50
Grup B2	14	27	22,87	24,50	4,35



Grafik 4.16: Orta Boyanan Hücreler Açısından Grup B1 ve Grup B2 Arasında Semikantitatif Değerlendirme p=0,833

Tablo 4.17: Grup B1 ve Grup B2'nin güçlü boyanan hücre sayılarının Min, Max, Mean, Median, S.sapma değerleri

	Min	Max	Ortalama	Ortanca	S. Sapma
Grup B1	30	40	35,12	35	2,74
Grup B2	32	36	34,62	35	1,30



Grafik 4.17: Güçlü Boyanan Hücreler Açısından Grup B1 ve Grup B2 Arasında Semikantitatif Değerlendirme p=0,546

5. TARTIŞMA

Geçmişten günümüze epilepsinin sebepleri ve tedavi seçeneklerinin araştırılması adına birçok çalışma yapılmıştır. Epilepsiye yönelik çalışmaların başında deneysel epilepsi modelleri gelmektedir. Modellemelerin amacı, epilepsi hastalığının altında yatan dinamik olaylar bütünüünün açıklanması, yeni antiepileptiklerin test edilmesi, uygun tanısal yaklaşımların ve tedavi modalitelerinin geliştirilmesi ya da epilepsinin yol açtığı sorunların giderilmesidir. Deneysel epilepsi modellerinden en çok bilineni pentilentetrazol, pikrotoksin, kainik asit, demir, çinko ve penisilin modelidir.

Absans epilepsinin patogenezi ve farmakolojik profilini aydınlatmak adına gerek genetik modellemeler gerekse kimyasal ajanlarla oluşturulan birçok model geliştirilmiştir. WAG/Rij ve GAERS suşu sıçanlar absans epilepsinin genetik modelleri olup EEG görüntülerinde tipik spontan DDD mevcuttur. Bu genetik modeller nörofizyolojik, farmakolojik ve davranışsal olarak insandaki absans epilepsinin özelliklerini bulundurlar. Absans epilepsinin kimyasal modellemesi olan düşük doz pentilentetrazol modelinde DDD ve hafif klonik ve miyoklonik bulgular mevcuttur. Sunulan bu çalışmada, WAG/Rij cinsi erkek sıçanlar ve Wistar albino cinsi erkek sıçanların düşük doz PTZ uygulanması ile oluşturulan modellemeler kullanılmıştır. Omentinin hem genetik hem de kimyasal modellemelere etkisi araştırılmıştır. Kimyasal modellemede Etosüksimid ile Omentinin kombine uygulanmasının ve sadece Omentin uygulamalarının DDD sayısı, DDD ortalama süresi ve latent dönem açısından değerlendirilmesi yapılmıştır. İmmünohistokimyasal değerlendirme açısından *c-fos* ekspresyonunun gruplar arasındaki mikroskobik görüntü ve semikantitatif sayımları karşılaştırılmıştır. Semikantitatif değerlendirmede zayıf(+), iyi(++), güçlü(+++) derecelendirmesi yapılmıştır.

Etosüksimid absans epilepsi tedavisinde en tercih edilen ilaçlar olan Süksimidler grubuna dâhildir. Bu grupta yer alan ilaçlar Etosüksimid, Fensüksimid, Metsüksimid'dir. Etosüksimid'in thalamusta T tipi voltaja bağımlı kalsiyum kanallarında akımı azaltma yoluyla etki ettiği gösterilmiştir.

Pal ve ark. tarafından yapılan çalışma Etosüksimid'in absans epilepsili çocuklarda tedavi amaçlı kullanımının getirileri araştırılmıştır. Alınan EEG kayıtlarıyla antiepileptik ilaç olarak Etosüksimid kullanan çocuklarda DDD sayılarının azaldığı tespit edilmiştir (8). Çalışmamızda Etosüksimid'in DDD sayısı, DDD ortalama süresi ve DDD latent dönem süresindeki azalma üzerinde anlamlı sonuçları teyit edilmiştir. Etosüksimid absans ve miyoklonik tipte nöbetlerin tedavisinde etkilidir.

