

**T.C.**  
**PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**NÖROŞİRÜRJİ ANABİLİM DALI**

**RATLARDA DENEYSEL EPİLEPSİ MODELİNDE**  
**İNTRAHİPOKAMPAL VE İNTRAVASKÜLER ALLOJENİK KÖK**  
**HÜCRE UYGULAMASININ İKTAL AKTİVİTE ÜZERİNE**  
**ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ**  
**DR. ABDULLAH TOPCU**

**DANIŞMAN**  
**PROF. DR. BAYRAM ÇIRAK**

**DENİZLİ – 2014**

**T.C.**  
**PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**NÖROŞİRÜRJİ ANABİLİM DALI**

**RATLARDA DENEYSEL EPİLEPSİ MODELİNDE**  
**İNTRAHİPOKAMPAL VE İNTRAVASKÜLER ALLOJENİK KÖK**  
**HÜCRE UYGULAMASININ İKTAL AKTİVİTE ÜZERİNE**  
**ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ**  
**DR. ABDULLAH TOPCU**

**DANIŞMAN**  
**PROF. DR. BAYRAM ÇIRAK**

**DENİZLİ - 2014**

## ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Bayram ÇIRAK danışmanlığında Dr. Abdullah TOPCU tarafından yapılan "Ratlarda Deneysel Epilepsi Modelinde İntrahipokampal ve İntravasküler Allojenik Kök Hücre Uygulamasının İktal Aktivite Üzerine Etkilerinin Araştırılması" başlıklı tez çalışması 18/02/2014 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonrası yapılan değerlendirme sonucu jürimiz tarafından Nöroşirürji Anabilim Dalı'nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN

Prof. Dr. Feridun ACAR

ÜYE

Prof. Dr. Bayram ÇIRAK

Baneri

ÜYE

Doc. Dr. Mevcî ÖZÖEMİR

Alayrak

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.  
gün.../ay..../yıl.

  
Prof. Dr.  
Prof. Dr. Ali İhsan BOZKURT  
..... Dekan V. ....

Pamukkale Üniversitesi

Tıp Fakültesi Dekanı

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca ve uzmanlık eğitim süresince bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım sayın hocam Prof. Dr. Bayram Çırak'a; uzmanlık eğitimim süresince her konuda anlayış ve desteklerini esirgemeyen, bilgi ve deneyimlerini aktaran değerli hocalarım; sayın Prof. Dr. Mehmet Erdal Coşkun'a, sayın Prof. Dr. Feridun Acar'a, sayın Doç.Dr. Mevci Özdemir'e, Yrd. Doç. Dr. Veli Çıtışlı'ya; tez çalışmam sırasında yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Sebahat Turgut'a, Doç. Dr. A. Çevik Tufan'a, Doç. Dr. Emin Oğuzhan Oğuz'a, Vet. Dr. Barbaros Şahin'e, Histoloji ve Fizyoloji A.D. asistan arkadaşlarıma, birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum nöroşirürjiyen arkadaşlarıma ve nöroşirürji kliniğinin tüm çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

Bugünlere gelmemde büyük emeği olan, desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen ve her zaman yanımda olan sevgili annem, babam, kardeşlerim ve eşime sonsuz teşekkür ederim.

Dr. Abdullah Topcu

## İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI .....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	vi
TABLolar DİZİNİ.....	vii
RESİMLER DİZİNİ.....	viii
ÖZET .....	ix
SUMMARY .....	xi
GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
GENEL BİLGİLER .....	2
NÖBET PATOFİZYOLOJİSİ VE BİYOKİMYASI .....	2
NÖBET ETİYOLOJİSİ VE SINIFLAMASI.....	3
EPİLEPSİ TANISI VE ELEKTROENSEFALOGRAFİ.....	5
TEMPORAL LOB EPİLEPSİ .....	9
DENEYSEL EPİLEPSİ MODELLERİ.....	10
KÖK HÜCRE .....	13
Kök Hücre Çeşitleri ve Kaynakları.....	13
GEREÇ VE YÖNTEM.....	22
KEMİK İLİĞİ KÖKENLİ MEZENKİMAL KÖK HÜCRELERİN İZOLASYONU VE KÜLTÜRE EDİLMESİ .....	22
Mezenkimal Kök Hücre Elde Edilmesi.....	22
SIÇANLARDA DENEYSEL EPİLEPSİ MODELİ OLUŞTURULMASI .....	23
SIÇANLARIN GRUPLARA AYRILMASI VE KÖK HÜCRELERİN EKİLMESİ.....	26
EEG KAYITLARININ ELDE EDİLMESİ VE İSTATİSTİKSEL ANALİZ .....	27
BULGULAR.....	29
TARTIŞMA .....	38
SONUÇ .....	45
KAYNAKLAR .....	46

## SİMGELER VE KISALTMALAR

ALS	: Amiyotrofik Lateral Skleroz
CFU-F	: Colony Forming Unit Fibroblast
CO <sub>2</sub>	: Karbondioksit
DMEM	: Dulbecco'nun Modifiye Eagle Besiyeri
ECoG	: Elektrokortikogram
EEG	: Elektroensefalogram
EDTA	: Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
FCS	: Fötal Buzağı Serumu
FSK	: Forskolin
GABA	: Gama Amino Bütirik Asit
GVH	: Graft Versus Host
Hz	: Hertz
ILAE	: International League Against Epilepsy
IPSP	: İnhibitör Postsinaptik Potansiyel
ISCT	: Uluslararası Hücresel Tedavi Derneği
KCl	: Potasyum Klorür
MS	: Multibl Skleroz
MSC	: Multipotent Mezenkimal Stromal Hücre
MKH	: Mezenkimal Kök Hücreler
NSCs	: Nöral Kök Hücre
PB S	: Phosphate Buffer Salin
SE	: Status Epileptikus
SS	: Standart Sapma
TLE	: Temporal Lob Epilepsi
µV	: Mikrovolt

## ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA NO

- Şekil 1** İstirahatte 9-10 Hz parietookspital alfa ritminden oluşan normal EEG aktivitesi .....**Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**
- Şekil 2** Sağ hemisferin posterior bölgelerinde ritmik keskin dalga ve keskin karakterli yavaş dalga aktivitesi ile karakterize iktal kayıt örneği ..... **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**
- Şekil 3** Epileptik aktivitenin spike frekansı ve amplitüd değerlerinin hesaplanmasında kullanılan kayıt programının işlem pencerelerinden bir görüntü..... 28
- Şekil 4** Epilepsi modeli oluşturmadan çekilen EEG görüntüsü ..... 29
- Şekil 5** Epilepsi modeli oluşturulduktan sonraki EEG görüntüsü ..... **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**
- Şekil 6** Her 3 grubun 4. hafta sonunda çekilen EEG'lerinin ortalama spike frekanslarını (spike/dakika) karşılaştırdık .....**Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**
- Şekil 7** Her 3 grubun 8. hafta sonunda çekilen EEG'lerinin ortalama spike frekanslarını (spike/dakika) karşılaştırdık .....**Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**
- Şekil 8** Her 3 grubun 4. hafta sonunda çekilen EEG'lerinin ortalama amplitüd düzeylerinin ( $\mu$ V) karşılaştırılması.....**Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**
- Şekil 9** Her 3 grubun 8. hafta sonunda çekilen EEG'lerinin ortalama amplitüd düzeylerinin ( $\mu$ V) karşılaştırılması.....**Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**
- Şekil 10** Grupların kendi içinde 4. ve 8. hafta sonunda çekilen EEG 'lerinin ortalama spike frekans düzeylerinin karşılaştırılması ..... **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**
- Şekil 11** Grupların kendi içinde 4. ve 8. hafta sonunda çekilen EEG 'lerinin ortalama amplitüd düzeylerinin karşılaştırılması ..... **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**

## TABLULAR DİZİNİ

	SAYFA NO
<b>Tablo 1</b>	Epilepsilerin ve Epileptik Sendromların Sınıflandırılması (ILAE 1989) . 4
<b>Tablo 2</b>	Kullanılan başlıca deneysel nöbet modelleri ..... 12
<b>Tablo 3</b>	: Grupların kendi içinde karşılaştırılması. <b>Hata! Yer işareti tanımlanmamış.</b>
<b>Tablo 4</b>	Grupların ortalama spike frekansı (spike/dakika) ..... <b>Hata! Yer işareti tanımlanmamış.</b>
<b>Tablo 5</b>	Grupların ortalama amplitüd düzeyi ( $\mu V$ ) ..... <b>Hata! Yer işareti tanımlanmamış.</b>



## RESİMLER DİZİNİ

### SAYFA NO

- Resim 1** Stereotaktik frame ile fikse edilen sıçan görünümü ..... 24
- Resim 2** Sıçanların skalpleri üzerinden EEG çekimi..... **2Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**
- Resim 3** Sağ hipokampüse stereotaktik kainik asit enjeksiyonu . **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**
- Resim 4** Kainik asit enjeksiyonu sonrası EEG çekimi ..... **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**
- Resim 5** Sağ karotid artere kök hücre enjeksiyonu ..... **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**

## ÖZET

Epilepsi dünyada % 1 prevalansa sahip olduğu öngörülen, yaygın ve ciddi nörolojik bir bozukluktur. Bilindiği üzere epilepsi hastalarının 30%'u mevcut medikal tedaviye yanıt vermemekte bu da yeni terapötik modalitelerin geliştirilmesi ihtiyacını doğurmaktadır. Hipokampal dejenerasyonla karakterize olan temporal lob epilepsi (TLE) epileptik hastaların üçte birinde görülmektedir. TLE sıklıkla ilaca dirençli olan epilepsi tipleri arasındadır. Son yıllarda nöral kök hücre/perekürsör hücrelerin doğal halinin ya da çeşitli büyüme faktörlerini de içeren nöroprotektif potansiyele sahip hallerinin transplantasyonu nörolojik hastalıkların tedavisinde olası bir terapötik stratejiyi ortaya koymaktadır.

Biz de çalışmamızda deneysel temporal lob epilepsi modelinde intrahipokampal ve intravasküler kök hücre kullanımının EEG'de iktal aktivite üzerine etkilerini araştırdık. Bu amaçla 7 tane sıçanın femur medullalarından allojenik mezenkimal kök hücreler elde edildi. Ardından 30 sıçanda steriotaksi eşliğinde sağ intrahipokampal kainik asit enjeksiyonuyla deneysel epilepsi modeli oluşturuldu. 10'ar adet sıçandan oluşan 3 grup üzerinde de çalışmalar yapıldı. Grup 1; kontrol grubu, Grup 2; steriotaksi eşliğinde intrahipokampal  $10^6$  mezenkimal kök hücre ekilen grup, Grup 3; sağ karotid artere intraarteriyel  $10^6$  mezenkimal kök hücre enjekte edilen gruptu. Tüm sıçanlarda kainik asit enjeksiyonu sonrası epileptik aktivite gözlemlendi ve EEG'leri çekildi. Kök hücrelerin ekilmesinden 4. hafta ve 8. hafta sonra 3 grubun EEG'leri yeniden çekilerek karşılaştırmalar yapıldı.

Çalışmamızda intrahipokampal mezenkimal kök hücre ekilen grubun, 4.hafta sonu ve 8. hafta sonunda çekilen EEG'lerinin ortalama spike frekanslarında ve amplitüd düzeylerinde kontrol grubuna ve intravasküler kök hücre enjekte edilen gruba göre düşüklük saptandı. İntravasküler mezenkimal kök hücre enjekte edilen grupta ise kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu. Grupların

kendi içinde 4. hafta ve 8. hafta sonundaki EEG'lerinin ortalama spike frekanslarında ve amplitüd düzeylerinde ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

Çalışmamız intrahipokampal kök hücre implantasyonunun ilaca dirençli temporal lob epilepsi vakalarında medikal tedaviye bir alternatif olabileceğini göstermesi bakımından dikkat çekicidir.

Anahtar kelimeler: İntrahipokampal, intravasküler kök hücre, temporal lob epilepsi, iktal aktivite

## SUMMARY

Epilepsy is a common and important neurological disorder which is thought to have 1% prevalence. As far as we know, 30% of epilepsy patients does not respond to medical treatment and that grows the need on development of new therapeutic modalities. Temporal lobe epilepsy(TLE) which is characterized with hippocampal degeneration is seen at one third of the patients. TLE is usually amongst the drug resistant epilepsy types. Recently, transplantation of neural stem cell/precursor cells or aspects including their growth factors with neuroprotective properties has presented a possible therapeutic strategy at the treatment of neurological disorders.

We, in an experimental temporal lobe epilepsy model, demonstrated the effects of intrahippocampal and intravascular stem cell usage on ictal activity. In this context, we obtained allogenic mesenchymal stem cells from the femur medullas of seven rats. Subsequently, experimental epilepsy model was created in 30 rats with right intrahippocampal kainic acid injection accompanied by stereotaxy. Rats were randomized into 3 different groups containing 10 rats each. Group 1; control group, Group 2; group which intrahippocampal  $10^6$  mesenchymal stem cell were planted, Group 3; group in which intraarterial  $10^6$  mesenchymal stem cell injection was made into right carotid artery. After kainic acid injection at all groups, epileptic activity was monitored and EEG assessment was made. EEGs were repeated 4 and 8 weeks after stem cell plantation and comparisons were made.

In our study, EEGs of the group, in which intrahippocampal mesenchymal stem cell plantation was made, at fourth and eighth weeks had lower average spike frequencies and amplitude levels when compared with control group and intravascular stem cell injection group. Intravascular mesenchymal stem cell

injection group had no statistically significant difference than control group. There was no statistically significant difference intergroup EEG average spike frequencies and amplitude levels at weeks 4 and 8.

Our study is remarkable in means of intrahippocampal stem cell implantation can become an alternative to medical treatment at drug resistant temporal lobe epilepsy cases.

Key words: intrahippocampal, intravascular stem cell, temporal lobe epilepsy, ictal activity



## GİRİŞ VE AMAÇ

Epilepsi dünya çapında 50 milyon kişiyi etkileyen yaygın bir nörolojik hastalıktır. Bütün dünyada yıllık insidansı 100.000'de 24-53 kadardır. Epilepsi bu insidansla toplumun büyük bir sağlık ve ekonomik sorunudur. Bilindiği üzere epilepsi hastalarının 30%'u mevcut medikal tedaviye yanıt vermemekte bu da yeni terapötik modalitelerin geliştirilmesi ihtiyacını doğurmaktadır. Tipik olarak parsiyel nöbetler ve hipokampal dejenerasyonla karakterize olan temporal lob epilepsi (TLE) epileptik hastaların üçte birinde görülmektedir (1). TLE sıklıkla ilaca dirençli olan epilepsi tipleri arasındadır. Son on yılda nöral kök hücre/prekürsör hücrelerin (NSCs) doğal halinin ya da çeşitli büyüme faktörlerini de içeren nöroprotektif potansiyele sahip moleküller eksprese eden genetik olarak modifiye edilmiş hallerinin transplantasyonu Parkinson hastalığı ya da spinal kord hasarı gibi nörolojik hastalıkların tedavisinde olası bir terapötik stratejiyi ortaya çıkarmıştır (2, 3, 4, 5). Bu yaklaşım TLE için alternatif prospektif bir tedavi olarak dikkat çekmiştir (6, 7, 8, 9).

Spontan nöbet geliştirilmesinde intrahipokampal kainik asit enjeksiyonu oldukça sık kullanılmaktadır. Biz de deneysel hayvan araştırmaları laboratuvarımızda intrahipokampal kainik asit enjeksiyonuyla deneysel epilepsi modeli oluşturduğumuz sıçanlarda sistemik ve intrahipokampal kök hücre tedavisinin EEG üzerine etkilerini değerlendirdik.

## GENEL BİLGİLER

### NÖBET PATOFİZYOLOJİSİ VE BİYOKİMYASI

Nöbet beyindeki bir grup nöronun ani, anormal, beklenmedik aşırı elektriksel deşarjına bağlı olan klinik değişikliği tanımlar ve çoğunlukla kendiliğinden sonlanan kısa epizodlardır (10, 11, 12). Epilepsiye yatkın kişi sinir sisteminin veya epileptik nöbet oluşturmaya hassas bir bölgesinin bazal uyarılabilirlik seviyesinin belli bir düzeyi aşması halinde nöbet geğirir. Epileptogenezden sorumlu mekanizmalar halen tam olarak aydınlatılamamıştır. Tüm epilepsi türlerinde aynı mekanizmadan söz edilmemekle birlikte hepsinde artmış nöronal uyarılabilirlik ve senkronizyon gibi özellikler mevcuttur (13, 14).

Nöbet oluşumunda ana mekanizma, beyindeki eksitatör uyarının artması veya inhibitör etkinliğin azalması ile iki mekanizma arasındaki dengenin eksitasyon yönünde bozulmasıdır. Beyindeki ana inhibitör nörotransmitter olan GABA aktivitesinin azalması ve/veya ana eksitatör nörotransmitter olan glutamat etkinliğinin artması nöbet oluşumunda rol oynayan başlıca faktörlerdendir (12, 13, 15). Serebral dokuda glial hücreler, nörotransmitter konsantrasyonu ve ekstrasellüler iyon dengesini sağlamakla görevlidir. Nöronal aktivitenin düzgün şekilde sürdürülebilmesi için ekstrasellüler sıvıdaki iyon dengesinin optimal olması gereklidir. Sodyum ve potasyum kanallarındaki mutasyon veya değişikliklerin nörotransmisyonun değişmesine yol açtığı bilinmektedir (15). Ayrıca son zamanlarda yapılan çalışmalarda kolinerjik mekanizmaların özellikle temporal korteks ve hipokampus üzerinde nöbet tetikleyici etkilerinin olduğu öne sürülmektedir. Mitokondriyal düzeyde meydana gelen anormallikler birçok açıdan epileptogenez mekanizmalarında rol oynamaktadır. Enerji üretimi, hücre ölümu, nörotransmitter üretimi ve serbest radikal oluşumu gibi birçok durum temel olarak mitokondriyal düzeyde kontrol edilmektedir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda bu düzeyde oluşan bozuklukların hem nöbet gelişimine hem de nöbet sonrası oluşan serebral dokudaki hücre hasarının artmasına neden olduğu belirtilmektedir (16, 17). Nöbet esnasında çeşitli nörotransmitterlerin konsantrasyonlarının değiştiği ve aradaki denge mekanizmasının bozulduğu bilinmekte ve bu durumun nöbete yol açtığı düşünölmektedir (17).



