

T.C.

KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**NEONATAL DÖNEMDE KAFEİN UYGULANIMININ NÖBET MODELLERİNDE
ELEKTROENSEFALOGRAFİK VE DAVRANIŞSAL ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Zeynep İkbal DOĞAN

Kocaeli Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
Fizyoloji Yüksek Lisans Programı için Öngördüğü
BİLİM UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.

Danışman: Doç.Dr. Gül İLBAY

Kocaeli Üniversitesi
Bilimsel Araştırma Projeler Koordinasyon (BAP) Birimi

Proje No: 2016/32

KOÜ HADYEK 7 / 1 - 2016
KOCAELİ
2018

TC

KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Tez Adı: Neonatal Dönemde Kafein Uygulanımının Nöbet Modellerinde Elektroensefalografik ve Davranışsal Etkilerinin Araştırılması

Tez Yazarı: Zeynep İkbal DOĞAN

Tez Savunma Tarihi: 11/06/2018

Tez Danışmanı : Doc. Dr. Gül İLBAY

İş bu çalışma, Jürimiz tarafından Fizyoloji Anabilim Dalında YÜKSEKLİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

SINAV KURULU ÜYELERİ

ÜNVAN	ADI SOYADI
BAŞKAN	Prof. Dr. Nurbay ATEŞ
ÜYE (DANIŞMAN)	Doc. Dr. Gül İLBAY
ÜYE	Prof. Dr. Hale SAYAN

İMZA

Onay

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

.... /.... /2018

Prof. Dr. Sema AŞKIN KEÇELİ
KOÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖZET

Neonatal Dönemde Kafein Uygulanımının Nöbet Modellerinde Elektroensefalografik ve Davranışsal Etkilerinin Araştırılması

Amaç: Kafein, yenidoğan tıbbında özellikle prematüre bebeklerde apne ataklarının tedavisinde kullanılmaktadır. Yenidoğan kafein tedavisinin adenozerjik nöromodülasyonu değiştirdiğini ve bu değişimin erişkinliğe kadar devam ettiğini gösteren kanıtlar mevcuttur. Adenozin, epileptik nöbetlerde önemli rol oynayan bir nöromodülatördür. Birkaç çalışma, nöbet duyarlılığının erken dönem kafein tedavisinin bir sonucu olarak modifiye edilebileceğini göstermiştir. Biz çalışmamızda ise Wistar Albino Glaxo / Rijswij (WAG / Rij) sıçanlarda erken kafein uygulamasının absans epilepsi, depresyon ve tonik-klonik nöbet aktivitesi üzerindeki etkilerini araştırmayı planladık. Ayrıca, kafein uygulamasının neden olduğu sıçan beyin korteksindeki lipid ve protein moleküllerindeki değişiklikleri saptamayı amaçladık.

Yöntem; Günlük 10 mg/kg ve / veya 20 mg/kg'lık bir dozda kafein tedavisi, doğum sonrası 7-11. günler arasında i.p. olarak yapıldı. Kontrol grubundaki sıçan yavrularına salin enjeksiyonu (1mg / kg) yapıldı. Hayvanlar yetişkin döneme geldiğinde davranış testlerine (lokomotor aktivite testi, sakaroz tercih testi ve zorunlu yüzme testi) alındı ve takiben EEG kayıtları yapıldı. Dört saat boyunca DDD 'lerin süresi ve sayısı kaydedildi. Daha sonra, jeneralize tonik-klonik aktiviteyi değerlendirmek için aynı WAG / Rij sıçanlara PTZ (50mg / kg i.p.) enjekte edildi. Ayrıca, neonatal kafeine maruz kalan farklı sıçanlarda prefrontal korteksin nöron membranlarının yapısı ve içeriği FT-IR spektroskopisi ile araştırıldı.

Bulgular; Yüksek dozda kafein DDD' lerin sayısını ve süresini farklı şekilde etkiledi. Kafein tedavisi alan gruptaki sıçanlarda, kontrol grubu sıçanlarında gözlemlenenden daha az DDD görüldü ve DDD' lerin ortalama süresinin kontrol grubu sıçanlarına kıyasla arttığı saptandı. Her iki doz kafein tedavisi alan WAG / Rij sıçan gruplarında sukroz tercih testinde ve zorunlu yüzme testinde depresyon benzeri

davranışların azaldığı görüldü. Kafein tedavisine alınan sıçan beyninde salin enjekte edilen sıçanın beynine kıyasla, prefrontal kortikal nöron membranlarındaki lipit ve protein içeriğinin azaldığı gözlemlendi. Kafein tedavileri, PTZ'nin neden olduğu jeneralize tonik-klonik nöbet aktivitesini değiştirmedir.

Sonuç; Sonuçlarımızdan hareketle erken dönem kafein uygulananın erişkinlikteki absans nöbetleri ve depresyon benzeri davranışları etkileyebilmektedir. Membran lipitlerinin ve kortikal nöronların proteinlerinin moleküler organizasyonu da etkilenmiştir. Bu bulgular, erken dönem kafein uygulananın uzun süreli nörokimyasal ve davranışsal tepkilere neden olduğunu desteklemektedir.

Anahtar Sözcükler : Absans, Adenozin, Depresyon, Kafein, Nöbet

ABSTRACT

INVESTIGATION OF ELECTROENCEPHALOGRAPHIC AND BEHAVIORAL EFFECTS OF NEONATAL CAFFEINE ADMINISTRATION ON SEIZURE MODELS

Objective; Caffeine is used in neonatal medicine, in particular, the treatment of apneic episodes in premature infants. There is evidence that neonatal caffeine treatment alters adenosinergic neuromodulation and this change persists until adulthood. Adenosine is a neuromodulator which plays important role in epileptic seizures. Few studies demonstrated that seizure susceptibility could be modified as a consequence of early caffeine treatment. In our study, we planned to investigate the affects of early caffeine administration on absence epilepsy, depression and tonic-clonic seizure activity in Wistar Albino Glaxo/Rijswij (WAG/Rij) rats. We also aimed to detect changes in lipid and protein molecules in rat brain cortex induced by caffeine administration.

Methods: Caffeine treatment at a daily dose of 10mg/kg and/or 20mg/kg, i.p. was performed during post natal day 7-11. Control rat pups received saline (1mg/kg). In adulthood, animals were submitted to behavioral testing (locomotor activity test, sucrose preference test and forced swimming test) followed by EEG recordings. The duration and number of SWDs were recorded for four hours. Then, same WAG/Rij rats were injected with PTZ (50mg/kg i.p.) to asses generalized tonic-clonic activity. In addition, structure and content of the neuron membranes of prefrontal cortex in different rats exposed to neonatal caffeine were investigated by FT-IR spectroscopy.

Results: The higher dose of caffeine influenced number and duration of SWDs differently. Caffeine treatment resulted in less SWD than observed in control rats, while the mean duration of SWD increased compared to control rats. Both caffeine treatment attenuated depression like behaviours in WAG/Rij rats shown in sucrose preference test and forced swimming test. Declines in content of lipids and proteins

in prefrontal cortical neuron membranes of caffeine -injected rat brain were observed when compared to saline -injected rat's brain. Caffeine treatments did not alter PTZ-induced generalized tonic-clonic seizure activity.

Conclusion: From the our results, we conclude that neonatal caffeine administration is able to influence absence seizures and depression like behaviours in adulthood. The molecular organization of membrane lipids and proteins of cortical neurons was also affected. These findings support the neonatal administration of caffeine lead to long-lasting neurochemical and behavioral responses.

Key Words; Absence, Adenosine, Depression, Caffeine, Seizure

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim süresince bilgi ve tecrübeleri ile katkıda bulunan fizyoloji anabilim dalı başkanı Prof. Dr. Nurbay ATEŞ'e

Tez çalışmalarım ve doktora eğitimim süresince bana her türlü imkanı sağlayan, her zaman destek olan, cesaretlendiren ve bütün zor anlarımda yanımda olan değerli danışman hocam Doç.Dr. Gül İLBAY'a

Yüksek lisans eğitimim süresince bilgilerini benimle paylaşan fizyoloji anabilim dalı öğretim üyeleri hocalarıma

Tez çalışmam süresince çalışmalarına destek olan Fen Edebiyat Fakültesi öğretim üyesi Dr. Sevgi TÜRKER KAYA'ya

Deneysel çalışmalarım esnasında hoşgörü ve desteklerini benden esirgemeyen Deneysel Tıp ve Uygulama Birimi (DETAB)'ın öğretim üyelerine

Çalışmalarım süresince bana yardımcı olan değerli arkadaşlarım Fazilet DEDE ve Tuba ŞAHİN 'e

Eğitimim süresince gösterdikleri destek, anlayış ve hoşgörü için sayın Aymen BALIKÇI ve iş arkadaşlarıma

Beni eğitim hayatım boyunca destekleyen ve yanımda olan aileme

Ve emeği geçen herkese teşekkürlerimi sunarım.

Fzt. Zeynep İkbâl DOĞAN

Kocaeli, Mayıs 2018

TEZİN AŞIRMA OLMADIĞI BİLDİRİSİ

Tezimde başka kaynaklardan yararlanılarak kullanılan yazı, bilgi, çizim, çizelge ve diğer malzemeler kaynakları gösterilerek verilmiştir. Tezimin herhangi bir yayından kısmen ya da tamamen aşırma olmadığını ve bir İntihal Programı kullanılarak test edildiğini beyan ederim.

/ / 2018

Zeynep İkbāl DOĞAN

İmza

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY

ÖZET

ABSTRACT

TEŞEKKÜR

TEZİN AŞIRMA OLMADIĞI BİLDİRİSİ

İÇİNDEKİLER

SİMGELER VE KISALTMA DİZİNİ

ÇİZİMLER DİZİNİ

ÇİZELGELER DİZİNİ

1. GİRİŞ

1.1. EPİLEPSİ

1.1.1. Epilepsinin Tanımı

1.1.2. Epilepsiler ve Nöbetlerin Sınıflandırılması

1.1.3. Patofizyoloji

1.1.4. Çocukluk Absans Epilepsisi

1.1.5. Komorbidler

1.1.6. Absans Epileptojenez Modeli Olarak Wag/Rij Sıçanlar

1.2. KAFEİN VE ADENOZİN

1.2.1. Kafein, Adenozin ve Epilepsi

1.2.2. Doğum Sonrası Kafein Uygulaması ve Erişkinlikte Nöbet Duyarlılığı

1.2.3. Kızılötesi Spektroskopisi

1.2.4. Fourier Dönüşüm Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi

2. AMAÇ

3. YÖNTEM

3.1. Davranış Testleri

3.3.1. Lokomotor Aktivite Testi

3.3.2. Sukroz Tüketimi Testi

3.3.3. Zorunlu Yüzdürme Testi

3.3.4. Elektoroensefalogram (EEG)

3.3.5. Nöbet Duyarlılığı

3.3.6 FT-IR ve FT-IR Spektrum Analizi

3.3.7.İstatistiksel Analiz

4.BULGULAR

4.1. Zorunlu Yüzdürme Testi

4.2. Sükroz Tercihi Testi

4.3. Lokomotor Aktivite

4.4. EEG Bulguları

4.5. Nöbet Duyarlılığı

4.6. FT-IR Bulguları

5. TARTIŞMA

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

KAYNAKLAR DİZİNİ

ÖZGEÇMİŞ

ETİK KURUL

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

GABA : Gamma - Aminobütirik Asit

GABA-A: Gamma - Aminobütirik Asit Reseptörü

ILAE : Uluslararası Epilepsi İle Savaş Komisyonu

GAERS : Strasbourg 'Dan Genetik Absans Epilepsili Ratlar

WAG/Rij : Wistar Albino Glaxo/Rij - Rat

EEG : Elektroensefalografi

DDD : Diken Dalga Deşarjı

PTZ : Pentilentetrazol

IR: Kızılötesi

ATPaz : Adenozin Trifosfataz

DRN: Dorsal Raphe Nukleus

FT-IR: Fourier Dönüşüm Kızılötesi Spektroskopisi

AR : Adenozin Reseptörü

A1 : Adenozin A1 Reseptörü

A2 : Adenozin A2 Reseptör

A2A: Adenozin A2A Reseptörü

NMDA : N - Metil - D - Aspartik Asit

KBr: Potasyum Bromür

CH₂ : Propil

CH₃ : Metil

5-HT: Hydroxytryptamin

ÇİZİMLER DİZİNİ

- Çizim 1.1 :.....Epileptik Nöbetler
- Çizim 1.2... :.....ADO Nöronal Maturasyon, Disfonksiyon & Hastalık
- Çizim 1.3 :.....Kafeinin Etki Mekanizmaları ve Adenozin Reseptörleri
- Çizim 1.4:.....IR emilim spektrumunda titreşim hareketleri (Marcelli 2012)
- Çizim 1.5:.....FTIR spektroskopisinin çalışma prensibi
- Çizim 3.1.Zorunlu Yüzdürme Test Görüntüsü
- Çizim3.2..... EEG Kaydı görüntüsü
- Çizim 4.1 :..... İmmobilite latansı süresi değerleri grafiksel gösterimi
- Çizim 4.2 :İmmobilite süresi değerleri grafiksel gösterimi
- Çizim 4.3:Aktif yüzme süresi değerleri grafiksel gösterimi
- Çizim 4.4:.....Sukroz tercihi değerlerinin grafiksel gösterimi
- Çizim 4.5:.....Sukroz tüketimleri değerlerinin grafiksel gösterimi
- Çizim 4.6 :.....Lokomotor aktivite mesafe değerleri grafiksel gösterimi
- Çizim 4.7:.....Lokomotor aktivite ambulasyon değerleri grafiksel gösterimi
- Çizim 4.8:...Lokomotor aktivite stereotipik hareket değerleri grafiksel gösterimi
- Çizim 4.9:.....DDD sayılarının karşılaştırılması grafiksel gösterim
- Çizim 4.10:.....DDD süresinin karşılaştırılması grafiksel gösterim
- Çizim 4.11:.....Toplam nöbet süreleri karşılaştırılması grafiksel gösterim
- Çizim 4.12:.....EEG Kaydı görüntüsü
- Çizim 4.13..... ilk miyoklonik jerk süresi karşılaştırılması grafiksel gösterim
- Çizim 4.14:Jeneralize tonik klonik nöbet süresi karşılaştırılması grafiksel gösterim
- Çizim 4.15:.....Jeneralize tonik klonik nöbet skoru karşılaştırılması grafiksel gösterim

Çizim 4.16..... Kontrol (siyah), kafein 10 mg/kg (mavi) ve kafein 20 mg/kg (kırmızı) grubundaki dokularına ait 3050-2800 cm^{-1} dalga sayısı aralığındaki spektrumları

Çizim 4.17:.... Kontrol (siyah), kafein 10 mg/kg (mavi) ve kafein 20 mg/kg (kırmızı) grubundaki dokularına ait 1800-900 cm^{-1} dalga sayısı aralığındaki spektrumları.

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.4:....Kızılötesi spektral bölgeleri (Smith 1999).

Çizelge 4.1:....Kontrol ve kafein gruplarının başlıca fonksiyonel gruplarının alan değerleri (Değerler, ortalama \pm standart sapma olarak verildi. İstatistiksel olarak anlamlılık derecesi $p < 0,05$ şeklinde gösterildi.)

Çizelge 4.2:....Sıçan prefrontal korteksi IR spektrumundaki başlıca soğurmaları

GİRİŞ

1.1 EPİLEPSİ

1.1.1. Epilepsinin Tanımı

“Epilepsi” beyindeki sinir hücrelerinin aşırı, hipersenkron deşarjı sonucunda oluşan nörolojik işlevdeki paroksizmal değişikliklerdir. “Epileptik nöbet” anormal nöronal ateşlemeden kaynaklanan bir nöbeti psikojenik bir nöbet gibi epileptik olmayan bir olaydan ayırmak için kullanılır. “Epilepsi” provoke edilmeyen tekrarlayıcı nöbetlerin görüldüğü bir durumdur. Epilepsi beyinde, altta yatan beyin fonksiyon bozukluğunu yansıtan bir çok sebepten dolayı ortaya çıkar. Geri dönüşümlü bir olay ile uyarılan bir nöbet (ateş, hipokalsemi vb.) epilepsi tanımının içine girmez. Çünkü kronik bir durum olmayıp kısa süreli, ikincil bir durumdur. “Epilepsi Sendromu” başlangıç yaşı, elektroansefalogram (EEG) bulguları, tetikleyen faktörler, prognoz ve antiepileptik ilaçlara duyarlılık gibi sürekli olarak birlikte görülen bir grup klinik özelliği ifade eder.

Epilepsi en yaygın görülen nörolojik durumlardan birisidir. Popülasyonun % 1 epilepsiden etkilenir ve epilepsi hastalarının üçte biri tedaviye dirençlidir. Epilepsinin %75 i çocukluk döneminde başlar ve bu durum gelişen beyin nöbete duyarlılığını yansıtır (Stafstrom ve Carmant 2015, Shorvon 2011).

1.1.2.Epilepsiler ve Nöbetlerin Sınıflandırılması

Uluslararası Epilepsi İle Savaş Komisyonu’nun son epilepsi ve epileptik nöbet sınıflamasına göre nöbetler 3 kategoriye ayrılmaktadır (Çizim 1.1). Jeneralize Nöbetler, Parsiyel (fokal) Nöbetler ve Epileptik Spazmlar (Stafstrom ve Carmant 2015). Parsiyel nöbetler serebral hemisferlerden birisinin bir kısmındaki nöronal ağdan köken alır. Jeneralize nöbetler çift taraflı nöronal ağdan başlarlar.

Epileptik Nöbetler		
Jeneralize Nöbetler	Fokal Nöbetler	Epileptik Spazmlar
Tonik-Klonik		
Absans ◆ Tipik ◆ Atipik		
Miyoklonik		
Atonik		

Çizim:1.1 Epileptik Nöbetler

Bir nöbet fokal olarak başlayabilir ve sonra jeneralize hale gelebilir. Nöbetler korteks ya da subkortikal yapılardan başlayabilir. Detaylı bir hasta hikayesi ve EEG bulgusu ile yardımcı bilgiler sayesinde nöbet ya da epilepsi kategorize edilebilir. Jeneralize nöbetlerin alt tipleri absans, jeneralize tonik-klonik, miyoklonik ve atoniktir.

Absans nöbetler (petitmal) dışarıdan sözel uyarılara cevap vermemeyi, istemsiz göz ve baş hareketlerini içerir. Jeneralize tonik klonik nöbetler (grandmal) bilinç kaybının da eşlik ettiği çift taraflı konvülsif ekstremite hareketlerinden oluşur. Miyoklonik nöbetler ani, kısa hareketlerden oluşurlar fakat bilinç kaybı yoktur. Kısa istemsiz kasılmalar bir ya da birkaç kası etkileyebilir. Bu nedenle miyoklonik nöbetler jeneralize ya da fokal olabilirler. Atonik nöbetler vücut tonusunun kaybını kapsar ki sonuçta baş kontrolü kaybedilebilir ve birey düşebilir.

