

# Ratlarda Pentilentetrazol ile Oluşturulan Kindlingin Davranış ve Emosyonel Öğrenme Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi

## Assesment of The Effect of Pentylene-tetrazole-induced Kindling on Behavior and Emotional Learning in Rats

Füsun ERDOĞAN\*, Ayşegül KÜÇÜK\*\*, Asuman GÖLGEİ\*\*, Narin LİMAN\*\*\*, Hakan SAĞSÖZ\*\*\*

\* Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı

\*\* Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı

\*\*\* Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı

### Özet

**Amaç:** Pentilentetrazol (PTZ)-kindling'in spasiyal öğrenme, hafıza ve davranış değişikliklerine yol açtığı bilinmekle birlikte emosyonel öğrenme üzerine etkileri konusunda bilgiler yetersizdir. Bu çalışmada PTZ-kindling modelinde emosyonel öğrenme, davranış değişiklikleri ve hipokampusun histolojik değişikliklerini değerlendirmeyi amaçladık. **Materyal ve Metod:** Deney grubunda 24 adet, kontrol grubunda 10 adet wistar albino rat kullanıldı. EEG kaydı için kafa kemiklerine elektrotlar yerleştirildi, 1 hafta sonra PTZ-kindling işlemine başlandı. Deney grubuna 38 gün süre ile gün aşırı 35mg/kg PTZ intraperitoneal (ip) ve kontrol grubuna aynı günlerde salin ip enjekte edildi. Enjeksiyondan sonraki yarım saat içinde nöbetler EEG ve video ile kayıt edildi, nöbet skorlaması yapıldı. Kindling işlemi tamamlandıktan 1 gün sonra davranış değişiklikleri açık alan testi ve emosyonel öğrenme yükseltilmiş T-labirent testi ile değerlendirildi. Histolojik incelemede Kluver and Barrera Luxol Fast Blue metodu ile hipokampus değerlendirildi. **Bulgular:** PTZ-kindling sonrası emosyonel öğrenmede herhangi bir etkilenme saptanmazken açık alanda anksiyeteye işaret eden değişiklikler saptandı. Histolojik incelemede hipokampus CA3 bölgesinde nöron kaybı ve CA3 ve CA1 bölgesinde nöron dejenerasyonu saptandı. **Sonuç:** Bu çalışmada PTZ-kindlingin kısa sürede anksiyeteye benzer davranış değişikliklerine yol açarken, emosyonel öğrenmeyi etkilemediği ve bu davranış değişikliklerinin hipokampal nöronal hasar ile ilgili olabileceği saptanmıştır.

### Summary

**Objective:** Pentylene-tetrazol (PTZ)-induced kindling causes changes related with spatial learning, memory and behavior. However knowledge regarding its effects on emotional learning is insufficient. This study aims to investigate the emotional learning, behavioral changes and the histological changes in the hippocampus using PTZ-kindling model. **Materials and Methods:** This study employes 34 wistar albino rats – 24 for the experimental group and 10 for the control group. PTZ-kindling was initiated one week after the implantation of cortical electrodes. The experimental group received 35mg/kg PTZ intraperitoneally (ip) every other day for 38 days, while control group received ip saline in the same period. EEG and video recordings taken for 30 minutes after injection revealed seizures staged as 0-5. Kindling completed behavioral changes were assessed in the open field test, and emotional learning in the elevated T-maze test. The hippocampus was assessed with the method Kluver and Barrera Luxol Fast Blue. **Results:** PTZ-kindling did not affect emotional learning, but caused anxiety. Neuronal loss in the CA3 section and neuronal degeneration in the CA3 and CA1 section of hippocampus were observed. **Conclusion:** We concluded that PTZ-kindling causes anxiety-like behaviors while not affecting emotional learning which may have resulted from hippocampal neuronal damages.