## NÖBET ETİYOLOJİSİ VE SINIFLAMASI

Nöbetler, epilepsinin veya beyindeki kalıcı bir hasarın sonucu olarak tekrarlanabilmekle beraber, beyin veya vücut metabolizmasındaki geçici değişikliklere bağlı olarak da oluşabilmektedir. Bu değişiklikler hipoglisemi, hiperglisemi, hiponatremi, hipokalsemi ( çeşitli elektrolit dengesizlikleri ), ateş, alkol yoksunluğu, akut nörolojik hasar (menenjit, ensefalit, inme, kafa travması, tümörler vb.) ve nöbet eşiğini düşüren bazı ilaçlar olabilir (13, 18, 19).

Nöbet sınıflaması en kapsamlı şekliyle ilk olarak 1981 yılında ILAE tarafından yapılmıştır. Bu sınıflamada esas olarak klinik ve EEG bulguları ön plandadır. Bu sınıflamanın kendi içindeki yetersizlikleri nedeniyle 1989 yılında ILAE tarafından yeni bir sınıflama yapılmıştır ve halen kullanılmaktadır. Bu sınıflamaya göre nöbet tipleri parsiyel (fokal, lokal) nöbetler, jeneralize nöbetler, tanımlanamayan nöbetler ve özel sendromlar olmak üzere 4 ana başlık altında sınıflandırılmış ve her başlık altında alt gruplar düzenlenmiştir (Tablo 1). Son yayınlanan çalışmalarda bu sınıflamanın da yetersiz olduğundan ve daha kapsamlı ve yeni başlıklar içeren (örn: genetik ) bir sınıflamaya ihtiyaç duyulduğundan bahsedilmektedir (14, 20, 21). Bundan başka semiyolojik nöbet sınıflaması da kullanılmaktadır.

Tablo 1. Epilepsilerin ve Epileptik Sendromların Sınıflandırılması (ILAE 1989)

<p>I. Lokalizasyona bağlı (fokal,parsiyel) epilepsiler ve sendromlar</p>	<p>1.1. İdyopatik (yaşa bağlı başlangıç) Sentrot temporal dikenli iyi huylu çocukluk çağı epilepsisi Oksipital paroksizmlili çocukluk çağı epilepsisi Primer okuma epilepsisi 1.2.Semptomatik Temporal lob epilepsi Frontal lob epilepsi Parietal lob epilepsi Oksipital lob epilepsi Çocukluk çağının kronik progresif epilepsia parsiyalis kontinuası (Kojewnikow Sendromu) Spesifik faktörlerle uyarılan nöbetlerle karakterize sendromlar 1.3. Kriptojenik</p>
<p>II. Jeneralize epilepsiler ve sendromlar</p>	<p>2.1. İdyopatik (yaşa bağlı başlangıç-yaş sırasına göre sıralanmıştır) İyi huylu ailesel yenidoğan konvülsiyonları İyi huylu yenidoğan konvülsiyonları Süt çocukluğunun iyi huylu miyoklonik epilepsisi Çocukluk çağı absans epilepsisi (piknolepsi) Jüvenil absans epilepsisi Jüvenil miyoklonik epilepsi (impulsif petit mal) Uyanırken gelen grand mal nöbetli epilepsi Diğer jeneralize idyopatik epilepsiler Belirli aktivasyon yöntemleriyle uyarılan epilepsiler 2.2. Kriptojenik veya semptomatik (yaş sırasına göre) West Sendromu (infantil spazmlar, Blitz-Nick-Salaam Kraempfe) Lennox-Gastaut Sendromu Miyoklonik astatik nöbetli epilepsi Miyoklonik absanslı epilepsi 2.3. Semptomatik 2.3.1. Nonspesifik etyoloji Erken miyoklonik ensefalopati Erken infantil epileptik ensefalopati (Supression-burst ile niteli) Diğer semptomatik jeneralize epilepsiler 2.3.2. Spesifik sendromlar</p>
<p>III. Fokal veya jeneralize oldukları belirlenemeyen epilepsiler</p>	<p>3.1. Jeneralize ve fokal konvülsiyonlu epilepsiler Yenidoğan konvülsiyonları Süt çocuğunun ağır miyoklonik epilepsisi Yavaş dalga uykusu sırasında devamlı diken-dalgalı epilepsi Edinsel epileptik afazi (Landau-Kleffner Sendromu) Diğer belirlenemeyen epilepsiler 3.2. Jeneralize veya fokal konvülsiyon özelliği belirlenemeyen epilepsiler Jeneralize tonik-klonik nöbetleri olan ancak klinik ve EEG bulguları jeneralize ya da fokal epilepsi ayırımında kesin bilgi vermeyen tüm olgular (uykuda jeneralize tonik-klonik nöbet gibi) bu gruba girer.</p>
<p>IV. Özel sendromlar</p>	<p>4.1. Duruma bağlı nöbetler (Gelegenheitsanfaelle) Febril konvülsiyonlar İzole nöbet veya izole status epileptikus Akut metabolik veya toksik nedenlere bağlı nöbetler</p>

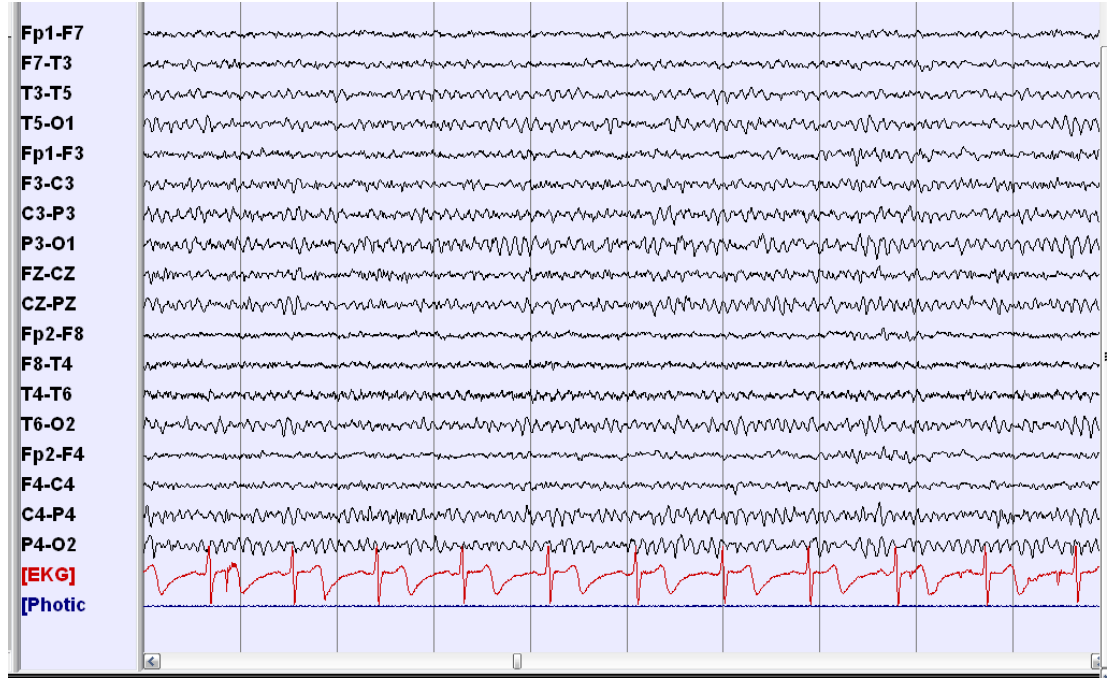
Birçok epileptik nöbet bir girişim gerektirmeden kendiliğinden dakikalar içinde sonlanmaktadır. Bir nöbetin 30 dakikadan uzun sürmesi ya da bu süre içinde hasta

düzelmeden birden çok nöbetin ard arda tekrarlamasına status epileptikus (SE) adı verilir. Son yıllar içinde status epileptikus tanısı için gereken süre giderek kısalmış ve bazı yayınlarda 5 veya 10 dakikadan uzun süren nöbetler bile bu tanım içinde ele alınmıştır. Ancak süre konusunda fikir birliği yoktur. Hemen tüm epileptik nöbet tiplerinin status epileptikus tarzında belirmesi mümkündür. En basit sınıflama konvülsif SE ve nonkonvülsif SE şeklinde yapılabilir (22). İngiltere’de tonik-klonik nöbet statusunun yıllık insidansı kabaca ve endirekt çalışmalardan elde edilerek ortalama 100 000’de 18-28 olarak tahmin edilmektedir (23).

## **EPİLEPSİ TANISI VE ELEKTROENSEFALOGRAFİ**

Epilepsi tekrarlayan nöbetler ve değişik sendromları da içine alan bir santral sinir sistemi bozukluğudur. Epilepsi tanısı koyabilmek için öncelikle hastanın gerçek nöbet geçirdiğinin saptanması ve nöbetin sınıflandırılması gereklidir. Tanı yöntemleri arasında elektroensefalografi (EEG) günümüzde sıklıkla kullanılmaktadır. İlk olarak 1940'larda kullanılmaya başlayan bu yöntem bugün için de epilepsi biliminin temel direğini oluşturmaktadır. EEG beyindeki geniş bir nöron grubunun elektriksel aktivitesindeki dalgalanmanın kayıtlanması ilkesine dayanmaktadır. Saçlı deriden kayıtlanan potansiyellerin çoğu piramidal hücrelerdeki toplam sinaptik potansiyellerin ekstrasellüler akımlarla ilişkisinin sonucudur (Şekil 1). Rutin EEG ilk nöbetle gelen hastada en önemli testtir. Zemin aktivitesinde belirgin asimetri veya yavaşlama, epileptiform deşarjlar (diken, keskin ve diken-dalga deşarjları) elektroklinik sendromlar hakkında bilgi verir (Şekil 2). Her EEG anomalisinin epilepsi ile eşdeğer olmadığı ve normal bir EEG’nin epilepsiyi dışlamayacağı unutulmamalıdır. İlk EEG’de %50 oranında tipik epileptiform anomali saptanırken tekrarlanan EEG’lerde ise bu oran yükselmekte ve %80-90’a ulaşmaktadır. Aktivasyon yöntemlerinin iyi uygulanması esastır, gerekirse uyku kayıtları, nöbetler sıkısa video-EEG monitörizasyonu yapılmalıdır. EEG zemin aktivitesi postiktal dönem dışında idyopatik epilepsilerde normaldir, yavaşlama semptomatik epilepsiyi düşündürür. Epileptiform deşarjlar fokal, lateralize ve jeneralize olabilir (22). EEG'nin epileptik olgunun değerlendirilmesine başlıca katkıları 3 ana maddede özetlenebilir.

- Klinik olarak konulmuş olan tanının desteklenmesi ve doğru tanı konmasına yardım,
- Nöbet kaydı yapılabilirse veya dolaylı bazı bulgularla nöbet tipi ve buradan hareketle epilepsi sendromunu belirlenmesi,
- Odağın lateralizasyon-lokalizasyonu hakkında bilgi verebilmesi (22).



Şekil 1. İstirahatte 9-10 Hz pariyetooksipital alfa ritminden oluşan normal EEG aktivitesi



Şekil 2. Sağ hemisferin posterior bölgelerinde ritmik keskin dalga ve keskin karakterli yavaş dalga aktivitesi ile karakterize iktal kayıt örneği

EEG'yi kaydetmek için iki tip elektrod kullanılır. Bunlardan biri aktif elektroddur ve kayıt alınacak aktif alana yerleştirilir. Diğeri ise uzak bölgeye potansiyeli sıfır kabul edilen bir alana konur. Buna referans elektrod adı verilir. Klinikte EEG kayıtlanırken çok sayıda aktif elektrod yerleştirilir. Bir aktif elektrod ile bir referans elektrod arasındaki potansiyel farkı ölçülürse monopolar kayıt, iki aktif elektrod arasındaki potansiyel fark ölçülürse bipolar kayıt olarak adlandırılır (24).

Normal bir insanda saçlı deriden kaydedilen potansiyellerin frekansı genel olarak 1 ile 30 Hz; yükseklikleri ise 20-100 mikrovolt kadardır. Kafatası ve deri EEG dalgalarının yüksekliğini azaltıcı etki gösterir. EEG dalgaları frekanslarına göre dört büyük gruba ayrılmaktadır.

#### 1. Delta ve Teta Dalgaları

Normal erişkinlerde uykunun çeşitli safhalarında görülen yüksek genlikli dalgalardır. Teta dalgası ayrıca hipokampus aktivitesi ile yakından ilişkilidir ve singulat korteks ve septum gibi diğer bazı beyin bölgelerinden de kaydedilmiştir. Teta dalgalarının, yavaş teta (4-7 Hz) ve hızlı teta (7-9 Hz) olmak üzere iki bileşeni bulunduğu bildirilmiştir. Bu farklılık dalgaların oluşumunda farklı nöronal yolların

etkili olduğunu göstermektedir. Hipokampus ve singulat kortekste daha fazla gözlenen yavaş teta aktivitesinin medial septum ve Broca diagonal bandında bulunan kolinerjik liflerle yönetildiği düşünülmektedir.

## 2. Alfa Dalgaları

Normal bir insanda sessiz ve sakin bir odada gözler kapalı, zihnen ve bedenen tam istirahatte iken kaydedilir. Parietal ve özellikle oksipital bölgede daha belirgindir. Uykuda kaybolur. Uyku sırasında gözlenen uyku içcikleri de yine alfa aralığına (7-10 Hz) denk düşen dalgalar olup genlikleri alfa dalgalarına oranla daha yüksektir. Bazı araştırmacılar beyin sapı, ön beyin ve talamusun çeşitli bölgelerinin karmaşık bir işbirliğinin alfa bandının oluşumuna katkıda bulunduğunu ileri sürmüşlerdir.

## 3. Beta Ritmi

Normal olarak insanda frontal bölgede daha belirgindir. Uyarılar ve aşırı zihin aktivitesi olduğunda daha yoğundur. Beta ritmi EEG'nin en küçük genlikli ve yüksek frekanslı dalgasıdır. Ayrıca bu dalgalar uyku halinde azalma ve zihinsel rahatlık halinin bozulması durumlarında da ortaya çıkar.

## 4. Gama Ritmi

30 Hz üzerinde yer alan dalgalar genellikle gama aktivitesi olarak adlandırılır. Özellikle insanda yapılan deneyler, 40 Hz'lik aktivitenin bilişsel işlevlerde ve duyuşsal bilginin entegrasyonunda önemli olduğunu ortaya koymuştur. Üst düzey zihinsel faaliyetlere eşlik eden gama salınımları hayvanlarda da gözlenmektedir.

Deney hayvanlarında bu dalgaların dikkat, dikkate bağlı hareketsizlik odaklı uyanıklık, duyuşsal algılama ve paradoksik uyku ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Anestezi altındaki hayvanlarda bu dalgalar büyük oranda ortadan kaybolmaktadır. Genel olarak gama ritminin bazal ön beyin kolinerjik yolları ve beyin sapı talamokortikal kolinerjik yolları ile düzenlendiği kabul edilmektedir (24).

Giderek geliştirilen ve bilgisayarlarla bağlantılı hale getirilen klasik EEG cihazlarının yanı sıra telemetrik incelemeler ve video-EEG cihazları ile epilepsi elektrofizyolojisi konusundaki bilgilerimiz giderek artmıştır. Bu incelemeler aynı zamanda nöbet semiyolojisinin de çok ayrıntılı analizine olanak sağlamaktadır. Epilepsi cerrahisindeki ilerlemelere paralel olarak invazif ve yarı invazif yöntemlerle değişik derin/intrakranyal elektrod yerleşimleri de epilepsi cerrahisi yapılan merkezlerde rutin kullanıma girmiştir (22).

## TEMPORAL LOB EPİLEPSİ

Temporal lob epilepsileri (TLE) gerek etyoloji gerekse de başlangıç yaşı, prognoz ve tedaviye verdikleri cevap açısından heterojen bir hastalık grubudur. Anatomik olarak lateral ve mezial temporal lob epilepsileri olarak ikiye ayrılırlar. Temporal lob nöbetlerinin nedenleri arasında hipokampal skleroz ilk sıradadır. Bunun dışında bu bölgenin benign ve malign tümörleri, viral parazitik veya diğer enfeksiyöz nedenler, serebrovasküler hastalıklar, kortikal gelişimsel malformasyonlar, travma ve diğer yaralanmalar nedenler arasında sayılabilir. Tüm epilepsiler içinde temporal lob epilepsilerinin görülme sıklığı %30-35'ler civarındadır. Bunun da 2/3'ü mezial temporal lobdadır (25). Temporal lob epilepsilerinde tipik olarak otomatizma ile birlikte kompleks parsiyel nöbetler siktir. Bu tablo yaşamın oldukça erken dönemlerinde görülmeye başlasa da geç çocukluk ve erken erişkin dönemde siktir. % 75 hastada aura görülebilir. Yaklaşık %50 hastada tek taraflı veya bilateral sekonder jeneralize tonik, klonik veya tonik-klonik nöbetler görülebilir (26).