Epilepsiler başlangıç yerlerine göre jeneralize ya da spesifik kortikal lokalizasyonlu, etiyolojilerine göre semptomatik ve idiopatik sınıflandırılmışlardır. Ayrıca yeni klasifikasyonlar da yapılmaktadır (Stafstrom ve Carmant 2015).

1.1.3. Patofizyoloji

Bir nöbet “ beyindeki inhibisyon ve eksitasyon arasındaki normal dengenin bozulması durumunda oluşur ” şeklinde kavramsallaştırılabilir. Uyarılma ve baskılanma dengesi beyin fonksiyonlarındaki birçok değişiklikten (genetik veya hücre sinyali kaskatlarındaki bozukluklar) kaynaklanabilir. Uyarılma ve baskılanma dengesini değiştiren faktörler genetik ya da sonradan kazanılmış olabilir. Epilepsiye yol açan genetik patolojiler döngü seviyesinden reseptör seviyesine herhangi bir yerde meydana gelebilir. Kortikal plaziddeki anormal sinaptik bağlantılar, anormal GABA (Gamma - Aminobütirik Asit) reseptör alt üniteleri gibi. İyon kanallarındaki anormallikler de genetik epilepsilere yol açabilir. Benzer şekilde sonradan geçirilmiş serebral olaylar döngü fonksiyonunu değiştirebilir. Ateş ya da kafa travmalarından sonra hipokampal döngülerdeki yapısal değişiklikler buna örnek verilebilir. Gelişen bir beyin birçok fizyolojik sebepten dolayı nöbete yatkındır. Normal gelişen beyinde uyarıcı sinapslar inhibitör sinapslardan önce gelişir. Bu da eksitasyon artışı ve nöbete neden olabilir. (Stafstrom ve Carmant 2015 , Berkovic 2015). Ayrıca erken yaşamda nörotransmitter GABA inhibisyonundan çok eksitasyon yapar. Bu gözlemler kısmen de olsa genç beyinlerin nöbete yatkınlığını ortaya koyar. Ancak nöbet gelişmekte olan beyinlerde erişkin beyinlerine göre daha az yapısal hasara neden olur. (Stafstrom ve Carmant 2015, Pitkänen et al. 2015).

Son zamanlarda epilepsi sendromunun genetik temeli hakkında yeni bilgiler yayınlanmıştır. Monojenik ve patojenik mutasyonlar epilepsiye yol açabilmektedir. Pek çok epilepsi multiple gen defektlerinin olduğu kompleks genetik temele sahiptir. Bu da hücrel eksitasyonların değiştirerek epilepsiye neden olabilir.

1.1.4. Çocukluk Absans Epilepsisi

Absans nöbetler bakışın bir noktaya sabitlenmesi (dalma) ve cevap verilebilirliğin azalmış olması ile karakterizedir. Absans nöbetler çocukluk absans epilepsisi ve miyoklonik epilepsiler de dahil olmak üzere epilepsi sendromlarının bir parçası olabilir.

“ Absans ” nöbet tipi ve epilepsi sendromunu ifade eder. Çocukluk Absans Epilepsisi 4 ile 10 yaş arasında görülmeye başlar. Nöbetler sonlandığında bireyler nöbet başlamadan önceki aktivitelerine geri dönerler. Nöbetler ani olarak başlar ve genellikle 5-20 sn sürer. Absans nöbetler kısa ve nonkonvülsif olduklarından dolayı gözden kaçırılabilirler ya da yanlış olarak tanılanabilirler. Absans nöbetlerin sıklığı gün içerisinde birkaç taneden yüzlerce nöbete kadar çıkabilir. Tipik absans nöbetleri olan çoğu çocuk nörolojik ve zeka düzeyi açısından normal olmasına rağmen okul performansları düşük olabilir. Absans epilepside bazal EEG normaldir ancak nöbete 3-Hz jeneralize diken dalga kompleksi eşlik eder. Absans nöbetler patofizyolojisi değişmiş talamokortikal döngü işlevlerini içerir. Talamik relay nöronlar kalsiyum kanal bozukluklarına bağlı olarak anormal deşarj yaparlar. Düşük eşikli kalsiyum iyon kanallarını bloke eden ilaçlar tedavide etkilidir. (Stafstrom ve Carmant 2015, Coulter et al. 1989). Çocukların %75’ inde absans nöbetler adolesan dönemde ortadan kalkmaktadır.

1.1.5. Komorbiditeler

Epilepsi spontan tekrarlayıcı nöbetlerden daha fazlasıdır ve bir hastalık spektrumu olarak düşünülmelidir. Bir çok hasta için beraberinde bazı durumlar da bulunabilir. Ör: Davranışsal psikiyatrik hastalıklar, anksiyete, öğrenme bozuklukları, depresyon, hiperaktivite bozuklukları ve otizm.

Önceleri bu komorbiditelerin kontrol edilemeyen nöbetlere ya da tedavinin yan etkilerine bağlı olduğu kabul edilmiştir. Ama şimdilerde hastalığın bir parçası olarak kabul edilmektedir. (Stafstrom ve Carmant 2015, Brooks-Kayal et al.

2013). Tek bir nöbet bile reseptör ekspresyonunu ve dağılımını modifiye ederek nörogelişimi etkileyebilir. Bu durum nöronal ölüm olmaksızın kognitif ve davranışsal değişikliklere yol açabilir (Stafstrom ve Carmant 2015, Cornejo et al. 2007).

Depresyon psikiyatrik komorbidite olarak sıklıkla karşımıza çıkar. Depresyonla ilgili yapılar (hipokampus ve limbik sistem) epileptik döngülerde karşımıza çıkmaktadır. Epilepsi ve depresyon birlikteliği çift yönlüdür. Depresyonu olan epilepsi hastalarında daha sık dirençlilik görülür ve epilepsili hastalar depresyona girmeye daha eğilimlidirler. Epilepsili erişkin hastaların % 30' u depresyona da sahiptir. Epilepsi hastalarında tanısı zor olsa da anksiyete diğer bir komorbiditedir (Stafstrom ve Carmant, 2015).

Psikiyatrik olmayan komorbiditeler de mevcuttur. Epilepsili erişkinlerde kardiyovasküler ve solunumsal hastalıklar, diyabet, inflamasyon, obezite, baş ağrısı, migren, artrit daha yüksek olarak görülen durumlardır. (Stafstrom ve Carmant 2015, Strine et al. 2005). Ayrıca epilepsili kişiler ani ve erken ölüm açısından risk taşırlar (Stafstrom ve Carmant 2015, Surges ve Sander 2012).

1.1.6. Absans Epileptojenez Modeli Olarak Wag/Rij Sıçanlar

Wistar-Albino-Glaxo Rijswijk (WAG/Rij) sıçanlar absans epilepsinin genetik modeli olarak kullanılmaktadır. Bu ırktaki sıçanların hepsi 2-3 aylık olduktan sonra insan absans epilepsisine benzer şekilde kortikal EEG' de diken dalga deşarj ve eşlik eden davranış değişiklikleri (davranışlarda duraksamalar, solunumun hızlanması, bıyık hareketleri) göstermeye başlarlar. 6 aylık olduklarında ise tüm Wag/Rij sıçanlar saatte ortalama 16-20 tane DDD gösterirler (Van Luijtelaar ve Sitnikova 2006).

Wag/Rij Sıçanlarda Diken Dalga Deşarjlar tüm kortekste bilateral simetrik ve jeneralize şekildedir. Uykululuk hali ve uykunun “ light slow-wave sleep” evresinde Diken Dalga Deşarj oluşma eğilimi vardır. Wag/Rij sıçanlar ayrıca

absans nöbetlerin gelişimine eşlik eden kronik düşük dereceli depresyon için de model oluşturular.

Son zamanlarda Wag/Rij sıçanlar absans epileptojenезin potansiyel hayvan modeli olarak tanımlanmaktadır. Epileptojenез, sonuçta kronik epileptik durumun oluştuğu beyin dokusunun spontan nöbet gelişimi kadar spontan nöbetin gelişebilmesinin yapısal ve fonksiyonel özelliklerini de ifade eder (Russo, ve diğ. 2015, Pitkanen ve Engel 2014). Epileptojenезis latans süresi, ilk beyin olayı ile ilk spontan nöbetin görünümü arasındaki zamanı belirtir. Wag/Rij sıçanların 2 aylık olana kadar oldukları dönem “latent dönem” spontan absans nöbetlerinin gelişimi için gereken dönem olarak düşünölmektedir (Russo ve diğ. 2015, Pitkanen ve Lukasiuk, 2011). 2 ve 6 ay arasında ve hatta daha sonrasında absans nöbetlerin sayısının artışı düşünöldüğünde adaptif ve plastik değışiklikler devam etmektedir. EEG de kaydedilen dikenlerin epileptojenез sırasında oluşan hücresele değışiklikler sonucunda oluşmasının yanı sıra epileptik döngülerin ilave değışikliklere sebep olabileceği ileri sürölebilir.

Wag/Rij sıçan modelinde diken dalga deşarjları başlatan bölgenin somatoduyusal korteksteke perioral fasiyal bölgede lokalize, fokal bir bölge olduğu gösterilmiştir. Bundan dolayı bu ırkta absans nöbetlerin bilateral fokal orijini olduğu ileri sürölmüştür. Bu fokal epileptik alanların yüksek uyarılabilirliğinin genetik olarak belirlendiği ve yaşı ile ilerlemesiyle ortaya çıktığı ileri sürölmüştür. Bu alanlar daha sonra kortiko-talamo-kortikal ağda nöroadaptif değışiklikler başlatabilir. Diğer bir deyişle kortikal fokuslar DDD ‘leri başlatan ve devam ettiren plastik değışikliklerin oluşumunda sorumlu olabilirler (Russo ve diğ. 2014, Scicchitano ve diğ. 2004).

1.2. KAFEİN VE ADENOZİN

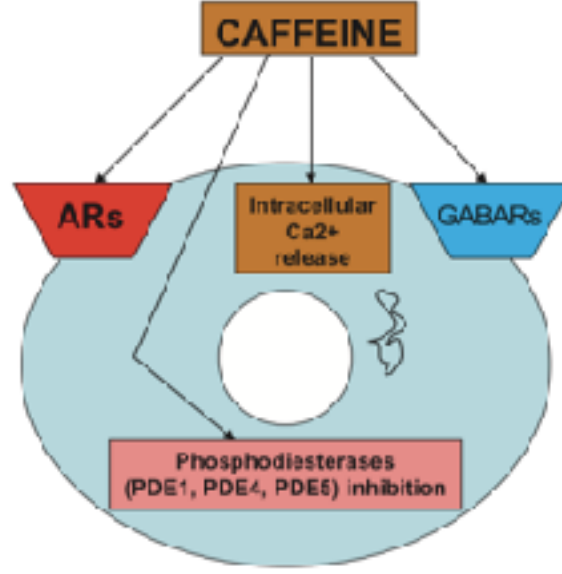
Kafein biyolojik etkilerinin çoğunu adenozin reseptörlerinin (AR) tümü üzerinden gösterir. Kafein adenozin reseptör antagonisti olarak etki gösterdiğinde ve akut olarak kullanıldığında adenozinerjik tonusun kalkmasına bağlı olarak adenozin reseptörlerinin aktivasyon durumunun tersini oluşturur. A1 ve A2A reseptörleri adenozin için yüksek afinite gösterirler ve endojen adenozinin tonik etkilerinden sorumludurlar.



Çizim 1.2 : ADO Nöronal Maturasyon, Disfonksiyon & Hastalık

Kafein esas olarak kahvede bulunur. Kahve çok az miktarda teofilin de içerir. Çay diğer bir yaygın kafein kaynağıdır. Kafein bütün AR'lere düşük afinitesinden ve farklı AR'lere selektivitesi zayıf olduğundan farmakolojik olarak yeterince faydalı değildir. Kafein bütün AR alt tiplerini antagonize eder, kafeinin akut ve kronik alımı AR'leri farklı ve hatta zıt şekilde etkiler. A1 ve A2A reseptörleri benzer afiniteye sahip olduklarından bir beyin bölgesinde akut kafein etkileri AR aktivasyonunun kaynaklanan adenozinerjik tonusun etkilenmesinden kaynaklanacaktır.

Adenozin reseptörleri A1 ve A2A reseptörlerinin yüksek afinitesinin yanında ayrıca yüksek afiniteli A3 reseptörleri ve düşük afiniteli A2B reseptörlerini de içerir. Ancak bu reseptörler beyinde zayıf eksprese olurlar ve kafeinin onlar üzerinden etkilerini gösteren çalışmalar az sayıdadır.



Çizim 1.3: Kafeinin Etki Mekanizmaları ve Adenozin Reseptörleri

Adenozin bütün hücrelerde bulunur ve bütün beyin hücrelerinde de yaygın dağılımı mevcuttur. Böyle yaygın bir sistemin herhangi bir oransızlığının nörolojik fonksiyon bozukluğuna yol açması beklenen bir durumdur (Çizim 1.2). Adenozin reseptör antagonisti kafein endojen adenozinin tonik aktivasyonundan kaynaklı etkilerini tüm reseptörleri antagonize ettiğinden geri çevirir. Böylece kafein adenozin gibi bütün beyin alanlarında güçlü etkiler gösterir.

Kafeinin yapısı 19. yy da Hermann Fischer tarafından ortaya konmuştur ve adenozine benzerdir. Kafein karaciğerde sitokrom P450 oksidaz enzim sistemi tarafından 3 dimetil ksantin'e çevrilir. Paraksantin lipolizi artırır, kanda gliserol ve yağ asitlerini yükseltir. Theobromin kan damarlarını genişletir ve idrar

miktarını arttırır. Teofilin düz kasları genişletir ve astım tedavisinde kullanılır. Ancak teofilin tedavi dozu toksik olmayan miktarlarda alınan kafein metabolizmasının sonucunda ortaya çıkan miktardan fazladır. Bu ksantinlerin herbiri ilave metabolizmalar sonucunda idrarla atılır. Adenozin sinapsları hassas bir ayarla düzenleyebilir. Reseptör aktivasyonu ile adenozin ince bir ayar oluşturduğunda kontrol sağlanmış olur. Örneğin kalsiyumu engelleyerek ya da diğer mekanizmalarla nörontransmitter salınımı kontrol edilir. Adenozinin sinaptik düzeyde diğer nöromodülatörlerin engellenmesi söz konusudur. AR antagonizmasının yanında kafein dahil ksantinler fosfodiesteraz inhibisyonu ile diğer biyolojik etkileri gösterirler (Çizim 1.3). Kalsiyumun hücre içi yapılardan salınımının kolaylaşması adenozinin etkilerine katkıda bulunabilir. GABA A reseptörleri üzerinden etkiler de söz konusudur. Ancak normalde insan tüketimindeki kafeininin düşük dozlarına bağlı olarak AR antagonizması üzerinden olan etkiler ile karşılaşılır. Emniyeti, AR reseptörleri antagonize etmesi ve kan beyin bariyerini kolaylıkla geçebilmesi, merkezi sinir sistemi fonksiyon bozukluklarında kafeinin tedavi edici potansiyelini gösterir. Kafenin yan etkileri içerisinde anksiyete, hipertansiyon ve geriçekilme semptomları bulunur. Kafein bilişsel seviyeyi etkilediği gibi uyku üzerinde de etkilidir.

Kafeinin tedavi edici ve yan etkileri akut ya da kronik kullanıma bağlı olarak oldukça değişkendir. Örneğin kronik kafein alımı nöroprotektif olabilir. Bu durum A1 AR reseptörlerinin akut antagonizmasının sonuçlarına zıttır. Kafenin kronik AR antagonizması biliş ve motor aktiviteyi akut AR antagonistlerinin etkisine benzer şekilde değiştirir.

Ksantinlerle kronik AR antagonizmasından sonra A1 AR'lerde up-regülasyon olur fakat A2A seviyeleri genellikle değişmez. Ayrıca kronik ksantin uygulamaları β -adrenarjik reseptörlerde azalma, 5-HT ve GABA-A reseptörlerinde artış oluşturur. Kafein ile adenozin reseptörlerinin kronik antagonizmasına yanıt olarak A1AR'lerin ekspresyonlarının artışı A1/A2A AR

dengeinde değişikliklere neden olur. Beyin gelişmesi sırasında A2A AR blokajının astrositojeneziste değişiklikler oluşturduğu rapor edilmiş ve postnatal dönemde kafein maruziyetinin beyin işlevlerindeki muhtemel etkileri önem kazanmıştır (Joaquim A. Ribeiro ve Ana M. Sebastião 2010).

1.2.1. Kafein, Adenozin ve Epilepsi

Kafein veya teofilin alımı ve nöbet eğilimi konusunda yapılan birçok çalışma vardır. Ancak bu ilaçlarla nöbet indüksiyonun ana sebebinden söz edilmemektedir. Ör: AR antagonizması gibi. Adenozinin antikonvulzif etkilerinin gözlemlenmesinden sonra adenozin ile ilgili bileşiklerin epilepsideki tedavi edici potansiyelleri dikkat çekmiştir. Artık adenozin endojen bir antikonvulzan olarak kabul edilmektedir. Adenozin aşırı nöronal aktiviteyi inhibitor A1 AR'ler üzerinden kısıtlar. Nöbet kontrolü ile ilgili olan diğer AR'ler ise nöbetleri arttırmırlar. (Joaquim A. Ribeiro ve Ana M. Sebastião 2010). Nöbetler sırasında adenozin epileptik odak çevresindeki hücreler tarafından salınır ve A1 AR aktivasyonu epileptik odağın lokalize kalmasını sağlar. Epileptik form aktivite sırasında adenozin seviyelerinde görülen dramatik artışlar nöbet aktivitesinin sonlanmasına ve postrefrakter periyoda katkıda bulunur (Katuschia Germé ve diğ. 2014, Dragunow 1990, Doring ve Spencer 1992).

İnsanlarda kafeinin potansiyel proepileptik etkisi tartışmalıdır. Genç kadınlarda yüksek kafein alımı epilepsi ya da nöbet riskini arttırmamaktadır (Katuschia Germé ve diğ. 2014, Dworetzky ve diğ. 2010). Benzer şekilde Norveç'te yapılan bir çalışmada kafein alımının nöbet oluşumuna etkisinin olmadığı rapor edilmiştir. Tersine günlük yoğun kafein alımının nöbet sıklığını agreve edici etkilerini gösteren vaka çalışmaları mevcuttur (Katuschia Germé ve diğ. 2014, Bonilha ve Li 2004).

