
Deneysel Epilepsi Modelleri

Ertan Yurdakoş

İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı

SUMMARY

Animal Models for Human Seizure and Epileptic Disorders

A diversity of animal models are available for the study of epilepsy and these models have a proven history in advancing our understanding of basic mechanism underlying epileptogenesis and have been instrumental in the screening of novel antiepileptic drugs.

These models are for both partial and generalized seizures. There are chemical models such as application of inhibitory amino acid blockers or excitatory agents. Some animal models of epilepsy depends on electrical stimulation and there are some genetic models displaying either partial and generalized seizures.

Animal models of learning and memory

Various animal models have been developed to study the mechanisms of learning and different memory types. The types of memories studied in these models are the reference (spatial) memory, working memory and the emotional memory. Morris water maze, Radial maze and the Three-panel runway tests are the most frequently used tests to study the working and reference memory. In these tests, the main principle is to "teach" the experimental animal to find a goal. Porsolt's swimming test is used to study "learned helplessness" which can be taken as an emotional memory type.

Animal models of anxiety

Various test paradigms have been developed to assess behavioral parameters indicating anxiety in rodents. The animal models are based on the assumption that anxiety in animals is comparable to anxiety in humans. Although, as a matter of fact, it can not be proven that an animal experiences anxiety in the same way as a human being, it is undisputed that distinct behavioral patterns in rodents indicate anxiety, i.e. behavioral and peripheral changes presumed to accompany high sympathetic nervous activity. Thus, an analogy, if not a homology, between anxiety in humans and rodents may be assumed. Independent from the test setup used, species-specific behavioral expressions exist, which have been shown to be related to anxiety in rodents. Some of these behaviors are: Avoidance of unprotected areas, risk assessment, exploration, food intake inhibition, and social interaction. The most commonly used tests to study anxiety are the Openfield, Elevated plus maze and the Holeboard tests.

Epilepsi inmeden sonra en sık görülen nörolojik hastalıktır ve merkez sinir sisteminde kendi kendini sınırlayabilen aşırı elektriksel deşarjlarla karakterizedir. Epilepsiler parsiyel ve jeneralize olmak üzere iki alt grupta incelenir (1). Epilepsinin rasyonel bir tedavisi yoktur. Epilepside tedaviye yönelik ana amaç antikonvülzan ilaçlarla merkez sinir sisteminde epilepsiye neden olan anormal elektriksel deşarjların ortaya çıkmasının ve yayılmasının engellenmesidir. Epilepsi tedavisi için geliştirilen "aday" ilaçların insan üstündeki denemelerinde kısıtlamalar vardır. Bu da ilaç adayı kimyasal maddelerle yapılan faz "0" dönemi (klinik öncesi değerlendirme dönemi) çalışmalarının önemini arttırmaktadır. Bunun sonucu olarak deneysel epilepsi çalışmalarında bir çok hayvan modeli geliştirilmiştir.

Epilepsi çalışmalarında fare, sıçan, kedi, köpek ve baboonlar en çok tercih edilen hayvanlardır. In vivo hayvan modelleri nöbet modelleri ve epilepsi modelleri olarak kategorize edilmiştir. İnsanda epilepsi, kendiliğinden oluşan, mükerrer, çoklu nöbetlerin görülmesi olarak tanımlandığından, kronik epilepsi biçimindeki davranış olmaksızın yalnızca akut nöbet aktivitesini indüklemek, epilepsi değil nöbet modeli olarak düşünülür.

Hayvan modellerinin değeri türlü nedenler yüzünden zorlayıcı olagelmiştir. Birincisi, modellerin çoğu epileptik değil de normal beyinde gerçekleştirilen çalışmalara dayanarak epilepsi hakkında mekanistik vargılar ortaya koymaktadır. İkincisi, her bir modelle ilişkili davranışsal göstergeler farklılaşabilir ve hiç insan davranışı gibi görünmeyebilir. Örneğin, iktal, interiktal ve postiktal davranış farklı modeller arasında çeşitlilik gösterebilir ve nöbetle ilişkili davranış çok basitten had safhada karmaşığa kadar uzanabilir. Üçüncüsü, insan beyni hakkında bilgilenmemiz amacıyla çok çeşitli türlerin verileri toplanmıştır. Bir primattaki belirli hüresel mekanizmaların, nöbetin artış yolaklarının, veya davranışsal göstergelerin muhtemelen bir sıçan veya fareden daha karmaşık olduğundan şüphe etmek mantıksız değildir. Yukarıdaki konular düşünüldüğünde iyi bir epilepsi hayvan modelinin ölçütleri neleri karşılamalıdır? Epilepsi çalışmalarında kullanılacak ideal hayvan modelinin özelliklerini şöyle sıralayabiliriz (2):

- 1- İnsandaki epilepsiye benzer bir tablo sergilemeli
- 2- Deney hayvanında epilepsi biçiminde EEG aktivitesi ile ilişkili nöbetler gözlenmeli ve kayıt edilebilmeli
- 3- Tedaviye yanıt veren bir model olmalı
- 4- Spontan olarak ortaya çıkan ve tekrarlayan nöbetlerle karakterize olmalı.
- 5- Klinik hastalığa benzer bir başlangıç yaşına sahip olmalıdır.

