TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

# KRONİK MANYETİK ALAN UYGULANAN EPİLEPTİK SIÇANLARDA BEYİN DOKUSUNUN POTASYUM KANALLARININ MOLEKÜLER ANALİZİ

Emrah OĞRAŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOFİZİK ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. Mehmet Zülküf AKDAĞ

İKİNCİ DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi Enes AKYÜZ

DİYARBAKIR – 2023

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

# KRONİK MANYETİK ALAN UYGULANAN EPİLEPTİK SIÇANLARDA BEYİN DOKUSUNUN POTASYUM KANALLARININ MOLEKÜLER ANALİZİ

Emrah OĞRAŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOFİZİK ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. Mehmet Zülküf AKDAĞ

İKİNCİ DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi Enes AKYÜZ

DİYARBAKIR – 2023

TÜRKİYE CUMHURİYETİ

DİCLE ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

# ONAY

Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Emrah OĞRAŞ'ın hazırladığı **"KRONİK MANYETİK ALAN UYGULANAN EPİLEPTİK SIÇANLARDA BEYİN DOKUSUNUN POTASYUM KANALLARININ MOLEKÜLER ANALİZİ"** başlıklı tez Dicle Üniversitesi Lisansüstü Eğitim - Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih: …./…./20..

Danışmanı: Prof. Dr. Mehmet Zülküf AKDAĞ

| **Jüri Üyeleri** | | İmza |
|---|---|---|
| Jüri Başkanı: Prof. Dr. Mehmet Zülküf AKDAĞ | Dicle Üniversitesi | |
| Üye: Prof. Dr. Veysi AKPOLAT | Dicle Üniversitesi | |
| Üye: Prof. Dr. Cemil SERT | Harran Üniversitesi | |
| Üye: | | |
| Üye: | | |

Bu tez Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun …./…./20.. tarih ve …… sayılı kararıyla onaylanmıştır.

…./…./....

Prof. Dr. Mahmut BALKAN
Dicle Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

# BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını ve tezimi Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzu standartlarına uygun birşekilde hazırladığımı beyan ederim.

30/01/2023

EMRAH OĞRAŞ

İMZA:

# TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca ihtiyaç duyduğum her an, her türlü bilgi, birikim, tecrübe ve görüşlerinden faydalandığım ve tezimin her aşamasında katkılarını eksik etmeyen çok değerli danışman hocam Prof. Dr.Mehmet Zülküf AKDAĞ başta olmak üzere; eğitimim süresince her konuda desteğini esirgemeyen Sağlık Bilimleri Üniversitesi Uluslararası Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalında görev yapmakta olan ikinci tez danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Enes AKYÜZ' e ayrıca bilgisi ve hoşgörüsüyle her zaman yanımda olan değerli hocam Prof. Dr. Veysi AKPOLAT'a teşekkürü bir borç bilirim.

Tez çalışmamda yer alan dokuların analizi ve bulgularında önemli desteği olan Yozgat Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Ana Bilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Züleyha DOĞANYİĞİT hocama, tezimin istatistiksel çalışmalarına katkısından dolayı da Tıbbi Biyoistatistik Anabilim Dalı Dr. Öğr. Üyesi İsmail YILDIZ hocama, tez çalışmalarım sırasında tecrübeleri ile her zaman yanımızda olan DÜSAM'da görevli Mehmet Tahir MÜJDE ile Mehmet DİNÇ arkadaşlarıma ve bu zorlu süreçte her an yanımda olan sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez, TÜRKİYE BİLİMSEL VE TEKNOLOJİK ARAŞTIRMA KURUMU (TÜBİTAK) tarafından 221S563 proje numarası ile 1002 - Hızlı destek programı kapsamında desteklenmiştir.

EMRAH OĞRAŞ

Diyarbakır-2023

# İÇİNDEKİLER

**BEYAN** ..... **I**

**TEŞEKKÜR** ..... **II**

**KISALTMALAR VE SİMGELER** ..... **VI**

**RESİMLER LİSTESİ** ..... **VII**

**ŞEKİLLER LİSTESİ** ..... **VIII**

**TABLOLAR LİSTESİ** ..... **IX**

**1.ÖZET** ..... **1**

1.1. Türkçe Özet ..... 1

1.2. Abstract ..... 2

**2. GİRİŞ ve AMAÇ** ..... **3**

**3. GENEL BİLGİLER** ..... **5**

3.1. Epilepsi ..... 5

3.1.1. Epilepsi Tanısı ..... 5

3.2. İyon Kanalları ..... 9

3.2.1. Potasyum Kanalları ..... 10

3.2.2. İçeri Doğrultucu Potasyum Kanalları (Kir Kanalları) ..... 10

3.2.3. Büyük Potasyum (BK) Kanalları ..... 11

3.3. Epilepsi ile BK Kanalları Arasındaki İlişki ..... 12

3.4. c-Fos proteini ..... 13

3.5. Manyetik Alan ..... 14

3.6. Amper Yasası ..... 15

3.7. Faraday Yasası ..... 15

3.8. Transkranial Manyetik Stimülasyon ..... 15

3.8.1. Manyetik Uyarım ..... 16

3.8.2. Transkraniyal Manyetik Stimulasyon Uygulamasının Epilepsi Üzerine Etkisi ..... 18
3.9. Helmholtz Bobinleri ..... 19
**4. GEREÇ VE YÖNTEMLER ..... 21**
4.1. Kullanılan Kimyasal ve Sarf Malzemeler ..... 21
4.2. Çalışma Gruplarının Oluşturulması ..... 22
4.3. Deney Düzeneğinin Kurulması ..... 24
4.3.1. Sinyal Jeneratörü ..... 26
4.3.2. Amplifikatör ..... 26
4.3.3. Osiloskop ..... 27
4.4. Pentilentetrazol (PTZ) Tutuşma Modeli ..... 28
4.4.1. Pentilentetrazol (PTZ) Hazırlanışı ve Uygulaması ..... 29
4.5. Antiepileptik İlaç Levetirasetam (LEV) ..... 31
4.5.1. Antiepileptik İlaç Levetirasetam (LEV) Hazırlanışı ve Uygulaması ..... 32
4.6. Racine Skorlama Sistemi ..... 32
4.7. Nöbet latensi ..... 35
4.8. Gözlem ..... 35
4.8.1. Isı-nem ve ağırlık takibi ..... 35
4.9. Anestezi ve Girişimsel İşlem ..... 37
4. 10. Histolojik Analiz ..... 39
4.11. İmmünohistokimya Analizi ..... 39
4.12. Western blot protokolü ..... 40
4.13. Antikorlar ..... 41
4.14. İstatistiksel Analiz ..... 41
**5. BULGULAR ..... 42**
5.1. Epilepsi Skorlama ..... 42

5.2. Epilepsi Latans Süreleri ..... 44
5.3. Histolojik Analiz Bulguları ..... 47
5.4. İmmünohistokimyasal Analiz Bulguları ..... 53
5.5. Western Blot Analiz Bulguları ..... 58
**6. TARTIŞMA ..... 59**
**7. SONUÇ ..... 63**
**8. KAYNAKLAR ..... 65**
**9. ÖZGEÇMİŞ ..... 75**
**10. EKLER ..... 76**
10.1. Etik Kurul Raporu ..... 76
**11. ORİJİNALLİK RAPORU ..... 77**

# KISALTMALAR VE SİMGELER

**BK:** Büyük Potasyum

**TMS:** Transkranial Manyetik Stimülasyon

**rTMS:** Tekrarlanan Transkranial Manyetik Stimülasyon

**i.p.:** İntraperitoneal (periton içi)

**PK:** Pozitif Kontrol

**PTZ:** Pentilenetetrazol

**LEV:** Levetirasetam

**MA:** Manyetik Alan

**VSS:** Vagus Sinir Stimülasyonu

**MSS:** Merkezi Sinir Sistemi

**NMDAR:** N-metil-D-aspartat reseptörü

**EEG:** Elektroensefalogram

**BT:** Bilgisayarlı Tomografi

**MRG:** Manyetik Rezonans Görüntüleme

**T:** Periyod

**F:** Frekans

**AC:** Alternatif Akım

**LTP:** Long Term Potentiation

**SF:** Serum Fizyolojik

**RS:** Racineskorlama

**AB:** Avidin-Biyotin

**DAB:** Diaminobenzidin

**H&E:**Hematoksilen Eosin

**SD**: Standart Deviation (Standart Sapma)

**GABA:** Gama Amino Bütirik Asid

**NIH:** National Institutes of Health (Ulusal Sağlık Enstitüsü)

# RESİMLER LİSTESİ

**Resim 1.** Faraday kafesi içerisindeki sıçanlara pulslu manyetik alan uygulaması .... 25
**Resim 2.** Helmholtz bobininden elde ettiğimiz manyetik alan büyüklüğü..... 25
**Resim 3.** Leader Marka sinyal jeneratörü (LFG-1300 S)..... 26
**Resim 4.** Pioneer Marka Amplifikatör (GM-A6704 (1000 W))..... 27
**Resim 5.** HAMEG Marka Osiloskop (HM205-3) ..... 27
**Resim 6.** Sinyal jeneratöründe oluşturulan dalganın özellikleri..... 28
**Resim 7.** PTZ'nin i.p. olarak uygulanması..... 31
**Resim 8.** Levetirasetam etken meddeli ilaç ..... 32
**Resim 9.** Evre 1..... 33
**Resim 10.** Evre 2..... 33
**Resim** 11. Evre 3..... 33
**Resim 12.** Evre 4..... 33
**Resim 13.** Evre 5..... 34
**Resim 14.** Gözlem için izole edilmiş şeffaf bir Pleksiglas kafesine yerleştirilen sıçan ..... 35
**Resim 15.** Anestezi için kullanılan Ketamin ve Xylasine etken maddeli ilaçlar..... 38
**Resim 16.** Ketamin ve Xylasine anestezisi uygulanışı ..... 38
**Resim 17.** Sıçanların anestezi altındayken ekssanguinasyon (kansızlaştırma) yöntemiyle sakrifiye edilmesi ..... 38
**Resim 18.** Hipokampüs ve pons dokularının dışarı çıkarılışı..... 39

# ŞEKİLLER LİSTESİ

**Şekil 1**. Elektroensefalogram (EEG) tekniği ..... 6
**Şekil 2.** Epileptik nöbet sırasındaki EEG kaydı ..... 7
**Şekil 3.** Epilepsiye sık neden olan kortikal gelişimsel bozukluk örnekleri ..... 8
**Şekil 4**. Çeşitli epileptik vakalarda görüntüleme ile saptanan ve epilepsiye neden olduğuna inanılan lezyonlar. ..... 8
**Şekil 5.** BK Kanal Şeması ..... 12
**Şekil 6.** Manyetik ve elektriksel alanın yayılma yönü ..... 14
**Şekil 7.** Yuvarlak ve sekiz şekilli sarmallar ile oluşturulan elektrik alanlar..... 16
**Şekil 8.** Transkranial manyetik stimülasyon uygulama şekli..... 17
**Şekil 9.** Transkraniyal manyetik uyarım ile dokularda elektrik alanının oluşması.... 17
**Şekil 10.** Dairesel bir iletken üzerinden geçen akımın oluşturduğu manyetik alan çizgileri (a) ve merkez eksen üzerinden geçen Helmholtz bobinleri (b) ..... 20
**Şekil 11.** Çalışmayı özetleyen diyagram..... 24
**Şekil 12.** Racine skorlama sistemi ..... 34
**Şekil 13.** Hipokampus dokusunun hematoksilen eosin boyama görüntüleri ..... 49
**Şekil 14.** Frontal serebral korteks dokusunun hematoksilen eosin boyama görüntüleri. ..... 50
**Şekil 15.** Pons dokusunun hematoksilen eosin boyama görüntüleri..... 51
**Şekil 16.** Hipokampuste c-Fos protein ifadesinin görüntüleri ..... 53
**Şekil 17.** Hipokampuste KCa1.1 protein ifadesinin görüntüleri..... 54
**Şekil 18.** Frontal kortekste c-Fos protein ifadesinin görüntüleri ..... 55
**Şekil 19.** Frontal kortekste KCa1.1 protein ifadesinin görüntüleri..... 56
**Şekil 20.** Ponsta KCa1.1 protein ifadesinin görüntüleri. ..... 57
**Şekil 21.** KCa1.1 band görüntüleri. ..... 58

# TABLOLAR LİSTESİ

**Tablo 1.** Ağırlıklarına göre verilmesi gereken çözelti hacmi ..... 30
**Tablo 2.** Sıçanların haftalara göre ağırlık (gram) tablosu..... 36
**Tablo 3.** PTZ Grubu RSS'ye göre gözlemin değerlendirilmesi ..... 42
**Tablo 4.** PTZ+Antiepileptik Grubu RSS'ye gözlemin değerlendirilmesi ..... 43
**Tablo 5.** PTZ+Manyetik Alan Grubu RSS'ye göre gözlemin değerlendirilmesi..... 44
**Tablo 6.** Epilepsi skorlama verilerinin istatistiksel değerlendirmesi sonucu elde edilen değerler..... 44
**Tablo 7.** PTZ Grubu enjeksiyondan sonra gelen ilk nöbete kadar geçen süre (saniye) ..... 45
**Tablo 8.** PTZ+Antiepileptik Grubu enjeksiyondan sonra gelen ilk nöbete kadar geçen süre (saniye)..... 46
**Tablo 9.** PTZ+Manyetik Alan Grubu enjeksiyondan sonra gelen ilk nöbete kadar geçen süre (saniye)..... 47
**Tablo 10.** Epilepsi latans süresi verilerinin istatistiksel değerlendirmesi sonucu elde edilen değerler..... 47
**Tablo 11.** Hipokampuste gözlenen hasar oranları ..... 48
**Tablo 12.** Frontal kortekste gözlenen hasar oranları ..... 50
**Tablo 13.** Ponsta gözlenen hasar oranları..... 52

**Kronik manyetik alan uygulanan epileptik sıçanlarda beyin dokusunun potasyum kanallarının moleküler analizi**

**Öğrencinin Adı ve Soyadı:** Emrah OĞRAŞ
**Danışman:** Prof. Dr. Mehmet Zülküf AKDAĞ, Dr. Öğr. Üyesi Enes AKYÜZ
**Anabilim Dalı:** Biyofizik

# 1.ÖZETLER

## 1.1. Türkçe Özet

**Amaç:** Pulslu manyetik alanın epilepsi mekanizması üzerine etkisini araştımak adına deney hayvanları ile oluşturulan gruplar arasındaki sıçanların hipokampüs ve pons dokusundaki Büyük Potasyum (BK) kanallarının ekspresyon seviyelerini araştırmak.

**Gereç ve Yöntemler:** Çalışmamızda 40 adet Wistar albino yetişkin erkek sıçanı 5 gruba ayrdık (n=8). 1. Grup (Kontrol) sıçanlara 1 ay boyunca 2 günde bir 0,5 cc serum fizyolojik intraperitoneal (i.p.) olarak verilmiştir. 2. Grup (PTZ) sıçanlara 1 ay boyunca 2 günde bir 35 mg/kg pentilenetetrazol (PTZ) i.p. olarak verilerek kronik epilepsi oluşturulmuştur. 3. Grup (Pozitif kontrol) sıçanlara 108 mg/kg Levetirasetam (LEV) i.p. olarak verildikten 20 dakika sonra, PTZ prosedürü uygunlanmıştır. 4. Grup (Manyetik Alan (MA)) sıçanlara 1 ay boyunca günde 3 saat 1.5 mT pulslu manyetik alan uygulandı. 5. Grup (PTZ + MA) sıçanlara PTZ uygulamasına ek olarak 1 ay boyunca günde 3 saat 1.5 mT pulslu manyetik alan uygulandı. Bir ay sonunda ratların beyin dokusu diseke edilerek patolojik inceleme yapıldı.

**Bulgular:** Deney gruplarının hipokampus ve frontal korteksinde c-Fos protein ekspresyonunda önemli bir artış gözlendi. Patoloji analizinde hipokampus bölgesinde ciddi nöron dejenerasyonu tespit edildi. Frontal kortekste BK kanalı ekspresyonu, kontrol grubuna kıyasla PTZ grubunda, MA grubunda ve PTZ+MA grubunda önemli ölçüde arttı. Ancak hipokampusta iyon kanalı ekspresyonu pozitif kontrol grubunda diğer tüm gruplara göre azalmıştı.

**Sonuç:** BK kanalı ve manyetik alan uygulamalarının sonuçları, nöbet kontrollerinde değerlendirilmek adına iyi örneklerdir. Sonuçlar elektrofizyolojik iyon kanalı akım ölçümleriyle birlikte geliştirilmelidir.

**Anahtar Kelimeler:** PTZ tutuşturma modeli; Manyetik alan; BK kanalları; Nöbet

**Molecular analysis of potassium channels of brain tissue in epileptic rats applied with a chronic magnetic field**

**Student's Surname and Name:** OĞRAŞ Emrah

**Adviser of Thesis:** Prof. Dr. AKDAĞ Mehmet Zülküf, Asist. Prof. AKYÜZ Enes

**Department:** Biophysics

**1.2. Abstract**

**Aim:** To investigate the expression levels of Big Potassium (BK) channels in the hippocampus and pons tissue of rats between groups formed with experimental animals, this study has been handled to show the effect of pulsatif magnetic field on the mechanism of epilepsy.

**Metarials and Methods:** A total of 40 Wistar albino adult male rats were divided into 5 groups (n=8). Group 1 (Control) rats were given 0.5 cc saline intraperitoneally (i.p.) every 2 days for 1 month. Group 2 (PTZ) rats were given 35 mg/kg pentylenetetrazole (PTZ) i.p every 2 days for 1 month to create chronic epilepsy. Group 3 (Positive Control) PTZ procedure was applied 20 minutes after rats were given 108 mg/kg Levetiracetam i.p. every 2 days for 1 month. Group 4 (Magnetic Field (MA)) rats were applied 1.5 mT pulsed magnetic field for 3 hours a day for 1 month. Group 5 (PTZ + MA) rats were applied 1.5 mT pulsed magnetic field for 3 hours a day for 1 month in addition to PTZ application. At the end of month, the brain tissue of the rats were dissected for the pathological examination.

**Result:** Significant increase in c-Fos protein expression was observed in the hippocampus and frontal cortex of the experimental groups. Pathology analysis revealed severe neuronal degeneration in the hippocampus region. BK channel expression in the frontal cortex was significantly increased in the PTZ group, MA group, and PTZ+MA group compared to the control group. In the hippocampus, however, ion channel expression was decreased in the positive control group compared to all other groups.

**Conclution:** The results of magnetic field application and BK channel are good candidates to be evaluated in the control of seizures. Results should be improved with electrophysiological ion channel current measurements.

**Key Words:** PTZ Kidling Model; Magnetic Field; BK Channels; Paroxysm

## 2. GİRİŞ ve AMAÇ

Epilepsi, uyarıcı/engelleyici nörotransmitter dengesizlik nedeniyle beynin elektriksel aktivitesinin bozulması sonucu oluşan nörolojik bir hastalık olup (1), ayrıca sıklıkla görülen norolojik hastalıklardan birtanesidir. Dünyada 65 milyondan fazla insanı etkilemektedir (2). Epilepsi araştırmalarındaki hızlı ilerlemeye rağmen, birçok ciddi vakada epilepsinin gerçek nedeni bilinmemektedir (3). Epilepsi hastası olan kişilerin %33'ü anti-epileptik ilaçlara karşı direnç göstermektedir (4).

Literatürdeki veriler hastaların anti-epileptik ilaçlara direnç göstermesine neden olarak, nöronlarda oluşan inflamasyon (nöro-inflamasyon) mekanizmasının etkili olduğunu belirtmiştir (5). Anti-epileptik ilaçlara direnç gösteren hastalara uygulanan tedavi yöntemlerinden biride ilgili bölgenin cerrahi olarak alınmasıdır. Fakat ameliyatlar görme, hafıza ve konuşma bozuklukları gibi çok önemli norolojik problemlere neden olabilmektedir (6). Bu nedenle cerrahi işleme alternatif olarak elektrik akımları (vagus sinir stimülasyonu (VSS)) ve daha uygun tedavi yöntemi arayışları devam etmektedir. Cerrahi rezeksiyona alternatif olarak geliştirilen VSS elektrik akımları uygulamaları klinik olarak nöbet aktivitesini modüle etmek için kullanılır (7). Ancak literatürdeki son veriler, epilepside manyetik stimülasyon kullanımının VSS ve diğer güncel tedavilerden daha faydalı olabileceğini düşündürmektedir. Elektrik akımı kullanan tedavi yöntemlerinde elektrotlar ile canlı doku arasında doğrudan temas gereklidir. Ancak cerrahiye gerek kalmadan sinir dokusunu uyarmak için manyetik stimülasyon uygulamaları da kullanılabilinmektedir (8). Elektrotlar ve nöral doku arasında doğrudan temastan kaçındığı için manyetik stimülasyon biyouyumluluk ve tutarlılık açısından elektrik stimülasyonundan daha faydalı görünmektedir (9,10).

Yapılan çalışmalar ve uygulamalar, transkraniyal manyetik stimülasyon (TMS) kullanımının epilepside tanısal, prognostik ve terapötik potansiyele sahip değerli bir araç olabileceğini göstermektedir (11). Bu bağlamda özellikle ilaca dirençli epilepsili hastalarda daha uygun tedaviler geliştirmek için manyetik stimülasyon kullanımı gibi yeni tedavi uygulamalarının araştırılması ve geliştirilmesi oldukça önemlidir. Ayrıca, hücresel moleküler mekanizmalarla ilgili olarak, bu terapötik yaklaşım daha gerçekçi sonuçlar elde edilmesine yardımcı olabilir. TMS

mekanizmalarını anlayarak yeni manyetik tasarımlar geliştirirken, stimülasyon protokollerini optimize etmek, bu yaklaşımların uzun vadeli güvenliğini ve dolayısıyla hedeflenen tekniklerin insanlarda klinik uygulanabilirliğini değerlendirmek için kritik öneme sahiptir. Çalışmalar, tekrarlanan transkraniyal manyetik stimülasyon (rTMS) kullanımından sonra nöbet sıklığında ve/veya epileptik deşarjlarda azalma olduğunu bildirmiştir. Yüksek frekanslı rTMS uygulamalarının hastalarda önemli anti-epileptik etkileri olduğu bulunmuştur. Bununla birlikte manyetik alanın epilepsi üzerine etkisi ile ilgili moleküler/hücresel mekanizmalar hakkında mevcut veriler yetersizdir. Bu nedenle, moleküler, hücresel ve ağ düzeylerinde manyetik alan uyarma mekanizmalarına odaklanan temel laboratuvar araştırmalarına ihtiyaç olduğu görülmektedir. Literatürdeki veriler, manyetik alanların uygulanmasının, membran polarizasyonunu ve iyon kanallarını etkileyerek nöronal uyarılabilirliği değiştirebileceğini göstermiştir (12). Nöronal uyarılabilirlikteki değişiklikler, manyetik stimülasyon altında iyon kanallarının modülasyonu ile ilişkilidir (12). Yapılan çalışmalar, manyetik alanların uygulanmasının nöral dokuda hücre içi $Ca^{+2}$ iyon seviyelerini arttırdığını göstermektedir (13). Büyük Potasyum (BK) kanalları, $Ca^{+2}$ iyonu homeostazının düzenlenmesi ve $Ca^{+2}$ iyonu sinyalleşmesinde görev almaktadır (14). Ayrıca literatürde BK kanallarının nöro-inflamasyonda rol oynayabileceğini destekleyen veriler bulunmaktadır (14). Bu veriler ise BK kanallarının ilaca dirençli hastalarda potansiyel bir hedef olabilme şansını arttırmaktadır. Bu bağlamda, bu çalışma, nöronal hiper-uyarılabilirliği kontrol ederek epilepside nöbet oluşumunun düzenlenmesinde rol oynayabilecek olan pulslu manyetik alanların hipokampus ve pons dokularının BK kanalları üzerine etkilerini araştırmayı amaçlamaktadır.

# 3. GENEL BİLGİLER

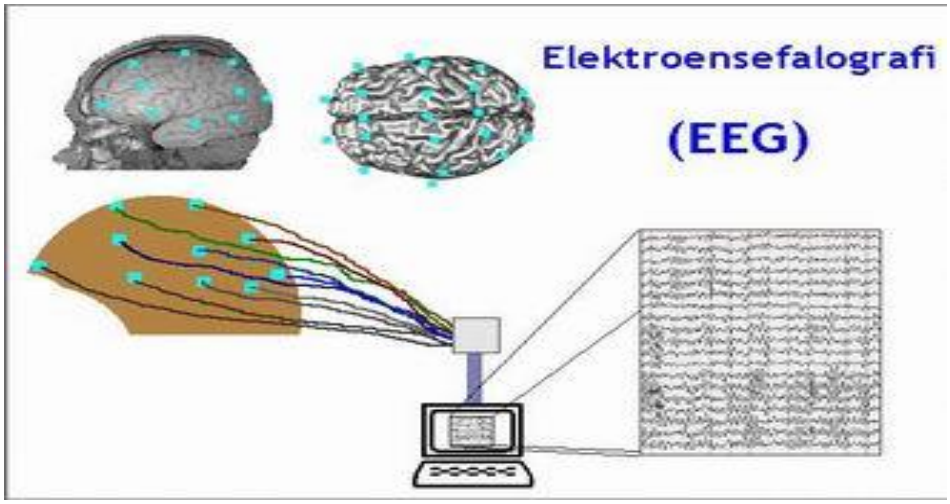
## 3.1. Epilepsi

Epilepsi; kortikal nöronlar kapsamında şiddetli ve olağandışı elektriksel deşarj neticesinde açığa çıkan nöbetler ile ele alınan bir rahatsızlıktır (15). Bulunan topluluğa bağlı olarak epilepsi insidansı farklılık göstermekle birlikte çoğunlukla yıl içinde 20-50/100.000 olarak ifade edilmektedir. Bununla birlikte aktif epilepsi prevelansının 4-10/1000 olduğu belirtilmektedir. Epilepsi insidansının en fazla rastlandığı iki süreç hayatın ilk yılı ile 60 yaş sonrasındaki dönemdir. Epilepsi, yetişkinlerde beyin rahatsızlıkları içerisinde ikinci sırada yer almakla birlikte çocukluk ile ergenlik döneminde en fazla rastlanan hastalık olarak karşımıza çıkmaktadır (16).

Yapısal olarak kronik nitelik sergileyen epilepsi, hayatın önemli bir bölümüne etki etmekte; entelektüel, fiziksel, ruhsal ve sosyal hayatta önem arz eden problemleri açığa çıkarmakta ve bireylerin günlük faaliyetlerinde travmatik farklılıklar ortaya çıkarmaktadır.