Hayvanlarda akut kafein prokonvulsanttır. Genetik odyojenik ve odyojenik olmayan sıçanlarda nöbetlere yol açar. PTZ ve maksimal elektroşok modellerinde

nöbet eşiğini azaltır (Katuschia Germé ve diğ. 2014, Bankstahl ve diğ. 2012). Diğer taraftan kronik kafein uygulanımı NMDA, bikükilin, PTZ ya da teofilin ile oluşturulan nöbetlerde nöbet eğilimini adenozin reseptör antogonizmasıyla azaltır. Konvulsif epilepsilerdeki çalışmaların tersine nonkonvulsif absans epilepside akut kafein nöbet inhibisyonu oluştururken kronik kafein ise etkisiz kalmıştır (Katuschia Germé ve diğ. 2014, Johanson ve diğ. 1996).

1.2.2. Doğum Sonrası Kafein Uygulaması ve Erişkinlikte Nöbet Duyarlılığı

Erişkin dönemdeki nöbet duyarlılığına erken dönemde kafein uygulamasının etkilerini gösteren az sayıda çalışma bulunmaktadır. Çalışmalar doğum sonrası ilk haftada kafeine maruz kalmanın kafein, PTZ, pikrotoksin ve kainikasit nöbetlerindeki nöbet eşiğini arttırarak nöbet duyarlılığını azalttığını göstermektedir (Tchekalarova JD ve Kubová H 2014, Guilliet ve Dunham 1995). Neonatal kafein maruziyetinin erişkinlikteki nöbet eğilimi üzerindeki koruyucu ve uzun süreli etkileri cinsiyete ve nöbet modeline göre farklılık göstermektedir. Neonatal dönemde verilen kafein ve metil ksantinler çeşitli konvulsantlara olan duyarlılığı azaltmaktadır. Nöbet eğilimindeki değişiklikler geçicidir ve ilaç kullanımından 21 gün sonra etkiler ortadan kalkmaktadır (Sanders ve Murray 1989). Gelişim sırasında farklı immatür transmitter ve reseptör sistemlerinin manipülasyonlarının erişkin dönemde beyin uyarılabilirliği üzerinde kalıcı etkiler oluşturabilmesi için kritik basamakların olabileceği ileri sürülmüştür. Yeni doğan sıçanlarda yaşamın ilk 10 günündeki merkezi sinir sisteminin olgunlaşma seviyesi premature insan bebeklerindeki 20-40. haftalara karşılık gelmektedir. (Tchekalarova JD ve Kubová H 2014, Clancy ve diğ. 2007). Kafein doğum sonrası 7-11. günlerde tekrarlayan şekilde uygulandığında premature insan bebeklerine uygulanımı taklit edilmiş olur. Daha sonra erişkinlikte bu erken kafein uygulamasının sonuçları değerlendirilebilir. Bu değerlendirmeler göstermiştir ki doğum sonrası 7- 11. günler erişkinlerde nöbet duyarlılığının değişiklikleri için kritiktir. Ancak doğum sonrası kafein uygulamasının, PTZ ile oluşturulan klonik

ve absans nöbet modellerinde zıt etkileri gözlemlenmiştir (Tchekalarova JD ve Kubová H 2014, Tchekalarova ve diğ. 2006). Bu deneylerde miyoklonik nöbet modellerinde etkilerin geçici olduğu ileri sürülmüştür. Ancak aynı gelişim sürecinde absans epilepsinin erişkin sıçan modelinde konvulsif nöbetlerin doz bağımlı olarak baskınlanmasının geçici olmadığı gösterilmiştir. Postnatal kafein uygulamasını kimyasal madde enjeksiyonu ile oluşturulan nonkonvulsif absans nöbetlerde doz bağımlı baskınlanmalar oluştururken minimal tonik-klonik nöbetlerde nöbet şiddetinde artışlar oluşturmuştur. Ancak kafeinin bu etkileri sadece gelişimin erken dönemlerinde kafein uygulamasında ortaya çıkmıştır. Genç erişkin sıçanlar kafeine maruz kaldıklarında bu etkiler gözlemlenmemiştir (Tchekalarova JD ve Kubová H 2014).

1.2.3.Kızılötesi Spektroskopisi

Kızılötesi (IR) spektroskopisi, kızıl ötesi ışınlar ile analizlenen molekül arasındaki etkileşimi esas alarak geliştirilmiş spektroskopik bir yöntemdir. Bir moleküldeki temel durum ile uyarılmış durumu arasındaki geçiş kızılötesi bölgesindeki ışınların soğurulması olur. Kızıl ötesi spektrumu, moleküldeki özel fonksiyonel grupların kimyasal bağlarındaki karakteristik titreşimler tarafından üretilir. Bir bileşiğin titreşim spektrumu o bileşiğe özgüdür ve optik izomerler dışında hiçbir bileşiğin titreşim spektrumu bir başkası ile aynı değildir. Her bir fonksiyon grubunun teşhisi o grup için belirgin olan titreşim dalga sayısı ile sağlanır. Değişik fonksiyonel gruplara ait titreşim dalga sayıları, daha önce literatürde yer verilen bilgilerden veya atlaslardan faydalanılarak tanımlanır (Stuart 1997).

Elektromanyetik spektrumların kızılötesi kısmı yakın, orta ve uzak kızılötesi olmak üzere 3'e ayrılır (Çizelge 1.4). IR spektroskopisi moleküldeki çeşitli bağların titreşim frekanslarını ölçer ve moleküldeki fonksiyonel gruplar hakkında bilgi verir. Bunlar gerilme titreşimleri ve eğilme titreşimleri olarak iki grupta toplanırlar (Genç İnan 2014). Gerilme titreşimleri; iki atomun ortak eksenleri

boyunca birbirine yaklaşma ve uzaklaşma hareketlerinden kaynaklanır. Antisimetrik ve simetrik gerilme olmak üzere iki çeşidi vardır. Eğilme titreşimleri; atomlar arasındaki bağ açılarındaki değişmelerinden kaynaklanır. Sallanma, salınma, bükülme ve makaslama gibi çeşitleri vardır. Bir kompleks molekülündeki atomlar Şekil 1.'de görüldüğü gibi 6 değişik yolla titreşebilir. (Genç İnan 2014).

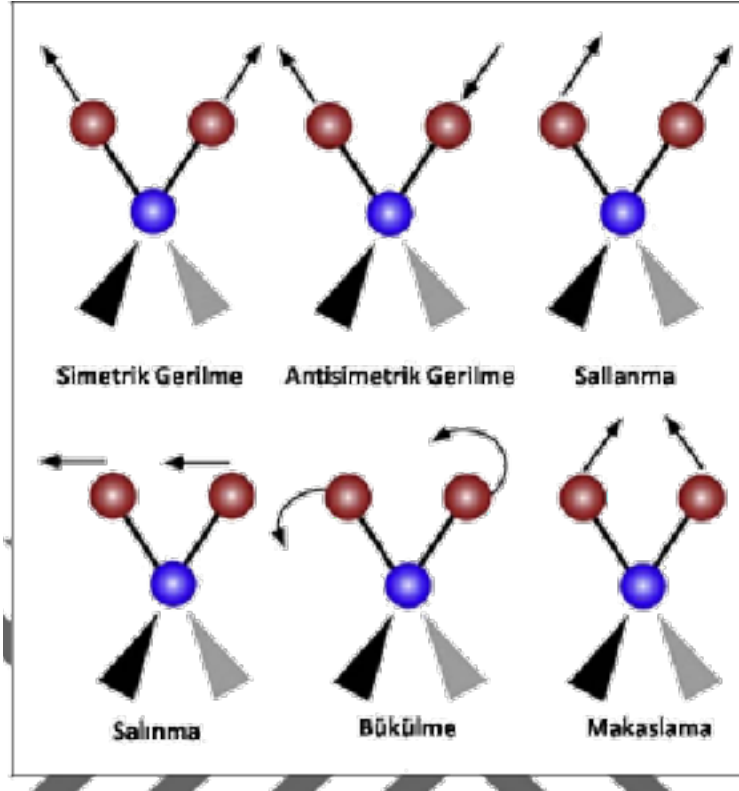
Bölge	Dalga sayısı Aralığı	Dalgaboyu (μm)
Yakın-IR	14000-4000	0.8-2.5
Orta-IR	4000-400	2.5-25
Uzak-IR	400-4	25-1000

Çizim 1.4: Kızılötesi spektral bölgeleri (Smith 1999).

1.2.4 Fourier Dönüşüm Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi

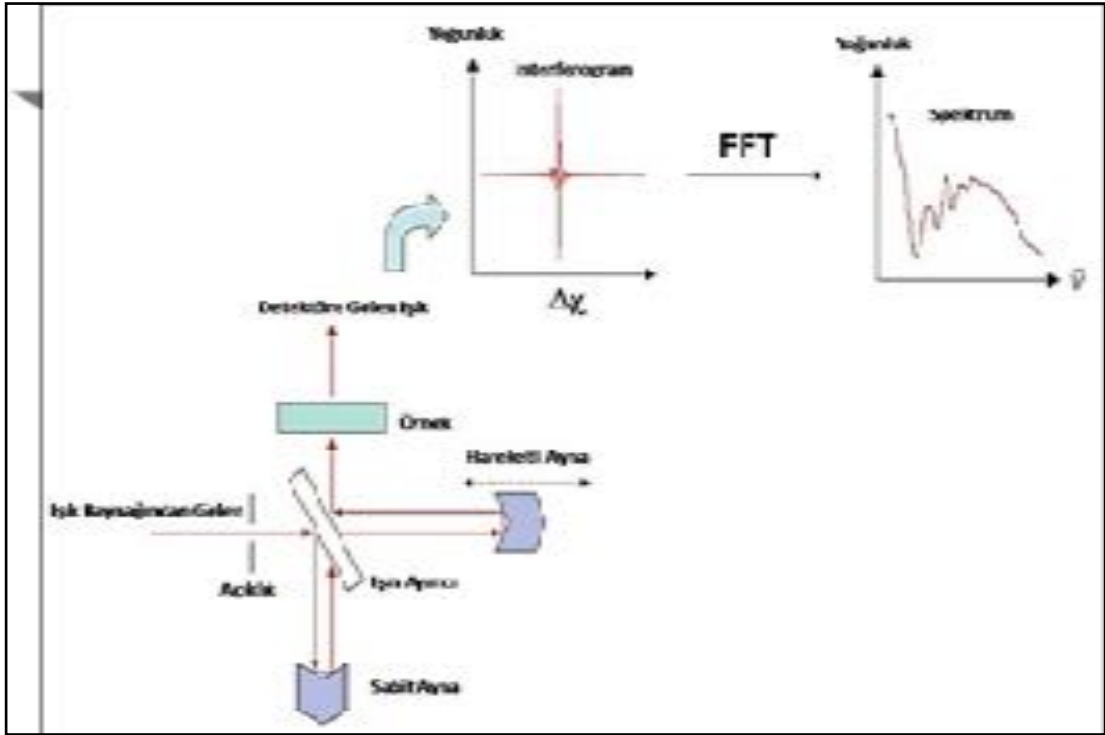
Fourier dönüşüm kızılötesi (FTIR) spektroskopisi, matematiksel bir metod olan bir Fourier transformasyonu uygulayarak veriyi zaman alanından frekans alanına aktaran özel bir kızılötesi spektroskopisi tekniğidir. Bir FTIR spektrometre, interferogramı toplar ve dijital hale getirir, Fourier Dönüşüm uygular ve bilgisayar monitöründe spektrum olarak gösterir. FTIR spektrometresi, ilk olarak bir Michelson interferometresi gelen kızıl ötesi ışınları bir ışın ayırıcı kullanarak iki optik ışına ayırır. Bir ışın sabit alandaki düz bir aynaya gider. Diğer ışın, ışın ayırıcıdan ayrılıp çok kısa bir mesafeye hareket eden düz bir aynaya gider. İki ışın

kendi aynalarından geri gelirler ve ışın ayırıcısında tekrar karşılaştıklarında birleşirler. İnterferometredeki sinyal, birbirileriyle birleşen bu iki ışının sonucudur. Elde edilen bu sinyal interferogram olarak adlandırılır (Gerwert 2010).



Çizim 1.4 IR emilim spektrumunda titreşim hareketleri (Marcelli 2012).

Bir interferogramda, kaynaktan gelen sinyaller her kızıl ötesi frekans hakkında bilgi verir. Böylelikle, aynı zamanda bütün frekanslarda ölçülmüş olur. Spektrum veri analizi için frekanslar kullanılır. Fourier Dönüşümü, interferogramı absorbans-frekans spektrumuna dönüştürür. Bu dönüşüm spektrometre bilgisayarı tarafından gerçekleştirilir ve dalgaboyuna karşı absorbans grafiği olarak gösterilir ya da genellikle daha ileri analizler için frekans (cm^{-1}) olarak sunulur. Şekil 1.5 'da FTIR spektroskopisinin çalışma prensibi verilmiştir.



Çizim 1.5: FTIR spektroskopisinin çalışma prensibi

FTIR Spektroskopisinin Avantajları ve Biyolojik Uygulamaları

FTIR spektroskopisi, incelenmek istenen örneğin fonksiyonel gruplarının titreşimlerinden kaynaklanan yapısal ve fonksiyonel bilgilerin elde edilmesini sağlayan bir tekniktir. Elde edilen spektrumlar, moleküllerin fonksiyonel gruplarının tespit edilmesine olanak sağlar. Bu bilgiler, öncelikle doğru bant tanımlamalarının yapılması, sonrasında ise ilgilenilen bantların konumu, bant şiddetleri ya da bantların altında kalan alan ve bant genişliği değerlerinin hesaplanması ile elde edilebilir. Bant şiddeti ve alanı maddenin konsantrasyonu hakkında bilgi verirken, bant konumu düzen/düzensizlik hakkında, bant genişliği ise dinamik hakkında bilgi verir (Cameron ve Charette 1981; Casal ve Mantsch 1984; Cakmak ve diğ. 2003; Toyran ve Severcan 2003; Türker ve diğ., 2014a,b; Türker-Kaya ve diğ., 2016).

FTIR spektroskopisi ile kullanılan örneğe zarar vermeden biyolojik sistemler hakkında değerli bilgiler elde edilebilir (Walsh ve diğ. 2007; Garip ve diğ. 2009; Türker ve diğ., 2014a,b; Türker-Kaya ve diğ., 2016). Protein, lipit, DNA, RNA, karbohidrat gibi moleküllerin fonksiyonel gruplarındaki değişimler ve dolayısı ile bu moleküllerdeki değişimler hassas bir şekilde belirlenebilmektedir (Stuart 1997; Severcan ve Haris 1999). FTIR spektroskopisi ayrıca biyolojik çalışmalar açısından lipitlerin diğer biyomoleküllerle etkileşimleri, kanser, diyabet, nörodejenerasyon gibi patolojik durumların tanı ve teşhisi gibi birçok alanda kullanılmaktadır (Boyar ve diğ. 2003; Toyran ve diğ. 2006; Bozkurt ve diğ. 2007; Toyran ve diğ. 2007; Bozkurt ve diğ. 2010; Ozek ve diğ. 2010; Bozkurt ve diğ. 2012; Türker ve diğ., 2014a,b; Türker-Kaya ve diğ., 2016).

Kızılötesi spektroskopisinin yaygın bir şekilde kullanılmasının altında yatan nedenler çeşitlidir:

örnek hazırlama işlemlerinin daha kolay olması;

örneklerin gaz, sıvı ve katı hallerinde incelenebiliyor olması;

nitel yorumların yapılabilmesi ve

verilerin hızlı bir şekilde elde edilebilmesi.

2.AMAÇ

Kafein (1,3,7-trimethylxantine) kahve, çay ve birçok içecekte bulunan bir purin alkaloiddir. Dünyada en yaygın kullanılan maddelerden biridir. Kafein ve analogları analjezik, uyarıcı, antiinflamatuvar, antitissüf, diüretik ve lipolitik olarak verilmektedir. Daha da ötesi metil ksantinler rutin olarak neonatal tıpta kullanılmaktadır. Prematüre bebeklerde akut ya da kronik olarak apne ataklarının baskılanması için kullanılmaktadır (Cunha RA ve diğ. 2013). Gelişimin erken döneminde kronik kafein uygulananının güvenilirliği ve uzun süreli sonuçları hakkında yapılan çalışmalar az sayıdadır. Kafeinin nörogelişimsel bozukluk oluşturmada yaşam süresini uzattığını gösteren çalışmalar vardır. Diğer taraftan maturasyonun erken evrelerinde, uzun süreli ilaç kullanılarak adenozin reseptörlerinin bloke edilmesinin beyin gelişimini modifiye edebileceğini ve beyin uyarılabilirliği üzerinde uzun süreli etkiler oluşturabileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur (Montandon G. ve diğ. 2008). Solunum sisteminin kontrolünün adenozerjik nöromodülasyonun neonatal kafein tedavisiyle değiştiğinin kanıtları mevcuttur ve bu değişiklik erişkin döneme kadar devam etmektedir (Jarvis M ve Williama M 1990). Adenozin epileptik nöbette önemli role sahip, muhtemel bir endojen antikonvülsanttır. Deneysel çalışmalarda peri ve postnatal dönemde kronik kafein uygulananının uzun süreli adaptif davranışsal ve nörokimyasal sonuçları gösterilmiştir (Lopez F. ve diğ. 1989, Nehlig A. ve diğ. 1992). Bu durum akut ilaç etkilerinden farklıdır. Kronik kafein tedavisi gelişim sırasında verildiğinde yetişkin hayvanlarda da nöbet eğilimini değiştirebilmektedir. Ancak postnatal kronik kafein tedavisinin sonuçları doz ve model bağımlı olarak değişebilmektedir. Yaşamın erken dönemlerinde kafein uygulananının genç erişkinlik döneminde kimyasal madde enjeksiyonlarıyla oluşturulan absans epilepsi ve miyoklonik nöbet modellerinin üzerindeki etkileri gösterilmiştir (Tchekalarova ve diğ. 2009). Bu çalışmada ise yaşamın erken dönemdeki kafein uygulananının genetik epilepsili sıçanlarda erişkin dönemde absans epilepsi, eşlik eden depresyon ve jeneralize tonik-klonik nöbet eşiği üzerindeki etkilerini

araştırılması planlandı. Ayrıca FT- IR analizi kullanılarak kafeinin sıçan beyin korteksinde lipit ve protein moleküllerinde meydana gelen değişimlerin tespiti amaçlandı.