Bu ölçütlere bütünü ile uyan ideal bir deney modeli yoktur.

Hayvan modellerinde kullanılan antiepileptik ilaçlar, çeşitli epilepsi tiplerinin fizyopatolojisine ve merkez sinir sisteminin işleyişine ait bilgiler de verir. Bu modellerden bazıları, akut epileptik koşullar oluşturarak nöbet fizyopatolojisine (iktogenez) ait bilgiler verirken, diğer bir kısım modeller ise epilepsinin yerleşme sürecini, yani epileptogeneze ait mekanizmaları anlamamıza yardımcı olmaktadır.

Deney hayvanlarında oluşturulan epileptik nöbetlerin şiddeti ve bu nöbetler üzerine ilaçların etkilerinin değerlendirilmesinde EEG en etkin ve güvenilir yöntem olmakla beraber, EEG kayıt olanağının bulunmadığı durumlarda kullanılabilir, epileptik nöbetin şiddetini ve özelliklerini saptamaya yönelik davranışsal değerlendirme yöntemleri de geliştirilmiştir. Bu değerlendirme, epileptik uyarının verilmesinden nöbetlerin ortaya çıkmasına kadar geçen zamanın saptanması ile başlar. Daha sonra oluşan nöbetler davranışsal düzeyde skorlanarak şiddeti saptanır. Örnek olarak pentilentetrazol (7 mg/kg) enjeksiyonu ile sıçanlarda ortaya çıkan epileptik nöbetlerin şiddeti için şöyle bir skorlama kullanılır.

1- Nöbet yok: 0 puan 2- Hafif seğirmeler, silkinmeler, sıçramalar: 1 puan 3- Belirgin sıçramalarla birlikte motor kayıp: 2 puan 4- Jeneralize myoklonik seğirmeler ile birlikte motor kayıp: 3 puan 5- Deneğin ayakları üzerinde iken tonik-klonik nöbet geçirmesi: 4 puan 6- Tonik-klonik nöbet ile birlikte doğrulma refleksinin kaybı: 5 puan 7- Status epileptikus: 6 puan (3).

Geliştirilen deneysel epilepsi modelleri, insandakine benzer şekilde, jeneralize ve parsiyel nöbet modelleri olmak üzere ikiye ayrılırlar.

Tablo 1. Deneysel epilepsi modelleri

1- Parsiyel Epilepsi Modelleri

- Akut fokal elektrik stimülasyonu
 - Topikal konvülzan ilaç uygulaması
- a) GABA Antagonistleri
- Pentilenetetrazol
 - Bikukulin
 - Pikrotoksin
- b) Glutamat Agonistleri
- NMDA
 - Kainik asit
- c) Asetilkolin Agonisti
- Pilocarpin
- d) Penisilin
- Metallerin topikal uygulanması Alüminyum, Kobalt, Çinko, Demir
 - Kindling Modelleri
- a) Elektriksel
- b) Kimyasal (Pentilenetetrazol ile)

2- Jeneralize Epilepsi Modelleri

- Maksimal elektroşok nöbetleri.
- Kimyasalkonvülzanlar:

- a) Glutamat agonistleri (maksimal doz) NMDA, kainik asit
b) GABA antagonistleri (maksimal doz) Pentilenetetrozol, Bikukulin, Pikrotoksin
c) Striknin

- Maksimal odiojenik nöbet
- Genetik Modeller:

a) Odiyojenik fare

b) Genetik olarak epilepsiye eğilimli fareler.

Daha geniş bilgi için: (2,10)

Sık kullanılan Epilepsi Modelleri:

1. Parsiyel Epilepsi Modelleri:

1- Kindling Modeli

Bu model, ilk kez Goddard ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilmiştir (4,5). Bu modelde merkez sinir sisteminin belli bölgelerine her gün bir kez uygulanan ve uyarı noktasında art deşarj oluşturan düşük şiddette subkonvulziv elektriksel uyarı ile hayvanda fokal başlayıp giderek jeneralize olan kalıcı bir epilepsi tablosu yerleştirmişlerdir. Goddard ve arkadaşları bu olayı peş peşe sürtmelerle bir ateş yakma işlemine benzeterek "kindling" (tutuşturma) terimi ile ifade etmişlerdir. Kindling modeli en fazla amigdala ve hipokampus uyarmaları ile gerçekleştirilir. Kindling çalışması yapılan tüm hayvan türlerinde (kurbağa, sürüngenler, sıçanlar, fare, tavşan, köpek, kedi, resus maymunları, baboonlar) bu model oluşturulmuştur (6).

Amigdalaya uygulanan stimülasyonla erişkin sıçanda kindling gelişme evreleri (7):

Evre	Belirtileri
0	Hareketliliğin durması, dona kalma
1	Çiğneme hareketleri, ritmik ağız ve yüz hareketi, bıyık titretme
2	Başın aşağı yukarı hareketleri, onaylama hareketi
3	Karşı taraf ön bacak klonusu
4	Şaha kalkma ve ön bacaklarda klonus
5	Yere düşme, jeneralize klonik kasılmalar

2- Temporal lop epilepsi Modelleri:

Bu model için sıklıkla glutamat agonisti kainik asit (8) ve kolinerjik agonist olan pilokarpin (9) kullanılır. Bu modellerde, intraperitoneal olarak sıçan ya da fareye uygulanan enjeksiyondan hemen sonra izlenen davranış değişiklikleri şunlardır:

Fasiyal otomatizm; çiğneme, göz kırpması, başla oynama hareketi, motor limbik nöbet; ön ekstremitte klonusu, salivasyon, arka ayaklar üzerinde geri gitme.

