

# Odyojenik Epilepsiye Yatkın Wistar Sıçanlarda Süperiyor Kollikulusun Stereolojik Metotla Değerlendirilmesi

## Assesment of Superior Colliculus With a Stereological Method in Audiogenic Epilepsy-Prone Wistar Rats

Seval KELOĞLAN,<sup>1</sup> Niyazi TAŞÇI,<sup>2</sup> Süleyman KAPLAN,<sup>3</sup> Cafer MARANGOZ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Amasya Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu, Hemşirelik Bölümü, Amasya

<sup>2</sup>Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Samsun

<sup>3</sup>Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Samsun



Dr. Seval KELOĞLAN

### Özet

**Amaç:** Odyojenik nöbet beyin sapından kaynaklanır ve odyojenik nöbet ağında inferior ve süperiyor kollikuluslar rol alır. Sunulan çalışmada amacımız genetik olarak odyojenik epilepsiye yatkın Wistar sıçanların sağ ve sol süperiyor kollikulusda bulunan toplam nöron sayısının stereolojik metot ile bulunmasıdır.

**Gereç ve Yöntem:** Ağırlıkları 180–220 gr olan on dişi Wistar sıçan kontrol (n=5) ve epilepsi (n=5) olmak üzere iki gruba ayrıldılar. Sıçanların hepsi uretan (1.25 g/kg; i.p) ile anesteziye alındılar ve sol kardiyak ventrikülden %10'luk formalin ile perfüze edildiler. Sağ ve sol süperiyor kollikulusda bulunan toplam nöron sayısı stereolojik optik parçalama metodu kullanılarak hesaplandı.

**Bulgular:** Toplam nöron sayısı epilepsi sağ grubunda kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde daha az bulundu (p<0.05). Epilepsi sağ ve epilepsi sol grupları arasında da toplam nöron sayısında anlamlı fark bulundu (p<0.05).

**Sonuç:** Odyojenik epilepside hücrel mekanizmalar önemli rol oynamaktadır. Sağ süperiyor kollikulusda nöron sayısının kontrole göre anlamlı ölçüde az olması, nöbet aktivitesinin başlamasında bu alanın etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar sözcükler: Epilepsi; odyojenik nöbet; stereolojik metot; süperiyor kollikulus.

### Summary

**Objectives:** Audiogenic seizures are generated in the brainstem and involve inferior and superior colliculi in their expression. The aim of the present study was to assess total number of neurons in the right and left superior colliculi in genetically audiogenic epilepsy-prone Wistar rats using stereological method.

**Methods:** Ten female Wistar rats, weighing 180 to 220 g each, were divided into 2 groups: control (n=5) and audiogenic epilepsy (n=5) groups. Subjects were anesthetized with urethane (1.25 g/kg; intraperitoneal) and perfused through the left cardiac ventricle with 10% formalin. Total number of neurons was estimated in the right and left superior colliculi in both groups using Optical Fractionator stereological method.

**Results:** Total number of neurons in the superior colliculi was statistically lower in the right side of group with epilepsy compared with control group (p<0.05). There was significant difference between right and left sides in groups with epilepsy (p<0.05).

**Conclusion:** It has been determined that cellular mechanisms have significant role in audiogenic epilepsy. The fact that number of neurons was significantly less in right superior colliculus of epilepsy group compared with control group suggests that this area is likely to be influential in triggering onset of seizure activity.

Keywords: Epilepsy; audiogenic seizure; stereological method; superior colliculus.

**Geliş (Submitted):** 03.08.2016

**Kabul (Accepted):** 13.12.2016

**İletişim (Correspondence):** Dr. Seval KELOĞLAN

**e-posta (e-mail):** sevallkeloglan@hotmail.com



## Giriş

Jeneralize tonik klonik nöbetin hayvan modeli olarak odyojenik nöbet, yüksek şiddetteki (110dB) ses uyararı ile ya da yaşamın erken döneminde şiddetli ses uyararına maruz bırakılan sıçan ve fare gruplarında meydana gelir.<sup>[1]</sup> Odyojenik nöbette beyin sapı yapıları aktivasyon gösterir ve başlangıç aktivitesi inferiyor kollikulusta gerçekleşir.<sup>[2]</sup> Odyojenik nöbetin işleyişinde başlıca kohlear nukleus, lateral lemnisküs, inferiyor kollikulus, süperiyor kollikulusun derin tabakası, ponsun retiküler formasyonu (PRF), periaquaduktal gri madde (PAG) görev yapmaktır ve nöbet ağının önemli parçalarını oluşturmaktadırlar.<sup>[3,4]</sup>