### 3.1.1. Epilepsi Tanısı

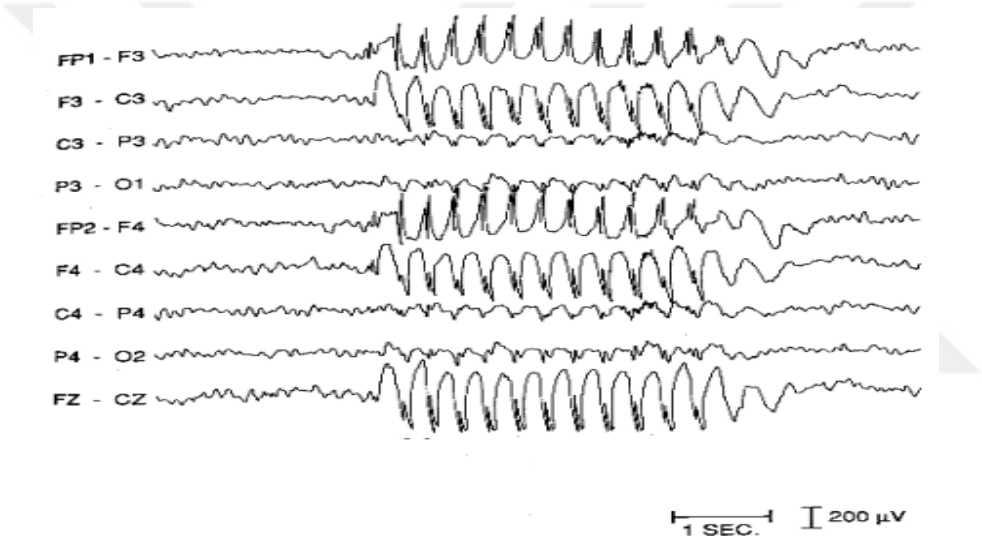
Epilepsi için tanı öncelikle klinik olarak konulur ve yapılan bazı tetkikler ile desteklenir. Elektroensefalogram (EEG), ilk nöbet geçiren hastalar için en önemli testtir. EEG, özellikle beynin işlevsel ve zihinsel aktivitesini incelerken bulguları netleştirmeye yardımcı olur. EEG sinyalleri, beyindeki fiziksel ve zihinsel aktiviteye karşılık gelen dört ana frekans bandına sahip spektral bileşenler ($\alpha$, $\beta$, $\delta$, $\theta$ dalgaları) içerir (17). Bu sinyaller sayısallaştırıldıktan sonra bilgisayar ortamında analiz edilip kayıt altına alınabilir. Sayısallaştırılmış EEG sinyalleri, kullanılan cihazın özelliklerine bağlı olarak belirli frekanslarda örneklenir (17). Sayısallaştırılmış ve örneklenmiş EEG sinyalleri, hastalık tespitine yardımcı olmak için modern sinyal işleme teknikleri kullanılarak analiz edilir (17).




**Şekil 1**. Elektroensefalogram (EEG) tekniği (18)

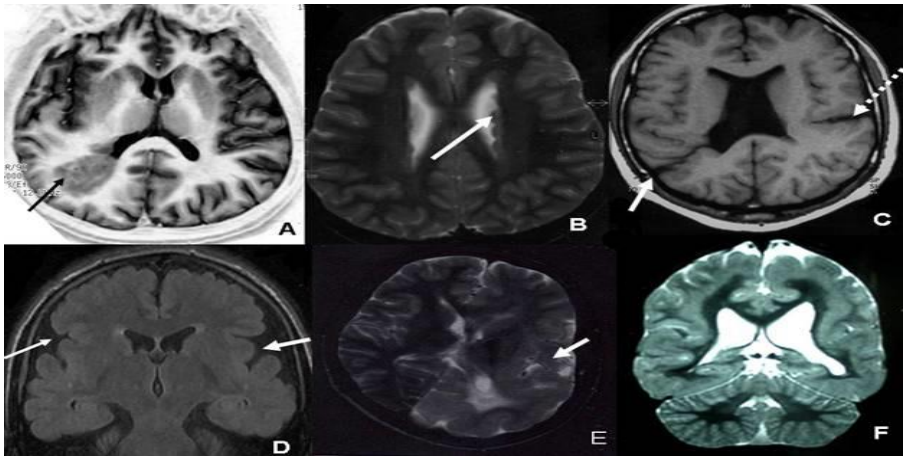
Beynin normal elektriksel aktivitesi, beyinle ilgili birçok bozukluk ve ani şoklar nedeniyle bozulabilir. EEG'yi oluşturan beyin dalgalarını değerlendirerek bu bozulmanın meydana geldiği bölgeler ve bozulmuş durumdaki sinyalin şekli hakkında bilgi edinebiliriz (19). Elektroensefalografi, özellikle epilepsi bozukluklarının tanısında epilepsinin çeşidini belirlemek için kullanılarak tedaviye karar verdirecek olan inceleme yöntemdir. Ancak kısa süren epileptik dalga formlarının görsel tespiti zor ve zaman alıcı bir süreçtir. EEG kayıtlarını değerlendiren uzmanlar, değerlendirme sürecinde yalnızca epileptiform dalga biçimlerinin ortak tanımlarını kullanmakla kalmaz, aynı zamanda tüm kanal etkileşimleri ve ön-arka dalga biçimleri gibi öznel bilgileri de kullanır. Bu nedenle EEG kayıtlarının yorumlanması bu alanda eğitimli ve deneyimli profesyoneller gerektirir. Son yıllarda geliştirilen bazı yöntemler sinyallerin istatistiksel analizi için kullanılırken, diğerleri belirli dalga formlarını belirlemek, izole etmek ve incelemek için kullanılır (20). Zemin aktivitesinde belirgin asimetri veya yavaşlama, epileptiform deşarjlar (diken, keskin ve diken-dalga deşarjları) beyin ile ilgili elektrofizyolojik patolojiler hakkında bilgi verir. Spesifik olarak nöbetler veya epilepsi ile ilişkili olanlara benzer EEG paternlerini tanımlamak için epileptiform kullanılır. Epileptiform paternler, genellikle diken veya keskin dalgalar olarak düşünülen dalga formlarıdır. Bir diken uç (spike), keskin kenarları olan 20-70 milisaniye uzunluğunda bir dalga biçimidir. Keskin dalgaların (sharpwave) süresi 70-200 ms'dir ve bir diken uç kadar keskin olmayabilir. Bir diken dalgayı yavaş bir

dalga izleyebilir. Bu, düzenli aralıklarla tekrarlanabilen bir diken ve dalga kompleksini oluşturur. 3 Hz'den daha düşük hızda tekrar eden spike-dalga komplekslerine, yavaş spike-dalga kompleksleri denir. Keskin bir dalgayı yavaş bir dalga takip ettiğinde, bu dalgalar keskin ve yavaş dalgalardan oluşan bir kompleks oluşturur. Bu tür kompleksler tipik olarak genelde saniyenin 1/3'ünden daha kısa sürer. Bu nedenle 3 Hz'in üzerindeki hızlarda tekrarlanmazlar. Bazen iki veya daha fazla diken art arda meydana gelerek polispike kompleksi olarak da adlandırılan multiple diken kompleksini oluşturur. Bu kompleksleri bazen yavaş bir dalga takip eder ve böylece çoklu diken-yavaş dalga kompleksini veya polispike ve yavaş dalga komplekslerinin bir parçasını oluşturur.

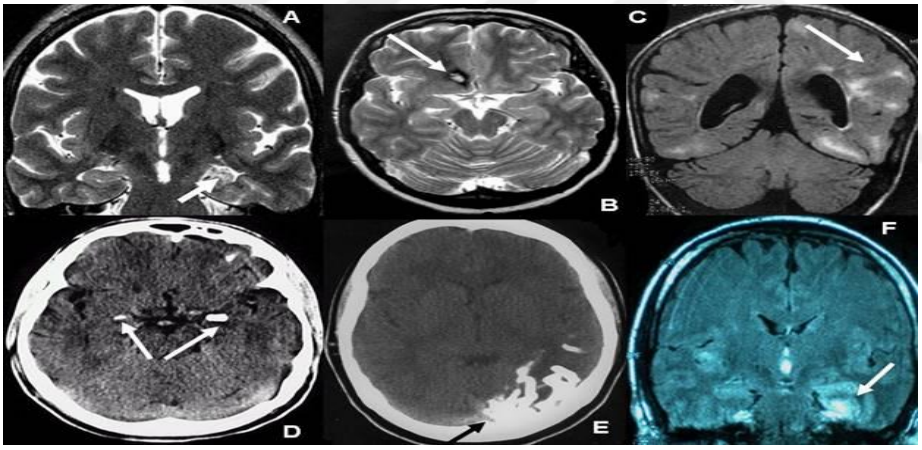



**Şekil 2.** Epileptik nöbet sırasındaki EEG kaydı (21)

Epileptiform deşarjlar jeneralize, fokalve lateralize olabilmektedir (22). Nörogörüntüleme işlemlerinde; bilgisayarlı tomografi (BT), serebral kalsifikasyonları gösterme yönünden manyetik rezonans görüntüleme (MRG) yöntemine kıyasla daha üstün konumdadır. MRG'nin avantajları iyonize radyasyon içermemesi, BT'ye kıyasla kemik artefaktlarından yoksun olması, meziotemporal lob ve posterior kavite yapılarının daha iyi görüntülenmesini sağlaması ve herhangi bir düzlemde rekonstrüksiyona olanak sağlamasıdır. Ancak MRG epilepsi protokolüne göre yapılmalıdır. Bu işlem maksimum yüksek Tesla gücünde bir cihazla, FLAIR sekanslarını ve sagital kesitleri, gerekirse hacimsel görüntü elde edebilmek için seri ince kesitli T1A koronal kesitleri de içerecek şekilde alınıp, temporal ve frontal lobları detaylı olarak incelemelidir (23).




**Şekil 3.** Epilepsiye neden olan kortikal gelişim bozukluklarına örnekler: **A**: Fokal kortikal displazi, **B:** Nodüler heterotopi, **C:** Bilateral (bir yanda açık dudaklı diğer yanda kapalı dudaklı tipte) şizensefali, **D:** Bilateral perisilviyen displazi **E:** Hemimegalensefali, **F:** Çift (double) korteks sendromu (24).




**Şekil 4**. Çeşitli epileptik vakalarda görüntüleme ile saptanan ve epilepsiye neden olduğuna inanılan lezyonlar **A:** Mezial temporal lob epilepsisi tanısı ile izlenen bir hastada okla işaretlenmiş medial temporal lob sklerozunu düşündüren hiperintens görünüm **B**: Semptomatik fokal epilepsili hastalarda kavernomla uyumlu heterojen lezyonlar, **C:** Tüberoskleroz olgusunda gözlenen multifokal kortikal nodüller, **D:** Lipoid proteinoz tanısı konulan bir hastada BT'de bilateral meziotemporal kalsifikasyonların saptanması, **E**: Sturge-Weber sendromu tanısı alan bir hastada BT'de oksipital lobun tipik kalsifikasyonları, **F:** Herpes simpleks ensefalitinde tipik bir medial temporal lezyon (24).

### 3.2. İyon Kanalları

Hücre zarı, hücreyi dış ortamdan ayıran ve koruyan bir çift fosfolipit tabakasından oluşur. Karbondioksit ve oksijen gibi gazlar ile üre ve etanol gibi küçük yüksüz moleküller, basit difüzyon yoluyla seçici geçirgen hücre zarlarından geçebilir, ancak iyonlar ve diğer moleküller geçemez. İyonların hücre zarlarından geçişi için, fosfolipid tabakası içinde özelleşmiş proteinlerin aracılığına gerek duyulmaktadır. Bunlar; hücre zarında iyonik iletkenlik sağlayan kanal proteinleri, iyonları enerji gerektirmeden taşıyan taşıyıcı proteinler ve iyonları bir elektrokimyasal gradyana karşı taşımak için enerjiyi kullanabilen taşıyıcı kanallardır (25). Bu kanal proteinleri, spesifik olarak inorganik iyonları taşıdıkları için iyon kanalları olarak adlandırılır. İyon kanalları, iyonların plazma zarı veya hücre içi organellerin zarı boyunca akışına izin veren gözenek oluşturucu proteinler olarak da tanımlanır (26). Açık iyon kanalları, elektrokimyasal derecelerine bağlı olarak $Na^{+}$ , $K^{+}$ , $Ca^{+2}$ ve $CI^{-1}$ gibi belirli iyonların membrandan pasif olarak geçmesine izin verirler. Kanallar, içinden geçen iyonlara göre adlandırılır. Bu kanallar, onları açıp - kapatabilen uyarana göre sınıflandırılır. Bunlar, hücre içi veya hücre dışı ligandların kanala bağlandığı ligand kapılı iyon kanalları, hücre membran potansiyelindeki değişikliklere yanıt veren voltaj kapılı iyon kanalları ve mekanik stresle aktive olan mekanik duyarlı iyon kanallarıdır. Ayrıca uyarılardan bağımsız olarak her zaman açık olan kanallar da vardır (25, 27, 28).

İyon kanallarının en önemli fizyolojik özelliği elektriksel sinyallerdir ve elektriksel uyarının yüksek olduğu sinir ve kas gibi hücrelerde membran potansiyeli oluşumunu sağlarlar. Kas kasılması, sinir hücrelerinin uyarımı, hormon salgılanması, çevresel uyarıların alınması, elektriksel sinyaller tarafından gerçekleştirilir. Voltaj kapılı iyon kanallarının bu işlevleri; uyarılabilir hücrelerde zar depolarizasyonu ile aksiyon potansiyeli oluşumunu sağlar. Voltaj kapılı iyon kanalları gen ekpresyonunda, hücre bölünmesinde, hücresel olaylarda, sinyal iletiminde de rol oynarlar (29, 30). İyon kanalları, sinirler ve kaslar gibi yüksek elektriksel uyarıya sahip hücrelerde zar dinlenim potansiyeli oluşumunu tetikler. Kas kasılması, sinir hücresi uyarımı, hormon salınımı ve çevresel uyarı alımı elektriksel sinyaller neticesinde gerçekleşir. Voltaj kapılı iyon kanallarının işlevleri; uyarılabilir hücrelerde zar depolarizasyonu ile aksiyon potansiyeli oluşumunu sağlamanın yanı

sıra; gen ekspresyonu, hücre bölünmesi, hücresel olaylarda ve sinyal iletiminde rol oynar (29, 30).

### 3.2.1. Potasyum Kanalları

Yavaş aktive olan $K^+$ kanallarının yaklaşık %30'u dinlenme sırasında açıktır. Kalan kanalların açılması, membran potansiyeline (voltaj bağımlı $K^+$kanalları) veya diğer metabolik unsurlara bağlıdır. Potasyum kanalları üç temel alt gruba ayrılır: hızlı kanallar, yavaş kanallar ve içeri doğrultucu ("inward rectifier") kanallar (31, 32). Hodgkin ve Katz'nın 1949 yılında mürekkep balığının dev aksonuyla yaptıkları "voltaj kenetleme" deneyi, $K^+$ kanallarının açılmasının (depolarizasyondan birkaç ms sonra) repolarizasyonu tetiklediğini ortaya çıkarmıştır. Aslında repolarizasyon aşaması önemli ölçüde voltaj-kapılı kanalların kapanması veya inaktivasyonu ile sürekli kanalların sızıntı akımlarının aktivasyonu gibi $Na^+$ kanallarının davranışı ile belirlenir (33). Miyelinli aksonların hızlı $K^+$ kanallarının işlevleri sadece paranodal bölge yaralandığında meydana gelen demiyelinizasyon durumunda ortaya çıkar (34). Depolarizasyondan takribi 10 ms sonra açılan ve 100 ms açık kalan yavaş $K^+$ kanalları, Ranvier düğümlerinde yoğunlaşmalarına rağmen membran boyunca yayılmış olarak bulunur (35). Bu kanalların yavaş hızları sekme iletiminin etkinliğini sınırlar, ancak dinlenme membran potansiyelinin korunmasında önemli bir rol oynarlar. Diğer önemli bir görevi, yavaş $K^+$ kanallarının açılma durumu tekrarlanan elektriksel stimülasyon ile arttığı için aksonal membranın aşırı uyarılmasını önlemektir (membranı hiperpolarize ederek uyarılabilirliği azaltmak). Bu bağlamda epilepsi tedavisinde kullanılan bir ilaç olan retigabin'in yavaş $K^+$ kanalını açma etkisi, bu kanalların epileptik nöbetleri tetiklemede etkili olabileceğini düşündürmektedir (36). Üçüncü tip $K^+$ kanalı ise içeri doğrultucu ("inward rectifier") kanal olarak isimlendirilmektedir (37, 38, 39).

### 3.2.2. İçeri Doğrultucu Potasyum Kanalları (Kir Kanalları)

Nöronlar ve kardiyomiyositler gibi uyarılabilir hücrelerde aktif rol oynayan içe doğrultucu potasyum kanalları (Kir), aksiyon potansiyelinin sonuna doğru aktif olarak $K^+$ iyonlarını hücre içine iletirler (40). Kir kanallarının ana rolü, aksiyon potansiyellerini istirahat zar potansiyellerine dönüştürerek hücre uyarılabilirliğini kontrol altında tutmaktır. Aksiyon potansiyeli sonunda hiperpolarize hücreyi normal

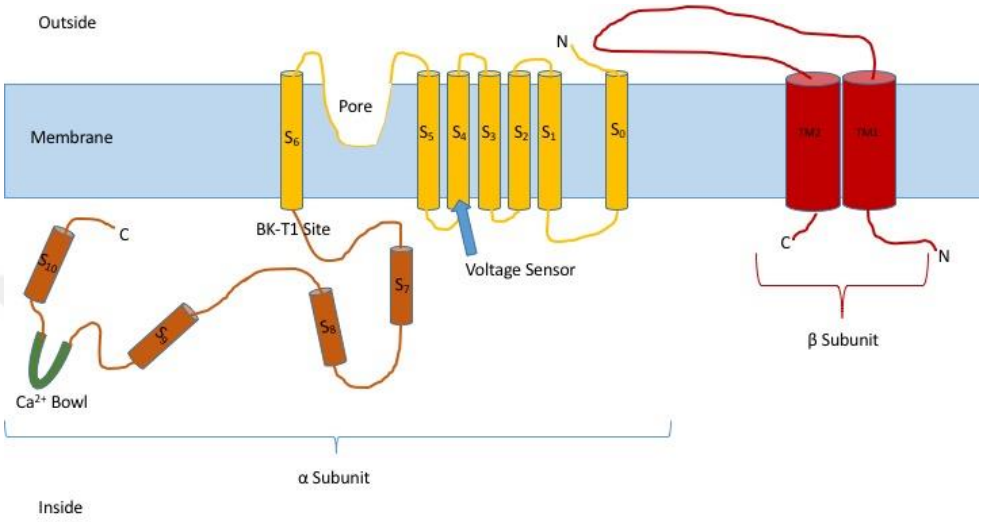
dinlenme potansiyeline döndürmek için $K^+$ iyonlarını hücre içine taşıyan Kir kanalları repolarizasyonu hızlandırarak aksiyon potansiyelini tekrarlanabilir bir süreç haline getirir (41). Bu kanallar, potasyum denge ($E_K$) potansiyelinden daha negatif bir potansiyelde $K^+$ iyonlarını hücreye taşıyan bir diyot gibi davranarak fizyolojik işlevlerini yerine getirirler. Ayrıca Kir kanalları, $Mg^{+2}$ iyonu ve sitoplazmik poliaminler tarafından kanal deliklerinin voltaja bağlı olarak bloke edilmesi nedeniyle doğrultucu özelliklerini kazanır. Böylece hücre içi $Mg^{+2}$ konsantrasyonunun değerine bağlı olarak $K^+$ iyonlarının çıkışı bloke edilir ve membran potansiyelini değiştirmek için içeriye akış serbest bırakılır (42, 43). Kir kanalları, $K^+$ iyonlarının nöronlar arasında birikmesini önleyerek, epilepsi nöbetine neden olan $K^+$ iyonlarının uzaysal konsantrasyonundaki artışı önlemekten sorumludur (44). Ancak fonksiyon bozukluğuna bağlı olarak artan uzamsal $K^+$ konsantrasyonları azalmış glutamat absorpsiyonuna bağlı olarak nöbetleri başlatır. Ayrıca Kir kanalı obstrüksiyonu veya konformasyonundaki fonksiyonel değişiklikler de hücre içi ve hücre dışı ortamdaki $K^+$ iyonlarının miktarını değiştirerek hücre uyarılabilirliğini artırarak epilepsiye neden olmaktadır (45).

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda, Kir ailesinin yapısal olarak farklı yedi alt ailesi tanımlanmıştır ve bunlardan da Kir2.x, Kir3.x, Kir4.1 ve Kir6.x kanallarının epilepside rol oynayabileceği bildirilmiştir. Bu kanallardan Kir4.1'in epilepside merkezi öneme sahip olduğunu çalışmalarnet bir şekilde göstermiştir.

### 3.2.3. Büyük Potasyum (BK) Kanalları

BK (büyük potasyum) kanalları, iletkenliği yüksek, kalsiyumla aktive olan potasyum kanallarıdır. BK kanalları, hücre zarları boyunca çok fazla sayıda potasyum iyonu (K) ileten voltaj kapılı potasyum kanallarıdır (46). Bu kanallar elektriksel olarak veya hücre içi Ca miktarının artmasıyla açılabilir. BK kanalları, sirkadiyen davranış ritimleri ve nöronal uyarılabilirlik gibi fizyolojik süreçleri düzenlemeye yardımcı olur (41). Bu kanallar her yerde bulunduklarından dolayı, vücuttaki çoğu fizyolojik süreçte yer alırlar. Depolarizasyona veya yükselen kalsiyum seviyesine yanıt olarak potasyumun dışa doğru çıkmasına izin vererek zar potansiyelini repolarize ettiği düşünülmektedir.

BK kanalları, nörotransmiter salınımını düzenlemenin yanı sıra nöronal uyarılabilirliği modüle etme görevide vardır. Kortikal ve hipokampal alanlarda BK kanalı α alt birimleri glutamaterjik ve GABAerjik sinir terminallerinde eksprese edilir (47). Bu nedenle, BK kanal düzenleyicileri, aşırı uyarıcı amino asit salınımını seçici olarak sınırlamak için kullanalabilmektedir.




**Şekil 5.** BK Kanal Şeması (48)

### 3.3. Epilepsi ile BK Kanalları Arasındaki İlişki

Epilepsinin aktif fazı sırasında, kortekste ve hipokampüste BK kanal α alt birimlerinin aşağı doğru düzenlendiği bildirilmiştir (49). Buda bize, epilepside BK kanalları ile GABAerjik ve/veya glutamerjik sinyalleşme arasındaki olası bir mekanizmanın etkili olabileceğini düşündürmektedir. BK kanallarının Merkezi Sinir Sistemi (MSS) nöronlarındaki N-metil-D-aspartat reseptörü (NMDAR) ile birlikte lokalizasyonu bildirilmiştir (50). Buna paralel olarak, BK kanallarının glutamatın hareketini şekillendirmede ve çeşitli beyin bölgelerinde salımını kontrol etmede önemli bir rol oynayabileceğini gösterebilir. Kolokalizasyon analizleri NMDAR ve BK kanallarının kompleksler oluşturduğunu göstermiştir. BK-NMDAR kompleksleri, farklı beyin bölgelerinde geniş ölçüde ifade edilmektedir. Epilepsi nöbetleriyle ilgili hayvan modelinde yapılan bir çalışmada yüksek frekanslı elektrik alanları, frekansa bağlı olarak kalsiyum ve potasyum aracılığıyla epileptiform aktiviteyi baskılamıştır. Yapılan kayıtlar, baskılama sırasında nöronların depolarize edildiğini ancak aksiyon potansiyellerinin ateşlenmediğini göstermiştir (51). Buna

göre, epileptiform aktivitenin kalsiyum ve potasyum ilişkili BK kanallarının yüksek frekanslı stimülasyonla baskılanabileceği varsayılabilir. Bir araştırmada, rTMS'in hipokampal nöronlarda bulunan $K^+$ ve $Ca^{+2}$ iyon kanallarının fizyolojik özelliklerini değiştirdiği kaydedilmiştir. Bununla birlikte aksiyon potansiyelinin eşik değeri, uygulama sonrasında daha depolarize olarak ölçülmüştür (52).

2018 yılında fareler üzerinde yapılan çalışmadan elde edilen patch-clamp verileri BK kanal aktivasyonunu NMDAR aracılı $Ca^{+2}$ iyon değişimine aracılık ettiğini göstermektedir (53). Buna dayanarak, BK kanallarının epilepside etkilenen bir nörotransmitter olan glutamatı düzenlemede görev alabileceği öne sürülebilir. Epileptik sıçanlarda BK kanallarının nöbetle ilişkili aşağı regülasyon gösterdiği saptanmıştır. Ayrıca BK kanallarının aşağı regülasyonuna bağlı olarak glutamaterjik terminallerde nöronal uyarılabilirliğinin bozulduğu tespit edilmiştir. Bu sürece bağlı olarak artan glutamat salınımını nöbetleri tetiklenmesine katkıda bulunmaktadır (54). Bu veriler ışığında BK kanallarının, glutamat salınımını kontrol ederek hipokampal devrelerde antiepileptik bir etki uygulayabileceği belirtilebilir.

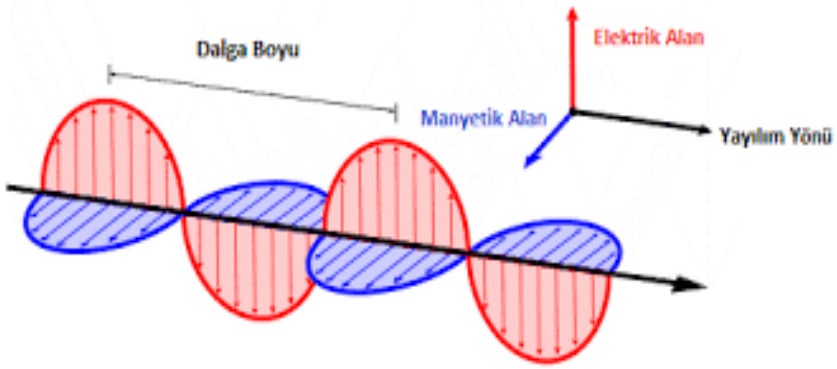
### 3.4. c-Fos proteini

c-fos proteini, nöronal aktivasyonun bir belirtecidir ve özellikle seviyelerinin artan nöronal aktivasyonla arttığı bilinmektedir (55, 56). Beyindeki en erken gen c-fos salınımı, normal fizyolojik tepkileri ve nöropatolojik koşullarda çeşitli uyaranlara karşı nöronal tepkiyi tanımlamak için geliştirilmiştir (57, 58). En erken gen c-fos Aktivatör Protein-1 (AP-1), promotör dizilerine bağlanarak çeşitli genlerin transkripsiyonel aktivitesini düzenleyen bir çekirdek proteini kodlar (59, 60). Normal fizyolojik koşullar altında hücrelerde bazal en erken gen ekspresyonu düşük olmasına rağmen, uyarıcı sonrası en erken gen transkripsiyonu, ikinci haberci kaskadları tarafından hızlı ve geçici olarak uyarılır (61). Merkezi sinir sisteminde, bu tür gen uyarımı ilk olarak nöronları elektrofizyolojik olarak aktive ettiği bilinen çeşitli farmakolojik ve elektriksel uyarıları izleyen çalışmalarda gözlemlenmiştir (61, 62, 63). Ayrıca çeşitli stresli durumlardan (yüzme, koşullu korku vb.) sonra c-fos salınımının arttığı bildirilmiştir.