Hipokampus komşuluğundaki mezial limbik yapıların sıklıkla dahil olması nedeniyle mezial temporal skleroz terimi hipokampal skleroza göre tercih edilmektedir (27). Birçok çalışma hipokampal formasyonun bir parçası olan dentat girusun hipereksitabl durumunun nedenini dentat girusun polimorfik bölgesindeki hipokampal GABAerjik internöronların dejenerasyonuna kısmen bağlı olduğunu ileri sürmektedir. Bu inhibitör nöronlar hasara yatkındır ve travmatik beyin hasarı olan ya da uzamış status epileptikusa maruz kalmış TLE hasta gruplarında kayba uğramışlardır (28). Uzamış status epileptikus geçiren hastalara benzer şekilde travmatik beyin hasarı ve kemokovülzan bir ajan olan pilokarpinin sistemik enjeksiyonu sonrası status epileptikus gelişen kemirgenlerde dentat girus hipereksitabilitesine ve epileptogeneze neden olduğu düşünülen hiler internöron kaybı ve diğer nöroplastik değişiklikler görülür (29, 30, 31, 32, 33).

TLE'nin güncel tedavisi antikonvülzan ilaçlar, cerrahi, vagal sinir stimülasyonu ve ketojenik diyeti içerir. TLE sıklıkla ilaca dirençli olan epilepsi tipleri arasındadır. Antiepileptik ilaç tedavisi epilepsi tedavisinde geleneksel olarak kullanılır ancak uygulanan tedavilerin hiçbiri yan etkilerden tamamen arınmış değildir, kognitif ve davranışsal bozukluklar siktir (34). TLE hastalarında nöbetler konvansiyonel

antiepileptiklere dirençli olabilir ve kontrol sağlanamamış epilepsi hastalarında öğrenme güçlükleri ve psikiyatrik bozukluklar görülebilir. Bazı hastalarda epileptik odağın cerrahi olarak çıkarılması etkili olabilir (35). ancak nöbet odağı dil ya da hafızayı kontrol eden temporal lob merkezlerine yakın olduğu takdirde cerrahi istenmeyen komplikasyonlarla sonuçlanabilir (36). Bilhassa hipokampüse ve ilişkili limbik bölgelerde nöronal hasarı sınırlayıcı ya da iyileştirici daha etkili tedavilere ihtiyaç duyulmaktadır (37).

### **DENEYSEL EPİLEPSİ MODELLERİ**

İnsandaki farklı epilepsi tipleri ile benzer görünümde gerek genetik gerekse kimyasal ajanlar kullanılarak veya lezyon oluşturularak elde edilen çok sayıda farklı deneysel epilepsi modeli geliştirilmiştir (38).

Bunun birkaç önemli özelliği vardır.

1. Modeli oluşturacak klinik nöbetler çeşitlidir.
2. Modellerin hiçbiri klinik epilepsiyle tamamen aynı değildir.
3. Çeşitli modellerden elde edilen sonuçların karşılaştırılarak test edilmesi gerekir.
4. Geliştirilen yeni metodlara ve yeni şartlara daha uygun yeni modeller oluşturulmalıdır (39).

İdeal bir epilepsi modeli aşağıdaki özelliklere sahip olmalıdır (40)

1. Spontan olarak tekrarlayan nöbetler olmalıdır.
2. Nöbetler insan epilepsisine benzemelidir.
3. Modeldeki EEG'nin biçimi ilgili epilepsi çeşidine benzemelidir.
4. Nöbetlerin frekansı ilaçların etkisini akut ya da kronik olarak test etmeye yetecek ölçüde olmalıdır.
5. Antiepileptik ilaçların farmakokinetiği insandakine benzer olmalıdır.
6. Antiepileptiklerin etkili oldukları plazma ve beyin seviyeleri insanda ilgili nöbeti önleyen seviye kadar olmalıdır.



Bu kriterlerin hepsini karşılayan tek bir model şimdilik bilinmemektedir. Elliden fazla nöbet modeli bulunmakla birlikte başlıca kullanılan nöbet modellerini basit parsiyel nöbetler, kompleks parsiyel nöbetler, jeneralize tonik klonik nöbetler, jeneralize absans nöbetler ve status epileptikus modelleri olarak sınıflandırabiliriz (41) (Tablo 2).

Tablo 2. Kullanılan başlıca deneysel nöbet modelleri

Basit Parsiyel	<ol style="list-style-type: none"><li>1. Topikal konvülzanlar (penisilin, bikukulin vb.)</li><li>2. Akut odaksal elektrik uyarımı</li><li>3. Kortikal metal implantlar</li><li>4. Kriyojenik hasar</li></ol>
Kompleks Parsiyel	<ol style="list-style-type: none"><li>1. Kainik asit</li><li>2. Tetanoz toksini</li><li>3. Area tempestaya enjeksiyon</li><li>4. Kindling (tutuşturma, ateşleme)</li><li>5. Kemirgen hipokampal dilimleri</li><li>6. İzole hücre hazırlıkları</li><li>7. İnsan nörocerahi dokusu</li></ol>
Jeneralize Tonik-Klonik	<ol style="list-style-type: none"><li>1. Genetik olarak nöbete yatkın fare, sıçan, gerbil, meyve sineği ve babunlarda oluşturulan nöbetler</li><li>2. Maksimal elektroşok</li><li>3. Sistemik kimyasal konvülzanlar</li><li>4. Metabolik düzensizlik (hipoksi, hiperglisemi, hiperbarikoksijen, hiperkarbi, üremi, yüksek ısı, ilaç kesilmesi)</li></ol>
Jeneralize Absans	<ol style="list-style-type: none"><li>1. Talamik stimülasyon</li><li>2. Bilateral kortikal odak</li><li>3. Sistemik penisilin</li><li>4. Gama-hidroksi-bütirat</li><li>5. İntraventriküler opiad</li><li>6. Genetik rat modelleri</li></ol>
Status Epileptikus	<ol style="list-style-type: none"><li>1. Lityum-pilokarpin</li><li>2. Homosistein</li><li>3. Hızlı repetitif stimülasyon</li></ol>

Japon su yosunundan elde edilen ve glutamat analogu olan kainik asit deneysel epilepsi modeli oluşturmada sıklıkla kullanılmaktadır. Güçlü bir eksitotoksik aminoasit olan kainik asitin sistemik ya da intraserebral enjeksiyonu iyonotropik glutamat

reseptörlerinin kainik asit alt tipini aktive eder ve hipokampüste devamlı bir nöbet aktivitesine neden olur (42). Kainik asit enjeksiyonu nöronal kayba neden olur. İntraserebroventriküler düşük dozda kainik asit enjeksiyonu spesifik olarak hipokampal CA3/CA4 bölgesinde nöronal hasara neden olurken dozun yükseltilmesi ile CA1 nöronlarında da kayıp meydana gelir. Bu patern insan temporal lob epilepsisine benzerdir. Lezyonlu taraftaki hipokampüsün CA1 nöronlarında inhibitör postsinaptik potansiyellerin (IPSP) kaybolduğu ve bu hücrelerin anormal bört aktivitesi gösterdikleri bulunmuştur. Muhtemelen bu durum epilepsiye neden olmaktadır (43).

### **KÖK HÜCRE**

Kök hücreler embriyonik dönemden başlayarak fetal ve doğum sonrası yaşamda doku ve organların gelişimleri ve idamelerinde önemli rol oynarlar. Kısaca bir tanım yapmak gerekirse kök hücre, asimetrik bölünerek çoğalabilme, böylelikle kendilerini yenileyebilme ve kan, karaciğer, kas, kıkırdak, kemik ve benzeri daha pek çok özelleşmiş görevler üstlenen organları oluşturabilecek hücrelere farklılaşabilme özelliğine sahip hücrelerdir.

Bir hücreyi kök hücre olarak tanımlamak için beş temel özelliğe sahip olması gerekir:

- 1) Uzun zaman dilimleri boyunca bölünebilme ve yenilenebilme yeteneği.
- 2) Özelleşmemiş olması.
- 3) Kök hücreden elde edilen yavru hücre özelleşmiş hücrelere kaynaklık edebilmesi (farklılaşma).
- 4) Hasar gören alıcıya nakil sonrasında kaynak dokuyu işlevsel olarak tekrardan çoğaltabilmesi.
- 5) İn vivo ortamda doku hasarının olmadığı durumlarda bile farklılaşmış kuşaklara katkı sağlaması (44).

### **Kök Hücre Çeşitleri ve Kaynakları**

Kök hücre esas olarak iki farklı kaynaktan elde edilir: Embriyonik gelişim sürecinin erken dönemlerinde blastosistin iç hücre kitlesinden elde edilen embriyonik kök hücreler ve embriyonik olmayan kaynaklardan elde edilen kök hücreler (44).

### ***Embriyonik Kök Hücreler***

Embriyonik kök hücreler erken dönemdeki memeli embriyosundaki kök hücrelerden elde edilen ve in vitro ortamda sınırsız ve farklılaşmamış çoğalma kapasitesine sahip pluripotent hücrelerdir. İlk olarak 1981 yılında 3,5 günlük blastosistlerin iç hücre kitlesinden sürekli olarak çoğalan fare embriyonik kök hücreleri elde edilmiştir. Daha sonra 1988 yılında Thomson ve arkadaşları insan embriyonik kök hücre serilerinden yüksek düzeyde telomeraz aktivitesi eksprese etmiş ve her üç germ tabakasına ait türevleri oluşturma potansiyellerini sürdürmüşlerdir. Elde edilen embriyonik kök hücre serileri ciddi kombine bağışıklık yetmezliği olan 4 haftalık erkek farelere enjekte edildikten 7-8 hf sonra teratoma oluşturduğu gözlenmiştir. Bu teratomlarda bağırsak epitel(endoderm), kıkırdak, kemik, düz kas (mezoderm) ve sinir epitel, embriyonik ganglion hücreleri saptanmıştır. Bunlara bağlı olarak Thomson ve arkadaşları embriyonik kök hücrelerin mutlak özelliklerini üç maddede sıralamıştır:

- 1) Preimplantasyon evresinde embriyondan elde edilme.
- 2) Uzun dönemde farklılaşmadan çoğalabilme.
- 3) Uzun dönem boyunca kültürde tutulduktan sonra bile her üç germ tabakasının türevlerini oluşturabilme potansiyeli.

İnsan embriyonik kök hücrelerinin en önemli potansiyel kullanım sahası hücrelerin ve dokuların üretilmesidir. Kemiricilerdeki diyabet, Parkinson hastalığı, miyokart enfarktı, omurilik zedelenmesi gibi hastalık modellerini tedavi etmek için bu kök hücrelerin kullanımına ilişkin artık geniş çaplı görüş birliği mevcuttur. Oliver Brüstle ve arkadaşlarının yaptığı çalışma embriyonik kök hücre kaynaklı nöral prekürsörlerin fetal sıçanın ventriküllerine implante edilmesi sonrası transplante edilen hücrelerin intraventriküler nöroepitelyal yapıları oluşturdukları ve oligodendrosit, astrosit ve nöronlara farklılaştığını göstermiştir (44).

İnsan embriyosunun hücre kaynağı olarak kullanılması ve terapötik klonlama çalışmaları etik ve yasal açıdan tartışmalara neden olduğu için bilim adamları alternatif kök hücre kaynaklarına yönelmiştir (44).

### ***Embriyonik Olmayan Kök Hücreler***

Etik ve yasal olarak tartışmalara neden olan embriyonik kök hücre çalışmaları bilim adamlarını alternatif kök hücre kaynaklarına yönlendirmiş olup, bu amaçla

yapılan tüm çalışmaları ‘non-embriyonik kök hücreler’ başlığı altında toplanabilir (44).

### ***Erişkin Kök Hücreleri***

Bir doku yada organdaki farklılaşmış hücreler arasındaki farklılaşmamış hücreler olup, kendisini yenileyebilen ve bulunduğu doku, organın özelleşmiş hücre tipine dönüşebilen hücrelerdir. Yaşayan organizmada bu hücrelerin asıl görevi buldukları dokuyu tamir etmek ve dokunun devamlılığını sağlamaktır. Özellikle hematopoietik kök hücrelerinin farklı embriyonik kökenli hücrelere kaynaklık edebileceğinin ortaya çıkmasıyla erişkin kök hücrelerine yönelik araştırmalar büyük ivme kazanmıştır (44).

### ***Hematopoietik Kök Hücreler***

Bu hücreler erişkin insanlardan izole edilebilen az sayıdaki kök hücrelerden biridir. Esas olarak kemik iliğinde yerleşik olan hematopoietik kök hücreleri normalde fetüsün karaciğerinde, dalağında, göbek kordonunda, plasentada ve erişkin periferik kanında bulunurlar. Bazı çalışmalarda retroviral işaretleme yöntemi kullanılarak tek bir hematopoietik kök hücrenin in vitro ortamda mezodermal, nöroektodermal, endodermal hücre serilerine farklılaştığı gösterilmiştir. Özellikle sinir sisteminde bu hücrelerin nöronlara ve glial hücrelere farklılaşabildiği gösterilmiştir. Priller ve arkadaşlarının yaptığı bir retroviral aracılıklı çalışmada hematopoietik kök hücreleri alıcı farelere nakledildikten 4 hafta sonra verici kaynaklı tamamen gelişmiş serebellar Purkinje nöronları kaydedilmiştir. Bu sonuçlar gelecekte travmada, enfarkta ve nörodejeneratif hastalıkların ilerlemesinin engellenmesinde hematopoietik kök hücrelerinin kullanılabilirliğini göstermektedir (44).

**Kemik iliği kök hücreleri:** Bu hücreler son 30-40 yılın ilgi alanını oluşturmuş olup önceleri başta lösemiler olmak üzere çeşitli hastalık durumlarında kan sistemini tekrar elde etmek amacıyla kullanılmıştır. Bugün ise solid organ tümörlerinde, doğumsal genetik hastalıklarda ve edinsel kan hastalıklarında kullanılmaktadır. Kemik iliği hücrelerinin sadece kan hücrelerine dönüşmediği kas, beyin, karaciğer ve böbrek hücrelerine dönüşebildiği gösterilmiştir. Günümüzde büyük ve karışık bir hücre grubu içinde az sayıda bulunabilen kök hücrelerin tanınması için floresanla

aktive hücre ayırma yöntemi ortaya konmuş olup insan hematopoetik kök hücreleri için tanımlanmış ve klinik çalışmalarda temel olarak kullanılan yöntem CD34 belirteçidir (44).

Periferik kan kök hücreleri: Özellikle aferez tekniklerindeki gelişmeler ve hematopoietik büyüme faktörlerinin, mobilizasyon tekniklerine girmesiyle periferal kandaki kök hücrelerinin oranını arttırmak ve yeteri kadar kök hücre elde etmek mümkün hale geldiği için klinik nakillerde kullanılan hematopoietik hücrelerin birincil kaynakları arasına periferal kan kök hücreleri girmiştir. Genel anestezi riskinin olmaması, invaziv işlem gerektirmemesi, morbiditenin düşük olması bu grup kök hücre kaynaklarını cazip hale getirmiştir (44).

Göbek kordonu kök hücreleri: 1980 yılının başlarında bilim adamları göbek kordon kanında da kemik iliğindeki benzer hücrelerin bulunduğunu fark etmeleri ile birlikte belirli hastalıkların tedavisinde bu hücrelerin kullanılabileceği fikrini ortaya atmıştır ve göbek kordonu kök hücreleri 1988 yılından beri tedavi amacıyla kullanılmaya başlanmıştır. Bu hücreler ile ilgili yapılmış çalışmalar, kemik iliği hücrelerine oranla 10 kat kuvvetli olduğunu ve laboratuvar şartlarında 100 katına çıkarılabildiklerini raporlamışlardır.

Aynı zamanda kordon kanındaki hücrelerin olgunlaşmamış ve bağışıklık yönünden zayıf olması nedeniyle hücrelerin nakil sırasında GVH (Graft Versus Host) reaksiyonunu tetikleme olasılığı düşüktür. Kordon kanından elde edilen kök hücrelerin kullanıldığı hastalıklar arasında Fanconi aplastik anemisi, lösemi, meme kanseri, aplastik anemi sayılabilir (44).

### ***Stromal (Mezenkimal) Kök Hücreler***

Mezenkimal kök hücreler “destek hücresi” özelliği taşıyan, stromal kökenli, erişkin kök hücre tipidir. Bu hücreler hematopoetik özellikte olmayan (non-hematopoetik) pluripotent kök hücrelerdir ve pek çok değişik hücre türüne farklılaşma yetenekleri vardır. Birçok dokudan elde edilebilirlikleri, sayıca çoğalabilmeleri ve dayanıklı olmaları nedeniyle tıbbın bir çok alanında kullanım potansiyeline sahiptirler. Bütün bunların yanında çoğunlukla immün sistem üzerine baskılayıcı özellik taşımaları, salgıladıkları çözünür faktörler, hücreler arası veya hücre dışı matriks ile yakın ilişki halinde bulunmaları ilgiyle karşılanmaktadır (45).

Mezenkimal kök hücrelerin dezavantajı elde edildikleri dokularda az sayıda bulunmalarıdır. Bu durum temel bilim araştırmalarında ve klinik kullanım alanlarında mezenkimal kök hücrelerin in vitro çoğaltılmalarını gerekli kılar. Yine karşılaşılan bu durum yüzünden hücre kültürü pasajlamaları ile maruz kalınan birçok uyarıcı faktör kök hücrelerin biyolojik ve immüfenotipik özelliklerinde farklanmaya yol açabilir. Mezenkimal kök hücreler ile yapılan çalışmaların büyük çoğunluğu in vitro çalışmalar olup, bu hücrelerin tanımlanmış özelliklerinin büyük çoğunluğu in vivo özelliklerini yansıtmaz. Kültür ortamlarında pasajlamaya bağılı olarak hücre yaşlanması, sitogenetik bozukluk ve düşük de olsa malign transformasyon riski bulunmaktadır. Bütün bu durumlar mezenkimal kök hücrelerin klinik alan uygulamaları açısından dikkate alınması gereken özelliklerdir (45).