Odyojenik nöbet vahşi koşu, klonus, tonus olmak üzere üç davranışsal faza ayrılır ve bu davranışsal fazlardan sonra, karakteristik post-iktal davranışlar meydana gelebilir. Odyojenik nöbette ortaya çıkan her bir konvulsiyon davranışında, beyin sapında bulunan bir nükleusun baskın rol oynadığı ileri sürülmektedir.<sup>[5]</sup> Odyojenik nöbetin klonik-tonik fazında PAG ve PRF, vahşi koşu davranışında süperiyor kollikulusun derin tabakası, post-iktal depresyon döneminde PRF baskın rol oynar.<sup>[6]</sup>

Literatürde süperiyor kollikulus ile odyojenik nöbet arasında bir ilişki olduğunu gösteren çok sayıda çalışma bulunmaktadır.<sup>[7,8]</sup> Elektrofizyoloji çalışmalarında vahşi koşu davranışının başlamasından 1–2 sn önce süperiyor kollikulusun derin tabaka nöronlarının patlama şeklinde deşarj yaptığı tespit edilmiştir.<sup>[5,9]</sup> Süperiyor kollikulusun derin tabakalarının kimyasal ya da elektrikle uyarılması ile vahşi koşu davranışı başlamakta ve vahşi koşu davranışının başlaması için gerekli uyarın şiddeti süperiyor kollikulusun derin tabakalarında inferiyor kollikulusa göre daha düşük olmaktadır.<sup>[5,10]</sup> Yine süperiyor kollikulusta oluşturulan lezyon genetik olarak epilepsiye yatkın sıçanlarda odyojenik nöbetin şiddetini baskılamaktadır.<sup>[4]</sup> Ayrıca GABA<sub>A</sub> agonisti muskimol ve antagonisti bikukullin ile Wistar odyojenik sıçanlarda yapılan çalışmada süperiyor kollikulusun derin tabakalarına ait posterior bölümünün prokonvulsan etki gösterdiği tespit edilmiştir.<sup>[11]</sup> Genetik yatkınlığı olan Wistar sıçanlarda odyojenik nöbet ile süperiyor kollikulus arasındaki ilişkiyi gösteren çok sayıda çalışmaya rağmen nöron sayısı açısından süperiyor kollikulusta bir farklılık olup olmadığını stereolojik metot ile araştıran çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışmada amacımız, odyojenik epilepsiye yatkın olduk-

ları bilinen Wistar sıçanlarda, odyojenik nöbet ağının önemli yapılarından olan, sağ ve sol süperiyor kollikulustaki toplam nöron sayısının bulunmasıdır.

## Gereç ve Yöntem

Çalışmamızda, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi'nden alınan genetik olarak odyojenik epilepsiye yatkın Wistar sıçanlar kullanıldı. Deney hayvanlarına yapılan bütün uygulamalar etik ilkelere uygun olarak gerçekleştirildi. Sıçanların bakımları 20±2 °C'de ısı, 12 saat aydınlık-karanlık ortamda istedikleri kadar yem ve su alabilecekleri şekilde sağlandı.

Odyojenik nöbet testi için sıçanlar 40x40x40 cm ebatlara sahip pleksiglas malzemedendirilmiş bir kafes içerisine konularak 90 sn boyunca 110–120 dB ses uyararına maruz bırakıldılar. Dijital kronometre yardımıyla hayvanların 1. vahşi koşu başlangıç-bitiş, 2. vahşi koşu başlangıç-bitiş ve tonik-klonik nöbete başlama zamanları kaydedildi. Konvulsiyon davranışları önceden tanımlanan metoda uygun olarak sınıflandırıldı.<sup>[12]</sup>