### 3.5. Manyetik Alan

Sabit yüklerin çevresinde statik elektrik alanları oluşurken, hareketli yüklerin çevresinde elektrik ve manyetik alanlar oluşur. Bu alanlar "dinamik elektromanyetik alanlar" veya genellikle "elektromanyetik dalgalar" olarak isimlendirilirler. Yayılan alanın manyetik (H) ve elektrik (E) bileşenleri birbirine dik iken oluşturdukları düzlem ile yayılma yönüde birbirine diktir. Her iki bileşen de zamana bağlı sinüsoidal davranış sergiler (64).

Maxwell'in Ampère yasasını doğrulaması, hata oranı düşük bir denklemdir ve bu doğrulama, yalnızca manyetik alandaki bir değişikliğin bir elektrik alanına neden olduğunu değil, elektrik alanındaki bir değişikliğin de bir manyetik alana neden olduğunu açıklar. Andre Marie Ampere tarafından formüle edilen Ampere yasası, elektrik akımı ileten kapalı bir döngü etrafında bir manyetik alan oluşumunu tanımlar (65).




**Şekil 6.** Mavi; Manyetik alan, Kırmızı; Elektriksel alan ve Siyah ok ise yayılma yönü (66)

### 3.6. Amper Yasası

Ampere yasası manyetik alanı bu alanı oluşturan elektrik akımıyla ilişkilendirir. Bu yasa, bu fenomeni keşfeden bilim adamı Andre Marie Ampere'nin adını almıştır. Amper yasası, ‘kapalı bir yol boyunca manyetik alan yoğunluğunun doğrusal integralinin, bu döngüden geçen akımın dağılımına eşit olduğunu belirtirken doğrultunda öneme sahip olduğunu göstermektedir. Amper yasasını uygulamak için tüm akımların sabit olması gerekir yani zamanla değişmez. Sadece yörünge içindeki alanı geçen akımlar dikkate alınır ve manyetik alana bir miktar katkıda bulunur. Akımlar cebirsel işaretleriyle alınmalıdır yüzeyden “dışarı” çıkanlar pozitiftir, “içeri” girenler ise negatiftir.

### 3.7. Faraday Yasası

Michael Faraday ve Joseph Henry tarafından birbirlerinden bağımsız olarak yürütülendeneyler sonucunda, manyetik alan yönü veya yeri değiştirilerek bir devredevoltaj indüklenebileceği gösterilmiştir. Bir bobinin sarımından bir akı geçtiğinde ortaya çıkan gerilim akının zamana göre değişim oranı ile doğru orantılı olur. Devrede anahatar kapatılırsa bobinde bir manyetik alan oluşur. Bu manyetik alan daha sonra ikinci bobin de yeniden elektirik akımına dönüştürülür. Bundan dolayı sürekli bir elektirik akımı meydana getirilmiş olur. Faraday yasası Maxwell denklemlerinden gelen temel bir ilişkidir. Değişen bir manyetik ortam tarafından bir voltajın üretilebilmesidir.

### 3.8. Transkranial Manyetik Stimülasyon

Transkraniyal manyetik stimülasyon (TMS), depresyon semptomlarını ortadan kaldırmak için manyetik alanları kullanarak beyindeki sinir hücrelerini uyaran ve invazif olmayan bir uygulamadır. Hızlı bir şekilde değişen manyetik alanlar sayesinde dokuda indüklenen zayıf elektrik akımı (elektromanyetik indüksiyon) uyarıma neden olur. Bu sayede cerrahi işleme veya harici elektrotların yerleştirilmesine gerek kalmadan beyin aktivitesi etkinleştirilebilir veya düzenlenebilir. Tedavi, tekrarlanan manyetik darbelerin gönderilmesini içerir. Bu işleme bu nedenle tekrarlayan TMS veya rTMS denir.

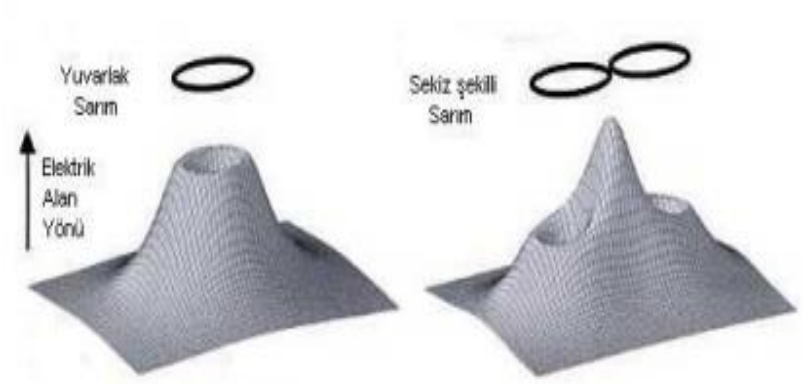
TMS'de kullanılan manyetik dalgalar, kafatasından kolay ve ağrısız bir şekilde geçerek beynin farklı bölümleri arasındaki iletişimi geliştirebilen beyin

hücrelerini uyarır. TMS'nin tam olarak nasıl çalıştığını bilmiyoruz, ancak stimülasyonun beyin işlevi üzerinde depresyon semptomlarını azaltarak psikolojik durumu iyileştirebilen bir etkisi olduğu bilinmektedir.

### 3.8.1. Manyetik Uyarım

Birkaç yüz mikrosaniye boyunca yüksek yoğunluklu akım geçirilen manyetik bobin, kafatasına teğet olacak şekilde konumlandırılır. Manyetik alan normalde kafatası etrafındaki yumuşak dokuların ve kemiklerin ötesine geçerek bu dokularda herhangi bir ekstrasyona neden olmamasından dolayı transkraniyal elektriksel uyarıya göre çok daha ağrısız bir uygulama olanağı sağlar. Beyne giden manyetik alan, dokuda sarmaldaki akımın yönüne zıt olan iyon akımlarına neden olur. Bu akımlar korteksin yüzeyine paralel olduğundan, yüzeye paralel internöronlar tercihen uyarılır. Genel olarak TMS, kortekse dik olan piramidal nöronların aksonlarını çoğunlukla direk olarak uyarmaz. Bu nöronlar ya eksitatör internöronlar tarafından dolaylı olarak uyarılır ya da yüksek TMS gücünde ve bazı belirli sarım pozisyonlarında uyarılabilirler.

Bobinler çeşitli şekillerde tasarlanmasına rağmen, genellikle dairesel veya sekiz (kelebek) şekli kullanılır.

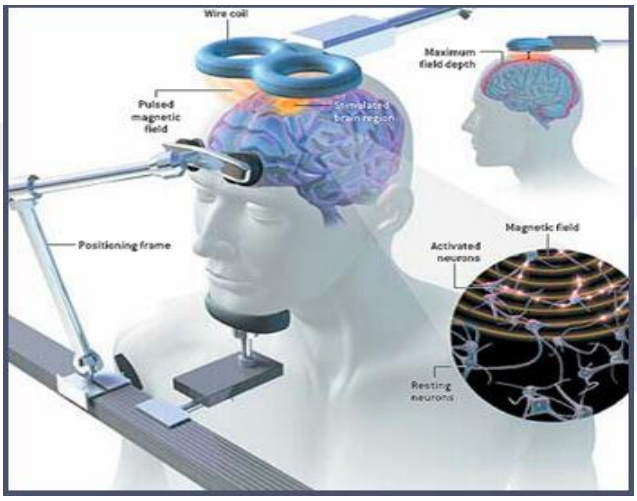



**Şekil 7.** Dairesel ve kelebek şekilli sarmallar tarafından oluşturulan elektrik alanları (67)

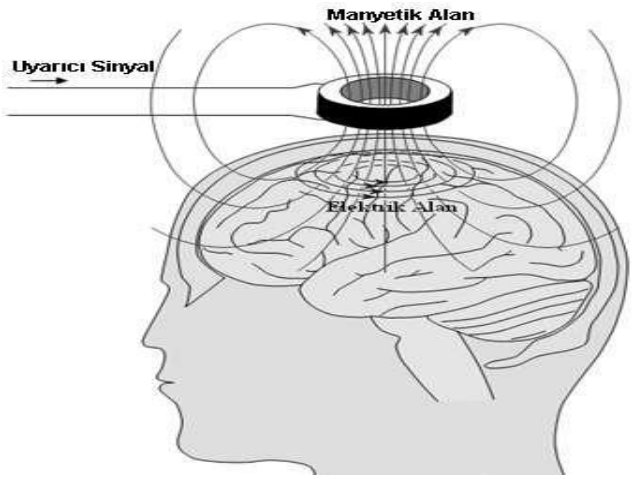
Yuvarlak şekilli TMS sarımları, güçlü manyetik alan verirler, fakat odaklanmış uyarım yapamazlar. Sekiz şekilli sarımlarda ise, içinde akımın birbirine ters yönde hareket ettiği iki sarım vardır. Bunların hareket yönlerinin kesişme noktasında iki halkada da aynı yönlü manyetik alan elde edilir ve manyetik uyarım

burada en yüksek düzeyde olur. Bu nedenle odaksal uyarımın amaçlandığı çalışmalarda sekiz şekilli sarımlar kullanılır (68).

Dairesel TMS bobinleri güçlü manyetik alanlar yayar, ancak odaklanmış bir uyarım gerçekleştiremezler. Öte yandan, kelebek şeklinde akımın zıt yönlerde aktığı iki bobin vardır. Hareket yönlerinin kesişiminde, her iki halkada da aynı yönde bir manyetik alan elde edilir ve uyarım burada en yüksek seviyededir. Bu nedenle fokal stimülasyona yönelik çalışmalarda kelebek figürlü sarımlar kullanılmaktadır (68).




**Şekil 8.** Transkranial manyetik stimülasyon uygulama şekli (69)




**Şekil 9.** Transkraniyal manyetik uyarım ile dokularda elektrik alanının oluşması (70)

### 3.8.2. Transkraniyal Manyetik Stimulasyon Uygulamasının Epilepsi Üzerine Etkisi

2020 yılında yapılan bir çalışmada 15 Hz olarak uygulanan rTMS'nin nöronal cevap üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Manyetik uyarım sonrasında uyaranlara karşı aksiyon potansiyeli tepkisi baskılanmıştır (71). Buna paralel olarak yüksek frekanslı rTMS, epilepside iyon kanallarının ifadesini değiştirerek aksiyon potansiyelini düzenleyebilir. Teta patlama uyarımı (Theta-burst stimulation) rTMS'nin bir çeşidi olduğu bilinmektedir (72). 2017 yılında yapılan bir çalışmada devamlı teta patlama uyarımının kortikal uyarılabilirlik üzerinde etkisi hedeflenmiştir. Yüksek frekanslı olarak uygulanan müdahale sonrasında kortikal sessiz dönem uzamıştır (73). Bu tedavinin nöronal uyarılabilirliğin değiştiği epilepside iyonik akımları düzenleyerek nöbetlere olumlu etki yapabileceği göz önüne alınabilir. Temporal lob epilepsisi olan 14 hastayla yapılan bir araştırmada görsel isimlendirmenin incelenmesi için yüksek frekanslı rTMS kullanılmıştır. Uygulama sonrasında resim adlandırma için tepki süresi azalmıştır (74). Bu bağlamda, yüksek frekanslı rTMS tedavisinin epilepsi hastalarında hayat kalitesini arttırıcı etkisi olabileceği öne sürülebilir.

Literatürdeki veriler rTMS'nin glutamaterjik ve GABA-erjik mekanizmalar üzerinden işlev gösterdiği hipotezini desteklemektedir (73, 75, 76, 77). Gama Amino Bütirik Asid (GABA) beyindeki ana baskılayıcı, glutamat ise ana uyarıcı nörotransmitterdir (78, 79). Glutamat astrositler içinde glutamine dönüştürülmektedir. Astrosit kaynaklı glutamin daha sonra nöronlar içinde glutamat veya GABA sentezi için bir öncü olarak kullanılmaktadır. Glutamaterjik (uyarıcı) ve GABAerjik (baskılayıcı) sinyalleşmede meydana gelen bir dengesizliğin epilepsi patolojinde rol oynadığı bilinmektedir. Daha önce yapılan çalışmalardan elde edilen veriler TMS'nin kortikal uyarılabilirlikte neden olduğu değişikliklerde, glutamat ve glutamin arasındaki dengenin rol oynadığını göstermektedir (8). Bir nöbet modelinde, manyetik alan uygulamasına bağlı olarak glutamat seviyelerinde önemli bir artış ve GABA seviyelerinde azalma olduğu tespit edilmiştir (80). Bu bağlamda, TMS'nin etki mekanizmasına GABA ve glutamat nörotransmiterlerinin katkıda bulunabileceği önerilebilir. 2020 yılında yapılan bir çalışmada yüksek frekanslı rTMS uygulamasının korteksteki GABA-erjik sisteme etkisi incelenmiştir. Müdahale sonrasında GABA konsantrasyonunun arttığı bildirilmiştir (75). Buna dayanarak,

uyarıcı ve baskılayıcı dengenin bozulduğu epilepside rTMS'nin uyarılabilirliği azaltarak hastalığın klinik seyrini iyileştirebileceği söylenebilir. Manyetik alan uygulamasının sıçanların hipokampal bölgedeki etkisini araştırmak amacıyla yapılan bir çalışmada uzun vadeli potansiyel (Long Term Potentiation; LTP) uyarılmasının arttığı tespit edilmiştir (81). Buna dayanarak, TMS uygulamasının epilepside uyarılmayı düzenleyebileceği düşünülebilir. Yapılan bir çalışmada, LTP'nin glutamat reseptörlerinden etkilendiği gösterilmiştir (82). Buna göre, LTP'de meydana gelen değişimlerde glutamatın hedeflenebileceği söylenebilir. Bununla birlikte, elektrik stimülasyonu ile nöbet kontrolünün hücresel temelini inceleyen çalışmalara kıyasla manyetik alanla ilgili çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. Literatürdeki veriler TMS uygulamasının epilepsi mekanizması üzerinde etkili olduğunu göstermektedir. Ancak TMS uygulamasının moleküler/hücresel etki mekanizması henüz bilinmemektedir. Bu mekanizmanın aydınlatılması ilaca dirençli epilepsi hastalarında daha etkili tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi, bu yöntemlerin optimizasyonu ve olası yan etkilerin en aza indirilmesi açısından önem taşımaktadır.

### 3.9. Helmholtz Bobinleri

Aynı merkez doğrultusundan geçen ve birbirine paralel iki dairesel bobinin elektriksel olarak seri bağlanmasıyla oluşan düzeneğe "Helmholtz düzeneği" ve bu bobinlere "Helmholtz bobini" denmektedir. İki bobinde aynı yarıçapa (R) ve aynı sarım sayısına (N) sahipken iki bobin arasındaki mesafe de bir yarıçap (R) uzunluğundadır. Düzgün dairesel bir bobinin merkez ekseni (simetri ekseni) üzerinden, merkeze x-uzaklığındaki bir noktada oluşan manyetik alanın büyüklüğünü hesaplamak için Biot-Savart yasası kullanılır.

$$B=\frac{\mu_{0\times I\times R^2\times N}}{2\times(R^2+X^2)^{3/2}}$$

Burada,

N: Bobinin sarım sayısı,

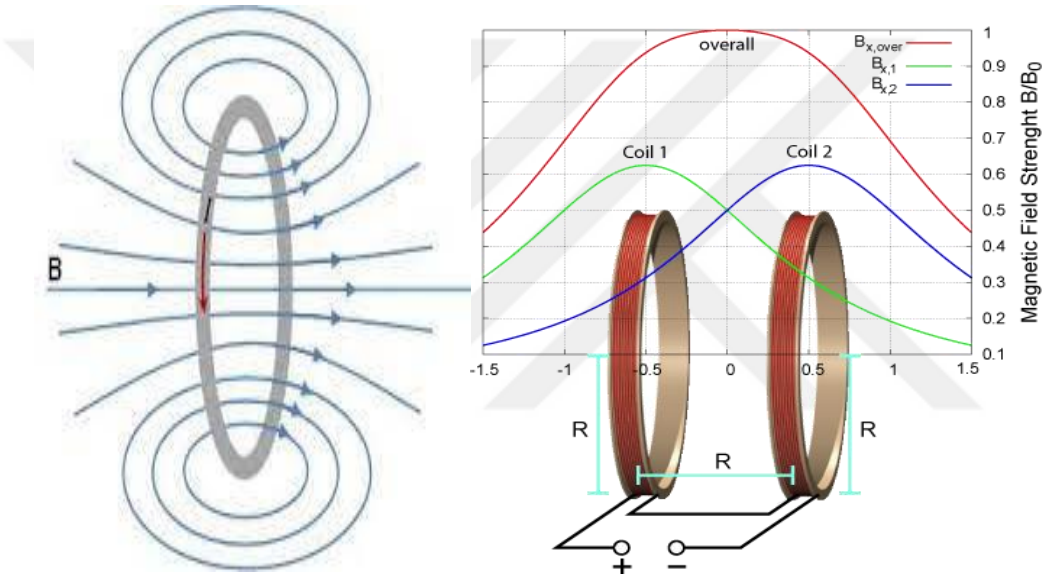
R: Bobinin yarıçapı,

I: Bobinden geçen elektrik akımının büyüklüğü,

X: Simetri ekseni üzerinde bobin merkezinden uzaklık,

$\mu_0$: Manyetik alan sabiti ($\mu_0$=1.26×$10^{-6}$ $\frac{Vs}{Am}$ )

Biot-Savart yasasına göre, üzerinden akım geçen dairesel bir iletkenin simetri ekseni (merkez ekseni) boyunca oluşturacağı manyetik alanın büyüklüğü, bu alanı oluşturan elektrik akımının büyüklüğü ile hesaplanabilir. Akım taşıyan dairesel iletken bir telin merkez eksen üzerinde herhangi bir x-noktasında oluşan manyetik alanın büyüklüğü (B), iletkeni oluşturan her bir parçanın o noktada oluşturacağı manyetik alanların toplamı (superposition) ile hesaplanır.




**(a)** **(b)**

**Şekil 10.** Dairesel bir iletken üzerinden geçen akımın oluşturduğu manyetik alan çizgileri (a) ile merkez eksen üzerinden geçen Helmholtz bobinleri (b) (83)

Süperpozisyon ilkesine göre, bobinlerin ürettiği toplam manyetik alan, her bir bobinin manyetik alanlarının toplamına eşittir. Maksimum manyetik alan büyüklüğü, Şekil (1b)'de gösterildiği gibi, iki bobin arasındaki mesafenin orta noktasındadır.

Birim olarak, manyetik alanın büyüklüğü (şiddeti) Tesla (T) veya Gauss (G) olarak tanımlanır. 1T=1N/m.A olup, 1T=$10^{+4}$ G olarak verilir.

# 4. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Deneysel epilepsi modelini oluşturmak için Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Uygulama ve Araştırma Merkezinden (DÜSAM) 270-377 g aralığında 16 haftalık toplamda 40 adet erişkin erkek Wistar- albino sıçan temini yapılmıştır.

Sıçanlar kontrollü sıcaklıklarda (22 °C ± 2 °C) kafeslere yerleştirilmiş; su ve yiyeceklere serbestçe erişmeleri sağlanıp 12 saatlik aydınlık-karanlık çevriminde tutulmuşlardır. İşaretlenen hayvanların her hafta düzenli kilo ağırlıkları kontrol edilip, verilen ilaç miktarı belirlenen ağırlıklarına göre verilmiştir.

Hayvanlar, Ulusal Sağlık Enstitüsü (National Institutes of Health (NIH)) Hayvan Bakımı ve Kullanım Kılavuzuna göre opere edilmiştir. Sıçanlar üzerindeki tüm işlemler Dicle Üniversitesi Hayvan Etiği Komitesi tarafından onaylanmıştır (etik kurul karar numarası: 2020/38). Ayrıca, tüm operasyonlar ve işlemler ketamin ve ksilazin kullanılarak anestezi altında yapılmış ve acıyı en aza indirmek için büyük çaba gösterilmiştir.

### 4.1. Kullanılan Kimyasal ve Sarf Malzemeler

* Helmhotz Bobinleri

* Sinyal jeneratörü

* Amplifikatör

* Osiloskop

* Faraday kafesi

* Pleksiglas kafes

* İnsülin iğnesi

* 25 ml falcon tüp

* Serum Fizyolojik

* 20 cc enjektör

* %10 Formaldehit solusyonu (3 L)

* Pentilentetrazol (PTZ)

* Keppra 500 mg (Levetirasetam) film tablet

* Hassas terazi

* Manyetik Alan Ölçer

### 4.2. Çalışma Gruplarının Oluşturulması

270-377 g ağırlığı aralığında 16 haftalık toplamda 40 adet erişkin erkek Wistar- albino sıçanlar randomize olarak 5 gruba ayrılmıştır. 5 farklı gruba (kontrol grubu, epilepsi grubu, pozitif kontrol grubu (PK), epilepsi+manyetik alan grubu ve manyetik alan (MA) grubu) ayrıldıktan sonra, önce MA uygulanmayan ve epilepsi oluşturulmayan grupta BK kanalının normal değerleri belirlenecektir. Sonrasında sadece epilepsi oluşturulan grupta BK kanallarının hipokampüs ve pons dokularında immünohistokimyasal ve protein açısından ifadesinin nasıl değiştiği tayin edilecektir. Her iki grubun kontrol olarak belirlenmesi sonrasında, üçüncü ve en önemli grup olarak epilepsi oluşturulmuş hayvanlara pulslu manyetik alan uygulanarak sonrasında ilgili dokularda BK kanallarının ifadesi araştırılacaktır. Sonuç olarak, müdahale edilmemiş "kontrol grubu", "epilepsi oluşturulmuş grup" ve "epilepsi oluşturulmuş ve manyetik alan uygulanmış" grup arasında aynı referans noktasında BK kanalları açısından bir kıyaslama yapılacaktır. Epilepsi modeli pentilentetrazol tutuşma modeli kullanılarak oluşturulacaktır. Deney hayvanlarından elde edilen hipokampüs ve pons dokularında BK kanalları ekspresyonel ifadesi belirlenecektir.

Çalışma grupları:

1. Kontrol grubu (n=8)
2. PTZ uygulama grubu (n=8)
3. Pozitif kontrol grubu (n=8)
4. Manyetik alan uygulama grubu (n=8)
5. PTZ + manyetik alan uygulama grubu (n=8)

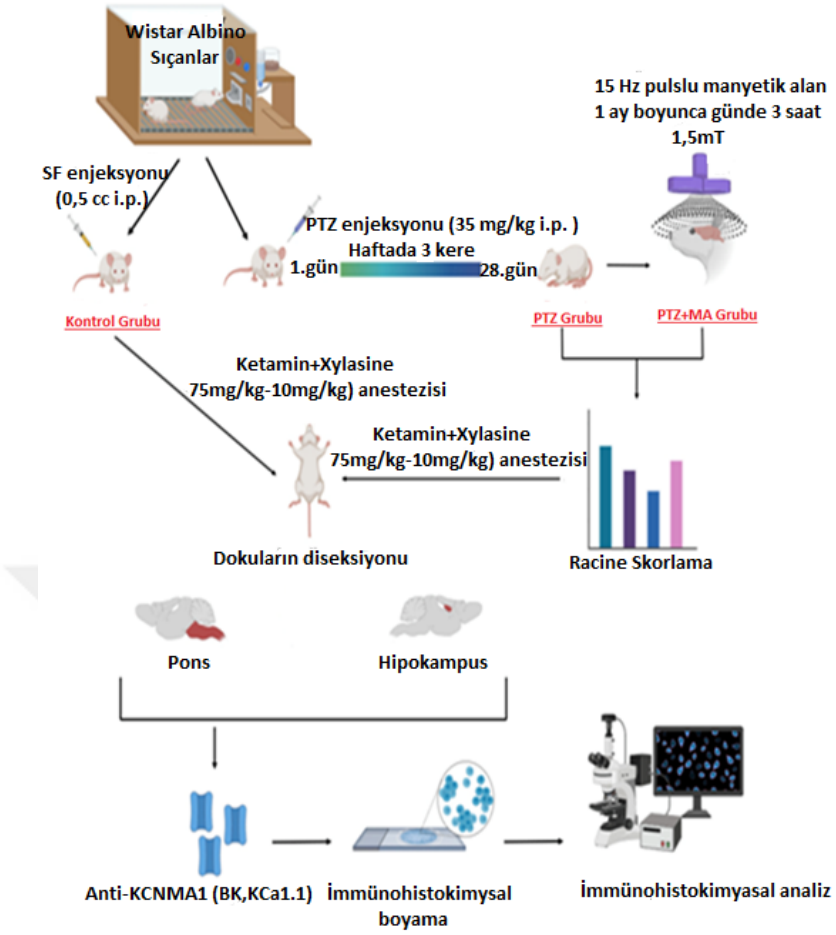
**1. Grup (Kontrol grubu):** Kontrol grubu sıçanlara 1 ay boyunca 2 günde bir 0,5 cc serum fizyolojik intraperitoneal (i.p.) olarak verilmiştir.

**2. Grup (PTZ uygulama grubu):** Epilepsi grubu sıçanlara 1 ay boyunca 2 günde bir 35 mg/kg pentilentetrazol (PTZ) i.p. olarak verilerek kronik epilepsi oluşturulmuştur.

**3. Grup (Pozitif Kontrol (PK) grubu):** Kronik epilepsi oluşturmak için verilen PTZ ajanından önce etken maddesi Levetirasetam olan Keppra (UCB Pharma A.Ş.) isimli antiepileptik ilacın verilmesiyle oluşturulan gruptur. Sıçanlara 1 ay boyunca 2 günde bir 35 mg/kg PTZ i.p. olarak verilmeden 20 dakika önce 108 mg/kg levetirasetam i.p. olarak verilmiştir.

**4. Grup (MA grubu):** Bu grupta bulunan sıçanlara 1 ay boyunca 2 günde bir 0,5 cc serum fizyolojik i.p. olarak verilmesinin yanı sıra her gün Helmholtz bobininden elde edilen ortalama 1,5 mT şiddetindeki pulslu manyetik alana (puls süresi: 30 ms, iki puls arası süre: 40 ms, Dalganın genliği: 7V), sıçanlar günde 3 saat 1 ay boyunca Faraday kafesi (130 cm×81 cm×65 cm) içerisinde maruz kalmışlardır.

**5. Grup (PTZ+MA grubu):** Bu gruptaki sıçanlara 1 ay boyunca 2 günde bir 35 mg/kg PTZ i.p. olarak verilmesinin yanı sıra hergün Helmholtz bobininden elde edilen ortalama 1,5 mT şiddetindeki pulslu manyetik alana sıçanlar günde 3 saat 1 ay boyunca Faraday kafesi (130 cm×81 cm× 65 cm) içerisinde maruz kalmışlardır.