Epilepsi serebral nöronlardaki artmış deşarjlar nedeniyle tekrarlayan nöbetlerle karakterize bir bozukluktur. Bu tekrarlayan nöbetler kognitif defisitler, emosyonel bozukluklar ve psikososyal problemlere neden olabilir.<sup>1-6</sup> Epilepsinin kindling modelleri potansiyel antiepileptik ilaçların test edilmesi ve hastalığın olası etyolojilerinin daha incelikli tanımlanabilmesi için geliştirilmiştir.<sup>7</sup> Kimyasal kindling tekrarlayan subkonvülsif kimyasal stimülasyon ile progresif nöbet aktivitesine yol açan epilepsi ve epileptogenezisin deneysel modelini oluşturan bir işlemdir.<sup>8</sup> Özellikle konvulsif uyarana karşı artmış hassasiyet epileptogenezisin progresif karakterinin bazı yönlerini yansıtmaktadır.<sup>9</sup> Kimyasal ya da elektriksel kindling ile oluşturulan epileptogenezisin hayvan modellerindeki gözlemleri, epilepsinin öğrenme, hafıza ve emosyonel bozukluklarla birlikteliğine kanıtlar oluşturmaktadır.<sup>10,11</sup> Kimyasal ve elektriksel kindling modelleri kullanılarak yapılan araştırmalarda spasial öğrenme, davranış ve kognitif fonksiyonlarda nöbetler sonrası oluşan fonksiyon bozuklukları gösterilmiştir.<sup>12-25</sup> Ancak bu çalışmalarda spasial öğrenme değerlendirilirken, emosyonel öğrenme sıklıkla ihmal edilmiştir. Pentilentetrazolün (PTZ) ratlara uygulanması ile oluşturulan kindling sıklıkla kullanılan kimyasal kindling modelidir.<sup>7</sup> PTZ merkezi sinir sistemini etkileyen konvülsif bir ajandır. Pikrotoksinin  $\gamma$ -aminobütirik asid tip A (GABAA) ya bağlanma noktasında etkilidir. Cl kanallarındaki allosentrik etkileşim aracılığı ile GABA bağlantılı Cl akımını bloke ederek nöronal membran depolarizasyonu ile nöbet aktivitesinin sürekliliği ve yayılımına yol açar. Ayrıca N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörleri ile bağlantılı ileti, PTZ ile indüklenen jeneralize tonik-klonik nöbetlerin oluşumunda önemlidir.<sup>26</sup> PTZ-kindling modelinin insanlarda epilepside görülen semptomlara benzer özellikler gösterdiğinden nöbetlerden sonra oluşabilecek kognitif, emosyonel ve nöropatolojik bozuklukların değerlendirilmesi açısından kullanılabilir faydalı bir model olduğu bildirilmiştir.<sup>7</sup>

Biz bu çalışmada PTZ-kindling modelini kullanarak emosyonel öğrenme ve davranış özelliklerini değerlendirmeyi amaçladık.

Emosyonel öğrenmeyi değerlendirmek için yükseltilmiş T labirent testi kullandık. Bu test sıklıkla anksiyolitik ilaçların hafızaya etkileri ve emosyonel davranışları ilgilendiren nöral sistemler ile öğrenmeyi etkileyen süreçlerin ilişkilerini değerlendirmede kullanılmaktadır.<sup>27-29</sup> Yükseltilmiş T labirent testi aynı denekte iki ayrı sıkıntı uyandıran davranışın değerlendirilmesini sağlar: Bunlardan biri inhibitör sakinmadır

ki bu pasif sakinme ya da şartlı komponent olarak da bilinir. Pasif sakinme, deneğin cezadan kaçınmak için hareketsiz kalmayı öğrenmesini ifade eder. Denek tecrübe ile davranışının ceza ile sonlandığını ve cezaya uğramamak için hareketsiz kalması gerektiğini öğrenmektedir (şartlı durum). Diğer sıkıntı uyandıran davranış doğal korkudur ki bu aktif sakinme ya da şartsız komponent olarak da bilinir. Hayvan aktif olarak zararlı yer ya da objeden sakinmayı öğrenir. Bu durum hayvanın sahip olduğu doğal korkuları sonucu açığa çıkar.<sup>29-32</sup>

Ratların davranış özelliklerinin değerlendirilmesi için açık alan testini kullandık. Açık alan testi orijinal çevre ortamında davranış değişikliklerini ve motor yeteneklerini değerlendirmede kullanılır. Bu test, hayvanın yeni ortamı araştırma ve etrafı duvarlarla çevrilerek kaçması önlenmiş bu ortamdaki hoşlanmama duygularının çatışması temeline dayanır. Bu ortamdaki kaynaklanan uyarılar aynı zamanda anksiyete ve araştırma davranışlarını harekete geçirir.<sup>33</sup> Lokomotor aktivite, araştırma aktivitesi ve korku seviyesi, açık alan testinde değerlendirilebilir. Açık alan parametreleri kullanılarak anksiyetenin olup olmadığı anlaşılabilir.<sup>27</sup>

## Materyal ve Metod

Çalışma için gerekli etik kurul onayı alındıktan sonra deney hayvanları Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel ve Klinik Araştırmalar merkezinden sağlandı. Çalışmada deney grubu için 24 adet ve kontrol grubu için 10 adet 50-60 günlük, 180-250 gr ağırlığında erkek wistar albino rat kullanıldı. Hayvanlar 12 saatlik karanlık aydınlık siklusünde, yiyecek ve suya serbest olarak ulaşabilecekleri bir ortamda bulunduruldu.