3. YÖNTEM

3.1. Hayvanlar

Çalışmamızda Kocaeli Üniversitesi DETAB tarafından barındırılıp ve üretilen genetik absans epilepsili WAG/Rij ırkı sıçanlar kullanılmıştır. Kocaeli Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan etik onayı alınmıştır (KOÜ HADYEK 7 / 1 - 2016, Karar Tarihi: 24.11.2016). Sıçanlar aydınlık - karanlık döngüsüne uygun olacak şekilde 20 ± 4 °C' lik ortamda standart sıçan yemi ve şebeke suyu ile istedikleri kadar yiyecek ve içecek verilerek barındırılmıştır. Hamile sıçanlar takip edilmişlerdir ve doğumdan sonra WAG/Rij ırkı yavrular aşağıda belirtildiği şekilde farklı gruplara ayrılmıştır.

1. WAG/Rij kontrol grubu (n= 9 + 5),

2. 10 mg/kg kafein enjeksiyonu yapılan grup (n=10 + 5)

3. 20 mg/kg kafein enjeksiyonu yapılan grup (n=9 + 5)

4. PTZ grubu (1 (n=7) , 2 (n=7) ve 3 (n=7). gruplardan alınan ve elektrot takılan Wag/Rij sıçanlar kullanılmıştır)

FT-IR analizi için 7. ayda kontrol (n=5), 10 mg/kg kafein grubu (n=5) ve 20 mg/kg kafein grubu (n=5)' ndaki EEG elektrodu takılmamış WAG/Rij ırkı sıçanlar kullanılmıştır.

Doğum sonrası kafein enjeksiyonları 7. günde başlamıştır. Deney gruplarında 10 mg/kg ve 20 mg/kg kafein intraperitoneal şekilde 1 ml/kg hacimde verilmiştir (Sigma, St. Louse, MO, USA). Kontrol sıçanlara salin enjeksiyonu yapılmıştır. Enjeksiyonlar 5 gün devam etmiştir. Yavrular doğumdan itibaren 21 gün süreyle annelerinin yanlarında barındırılmışlardır. 22. günde annelerinde ayrılan WAG/Rij erkek yavrular 6-7 aylık olduklarında davranış değerlendirmelerine ve takiben 7-8

aylık olduklarında EEG kayıtlarına alınmıştır. Jeneralize tonik-klonik nöbet duyarlılığının değerlendirilmesi için EEG elektrodu olan hayvanlara PTZ enjeksiyonu yapılmıştır.

3.2. Davranış Testleri

WAG/Rij ırkı erkek sıçanlarda lokomotor aktivite testi, depresyon benzeri davranışlar sukroz tüketimi testi, sukroz tercih testi ve zorunlu yüzdürme testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Hayvanlar sakin ve loş ışıklı bir ortamda saat 10.00 ile 16.00 arasında deneye alınmışlardır. Testleme sırası; sukroz tüketimi testi, sukroz tercih testi, lokomotor aktivite ve zorunlu yüzdürme testi şeklindedir. Bu şekilde bütün hayvanlara uygulanan deneyler aynı sıra ile yapıldığından hayvanlar arası davranışların etkilenmesi engellenmiştir.

3.3.1. Locomotor Aktivite Testi

Locomotor aktivite kaydı için tam otomatik hayvan monitörizasyon sistemi (Commat Ltd., Ankara, Türkiye) kullanılmıştır. Bu sistem sıçanın içinde hareket ettiği şeffaf bölme ve bu aktivitesini kaydeden bilgisayar ve değerlendiren yazılımdan oluşmaktadır.

Locomotor aktivite mesafe ve stereotipik/tekrarlayıcı, ambulatuvar, vertikal aktivitelerin sayımı olarak ölçülmüştür. Her hayvan odaya 10 dakikalık odaya uyum sürecinden sonra 5 dakika bir süre ile monitörize edilmiştir. Düzenek her uygulama sonrası %10' luk alkol solüsyonu ile temizlenmiştir.

3.3.2. Sukroz Tercih Testi

Her sıçan kendi kafeslerine benzeyen ve biri %20'lik sukroz solüsyonu, diğeri %100 su olmak üzere iki şişe içeren başka bir kafeste 5 gün boyunca şişelerin yerleri değiştirilerek sukroz tüketimine alıştırılmıştır. Sukroz tercihi testi 6. günde 23 saatlik açlık ve susuzluk sonrasında uygulanmıştır. Deney günü hayvanlar deney kafeslerine yerleştirilmiştir ve bu kafeslere biri %20'lik sukroz solüsyonu,

diğeri %100 su olmak üzere iki şişe yerleştirilmiştir. Hayvanların 1 saat sonunda tükettikleri sukroz ve su miktarı ölçülmüştür. Sukroz'un suya tercihi yüzdelik cinsinden Tercih Edilen Sukroz (TS) $=[(Tüketilen\ Sukroz\ Miktarı(g)/Tüketilen\ Toplam\ Sıvı\ Miktarı) \times 100]$ şeklinde hesaplanmıştır. Tüketilen sukroz miktarı hayvanlarda tatmin yaratan ödüllere hassasiyeti değerlendirmekte yaygın kullanılan hedonizm'in belirleyicisidir. Azalmış sukroz tüketimi ya da ahedoni hayvanlarda depresyon durumunun güvenilir bir ölçümüdür.

3.3.3. Zorunlu Yüzdürme Testi

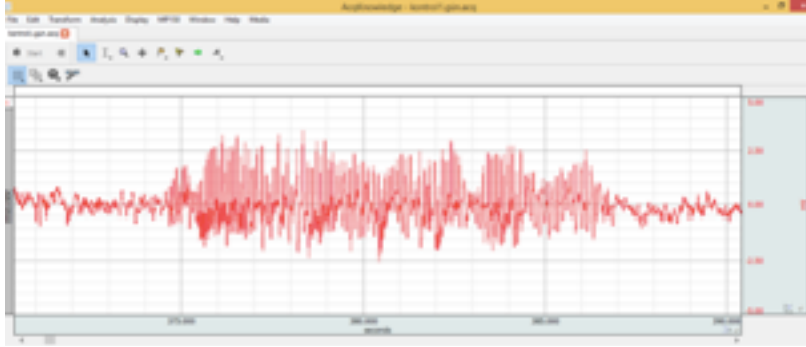
Sıçanlar uygun sıcaklıkta ($22 \pm 1^\circ C$) ve uygun deney silindirlerinde (47 cm boyunda 38 cm eninde şeffaf, temiz, içi kuyruklarının zemine temas etmesini engelleyecek miktarda su ile dolu silindirde) yüzdürülmüştür (Çizim 3.1). Sıçanlar test prosedürlerine göre; su dolu tüplerin içinde 15 dakika yüzdürülerek alıştırılmıştır. Yirmi dört saat sonra test başlatılmış ve sıçanlar su dolu silindir içerisinde 5 dakika süreyle yüzdürülmüş ve iki metre uzaklığa sabitlenmiş bir kamera (Samsung Hmx - Qf30) ile kaydedilmiştir. Pasif yüzme dahil toplam immobilizasyon süresi, immobilizasyon latansi ve toplam aktif yüzme süresi ölçülmüştür. Sıçanlar test sonrası nazikçe kurutulduktan sonra kafeslerine tekrar yerleştirilmiştir.



Çizim 3.1. Zorunlu yüzdürme testi. Tüpler arasında hayvanların birbirini görmesini engelleyen paravan levhalar bulunmaktadır.

3.3.4. Elektoroensefalogram (EEG)

Erişkin sıçanlara Xylazin (5 mg/kg ip) ve Ketamin (60 mg/kg ip) anestezisi altında stereotaksik cerrahi yapılarak kortikal elektrot seti (MS3333/2A; Plastic One, USA) yerleştirilmiştir. Kayıt elektrotları korteks yüzeyinde frontal (A P 2.0 mm, L 3.5 mm), paryetal (A P - 6.0 mm L 4.0 mm) bölgelere ve referans elektrot ise serebelluma yerleştirilmiştir. Cerrahi işlem sonrası 2 hafta boyunca hayvanlara iyileşme süresi verilmiştir. Sıçanlar EEG kayıtları için şeffaf kayıt kafeslerine yerleştirilmiş ve kayıt cihazına (MP150, Biopac Systems Inc., USA) bağlanmıştır. Sıçanlar kayıt alınmadan önce 30 dakika süre ile alıştırma yapılmıştır. Alıştırma sonrası her hayvandan 4 saatlik EEG kayıtları saat 10.00 ile 16.00 saatleri arasında alınmıştır (Çizim 3.2). Elde edilen kayıtlarda Diken Dalga Deşarjları (DDD)'lerin sayı, kümülatif ve ortalama süreleri hesaplanmıştır.



Çizim 3.2. Wag/Rij sıçanlarda kaydedilen tipik DDD'ler

3.3.5. Nöbet Duyarlılığı

Erişkin sıçanlar deney ve kontrol gruplarındaki EEG elektrotları olan bütün sıçanlara 50 mg/kg, ip serum fizyolojik içerisinde tek bir konvülsif PTZ dozu enjekte edildi. Enjeksiyon sonrasında 30 dakika boyunca kayıt devam ettirilmiştir. Nöbetlerin davranışsal değerlendirilmesinde Velisek ve diğ. (1992) tarafından geliştirilen 5 skorlu skala kullanılmıştır;

0 - Davranışta değişiklik yok

1 - İzole myoklonik jerk, kulak ve yüz seğirmesi

2 - Vücut boyunca yayılan konvülsif aktivite, atipik minimal nöbet

3 - Baş kasları ve ön üyelerin klonusu şeklinde görülen tam gelişmiş mini mal nöbet, doğrulma refleksi mevcuttur

4 - Majör nöbet (tonik fazın olmadığı jeneralize nöbetler)

5 - Koşma ile jeneralize tonik klonik nöbetler, düşme gerçekleşir, sonra kısa süreli tonik faz (ön ve arka üyelerin fleksiyon ya da ekstansiyonları), klonusa doğru ilerler.

Nöbet süresinin değerlendirilmesinde ise PTZ enjeksiyonunu takip eden EEG kayıtları kullanılmıştır.

3.3.6 FT-IR ve FT-IR Spektrum Analizi

FT-IR çalışmalarında kullanılmak üzere sıçan doku örnekleri aşağıda verilen prosedür takip edilerek hazırlandı:

Çıkarılmış sıçan doku örnekleri - 24 saat boyunca Freeze-Drier cihazında dondurarak kurutma işlemi uygulandı.

Kurutulan dokular sıvı azot yardımıyla agat havanda toz haline getirildi.

Toz haline getirilen doku örneğinden 1 mg tartılarak 100 mg potasyum bromür (KBr) ile agat havanda homojen hale gelinceye kadar karıştırıldı. 1/100 ağırlık oranında karışım hazırlandı. Karışıma tekrar kurutma işlemi uygulandı.

Kuru karışım (doku+KBr) hidrolik preste 100 kg/cm²'lik bir basınç altında 5 dakika bekletildi. Uygulanan basınç sayesinde katı bir KBr pellet diski elde edildi.

Hazırlanan KBr disklerinin IR spektrumları, 4000-400 cm⁻¹ aralığında, 4 cm⁻¹ çözünürlükte ve 100 çekim sayısı kullanılarak Perkin Elmer Spectrum Two FT-IR spektrometresi ile gerçekleştirildi.

Sonuçların güvenilirliğini artırmak için her örnekten 3 pelet hazırlandı ve bu 3 çekimden elde edilen spektrumların ortalamaları alınarak analizler gerçekleştirildi. Gruplar arasındaki bant alanı, bant pozisyonu ve bant genişliği açısından spektral farklılıkları ortaya çıkarmak için her bir spektrum Perkin Elmer Spektrum One programı ile ayrıntılı olarak analiz edildi. Bant pozisyonları (dalga sayısı) değerleri bantların ağırlık merkezleri üzerinden değerlendirilerek pik yüksekliğinin %70'i alınarak hesaplandı. Bant genişliği pik yüksekliğinin %70'inden elde edilen cm birimi cm⁻¹ e çevrilerek hesaplandı.

Gruplar arasındaki spektral değişimleri görsel olarak göstermek amacıyla, her gruba ait örneklerin ortalaması alınarak, baseline düzeltilmesi yapıp aynı program ile normalize edildi. Bu ön işlemler uygulanan spektrumlar istatistiksel analiz için değil sadece farklılıkları göstermek için kullanıldı. Ayrıntılı data değerlendirilmesi ön işlem uygulanmamış spektrumlar üzerinden gerçekleştirildi. Deneysel koşullardan kaynaklanan numune kalınlığı gibi farklılıkları en aza indirilebilmek için bazı özel bölgelerin alan oranları hesaplandı. Kontrol grubu ile deney grubu arasındaki biyomoleküllerin miktar değişimlerini gözlemlemek için alan oranı hesabı literatürde sıklıkla kullanılmaktadır.

3.3.7.İstatistiksel Analiz

Çalışmamızda elde edilen veriler ortalama \pm standart hata (SEM) ve ortalama \pm standart sapma (Std sapma) olarak değerlendirilmiştir. Sonuçlar GraphPad Prism 7.03 (ABD) istatistik programı kullanılarak analiz edilmiştir. Verilerin değerlendirilmesinde t testi, Whitney-U testi, one - way ANOVA, Kruskal-Wallis Testi kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık $p<0,05$, $p<0,01$, $p<0,001$ şeklinde belirlenmiştir.

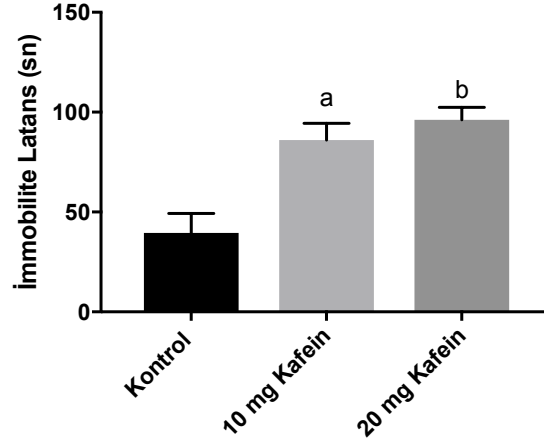
4. BULGULAR

4.1. Zorunlu Yüzdürme Testi

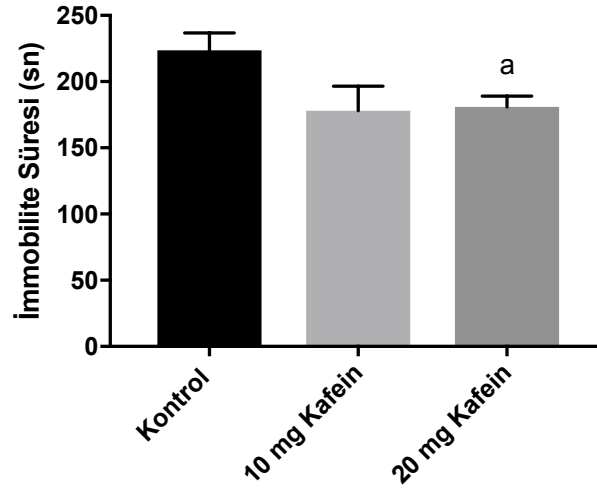
10 mg/kg ve 20 mg/kg kafein enjeksiyonu uygulanan gruplarda depresif davranış belirtisi olarak nitelendirilen hareketsiz kalma davranışı kontrol grubundaki sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha geç görülmüştür (Çizim4.1). 10 mg/kg kafein enjeksiyonu yapılan grup için 86 ± 8 saniye, 20 mg/kg kafein enjeksiyonu yapılan grup için ortalama 96 ± 6 saniye ve kontrol grubu için ortalama 39 ± 9 saniye olarak saptanmıştır.

İmmobilite süresi değerlendirildiğinde kontrol grubundaki sıçanlara göre 20 mg/kg kafein enjeksiyonu uygulanan gruplardaki sıçanlar istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha az hareketsiz kalmışlardır (Çizim 4.2). 10 mg/kg kafein enjeksiyonu yapılan grup için 178 ± 18 saniye, 20 mg/kg kafein enjeksiyonu yapılan grup için ortalama 181 ± 8 saniye ve kontrol grubu için ortalama 223 ± 13 saniye olarak bulunmuştur.

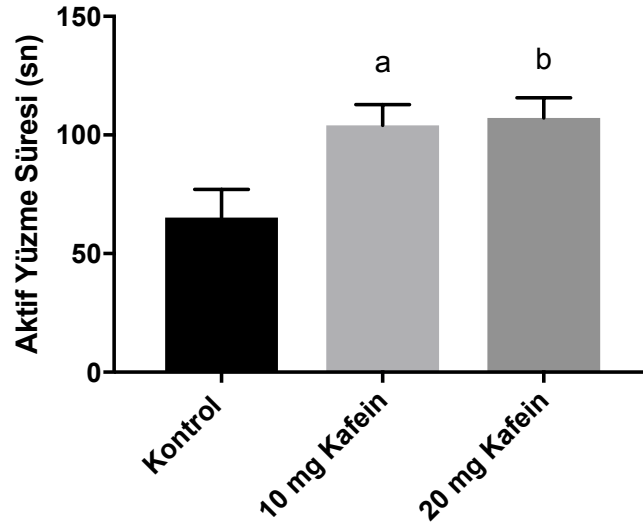
Aktif yüzme süresi değerlendirildiğinde 10 mg/kg ve 20 mg/kg kafein enjeksiyonu uygulanan gruplardaki sıçanların kontrol grubundaki sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde fazla aktif yüzdüğü tespit edilmiştir. (Çizim 4.3.) 10 mg/kg kafein enjeksiyonu yapılan grup için 104 ± 8 saniye, 20 mg/kg kafein enjeksiyonu yapılan grup için ortalama 107 ± 8 saniye ve kontrol grubu için ortalama 65 ± 11 saniye olarak bulunmuştur.



Çizim 4.1 : WAG/Rij ırkı sıçanlar, kontrol (n=9), 10 mg/kg kafein enjeksiyonu (n=10) ve 20 mg/kg kafein (n=9) gruplarının immobilité latansı süresi değerleri değerlendirildiğinde, a $p < 0,005$ kontrol grubuna göre, b $p < 0,001$ kontrol grubuna göre (one - way ANOVA) .