**Şekil 11.** Çalışmayı özetleyen diyagram

### 4.3. Deney Düzeneğinin Kurulması

15 Hz frekans ile dalga moduna ayarlanan sinyal jeneratörünün çıkış voltaj değeri 20 V ve maksimum akım değerinin ise 0,4 A olduğu cihazın kitapçığında belirtilmektedir. Sinyal jeneratörünün çıkış gücünü hesapladığımızda;

$$P = v \times I$$

$$P_{sinjaljeneratörü} = 20 \times 0{,}4$$

$$P_{sinjaljeneratörü} = 8 \text{ Watt}$$

Sinyal jeneratörümüzden çıkan 8 Watt gücündeki zayıf sinyali güçlendirmek içinbir amplifikatöre ihtiyaç duyulmuştur. Amplifikatörümüz sinyalin fazını ve dalga şeklini değiştirmeden genliğini değiştirdiği için sinyalin değişmesine veya bozulmasına neden olmadan sinyali güçlendirmektedir. Bu sebeple sinyal

jeneratörünün çıkışına 1000 W gücünde bir amplifikatör eklenmiştir. Amplifikatör ile güçlendirdiğimiz sinyali pulsatif manyetik alan oluşturmak üzere çapı 42 cm aralarındaki mesafe 21 cm olan 225 sarımlı Helmholtz bobinin giriş uçlarına uyguladık. Oluşan manyetik alan değerinin, bobinin arasında bulunan plexiglass (40 cm×40 cm×15 cm) kafesin 20 farklı noktasından iki farklı teslametre ile ölçüm alındı. Alınan ölçümlerde ortalama manyetik alan şiddetini 1,5 mT olarak saptadık.



**Resim 1.** Faraday kafesi içerisindeki sıçanlara pulslu manyetik alan uygulaması



**Resim 2.** Helmholtz bobininden elde ettiğimiz manyetik alan büyüklüğü

### 4.3.1. Sinyal Jeneratörü

Sinyal jeneratöründen önce alternatif akım (AC) ile ilgili bilgi vermek daha doğru olacaktır. AC sinyali incelediğimizde sinyalin genliği ve frekansı dediğimiz iki kavramla karşılaşırız. Bir sinyalin genliği, iki tepe noktası arasındaki mesafe ölçülerek hesaplanır. Frekans, AC sinyallerinin önemli bir parametresidir. Frekans ve periyod kavramları doğrudan bağlantılıdır.

Bir sinyalin bir saniyede tekrarlanma sayısına sinyalin frekansı denir. Kendini bir kez tekrar etmesi için geçen süre ise periyod olarak isimlendirilir. Yani frekans ve periyod birbirinin tersidir. Sinyalin periyodu T=1/f formülü kullanılarak hesaplanabilir.

Sinyal jeneratörü; sinüzoidal, kare, üçgen veya rasgele dalga biçimlerinde periyodik sinyaller üretebilen, ürettiği sinyalin genliği, frekansı ve faz farkı gibi özelliklerinin ayarlanmasına olanak sağlayan cihazlardır.




**Resim 3.** Leader Marka sinyal jeneratörü (LFG-1300 S)

### 4.3.2. Amplifikatör

Amplifikatör, bir sinyalin voltajını, akımını veya gücünü artıran elektronik bir cihazdır. Fazını ve dalga biçimini değiştirmeden sinyalin genliğini değiştirir. Yani, bilgiyi değiştirmeden veya bozmadan sinyali güçlendirir.

Güç amplifikasyonunda iki önemli özellik vardır. Bunlar çıkış gücü ve verimliliktir. Güç çıkış watt veya kilowatt cinsinden ölçülür. Verimlilik, bir sinyalin çıkış gücünün toplam giriş gücüne (güç kaynağı veya bataryadan çekilen güç)

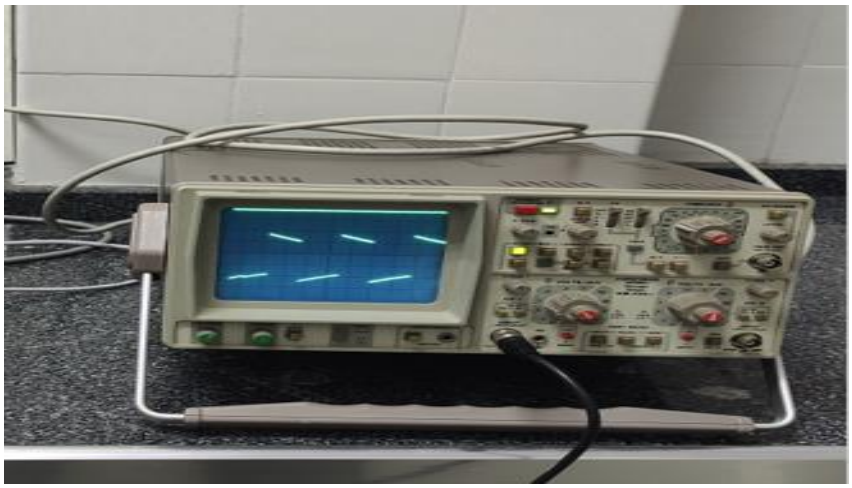
oranıdır. Bu değer her zaman 1'den daha küçüktür ve genellikle yüzde olarak ifade edilir.



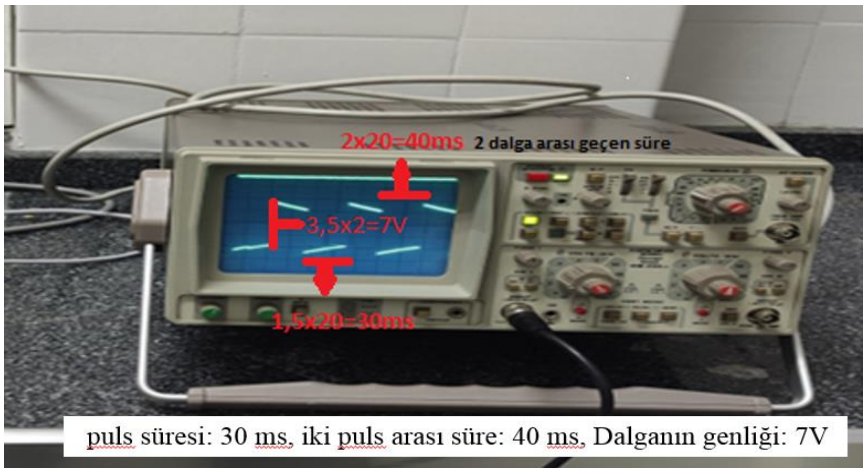

**Resim 4.** Pioneer Marka Amplifikatör (GM-A6704 (1000 W))

### 4.3.3. Osiloskop

Osiloskoplar, kanallarına uygulanan elektrik sinyallerini zaman ve genlik şeklinde ekranında grafiksel olarak görüntüleyebilen cihazlardır. Bir başka değişle; devre veya sistemdeki sinyalleri analiz etmek için kullanılan temel ölçüm cihazlarıdır. Sinyalin dalga biçiminden elde edilen bilgiler, zamanla değişen akım şekli veya genliğidir. Akım ve gerilim değerlerinin değişimesi ile genliğin zamana bağlı grafiksel olarak gösterip ve bu grafiklerden sinyalin darbe ve boşluk süreleri, genliği, frekansı ve periyod bilgilerini elde etmemize olanak sağlarlar.



**Resim 5.** HAMEG Marka Osiloskop (HM205-3)




**Resim 6.** Sinyal jeneratöründe oluşturulan dalganın özellikleri

### 4.4. Pentilentetrazol (PTZ) Tutuşma Modeli

Antiepileptik ilaç geliştirmek ve epilepsinin mekanizmasını araştırmak için yapılan çalışmalarda en fazla kullanılan kimyasal madde, pentilentetrazol'dür. Tetrazol'ün bir türevi olan PTZ, sıçanlarda konvulsan etki göstermektedir. Sistematik olarak verildiğinde jeneralize nöbetlere yol açan PTZ, ilk olarak miyoklonik kasılmalara yol açar, sonrasında ise jeneralize tonik klonik nöbetleri oluşturur (84).

Epilepsinin çok önemli bir modeli olan kindling (tutuşma) modeline göre, hayvanlara tekrarlayarak verilen kimyasal uyaran, lokal dokuda elektro-fizyolojik değişmelere sebep olmaktadır. Buna göre, tekrarlayan yüksek frekanslı uyaranlarla uyarılma şiddetlenir ve beyin dalgaları zamanla şiddetlenen epileptiform aktiviteye dönüşür. Tekrarlanan uyarıcı kimyasalın verilme süresi 1 dakikadan 2 güne kadar değişmektedir. Bu modele göre, ilk nöbeti başlatan uyarandan aylar sonra bile verilecek daha düşük bir uyarıcı miktarı, şiddetli bir nöbet başlatabilmektedir. Hayvanlarda amigdallenin tekrarlayan uyaranlarla uyarılması sonucu meydana getirilen tutuşma; EEG yapısı, davranış ve ilaçlara verilen yanıt bakımından insanda görülen psikomotor epilepsiye oldukça benzemektedirler. Yani sıçanda amigdallenın ve hipokampüsün uyarılmasıyla oluşturulan tutuşma nöbetlerinin 1. ve 2. kısımlarında görülen davranış biçimi insandaki temporal lob epilepsisiyle tıpatıp aynıdır. Bu nedenle çalışmada PTZ tutuşma modeli kullanılmıştır.

Tutuşma modelinin sıçanlara uygulandığında en kolay tutuşan beyin bölgeleri; bulbus olfaktorius, piriform korteks, amigdalle. Epileptik cevap oluşturmada en düşük eşikli bölge ise hipokampüstür. Amigdal ve periform korteksin motor sistemleriyle olan kuvvetli ilişkisi bu bölgelerde tutuşmaların kolay olmasına sebep olabilir. Eğer tutuşturma iki ayrı bölgeye uyaran verilerek yapılırsa, bölgelerden birisi baskın hale gelerek konvulsiyonları başlatır diğeri ise baskılanır ancak yine de kısmi bir tutuşma etkisi gösterir (84).

Tutuşmuş beyinde;

* Beyin fonksiyonları değişir ve meydana gelen c-Fos aktivasyonuna rastlanır.

* Eksitatör sinaptik bağlantılar daha güçlü hale gelir.

* GABA, noradrenalin, tirotropin-serbestletici hormon (TRH) ve adenozin sistemleri tutuşmayı baskılayıcı etki gösterirler.

* Nöronlara klorür girişi azalır.

### 4.4.1. Pentilentetrazol (PTZ) Hazırlanışı ve Uygulaması

Sıçanda kronik epilepsi oluşturmak için; 229 mg PTZ'yi 10 ml serum fizyolojik (SF) ile sulandırıp kilolarına göre (35 mg/kg) belirlenen hacimde iki günde bir i.p. olarak verildi. Sistematik olarak verilen PTZ, öncelikle mezensefalondaki retiküler formasyonun nöronlarını, ikinci aşamada ise beyin korteksindeki nöronları etkilediği tespit edilmiştir. Ayrıca, PTZ sıçan korteksi dilimlerinde glutamik asitin serbestlenmesini arttırmaktadır (85).

**Tablo 1.** Ağırlıklarına göre verilmesi gereken çözelti hacmi

| **229 mg PTZ, 10 ml SF' de çözülür** | |
|---|---|
| **Ağırlık** | **Verilen çözelti hacmi** |
| 170 g ve altındaki rat | 0,2 ml |
| 171-200 g aralığındaki rat | 0,25 ml |
| 201-240 g aralığındaki rat | 0,3 ml |
| 241-280 g aralığındakirat | 0,35 ml |
| 281-320 g aralığındaki rat | 0,4 ml |
| 321-350 g aralığındaki rat | 0,45 ml |
| 351 g ve üstündeki rat | 0,5 ml |

*Gözlem sırasında epilepsi skorlaması beklendiği gibi çıkması durumunda; bir sonraki doz uygulaması, ağırlığına göre tekrar uygulanır.

*Gözlem sırasında epilepsi skorlaması beklenenden daha yüksek çıkması durumunda; bir sonraki doz uygulaması, verilmesi gereken doz miktarını 0,5 dizyem azaltıp uygulanır.

*Gözlem sırasında epilepsi skorlaması beklenenden daha düşük çıkması durumunda; bir sonraki doz uygulaması, verilmesi gereken doz miktarını 0,5 dizyem arttırılıp uygulanır.



**Resim 7.** PTZ'nin i.p. olarak uygulanması

### 4.5. Antiepileptik İlaç Levetirasetam (LEV)

Levetirasetam, erişkin hastalarda parsiyel başlangıçlı, myoklonik, primerjeneralize tonik-klonik nöbetlerin kombine tedavisinde 1999'dan beri kullanılmaktadır. Levetirasetamın etki mekanizması diğer antiepileptik ajanlardan farklıdır, $Na^{+}$ veya $Ca^{+2}$ benzeri antiepileptik ilaçlarla etki etmez. Pirasetamın etil analoğunun Senantiomeri olan levetirasetamın özellikle presinaptik seviyede sinaptik vezikül proteini SV2A'ya kendine özgü olarak bağlandığı ve bu proteinin $Ca^{+2}$ bağımlı ekzositoz işlevini düzenlediği bildirimiştir. Antiepileptik ilaçlar genel olarak iki gruba ayrılır: GABAerjik ilaçlar (gamma amino butirik asit) ve anti glutamaterjik ilaçlar. Ancak LEV tipi ilaçların farklı etki mekanizmaları vardır. LEV, bir S-enantiomer pirolidon türevidir ve kimyasal olarak pirasetama benzer. Uyarıcı veya engelleyici nörotransmitterlerin reseptörlerine bağlanmaz. LEV' nin nörona özgü yüksek voltajlı $Ca^{+2}$ kanalları yoluyla $Ca^{+2}$ akımını inhibe ettiği ve GABA ve glisin kapılı akımlarını tersine çevirdiği bildirilmiştir. T-tipi $Na^{+}$ veya $Ca^{+2}$ kanallarına etkisi yoktur fakat etki mekanizması halen net olarak anlaşılamamıştır. Epilepsiye tedavisinde kullanılmasının yanı sıra; anksiyete bozuklukları, distoni ve levadopa ile nöroleptik ilaç kullanımından kaynaklanan tardiv diskinezi' nin tedavisinde de kullanılabilmektedir. Yaygın olarak kullanılan LEV, farmakokinetik özelliklerine sahip olması, düşük ilaç-ilaç etkileşimlerine yol açması ve düşük hepatik metabolizması nedeniyle güvenilir bir ilaç profili oluşturmaktadır.

### 4.5.1. Antiepileptik İlaç Levetirasetam (LEV) Hazırlanışı ve Uygulaması

Sıçanda epileptik nöbetleri önlemek için; 500 mg Levetirasetam (LEV) etken maddeli ilaçtan 1 adet tableti ezip 5 ml SF ile sulandırdıktan sonra 3. Grup (PK)'da bulunan sıçanların kilolarına göre (108 mg/kg) belirlenen hacimde PTZ enjeksiynonun dan 20 dk önce i.p. olarak verilmiştir.




**Resim 8.** Levetirasetam etken meddeli ilaç

### 4.6. Racine Skorlama Sistemi

Racine skorlama (RS) kemirgen deneysel epilepsi modellerinde nöbet yoğunluğunu değerlendirmek için en sık kullanılan araçlardan biridir. Nöbetlerin beş aşamasını kategorize eden RS, "ağız ve yüz hareketleri" (evre 1) de dâhil olmak üzere bir nöbet sırasında hayvanların davranışsal repertuarına dayanır; "hayvanın başını sallaması" (evre 2); "hayvanın ön ayaklarını kaldırması hareketi" (evre 3); klonik nöbetler (4. evre) ve tonik klonik nöbetler (evre 5) olarak tanımlanmıştır. Postüral kontrol kaybıyla birlikte tam bir motor nöbeti, evre 5 motor nöbeti olarak adlandırılacaktır (71). Böylece Racine'in düzenlenmiş skorlama yönteminin davranışsal analize yardımcı olduğu öngörülmektedir.

**Düzenlenmiş RS sistemi**

0 = TEPKİSİZ

1 = DONUP KALMA

2 = BAŞ SALLAMA, SEĞİRME

3 = YÜZ, AĞIZ NÖBETİ

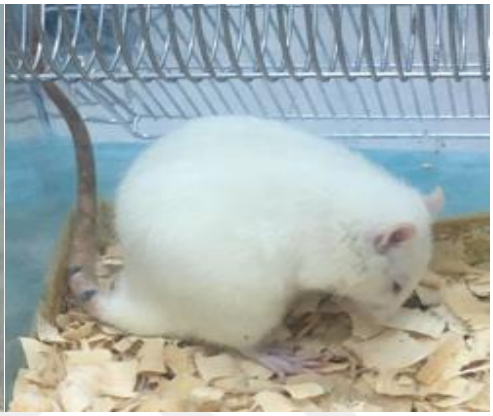
4 = KLONİK (Ardarda gelen nöbet)

5 = TONİK (Kuvvetli nöbet)

6 = ÖLÜM



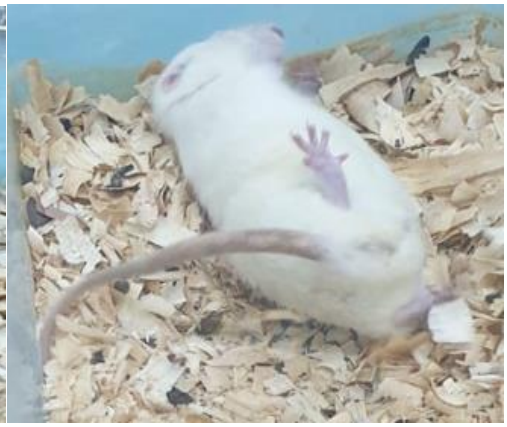
**Resim 9.** Evre 1



**Resim 10.** Evre 2



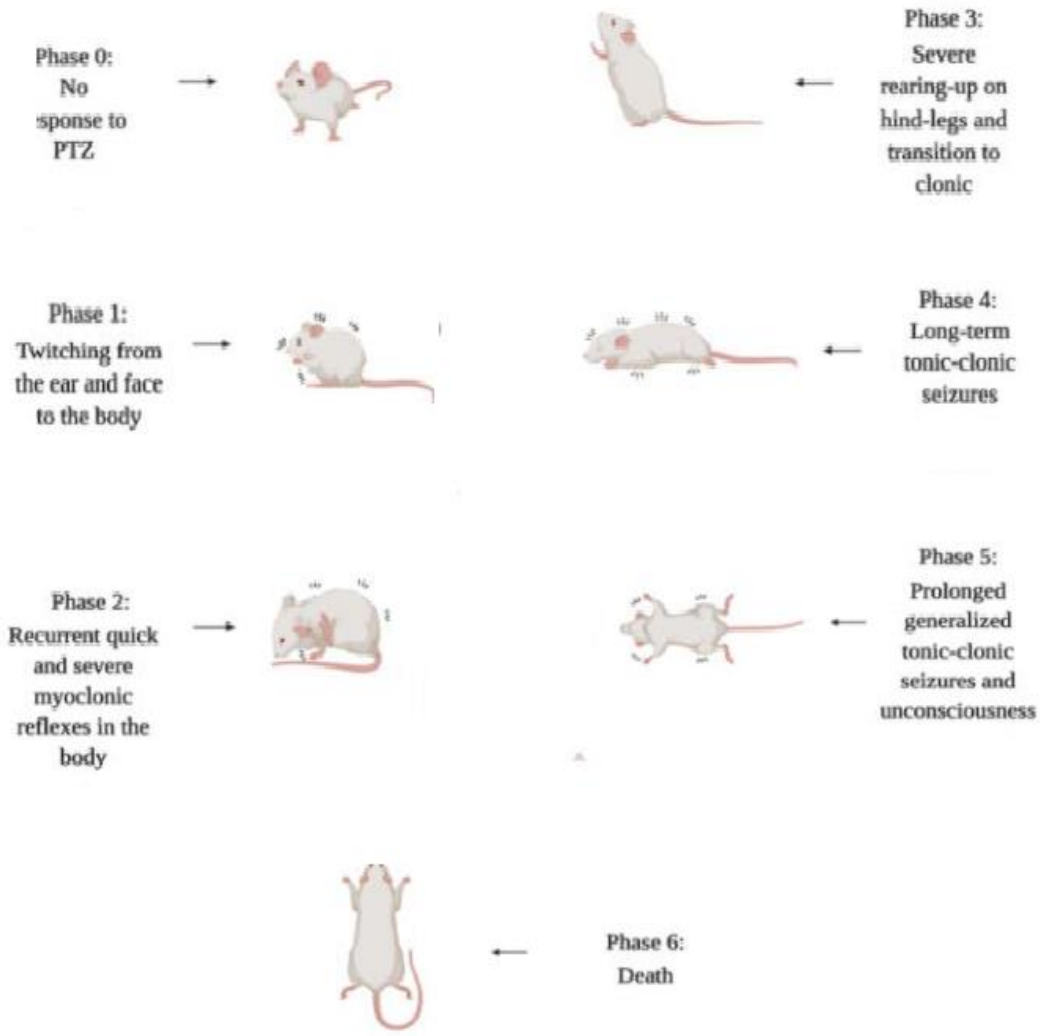
**Resim** 11. Evre 3



**Resim 12.** Evre 4



**Resim 13.** Evre 5




**Şekil 12.** RS sistemi (86)

### 4.7. Nöbet latensi

Hayvanlardaki nöbet başlama anına kadarki süreç (enjeksiyon hemen sonrası) kronometreyle kaydedilerek, nöbet latensi belirlenip ek veri olarak çalışmada sunulmuştur.

### 4.8. Gözlem

2. Grupta (PTZ uygulama), 3.Grupta (PK) ve 5. Grupta (PTZ+MA uygulama) bulunan sıçanlara PTZ tutuşma modeline göre, i.p. olarak 2 günde bir PTZ kimyasalı uygulanmıştır. İşaretlenen hayvanların her hafta düzenli olarak ağırlıkları kontrol edilmiştir. İlaç miktarı sıçanın ağırlığına uygun olarak verilmiştir. Her enjeksiyondan sonra sıçanlar izole edilmiş şeffaf bir Pleksiglas kafese tek başlarına yerleştirilerek otuz dakikalık süre boyunca hareketleri videoya alınarak kaydedilmiştir. Sıçanların epilepsi seviyesi RS sistemine göre belirlenip, nöbetin latens süresi analiz edilmiştir.



**Resim 14.** Gözlem içinİzole edilmiş şeffaf bir Pleksiglas kafesine yerleştirilen sıçan

#### 4.8.1. Isı-nem ve ağırlık takibi

Sıçanlar kontrollü sıcaklıklarda (22 °C ± 2 °C) kafeslere yerleştirilmiş; su ve yiyeceklere serbestçe erişmeleri sağlanıp 12 saatlik aydınlık-karanlık çevriminde tutulmuşlardır. İşaretlenen hayvanların her hafta düzenli kilo ağırlıkları kontrol edilip, verilen ilaç miktarı belirlenen ağırlıklarına göre verilmiştir.

**Tablo 2.** Sıçanların haftalara göre ağırlık (gram) tablosu

| TARİH | 1.Grup(Kontrol) sıçan ağırlıkları | | 2.Grup(PTZ) sıçan ağırlıkları | | 3.Grup(PK) sıçan ağırlıkları | | 4.Grup(MA) sıçan ağırlıkları | | 5.Grup(PTZ+MA) sıçan ağırlıkları | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **24.01.2022** | **1.rat** | **270** | 1.rat | 342 | **1.rat** | **377** | 1.rat | 274 | **1.rat** | **311** |
| | **2.rat** | **306** | 2.rat | 354 | **2.rat** | **323** | 2.rat | 335 | **2.rat** | **380** |
| | **3.rat** | **275** | 3.rat | 348 | **3.rat** | **274** | 3.rat | 346 | **3.rat** | **335** |
| | **4.rat** | **314** | 4.rat | 347 | **4.rat** | **359** | 4.rat | 277 | **4.rat** | **305** |
| | **5.rat** | **295** | 5.rat | 303 | **5.rat** | **340** | 5.rat | 296 | **5.rat** | **385** |
| | **6.rat** | **289** | 6.rat | 350 | **6.rat** | **276** | 6.rat | 306 | **6.rat** | **312** |
| | **7.rat** | **322** | 7.rat | 313 | **7.rat** | **280** | 7.rat | 296 | **7.rat** | **360** |
| | **8.rat** | **300** | 8.rat | 369 | **8.rat** | **322** | 8.rat | 340 | **8.rat** | **321** |
| **31.01.2022** | 1.rat | 278 | **1.rat** | **340** | 1.rat | 378 | **1.rat** | **295** | 1.rat | 310 |
| | 2.rat | 315 | **2.rat** | **360** | 2.rat | 323 | **2.rat** | **347** | 2.rat | 380 |
| | 3.rat | 281 | **3.rat** | **320** | 3.rat | 270 | **3.rat** | **361** | 3.rat | 335 |
| | 4.rat | 325 | **4.rat** | **337** | 4.rat | 350 | **4.rat** | **293** | 4.rat | 305 |
| | 5.rat | 308 | **5.rat** | **300** | 5.rat | 340 | **5.rat** | **300** | 5.rat | 384 |
| | 6.rat | 292 | **6.rat** | **360** | 6.rat | 280 | **6.rat** | **319** | 6.rat | 321 |
| | 7.rat | 331 | **7.rat** | **307** | 7.rat | 287 | **7.rat** | **305** | 7.rat | 370 |
| | 8.rat | 311 | **8.rat** | **369** | 8.rat | 320 | **8.rat** | **351** | 8.rat | 330 |
| **07.02.2022** | **1.rat** | **285** | 1.rat | 345 | **1.rat** | **375** | 1.rat | 301 | **1.rat** | **252** |
| | **2.rat** | **333** | 2.rat | 355 | **2.rat** | **322** | 2.rat | 352 | **2.rat** | **379** |
| | **3.rat** | **297** | 3.rat | 327 | **3.rat** | **274** | 3.rat | 378 | **3.rat** | **337** |
| | **4.rat** | **339** | 4.rat | 268 | **4.rat** | **350** | 4.rat | 308 | **4.rat** | **301** |

| | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | **5.rat** | **317** | 5.rat | 300 | **5.rat** | **320** | 5.rat | 309 | **5.rat** | **380** |
| | **6.rat** | **301** | 6.rat | 351 | **6.rat** | **380** | 6.rat | 332 | **6.rat** | **325** |
| | **7.rat** | **343** | 7.rat | 310 | **7.rat** | **296** | 7.rat | 319 | **7.rat** | **357** |
| | **8.rat** | **322** | 8.rat | 368 | 8.rat | 325 | **8.rat** | **367** | **8.rat** | **316** |
| **14.02.2022** | 1.rat | 288 | **1.rat** | **352** | 1.rat | 375 | **1.rat** | **307** | 1.rat | 258 |
| | 2.rat | 340 | **2.rat** | **353** | 2.rat | 325 | **2.rat** | **358** | 2.rat | 390 |
| | 3.rat | 300 | **3.rat** | **335** | 3.rat | 275 | **3.rat** | **390** | 3.rat | 317 |
| | 4.rat | 351 | **4.rat** | **345** | 4.rat | 358 | **4.rat** | **315** | 4.rat | 304 |
| | 5.rat | 324 | **5.rat** | **305** | 5.rat | 330 | **5.rat** | **316** | 5.rat | 380 |
| | 6.rat | 310 | **6.rat** | **364** | 6.rat | 275 | **6.rat** | **345** | 6.rat | 328 |
| | 7.rat | 355 | **7.rat** | **309** | 7.rat | 298 | **7.rat** | **329** | 7.rat | 364 |
| | 8.rat | 330 | **8.rat** | **370** | 8.rat | 327 | **8.rat** | **376** | 8.rat | 312 |
| **20.02.2022** | 1.rat | 308 | **1.rat** | **345** | 1.rat | 371 | **1.rat** | **313** | 1.rat | 297 |
| | 2.rat | 351 | **2.rat** | **346** | 2.rat | 358 | **2.rat** | **365** | 2.rat | 375 |
| | 3.rat | 312 | **3.rat** | **335** | 3.rat | 266 | **3.rat** | **383** | 3.rat | 310 |
| | 4.rat | 370 | **4.rat** | **352** | 4.rat | 360 | **4.rat** | **316** | 4.rat | 291 |
| | 5.rat | 342 | **5.rat** | **301** | 5.rat | 318 | **5.rat** | **317** | 5.rat | 374 |
| | 6.rat | 326 | **6.rat** | **364** | 6.rat | 266 | **6.rat** | **354** | 6.rat | 280 |
| | 7.rat | 371 | **7.rat** | **316** | 7.rat | 292 | **7.rat** | **339** | 7.rat | 363 |
| | 8.rat | 343 | **8.rat** | **362** | 8.rat | 298 | **8.rat** | **396** | 8.rat | 319 |

### 4.9. Anestezi ve Girişimsel İşlem

Bir ayın sonunda gruptaki tüm hayvanlara Ketamin+Xylasine (sırasıyla 75mg/kg-10mg/kg) anestezisi uygulanmıştır. Hayvanlar anestezi altındayken

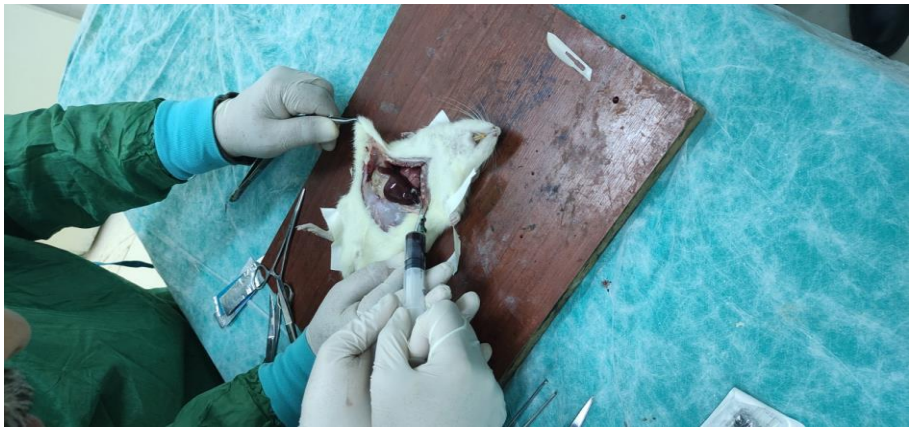
ekssanguinasyon (kansızlaştırma) yöntemiyle sakrifiye edilip ardından hipokampus ve pons dokuları dışarı çıkarılmıştır. Dışarı çıkartılan dokular, BK kanal analizi için işleme tabii tutulmuştur.