B) Jeneralize Epilepsi Modelleri:

- 1- Maksimal Elektroşok Modeli: Deney hayvanlarına bilateral kornea veya kulak elektrodları ile elektriksel uyarı verilerek tonik nöbet ortaya çıkması sağlanır (10).
- 2- Pentilenetetrozol (PTZ) Testi: GABA antagonisti olan PTZ fare ve sıçanlara intraperitoneal olarak verilmesi doza bağlı olarak lokal yada jeneralize epilepsi oluşturur. Ayrıca deney hayvanlarına PTZ'nin subkonvulziv olarak bir süre uygulanması ile kimyasal "kindling" modeli gerçekleştirilir (10).
- 3- Jeneralize Genetik Modeller:
 - a) Absans Modeli GAERS (Strasbourg Genetik Absans Epileptik Sıçanı): 1980'lerde, epilepsi üzerinde çalışan

Fransız araştırmacılar Vergnes ve Marescaux yetiştirdikleri kolonideki Wistar sıçanlarının yaklaşık %30'unda, bilateral ve tüm kortekste senkronize diken-dalga deşarjları olduğunu kaydetmişlerdir. Diken-dalga deşarjları sırasında sıçanlar hareketsiz durmaktaydılar. Bu epizotlar, insanlardaki jeneralize, konvulzif olmayan absans veya petit mal epilepsi nöbetlerine benzemektedir. Yine, bu hayvanların tamamında diken dalga deşarj izlenmediğinden, bunların sayısını diken-dalga deşarjları olanları seçip çiftleştirerek arttırmaya çalıştılar. Birkaç nesil sonra, tüm hayvanlarda diken-dalga deşarjlarının görüldüğü bir suş elde edilmiş oluyordu. Bu suşa "Genetic Absence Epileptic Rats from Strasbourg: Strasbourg-Genetik Absans Epilepsi Sıçanları" (GAERS) adı verildi (11,12). Günümüzde sıçanlar inbred hale getirilmişlerdir.

b) Tonik-Klonik Nöbet Modeli GEPR (Genetik Olarak Epilepsiye Yatkın Sıçanlar): Etkili uyaran ani, gürültülü seslerdir. Koşma şeklindeki kompleks davranışı klonik ve tonik dönem izler.

Öğrenme ve Bellek Modelleri

Bellek çalışmalarında deney hayvanlarında üç bellek tipinin işlev görmekte olduğu öne sürülmektedir; çalışma belleği (working memory), referans belleği (uzamsal bellek, spatial memory) ve emosyonel bellek. Çalışma belleği, hayvanların ardışık deney seanslarının hepsinde değil, yalnızca birinde kullanabileceği bilgileri hatırlaması olarak tarif edilirken referans belleği ise tüm ardışık seanslarda içine yarayacak olan bilgiyi belleğinde tutması olarak tarif edilir (13,14). Bilindiği gibi bu iki farklı bellek tipi de hipokampus işlevidir.

Deney hayvanlarında işlev gören üçüncü bellek şekliyse amigdala çekirdeğinin sorumlu olduğu emosyonel bellektir.

Çalışma ve Referans Bellek Modelleri:

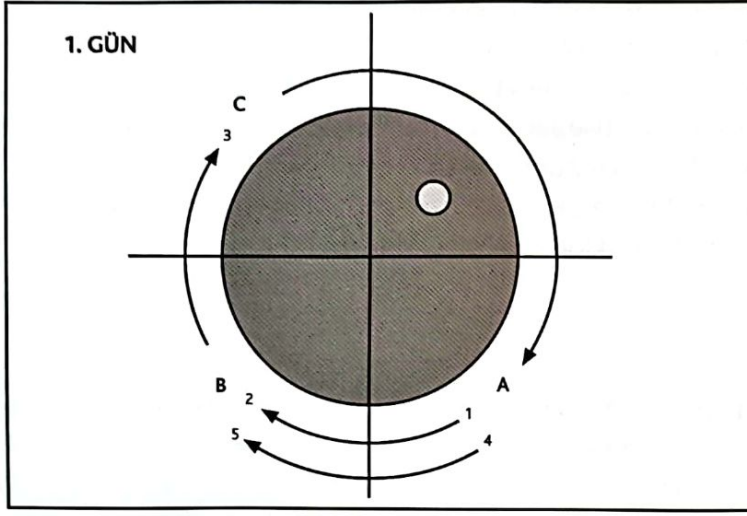
Farklı araştırmacılar tarafından geliştirilmiş çok sayıda model vardır. Her bir modelin diğerlerine göre farklı avantaj ve dezavantajları vardır. Aşağıda son yıllarda en sık kullanılan çalışma ve referans belleği modellerinden bahsedilmektedir.