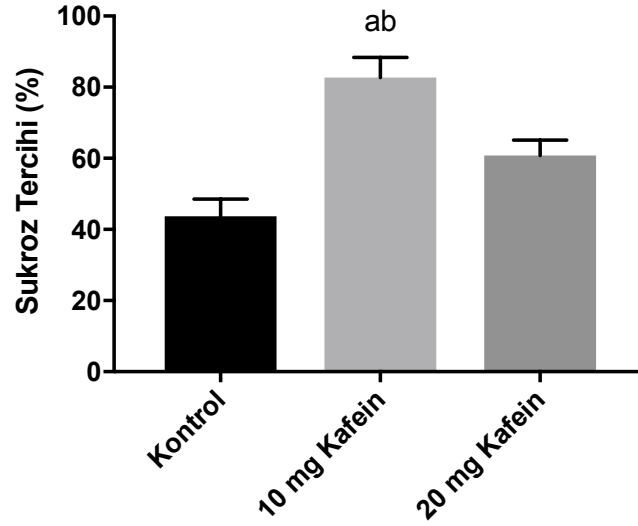
Çizim 4.2 : WAG/Rij ırkı sıçanlar kontrol (n=9), 10 mg/kg kafein enjeksiyonu (n=10) ve 20 mg/kg kafein (n=9) gruplarının immobilité süresi değerleri değerlendirildiğinde, a $p < 0,05$ kontrol grubuna göre (Kruskal-Wallis Test) .



Çizim 4.3: WAG/Rij ırkı sıçanlar, kontrol (n=9), 10 mg/kg kafein enjeksiyonu (n=10) ve 20 mg/kg kafein (n=9) gruplarının aktif yüzme süresi değerleri değerlendirildiğinde, a $p<0,05$ kontrol grubuna göre, b $p<0,01$ kontrol grubuna göre (one - way ANOVA) .

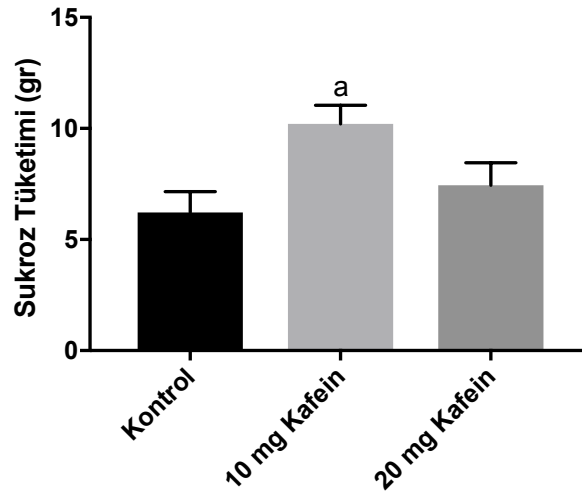
4.2. Sükroz Tercih Testi

Sükroz tercih testinde 10 mg/kg kafein enjeksiyonu yapılan grupta hem kontrol grubuna hem de 20 mg/kg kafein enjeksiyonu uygulamaları yapılan gruba göre tercih yüzdesi istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. Kontrol grubu sükroz tercihi yüzdesi 44 ± 5 iken 10 mg/kg kafein enjeksiyonu yapılan grupta 83 ± 5 , 20 mg/kg kafein enjeksiyonu yapılan grupta 61 ± 4 olarak saptanmıştır. 10 mg/kg kafein enjeksiyonu grubunda istatistiksel olarak anlamlı artış olmasa da sükroz tercih yüzde değerleri kontrol grubuna göre yüksektir. (Çizim 4.4)



Çizim 4.4: WAG/Rij ırkı sıçanlar, kontrol (n=9), 10 mg/kg kafein enjeksiyonu (n=10) ve 20 mg/kg kafein (n=9) gruplarının sukroz tercihi değerlendirildiğinde, a $p < 0,05$ kontrol grubun göre, b $p < 0,05$ 20 mg/kg kafein grubuna göre (one - way ANOVA) .

Gram olarak sukroz tüketimi kontrol grubunda 6 ± 0.9 , 10 mg/kg kafein enjeksiyonu yapılan grupta 10.2 ± 0.8 , 20 mg/kg kafein yapılan grupta 7.4 ± 10 olduğu saptanmıştır. 10 mg/kg kafein enjeksiyonu yapılan grupta kontrol grubuna ve 20 mg/kg kafein enjeksiyon yapılan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde artış saptanmıştır (Çizim 4.5).



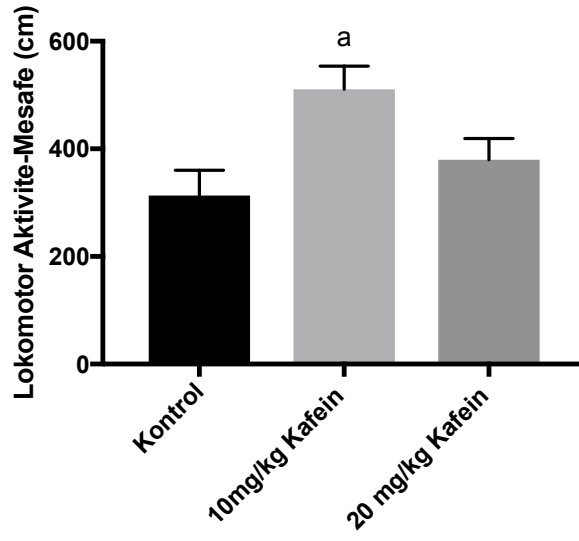
Çizim 4.5: WAG/Rij ırkı sıçanlar, kontrol (n=9), 10 mg/kg kafein enjeksiyonu (n=10) ve 20 mg/kg kafein (n=9) gruplarının 1 saatlik sukroz tüketimleri değerlendirildiğinde, $p < 0,05$ kontrol ve 20 mg/kg kafein gruplarına göre (one - way ANOVA) .

4.3. Lokomotor Aktivite

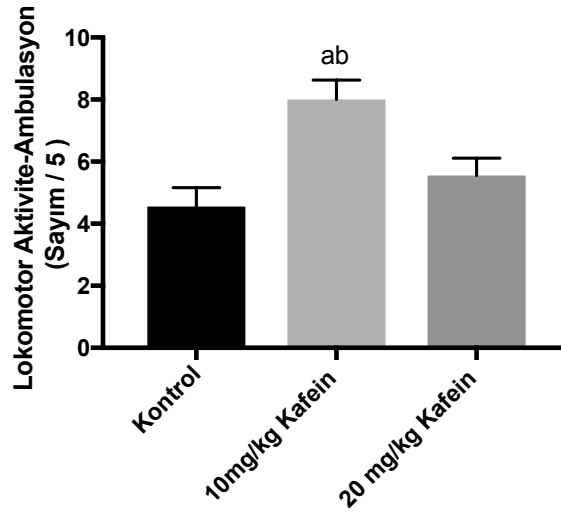
Lokomotor aktivite testinde ölçülen lokomotor aktivite ve mesafe değerleri incelendiğinde lokomotor aktivite mesafesinin 10 mg/kg kafein enjeksiyonu yapılan grupta kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı bulunmuştur. (Çizim 4.6)

Lokomotor aktivite mesafesi kontrol grubunda 313 ± 47 , 10 mg/kg kafein enjeksiyonu yapılan grupta 510 ± 43 ve 20 mg/kg kafein enjeksiyonu yapılan grupta 379 ± 39 olarak bulunmuştur. 10 mg/kg kafein enjeksiyonu yapılan grupta ambulator aktivite sayısında, 20 mg/kg kafein enjeksiyonu yapılan grupta ise stereotipik hareketlerde artış saptanmıştır. Ambulator hareket sayısı kontrol grubunda 4.5 ± 0.6 , 10 mg/kg kafein enjeksiyonu yapılan grupta 8 ± 0.6 ve 20 mg/kg kafein enjeksiyonu yapılan grupta 5.5 ± 0.5 olarak bulunmuştur (Çizim 4.7). Stereotipik hareket sayısı kontrol grubunda 24 ± 1.1 , 10 mg/kg kafein enjeksiyonu yapılan grupta 24 ± 1.3 ve 20 mg/kg kafein enjeksiyonu yapılan grupta 30 ± 1.4

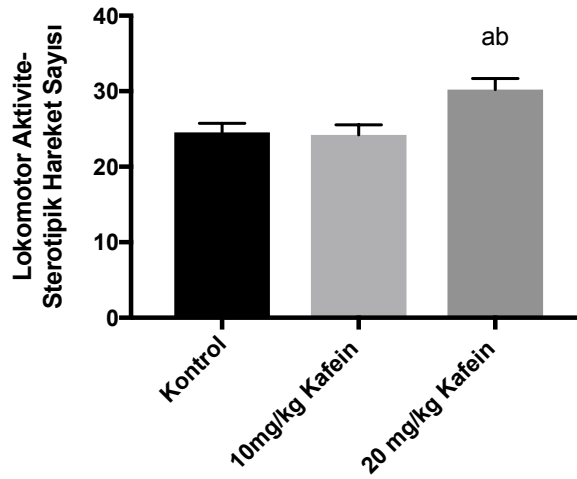
olarak bulunmuştur. Vertikal hareketlerde ise değişiklik saptanmamıştır (Çizim 4.8).



Çizim 4.6 : WAG/Rij ırkı sıçanlar, kontrol (n=9), 10 mg/kg kafein uygulanan (n=10), 20 mg/kg kafein uygulanan grup (n=9) lokomotor aktivite mesafe değerleri . a $p < 0.01$ 10 mg/kg kontrol grubuna göre (one - way ANOVA).



Çizim 4.7: WAG/Rij ırkı sıçanlar, kontrol (n=9), 10 mg/kg kafein uygulanan (n=10), 20 mg/kg kafein uygulanan grup (n=9) lokomotor aktivite ambulasyon değerleri . a $p < 0.005$ 10 mg/kg kontrol grubuna göre , b 20 mg/kg kontrol grubuna $p < 0,05$ (one - way ANOVA).



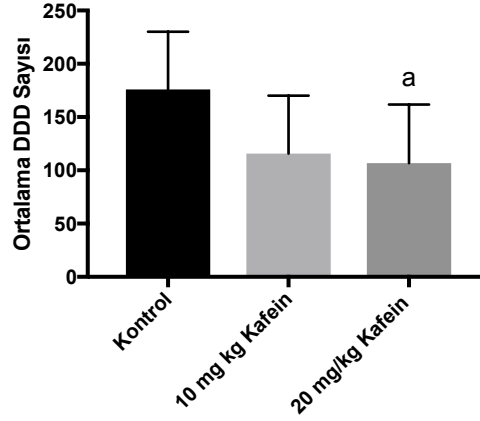
Çizim 4.8 : WAG/Rij ırkı sıçanlar, kontrol (n=9), 10 mg/kg kafein uygulanan (n=10), 20 mg/kg kafein uygulanan grup (n=9) lokomotor aktivite sterotipik hareket değerleri . a $p < 0.01$ 10 mg/kg kontrol grubuna göre , b 20 mg/kg kontrol grubuna $p < 0,01$ (one - way ANOVA).

4.4. EEG Bulguları

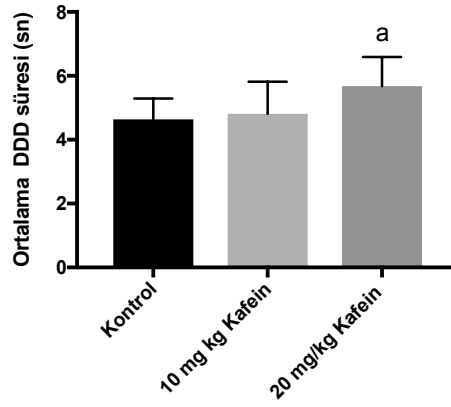
Epileptik aktivite 20 mg/kg ve 10 mg/kg kafein enjeksiyonu yapılan gruplar ile kontrol gruplarındaki WAG/ Rij ırkı sıçanlarda EEG'de 4 saat süresince DDD'ların analiz edilmesi ile değerlendirildi. Ortalama DDD sayısı kontrol grubunda 175 ± 20 , 10 mg/kg kafein grubunda 115 ± 20 ve 20 mg/kg kafein grubunda 106 ± 20 olarak bulundu (Çizim 4.9). 4 saat süresince görülen nöbetlerin ortalama DDD süresi değerlendirildiğinde 20 mg/kg kafein enjeksiyonu yapılan grupta ortalama nöbet süresi istatistiksel anlamı olarak yüksek bulundu.

EEG' de DDD süresi kontrol grubunda $4,6 \pm 0,2$, 10 mg/kg kafein grubunda $4,8 \pm 0,3$ ve 20 mg/kg kafein grubunda $5,8 \pm 0,3$ idi. İstatistiksel analiz 20 mg/kg kafein enjeksiyonu yapılan grupta DDD sayısında kontrole göre azalmayı gösterdi (Çizim 4.10). 10 mg/kg kafein enjeksiyonu yapılan grupta da azalma eğilimi olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı.

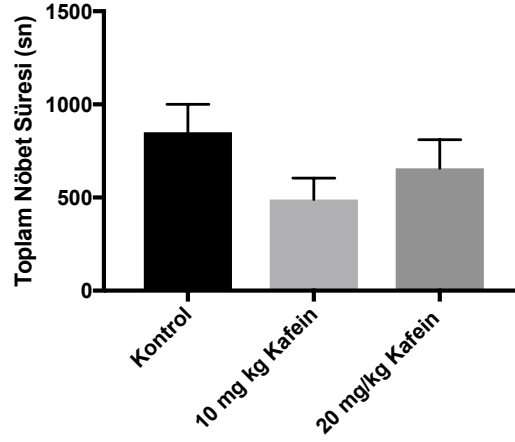
Toplam DDD süresi karşılaştırıldığında ise gruplar arasında fark bulunamadı. Toplam DDD süresi kontrol grubunda 850 ± 150 , 10 mg/kg kafein grubunda 489 ± 114 ve 20 mg/kg kafein grubunda 656 ± 154 olarak bulundu (Çizim 4.11).



Çizim 4.9: WAG/Rij ırkı sıçanlar, kontrol (n=7), 10 mg/kg (n=7), 20 mg/kg (n=7) gruplarında DDD sayılarının karşılaştırılması. a $p < 0,05$ kontrol grubuna göre (T Testi).



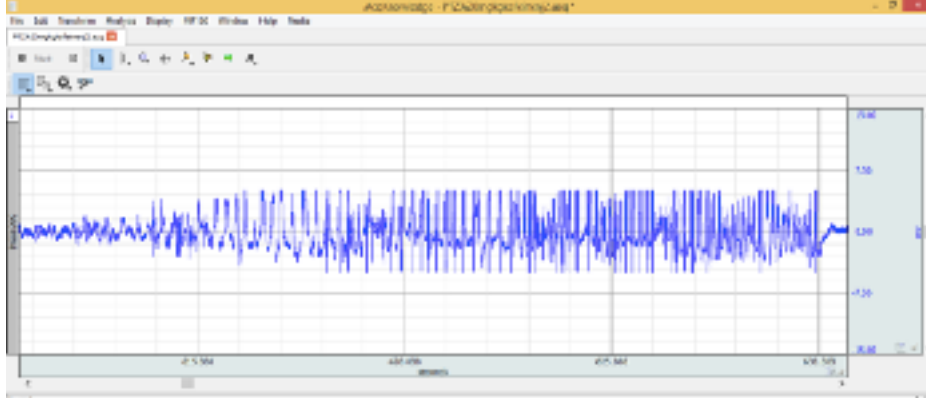
Çizim 4.10: WAG/Rij ırkı sıçanlar, kontrol (n=7), 10 mg/kg (n=7), 20 mg/kg (n=7) gruplarının ortalama DDD süresinin karşılaştırılması. a $p < 0,05$ kontrol grubuna göre. (T Testi)



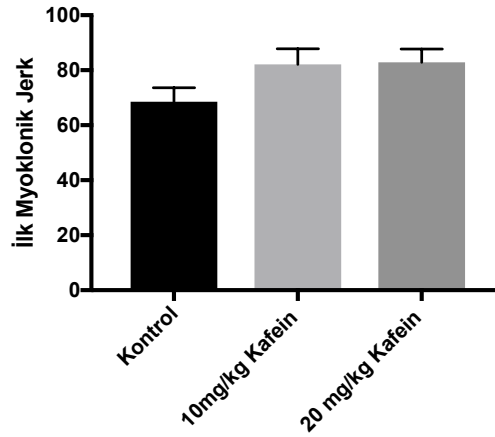
Çizim 4.11: WAG/Rij ırkı sıçanlar, kontrol (n=7), 10 mg/kg (n=7), 20 mg/kg (n=7) gruplarının absans toplam nöbet süreleri karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

4.5. Nöbet Duyarlılığı

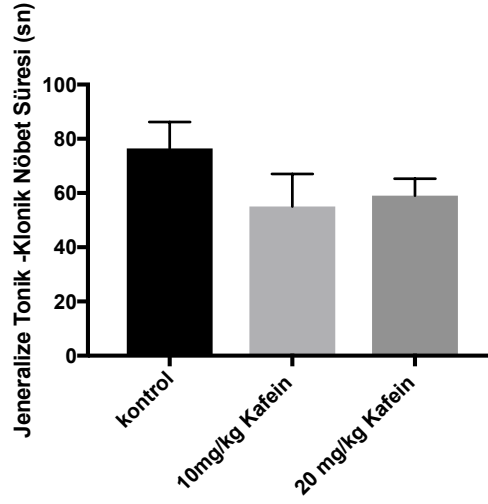
20 mg/kg ve 10 mg/kg kafein enjeksiyonu yapılan gruplar ve kontrol grubu PTZ duyarlılığı açısından değerlendirildiğinde, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir. Nöbet latansı (Çizim 4.13), jeneralize tonik - klonik nöbet süresi (Çizim 4.14) ve nöbet şiddeti (Çizim 4.15.) değerlendirildiğinde yapılan enjeksiyonların yetişkinlik döneminde açısından değerlendirildiğinde WAG/ Rij ırkı sıçanlar üzerinde etkisi bulunmamaktadır .



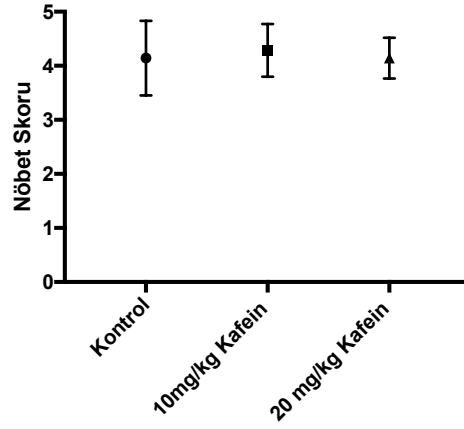
Çizim 4.12. Wag/Rij ırkı sıçanlarda Ptz ile indüklenmiş jeneralize tonik- klonik nöbet sırasındaki kortikal EEG kaydı görüntüsü



Çizim 4.13. WAG/Rij ırkı sıçanlar, kontrol (n=7), 10 mg/kg kafein enjeksiyonu (n=7), 20 mg/kg kafein (n=7) enjeksiyonu gruplarının arasında ilk miyoklonik jerk süresi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (T Test , $P>0.05$).