Kortikal EEG kaydı için kayıt elektrodları kafa kemiğine yerleştirildi. Ratlara bu işlem için anestezi, ketamin (100mg/kg intraperitoneal) ve xylazine (20mg/kg intraperitoneal) kullanılarak yapıldı. Anestezi sonrası kafaya orta hat insizyonu uygulanarak kafa derisi açıldı. Elektrodlar frontal, paryetal ve serebellar bölgeye vida yardımı ile sabitlendi. Daha sonra soğuk akrilik ile üzeri kapatılarak kafa derisi suture edildi(34). Elektrodlar yerleştirildikten 1 hafta sonra PTZ-kindling işlemine başlandı. Tüm deneyler saat 10-12 arasında sessiz bir odada ve oda ısısı 22-24°C olduğu halde gerçekleştirildi. Tüm ratlara 38 gün süre ile gün aşırı PTZ 35mg/kg dozunda

ip enjekte edildi. Kontrol grubuna aynı miktarda salin ip enjekte edildi. Enjeksiyondan sonraki 30 dakika süre ile ratların EEG kayıtları alındı (EEG100B; Biopac sistem), nöbetleri gözlenerek video kayıtları elde edildi ve aşağıdaki gibi skorlandı:<sup>33</sup>

- Evre 0. Cevap yok
- Evre 1. Kulaklar ve yüzde seyirmeler
- Evre 2. Vücuda yayılan konvülsif dalga
- Evre 3. Myoklonik jerkler ya da arka ayaklar üzerinde şaha kalkma
- Evre 4. Hayvanın olduğu yere düşmesi ile birlikte klonik nöbetler
- Evre 5. Tekrarlayan şiddetli tonik-klonik yada ölümcül nöbetler

Kindling işlemi tamamlandıktan bir gün sonra tüm ratlara yükseltilmiş T labirent testi ve açık alan testi uygulandı.

### Yükseltilmiş T Labirent Testi

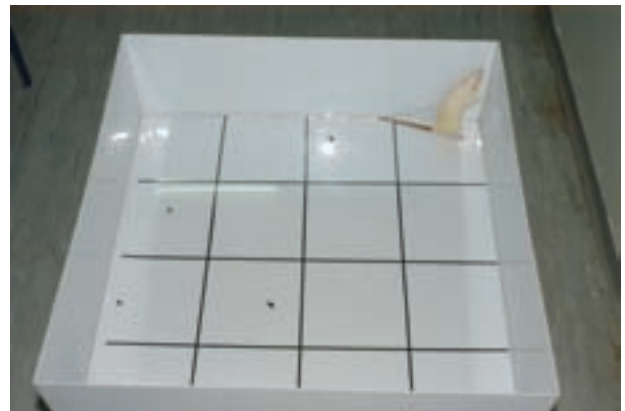
Yükseltilmiş T labirent aynı ebatlarda (50x12cm) yerden 50cm yüksekte 3 plastik koldan oluşmaktadır. Bu kollardan biri 40 cm yüksekliğinde plastik yan duvarlarla kapalıdır ve birbirine ters yönde duran iki açık kola dik olarak yerleştirilmiştir. Rat kapalı kolun sonuna yerleştirildiğinde kapalı kolun diğer ucuna gidip başını dışarı doğru çıkarmadan açık kolları göremez. Kapalı koldan dışarı çıkması için geçen zaman kaydedilir (baseline latansı). Hayvan tekrar alınarak kapalı kolun sonuna yerleştirilerek aynı ölçüm 30 saniye aralarla iki kez daha tekrarlanır ve her bir denemede hayvan dışarı çıkmazsa 300 saniye süre ile beklenir (İnhibitör yada pasif sakınma 1 ve 2). Bu sonraki iki deneme ile hayvanın labirenti araştırması inhibitör sakınma davranışını öğrenmesine izin verir. İnhibitör sakınma davranışı beklentisel anksiyete ile ilgili olduğundan bu tür davranışlar şartlı davranışlar olarak adlandırılır. Bu işlemden 30 saniye sonra rat sağdaki açık kolun sonuna yerleştirilir ve rat kapalı kola doğru hareket eder (tek yönlü kaçış, kaçmayı öğrenme). Açık kolu terk ederek kapalı kola girmesi için geçen süre kaçma latansı olarak değerlendirilir.<sup>27,30,35</sup> Ratların yükseklik ve açık alandan doğal korkuları olduğundan açık kolda bulunmaları hoşlarına gitmeyen bu durumla ilişkili korku reaksiyonlarına neden olur. Bu doğal korku tek yönlü kaçmaya yol açar ve ratlar bu aktif davranışı böylece öğrenirler. Bu tipteki şartsız davranışlar aktif sakınma olarak adlandırılır.<sup>30</sup> (Resim1)



Resim 1.