1.Morris Su Labirenti Testi:

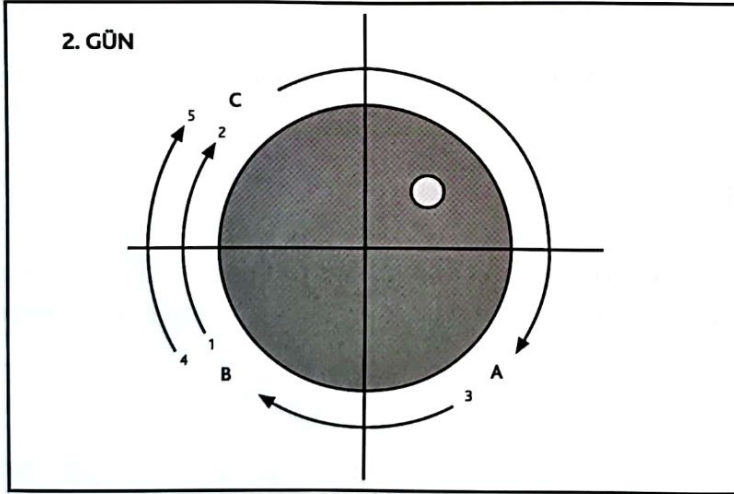
Roger Morris tarafından geliştirilen bu deney modeli, kolaylığı nedeniyle günümüzde öğrenme ve bellek çalışmalarında çok yaygın biçimde kullanılmaktadır (15).

Pleksiglastan yapılmış silindir şeklinde, çapı 150 cm, derinliği 60 cm olan havuz kullanılır. Havuzun içi 25 cm.ye kadar su ile doldurulur. Suyun sıcaklığı 23OC'de sabit tutulur. Havuz dört kadrana bölünür, rastgele seçilen bir kadranın içinde 23 cm. yüksekliğinde ve 15 cm. çapında pleksiglastan yapılmış silindir bir platform bulunur. Havuzun dibinde bulunan siyah örtü hayvanın rahatça görülebilmesini sağlar. Odaya, hayvanın platformu bulurken yararlanacağı bir takım ipuçları konur. Uzamsal bellek test edilirken; sıçan, platformun bulunduğu kadrana hariç tutularak, diğer kadrandaki 3 noktadan yüzü havuzun duvarına dönük biçimde sırayla suya bırakılır. Bu sıra her gün farklı bir dizgeyi izlemektedir. Sıçanın ödevi çeşitli ipuçlarını kullanarak gizli platformu bulmaktır. Platformu bulana kadar geçen süre kaydedilir. Eğer sıçan 60 saniye içinde platformu bulamamışsa deneyi uygulayan tarafından platforma çıkarılır. Sıçan, platformda 15 saniye bekledikten sonra kafesine alınır. Bu işlem her hayvan için günde 5 deneme olmak üzere 3 ardışık gün boyunca yapılır (şekil 1,2,3). Denemeler süresince hayvanların platformu bulma süreleri kısalır, bu da uzamsal ödevi öğrendiklerine işarettir. Çalışma belleği test edilirken; gün içindeki denemelerde platformun bulunduğu kadrana sabit tutulurken, bir sonraki gün platformun bulunduğu kadrana değiştirilir (16).

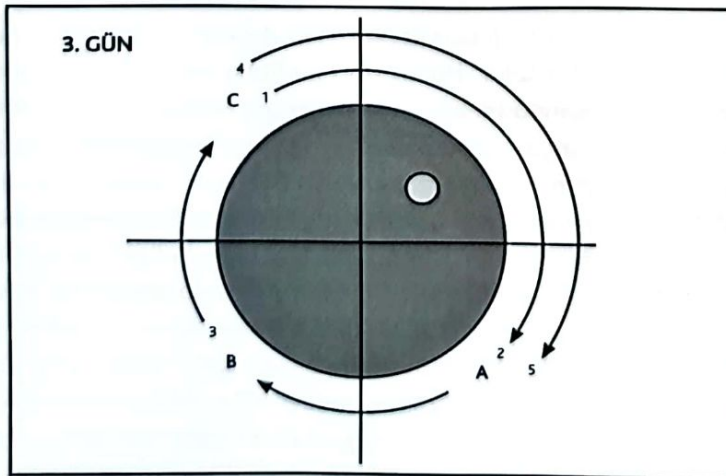
2.Üç Panelli Kaçış Yolu Testi



Şekil 1. Morris Su Labirenti Testi 1. gün.



Şekil 2. Morris Su Labirenti Testi 2. gün.



Şekil 3. Morris Su Labirenti Testi 3. gün.

Furuya ve arkadaşları tarafından geliştirilen üç panelli kaçış yolu testi sıçanlarda gerek bellek ve öğrenme süreçlerini araştırmak ve gerekse bellek sürecini çalışma ve referans bellekleri biçiminde ayrı ayrı ele alabilmek adına kullanışlı bir model teşkil etmektedir (17).