Çakır ve ark. yaptıkları çalışmada Etosüksimid'in Oksitosinle ikili ve Oksitosin ve Metilprednizolonla üçlü beraber uygulamalarında etkinliğinin arttığı ve DDD sayılarında yalnız uygulandığı gruplara göre azalma olduğu ifade edilmektedir (64). Çalışmamızda Omentinin Etosüksimid ile birlikte uygulanması sonucunda böyle bir etkinliğin olabileceği fikrinden yola çıkarak deney grupları oluşturulmuştur. Çalışmada Omentinin tek başına kullanılmasıyla istatistiksel olarak anlamlılık bulunamamış olmasına rağmen Etosüksimid ile kombine verilmesi sonucunda latent dönemin uzadığı tespit edilmiştir.

Yağ doku çeşitli mediyatörlerin salındığı endokrin organ olarak görev yapan bir yapıdır. Epilepsinin teşhis ve tedavisi için adipoz dokudan salınan çeşitli adipokinler deneysel olarak çalışılmıştır.

Diano ve ark. yaptıkları çalışmada Adipokinlerden olan Leptinin in vitro şartlarda epileptik deşarjlarda azalmayı sağladığı ve farelerde yapılan deney sonucunda intranasal verilen Leptinin PTZ modeli epilepsilerde DDD latent dönemini geciktirdiği gösterilmiştir (65). Diğer bir yağ dokusu mediyatörlerinden olan Adiponektinin de hedef doku ve biyolojik olaylar üzerinde geniş etkisi bulunmaktadır. Thundyil ve ark. Adiponektinin yağ ve glukoz metabolizmasında etkin bir rolü olduğu ve bu rolü AMPK üzerinden gerçekleştirdiğini bulmuşlardır. Ayrıca Adiponektin reseptörlerinin beyin dokusundan da salgılandığını ve böylece elektriksel sinyaller üzerinde etkili olduğunu öne sürmüşlerdir. Omentin de adipoz dokudan salgılanan Leptin ve Adiponektin gibi bir adipokindir. Omentinin de epilepsideki DDD üzerine etkisinin olabileceği düşünülmektedir. Yapılan çalışmalarda Omentin 60. dakikada AMPK'nın fosforilasyonunu zamana bağlı bir biçimde tetiklediği görülmüştür (62).

Kurmato ve ark. yaptıkları çalışmada western blot yöntemiyle AMPK'nın membrandaki GABA_B reseptörüne bağlandığını tespit etmişlerdir. Bu bağlanmada fosforilasyon ile gerçekleştirilmektedir. GABA_B reseptör aktivasyonu artmaktadır. GABA_B reseptör aktivasyonunun artması ile de kanallarda değişikliğe sebep olmaktadır. GABA_B'nin AMPK yoluyla fosforilasyonu birincil nöronlarda hücre yüzeyi üzerindeki duyarlılığı arttırmaktadır böylelikle Ca⁺⁺ ve K⁺ kanalları üzerinde etkinliği söz konusudur (66).

Hücre dışı bir uyarıya karşı uyarılan *c-fos* aktivitesi hücrelerde sinyal transdüksiyonu ve transkripsiyonun regülasyonu ile ilgili olup aktivasyonun varlığını göstermesi açısından nöronal işaretleyici olarak kullanılabilir. *c-fos* geninin transkripsiyonu, hücreleri etkileyerek büyüme ve farklılaşmayı sağlayan çok sayıda etken tarafından hızla ve geçici olarak sağlanır. Konvulsan etkisi olan PTZ de farklılaşmayı sağlayan maddelerden olup farklı dozlarda uygulanmasıyla hücrede *c-fos* yanıtları farklı görünümde olur. *c-fos* gen ekspresyonundaki reseptörlerin PTZ gibi maddelerle uyarılmasıyla hücre içi Ca⁺⁺ düzeylerindeki artış geri dönüşümsüz hasara neden olan mekanizmaları tetiklemektedir. Li ve ark. PTZ uygulanan farelerde yaptıkları çalışmaları neticesinde *c-fos* aktivasyonunun arttığı ve nöronların belirginleştiği tespit edilmiştir (43).

Barros ve ark. zamana bağlı PTZ uygulamalarının zamana bağlı olarak *c-fos* aktivasyonuna olan etkisini araştırdıkları çalışmalarında PTZ'nin etkinliği azaldıkça *c-fos* ekspresyonunda da azalma olduğu tespit etmişlerdir (63).