Ağırlıkları 180–220 gr olan beş dişi Wistar sıçan kontrol (n=5), odyojenik nöbet testini geçen beş dişi Wistar sıçan ise epilepsi (n=5) grubu olmak üzere iki grup oluşturuldu. Sıçanların hepsi üretan (1.25 g/kg; i.p) ile anesteziyeye alındılar ve sol kardiyak ventrikülden %10'luk formalin ile perfüze edildiler. Perfüzyonun bitiminden hemen sonra hayvanlar dekapite edildi ve beyinleri %10'luk formol içeren özel şişelere konuldu. Beyin dokuları standart histolojik doku takip işlemleri sonunda Paraplast (SIGMA) gömme ortamı kullanılarak bloklandı. Bloklanmış dokular daha sonra rotary mikrotom (Lipshaw çarklı) üzerine usulüne uygun bir şekilde yerleştirildi. 40 µm kalınlığında sagittal düzlemde alınan kesitler krezil violet ile boyama işlemi bitiminde entellan (SIGMA) kullanılarak lamel ile kapatıldı ve kurumaya terk edildi.<sup>[13]</sup>

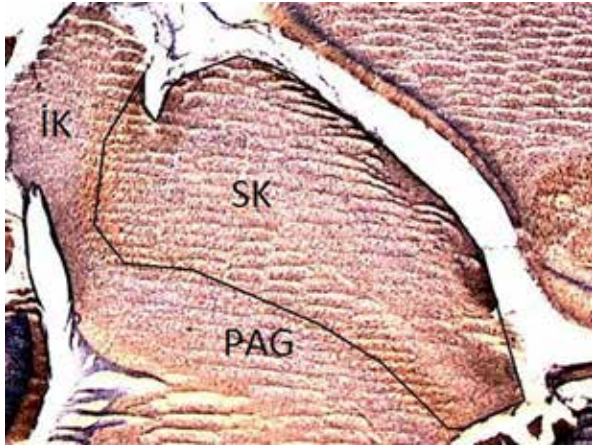
Sağ ve sol süperiyor kollikulusta bulunan toplam nöron sayısı stereolojik optik parçalama metodu kullanılarak hesaplandı. Parçalamanın temel mantığı, içerisindeki taneciklerin toplam sayısını bulmayı hedeflediğimiz yapıyı, oranları bilinen bir biçimde parçalara ayırıp, bu parçaların sistematik ve rastgele olarak seçilenlerinin yine belirli kısımlarında tanecik sayımı yapmayı ve sonunda buradan elde edilen değeri 'parçalama katsayısı' ile çarparak toplam sayıyı bulmayı kapsamaktadır. Yani, yapının tümüne olan oranı bilinen bir

parça üzerinde, ilgilenilen ölçümün (örneğin hücre sayısı ölçümünün) yapılarak, bunu daha sonra tüm yapıya oranlamak yoluyla toplam niceliği hesaplamak, parçalamanın temelini oluşturur.<sup>[14]</sup>

Sayım işlemine başlamadan önce sıçan süperiyor kollikulusun normal sınırları sterotaksik atlasından yararlanılarak belirlendi. Sınırların belirlenmesinde alanın inferiyor kollikulus, pretektal nükleus ve PAG komşulukları ile Nissi boyamasında açık sarı görülen lifler takip edildi (Şekil 1).

Alındıklarında 40 mikron olan kesit kalınlığı, lamla üzerine yerleştirilip boyama ve kapatma işlemleri tamamlandıktan sonra kalınlıkları yaklaşık 20–25 mikrona düştü. Optik parçalama yönteminde, daha önce tespit edilen belirli adım aralıklarıyla ( $x=300 \mu\text{m}$ ;  $y=300 \mu\text{m}$ ) doku kesiti üzerinde ilerleyerek, süperiyor kollikulus içerisinde tarafsız, rastgele bir biçimde belirlenen noktalarda sayım yapıldı. Optik parçalama için gerekli olan en az 10 kesiti elde edebilmek için  $\frac{1}{2}$  örnekleme yapmak gerektiği saptandı. Yani her iki kesitten birini aldığımız zaman elimizde yaklaşık olarak 20 kesit kalmaktadır ve kesit örnekleme payı (KeÖP)  $\frac{1}{2}$  olarak belirlendi.

Sagittal kesitte, her bir hemisferde en az 19 en çok 23 kesitte süperiyor kollikulus görüldü. Toplam bir sıçan beyinde sayısı 38 ile 46 arasında değişen kesitlerde sayım yapıldı. Süperiyor kollikulusunda nöron sayımı için tespit edilen alan 100x objektif alanda immersiyon yağı kullanılarak büyütüldü.