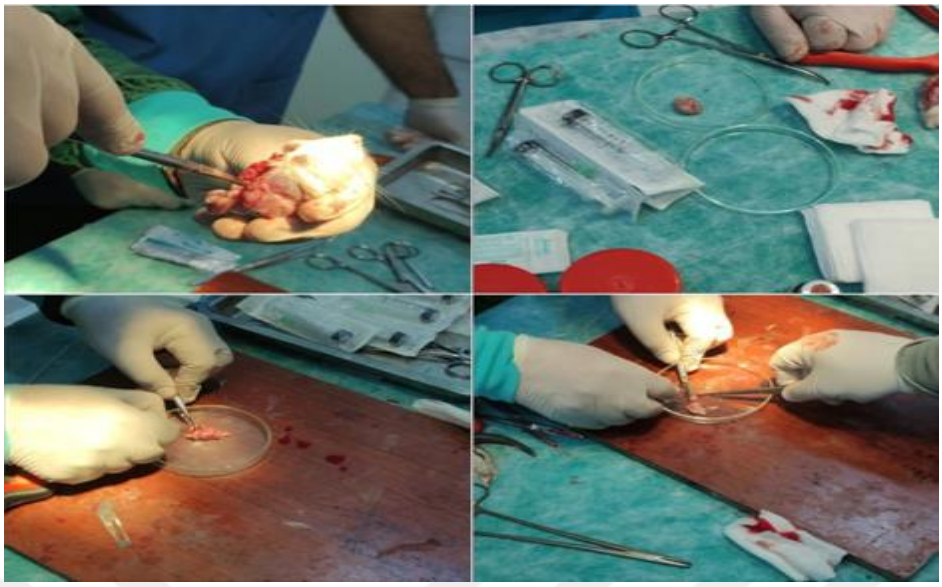

**Resim 15.** Anestezi için kullanılan Ketamin ve Xylasine etken maddeli ilaçlar



**Resim 16.** Ketamin ve Xylasine anestezisi uygulanışı



**Resim 17.** Sıçanların anestezi altındayken ekssanguinasyon (kansızlaştırma) yöntemiyle sakrifiye edilmesi



**Resim 18.** Hipokampüs ve pons dokularının dışarı çıkarılışı

### 4. 10. Histolojik Analiz

%10'luk formaldehit fiksasyonu sonrasında hipokampus ve pons örnekleri artan alkol serilerinden (%70, %80, %96 ve %100) geçirildikten sonra ksilende şeffaflaştırıldı ve parafine gömüldü. 5 $\mu$m olarak alınan kesitler hematoksilen eosin boyama için normal lamlara alınırken immünohistokimyasal boyama için pozitif şarjlı lamlara alındı (87). Işık mikroskobu altında farklı büyütmelerde incelendi. Beyin kesitlerinde, hipokampustan geçen koronal kesitler ve frontal serebral korteks değerlendirildi. Beyin ve pons kesitleri, nöronal hasara ilişkin mikroskobik değişiklikler açısından (nöron dejenerasyonunu gösteren piknotik çekirdekli nöron ve dilate kan damarı) değerlendirildi (88, 89). Her kategoride değerlendirilen morfolojik değişiklikler yok 0, hafif 1, orta 2 ve şiddetli 3 olacak şekilde puanlandı. Her bir hayvan için her bir dokudan alınan 6 kesit değerlendirmeye alındı. Histolojik değerlendirmeler çift kör sistemi ile gerçekleştirildi.

### 4.11. İmmünohistokimya Analizi

İşaretleme, hipokampüs ve pons dokusunda BK kanal proteinlerinin ekspresyonunu belirlemek için avidin-biotin-peroksidaz yöntemi uygulanmıştır. 5–6 µm boyutundaki kesitler alınarak gece boyunca 60 °C'de tutulmuştur. Önce ksilen ve daha sonra dereceli alkol serilerinden geçirilerek rehidre edilmiştir. Ardından üç kez 5 dakika boyunca fosfat tamponu (PBS) ile yıkanmıştır. Sonrasında kesitler, antijen

geri kazanımı için %5 sitrat tamponu ile bir mikrodalga fırında 600 W'de 3x5 kez kaynatılıp aynı tampon çözeltisinde 20 dakika süreyle oda sıcaklığında tutulmuştur. Tekrar PBS ile yıkanan kesitler, endojen peroksidaz aktivitesini önlemek için 5 dakika süreyle %3 hidrojen peroksit ($H_2O_2$) ile muamele edilerek sonraki aşamalarda ABC boyama sistemi boyama kiti kullanılmıştır. Tekrar PBS ile yıkanan kesitlerde antijenik alanların dışındaki alanların kapatılmasını sağlamak için oda sıcaklığında 20 dakika blok serum uygulanmıştır. Ardından hemen BK (sıçan monoklonal, 1: 200) birincil antikorlar damlatılmıştır. Ardından bir gece +4°C'de tutularak ertesi gün 20 dakika inkübe edilmiştir. Negatif kontrol olarak, birincil antikor yerine PBS kullanılmıştır. Yıkandıktan sonra kesitler, bir biyotin ikincil antikoru ile 30 dakika süreyle inkübe edilerek sonrasında yıkama tekrarlanmıştır. 30 dakika avidin-biyotin (AB) enzim reaktifi ile işleme tabi tutulan kesitler, 5 dakika süreyle diaminobenzidin (DAB) gösteren kit içindeki peroksidaz substratı ile yıkanarak sonunda deiyonize $H_2O$ ile 5 dakika yıkanmıştır. Ardından Gill'in hematoksileniyle boyanan karşısındaki bölümler deiyonize $H_2O$ ile birkaç kez yıkanmıştır. En son adımda artan alkol serisi ile su uzaklaştırılarak ksilen içinden geçen kısımlar entellan ile kapatılmıştır. Olympus BX51 model ışık mikroskobu altında DP71 dijital kamera ile elde edilen görüntüler Image-J yazılım programındaki ifade farklılıkları açısından değerlendirilmiştir.

### 4.12. Western blot protokolü

Protein hazırlama ve Western blot analizi, 2005 yılında Zhang ve ark. tarafından açıklanan tekniklerde küçük değişiklikler kullanılarak gerçekleştirildi (90). Disekte edilen hipokampüs ve pons örnekleri, tam proteaz inhibitör kokteyli içeren tampon A'ya (150 mM NaCl, 20 mM Tris-HCl [pH 7.4], 2 mM EDTA, %2 sodyum dodesil sülfat (SDS) ve 10 mM 2- merkaptoetanol) yerleştirilerek homojenize edilmiştir. Homojenize edilen numuneler, oda sıcaklığında 15,000 x g'de 10 dakika süreyle santrifüjlenecek ve süpernatanlar toplanmıştır. Proteinler disekte edilen hipokampüs, pons ve kalp dokularından izole edilmiştir. Elektroforezden sonra proteinler, 25 mM Tris, 193 mM glisin ve %10 metanol içeren bir çözelti içinde 4°C'de 90 dakika süreyle 350 mA sabit akımda polivinil diflorür (PVDF) membrana (Bio-Rad) aktarılmıştır. Membran daha sonra oda sıcaklığında ilk olarak %5 yağsız kurutulmuş süt ve %0,1 Tween 20 içeren Tris tamponlu salin ile inkübe

edilmiştir. Sonrasında kemilüminesans etiketlemesi ile tespit edilen sıçan monoklonal BK, KCa1.1 antikorları ile inkübe edilmiştir. Protein yüklemesi, aktin antikoru kullanılarak kontrol edilmiştir. Protein yoğunluğu da dansitometri ile değerlendirilmiştir.

### 4.13. Antikorlar

Anti-KCNMA1 (BK, KCa1.1) (hücre dışı) Antikor (# APC-151), sıçan proteininin bir epitopuna yönelik oldukça spesifik bir antikordur. Antikor, western blot ve immünohistokimya uygulamalarında kullanılmaktadır. Antikor, hücre dışı bir epitopu tanır ve bu nedenle canlı hücrelerdeki kanalı saptamak için idealdir. Sıçan örneklerinden KCNMA1'i tanımak için tasarlanmıştır. c-Fos proteini analizi c-Fos polyclonal antibody (Elabscience katalog no: E-AB-10233) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

### 4.14. İstatistiksel Analiz

Epilepsi skorlama verilerimizin istatistiksel değerlendirmesinde IBM SPSS 21.0 for windows istatistik paket programı kullanıldı. Ölçümsel değişkenler ortalama ± standart sapma (SD), medyan(minimum-maksimum) ile sunuldu. Verilerin normal dağılıma uyup uymadığına Kolmogorov-Smirnov testi ile bakıldı. Normal dağılım göstermeyen; ikiden çok grup arasındaki karşılaştırmada Kruskal Walis Varyans analizi kullanıldı (p=0,005). İkili karşılaştırmalarda ise Bonferoni düzeltmeli Mann Whitney U testi kullanıldı. Hipotezler çift yönlü alınarak, $p \leq 0.05$ ise istatistiksel olarak anlamlı sonuç kabul edildi. Bonferoni düzeltmeli Mann Whitney U testindeki karşılaştırmalarda ($p \leq \frac{0,05}{3} \approx 0,017$) $p \leq 0.017$ (*gruptaki 3 karşılaştırmadan dolayı) istatistiksel olarak anlamlı sonuç kabul edildi. Immunohistokimyasal ve Western-Blott analizleri için, tek yönlü varyans analizi ve Dunnett çoklu karşılaştırma testleri kullanıldı. Histopatolojik değerlendirme için ise İki yönlü varyans analizi ve Sidak'ın çoklu karşılaştırma testi kullanıldı.

# 5. BULGULAR

## 5.1. Epilepsi Skorlama

Epilepsi Racine skorlamasına göre elde edilen skorlara ait veriler Tablo 3, Tablo 4 ve Tablo 5' de verilmiştir. Bonferoni düzeltmeli Mann Whitney U testindeki ikili grup karşılaştırmalarında $p \leq 0.017$ istatistiksel olarak anlamlı sonuç kabul edildi. PTZ grubunu PTZ+MA grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir fark olmadığı (p=0,559) PK ile karşılaştırıldığında ise anlamlı bir fark oluştuğu (p=0,003) görülmektedir. PK ile PTZ+MA grubu karşılaştırıldığında ise anlamlı bir fark oluştuğu (p=0,007) görülmektedir (Tablo 6).

**Tablo 3.** PTZ Grubu RSS'ye göre gözlemin değerlendirilmesi

| **2. KAFES (PTZ GRUBU)** | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **ENJEKSYON** | **I** | **II** | **III** | **IV** | **V** | **VI** | **VII** | **VIII** | **TARİH** |
| **1** | 1 | 1 | 1 | 2 | 2 | 0 | 1 | 1 | 25.01.2022 |
| **2** | 2 | 2 | 3 | 2 | 2 | 2 | 2 | 1 | 27.01.2022 |
| **3** | 2 | 2 | 2 | 3 | 2 | 2 | 2 | 2 | 29.01.2022 |
| **4** | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 31.01.2022 |
| **5** | 3 | 2 | 2 | 2 | 2 | 3 | 2 | 2 | 02.02.2022 |
| **6** | 3 | 2 | 2 | 2 | 3 | 3 | 3 | 2 | 04.02.2022 |
| **7** | 3 | 5 | 2 | 2 | 3 | 3 | 2 | 2 | 07.02.2022 |
| **8** | 4 | 2 | 2 | 3 | 2 | 3 | 3 | 3 | 09.02.2022 |
| **9** | 3 | 3 | 2 | 3 | 2 | 3 | 2 | 3 | 11.02.2022 |
| **10** | 3 | 3 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 14.02.2022 |
| **11** | 3 | 3 | 2 | 3 | 3 | 5 | 4 | 3 | 16.02.2022 |
| **12** | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 4 | 3 | 3 | 18.02.2022 |
| **13** | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 20.02.2022 |

**Tablo 4.** PTZ+Antiepileptik Grubu RSS'ye gözlemin değerlendirilmesi

| **3. KAFES (PK GRUBU)** | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **ENJEKSYON** | **I** | **II** | **III** | **IIII** | **V** | **VI** | **VII** | **VIII** | **TARİH** |
| **1** | 4 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 25.01.2022 |
| **2** | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 4 | 2 | 27.01.2022 |
| **3** | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 29.01.2022 |
| **4** | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 31.01.2022 |
| **5** | 2 | 2 | 2 | 3 | 2 | 2 | 2 | 2 | 02.02.2022 |
| **6** | 2 | 2 | 3 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 04.02.2022 |
| **7** | 2 | 2 | 3 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 07.02.2022 |
| **8** | 2 | 2 | 3 | 2 | 3 | 2 | 3 | 2 | 09.02.2022 |
| **9** | 2 | 2 | 2 | 3 | 3 | 2 | 3 | 2 | 11.02.2022 |
| **10** | 2 | 2 | 3 | 2 | 3 | 3 | 2 | 2 | 14.02.2022 |
| **11** | 2 | 2 | 3 | 2 | 2 | 3 | 2 | 2 | 16.02.2022 |
| **12** | 3 | 2 | 3 | 2 | 3 | 2 | 2 | 2 | 18.02.2022 |
| **13** | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 4 | 20.02.2022 |

**Tablo 5.** PTZ+Manyetik Alan Grubu RSS'ye göre gözlemin değerlendirilmesi

| **5. KAFES (PTZ+MA GRUBU)** | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **ENJEKSYON** | **I** | **II** | **III** | **IIII** | **V** | **VI** | **VII** | **VIII** | **TARİH** |
| **1** | 4 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 25.01.2022 |
| **2** | 3 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 27.01.2022 |
| **3** | 5 | 2 | 4 | 3 | 2 | 2 | 2 | 2 | 29.01.2022 |
| **4** | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 1 | 31.01.2022 |
| **5** | 2 | 3 | 3 | 2 | 2 | 3 | 3 | 2 | 02.02.2022 |
| **6** | 2 | 3 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 04.02.2022 |
| **7** | 2 | 3 | 3 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 07.02.2022 |
| **8** | 2 | 3 | 3 | 2 | 3 | 2 | 3 | 3 | 09.02.2022 |
| **9** | 2 | 3 | 3 | 4 | 3 | 2 | 3 | 2 | 11.02.2022 |
| **10** | 2 | 3 | 3 | 2 | 3 | 2 | 3 | 3 | 14.02.2022 |
| **11** | 2 | 3 | 3 | 3 | 2 | 2 | 3 | 3 | 16.02.2022 |
| **12** | 2 | 3 | 3 | 2 | 2 | 4 | 3 | 3 | 18.02.2022 |
| **13** | 4 | 4 | 4 | 5 | 3 | 4 | 4 | 3 | 20.02.2022 |

**Tablo 6.** Epilepsi skorlama verilerinin istatistiksel değerlendirmesi sonucu elde edilen değerler

| **Gruplar** | **Ortalama ± Standart Sapma** | **Medyan (Min. - Max.)** | **p (İkili Karşılaştırma)** |
|---|---|---|---|
| PTZ | 2,64 ±1,02 | 2,5 (0 – 5) | PTZ - PTZ+MA (0,559) |
| PK | 2,28±0,51 | 2 (2 - 4) | PTZ – PK (0,003) |
| PTZ+MA | 2,54±0,74 | 2 (1 – 5) | PK - PTZ+MA (0,007) |

### 5.2. Epilepsi Latans Süreleri

Epilepsi latans sürelerinden oluşan verilerimizin istatistiksel değerlendirmesinde IBM SPSS 21.0 forwindows istatistik paket programı kullanıldı. Ölçümsel değişkenler ortalama ± standart sapma (SD), medyan (minimum-maksimum) ile kategorik değişkenler sayı ve yüzde (%) ile sunuldu. Verilerin normal

dağılıma uyup uymadığına Kolmogorov-Smirnova testi ile bakıldı. Normal dağılım göstermeyen; ikiden çok grup arasındaki karşılaştırmada Kruskal Walis Varyans analizi kullanıldı (p=0,298). Uygulanan analiz sonucu gruplar arası anlamlı bir fark oluşmadığı gözlemlendi.

**Tablo 7.** PTZ Grubu enjeksiyondan sonra gelen ilk nöbete kadar geçen süre (saniye)

| **2. KAFES (PTZ GRUBU)** | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **ENJEKSYON** | **I** | **II** | **III** | **IIII** | **V** | **VI** | **VII** | **VIII** | **TARİH** |
| **1** | 245 | 319 | 327 | 163 | 203 | 0 | 155 | 390 | 25.01.2022 |
| **2** | 82 | 121 | 246 | 396 | 71 | 329 | 183 | 360 | 27.01.2022 |
| **3** | 221 | 165 | 271 | 289 | 140 | 224 | 307 | 533 | 29.01.2022 |
| **4** | 150 | 106 | 157 | 151 | 459 | 296 | 176 | 268 | 31.01.2022 |
| **5** | 141 | 437 | 173 | 274 | 215 | 75 | 249 | 235 | 02.02.2022 |
| **6** | 178 | 135 | 138 | 145 | 127 | 220 | 168 | 236 | 04.02.2022 |
| **7** | 156 | 1 | 476 | 379 | 280 | 297 | 250 | 357 | 07.02.2022 |
| **8** | 215 | 201 | 275 | 236 | 612 | 385 | 358 | 382 | 09.02.2022 |
| **9** | 316 | 236 | 217 | 168 | 319 | 453 | 180 | 311 | 11.02.2022 |
| **10** | 224 | 235 | 288 | 189 | 231 | 138 | 259 | 246 | 14.02.2022 |
| **11** | 160 | 166 | 165 | 164 | 240 | 1 | 241 | 592 | 16.02.2022 |
| **12** | 122 | 260 | 237 | 134 | 207 | 170 | 216 | 473 | 18.02.2022 |
| **13** | 108 | 127 | 191 | 139 | 108 | 201 | 173 | 227 | 20.02.2022 |

**Tablo 8.** PTZ+Antiepileptik Grubu enjeksiyondan sonra gelen ilk nöbete kadar geçen süre (saniye)

| **3. KAFES (PK GRUBU)** | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **ENJEKSYON** | **I** | **II** | **III** | **IIII** | **V** | **VI** | **VII** | **VIII** | **TARİH** |
| **1** | 137 | 411 | 114 | 137 | 273 | 145 | 308 | 90 | 25.01.2022 |
| **2** | 411 | 209 | 165 | 216 | 393 | 178 | 195 | 219 | 27.01.2022 |
| **3** | 84 | 198 | 315 | 330 | 292 | 90 | 250 | 186 | 29.01.2022 |
| **4** | 260 | 262 | 319 | 253 | 149 | 164 | 291 | 147 | 31.01.2022 |
| **5** | 302 | 289 | 216 | 227 | 169 | 175 | 227 | 199 | 02.02.2022 |
| **6** | 195 | 287 | 288 | 348 | 236 | 205 | 173 | 254 | 04.02.2022 |
| **7** | 221 | 595 | 275 | 375 | 120 | 283 | 276 | 250 | 07.02.2022 |
| **8** | 356 | 767 | 276 | 348 | 165 | 310 | 285 | 335 | 09.02.2022 |
| **9** | 278 | 160 | 172 | 289 | 254 | 224 | 192 | 339 | 11.02.2022 |
| **10** | 257 | 212 | 193 | 211 | 310 | 198 | 303 | 440 | 14.02.2022 |
| **11** | 144 | 236 | 145 | 278 | 276 | 224 | 434 | 489 | 16.02.2022 |
| **12** | 239 | 185 | 216 | 178 | 104 | 154 | 273 | 435 | 18.02.2022 |
| **13** | 118 | 359 | 289 | 210 | 235 | 104 | 158 | 220 | 20.02.2022 |

**Tablo 9.** PTZ+Manyetik Alan Grubu enjeksiyondan sonra gelen ilk nöbete kadar geçen süre (saniye)

| **5. KAFES (PTZ+MA GRUBU)** | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **ENJEKSYON** | **I** | **II** | **III** | **IIII** | **V** | **VI** | **VII** | **VIII** | **TARİH** |
| **1** | 201 | 292 | 172 | 107 | 130 | 145 | 191 | 372 | 25.01.2022 |
| **2** | 110 | 264 | 156 | 305 | 176 | 102 | 311 | 326 | 27.01.2022 |
| **3** | 110 | 154 | 124 | 309 | 105 | 303 | 289 | 151 | 29.01.2022 |
| **4** | 126 | 66 | 277 | 498 | 269 | 266 | 188 | 473 | 31.01.2022 |
| **5** | 115 | 251 | 95 | 303 | 220 | 223 | 268 | 624 | 02.02.2022 |
| **6** | 205 | 193 | 265 | 306 | 290 | 303 | 298 | 392 | 04.02.2022 |
| **7** | 140 | 278 | 187 | 352 | 197 | 264 | 391 | 328 | 07.02.2022 |
| **8** | 152 | 396 | 187 | 260 | 380 | 225 | 281 | 513 | 09.02.2022 |
| **9** | 115 | 258 | 120 | 125 | 205 | 168 | 203 | 188 | 11.02.2022 |
| **10** | 179 | 271 | 161 | 367 | 290 | 231 | 1 | 502 | 14.02.2022 |
| **11** | 142 | 135 | 139 | 247 | 275 | 214 | 219 | 140 | 16.02.2022 |
| **12** | 62 | 107 | 406 | 273 | 375 | 123 | 202 | 405 | 18.02.2022 |
| **13** | 100 | 95 | 77 | 154 | 263 | 219 | 74 | 427 | 20.02.2022 |

**Tablo 10.** Epilepsi latans süresi verilerinin istatistiksel değerlendirmesi sonucu elde edilen değerler

| Gruplar | Ortalama± Standart Sapma | Medyan (Min. - Max.) | p |
|---|---|---|---|
| PTZ | 3,74±1,89 | 3,41 (0,01 – 10,12) | 0,05 |
| PK | 3,95±1,75 | 3,55 (1,24- 12,47) | |
| PTZ+MA | 3,69±1,88 | 3.39 (0,01 – 10.24) | |

### 5.3. Histolojik Analiz Bulguları

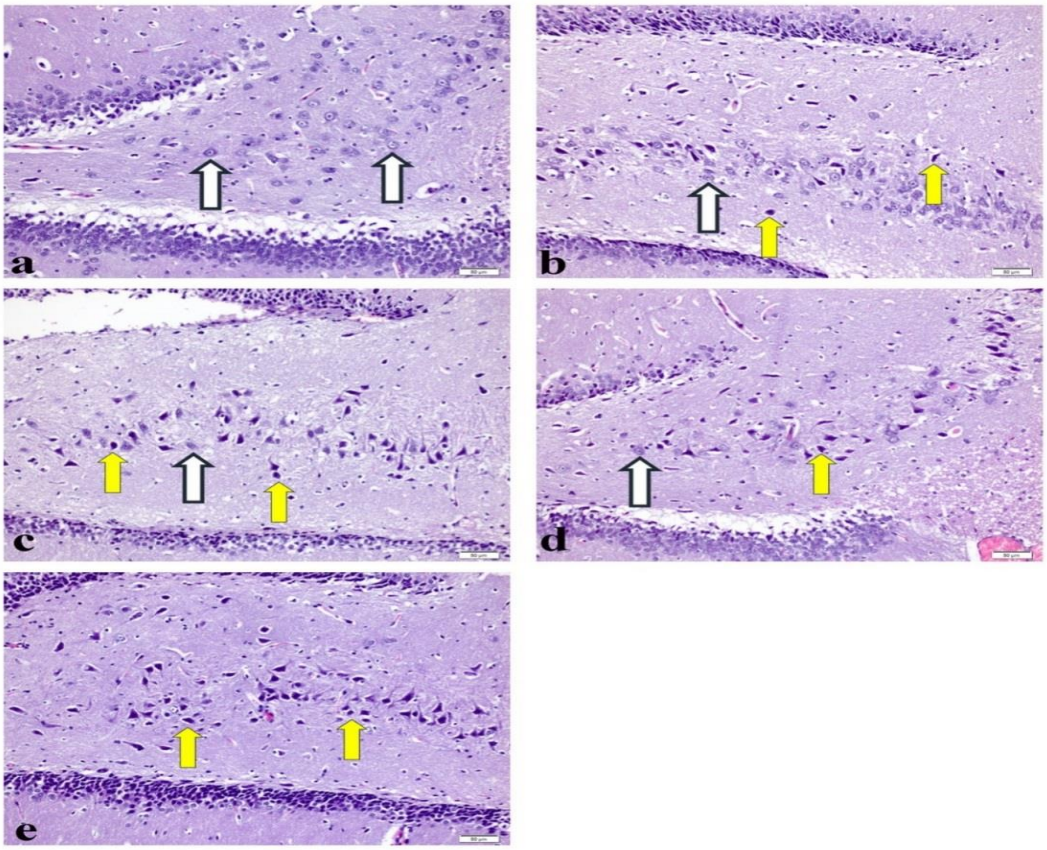
Hematoksilen Eosin (H&E) boyaması, PTZ, MA ve PTZ+MA gruplarının hipokampus bölgesinde ciddi nöron dejenerasyonu olduğunu gösterdi. Hipokampal bölgedeki piknotik koyu boyanan çekirdekli nöronlar sarı oklarla belirtilirken,

yuvarlak şekilli, hayatta kalan sitoplazması bozulmamış hücreler ise beyaz oklarla belirtildi (Şekil 13). Tablo 11'de gösterildiği üzere PTZ, MA ve PTZ+MA gruplarında hücre dejenerasyonu ve dilate kan damarı kontrol ve PK gruplarına göre daha yoğundu ($p<0,0001$).