Çalışmamızda da PTZ uygulanan gruplarda *c fos* ekspresyonu yükselmiş ve histolojik görüntü ve skorlama açısından doğrulanmıştır. Omentin uygulanan gruplarda bu aktivasyon PTZ uygulanan gruba göre azalmıştır. Genetik olarak absans epilepsili olan WAG/Rij sıçanlarda da herhangi bir madde uygulamaksızın *c-fos* ekspresyonu görülmektedir.

Suntsova ve ark. yaptıkları çalışmada absans epilepsili WAG/Rij sıçanlardaki anormal uyku durumlarını *c-fos* ekspresyonun immunohistokimyasal boyama yaparak yorumlamışlardır (67). Çalışmamızda ise WAG/Rij suşu üzerinde uygulanan Omentinin *c-fos* ekspresyonuna etkisi görülmemiştir. Genetik absans epilepsiyeye yönelik Omentin uygulamasının etkinliğin olmaması uygulama süresinin kısıtlılığı ile açıklanabilir.

EEG değerlendirmeleri ve immünohistokimyasal değerlendirmeler ile Omentinin epileptik değarjlar ve hasarlanmalar üzerinde olumlu etkisi olduğu görülmüş olup ileri çalışmalarla desteklenmesiyle epilepsi tedavisi için yardımcı olabileceği d ş n lmektedir.



6. SONUÇ

Yapılan çalışmada Wistar Albino grupları arasında EEG verileri değerlendirmesi neticesinde Etosüksimid'in DDD sayısı, DDD ortalama süresi ve latent periyodu uzattığı gözlemlenmiştir. Omentin'in PTZ öncesi uygulaması ve PTZ sonrası uygulamalarında EEG verileri açısından fark gözlenmedi. Etosüksimid ile Omentin'in birlikte uygulanması neticesinde latent periyodun anlamlı derece uzadığı görüldü.

WAG/Rij epileptik gruplarında ise EEG bulgusu açısından Omentin uygulamasının herhangi bir farklılığı tespit edilemedi.

İmmünohistokimyasal değerlendirme ile *c-fos* aktivasyonuna bakıldığında Wistar Albino sıçan gruplarında Omentin uygulanan gruplardaki aktive olan hücre sayısı sadece PTZ uygulanan gruba göre anlamlı derece az olduğu gözlemlendi. Sadece Etosüksimid uygulanan grup ile Etosüksimid ile Omentinin birlikte uygulandığı grup arasında görüntü açısından da benzerlik olup semikantitatif değerlendirme neticesinde de kombine uygulamada ki aktive olan hücre sayısı anlamlı derecede azdır.

Çalışma absans epilepsinin tedavi seçenekleri açısından yeni bir bakış açısı kazandırmış olup yeni yapılacak çalışmalara literatür desteği sağlandığı düşünülmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. **Fisher RS, Van W, Blume W, Elger C, Genton P, Lee P, et al.** Epileptic seizures and epilepsy. *Epilepsia*. **2005**; 46(4): 470-2.
2. **Epic P.** Vander's Human Physiology. *Güneş Tıp Kitapevi*. **2001**;287.
3. **Raven L.** The Epidemiology of the Epilepsies: Future Directions. *Epilepsia*. **1997**;38(5): 614-618.
4. **Benerjee PN, Fillippi D, Hauser WA.** The descriptive epidemiology of epilepsy. *Epilepsy Research*. **2009**;85(1): 31-45.
5. **Shorvon SD.** The etiologic classification of epilepsy. *Epilepsia*. **2011**;52(6): 1052-1057.
6. **Dragoumi P, Tzetzzi O, Vargiami E, Pavlou E, Krikonis K, Kontopoulos E. et al.** Clinical course and seizure outcome of idiopathic childhood epilepsy: determinants of early long-term prognosis. **2013**;13:206.
7. **Wolf P.** Classification of idiopathic generalized and localization related epilepsies. **1995**;2:53-56.
8. **Vierck E, Cauley R, Kugler SL, et al.** Polyspike and waves do not predict generalized tonic-clonic seizures in childhood absence epilepsy. **2010**. 25(4).
9. **Conen A.** A review of the WAG/Rij strain of rats. *Behavior Genetics*. **2003**; 33(6):635-55.
10. **Bambal G, Çakıl D, Ekici F.** Deneysel epilepsi modelleri. *Klinik ve deneysel araştırmalar dergisi*. **2011**; 2(1):118-123.
11. **Schaffler A, Neumeier M, Herfarth H, et al.** A new adipocytokine expressed in omental adipose tissue. *Biochim Biophys Acta*. **2005**;1732(1-3):96-102.
12. **Brunetti L, Orlando G, Ferrante C, Recinella L, et al.** Orexigenic effects of omentin-1 related to decreased CART and CRH gene expression and increased norepinephrine synthesis and release in the hypothalamus. *Peptides*. **2013**;44:66-74.
13. **Aktas G, Şit M, Tekçe H.** Yeni adipokinler: Leptin; Adiponektin ve Omentin. *Abant Medical Journal*. **2013**;97269.
14. **Yu D.** Omentin Activates AMP-activated protein kinase and plays a role in energy metabolism and immune response. *University of Maryland*. **2011**.