**Şekil 1.** Sagittal kesitte kontrol grubuna ait sıçanda sol süperiyor kollikulusun (SK) genel görünümü. Sol üstte inferiyor kollikulus (İK), süperiyor kollikulusun altında periaquoduktal gri madde (PAG) ile olan yakın komşuluğu görülmektedir.

Bilgisayar monitörüne aktarılan bu görüntü tarafsız sayım çerçevesi içerisinde nöron sayımı yapıldı.

Hücre sayım metodu olarak x ve y eksenlerine ve belli bir derinliğe (z) sahip (3 boyutlu) optik disektör kullanıldı. Ekran üzerinde sayım yapılacak alan işaretlendi ( $400 \mu\text{m}^2$ ). Her sayım alanı formülüne göre hesaplandı. Adım aralığı (x; y)  $300 \times 300$  mikrometre olacak şekilde kararlaştırıldı. Yapılan tüm sayımlarda, disektör sondasının yüksekliği  $15 \mu\text{m}$ , tarafsız sayım çerçevesinin alanı yaklaşık  $1467.262 \mu\text{m}^2$  ve optik disektör sondasının hacmi ise ( $h_{\text{disektör}} \times a_{\text{çerçeve}}$ ),  $22008.93 \mu\text{m}^3$  olarak belirlendi.

Sayım nöronların şu özelliklerine dikkat edilerek yapıldı. Nöronun sitoplazmasında yoğun olarak bulunan Nissi cisimcikleri, krezil violet boyaması sonrasında sitoplazmanın koyu boyanmasına neden olur. Nöronun çekirdeği ise açık renkte boyanmamış olarak görülür.

Kullandığımız stereolojik analiz sistemi mikroskop (Olympus BX50), bilgisayar ve renkli kamera ve renkli video monitörden oluşmaktadır. Kesitlerden elde edilen görüntülerin CAST-GRID (Computer Assisted Stereological Tool) programında analizi yapıldı.

Epilepsili grup ile kontrol grubunun karşılaştırılması non parametrik testlerden Mann Whitney-U ve eşleştirilmiş t-testi ile yapıldı.  $P < 0.05$  anlamlı kabul edildi.

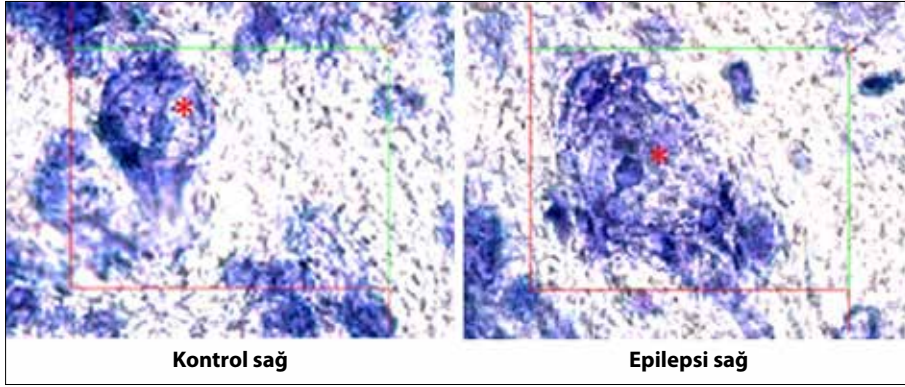
## Bulgular

### Süperiyor kollikulus alanının belirlenmesi

Sagittal kesitte süperiyor kollikulus alanının giderek küçülmeğe olduğu ve yapının değiştiği görüldü. İlk kesitlerde açıklı koyulu şekillerde görülen süperiyor kollikulusun yüzeysel ve derin tabakalarını birbirinden ayırmak mümkünken ilerleyen kesitlerde yapının değişmesiyle tabakaları birbirinden ayırmak mümkün olmadı.

### Süperiyor kollikulusda sayım yapılan nöronlara örnekler

Süperiyor kollikulus içerisinde küçük, orta ve büyük tipte nöronlar bulundu. Nöronlar bazı alanlarda küme halinde, bazı alanlarda ise çok seyrek şekilde görüldü. Nöron büyüklükleri ile yer aldığı tabakalar arasında bir ilişki kurmak mümkün olmadı. Şekil 2'de kontrol ve epilepsi grubuna ait sayım yapılan nöronlardan örnekler görülmektedir.