Mezenkimal kök hücreler yağ, kemik, kırık, kas, tendon, ligament gibi hücrelere farklılaşabilen bağ dokusu hücreleridir. Bu hücreler ilk kez Fridenstein tarafından 1976 yılında tanımlanmışlardır. Fridenstein, kemik iliğı kültürlerinde fetal buzağı serumu (FCS) kullanarak fibroblast benzeri hücreler elde etmiş daha sonrada bu hücrelerin kemik ve kırık hücrelerine farklılaşabileceğini göstermiştir. Önceleri CFU-F (Colony forming unit fibroblast) ve “Kemik iliğı stromal fibroblast”ları olarak anılan bu hücrelere günümüzde araştırmacılar arasında farklı tanımlamalara yol açsa da, mezenkimal kök hücreler (MKH) adı verilmektedir (45).

Uluslararası Hücresel Tedavi Derneğı (ISCT), prelinik çalışmalar için insan MKH’lerini tanımlamada belli ölçütler getirmiştir. ISCT kriterlerine göre;

• “Kök hücre” olarak isimlendirilmek yerine “mezenkimal stromal hücre” veya “multipotent mezenkimal stromal hücre (MSC)” olarak isimlendirilmiş olmaları önerilmiştir.

1. MKH tanımlanmasında yaygın olarak kullanılan başlıca özellikler; (45)  
Plastik yüzeye yapışması (plastik adherens),
2. Stromal karakterde yüzey antijenlerinin ekspresyonu ve
3. Multipotent farklılaşma potansiyelidir.

### ***Mezenkimal Kök Hücre Kaynakları***

MKH'ler için ana kaynak kemik iliğidir. Kemik iliğinde MKH'ler dışında mezoderm kökenli hematopoetik ve endotel kök hücreleri bulunur. Farklı çalışmalarda kemik iliği aspirasyonunda  $1 \times 10^6$  mononükleer hücreye karşı ortalama 2 ile 100 arasında değişen sayıda MKH mevcut olduğu gösterilmiştir (45).

Kemik iliği dışında MKH kaynakları olarak karaciğer, kas dokusu, sinovial sıvı, kemik, periost, lipoaspirasyon materyalleri, göbek kordonu kanı, göbek kordonu stroması, plasenta, amniyon sıvısı, diş pulpası ve maksillofasial dokuları sıralayabiliriz. Solid dokulardan enzimatik izolasyon yapılabilir.

İzole edilen hücreler belirtildiği gibi fibroblastoid morfolojide olup, kültür kaplarına yapışabilen, çok yönlü farklılaşabilen ve spesifik yüzey belirleyicilerini taşıyan hücrelerdir.

Yapılan çalışmalarda köken alınan doku tipine göre bu hücrelerin farklılaşma özellikleri ve fonksiyonları bakımından farklılık gösterebileceği belirtilmiştir. Bu yüzden doku onarımlarında o bölgeye spesifik doku kullanımının daha avantajlı olacağı vurgulanmıştır (45).

Mezenkimal kök hücrelerle yapılan çalışmalarda en güncel konulardan biri hücrelerin dokularda yerleşimi ve niş bölgelerinin incelenmesidir. Periferik kanda osteojenik farklılaşma yeteneği olan nonhematopoetik ve MKH karakterinde hücreler olduğu gösterilmiştir. Ağır hasar olan durumlarda periferik kandan MKH izole edilmektedir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar, MKH'lerin dokularda perisitler gibi perivasküler bölgede konumlandığını, komşu hücrelerin olgunlaşma, farklılaşma ya da sessiz kalma gibi hücresel fonksiyonlarını kontrol ettiğini göstermiştir (45).

Mezenkimal kök hücreler dokularda çok az sayıda bulunmaktadırlar. Hücreler düşük konsantrasyonda koloni oluştururken, yüksek yoğunlukta hücre bulunan ortamda yan yana dizilmiş hücre grupları halinde buldukları gözlemlenmiştir. Mezenkimal kök hücreler klinik uygulamalarda ve bilimsel araştırmalarda kullanılabilmesi için in vitro çoğaltılmaları gereklidir. Bu hücrelerin in vitro çoğaltıldıkları zaman kültürde farklılaşma potansiyellerini ve fonksiyonlarını korudukları gösterilmiştir (45).



Mezenkimal kök hücrelerin uygun mikro çevre koşulları sağlandığında birçok hücre tipine farklılaşma potansiyelleri MKH'leri rejeneratif tıp uygulamalarında ilgi çekici bir hale getirmiştir. Çetinkaya (2009)'da özetlendiği üzere vitro koşullarda MKH'lerin; kondrojenik, adipojenik, osteojenik ve miyojenik farklılaşma potansiyelleri metin olarak göstermiştir. Bunlara ilave olarak; MKH'lerin endotel hücreleri, pankreas beta hücreleri, epitelyal hücreler, hepatositler, nöroglial hücrelere de farklılaşabildikleri gösterilmiştir (45). Bunlar içinde, özellikle nörona farklılaşmanın mümkün olup olmadığı halen araştırmacılar arasında tartışma konusu olsa da, nöronal farklılaşmayı aktive eden stimulanlarla nöronal antijenleri taşıyan ve nöronal morfolojiye sahip hücreler elde edilmiştir. Fakat fonksiyon olarak nöron özelliği taşıyıp taşımadıkları kesinlik kazanmamıştır.

### ***Nöronal farklılaşma***

Doku kültür kapları içindeki hücreler üzerine DMEM-LG içerisinde 200  $\mu$ M BHA (bütillenmiş hidroksianisol), 10  $\mu$ M forskolin (FSK), 20 mM valproik asit (VA), 2% DMSO, 25 mM KCl, 1 $\mu$ M hidrokortizon, 5  $\mu$ g/ml insulin ve %1 pen/streptomisin ile hazırlanan farklılaşma vasatı ilave edilerek nöronal farklılaşma stimüle edilir. 37°C ve %5 CO<sub>2</sub> koşullarında inkübasyona bırakılır. Kırkbeşinci dakika ile 24. saat arasındaki morfolojik değişiklikler takip edilir.

Farklılaşan hücrelerin hedeflenen hücrelerin özelliklerine sahip olup olmadıklarını anlamak için nöronal belirleyicilere yönelik histokimyasal, immünohistokimyasal veya immünofloresan yöntemler kullanılarak ekspresyon analizleri yapılabilir. Ayrıca karşılaştırmalı gen ekspresyon analizleri kullanılabilir (46).

### ***Diğer Erişkin Kök Hücreleri***

Son yıllarda erişkin insan ve hayvanların beyin, kas, deri, sindirim sistemi, kornea, retina, diş, karaciğer ve pankreas gibi diğer organlarındaki ve yağ dokularındaki, kök hücrelere ilişkin olarak yayınlanan raporlar vücudun kendi dokularını yenileyebilme kabiliyeti konusuna yeni bir ışık tutmuştur. Erişkin dokularındaki kök hücrelerin varlığı niye bazı organların diğerlerine göre daha fazla

yenilenebilme kabiliyetlerinin olduğuna ilişkin uzun zamandır çözülemeyen bulmacaya potansiyel çözümler üretmek için bir ilk adım önermektedir. Erişkin kök hücrelerini çeşitli tedavilerde kullanma fikri bazı nedenlerle gündeme gelmiştir. Bunlardan birincisi bu hücrelerin bazı hücre tiplerini içeren özgün bir dokuya kaynaklık etmesi, ikincisi bazı hücre tiplerinin hasarlı dokuya ya da farklı bölgelere göç etmesi, üçüncüsü de bu hücrelerin nakil sonrası diğer hücreleri hareketlendiren büyüme unsurlarını salgılamalarıdır. Örnek olarak sinir kök hücreleri kemirgen beynindeki tümörün bulunduğu bölgelere göç ederler. Bunun yanında nöral kök hücrelerin, nöron, astrosit, oligodendrositlere; adipoz dokudan elde edilen kök hücrelerin nöron ve glial öncül hücrelere; diş pulpasından elde edilen hücrelerin nöral benzeri hücrelere; nazal kök hücrelerin ve sklera kök hücrelerinin sinir hücrelerine farklılaştığı bilinmektedir (44).

### ***Fetal Kök Hücreler***

Spontan sonlanmış veya ebeveynlerin izniyle hekimlerce yasal ve sistemli olarak sonlandırılmış olan gebeliklerin sonucu fetüsten elde edilmektedir. Fetüsten elde edilen kök hücreler nöral kök hücreler, hematopoietik kök hücreler, kardiyomyositler ve pankreas adacık öncül hücreleri ile sınırlıdır. Fetal nöral kök hücre nakli ile ilgili yapılmış olan çalışmalar nakledilen hücrelerin hayvanların beynindeki normal sinyallere cevap verdiğini, hasarlı beyin hücrelerinin yerini aldıklarını ve yeni genlerle çoğaldıklarını göstermiştir. 2001 yılında Dr. Curt Freed ve arkadaşları insan fetüsünden elde edilen dopaminerjik nöronları 40 Parkinson hastasının putamenine bilateral olarak nakletmiş ve klinik olarak olumlu sonuçlar alındığı bildirmiştir (44). Fetal karaciğer ve kan, hematopoietik kök hücrelerin zengin kaynağıdır. Fetal hücreleri içeren tedaviler kök hücre tedavi yöntemlerinin en fazla tartışılan kısmıdır.

### ***Kadavradan Elde Edilen Kök Hücreler***

Kadavradan elde edilen kemik iliği kök hücrelerinin allojenik transplantasyonlar için uygun olabileceğini savunanlar olmakla birlikte Frade Gage ve ekibi değişik yaşlarda ölmüş insan kavrularından alınan 23 doku örneğinden nöron üretebildiklerini açıklamıştır. Araştırmacılar yeni hücrelerin çoğalma hızının ölen kişinin yaşıyla ters orantılı olduğunu bildirmişlerdir (44)

### ***Partenogenez***

İnsan olmayan primatlarda yapılan araştırmalarda yumurta hücresinin hiç döllenenmeden bölünmesi sağlanmıştır. Partogenez (aseksüel üreme) denen bu olay sonrası oluşan hücreler partenot olup bunlar atalarının birer kopyasıdır. Bu araştırmalar ile maymun yumurtaları blastosist evresine kadar in vitro partogenetik gelişimlerini sağlamışlar ve pluripotent kök hücre serisi oluşturmuşlardır. Elde edilen hücreler in vitro dopaminerjik ve seratonerjik nöronlara, düz kas ve adipozitlere farklılaşmışlardır. Ancak bu konuda da etik ve yasal olarak tartışmalar devam etmektedir (44).

## GEREÇ VE YÖNTEM

Bu araştırmaya Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Araştırmaları Etik Kurulu 09.04.2013 tarih ve 2013/05 sayılı toplantısında alınan onay ile başlanmıştır. Çalışmadaki cerrahi işlemler Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde uygulanmıştır. Kök hücreler Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Anabilim Dalı'nda elde edilmiştir.

### KEMİK İLİĞİ KÖKENLİ MEZENKİMAL KÖK HÜCRELERİN İZOLASYONU VE KÜLTÜRE EDİLMESİ

Mezenkimal kök hücrelerin elde edilmesi için 7 adet deneysel çalışma için 30 adet (4-6 aylık yaklaşık 200-250 gr ağırlığında) Sprague-Dawley cinsi dişi sıçan kullanıldı. Sıçanlar çalışma süresince standart şartlar altında havalandırılmalı, sabit ısı, % 50 ± 5 nem oranına ve 12 saatlik aydınlık-karanlık siklusuna sahip laboratuvar koşullarında barındırıldı.

#### **Mezenkimal Kök Hücre Elde Edilmesi**

##### ***Deneysel Uygulama***

Mezenkimal kök hücre elde edilmesi için donör olarak 7 adet dişi sıçan ketamin HCl (Ketalar®, Eczacıbaşı) ve ksilazin (Rhompun®, Bayer) anestezisi altında sakrifiye edildi. Sıçanların femur medüller kavitelelerinden trabeküler kemik parçaları alındı. Trabeküler kemik parçaları antibiyotik (penisilin streptomisin -250 µl) ve DMEM/F-12K (Gibco-BRL, Gaithersburg, MD, A.B.D.) çekilmiş santrifüj tüplerine alındı. Hücreler eşit hacimdeki Ficoll solüsyonu üzerine tüp içerisinde yayıldı. Elde edilen solüsyondan mononükleer hücreleri ayırmak amacıyla dansite gradient yöntemi kullanılarak 900 devirde 30 dakika süre ile santrifüj edildi. DMEM ile 4 kez yıkama sonrasında kemik yüzeyinin hücre materyallerden temizlenmesi amacıyla enzimatik yıkım için 50 ml DMEM/F-12K, 250 µl penisilin streptomisin, 0.5 ml esansiyel aminoasit ve 0,045 gr kollejenaz (Worthington, Lakewood, NJ, A.B.D.) 20 µm çapında filtrelerden (Falcon, Franklin NJ, A.B.D.) geçirilerek hazırlandı. Kemik parçacıkları bu solüsyon içerisinde 3-4 saat boyunca 37 °C derecede bekletildi.

Kemik parçaları % 0.9' luk sodyum klorür ile 4-5 kez yıkandı. Enzimatik yıkımın durdurulması için %10 fetal bovine serumu (FBS) (Atlanta Biologicals,

Atlanta, GA, A.B.D.) kullanıldı. 0.5 ml glutamin, 0.5 ml esansiyel aminoasit, 250 µl penisilin streptomisin ve 45 ml DMEM/F-12K içeren tam besiyeri (DMEM besi yeri) hazırlandı. Kemik parçaları içinde tam besiyeri bulunan kültür plakalarına ekildi. Kültür plakalarında hücreler %80 yoğunluğa eriştiğinde (yaklaşık olarak 3-4 haftada) %0.25'lik tripsin (Type II-S, Sigma, St. Louis, MO, A.B.D.) içeren EDTA solüsyonu kullanılarak kültür plakalarının tabanına yapışmış olan hücrelerin kalkması sağlandı.

### ***Membran Oluşturma***

Elde edilen hücreler 5 pasaja kadar çoğaltıldı. 5. pasaja ulaşıldığında kültür plakalarında hücreler %80 yoğunluğa eriştiğinde (yaklaşık olarak 3-4 hafta sonunda) %0.25' lik tripsin (Type II-S, Sigma) içeren EDTA solüsyonu kullanılarak kültür plakların tabanına yapışmış olan hücrelerin kalkması sağlandı. Mikroskop altında hemositometri sayımları gerçekleştirildi ve  $2 \times 10^4$  h/cm<sup>2</sup> olacak şekilde 100 mm' lik petrilere ekildi. İndüklenmemiş kök hücre içeren hücre kültürü için DMEM besi yerinin içine sadece 50 µg /ml olacak şekilde askorbik asit ilave edilerek besi yeri hazırlandı. Petrilerin tabanında oluşan membranların mikroskopik olarak gösterilmesi ile hücre kazıyıcılarla (cell scraper) membrana zarar vermeden kazınarak membranlar kaldırıldı. Mikroskop altında hemositometri sayımları gerçekleştirildi. Süspanse edilen hücreler cerrahi işlemde kullanılmak üzere ve her biri bir denekte kullanılmak üzere  $1 \times 10^6$  /ml konsantrasyonda 0,01 ml olacak şekilde hazırlandı.

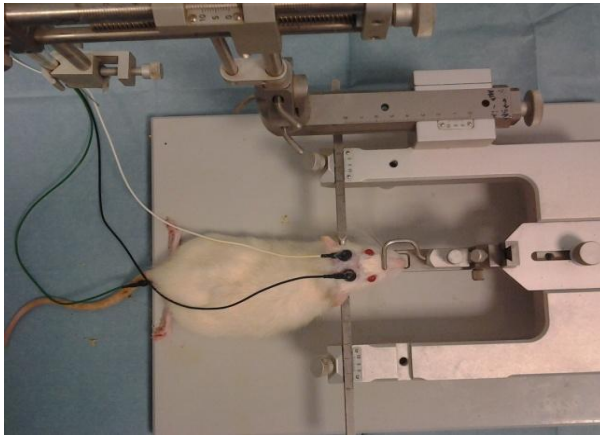
### **SIÇANLARDA DENEYSEL EPİLEPSİ MODELİ OLUŞTURULMASI**

Kök hücrelerin ekilecek hale gelmesinden 1 gün önce 30 sıçana 12 saatlik açlık sonrasında genel anestezi sağlamak için sırayla ketamin HCl ( Ketalar®, Eczacıbaşı) ve ksilazin (Rhompun®, Bayer) intraperitoneal yoldan verildi. Sıçanlar 4-5 dakika sonra derin anestezi haline girdi. Daha sonra sıçanlar stereotaktik frame ile fikse edildi (Resim 1). Steril şartlarda ve antibiyoterapi altında skalpleri gözlerinin üzerinden başlayıp sırtüssü kısma kadar jiletle tıraş edildi. Öncelikle skalpleri üzerine elektrotlar yerleştirilerek elektroensefalografileri (EEG) çekildi (Resim 2). Daha sonra kafa derisi bistüri yardımıyla 2-3 cm uzunluğunda vertikal insizyonla açılıp bregma noktası bulundu. Sağ hipokampusun koordinatları (bregmadan arkaya 6 mm, sağa 4,5 mm ve kafatası yüzeyinden derine 7 mm) framede ayarlanarak minidril

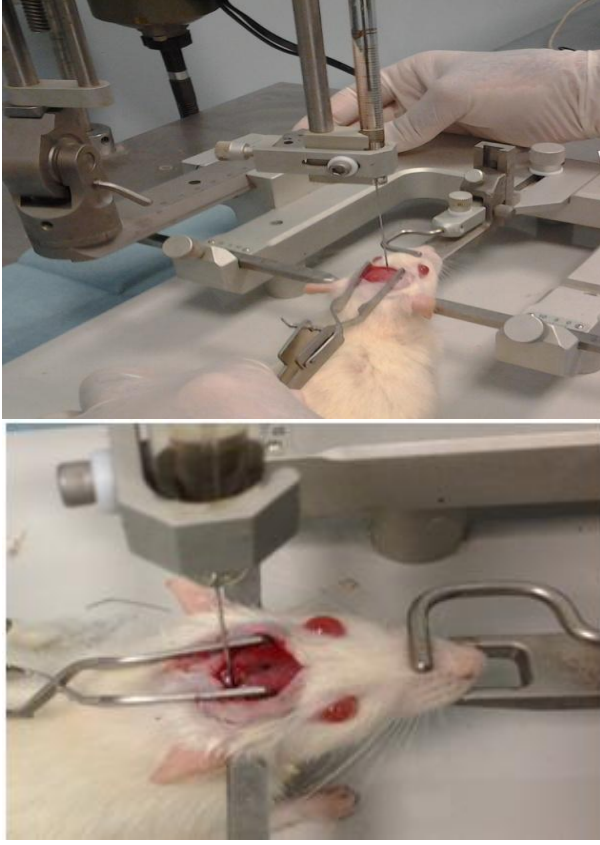
yardımıyla o bölgede kafatasına mini burrhole açıldı. Burrholeden 10 ul'lik Hamilton iğnesiyle girilerek 0.2 µg kainik asit ( $C_{10}H_{15}NO_4$ ) intrahipokampal olarak verildi (Resim 3). Ardından cilt insizyonu dikildi epileptik aktivite elde edilince yine skalp üzerine elektrotlar yerleştirilerek EEG çekildi (Resim 4). Daha sonra sıçanlar normal ortamlarına bırakıldı.