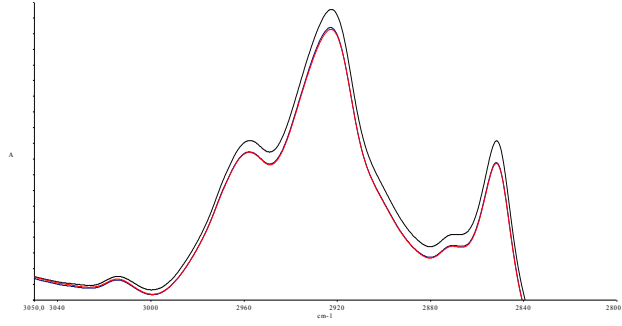
Çizim 4.14. WAG/Rij ırkı sıçanlar, kontrol (n=7), 10 mg/kg kafein enjeksiyonu (n=7), 20 mg/kg kafein (n=7) enjeksiyonu grupları jeneralize tonik-klonik nöbet süresi açısından değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. (T Test , $P>0.05$).



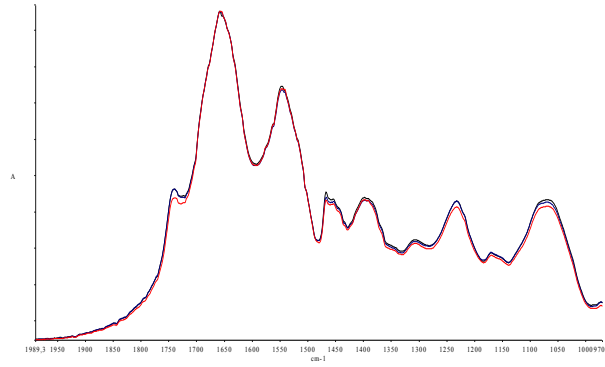
Çizim 4.15. WAG/Rij ırkı sıçanlar, kontrol (n=7), 10 mg/kg kafein enjeksiyonu (n=7), 20 mg/kg kafein (n=7) enjeksiyonu grupları jeneralize tonik-klonik nöbet skoru açısından değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (T Test , $P>0.05$).

4.6. FT-IR Bulguları

Kontrol, kafein 10 mg/kg ve kafein 20 mg/kg grubundaki dokularına ait 3050-2800 cm^{-1} dalga sayısı aralığındaki spektrumları Çizim 4.16 da, 1800-900 cm^{-1} dalga sayısı aralığındaki spektrumları Çizim 4.17 de görülmektedir. Çizelge 2’ de ise sıçan prefrontal korteksi IR spektrumundaki soğurmalar görülmektedir. Çizelge 4 ‘te ise kontrol ve kafein gruplarının başlıca alan değerleri verilmiştir.



Çizim 4.16. Kontrol (siyah), kafein 10 mg/kg (mavi) ve kafein 20 mg/kg (kırmızı) grubundaki dokularına ait 3050-2800 cm^{-1} dalga sayısı aralığındaki spektrumları



Çizim 4.17. Kontrol (siyah), kafein 10 mg/kg (mavi) ve kafein 20 mg/kg (kırmızı) grubundaki dokularına ait 1800-900 cm^{-1} dalga sayısı aralığındaki spektrumları.

	Kontrol	10 mg/kg kafein	20 mg/kg kafein
Olefinik	0,057 ± 0,001	0,044 ± 0,007*	0,040± 0,005*
CH ₃ antisimetrik	2,422 ± 0,101	2,078 ± 0,201*	2,036 ± 0,304*
CH ₂ antisimetrik	7,032 ± 1,023	5,809± 0,940*	5,791± 0,855*
CH ₃ simetrik	0,729 ± 0,083	0,612± 0,059*	0,610± 0,438*
CH ₂ simetrik	2,008 ± 0,217	1,701±0,476*	1,694± 0,150*
C=O gerilme	2,012 ± 0,196	1,740±0,681*	1,734± 0,119*
Amid I	31,471 ± 4,270	30,093 ± 2,546	29,048 ± 3,098
CH ₂ bükülme	5,761± 0,321	5,109± 0,088*	4,830± 0,076*

Çizelge 4.1 Kontrol ve kafein gruplarının başlıca fonksiyonel gruplarının alan değerleri (Değerler, ortalama ± standart sapma olarak verildi. İstatistiksel olarak anlamlılık derecesi $p < 0,05$ * şeklinde gösterildi.)

	DALGA	
BANT NO	SAYISI cm⁻¹	AÇIKLAMA
1	3014	Olefinik HC=CH titreşim gerilme: Doymamış lipitler
2	2958	CH₃ antisimetrik gerilme: Çoğunlukla lipitler
3	2923	CH₂ antisimetrik gerilme: Çoğunlukla lipitler
4	2871	CH₃ simetrik gerilme: Çoğunlukla proteinler
5	2851	CH₂ simetrik gerilme: Çoğunlukla lipitler
6	1738	Karbonil (C=O) gerilme: Lipit (Çoğunlukla kolesterol ester ve trigliseritler), fosfolipitler
7	1653	Amid I: Protein (%80 C=O gerilme, %10 N-H bükülme, %10 C-N gerilme)
8	1545	Amid II: Protein (%60 N-H bükülme, %40 C-N gerilme)
9	1461	CH₂ bükülme: Çoğunlukla lipitler
10	1395	COO⁻ simetrik gerilme: Yağ asitleri ve aminoasitlerin yan grupları

Çizelge 4.2 Sıçan prefrontal korteksi IR spektrumundaki başlıca soğurmaları

5.TARTIŞMA

Çalışmamız ile doğum sonrası dönemde 10 ve 20 mg/kg dozlarında kafein tedavisinin absans epilepsiye genetik olarak eğilimli erişkin WAG/Rij sıçanlardaki etkileri ortaya konmuştur. Yaşamın erken dönemindeki kafein uygulananı absans nöbetlerinin sayısını azaltmıştır fakat ortalama DDD süresini uzatmıştır. Çalışmamızda verilen kafein erişkin dönemde depresyon benzeri davranışları da azaltmıştır. Lokomotor aktivitede ise artış oluşturmuştur. Her iki doz kafein uygulananı jeneralize tonik-klonik nöbetlerde değişiklik oluşturmamıştır.

İnsanlarda kafeinin potansiyel proepileptik rolü tartışmalıdır. Ancak deneysel çalışmalarda akut kafein prokonvulsant etki göstermektedir. Kafein PTZ nöbetlerinde ve maksimal elektroşok nöbet modellerinde nöbet eşliğini azaltmaktadır. Diğer taraftan kronik kafein uygulananı NMDA, teofilin ya da PTZ ile oluşturulan nöbetlere eğilimi muhtemelen adenozin reseptörlerini antagonize ederek azaltmaktadır. Kafein bir nonselektif A1 ve A2A reseptör antagonistidir ve etkilerini her iki tipteki reseptörler aracılığı ile gösterebilir. Kimyasal ve elektriksel uyarılar ile oluşturulan konvulsif nöbetlerde nöbet aktivitesindeki azalma A1 reseptör aracılığı ile ortaya çıkmaktadır. A2A adenozin reseptör agonistleri nöbetleri modüle edebilmektedir (Germé K ve diğ. 2015).

Akut kafein deneysel absans epilepside nöbetleri DDD'lerin sayı ve süresini azaltarak etkiler. Absans nöbetler A1 reseptör agonist ve antagonistlerine A2A reseptör ligandlarına göre daha duyarlı olarak bulunmuştur. Absans epilepside DDD regülasyonunda A1 reseptörlerinin A2A adenozin reseptörlerine göre daha fazla etkin olduğu ileri sürülmüştür. (Germé K ve diğ. 2015)

Erişkin sıçanlarda kafein ve diğer metil ksantinler ile kronik kafein tedavilerinin pek çok akut nöbet modelinde farklı mekanizmalarla nöbet eğilimini azalttığı gösterilmesine rağmen erken dönem kronik kafein tedavisinin nöbet eğilimi üzerine etkilerini gösteren az sayıda çalışma mevcuttur (Ates ve diğ.

2004). Kimyasal absans epilepsi modelinde daha önce yapılan bir çalışmada erken dönem kafein tedavisinin yaş bağımlı değişiklikler oluşturduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada 18 günlük sıçanlarda nöbetler tamamen baskılanmış fakat sıçanlar 25 günlük olduğunda sıçanlardaki bu etki ortadan kalkmıştır (Tchekalarova J Seizure 2009). Devam eden çalışmalar kimyasal enjeksiyon ile oluşturulan absans nöbetlerin erken dönem kafein tedavisi ile baskılanmasının sadece erken dönemde değil aynı zamanda genç erişkin dönemde de sürdüğünü göstermektedir. 25. günde absans nöbetlerde bulunmayan baskılayıcı etkiler genç erişkinlerde tekrar ortaya çıkmaktadır. Bu çalışma aynı zamanda erken dönem kafein tedavisinin genç erişkinlik döneminde jeneralize miyoklonik nöbetlere karşı duyarlılıktaki artışı göstermiştir (Tchekalarova 2013, Tchekalarova ve diğ. 2009).

Çalışmamızda kullandığımız dozların erken dönemde uygulanması kafeinin adenzinin A1 ve A2 reseptörlerini antagonize ettiği bilinmektedir (Fredholm 2010). Bundan dolayı biz çalışmamızda bu reseptörün alt tiplerini etkilediğimizi varsaymaktayız. Sıçanlarda adenzin A1 reseptörlerinin ortaya çıkışı dereceli ve bölge spesifiktir (Gulliet ve Kellogg 1991). Adenzin A2A reseptörleri postnatal dönemde ön beyin bölgelerinde bulunur. Kafein bu reseptörler vasıtasıyla nöbet eşliğini modüle edebilmektedir. Adenzin A1 ve A2 reseptörleri zıt etkilere sahiptir ve kafein adenzin reseptör alt tiplerine bağılı olarak farklı etkiler oluşturabilir (El Yacoubi ve diğ. 2008). PTZ ile oluşturulan nöbetlerdeki koruyucu etkilerin kronik kafein uygulanımı sonucu adenzin A2A reseptörlerinin ortadan kalkması ya da kronik olarak bloke edilmesine bağılı olduğu ifade edilmiştir (El Yacoubi M ve diğ. 2008). Nöronal uyarılabilirliğin birlikte eksprasyonu ve birlikte ko-lokalizasyon gösteren A2A ve A1 reseptörlerinin arasındaki etkileşimle modüle edildiği gösterilmiştir (Cunha ve diğ. 1994). Sinaptik adenzinin yüksek ve düşük konsantrasyonları glutamat salınımına ait etkiler oluşturabilir (Ferre S ve diğ. 2008). Beyin bölgelerindeki A1 ve A2 reseptörlerinin dengesinin değişiminin kronik kafein tedavisinin nöbet eğilimine olan farklı etkilerinden sorumlu tutulmaktadır.

Çalışmamızda genetik epilepsili sıçanlarda absans nöbetlerin sayısı yüksek doz kafein uygulanımı ile azalmıştır. Toplam nöbet süresi ise değişmemiştir. Bu bulgular kafeine maruz kalmanın erişkin dönemde absans nöbetleri etkileyebileceğini gösteren daha önceki çalışma ile uyum halindedir. Neonatal kafein tedavisi sıçanlarda adenosin A1 reseptör gelişimini hızlandırır (Guillet ve Kellogg 1991, Gaytan ve diğ. 2006). Reseptörler erişkin yoğunluklarına erken dönemlerde ulaşırlar ve bu yaşla ortaya çıkan davranış gelişimlerine paralel gider. Adenosin A1 reseptörleri erişkin yoğunluğuna beyin sapında postnatal 8. günde, hipotalamusta 14. günde serebellumda 24 günde ve kortekste daha sonra ulaşır. Adenosin A2 reseptörleri striatumda ikinci ve üçüncü postnatal haftada artış gösterirler (Gaytan ve diğ. 2006, Guillet R ve Kellogg CK 1992, Jacobson ve diğ. 1996). Tekrarlayan kafein enjeksiyonlarımız adenosin reseptörlerinin bulunduğu fakat tamamen olgunlaşmadığı dönemlerde uygulanmıştır. Reseptör gelişimindeki değişiklikler absans epilepside görülen değişikliklerden sorumlu olabilir. Diğer taraftan genetik absans epilepsi modelimizde daha önceki kimyasal uygulanımı ile oluşturulan absans epilepsi modelindeki gibi güçlü baskılanma gözlenmemiştir. Bu nedenle nöbet sayısında ve toplam nöbet süresindeki azalma eğilimi, ortalama nöbet süresindeki artış eğilimi neonatal kafein uygulanımının beyinde oluşturduğu uzun süreli değişiklikler ve bunun davranışsal sonuçlarına eşlik ediyor olabilir.

Çalışmamızda genetik absans epilepsili sıçanlarda PTZ ile oluşturulan jeneralize tonik- klonik nöbetlerde ise değişiklik saptanmamıştır. Doğum sonrası dönemde kafeine maruz kalan sıçanlarda yapılan daha önce yapılan bir çalışmada PTZ ile oluşturulan miyoklonik nöbet şiddetinde artış saptanmıştır (Tchekalarova ve diğ. 2005). Düşük doz kafein uygulanımının ön beyin konvülfif nöbetlerinde prokonvülzan olduğu ileri sürülmüştür (Tchekalarova ve diğ. 2006). Çalışmamızda postnatal dönemdeki kafein uygulanımının tonik-klonik nöbetler üzerinde etkisiz olması verilen yüksek PTZ dozu ile ilgili olabilir. Ayrıca minimal nöbetlerin arttığı daha önceki çalışmada jeneralize tonik klonik nöbetler

etkilenmemiştir. Bu durum sadece minimal klonik nöbetlere karışan beyin yapılarının etkilenmiş olması ile açıklanabilir.

Çalışmamızda erken dönemde verilen kafein erişkin dönemde depresyon benzeri davranışları ve lokomotor aktiviteyi de etkilemiştir. Absans epilepsinin en iyi bilinen genetik bir modeli olan WAG/Rij ırkı sıçanlar DDD'ler ile birlikte depresyon benzeri davranış komorbiditesi göstermektedirler. Bu ırktaki sıçanlarda zorunlu yüzdürme testinde ve sukroz testinde depresyon benzeri davranışlar saptanmaktadır. Depresyonun davranışsal semptomları WAG/Rij sıçanlarda hem 3 ve 4. aylarda hem de 5. ve 6. aylarda bulunmaktadır. Ancak bu semptomlar artmış nöbet süresi ile paralel olarak şiddetlenmektedir. (Sarkisova ve diğ. 2010, Sarkisova ve diğ. 2011).

Erken dönemde kafein verilen gruplarda depresyon davranışları değerlendirildiğinde zorunlu yüzdürme testinde önemli farklılıklar bulunmuştur. Kafein alan gruplardaki sıçanlar zorunlu yüzme testinde daha aktiftirler. İmmobilite latansı ve aktif yüzme süresi de bu gruplarda artmıştır. Sükroz tüketim miktarı değerlendirildiğinde yine kafeine maruz kalma sükroz tüketimini arttırmıştır. Kafein uygulaması sıçanlarda depresyon benzeri davranışların azalmasına sebep olmuştur. Preklinik ve klinik veriler depresyon benzeri davranış ve adenozerjik modulator sistem arasındaki bağlantıyı göstermiştir (Tchekalova ve diğ. 2009). Merkezi sinir sistemindeki nöromodulator adenosin sinaptik aktivite ve nörotransmitter salınımı üzerinde etkilidir. Klinik veriler beyin adenosin homeostazisindeki değişiklikler ve ruhsal hastalıklar arasındaki bağlantıyı desteklemektedir. Majör depresyonlu hastaların serum adenosin deaminaz seviyelerinin düşük olduğu rapor edilmiştir. Daha da ötesi bazı çalışmalar kafeinin depresyona yol açabileceğini ya da depresyonu artırabileceğini gösterirken diğer çalışmalarda hastalar yüksek anksiyete skorlarına sahiptir fakat bu hastalarda depresyon görülmemiştir (Reus ve diğ. 2017). Akut ya da kronik kafeinin düşük dozlarda antidepresan etkiler oluştururken yüksek dozlarda

kafeinin depresif etkili ve anksiyete oluşturabileceği ileri sürülmektedir. Hayvan çalışmalarında da adenozerjik sistemin ve onun non-selektif antagonisti kafeinin depresyon benzeri davranışları düzenlenmesine önemli bir rolü olabileceği ileri sürülmüştür. Kafein gibi metil-ksantinler ve selektif A2A reseptör antagonistleri yüzme testinde immobilitiyi bloke edebilme yeteneğindedirler (El Youcobi 2003). Çalışmamızda saptadığımız neonatal dönemdeki kronik kafein uygulamasının antidepresan etkisi merkezi adenozer reseptörlerinin yoğunluğundaki kalıcı değişikliklerle ilgili gözükmektedir. Erken kafein tedavileri beyin yapılarında adenozer reseptör yoğunluğunu değiştirmektedir. Doğumdan sonraki ilk 13 haftada kafeine maruz kaldıklarında sıçanların DNA, protein ve çinko seviyeleri değişmekte ve bu değişiklikler aylarca sürmektedir. Perinatal kafein uygulamasını katekolaminler, trozin, triptofan, serotonin ve döngüsel nükleotitlerin beyindeki seviyelerini değiştiren biyokimyasal değişiklikler de oluşturmaktadır (Reus ve diğ. 2017).

Sonuçlarımız neonatal kafeine maruz kalan sıçanlarda; erişkin dönemde kontrol grubuna göre lokomotor aktivite testinde ölçülen mesafe ve lokomotor aktivite skorlarında farklılığını göstermiştir. Pek çok deneysel çalışma akut kafein uygulamasının açık alan testindeki aktivitenin etkilendiğini göstermektedir (Dews 1982, Nehling ve diğ. 1992). Düşük dozlarda metil ksantinler deney hayvanlarında lokomotor aktivite testinde geçilen kare sayısında artma gibi hiperaktif reaksiyonlar ortaya çıkarmaktadır (Holloway 1982). Çalışmamız doğum sonrası erken dönemde kafein tedavilerinin de (P7-11) lokomotor aktivite değişikliklerine sebep olduğunu ve bu değişikliklerin 60 gün sonra hiperaktivite davranışları şeklinde olduğunu göstermektedir. Locomotor aktivite değişikliklerinin uzun süreli olarak sürmesinde kafeine maruz kalınan gelişim dönemi önemlidir (Tchekalarova ve diğ. 2004). Bizim uygulama yaptığımız doğum sonrası 7-11. günler arasındaki dönem kalıcı lokomotor aktivite değişiklikler için kritiktir. Erişkin dönemde saptadığımız hiperaktivite de beyin adenozer reseptör sistemindeki değişikliklerden kaynaklanabilir. Diğer taraftan

erken dönemde kafein maruziyeti sonucunda adenozin reseptör gelişimindeki hızlanma aynı gelişim sürecindeki diğer reseptör sistemlerinin maturasyonunu da değiştirebilir. Kafein ile oluşan davranışsal etkiler santral benzodiazepin ve/veya monoamin sistemleri ile de bağlantılı olabilir (Tchekalarova 2005). Lokomotor aktivite değişiklikleri nöbet davranışındaki değişikliklere de katkıda bulunabilir.