**Şekil 2.** Kontrol ve epilepsi grubuna ait hayvanlarda süperiyor kollikulusunda sayım yapılan nöronlara örnekler (\* nöronları göstermektedir). Süperiyor kollikulusda nöron sayımı için tespit edilen alan 100x objektif alanda immersiyon yağı kullanılarak büyütüldü.

### Sağ ve sol süperiyor kollikulusda bulunan toplam nöron sayısı

Elde ettiğimiz sonuçlara göre (Değerler ortalama±standart hata olarak verilmektedir) kontrol sağ grubunda 170.404,4±14.536,41, epilepsi sağ grubunda 110.335,4±6.476,56, kontrol sol grubunda 148.328,4±10.305,48, epilepsi sol grubunda 130.103,1±5.771,29 nöron bulundu (Tablo 1).

Toplam nöron sayısında kontrol sağ ve epilepsi sağ grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ( $p<0.05$ ). Epilepsi sağ ve epilepsi sol grupları arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ( $p<0.05$ ). Kontrol sol grubu ile epilepsi sol grubu ve kontrol sağ ile kontrol sol grupları arasında ise istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmadı ( $p>0.05$ ).

### Tartışma

Odyojenik nöbete genetik olarak yatkın hayvanlarda yapılan çalışmalar, iki olası sorun üzerinde temellendirilmiştir. Birin-

**Tablo 1.** Sağ ve sol süperiyor kollikulusda bulunan toplam nöron sayısı

Gruplar	Nöron sayısı
	Ortalama±SH
Kontrol sağ hemisfer	170.404,4±14.536,41
Epilepsi sağ hemisfer	110.335,4±6.476,56*
Kontrol sol hemisfer	148.328,4±10.305,48
Epilepsi sol hemisfer	130.103,1±5.771,29

Kontrol ve epilepsi gruplarına ait sıçanların sağ ve sol süperiyor kollikulusunda bulunan toplam nöron sayısı ve standart hata değerleri. \*Epilepsi sağ grubu ile kontrol sağ ve epilepsi sol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ( $p<0.05$ ). SH: Standart hata.

cisi odyojenik nöbette farklı şekilde rol oynayan beyin yapılarının araştırılması, ikincisi ise genetik yatkınlığı olan hayvanların farklı beyin alanlarında, hücresel, biyokimyasal ve fizyolojik anormallikler olup olmadığının belirlenmesidir.<sup>[15]</sup> Bu çalışmada genetik olarak epilepsiye yatkın sıçanların sağ süperiyor kollikuluslarında nöron sayılarında bir azalma olduğu bulundu. Literatürde yapılan çok sayıda çalışmada odyojenik hayvanlarda morfolojik ve hücresel açıdan anlamlı farklılıklar olduğu tespit edilmiştir.<sup>[16,17]</sup> Bu doğrultuda Wistar odyojenik sıçanlarda yapılan bir çalışmada hipokampus, inferiyor kollikulus, striatum, korteks yapılarında enflamatuvar ve nörotrofik miktarların artmış olduğu tespit edilmiş ve epilepsiye yatkınlıkta bu değişikliklerin rolü olabileceği ileri sürülmüştür.<sup>[18]</sup> Genetik olarak epilepsiye yatkınlığı nöronal alan açıdan araştıran bir çalışmada ise süperiyor kollikulusun derin tabakalarının hacminin azaldığı ve nöronların hipertrofiye uğradığı tespit edilmiştir.<sup>[19]</sup> Odyojenik nöbet aktivitesinin başlangıç nükleusu olan inferiyor kollikulusda yapılan çalışmalarda GABA aktivitesi gösteren nöronların sayısında artış olduğu tespit edilmiş ve GABA reseptör seviyesinde bir eksiklik olabileceği düşünülmüştür.<sup>[20,21]</sup> Diğer taraftan odyojenik nöbete yatkın Krushinsky Molodkina sıçanlarında yapılan çalışmada ise inferiyor kollikulusda GABAerjik nöronların sayısında bir farklılık tespit edilememiştir. Ancak GABA sentezinde anahtar rol oynayan glutamat dekarboksilaz mRNA ekspresyonunun kontrole göre 5 kat fazla olduğu tespit edilmiştir.<sup>[22]</sup> Bu çalışmalardan elde edilen bulgular özellikle GABAerjik sistemin odyojenik nöbete yatkınlıkta önemli rol oynadığını göstermektedir.