Resim 1. Stereotaktik frame ile fikse edilen sıçan görünümü



Resim 2. Sıçanların skalpleri üzerinden EEG çekimi



Resim 3. Sağ hipokampüse stereotaktik kainik asit enjeksiyonu



Resim 4. Kainik asit enjeksiyonu sonrası EEG çekimi

## **SIÇANLARIN GRUPLARA AYRILMASI VE KÖK HÜCRELERİN EKİLMESİ**

Kök hücrelerin ekilmeye hazır olması ile intrahipokampal kainik asit enjeksiyonu ile epilepsi modeli oluşturduğumuz 30 sıçanı rastgele olarak 10'arlı 3 gruba ayırdık.

Grup 1 (Kontrol grubu): Bu gruba epilepsi modeli oluşturulduktan sonra başka herhangi bir cerrahi işlem uygulanmayan grup

Grup 2 (İntrahipokampal kök hücre verilen grup): Bu grupta epilepsi modeli oluşturulduktan 1 gün sonra intraperitoneal anestezi uygulanarak stereotaksi eşliğinde eski kafa derisinin sütürleri alınarak kafatasına ulaşıldı. Sağ hipokampüse ulaşmak için eski burrhole kullanılarak 25 ul'lik Hamilton iğnesi yardımıyla intrahipokampal  $1 \times 10^6$  kök hücre ekildi. Ardından insizyon yerleri dikilerek sıçanlar normal ortamlarına bırakıldı.

Grup 3 (İntravasküler kök hücre verilen grup): Epilepsi modeli oluşturulduktan 1 gün sonra intraperitoneal anestezi uygulanarak cerrahi olarak sağ boyun anterolateralinde cilt insizyonu oluşturulması sonrası cilt altı diseksiyonuyla sağ karotid artere ulaşarak 50 ul'lik Hamilton iğnesiyle kontrollü bir şekilde intraarteriyel  $1 \times 10^6$  kök hücre enjekte edildi (Resim 5). Ardından insizyon yerleri dikilerek sıçanlar normal ortamlarına bırakıldı.





Resim 5. Sağ karotid artere kök hücre enjeksiyonu

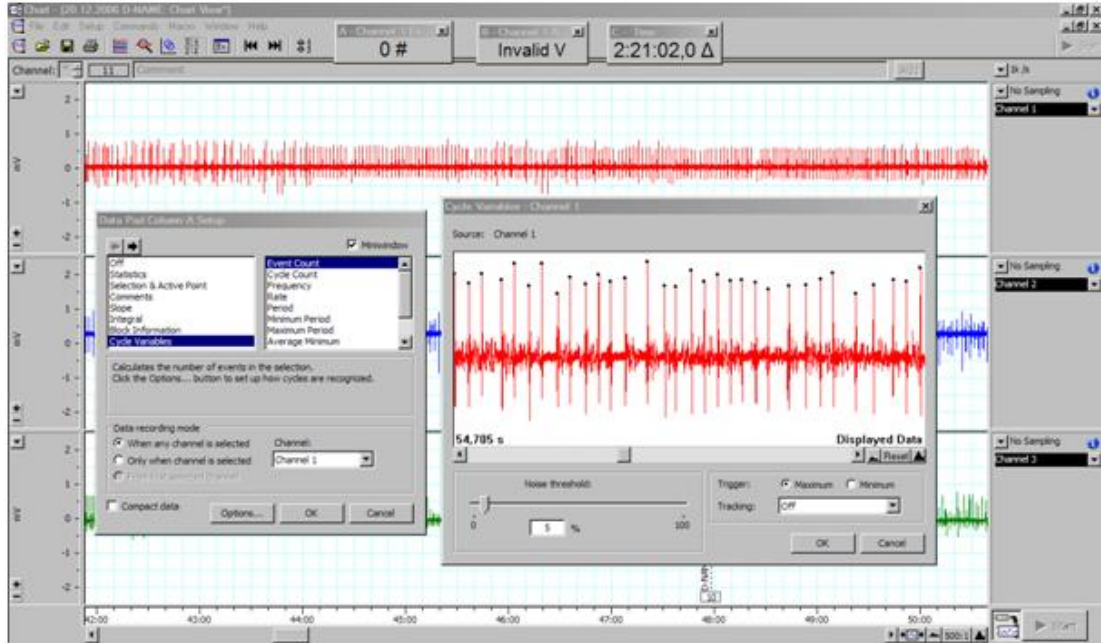
Kök hücrelerin ekilmesinden sonra sıçanlar kendi ortamlarında yiyecek ve su alımları serbest olacak şekilde bekletildi. Kök hücre ekimi sonrası 4. hafta ve 8. haftada tüm grupların intraperitoneal anestezi uygulanarak anestezinin 30. dakikasından sonra skalpleri üzerinden 20 dakika EEG kayıtları alındı. 8. hafta sonu EEG kayıtları alındıktan sonra tüm gruplardaki sıçanların beyinleri dekortike edilerek hipokampusleri incelenmek üzere Histoloji Anabilim Dalına teslim edildi.

### **EEG KAYITLARININ ELDE EDİLMESİ VE İSTATİSTİKSEL ANALİZ**

Sıçanların skalpleri üzerine EEG kaydı için iki adet gümüş plaka kondu. Topraklama amacıyla kuyruğa 1 adet elektrot tespit edildi. Gümüş plakalar ince birer kablo aracılığıyla poligrafa bağlandı. EEG kayıtları poligraf cihazı ve bioamplifier kullanılarak elde edildi. Kaydedilen elektrofizyolojik veriler Chart v5.1 (AD Instruments, Avustralya) yazılımı ve bu yazılımın makro özellikleri sayesinde birer dakikalık dilimlere ayrıldı. Dakika başına düşen spike sayısı ve spikelerin ortalama amplitüdüleri (peak to peak) bu yazılımın özellikleri sayesinde otomatik olarak

hesaplatıldı (Şekil 3). Her hayvan için kayıt işlemi tekrarlandı. Elektrofizyolojik kayıtların tamamı rakamsal verilere dönüştürüldükten sonra bu veriler SPSS (Statistical Package for Social Sciences for Windows) 17.0 yazılımı kullanılarak istatistiksel açıdan değerlendirildi. Tüm veriler değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metotlar (Sayı, Yüzde, Ortalama, Standart sapma) kullanıldı. Elde ettiğimiz veriler normal dağılıma uyduğu için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanıldı. Aynı zamanda grup varyanslarının homojenliği analiz edildi ve homojen oldukları saptandı. Gruplar arasındaki farklılığı saptamak için bağımlılarda Wilcoxon W testi, bağımsız karşılaştırmalarda Mann-Whitney U testi kullanıldı. Grafik ve metin içerisinde kullanılan deney gruplarına ait değerler ortalama  $\pm$  standart hata (SEM) olarak ifade edildi.

Çalışmamızda öncelikle 30 adet sıçana herhangi bir işlem uygulanmadan intraperitoneal anestezi sonrası EEG kayıtları elde edildi. Epilepsi modeli oluşturduktan sonra nöbet esnasında EEG kayıtları alındı. 30 adet sıçan rastgele 10'arlı 3 gruba ayrılarak kök hücrelerin ekilmesinden sonra tüm grupların 4. hafta ve 8. hafta sonunda intraperitoneal anestezi uygulanarak skalpleri üzerinden EEG kayıtları alındı.



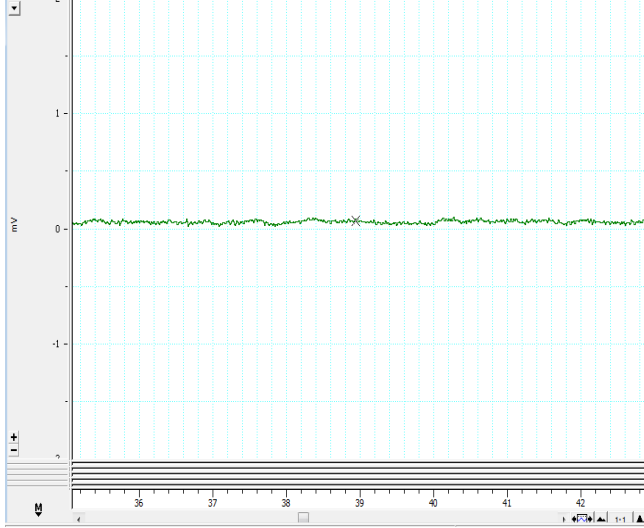
Şekil 3. Epileptik aktivitenin spike frekansı ve amplitüd değerlerinin hesaplanmasında kullanılan kayıt programının işlem pencerelerinden bir görüntü

## BULGULAR

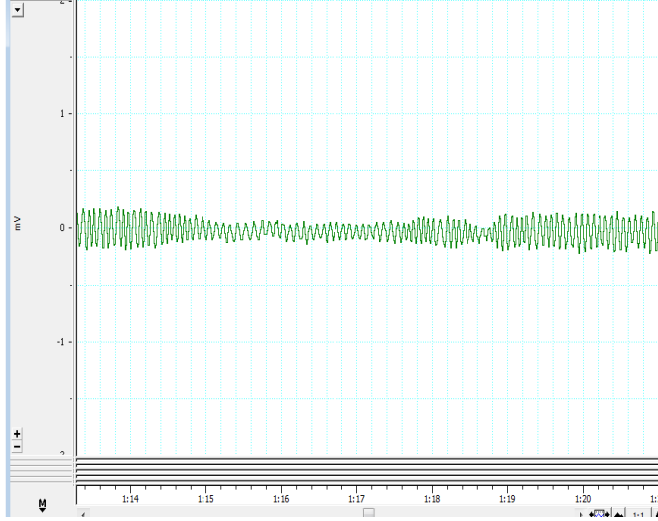
### 1.KAINİK ASİT KAYNAKLI EPİLEPTİFORM AKTİVİTENİN İNCELENMESİ

Öncelikle tüm sıçanların epilepsi modeli oluşturmadan EEG kayıtları alındı (Şekil 4). Sağ intrahipokampal kainik asit verilmesinden 2-6 dakika sonra sıçanlarda sağ ön ekstremitede belirgin kasılmalar ve EEG kayıtlarında diken ve diken-dalgı formasyonları görülmeye başlandı. Bu aktivite verilen doz için 180 dakikadan daha uzun sürdü.

Kainik asit enjeksiyonundan hemen sonra ortalama 2-6 dakika süren, bazal aktiviteye göre daha düşük genlikte dalgaların görüldüğü sessiz bir dönem oluştu. Bu dönemin sonunda ise genellikle belirgin bir geçiş dönemi olmadan ani diken dalgı ile epileptik süreç başladı. EEG'den sürekli olarak kayıtlar alındı. Epileptik aktivite kararlı düzeye yaklaşık 30 dakika içinde ulaştı (Şekil 5). Sıçanlar kendi içinde değerlendirildiğinde anlamlı farklılık saptanmadı.



Şekil 4. Epilepsi modeli oluşturmadan çekilen EEG görüntüsü



Şekil 5. Epilepsi modeli oluşturulduktan sonraki EEG görüntüsü

## 2. KÖK HÜCRE UYGULAMALARININ EPİLEPTİFORM AKTİVİTE ÜZERİNE ETKİLERİ

### 2.1 Grup İçi Değerlerin Homojenliğinin Karşılaştırılması

Öncelikle 3 grubun 4.hafta ve 8.hafta sonunda çekilen EEG'lerinin spike frekansları (spike/dakika) ve ortalama amplitüd düzeyleri ( $\mu\text{V}$ ) grupların kendi içinde karşılaştırıldı. Grup varyanslarının homojenliği analiz edildi. Bu analiz sonucunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p>0.05$ ), grupların homojen olduğu saptandı. (Tablo 3).

Tablo 3: Grupların kendi içinde karşılaştırılması.

Ölçüm zamanı	Gruplar	Spike frekansları (spike/dakika)		Amplitüd düzeyleri ( $\mu\text{V}$ )	
		N	p	N	p
4.hafta	Grup 1	10	$>0,05$	10	$>0,05$
	Grup 2	10	$>0,05$	10	$>0,05$
	Grup 3	10	$>0,05$	10	$>0,05$
8.hafta	Grup 1	10	$>0,05$	10	$>0,05$
	Grup 2	10	$>0,05$	10	$>0,05$
	Grup 3	10	$>0,05$	10	$>0,05$

## 2.2 Gruplar Arası Karşılaştırmalar

Tüm grupların 4.hafta ve 8.hafta sonunda çekilen EEG'lerinin ortalama spike frekansları (spike/dakika) ve ortalama amplitüd düzeyleri ( $\mu\text{V}$ ) hesaplandı (Tablo 4-5).

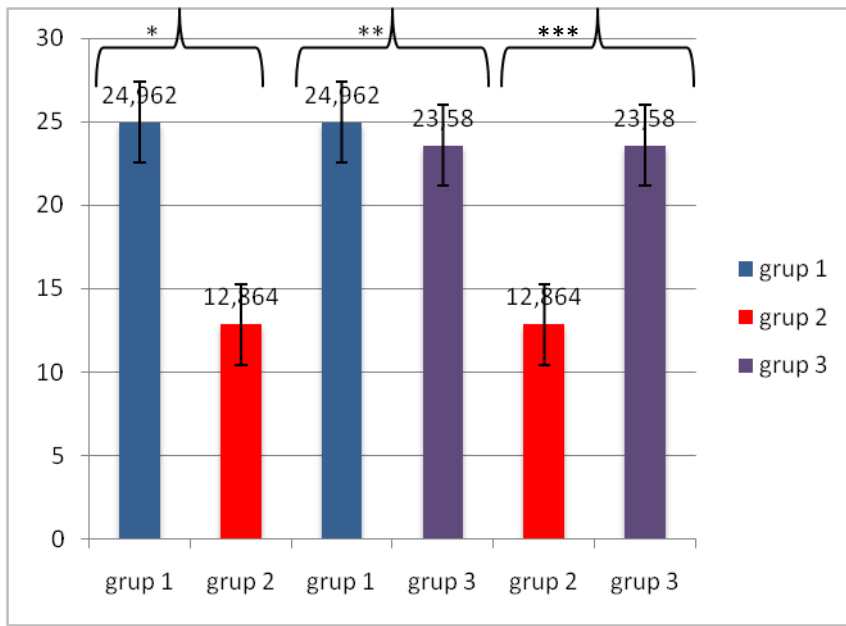
Tablo 4: Grupların ortalama spike frekansı (spike/dakika)

Ölçüm zamanı	Gruplar	Mean	Median	SS
4.hafta	Grup 1	24.96	25.00	1.27
	Grup 2	12.86	12.77	0.92
	Grup 3	23.78	23.86	1.77
8.hafta	Grup 1	25.31	25.14	0.93
	Grup 2	13.41	13.40	0.91
	Grup 3	24.68	24.52	1.18

Tablo 5: Grupların ortalama amplitüd düzeyi ( $\mu\text{V}$ )

Ölçüm zamanı	Gruplar	Mean	Median	SS
4.hafta	Grup 1	424.36	424.12	25.08
	Grup 2	211.98	207.82	23.34
	Grup 3	404.58	406.71	35,27
8.hafta	Grup 1	436.20	443.88	29.82
	Grup 2	216.93	214.74	26.31
	Grup 3	416.05	408.11	38.64

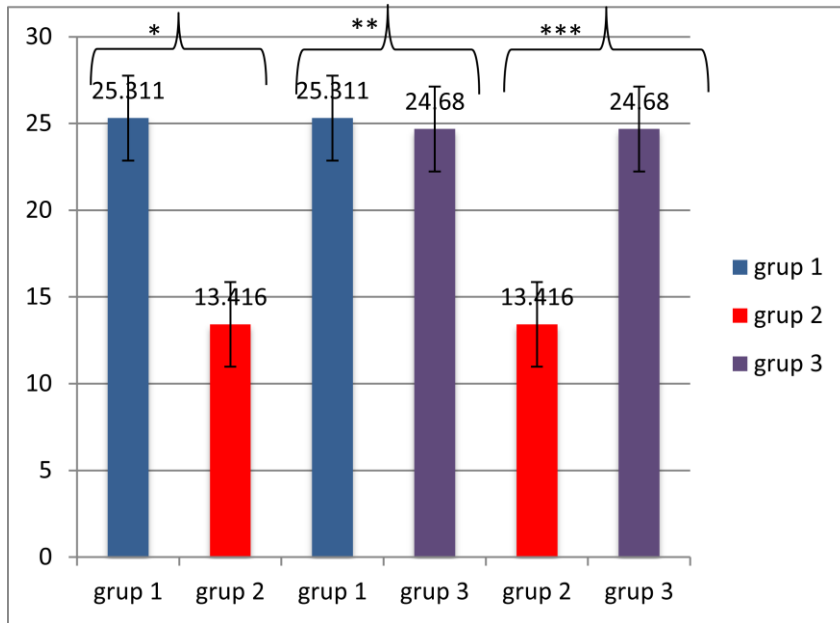
Her 3 grubun 4. hafta sonunda çekilen EEG'lerinin ortalama spike frekanslarını (spike/dakika) karşılaştırdık. Grup 2'nin ( $12,86 \pm 0,92$  spike/dk) grup 1'e ( $24,96 \pm 1,27$  spike/dk) göre ortalama spike frekansında istatistiksel olarak anlamlı bir düşüklük saptandı ( $p < 0,01$ ). Grup 3'ün ( $23,78 \pm 1,77$  spike/dk) grup 1'e ( $24,96 \pm 1,27$  spike/dk) göre ortalama spike frekansında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu ( $p > 0,05$ ). Yine grup 2'nin ( $12,86 \pm 0,92$  spike/dk) grup 3'e ( $23,78 \pm 1,77$  spike/dk) göre ortalama spike frekansında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ( $p > 0,05$ ) (Şekil 6).