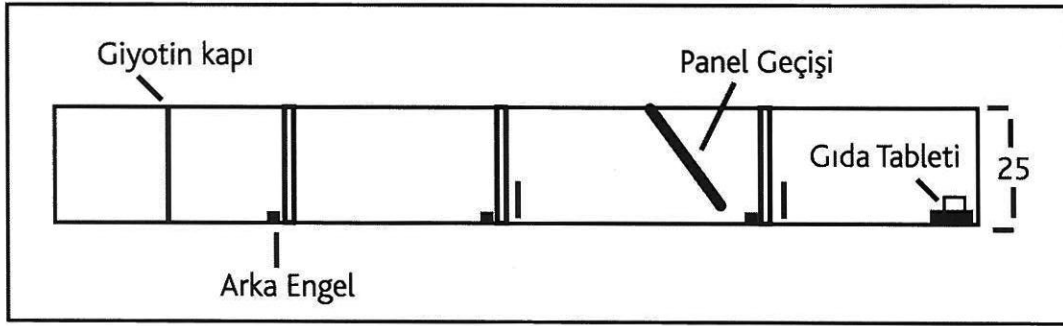
Deneklerin Hazırlanması:

Üç panelli kaçış yolu testi prosedüründe ödül olarak kullanılan 50mg yada 100mg'lık gıda tabletinin ödül niteliğine sahip olması amacıyla bu teste tabi tutulacak bir denek süreç başlamadan önce gıda kısıtlamasına tabi tutulup ağırlığının %20 kadarını kaybetmesi sağlanır.

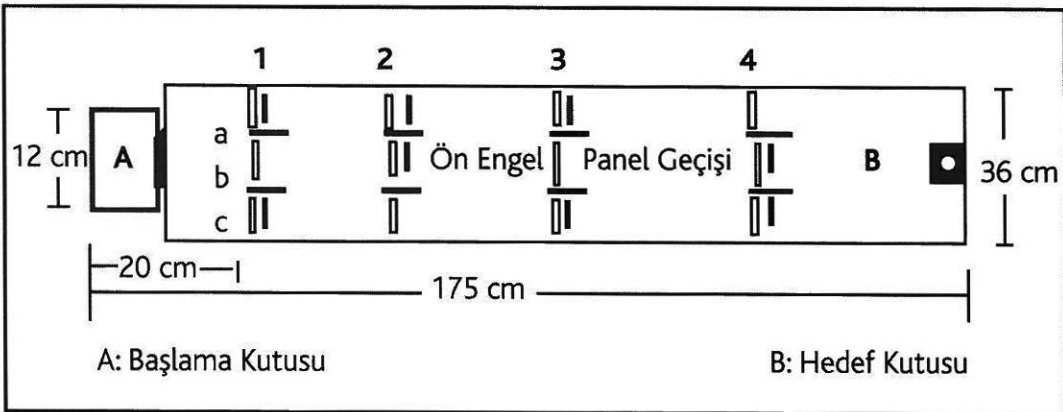
Testin Yapısı:

Üç panelli kaçış yolu testi bir adet başlama kutusu, bir adet hedef kutusu ve 4 ardışık seçiş noktasından oluşur. Her bir seçim noktasında üç adet panel vardır (Şekil4). Seçim noktalarının her birinde hayvanın geçmesi gereken dışındaki iki geçit, panel geçiş noktalarında bulunan ön ve arka engeller tarafından kapalı tutulur (Şekil 5)

Şekil 4. Testin yan kesiti ve ölçüleri



Şekil 5. Testin üstten kesiti ve ölçüleri



Öğrenme ve Deneklerin Seçimi Aşaması:

Bu aşamada, her üç panel geçidini de kullanabilmelerini sağlamak üzere tüm ön engeller kaldırılarak, denekler 20 saniye içinde başlama kutusundan hedef kutusuna koşmaları için eğitilir. Ertesi günden itibaren başlayarak

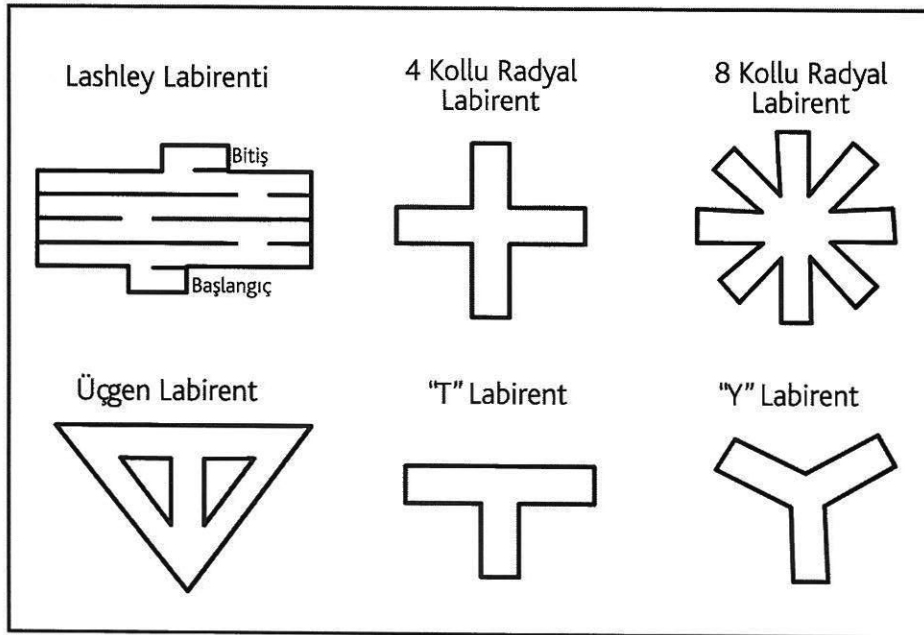
denekler her bir seçiş noktasındaki üç panel geçidinden yalnızca birinden geçmek şartıyla iki dakika arayla yapılan 6 ardışık denemeye tabi tutulurlar. Bu 6 denemenin tümü, birlikte, bir "oturumu" (başka bir ifadeyle bir "seansı") oluşturur.