**Tablo 11.** Hipokampuste gözlenen hasar oranları

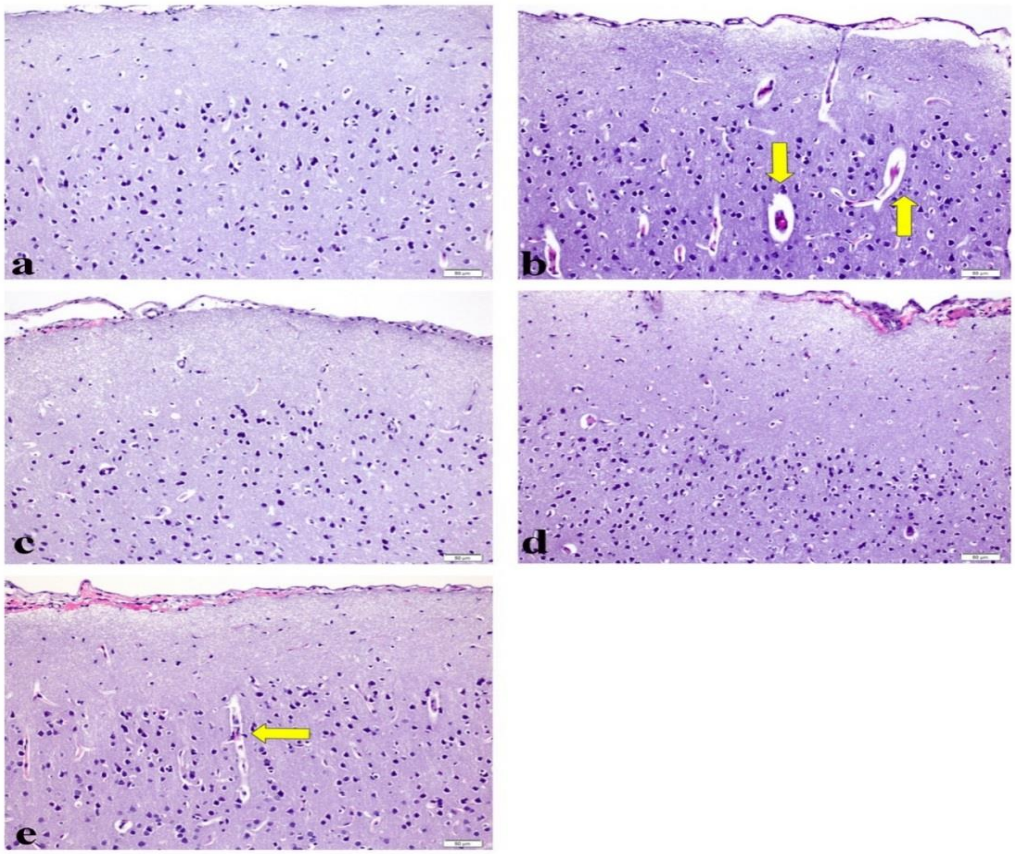
| Gruplar | Hücre Dejenerasyonu | Dilate kan damarı |
|---|---|---|
| Kontrol | 0,66± 0,51 | 0,50± 0,54 |
| PTZ | 2,16± 0,98[a] | 2,16± 0,75[a] |
| PK | 1,66± 0,81 | 0,33± 0,51[b] |
| MA | 2± 0,89[a] | 1,66± 0,51[ac] |
| PTZ+MA | 2,5± 0,54[a] | 1,66± 0,51[ac] |

Tabloda gösterilen veriler ort ± SD olarak ifade edilir. İki yönlü varyans analizi ve Sidak'ın çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. a $p<0,05$ Kontrol grubuna göre; b $p<0,05$ PTZ grubuna göre; c $p<0,05$ PK grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark olduğunu göstermektedir.




**Şekil 13.** Hipokampus dokusunun hematoksilen eosin boyama görüntüleri: Kontrol grubuna (a) ait kesitlerde sağlıklı yuvarlak sitoplazmalı bozulmamış hücreler beyaz ok ile gösterilmiştir. PTZ grubunda (b), PK grubunda (c), MA prosedürü grubunda (d) ve PTZ+MA prodesürü grubunda (e) koyu boyanmış piknotik çekirdekli dejenere nöronlar sarı ok ile gösterilmiştir. Büyütme 20x, bar= 50 $\mu$m.

Histopatolojik inceleme sonucunda verilen puanlamalar sonucunda yapılan istatistiksel analizlere göre, frontal kesitlerde gözlenen hücre dejenerasyonu PTZ+MA grubunda, kontrol ve pozitif kontrol gruplarına göre daha yoğundu. PTZ ve MA gruplarında ise kontrol ve PK gruplarına göre daha fazla dilate olmuş kan damarı gözlendi (Şekil 14, Tablo 12).



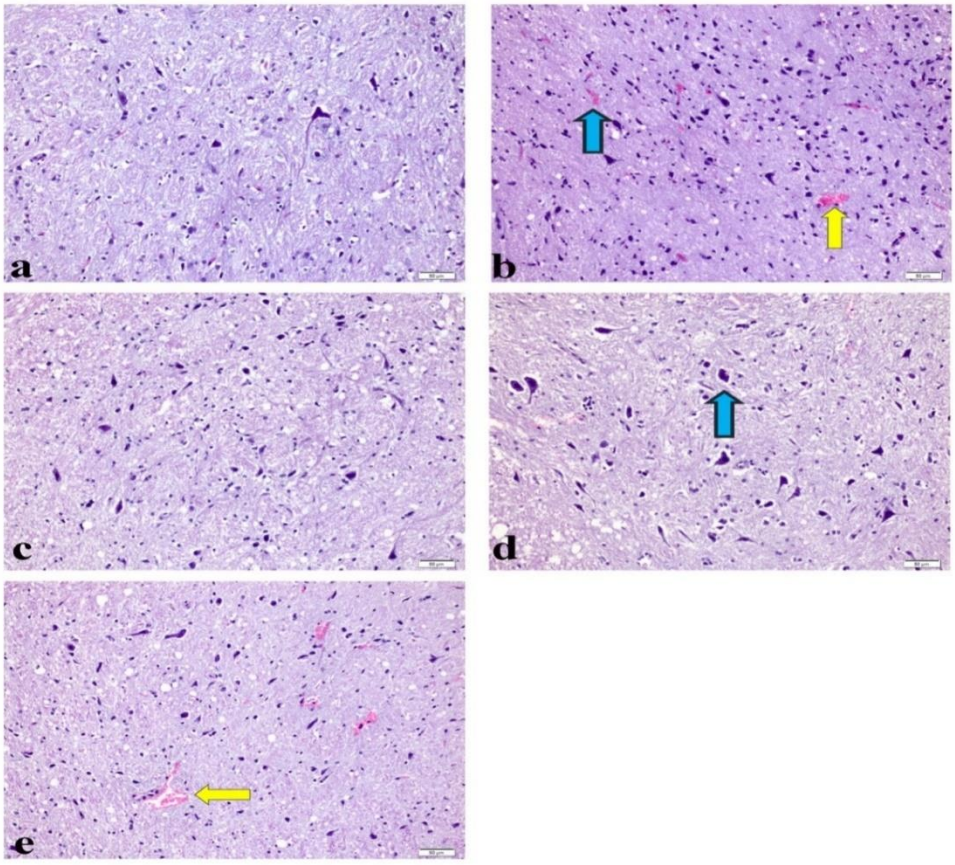

**Şekil 14.** Frontal serebral korteks dokusunun hematoksilen eosin boyama görüntüleri: Kontrol grubu (a). PTZ grubu (b), PK grubu (c), MA prosedürü grubu (d) ve PTZ+MA prodesürü grubu (e). Dilate kan damarı sarı ok ile gösterilmiştir. Büyütme 20x, bar= 50$\mu$m.

**Tablo 12.** Frontal kortekste gözlenen hasar oranları

| Gruplar | Hücre Dejenerasyonu | Dilate kan damarı |
|---|---|---|
| Kontrol | 0,66± 0,51 | 0,66± 0,81 |
| PTZ | 1,33± 0,51 | 2,16± 0,75[a] |
| PK | 0,66± 0,51 | 0,66± 0,51[b] |
| MA | 1,33± 0,51 | 2,16± 0,75[ac] |
| PTZ+MA | 1,83± 0,4[ac] | 1,5± 0,54 |

Tabloda gösterilen veriler ort ± SD olarak ifade edilir. İki yönlü varyans analizi ve Sidak'ın çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. a $p<0,05$ Kontrol grubuna göre; b $p<0,05$ PTZ grubuna göre; c $p<0,05$ PK grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark olduğunu göstermektedir.

Histopatolojik inceleme sonucunda verilen puanlamalar sonucunda yapılan istatistiksel analizlere göre, pons kesitlerinde gözlenen hücre dejenerasyonu PTZ ve PTZ+MA grubunda kontrol ve PK gruplarına göre daha yoğundu (Şekil 15, Tablo 13). Ayrıca pons kesitleri incelendiğinde tablo 13'te gösterildiği üzere hücre dejenerasyonunun PTZ ve PTZ+MA gruplarında anlamlı olarak arttığı gözlendi.



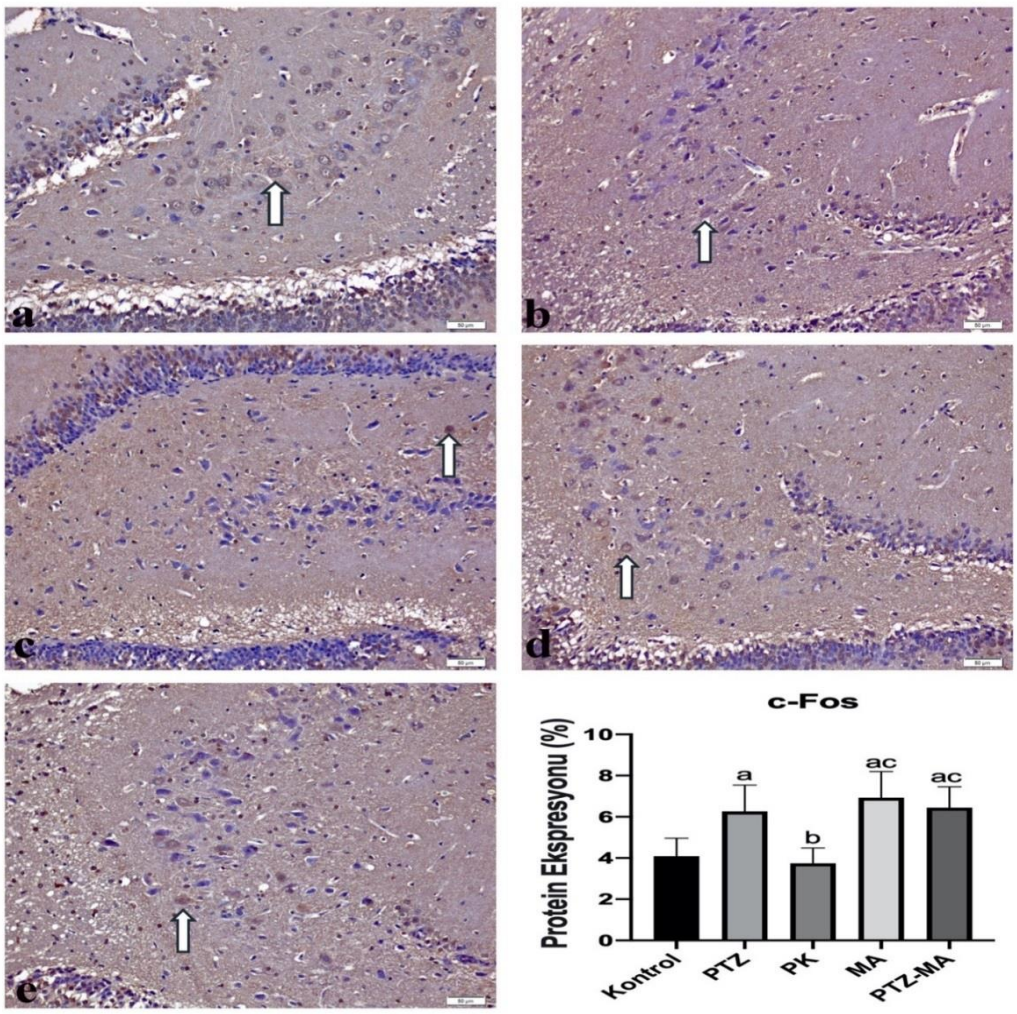

**Şekil 15.** Pons dokusunun hematoksilen eosin boyama görüntüleri**:** Kontrol grubu (a). PTZ grubu (b), PK grubu (c), MA prosedürü grubu (d) ve PTZ+MA prodesürü grubu (e). Dilate kan damarı sarı ok, hücre dejenerasyonu mavi ok ile gösterilmiştir. Büyütme 20x, bar= 50$\mu$m.

**Tablo 13.** Ponsta gözlenen hasar oranları

| Gruplar | Hücre Dejenerasyonu | Dilate kan damarı |
|---|---|---|
| Kontrol | 0,5± 0,54 | 0,33± 0,51 |
| PTZ | 2± 0,63[a] | 1,83± 0,75[a] |
| PK | 0,33± 0,51[b] | 0,5± 0,54[b] |
| MA | 1,5± 0,54 | 0,66± 0,81[b] |
| PTZ+MA | 1,83± 0,75[ab] | 2,16± 0,75[acd] |

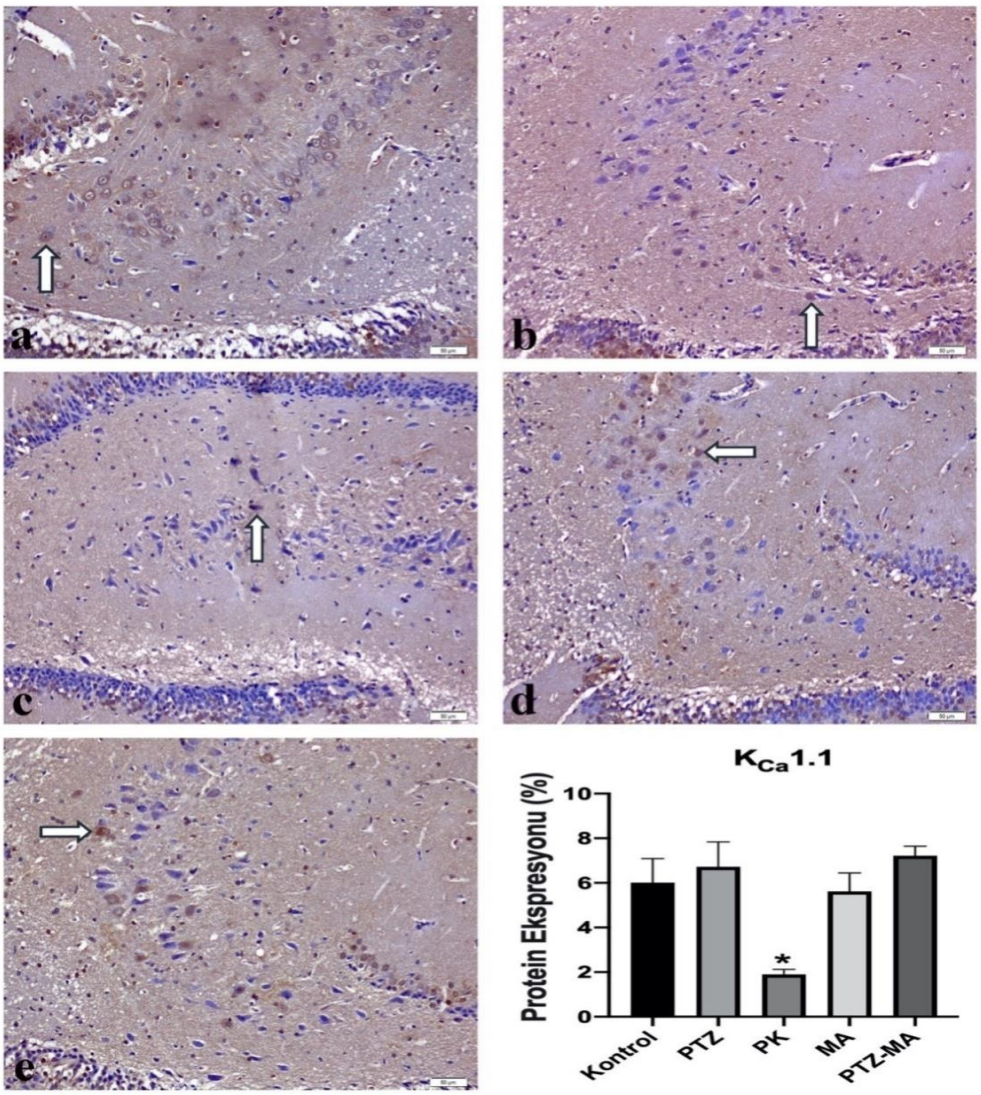
Tabloda gösterilen veriler ort ± SD olarak ifade edilir. İki yönlü varyans analizi ve Sidak'ın çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. a $p<0,05$ Kontrol grubuna göre; b $p<0,05$ PTZ grubuna göre; c $p<0,05$ PK grubuna göre; d $p<0,05$ MA grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark olduğunu göstermektedir.

### 5.4. İmmünohistokimyasal Analiz Bulguları



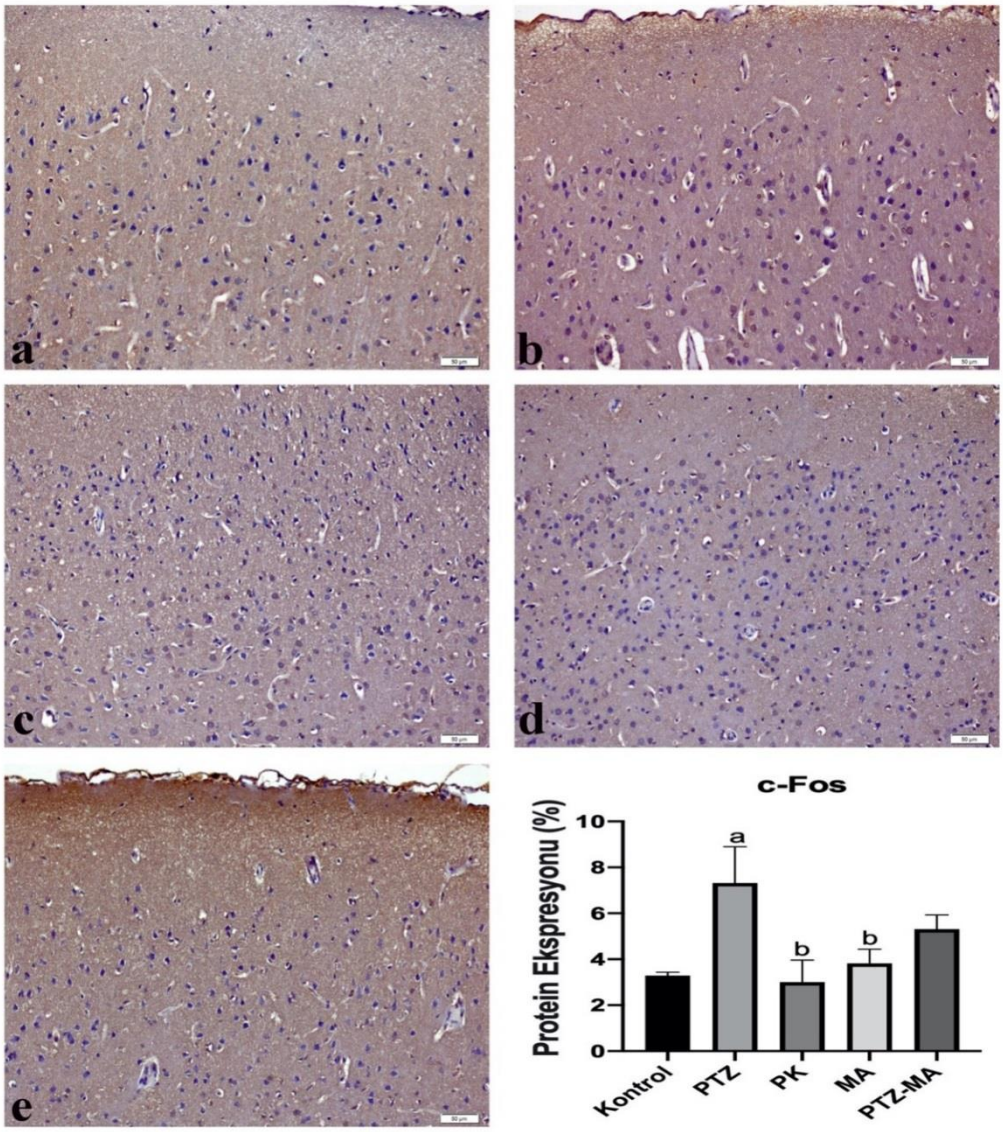

**Şekil 16.** Hipokampuste c-Fos protein ifadesinin görüntüleri: Kontrol grubu (a). PTZ grubu (b), PK grubu (c), MA prosedürü grubu (d) ve PTZ+MA prodesürü grubu (e). Histogram grafiğinde gösterilen veriler ort ± SD olarak ifade edilir. Tek yönlü varyans analizi ve Dunnett çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. a $p<0,05$ Kontrol grubuna göre; b $p<0,05$ PTZ grubuna göre; c $p<0,05$ PK grubuna göre; d $p<0,05$ MA grubuna göre istatistiksel olarak fark olduğunu göstermektedir.

c-Fos protein ifadesi PTZ, MA ve PTZ+MA gruplarında kontrol ve pozitif kontrol gruplarına göre arttı. Bu artış kontrol grubuna göre PTZ grubunda 1,53 kat, MA grubunda 1,69 kat ve PTZ+MA grubunda 1,57 kat olarak tespit edilmiştir (Şekil 16).



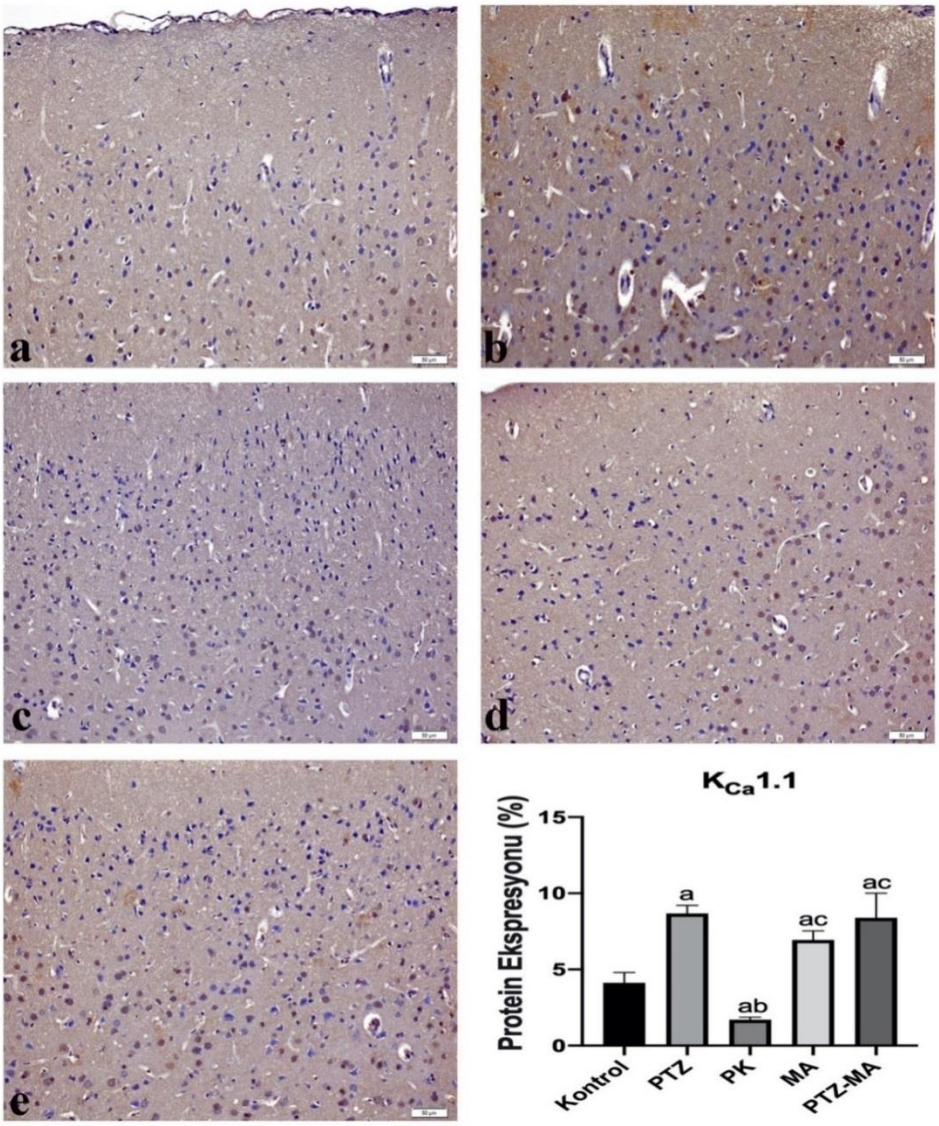

**Şekil 17.** Hipokampuste $K_{Ca}1.1$ protein ifadesinin görüntüleri: Kontrol grubu (a). PTZ grubu (b), PK grubu (c), MA prosedürü grubu (d) ve PTZ+MA prodesürü grubu (e). Histogram grafiğinde gösterilen veriler ort $\pm$ SD olarak ifade edilir. Tek yönlü varyans analizi ve Dunnett çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. *p<0,05 diğer tüm gruplardan istatistiksel olarak fark olduğunu göstermektedir.