15. **Tanaka M, Olsen RW, Medina MT, Schwartz E, et al.** Hyperglycosylation and reduced GABA currents of mutated GABRB3 polypeptide in remitting childhood absence epilepsy. *The American Society of Human Genetics*.**2008**;82:1249-1261.
16. **Bora İ, Naz Y.**Epilepsi. *Nobel Tıp Kitap Evi*. **2008**.
17. **Richardson MP, Chadwick DW, Wehner T.** Classification and terminology to organise seizures and epilepsies. *ILAE report chapter two*. **2010**.
18. **Neligan A, Sander JW.** The incidence and prevalence of epilepsy. *ILAE report chapter one*. **2010**.
19. **Wigglesworth S.** Epilepsy prevalence, incidence and other statistic. *Joint Epilepsy Council*. **2011**.
20. **Velioglu SK, Bakirdemir M, Can G.** Prevalence of epilepsy in northeast Turkey. *Epileptic disord*. **2016**;12(1):22–37.
21. **Dravet C.** Çocukluk Çağının İdyopatik Parsiyel Epilepsileri. *Epilepsia*. **1995**;1(3):101–8.
22. **Naz Y.** Epilepsi ve acil sorunlar. *İÜ sempozyum dizini*. **2002**; 29: 219-236.
23. **Yapıcı Z, Topaloğlu P, Uludüz D.** Çocukluk çağının semptomatik nöbetleri. *Epilepsi*.**2014**;20(2):49-52.
24. **Rudzinski LA, Shih JJ.** The classification of seizures and epilepsy syndromes. *Intechopen*. **2011**.
25. **Berg AT, Scheffer E.** New concepts in classification of the epilepsies: Entering the 21 st century. *Epilepsia*. **2011**;52(6): 1058-1062.
26. **Lopantsev V, Both M, Draguhn A.** Epileptogenesis: A new twist on the balance of excitation and inhibition. *Eur J Neurosci*. **2009**;29(6):1153-1164.
27. **Steriade M, Contreas D.** Spike-wave complexes and fast components of cortically generated seizures. I. Role of neocortex and thalamus. *J Neurophysiol*.**1998**;80(3):1439-1455.
28. **Bostancı FBÖ.** Kalsiyum kanal blokerleri ve deneysel epilepsi. *OMÜ Tıp Dergisi*. **2001**;18(2):135-49.
29. **Tele B, Baker SN, Kempter R, Curio G.** Correlates of a single cortical action potential in the epidural EEG. *NeuroImage*.**2015**;(109):357-367.
30. **Marangoz C.** Deneysel epilepsi modelleri. *OMÜ Tıp Dergisi*.**1997**;147-186.
31. **Larsen E, Wang A.** Classification of EEG signals in abrain computer interface system. *Norwegian Universty of science and technology*. **2011**.