### Açık Alan Testi

Açık alan plastikten yapılmış, 100x100cm ebatlarında, 16 eşit kareye ayrılmış ve kenarları 30 cm yüksekliğinde yine plastik ile kapatılmış, üzeri açık bir araçtır. Rat açık alanın bir köşesine bırakılarak bu alanı araştırmalarına izin verilir. Hayvanın aktivite seviyesi (lokomotor yanıt) 5 dakika süre içerisinde geçtiği kare sayısı ile, araştırma aktivitesi yine aynı sürede iki arka ayağı üzerine kalkarak etrafı inceleme hareketi (rearing) sayısı ile ölçülür. Korku seviyesi 5 dakika içerisinde bu alan içerisinde yaptığı defekasyon sayısı ile değerlendirilir.<sup>15,36-38</sup> Lokomotor yanıt ve araştırma aktivitesinde artış ile defekasyon sayısındaki düşme, emosyonel aktivitede azalma olarak, tersi durum yani lokomotor yanıt ve araştırma aktivitesinde azalma ile defekasyon sayısındaki fazlalık ise emosyonel aktivitede artış yani anksiyete olarak değerlendirilir.<sup>39</sup> Her bir rat açık alanda değerlendirildikten sonra araç alkol ile temizlenir. Temizleme nedeni bir önceki hayvana ait kokunun daha sonraki hayvanın davranışlarını etkileyebilmesidir.<sup>40</sup> (Resim 2)



Resim 2

## Histolojik İnceleme

Nörolojik parametrelerin kaydedilmesinden 3 gün sonra çalışmanın sonunda 8 adet kontrol ve 8 adet PTZ verilmiş olan deneme grubuna ait ratlar xylazine hidroklorid (10mg/kg, Rompun, Bayer,) ile premedikasyonu takiben ketamin hidrokloride (50 mg/kg, Ketalar, Eczacıbaşı) kullanılarak derin anesteziye alındı. Ratların göğüs kafesi açıldıktan sonra sol ventriküle ince bir kanül (24GA, 0.75 inch) yerleştirildi ve sağ atrium kesildi. Bu kanül aracılığıyla 150cm su basıncı altında her bir rata 50 ml fosfat buffer perfüze edildi. Takiben %10'luk formalin verilerek tespit işlemi gerçekleştirildi. Ratların kafatasları açıldıktan sonra beyinleri çıkarıldı ve 24 saat %10'luk formalinde tespit işlemine devam edildi. Tespiti takiben 24 saat yıkanan doku örnekleri dereceli alkoller, metil benzoat ve benzollerden geçirilerek paraplastta bloklandı. Kontrol grubundan bir ratın beyinden seri kesit alınarak hipokampusun beyindeki yerleşimi saptandı. Daha sonra sistematik rastgele örnekleme metoduna göre her bir bloktan 8 mikron kalınlığındaki 12 kesit atıldı ve 13 ile 14. kesitler alınarak lama yerleştirildi. Hazırlanan preparatlar Kluver and Barrera Luxol Fast Blue metodu (41) ile boyandı ve ışık mikroskopunda incelendi. Hipokampusun CA1, CA2, CA3a, CA3b, CA3c, CA4 ve dentat girus bölgelerindeki nöronların morfolojik özellikleri ile bu bölgelerdeki nöronların miktarları Olympus BX51 model mikroskopta göreceli olarak değerlendirildi ve fotoğraflandı.

## İstatistiksel Analiz

PTZ-kindling işlemi süresince her bir enjeksiyondan sonraki yarım saat süre içinde gözlenen nöbet tiplerinin süreleri 'Friedman repeated measure analysis of variance on ranks' testi ile değerlendirildi. Açık alan ve yükseltilmiş T labirent testindeki parametrelerin her iki grup arasındaki karşılaştırması için nonparametrik Mann-Whitney U testi kullanıldı.  $P < 0.05$  değerleri istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermekte idi.

## Bulgular

Nöbetler: Kindlingin erken evrelerinde evre 0 ve 1 nöbetler daha sık görülürken, ilerleyen evrelerde özellikle son iki enjeksiyondan sonra evre 4 ve 5 nöbetlerinin daha sık olarak açığa çıktığı gözlemlendi.

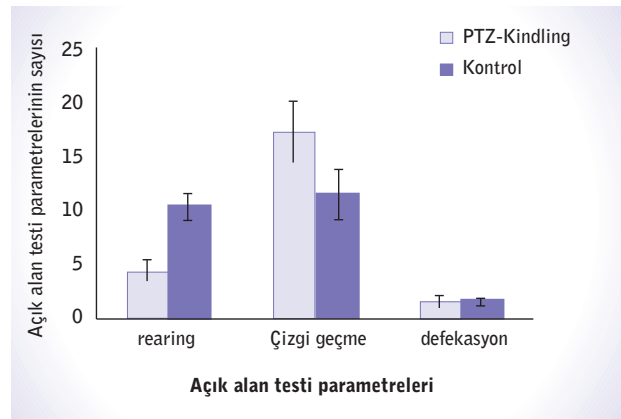
## Yükseltilmiş T labirent Testi

Kindling sona erdikten sonra kontrol ve denek grubuna uygulanan bu test sonrası her iki grup açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı saptandı.