Referans belleği test edilirken; doğru panel geçidi sıralaması tüm oturumlar boyunca aynı kalır. Çalışma belleği test edilirken ise; doğru panel geçidi sıralaması her bir denek için oturum içinde değişmez fakat oturumlar arasında değişmektedir. Altı denemenin her birinde başlama kutusundan hedef kutusuna ulaşmak için geçen süre, hedef kutusunda gıda tabletini alması için geçen süre, yanlış panel geçitlerine çarpmak gibi hatalar kaydedilir. Her bir deneğin toplam hata sayısı ve gecikme zamanı 6 ardışık denemenin toplamı olarak kaydedilir. Ardışık olarak yapılan 3 oturumdaki ortalama hata sayısı 12'den az olanlar gerekli ölçütleri yerine getirmiş olarak kabul edilip ilgili test aşamasına geçerler.

3. Radyal Labirent testleri

Çeşitli araştırmacılar tarafından farklı tiplerde radyal labirent testleri geliştirilmiştir. Bugün öğrenme ve bellek çalışmalarında en fazla kullanılan radyal labirent testi Olton tarafından geliştirilen 8 kollu radyal labirent testidir (18).

Bu deneyde, ahşaptan yada pleksiglastan yapılmış, sekizgen şeklinde merkezi bir platform (37 cm çap) ve ona 45'er derecelik eşit açılarla bağlı, üstü açık sekiz kapalı koldan (genişlik 8, uzunluk 75, yükseklik 30 cm) oluşan bir labirent kullanılır. Test, vücut ağırlıkları başlangıç değerinin %80'ine indirilmiş sıçanların, düzenek kollarının uç kısımlarında gizlenmiş yem parçalarını bulmaları esasına dayanmaktadır.



İlk iki gün beşer dakika labirentte bırakılan hayvanların ortama alışmaları sağlanır. Üçüncü günden itibaren beş gün boyunca, rastgele seçilmiş dört kola yiyecek konularak bu kollar açık tutulur; diğer dört kol ise kapatılır. Merkezi kola bırakılan sıçanlardan kollarındaki yemleri bulmaları beklenir. Test, deneğin dört koldaki yiyeceği

bulması ya da 10 dakikalık sürenin tamamlanması ile sonlandırılır. Sekizinci günden itibaren, kapalı tutulan diğer dört kol da açılır; ancak bu kollara yem konmaz. Testlerin bu aşamasında, sıçanlar merkezi platforma konularak, giriş yaptıkları kollar ve test süresi kaydedilir. Hayvanlar, üç gün üst üste, ilk dört girişin üçü doğru olana kadar eğitilir. Bu ölçütleri 15. gün sonunda sağlayamamış sıçanlar ise çalışma dışı bırakılır.

Yem konulmuş kola ikinci kez giriş çalışma belleği hatası; yiyecek konmamış kola ilk giriş, referans belleği hatası; ikinci giriş hem çalışma, hem de referans belleği hatası olarak kabul edilir. Ayrıca testi tamamlama süresi (dört koldaki yiyeceği bulma süresi) ölçülür.

4. Emosyonel öğrenme ve bellek modeli: Porsolt Zorlamalı Yüzme Testi

Porsolt, R.D. sıçanlarda zorlamalı yüzme testinde görülen tipik immobilizasyonun bir "çaresizlik" durumu yansıttığını ileri sürmüştür. Bu immobilizasyon süresinin çeşitli antidepresan ajanlarla kıaldığını gösteren Porsolt, R.D., zorlamalı yüzme testini deneysel depresyon modeli olarak önermiştir (19).

Daha sonra bu deney modeli ile yapılan çalışmalarda, sıçanlarda zorunlu yüzme testinde immobil kalma süresinin antidepresan özelliği olmayan ajanlarla da değiştiği gösterilmiştir (20).

Sonuçta bugün kabul gören görüşe göre; öğrenilmiş çaresizlik modeli olarak kabul edilen zorlamalı yüzme testinde, deney hayvanları suya batmamak için immobilizasyon davranışı geliştirirler. Immobilizasyon davranışının gelişimi ve emosyonel öğrenme süreci ise birbiri ile yakından ilişkilidir (20,21,22).

Porsolt yüzme testi 30 cm çapında, 45 cm yüksekliğinde pleksiglas malzemedan yapılmış silindirik bir kaba 15 cm yüksekliğe kadar 25°C sıcaklığında su doldurularak yapılır. Sıçanlar 24 saat ara ile iki kez kaba konulup 10 dakika boyunca teste tabi tutulur.