Şekil 6: Her 3 grubun 4. hafta sonunda çekilen EEG'lerinin ortalama spike frekanslarının (spike/dakika) karşılaştırılması. (Sütunlar aritmetik ortalamaları, siyah çubuklar ise SS'yi göstermektedir.)

\*  $p < 0,01$ , \*\*  $p > 0,05$ , \*\*\*  $p > 0,05$

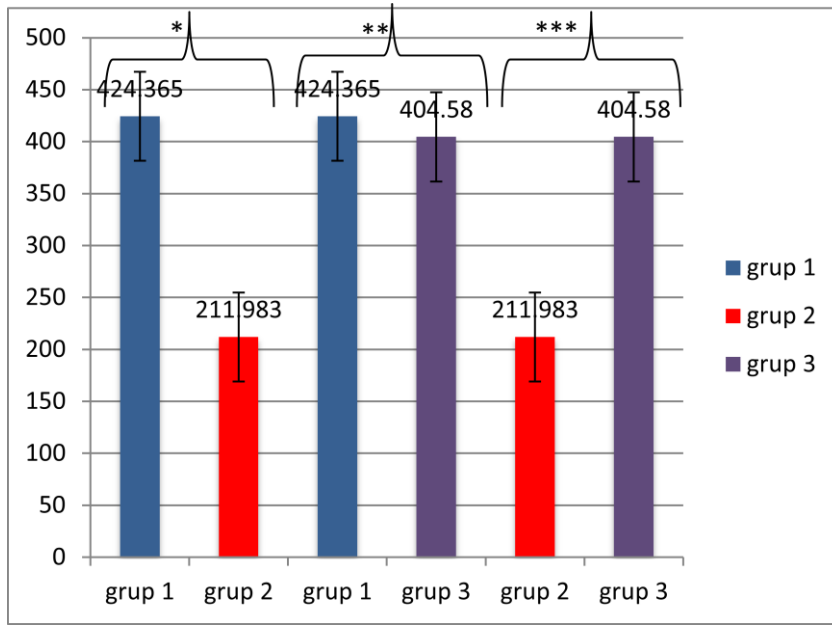
Her 3 grubun 8. hafta sonunda çekilen EEG'lerinin ortalama spike frekanslarını (spike/dakika) karşılaştırdık. Grup 2'nin ( $13,41 \pm 0,91$  spike/dk), grup 1'e ( $25,31 \pm 0,93$  spike/dk) göre ortalama spike frekansında istatistiksel olarak anlamlı bir düşüklük saptandı ( $p < 0,01$ ). Grup 3'ün ( $24,68 \pm 1,18$  spike/dk) grup 1'e ( $25,31 \pm 0,93$  spike/dk) göre ortalama spike frekansında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu ( $p > 0,05$ ). Yine grup 2'nin ( $13,41 \pm 0,91$  spike/dk) grup 3'e ( $24,68 \pm 1,18$  spike/dk) göre ortalama spike frekansında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ( $p > 0,05$ ) (Şekil 7).



Şekil 7: Her 3 grubun 8. hafta sonunda çekilen EEG'lerinin ortalama spike frekanslarının (spike/dakika) karşılaştırılması. (Sütunlar aritmetik ortalamaları, siyah çubuklar ise SS'yi göstermektedir.)

\*  $p < 0,01$ , \*\*  $p > 0,05$ , \*\*\*  $p > 0,05$

Her 3 grubun 4. hafta sonunda çekilen EEG'lerinin ortalama amplitüd düzeylerini ( $\mu\text{V}$ ) karşılaştırdık. Grup 2'nin ( $211,98 \pm 23,34 \mu\text{V}$ ), grup 1'e ( $424,36 \pm 25,08 \mu\text{V}$ ) göre ortalama amplitüd düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüklük saptandı ( $p < 0,01$ ). Grup 3'ün ( $404,58 \pm 35,27 \mu\text{V}$ ), grup 1'e ( $424,36 \pm 25,08 \mu\text{V}$ ) göre ortalama amplitüd düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu ( $p > 0,05$ ). Yine grup 2'nin ( $211,98 \pm 23,34 \mu\text{V}$ ) grup 3'e ( $404,58 \pm 35,27 \mu\text{V}$ ) göre ortalama amplitüd düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı. ( $p > 0,05$ ) (Şekil 8).

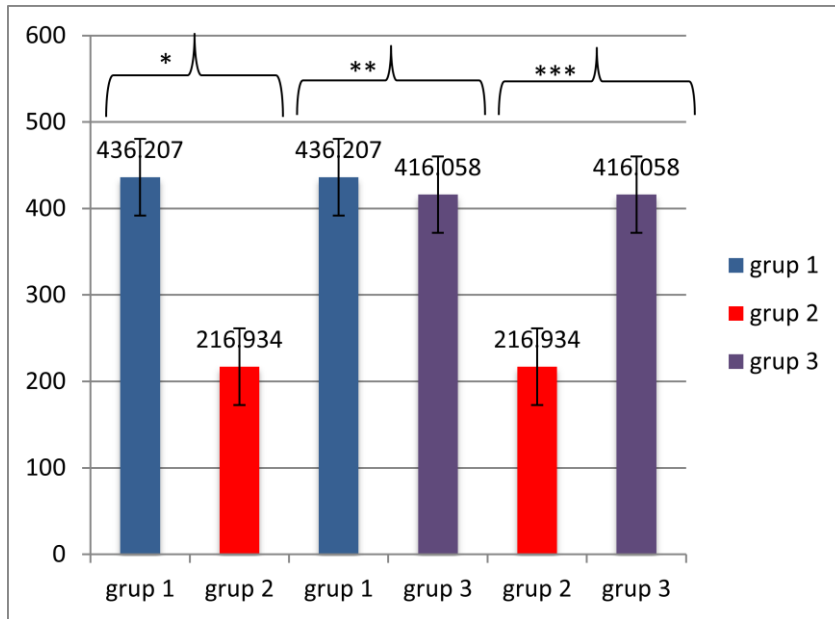


Şekil 8: Her 3 grubun 4. hafta sonunda çekilen EEG'lerinin ortalama amplitüd düzeylerinin ( $\mu\text{V}$ ) karşılaştırılması. (Sütunlar aritmetik ortalamaları, siyah çubuklar ise SS'yi göstermektedir.)

\*  $p < 0,01$ , \*\*  $p > 0,05$ , \*\*\*  $p > 0,05$



Her 3 grubun 8. hafta sonunda çekilen EEG'lerinin ortalama amplitüd düzeylerini ( $\mu\text{V}$ ) karşılaştırdık. Grup 2'nin ( $216,93 \pm 26,31 \mu\text{V}$ ), grup 1'e ( $436,20 \pm 29,82 \mu\text{V}$ ) göre ortalama amplitüd düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüklük saptandı ( $p < 0,01$ ). Grup 3'ün ( $416,05 \pm 38,64 \mu\text{V}$ ), grup 1'e ( $436,20 \pm 29,82 \mu\text{V}$ ) göre ortalama amplitüd düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu ( $p > 0,05$ ). Yine grup 2'nin ( $216,93 \pm 26,31 \mu\text{V}$ ), grup 3'e ( $416,05 \pm 38,64 \mu\text{V}$ ) göre ortalama amplitüd düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ( $p > 0,05$ ) (Şekil 9).

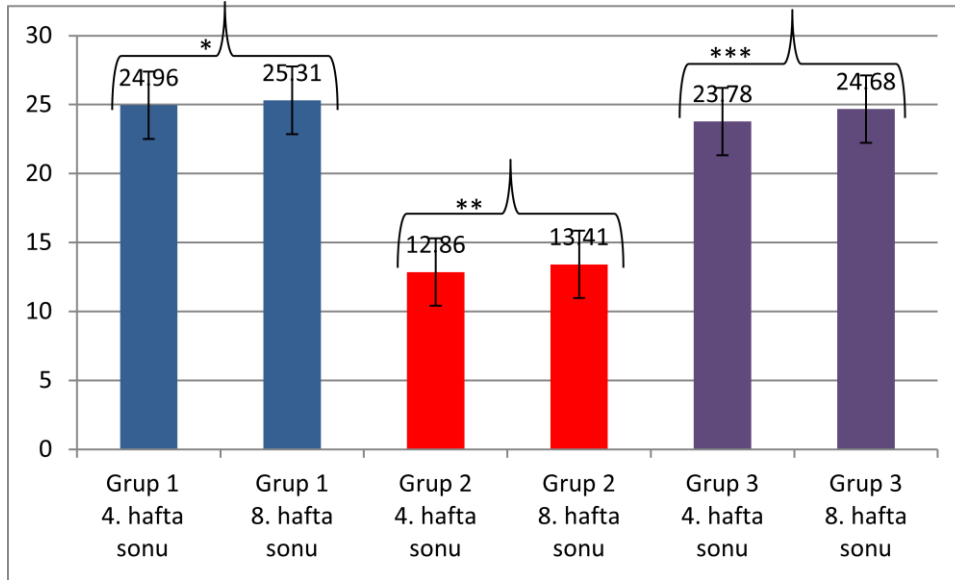


Şekil 9: Her 3 grubun 8. hafta sonunda çekilen EEG'lerinin ortalama amplitüd düzeylerinin ( $\mu\text{V}$ ) karşılaştırılması. (Sütunlar aritmetik ortalamaları, siyah çubuklar ise SS'yi göstermektedir.)

\*  $p < 0,01$ , \*\*  $p > 0,05$ , \*\*\*  $p > 0,05$

## 2.2 Grupların Kendi İçinde Karşılaştırılması

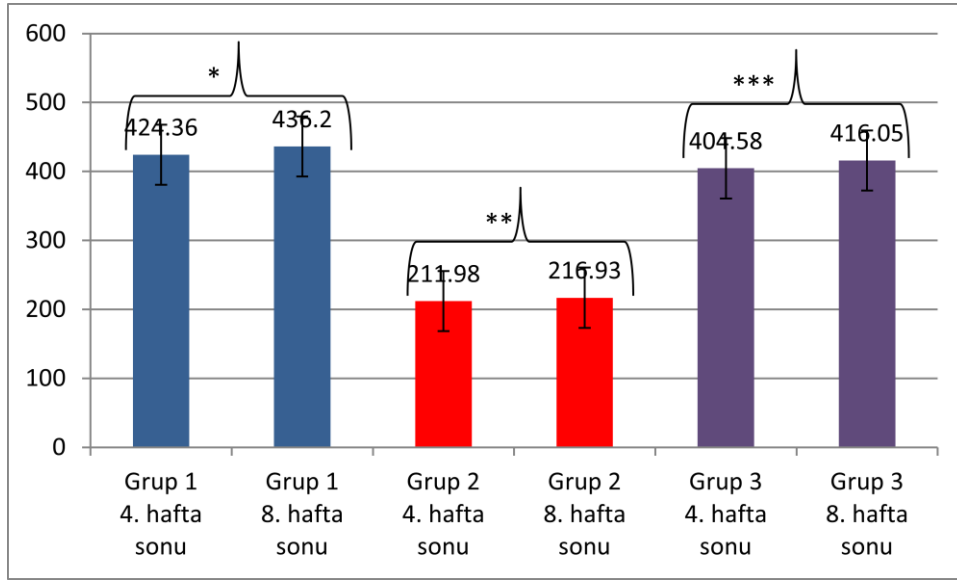
Grupların kendi içinde 4. ve 8. hafta sonunda çekilen EEG 'lerinin ortalama spike frekanslarını (spike/dakika) karşılaştırdık. Grup 1'in 4. hafta sonuyla ( $24,96 \pm 1,27$  spike/dk), 8. hafta sonu ( $25,31 \pm 0,93$  spike/dk) arasındaki frekans değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p > 0,05$ ). Grup 2'nin 4. hafta sonuyla ( $12,86 \pm 0,92$  spike/dk), 8. hafta sonu ( $13,41 \pm 0,91$  spike/dk) arasında da frekans değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p > 0,05$ ). Grup 3'ün de 4. hafta sonu ( $23,78 \pm 1,77$  spike/dk) ve 8. hafta sonu ( $24,68 \pm 1,18$  spike/dk) arasında ki frekans değerlerinde de istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p > 0,05$ ) (Şekil 10).



Şekil 10: Grupların kendi içinde 4. ve 8. hafta sonunda çekilen EEG 'lerinin ortalama spike frekans düzeylerinin karşılaştırılması. (Sütunlar aritmetik ortalamaları, siyah çubuklar ise SS'yi göstermektedir.)

\*  $p > 0,05$ , \*\*  $p > 0,05$ , \*\*\*  $p > 0,05$

Grupların kendi içinde 4. ve 8. hafta sonunda çekilen EEG 'lerinin ortalama amplitüd düzeylerini ( $\mu\text{V}$ ) karşılaştırdık. Grup 1'in 4. hafta sonuyla ( $424,36 \pm 25,08 \mu\text{V}$ ), 8. hafta sonu ( $436,20 \pm 29,82 \mu\text{V}$ ) arasındaki amplitüd değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p>0,05$ ). Grup 2'nin 4. hafta sonuyla ( $211,98 \pm 23,34 \mu\text{V}$ ), 8. hafta sonu ( $216,93 \pm 26,31 \mu\text{V}$ ) arasında da amplitüd değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p>0,05$ ). Grup 3'ün de 4. hafta sonu ( $404,58 \pm 35,27 \mu\text{V}$ ) ve 8. hafta sonu ( $416,05 \pm 38,64 \mu\text{V}$ ) arasında ki amplitüd değerlerinde de istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p>0,05$ ) (Şekil 11).



Şekil 11: Grupların kendi içinde 4. ve 8. hafta sonunda çekilen EEG 'lerinin ortalama amplitüd düzeylerinin karşılaştırılması. (Sütunlar aritmetik ortalamaları, siyah çubuklar ise SS'yi göstermektedir.)

\*  $p>0,05$ , \*\*  $p>0,05$ , \*\*\*  $p>0,05$

## TARTIŞMA

Epilepsi, sinir hücre gruplarının eş zamanlı ve kontrolsüz deşarj yapımlarıyla karakterize nörolojik hastalık grubunun genel adıdır. Yaygın olarak kullanılan antiepileptik ilaçlar günlük olarak düzenli alındığında bile hastaların %30-40' ında nöbetler engellenememektedir. Tedaviye dirençli, kalıcı ve uygunsuz nöbetleri olan veya tedavinin ağır yan etkilerinin olduğu uygun olgular için epilepsi cerrahisi de bir alternatiftir. Cerrahi tedaviye rağmen de dirençli olgular gözükmemektedir. Mevcut tedavilerin nöbetleri tam olarak engelleyememesi yeni tedavi yöntemlerinin araştırılmasına yol açmıştır (47).

Biz de çalışmamıza başlarken sık görülen bir nörolojik hastalık olan epilepside yeni geliştirilmiş birçok medikal tedaviye ve çeşitli epilepsi cerrahisi tekniklerine rağmen dirençli olgu sayısının hiç de az olmaması nedeniyle yeni tedavi yöntemlerine katkıda bulunabilmeyi istedik. Bu amaçla deneysel epilepsi modelinde kök hücre uygulamasının elektroensefalografide iktal aktivite üzerine etkilerini araştırdık.

Literatürde çok sayıda deneysel epilepsi modeline rastlanmaktadır. İyi karakterize edilmiş hayvan modelleri epileptogenezisin altında yatan temel mekanizmaların anlaşılmasına olanak sağlayabilmektedir. Üstelik bu modeller epilepsi tedavisinde yeni tedavi edici yaklaşımların belirlenmesinde de yararlı olabilmektedir (48). Elliden fazla nöbet modeli bulunmakla birlikte başlıca kullanılan nöbet modellerini; basit parsiyel nöbetler, kompleks parsiyel nöbetler, jeneralize tonik klonik nöbetler, jeneralize absans nöbetler ve status epileptikus modelleri olarak sınıflandırabiliriz (41). Bizim de çalışmamızda seçtiğimiz kainik asitle indüklenmiş sıçan modeli insan mesial temporal lob epilepsisine diğer temporal lob epilepsi modellerinden daha çok benzerlik göstermektedir. Başlıca nöron kaybı olan bölgeler (dentat girusun hilusu ve CA1) aynıdır (49).