## Açık Alan Testi

Kindling sonrası uygulana açık alan testinde deney grubundaki hayvanlarda araştırma aktivitesinin (rearing) kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığı saptandı ( $p < 0.05$ ) (Şekil 1).

## Şekil 1: Kindling İşlemi Sonrası Açık Alan Test Parametrelerinin Karşılaştırılması



Her bir sütun ortanca  $\pm$  SH (standart hata) göstermektedir. Araştırma aktivitesi (rearing) PTZ-kindling grubunda anlamlı olarak azalmış saptandı. (Mann-Whitney  $U = 22.5$ ,  $p < 0.05$ )

## Histoloji

Kontrol grubundaki (şekil 1) ile PTZ uygulanarak epileptik nöbet oluşturulan gruptaki ratların hipokampal bölgeleri (şekil 2) karşılaştırıldı., Epileptik nöbet geçiren grubun (n:8) yaklaşık %50'sinde hem nöron dejenerasyonun şekillendiği, hem de nöron sayısının göreceli olarak azaldığı görüldü. Epilepsi grubu sadece nöron kaybı açısından değerlendirildiğinde ratların %60'ında nöron kaybının bulunduğu ve bu kaybın genelde hipokampusun CA3c bölgesinde (şekil 1a, şekil 2a), daha az olarak da CA3a (şekil 1b, şekil 2b) ve CA3b (şekil 1c, şekil 2c) bölgelerinde şekillendiği belirlendi. Nöron dejenerasyonunun ise epilepsi grubunun yaklaşık %60'ında gerçekleştiği ve özellikle CA3a (şekil 2b), CA3b (şekil 2c) ve CA3c (şekil 2a) bölgelerinde, daha az olarak da CA1 (şekil 1d, şekil 2d) bölgesinde meydana geldiği tespit edildi. Bu dejenerasyonun piknotik çekirdekli olduğu ve sitoplazmalarının homojen boyandığı (Nissle cisimlerinin sağlam nöronlardan farklı olarak ayrıntı

göstermediği) belirlendi. Hipokampusun CA2 ile CA4 bölgelerinde ve dentat girusun hilusunda herhangi bir değişiklik görülmedi.

## Tartışma

Bu çalışmanın sonuçları PTZ-kindling modelinde kindling oluşumundan sonra erken dönemde ratlarda emosyonel davranış değişiklikleri oluşurken, emosyonel öğrenmenin etkilenmediğini göstermektedir. Deneysel çalışmalarda öğrenme fonksiyonu 2 farklı paradigma olan şartlı korku ve Moris su labirenti kullanılarak yaygın olarak uygulanmaktadır. Şartlı korkuyu hayvan doğal, hoş gitmeyen zararlı bir uyarıcı ile bağlantılı olarak öğrenir. Moris su tankında ise spasiyal öğrenme test edilmektedir. Hayvan su dolu bir havuzda gizli olarak bulunan platformu çevrede bulunan görsel ipuçları yardımı ile bularak üzerine çıkmayı öğrenmektedir.<sup>42</sup> Emosyonel deneyimler sırasında oluşan hafıza, benzer durumlarda yeniden kullanılabilir şekilde depolanır. Uygun uyarıcı ile emosyonel yanıtın dışı vurumu emosyonel öğrenme ile bağlantılıdır. Korku şartlanması emosyonel hafıza ve öğrenmenin nöral temellerinin anlaşılmasında kullanılan güçlü bir süreçtir. Öğrenme hızla oluşur ve oluşan hafıza son derece kalıcıdır.<sup>43</sup>