İlk kez suya konulan deney hayvanı ortamdaki kurtulmak için çabalar ve özellikle deney süresinin sonlarına doğru immobil kalmaya başlar. Test, 24 saat sonra tekrar edilince öğrenilmiş çaresizliğe giren deney hayvanlarının çabalama süreleri kısalırken, immobil kalma süreleri ise uzar.

Immobilizasyon süresi; sıçanın kulakları dahil su altında hareketsiz kalarak geçirdiği süredir. Çabalama süresi; sıçanın sıçrayarak kurtulmaya çalıştığı ve dalarak su altında çıkış aramakla geçirdiği zamandır.

Deneysel Davranış Modelleri

Kemirgenler, özellikle sıçanlar için çeşitli deneysel davranış modelleri geliştirilmiştir. Bu modeller kemirgenlerdeki bir takım davranış özelliklerine dayanır; kemirgenler konuldukları yeni ortamda hemen ortamı tanımaya, "keşfetmeye" (exploration) yönelik hareketlere girerler. Yabancı ortamı "tanıdıktan" sonra, bu yeni ortamda kendilerini daha güvende hissettikleri karanlık, kapalı yerlere geçerler ve çevreye tam alışana kadar aralıklı olarak kısa süreli gezilere çıkarlar.

Sıçanlarda emosyonel aktiviteyi ölçmek için geliştirilen deneysel modellerde hayvanların konuldukları yeni ortamı tanımak için dolaştıkları sürenin kısalması, çevreyi tanımak için şahlanarak etrafa bakma sayılarının azalması ve hareketsiz kaldıkları sürenin uzaması sıçanlarda anksiyete belirtisi olarak kabul edilir (23,24,25,26,27,28,29).

1- Açık Alan Testi

Hall tarafından geliştirilen bu test, yan duvarları 90x90 cm, yüksekliği 27 cm olan, 64 eşit kareye bölünmüş üstü açık bir ortamda gerçekleştirilir (23).

Bu testte sıçanların çevreyi araştırmaları (dolaşılan kare sayısı), immobilizasyon (donup kalma) süresi, şahlanma sayısı 6-10 dakika boyunca takip edilir.

Çevreyi araştırmaları; 64 eşit parçaya bölünmüş alanda, içinden geçtikleri kareler 6-10 dakika boyunca sayılarak tespit edilir. Dolaşılan kare sayısı çevreyi araştırıcılığın ölçüsü olarak değerlendirilir.

Immobilizasyon; sıçanın hiç bir hareket yapmadan donup kaldığı, çevresi ile ilişkisini kestiği durumdur. Immobilizasyon süresi bir kronometre ile 6-10 dakika boyunca ölçülür.

Şahlanma; sıçanların ön pençelerini kaldırıp, arka bacakları üzerinde durdukları pozisyonudur. Çevreyi araştırmanın belirtisi olarak kabul edilir. Şahlanma sayısı 6-10 dakika boyunca sayılarak saptanır.

Açık alan testi uygulanan sıçanlarda dolaşılan kare sayısındaki azalma, immobilizasyon süresindeki uzama, şahlanma sayısındaki azalma anksiyete belirtisi olarak kabul edilir (24,25).

2- Yükseltilmiş + Testi

Pellow ve arkadaşları tarafından geliştirilen yükseltilmiş + testi; + şeklinde yerden 50 cm yükseklikte, 50x10 cm ölçülerinde 2 açık 2 kapalı koldan oluşur (26).

Deney hayvanlarının açık ve kapalı kollara giriş sayısı ve girdikleri kollarda kalma süreleri ile kapalı kollardaki şahlanma sayıları 5 dakika boyunca takip edilir.

Açık kola giriş sayısındaki azalma, açık kolda kalma süresindeki kısalma, kapalı kola giriş sayısındaki azalma ile kapalı kolda kalma süresindeki uzama ve deney süresinde şahlanma sayısındaki azalma anksiyete belirtisi olarak kabul edilir (27,28).

3- Holeboard Testi

Holeboard testi; yan kenarları 47 cm yükseklikte, 66x56 cm ölçülerinde ve tabanında 3.8 cm çapında 16 delik bulunan üstü açık tahta kutuda gerçekleştirilir. Bu testte sıçanların 5 dakika boyunca deliklerin içine bakma sayısı, immobilizasyon süresi, şahlanma sayısı takip edilir.

Deliklerin içine bakma ölçütü olarak; sıçanın deliklere göz hizasına kadar kafasını sokup deliğin içini araştırması alınır. Çevreyi araştırıcılığın belirtisi olarak kabul edilir.

Deliklere bakma sayısındaki azalma, immobilizasyon süresindeki uzama ile şahlanma sayısındaki azalma anksiyete belirtisi olarak kabul edilir (29).

Holeboard testi ve açık alan testinin beraber incelenmesiyle, açık alan testinde dolaşılan kare sayısındaki artma

veya azalmanın lokomotor aktiviteye mi araştırma davranışına mı bağlı olduğu daha hassas biçimde değerlendirilebilir.