Frontal korteks stres, kognisyon, materyal bakım ve duygu durum bozukluklarının ile ilgili bir beyin bölgesidir. Beynin medikal prefrontal korteks bölgesinde bulunan nöronlarda deneyime bağlı olarak dentritik uçların büyüklüğünde, şeklinde, sayısında ve eksitator sinapsların yerlerinde değişiklikler oluşabilmektedir (Sorra ve Haris 2000). Kafeinin neonatal uygulanımı da bu limbik yapıda pramidal hücrelerin dentritik yapısında etki oluşturabilmekte ve bu etki puberteden sonra da devam etmektedir. Deneysel çalışmalar medial prefrontal korteksin ve talamusun DRN çekirdeklerindeki elektriksel olayların absans epilepsinin ortaya çıkışına katkıda bulunacağını ileri sürmektedir. İlave olarak prefrontal korteks seratonin konsantrasyonlarının artışı sonucu depresyon davranışının ortadan kalkması prefrontal korteksin depresyon ile olan bağlantısını göstermektedir (Hajos ve diğ. 1998) .

Çalışmamızda prefrontal korteksin FT-IR ile incelenmesi neonatal kafeinin uzun süren etkilerinin hücresel seviyede kanıtlarını sunmuştur. Kontrol ve kafein gruplarının sıçan prefrontal korteks dokularının 3050–2800 cm^{-1} bölgesindeki ortalama FTIR spektrumları fark göstermektedir. C-H gerilme bölgesi olarak adlandırılan bu bölgedeki bantlar, olefinik HC=CH gruplarındaki C-H gerilmelerinin titreşimlerinden, CH₃ antisimetrik gerilme titreşimlerinden, CH₂ antisimetrik gerilme titreşimlerinden, CH₃ simetrik gerilme titreşimlerinden ve CH₂ simetrik gerilme titreşimlerinden kaynaklanmaktadır (Watts ve De Pont 1986; Severcan ve diğ. 2000; Severcan ve diğ. 2005; Cakmak ve diğ. 2006; Bozkurt ve diğ. 2010; Ozek ve diğ. 2010). Bu bölgede bulunan CH₂ antisimetrik, CH₂ simetrik ve CH₃ antisimetrik gerilme titreşimlerinin bant şiddetleri veya bant

alanları sistemdeki lipit miktarı ve CH₃ simetrik gerilme titreşimlerinin bant şiddeti ve alanı ise sistemdeki protein miktarı hakkında bilgi vermektedir (Severcan ve diğ. 2000; Cakmak ve diğ. 2011).

Doymamış yağ asitlerinde bulunan HC=CH gruplarının C-H bağlarındaki gerilme titreşimlerinden kaynaklanan ve 3014 cm⁻¹ civarında gözlenen olefinik=CH gerilme bantının altında kalan alan hidrokarbon zincirlerinin doymuşluğu hakkında bilgi vermektedir (Takahashi ve diğ. 1991; Melin ve diğ. 2000; Cakmak ve diğ. 2003; Severcan ve diğ. 2005). Şekil 3'ten görüldüğü gibi bu bantın altında kalan alan her iki kafein grubunda azalmıştır. Alan değerindeki bu azalış, kafein uygulanmış gruplarda sıçan beyninde doymamış yağ oranının daha az olduğunu göstermektedir.

CH₃ antisimetrik gerilme bantı, lipitlerin açıl zincirlerindeki metil gruplarından kaynaklıdır (Takahashi ve diğ. 1991). CH₃ antisimetrik gerilme bantının alan değerindeki kafein gruplarında azalma prefrontal korteks dokusundaki membrane lipitlerin açıl zincirlerinde bulunan metil gruplarının sayısında bir azalışa sebep olduğunu göstermektedir (Takahashi ve diğ. 1991).

C-H titreşim bölgesinde yer alan doymuş lipitlere ait ana bantların (CH₂ antisimetrik ve CH₂ simetrik gerilim bantları) alan değerleri incelendiğinde kafein uygulanmış dokuda doymuş lipitlerde kontrole göre anlamlı bir azalmanın gözlenmiş olması dokuda doymuş lipit miktarının azaldığını göstermektedir. Parmak izi bölgesinde yer alan, lipitlerden kaynaklanan bir diğer bant olan 1461 cm⁻¹'deki CH₂ bükülme bantının alan değerindeki değişim de lipit içeriği hakkında bilgi vermektedir. Bu bantın alan değerleri incelendiğinde diğer lipit bantlarından elde edilen sonuçları destekleyici olarak kafein grubunun her ikisinde de prefrontal kortekste kontrole göre anlamlı bir azalışın görülmesi doymuş lipit içeriğinde azalma olduğu sonucunu desteklemektedir (Bozkurt ve diğ. 2010; Garip ve Severcan 2010; Ozek ve diğ. 2010).

Çalışma kapsamında incelenen 1800-900 cm^{-1} bölgesinde yer alan bölge, çalışılan sisteme özgü fonksiyonel grup titreşimleri içerdiğinden parmak izi bölgesi olarak adlandırılmaktadır ve kolesterol ester, trigliserit, protein, nükleik asit, karbonhidrat, RNA ve DNA gibi moleküllerden kaynaklanan spektral bantlar içermektedir. Şekil 4'te kontrol ve kafein grubundaki sıçan prefrontal korteks spektrumlarının 1800–900 cm^{-1} bölgesi gösterilmiştir.

1738 cm^{-1} de yer alan C=O ester (karbonil ester) gerilme bantı ağırlıklı olarak trigliserit ve kolesterol esterlerinden kaynaklanmaktadır (Bozkurt ve diğ. 2010; Ozek ve diğ. 2010) ve ayrıca membran lipitlerinin polar ve apolar kısımlarının etkileştikleri bölgeler hakkında önemli bilgiler vermektedir (Takahashi ve diğ. 1991; Kneipp ve diğ. 2000). Dolayısıyla, bu bantın sinyal şiddeti ve/veya alan değerindeki bir değişikliğin lipit miktarı ile doğru orantılıdır (Takahashi ve diğ. 1991; Haris ve Chapman 1996; Haris ve Severcan 1999). Kontrol ve kafein gruplarının spektrumları karşılaştırıldığında kafein grubunun yine karbonil ester bantının alan değeri azalmıştır. Bu sonuç, kafein uygulanmış gruplarda trigliserit ve kolesterol miktarında bir azalma olduğunu göstermektedir. Bu gözlem 3025-2800 cm^{-1} bölgesi sonuçlarında da gözlenen lipit miktarının azaldığı yorumunu desteklemektedir. Ayrıca bu bantın dalga sayısı değerinde yüksek değerlere doğru bir kayma meydana gelmiş olması kafein uygulamasının lipitlerin yapılarında, özellikle membran lipitlerin paketlenmesinde bir farklılık oluşturduğu görüşünü kuvvetlendirmektedir (Turker ve diğ., 2014).

Parmak izi bölgesinde yer alan 1655 ve 1545 cm^{-1} dalga sayısında gözlemlenen amid I ve amid II bantları protein kaynaklı bantlardır (Bozkurt ve diğ. 2010; Ozek ve diğ. 2010). Amid I bantı %80 oranında C=O gerilme, %10 oranında C-N gerilme %10 oranında N-H bükülme titreşimlerinden, amid II bantı ise %60 oranında N-H bükülme ve %40 oranında C-N gerilme titreşimlerinden kaynaklanmaktadır (Takahashi ve diğ. 1991; Wong ve diğ. 1991; Stuart 1997; Haris ve Severcan 1999; Cakmak ve diğ. 2006; Dogan ve diğ. 2007; Bozkurt ve

diğ. 2010; Ozek ve diğ. 2010). Bu bantlara ilaveten, C-H gerilme bölgesinde, 2871 cm⁻¹ de yer alan CH₃ simetrik gerilme bantıda sistemdeki proteinler hakkında bilgi vermektedir. Şekilden de ve tablodan görüldüğü gibi amid I ve CH₃ simetrik gerilme bantlarının alan değerlerindeki azalma dokuda protein miktarında azalma olduğu anlamına gelmektedir (Bozkurt ve diğ. 2010; Ozek ve diğ. 2010).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmanın ana sonuçları aşağıda gibidir:

1. Kafeinin tekrarlayan doğum sonrası enjeksiyonları genetik absans epilepsili sıçanlarda erişkin dönemde saptanabilen kalıcı epileptik aktivite değişiklikleri oluşturmuştur. PTZ ile oluşturulan tonik-klonik nöbet aktivitesi ise değişmemiştir.

2. Absans epilepsiye eşlik eden depresyon benzeri davranışlarda azalma oluşmuştur.

3. Gelişimsel dönemde kafein maruziyeti erişkin dönemde lokomotor aktivitede önemli derecede artış oluşturmuştur.

4. FT-IR tekniği ile hücresel ve moleküler seviyede kalıcı nörokimyasal değişiklikler gösterilmiştir.

Doğum sonrası dönemden erişkinlik dönemine kadar devam eden kalıcı etkilere A1 ve A2 reseptörlerinin göreceli katkılarını açıklayacak ilave çalışmalar gerekmektedir.

7.KAYNAKÇA

Ates N, Sahin D, Ilbay G. Theophylline, a methylxanthine derivative, suppresses absence epileptic seizures in WAG/Rij rats. *Epilepsy Behav.* 2004 Oct; 5(5):645-8

Berkovic SF Genetics of Epilepsy in Clinical Practice. *Epilepsy Curr.* 2015 Jul-Aug;15(4): 192-6.

Bonilha L, Li LM. Heavy coffee drinking and epilepsy. *Seizure.* 2004 Jun; 13(4):284-5.

Brooks-Kayal AR1, Bath KG, Berg AT, Galanopoulou AS, Holmes GL, Jensen FE, Kanner AM, O'Brien TJ, Whittemore VH, Winawer MR, Patel M, Scharfman HE. Issues related to symptomatic and disease-modifying treatments affecting cognitive and neuropsychiatric comorbidities of epilepsy. *Epilepsia.* 2013 Aug;54 Suppl 4:44-60

Boyar H. and Severcan F., Oestrogen-phospholipid membrane interactions: an FTIR study, *Journal of Molecular Structure*, (1997) 408 409 269-272.

Boyar H., Turan B. and Severcan F., FTIR spectroscopic investigation of mineral structure of streptozotocin induced diabetic rat femur and tibia, *Spectroscopy*, (2003) 17 627–633

Bozkurt O., Bayari S.H., Severcan M., Krafft C., Popp J. and Severcan F., Structural alterations in rat liver proteins due to streptozotocin-induced diabetes and the recovery effect of selenium: Fourier transform infrared microspectroscopy and neural network study, *Journal of Biomedical Optics*, (2012) 17 7.

Bozkurt O., Dincer Bilgin M. and Severcan F., The effect of diabetes mellitus on rat skeletal extensor digitorum longus muscle tissue: An FTIR study, *Spectroscopy*, (2007) 21 151–160.

Bozkurt O., Severcan M. and Severcan F., Diabetes induces compositional, structural and functional alterations on rat skeletal soleus muscle revealed by FTIR spectroscopy: a comparative study with EDL muscle, *Analyst*, (2010) 135 12 3110-3119.

Clancy, B., Finlay, B.L., Darlington, R.B., Anand, K.J. Extrapolating brain development from experimental species to humans. *Neurotoxicology* 2007 28, 931–937.

Coulter DA, Steinhäuser C. Role of astrocytes in epilepsy. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2015 Mar 2;5(3)

Coulter DA, Huguenard JR, Prince DA.. Specific petit mal anticonvulsants reduce calcium currents in thalamic neurons. *Neurosci Lett* 1989. 98: 74–78.

Cornejo BJ1, Mesches MH, Coultrap S ve diğ. A single episode of neonatal seizures permanently alters glutamatergic synapses. *Ann Neurol.* 2007 May;61(5): 411-26

Cameron P.G. and Charette G.M., Automation of Fourier Transform Infrared of Temperature Induced Phenomena, *Appl. Spectrosc.*, (1981) 35 224.

Cakmak G., Zorlu F., Severcan M. and Severcan F., Screening of protective effect of amifostine on radiation-induced structural and functional variations in rat liver microsomal membranes by FT-IR Spectroscopy, *Analytical Chemistry*, (2011) 83 7 2438-2444.

Cakmak G., Togan I. and Severcan F., FT-IR spectroscopic analysis of rainbow trout liver exposed to nonylphenol, *Applied Spectroscopy*, (2003) 57 7 835-841.

Cakmak G., Togan I. and Severcan F., 17b-estradiol induced compositional, structural and functional changes on rainbow trout liver, revealed by FTIR spectroscopy: A comparative study with nonylphenol, *Aquatic Toxicology*, (2006) 77 1 53-63.

Casal H.L. and Mantsch H.H., Polymorphic phase behaviour of phospholipid membranes studied by infrared spectroscopy, *Biochim Biophys Acta*, (1984) 779 381-401.

Cunha RA, Milusheva E, Vizi ES, Ribeiro JA, Sebastião AM: Excitatory and inhibitory effects of A1 and A2A adenosine receptor activation on the electrically evoked acetylcholine release from different areas of the rat hippocampus. *J Neurochem* 1994,63, 207–214.

Dews PB. Caffeine. *Annu Rev Nutr.* 1982;2:323-41

Dragunow M Adenosine receptor antagonism accounts for the seizure-prolonging effects of aminophylline. *Pharmacol Biochem Behav.* 1990 Aug;36(4): 751-5.

Dogan A., Ergen K., Budak F. and Severcan F., Evaluation of disseminated candidiasis on an experimental animal model: An FTIR Study, *Applied Spectroscopy*, (2007) 61 2 199-203.

During MJ, Spencer DD. Adenosine: a potential mediator of seizure arrest and postictal refractoriness. *Ann Neurol.* 1992 Nov; 32(5):618-24.

Dogan M.D., Ataoglu H. and Akarsu E.S., Characterization of the hypothermic component of LPS-induced dual thermoregulatory response in rats, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, (2002) 72 143-150.

El Yacoubi M, Ledent C, Parmentier M, Costentin J, Vaugeois JM: Evidence for the involvement of the adenosine A₁ receptor in the lowered susceptibility to pentylentetrazol-induced seizures produced in mice by long-term treatment with caffeine. *Neuropharmacology*, 2008, 55, 35–40.

Fisher S, Guillet R. Neonatal caffeine alters passive avoidance retention in rats in an age- and gender-related manner. *Dev Brain Res* 1979;98:145–9.

Ferre S, Ciruela F, Borycz J, Solinas M, Quarta D, Antoniou K, Quiroz C et al.: Adenosine A1-A2A receptor heteromers: new targets for caffeine in the brain. *Front Bio- sci*, 2008, 13, 2391–2399.

Fredholm BB: Adenosine receptors as drug targets. *Exp Cell Res*, 2010, 316, 1284–1288.

Garip S., Gozen A.C., Severcan F., Use of fourier transform infrared spectroscopy for rapid comparative analysis of Bacillus and Micrococcus isolates, *Food Chemistry*, (2009) 113 4 1301-1307.

Garip S. and Severcan F., Determination of simvastatin-induced changes in bone composition and structure by Fourier transform infrared spectroscopy in rat animal model, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, (2010) 52 580–588.

Gaytan SP, Saadani-Makki F, Bodineau L, Frugière A, Larnicol N, Pásaro R. Effect of postnatal exposure to caffeine on the pattern of adenosine A1 receptor distribution in respiration-related nuclei of the rat brainstem. *Auton Neurosci*. 2006 Jun 30;126-127:339-46. Epub 2006 May 15.

Genç İnan A., Molecular characterization of the effects of valdecoxib on colon cancer cell lines (HT29 & SW620) using ATR-FTIR spectroscopy, *Doktora Tezi*, Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Ankara (2014).

Gaytan SP, Saadani-Makki F, Bodineau L, Frugiere A, Larnicol N, Pásaro R: Effect of postnatal exposure to caffeine on the pattern of adenosine A1 receptor distribution in respiration-related nuclei of the rat brainstem. *Auton Neurosci*, 2006, 127, 339–346.

Germé K, Faure JB, Koning E, Nehlig A. Effect of caffeine and adenosine receptor ligands on the expression of spike-and-wave discharges in Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg (GAERS). *Epilepsy Res*. 2015 Feb; 110:105-14.

Gerwert K.K., *Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy*. Hoboken: John Wiley & Sons, (2010).

Guillet R1, Dunham L. Neonatal caffeine exposure and seizure susceptibility in adult rats. *Epilepsia*. 1995 Aug;36(8):743-9.

Guillet R, Kellogg CK: Neonatal caffeine exposure alters developmental sensitivity to adenosine receptor ligands. *Pharmacol Biochem Behav*, 1991, 40, 811–817.

Hajos M, Richards CD, Szekely AD ve diğ . An electrophysiological and neuroanatomical study of the medial prefrontal cortical projection to the midbrain raphe nuclei in the rat. *Neuroscience*. 1998;87(1):95 – 108.

Haris P.I. and Chapman D., *Infrared Spectroscopy of Biomolecules*, Wiley-Liss, Inc., USA, (1996) 239-278.

Haris P. and Severcan F., FTIR spectroscopic characterization of protein structure in aqueous and non-aqueous media, *J. Molecular Catalysis: B (Enzymatic)*, (1999) 7 207-221.

Holloway WR. Caffeine: effects of acute and chronic exposure on the behavior of neonatal rats. *Neurobehav Toxicol Teratol* 1982;4:21–32.

Jacobson KA, von Lubitz DK, Daly JW, Fredholm BB: Adenosine receptor ligands: differences with acute versus chronic treatment. *Trends Pharmacol Sci*, 1996, 17, 108–113.

Johansson B, Georgiev V, Kuosmanen T, Fredholm BB. Long-term treatment with some methylxanthines decreases the susceptibility to bicuculline and pentylenetetrazol-induced seizures in mice. Relationship to c-fos expression and receptor binding. *Eur J Neurosci*. 1996 Dec;8(12):2447-58.

Kneipp J., Lasch P., Baldauf E., Beekes M. and Naumann D., Detection of pathological molecular alterations in scrapie-infected hamster brain by Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy, *BBA*, (2000) 1501 189-199.