Santral sinir sistemi hücrelerinin rejenerasyon yeteneğinin olmadığı 1928 yılında Ramon tarafından açıkça belirtilmiştir (50). Son yıllara kadar kabul gören bu görüşe rağmen son 10 yıl içinde yapılan çalışmalar ile yetişkin travmatize edilmiş insan hipokampusunda da yeni nöronların geliştiği gözlemlenmiştir. 1998 yılında

Erikson ve ark. insan hipokampusunda dentat girusta yeni nöronların varlığını göstermiştir (51). Ayrıca kemik iliğinden elde edilen kök hücrelerin hasarlı beyinde nöronal ve vasküler fenotipler oluşturarak tamir sürecine yardım ettiği de gösterilmiştir (50). Bu olumlu gelişmelere rağmen yetişkin santral sistemi içindeki çok çeşitli hücrelerin bulunması, her bir hücrenin görevinin farklı olması daha işin başında hücre temelli tedavilerin stratejisi için ayrı bir dezavantaj oluşturmakta ve bu tür çalışmalar için ümit kırıcı olmaktaydı. Bununla birlikte yapılan çalışmalarda iyi hazırlanmış hücrelerle doğru endikasyonlar ve kök hücrelerin uygun yerleştirilmesi ile başlangıç için oldukça tatmin edici sonuçların alınmaya başladığı her geçen gün artan yayınlarla da anlaşılmaktadır. Son 10 yıllık çalışmalara baktığımızda özellikle kök hücreler ile progenitör hücrelerin yetişkin insan santral sinir sisteminde yapısal nöroplastisite potansiyeline sahip oldukları birçok kez ispatlanmıştır.

İlaça dirençli nöbetlerle karakterize olan temporal lob epilepsi nörodejenerasyon, iyon kanal ekspresyonunda ve nöroplastisitede değişiklik ile ilişkilidir. Ciddi temporal lob epilepsinin iki ayırıcı özelliğinden biri hipokampal sklerozken (52) diğeri GABA'erjik internöronlarda kayıptır (53). Naegele ve ark. fetal beyinden elde edilen nöral projenitörlerin ilaca dirençli ciddi TLE'de internöronların yerine geçmede potansiyel hücre kaynağı olduklarını bildirmiştir (7). Xu ve ark., Alvarez-Dolado ve ark. ile Baraban ve ark. yaptıkları çalışmalarda medial ganglionik eminensden alınan fetus derivesi GABA'erjik projenitörleri kalıtsal bir epilepsi formu olan transjenik farelerin serebral korteksine implante ettiklerinde inhibitör postsinaptik akımları artırdığını ve nöbetlerin sıklığı ve şiddetini başarılı bir şekilde azalttığını göstermişlerdir (54, 55, 56). Dahası TLE'si olan yetişkin kemirgenlere fetal medial ganglionik eminens hücreleri nakledildiğinde inflamasyonda azalma olduğu da Waldau ve ark. tarafından gösterilmiştir (57). Yapılan çalışmalarda tüm bu umut veren bulgulara rağmen insan fetal dokusunun kullanılabilirliğininin kısıtlı oluşu dirençli epilepside terapötik tedavilerin geliştirilmesinde sınırlılığa yol açmaktadır.

Biz de kainik asitle indüklenmiş temporal lob epilepsi modeli oluşturduğumuz çalışmamızda intrahipokampal ve intravasküler kök hücre implantasyonun potansiyel faydalarını EEG'deki iktal aktivite üzerine etkileri ile araştırdığımız çalışmamızda

transplantasyon sonrası çekilen EEG' lerde intrahipokampal kök hücre uygulanan grupta epileptik deşarjların frekans ve amplitüdlerinde kontrol grubuna göre düşüklük gözlemedik. İntravasküler kök hücre uygulanan grupta ise kontrol grubuna göre epileptik deşarjların frekans ve amplitüdlerinde anlamlı farklılık gözlemedik.

Kök hücreler embriyodan, fetustan, göbek kordonundan ve yetişkinlerden elde edilebilmektedir (58). Yetişkin kök hücreler en çok kemik iliğinde bulunmaktadır. Kemik iliği hematopoetik ve mezenkimal orijinli kök hücreleri içermektedir (59). Mezenkimal kök hücre insanda genellikle süperior iliak kanattan alınan kemik iliğinden elde edilir (60). Alternatif olarak femoral ve tibial medullar kısımlarından (61) ve torasik ve lomber vertebralardan da elde edilebilirler (62). Biz de çalışmamızda mezenkimal kök hücreleri sıçanların femur medullar kemik iliğinden elde ederek kullandık.

Kemik iliği stroma hücrelerinin osteoblast, kondrosit, adipozit, myoblast, hepatosit, kardiyomyozit ve nöral hücrelere dönüşebilme özelliği olduğu bilinmektedir (63). Wislet-Gendebien ve ark. yaptığı bir çalışmada MKH'lerin in vitro olarak uyarılabilir nöron benzeri hücrelere farklılaşabildikleri ve bu hücrelerin de GABA, glisin ve glutamat gibi çok sayıda nörotransmittere cevap verdiği tespit edilmiştir (64). Yine Liu ve ark. yaptığı başka bir çalışmada embriyonik MKH'lerin iskemik inme olan beyine uygulandığında, nöronal, astroglial ve endotelial işaretleyiciler kullanılarak farklılaşmaları incelenmiştir. MKH uygulamasından 2 gün gibi kısa bir süre sonra MKH'lerin beta-tubulin III, MAP2 ve nörofilament gibi çok sayıda nöronal işaretleyiciyi eksprese ettiği görülmüştür. Bu da embriyonik MKH'nin de nöronal farklılaşmasının olduğunu göstermektedir (65).

Uygun hücre kültür koşullarında kemik iliği stromal hücreleri olarak da tanımlanan mezenkimal kök hücrelerin nöronal fenotipe dönüşebildiği bilinmektedir. (66, 67, 68, 69). Allojenik mezenkimal kök hücre kullanımının inme ve multipl skleroz gibi nörolojik hastalıklarda yüksek güvenilirlikte olduğu ve üstün ölçeklenebilirlik özelliğine sahip olduğu da belirtilmiştir (50). Biz de çalışmamızda otolog kök hücre elde edilmesinin daha masraflı oluşu ve uygulamada

komplikasyona yol açma potansiyeli sebebiyle allojenik mezenkimal kök hücre kullanmayı tercih ettik.

Bang ve ark. otolog mezanşimal kök hücreler ile inme geçirmiş 30 hasta üzerinde kök hücreleri IV yolla vererek yaptıkları çalışma sonucunda, bu tedavinin fonksiyonel iyileşmeleri de sağlayabilen güvenli bir yöntem olduğunu bildirmiştir (70).

Paula S. ve ark. yenidoğan ratlarda hipoksik beyin hasarlanmasının tedavisinde insan umbilikal kordon kanı hücrelerinin motor performans, uzaysal öğrenme ve beyinde morfolojik değişiklikler üzerinde yaptığı etkileri araştırdığı çalışmada ratlara carotid arter oklüzyonu uygulayarak hipoksik beyin hasarlanmasından 24 saat sonra intravenöz olarak insan umbilikal kordon kanı hücreleri vermiş. 3 hafta süreyle Morris Water Maze ve motor değerlendirme testlerine tabi tutulmuş ve fonksiyonel olarak kök hücre grubunda uzaysal hafıza ve motor defisitlerin azaldığı gözlenmiş. Yapılan polimeraz zincir reaksiyonu ve immünofloresan çalışmalarda az miktarda kök hücrenin sıçan serebral dokusuna geçtiğini göstermiştir (71). Düz E ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada insan umbilikal kordon kanından elde edilmiş CD34+ kök hücrelerin direkt transplante edilerek, nimodipinin verilmesi, deneysel travmatik beyin hasarı oluşturulmuş ratlarda akut olarak uygulanmış ve fonksiyonel düzelmede en iyi sonuçlar alınmıştır. Kök hücre uygulanan gruplarda histopatolojik olarak ise nöral diferansiyasyonu gösteren bulgular tespit edilmiş ve transplantasyon sonrası nöronal restorasyona ve fonksiyonel kayıpların yeniden kazanılmasına katkı sağladığı gözlenmiştir (72).

Zanier ER ve ark farelerde kontrollü kortikal hasar yaparak serebral travma oluşturmuşlar. Travmatik hasardan 24 saat sonra farelere umbilikal kordon kanından elde edilmiş kök hücre, travmanın olduğu tarafın karşısından intraserebroventriküler alana infüze edilmiş. Travmadan bir ay sonra kök hücre verilen grupta öğrenme disfonksiyonlarında ve serebral kontüzyon völümünde azalma olduğu gözlenmiş. Kök hücrelerin transplantasyonu ile nörolojik fonksiyonları iyileştirdiği, bu progenitör hücrelerin mikroglia ve makrofaj tipine dönüşebildiği ve glial skar dokusunun inhibisyonunu sağlayarak serebral dokunun yapılanmasında nörotrofik

faktörlerin arttırılması ile serebral dokunun yapılanmasını sağladığı sonucuna varılmıştır (73).

Mazzini ve ark. otolog kemik iliğinden elde edilen hematopoetik hücreleri 7 hastaya Th7-Th9 seviyesinde spinal kord içine yerleştirmiştir. Üç yıllık takip sonucunda hastalarda belirgin kazanımlar olduğunu göstermiş ve ALS hastalığında spinal kord içine otolog mezanşimal kök hücrelerin direkt enjeksiyonunun güvenli, önemli akut veya kronik toksisite göstermeyen ve iyi tolere edilen bir yöntem olduğunu belirtmişlerdir (74). Kızılay Z. ve arkadaşlarının çalışmasında, ratlara T9-11 arası spinal kord tam kesisi yapmış ve insan umbilikal kordon kanından elde ettikleri CD34+ kök hücreler vermiş, sonuç olarak da kök hücre verilen grubun diğer gruplara göre lokomotor sistem muayeneleri, BBB (Basso- Beattie- Bresnehan) skorlaması, rotarod performans testi ve çift yönlü eğik düzlem testinde daha anlamlı iyileşme saptanmıştır (75).

Kök hücrelerin gerek MS'te gerekse nöroinflamatuvar hastalıklarda myelin hasarını düzelterek remyelinizasyonu sağladıkları gösterilmiştir (76).

Krivit 2004 yılında allojenik hematopoetik kök hücrelerin lizozomal depo hastalıklı ve lokodistrofili hastalar üzerinde kullanıldığını bildirmiş ve 500 olguluk bir seri yayınlamıştır. Sonuçlar oldukça tatmin edicidir. Aynı şekilde Krabbe's hastalığında da insanlar üzerinde başarılı kök hücre uygulamaları bildirilmiştir (50). Kök hücrelerin bu tip hastalıklarda yararlı olmasının nedeni kök hücrelerin beyine penetre olarak mikrogial hücrelerin infiltrasyonuna eşlik etmesi ve kaybolan enzimlerin yerine geçmesine yardımcı olmalarıdır.

Yılmaz A ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada sıçanlarda sağ siyatik sinir tam kat kesisi sonrası kordon kanı kökenli Cd34+ kök hücre uygulanmış vasküler greft ile sarılarak 12 hafta sonunda elektron mikroskopisi yapılmış. Diğer gruplara göre kök hücre uygulanan grupta hem akson hem de myelin kılıf dejenerasyonunun ilerlemediği gösterilmiştir (77).

Sıraladığımız bu örneklerde olduğu gibi birçok nörolojik hastalıkta ve nörotravma sonrası kök hücre uygulaması ile olumlu sonuçlar alınması diğer



nörolojik hastalıklarda da kök hücre çalışmalarına daha fazla önem verilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır.

Hipokampal bölge son yıllarda yapılan çalışmalarda sıkça ele alınmıştır. Gale ve arkadaşlarının klinikte hipokampal derin beyin stimülasyonu yerleştirilen 10 hasta üzerinde uzun dönem yapılan çalışmada dirençli nöbet oranlarında yaklaşık %30-90 oranında bir azalma saptandığı görülmüştür (78). Akman T ve arkadaşlarının sıçanlarda yaptığı penisilin G epilepsi modelinde, hipokampüse derin beyin stimülasyonu eşliğinde elektriksel aktivite verilen sıçanlarda nöbetin frekansında, şiddetinde ve diken dalga sayısında belirgin azalmalar saptanmıştır (79). Heetderks ve arkadaşlarının yaptığı kainik asit ile oluşturulan sıçanlarda deneysel epilepsi modelinde hipokampal stimülasyon ile belirgin olarak nöbetlerde bir azalma olduğu izlenmiştir (80). Bu çalışmalara ek olarak absans epilepsili hayvanların hipokampus bölgelerinde morfolojik değişiklikler saptanmıştır. En göze çarpan histopatolojik değişikliklerin olduğu hipokampus bölgesinin hem insan hem de sıçan modellerinde nöbetlerin gelişiminde şiddetli ilişkisinin olduğu düşünülmektedir (81). İnsan ve sıçanlarda nöbet aktivitesinden sonra özellikle hipoksi ile birlikte olan nöbetlerde hipokampal bölgenin CA1 alt ünitesinin çok etkilendiği belirtilmiştir (82). Biz de çalışmamızda epilepsi modeli oluşturmada ve kök hücre uygulamasında bu bölgeyi hedef olarak seçtik.

Epilepsiyle ilgili çalışmalarda EEG (elektroensefalogram) ve ECoG (elektrokortikogram) en çok kullanılan metoddur. Saçlı deri (skalp) üzerinden kaydedilen beyin dalgalarına EEG, beyin korteksinin yüzeyinden yüzeyinden makroelektrotlarla direkt olarak kaydedilenlere ECoG denir. Biz de çalışmamızda kök hücre uygulamasının iktal aktivite üzerine etkilerinin değerlendirilmesi ve gruplar arası farklılıkları incelemek amacıyla EEG kayıtları elde ettik.

Shen ve ark. 2010 yılında yaptığı sıçanlarda kainik asit ile hipokampüste lezyon oluşturdukları çalışmalarında, hipokampus ve amigdala aktivitesini hipokampal kök hücre transplantasyonu sonrası 4., 8. ve 24. hafta sonunda EEG ile incelemişler. Hipokampal kök hücre transplantasyonu yapılan sıçanların kontrol grubuna göre epileptik dalga deşarjlarının frekansında azalma ve deşarjların amplitüdlerinde %50 düşme saptanmış. 4. hafta sonu ile 8. ve 24. hafta sonları

çekilen EEG'ler arasında da kayıtlarda benzer paternler saptanmış. Shen ve arkadaşları çalışmalarının sonunda histopatolojik inceleme yapmış ve hipokampal kök hücre greftlemesinin aberan kainik asit lezyonu ile indüklenen mossy liflerinin filizlenmesini sınırladığı ve hasarlı hipokampüsteki nöron sayısının eski haline çıkardığını belirtmiş (83).

Chu ve ark. sıçanlarda pilokarpin ile temporal lob epilepsi modelinde intravenöz beta galaktozidaz ile işaretli insan nörol kök hücre uygulamasının etkilerini incelemişler. Status epilepticus sonrası 1. günde nörol kök hücreleri vermişler. 28. ve 35. günlerde kök hücre verilmeyen grupta spontan rekurren nöbetler görülürken, kök hücre verilen grupta spontan rekurren nöbetlerin şiddetinde kısmi azalma saptamışlar. Beta galaktozidazla işaretlenmiş hücreler 6 hafta sonra yapılan histolojik incelemede beyinde hipokampüste, dentat hilusta, subikulumda, amigdalada ve piriform kortekste izlenmiş (84).

Bizim çalışmamızda transplantasyon yapılmayan ve intravasküler kök hücre transplante edilen gruplarda rölatif olarak fazla sayıda keskin dalgalar arasında yüksek amplitüdü ve multiform dalgalar izlendi. Hipokampal kök hücre transplante edilen grupta ise keskin dalgalar arasında frekansı 3-10 Hz arasında değişen düzenli ve ritmik dalgalar izlendi. 4. hafta sonu çekilen EEG kayıtlarıyla, 8. hafta sonu çekilen EEG kayıtlarının paternlerinde anlamlı farklılık saptanmadı. Bu sonuçlar hasar oluşturulmuş hipokampüse, hipokampal kök hücre uygulamasının epileptik beyindeki deşarjları azaltabileceğini göstermektedir. Çalışmamız Shen ve ark. çalışmasını destekler nitelikte olup, intravasküler kök hücre uygulamalarında daha kapsamlı çalışmalar ve yeni yöntemler geliştirilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır.

## SONUÇ

Çalışmamızda sıçanlarda epileptik beyinde hasarlı hipokampüsün onarımında hipokampal ve intravasküler kök hücre greftlemesinin potansiyel yararlarını, oluşturduğumuz kainik asitle indüklenmiş temporal lob epilepsi modelinde araştırdık. Hipokampal kök hücre transplantasyonu sonrasında epileptik deşarjların amplitüd ve frekansında düşüklük gözlemledik. İntravasküler kök hücre transplantasyonu yapılan grupta ise kontrol grubuna göre fark olmadığını saptadık.

Sonuç olarak bu çalışmada elde edilen veriler hasarlı hipokampüse hipokampal kök hücre transplantasyonun iyileşme potansiyeline katkı sağladığının ve nöbet kontrolünde yararlı olabileceğinin bir kanıtı olarak düşünülebilir.

Bizim de çalışmamızda kullandığımız mezenkimal kök hücreler nöral hücrelere dönüşme yeteneğine sahiptir, hasarlı beyin dokusunu iyileştirebilir ve fonksiyonlarını geriye döndürebilir. Bu prensip ilerleyen dönemlerde detaylı çalışmalarla incelenmelidir.