Hipokampuste $K_{Ca}1.1$ protein ifadesi pozitif kontrol grubunda diğer tüm gruplara göre azaldığı gözlendi. Bu azalış kontrol grubuna göre 3,17 kat, PTZ grubuna göre 3,54 kat, MA grubuna göre 2,96 kat ve PTZ+MA grubuna göre 3,8 kattır (Şekil 17).




**Şekil 18.** Frontal kortekste c-Fos protein ifadesinin görüntüleri: Kontrol grubu (a). PTZ grubu (b), PK grubu (c), MA prosedürü grubu (d) ve PTZ+MA prodesürü grubu (e). Histogram grafiğinde gösterilen veriler ort ± SD olarak ifade edilir. Tek yönlü varyans analizi ve Dunnett çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. a $p<0,05$ Kontrol grubuna göre; b $p<0,05$ PTZ grubuna göre istatistiksel olarak fark olduğunu göstermektedir.

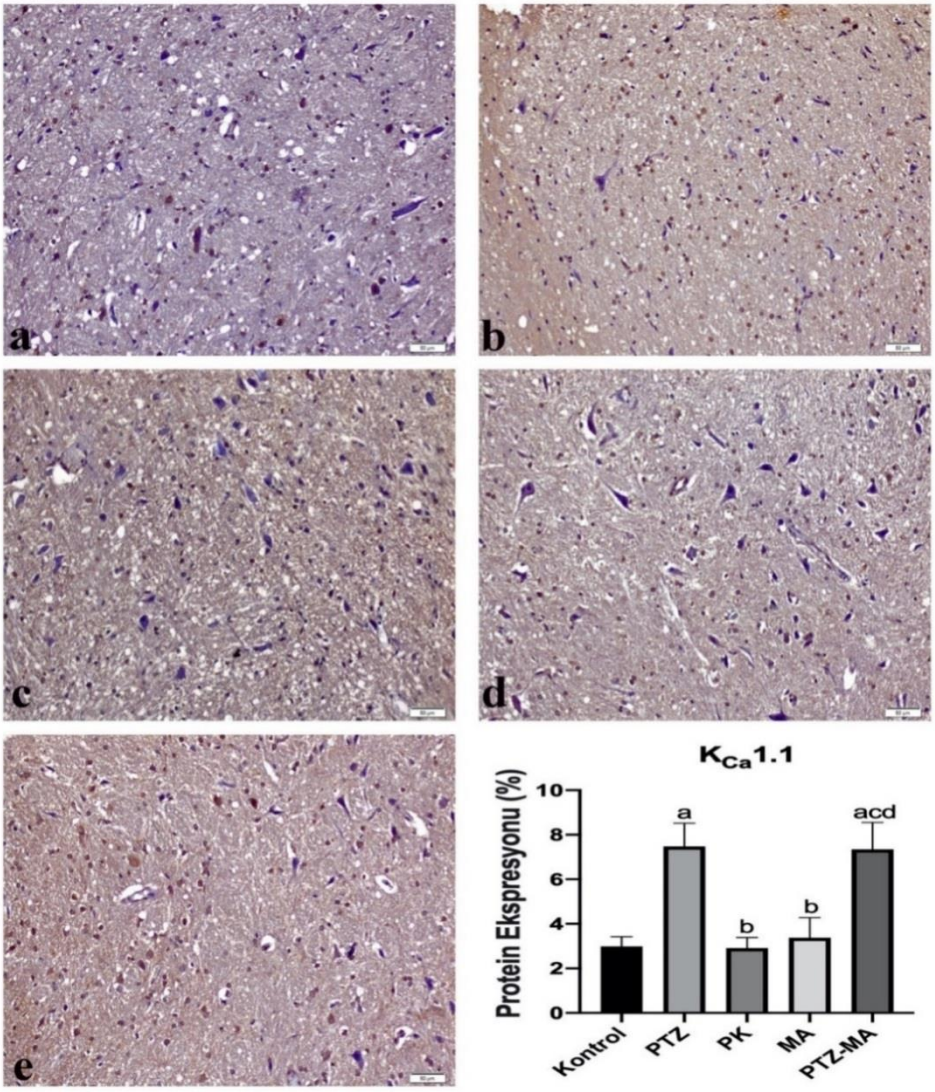
Frontal kortekste PTZ grubunda c-Fos ifadesinin kontrol, PK ve MA gruplarına göre anlamlı olarak arttığı gözlendi. Bu artış kontrol grubuna göre 2,22 kat, PK grubuna göre 2,43 kat ve MA grubuna göre 1,91 kat olduğu tespit edilmiştir (Şekil 18).




**Şekil 19.** Frontal kortekste $K_{Ca}1.1$ protein ifadesinin görüntüleri**:** Kontrol grubu (a). PTZ grubu (b), PK grubu (c), MA prosedürü grubu (d) ve PTZ+MA prodesürü grubu (e). Histogram grafiğinde gösterilen veriler ort $\pm$ SD olarak ifade edilir. Tek yönlü varyans analizi ve Dunnett çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. *p<0,05 diğer tüm gruplardan istatistiksel olarak fark olduğunu göstermektedir. a p<0,05 Kontrol grubuna göre; b p<0,05 PTZ grubuna göre; c p<0,05 PK grubuna göre istatistiksel olarak fark olduğunu göstermektedir.

$K_{Ca}1.1$ ifadesinin frontal kortekste özellikle PTZ, MA ve PTZ+MA gruplarında kontrol ve pozitif kontrol grubuna göre arttığı gözlendi. $K_{Ca}1.1$ ifadesinin

kontrol grubuna göre PTZ grubunda 2,1 kat, MA grubunda 1,68 kat ve PTZ+MA grubunda ise 2,03 kat arttığı tespit edildi (Şekil 19).

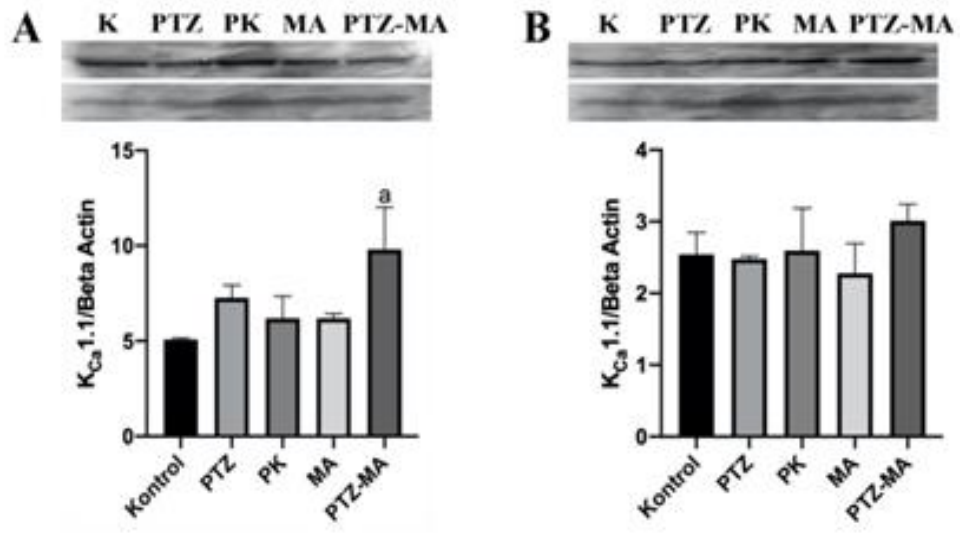



**Şekil 20.** Ponsta $K_{Ca}1.1$ protein ifadesinin görüntüleri: Kontrol grubu (a). PTZ grubu (b), PK grubu (c), MA prosedürü grubu (d) ve PTZ+MA prodesürü grubu (e). Histogram grafiğinde gösterilen veriler ort ± SD olarak ifade edilir. Tek yönlü varyans analizi ve Dunnett çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. *p<0,05 diğer tüm gruplardan istatistiksel olarak fark olduğunu göstermektedir. a p<0,05 Kontrol grubuna göre; b p<0,05 PTZ grubuna göre; c p<0,05 PK grubuna göre; d p<0,05 MA grubuna göre istatistiksel olarak fark olduğunu göstermektedir.

Ponsta $K_{Ca}1.1$ ifadesi PTZ ve PTZ+MA gruplarında diğer gruplara göre arttığı gözlendi. Kontrol grubuna göre $K_{Ca}1.1$ ifadesinin PTZ grubunda 2,5 kat ve PTZ+MA grubunda 2,46 kat arttığı tespit edildi (Şekil 20).

### 5.5. Western Blot Analiz Bulguları

Western blot analiz sonuçlarına göre hipokampuste $K_{Ca}1.1$ ifadesinin kontrol grubuna göre PTZ+MA grubunda anlamlı olarak arttığı gözlendi. Ponsta $K_{Ca}1.1$ ifadesi bakımından gruplar arasında anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edildi.




**Şekil 21.** $K_{Ca}1.1$ band görüntüleri: Hipokampuste (A) ve ponsta (B) $K_{Ca}1.1$ band görüntüleri. Histogram grafiğinde gösterilen veriler ort $\pm$ SD olarak ifade edilir. Tek yönlü varyans analizi ve Dunnett çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. *$p<0,05$ diğer tüm gruplardan istatistiksel olarak fark olduğunu göstermektedir. a $p<0,05$ Kontrol grubuna göre; b $p<0,05$ PTZ grubuna göre; c $p<0,05$ PK grubuna göre istatistiksel olarak fark olduğunu göstermektedir.

# 6. TARTIŞMA

Yapılan çalışmada "pulslu manyetik alan etkisinin epilepsi mekanizmasındaki rolünün aydınlatılmasına katkı sağlamak adına PTZ ile oluşturulan epilepsi modelinde hipokampüs ve pons dokusunda BK kanallarının ekspresyon seviyelerinin araştırılması" hipotez olarak belirlenmiştir. Bu hipotezi aydınlatılmak amacıyla, pulslu manyetik alanın epileptik sıçanlarda olumlu etki oluşturup oluşturmadığı ile hipokampüs ve pons dokusunda BK kanallarının ekspresyon seviyelerinin araştırılmasına ilişkin bulgularla birlikte elde ettiğimiz diğer veriler literatürden yararlanılarak tartışılmaya çalışıldı.

Epilepsinin bir türüne sahip hastalarla yapılan bir çalışmada yüksek frekanslı rTMS'nin hastalık üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Manyetik uyarım sonrasında iki hastanın nöbetlerinde kısa bir duraksama kaydedilmiştir. Buna ek olarak hastaların ikisinin nöbetlerinde bir günden uzun süren duraklama elde edilmiştir (91). 2013 yılında 15 Hz değerinde rTMS'nin kullanıldığı bir çalışmada epilepside manyetik alanın akut etkileri incelenmiştir. Manyetik alan uygulamasının epileptik deşarjları durdurmak için etkili bir yöntem olduğu saptanmıştır (11). Bununla ilişkili olarak yüksek frenkansta rTMS uygulaması iyon akımlarını etkileyerek epileptik deşarjları düzenleyebileceği öne sürülmüştür. 2014 yılında yapılan bir araştırmada ise rTMS'nin kortikal uyarılabilirliğe olan etkisi hedeflenmiştir. Yüksek frekanslı rTMS'nin kortikal baskılanmaya aracılık ettiği ortaya konulmuştur (92). Bu verilere göre, nöronal ateşlemenin bozulduğu epilepside rTMS'nin nöronların uyarılabilirliğini düzenleyebileceği ifade edilebilir. 2016 yılında yapılan bir hayvan çalışmasında yüksek frekanslı rTMS ile epilepsi tedavisinde kullanılan lorazepam ajanının EEG üzerine etkisi incelenmiştir. Bununla birlikte, yarım doz lorazepam ile birlikte rTMS kullanılması tam lorazepam dozu kadar etkili olmuştur (93).

Yaptığımız çalışmada RS sistemi ile skorladığımız PTZ ile PK grup ortalamaları arasında anlamlı bir fark olduğunu (p= **0,003**) ve bu durumun kullanılan antiepileptik ilacın skorlama değeri üzerine etkisinden kaynaklandığını, PTZ ile PTZ+MA grup ortalamaları arasında anlamlı bir fark oluşmadığını (p= **0,559**) ve bu durumun PTZ+MA grubuna uygulanan pulslu manyetik alanın skorlama üzerine anlamlı bir etki oluşturmadığını, son olarak PK ile PTZ+MA grup ortalamaları

arasında anlamlı bir fark olduğunu (p= **0,007**) ve bu durumun kullanılan antiepileptik ilacın pulslu manyetik alan uygulamasına kıyasla skorlamaya anlamlı şekilde etki ettiği şeklinde yorumlamamıza yardımcı olmuştur. PTZ ile PTZ+MA gruplarını karşılaştırdığımızda, uygulanan pulslu manyetik alanın RS sistemine etki ettiğini (RS sistemi PTZ grup ortalaması = 2,6442 ve RS sistemi PTZ+MA grup ortalaması = 2,5481) ama bu etkinin anlamlı bir fark oluşturmadığı gözlemlenmiştir. Elde edilen sonuçlar aracılığıyla yüksek frekanslı pulslu manyetik alan uygulaması anti-epileptik ilaçların yanında kullanılabilecek bir potansiyel tedavi oluşturabilir.

2018 yılında yapılan bir çalışmada, BK kanallarında epilepside de novo olarak görülen mutasyonlar incelenmiştir. İlgili kanallardaki bir mutasyon çeşidinin kanalın açılma olasılığını ve açık kalma süresini yükselterek potasyum akımını artırmıştır (94). Bu durum, epilepside BK kanallarının potasyum akımlarını değiştirerek nöronal uyarılabilirliği etkilediği şeklinde yorumlanabilir. Benzer bir şekilde, BK kanalında yapılan bir araştırmada jeneralize epilepside görülen bir mutasyon incelenmiştir. Daha büyük bir akıma sahip olan mutant BK kanalı, $Ca^{+2}$ iyon duyarlılığındaki artış nedeniyle yükselmiş açık kanal olasılığı göstermiştir (95). Elde edilen bilgilere göre, aksiyon potansiyellerinin repolarizasyonunu etkileyerek artan uyarılabilirliğe yol açabilir. Bunun sonucunda ise nöronlar daha hızlı ateşleme yaparak genel epilepsi tablosuna neden olabilir. 2013 yılında yapılan bir çalışmada oluşturulan epilepsi modeline BK kanalını engelleyen bir ajan verilmiştir. Verilen kimyasal aracılığıyla oluşturulan nöbetlere karşı koruma yüzdesinde önemli bir artış sağlanmıştır (96). Böylece, BK kanallarının epilepside görülen nöbetlerin mekanizmasında rol aldığı söylenebilir. Literatürdeki veriler BK kanallarında meydana gelen bir işlev bozukluğunun epilepsi oluşumuna katkıda bulunabileceğine dair kanıtlar sağlamaktadır. Bu veriler BK kanallarının nöbet baskılama için potansiyel moleküler hedefleri temsil edebileceğini hipotezini desteklemektedir. Başka bir çalışmada, yüksek frekanslı stimülasyon uygulanan bölgelerde hücre dışı potasyum konsantrasyonunun yükseldiği ve ilgili nöronların dinlenme membran potansiyelinin depolarize olduğu gözlemlenmiştir (97). Buna dayanarak, yüksek frekanslı stimulasyonun BK kanallarını etkileyerek $K^+$ iyonlarını hücre dışı ortamda yükselttiği öne sürülebilir. 2015 yılında Alzheimer modelinde yapılan bir çalışmada, BK kanallarının aktivitesinin, TMS uygulaması sonrasında değiştiği kaydedilmiştir.

Elde edilen farklılıklara kortikal uyarılabilirlikteki değişmeler eşlik etmiştir (98). Dolayısıyla, epilepside BK kanal ifadesinin ve aktivitesinin TMS girişimi ile düzenlenebileceği çıkarımı yapılabilir. Elde edilen veriler, TMS uygulamasının BK kanallarının dahil olduğu potasyum ve kalsiyum iyonları aracılığıyla nöronal uyarılabilirlikte etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Nitekim yaptığımız çalışmada gruplar arası BK kanal ekspresyon seviyesi incelendiğinde, hipokampuste $K_{Ca}1.1$ protein ifadesi pozitif kontrol grubunda diğer tüm gruplara göre azaldığı gözlendi. Bu azalış kontrol grubuna göre 3,17 kat, PTZ grubuna göre 3,54 kat, MA grubuna göre 2,96 kat ve PTZ+MA grubuna göre 3,8 kattır. $K_{Ca}1.1$ proteini, hücre dışı bir epitopu tanır ve bu nedenle canlı hücrelerdeki kanalı saptamak için idealdir. PK grubundaki sıçanların BK kanalı ekspresyon seviyesinde, verilen antiepileptik ilaçtan kaynaklı diğer gruplara nazaran anlamlı bir derecede azalma olduğu şeklinde yorumlanabilir. PTZ ile PTZ+MA grupları arasında anlamlı bir fark oluşmamasına rağmen, PK grubunun PTZ grubuna göre 3,54 kat, PTZ+MA grubuna göre 3,8 kat azalmış olması PTZ+MA grubuna uygulanan pulslu manyetik alanın hipokampuste BK kanalı ekspresyon seviyesinde anlamlı derecede olmasa da bir azalmaya neden olduğunu göstermektedir. Uygulanan manyetik alanın şiddeti veya uygulama süresi değiştirilerek, hipokampuste BK kanalı ekspresyon seviyesine anlamlı bir azalma elde edilmesi mümkün olabilir.

Frontal kortekste $K_{Ca}1.1$ ifadesinin özellikle PTZ, MA ve PTZ+MA gruplarında kontrol ve PK grubuna göre arttığı gözlendi. $K_{Ca}1.1$ ifadesinin kontrol grubuna göre PTZ grubunda 2,1 kat, MA grubunda 1,68 kat ve PTZ+MA grubunda ise 2,03 kat arttığı tespit edildi. MA grubunun BK kanalı ekspresyon seviyesinin özellikle kontrol grubuna göre artış göstermesinin sebebi gruba uygulanan pulslu manyetik alandır. Buradan da sağlıklı sıçanlara uygulanan pulslu manyetik alanınfrontal kortekste BK kanalı ekspresyon seviyesini artırdığı şeklinde yorum yapılabilir. PTZ ile PTZ+MA gruplarını karşılaştırdığımızda, BK kanalı ekspresyon seviyesinde her ikisi içinde kontrol ve PK grubuna göre artış olduğu görülmektedir. Fakat PTZ+MA grubuna uygulanan pulslu manyetik alanın BK kanalı ekspresyon seviyesinde PTZ grubuna göre anlamlı bir fark oluşturmaması, uygulanan pulslu manyetik alanınepileptik sıçanların frontal kortekste BK kanalı ekspresyon

seviyesine anlamlı bir etki oluşturmadığı şeklinde yorumlanabilir. Ancak kontrol grubuna göre olan artışın PTZ grubunda 2,1 kat ve PTZ+MA grubunda ise 2,03 kat olması PTZ+MA grubuna uygulanan pulslu manyetik alanın anlamlı olmasa da frontal kortekste BK kanalı ekspresyon seviyesine etki ettiği anlamına gelmektedir.

Ponsta $K_{Ca}1.1$ ifadesi PTZ ve PTZ+MA gruplarında diğer gruplara göre arttığı gözlendi. Kontrol grubuna göre $K_{Ca}1.1$ ifadesinin PTZ grubunda 2,5 kat ve PTZ+MA grubunda 2,46 kat arttığı tespit edildi. MA grubundaki sıçanların Frontal kortekste $K_{Ca}1.1$ ifadesinin kontrol ve PK grubuna göre arttığı gözlenirken, ponsta $K_{Ca}1.1$ ifadesi kontrol grubuna göre anlamlı bir fark oluşturmamıştır. Bu durum, pulslu manyetik alanın hipokampus bölgesine pons bölgesine göre anlamlı derecede daha fazla etki ettiği şeklinde yorumlanabilir. PTZ ile PTZ+MA gruplarını karşılaştırdığımızda, ponsta BK kanalı ekspresyon seviyesinde her ikisi içinde kontrol ve PK grubuna göre artış olduğu görülmektedir. PTZ+MA grubuna uygulanan pulslu manyetik alanın BK kanalı ekspresyon seviyesinde PTZ grubuna göre anlamlı bir fark oluşturmaması, uygulanan pulslu manyetik alanın epileptik sıçanların ponsta BK kanalı ekspresyon seviyesine anlamlı bir etki etmediği şeklinde yorumlanabilir. Ancak kontrol grubuna göre olan artışın PTZ grubunda 2,5 kat ve PTZ+MA grubunda ise 2,46 kat olması PTZ+MA grubuna uygulanan pulslu manyetik alanınanlamlı olmasa da ponsta BK kanalı ekspresyon seviyesine etki ettiği anlamına gelmektedir.

PTZ modeliyle yapılan deneysel araştırma, artan c-fos ekspresyonunun baskılanmasının ön tedavi sağlayabileceğini ileri sürmüştür (99). PTZ ile tutuşturulmuş bir modelin oluşturulduğu bir fare çalışmasında, c-fos proteininin artışının bir antiepileptik ajanla baskılanması, epileptogenezi değiştiren modüle edici bir süreç olabilir (100). Her iki sonuç da c-fos proteinini inhibe ederek nöbetleri bastırmayı amaçlayan manyetik alan uygulamamızla elde edilen sonuçlarla uyumludur. Manyetik alanın c-fos proteinini etkilediğini gösteren deneysel çalışmalar, manyetik alan uygulamasının bu protein ifadesini baskıladığını göstermektedir. Sonuçlar, manyetik uyaranların nöron popülasyonlarını da etkileyebileceğini belirler (101). Sonuçlarımız da bu makale ile nöbetlerde beklenen olası c-fos artışı ile örtüşen verilerden oluşmaktadır.

2011 yılında yapılan bir çalışmada, 16 Hz manyetik alan uygulamasının KATP iyon kanallarının aktivasyonunu artırabileceği ve $Ca^{+2}$ geçişlerini azaltarak kasılmalarda değişikliklere neden olabileceği ifade edilmektedir (102). Ancak bizim çalışmamızda böyle bir yanıt görülmedi. Nöbetler sonrası kontrol grubundaki iyon kanallarının yoğunluklarını pulslu manyetik alan tedavisi ile moleküler düzeyde değiştirme çabası yetersiz kaldı. 15 Hz pulslu manyetik alan uygulamasına yanıt alınmazken, PTZ grubu sıçanlarda nöbet sonrası KCa1.1 şiddeti arttı. Pulslu manyetik alan uygulaması ile organ biyosisteminden izole edilen hücreler bazında nöbet sonrası artan KCa1.1 konsantrasyonunu bastırmak için yeni bir çalışma düzeneği kurmayı gerektiriyor. Sonuç olarak nöbet sonrası artan c-fos protein yoğunluğu 15 Hz pulslu manyetik alan uygulaması ile kontrol değerine gerilemiştir. Nöbet sonrası hücre dejenerasyonu ve dilate kan damarı artışı gibi patoloji sonuçları pulslu manyetik alan uygulaması ile iyileşme gösterdi. Bununla birlikte, hücresel düzeyde iyon kanallarını anlamlı derecede etkilemedi. Tüm bu sonuçlar, pulslu manyetik alan uygulamasının nöbetler için bir tedavi seçeneği olduğunu, ancak daha fazla mikrobiyo sistemde iyon kanalı araştırmalarında hücre kültürü ile ilgili çalışmaların geliştirilmesi gerektiğini göstermiştir.

# 7. SONUÇ

RS sistemi ile skorladığımız PTZ, PK ve PTZ+MA gruplarına SPSS programı ile uyguldığımız Kruskal-Wallis ile Mann-Whitney Testleri sonucu PTZ ile PK grup ortalamaları arasında anlamlı bir fark olduğunu (p = **0,003**) ve bu durumun kullanılan antiepileptik ilacın skorlama değeri üzerine etkisinden kaynaklandığını, PTZ ile PTZ+MA grup ortalamaları arasında anlamlı bir fark oluşmadığını (p = **0,559**) ve bu durumun PTZ+MA grubuna uygulanan pulslu manyetik alanın skorlama üzerine anlamlı bir etki oluşturmadığını, son olarak PK ile PTZ+MA grup ortalamaları arasında anlamlı bir fark olduğunu (p = **0,007**) ve bu durumun kullanılan antiepileptik ilacın pulslu manyetik alan uygulamasına kıyasla skorlamaya anlamlı şekilde etki ettiği şeklinde yorumlamamıza yardımcı olmuştur.

Frontal korteksde PTZ+MA grubuna uygulanan pulslu manyetik alanın, antiepileptik ilaç gibi anlamlı derecede nöron aktivitesinin düzenlenmesine katkı sağlamasının yanı sıra BK kanal ekspresyon değerinede anlamlı olmasada bir etki oluşturması, beynin frontal lobundan kaynaklı oluşan epilepsi hastalarına umut vermesi bakımından büyük bir önem ifade etmektedir. PTZ uygulaması sonrası uygulanan manyetik alan bu artışı kontrol gruplarına eşdeğer değerlere indirirken, nöbet oluşturulan hayvanlarda c-fos proteininde immünohistokimyada artış oldu. Bu bilgi tedavi amaçlı 15 Hz'de uygulanan manyetik alanın nöbetlerin etkisini azaltabileceğini göstermektedir.

Manyetik alan uygulamasının nöbet sonrası hayvan dokularındaki patolojileri kısmen iyileştirdiğini saptadık. Hipokampusta nöbet sonrası hücre dejenerasyonu ve dilate kan damarı yoğunluğu artarken manyetik alan uygulanan gruplarda iyileşme görüldü. Benzer olarak frontal korteksteki genişlemiş kan damarları, tedavi amaçlı manyetik alan uygulanan gruplarda azalmıştır. Bu, manyetik alan uygulamasının doku biyosistemi üzerinde iyileştirici bir etkiye sahip olabileceğini göstermektedir. Ancak iyon kanalları gibi çok küçük sistemlerde bu uygulamanın geçerli olmadığı KCa1.1 üzerinde yaptığımız deneylerle gösterilmiştir.

# 8. KAYNAKLAR


1. Patel DC, Tewari BP, Chaunsali L, Sontheimer H. Neuron-glia interactions in the pathophysiology of epilepsy. Nat Rev Neurosci. 2019; 20(5): 282–297.