Melin A.M., Perromat A. And Deleris G., Pharmacologic application of Fourier transform IR spectroscopy: In vivo toxicity of carbon tetrachloride on rat liver, *Biopolymers (Biospectroscopy)*, (2000) 57 160-168.

Montandon G1, Kinkead R, Bairam A, Adenosinergic modulation of respiratory activity: developmental plasticity induced by perinatal caffeine administration. *Respir Physiol Neurobiol*. 2008 Dec 10;164(1-2):87-95

Nehlig A, Daval J-L, Debry G. Caffeine and the central nervous system: mechanisms of action, biochemical, metabolic and psychostimulant effects. *Brain Res Rev* 1992;17:139–70.

Ozek N.S., Bal I.B., Sara Y., Onur R. and Severcan F., Structural and functional characterization of simvastatin-induced myotoxicity in different skeletal muscles, *Biochimica et Biophysica Acta* (2014) 1840 406–415.

Ozek N.S., Tuna, S., Erson-Bensan A.E. and Severcan F., Characterization of micro RNA-125b expression in MCF7 breast cancer cells by ATR-FTIR spectroscopy, *Analyst*, (2010) 135 (12) 3094-102.

Pitkänen A, Lukasiuk K, Dudek FE, Staley KJ. Epileptogenesis. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2015 Sep 18;5(10).

Ribeiro JA, Sebastião AM. Caffeine and adenosine. *J Alzheimers Dis*. 2010;20 Suppl 1:S3-15.

Russo E, Citraro R, Constanti A ve diğ. Upholding WAG/Rij rats as a model of absence epileptogenesis: Hidden mechanisms and a new theory on seizure development. 2016 Dec;71:388-408; Review.

Russo, E., Citraro, R., Donato, G., Camastra, C., Iuliano, R., Cuzzocrea, S., Constanti, A., De Sarro, G., mTOR inhibition modulates epileptogenesis, seizures and depressive behavior in a genetic rat model of absence epilepsy. *Neuropharmacology* 2013 69, 25–36

Russo, E., Follesa, P., Citraro, R., Camastra, C., Donato, A., Isola, D., Constanti, A., De Sarro, G., Donato, G., The mTOR signaling pathway and neuronal stem/progenitor cell proliferation in the hippocampus are altered during the development of absence epilepsy in a genetic animal model. *Neurol. Sci*. 2014 35, 1793–1799

Sarkisova KY, Kuznetsova GD, Kulikov MA, van Luijtelaaar G. Spike-wave discharges are necessary for the expression of behavioral depression-like symptoms. *Epilepsia*. 2010 Jan;51(1):146-60

Sanders RC, Murray TF. Temporal relationship between A1 adenosine receptor upregulation and alterations in bicuculline seizure susceptibility in rats. *Neurosci Lett*. 1989 Jul 3;101(3):325-30.

Sarkisova K, van Luijtelaar G. The WAG/Rij strain: a genetic animal model of absence epilepsy with comorbidity of depression [corrected]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2011 Jun 1;35(4):854-76.

Scicchitano F, van Rijn CM2, van Luijtelaar G2. Unilateral and Bilateral Cortical Resection: Effects on Spike-Wave Discharges in a Genetic Absence Epilepsy Model. *PLoS One*. 2015 Aug 11;10(8):e0133594

Shorvon SD, Andermann F, Guerrini R. The causes of epilepsy: changing concepts of etiology of epilepsy over the past 150 years. *Epilepsia*. 2011 Jun;52(6):1033-44.

Stafstrom CE, Carmant L. Seizures and epilepsy: an overview for neuroscientists. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2015 Jun 1;5(6). Review.

Strine TW1, Kobau R, Chapman DP, Thurman DJ, Price P, Balluz LS. Psychological distress, comorbidities, and health behaviors among U.S. adults with seizures: results from the 2002 National Health Interview Survey. *Epilepsi*. 2005 Jul;46(7):1133-9.

Severcan F., Toyran N., Kaptan N. and Turan B., FTIR study of the effect of diabetes on rat liver and heart tissues in the C-H region, *Talanta*, (2000) 53 55-59.

Severcan F., Sahin I. and Kazanci N., Melatonin strongly interacts with zwitterionic model membranes-evidence from Fourier transform infrared spectroscopy and differential scanning calorimetry, *Biochim Biophys Acta.*, (2005) 1668 2 215-222.

Strine TW1, Kobau R, Chapman DP ve diğ. Psychological distress, comorbidities, and health behaviors among U.S. adults with seizures: results from the 2002 National Health Interview Survey. *Epilepsia*. 2005 Jul;46(7):1133-9.

Stuart B., *Biological Applications of Infrared Spectroscopy*, John Wiley and Sons, Ltd., England (1997).

Sorra KE, Harris KM. Overview on the structure, composition, function, development, and plasticity of hippocampal dendritic spines. *Hippocampus*. 2000;10(5):501-11.

Surges R1, Sander JW. Sudden unexpected death in epilepsy: mechanisms, prevalence, and prevention. *Curr Opin Neurol*. 2012 Apr;25(2):201-7.

Takahashi H., French S.M. and Wong P.T.T., Alteration in hepatic lipids and proteins by chronic ethanol intake: A high pressure Fourier transform infrared spectroscopic study on alcoholic liver disease in the rat, *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, (1991) 15 219-223.

Tchekalarova J, Kubová H, Mares Postnatal caffeine treatment affects differently two pentylenetetrazol seizure models in rats. *Seizure*. 2009 Sep;18(7):463-9.

Tchekalarova J, H. Kubová, P. Mareš Biphasic effect of chronic postnatal caffeine treatment on cortical epileptic afterdischarges during ontogeny in rats *Brain Res*. (2006), pp. 43-49

Tchekalarova JD, Kubová H, Mareš P Early caffeine exposure: transient and long-term consequences on brain excitability. *Brain Res Bull*. 2014 May; 104:27-35. Review

Tchekalarova JD, Kubová H, Mareš P. Different effects of postnatal caffeine treatment on two pentylenetetrazole-induced seizure models persist into adulthood. *Pharmacol Rep*. 2013;65(4):847-53.

Tchekalarova J, Kubova H, Mares P. Postnatal caffeine exposure: effects on motor skills and locomotor activity during ontogenesis. *Behav Brain Res*. 2005 May 7;160(1):99-106.

Tchekalarova, J., Kubová, H., Mares, P., 2009. Postnatal caffeine treatment affects differently two pentylenetetrazol seizure models in rats. *Seizure* 18, 463–469.

Tchekalarova JI, Kubová H, Mares P. Postnatal caffeine treatment affects differently two pentylenetetrazol seizure models in rats. *Seizure*. 2009 Sep;18(7): 463-9. Epub 2009 Jun 2.

Toyran N. and Severcan F., Competitive effect of Vitamin D2 and Ca²⁺ on phospholipids model membranes: an FT-IR study, *Chem. Phys. Lipids*. (2003) 123 165–176.

Türker-Kaya, S.aEmail Author, Mutlu, O.b, Çelikyurt, I.K.b, Akar, F.b, Ulak, G.b *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* Volume 161, 15 May 2016, Pages 178-185 Tianeptine, olanzapine and fluoxetine show similar restoring effects on stress induced molecular changes in mice brain: An FT-IR study (Article)

Toyran N. Turan B. and Severcan F., Selenium Alters The Lipid Content And Protein Profile of Rat Heart: An FTIR Microspectroscopic Study, *Archives of Biochemistry And Biophysics*., (2007) 458 2 184-193.

Toyran N., Lasch P., Naumann D., Turan B., Severcan F., Early alterations in myocardia and vessels of the diabetic rat heart: an FTIR microspectroscopic study, *Biochem J*., (2006) 397 3 427-36.

Turker, S.ad, Severcan, M.b, Ilbay, G.c, Severcan, F. *Biochimica et Biophysica Acta – Biomembranes* Volume 1838, Issue 12, December 2014, Pages 3088-3096 Epileptic seizures induce structural and functional alterations on brain tissue membranes

Turker, S.ab, Ilbay, G.c, Severcan, M.d, Severcan, F. *Analytical Chemistry* Volume 86, Issue 3, 4 February 2014, Pages 1395-1403

Walsh M.J., Singh M.N., Pollock H.M., Cooper L.J., German M.J., Stringfellow H.F., Fullwood N.J., Paraskevaidis E., Martin-Hirsch P. L. and Martin F.L., ATR microspectroscopy with multivariate analysis segregates grades of exfoliative cervical cytology, *Biochem Biophys Res Commun*, (2007) 352 213-219.

Watts A. and De Pont J.J.H.H.M., Progress in protein–lipid interactions, vol. 2, Amsterdam, (1986) 103–147.

Wong P.T.T., Wong R.K., Caputo T.A., Godwin T.A. and Rigas B., Infrared spectroscopy of exfoliated human cervical cells: Evidence of extensive structural changes during carcinogenesis, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, (1991) 88 10988-10992.

Van Luijtelaar G, Sitnikova E. Global and focal aspects of absence epilepsy: the contribution of genetic models. *Neurosci Biobehav Rev.* 2006;30(7): 983-1003.

Velisek L ,Kubova H , Pohl M ve diğ. Pentylenetetrazol - induced seizures in rats: an ontogenetic study. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 1992 Nov; 346(5):588 - 91.

ÖZGEÇMİŞ

Zeynep İkbal DOĞAN

Kocaeli Üniversitesi, Tıp Fakültesi,

Fizyoloji Anabilim Dalı

Kocaeli/TÜRKİYE

+90 543 317 36 11

zryp_ikbal@hotmail.com

Kocaeli Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fizyoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans, Fizyoloji, (Eylül 2015-Devam ediyor)

Tez Konusu: Neonatal Dönemde Kafein Uygulanımının Nöbet Modellerinde
Elektroensefalografik Ve Davranışsal Etkilerinin Araştırılması

**Yeni Yüzyıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Fizyoterapi ve Rehabilitasyon
Bölümü**

Lisans: Fizyoterapi ve Rehabilitasyon (Eylül 2011 - Haziran 2015)

ARAŞTIRMA ALANLARI

Araştırma Konuları: Epilepsi, Depresyon

Teknik Araştırma Konuları: Elektrofizyoloji (EEG), FT-IR tekniği, insan ve hayvanlarda davranış değerlendirme yöntemleri.

İŞ TECRÜBESİ

Fizyoterapist, Pediatrik Terapi Merkezi, Sense On (2014- Devam ediyor).

Fiziksel, motor, duyuşal ve duygusal zorlukları olan pediatrik popülasyonun fizyoterapi ve rehabilitasyonu.

BİLİMSEL KURS VE STAJLAR

1. Profectum Academy Professional Certificate Level 1 Course in the DIR Model and Foundational Capacities for Development (FCD) - Online Course- 21/06/2016 -01/06/2017
2. EBTA-Pediatric Neuro-Developmental Treatment/Bobath Course, Senior Lecturer: Koen De Wulf PT, Marleen Dhondt SLT, Sabine Van Daele OT, Patrick Algoet PT, Jose De Cat PT 11.04.2016 - 28.10.2016 Istanbul, Turkey
3. Essentials of Sensory Integration Theory, 05 February 2015, İstanbul. Lecturer: Teresa May-Benson ScD, OTR/L, FAOTA
4. An introduction to The DIR® Model of Treatment .A Developmental, Individual - Difference, Relationship Based Approach of Treatment for Children with a Diagnosis of Autism & other Challenges in Relating & Communicating. Presented by Rosemary White OTR/L , Profectum DIR senior faculty, Chair of the OT Work Group. 14 Hours of Theory, 24 Hours of observation of treatment and consultations. 11-15 April, 2015, İstanbul, Turkey
5. University of Southern California -Sensory Integration Certificate Course, 14 October-June 2015, İstanbul/Türkiye.
6. Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası Kursu, 29 Mayıs-7 Haziran 2014, Yeditepe Üniversitesi, İstanbul/Türkiye.
7. New Paradigms for Pediatric Foot and Ankle Deformity Management; 15-19 October, 2015, İstanbul, Turkey Lecturer: Beverly Cusick, PT, MS, C/NDT, COF

POSTER VE SÖZLÜ BİLDİRİMLER

1. Balıkcı A, **Dogan Zİ**, İlbaý G. The Positive Effects of Sensory Integration Based Intervention on Daily Life Performance and Gross Motor Function at a Child Diagnosed with Rubinstein Taybi Syndrome, 5th European Sensory Integration Congress, 1-3 June 2017, Vienna/Austria (Poster)
2. İlbaý G, **Dogan Zİ**, Sevgi Türker KAYA, Balıkcı A. Neonatal caffeine administration causes permanent changes in the molecular organization of membran lipids of prefrontal cortical neurons of Wag/Rij rats, 16th International Neuroscience Congress 20-23 May 2018, İstanbul/Turkey

EK 10. Tez Denetleme Listesi

Tez, aşağıdaki denetimler yapılarak tamamlanmıştır.

- Kapak ve iç kapak sayfalarında BİLİM UZMANLIĞI ya da DOKTORA şeklinde elde edilen unvanlar yazıldı (Kapak sayfasına danışman adı yazılmamalıdır).
- Kapak sayfasına mezun olunan PROGRAMIN (Anabilim dalının değil) adı yazıldı.
- Tez kapağı sırt kısmına kılavuzda belirtilen çizimde (yazının yönüne dikkat!) ad, program, yıl yazıldı.
- Onay sayfası uygun çizimde hazırlandı (kazanılan unvanlar BİLİM UZMANLIĞI ya da DOKTORA olmalıdır) imzalatıldı (Enstitü Müdürü'nün imzası da gereklidir, imzaların aynı renk kalemle atılmasına dikkat edilmelidir).
- Dizinler kılavuzda belirtildiği gibi sıralandı.
- Ön sayfalara i, ii, iii şeklinde Roma rakamları konuldu.
- Sayfa numaraları kılavuzda belirtildiği şekilde konuldu.
- Sayfa düzeni kılavuzda belirtildiği şekilde yapıldı.
- Ana metin yazı boyutu 12 olacak biçimde basıldı.
- Dipnot yazı boyutu 10 olacak şekilde basıldı.
- Ana metin satır aralığı 1.5 olacak şekilde yazıldı.
- Kaynaklar abecesel sıralamaya göre yazıldı.
- Kaynak gösterme ilkelerine ve yazım kurallarına uyuldu.
- Ekler kılavuzda belirtildiği gibi verildi.

10. / 5. / 2018

Danışman

İmza





T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ



HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

PROJE NO: 2016/33 BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN ADI	Neonatal dönemde kafein uygulananın nöbet modellerinde davranışsal, elektroensefalografik, nöroanatomik etkilerinin araştırılması.
	SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ADI KURUMU	Doç.Dr.Gül İLBAY / Kocaeli Üniversitesi Tıp Fak.
	YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR	Prof.Dr. Melda YARDIMOĞLU YILMAZ, Fizyoterapist Zeynep İkbal DOĞAN, Uzman Fizyoterapist Aymen BALIKÇI

DEĞERLENDİRİLEN BELGE	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ ve EKLERİ	x
--------------------------	----------------------------------	---

KARAR BİLGİLERİ	Yukarıda başvuru bilgileri bulunan araştırma projesi Kocaeli Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesine dayanarak gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler açısından incelenmiş olup, araştırmanın yürütülmesinin etik açıdan uygun olduğu kararna varılmıştır.	
	KARAR NO: KOÜ HADYEK 7/1-2016	KARAR TARİHİ: 24.11.2016

ETİK KURUL ÜYELERİ			
ÜNVANI/ADI SOYADI ETİK KURUL GÖREVİ	BİRİMİ	TOPLANTIYA KATILMA	KARARA KATILMA İMZA
Prof. Dr. Hüsnü EFENDİ Başkan	Kocaeli Üniversitesi (KOÜ) Tıp Fakültesi Nöroloji AD	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Doç. Dr. Mine ŞEHİRALTI Başkan Vekili	KOU Tıp Fakültesi Tıp Tarihi ve Deontoloji AD	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Veteriner Hekim Cüneyt Özer Raportör	KOU Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Birimi	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Prof. Dr. Tijen UTKAN Üye	KOU Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Birimi Tıp Fakültesi Farmakoloji AD	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Yrd. Doç. Dr. Sabri CORA Üye	KOÜ Dış Hekimliği Fakültesi Endodonti AD	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Yard. Doç. Dr. Fevzi UÇKAN Üye	KOU Fen-Edebiyat Fakültesi Genel Biyoloji AD	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Prof. Dr. Zafer CANTÜRK Üye	KOU Tıp Fakültesi Genel Cerrahi AD	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Prof. Dr. Melda YARDIMOĞLU YILMAZ Üye	KOU Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Doç. Dr. Canan BAYDEMİR Üye	KOU Tıp Fakültesi Biyostatistik ve Tıbbi Bilişim AD	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Yard. Doç. Dr. Güler AKPINAR Üye	KOU Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Veteriner Hekim Akın Ziya ÜNAL Üye	Hayvan Hakları Derneği Veterinerler Odası	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Asiye ASLAN Üye	Emekli Öğretmen	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	

EK 10. Tez Denetleme Listesi

Tez, aşağıdaki denetimler yapılarak tamamlanmıştır.

- Kapak ve iç kapak sayfalarında BİLİM UZMANLIĞI ya da DOKTORA şeklinde elde edilen unvanlar yazıldı (Kapak sayfasına danışman adı yazılmamalıdır).
- Kapak sayfasına mezun olunan PROGRAMIN (Anabilim dalının değil) adı yazıldı.
- Tez kapağı sırt kısmına kılavuzda belirtilen çizimde (yazının yönüne dikkat!) ad, program,yıl yazıldı.
- Onay sayfası uygun çizimde hazırlandı (kazanılan unvanlar BİLİM UZMANLIĞI ya da DOKTORA olmalıdır) imzalatıldı (Enstitü Müdürü'nün imzası da gereklidir, imzaların aynı renk kalemle atılmasına dikkat edilmelidir).
- Dizinler kılavuzda belirtildiği gibi sıralandı.
- Ön sayfalara i, ii, iii şeklinde Roma rakamları konuldu.
- Sayfa numaraları kılavuzda belirtildiği şekilde konuldu.
- Sayfa düzeni kılavuzda belirtildiği şekilde yapıldı.
- Ana metin yazı boyutu 12 olacak biçimde basıldı.
- Dipnot yazı boyutu 10 olacak şekilde basıldı.
- Ana metin satır aralığı 1.5 olacak şekilde yazıldı.
- Kaynaklar abecesel sıralamaya göre yazıldı.
- Kaynak gösterme ilkelerine ve yazım kurallarına uyuldu.
- Ekler kılavuzda belirtildiği gibi verildi.

10. / 5. / 2018

Danışman

İmza