Bundan sonraki dönemlerde yapılacak yeni çalışmalarla beraber kök hücrenin tedavisinin başta epilepsi olmak üzere diğer tüm nörolojik hastalıklarda tedavide yer alabileceği ümidini taşımaktayız.

## KAYNAKLAR

1. Helmstaedter C. Effects of chronic epilepsy on declarative memory systems. *Prog Brain Res* 2002;135:439–453.
2. Rossi F, Cattaneo E. Opinion: Neural stem cell therapy for neurological diseases: Dreams and reality. *Nat Rev Neurosci* 2002; 3:401– 409.
3. Kan EM, Ling EA, Lu J. Stem cell therapy for spinal cord injury. *Curr Med Chem* 2010;17:4492–4510.
4. Brundin P, Barker RA, Parmar M. Neural grafting in Parkinson’s disease: Problems and possibilities. *Prog Brain Res* 2010;184:265–294.
5. Schwarz SC, Schwarz J. Translation of stem cell therapy for neurological diseases. *Transl Res* 2010;156:155–160.
6. Shetty AK, Hattiangady B. Concise review: Prospects of stem cell therapy for temporal lobe epilepsy. *STEM CELLS* 2007;25:2396 –2407.
7. Naegele JR, Maisano X, Yang J et al. Recent advancements in stem cell and gene therapies for neurological disorders and intractable epilepsy. *Neuropharmacology* 2010;58:855– 864.
8. Shetty AK. Progress in cell grafting therapy for temporal lobe epilepsy. *Neurotherapeutics* 2011;8:721–735.
9. Maisano X, Litvina E, Tagliatela S et al. Differentiation and functional incorporation of embryonic stem cell-derived GABAergic interneurons in the dentate gyrus of mice with temporal lobe epilepsy. *J Neurosci* 2012;32: 46–61.
10. Anthony Hopkins, Simon Shorvon, Gregory Cascino; *Epilepsy*. Chapman and Hall medical publish, second edition. 1995.

11. Hauser WA. Status epilepticus: epidemiologic considerations. *Neurology*. 1990 May;40(5 Suppl 2):9-13. Review.
12. Bambal G, Çakıl D, Ekici F. Epilepsi oluşum mekanizmaları. *Konuralp Tıp Dergisi* 2011;3(3) :42-45.
13. Anthony Hopkins, Simon Shorvon, Gregory Cascino; *Epilepsy*. Chapman and Hall medical publish, second edition. 1995.
14. Panayiotopoulos CP. The new ILAE report on terminology and concepts for organization of epileptic seizures: a clinician's critical view and contribution. *Epilepsia*. 2011 Dec;52(12):2155-60.
15. Devinsky O, Vezzani A, Najjar S, De Lanerolle NC, Rogawski MA. Glia and epilepsy: excitability and inflammation. *Trends Neurosci*. 2013 Jan 5.
16. Kudin AP, Kudina TA, Seyfried J, Vielhaber S, Beck H, Elger CE, Kunz WS. Seizure-dependent modulation of mitochondrial oxidative phosphorylation in rat hippocampus. *Eur J Neurosci*. 2002 Apr;15(7):1105-14.
17. Nasseh IE, Amado D, Cavalheiro EA, Naffah-Mazzacoratti Mda G, Tengan CH. Investigation of mitochondrial involvement in the experimental model of epilepsy induced by pilocarpine. *Epilepsy Res*. 2006 Mar;68(3):229-39.
18. Tejadilla D, Cerbón M, Morales T. Prolactin reduces the damaging effects of excitotoxicity in the dorsal hippocampus of the female rat independently of ovarian hormones. *Neuroscience*. 2010 Sep 1;169(3):1178-85.
19. Llorente R, Gallardo ML, Berzal AL, Prada C, Garcia-Segura LM, Viveros MP. Early maternal deprivation in rats induces gender-dependent effects on developing hippocampal and cerebellar cells. *Int J Dev Neurosci*. 2009 May;27(3):233-41.
20. Panayiotopoulos CP. The new ILAE report on terminology and concepts for the organization of epilepsies: critical review and contribution. *Epilepsia*. 2012 Mar;53(3):399-404.
21. Zhang GQ, Sahoo SS, Lhatoo SD. From classification to epilepsy ontology and informatics. *Epilepsia*. 2012 Jul;53 Suppl 2:28-32.

22. Baykan B, Bebek N, Gürses C, Gökyiğit A. Epilepsi Bölümü. İTF Nöroloji Ders Kitabı. 2010.
23. Shorvon, SD (1994) Status epilepticus: Clinical features and treatment in children and adults, Cambridge University Press, Cambridge in: Hopkins A., Shorvon S. and Cascino G., Epilepsy, 1995, Chapman and Hall, London, p.331-350.
24. Zumsteg D, Wieser HG. . Presurgical evaluation: Current role of invasive EEG. *Epilepsia*, 2000;41 :55-60.
25. Mathern GW, Babb TL, Pretorius JK, Melendez M, Levesque MF: The pathophysiologic relationships between lesion pathology, intracranial EEG onsets, and hippocampal neuron losses in temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res* 21:133-47, 1995.
26. Williamson PD. Mesial temporal lobe epilepsy. In Gilman S, ed. Medlink, San Diego CA:Arbor Publishing, 2004.
27. Meyer A, Beck E. The hippocampal formation in temporal lobe epilepsy. *Proc R Soc Med*. 1955; 48:457–62.
28. Margerison JH, Corsellis JA. Epilepsy and the temporal lobes. A clinical, electroencephalographic and neuropathological study of the brain in epilepsy, with particular reference to the temporal lobes. *Brain* 1966;89:499–530.
29. Schwartzkroin PA. Origins of the epileptic state. *Epilepsia* 1997;38:853–8.
30. Golarai G, Greenwood AC, Feeney DM, Connor JA. Physiological and structural evidence for hippocampal involvement in persistent seizure susceptibility after traumatic brain injury. *J Neurosci* 2001;21:8523–37.
31. Ribak CE, Tran PH, Spigelman I, Okazaki MM, Nadler JV. Status epilepticus-induced hilar basal dendrites on rodent granule cells contribute to recurrent excitatory circuitry. *J Comp Neurol* 2000;428:240–53.
32. Ribak CE, Dashtipour K. Neuroplasticity in the damaged dentate gyrus of the epileptic brain. *Prog Brain Res* 2002;136:319–28.

33. Scharfman HE, Gray WP. Relevance of seizure-induced neurogenesis in animal models of epilepsy to the etiology of temporal lobe epilepsy. *Epilepsia* 2007;48(Suppl 2):33–41.
34. Loring DW, Marino S, Meador KJ. Neuropsychological and behavioral effects of antiepilepsy drugs. *Neuropsychol Rev* 2007;17:413–25.
35. Engel J Jr. The timing of surgical intervention for mesial temporal lobe epilepsy: a plan for a randomized clinical trial. *Arch Neurol* 1999;56:1338–41.
36. Heller AC, Padilla RV, Mamelak AN. Complications of epilepsy surgery in the first 8 years after neurosurgical training. *Surg Neurol*. 2008.
37. Maisano X, Carpentino J, Becker S, Lanza R, Aaron G, Grabel L, et.al. Embryonic stem cell-derived neural precursor grafts for treatment of temporal lobe epilepsy. *Neurotherapeutics*. 2009 Apr;6(2):263-77.
38. Garcia ME, Garcia Morales I, Matías Guiu J. Experimental models in epilepsy. *Neurologia* 2010;25:181-8.
39. Bostancı MO, Bağırıcı F. Anticonvulsive effect of quinine on peniciline-induced epileptiform activity:an in vivo study. *Seizure* 2007;16: 166-172.
40. Löscher H, Schmidt D. Strategies in antiepileptic drug development: is rational drug design superior to random screening and structural variation? *Epilepsy Res* 1994;17:95-134.
41. Fisher RS. Animal models of the epilepsies. *Brain Res Brain Res Rev* 1989;14:245-278.
- 42 Chuang YC, Chang AY, Lin JW, Hsu SP, Chan SH. Mitochondrial dysfunction and ultrastructural damage in the hippocampus during kainic acid-induced status epilepticus in the rat epilepsy. 2004 oct;45(10): 1202-9.
43. Ashwood TJ, Lancaster B, Wheal HV. Intracellular electrophysiology of CA1 pyramidal neurones in slices of the kainic acid lesioned hippocampus of the rat. *Exp Brain Res*. 1986;62(1):189-98.

44. Karagöz E, Ovalı E. Kök Hücreler. Celepler Matbacılık. Trabzon 2004; 975-8053-53-1.
45. Çetinkaya DU. Kök Hücre Biyolojisi ve Klinik Uygulamalar, TÜBA, Ankara, 2009.
46. Tuli R, Tuli S, Nandi S, Wang ML. (2003) Characterization of Multipotential Mesenchymal Progenitor Cells Derived from Human Trabecular Bone. *Stem Cells*, 21:681-693.
47. Vercueil L, Depaulis A. High frequency stimulation of the subthalamic nucleus suppresses absence seizures in the rat. *Epilepsy Research* 1998;31: 39-46.
48. Bambal G, Çakıl D, Ekici F. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*. 2011; 2 (1): 118-123.
49. Şan T, Şirvancı S, Salık E, Ercan F, Çetinel Ş, Yananlı H, Onat F. A Light Microscopy Study of the Intrahippocampal Kainic Acid-Treated Rats. *Epilepsi* 2001;7(1-2):9-16.
50. Hess DC, Borlongan CV. Stem cell and neurological diseases. *Cell Prolif* 2008; 41(Suppl 1):94-114.
51. Eriksson PS, Perfilieva E, Bjork-Eriksson T, et al. Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nat. Med.* 1998; 4:1313-7.
52. Swartz BE, Houser CR, Tomiyasu U, Walsh GO, DeSalles A, Rich JR, et al. Hippocampal cell loss in posttraumatic human epilepsy. *Epilepsia* (2006) 47:1373–1382.
53. Zhang W, Yamawaki R, Wen X, Uhl J, Diaz J, Prince DA, et al. Surviving hilar somatostatin interneurons enlarge, sprout axons, and form new synapses with granule cells in a mouse model of temporal lobe epilepsy. *J Neurosci* (2009) 29:14247–14256.
54. Xu Q, Cobos I, De La Cruz E, Rubenstein JL, Anderson SA. Origins of cortical interneuron subtypes. *J Neurosci* (2004) 24:2612–2622.



55. Alvarez-Dolado M, Calcagnotto ME, Karkar KM, Southwell DG, Jones-Davis DM, Estrada RC, et al. Cortical inhibition modified by embryonic neural precursors grafted into the postnatal brain. *J Neurosci* (2006) 26:7380–7389.
56. Baraban SC, Southwell DG, Estrada RC, Jones DL, Sebe JY, Alfaro-Cervello C, et al. Reduction of seizures by transplantation of cortical GABAergic interneuron precursors into Kv1.1 mutant mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* (2009) 106:15472–15477.
57. Waldau B, Hattiangady B, Kuruba R, Shetty AK (2010) Medial ganglionic eminence-derived neural stem cell grafts ease spontaneous seizures and restore GDNF expression in a rat model of chronic temporal lobe epilepsy. *Stem Cells* 28:1153–1164.
58. Arinzech TL, Peter SJ, Archambault MP, Van den Bos C, Gordon S, Kraus K, Smith A, Kadiyala S. Allogeneic mesenchymal stem cells regenerate bone in a critical-sized canine segmental defect. *J Bone Joint Surg [Am]* 2003; 85:1927-35.
59. Grove J E, Bruscia E, Krause DS. Plasticity of bone marrow – derived stem cells, *Stem Cells*, 2004;22, 487-500.
60. Murphy JM, Dixon K, Beck S, Fabian D, Feldman A, Barry F: Reduced chondrogenic and adipogenic activity of mesenchymal stem cells from patients with advanced osteoarthritis. *Arthritis Rheumatism* 2002, 46: 704-713 .
61. Oreffo RO, Bord S, Triffitt JT: Skeletal progenitor cells and ageing human populations. *Clinical Science* 1998, 94: 549-555.
62. Marcacci M, Kon E, Moukhachev V, Lavroukov A, Kutepov S, Quarto R, Mastrogiacomo M, Cancedda R. Stem Cells Associated With Macroporous Bioceramics For Long Bone Repair: 6- To 7-Year Outcome Of A Pilot Clinical Study *tissue Engineering Volume 13, Number 5, 2007.*

63. Kortessidis, A. ve ark., Stromal-derived factor-1 promotes the growth, survival, and development of human bone marrow stromal stem cells, *Blood*, 105(10),3793-3801, 2005.
64. Wislet-Gendebien S, Hans G, LePrince P, Rigo JM, Moonen G, Rogister B. Plasticity of cultured mesenchymal stem cells: switch from nestin-positive to excitable neuron-like phenotype. *Stem Cells*. 2005;23(3):392-402.
65. Liu YP, Seckin H, Ğzci Y, Du ZW, Yan YP, Baskaya MK. Neuroprotective effects of mesenchymal stem cells derived from human embryonic stem cells in transient focal cerebral ischemia in rats. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2009;29(4):780-791.
66. Woodbury D, Schwarz EJ, Prockop DJ, Black IB. Adult rat and human bone marrow stromal cells differentiate into neurons. *J. Neurosci. Res.* (2000) 61, 364–370.
67. Bossolasco P, Cova L, Calzarossa C, Rimoldi SG, Borsotti C, Delilieri GL, et al. Neuro-glial differentiation of human bone marrow stem cells in vitro. *Exp. Neurol.* (2005) 193, 312–325.
68. Cho KJ, Trzaska KA, Greco SJ, McArdle J, Wang FS, Ye JH, et al. Neurons derived from human mesenchymal stem cells show synaptic transmission and can be induced to produce the neurotransmitter substance P by interleukin-1  $\alpha$ . *Stem Cells* (2005) 23, 383–391.
69. Guo L, Yin F, Meng HQ, Ling L, Hu-He TN, Li P, et al. Differentiation of mesenchymal stem cells into dopaminergic neuron-like cells in vitro. *Biomed. Environ. Sci.* (2005) 18, 36–42.
70. Bang OY, Lee JS, Lee PH, et al. Autologous mesenchymal stem cell transplantation in stroke patients. *Ann Neurol* 2005; 57:874-82.
71. Paula S, Vitola AS, Greggio S, de Paula D, Mello PB, Lubianca JM, Xavier LL, Fiori HH, Dacosta JC. Hemispheric brain injury and behavioral deficits induced by severe neonatal hypoxia-ischemia in rats are not attenuated by intravenous administration of human umbilical cord blood cells. *Pediatr Res*. 2009;65(6):631-5.

72. Düz E. Deneysel Kafa Travması Modelinde İnsan Umbilikal Kordon Kanından Elde Edilmiş Kök Hücre Naklinin Ve Nimodipinin Beraber Kullanımının Serebral Doku İyileşmesi Ve Nörolojik Fonksiyonlara Etkisi (Uzmanlık tezi). Denizli. Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi. 2011.
73. Zanier ER, Montinaro M, Vigano M, Villa P, Fumagalli S, Pischiutta F, Longhi L, Leoni ML, Rebulli P, Stocchetti N, Lazzari L, Simoni MG. Human umbilical cord blood mesenchymal stem cells protect mice brain after trauma. *Crit Care Med*. 2011; 68(5):631-6.
74. Mazzini L, Fagioli F, Boccaletti R, et al. Stem cell therapy in amyotrophic lateral sclerosis: a methodological approach in humans. *Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord* 2003; 4:133-4.
75. Kızılay Z. Deneysel omurilik yaralanmasında insan umbilikal kordon kanından elde edilmiş kök hücre naklinin ve eritropoietinin spinal kord iyileşmesi ve nörolojik fonksiyonlara etkisi. (Uzmanlık tezi). Denizli. Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi. 2010.
76. Pluchino S, Martino G. The therapeutic use of stem cells for myelin repair in autoimmune demyelinating disorders. *J Neurol Sci* 2005; 233:117-9.
77. Yılmaz A. ratlarda denetsel siyatik sinir tam kat kesisinde sentetik vasküler greft ve kök hücre uygulamasının nöral doku iyileşmesi üzerine etkileri. (Uzmanlık tezi). Denizli. Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi. 2012.
78. Gale J, Montgomery E. Mechanisms of action of deep brain stimulation. *Neuroscience* 2008;32: 388-407.
79. Akman T, Erken H, Acar G, Bolat E, Kızılay Z, Acar F, Genc O. Effects of the hippocampal deep brain stimulation on cortical epileptic discharges in penicillin - induced epilepsy model in rats. *Turk Neurosurg*. 2011 Jan;21(1):1-5.
80. Heertderks W, Mechanisms of action with deep brain stimulation. *NINDS* 2001;17: 398-417.

81. Gubellini P, Salin P. Deep brain stimulation in neurological diseases and experimental models. *Progress in Neurobiology* 2009;957: 1-45.
82. Theodore W, Fisher R. Brain stimulation for epilepsy. *The Lancet Neurology* 2004;3: 111-118.
83. Hong Shen, Li Liu, Zhihui Huo, and Zhiguo Lin. Hippocampal Stem Cell Grafting-Mediated Recovery of Injured Hippocampus in the Rat Model of Temporal Lobe Epilepsy. *International Journal of Neuroscience*, 120, 647–654, 2010.
84. Chu K, Kim M, Jung KH, Jeon D, Lee ST, Kim J, Jeong SW, Kim SU, Lee SK, Shin HS, Roh JK. Human neural stem cell transplantation reduces spontaneous recurrent seizures following pilocarpine-induced status epilepticus in adult rats. *Brain Res* 2004;1023:213–21.