Odyojenik hayvanlarda yapılan çalışmalarda nöbet aktivitesinin, koşu davranışının aktif yönü olan motor alanla ip-

silateral olarak başladığı ve koşu davranışının başlangıcındaki motor asimetrisinin odyojenik hayvanlarda beyin sapı seviyesindeki lateralizasyondan başladığı ifade edilmektedir.<sup>[23,24]</sup> Odyojenik Wistar sıçanlardan alınan EEG kaydında koşu davranışının daha çok sol yöne olduğu tespit edilmiş ve nöbet aktivitesine sağ hemisferin daha dirençli olduğu, sol hemisferin ise nöbet aktivitesine daha yatkın olduğu ileri sürülmüştür. Aynı çalışmada, Wag/Rij sıçanlarında ise koşu davranışının yönünde hemisferik bir farklılık tespit edilememiştir.<sup>[25,26]</sup> Odyojenik nöbet oluşumunda hemisferler arasındaki bu farklılığın nedeni tam olarak bilinmemektedir. Epileptik aktivitenin sol kortekste daha kolay yayılması ya da beyin sapından kaynaklanan epileptik deşarjların sağ ve sol hemisferler içine yayılmasında farklı yolların olması mümkün görünmektedir.<sup>[26]</sup>

Bu çalışma epilepside hemisferik farklılık olduğunu tespit eden çalışmaları desteklemektedir. Sağ hemisferde tespit ettiğimiz bu nöron azlığı, sağ süperiyör kollikulusun odyojenik nöbetin başlamasında, daha önce veya daha fazla aktivasyon gösterdiğini düşündürmektedir. Ancak yine de bu durum hemisferik farklılığın nedenini moleküler seviyede açıklayamamaktadır. Odyojenik epilepsiye genetik yatkınlığının aydınlatılabilmesi için azalan nöron sayısının süperiyör kollikulusun hangi tabakalarından kaynaklandığının ve hangi özellikteki hücrelerden kaynaklandığının belirleneceği moleküler seviyede yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

### Teşekkür

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda yapılmıştır.