Kainik asit, pilokarpin ve elektriksel amigdala kindling kullanılarak matür ratlarda oluşturulan temporal lob epilepsisinin hayvan modellerinde spasiyal öğrenme ve davranış değişikliklerine neden olduğu gösterilmiştir.<sup>12-15,44</sup> PTZ-kindling modelinde Moris su tankı kullanılarak yapılan çalışmalarda spasiyal öğrenme bozukluğu ve davranış değişikliklerinin oluştuğu gösterilmiştir.<sup>7</sup> Literatürde yapılan çalışmalarda spasiyal öğrenme ve davranış değişiklikleri incelenirken emosyonel öğrenme ile ilgili sınırlı sayıda veri bulunmaktadır. Yükseltmiş T-labirent testi aynı denekte şartlı ve şartsız emosyonlara bağlı gelişen öğrenme fonksiyonunu test etmekte kullanılan bir yöntemdir.<sup>28,30</sup> Bizim bulgularımız PTZ-kindling modelinde şartlı ve şartsız emosyonel öğrenmenin etkilenmediğini göstermektedir. Becker, PTZ-kindling sonrası iki yönlü aktif sakınmayı test ettiği çalışmada geç dönemde ve Rüttrich ise kindling sonrası erken dönemde öğrenmenin bozulduğunu bildirmiştir.<sup>45</sup> Ancak iki yönlü aktif sakınma testi Stephanicev ve arkadaşları tarafından spasiyal öğrenmeyi test eden bir yöntem olarak bildirilmiştir.<sup>46</sup> Çalışmamızda davranış değişikliklerini değerlendirmek için uyguladığımız

açık alan testinde deneklerde araştırma aktivitesinde azalma saptadık. Bu testte araştırma aktivitesindeki azalma anksiyete varlığına işaret etmektedir.<sup>27</sup> Franke ve arkadaşları PTZ-kindling modelinde benzer şekilde açık alanda araştırma aktivitesinin azaldığını ve anksiyeteye benzer bulguların varlığını bildirmiştir.<sup>27</sup> Biz PTZ ile oluşturulan status epileptikus modelinde açık alanda anksiyete işaret eden bulgular saptamıştık.<sup>47</sup> Mortavazi ve arkadaşları da PTZ-kindling sonrası açık alanda anksiyete ile uyumlu bulgular bildirmiştir.<sup>7</sup>

Çalışmamızda Kluver ve Barrera Luxol fast blue yöntemi ile yapılan histolojik değerlendirmede hipokampal CA3c bölgesinde belirgin olmak üzere CA3a ve CA3b bölgelerinde nöron kaybı saptadık. Ayrıca CA3a, CA3b, CA3c ve daha az oranda da CA1 bölgelerinde nöronal dejenerasyon saptadık. Hassan ve arkadaşları Timm boyama yöntemi ile PTZ-kindling sonrası CA3 bölgesinde mossy fiber sprouting (yosunsu liflerde filizlenme) olduğunu bildirmiştir.<sup>48</sup> Becker ve arkadaşları toluidin blue ile yaptıkları hipokampal incelemede CA1 bölgesinde nöron kaybı, Franke ve arkadaşları blue/acid fucsin boyamada CA4 ve CA1 bölgelerinde nöronal hasar göstermiştir, Farzad ve arkadaşları da cresyl violet ve Timm boyama yönteminde CA1de nöron kaybı ve dentat girusta mossy fiber sprouting saptamıştır.<sup>7,11,27</sup> Matür ratlarda PTZ-kindling modelinde hipokampal hasar ile birlikte kalıcı davranış değişiklikleri ve spasiyal öğrenme ve hafıza bozuklukları bildirilmiştir.<sup>9,11,27,34,36,49,50</sup> Bizim bulgularımız PTZ-kindlingin erken dönemde davranış değişikliklerine yol açarken, emosyonel öğrenme üzerinde etkisiz olduğunu göstermektedir. Histolojik incelemede açığa çıkan hipokampal nöronal hasarlar davranış değişiklikleri ile bağlantılı gözükmektedir. Klasik korkuya bağlı şartlanma ve bununla ilgili öğrenmede amigdalanın fonksiyonu olduğu bilinmektedir. PTZ-kindling modelinde emosyonel öğrenme fonksiyonunda amigdalanın histolojik incelenmesi ve kalıcı etkilerin anlaşılabilmesi için kindlingden sonraki geç dönemlerde de emosyonel öğrenme fonksiyonunu test eden araştırmaların yapılması gereklidir.

## Kaynaklar

1. Dodrill CB. Correlates of generalized tonic-clonic seizures with intellectual, neuropsychological, emotional, and social functions in patients with epilepsy. *Epilepsia* 1986; 27:399-411.
2. Dodrill CB. Neuropsychological effects of seizures. *Epilepsy Behav* 2004;5(suppl1):S21-4.