KAYNAKLAR

1. Scheuer, M.L., Pedley, T.A.:The evaluation and treatment of seizures. *New Engl J Med.* 323:1468-1474, 1990.
2. Sarkisian, M.: Overview of the current animal models for human seizure and epileptic disorders. *Epilepsy and Behaviour* 2: 201-216, 2001.
3. Asanuma, M., Ogawa, N., Nishibayashi, S.: Effects of repeated injection of cyclosporin A pentilentetrazol-induced convulsion and cyclophilin mRNA levels rat brain. *Neurochem Res* 20:101-105, 1995.
4. Goddard, G.V.:Development of epileptic seizures through brain stimulation at low intensity. *Nature* : 214:1020-3, 1967.
5. Goddard, G.V.:A permanent change in brain function resulting from daily electrical stimulation. *Exp Neurol* 25:295-330, 1960.
6. McNamara, J.O., Wada, J.A.:Kindling model. In: Engel J. Pedley T. Editors. *Epilepsy: a comprehensive textbook.* Philedelphia Lippincott-Raven Pres:419-425, 1997.
7. Racine, R.J.: Modification of seizure activity by electrical stimulation. II. Motor seizures. *Electroencephalogr. Clin Neurophysiol* 32:281-94, 1972.
8. Nadler, V.:Kainic acid as a tool for the study of temporal lobe epilepsy. *Life Sci.* :29:2031-42, 1981.
9. Cavaleiro, E.A.:The pilocarpine model of epilepsy. *Ital J Neurol Sci.* 16:33-7, 1995
10. Fisher, R.S.: Animal models of the epilepsies. *Brain Res Rev.*14:245-278,1989.
11. Puranam, R.S., McNamara, J.O.:Seizure disorders in mutant mice: relevance to human epilepsies. *Curr Opin Neurobiol.*9:281-7, 1999.
12. Prasad, A.N., Prasad, C., Stafstrom, C.E.: Recent advances in the genetics of epilepsy: insights from human and animal studies. *Epilepsia* 40:1329-52, 1999.
13. Hooge, R., Deyn, P.: Application of the Morris water maze in the study of learning and memory. *Brain Research Reviews* 36: 60-90, 2001.
14. Jonasson, Z.:Meta-analysis of sex differences in rodent models of learning and memory: a review of behavioral and biological data. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews.* 28 (8):811-825, 2005.
15. Morris, R.:Spatial localization does not require the presence of local clues. *Learn Motiv.*12: 270-280, 1981.
16. Streck, E.L., Bavaresco, C.S., Netto, C.A.:Chronic hyperhomocysteinemia provokes a memory deficit in rats in the Morris water maze task. *Behavioural Brain Research,* 153 (2): 377-381, 2004.
17. Furuya, Y., Yamamoto, T.:A new method for studying working memory by using the three-panel runway apparatus in rats. *Japan J. Pharmacol.* 46: 183-188, 1988.
18. Olton, D., Samuelson, R.:Remembrance of places past:spatial memory in rats. *Exp.Psych. Animal Behav. Processes.* 2: 97-116, 1976.
19. Porsolt, R.D., Le Pichon, M., Jalfre, M.: Depression :A new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature* 266:730-732, 1977.
20. Schechter, M.D. and Chance, W.T.:Non-specificity of "behavioral despair" as an animal model of depression. *Eur J Pharmacol* 60: 139-142, 1979.
21. Nishimura, H., Tsuda, A., Oguchi, M. Y.: Is immobility of rats in the forced swim test "behavioral despair?". *Physiol Behav* 42(1) 93-95, 1988.
22. Naudon, L. Jay, M.:Opposite behaviours in the forced swimming test are linked to differences in spatial working memory performances in the rat. *Neuroscience* 130: 285-293, 2005.
23. Hall, S.C.: Emotional behaviour in the rat; the relationship between emotionality and ambulatory activity. *J.Comp.Physiol.Psychol.* 22:345-352, 1936.
24. Carli, M., Prontera, C., Samanin, R.: Effect of 5-HT1A agonists on stress-induced deficit in the open-field locomotor activity of rats: evidence that this model identifies anxiolytic activity. *Neuropharmacology* 28: 471-476, 1989.
25. Itoh, S., Takashima, A., Itoh, T., Morimoto, T.: Open-field behavior of rats following intracerebroventricular administration of neuromedin B, neuromedin C, and related amphibian peptides. *Jpn. J. Physiol.:* 44(3): 271-281, 1994.
26. Pellow, S., Chopin, P., File, S.E., Briley, M.: Validation of open: closed arm entries in the elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J. Neurosci Methods* 14: 149-167,1985.
27. Gonzalez, L.E. and File, S.E.: A five minute experience in the elevated plus-maze alters the state of the benzodiazepine receptor in the dorsal raphe nucleus. *J. Neurosci.* 17: 1505-1511, 1997.
28. Maissonette, S., Morato, S. and Brandao, M.L.: Role of resocialization and of 5-HT1A receptor activation on the anxiogenic effects induced by isolation in the elevated plus-maze test. *Physiology and Behavior:* Vol. 54, pp. 753-758, 1993.
29. Johnston, A.L., Baldwin, H.E., File, S.E.: Measures of anxiety and stress in the rat following chronic treatment with yohimbine. *J Psychopharmacol* 2: 33-38, 1988.