### Kaynaklar

- Garcia-Cairasco N, Terra VC, Doretto MC. Midbrain substrates of audiogenic seizures in rats. *Behav Brain Res* 1993;58(1-2):57-67. [Crossref](#)
- Ross KC, Coleman JR. Developmental and genetic audiogenic seizure models: behavior and biological substrates. *Neurosci Biobehav Rev* 2000;24(6):639-53. [Crossref](#)
- Kai N, Niki H. Altered tone-induced Fos expression in the mouse inferior colliculus after early exposure to intense noise. *Neurosci Res* 2002;44(3):305-13. [Crossref](#)
- Merrill MA, Clough RW, Jobe PC, Browning RA. Role of the superior colliculus and the intercollicular nucleus in the brainstem seizure circuitry of the genetically epilepsy-prone rat. *Epilepsia* 2003;44(3):305-14. [Crossref](#)
- Raisinghani M, Faingold CL. Identification of the requisite brain sites in the neuronal network subserving generalized clonic audiogenic seizures. *Brain Res* 2003;967(1-2):113-22. [Crossref](#)
- Faingold CL. Neuronal networks in the genetically epilepsy-prone rat. *Adv Neurol* 1999;79:311-21.
- Doretto MC, Cortes-de-Oliveira JA, Rossetti F, Garcia-Cairasco N. Role of the superior colliculus in the expression of acute and kindled audiogenic seizures in Wistar audiogenic rats. *Epilepsia* 2009;50(12):2563-74. [Crossref](#)
- Rossetti F, Rodrigues MC, Marroni SS, Fernandes A, Foresti ML, Romcy-Pereira RN, et al. Behavioral and EEG effects of GABAergic manipulation of the nigro-tectal pathway in the Wistar audiogenic rat (WAR) strain II: an EEG wavelet analysis and retrograde neuronal tracer approach. *Epilepsy Behav* 2012;24(4):391-8. [Crossref](#)
- Faingold CL, Randall ME. Neurons in the deep layers of superior colliculus play a critical role in the neuronal network for audiogenic seizures: mechanisms for production of wild running behavior. *Brain Res* 1999;815(2):250-8. [Crossref](#)
- Sakamoto T, Niki H. Acoustic priming lowers the threshold for electrically induced seizures in mice inferior colliculus, but not in the deep layers of superior colliculus. *Brain Res* 2001;898(2):358-63. [Crossref](#)
- Rossetti F, Rodrigues MC, de Oliveira JA, Garcia-Cairasco N. Behavioral and EEG effects of GABAergic manipulation of the nigro-tectal pathway in the Wistar audiogenic rat strain. *Epilepsy Behav* 2011;22(2):191-9. [Crossref](#)
- Dailey JW, Jobe PC. Anticonvulsant drugs and the genetically epilepsy-prone rat. *Fed Proc* 1985;44(10):2640-4.
- Gökçe FM, Bağırıcı F, Kaplan S, Demir Ş, Ayyıldız M, Marangoz C. A NOS inhibitor aminoguanidine reduces zinc-induced neuron loss in rat hippocampus. *Neuroscience Research Communications* 2003;33(1):53-62. [Crossref](#)
- Kaplan S, Canan S, Aslan H, Unal B, Sahin B. A simple technique to measure the movements of the microscope stage along the x and y axes for stereological methods. *J Microsc* 2001;203(Pt 3):321-5. [Crossref](#)
- Valjakka A, Jaakkola M, Vartiainen J, Olkkonen H, Semiokhina A, Fedotova I, et al. The relationship between audiogenic seizure (AGS) susceptibility and forebrain tone-responsiveness in genetically AGS-prone Wistar rats. *Physiol Behav* 2000;70(3-4):297-309. [Crossref](#)
- Cardoso A, Madeira MD, Paula-Barbosa MM, Lukoyanov NV. Retrosplenial granular b cortex in normal and epileptic rats: a stereological study. *Brain Res* 2008;1218:206-14. [Crossref](#)
- Repetto IE, Monti R, Tropiano M, Tomasi S, Arbin A, Andrade-Moraes CH, et al. The Isotropic Fractionator as a Tool for Quantitative Analysis in Central Nervous System Diseases. *Front Cell Neurosci* 2016;10:190. [Crossref](#)
- de Souza Bernardino TC, Teixeira AL, Miranda AS, Guidine PM, Rezende G, Doretto MC, et al. Wistar Audiogenic Rats (WAR) exhibit altered levels of cytokines and brain-derived neurotrophic factor following audiogenic seizures. *Neurosci Lett* 2015;597:154-8. [Crossref](#)
- Fuentes-Santamaría V, Alvarado JC, Herranz AS, García-Atarés N, López DE. Morphologic and neurochemical alterations in

- the superior colliculus of the genetically epilepsy-prone hamster (GPG/Vall). *Epilepsy Res* 2007;75(2-3):206–19. [Crossref](#)
20. Roberts RC, Ribak CE, Oertel WH. Increased numbers of GABAergic neurons occur in the inferior colliculus of an audiogenic model of genetic epilepsy. *Brain Res* 1985;361(1-2):324–38.
  21. Ribak CE, Lauterborn JC, Navetta MS, Gall CM. The inferior colliculus of GEPRs contains greater numbers of cells that express glutamate decarboxylase (GAD67) mRNA. *Epilepsy Res* 1993;14(2):105–13. [Crossref](#)
  22. Solius GM, Revishchin AV, Pavlova GV, Poletaeva II. Audiogenic epilepsy and GABAergic system of the colliculus inferior in Krushinsky-Molodkina rats. *Dokl Biochem Biophys* 2016;466:32–4. [Crossref](#)
  23. Ward R, Collins RL. Asymmetric audiogenic seizures in mice: a possible analogue of focal epilepsy. *Brain Res* 1971;31(1):207–10. [Crossref](#)
  24. Pierson M. Audiogenic seizures in unilaterally sensitized and monaurally stimulated Wistar rats. *Epilepsy Res* 1992;11(1):17–25.
  25. Vinogradova LV, Shatskova AB. Lateral asymmetry of early seizure manifestations in experimental generalized epilepsy. *Neuroscience* 2012;213:133–43. [Crossref](#)
  26. Vinogradova LV. Interhemispheric difference in susceptibility to epileptogenesis: evidence from the audiogenic kindling model in Wistar rats. *Brain Res* 2010;1329:175–81. [Crossref](#)