3. Levi R, Banks S, Berg B. Psychosocial dimensions of epilepsy: A review of literature. *Epilepsia* 1988;29:805-816.
4. Adamec RE. Does kindling model anything clinically relevant? *Biol Psychiatry* 1990;27:249-279.
5. Giovagnoli AR, Mascheroni S, Avanzini G. Self reporting of everyday memory in patients with epilepsy: relation to neuropsychological, clinical, pathological and treatment factors. *Epilepsy Res* 1997;28:119-128.
6. Depaulis A, Helfer V, Deransart C, Marescaux CH. Anxiogenic like consequences in animal models of complex partial seizures. *Neurosci Biobehav Rev* 1997;21:767-774.
7. Mortavazi F, Ericson M, Story D, Hulce V, Dunbar G. Spatial learning deficits and emotional impairments in pentylenetetrazole-kindled rats. *Epilepsy Behav* 2005;7:629-638.
8. Mason Cr, Cooper RM. A permanent change in convulsive threshold in normal and brain damaged rats with repeated small doses of pentylenetetrazol. *Epilepsia* 1972;13:663-674.
9. Becker A, Grecksch G, Rüttrich HL, Pohle W, Markx B, Matthies H. Kindling and its consequences on learning in rats. *Behavioral Neural Biology* 1992;57:37-43.
10. Lamberty Y, Klitgaard H. Consequences of pentylenetetrazole kindling on spatial memory and emotional responding in the rat. *Epilepsy Behav* 2000;1:256-261.
11. Becker A, Tiedge A, Grecksch G. Diazepam-its effects on the development of pentylenetetrazole kindling, related learning impairments, and neuronal cell loss. *Pharmacological Res* 1997;1:28-32.
12. Rice AC, Floyd CL, Lyeth BG, Hamm RJ, De Lorenzo RJ. Status epilepticus causes long-term NMDA receptor-dependent behavioral changes and cognitive deficits. *Epilepsia* 1998; 39: 1148-1157.
13. Holmes GL, Thompson JL, Marchi TA, Feldman DS. Behavioral effects of kainic acid administration on the immature brain. *Epilepsia* 1988;29: 721-730.
14. Thurber S, Chronopoulos A, Stafstrom CE, Holmes GL. Behavioral effects of continuous hippocampal stimulation in the developing rat. *Brain Res Dev Brain Res* 1992; 68:35-40.
15. Stafstrom CE, Chronopoulos A, Thurber S, Thompson JL, Holmes GL. Age-dependent cognitive and behavioral deficits after kainic acid seizures. *Epilepsia* 1993;34: 420-432.
16. Liu Z, Gatt A, Werner SJ, Mikati MA, Holmes GL. Long term behavioral deficits following pilocarpine seizures in immature rats. *Epilepsy Res.* 1994; 19:191-204.
17. Letty S, Lerner-Natoli M, Randouin G. Differential impairments of spatial memory and social behavior in two models of limbic epilepsy. *Epilepsia* 1995; 36: 973-982
18. Santos NF, Marques RH, Correia L. Multiple pilocarpine-induced status epilepticus in developing rats: a long-term behavioral and electrophysiological study. *Epilepsia* 2000;41 Suppl 6: S64-S69.
19. Kalynchuk LE. Long-term amygdala kindling in rats as a model for the study of interictal emotionality in temporal lobe epilepsy. *Neurosci Biobehav Rev* 2000;24:691-704.
20. Mikati MA, Tarif S, Lteif L, Jawad MA. Time sequence and types of memory deficits after experimental status epilepticus. *Epilepsy Res* 2001;43:97-101.
21. Balakrishnan S, Nidhi G, Pandhi, P. Effect of duration of pilocarpine-induced status epilepticus on subsequent cognitive function in rats. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 2001;23: 85-87.
22. Wu CL, Huang LT, Liou CW. Lithium-pilocarpine-induced status epilepticus in immature rats result in long-term deficits in spatial learning and hippocampal cell loss. *Neurosci Lett* 2001;312:113-117.
23. Haas KZ, Sperber E, Opanashuk LA, Stanton PK, Moshe SL. Resistance of immature hippocampus to morphologic and physiologic alterations following status epilepticus or kindling. *Hippocampus* 2001;11:615-625.
24. Dube C, da Silva Fernandes MJ, Nehlig A. Age-dependent consequences of seizures and the development of temporal lobe epilepsy in the rat. *Dev Neurosci* 2001;23:219-223.
25. Rutten A, Van Albada M, Silveira DC. Memory impairment following status epilepticus in immature rats: time-course and environmental effects. *Eur J Neurosci* 2002;16:501-513.
26. Velisek L, Kusa R, Kulovana M, Mares P. Excitatory amino acid antagonists and pentylenetetrazol-induced seizures during ontogenesis: I. The effects of 2-amino-7-phosphonoheptanoate. *Life Sci* 1990; 46:1349-1357.
27. Franke H, Kittner H. Morphological alterations of neurons and astrocytes and changes in emotional behavior in pentylenetetrazol-kindled rats. *Pharmacol Biochem Behav* 2001;70 :291-303.
28. Graeff FG, Viana MB, Tomaz C. The elevated T maze, a new experimental model of anxiety and memory: effect of diazepam. *Braz J Med Biol Res* 1993; 26:67-70.
29. Gargiulo PA, Viana MB, Graeff FG, Silva MA, Tomaz C. Effects of anxiety and memory of systemic and intra-amygdala injection of 5-HT3 receptor antagonist BRL 46470A. *Neuropsychobiology* 1996;33:189-195.
30. Conde CA, Costa V, Tomaz C. Measuring emotional memory in the elevated T-maze using a training-to criterion procedure. *Pharmacol Biochem Behav* 1999;63:63-69.
31. Tomaz C, Dickinson-Anson H, McGaugh JL, Souza-Silva MA, Viana MB Graeff FG. Localization in the amygdala of the amnesic action of diazepam on emotional memory. *Behav Brain Res* 1993; 58:99-105.
32. O'Keefe J, Nadel L. The hippocampus as a cognitive map , Clarendon Press, Oxford 1978.
33. Grecksch G, Becker A, Rauca C. Effect of age on pentylenetetrazol-kindling and kindling-induced impairments of learning performance. *Pharmacol Biochem Behav* 1997;56:595-601