32. **Andreassi JL.** Psychophysiology. *Lawrance*. **2000**;22.
33. **Kececi H, Degirmenci Y.** Quantitative EEG and Cognitive Evoked Potentials in Anemia. *Clinical Neurophysiology* **2008**;38 (2): 137–143.
34. **Gerrard P, Malcolm R.** Mechanisms of modafinil: A review of current research. *Neuropsychiatr Dis Treat* **2007**;3: 349–64.
35. **Rangaswamy M, Porjesz B, Chorlian DB, Wang K, et al.** Beta power in the EEG of alcoholics. *Biological Psychology*.**2002**;52 (8): 831–842.
36. **Sucholeiki R, Selim RB.** Normal EEG waveforms. *Medspace*. **2014**.
37. **Luijtelaa VG, Sitnikova E.** From generalized to focal absence seizures. *Epilepsia*.**2004**;10(2):112-128.
38. **Glauser TA, Cnaan A, Shinnar S, Hirtz DG, Dlugos D, Masur D, et al.** Absence Epilepsy: Initial Monotherapy Outcomes at 12 months. *Epilepsia*. **2014**;54(1):141–55.
39. **Loiseau P, Panayiotopoulos CP.** EpilepticSyndromes In Infacy Childhood and Adolesence. *John Libbey*.**2002** :285-303.
40. **Serikawa T, Mashimo T, Kuramoto T, Voigt B.** Advances on genetic rat models of *Epilepsy*. **2015**;64:1–17.
41. **D.Yilmaz A.** Genetik WAG/Rij Epilepsi Modelinde Kindling Uygulaması Öncesi ve Sonrası Protetik Analizler ile Değerlendirilmesi. *Biyoteknoloji Enstitüsü Ankara Üniversitesi*. Ankara; **2012**.
42. **Read, Charles F.** *Consequences of metrazol shock therapy*. *American Journal of Psychiatry* **1940**;97 (3): 667–76.
43. **Li B, Wang L, Sun Z, Zhou Y, Shao D, Zhao J, et al.** The anticonvulsant effects of SR 57227 on pentylenetetrazole-induced seizure in mice. *PLoS One*. **2014**;9(4):3–8.
44. **Huang Q, Liu L, Hu B, Di X, Brennecke SP, Liu H.** Decreased seizure threshold in an eclampsia-like model induced in pregnant rats with lipopolysaccharide and pentylenetetrazol treatments. *PLoS One*. **2014**;9(2):1–8.
45. **Mussulini BHM, Leite CE, Zenki KC, Moro L, Baggio S, Rico EP, et al.** Seizures Induced by Pentylenetetrazole in the Adult Zebrafish: A Detailed Behavioral Characterization. *PLoS One*. **2013**;8(1):1–9.
46. **Bambal G, Çakıl D, Ekici F, et al.** Epilepsi oluşum mekanizmaları. *Konuralp tıp dergisi*. **2011**;3(3):42–5.