2. Johnson EL. Seizures and Epilepsy. Med Clin North Am. 2019; 103(2): 309–324.

3. Yuen A, Keezer MR, Sander JW. Epilepsy is a neurological and a systemic disorder. Epilepsy Behav. 2018; 78: 57–61.

4. Samanta D. Cannabidiol: A Review of Clinical Efficacy and Safety in Epilepsy. Pediatr Neurol. 2019; 96: 24–29.

5. Rana A, Musto AE. The role of inflammation in the development of epilepsy. J Neuroinflammation. 2018; 15: 1.

6. Josephson CB, Dykeman J, Fiest KM, Liu X, Sadler R.M, Jette N, Wiebe S. Systematic review and meta-analysis of standard vs selective temporal lobe epilepsy surgery. Neurology. 2013; 80(18): 1669-1676.

7. Starnes K, Miller K, Wong-Kisiel L, Lundstrom BN. A Review of Neurostimulation for Epilepsy in Pediatrics. Brain Sci. 2019; 9(10): 283

8. Ye H, Kaszuba S. Neuromodulation with electromagnetic stimulation for seizure suppression: From electrode to magnetic coil. IBRO reports.2019; 7: 26-33.

9. Fisicaro F, Lanza, G, Grasso A, Pennisi G, Bella R, Paulus W, Pennisi M. Repetitive transcranial magnetic stimulation in stroke rehabilitation: review of the current evidence and pitfalls. Ther Adv Neurol Disord. 2019; 12, 1756286419878317.

10. Polikov VS, Tresco P.A, Reichert WM. Response of brain tissue to chronically implanted neural electrodes. J Neurosci Methods. 2005; 148(1): 1-18.

11. Kimiskidis VK, Valentin A, Kälviäinen R. Transcranial magnetic stimulation for the diagnosis and treatment of epilepsy. Curr Opin Neurol. 2014; 27(2): 236–241.

12. Akdag, MZ Bilgin, MH, Dasdag S, Tumer C. Alteration of nitric oxide production in rats exposed to a prolonged, extremely low-frequency magnetic field. Electromagn Biol Med. 2007; 26(2), 99-106.

13. Coşkun Ö, Çömlekçi S, Nazıroğlu M, Özkorucuklu S. Manyetik Alanın Sıçanlardaki Sinir İleti Parametrelerine Etkileri. SDÜ Fen Bil Enst Der. 2009; 13(2), 186-192

14. N'Gouemo. BKCa channel dysfunction in neurological diseases. Front Psychol.2014; 5: 1-6

15. Bora S, Yeni S, Gürses C, Epilepsi, 1. Basım, Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti., İstanbul; 2008, s: 707-734

16. Esen F, Osmangazi Beyin Farkındalığı Haftası Nedir? J Med. 2016; 38 (Special Issue 1): 35-41.

17. Sanei S, Chambers JS. EEG Signal Processing. JWS. 2007; West 35-125.

18. Sert G, Koçulu R, Bölükbaşı D, Demir A, Özgök A, Yağar S, Paç A, Sert D, Kocabeyoğlu S, Kervan Ü, Paç M. İntraoperatif Nöromonitörizasyom ile Yaşama Dönüş. GKDA Derg. 2016; 22(2): 89-92.

19. Gürkan G, Akan A, Demiralp T. Connectivity analysis of EEG signals under propofol anesthesia with time-varying generalized partial directed coherence. Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC), Argentina; 2010, 3297-3300 .

20. Güler I, Kıymık M.K, Akın M, Alkan A, AR Spectral Analysis of EEG Signals By Using Maximum Likelihood Estimation, Comp. in Biology and Medicine, 2001. s: 441-450.

21. Sohanian H, Markaz AHD. A new description of epileptic seizures based on dynamic analysis of a thalamocortical model, Iran; 2017, 7(1): 1-6 doi:10.1038/s41598-017-13126-4

22. Fısch B.J, Spehlmann'ın EEG El Kitabı, Elsevier Science, Türkçe 6. Baskı, Turgut Yayıncılık, İstanbul; 1998, p: 41-62

23. Öge E, Baykan B, Nöroloji. Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti., İstanbul; 2001 p: 73-99

24. Şirin N, Bebek N, Baykan B. Epilepsi. İstanbul Tıp Fakültesi Noroloji Anabilim Dalı, İstanbul; 2020 s:155-160

25. Lodish H, Berk A, Matsudaira P, Kaiser, Krieger M, Scott M. P, Darnell J, Molecular Cell Biology, fifth edition, WH Freeman. 2003, s:87-98.

26. Hille B. Ion channels of excitable membranes. Sinauer Associates, Sunderland, MA; 2001, s:101-132

27. Karp G. Cell and Molecular Biology-Concepts and Experiments JWS., USA. 2009, s:162-192

28. Kandel ER. Principles of neural science. fifth edition New York: McGrawHill; 2013, p:121-146

29. Yu FH, Yarov-Yarovoy V, Gutman GA, Catterall WA. Overview of molecular relationships in the voltage-gated ion channel superfamily. Pharmacol Rev. 2005; 57: 387–395.

30. Catterall WA, Cestele S, Yarov-Yarovoy V, Yu F, Konoki K, Scheuer T. Voltage-gated ion channels and gating modifier toxins. Toxicon, 2007; 49: 124–141.

31. Gutman GA, Chandy KG, Adelman JP, Aiyar J, Bayliss DA, Clapham DE, Covarriubias M, Desir GV, Furuichi K, Ganetzky B, Garcia ML, Grissmer S, Jan LY, Karschin A, Kim D, Kuperschmidt S, Kurachi Y, Lazdunski M, Lesage F, Lester HA, McKinnon D, Nichols CG, O'Kelly I, Robbins J, Robertson GA, Rudy B, Sanguinetti M, Seino S, Stuehmer W, Tamkun MM, Vandenberg CA, Wei A, Wulff H, Wymore RS. International Union of Pharmacology. XLI. Compendium of voltage-gated ion channels: potassium channels. Pharmacol Rev. 2003; 55: 583–586.

32. Ocana M, Cendan CM, Cobos EJ, Entrena JM, Baeyens JM. Potasium channels and pain: present realities and future opportunities. Eur J Pharmacol. 2004; 500: 203-19.

33. Beckstein O, Biggin PC, Bond P, Bright JN, Domene C, Grottesi A, Holyoake J, Sansom MS. Ion channel gating: insights via molecular simulations. FEBS Lett. 2003; 555: 85– 90.

34. Rasband MN. It's ''juxta'' potassium channel! J Neurosci Res. 2004; 76: 749–757.

35. Devaux JJ, Kleopa KA, Cooper EC, Scherer SS. KCNQ2 is a nodal K+ channel. J Neurosci. 2004; 24: 1236–44.

36. Lagrange A. Retigabine: bending potassium channels to our will. Epilepsy Curr. 2005; 5: 166–8

37. Guo D, Ramu Y, Klem AM, Lu Z. Mechanisim of rectification in inward-rectifer K+ channels. J Gen Physiol. 2003; 121: 261-75.

38. Kubo Y, Adelman JP, Clapham DE, Jan LY, Karschin A, Kurachi Y, Lazdunski M, Nichols CG, Seino S, Vandenberg CA. International Union of Pharmacology. LIV. Nomenclature and molecular relatio. Pharmacological Reviews, January. 2006; 57(4): 509-26

39. Lu Z. Mechanism of rectification in inward-rectifier K+ channels. Annu Rev Physiol. 2004; 66: 103–29.

40. Hibino H, Inanobe A, Furutani K, Murakami S, Findlay I, Kurachi Y. Inwardly rectifying potassium channels: their structure, function, and physiological roles. Physiol Rev. 2010; 90(1): 291-366

41. Butt AM, Kalsi A. Inwardly rectifying potassium channels (Kir) in central nervous system glia: a special role for Kir4.1 in glial functions. J Cell Mol Med. 2006; 10(1): 33-44.

42. Lopatin AN, Makhina EN, Nichols CG. Potassium channel block by cytoplasmic polyamines as the mechanism of intrinsic rectification. Nature. 1994; 372(6504): 366-9.

43. Lu Z, MacKinnon R. Electrostatic tuning of Mg2+ affinity in an inward-rectifier K+ channel. Nature. 1994; 371(6494): 243-6

44. Young CC, Stegen M, Bernard R, Muller M, Bischofberger J, Veh RW, et al. Upregulation of inward rectifier K+ (Kir2) channels in dentate gyrus granule cells in temporal lobe epilepsy. J Physiol. 2009; 587(Pt 17): 4213- 33.

45. Rodriguez-Menchaca AA, Arechiga-Figueroa IA, Sanchez-Chapula JA. The molecular basis of chloroethylclonidine block of inward rectifier (Kir2.1 and Kir4.1) K(+) channels. Pharmacol Rep. 2016;68(2): 383-9.

46. Emre M. Potasyum İyon Kanallarının Yapısı ve Genel Özellikleri. aktd. 2020; 29(4): 276-290.

47. Martire M, Barrese V, D'Amico M, Iannotti F.A, Pizzarelli R, Samengo I, Viggiano D, Ruth P, Cherubini E, Taglialatela M. Pre-synaptic BK channels selectively control glutamate versus GABA release from cortical and hippocampal nerve terminals. J Neurochem. 2010; 115(2): 411–422.

48."BK Kanal Yapısı", erişim adresi: https://tr2tr.wiki/wiki/BK_channel. Erişim tarihi: 16 Şubat 2022.

49. Ermolinsky B, Arshadmansab MF, Pacheco Otalora LF, Zarei MM, Garrido-Sanabria ER. Deficit of Kcnma1 mRNA expression in the dentate gyrus of epileptic rats. Neuroreport. 2008; 19(13): 1291–1294.

50. Isaacson JS, Murphy GJ. Glutamate-mediated extrasynaptic inhibition: direct coupling of NMDA receptors to Ca(2+)-activated K+ channel. Neuron. 2001; 31(6): 1027–1034.

51. Bikson M, Lian J, Hahn PJ, Stacey WC, Sciortino C, Durand DM. Suppression of epileptiform activity by high frequency sinusoidal fields in rat hippocampal slices. Physiol J. 2001; 531(Pt 1): 181–191.

52. Tan T, Xie J, Tong Z, Liu T, Chen X, Tian X. Repetitive transcranial magnetic stimulation increases excitability of hippocampal CA1 pyramidal neurons. Brain Res. 2013; 1520: 23–35.

53. Zhang J, Guan X, Li Q, Meredith AL, Pan HL, Yan J. Glutamate-activated BK channel complexes formed with NMDA receptors. PNAS. 2018; 115(38): E9006–E9014.

54. Ermolinsky B, Arshadmansab MF, Pacheco Otalora LF, Zare MM, Garrido-Sanabria ER. Deficit of Kcnma1 mRNA expression in the dentate gyrus of epileptic rats. Neuroreport. 2008;19(13): 1291–1294.

55. Vezzani A, Moneta D, Conti M, Richichi C, Ravizza T, De Luigi A. Powerful anticonvulsant action of IL-1 receptor antagonist on intracerebral injection and astrocytic overexpression in mice. PNAS. 2000; 97: 11534- 11539.

56. Häussler U, Bielefeld L, Froriep UP, Wolfart J, Haas CA. Septotemporal position in the hippocampal formation determines epileptic and neurogenic activity in temporal lobe epilepsy. Cereb. Cortex. 2012; 22(1): 26-36.

57. Sagar SM, Sharp FR, Curran T. Expression of c-fos protein in brain: metabolic mapping at the cellular level. sci. 1988; 240(4857): 1328-1331.

58. Morgan JI, Curran T. Stimulus-transcription coupling in the nervous system: involvement of the inducible proto-oncogenes fos and jun. Annu. Rev. Neurosci. 1991; 14: 421-451.

59. Curran T, Franza BR. Jr, Fos and Jun: the AP-1 connection Cell NLM. 1988; 55(3): 395-397.

60. Sheng M, Greenberg ME. The regulation and function of c-fos and other immediate early genes in the nervous system. Neuron. 1990; 4(4): 477-485.

61. Curran T, Morgan JI. Memories of fos. Bioessays. 1987; 7(6): 255-258.

62. Saffen DW, Cole AJ, Worley PF, Christy BA, Ryder K, Baraban JM. Convulsant-induced increase in transcription factor messenger RNAs in rat brain. PNAS. 1988; 85(20): 7795-7799.

63. Dragunow M, Faull R. The use of c-fos as a metabolic marker in neuronal pathway tracing. J Neurosci Methods. 1989; 29(3): 261-265.

64. Atik K, Recebli Z. Manyetik ve Elektrik Alanların Taşınımla Isı Geçişine Etkisinin Sayısal Olarak İncelenmesi. JEA Uludag University. 2009; 14: 1- 10

65. "Ampere yasası", https://tr.wikipedia.org/wiki/Amp. Erişim tarihi 17 Eylül 2022.

66. Koşalaylı İ. Elektro Manyetik Alanlar ve Bioenerji Olgusu. Pamukkale Univ Muh Bilim Derg. 2014; 20(8): 287-293

67. Gürses C, Özek S. Dirençli Jüvenil Myoklonik Epilepsilerde yavaş ardışık transkranyal manyetik stimulasyon kullanımının klinik ve eeg üzerine etkileri. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2018, İstanbul (Danışman: Prof. Dr. Rabia Candan Gürses)

68. Ruohonen J, Ilmoniemi RJ. Basic Physics and Design of Transcranial Magnetic Stimulation Devices and Coils. n Chokroverty S. ve Hallet, M. (2.nd ed.), Magnetic Stimulation in Clinical Neurophysiology, Philadelphia, Elsevier sci. 2005; p:117-135.

69. Alpay N, Karşıdağ Ç, Kükürt R. Transkranyal Manyetik Stimülasyon (TMS). Clin Res. 2005; 18(3):136-148

70. Yıldız S. dsPIC mikrodenetleyici tabanlı tekrarlanan transkraniyalmanyetik uyarım cihazının tasarımı ve yapımı. Gazi Üniversitesi Bilişim Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2009, Ankara (Danışman: Prof. Dr. Mustafa BURUNKAYA)

71. Tsuboyama M, Kaye HL, Rotenberg A. Review of Transcranial Magnetic Stimulation in Epilepsy. Clin Ther. 2020; 42(7), 1155–1168.

72. Choung JS, Kim JM, Ko MH, Cho DS, Kim M. Therapeutic efficacy of repetitive transcranial magnetic stimulation in an animal model of Alzheimer's disease. Sci Rep. 2021; 11(1): 437.

73. Iwabuchi SJ, Raschke F, Auer DP, Liddle PF, Lankappa ST, Palaniyappan L. Targeted transcranial theta-burst stimulation alters fronto-insular network and prefrontal GABA. NeuroImage. 2017; 146: 395–403.

74. Gersner R, Dhamne SC, Zangen A, Pascual-Leone A, Rotenberg A. Bursts of high-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS), together with lorazepam, suppress seizures in a rat kainate status epilepticus model. EBR. 2016; 62: 136-139.

75. Cacace AT, Hu J, Romero S, Xuan Y, Burkard RF, Tyler RS. Glutamate is down-regulated and tinnitus loudness-levels decreased following rTMS over auditory cortex of the left hemisphere: A prospective randomized single-blinded sham-controlled cross-over study. Hear Res. 2018; 358: 59–73.

76. Tripathi GM, Kalita J, Misra UK. Role of glutamate and its receptors in migraine

with reference to amitriptyline and transcranial magnetic stimulation therapy. Brain Res. 2018; 1696: 31–37.

77. Wu XQ, Zan GY, Ju YY, Chen TZ, Guo LB, Jiao DL, Jiang HF, Deng YZ, Liu JG, Zhao M. Low-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation inhibits the development of methamphetamine-induced conditioned place preference. Behav Brain Res. 2018; 353: 129–136.

78. Clarke RA, Lee S, Eapen V. Pathogenetic model for Tourette syndrome delineates overlap with related neurodevelopmental disorders including Autism Transl. 2012; 2(9): e158.

79. Ramamoorthi K, Lin Y. The contribution of GABAergic dysfunction to neurodevelopmental disorders. Trends Mol Med. 2011; 17(8): 452–462.

80. Keskil IS, Keskil ZA, Canseven AG, Seyhan N. No effect of 50 Hz magnetic field observed in a pilot study on pentylenetetrazol-induced seizures and mortality in mice. Epilepsy Res. 2001; 44(1): 27–32.

81. Komaki A, Khalili A, Salehi I, Shahidi S, Sarihi A. Effects of exposure to an extremely low frequency electromagnetic field on hippocampal long-term potentiation in rat. Brain Res. 2014; 1564: 1–8.

82. Selcher JC, Xu W, Hanson JE, Malenka RC, Madison DV. Glutamate receptor subunit GluA1 is necessary for long-term potentiation and synapse unsilencing, but not long-term depression in mouse hippocampus. Brain Res. 2012; 1435: 8–14.

83. Gümüşay M, Gülbağça F, Aydemir I, Sayğılı S, Kayal A, Tuğlu M. Sıçan Derisinde Oluşturulan Yara Modeli Üzerinde İyileşme Sağlanması için Elektromanyetik Alan Sistemi Geliştirilmesi ve Sensör Uygulaması. IEEE. 2016; 978: 5090-2386

84. Marangoz C. Epilepsi Modelleri. J Exp Clin Med. 1997; 14(3).

70. Dhir A. Pentylenetetrazol (PTZ) kindling model of epilepsy. Curr Protoc Neurosci. 2012; 58(1): 9-37.

85. Racine R.J. Modification of seizure activity by electrical stimulation. II. Motor seizure. Electroencephalogr Clin Neurophysiol. 1972; 32(3): 281–294.

86. Akyüz E. A New View of The Racine Scoring System in The Pentylenetetrazol Epilepsy Model. 2020; 17(2): 306-310

87. Doganyigit Z. Investigation of protective effects of apilarnil against lipopolysaccharide induced liver injury in rats via TLR 4/ HMGB-1/ NF-kappaB pathway. Biomed Pharmacother. 2020, 125: p. 109967.

88. Tambe R. Antiepileptogenic effects of borneol in pentylenetetrazole-induced kindling in mice. Naunyn-Schmiedeb Arch Pharmacol. 2016. 389(5): 467-75.

89. Arslan D. Effects of Ecballium elaterium on brain in a rat model of sepsis-associated encephalopathy. LJM. 2017; 12(1): p. 1369834.

90. Zhang XM, Kimura Y, Inui M. Effects of phospholipids on the oligomeric state of phospholamban of the cardiac sarcoplasmic reticulum. Circulation. 2005; 69(9): 1116-1123.

91. Rotenberg A, Muller P, Birnbaum D, Harrington M, Riviello JJ, Pascual-Leone A, Jensen, FE. Seizure suppression by EEG-guided repetitive transcranial magnetic stimulation in the rat. Clinical neurophysiology: Clin Neurophysiol Pract. 2008; 119(12): 2697–2702.

92. Badawy RA, Strigaro G, Cantello R. TMS, cortical excitability and epilepsy: the clinical impact. Epilepsy Res. 2014; 108(2): 153–161.

93. Gersner R, Dhamne SC, Zangen A, Pascual-Leone A, Rotenberg A. Bursts of high-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS), together with lorazepam, suppress seizures in a rat kainate status epilepticus model. EBR. 2016; 62: 136-139.

94. Dong L, Zheng Y, Li ZY, Li G, Lin L. Modulating effects of on-line low frequency electromagnetic fields on hippocampal long-term potentiation in young male Sprague-Dawley rat. J Neurosci Res. 2018; 96(11): 1775–1785.

95. Du W, Bautista JF, Yang H, Diez-Sampedro A, You SA, Wang L, Kotagal P, Lüders HO, Shi J, Cui J, Richerson GB, Wang QK. Calcium-sensitive potassium channelopathy in human epilepsy and paroxysmal movement disorder. Nat Genet. 2005; 37(7): 733–738.

96. Shirazi-zand Z, Ahmad-Molaei L, Motamedi F, Naderi N. The role of potassium BK channels in anticonvulsant effect of cannabidiol in pentylenetetrazole and maximal electroshock models of seizure in mice. EBR. 2013; 28(1): 1–7.

97. Shin DS, Samoilova M, Cotic M, Zhang L, Brotchie JM, Carlen PL. High frequency stimulation or elevated K+ depresses neuronal activity in the rat entopeduncular nucleus. Neurosci. 2007; 149(1): 68–86.

98. Wang F, Zhang Y, Wang L, Sun P, Luo X, Ishigaki Y, Sugai T, Yamamoto R, Kato N. Improvement of spatial learning by facilitating large-conductance calcium-activated potassium channel with transcranial magnetic stimulation in Alzheimer's disease model mice. Neuropharmacology. 2015; 97: 210–219.

99. M. Erdtmann-Vourliotis U, Riechert P, Mayer G, Grecksch VJBr Höllt. Pentylenetetrazole (PTZ)-induced c-fos expression in the hippocampus of kindled rats is suppressed by concomitant treatment with naloxone. NLM. 1998; 792: 299-308.

100. Malhi SM, Jawed H, Hanif F,Ashraf N, Zubair F, Siddiqui BS, Begum S, Kabir N, Simjee SU. Modulation of c-Fos and BDNF protein expression in pentylenetetrazole-kindled mice following the treatment with novel antiepileptic compound HHL-6, Biomed Res Int. 2014; 876712.

101. Burger T, Lucova M, Moritz RE, Oelschlager HH, Druga R, Burda H, Wiltschko W, Wiltschko R, Nemec P. Changing and shielded magnetic fields suppress c-Fos expression in the navigation circuit: input from the magnetosensory system contributes to the internal representation of space in a subterranean rodent, J R Soc Interface 7. 2010; 1275-1292

102. Smadar Y, Asher S, Meir S, Zeev S, Dror F. Weak Magnetic Field at 16 Hz Affects Cardiac Myocyte Ca2+ Transients and Reduces Cells Damage Caused by Hypoxia. J Opt. 2011; 5: 33-39.

# 9. ÖZGEÇMİŞ

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ**
**DİCLE ÜNİVERSİTESİ**
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

| | | | |
|---|---|---|---|
| **Adı** | Emrah | **Soyadı** | OĞRAŞ |
| **Doğum Yeri** | | **Doğum Tarihi** | |
| **Uyruğu** | | **Tel** | |
| **E-posta** | | | |

## EĞİTİM DÜZEYİ

| | **Mezun Olduğu Kurumun Adı** | **Mezuniyet Yılı** |
|---|---|---|
| **Lisans** | | |
| **Lise** | | |

## İŞ DENEYİMİ

| **Görevi** | **Kurum** | **Süre (Yıl - Yıl)** |
|---|---|---|
| | | |

| **Yabancı Dil Sınav Notu** | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ÜDS/YDS | YÖKDİL | TIPDİL | TOEFL IBT | TOEFL PBT | TOEFL CBT | FCE | CAE | CPE |
| | | | | | | | | |

| | **Sayısal** | **Eşit Ağırlık** | **Sözel** |
|---|---|---|---|
| **ALES Puanı** | | | |

# 10. EKLER

## 10.1. Etik Kurul Raporu

T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
PROF.DR. SABAHATTİN PAYZIN SAĞLIK BİLİMLERİ
ARAŞTIRMA VE UYGULAMA MERKEZİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU (DÜHADEK)

**ETİK KURULU KARARI**

| TOPLANTI TARİHİ | 04/11/2020 | KARAR NO | 7 | TOPLANTI SAYISI | 7 |
|---|---|---|---|---|---|

**KARAR :** Dicle Üniveritesi Tıp Fakültesi Biyofizik Ana Bilim Dalı Prof. Dr. Mehmet Zülkif AKDAĞ' ın yürütücüsü olduğu, Emrah OĞRAŞ, Enes AKYÜZ, İrem KÜLLÜ, Züleyha DOĞANYİĞİT, Prof. Dr. Veysi AKPOLAT' ın yardımcı araştırmacı olarak görev yaptığı **"Deneysel epilepsi modelinde kronik manyetik alan uygulanan sıçanlarda potasyum kanallarının moleküler analizi."** başlıklı ve **2020/38** protokol numaralı çalışma; Etik kurulumuzca görüşülmüş olup, araştırmanın oy birliği ile desteklenmesine karar verilmiştir.

| | Türü | Cinsiyeti | Sayısı | Yaşı |
|---|---|---|---|---|
| Deney Hayvanının | Wistar Albino | Erkek | 30 | 12-16 / 280-380 gr |

**KATILIMCILARIN**

| ÜNVANI | ADI SOYADI | GÖREVİ | İMZA |
|---|---|---|---|
| Prof. Dr. | Beran YOKUŞ | (BAŞKAN) | |
| Prof. Dr. | Ayşe MEŞE | (ÜYE) | |
| Doç. Dr. | Selçuk TUNİK | (ÜYE) | |
| Doç. Dr. | Ramazan DEMİREL | (ÜYE) | |
| Doç. Dr. | Mehmet Erdem AKBALIK | (ÜYE) | |
| Doç. Dr. | Mehmet Hüseyin ALKAN | (ÜYE) | |
| Doç. Dr. | Ulaş ALABALIK | (ÜYE) | |
| Doç. Dr. | Feray ALTAN | (ÜYE) | |
| Dr. Öğr. Üyesi | Ersin UYSAL | (ÜYE) | |
| Dr. Öğr. Üyesi | Elif VARHAN ORAL | (ÜYE) | |
| Dr. Öğr. Üyesi | Akın KOÇHAN | (ÜYE) | |
| Dr. Öğr. Üyesi | Selim KARAHAN | (ÜYE) | |
| Öğr. Gör. | Ömer Faruk KATANALP | (ÜYE) | |
| Avukat | Abdullah YAVUZ | (ÜYE) | |
| Öğretmen | M. Yavuz KAHRAMAN | (ÜYE) | |

KYK-FRM-387/00

**İletişim:** DÜBTAM binası, Zemin Kat, DÜSAM laboratuvarları (İlahiyat Fak. Karşısı) 21280 Sur /DİYARBAKIR
**E-posta:** dusam@dicle.edu.tr**Sekreterya:** 0 412 248 8431 (3956) **Vet.Hekim:** 0 412 2488001-16 hat (4423)

## 11. ORİJİNALLİK RAPORU

Emrah Tez

ORİJİNALLİK RAPORU

| %21 | %21 | %4 | %6 |
|---|---|---|---|
| BENZERLİK ENDEKSİ | İNTERNET KAYNAKLARI | YAYINLAR | ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ |

BİRİNCİL KAYNAKLAR

| | | |
|---|---|---|
| 1 | acikbilim.yok.gov.tr<br>İnternet Kaynağı | %8 |
| 2 | acikerisim.dicle.edu.tr<br>İnternet Kaynağı | %2 |
| 3 | abis-files.marmara.edu.tr<br>İnternet Kaynağı | %1 |
| 4 | acikerisim.selcuk.edu.tr:8080<br>İnternet Kaynağı | %1 |
| 5 | docplayer.biz.tr<br>İnternet Kaynağı | %1 |
| 6 | tipdergisi.bozok.edu.tr<br>İnternet Kaynağı | %1 |
| 7 | acikerisim.sakarya.edu.tr<br>İnternet Kaynağı | %1 |
| 8 | 9lib.net<br>İnternet Kaynağı | <%1 |
| 9 | NEPHAN, Gülay, KARABULUT, Sezin, BOLKENT, Sema and COŞKUN, Zeynep Mine. "Dipeptidil peptidaz-4 inhibitörü-sitagliptin uygulanan Tip | <%1 |