34. Ateş N, Akman Ö, Karson A. The effects of the immature rat model of febrile seizures on the occurrence of later generalized tonic-clonic and absence epilepsy. *Dev Brain Res* 2005;154:137-140.
35. Conde C, Costa V, Tomaz C. Effects of emotional reactivity on inhibitory avoidance in the elevated T-maze. *Braz J Med Biol Res* 2000; 33:233-236.
36. Huang LT, Yang SN, Liou CW. Pentylentetrazol-induced recurrent seizures in rat pups: time course on spatial learning and long-term effects. *Epilepsia* 2002;43:567-573.
37. Volke V, Soosaar A, Koks S, Bourin M, Mannisto P, Vasar E. 7-Nitroindazole, a nitric oxide synthase inhibitor, has anxiolytic-like properties in exploratory models of anxiety. *Psychopharmacology* 1997;131:399-405.
38. Harro J, Haidkind R, Harro M. Chronic mild unpredictable stress after noradrenergic denervation: attenuation of behavioural and biochemical effects of DSP-4 treatment. *Eur Neuropsychopharmacol* 1999; 10:5-16.
39. Mehan A, Moran P, Elliot J, Young A, Joseph M, Green A. A study of the effect of a single neurotoxic dose of 3,4-methylenedioxyamphetamine (MDMA; 'ecstasy') on the subsequent long-term behaviour of rats in the plus maze and open field. *Psychopharmacology* 2002;159:167-175
40. Phillips K. Effects of time and administration of ethanol on open field behavior in hamsters. *Physiol Behav* 1982; 29:785-787.
41. Bancroft JD, Stevens A. *Theory and Practice of Histological Techniques*. Churchill Livingstone. Third Ed 1990; 356
42. Selcher JC, Atkins CM, Trzaskos JM, Paylor R, Sweatt J. A necessity for MAP kinase activation in mammalian spatial learning. *Learn Mem* 1999;6:478-490.
43. Rodrigues SM, Schafe GE, LeDoux JE. Molecular mechanisms underlying emotional learning and memory in the lateral amygdala. *Neuron* 2004;44:75-91.
44. Sarkisian MR, Tandon P, Liu Z. Multiple kainic acid seizures in the immature and adult brain: ictal manifestations and long-term effects on learning and memory. *Epilepsia* 1997;38:1157-1166.
45. Rüttrich H, Grecksch G, Krug M. Development of long-lasting potentiation effects in the dentate gyrus during pentylentetrazol-kindling. *Int J Devl Neuroscience* 2001;19:247-254.
46. Stepanichev M, Kudryashova I, Yakovlev A, Onufriev M, Khaspekov L, Lyzhin A, Lazereva N, Gulyaeva N. Central administration of a caspase inhibitor impairs shuttle-box performance in rats. *Neuroscience* 2005;136:579-591.
47. Erdoğan F, Gölgeci A, Arman F, Ersoy AÖ. The effects of pentylentetrazole-induced status epilepticus on behavior, emotional memory, and learnings in rats. *Epilepsy Behav* 2004;388-393.
48. Hassan H, Pohle W, Rüttrich H, Brödemann R, Krug M. Repeated long-term potentiation induces mossy fibre sprouting and changes the sensibility of hippocampal granule cells to subconvulsive doses of pentylentetrazol. *European J Neurosci* 2000;12:1509-1515.
49. Grecksch G, Becker A, Gadau C, Matthies H. Gangliosides improve a memory deficits in pentylentetrazol-kindled rats. *Pharmacol Biochem Behav* 1990;39:825-828.
50. Voigt JP, Morgenstern E. Pentylentetrazole kindling impairs learning in mice. *Biomed Biochim Acta* 1990;1:143-145.