47. **Erdoğan F, Küçük A, Gölgele A, Lıman N, Sağsöz H.** Ratlarda Pentilentetrazol ile Oluşturulan Kindlingin Davranış ve Emosyonel Öğrenme Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi. *Epilepsi*. **2007**;13:66–72.
48. **Ates N, İlbaı G, Sahin D.** Suppression of generalized seizures activity by intrathalamic 2-chloroadenosine application. *Experimental Biology and Medicine*. **2008**;988–95.
49. **Erdoğan F, Küçük A, Gölgele A.** The Assesment of The Features of Seizures and EEG in Pentylene tetrazol-induced Kindling. *Journal of Neurological Sciences*. **2006**;23(2):84–92.
50. **Avoli M, Rogawski MA, Avanzini G.** Generalized epileptic disorders: An update. *Epilepsia*. **2001**;42(4):445–57.
51. **Yüksel R, Gürol G, Akkılık ZS, et al.** Absans Epilepsi Patofizyolojisinde Netrin-1'in Yeri. *Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Derg*. **2016**;7(25):19–22.
52. **Suntsova N, Kumar S, Marin R, Alam N, Szymusiak R.** A role of the preoptic sleep-promoting system in absence epilepsy. *Neurobiol Dis*. **2009**;141(4):520–9.
53. **Meeren HKM, Pijn JPM, Luijtelaar VELJM, Coenen AML, Silva LFH.** Cortical focus drives widespread corticothalamic networks during spontaneous absence seizures in rats. *The Journal of Neuroscience*. **2002**;22(4):1480–95.
54. Paxinos and Franklin's The Mouse brain in stereotaxic cooordinates. Forth edition. **2013**. Franklin KBJ. Elsevie store.
55. **Panayiotopoulos CP.** Idiopathic Generalized Epilepsies: A Review and Modern Approach. *Epilepsia*. **2005**;46:1–6.
56. **Sitnikova E.** Thalamo-cortical mechanisms of sleep spindles and spike-wave discharges in WAG / Rij rats. *Epilepsy Res*. **2010**;17–26.
57. **Şayli Ö.** WAG/Rij Sıçanlarının EEG Sinyallerinde Diken- Dalga Deşarjların Tespiti. *2015 IEEE Sinyal İşleme ve İletişim Uygulamaları Kurult*. **2015**;1524–7.
58. **Çalış Ü.** Antiepileptikler. Hacettepe Üniversitesi. **2006**. 331–52.
59. **Yavuz NE, Baykan B.** Epilepsi Tedavisinde Güncel Yaklaşımlar. *Klinik Gelişimler*. **2010**;39–43.
60. **Dean K.** Management of epilepsy in adolescents and adults. *Conn's Current Theapy*. **2002**;32(2):0–5.
61. **Loscher W, Nolting B.** The role of technical, biological and pharmacological factors in the laboratory evaluation of anticonvulsant drugs. *Epilepsy Res*. **2016**;9(1):1–10.

62. **Kataoka Y, Shibata R, Ohashi K, Kambara T, Enomoto T, Uemura Y, et al.** Omentin prevents myocardial ischemic injury through AMP-activated protein kinase- and akt-dependent mechanisms. *J Am Coll Cardiol.* **2014**;63(24):2722–33.
63. **Barros VN, Mundim M, Galindo LT, Bittencourt S, Porcionatto M, Mello LE.** The pattern of c-Fos expression and its refractory period in the brain of rats and monkeys. *Front Cell Neurosci.* **2015**;9:1–8.
64. **Çakır Z.** WAG/Rij sıçanlarda Oksitosin ve Çeşitli İlaçlarla Kombinasyonlarının Antiepileptik Etkileri. *Sivas. Cumhuriyet Üniversitesi Tez*; **2014**.
65. **Diano S, Horvath T.** Anticonvulsant effects of leptin in epilepsy. *J Clin Invest.* **2008**;118(1):1–3.
66. **Kuramoto N, Ito M, Saito Y, Niihara H, Tanaka N, Yamada KI, et al.** Dephosphorylation of endogenous GABAB receptor R2 subunit and AMPK subunits which were measured by in vitro method using transfer membrane. *Neurochem Int.* **2013**;62(2):137–44.
67. **Cimarosti HMH.** Investigating the Mechanisms Underlying Neuronal Death in Ischemia Using In Vitro Oxygen-Glucose Deprivation : Potential Involvement of Protein SUMOylation. *Eur PMC Funders Gr.* **2012**;14(6):626–36.

8. ÖZGEÇMİŞ

İlköğretim ve Orta Öğretim eğitimlerimi Bolu'nun Gerede ilçesinde tamamladım. 2008 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nden “Organ Transplantasyonları” isimli tezimi tamamlayarak mezun oldum. 2010 yılında Sakarya Üniversitesi'nde Bilişim Sistemleri Yüksek Lisans eğitimimi “ID3 algoritması kullanılarak küme tipi baş ağrısının teşhisine yönelik karar ağacı geliştirme” konulu projeyi tamamlayarak mezun oldum. 2011 yılında Abant İzzet Baysal Üniversitesi Yabancı Diller Yüksek Okulu'nda İngilizce Dil Eğitimi tamamladım. Aynı yıl içinde İzzet Baysal Kadın Doğum Hastanesi Merkez Laboratuvarı'nda stajyerlik yaptım. 2012 yılında Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi'nde Pedagojik Formasyon Eğitimi aldım. 2013 yılında Abant İzzet Baysal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji A.D.'nda Yüksek Lisans eğitimime başladım. Bu süre içerisinde Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde Kısmi Zamanlı Öğrenci olarak çalıştım.